

2017

Sistema Multisensorial como método alternativo para la detección de Pesticidas Organoclorados (POC's) en Frutas Frescas



**YOHANNA
MALDONADO OBANDO**

*Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos.
Universidad de Pamplona.*

**Sistema Multisensorial como Método Alternativo para la detección de
Pesticidas Organoclorados (POC's) en Frutas frescas**

Yohanna del Carmen Maldonado Obando

Lida Yaneth Maldonado Mateus
Magister en Ciencias con Especialidad en Sistemas de Calidad y
Productividad
Directora de Tesis

Maria Esther Rivera
Ph.D. en Hidrología
Codirectora

Universidad de Pamplona
Facultad de Ingenierías y Arquitectura
Departamento de Alimentos
Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
Pamplona2017

**Sistema Multisensorial como Método Alternativo para la detección de
Pesticidas Organoclorados (POC's) en Frutas frescas**

Una Tesis Presentada para obtener El Título de
Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos
Universidad de Pamplona

Yohanna del Carmen Maldonado Obando
Junio 2017

Dedicatoria

*Dedico este logro a Dios, a mi madre Miriam,
a mis hijos Ana María y Ángel Adrián
y a mi esposo Cesar Parra,
quienes han estado siempre a mi lado proporcionándome
el apoyo, paciencia, fortaleza, motivación y amor
necesario
para culminar con éxito esta etapa académica.*

Agradecimientos

*“Estad siempre gozosos”, “Dad gracias en todo, porque ésta es la
voluntad de Dios”*

1 Tesalonicenses 5:16-22

*Agradezco por su acompañamiento, paciencia y amorA Dios,
que todo lo puede y ha sido mi fortaleza, camino y protector.*

*A mis hijos Ana María y Ángel Adrián quienes representan el motor y
la alegría de mi vida.*

*A mi esposo Cesar Parra quien es mi compañero fiel, amigo y
cómplice y con el que he construido nuestra burbuja familiar.*

*A mi madre Miriam Obando que me educó y me enseñó los valores
éticos y morales que han permitido que tenga éxito en cada
meta que me propongo.*

*A mis tutoras Lida Maldonado y María Esther Rivera que con sus
conocimientos y asesorías guiaron cada paso para la culminación
de este trabajo.*

*A todas aquellas personas que contribuyeron a que terminara
exitosamente esta etapa académica: amig@s, compañer@s y
conocid@s*

*A la Doctora Elene Stachenko, Deyanira Caballero y todo su equipo
de trabajo quienes abrieron las puertas del laboratorio CROM-MASS
siendo una guía para el desarrollo de las actividades del proyecto.*

*Al profesor Oscar Gualdron, Jesús Ortiz y Luis Muños quienes
brindaron su colaboración.*

Resumen

El uso excesivo de pesticidas genera consecuencias que afectan los ecosistemas y la salud del consumidor. En países como Colombia existe una tendencia fuerte de los agricultores a usar plaguicidas en forma excesiva sin tener en cuenta los límites de residualidad permitidos. El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de plaguicidas organoclorados en frutas frescas por medio del sistema multisensorial (Nariz electrónica). Para ello se recolectaron las muestras objeto estudio en el mercado principal de la ciudad de Pamplona, posteriormente se realizaron los análisis físicos (área superficial, color y firmeza) y químicos (humedad, pH, sólidos solubles y acidez titulable) para establecer el índice de madurez. Se detectaron los residuos de plaguicidas organoclorados (Aldrín - Endrín, Beta -BHC, Delta - BHC, Gama - BHC, Endosulfán I, Endosulfan II, 4, 4 - DDE) por el método de Cromatografía de gases acoplado a masas con detector de electrones (GC-ECD) y finalmente se realizó el entrenamiento, medición y validación del método con la nariz electrónica. Se estableció que el sistema multisensorial alcanza a detectar pesticidas organoclorados en 0.5, 0.7 y 1 ppm lo que permite concluir que se puede emplear como un método alternativo e innovador para la detección rápida de trazas de pesticidas en frutas en comparación con otras técnicas empleadas.

Palabras clave: cromatografía, frutas, pesticidas organoclorados, sistema multisensorial.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Resumen.....	5
Capítulo 1 Introducción e Información General.....	12
Capítulo 2 Estado del Arte.....	17
Los Plaguicidas.....	18
Definición.....	18
Clasificación.....	18
Usos.....	25
Métodos e Investigaciones para Determinación de Pesticidas Organoclorados.....	32
Técnicas Cromatográficas.....	39
.....	44
Sistema Multisensorial.....	45
Nariz Electrónica (NE).....	45
Funcionamiento de la Nariz Electrónica.....	47
Sensores utilizados en la Nariz Electrónica.....	50
E- nose 2.0.....	52
Avances e Investigaciones con Nariz Electrónica.....	56
Capítulo 3 Objetivos.....	61
Objetivo General.....	62
Objetivos Específicos.....	62
Capítulo 4 Materiales y Métodos.....	63
Materia Prima.....	64
Caracterización de la Materia Prima.....	64
Análisis Físicos.....	64
Análisis Químicos.....	65
Análisis de Resultados.....	66
Análisis Cromatográfico.....	66
Método de Extracción y Determinación de pesticidas en frutas por el método QuEchERS.....	67
Análisis con la Nariz Electrónica.....	69
Preparación de las muestras.....	69
Toma de muestras con la E-nose 2.0.....	71
Procesamiento de Datos en E-nose2.....	74
Análisis Estadístico.....	74
Capítulo 5 Resultados y Discusión.....	75
Caracterización Físico-Química de la Materia Prima.....	76
FRESA (<i>Fragaria camarrosa</i> sp).....	77
MORA DE CASTILLA (<i>Rubus glaucos</i> sp).....	82
UCHUVA.....	86

Análisis de Pesticidas Organoclorados en las frutas objeto estudio por Cromatografía de Gases.	92
.....	93
Análisis de Pesticidas Organoclorados con Nariz Electrónica.	95
Sistema Multisensorial (Nariz Electrónica).	95
Entrenamiento de la Nariz Electrónica.	97
Procesamiento y Análisis de Datos.	100
Análisis de Componentes Principales (PCA).	100
Aldrin.	101
4,4 DDE.	102
Beta-BHC.	103
Delta-BHC.	104
Gamma-BHC.	105
Endosulfan I.	106
Endosulfan II.	107
Análisis con Máquinas de Soporte Vectorial (SMV).	108
Fresa.	109
Mora.	112
Uchuva.	114
Análisis de Clasificación y Robustez.	117
Conclusiones	120
Recomendaciones	123
Lista de Referencias	¡Error! Marcador no definido.
Lista de Anexos	143

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de los Plaguicidas según la Familia Química	23
Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas según su vida media de efectividad	24
Tabla 3. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad, expresada en DL50 (mg/kg)	25
Tabla 4. Usos más frecuentes de los Plaguicida.	27
Tabla 5. Límite Máximo de Residuos (LMRS`s) en (mg/kg) de Pesticidas Organoclorados en diferentes grupos de Alimentos.	29
Tabla 6. Características de algunos Pesticidas Organoclorados.	32
Tabla 7. Técnicas de extracción, Limpieza y detección de Plaguicidas en hortalizas, frutas y cereales.	35
Tabla 8. Clasificación de los distintos tipos de sensores de gases	52
Tabla 9. Aplicaciones de la Nariz Electrónica en la evaluación de frescura en alimentos	58
Tabla 10. Aplicación de la Nariz Electrónica en la investigación de la vida útil de alimentos.	59
Tabla 11. Aplicación de la Nariz Electrónica en la evaluación de la calidad y adulteración de alimentos.	60
Tabla 12. Solventes utilizados para la preparación de Pesticidas.	70
Tabla 13. Tipos de sensores utilizados en E-nose 2.0	73
Tabla 14. Estado de Madurez de las frutas objeto estudio.	77
Tabla 15. Análisis de varianza (ANOVA) del peso, la humedad y °Brix de los dos estados de madurez de la Mora.	85
Tabla 16. Análisis de varianza (ANOVA) del pH y la acidez de los dos estados de madurez de la Mora.	86
Tabla 17. Análisis de varianza (ANOVA) del peso, humedad y °Brix de los dos estados de madurez de la Uchuva.	90
Tabla 18. Matriz de sensores utilizados en la E-nose 2.0	97
Tabla 19. Porcentaje de reconocimiento de los sensores de la Nariz electrónica en las muestras objeto estudio	116

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura de varios Pesticidas Organoclorados.	20
Figura 2. Pasos básicos para llevar a cabo el método QuEChERS en cualquier muestra de frutas o verduras.	39
Figura 3. Modificaciones Método QuEChERS.	40
Figura 4. Comparación del sistema Olfativo Humano vs la Nariz Electrónica.	47
Figura 5. Secuencia para el análisis de aromas	48
Figura 6. Esquema General de la Nariz Electrónica	49
Figura 7. Esquema del Procedimiento QuEChERS.	69
Figura 8. Esquema del Procedimiento de preparación de muestras.	71
Figura 9. Procedimiento Adquisición de datos con la E-nose 2.0	74
Figura 10. Muestra de Fresa analizada	78
Figura 11. Diagrama de Cajas y Bigotes de a, b, L con respecto al Estado de Madurez de la fresa.	79
Figura 12. Diagrama de Cajas y Bigotes del largo, ancho y espesor con respecto al Estado de Madurez de la Fresa.	80
Figura 13. Diagrama de Cajas y Bigotes del Peso, Humedad y grados Brix con respecto al Estado de Madurez de la Fresa.	82
Figura 14. Diagrama de Cajas y Bigotes del pH y la acidez con respecto al Estado de Madurez de la Fresa.	82
Figura 15. Muestra de mora utilizada para el análisis.	83
Figura 16. Diagrama de Cajas y Bigotes de a, b, L con respecto al Estado de Madurez de la Mora.	83
Figura 17. Diagrama de Cajas y Bigotes de largo, ancho y espesor con respecto al Estado de Madurez de la Mora.	84
Figura 18. Muestra de mora utilizada para el análisis	87
Figura 19. Diagrama de Cajas y Bigotes de L, a y b con respecto al Estado de Madurez de la Uchuva.	88
Figura 20. Diagrama de Cajas y Bigotes de largo, ancho y espesor con respecto al Estado de Madurez de la Uchuva.	89
Figura 21. Diagrama de Cajas y Bigotes de pH y Acidez con respecto al Estado de Madurez de la Uchuva.	91

Figura 22. Diagrama de los análisis cromatográficos de las muestras objeto de estudio	94
Figura 23. Partes de la Nariz Electrónica E-nose 2.0	98
Figura 24. Módulo para la programación de datos en la nariz electrónica.	99
Figura 25. Detección de volátiles y toma de datos por Nariz Electrónica.	100
Figura 26. Módulo de adquisición y almacenamiento de datos.	100
Figura 27. PCA de la fruta fresca sin pesticida.	101
Figura 28. PCA en Fresa, Mora y uchuva contaminadas con aldrin a 0.5-0.7 y 1 ppm.	102
Figura 29. PCA en Fresa, Mora y uchuva contaminadas con 4,4 DDE a 0.5-0.7 y 1 ppm.	103
Figura 30. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Beta-BHC a 0.5-0.7 y 1 ppm.	104
Figura 31. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Delta-BHC a 0.5-0.7 y 1 ppm.	105
Figura 32. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Gamma-BHC a 0.5-0.7 y 1 ppm.	106
Figura 33. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Endosulfan I a 0.5-0.7 y 1 ppm.	107
Figura 34. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Endosulfan II a 0.5-0.7 y 1 ppm.	108
Figura 35. Respuesta de los sensores en la detección de plaguicidas en Fresa	110
Figura 36. Respuesta de los sensores en la detección de plaguicidas en Mora	113
Figura 37. Respuesta de los sensores en la detección de plaguicidas en Uchuva	115
Figura 38. Robustez de los datos analizados con las Máquina de Soporte Vectorial en Nariz Electrónica.	118

Capítulo 1

Introducción e Información General

Durante décadas el hombre ha desarrollado la agricultura como una de sus principales fuentes alimentarias, motivo por el cual busca mejorar las condiciones de productividad y calidad de las cosechas y se han tenido que implementar modelos de producción agrícola de alto rendimiento para suplir con las necesidades y exigencias que día a día van surgiendo en el mercado. Entre las estrategias para aumentar la productividad alimentaria se tienen: nuevas técnicas agrícolas, empleo de semillas mejoradas y uso de productos de protección de cultivos como la utilización de plaguicidas (Guerrero, 2003; Moreno, 2001). Cuando se aplica una o varias de estas estrategias combinadas, puede llegar a multiplicarse la cosecha normal de un cultivo.

Colombia es un país agrícola por excelencia y el uso de plaguicidas se ha convertido en una necesidad básica en los cultivos de frutas y hortalizas como una herramienta eficaz para controlar enfermedades, insectos, malezas y otros organismos que pueden interferir con la producción de cultivos. La utilización de los productos químicos en la producción agrícola para controlar las plagas y enfermedades, así como para disminuir los riesgos y pérdidas de los sistemas agrícolas, ha sido un reto permanente (Sánchez, 2002), ya que su uso se debe a las propiedades biocidas y selectividad que poseen constituyéndose como el método habitual de lucha contra las plagas. (Cooper y Dobson, 2007; Cortes, Sánchez, Díaz-Plaza, Villen, y Vásquez, 2006).

Sin embargo, la mala utilización de los plaguicidas particularmente la sobredosificación, además de su aplicación en tiempos no apropiados y en cultivos en los que no han sido registrados, hacen de estas sustancias, un riesgo potencial para la salud humana y para el medio en general, ya que se trata de productos generalmente tóxicos, que pueden presentar residuos contaminantes en el producto final que va al consumidor y por ende disminución en su calidad (Muñoz, 1992).

Debido a que una de las prácticas agrícolas más frecuentes es el monocultivo no tecnificado y el bajo nivel educativo de quienes manejan el producto en el campo, se genera la utilización indiscriminada de plaguicidas causando un incremento en el nivel de riesgo tanto para sí mismos como para los consumidores finales y el medio ambiente; la Comunidad Europea (CE), la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y algunos gobiernos han convertido el monitoreo y control de los pesticidas en actividades prioritarias para determinar la calidad y seguridad de los alimentos y han establecido límites máximos residuales (LMRs), (Ramirez y Lacasaña, 2001). Así mismo, en nuestro país el diagnóstico, la vigilancia y el monitoreo de plaguicidas en alimentos aún no se ha implementado de forma eficaz, y existe una tendencia fuerte de los agricultores a usar plaguicidas en forma excesiva, debido especialmente a motivaciones económicas (Murcia y Stashenko, 2008).

Por todo lo anterior, las entidades nacionales y regionales han intervenido con programas que mejoren las actividades agrícolas reduciendo los impactos generados por sus producciones de alimentos y con el fin de regular el uso indiscriminado de plaguicidas, creando normas que protejan los recursos naturales, evitando una mayor contaminación a los recursos ambientales y efectos en la salud de los seres vivos que tiene contacto indirecto o indirecto con los plaguicidas. Lo anterior ha motivado que sea necesario realizar estudios para detectar presencia de estos compuestos en diversos alimentos, especialmente en frutas debido a que se consumen crudas, pero dado que los métodos analíticos son costosos y demorados la industria requiere de métodos alternos que de manera indirecta pero en corto tiempo puedan identificar dichos compuestos antes que el producto llegue al consumidor.

Esta investigación busca generar otra alternativa que ayude a disminuir el tiempo de detección de plaguicidas en alimentos frescos facilitando la toma rápida de decisiones,

resaltando que la finalidad de la propuesta no es reemplazar la cromatografía como método viable de análisis de plaguicidas en alimentos sino hacer uso de otras tecnologías desarrolladas por la academia al servicio de la industria. Cualquier metodología analítica para determinación de plaguicidas debe ser rápida, económica y aplicable, además con pocas modificaciones cuando se decida cambiar de matriz, en la actualidad la cromatografía de gases cumple con los requerimientos necesarios y confiables para determinar y cuantificar la presencia de trazas de plaguicidas en los productos mencionados, sin embargo, esta técnica suele ser muy cara, de difícil puesta a punto, mantenimiento y operación.

Por eso la necesidad de explorar nuevas estrategias que permitan obtener resultados iguales o mejores que la cromatografía en tiempos rápidos y principalmente a bajo costo, una de esas técnicas son las llamadas narices electrónicas o sistema olfativos multisensoriales, que presentan cualidades o ventajas muy interesantes como son (Quicazan S, Diaz M, & Zuluaga D, 2011):

- Análisis no destructivo del producto
- Aplicación en diferentes campos del área de alimentos (monitoreo de procesos, estimación de vida útil, detección de aromas, frescura de los alimentos, microorganismos patógenos, contaminantes y calidad de los productos)
 - Obtención de resultados en tiempo real (en cuestión de minutos)
 - Portabilidad, robustez y bajo precio
 - Adaptación a diferentes cantidades y variedades de productos.
 - En la clasificación y detección de olores con seguridad, ya que se pueden exponer a sustancias tóxicas.
- Confiabilidad y precisión, porque los resultados que se han obtenido en diferentes investigaciones han sido eficientes.
- Requieren solamente un manipulador.

El presente proyecto tiene como finalidad generar la implementación de nuevas alternativas analíticas generadas desde la ciencia y la tecnología que permitan la mejora en la identificación de la calidad e inocuidad de los alimentos que se consumen, con la ayuda de las técnicas de inteligencia artificial apropiadas, las cuales pueden reconocer el patrón aromático de una muestra particular y distinguirlo de otras muestras. Por tal razón esta investigación se enfocó en el uso de una herramienta que permita la detección de pesticidas organoclorados en tres frutas frescas consumidas usualmente en Pamplona.

Capítulo 2

Estado del Arte

Los Plaguicidas.

Definición. El concepto de plaguicidas es definido por la Food and Agriculture Organization (FAO) como «la sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal; las especies no deseadas de plantas o animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos; los artículos agrícolas de consumo, la madera y sus productos, el forraje para animales o los productos que pueden administrárseles para el control de insectos, arácnidos u otras plagas corporales», (Food Agriculture Organization United Nations (FAO), 2008).

Aunque los pesticidas son necesarios, los residuos de éstos en los alimentos y en el ambiente provocan efectos negativos en la salud que dependen de la proporción con la que se absorbe el pesticida. Algunos efectos que se presentan son: toxicidad neurológica aguda, daño neurológico crónico, disfunción de los sistemas inmune, reproductivo y endocrino o cáncer (Dömötöróvá & Matisová, 2008). Por lo que su monitoreo y control se convierte en una actividad prioritaria para determinar la calidad y seguridad de los alimentos.

Clasificación. Los plaguicidas se pueden clasificar según:

- **Tipo de organismo que se desea controlar:** Insecticidas, acaricidas, fungicidas, herbicidas, nematocidas, molusquicidas, rodenticidas, avicidas.
- **Grupo químico del principio activo:** Compuestos organofosforados, compuestos carbamatos, compuestos organoclorados, piretroides, derivados del bipiridilo, triazinas, tiocarbamatos, derivados del ácido fenoxiacético, derivados de la cumarina, derivados del

cloronitrofenol, compuestos órgano mercuriales, entre otros. A continuación se mencionan características generales de algunos pesticidas (Barbera C. , 1989).

Organoclorados (OC). Los pesticidas (principalmente insecticidas) son hidrocarburos clorados utilizados extensivamente desde la década de 1940 hasta la década de 1980 en la agricultura y control de mosquitos (Choi, Lee, y Jung, 2016). Son de bajo costo y amplio espectro, su persistencia va desde moderada a muy persistentes, y sus residuos se encuentran en el ambiente y en los seres vivos. Son liposolubles, solubles en compuestos orgánicos de baja polaridad. Se acumulan en el tejido graso y se metabolizan lentamente. Son estables química y bioquímicamente, se caracterizan por tener una estructura cíclica y átomos de cloro; dependiendo de dicha estructura, los pesticidas organoclorados se clasifican en tres grupos principales:

- Derivados halogenados de hidrocarburos alicíclicos, como el lindano.
- Derivados halogenados de hidrocarburos aromáticos, como el DDT.
- Derivados halogenados de hidrocarburos ciclodiénicos, como el aldrín y el endosulfán.

Los organoclorados son los plaguicidas más ampliamente utilizados. Su estructura química corresponde a la de los hidrocarburos clorados, lo que les confiere una alta estabilidad física y química, haciéndolos insolubles en agua, no volátiles y altamente solubles en disolventes orgánicos. Estas características favorecen su persistencia en el ambiente¹ y su lenta biodegradabilidad. Su vida media es de 5 años, aunque varía según el producto; por ejemplo, para el beta hexaclorociclohexano es de 3 años, para el aldrín de 6 años y para el DDT es de 30 años.

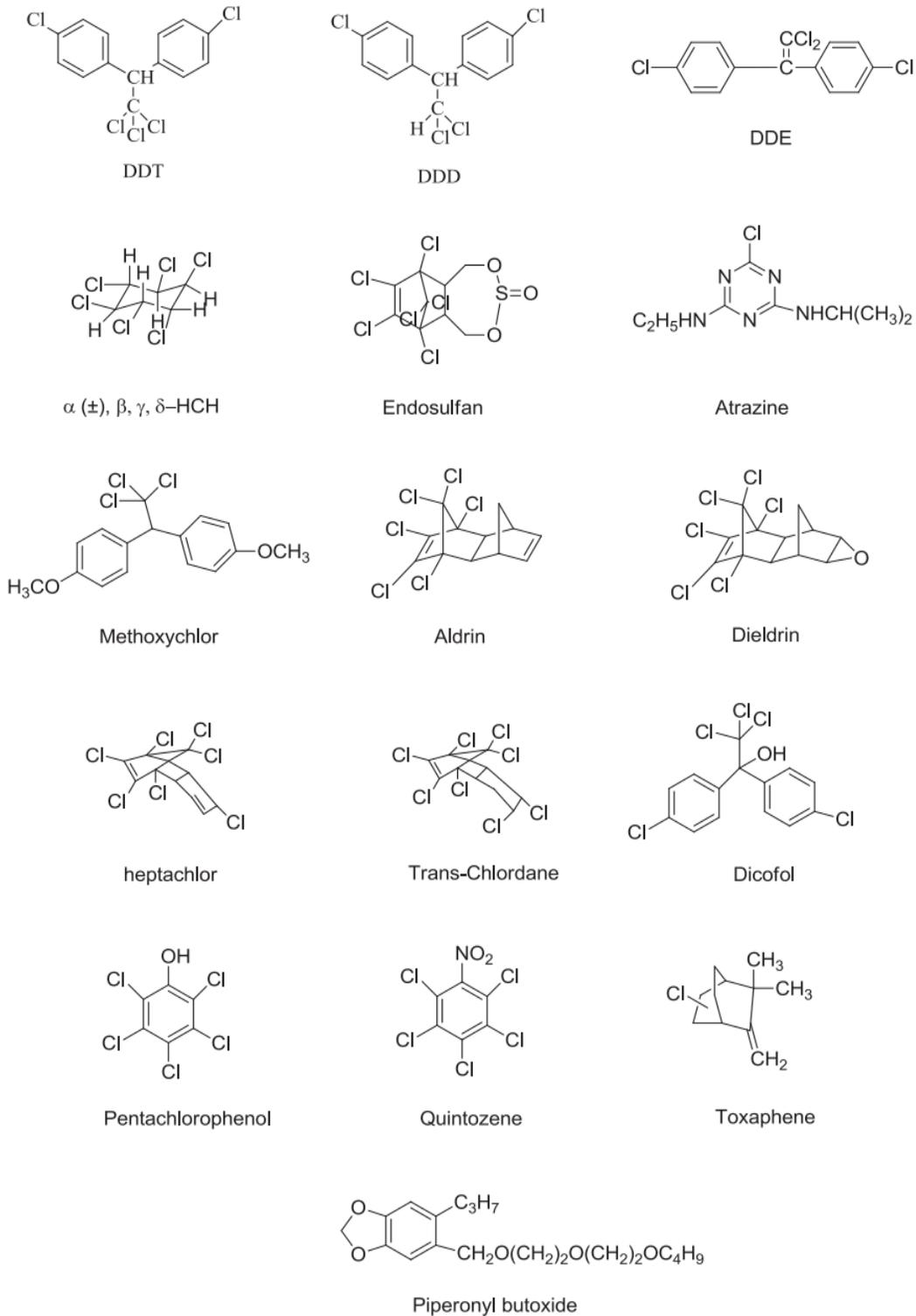


Figura 1. Estructura de varios Pesticidas Organoclorados. Tomado de Manviri et al.,2017

El compuesto como tal o sus metabolitos son contaminantes ubicuos de varios tejidos en humanos y de los mamíferos en general. A causa de su alta lipofilicidad tienden a acumularse principalmente en el tejido celular subcutáneo, en el componente graso de la leche materna y de la sangre. Productos representativos de este grupo son el DDT, el aldrín, el dieldrín y el endrín, así como el endosulfán y el lindano, ambos todavía usados en España, (Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de la Salud (OPS), Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, 1990).

El lindano, los ciclodiénicos (aldrín, dieldrín, endrín, clordano) y el endosulfán son absorbidos a través de la piel. La acción tóxica principal de estos pesticidas se dirige al sistema nervioso, en donde estos compuestos inducen a un estado de sobre-excitación en el cerebro.

Organofosforados (OF). Son generalmente ésteres de ácido fosfórico sustituidos. Se descomponen con mayor facilidad y son menos persistentes en el ambiente que los organoclorados, pero más peligrosos debido a que tienen un grado alto de toxicidad. Son biodegradables y no se acumulan en el organismo. Se han convertido en los insecticidas de mayor uso (Araoud, Douki, Rhim, Najjar, & Gazzah, 2007). Los sustituyentes tienen gran influencia en las propiedades fisicoquímicas del compuesto y se relacionan además con la capacidad de penetración, distribución, activación y degradación del pesticida, con su sitio de ataque, potencia y selectividad. Algunos ejemplos son: clorfenvinfos, demetión, diclorvos, diazinón, etil paratión, etión, fentió, fosfolán, malatión, metamidofos, metilazinfos, monocrotofos, tricorfón, (OMS, OPS, División Salud y Ambiente, 1993).

Carbamatos (C). Los carbamatos (C) son otro grupo de plaguicidas que pueden ser de tres tipos principales: derivados de ésteres carbamatados, comúnmente usados como insecticidas; derivados del ácido tiocarbámico, utilizados como fungicidas; y carbamatos

propiamente dichos, que se emplean como herbicidas. (Al-Saleh, 1994). Todos ellos son relativamente inestables, se les atribuye un tiempo corto de persistencia ambiental y cuentan con cierta selectividad. Su degradación se realiza por oxidación y sus metabolitos finales son hidrosolubles pudiendo excretarse por la orina y las heces fecales⁶. Entre los más comunes se encuentran el lannate, el carbarilo y el carbyl, (OMS et al., 1993).

La mayoría de los carbamatos son fácil y rápidamente absorbidos a través de la piel, pulmones, tracto gastrointestinal y mucosas. Se ha reportado que la exposición crónica causa debilidad, anorexia, pérdida de la memoria y temblores musculares. El carbofurán es considerado un insecticida con toxicidad alta (DL50 = 50 g/kg) (Marrs y Ballantyne, 2004).

Dicarboxiimidaz. Dentro de este grupo se agrupan las sulfonimidaz y las imidaz N-cíclicas, aunque son compuestos diferentes estructuralmente se clasifican como fungicidas dicarboxiimidaz. Estos heterociclos sufren degradación hidrolítica y/o fotolítica en suelos, plantas y animales. El captan, folpet y captafol son sulfoniimidaz y son usados principalmente para el control de mohos en frutas y vegetales. El captan se absorbe por el tracto gastrointestinal y se metaboliza rápidamente, (Columé, Cárdenas, Gallego, y Valcárcel, 2001).

Las Piretrinas (P). Son plaguicidas obtenidos por secado, molienda y pulverización de la flor del crisantemo, cuyo polvo contiene del 1 al 3% del principio activo. Las principales piretrinas son las cinerinas I y II, las jasmolinas I y II, y las piretrinas I y II, consideradas estas últimas como las de efecto más potente. Químicamente, se dividen en dos tipos: a) sin grupo alfaciano, como el permetrín y resmetrín, y b) con grupo alfaciano, como fenvalerato, diametrín y cypermetrín. Todos son metabolizados por hidrólisis, oxidación y conjugación, con poca tendencia a acumularse en los tejidos. (Ramírez y Lacasaña, 2001).

Tabla 1. Clasificación de los Plaguicidas según la Familia Química.

Familia Química	Ejemplos
Organoclorados	DDT, aldrín, endosulfán, endrín
Organofosforados	Bromophos, diclorvos, malatión
Carbamatos	Carbaryl, methomyl, propoxur
Tiocarbamatos	Ditiocarbamato, mancozeb, maneb
Piretroides	Cypermethrin, fenvalerato, permethrin
Derivados Bipiridilos	Cloromequat, diquat, paraquat
Derivados del ácido fenoxiacético	Dicloroprop, piclram, silvex
Derivados cloronitrofenólicos	DNOC, dinoterb, dinocap
Derivados de triazinas	Atrazine, ametryn, desmetryn, simazine
Compuestos orgánicos del estaño	Cyhexatin, dowco, plictrán
Compuestos inorgánicos	Arsénico pentóxido, obpa, fosfito de magnesio, cloruro de mercurio, arsenato de plomo, bromuro de metilo, antimonio, mercurio, selenio, talio y fósforo blanco
Compuestos de origen botánico	Rotenona, nicotina, aceite de canola

Nota: Adaptado y tomado de (Ramírez y Lacasaña, 2001)

La Tabla 1 muestra de forma condensada una forma de clasificar los plaguicidas según la familia química a la que pertenecen y se presentan ejemplos de productos que se comercializan en el mercado. A continuación se presenta otra clasificación según su persistencia.

- **Según su persistencia al medio ambiente:** Se clasifican en persistentes, poco persistentes, no persistentes (Tabla 2). Muchos plaguicidas persisten durante largos períodos de tiempo en el medio ambiente (hasta muchos años), como por ejemplo la vida prevista del γ -HCH en agua es de 191 días y la naturaleza persistente de los residuos de organoclorados en el medio ambiente plantean el problema de la toxicidad crónica para los animales y los seres humanos a través del aire, el agua y los alimentos de consumo (Kafilzadeh et al., 2015). De igual forma, el promedio de vida del γ -HCH y el α -HCH en torno a la región de grandes lagos oscila alrededor de 3 a 4 años (Cortes y Hites, 2000). Por lo tanto, el uso de un número de OCs, incluido el DDT, ha sido prohibido o restringido en el mundo debido a la alta persistencia y la bioacumulación en la naturaleza (OMS, 2003).

Se han detectado residuos de pesticidas organoclorados en ambientes costeros como se reportó en una investigación que se llevó a cabo en la Laguna Costera de Berre (Sureste de Francia), donde los sedimentos parecían estar significativamente contaminados, especialmente con una concentración media de lindano de $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$, que es \leq cinco veces del umbral legal. (Arienzo, Masuccio, y Ferrara, 2013). De igual forma, se han encontrado residuos en mariscos comúnmente consumidos por la población coreana, donde los bifenilos policlorados y el DDT fueron los contaminantes predominantes (Moon, Kim, Minkyu, Jun, y Hee-Gu, 2009), en mamíferos marinos (Romanic, Klincic, Kljakovic-Gašpic, Kusak, Reljic, y Huber, 2015), aves (Yohannes, Ikenaka, Nakayama, Mizukawa, y Ishizuka, 2016) y humanos (Thomas, et al., 2017). Además, presentan propiedades de transporte de largo alcance, como por lo que pueden ser llevados a largas distancias por medio de aire o del agua como es el caso del HCH y el Endosulfan que fueron transportados de tierras de cultivo a estuarios tropicales, lo que en última instancia provoca un grave riesgo para el Biota (Leadprathom, Parkpian, Satayavivad, Delaune, y Jugsujinda, 2009). La gran persistencia de estos productos químicos en el medio ambiente y su fácil dispersión y desplazamiento en los cultivos ha sido un factor clave en el detrimento y deterioro de los ecosistemas y del aumento de enfermedades y patologías relacionadas con humanos y otras especies de la biosfera (Albert y Rendon-Von Osten, J., 1988).

Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas según su vida media de efectividad

Persistencia^a	Vida media^b	Ejemplos
No persistente	De días hasta 12 semanas	Malatión, diazinón, carbarilo, diametrín
Moderadamente persistente	De 1 a 18 meses	Paratión, lannate
Persistente	De varios meses a 20 años	DDT, aldrín, dieldrín
Permanentes	Indefinidamente	Productos hechos a partir de mercurio, plomo, arsénico

Nota: ^aCapacidad de una sustancia o un compuesto, de permanecer en un sustrato del ambiente en particular, después de que ha cumplido el objetivo por el cual se aplicó. ^bLapso de tiempo necesario para que se degrade la mitad del compuesto o mezcla aplicada. Adaptado y tomado de (Ramírez & Lacasaña, 2001).

- **Según su toxicidad aguda (O.M.S.):** Esta se basa principalmente en la toxicidad por vía oral en ratas y ratones. Usualmente la dosis se registra como el valor DL50 (Dosis Letal Media) que es la dosis requerida para matar al 50% de la población de animales de prueba y se expresa en términos de mg/kg del peso del cuerpo del animal.

Tabla 3. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad, expresada en DL50 (mg/kg)

Clase	Toxicidad	Ejemplos
Clase IA	Extremadamente peligrosos	Paratión, dieldrín
Clase IB	Altamente peligrosos	Eldrín, diclorvs
Clase II	Moderadamente peligrosos	DDT, clordano
Clase III	Ligeramente peligrosos	Malarión

Nota: Adaptado y tomado de (Ramírez y Lacasaña, 2001)

Usos. Los plaguicidas son insumos esenciales utilizados en la agricultura moderna para controlar las plagas y enfermedades e incrementar la productividad de los cultivos disminuyendo los riesgos y pérdidas de los sistemas agrícolas. El uso generalizado de tales productos se debe a las propiedades biocidas y selectividad que poseen; por ello, constituyen el método habitual de lucha contra las plagas, (Pérez, Navarro y Miranda, 2013). Durante la década de los 30 y hasta nuestros días son muy utilizados en la industria agrícola a nivel mundial y han tenido notables consecuencias nocivas de carácter mutagénico y canceroso (Pabuena, et al., 2015) debido a su persistencia y residualidad que se acumula en tejidos humanos (Thomas, et al., 2017), por lo que surge la necesidad de investigar el uso de dichas sustancias y sus repercusiones en los consumidores.

Estas sustancias químicas se utilizan en frutas, verduras, trigo, arroz, aceitunas y canola destinada para aceite y en cultivos no alimentarios, tales como algodón, césped y flores. La alta demanda en el uso de plaguicidas genera consecuencias que afectan los ecosistemas ocasionando desequilibrios debido a la residualidad que se genera en los alimentos (Bempah, Agyekum, Akuamoah, Frimpong, y Buah-Kwofie, 2016; Castro,

2005). Además, la manipulación y aplicación de plaguicidas puede ocasionar riesgos para el ser humano, ya sea por ser usuario o consumidor de vegetales, frutas y productos tratados, así como afectar el propio cultivo y su entorno, el ganado, la fauna terrestre y acuícola, y en definitiva el equilibrio ecológico dejando residuos de plaguicidas en el suelo durante años, (Barron, y otros, 2017).

El uso dado a los plaguicidas ha sido múltiple y variado, esto es debido a que las tierras de cultivo del mundo son limitadas y la población está creciendo constantemente, lo que conlleva a realizar todos los esfuerzos para aumentar la producción de cultivos con el fin de garantizar la seguridad alimentaria (Zhang, 2008). De igual forma, sin el uso de plaguicidas, el rendimiento y la calidad de los cultivos pueden ser severamente reducidos por malas hierbas, plagas y enfermedades, lo cual ocasionaría pérdidas de más del 50% de los cultivos vegetales por daño de plagas (Wang, Wang , Huo y Zhu, 2015), lo que indica que los plaguicidas son, por lo tanto, indispensables en la producción agrícola moderna. Actualmente, hay más de 865 plaguicidas registrados en todo el mundo (Wanwimolruk , Kanchanamayoon, Phopin, y Prachayasittikul, 2015). Ahora bien, el hecho que los compuestos químicos reduzcan los daños ocasionados por la plaga en los cultivos, no justifica que se utilicen indiscriminadamente, sin regirse por la normativa vigente y sobrepasando los límites máximo permitidos, ocasionando consecuencias residuales en los alimentos, si no en el consumidor, en la fauna y la flora de todo el entorno. En la siguiente tabla se muestra la diversidad de aplicaciones que tienen los pesticidas.

El tema de los residuos de plaguicidas en los alimentos representa un tema polémico y complicado de interés para los consumidores, productores y procesadores de alimentos, reguladores, legisladores y científicos de todo el mundo. Los niveles permisibles de residuos de plaguicidas en los alimentos, conocidos como tolerancias en los Estados Unidos y como límites máximos de residuos (LMR) en gran parte del mundo, se perciben

ampliamente y de manera inapropiada como niveles de preocupación por la seguridad. (Codex Alimentarius, 1996). Por tal motivo y con el objetivo de proteger la salud de los consumidores y asegurar que se aplique al alimento solamente la cantidad mínima de plaguicida que se necesita, la legislación Colombiana sigue los Límites Máximos de Residuos (LMR's).

Tabla 4. Usos más frecuentes de los Plaguicida.

Actividad	Uso
Agricultura	Control de las múltiples plagas que afectan las cosechas en cualquiera de sus etapas.
Salud pública	Control de vectores de enfermedades como malaria, dengue, enfermedad de Chagas, oncocercosis, peste, fiebre amarilla, filariasis, tripanosomiasis, esquistosomiasis, leishmaniasis y tifo. Control de plagas (roedores) y erradicación de plantaciones cuyo producto final sea droga ilícita.
Ganadería y cuidado de animales domésticos	En la desinfección de ganado ovino y de animales domésticos como perros y gatos.
Tratamiento de estructuras	Tratamiento de edificios públicos y privados, oficinas, hospitales, hoteles, cines, teatros, restaurantes, escuelas, supermercados, tiendas de departamentos, instalaciones deportivas, bodegas de almacenamiento de alimentos y en la industria ferroviaria y de navegación marítima y aérea.
Mantenimiento de áreas verdes	Tratamiento de parques, jardines, áreas de recreo, campos de golf y autopistas, vías férreas, andenes, torres con líneas de alta tensión y postes.
Mantenimiento de reservas de agua	Tratamiento de grandes reservas de agua, naturales o artificiales, presas, embalses, diques, depósitos, estanques piscícolas, canales, albercas y piscinas
Industria	En la fabricación de neveras, equipos eléctricos, pinturas, resinas, pegamentos, pastas, ceras, líquidos limpiametales, tiendas de campaña, velas para navegación, redes para deporte, tapetes, alfombras y tapices, en la industria de la madera, materiales para embalaje de alimentos, cartón y múltiples productos de papel. En la industria de la alimentación, para la preservación de alimentos frescos como carnes, pescados, etc
Hogar	Incorporados en productos como cosméticos, champús, jabones y repelentes de insectos. Se usan en el lavado y secado de alfombras, en desinfectantes caseros y en productos para el cuidado de mascotas y plantas, además del uso de insecticidas

Nota: Adaptado y tomado de Ramírez y Lacasaña, 2001; Moses , 1993.

En la tabla anterior se observa que el sector agrícola es uno de los que más emplea compuestos químicos como pesticidas para mitigar la proliferación de plagas que merman la calidad y cantidad de las cosechas de alimentos; realizando un consumo del 85% de la producción mundial de este producto. Su empleo indiscriminado, dependiendo de la toxicidad, el tiempo y el tipo de exposición se ha convertido en una problemática a nivel del país ya que ha dificultado el acceso a mercados internacionales, donde las normas son altamente restrictivas con respecto a la presencia de trazas de organoclorados, organofosforados y carbamatos en alimentos frescos o procesados. La preocupación de los consumidores con respecto a los residuos de plaguicidas ha dado lugar, en parte, al crecimiento sostenido de la industria de alimentos orgánicos, poniendo en tela de juicio el escrutinio reglamentario de las deficiencias percibidas en el muestreo de alimentos y en los métodos analíticos utilizados, (Winter y Jara, 2015).

El empleo de los plaguicidas como productos químicos para el control de plagas se hace conforme a las normas de inocuidad establecidas por los entes de control reglamentando límites máximos permisibles de residuos para que el riesgo a corto y mediano plazo en los consumidores sea mínimo (Tabla 5). Sin embargo, en ocasiones los límites son rebasados, o bien, se tiene la presencia de varios residuos en un mismo producto, y pese a que las concentraciones estén por debajo de los valores aceptables, el riesgo potencial se incrementa al considerarse un efecto aditivo y perjudicial para la salud, como es el caso de la fresa, la cual es considerada una de las frutas con mayor contenido de plaguicidas y se encuentra dentro de lista de alimentos clasificados como “*docena sucia*” por la Environmental Working Group (EWG), (Winter y Jara, 2015).

Tabla 5. Límite Máximo de Residuos (LMRS's) en (mg/kg) de Pesticidas Organoclorados en diferentes grupos de Alimentos.

Grupo de Alimento	Aldrin and Dieldrin ^a	DDT (sum of p,p'-DDT, o,p'-DDT, p-p'-DDE and p,p'-TDE (DDD) ^b	Endosulfan (sum of alpha- and beta-isomers and endosulfan-sulphate) ^c	Endrin	Heptachlor (sum of heptachlor and heptachlor epoxide) ^d
Frutas Frescas o Congeladas y Nueces de árbol	0.01*	0.05*	0.05*	0.01*	0.01*
Vegetales Frescos o congelados	0.01*	0.05*	0.05*	0.01*	0.01*
Legumbres	0.01*	0.05*	0.05*	0.01*	0.01*
Semillas oleaginosas	0.02	0.05*	0.1*	0.01*	0.01*
Cereales	0.01*	0.05*	0.05*	0.01*	0.01
Té	0.02*	0.2*	30	0.01*	0.02*
Granos de Café	0.02*	1	0.1*	0.01*	0.02*
Infusiones de diferentes hiervas	0.02*	0.5	0.1*	0.1	0.1
Espicias	0.1	1	1	0.1	0.1
Plantas de azúcar	0.01*	0.05*	0.05*	0.01*	0.01
Productos de Origen Animal – Residuos animales	0.2	1	0.05*	0.05	0.2
Lácteos	0.006	0.04	0.05*	0.0008	0.004
Huevos de diferentes aves	0.02	0.05	0.05*	0.005	0.02
Productos de miel y otros productos apícolas	0.01	0.05	0.01*	0.01	0.01
Anfibios y Reptiles	0.01	0.05	0.01*	0.01	0.01
Animales invertebrados terrestres	0.01	0.05	0.01*	0.01	0.01
Animales vertebrados terrestres silvestres	0.01	0.05	0.01*	0.01	0.01

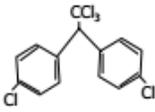
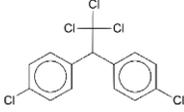
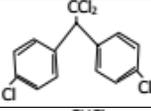
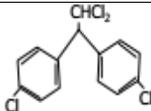
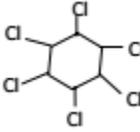
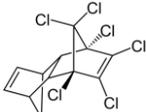
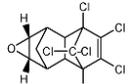
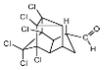
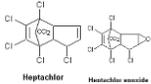
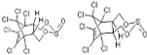
Nota: (*) Indica el límite inferior de la determinación analítica. Legislación: ^aReg. (EC) No 839/2008, ^bReg. (EC) No 149/2008, ^cReg. (EU) No 310/2011, ^dReg. (EC) No 149/2008, ^eReg. (EC) No 149/2008. Adaptado y tomado de Codex Alimentarius, 2008.

Esta investigación se centra en el estudio de los pesticidas Organoclorados, los cuales al ser compuestos orgánicos, tienden a reducir su reactividad. Esta estabilidad se

manifiesta como una persistencia en el medio ambiente, que se incrementa a cloración del compuesto, por ejemplo; el diclorobenceno no es demasiado persistente, pero sí lo es mucho más el hexaclorobenceno. El gran tamaño y masa del átomo de cloro resulta en una gran molécula que tiene una presión de vapor muy reducida, incrementa el punto de ebullición y reduce la solubilidad en agua (Garrido, 1988 en García Cambero , 2002). La adición de átomos de cloro incrementa así la partición de los lípidos y por consiguiente, la bioconcentración, al igual que la liposolubilidad y la estabilidad de estos compuestos facilitan su acumulación en los tejidos grasos, asimismo, una propiedad común de los derivados Ciclodiénicos, es su gran persistencia en el medio ambiente y de modo especial su identidad de comportamiento biológico al ser transformados en sus epóxidos; así el aldrín pasa a dieldrín y el heptacloro a heptacloro epóxido tanto en el suelo como en animales o en sistemas biológicos. Si bien se puede rastrear el empleo de sustancias para proteger las cosechas desde la antigüedad, el concepto moderno de plaguicida surge en el siglo XIX en que se sintetizaron múltiples sustancias cuyas propiedades tóxicas e insecticidas se descubrieron y utilizaron más adelante.

La investigación de compuestos arsenicales dio lugar al empleo del arsenito de cobre para combatir un tipo de escarabajo en EE.UU., y la extensión de su empleo promovió la primera legislación conocida sobre pesticidas en el año 1900. El diclorodifeniltricloroetano (DDT), sintetizado en 1874, demostró su potencia insecticida en 1939 y comenzó a ser utilizado como tal en 1942. El hexaclorociclohexano (HCH), sintetizado en 1825, se usó como gas de guerra en la 1ª Guerra Mundial y como insecticida en 1942. A partir de la 2ª mitad del siglo XX se acelera la síntesis de productos organofosforados (dimefox en 1949, malation en 1950) y de carbamatos (carbaryl en 1956, aldicarb en 1965) (Costa, Galli, y Murphy, 1986 en Ferrer, 2003). La Tabla 6 muestra una recopilación de las características de los pesticidas organoclorados, las cuales permiten deducir el grado de peligrosidad de los mismos.

Tabla 6. Características de algunos Pesticidas Organoclorados.

Grupo de Organoclorados al que pertenece	Nombre del Pesticida	Estructura Química	Propiedades	Usos
DDT	DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano)		Insoluble en agua, se descompone lentamente con rayos uv, se descompone a 100°C (Matsumura, 1985), capaz de persistir durante años en los sistemas acuáticos y terrestres. (Dimond, Getchell, y Blease, 1971; Ma, et al., 2016)	Plaguicida, obtención de mayores rendimientos y mejora de la calidad en las cosechas
Análogos del DDT	Metoxicloro		Es el análogo más conocido y empleado, no se acumula en los tejidos grasos ni pasa a la leche, se metaboliza rápidamente (Barbera C. , 1989), y menos tóxico que el DDT (Matsumura, 1985).	Tratamientos ganaderos y sobre vacas lecheras.
	DDE (Dicloro Difenil Etano)		Es menos tóxico que el DDT (Matsumura, 1985), es el primer metabolito del DDT y es capaz de persistir durante años en los sistemas acuáticos (Dimond, Getchell, y Blease, 1971; Ma, y otros, 2016)	Metabolito derivado del uso del DDT
	DDD (Dicloro Difenil Dicloroetano)		Es de 0.1 a 0.2 veces menos tóxico que el DDT (Matsumura, 1985), es el segundo metabolito del DDT y es capaz de persistir durante años en los sistemas acuáticos (Dimond, Getchell, y Blease, 1971; Ma, et al., 2016)	Metabolito derivado del uso del DDT.
HCH Ó BHC	HCH (Hexaclorociclohexano) ó BHC (Hexacloruro de benceno)		Tiene 4 isómeros, el isómero gamma (lindano) es muy estable al calor, posee alta presión de vapor, lo que permite que pueda ser vaporizado mediante calor externo sin descomposición apreciable (Raldúa Pérez, 1995). Es el hexaclorociclohexano isómero gamma y pertenece a la tercera categoría toxicológica, por lo que su exposición provoca tenues manifestaciones de intoxicación aguda (Mendoza Patiño & León Rodríguez, 2005).	Plaguicida, obtención de mayores rendimientos y mejora de la calidad en las cosechas.
Derivados Ciclodienicos	Aldrin		Es uno de los pesticidas más persistentes que se conocen, cuando entra en el medio ambiente, la luz solar, las bacterias, las plantas y los animales lo transforman a dieldrín. (Raldúa P, 1995).	Fue utilizado como pesticida para maíz y algodón pero en 1987 la Agencia de Protección Ambiental (EPA) lo prohibió por su alta toxicidad
	Dieldrín		Es un pesticida muy persistente, solo con tratamientos con ácidos fuertes a largas exposiciones a luz uv se descompone (Barberá, 1989), se degrada lentamente en el medio ambiente o se almacena en grasa eliminándose muy lentamente.	Fue utilizado como pesticida para maíz y algodón pero en 1987 la Agencia de Protección Ambiental (EPA) lo prohibió por su alta toxicidad
	Endrín		Se degrada fácilmente por el calor y la luz, pero en determinadas condiciones perdura hasta 10 años. Es elevadamente tóxico, no se disuelve bien en agua, por lo que su descomposición es en los sedimentos. Con altas temperaturas y luz se puede transformar en aldehído (Barberá, 1989).	Se ha utilizado para controlar insectos, roedores y pájaros (Matsumura, 1985).
	Heptacloro		Es un producto químico sintético. En el ambiente no se disuelve bien en agua, se une fácilmente a moléculas sólidas en suspensión y se evapora lentamente. Lo más común es que se convierta en epóxido, el cual es más tóxico que el heptacloro. Este epóxido permanece en suelo y agua durante muchos años (Barberá, 1989).	Se usó en el pasado contra insectos y plagas en el maíz, pero en 1988 su uso fue prohibido por la Agencia de Protección Ambiental (EPA).
	Endosulfán		Cuando se aplica, las moléculas en aerosol pueden viajar a largas distancias por el aire. No se disuelve bien en agua, por lo que en un medio acuático se une a los sedimentos, con lo que tarda años en destruirse del todo (Raldúa, 1995). En mamíferos se transforma en endosulfán-diol (endosulfán 2), de baja toxicidad y en parte, también se forma sulfato de toxicidad similar a la del endosulfán (Barberá, 1989)	Es muy usado en el control de insectos en alimentos, cultivos no alimentarios y como protector de la madera (Matsumura, 1985).

Nota: Adaptado y tomado de García, 2002.

Métodos e Investigaciones para Determinación de Pesticidas Organoclorados.

Debido a su amplio uso, estabilidad, toxicidad selectiva y bioacumulación, los plaguicidas están entre las sustancias más tóxicas que contaminan el medio ambiente. Son particularmente peligrosos en las frutas y hortalizas, por las cuales las personas están expuestas a ellos. Por lo tanto, es fundamental vigilar los residuos de plaguicidas en las frutas y hortalizas utilizando todos los métodos analíticos disponibles, (Fenik, Ankiewicz, y Biziuk, 2011).

Recientemente, en la literatura se ha reportado diferentes métodos modernos en la extracción de los plaguicidas de matrices de frutas y vegetales, como las hortalizas, se han empleado las técnicas de extracción como:

Extracción en fase sólida, SPE (Ambrus , et al., 2005; Carabias-Martínez , Rodríguez-Gonzalo , Miranda-Cruz, Domínguez-Álvarez, y Hernández-Méndez, 2007; X. Yang, et al., 2011; Zhao, et al., 2016); microextracción en fase sólida SPME (Chai y Tan, 2009; Hirahara , et al., 2005; Li, Wang, Yan, Li, y Pan, 2016), extracción en fase sólida dispersa, SPDE (Escalona, Galarraga, Fernández, Centeno, Velásquez, y Pérez, 2012; Farajzadeh, Yadeghari, y Khoshmaram, 2017; Liu, Kong, Gong, Miao, Qi, y Yang, 2015); extracción con disolventes, LLE (Banerjee, et al., 2012; Duodua, Goonetillekeb, y Ayoko, 2016; Escuderos M., Santos D., Rubio B., y Polo D., 2003; Musaiger , Al-Jedah , y D' Zousa, 2008;); extracción con fluidos súper crítico SFE (Mohamed , EL-Saeid, Saleh, y AL-Dosari, 2010; Poustka, Holadová, y Hajšová, 2003; Rissato, Galhiani, y Gerenutti, 2005; Velasco, Villada, y Carrera, 2007); extracción asistida con ultrasonidos, AUE (Rodríguez-Gonzalo, Carabias-Martínez, Miranda-Cruz, Domínguez-Alvarez, y Hernández-Méndez, 2009); extracción asistida con microondas, MAE y SPE (Farajzadeh, Asghari, y Feriduni, 2016; Fuentes E, Báez y Díaz, 2009; Wang, Ding, y Ren, 2016); extracción con membranas permeables-MPE (van Pinxteren , Bauer , y Popp , 2009) y extracción acelerada con disolventes, ASE ((Cervera, et al.,, 2010; Mijangros R., 2010),

los cuales reducen el tiempo de análisis, permiten poca manipulación de la muestra y minimizan el volumen del solvente, (Trtic-Petrovic, Dordevic, Dujakovic, Kumric, Kavasiljevic, y Lausevic, 2010 en Pérez, Salas, y Amaro, 2015).

Para desarrollar correctamente estas metodologías se debe tener presente las características de las muestras objeto estudio y las propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas en contacto con la matriz, así como en el proceso de extracción y análisis instrumental. Es esencial emplear las técnicas y metodologías que permitan obtener resultados reproducibles, confiables y puedan emplearse en análisis de rutina, esto implica utilizar técnicas de extracción adecuadas y establecer las condiciones apropiadas de operación de los equipos disponibles (Tabla 7).

Debido a la gran problemática que ha surgido con la utilización de pesticidas y a la importancia de determinar la presencia de estos en muestras de alimentos, ambientales y biológicas, algunas instituciones gubernamentales han diseñado una serie de métodos analíticos para la determinación de plaguicidas que permitan cuantificar concentraciones iguales o inferiores a los valores de LMR establecidos para cada uno de los diferentes contaminantes presentes en la matriz objeto estudio.

Tabla 7. Técnicas de extracción, Limpieza y detección de Plaguicidas en hortalizas, frutas y cereales.

Cultivos	Plaguicidas analizados	Método preparación/ Extracción	Limpieza/ concentración de la muestra	Solventes utilizados	Detección Analítica	Autor
Hortalizas (7)*	5	MSPD	Carbón activado/Sílica gel/evaporación	Diclorometano	GC-ECD	Aldana et al. 2001
Frutas (1)	7	Molienda, filtración	LLE, evaporación	Acetona	GC-MS	Aldama 2008
Hortalizas (3)	3	LSE / Na SO ₄ / NaCl / solvente	Filtración/evaporación	Acetato de etilo	HPLC	Baig <i>et al.</i> 2009
Frutas y Hortalizas (400)	14	MSPD	DSPE/homogenización	Acetato de etilo.	GC-MS	Bempah, Agyekum, Akuamoa , Frimpong, y Buah-Kwofie, 2016
Hortalizas (3) Frutas (1) Cereales (3)	118	Homogeneizador (Solvente/NaCO ₃ / NaHC ₃)	Filtración / evaporación / SPE	Acetato de etilo	TLC	Ambrus <i>et al.</i> 2005
Hortalizas (3) Frutas (2)	349	QuEChERS®	DSPE	Acetato de etilo	GC-ESI-MS/ MS	Banerjee <i>et al.</i> 2012
Hortalizas (4)	9	Homogeneizador (Solvente / NaHCO ₃ / Na ₂ SO ₄)	SPE/evaporación	Acetato de etilo	GC-ECD	Bempah <i>et al.</i> 2012
Hortalizas (6) Frutas (3)	121	QuEChERS® Modificado	Solvente + Mezcla de sales	Acetonitrilo	GC-MS/MS (QqQ)	Camino-Sánchez 2011
Hortalizas (1) Frutas (2)	130	ASE	ASE/vacío N ₂ /GPC	Acetato de etilo	GC-MS/MS (QqQ)	Cervera <i>et al.</i> 2010
Hortalizas (5); Frutas (1) Cereales (1)	6	PLE	SPE/evaporación N ₂	Diclorometano / acetona / hexano	HPLC/NACE	Carabias-Martínez <i>et al.</i> 2007
Hortalizas (7)	15	MSPE	SPE multicapa GCB / PSA	Acetona, tolueno, acetonitrilo	GC-ECD	(Farina Y. , Abdullah, Bibi, & Khalik, 2017)
Hortalizas (4) Frutas (5)	239	Homogeneizador (Solvente/NaCl)	SPE/evaporación	Acetonitrilo + NaCl	GC/MS	Fillion <i>et al.</i> 2000
Hortalizas (6) Frutas (2)	31	Homogeneizador (Solvente/NaSO ₄)	Filtración/evaporación	Acetato de etilo	LC-ESI-MS-MS	Garrido <i>et al.</i> 2004

Tabla 7. Continuación

Cultivos	Plaguicidas analizados	Método preparación/ Extracción	Limpieza/ concentración de la muestra	Solventes utilizados	Detección Analítica	Autor
Hortalizas (2)	9	Homogeneizador	SPE	Acetona / acetoniilo/tolueno/ NaCl / MgSO4/hexano	GC	Godínez 2005
Hortalizas (3*)	23	LSE	SPE/evaporación	Acetonitrilo	GC-ITMS	González-Rodríguez <i>et al.</i> 2008
Hortalizas (5) Frutas (1) Otros (5)	186	Ablandador. LSE	Filtración/Vacío MSPE	Acetato de etilo	GC-FPD, GC-NPD, GC- ECD	Hirahara <i>et al.</i> 2005
Hortalizas (1) Frutas (18)	30	LSE, QuEChERS®	GCP, SPE, MSPD	Acetona, acetato de etilo, ciclohexano, diclorometano	GC-ECD, GC-NPD, GC- ITD, GC-MS y GC- MS/MS; LC-MS/MS	Hjorth <i>et al.</i> 2011
Hortalizas (1)	12	LSE con Agitación, LLE	Sílica gel, NaSO ₄ , carbón activado	Acetona, diclorometano, hexano / vacío	GC-ECD, GC- FTD, GC-MS	Mandal y Singh,2010
Hortalizas (12) Frutas (18)	57	LSE+NaSO ₄ , Filtración	Filtración y evaporación	Acetato de etilo	LC-MS/MS	Jansson <i>et al.</i> 2004
Hortalizas (3) Frutas (11)	60	QuEChERS®	Centrifugación / evaporación	Acetonitrilo	LC-ESI-MS	Kmellár <i>et al.</i> 2008
Hortalizas (4) Frutas (4)	229	QuEChERS®	SPE/evaporación	Acetonitrilo	GC-MS; LC-MS/MS	Lehotay <i>et al.</i> 2005
Fruta (1)	19	Filtración	GCP/homogenización	Acetato de etilo	GCAR-μECD/NPD	(Montaño Garcés y Guerrero Dallos, 2001)
Hortalizas (1306) ** Frutas (1265)	74	LSE-Agitación	Centrifugación / evaporación/filtración	Acetato de etilo	LC-ESI-MS/ MS	Ortelli <i>et al</i> 2004
Hortalizas (3) Frutas (2)	22	SFE	SFE	CO ₂	GC-NPD, GC- ECD	Poustka <i>et al.</i> 2003

Fuente: Maldonado O., 2017

Tabla 7. Continuación

Cultivos	Plaguicidas analizados	Método preparación/ Extracción	Limpieza/ concentración de la muestra	Solventes utilizados	Detección Analítica	Autor
Hortalizas (1)	6	LSE	SPE/evaporación N ₂	Diclorometano/ acetona /hexano	HPLC/NACE	Rodríguez-Gonzalo et al. 2009
Hortalizas (19)* Frutas (10)	72	LSE, MAE	MSPD/Centrifugación	Acetona / Acetonitrilo (1:1), Ác. Acético	GC-MS	Satpathy <i>et al.</i> , 2011
Hortalizas (4) Frutas (3)	100	LSE	SPE/evaporación	Etanol: Acetonitrilo (9.5:0.5)	GC-MS/MS	Sheridan y Meola 1999
Hortalizas (1) Frutas (2)	90	LSE	SPE/evaporación SPE/columna DEA	Acetona	GC-MS	Štajnbaher y Zupančič-Kralj 2003
Hortalizas (1) Frutas (2)	175	QuEChERS®	---	Acetonitrilo	LC-MS/MS	Sungura y Tunur 2012
Hortalizas (5)	6	MSPD	SPE, Carbón activado, celita	Hexano, diclorometano	GC-FPD	Valenzuela-Quintanar <i>et al.</i> 2006

Nota: * El valor se refiere al número de cultivos estudiados; ** el valor se refiere al número de muestras analizadas de cada grupo de cultivos. SPE: Extracción en fase sólida, TLC: Cromatografía en capa fina, PCBs: Bifenilospoliclorados, PAHs: Hidrocarburos aromáticos poliacíclicos, DSPE: Extracción en fase sólida dispersiva, GC: Cromatografía de gases, ESI: ionización electrospray, MS: espectrometría de masas, ECD: Detector de captura de electrones, (QqQ): Triple cuadrupolo, GPC: Cromatografía de permeación en gel, LSE: Extracción líquido sólido, ITMS: espectrometría de masas con trampa de iones, MSPD: Dispersión de la Matriz en fase sólida MSPE: Microextracción en fase sólida, FDP: Detector fotométrico de flama, NPD: Detector de fósforo y Nitrógeno, ITD: Detector de trampa de iones, LC: Cromatografía Líquida, FTD: Detector termiónico de flama, MAE: Extracción asistida con microondas, DEA: Dietilaminopropil, SFE: Extracción con fluidos supercríticos, NACE: Electroforesis capilar en medios no acuosos, PLE: extracción con líquidos presurizado.(Maldonado, 2017)

Método QuEChERS.

(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), siendo este según sus siglas; rápido, fácil, económico, efectivo, robusto y seguro para la extracción de una amplia gama de plaguicidas en matrices de frutas y verduras con un alto porcentaje de humedad. Este nuevo método de preparación de muestras surgió de la necesidad de desarrollar métodos multiresiduos rápidos y económicos que proporcionen resultados de gran calidad y fiabilidad (Rejczak y Tuzimski, 2017; Socas-Rodríguez, González-Sálamo, Herrera-Herrera, Hernández-Borges, y Rodríguez-Delgado, 2017). Es un método muy aplicado a nivel mundial para la determinación de residuos de pesticidas en alimentos, debido a las múltiples ventajas que presenta ya que a través de un procedimiento sencillo, las muestras se preparan para el análisis de las muestras mediante GC, GC/MS o LC, LC/MS. QuEChERS, utiliza menor cantidad de muestra, en menos de 30 minutos, el analista es capaz de realizar dos o más extracciones al tiempo, no se requiere gran cantidad de material de vidrio y la cantidad de pasos de extracción se disminuye.

Un amplio espectro de plaguicidas ha sido analizado usando QuEChERS, incluyendo plaguicidas no-polares, polares y planares (Anastassiades, Lehotay, Stajnbaher, y Schenck, 2003; AOAC Official Method, 2007; Páez y Martínez, 2015), ocupando una posición relevante en el análisis de residuos de plaguicidas. Las características inicialmente propuestas para nombrar el método (rápido, fácil, barato, eficaz, robusto y seguro) proporcionan numerosos beneficios desde un punto de vista analítico, y este aspecto ha llevado a su aplicación en la mayoría de los laboratorios oficiales para el análisis de este tipo de residuos. De igual forma, se han determinado efectivamente otros grupos diferentes de compuestos con especial interés en los campos medioambiental, alimentario y biológico en una amplia variedad de matrices complejas.

caso del método 2007.01 (AOAC 2007) en el cual se utiliza acetonitrilo con un 1% en ácido acético para formar un tampón con acetato de sodio, lográndose obtener un pH alrededor de 4,5 y se elimina la adición de NaCl. Otra modificación del método QuEChERS fue realizada por Anastassiades (2003) y se validó por la European Committee for standardization(CEN) como el método estándar EN 15662, en donde se utilizó buffers citrato (BS EN 15662:2008 2008).



Figura 3. Modificaciones Método QuEChERS. (2016)

Técnicas Cromatográficas.

La elección de una técnica analítica adecuada para la determinación de plaguicidas depende de una variedad de factores incluyendo propiedades de los analitos, efectividad, rapidez, fiabilidad, selectividad y sensibilidad, coste, disponibilidad, compatibilidad con el medio ambiente y capacidad de análisis. En la actualidad, la cromatografía de gases (GC) es la técnica más ampliamente utilizada para el análisis multiresidual de plaguicidas en diversas matrices, dada su elevada sensibilidad y selectividad en la detección de este tipo de compuestos. Sin embargo, la incompatibilidad de algunos plaguicidas con la GC

debido a su inestabilidad térmica, elevado peso molecular, baja volatilidad y/o alta polaridad, hace que muchos de estos compuestos no estén incluidos en los métodos multiresiduo al no poder determinarse fácilmente por GC. Este inconveniente se puede solventar en algunos casos introduciendo una etapa de derivatización previa a la inyección, aunque esta etapa suele ser larga y tediosa e incluso puede conducir a resultados menos precisos. Como consecuencia, se ha incrementado la utilización de técnicas cromatográficas alternativas para la determinación de este tipo de compuestos; es el caso de la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

La determinación analítica de plaguicidas en frutas, vegetales y hortalizas ha sido revisada por varios autores, quienes indican que en la mayoría se han empleado las técnicas cromatográficas acopladas a un sistema de detección y/o analizador, y con menor frecuencia las técnicas electroquímicas, inmunoensayos, electrocromatografía, biosensores de iones y electroforesis capilar (Ahmed , 2001; Fenik , Tankiewicz y Biziuk, 2011; Lambropoulou y Albanis , 2007; Sharma, Nagpal , Pakade , y Katnoria , 2010; Soler y Picó, 2007). Pérez, Navarro y Miranda (2013) realizaron una revisión bibliográfica de las técnicas cromatográficas utilizadas en el análisis de plaguicidas en frutas y vegetales (incluidas hortalizas), y con base a diferentes publicaciones científicas recientes, describen que las técnicas más empleadas son:

- ***Cromatografía de gases-espectrometría de masas*** (Fillion, Sauve y Selwyn., 2000; Guerrero y Herrera, 2016; Lehotay, 2005). En 2010 Norli, Christiansen, y Holen, realizaron una evaluación independiente de un programa de reporte por deconvolución Deconvolution Reporting Software (DRS, por sus siglas en inglés) que emplea AMDIS como núcleo para el análisis de residuos de plaguicidas poniendo a prueba la capacidad para detectar plaguicidas en el rango de 20 a 100 µg/kg en frutas y hortalizas. (Philip, Wylie , y Meng, 2004). El estudio mostró resultados aceptables teniendo en cuenta las frecuentes dificultades al analizar plaguicidas volátiles “problemáticos”. Del mismo

modo, Mezcua Mezcua, Martínez-Uroz, Wylie, y Fernández-Alba, en 2009 ejecutaron un screening automatizado empleando DRS para el análisis de diferentes matrices al tomar en consideración una lista prioritaria de plaguicidas. Conforme a los resultados encontrados por AMDIS, los investigadores definieron un Límite de Identificación (LI) el cual aseguraba una relación señal-ruido (S/N) mayor que 10. Cabe mencionar que en este estudio se empleó el método QuEChERS con el objetivo de evitar las interferencias de matriz y mantener altos porcentajes de recuperación (más del 95% de los compuestos entre 80-110%). Un ensayo posterior de identificación mostró que algunos compuestos problemáticos tenían puntajes de comparación entre el 70-90% de coincidencia, aunque sólo el 3% del total de los puntajes para las determinaciones estuvieron por debajo del criterio 70%. Aun así, es importante aclarar que la sensibilidad baja es el principal obstáculo para este tipo de técnicas automatizadas en el análisis de residuos que emplean modo scan, puesto que sin importar qué tan bien se haya purificado un extracto, el perfil de la matriz siempre tendrá una influencia significativa en las intensidades de los iones del analito, y en estas condiciones el método de comparación podría fallar por contaminación del espectro del analito con compuestos endógenos coeluyentes en una separación incompleta.

- ***Cromatografía de gases-espectrometría de masas en tándem, GC-MS/ M:*** Es una técnica analítica dedicada a la separación, identificación y cuantificación de mezclas de sustancias volátiles y semivolátiles. La separación de dichas sustancias depende de la diferente distribución de las sustancias estudiadas entre las fases móvil y estacionaria que conforman el sistema. Una vez separadas las sustancias son fragmentadas y analizadas en función de su patrón de fragmentación, el cual puede ser comparado con información contenida en una base de datos de espectros de masas para su identificación preliminar. La identificación definitiva, así como la cuantificación de cada sustancia debe hacerse mediante el empleo de sustancia de referencia. (Camino-Sánchez, y otros, 2011; Hjorth , y otros, 2011; Wylie y Meng, 2008).

- ***Cromatografía de gases – espectrometría de masas con cuadrupolo de ionización de triple impacto de electrones, GC-EI-MS/MS*** (Banerjee, Mujawar, Utture, Dasgupta, y Adsule, 2013).

- ***Cromatografía de gases-espectrometría de masas de trampa de iones, GC-MS-TI*** (Hjorth et al, 2011); Una desventaja de la TI es la vulnerabilidad a efectos producidos por iones cargados, lo que afecta la calidad del espectro de masa, incluyendo la resolución y la precisión de la masa; además, pueden realizar un solo tipo de monitoreo: el escaneo de un ión seleccionado. Adicionalmente, las IT necesitan etapas intermedias asociadas al tiempo requerido para sostener y mover iones. Por lo anterior, este analizador y los analizadores de ciclotrón iónico, permiten estudios MS_n, donde cobra relevancia hasta valores de 4.

Cromatografía de gases-espectrometría de masas de tiempo de vuelo, GC-MS TOF (Ferrer I. y Zweigmenbaum, 2011); ***Cromatografía de gases con detector NPD*** (Escuderos-Morenas et al.2003, Hjorth et al. 2011): el NPD se utiliza para plaguicidas nitrogenados y fosforados, siendo bastante común su uso en la detección de plaguicidas organofosforados (Fenoll, Hellín, López, y González, 2007; Wang, Liang, y Jiang, 2008). Estos detectores son bastante sensibles y selectivos, pero requieren extractos muy limpios por lo cual es necesario efectuar previamente una etapa de limpieza (cleanup) adecuada.

Cromatografía de líquidos de alta precisión, HPLC. En la década de los 80 se comenzó a potenciar el uso de la LC y, desde entonces, su aplicación en el campo del análisis de residuos de plaguicidas se ha extendido considerablemente (Hogendoorn y van Zoonen, 2000). La diversidad de detectores, ultravioleta (UV), diodos integrados (DAD), fluorescencia (FD), electroquímico, MS, etc., así como la variedad de columnas disponibles y la posibilidad de llevar a cabo gradientes de elución más o menos complejos han incrementado la cantidad de estudios relacionados con el análisis de plaguicidas mediante esta técnica (Palamareva, 2005; Tang , Page , Kelly , y Marginean ,

2010; Vogeser y Seger, 2008). Los avances recientes en el análisis de plaguicidas mediante LC se han centrado fundamentalmente en la obtención de separaciones más rápidas, de menor coste y mayor eficacia, con adecuadas sensibilidades y selectividades, así como en el uso de fases móviles menos tóxicas para el medio ambiente y para el operador. En este sentido, se han introducido mejoras en las columnas, en los sistemas de bombeo y en los sistemas de detección (principalmente el acoplamiento LC-MSn).

El desarrollo reciente de la cromatografía líquida de ultra-alta presión (UPLC) ha sido uno de los mayores avances realizados en cromatografía de líquidos, puesto que esta nueva técnica permite obtener un aumento en la velocidad de análisis, en la sensibilidad y en la resolución. Estas ventajas son consecuencia de las modificaciones llevadas a cabo en la tecnología de la columna y en la instrumentación: el uso de columnas relativamente cortas empaquetadas con fases estacionarias de tamaño de partícula inferior a 2,5 μm permiten disminuir el tiempo de análisis cromatográfico. De hecho, según la ecuación de Van Deemter, que describe la relación entre la velocidad de flujo y la altura de plato teórico de la columna, una disminución en el tamaño de la partícula lleva consigo un aumento en la velocidad de flujo sin pérdida de resolución cromatográfica.

Como consecuencia, se hace necesaria la aplicación de presiones superiores a las empleadas en LC convencional (hasta 15.000 psi, Swartz y Murphy, 2004), lo que lleva implícito una modificación en la instrumentación, principalmente en los sistemas de bombeo. En lo que respecta al uso de polímeros de impronta molecular (MIP) en HPLC para la determinación de plaguicidas, la mayor parte de trabajos se han centrado en la separación de compuestos quirales a partir de fases estacionarias quirales altamente selectivas (Hogendoorn y van Zoonen, 2000). Recientemente, los MIP se han utilizado en la separación de plaguicidas mediante HPLC en papas, maíz y guisantes (Tamayo y Martín-Esteban, 2005), en frutas, como naranja, limón, uva, fresa y zumo de naranja (Turiel y col., 2005), así como en manzana y plasma de rata (Hantash y col., 2006).

- ***Cromatografía de gases-espectrometría de masas de ionización térmica, GC-TIMS*** (González-Rodríguez et al. 2008); cromatografía líquida-espectrometría de masas de ionización electrospray (Garrido et al. 2004); cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (Garrido et al. 2004, Jansson 2004, Lehotay et al. 2005, Kmellár et al. 2008, Hjorth et al. 2011),

- ***Cromatografía de gases con detector de captura de electrones y/o detector fotométrico de flama, GC-ECD y GC FPD:*** Se emplea para identificar pesticidas organoclorados. Empleado en análisis de frutas, vegetales, jugos, cereales, especias, nueces, carne, pescado, queso, entre otros. Proveen resultados ambiguos. Está sujeto a interferencias por la matriz. (Bempah , Buah-Kwofe , Enimil , Blewub, y Agyei-Martey , 2012; Hirahara et al., 2005; Musaiger , Al-Jedah , y D' Zousa , 2008; Mandal y Singh , 2010; Sapahin, Makahleh , y Saad, 2015; Yu-feng , Xiao , y Feng-Shan , 2011); donde Rissato, Galhiane, y Gerenutti (2005) presentaron un método rápido y seguro para determinar 25 compuestos seleccionados de cuatro clases de pesticidas, teniendo como muestras: manzanas, uvas, peras y fresas frescas, de supermercados locales. Utilizaron dos métodos de extracción: extracción sólido-líquido, usando acetona, y extracción con fluido supercrítico.

La limpieza de las muestras fue realizada con cartuchos de extracción de aminopropil seguido por análisis de cromatografía de gases acoplada con un equipo de detección de captura de electrones. La confirmación de los pesticidas fue realizada con un detector de espectrometría de masa usando un método selectivo de monitoreo de iones. La recuperación de la mayoría de pesticidas en las muestras fortificadas fue a un nivel de 0.04-0.10 mg/kg, fue de 77-96 % para ambos métodos. El método de extracción con fluido supercrítico presentó buen límite de detección (menor que 0.01 mg/kg, dependiendo del pesticida y de la matriz), lo que permitió concluir que el método minimizó los daños ambientales, tiempo y el trabajo de laboratorio.

Sistema Multisensorial.

Un sistema multisensorial está basado en sensores, los cuales pueden intentar imitar el comportamiento de los sentidos en el ser humano, el olfato y el gusto, (Ortiz, 2016). La investigación con sistemas multisensoriales data ya de aproximadamente 30 años y durante los años 80 los investigadores se centraron en una máquina con características olfativas que sería llamada nariz electrónica y que constaría de una gran variedad de sensores. En la actualidad, los sistemas multisensoriales son comparados constantemente con equipos de cromatografía o espectrometría para corroborar que los resultados obtenidos (data) sean confiables. Los datos obtenidos pueden ser analizados por diferentes técnicas: análisis de componentes principales (PCA), PLS, análisis de discriminación funcional, análisis de clúster, lógica difusa y redes neuronales.

Nariz Electrónica (NE).

Se define como un sistema de olfato electrónico utilizado como “instrumento que comprende una matriz de sensores químicos con sensibilidades solapadas y un avanzado sistema de reconocimiento de patrones capaces de identificar aromas simples y/o complejos” (Gualdron, 2006). Es un instrumento olfativo artificial que es capaz de realizar análisis cualitativos y/o cuantitativos de una mezcla de gases, vapores y olores, incluso cuando están presentes a concentraciones muy bajas (partes por billón). De los cinco sentidos, el olfato siempre ha sido el más difícil de definir y objetivizar; sin embargo, esto deja de ser un problema con las narices electrónicas, que crean huellas olfativas digitales objetivas, reproducibles y fiables. (Almengor, 2009)

El objetivo de este equipo es analizar cualitativamente aromas difíciles de percibir, reconociendo sus huellas olfativas, valorando los componentes de la muestra a analizar en todo su conjunto y no de una manera cuantitativa. (Lozano, Arroyo, Santos, Cabellos y Horrillo, 2008). Al igual que el sistema olfativo humano, su fin es relacionar

el aroma que se percibe con una respuesta que, tras ser almacenada en la memoria, servirá como modelo en ulteriores análisis (figura 4).

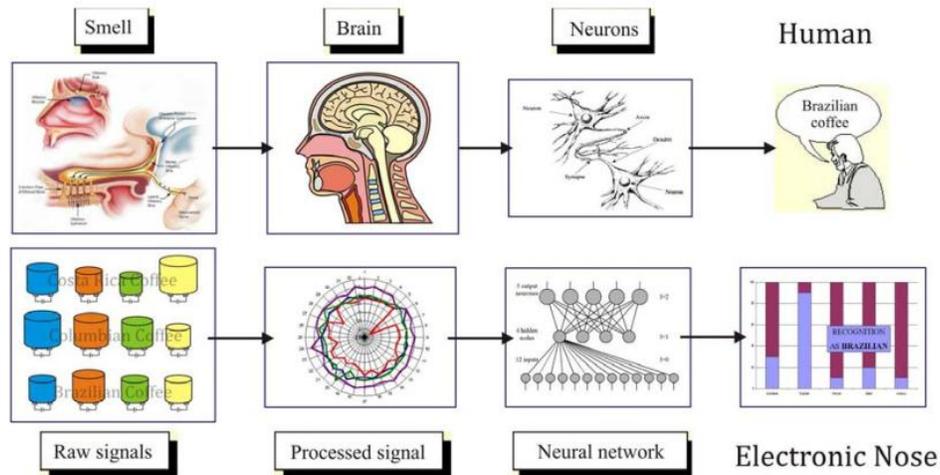


Figura 4. Comparación del sistema Olfativo Humano vs la Nariz Electrónica. (Tárrega, 2014)

El propósito general del sistema de sensores de una nariz electrónica es el de emular el sistema olfativo diferenciando adecuadamente los distintos tipos de volátiles que le sean requeridos, para la empresa alimentaría el uso de estos sistemas cada vez es mayor y está más en auge especialmente en el análisis sensorial de sustancias complejas. (Araque O., 2014).

Persaud y Dodd (1982), orientaron sus estudios en entender los procesos del olfato biológico, utilizando un conjunto de sensores semiconductores de óxidos metálicos, y luego ampliaron su investigación a sensores basados en polímeros conductores, mientras que, el otro grupo propuso un aparato para detectar, identificar y medir una amplia variedad de productos químicos y mezclas transportadas por ferrocarriles, barcos y camiones. Actualmente en la industria de alimentos se han realizado múltiples investigaciones con la utilización de la Nariz Electrónica para la clasificación de aromas y olores en diferentes productos, de ahí que el campo de aplicación se ha extendido al análisis en medio ambiente, medicina, seguridad y

agroindustria. En términos generales la nariz electrónica es un dispositivo compuesto por cuatro etapas funcionales: concentración y captura de los volátiles, electrónica de control, y procesamiento de la información. (Gualdron, Duran, Ortiz, y Araque, 2014).

Funcionamiento de la Nariz Electrónica.

Un sistema de olfato electrónico estándar está formado por tres elementos principales: un sistema de medición, compuesto por una técnica de extracción de aroma o sistema de flujo de aire, que transporta los compuestos volátiles de las muestras hasta un arreglo de sensores químicos que transforman la información recibida en señales eléctricas; un sistema de extracción de los rasgos característicos de la muestra analizada, mediante la cuantificación y transformación en datos de las señales de los diferentes sensores y un sistema de reconocimiento de patrones para identificar y clasificar el aroma de las muestras medidas (Lozano, Arroyo, Santos, Cabellos, y Horrillo, 2008; Quicazan, Díaz M., y Zuluaga D., 2011).

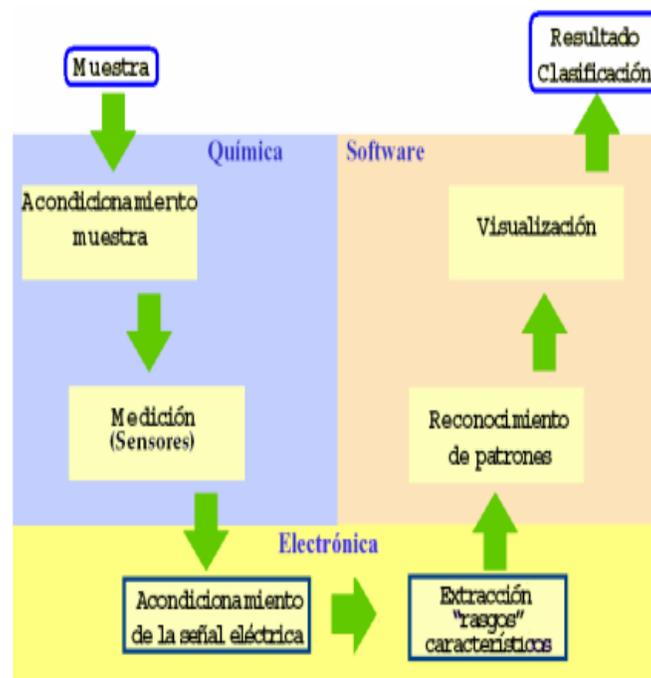


Figura 5. Secuencia para el análisis de aromas. Tomado de Gualdron (2006).

En la siguiente figura se muestra el esquema del módulo de muestreo en el que se pueden distinguir claramente los diferentes caminos que sigue el flujo de aire en cada una de las fases, el cual permanece constante en el momento que atraviesa la cámara de medida (donde se ubican los sensores). El procedimiento de medida en el módulo consta de tres fases bien diferenciadas: la fase de concentración, la fase de medida y la fase de reposo.

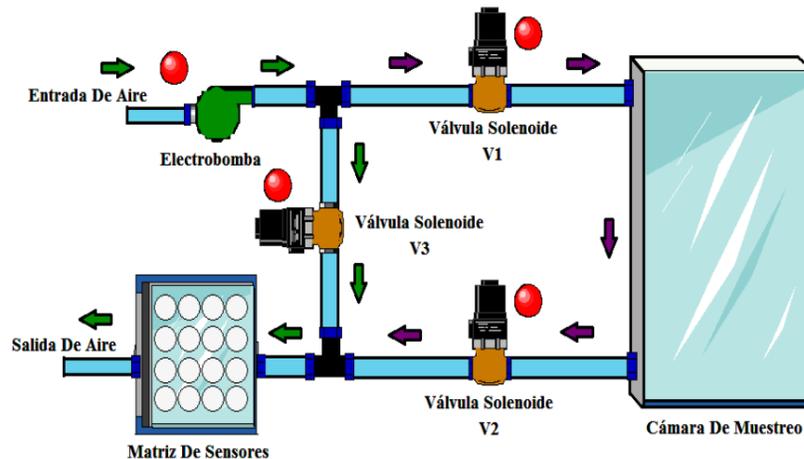


Figura 6. Esquema General de la Nariz Electrónica. Tomado de Ortiz (2016).

- **Fase de concentración y toma de muestra.** En esta fase, la bomba toma el aire del sitio donde se está trabajando y las electroválvulas lo conducen a través de la cámara de medida, posteriormente, el flujo de aire abandona el sistema y es devuelto al exterior sin circular a través de la cámara de concentración, ya que las electroválvulas han cerrado dicho camino con la finalidad de que se acumulen volátiles en su interior (flechas verdes de la figura). Esta fase puede durar aproximadamente entre 15 a 30 minutos, tiempo suficiente para acumular una gran concentración de volátiles y así obtener una buena señal de los sensores. Es importante tener en cuenta la manipulación de la muestra ya que es un paso crítico que afecta el análisis por NE. Para introducir los compuestos volátiles presentes en el espacio de cabeza de la muestra en el sistema de detección de las NE, se han desarrollado varias técnicas de muestreo tales como: espacio estático de cabeza,

purga y trampa, microextracción en fase sólida, extracción sobre barras magnéticas (SBSE), membrana introducción espectrometría de masas y aguja interna de extracción dinámica. La elección de cualquiera de ellas debe ser con cuidado y tener en cuenta el tipo de muestra y las especificaciones del método necesario (Carvajal Ferrer, 2013 en Pabon Mora, 2016).

- **Fase de medición.** En esta fase se encuentra el sistema de detección cuyo principio es el uso de un sensor químico, el cual es capaz de convertir una cantidad de una sustancia química en una señal eléctrica que está relacionada con la concentración de partículas específicas, tales como átomos, moléculas, o iones en gases o líquidos, (Carvajal Ferrer, 2013 en Pabon Mora, 2016). Los volátiles son transportados a través de un circuito cerrado, con la ayuda de la bomba de aire, desde la cámara de concentración a la cámara de medida, la cual contiene la matriz de los sensores. Allí, el aire del exterior circula a través de la cámara de muestreo y de medida terminando de esta manera el recorrido quedando expulsado fuera del circuito y del sitio de trabajo (flechas violetas).

El proceso de medida dura aproximadamente un tiempo total de 10 minutos permitiendo que los sensores alcancen un valor estable, (Ortiz, 2016).

- **Fase de limpieza y reposo.** El objetivo de esta etapa es limpiar todo el circuito de medida y restablecer la respuesta de los sensores a su resistencia de reposo. El aire es tomado del sitio de trabajo, empieza a circular a través de la cámara de medida, seguidamente pasa al exterior, y por último, empuja los volátiles que hayan podido quedar fuera del circuito. El tiempo de duración de este proceso puede ser entre 15 a 20 minutos dependiendo del volátil y del número de muestras a tomar.

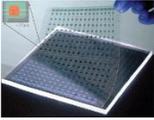
- **Fase de reconocimiento de datos.** Después de que el sistema está limpio, se procede al tratamiento de los datos de respuesta generados por cada sensor, para lo

cual, se utilizan técnicas de reconocimiento de patrones (PR). El PR es un vector de decisión utilizado para clasificar las especies sobre la base de una serie de medidas (un patrón) sobre esa especie. Los principales objetivos de esta etapa son: reducir la cantidad de datos que son irrelevantes para el estudio, mejorar la información suficiente dentro de los datos para lograr el objetivo deseado y extraer información para transformar los datos y su posterior análisis, (Carvajal Ferrer, 2013 en Pabon Mora, 2016).

Sensores utilizados en la Nariz Electrónica.

Los sensores son dispositivos fabricados con un material activo que se deposita en forma de película sobre un sustrato y cada vez que el sensor entra en contacto con los volátiles responsables de los olores exponiéndose a una muestra compleja, presenta una respuesta característica, que depende de las interacciones fisicoquímicas entre el sensor y la muestra, lo que permite que se obtenga una señal de la misma en su conjunto registrándose cambios en las propiedades ópticas (sensores ópticos), en las propiedades electroquímicas (sensores electroquímicos), en la masa (sensores másicos), etc. (Mannino, Benedetti, Buratti, y Cosio, 2005; Rodríguez-Méndez, 2001; Roeck, Barsan, y Weimar, 2008). Para garantizar que la nariz electrónica funcione correctamente y se obtengan los datos correctos, los sensores deben cumplir con ciertos requisitos como son: responder de forma rápida, reversible y reproducible a las moléculas presentes en la fase gaseosa, que son típicamente compuestos orgánicos volátiles (COV) con diferentes masas molares relativas; deben ser, prefeiblemente, dispositivos pequeños para trabajar con muestras de pequeño volumen y reducir así, el consumo de energía permitiendo construir un instrumento que sea de fácil transporte. Los tipos de sensores más empleados son los electroquímicos, los cuales se caracterizan por ser compactos, requieren muy poca energía, muestran una gran linealidad y repetibilidad, y generalmente tienen una larga vida útil. Los más empleados en la fabricación de NE son los semiconductores de óxidos de metal, los polímeros conductores, las microbalanzas de cristal de cuarzo y los de onda acústica de superficie.

Tabla 8. Clasificación de los distintos tipos de sensores de gases.

Tipo de Sensor	Principio de Operación	Imagen del Sensor
Semiconductores de óxidos metálicos (MOS).	Se comercializan bajo el nombre de Figaro o Taguchi y basan su funcionamiento en el cambio de su resistencia eléctrica en el momento de ser expuestos a los compuestos orgánicos volátiles. Están provistos de un sistema de calentamiento ya que su temperatura óptima oscila entre 200 y 650°C, tienen selectividad y reproducibilidad pobres, pero son poco dependientes de la humedad, lo que les da una vida útil entre 3 y 5 años (Figaro, 2016; Rodríguez, 2001).	
Transistores de campo eléctrico con semiconductores de óxido metálico (MOSFET),	Son dispositivos que utilizan un campo eléctrico para crear una canal de conducción. Está formado por tres capas dispuestas sucesivamente: una base de silicio (semiconductor), una capa de óxido de silicio que actúa como aislante y en la parte superior está formado por un metal catalítico (platino, paladio o rodio) y recibe el nombre de puerta. Opera con una temperatura entre 50 – 200°C y puede alterarse de acuerdo a la selectividad, sensibilidad, naturaleza y estructura del material con el que se fabrique la puerta. Su principal inconveniente es la dificultad en la fabricación y su vida útil puede oscilar entre 1 a 3 años por la sensibilidad a la temperatura y humedad del medio.	
Conductores de polímero orgánico (CP).	Presentan buena sensibilidad hacia compuestos polares y funcionan a temperatura ambiente (20-50°C) lo que reduce el consumo de energía, pero extremadamente sensibles a la humedad teniendo un promedio de vida de 8 meses. De igual forma, se utilizan ampliamente como materiales sensibles debido a la facilidad de modificar su conductividad en presencia de compuestos orgánicos volátiles, son fáciles de procesar permitiendo tener sensores altamente reproducibles.	
Cristales piezoeléctricos (BAW)	Denominados, también, como microbalanzas de cuarzo (QMB) porque su respuesta es proporcional a la cantidad de masa absorbida. Se pueden utilizar diferentes materiales sensibles como acetil celulosa, porfirinas, entre otras; y analizar sus cambios frente a diferentes aromas. Presentan problemas como la reproducibilidad, sensibilidad a los cambios de temperatura y humedad. Su funcionamiento se basa en un cristal de cuarzo piezoeléctrico cubierto por el material sensible	
Amperométricos	Variación de la magnitud de la corriente generada por la reacción electroquímica del analito al oxidarse o reducirse sobre un catalizador en la superficie de un electrodo.	
Capacitancia	Variación de la constante dieléctrica del polímero que actúa como recubrimiento sensible cuando un analito se adsorbe sobre él.	
Calorimétricos	Variación del calor de adsorción que se genera al adsorberse el analito sobre el recubrimiento sensible depositado sobre dos metales diferentes de cuya unión resulta un voltaje, voltaje que varía con el calor adsorbido.	
Ópticos de fibra óptica	Variación de la propiedad óptica (índice de refracción, intensidad de luz) de un haz de luz al pasar a través de una capa o recubrimiento sensible sobre el que se han adsorbido las moléculas gaseosas de la muestra de interés.	
Ópticos de colorimetría	Obtención de un patrón de cambio cuantitativo de color por diferencia de la imagen RGB de una matriz compuesta por diferentes recubrimientos sensibles antes de ser expuesta a la mezcla gaseosa, de la imagen después de la exposición.	

Nota: Adaptado y tomado de Correa, Barreiro, Ruiz-Altisent, y Chamorro, 2005; Frank, 1999; Rodríguez, 2001; Sliwinska, Wisniewska, Dymerski, Wardencki, y Namiesnik, 2016

E- nose 2.0.

Es la nariz electrónica utilizada en la presente investigación y cuenta con 8 sensores de marca Fígaro tipo MOS. Estos sensores requieren de la implementación de un circuito para realizar el correcto funcionamiento y adquisición de los datos, cuentan con un Heater, resistencia calefactora que eleva la temperatura de la superficie para que cuando se detecten volátiles, cambie la resistencia y se produzcan cambios en el divisor de tensión diseñado junto con la resistencia de carga RL, estos sensores pueden ser alimentados por VC hasta máximo 25V, sin embargo, el sistema de adquisición de datos funciona a 10V, (Ortiz, 2016).

- **Funcionamiento de la E-nose 2.0.** La nariz electrónica ha sido construida de tal manera que su utilización sea fácil y sencillo para el usuario, con un índice alto de credibilidad y responsabilidad con los resultados obtenidos durante el procesamiento de muestras. Consta de un software llamado Bnose bajo la plataforma de Matlab. El uso del módulo de adquisición es muy sencillo, se ingresa el nombre de la muestra, el número de repeticiones y se inicia el proceso siguiendo cada una de las fases descritas anteriormente (concentración, medición, limpieza y reposo y obtención de datos) y finalmente se almacenan los datos bajo la programación que mantiene el instrumento donde se procesa la información (conductancia mínima menos la conductancia máxima) y se realiza el análisis estadístico de componentes principales.

- **Sistema de Análisis de la Información.** Es necesario implementar técnicas de procesamiento una vez obtenidas las señales o patrones de los sensores de la nariz electrónica con el fin de interpretarlos y analizarlos de acuerdo con lo que se desea obtener y así construir modelos confiables de respuesta para predicción, identificación o clasificación, según sea el caso (Quicazan et al, 2011). Existen diferentes métodos analíticos con los cuales el investigador puede contar y su elección depende de los datos disponibles y del tipo de resultado que requiera. Entre los métodos más utilizados se

encuentran los siguientes: el análisis gráfico (diagramas de barras y polares), análisis estadístico multivariado (análisis de componentes principales (PCA)), el análisis de función de discriminantes (DFA) (Ordóñez-Araque, 2014; Osorio, Novoa, y Gutiérrez, 2012) y el análisis de clusters (CA) (Zuluaga, Díaz-Moreno, y Quicazan, 2011), análisis de redes (redes neuronales artificiales (ANN)) y funciones de base radial (RBF) (Ghasemi-Varnamkhasti et al., 2011; Rodríguez, Albarracín y Delgado, 2011).

El análisis de componentes principales (PCA) es el método más común para visualizar y clasificar la estructura de datos multivariados. El PCA es una técnica quimiométrica bien conocida, que proyecta los datos en un hiperespacio reducido, definido por los componentes principales (Parellón, 2004). Este algoritmo cae dentro de las técnicas denominadas reconocimiento de patrones o técnicas de inteligencia artificial y permite reducir, representar y extraer información relevante al mismo tiempo y suele ser clasificado como un método no supervisado de reconocimiento de patrones, ya que su uso más extendido con las narices electrónicas se limita a representar bidimensionalmente un conjunto de medidas para ver si se pueden formar agrupaciones (“clusters”) espontáneas entre las diferentes medidas realizadas.

Este método construye una transformación lineal que escoge un nuevo sistema de coordenadas para el conjunto original de datos en el cual la varianza de mayor tamaño del conjunto de datos es capturada en el primer eje (llamado el Primer Componente Principal), la segunda varianza más grande es el segundo eje, y así sucesivamente, (Duran, 2005; Moreno, Cballero, Galan, Matía, y Jiménez, 2009; Rojas, Comina, y Solís, 2012; Zuluaga D, 2011). El uso de esta técnica permite la visualización de la estructura latente de datos mediante graficas, cuyas interpretaciones permiten un entendimiento más profundo del que es posible obtener cuando se evalúan las variables en solitario, ya que permite analizar varias variables simultáneamente. El PCA como análisis exploratorio es

el punto de partida conveniente dentro de los métodos de datos multivariantes, (Esbensen y Geladi, 2009).

Otro método de análisis de datos multivariante muy utilizado es el de las Redes neuronales (ANN). Es un tipo de algoritmos inspirado en las redes neuronales biológicas, ajustan sus modelos de forma experimental, sin necesitar un conocimiento previo de las características de los datos que debe procesar ni de los mecanismos que lo producen. Este método ofrece una valiosa capacidad de mapeo no-lineal, muchos tipos de redes neuronales se han empleado hasta el momento para realizar análisis de clasificación con los datos de la nariz electrónica, incluidas las redes de Kohonen, el vector de aprendizaje (LVQ) y sus variaciones de backpropagation (BP) y el algoritmo ART, (Benito, Ortiz, Sánchez, Sarabia, y Iniguez, 1999; Men, Liu, Pan, Wang, y Zhang, 2011).

Las redes neuronales artificiales se utilizan en una gran variedad de aplicaciones de procesamiento de datos, donde se requiere la extracción de información y el análisis de los datos en tiempo real. Una de las principales ventajas de las redes neuronales es que la mayor carga computacional se requiere únicamente en la etapa de entrenamiento. Una vez que la red neuronal se entrena para una tarea en particular, su operación es relativamente rápida y con ello se pueden identificar rápidamente muestras desconocidas (Ludermir y Yamazaki, 2003).

El análisis de función de discriminantes (DFA) es una técnica de diferenciación probabilística paramétrica, que maximiza la varianza entre categorías y minimiza la varianza dentro de las categorías, por medio de una proyección de datos de un espacio multidimensional a uno reducido. Así, se obtiene un número de funciones lineales ortogonales igual al número de categorías menos uno (Frank y Todeschini, 1994; Quicazan et al., 2011).

Las máquinas de soporte vectorial (SVM), han demostrado ser muy eficaces en muchos problemas de clasificación. Para una clasificación de clases binarias, la SVM construye el hiperplano de separación óptima entre ambas clases con el margen máximo. La formulación de mínimos cuadrados (LS-SVM), recientemente propuesta (Vandewalla, 2004) solo implica las restricciones de igualdad. Por tanto el hiperplano óptimo se puede obtener mediante la solución de ecuaciones lineales (del orden del número de ejemplos de entrenamiento) (Muñoz-Bedoya, Mendoza, y Velandia-Villamizar, 2013).

Las máquinas de soporte vectorial surgieron como un método de clasificación basado en la teoría de minimización del riesgo estructural de Vapnik. En la actualidad, tienen numerosas aplicaciones debido a su versatilidad y a sus prestaciones. Las SVM se han utilizado con éxito en campos como la recuperación de información, la categorización de textos, el reconocimiento de escritura o la clasificación de imágenes. Para poder clasificar con las máquinas de soporte vectorial, se comienza realizando una etapa de aprendizaje. Consiste en encontrar el hiperplano $h(x) = 0$ que mejor separe un conjunto de datos $X \in \mathfrak{R}^d$ según la clase $Y \in \{-1,1\}$ a la que pertenecen.

Dicho hiperplano se corresponde con el que maximiza la distancia al punto más próximo de cada clase, por lo tanto, estará a la misma distancia de los ejemplos más cercanos entre ellos de cada categoría. Según la teoría de Vapnik, el separador lineal que maximiza el margen (2 veces la distancia al punto más próximo de cada clase) es el que nos da la mayor capacidad de generalización, es decir, la capacidad de distinguir características comunes de los datos de cada clase que permitan clasificar imágenes que no sean las del conjunto de entrenamiento, (Gutierrez Alonso, 2007). De igual manera, la teoría de la SVM esta basada en la idea de minimización de riesgo estructural (SRM) y en muchas aplicaciones han mostrado tener gran desempeño, más que las máquinas de aprendizaje tradicional como las redes neuronales, (Betancourt, 2005).

Avances e Investigaciones con Nariz Electrónica.

En la actualidad se han llevado a cabo múltiples investigaciones con la utilización de los sistemas multisensoriales como nariz y lengua electrónica con el fin de incursionar en el mejoramiento de las técnicas que permitan evaluar la calidad de los alimentos que se producen lo que ha ocasionado que en la última década se haya producido un rápido desarrollo comercial y tecnológico de los sentidos electrónicos. Las narices electrónicas son equipos desarrollados a los cuales se les atribuye múltiples aplicaciones en la industria agroalimentaria como son: valoración de la calidad en productos frescos (frutas, verduras, hortalizas, carne, leche y pollo crudo entre otros) y procesados (manufacturados), supervisión y control de operaciones básicas en la industria agroalimentaria (cocción, fermentación, mezclado, maduración, tostado entre otros), control de producto almacenado y estudio de su vida útil, evaluación del envejecimiento y maduración de vinos y otros productos de la industria alimentaria (quesos, productos cárnicos, frutas), monitorización de la interacción producto-empaque, la evaluación sensorial y de calidad de múltiples alimentos, (Correa, Barreiro, Ruiz-Altisent, y Chamorro, 2005).

De igual forma, los consumidores son cada vez más conscientes de los problemas de autenticación con ciertos grupos de alimentos y están dispuestos a pagar por productos más caros cuando el origen y los ingredientes están debidamente determinados. Debido a estos hechos, existe una creciente demanda entre las empresas y los institutos de dispositivos que permiten un análisis rápido de los productos alimenticios como son los sistemas multisensoriales que a pesar de las numerosas desventajas de los sensores electrónicos, como la calibración, la escasa selectividad y el complicado análisis de datos, estos dispositivos se utilizan cada vez más para el análisis de alimentos y en otras ramas de la vida cotidiana como en perfumería, en la industria farmacéutica, en operaciones forenses, ambientales y demás. A continuación se recogen algunas investigaciones que se han realizado según el campo de aplicación en la industria alimentaria (Tabla 9 – 11):

Tabla 9. Aplicaciones de la Nariz Electrónica en la evaluación de frescura en alimentos.

Muestra	Tipo de Estudio	Sistema de detección	Algoritmo de Procesamiento de Datos	Referencia
Anchoas	Análisis de frescura	E-nose	16 sensores MOS	Amari, El Bari, y Bouchikhi, 2014
Filete de bacalao	Discriminación entre los periodos de almacenamiento	Libra Nose: 8 TSM FreshSense:5EC	PLSDA	Corrado D et al., 2001
Salmon de Alaska Rosado (Oncorhynchus gorbuscha)	Clasificación del deterioro en diferentes condiciones de almacenamiento.	Cyranose 320 TM : 32 thin-film carbón-black polymer sensors	PCA, PLSDA	Chantarachoti J. et al., 2006
Salmon fresco del Atlántico (Salmo solar)	Clasificación del deterioro de los filetes de salmón durante el almacenamiento a diferentes temperaturas	Aroma Scan TM : 32 CPs	MDA	Du W., et al, 2002
Huevos	Establecimiento de categorías de frescura y predicción del estado de frescura.	4 Tin-oxide sensors	PCA, FCM,SOM, ANN	Dutta R et al., 2003
Carnes de vacuno y ovino	Clasificación del deterioro y predicción de los parámetros bacteriológicos	6 Tin-oxide sensors	PCA, SVM, PLS	El Barbri N, Llobet , El Bari , Correig , y Bouchikhi, 2008
Filetes frescos de Tilapia	Discriminación entre los tiempos de almacenamiento de los filetes en diferentes tratamientos.	e-Nose 4000: 12 CPs	DFA	Korel, Luzuriaga, y Balaban, 2001
Carne molida de res	Detección de enranciamiento	FOX 3000: 12 MOS	QLSR	Mcelyea K, et al., 2003
Naranja	Monitoreo de la calidad poscosecha de naranjas	TMSR	PCA/PLS	Natale, Olafsdottir , Einarsson, Martinelli , Paolesse, y D'amico, 2001
Carne	Análisis de cambios aroma y evaluación de la calidad sensorial durante el almacenamiento de un producto de carne envasado en atmósfera	La nariz electrónica MGD-1 – Sensores MOS	PCA, ANOVA- Regresiones de mínimos cuadrados parciales (PLSR)	Vestergaard, Martens, y Turkki, 2007

Nota: Siglas: **PCA:** análisis de componentes principales, **DFA:** Análisis de función discriminante. **PLS:** mínimos cuadrados parciales, **SVM:** máquinas de soporte vectorial, **PLSDA:** análisis discriminante – mínimos cuadrados parciales, **MOS:** sensores de óxidos metálicos, **TMSR:** sensores resonadores de cuarzo, **MRL:** regresión múltiple lineal, **SVR:** técnica de regresión de soporte vectorial. (Maldonado, 2017).

Tabla 10. Aplicación de la Nariz Electrónica en la investigación de la vida útil de alimentos.

Muestra	Objeto de la Investigación	Sistema de Detección	Algoritmo de Procesamiento de Datos	Referencia
Cultivos de Fruta	Discriminación de la madurez, análisis de componentes aromáticos y antioxidantes de los aceites de cáscara de Shiikuwasha (<i>Citrus depressa Hayata</i>) provenientes de las líneas de cultivo por medio de nariz electrónica	Agilent 7890A GC - 5975C MS equipado con un Gerstel Chemsensor (Gerstel, Mülheim, Alemania) y Pirouette	PCA, Análisis de Cluster Jerárquico (HCA). Análisis de Varianza-Fisher	Asikin, Maeda, Tamaki, Mizu, Oku, y Wada, 2015
Manzanas	Aplicación de una nariz electrónica para la medida de aromas emitidos por manzanas cv <i>fuji</i> conservadas con diferentes tecnologías	8 sensores del tipo Microbalanzas de Cristal de Cuarzo.	PCA	Correa H., Barreiro E, Ruiz A, Lopez F, Graell, y Echevarria, 2004
Slbaricoques Castlebrite	Caracterización del aroma de dos lotes de albaricoques en diferentes etapas de madurez por (GC-MS), el análisis electrónico de nariz (e-nose) y un panel sensorial.	6 MOS	ANOVA, PCA	Defilippi, San Juan, Valedés, Moya-León, Infante, y Campos-Vargas, 2009
Aceite de Oliva Marroquí	Diferenciación de los aceites de oliva según si origen geográfico y vida útil.	5 MOS	PCA	Haddi, et al., 2013
Tomate	Control de la vida útil durante el almacenamiento.	PEN 2: 10 MOS	PCA, LDA	Hernández-Gómez, Wang, Hu, y García-Pereira, 2008
Miel	Diferenciación en los cultivos de acuerdo al origen botánico	Fox 4000 (3 cámaras de sensores de óxido metálico equipadas con 18 sensores)	PCA, ANN	Huang, Liu, Zhang, y Wu, 2015
Yogurt	Seguimiento de la producción del aroma del yogurt durante la fermentación ácido láctica mediante nariz electrónica y Evaluación sensorial	NE Airsense analytics PEN3 con 10 sensores de óxido metálico (MOS)	Panel sensorial mediante prueba de Kruskal wallis (DMS). Análisis de varianza y análisis multivariado PCA.	Novoa Castro, 2012
Plátano	Predicción de índices de calidad del plátano tales como sólidos solubles totales (TSS), acidez titulable (TA), pH y firmeza en diferentes etapas de vida útil.	6 sensores MQ	MLR, SVR, PLS	Sanaeifar, Mohtasebi, Ghasemi-Varnamkhasti, y Ahmadi, 2015
Piña	Monitorización de la frescura de los frutos mínimamente procesados (rodajas de piña envasadas) durante el almacenamiento.	PEN 2:10 MOS	PCA, CA	Torri, Sinelli, y Limbo, Shelf life evaluation of fresh-cut pineapple by using an electronic nose, 2010
Huevo	Monitoreo de los atributos de calidad y el tiempo de almacenamiento.	8 MOS	PCA, LDA, BPNN GANN, QPSR	Yongwei, Wang, Zhou, y Lu, 2009
Té verde	Discriminación del grado de diferentes té durante su almacenamiento.	PEN2: 5sensores tipo TI	PCA, LDA	Yu, Wang, Zhang, Yu, y Yao, 2008

Nota: Maldonado, 2017

Tabla 11. Aplicación de la Nariz Electrónica en la evaluación de la calidad y adulteración de alimentos.

Muestra	Objeto de la Investigación	Sistema de detección	Algoritmo de Procesamiento de Datos	Referencia
Tallo de la vid	Control de la calidad en los cultivos de uvas.	PN 3: 10 MOS	PCA, LDA	Blasioli, Biondi, Braschi, Mazzucchi, Bazzi, y Gessa, 2010
Muestras diferentes de alimentos	Estado del arte de futuras tendencias para la evaluación y análisis de la calidad de los alimentos con la utilización de Narices electrónicas.	QCM, MOS, Sensores de gas semiconductores a base de películas inorgánicas SnO ₂ , In ₂ O, ZnO. Sensores virtuales.	PCA, ANN	Burlachenko, Kruglenko, Snopok, y Persaud, 2016
Productos agroalimentarios cítricos y lácteos.	Usos de la nariz electrónica y las nuevas tecnologías utilizadas en el campo agrícola, particularmente en el control de la calidad poscosecha y clasificación de los cultivos.	Múltiples sensores	PCA, ANN entre otros	Corrado Costa, et al., 2006
Cerveza	Caracterización el cambio de aroma de cervezas alcohólicas y no alcohólicas durante el proceso de envejecimiento.	5 MOS	PCA, LDA, PNN, RBF	Ghasemi-Varnamkhasi, y otros, 2011
Leche, carne, pescado, té, café, vino	Usos y aplicaciones de la nariz electrónica en la calidad de diferentes alimentos	E-nose. Sensores MOS, QMB, MEMS	PCA, LDA, PLS, FDA, CA, PNN	Loutfi, Coradeschi, Mani, Shankar, y Bosco, 2014
Frutas (mora, uchuva, fresa)	Detección de pesticidas en frutas utilizando	Matriz de 16 sensores de gas óxido metálico,	PCA, ANN	Ortiz, Gualdrón, y Durán, 2016
Fruta (mango, jaca y durian)	Clasificación, identificación y diferenciación de la fruta.	MOS. Sensores tipo TGS	PCA	Radi, Ciptohadijoyo, Litananda, Rivai, y Purnomo, 2016
Polietileno en contacto con alimentos (pan – cebolla).	Investigar la idoneidad de los métodos sensoriales y nariz electrónica para evaluar las propiedades de transferencia de aroma de los materiales plásticos que entran en contacto con los alimentos. Se compararon cuatro bolsas comerciales de congelador (polietileno) para uso doméstico.	Win Muster Airsens Analytic Inc., Schwerim, Germany con 10 MOS.	Prueba triangular, PCA, ANOVA, Fisher's LSD test. PLS	Torri y Piochi, 2016
Miel, polen propóleo.	estandarización y validación del método de análisis del perfil aromático para la diferenciación de productos apícolas.	NE Airsense Analytics GmbH PEN3: 10 MOS	DMS	Zuluaga, Díaz, y Quicazan, 2011

Fuente: (Maldonado O, 2017)

Tabla 11. Continuación.

Muestra	Objeto de la Investigación	Sistema de detección	Algoritmo de Procesamiento de Datos	Referencia
Mora	Evaluación de la calidad de la mora por NE y panel sensorial.	PEN3: 10 MOS	PCA, prueba no paramétrica de Friedman prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer	Carvajal, Cucaita, Zuluaga, y Quicazan, 2012
Tomate de árbol (Cyphomandra Betacea Sendt)	Determinación del índice de madurez y su calidad.	16 sensores MOS	PCA, PNN	Duran-Acevedo, Gualdron-Guerrero, y Hernandez-Ordoñez, 2014
Semilla de Colza	Predicción de la calidad análisis de la unidad de formación de colonias (CFU), el contenido de ergosterol (ERG), la espectroscopía infrarroja por transformación de Fourier (FT-IR) y los compuestos orgánicos volátiles (COV)	NE. Agrinos. 8 sensores: 7 semiconductores de óxido metálico (MOS) tipo TGS y 1 Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)	PCA, Análisis de Varianza y Correlación Simple. Sensogramas	Gancarz, et al., 2017
Jugo de Tomate Cherry	Autenticación de tomate cherry fresco Jugos adulterados con diferentes Niveles de jugos de tomate demasiado maduros	PEN2 E-nose: 10 MOS y E-tongue: α -Astree (7 liquid crosssensitive electrodes).	PCA, ANN	Hong y Wang, 2014
Café	Discriminación de la calidad del aroma.	6 MOS	PCA	Ongo, et al., 2012
Jugo de Fresa	Discriminación y caracterización de la calidad.	E-nose: PN2: 10 MOS y E-tongue: α -Astree, Alpha MOS	PCA, PLSR, LDA. RF	Qiu, Wang, y Gao, 2014
Café (coffea arabica) tostado y molido con Habas (vicia faba)	Evaluación del grado de adulteración Control de calidad.	16 sensores MOS	HCA, PCA	Pabon Mora, 2016

Nota: **PCA:** análisis de componentes principales, **LDA:** análisis de discriminación lineal, **PLS:** mínimo cuadrados parciales, **FDA:** análisis de discriminación funcional, **CA:** análisis de conglomerados, **ANN:** lógica borrosa o red neuronal artificial, **PNN:** neuronas probabilísticas. **BPNN.** red neural BP, **QPSR:** regresión cuadrática de pasos polinomiales, **GANN:** combinación de un algoritmo genético y la red neural de BP. (Maldonado, 2017)

Capítulo 3

Objetivos

Objetivo General

Evaluar un Sistema Multisensorial como método alternativo para la detección de plaguicidas organoclorados (POC`s) en frutas frescas.

Objetivos Específicos

- Determinar las características físico-químicas de las frutas frescas objeto estudio.
- Evaluar las concentraciones de pesticidas organoclorados en las frutas objeto de estudio por cromatografía de gases
- Determinar el nivel de detección de pesticidas organoclorados por sistema multisensorial en frutas frescas

Capítulo 4

Materiales y Métodos

En este capítulo se describen los materiales, instrumentación, programas, métodos, actividades y sistemas electrónicos que se llevaron a cabo para el desarrollo de los objetivos planteados. El contenido que se desarrolla a continuación explica las condiciones experimentales y los procedimientos de optimización llevados a cabo con cada una de las técnicas utilizadas en la presente investigación. El estudio se realizó en la Universidad de Pamplona ubicada en el km 1 vía Bucaramanga Barrio El Buque de la ciudad de Pamplona en el departamento de Norte de Santander (Colombia).

Materia Prima

Las frutas frescas utilizadas para el estudio fueron uchuva (*Physalis peruviana*), fresa (*Fragaria Camarrosa* sp) y mora (*Rubus glaucus* sp), adquiridas en el mercado principal de la ciudad de Pamplona (Norte de Santander) tomadas en forma aleatoria durante diferentes días. Las cuales tienen características de exportación y mayor consumo en la población.

Caracterización de la Materia Prima.

Se realizó la selección y clasificación de las frutas utilizando como referencia el grado de madurez comercial teniendo en cuenta el parámetro de color (ICONTEC, 1999). Posteriormente se llevó a cabo la evaluación de las características físicas (área superficial, color y firmeza) y químicas (humedad, sólidos solubles, pH, acidez titulable) de la materia prima por triplicado para cada muestra bajo los métodos definidos en la AOAC para análisis de alimentos, los cuales son descritos a continuación:

Análisis Físicos.

- Peso: Se tuvo en cuenta el peso de las frutas, utilizando una balanza analítica electrónica HIPREX - S marca LEXUS, (Máximo 205 gramos, sensibilidad ± 0.00001).

- Área Superficial: Se tomó la medida del espesor, largo y ancho de cada uno de los frutos con un pie de rey o calibrador (Mitutoyo, made in China), calculando el área geométrica de las frutas. El resultado se expresó en milímetros (mm).
- Evaluación Instrumental del color: Se midió el color a 3 muestras de cada fruto empleando el Espectrofotómetro de esfera (X-RITE, serie sp60 software X-RiteColor®.) con un espacio de color CIE L*a*b* el cual emplea las coordenadas tricromáticas L* (luminosidad: 0, negro; 100, blanco), a* (índice rojo-verde) y b* (índice de amarillo-azúl) según Honikel (1998). Los resultados se expresaron utilizando el sistema de coordenadas L*, a*, b* (McLaren, 1980). Con un observador de 10° e iluminante D65. Las muestras fueron analizadas por triplicado iniciando la medida con la calibración del equipo, se dio la opción de análisis; seguidamente se tomó el fruto colocándolo en la parte esférica del equipo y marcando lectura en cuatro zonas ecuatorial por cada muestra, (Trujillo, Arroqui, y Viserda, 2005)
- Firmeza: se utilizó la técnica de penetrometría, empleando un penetro metro (Wagner-modelo FT 10), para lo cual se tomaron las frutas por la parte superior, realizando un pequeño corte y de esta manera se introdujo el penetrómetro tomando la lectura obtenida en kg -f. El penetrómetro consta de un pistón que se acopla a un muelle graduado, el cual está conectado a una escala graduada. Se utiliza un pistón de 11,3 mm de diámetro para los frutos frescos, (Caballero, Ortiz, Maldonado y Rivera, 2011).

Análisis Químicos.

- Porcentaje de Humedad: se determinó con una balanza de humedad (“OHAUS MB-45”), para lo cual se tomó una muestra de 1 gramo de cada fruta fresca a temperatura ambiente durante un tiempo de 45 minutos a presión atmosférica teniendo en cuenta el porcentaje de humedad trascurrido el tiempo. Se expresó como el porcentaje del peso perdido.

- pH: Este parámetro se determinó a partir de una mezcla en relación 1:1 de agua destilada y materia prima (fruta a evaluar). La medida se tomó según lo descrito por la Norma AOAC (1994).
- Sólidos Solubles: Este parámetro se midió con un refractómetro digital ABBE ATAGO 89553 de Zeiss calibrado a 20°C. La medida se tomó según lo descrito por la Norma A.O.A.C. (1994), comparando los resultados obtenidos de sólidos solubles con los de las NTC correspondiente a cada fruta. Los resultados se expresaron en grados Brix (°Bx) según lo estipula la Norma.
- Acidez Titulable: Esta medida se realizó según el método descrito en la Norma AOAC (1994). Se compararon los resultados obtenidos de acidez titulable de cada fruta con las NTC correspondientes.

Análisis de Resultados.

Se utilizó un diseño experimental factorial 3 x 2 donde el primer factor correspondió a las frutas objeto estudio y el segundo a los dos estados de madurez evaluados, con tres repeticiones, para un total de 18 unidades experimentales, cada una compuesta por 10 frutos. Con los datos obtenidos se efectuaron análisis de varianza (ANOVA) para determinar la presencia de diferencias estadísticas significativas entre los estados de madurez, utilizando la prueba de comparación de Tukey y DMS ($P \leq 0.05$). Los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS versión 22.0 ®, debidamente licenciado.

Análisis Cromatográfico.

La extracción de los residuos de plaguicidas organoclorados en las muestras se realizó utilizando el método QuEChERS. Empleando como material de referencia la mezcla certificada de plaguicidas organoclorados Part. N° M-8081-SC (*AccuStandard, Inc.*, 125 Market Street, New Haven, CT 06513). El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo de gases (GC) HP 6890 Series PLUS (*Hewlett-Packard*, Palo Alto,

California, EE.UU.), dotado con un detector de captura electrónica (ECD). La columna empleada en el análisis fue DB-5 {5%-fenil-polo (metilsiloxano), 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm }. La inyección se realizó en modo *Splitless* ($V_{\text{iny}} = 1 \mu\text{L}$). Para evaluar la sensibilidad del método se determinarían los límites de detección y cuantificación de cada uno de los plaguicidas. Los pesticidas analizados en las muestras de frutas fueron Aldrín, Endrín, Aldehído, Beta -BHC, Delta - BHC, Gama - BHC, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endosulfán I, Endosulfan II, 4, 4 – DDE.

Método de Extracción y Determinación de pesticidas en frutas por el método QuEChERS

El método QuEChERS es un sistema de extracción en fase sólida dispersiva (dSPE) que implica dos etapas fundamentales, una primera etapa de extracción simple seguida de una fase de limpieza del extracto mediante extracción en fase sólida por dispersión.

Para el análisis de pesticidas en las frutas mora, uchuva y fresa, se realizó el siguiente procedimiento para cada una. Las muestras control se enriquecieron con 500 μL de solución de pesticidas Organoclorados de 1 $\mu\text{g/ml}$. Se realizó una preparación de la solución stock 5 μL de MCR OCP y se aforó a 5 ml en n-hexano P3/MRC-OCP25/L-02/OCP 12 9

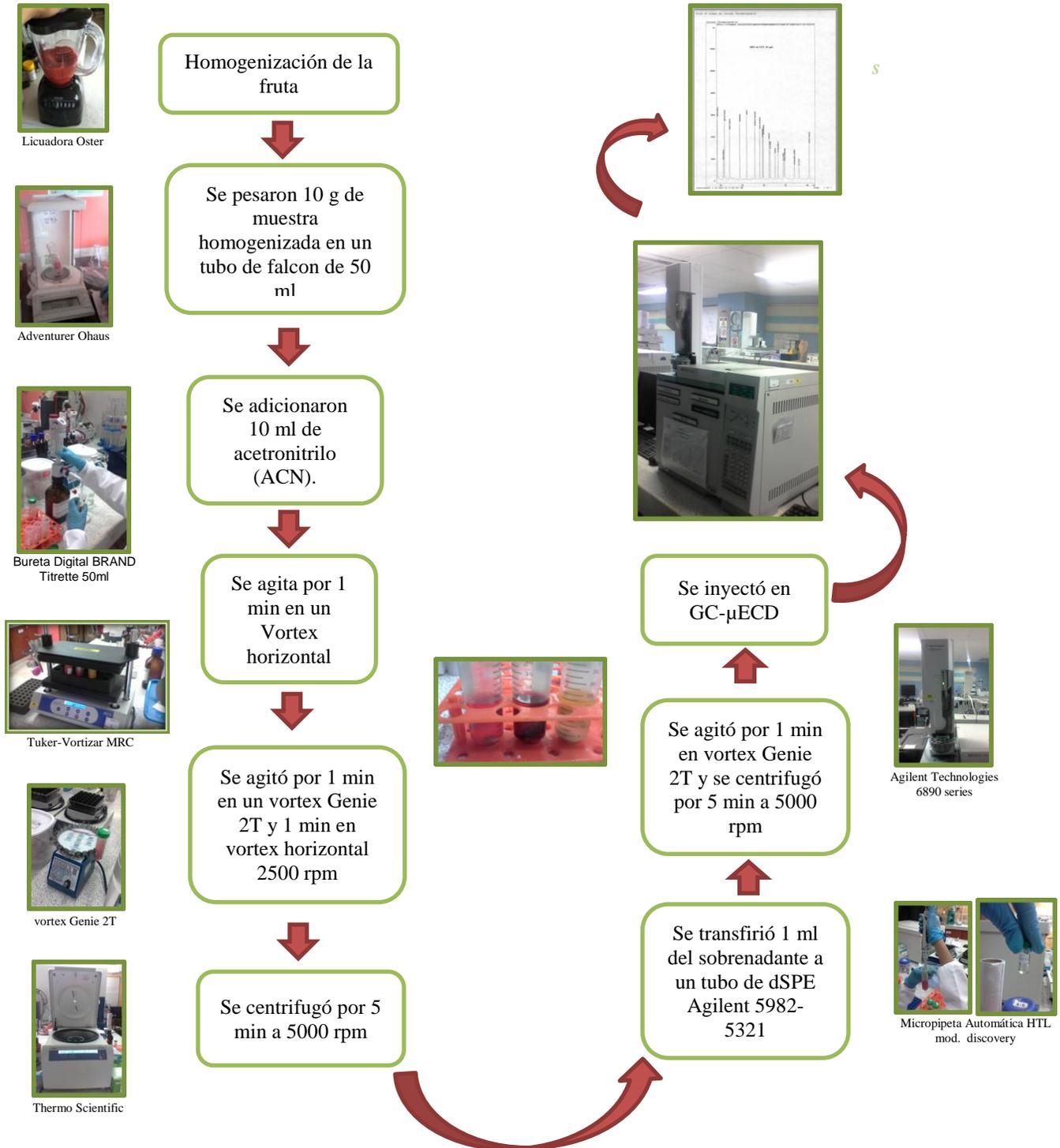


Figura 7. Esquema del Procedimiento QuEChERS. (Maldonado, 2017)

Análisis con la Nariz Electrónica.

Preparación de las muestras.

Se prepararon las soluciones patrón de los pesticidas organoclorados utilizando los solventes que se describen en la tabla 12, se doparon las muestras que anteriormente habían sido evaluadas fisicoquímicamente y en los dos estados de madurez comercial (uchuva, mora y fresa) con los POC's (Aldrin, Beta -BHC, Delta - BHC, Gama - BHC, Endosulfán I, Endosulfan II, 4, 4 - DDE) en tres concentraciones diferentes (0,5 ppm, 0,7ppm y 1ppm) para un total de 255 muestras incluyendo las muestras control.

$$N = (3F \times 3C \times 7MPOC \times 2EM) * 2 + 3MC$$

$$N = 255$$

Donde: N = Número de muestras a analizar; F = Frutas; C = Concentraciones; POC = Mezcla de patrones de pesticidas Organoclorados, EM = Estado de Madurez y MC= Muestra control.

Tabla 12. Solventes utilizados para la preparación de Pesticidas.

Pesticida	Solvente
Endosulfan I y II	Acetona
Endrin Aldehydo	Metanol
Delta-BHC	Metanol
Beta- BHC	Acetona
Gamma- BHC	Metanol
Heptacloro	Metanol
4,4 - DDE	Metanol
Aldrin	Acetona

Nota: Maldonado, 2017

En la siguiente figura se describe el procedimiento que se llevó a cabo para la preparación de las muestras que se analizaron con la Nariz Electrónica.

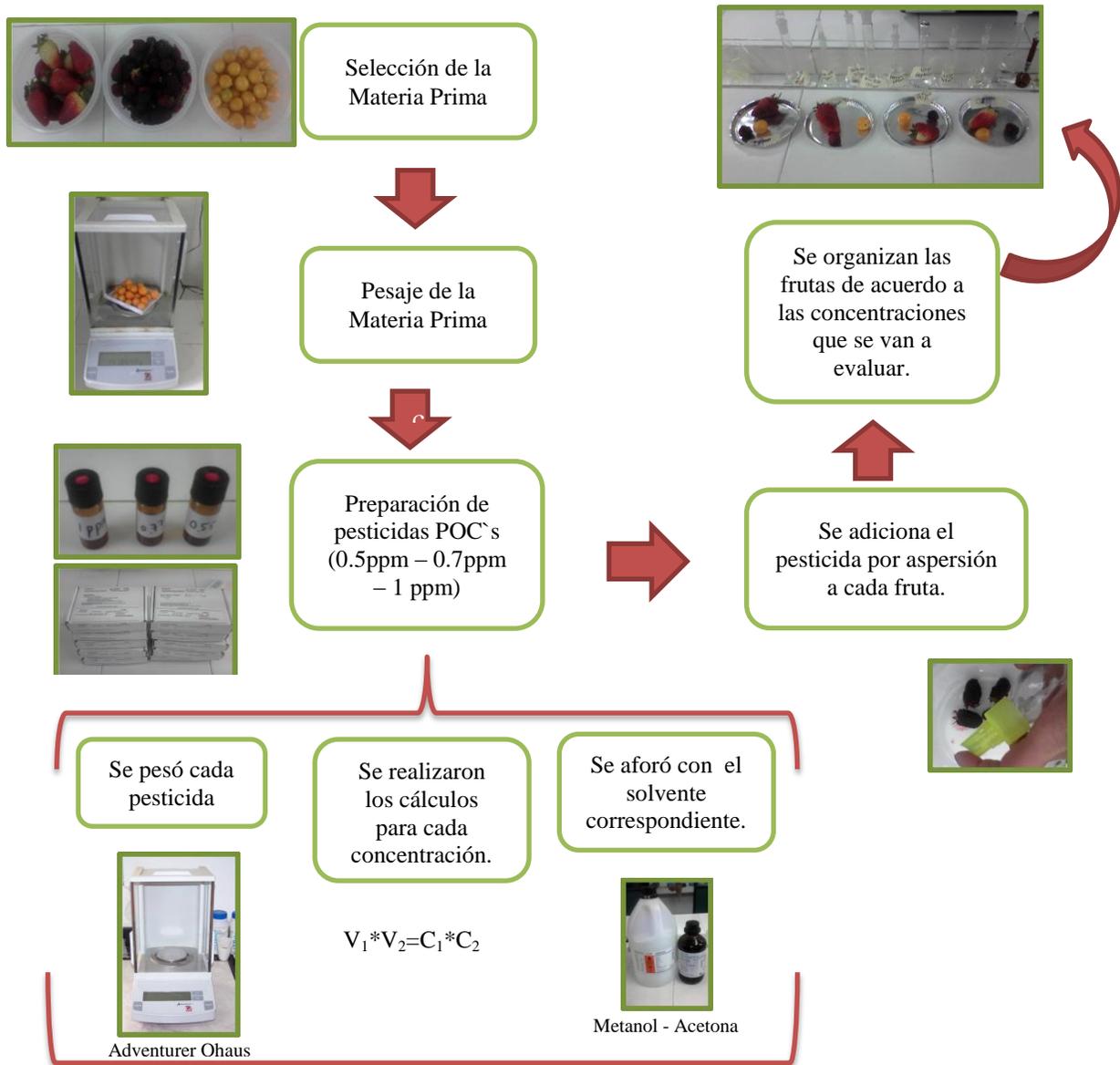


Figura 8. Esquema del Procedimiento de preparación de muestras. (Maldonado, 2017)

Toma de muestras con la E-nose 2.0.

Para el análisis de las muestras preparadas, se utilizó el prototipo de Nariz Electrónica diseñado por investigadores del Programa de Ingeniería Electrónica de la Universidad de Pamplona denominado E-nose 2.0 para llevar a cabo las pruebas con las diferentes muestras objeto estudio en el estado de madurez comercial.

Con cada una de las soluciones preparadas se entrenó el sistema multisensorial con el fin de captar y registrar las señales y patrones correspondientes a cada compuesto químico, los cuales posteriormente fueron registrados y evaluados. Inicialmente se midió la concentración de pesticida en las muestras control y posteriormente se evaluó cada una de las matrices contaminadas con los pesticidas relacionados en la tabla 13.

Para llevar a cabo el entrenamiento del sistema Multisensorial se tuvo en cuenta el tiempo de reposo entre cada concentración (0,5 ppm; 0,7 ppm y 1 ppm), el cual fue de 30 minutos, con el fin de disipar los olores entre los pesticidas. De igual manera, se tuvo en cuenta la clase de sensores y sus características.

En la figura 7 se muestran las especificaciones de operación del equipo electrónico de reconocimiento de patrones y el procedimiento de funcionamiento de la Nariz electrónica.

Tabla 13. Tipos de sensores utilizados en E-nose 2.0

Referencia del Sensor	Uso Específico	Rango de Detección (ppm)	Imagen de los Sensores
TGS-821	Hidrógeno y combustibles	30 - 1000	
TGS-813	Gases combustibles	10 - 1000	
TGS-832	CFC	10 - 1000	
TGS-825	Sulfato de Hidrógeno	5 – 100	
TGS-880	Olores de la comida, Gases volátiles, vapor de agua en alimentos	10 - 1000	
TGS-822	Vapores orgánicos, alcohol, toluene, xileno	50- 5000	
TGS-800	Contaminantes del aire	1 – 30	

Nota: Maldonado, 2017.

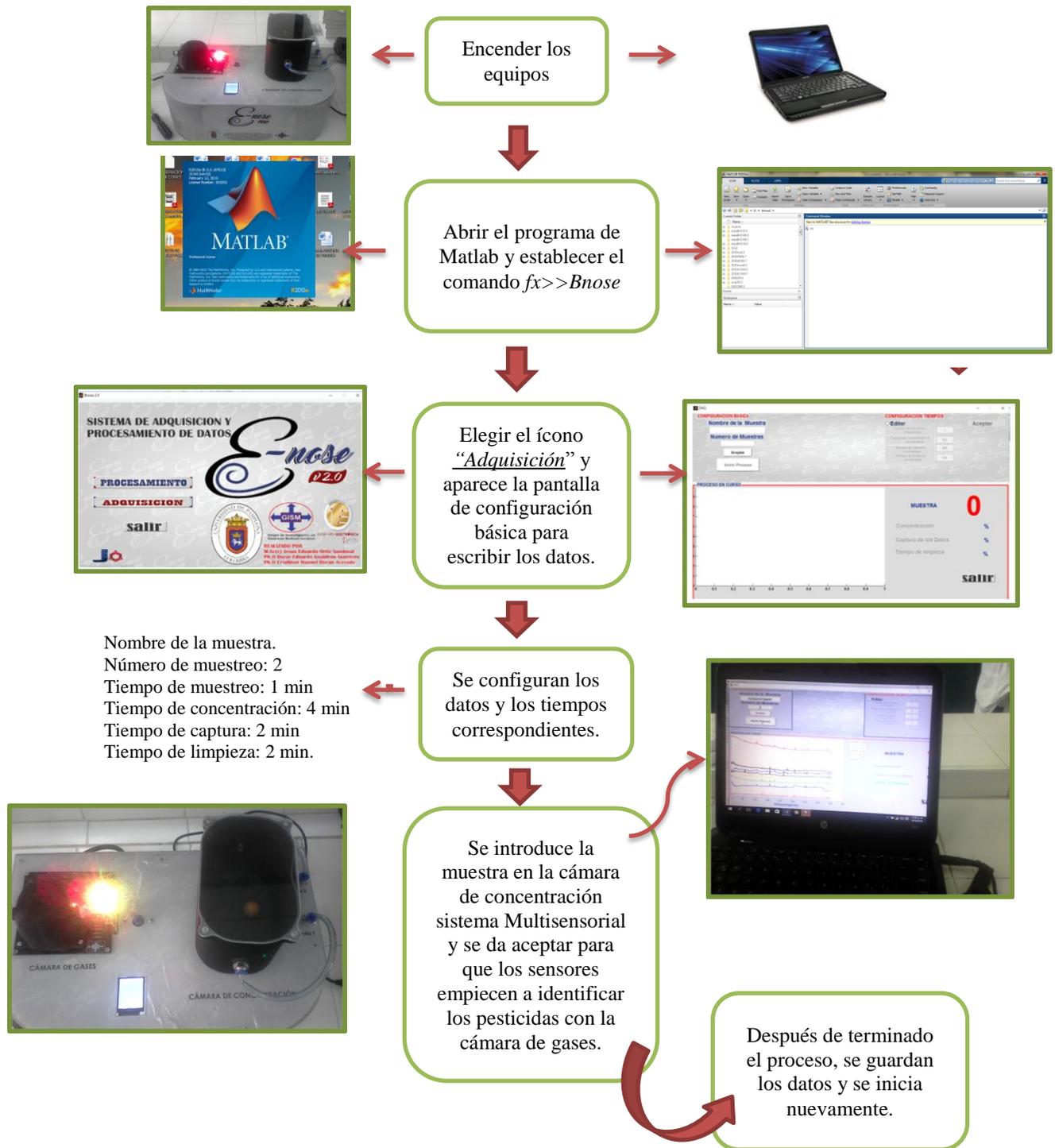


Figura 9. Procedimiento Adquisición de datos con la E-nose 2.0. (Maldonado, 2017)

Procesamiento de Datos en E-nose2.

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con el fin de determinar si existía o no diferenciación entre las muestras evaluadas y establecer así aquellos sensores con capacidad de reconocer las señales electroquímicas de las clases de gases detectados.

Para obtener datos confiables se tuvo en cuenta la información clara y precisa de los sensores, ya que se buscó determinar un análisis cualitativo (presencia o ausencia de plaguicidas). Para ello, primero se cargaron los datos al software (Matlab), seguidamente se eligió un tipo de procesamiento para la información (Gmax-Gmin/Gmax), luego se ejecutó el módulo de PCA y se cargaron los resultados para su análisis. Posteriormente se entrenó la nariz con las Máquinas de Soporte Vectorial (SVM) las cuales permitieron separar de datos no lineales transformando los datos de entrada a un espacio de mayor dimensión conocido como espacio de características en el que sí pueden ser separados mediante un hiperplano. La transformación se realizó mediante unas funciones denominadas núcleos o kernels.

Análisis Estadístico.

Se utilizó un diseño experimental multifactorial. La correlación de los análisis físico-químicos, el perfil cromatográfico y el entrenamiento, medición y validación de los datos con Nariz Electrónica se realizó a través de análisis estadístico multivariado utilizando un análisis de componentes principales (PCA) y las Máquinas de Soporte Vectorial (SMV).

Capítulo 5

Resultados y Discusión.

La primera fase del proyecto, el análisis físico-químicos de las frutas objeto estudio se efectuó con el fin de garantizar que los sensores pudieran reaccionar ante los volátiles emitidos por cada matriz en dos estados de madurez diferente y posteriormente entrenarla con la Nariz electrónica E-nose 2.0 construida por el Msc. Jesús Ortiz del Programa de Ingeniería Electrónica de la Universidad de Pamplona, la cual tuvo como referencia la Nariz Electrónica B-nose con la que cuenta el Grupo de Investigación de Sistemas Multisensoriales (GISM) de la misma Institución la cual está compuesta por 16 sensores y entrenada previamente con las frutas de fresa, mora y uchuva contaminadas con un pesticida Pirestar 38 EC, en concentraciones de 3, 4 y 5 ppm respectivamente.

Caracterización Físico-Química de la Materia Prima.

La región de Pamplona cuenta con una temperatura promedio de 18,5 °C y una humedad relativa de 75%., las frutas seleccionadas al azar se adquirieron específicamente en el centro de acopio del mercado local. Se escogieron predominantemente frutas con grado de madurez 4, 5 y 6 de acuerdo con lo establecido en la norma ICONTEC correspondiente a cada fruta como se muestra en la tabla 14, donde se corrobora que los estados de madurez seleccionados son los establecidos para comercializar y consumir.

Tabla 14. Estado de Madurez de las frutas objeto estudio.

Fruta	Estado de Madurez	Descripción	Norma Icontec
Fresa	5	El color rojo intenso aumenta y empieza a cubrir la zona del cáliz	4103
	6	el color rojo intenso cubre todo el fruto	
Uchuva	4	Verde amarillo	4850
	5	Amarillo intenso	
Mora	5	Fruto con mitad de área roja y mitad morada	4106
	6	Fruto morado Oscuro	

Nota: Maldonado, 2017

A continuación se mostraran los resultados fisicoquímicos por fruta evaluada.

FRESA (*Fragaria camarrosa* sp)



Figura 10. Muestra de Fresa analizada. (Maldonado, 2017)

Los principales aspectos que se tuvieron en cuenta para determinar la calidad de la fresa fueron: apariencia, firmeza, grado de madurez, brillo, color, ausencia de daños en los frutos, peso, diámetro, grados Brix y pH, los cuales coinciden con los exigidos por la norma y criterios de varios autores, (Casierra-Posada et al., 2011; Martínez et al., 2008; Mitcham, 1996; NTC 4103, 1997). Los resultados de la evaluación y análisis de las muestras de fruta objeto estudio se evidencian a continuación:

En la figura 11 se presenta la distribución promediada del color (Luminosidad (L), tonos rojos (a^*), tonos amarillos (b^*)), por grado de madurez de las fresas examinadas. Se observa que la luminosidad de la fruta varió obteniéndose 47,48 y 43,0 para el grado de madurez 5 y 6 respectivamente.

En la intensidad del color rojo (a) no hubo diferencia estadísticamente significativa, es decir, los dos estados de madurez (22,77 y 22,81) presentaron valores cercanos. Respecto a la intensidad de tonos verdes-amarillos, hubo diferencias estadísticas significativas entre los dos estados de madurez (19,48 – 28,06).

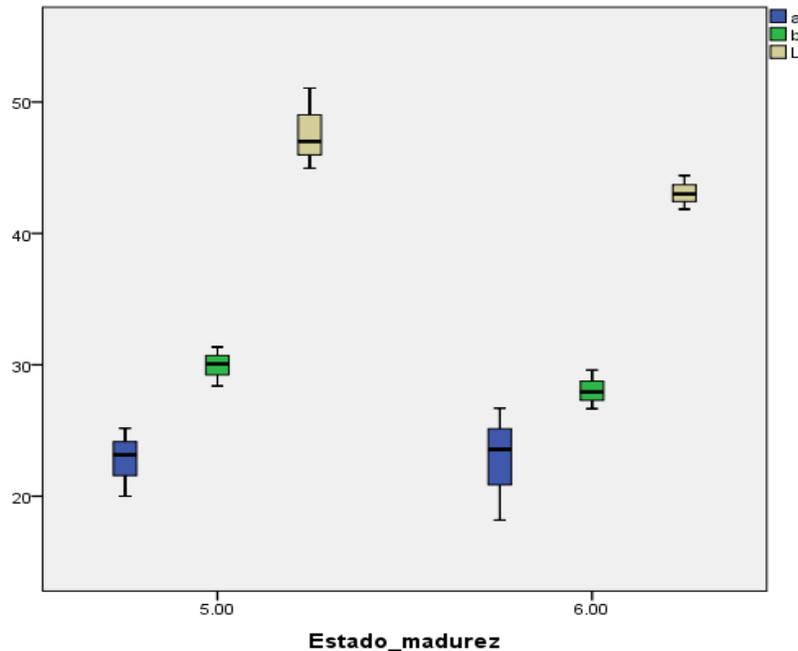


Figura 11. Diagrama de Cajas y Bigotes de a, b, L con respecto al Estado de Madurez de la fresa. (Maldonado, 2017)

Estos valores son similares a los obtenidos por Martínez –Soto et al., (2008) en la comparación de algunas propiedades fisicoquímicas de seis variedades de fresa (*Fragaria ananassa*) donde la variedad *Festival IM* comprende tonalidades de a y b con valores cercanos a los obtenidos en la presente investigación. De igual manera, la variabilidad en las tonalidades de la piel de la fresa observada en los 2 estados de madurez analizados se puede deber al cambio que presenta la fruta conforme va madurando y el cual está influenciado por diferentes factores como el contenido de antiocianinas, componentes responsables del color rojo de la fresa y funcionan como indicadores naturales de la maduración de la misma generando variabilidad en las tonalidades y pigmentos del fruto.

Entre otros factores importantes se incluye las condiciones del pH ácido de la fresa, tasa de respiración, clima, el manejo poscosecha, sólidos totales, entre otros; que influyen en los pigmentos (matiz o tono) de la fresa; lo que explicaría que el índice de madurez se

basa en el color rojo de la superficie de la fruta, los puntos negros y porosidad que la misma presente, (Alcantara-González, 2009; Cordenunsi et al., 2005; Thomson, 1996).

La figura 12 muestra las propiedades físicas de las muestras de fresa. Existe diferencia estadística significativa en el diámetro geométrico de las frutas con estado de madurez 5 y 6 donde se evidencia que el ancho y el espesor varía con valores que oscilan entre 6.36 - 4.16 cm y 5.1 – 3.26 cm respectivamente. Sin embargo, en el largo no se observa diferencia significativa.

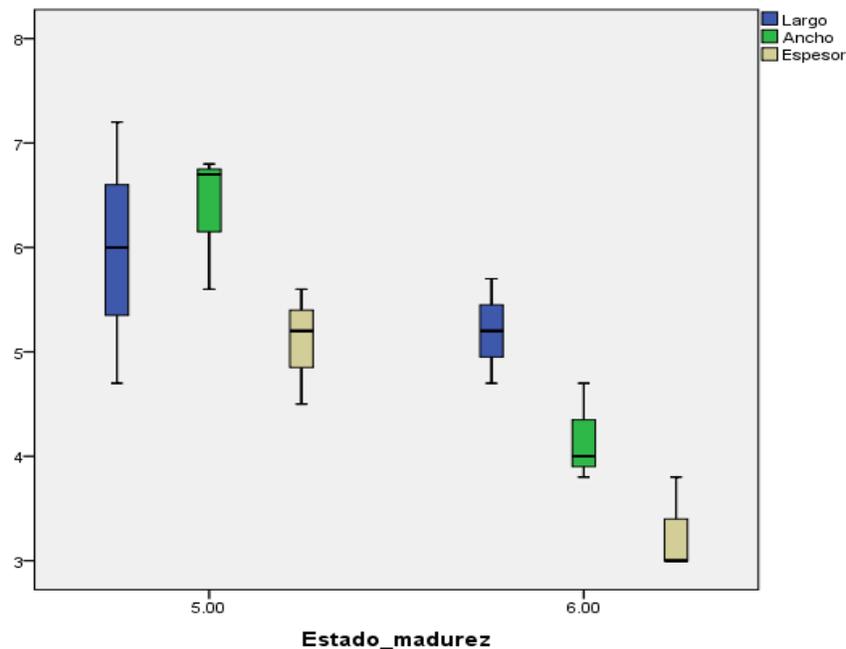


Figura 12. Diagrama de Cajas y Bigotes del largo, ancho y espesor con respecto al Estado de Madurez de la Fresa. (Maldonado, 2017)

La diferencia de tamaño puede deberse a la variabilidad en el cultivo, a factores extrínsecos (calidad de la luz, del suelo, de la atmósfera, temperatura, humedad relativa, entre otros) y/o intrínsecos (pH, actividad de agua, nutrientes, agentes antimicrobianos, entre otros) que afectan de una u otra manera el crecimiento del fruto. Varios estudios han demostrado que al someter a la planta a una mayor radiación de longitud de onda mejorando la eficacia fotosintética del vegetal, su comportamiento y la orientación de la

producción del fruto, se podría obtener un mayor rendimiento y tamaño en el cultivo de la fresa, (Casierra-Posada y Rojas, 2009; Rajapakse y Shahak, 2007).

Por otra parte, se han reportado estudios que evidencian que la utilización de acolchados plásticos de diferentes colores (preferiblemente polietileno el negro) influyen en la calidad y rendimiento del cultivo de fresa, (Wang, Galletta, y Camp, 1998). Asimismo, Casierra-Posada et al., (2011) evaluaron los efectos de la calidad de luz sobre la calidad de fresa (*Fragaria* sp cv. *Chandler*) con cinco filtros de polipropileno de colores diferentes (rojo, amarillo, azul, verde, y transparente), con plantas sin cobertura como control, concluyendo que la cobertura verde influenciaba en el crecimiento del fruto, la amarilla en el peso fresco y la roja tenía buenos resultados en la longitud y ancho de la fresa.

De la figura 13 se infiere que no existe diferencia estadísticamente significativa entre humedad, peso y grados Brix de los estados de madurez de los frutos objeto estudio. Los valores encontrados fueron: 92.41 y 92.59 para humedad; 21.6 y 20.92 para peso y 7.5 – 7.76 para sólidos solubles, los cuales se encuentran dentro de los rangos establecidos por la norma (7.4 a 8.1 para madurez 5 y 7.9 a 8.5 para madurez 6). Estos datos coinciden con los obtenidos por Martínez-Soto et al., (2008) donde no hubo diferencias estadísticas significativas entre las variedades *Sweet Charly1*, *Camino Real* y *Albión* en el peso, sin embargo, respecto al contenido de sólidos solubles (°Bx), existieron diferencias estadísticas significativas entre todas la variedades analizadas a un nivel de confianza del 95 %.

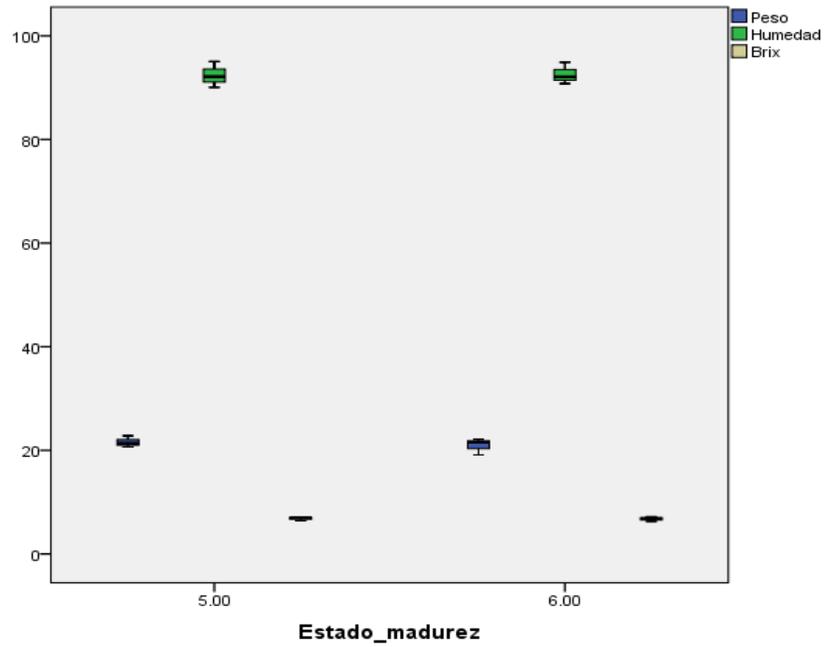


Figura 13. Diagrama de Cajas y Bigotes del Peso, Humedad y grados Brix con respecto al Estado de Madurez de la Fresa. (Maldonado, 2017)

En el caso de la acidez y el pH no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Figura 11).

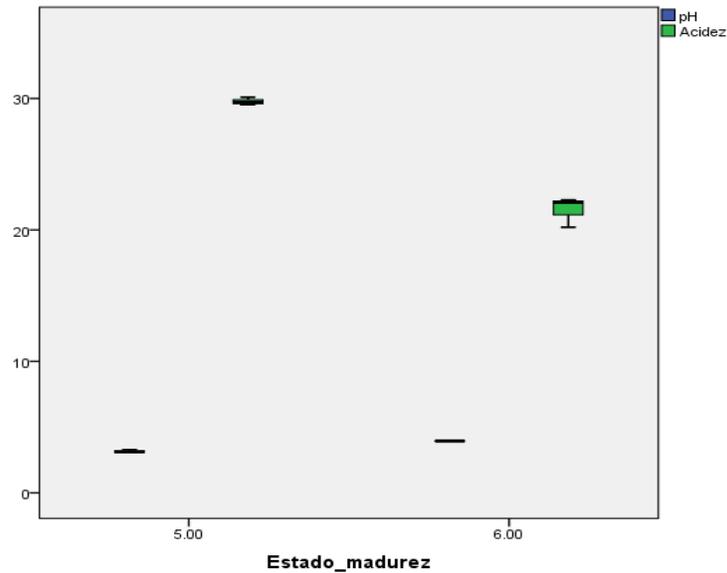


Figura 14. Diagrama de Cajas y Bigotes del pH y la acidez con respecto al Estado de Madurez de la Fresa. (Maldonado, 2017)

De igual manera, en el parámetro de firmeza no hubo diferencia significativa entre los dos estados de madurez (2.40 a 2.50 N respectivamente).

MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucos* sp)



Figura 15. Muestra de mora utilizada para el análisis. (Maldonado, 2017).

En la figura 16 se observa que existen diferencias estadísticas significativas en los parámetros de L, a y b entre los dos estados de madurez de la mora. Esto se debe a que los antocianos y carotenoides van aumentando conforme el fruto se va desarrollando (Ayala S., 2013). El estado de madurez 5 presenta color rojo intenso con drupillas de color morado y el 6, presenta una coloración de morado intenso (NTC 4106, 1997).

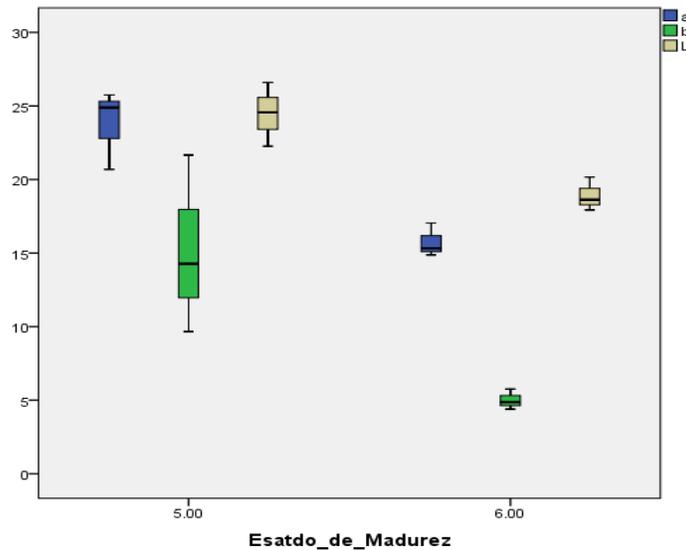


Figura 16. Diagrama de Cajas y Bigotes de a, b, L con respecto al Estado de Madurez de la Mora. (Maldonado, 2017)

En la figura 17, el análisis de varianza estableció que no existen diferencias significativas entre las medias de la longitud, el ancho y el espesor para los dos grados de madurez analizados.

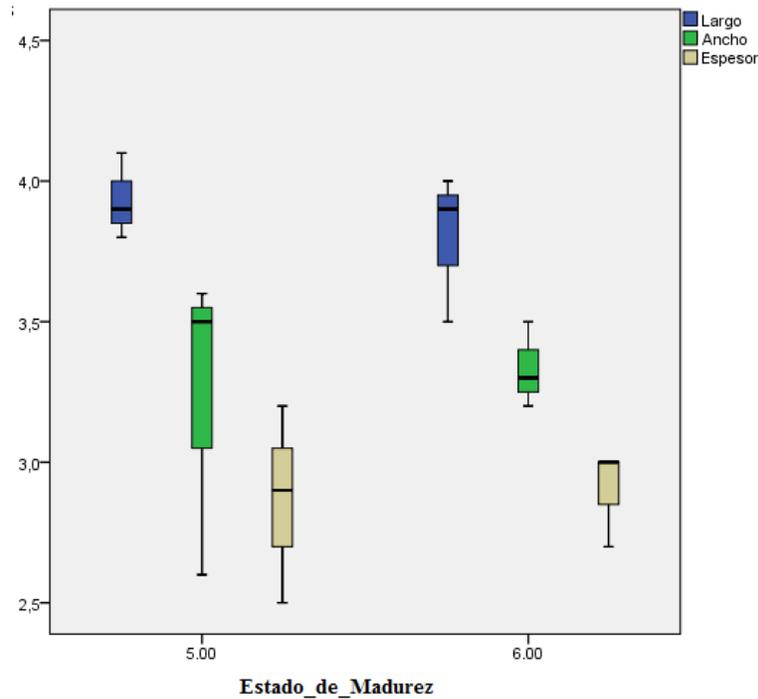


Figura 17. Diagrama de Cajas y Bigotes de largo, ancho y espesor con respecto al Estado de Madurez de la Mora. (Maldonado, 2017)

El peso presentó diferencias estadísticamente significativas (Tabla 15), observándose un comportamiento descendente entre el estado de madurez 5 y 6 de 7.65 a 7.58 gramos respectivamente. Lo anterior se puede deber a la importancia que tiene las condiciones de recolección, transvase, empaque, acopio y transporte del fruto, ya que estas pueden influir en que la mora cosechada no alcance a experimentar los cambios estructurales en la protopectina generando ablandamiento de los tejidos, liberación de agua y otros compuestos al medio ocasionando la reducción en el peso.

Respecto del contenido de SST y de humedad, el análisis de varianza estableció que no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los dos estados de madurez,

obteniendo valores promediados correspondientes a 6.4 - 6.67 para brix y 82.85 -83.56 para humedad.

Tabla 15. Análisis de varianza (ANOVA) del peso, la humedad y °Brix de los dos estados de madurez de la Mora.

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	p-Valor
Peso	Entre grupos	3,082	1	3,082	7,793	,049
	Dentro de grupos	1,582	4	,395		
	Total	4,663	5			
Humedad	Entre grupos	,749	1	,749	,241	,649
	Dentro de grupos	12,453	4	3,113		
	Total	13,202	5			
Brix	Entre grupos	,107	1	,107	,299	,614
	Dentro de grupos	1,427	4	,357		
	Total	1,533	5			

Nota: p<0,05 indica diferencia significativa. (Maldonado, 2017)

En términos generales el contenido de humedad de los frutos presentó un comportamiento con tendencia ascendente atribuible al cumplimiento del ciclo biológico de los frutos en las fases de crecimiento y maduración, así como la respiración (Alvarez et al., 2009). El Análisis de varianza demostró que no existe una diferencia estadísticamente significativa (p=0,649) entre medias de la humedad para los estados de madurez evaluados, resultados que se asemejan a los obtenidos por Ayala et al., 2013.

Respecto al contenido de sólidos solubles totales, se presentó un incremento directamente proporcional al grado de madurez. Conducta atribuible a la conversión de ácidos orgánicos en azúcares (Rincon et al., 2012) o a la reserva de carbohidratos de la planta por baja capacidad fotosintética del fruto (Ayala-Sánchez et al., 2012). Los valores obtenidos para la variable de SS difieren de los reportados en la norma NTC 4106 (7.2-7.7 para GM 5 y 7.9-8.5 para GM6) pero son similares a los obtenidos por Alzate-Quintero et al., 2010, quienes encontraron en frutos de mora de dos zonas del

departamento de Caldas evaluadas, que el contenido promedio de °Brix obtenido era de 6.948 y 6.432 respectivamente.

Lo anterior se puede deber a la condición de respiración del fruto que lo clasifica como no climatérico; característica que incide en el contenido de sólidos solubles, la síntesis de azúcares y otros compuestos se ve afectada durante el desarrollo y maduración del fruto, aun cuando se presentan cambios en la coloración. Otros factores que se deben tener en cuenta son la variedad del fruto, al rendimiento asimilatorio de las hojas, de la relación hoja/fruto, de las condiciones climáticas durante el desarrollo del mismo y de las condiciones de almacenamiento que éste haya tenido, (Ayala, 2013). Asimismo, la correlación positiva entre el estado de madurez y el aumento de los SST se atribuye a la conversión de ácidos orgánicos en azúcares o la traslocación de carbohidratos de reserva a sacáridos simples atendiendo a la baja capacidad fotosintética del fruto (Llácer, 2008).

En la tabla 16 se presenta el análisis de varianza el cual muestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre el pH y la acidez en los estados de madurez 5 y 6 de la mora.

Tabla 16. Análisis de varianza (ANOVA) del pH y la acidez de los dos estados de madurez de la Mora.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-Valor
pH	Entre grupos	3,286	1	3,286	172,623	,000
	Dentro de grupos	,076	4	,019		
	Total	3,362	5			
Acidez	Entre grupos	62,727	1	62,727	55,923	,002
	Dentro de grupos	4,487	4	1,122		
	Total	67,213	5			

Nota: p<0,05 indica diferencia significativa. (Maldonado, 2017)

Estos resultados son similares a los obtenidos por Ayala et al., 2013, Alzate-Quintero et al., 2010 y Bernal-Roa et al., 2014; quienes encontraron diferencias

significativas en el pH y disminución del porcentaje de acidez de diferentes estados de madurez de la mora de castilla. Según Jaramillo et al., (2000), el pH y los sólidos solubles de los materiales se incrementan al final de la etapa de maduración, mientras que el porcentaje de acidez disminuye. Montalvo, 2009 reporta que este comportamiento obedece a los cambios bioquímicos naturales que presenta el fruto durante los primeros estados del proceso de maduración, donde aumenta la concentración de ácidos orgánicos u otros compuestos aportantes de hidrogeniones productos de la actividad de enzimas específicas que promueven la acumulación de sacarosa y glucosa durante el llenado de frutos, haciendo que el pH aumente y la concentración de ácidos disminuya durante las últimas fases de maduración.

De la misma manera, Rodríguez et al., (2010), concluyen que el comportamiento variable de este parámetro en los grados de madurez finales (5 y 6) se considera que puede estar relacionado con el aumento de la tasa respiratoria, el contenido de azúcares y pigmentos, durante la maduración y senescencia. En el caso de la firmeza, no hubo diferencias significativas entre los frutos evaluados para los dos estados de madurez, encontrándose valores promediados entre 7.6 -7.7 N respectivamente, valores similares a los obtenidos por Pulido (2012).

UCHUVA.



Figura 18. Muestra de mora utilizada para el análisis. (Maldonado, 2017).

En la Figura 19 se observa que el análisis de varianza estableció que no existen diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de color L, a y b.

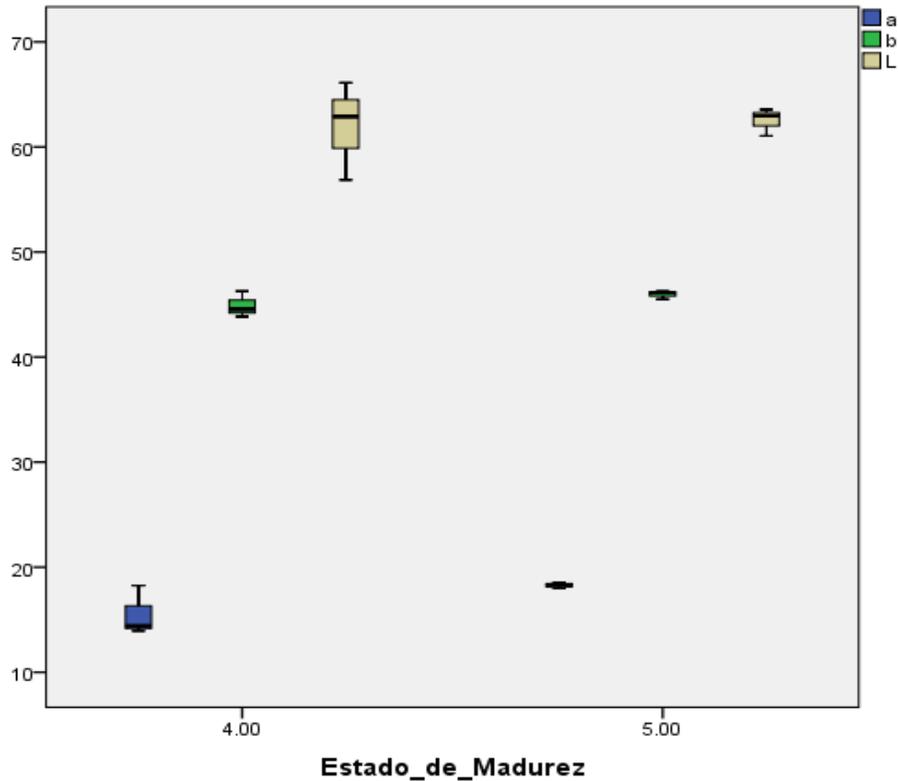


Figura 19. Diagrama de Cajas y Bigotes de L, a y b con respecto al Estado de Madurez de la Uchuva. (Maldonado, 2017).

De la misma manera se puede observar en la figura 20 que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el largo, ancho y espesor de las frutas de uchuva en los estados de madurez 4 y 5 evaluados. Se obtuvieron valores promediados de 3.0-3.2 mm; 2.6- 2.8 mm y 3.16-3.18 mm respectivamente, resultados similares a los obtenidos por Caballero et al., 2010.

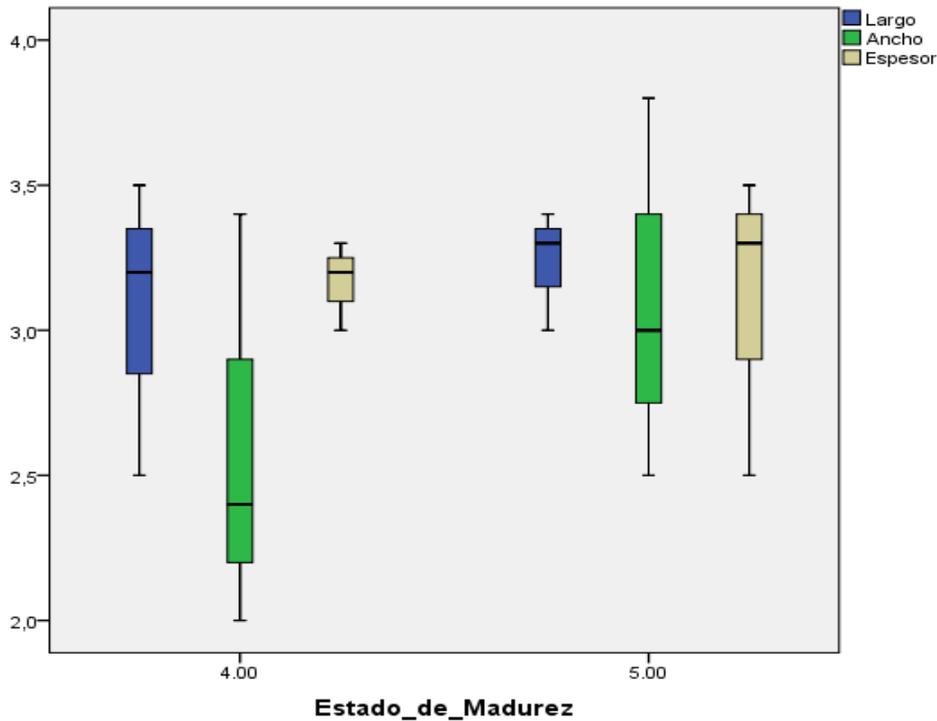


Figura 20. Diagrama de Cajas y Bigotes de largo, ancho y espesor con respecto al Estado de Madurez de la Uchuva. (Maldonado, 2017)

En la tabla 17 se presenta que existen diferencias estadísticamente significativas en el peso y los grados Brix entre los estados de madurez 5 y 6 de la uchuva. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por Mendoza et al., 2012 en análisis fisicoquímico de 6 lotes de uchuva, encontrando variabilidad en el peso y en la posición de la media en cada lote evaluado con maduración 4, 5 y 6. Asimismo, encontraron un total de sólidos solubles de 13°Brix que concuerda con el obtenido en esta investigación que fue de 13.5 y 14.86 para el grado de madurez 5 y 6 respectivamente, al igual que los resultados reportados por Marín et al., (2010) (14.3° Brix); Márquez et al., (2009) (13,5° Brix) y Restrepo-Duque et al., (2009) (13.8° Brix) en el análisis de la composición química de la uchuva en diferentes regiones.

Tabla 17. Análisis de varianza (ANOVA) del peso, humedad y °Brix de los dos estados de madurez de la Uchuva.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p_Valor
Peso	Entre grupos	,714	1	,714	117,395	,000
	Dentro de grupos	,024	4	,006		
	Total	,738	5			
Humedad	Entre grupos	,228	1	,228	,206	,673
	Dentro de grupos	4,428	4	1,107		
	Total	4,656	5			
Brix	Entre grupos	2,667	1	2,667	69,565	,001
	Dentro de grupos	,153	4	,038		
	Total	2,820	5			

Nota: $p < 0,05$ indica diferencia significativa. (Maldonado, 2017)

De la misma manera, Galvis et al, (2005), reportan que los frutos de uchuva maduros tienen un contenido entre 13 y 15 °Brix, datos que coinciden con los obtenidos en la presente investigación, y destacan los azúcares de mayor presencia (sacarosa, glucosa y fructosa). Asimismo, Hernández (2001) explica que la medida de °brix se encuentra asociada con los azúcares disueltos en el jugo celular los cuales aumentan debido al producto de la hidrólisis del almidón y/o la síntesis de sacarosa, así como de la oxidación de ácidos consumidos en la respiración (desdoblamiento de sustancias de reserva), lo que soporta la variabilidad de los sólidos solubles a medida que el fruto va madurando.

Galvis et al., (2005) obtuvieron que el peso de los frutos maduros de uchuva oscila aproximadamente en 5 g y que esta característica debe tenerse en cuenta para el acondicionamiento del producto durante el periodo de poscosecha, especialmente en las operaciones de clasificación. El peso obtenido para el estado de madurez 5 y 6 fue de 3.8 y 4.5 respectivamente, clasificándose como calibre E según la norma NTC 4580 (1999).

En la figura 21 se observa que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para pH pero para acidez sí (p-valor=0.001).

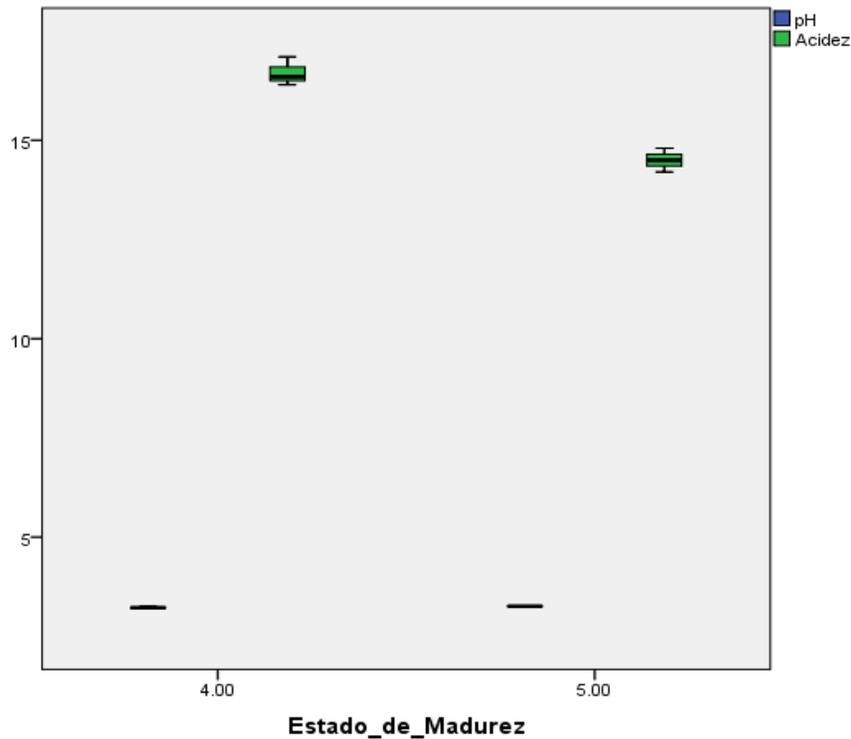


Figura 21. Diagrama de Cajas y Bigotes de pH y Acidez con respecto al Estado de Madurez de la Uchuva. (Maldonado, 2017)

Los valores de pH promediados obtenidos para los estados de madurez 5 y 6 fueron de 3.22 y 3.26 respectivamente, asemejándose a los obtenidos por Mendoza et al., (2012) quienes concluyen que la acidez sensorial no está correlacionada directamente con el pH de un producto elaborado industrialmente y Galvis et al., 2005 establecen que durante la maduración del fruto el pH aumenta como consecuencia de la reducción de los niveles de ácidos orgánicos; comportamiento propio de los frutos climatéricos, lo que permite establecer que no haya diferencias entre el estado de madurez 5 y 6.

En el caso de la acidez se obtuvieron valores semejantes a los reportados por Krüger et al., (2011) quienes reportaron variaciones y una relación inversa entre la maduración y el valor de la acidez titulable en los frutos evaluados. Esto se puede presentar debido a que a medida que el volumen del fruto aumenta, se disminuye el contenido porcentual de

la acidez debido al efecto de dilución (Almanza y Espinosa, 1995); indicando que los ácidos se están utilizando como substrato de respiración ya que éstos, en comparación con los carbohidratos, contienen por cada átomo de C y de H, más átomos de O y así la liberación de CO₂ es mayor que la toma de O₂. Por lo anterior, Fischer y Lüdders (1997) concluyeron que las uchuvas después de 20 días de maduración, presentan una disminución en el contenido de ácidos porque los valores picos de acumulación de almidón y ácidos coinciden en el fruto.

Al igual que el color, la firmeza es uno de los atributos que determinan su aceptación en el mercado. Los resultados obtenidos mostraron que la uchuva no presentó diferencias estadísticas significativas. A medida que avanza el proceso de maduración de la fruta se observa la aparición de ciertas enzimas, las cuales actúan sobre los compuestos pépticos al momento de su recolección y transporte. Los resultados obtenidos indican que a pesar de que no se realiza una selección y clasificación de esta fruta su firmeza se mantiene constante.

En términos generales, la evaluación fisicoquímica de las tres muestras de fruta objeto estudio permitió establecer que se presentaron diferencias estadísticamente significativas comunes en el parámetro de luminosidad para fresa y mora; y en el peso y la acidez para mora y uchuva, esto es normal dado que son frutos diferentes, sin embargo el parámetro de tamaño fue tenido en cuenta en el momento de entrenar la nariz electrónica para evitar posibles variaciones en los resultados. Teniendo en cuenta que los valores obtenidos en las frutas estudiadas se encuentran dentro de los requisitos de frutos con madurez comercial y de consumo, se tomó la decisión de trabajar con los dos estados de madurez para el entrenamiento de la nariz electrónica y evaluar si este parámetro influye en la detección de los plaguicidas. De igual manera es importante resaltar que en un futuro y según los resultados del trabajo de investigación, el equipo será utilizado por productores e industriales en frutos con estado de madurez comercial.

Análisis de Pesticidas Organoclorados en las frutas objeto estudio por Cromatografía de Gases.

Con el fin de establecer si las frutas frescas objeto estudio tenían o no presencia de plaguicidas y tener la certeza que las frutas solo tengan las concentraciones de pesticidas agregadas para entrenar la nariz electrónica y poder dar confiabilidad a los datos, se llevó a cabo el análisis por cromatografía de gases con detector de captura de electrones obteniéndose los siguientes resultados:

En la figura 22 se infiere que no hubo presencia de pesticidas organoclorados en las frutas frescas de mora y uchuva, obteniéndose valores $<2,5$, sin embargo en la fresa, se encontró posible presencia de trazas de delta-lindano, heptacloro y aldrin por debajo del LMRs (0,012 a 0,135mg/Kg). Esto indica que, a pesar que los límites máximos de residualidad no son sobrepasados, se debe realizar monitoreo y constante seguimiento en la utilización de este tipo de compuestos químicos que repercuten en la salud del consumidor y consecuencias graves en el medio ambiente, para el caso de investigación el que haya presencia puede que influya positivamente en la detección del organoclorado. Caso similar ocurrió con los resultados obtenidos por Guerrero et al., (2003) quienes no encontraron residuos que sobrepasaran los límites máximos de residuos (LMRs) en el 95.4% de las muestras evaluadas (cultivos de fresa, repollo, uchuva y tomate de diferentes departamentos de Colombia), sólo hallaron dos muestras positivas con residuos de plaguicidas de clorpirifos en tomate (4,7).

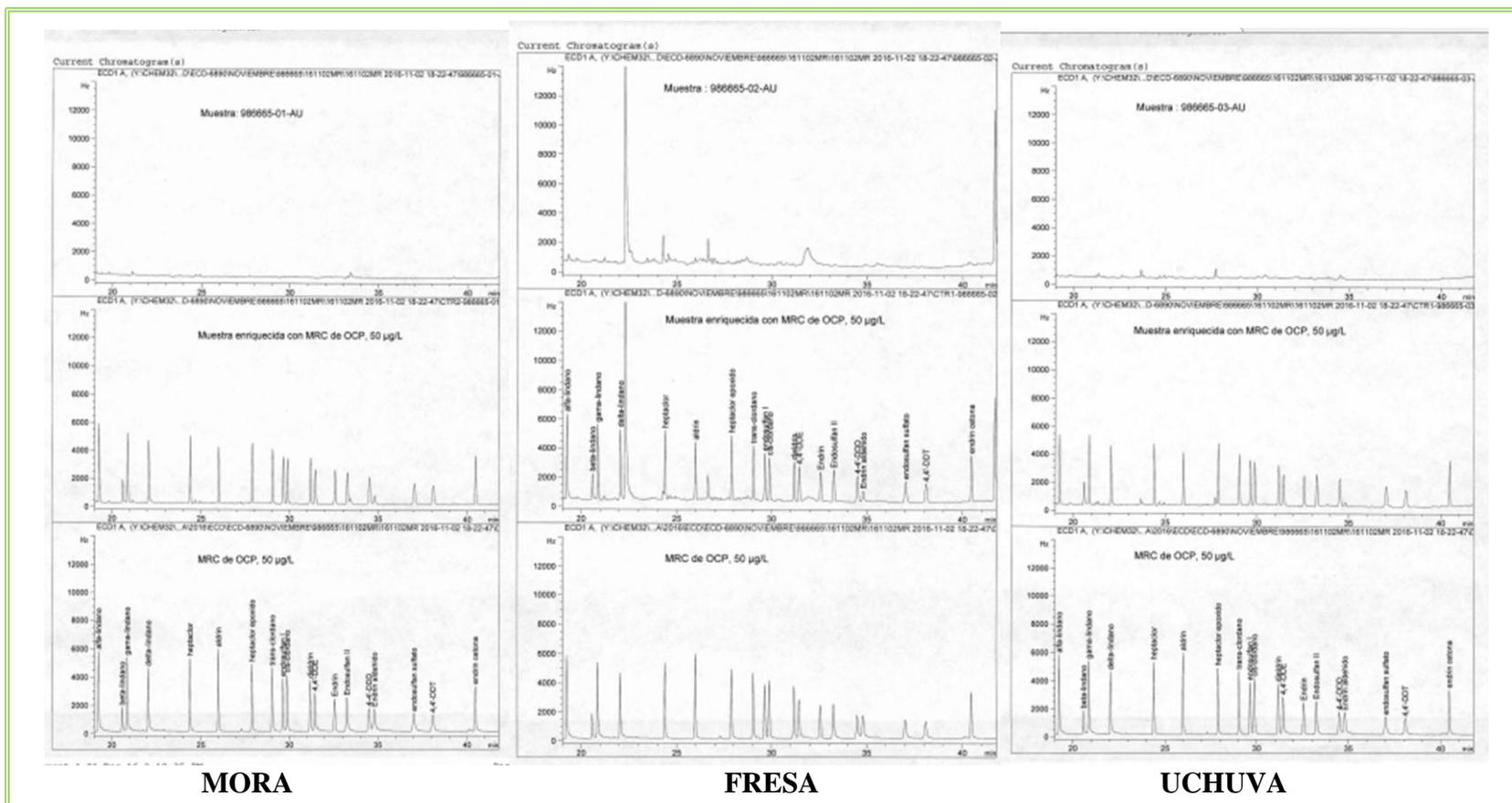


Figura 22. Diagrama de los análisis cromatográficos de las muestras objeto de estudio. (Maldonado, 2017)

Asimismo, Montaña-Garcés y Guerrero-Dallos (2001, 2004) analizaron 20 muestras de fresa tomadas de los municipios de Facatativá, Sibaté y Guasca (departamento de Cundinamarca) siguiendo un diseño de muestreo aleatorio estratificado, encontrando residuos principalmente de Captan, en un 70% de las muestras analizadas en un rango de concentraciones de 0,46 a 2,8 mg/kg. En todos los casos, las concentraciones determinadas estuvieron por debajo del LMR.

Otros resultados similares fueron los obtenidos por Kofi Bempah et al (2016) donde los datos revelaron que el 20% de las muestras de frutas y hortalizas estaban por encima del LMR, el 73% estaban por debajo del LMR y el 7% no contenían niveles detectables de los plaguicidas controlados, concluyendo que la mayoría de las frutas y hortalizas contenían residuos de plaguicidas por debajo del residuo máximo aceptado (LMR) aprobado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) de la Comisión del Codex Alimentarius (CAC).

Así sucesivamente, se encontraron múltiples estudios en todo el mundo de pesticidas en frutas y vegetales (Farina et al., 2016; Jin Ma et al., 2016; Wu et al., 2017; Barron, 2017; entre otros) que se siguen realizando y que concluyen en la importancia de continuar con monitoreos y alternativas que permitan controlar el uso indiscriminado de estos químicos con el fin de proteger la salud humana y evitar la actividad genotóxica en el organismo (Pabuena et al., 2015) y por consiguiente residuos en el agua, los suelos y cultivos (España-amórtegui, 2013; Kafilzadeh, 2015; Pérez, 2013; Uzcátegui et al., 2011).

Los resultados indicaron que los niveles de plaguicidas encontrados en los diferentes estudios no implicaban riesgo para la salud del ser humano; sin embargo, los autores recomendaron el desarrollo de programas de monitoreo de residuos de plaguicidas con el objeto de proteger al consumidor.

Análisis de Pesticidas Organoclorados con Nariz Electrónica.

Después de haber obtenido los resultados fisicoquímicos y cromatográficos de las frutas objeto estudio, se procedió a entrenar la nariz electrónica con las muestras de fresa, mora y uchuva por duplicado en fresco y contaminadas con siete pesticidas organoclorados (aldrin, endrin, beta, delta y gamma- BHC, Endosulfan I y II y 4,4 DDE) por aspersión en tres concentraciones 0,5: 0.7 y 1 ppm; como se explicó en la metodología anteriormente.

Sistema Multisensorial (Nariz Electrónica).

El sistema Multisensorial con el cual se llevó a cabo el análisis de las muestras consta de una cámara de muestreo con una tarjeta PCB donde se encuentra la cámara de sensores que funciona con el programa PROTEUS 8 PROFESIONAL, dispositivos que se encargan de crear una huella distinta para cada volátil y posteriormente realizar el análisis de los datos. La matriz de los sensores que compone a la E-Nose2.0 se observan en la tabla 18.

Los sensores de gases utilizados en el prototipo fueron de tipo semiconductor (MOS), concretamente de óxido de estaño los cuales basan su funcionamiento en la variación de la resistencia que presenta su capa activa ante diferentes compuestos volátiles. Igualmente, exhiben un cambio en la resistencia/conductividad eléctrica cuando se exponen a los compuestos volátiles debido a la adsorción u oxidación catalítica de moléculas gaseosas en la superficie del sensor ocasionando cambios que son registrados como señales electroquímicas correspondientes que generan la respuesta del mismo. (Burlachenko et al., 2016; Galdron et al., 2015; Ortiz, 2016, entre otros). Estos sensores cumplen con característica que se asemejan a las establecidas por Rubio et al., 2016 en su trabajo.

Tabla 18. Matriz de sensores utilizados en la E-nose 2.0

No. Sensor	Referencia del Sensor-Fígaro
S1	TGS-800
S2	TGS-813
S3	TGS-821
S4	TGS-832
S5	TGS-822
S6	TGS-825
S7	TGS-880

Fuente: Maldonado, 2017

Otros accesorios importantes (figura 23) con los que cuenta la E-nose 2.0 (Ortiz, 2016) para su funcionamiento son los que se relacionan a continuación:

- **Cámara de Concentración**, donde se capturan los volátiles de la muestra analizada.
- **Tarjeta de adquisición de datos DAQ de National Instruments (Ref. 6009)**, este dispositivo cuenta con 14 salidas/entradas digitales y 8 canales simples análogos o 2 diferenciales, además su rango de trabajo es $\pm 10V$ en adquisición simple o $\pm 20V$ en adquisición diferencial, además, cuenta con un componentes DAQMX para Matlab donde facilita el uso de la adquisición de datos o manipulación de salidas, puede enviar la señal por comunicación Wi-Fi utilizando el protocolo IEEE 802.11b con el Shield de Arduino.
- **La tarjeta ARDUINO MEGA 2560**, que tiene como objetivo controlar las señales de la nariz electrónica actuando como interfaz con el computador por medio de la tarjeta de adquisición de datos. Al igual, es la encargada de controlar las electroválvulas que permitirán el flujo de aire a través de las cámaras de concentración y de muestreo, así como, de realizar el encendido del nebulizador que funciona como compresor para transportar los volátiles y realizar la limpieza de los sensores.

- **Pantalla táctil a color** que tiene como fin permitir ver el proceso, estipular el tiempo transcurrido y sirve como interfaz hombre máquina entre el usuario y el sistema multisensorial.
- **Un nebulizador**, que funcionan a 110V y es el encargado de proporcionar el aire para la limpieza de los sensores entre el análisis de cada muestra.

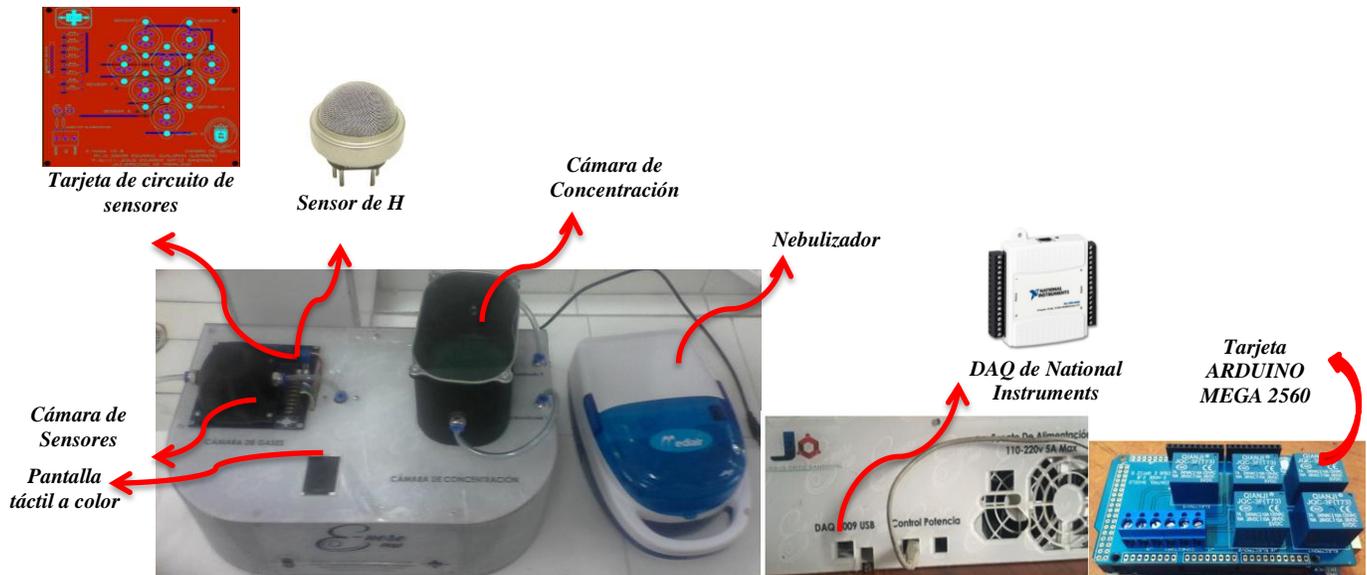


Figura 23. Partes de la Nariz Electrónica E-nose 2.0. (Maldonado O., 2017)

Entrenamiento de la Nariz Electrónica.

Para iniciar el reconocimiento de volátiles con la nariz electrónica, se realizó la preparación de cada una de las muestras, tal y como se describe en la metodología. Basándose que la norma del Codex Alimentarius establece que los límites de concentración máxima de pesticidas en las muestras objeto estudio no debe sobrepasar el rango establecido entre 0.01 – 0.05 ppm. Teniendo en cuenta que la Nariz electrónica E-nose 2.0 estaba entrenada para reconocer concentraciones de pesticidas de 3, 4 y 5 ppm, y que en el mercado local no se encontraron sensores con detección en partes por billón, se

planteó verificar el reconocimiento de concentraciones más bajas y se optó por entrenar la nariz con 0.5, 0.7 y 1 ppm.

Lo anterior con el propósito de establecer rangos más bajos de reconocimiento en trazas de plaguicidas, para ello se llevaron a cabo los siguientes pasos:

1. Se puso en funcionamiento la nariz electrónica y se programó cada análisis por muestra y pesticida por duplicado con los siguientes datos (figura 24):
 - Nombre de la Muestra
 - Número de Muestras a analizar: 2
 - Tiempo de Muestreo: 1 segundo
 - Tiempo de Concentración: 4 minutos
 - Tiempo de Captura: 2 minutos
 - Tiempo de Recuperación: 2 minutos



Figura 24. Módulo para la programación de datos en la nariz electrónica.

2. Se introdujo la muestra en la cámara de concentración de gases y se inicia el proceso de reconocimiento de datos. Las primeras muestras que se trabajaron fueron sin pesticidas y posteriormente se analizó cada una de ellas con las respectivas concentraciones realizando un análisis total de 255 matrices.

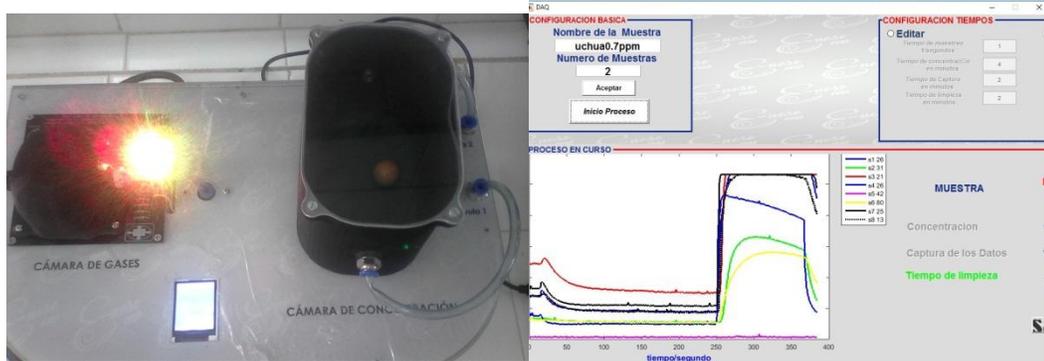


Figura 25. Detección de volátiles y toma de datos por Nariz Electrónica.

3. Luego que los sensores culminan con la detección de los volátiles, se cierra el módulo de adquisición de datos, y se pasa al procesamiento de la información.

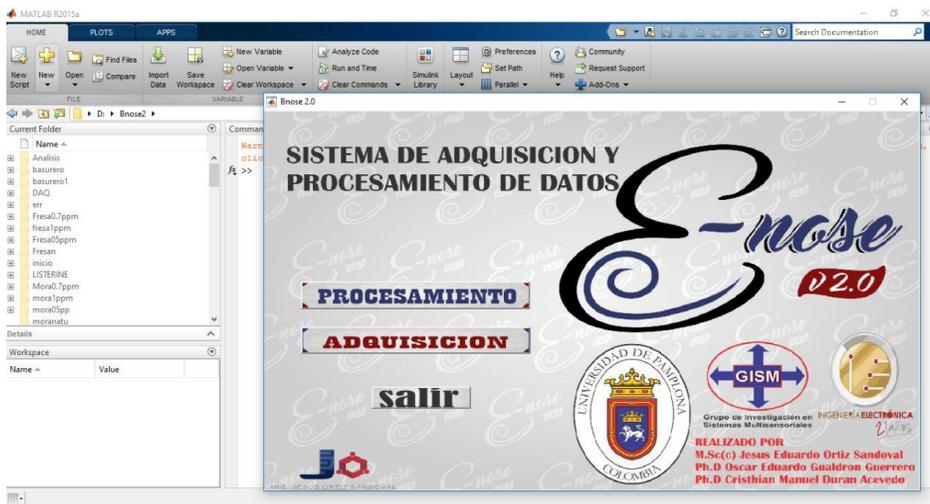


Figura 26. Módulo de adquisición y almacenamiento de datos.

4. Procesamiento de datos por el software Matlab. Este se realizó en un módulo denominado Bnose versión 1.0, software que fue elaborado bajo la plataforma Matlab y creado en el año 2009 (Ortiz, 2016); se encarga de procesar los datos de manera sencilla, se tiene en cuenta la conductancia mínima menos la conductancia máxima, y posteriormente se realiza el análisis estadístico de componentes principales obteniendo las gráficas correspondientes a cada detección de pesticida.

Procesamiento y Análisis de Datos.

Análisis de Componentes Principales (PCA).

El primer procesamiento de datos que se realizó fue un análisis de componentes principales con el objetivo de establecer si la nariz electrónica separaba o no las muestras objeto estudio, posteriormente se llevó a cabo un segundo análisis utilizando máquinas de soporte vectorial con el fin de entrenar la nariz con los datos obtenidos y luego verificar que ésta clasificara los pesticidas y diferenciara cada fruta contaminada con su respectivo pesticida y concentración; adicionalmente se estableció el tipo de sensor que detectaba cada pesticida.

Como primera medida se realizó el análisis para establecer si la nariz electrónica reconocía la fruta fresca sin pesticida en sus dos estados de madurez, tal y como se muestra en la siguiente gráfica, donde se evidencia que hubo una respuesta de reconocimiento de los sensores del 100 %, resultado obtenido igualmente por Ortiz (2016). Posteriormente, se realizó el análisis con cada uno de los pesticidas objeto estudio con el fin de establecer si la nariz electrónica diferenciaba las concentraciones de menor cantidad.

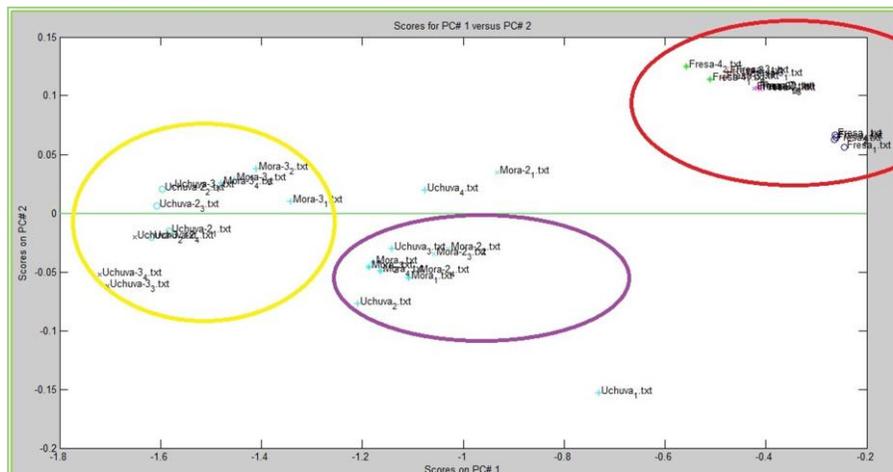


Figura 27. PCA de la fruta fresca sin pesticida. (Maldonado O, 2017; Ortiz, 2016)

A continuación se muestran las gráficas de componentes principales con las tres concentraciones estudiadas por pesticida analizado en las frutas objeto estudio.

Aldrin.

El nombre científico del aldrín es 1,2,3,4,10,10-hexacloro-1,2,4a,5,8,8a-hexahidro-1,4-endo,exo-5,8-dimetanonaftalina y en su calidad técnica contiene no menos de 85% de aldrín. Tanto el aldrin como el dieldrín son sustancias químicas manufacturadas y no ocurren naturalmente en el ambiente. La FDA regula la cantidad de residuos de aldrín y de dieldrín en los alimentos crudos y las cantidades que se permiten varían entre 0 y 0.1 ppm dependiendo del tipo de alimento.

En la siguiente figura se observa la clasificación de las diferentes concentraciones de pesticida aldrin con cada una de las frutas. Lo que indica que la Nariz electrónica detecta y clasifica cada fruta con este tipo de contaminante. Se observa que las frutas con aldrin al 0.5 (color verde) son fácilmente diferenciables de las de concentraciones 0.7 y 1 ppm, cuyos rangos se encuentran más cercanos.

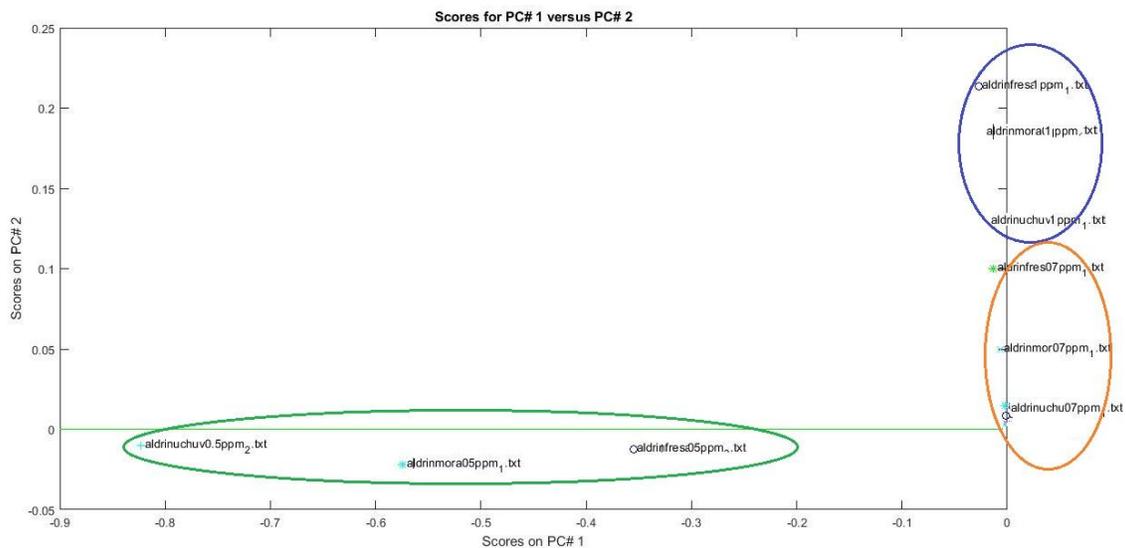


Figura 28. PCA en Fresa, Mora y uchuva contaminadas con aldrin a 0.5-0.7 y 1 ppm. (Maldonado O., 2017)

4,4 DDE.

Este pesticida conocido como diclorodifenildicloroetileno es el producto de la degradación a pH bajo del DDT (diclorodifenil dicloroetano), es muy soluble en las grasas y en disolventes orgánicos lo que explica la facilidad de absorción de las frutas con este organoclorado. Sus principales componentes son el cloro, hidrógeno y carbono. En la gráfica se puede observar que los sensores fácilmente identifican y clasifican este compuesto.

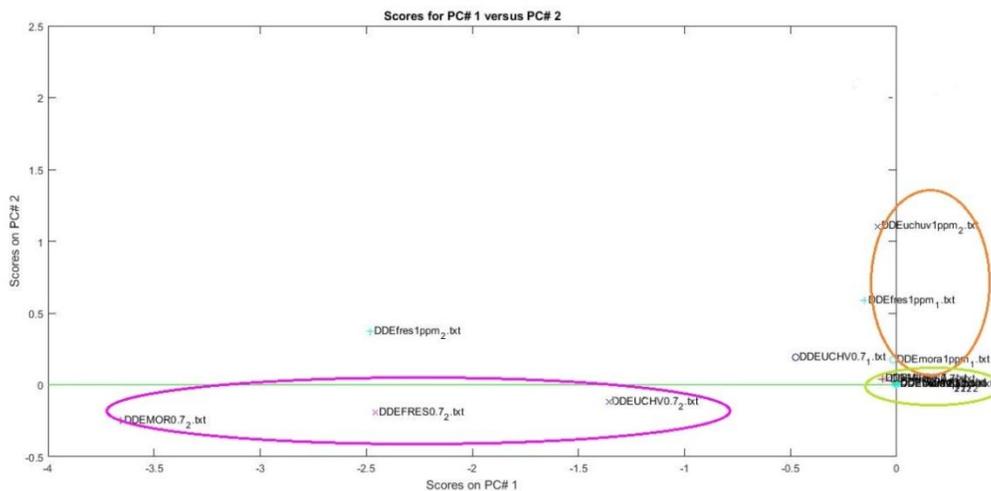


Figura 29. PCA en Fresa, Mora y uchuva contaminadas con 4,4 DDE a 0.5-0.7 y 1 ppm. (Maldonado O., 2017)

De la figura 29 se infiere que la nariz electrónica puede detectar las concentraciones de 0.5 a 1 ppm y clasifica de manera clara 0.7 ppm y 1 ppm, sin embargo, para 0,5 muestra un conglomerado no identificable en el plano como componente principal para cada fruta.

El BHC llamado así antiguamente, se conoce como Hexaclorociclohexano, es una sustancia que se presenta en el ambiente de forma isomérica, destacando las formas alfa, beta, gamma y delta como las más abundantes en el medio y cuyo nombre se deriva de acuerdo a la posición de los átomos de hidrógeno en la estructura química. (ATSDR, 2016), lo que podría explicar su clasificación y detección por parte de los sensores, de

acuerdo a su composición química. A continuación se muestra el análisis de PCA realizado por cada uno de los isómeros del HCH.

Beta-BHC.

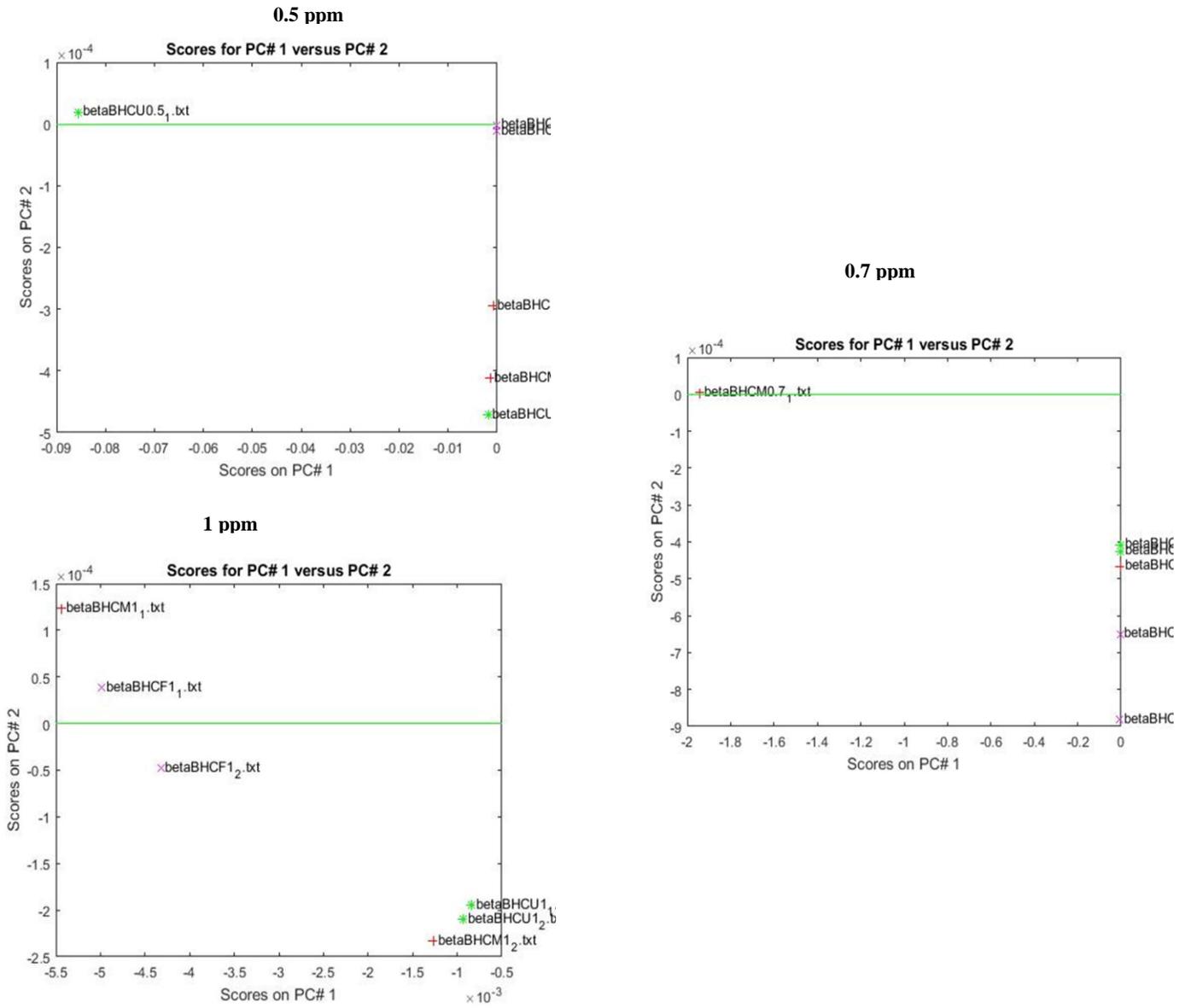
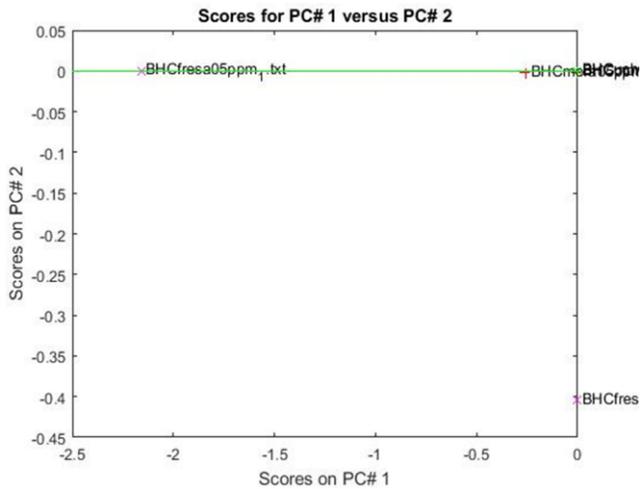


Figura 30. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Beta-BHC a 0.5-0.7 y 1 ppm. (Maldonado O., 2017)

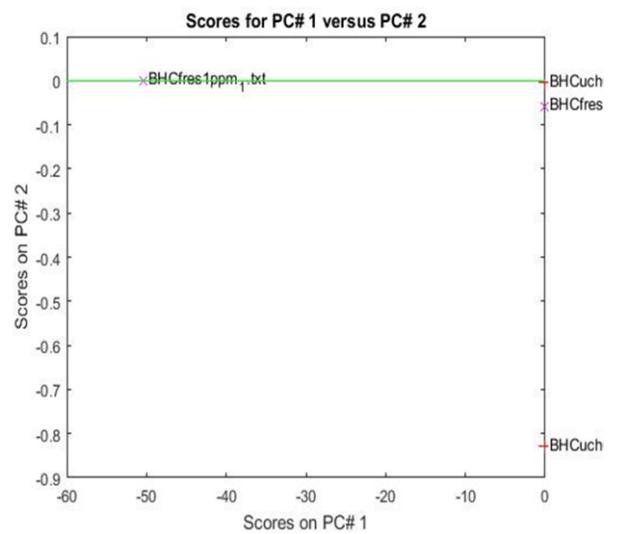
En la figura anterior se observa que en concentración de 1 ppm hay mejor diferenciación de las frutas contaminadas con pesticida. Las muestras mejor identificadas en 0.5 ppm uchuva y en 0.7 ppm mora.

Delta-BHC.

0.5 ppm



1 ppm



0.7 ppm

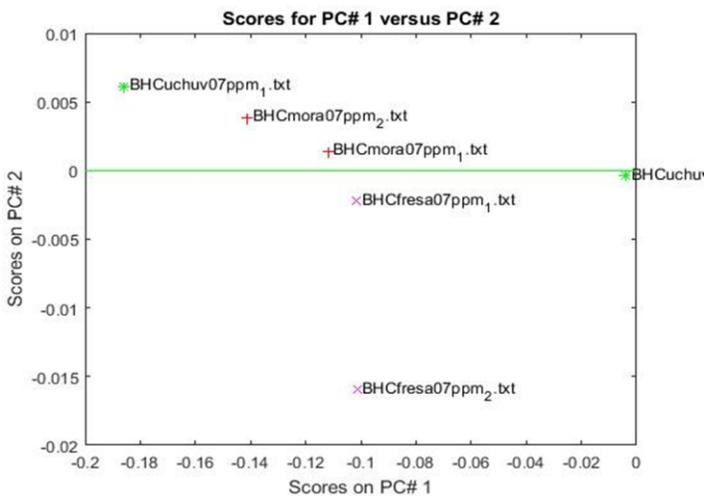


Figura 31. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Delta-BHC a 0.5-0.7 y 1 ppm. (Maldonado O., 2017)

Las anteriores figuras permiten observar que es fácilmente identificable la fruta con pesticida en concentración de 0.7 ppm, mientras que para 0.5 y 1 ppm se solapan los datos.

Gamma-BHC.

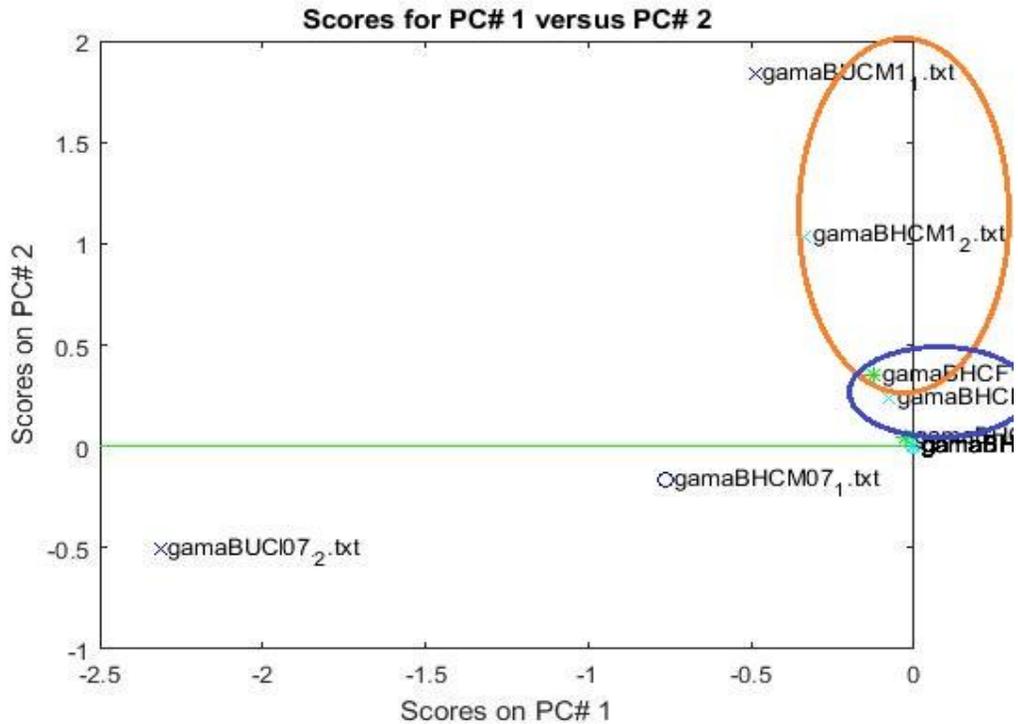


Figura 32. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Gamma-BHC a 0.5-0.7 y 1 ppm. (Maldonado O., 2017)

En las gráficas anteriores se puede inferir que hay una clasificación del pesticida por fruta, tal y como lo evidenció Ortiz, Gualdrón y Duran (2016) en la detección de pesticidas por nariz electrónica utilizando concentraciones de 3, 4 y 5 ppm.

Endosulfan I

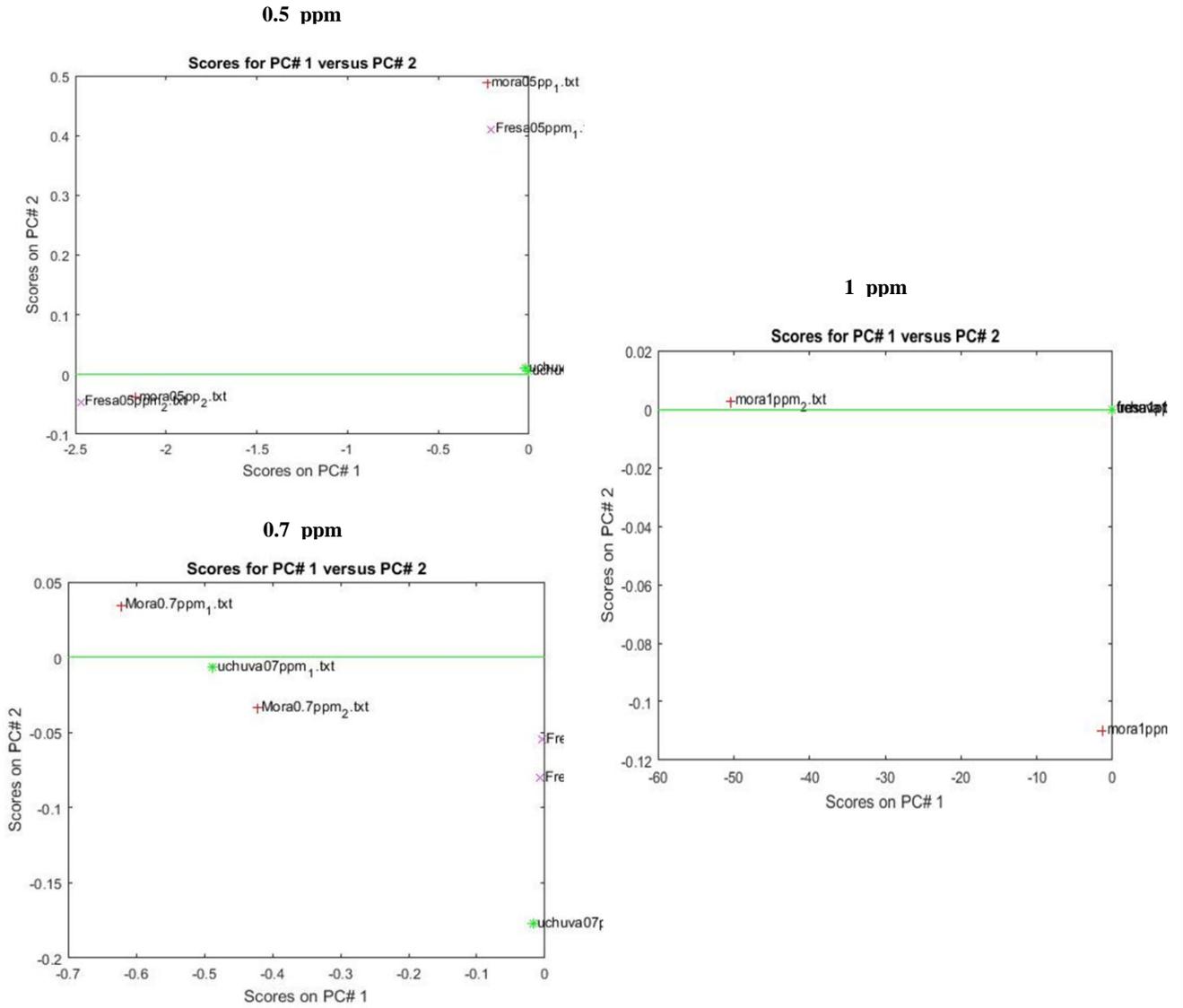
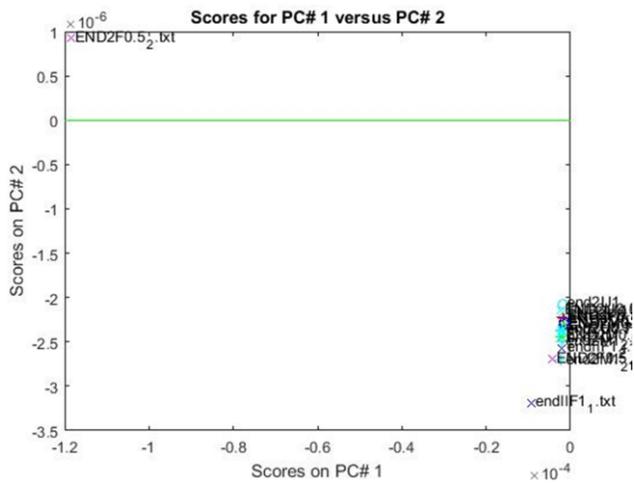


Figura 33. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Endosulfan I a 0.5-0.7 y 1 ppm. (Maldonado O., 2017)

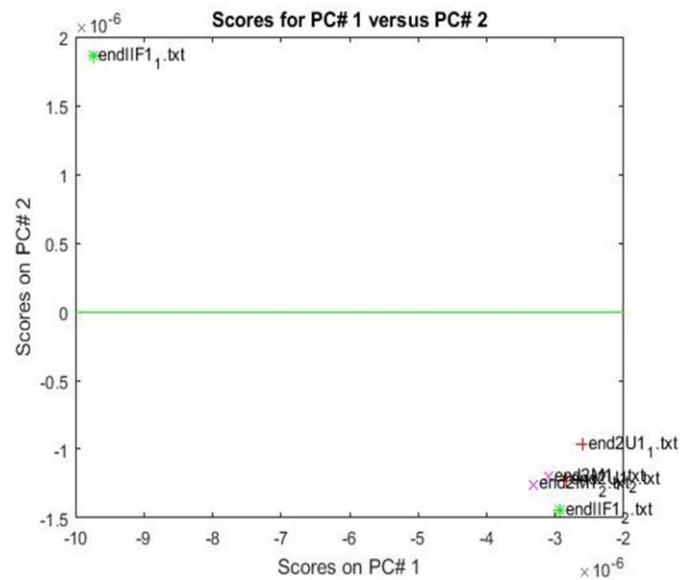
Al contaminar la fruta con endosulfan I se obtiene con el PCA que la nariz reconoce y diferencia fácilmente la fresa, uchuva y mora a concentraciones de 0.5 y 0.7 ppm. Para 1 ppm reconoce mora y los datos para uchuva y fresa se solapan.

Endosulfan II

0.5 ppm



1 ppm



0.7 ppm

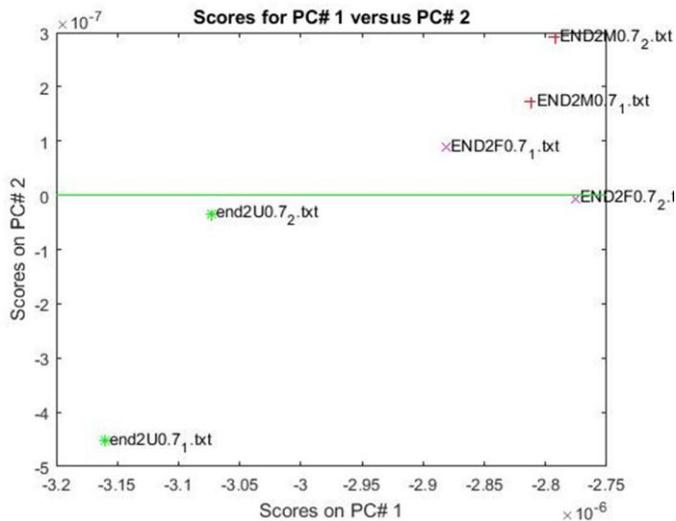


Figura 34. PCA en Fresa, Mora y Uchuva contaminadas con Endosulfan II a 0.5-0.7 y 1 ppm. (Maldonado O., 2017)

La nariz electrónica reconoce claramente las tres fruta en las concentraciones de 0.7 y 1 ppm, presentándose un solapamiento entre mora y uchuva para 0.5 ppm. En esta concentración reconoce fácilmente la fresa contaminada con endosulfan II.

Como se observa en la figura 33, la nariz electrónica selecciona y clasifica mejor el endosulfan I, conocido como alfa que el endosulfan II, conocido como beta, a excepción de la concentración 0.7 ppm.

El endosulfan es 6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzodioxatiepina-3-oxido, el cual es soluble en xileno, keroseno, cloroformo, acetona y etanol y como el resto de los pesticidas organoclorados es altamente tóxico y bioacumulable. Lo anterior permite aseverar que los resultados obtenidos se deben a que el alfa-endosulfan es termodinámicamente más estable que el beta, lo que pudo haber ocasionado que se solaparan los resultados en el momento de analizar el componente principal en las matrices objeto estudio.

El análisis de resultados realizado con PCA fue importante puesto que permitió establecer la selección de los componentes principales de los pesticidas en cada fruta objeto estudio a partir de la conductancia normalizada medida desde los sensores del Sistema Multisensorial. Sin embargo, como se pudo observar, en algunos casos no era fácilmente diferenciable cada fruta contaminada en una misma concentración, por ello se optó por realizar otro análisis utilizando el método de clasificación de Maquinas por soporte vectorial, las cuales permiten encontrar el mínimo error de predicción y así establecer la habilidad de cada sensor para detectar y clasificar los componentes químicos de los organoclorados.

Análisis con Máquinas de Soporte Vectorial (SMV).

Luego de analizar los componentes principales en cada fruta contaminada por pesticida, se llevó a cabo el entrenamiento de la máquina de soporte vectorial (SVM) con el algoritmo SMO (Sequential Minimal Optimizer) para SVM binaria utilizando un kernel RBF (Radial Basis function) o Gaussiano con $\sigma = 1$ y $C=100$. Se tuvo en cuenta siete señales generalizadas de cada uno de los pesticidas con una concentración promediada de 0,5-0,7 y 1 ppm, posteriormente se llevó a cabo la clasificación por medio de señales aleatorias (concentraciones de plaguicidas diferentes a las previamente establecidas) que no se utilizaron para entrenar la máquina y que permitieron establecer la robustez y confiabilidad del entrenamiento, además de establecer los porcentajes de detección de los pesticidas por los sensores.

A continuación se muestran las gráficas resultantes del entrenamiento de la máquina de soporte vectorial por tipo de fruta con cada uno de los pesticidas objeto estudio.

Fresa.

En el siguiente compendio de gráficas se puede observar que los sensores que mejor detectan los pesticidas de aldrin, 4,4 DDE, gamma (γ), delta (δ), (β)-BHC, endosulfan I y II en fresa son S3 (TGS-821), S5 (TGS-822) y el S6 (TGS-825) con una energía electroquímica emanada entre 1 a 3.5×10^{11} voltios. Se observa que el sensor 6 es el que mayormente detecta los pesticidas en la fresa teniendo en cuenta que la energía electroquímica detectada como patrón de señal es superior a 3.5×10^{11} en comparación con las otras señales.

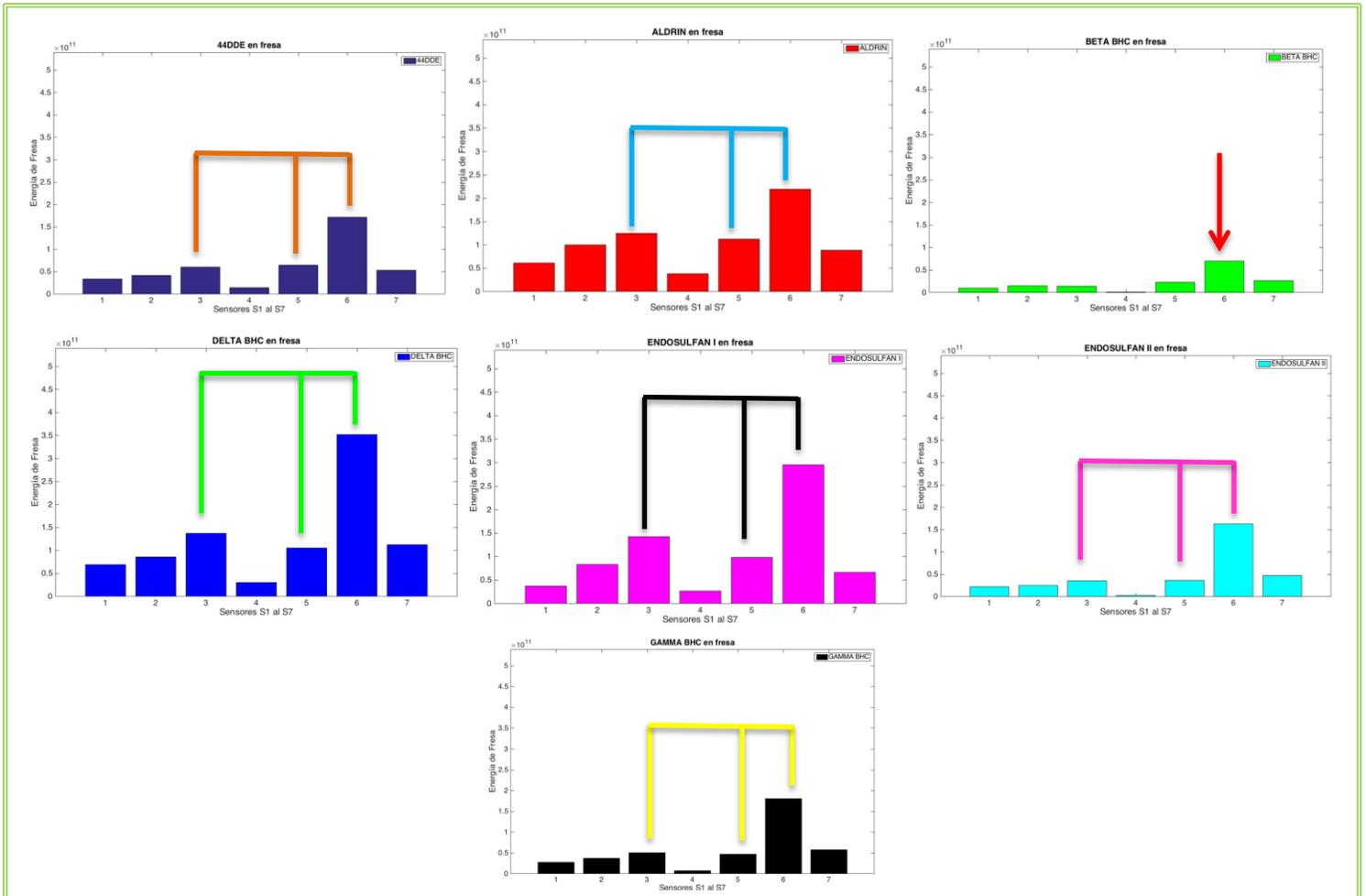


Figura 35. Respuesta de los sensores en la detección de plaguicidas en Fresa. (Maldonado O., 2017)

Los resultados obtenidos se pueden deber a varios factores: el primero tiene que ver con las características y especificaciones de los sensores, en este caso, el sensor 6 (TGS 825) tiene alta sensibilidad al sulfuro de hidrógeno de concentraciones más bajas de 5ppm, lo que lo hace ideal para su aplicación en la detección de fugas de gas; asimismo, el sensor TGS-821 (S3) tiene alta sensibilidad y selectividad del gas de hidrógeno lo que lo hace ideal para una variedad de aplicaciones industriales y el TGS-822 (S5) tiene alta sensibilidad a los vapores de disolventes orgánicos así como a otros vapores volátiles y a una variedad de gases combustibles como el monóxido de carbono, por lo que es un buen sensor de propósito general, además dispone de una base cerámica que es altamente resistente a ambientes severos hasta de 200 ° C.

El segundo factor, son las características y composición química de los pesticidas, en el caso de los organoclorados, estos agrupan un número considerable de compuestos sintéticos cuya estructura química, en general corresponde a la de los hidrocarburos clorados, los cuales, además de cloro, algunos poseen oxígeno y/o azufre en su estructura, (Henaó y Nieto, 1998); lo que coincide con las especificaciones de los sensores que detectaron las señales de los plaguicidas analizados. La baja solubilidad de los OCP en agua pero alta en disolventes orgánicos, baja presión de vapor pero alta estabilidad fisicoquímica y su resistencia al ataque de microorganismos; permite predecir que estos compuestos y sus productos de transformación se acumulen en el tejido grado de los organismos vivos, en este caso en las futas, y su perdurabilidad en el ambiente.

Diferentes investigaciones han demostrado que los sensores entrenados pueden identificar y clasificar pesticidas; López-Rodríguez y otros (2015), obtuvieron un biosensor impedimétrico libre de etiquetas simple, rentable y factible para detectar cambios en la concentración de lindano tan baja como $120\ \mu\text{gL}^{-1}$ en menos de 2 días sin pretratamiento de la muestra, reutilizando la superficie de los electrodos para varias pruebas diferentes, concluyendo que el prototipo de sensor desarrollado representaba una valiosa alternativa para la detección de OCPs.

El tercer factor que se debe tener en cuenta es la composición fisicoquímica de las frutas como su estado de madurez, tamaño y capacidad de absorber el pesticida. En la fresa los compuestos volátiles son los responsables del aroma y contribuyen al sabor de las fresas frescas, estos compuestos comprenden el 0.01% al 0.001% del peso fresco de la fruta, pero tienen un efecto muy grande en su calidad. Esta fruta fresca produce numerosos compuestos incluyendo ésteres, aldehídos, cetonas, alcoholes, terpenos, furanonas y compuestos azufrados, aunque los ésteres son los compuestos más abundantes cuantitativamente y cualitativamente (Foney, Kalt, McDonald, y Jordan, 1998; Alcántara, 2009). Algunos de los más importantes incluyen el butanoato de etilo, el

2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona, el hexanoato de etilo, el metil butanoato, el linalool y el hexanoato de metilo (Pérez y col., 1992). La composición de los volátiles también está influenciada por muchos factores como el cultivo, el ambiente y el manejo poscosecha (Forney et al., 2000).

Miszczak, Foney, y Prange en 1995, encontraron que en la fresa variedad Chandler, el número y concentración de compuestos volátiles que produce se incrementa conforme la fruta madura, al igual que los compuestos predominantes en esta variedad eran el hexanoato de etilo, el butanoato de metilo y el hexanoato de metilo cuando está completamente madura. Al igual, un estudio más reciente realizado por Fu y otros en 2017, demostró que la mayoría de los volátiles, incluidos como ésteres volátiles, furanonas volátiles y los terpenos volátiles, mostraban tendencias crecientes, mientras que los benzoides volátiles arrojaban tendencias decrecientes durante la maduración poscosecha. Con este estudio proporcionaron evidencia de la regulación del aroma de la fresa por factores duales por primera vez, y caracterizaron un amplio perfil de formaciones de aromas de fresa en respuesta a la luz y la temperatura durante la maduración poscosecha.

Lo anterior soporta la razón por la cual los sensores TGS-821, TGS-822 y TGS-825 son selectivos con esta fruta, ya que tienen dentro de sus especificaciones la detección de gases combustibles, hidrógeno y sus derivados, vapores orgánicos, alcohol, tolueno, xileno entre otros volátiles respectivamente.

Mora.

En el caso de la mora, los sensores que detectaron las señales fueron el S2 (TGS-813), el S4 (TGS-832) y el S5 (TGS-822), relacionando una energía electroquímica que

oscila entre 0.8 a 1.5×10^{11} respectivamente; sobresaliendo una señal o patrón electroquímico de mayor intensidad (2 a 3.5×10^{11}) en la detección de mora con endosulfán II.

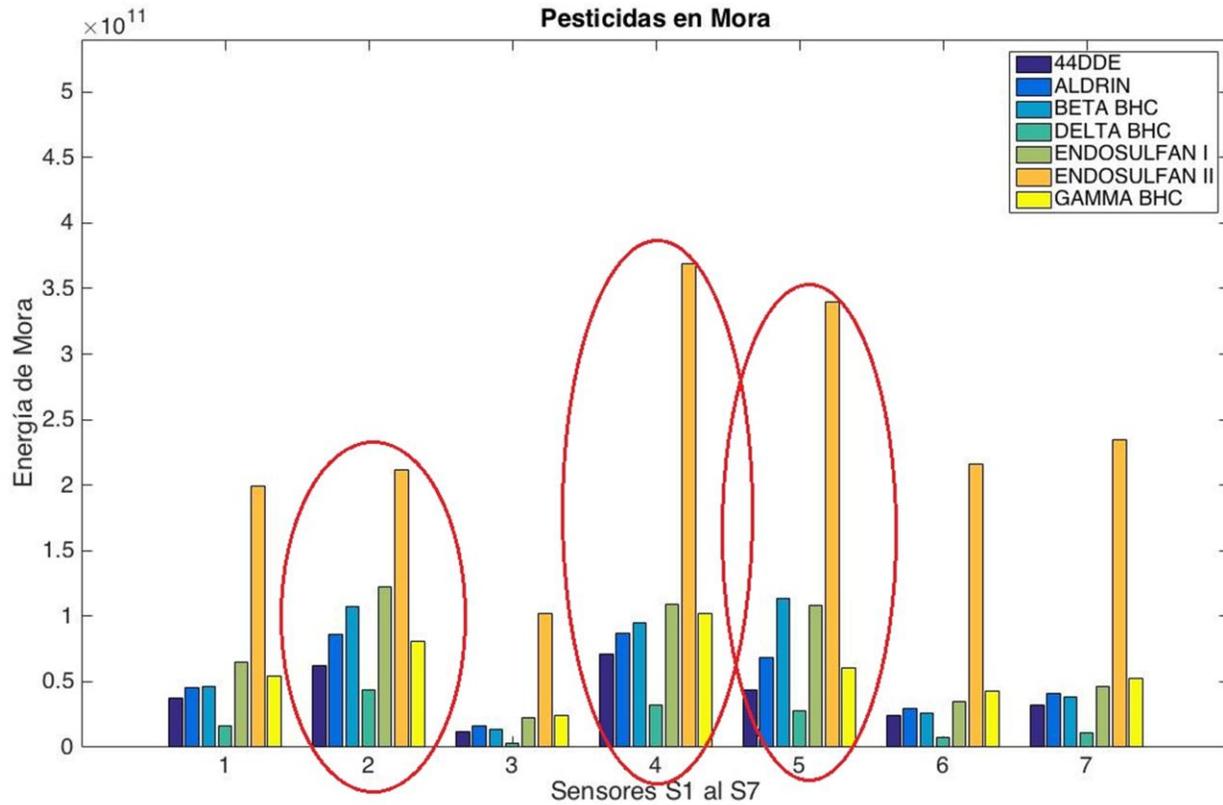


Figura 36. Respuesta de los sensores en la detección de plaguicidas en Mora. (Maldonado O., 2017)

Teniendo en cuenta los factores de detección analizados anteriormente, se puede inferir que los sensores seleccionados para la detección de pesticidas en mora varían en comparación con la fresa por las características de los compuestos volátiles que tiene la futa y la especificidad de los sensores. En la mora, se encuentran metabolitos secundarios que le confieren el aroma, color y sabor característico (Balasundram, Sundram, y Samman, 2006) estos compuestos son flavonoides especialmente antocianinas, con capacidad antioxidante que promueven la formación de productos con baja toxicidad como fenoles, producción de alcoholes, aldehídos, ésteres y cetonas e influyen en los

colores rojos, azules y violetas del fruto (Magalhães et al., 2008; Perkins-Veazie et al., 2000) durante el almacenamiento. Los sensores TGS-813, TGS-832 y TGS 822 responden a compuestos aromáticos de sustancias orgánicas de cadenas cortas como gases combustibles, clorofluorocarbonos (CFC) y vapores orgánicos, alcohol, hidrógeno y metano respectivamente, (Tabla 13).

Resultados similares se reportaron en la investigación realizada por Bernal-Roa et al., en 2014, quienes obtuvieron que el estado de cosecha se puede distinguir con la evaluación del perfil aromático y el contenido de antocianinas mostrando contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante entre diferentes estados de madurez del fruto. De igual manera, obtuvieron que los compuestos volátiles liberados por la mora en diferentes estados de madurez fueron detectados por los sensores W6S (Hidrógeno), W1S (metano), W1W (azufrados y terpenos), W2S (alcoholes) y W2W (compuestos orgánicos); características que van acorde a las de los sensores utilizados en la presente investigación.

Uchuva.

En la gráfica 37 se observa que los sensores que mejor detectan los pesticidas presentes en el fruto de la uchuva son el S2 (gases combustibles) y el S6 (sulfato de hidrógeno). El sensor 5 que detectan vapores, alcohol, tolueno y xileno y el 7 que detecta volátiles de alimentos, presentan un reconocimiento de los pesticidas en un 57.14% del total de los organoclorados evaluados.

Estos resultados se deben a que los pesticidas tienen compuestos similares a los que detectan los sensores S2 y S6, al contrario de los sensores S5 y S7, que detectan compuestos que se asemejan a los aromas generados por la fruta durante su proceso de

madurez, estos compuestos químicos de la uchuva al combinarse con los pesticidas generan aromas que no están en las cantidades suficiente para ser detectados por ellos.

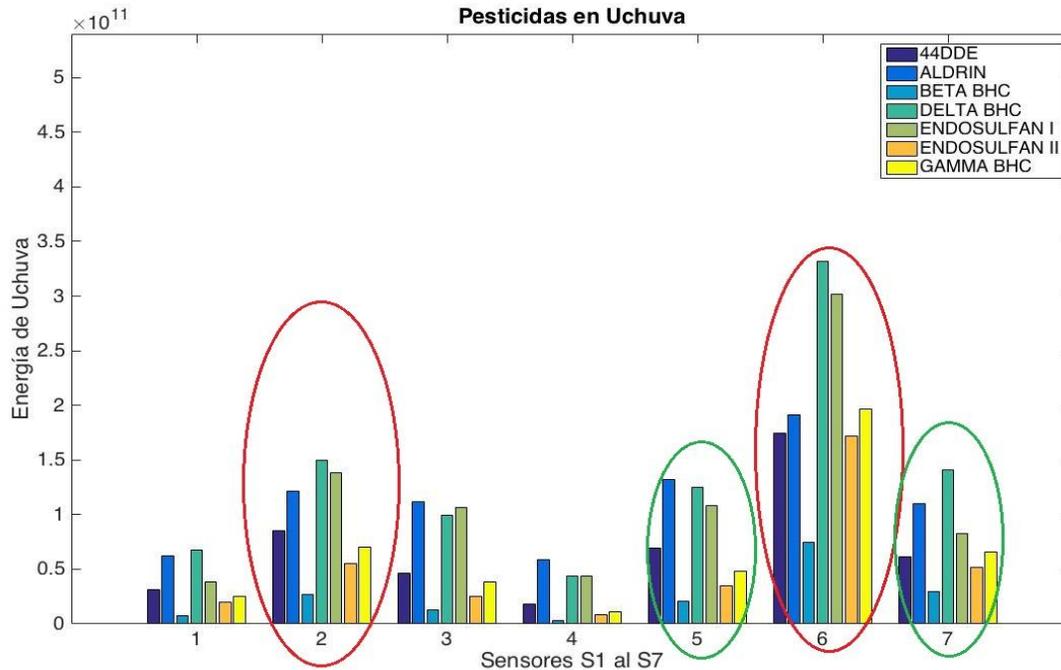


Figura 37. Respuesta de los sensores en la detección de plaguicidas en Uchuva. (Maldonado O., 2017)

En la tabla 19 se pueden apreciar los sensores que obtuvieron mejor reconocimiento de pesticidas en cada una de las frutas objeto estudio teniendo en cuenta que la energía electroquímica de detección de la nariz electrónica debe ser mayor a 0.5×10^{11} voltios. Se observa que cada una de las frutas tiene características y composición fisicoquímica diferentes que al reaccionar con los pesticidas, envían señales electroquímicas que varían para la detección por cada sensor.

Sin embargo al tratar de identificar los sensores que son comunes entre ellas, se encontró que en el caso de la fresa y la uchuva, coinciden con que el sensor que mejor detecta los pesticidas en estas frutas es el 6 (sulfato de hidrógeno). Para mora y uchuva es el sensor 2 el que mejor detecta los componentes de pesticidas estudiados en dichas matrices.

Tabla 19. Porcentaje de reconocimiento de los sensores de la Nariz electrónica en las muestras objeto estudio.

Fruta	Sensores	% de Detección
Fresa	1	28.57%
	2	42.85%
	3	71.43%
	4	0%
	5	57.14%
	6	100%
	7	42.85%
Mora	1	42.85%
	2	85.71%
	3	14.28%
	4	85.71%
	5	71.43%
	6	14.28%
	7	28.57%
Uchuva	1	28.57%
	2	85.71%
	3	42.85%
	4	0%.
	5	57.14%
	6	100%
	7	57.14%

Fuente: Maldonado O., 2017

Los logros alcanzados en esta investigación se pueden comparar con los obtenidos por Masila y Sadik (2000) donde el conjunto de sensores mostró una buena reproducibilidad de los diferentes volátiles de compuestos organoclorados (OCPs) e hidrocarburos aromáticos (HAPs) con un 98% de reconocimiento y clasificación en diferentes muestras de fruta clasificando la naturaleza de los grupos funcionales de cada analito y las propiedades físico-químicas de las muestras evaluadas. Asimismo, demostraron previamente que el reconocimiento del olor en los sensores para OCPs

podría basarse en los grupos funcionales, tamaño, forma, así como las propiedades físicas de las sustancias olorosas, teniendo en cuenta que los parámetros físico-químicos (forma estructural, diferente posicionamiento del mismo grupo funcional, presencia de diferentes grupos funcionales, diferente distribución electrónica, electronegatividad, polaridad, estado de madurez, humedad, capacidad de absorción, entre otras) influyen en la desorción/adsorción cinética responsables de las interacciones no covalentes en la interfaz sensor - odorante.

Estos estudios permiten soportar la validez del reconocimiento de las señales y patrones electroquímicos obtenidos en la presente investigación, demostrando que la relación de los parámetros fisicoquímicos, la comparación de resultados con técnicas cromatográficas y la utilización de nariz electrónica como método alternativo para la detección de trazas de pesticidas organoclorados es viable y sustentable.

Análisis de Clasificación y Robustez

Con el fin de establecer la robustez del entrenamiento de la máquina de soporte vectorial y por ende la capacidad de detección de los sensores de la Nariz Electrónica, se llevó a cabo la clasificación de las señales, utilizando concentraciones promediadas y sin promediar diferentes a las empleadas en el entrenamiento, obteniéndose los siguientes resultados.

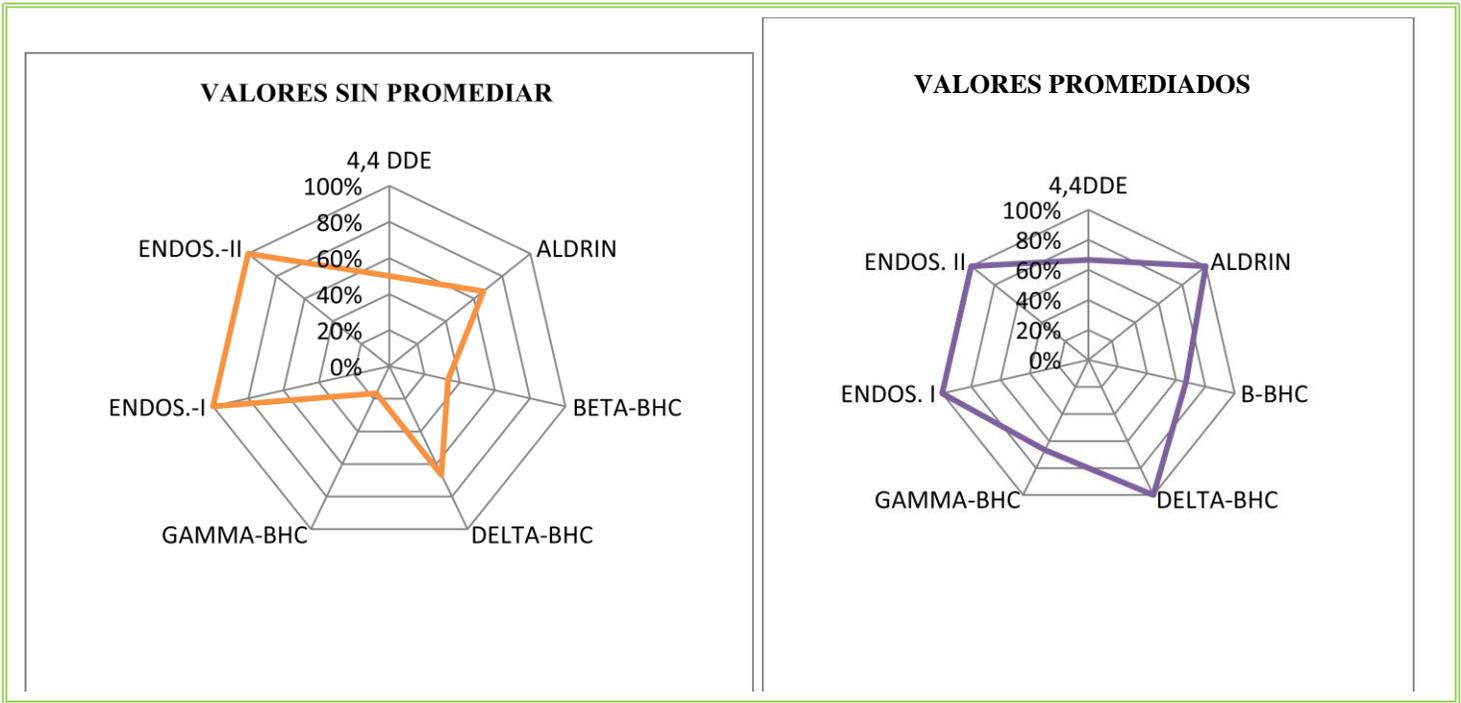


Figura 38. Robustez de los datos analizados con las Máquina de Soporte Vectorial en Nariz Electrónica. (Maldonado O. 2017).

Como se puede observar en la gráfica anterior, al introducir los datos al sistema sin promediar, se obtiene una clasificación del 61.90% en general, evidenciándose que la máquina no alcanza a clasificar el pesticida gamma-BHC (13.33% de reconocimiento) y el beta-BCH en un 33,33%. El resto de los pesticidas sobrepasan el 66% de reconocimiento. Sin embargo, en el momento de promediar los datos aleatorios, se evidencia que la máquina de soporte vectorial clasifica en un 86% de detección de las señales, datos que pueden compararse con los obtenidos por Masila y Sadik (2000) los cuales fueron del 98% de reconocimiento de pesticidas organoclorados. Esto puede deberse a la cantidad de sensores utilizados en nuestra investigación (7) a diferencia de los utilizados por Masila (32 sensores), a la cantidad de muestras analizadas y repetibilidad de las mismas y a la variabilidad de los pesticidas utilizados.

Asimismo, se ha demostrado que los efectos de ciertas constantes físicas en el reconocimiento de analitos, tales como el punto de fusión, la solubilidad y la presión de vapor que caracterizan a los pesticidas, puede influenciar en la respuesta del sensor causando una disminución o aumento dependiendo del parámetro fisicoquímico de la matriz analizada. Esto es consistente en varios trabajos donde la respuesta del sensor disminuyó con el aumento del punto de fusión (Masila 2000; Patrash y Zellers, 1993) y se presentó que la alta volatilidad aumenta el número de moléculas que posteriormente da lugar a la respuesta del sensor inferior. La menor volatilidad de las moléculas absorbió más completamente y produjo mayor respuesta del sensor (pendiente de la unidad de polímero mg/por curva de concentración) observándose que hay una mayor sensibilidad del sensor para analitos de presión de vapor más baja.

Conclusiones

En este trabajo se han presentado resultados significativos de exploración, comparación y correlación respecto a la detección de pesticidas organoclorados por parte de redes de sensores y las técnicas analíticas clásicas, lo que lleva a validar las siguientes conclusiones:

- Los análisis fisicoquímicos de las frutas objeto estudio mostraron que los estados de madurez 5 y 6 para la fresa y mora y 4 y 5 para uchuva, presentaron diferencias significativas entre ellos en general, destacándose los parámetros químicos como acidez, pH y sólidos solubles y los parámetros físicos, como tamaño y peso.
- Las muestras de frutas fresca analizadas por cromatografía presentaron concentraciones por debajo del LMR.
- Se detectaron componentes volátiles (VOC) de los pesticidas que permanecen remanentes en las frutas en concentraciones de 0.5, 0.7 y 1 ppm, a partir de la respuesta del sistema sensorial de una nariz electrónica, la cual diferenció la fruta fresca de la fruta contaminada con pesticida en un 100% de reconocimiento de volátiles evaluados por el sensor 6 para fresa y uchuva y con un 85.71% de reconocimiento por medio de los sensores 2 y 4 para mora.
- Se pudo establecer que para la identificación de pesticidas en mora, uchuva y fresa se puede construir una Nariz electrónica con sensores Fígaro TGS-813, TGS-821, TGS-822, TGS-832 y TGS 825.
- El análisis de componentes principales y entrenamiento con máquina de soporte vectorial basado en la energía empleada por la señal de detección de los sensores, naturaleza del analito, que incluye grupos funcionales, tamaño, forma, distribución electrónica, la polaridad permitieron el reconocimiento de patrones de los productos químicos disueltos en las frutas objeto estudio y se logró con

éxito la identificación de cada uno de los plaguicidas obteniendo tasas de reconocimiento oscilaron desde 71.43% hasta 100% para los analitos ensayados.

- La Nariz electrónica es un instrumento analítico alternativo para el seguimiento de la contaminación agroalimentaria, ya que tiene el potencial de proporcionar nuevas capacidades de monitoreo en el campo, en la academia y en la empresa agroalimentaria, obtener resultados en tiempo real de la contaminación de un alimento y otras múltiples ventajas que proporcionan un impacto positivo en la ciencia y tecnología de los alimentos.

Recomendaciones

Se recomienda:

- Utilizar sensores que detecten partes por billón (ppb) para garantizar que las cantidades máximas establecidas por el Codex alimentarius.
- Realizar análisis de otros pesticidas (organofosforados, piretroides, carbamatos, entre otros) en alimentos con el fin de seguir entrenando los sensores de la Nariz Electrónica y pulir la técnica.
- Utilizar sensores según el compuesto contaminante a evaluar.

Lista de Referencias

- Ahmed , F. E. (2001). Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. *Trends Anal. Chem.*, 20, 649-661.
- Albert, L., & Rendon-Von Osten, J. (1988). CONTAMINACIÓN POR COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN ALGUNOS. *Rev. Saúde públ.*, 22:500-6.
- Alcantara-González, M. d. (2009). *Estimación de los daños físicos y evaluación de la calidad de la fresa durante el manejo poscosecha y el transporte simulado*. Tesis de Doctorado, Universidad Politécnica de Valencia - Universidad de Guanajato, Departamento de Mecanización y Tecnología Agraria - División Ciencias de la Vida., España.
- Almanza, P., & Espinisa, C. J. (1995). *Desarrollo Morfológico y análisis físico químico de frutos de uchuva (Physalis peruviana L) para identificar el momento óptimo de cosecha*. Tunja: Facultad de Agronomía UPTC.
- Almengor, L. (2009). Nanotecnología en la Industria Alimentaria. *Revista Electrónica*, 13, 42.
- Al-Saleh, I. (1994). Pesticides: a review article. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 13, 151-161.
- Alvarez, J. G., Galvis, J. A., & Balaguera, H. E. (2009). Determinación de cambios físicos y químicos durante la maduración de frutos de champa (*Campomanesia lineatifolia* R. & P.). *Agronomía Colombiana*, 27(2), 253-259.
- Alzate-Quintero, A. C., Mayor-Marin, N., & Montoya-Barreto, S. (2010). Influencia del manejo agronómico, condiciones edáficas y climáticas sobre las propiedades fisicoquímicas y fisiológicas de la mora (*Rubus glaucus* Benth) en dos zonas de la región centro sur del departamento de caldas. *Agronomía*, 18(2), 37-46.
- Amari, A., El Bari, N., & Bouchikhi, B. (2014). Electronic nose for anchovy freshness monitoring based on sensor array and pattern recognition methods: principal components analysis, linear discriminant analysis and support vector machine. *International Journal of Computing*, 6(3), 61-67.
- Ambrus , A., Füzesi, I., Susán, M., Dobi , D., Lantos, J., F. Korsós , I., y otros. (2005). A cost-effective screening method for pesticide residue analysis in fruits, vegetables, and cereal grains. *J. Environ. Sci. Heal. B.*, 40, 297-339.
- Anastassiades , M., Lehotay, S., Stajnbaher, D., & Schenck, F. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412-431.
- AOAC Official Method . (2007). *esticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate*.
- Araoud, M., Douki, W., Rhim, A., Najjar, M., & Gazzah, N. (2007). Multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health Part B.*, 42(1), 179-187.

- Araque Ordoñez, R. (2014). *Evaluación de un Sistema de Enmascaramiento de Olor de Muestras de Ajo, mediante un sistema de Nariz Electrónica*. Tesis de Master, Universidad Politécnica de Valencia, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Valencia.
- Arienzo, M., Masuccio, A., & Ferrara, L. (2013). Evaluation of sediment contamination by heavy metals, organochlorinated pesticides, and polyaromatic hydrocarbons in the Berre Coastal Lagoon (Southeast France). *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, 65, 396-406.
- Asikin, Y., Maeda, G., Tamaki, H., Mizu, M., Oku, H., & Wada, K. (2015). Cultivation line and fruit ripening discriminations of Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) peel oils using aroma compositional, electronic nose, and antioxidant analyses. *Food Research International*, 67, 102-110.
- ATSDR-Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. . (2001). *Reseñas Toxicológicas*. Recuperado el 31 de Mayo de 2017, de https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs1.html
- Ayala S., L. C., Valenzuela R., C. P., & Bohórquez P., Y. (2013). Caracterización Fisicoquímica de Mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) en seis estados de madurez. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(2), 10-18.
- Ayala-Sánchez, L. C., Valenzuela, C. P., & Bohorquez, Y. (2012). Efecto de un recubrimiento comestible a base de alginato de sodio y iones de calcio sobre la calidad de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). *Vitae*, 19(1), 129-131.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.*, 99(1), 191-203.
- Banerjee, K., Mujawar, S., Utture, S. C., Dasgupta, S., & Adsule, P. G. (2013). Optimization of gas chromatography–single quadrupole mass spectrometry conditions for multiresidue analysis of pesticides in grapes in compliance to EU-MRLs. *Food Chemistry*, 138, 600–607.
- Banerjee, K., Utture, S., Dasgupta, S., Kandaswamy, C., Pradhan, S., Kulkarni, S., y otros. (2012). Multiresidue determination of 375 organic contaminants including pesticides, polychlorinated biphenyls and polyaromatic hydrocarbons in fruits and vegetables by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *J. Chromatogr.A.*, 1270, 283-295.
- Barbera, C. (1989). *Pesticidas Agrícolas* (4 ed.). Barcelona: Ediciones Omega.
- Barbera, C. (1989). *Pesticidas Agrícolas (cuarta edición)*. Omega.
- Barron, M. G., Ashurova, Z. J., Kukaniev, M. A., Avloev, H. K., Jamshedov, J. N., Rahmatullova, O. S., y otros. (14 de February de 2017). Residues of organochlorine pesticides in surface soil and raw foods from rural areas of the Republic of Tajikistan*. *Environmental Pollution*.
- Bempah, C. K., Buah-Kwofe, A., Enimil, E., Blewub, B., & Agyei-Martey, G. (2012). Residues of organochlorine pesticides in vegetables marketed in Greater Accra Region of Ghana. *Food Control*, 25, 537-542.

- Bempah, C. K., Agyekum, A. A., Akuamoah, F., Frimpong, S., & Buah-Kwofie, A. (2016). Dietary exposure to chlorinated pesticide residues in fruits and vegetables from Ghanaian markets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 46, 103-113.
- Benito, M. J., Ortiz, M. C., Sánchez, M. S., Sarabia, L. A., & Iniguez, M. (1999). Typification of vinegars from Jerez and Rioja using classical chemometric techniques and neural network methods. *Analyst*, 124, 547-552.
- Bernal-Roa, L. J., Melo, L. A., & Díaz-Moreno, C. (2014). Evaluación del Perfil Aromático y Propiedades Antioxidantes durante la Maduración de Frutos de Mora (*Rubus glaucus* Benth.). *Proc. IInd IC on Postharvest and Quality Management of Horticultural. Acta Hort.* 1016, 39-45.
- Betancourt, G. A. (2005). Las Máquinas de Soporte Vectorial (SVMs). *Scientia et Technica*, 27, 69-72.
- Blasioli, S., Biondi, E., Braschi, I., Mazzucchi, U., Bazzi, C., & Gessa, C. E. (2010). Electronic nose as an innovative tool for the diagnosis of grapevine crown gall. *Analytica Chimica Acta*, 672, 20-24.
- Bruhn, C. M. (2007). Aspectos de calidad y seguridad alimentaria de interés para el consumidor. En C. M. Bruhn, & A. Kader (Ed.), *Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas* (3 edición. ed., págs. 37-44). Oakland, USA.
- Burlachenko, J., Kruglenko, V., Snopok, B., & Persaud, K. (2016). Sample handling for electronic nose technology: State of the art and future trends. *Trends in Analytical Chemistry*, 82, 222-236.
- Caballero, L. A., Ortiz, L., Maldonado, Y., & Rivera, M. E. (2011). Valoración de las características físicas de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) comercializada en el municipio de Pamplona. *@LIMENTECH CIENCIA Y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA*, 9(1), 49-55.
- Camino-Sánchez, F. J., Zafra-Gómez, A., Oliver-Rodríguez, B., Ballesteros, O., Navalón, A., Crovetto, G., y otros. (2011). UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 accredited method for the determination of 121 pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Food Compos. Anal.*, 24, 427-440.
- Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Miranda-Cruz, E., Domínguez-Álvarez, J., & Hernández-Méndez, J. (2007). Sensitive determination of herbicides in food samples by nonaqueous CE using pressurized liquid extraction. *Electrophoresis*, 28, 3606-3616.
- Carvajal Ferrer, A. A. (2013). Implementación de un método estocástico de búsqueda acoplado técnicas de clasificación, Máquinas de Vectores de Soporte (SVM) para la selección de variables en sistemas Multisensoriales. Tesis Maestría, Universidad de Pamplona, Facultad de Ingenierías y Arquitectura, Pamplona.
- Carvajal, L., Cucaita, G., Zuluaga, C., & Quicazan, M. (2012). Uso de la Nariz Electrónica y panel sensorial para la evaluación de la calidad de la Mora. *Vitae*, 19(1), S60-S62.

- Casierra-Posada, F., & Rojas, J. F. (2009). Efecto de la exposición del semillero a coberturas de colores sobre el desarrollo y productividad del brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Agronomía Colombiana*, 27(1), 49-55.
- Casierra-Posada, F., Peña-Olmos, J. E., & Vargas-Martínez, A. F. (2011). Propiedades Fisicoquímicas de Fresas (*Fragaria* sp) Cultivadas Bajo Filtros Fotoselectivos. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 64(2), 6221-6228.
- Casierra-Posada, F., Peña-Olmos, J. E., & Vargas-Martínez, A. F. (2011). Propiedades Fisicoquímicas de Fresas (*Fragaria* sp) Cultivadas Bajo Filtros Fotoselectivos. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 64(2), 6221-6228.
- Castro, R. (2005). *Determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de toma de de la ciudad de Bogota*. Bogotá.
- Cervera, M. I., Medina, C., Portolés, T., Pitarch, E., Beltrán, J., Serrahima, E., y otros. (2010). Multi-residue determination of 130 multiclass pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem*, 397, 2873-2891.
- Chai, M. K., & Tan, G. H. (2009). Validation of a headspace solid-phase microextraction procedure with gas chromatography-electron capture detection of pesticides residues in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 117, 561-567.
- Chantarachoti J. et al.,. (2006). Portable Electronic Nose for Detection of Spoiling Alaska Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). *Journal of Food Science*, 71, 414-421.
- Choi, M., Lee, I., & Jung, R. (2016). Rapid determination of organochlorine pesticides in fish using selective pressurized liquid extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chem.*, 205, 1-8.
- Codex Alimentarius. (1996). *Programa Conjunto FA/OMS sobre Normas Alimentarias Comisión del Codex Alimentarius*. Roma.
- Codex Alimentarius. (2008). www.fao.org. Recuperado el 25 de Junio de 2016, de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/materias-primas/es/>
- Columé, A., Cárdenas, S., Gallego, M., & Valcárcel, M. (2001). “Semiautomatic multiresidue gas chromatographic method for the screening of vegetables for 25 organochlorine and pyrethroids pesticides. *Analytica Chimica Acta.*, 153-162.
- Cooper, J., & Dobson, H. (2007). The benefits of pesticides to mankind and the environment. *Crop Prot*, 26, 1337-1348.
- Cordenunsi, B., Genovese, M. I., Oliveira, N., Aymoto Hassimotto, N. M., José dos Santos, R., & Lajolo, F. (2005). Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chemistry*, 91, 113-121.
- Corrado Costa, C. T., Concetta Strano, M., Morone, G., Antonucci, F., Mancuso, S., Claps, S., y otros. (2006). Chapter 8. Multivariate Approaches to Electronic Nose and PTR–TOF–MS Technologies in Agro-Food Products. En M. L. Rodríguez Mendez, & V. R. Preedy, *Electronic Noses and Tongues in Food Science* (págs. 73-82). London: Libgen Librarian.

- Corrado D et al. (2001). Comparison and integration of different electronic noses for freshness evaluation of cod-fish fillets. *Sensors Actuators B*, 77, 572-578.
- Correa H., E. C., Barreiro E, P., Ruiz A, M., Lopez F, M. L., Graell, J., & Echevarria, G. (2004). Aplicación de una nariz electrónica para la medida de aromas emitidos por manzanas cv fuji conservadas con diferentes tecnologías. *Fruticultura Profesional*.
- Correa, E. C., Barreiro, P., Ruiz-Altisent, M., & Chamorro, C. (2005). *Nariz electrónica ¿Herramienta para la calidad en la Industria Agroalimentaria?* España.
- Cortes, D., & Hites, R. (2000). Detection of statistically significant trends in atmospheric concentrations of semivolatile compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 2826-2829.
- Cortes, J., Sánchez, R., Díaz-Plaza, E., Villen, J., & Vásquez, A. (2006). Large volume GC Injection for the analysis of organophosphorus pesticides in vegetables using the through oven transfer adsorption desorption (TOTAD) Interface. *J. Agric. Food Chem.*, 54.
- Costa, L. G., Galli, C., & Murphy, S. D. (1986). Toxicology of Pesticides: Experimental, clinical and regulatory perspectives. *NATO ASI Series*, 1-10.
- Defilippi, B. G., San Juan, W., Valedés, H., Moya-León, M. A., Infante, R., & Campos-Vargas, R. (2009). The aroma development during storage of Castlebrite apricots as evaluated by gas chromatography, electronic nose, and sensory analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 212-219.
- Dimond, J. B., Getchell, A. S., & Blease, J. A. (1971). Accumulation and Persistence of DDT in a Lotic Ecosystem. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 28(12), 1877-1882.
- Dömötöróvá, M., & Matisová, E. (2008). Fast gas chromatography for pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A.*, 1207, 1-16.
- Du W., et al. (2002). Potential Application of the Electronic Nose for Quality Assessment of Salmon Fillets Under Various Storage Conditions. *Journal Food Science*, 67, 307-313.
- Duodua, G. O., Goonetillekeb, A., & Ayoko, G. A. (1 de April de 2016). Optimization of in-cell accelerated solvent extraction technique for the determination of organochlorine pesticides in river sediments. *Talanta*, 150, 278-285.
- Duran, C. (2005). *Diseño y optimización de los subsistemas de un sistema de olfato electrónico para aplicaciones agroalimentarias e industriales*. Tarragona.
- Duran-Acevedo, C. M., Gualdron-Guerrero, O. E., & Hernandez-Ordoñez, M. (2014). Nariz electrónica para determinar el índice de madurez del tomate de árbol (*Cyphomandra Betacea* Sendt). *Ingeniería Investigación y Tecnología*, 15(3), 351-362.
- Dutta R et al., (2003). Non-destructive egg freshness determination: an electronic nose based approach. *Measurement Science and Technology*, 14, 190.
- El Barbri N, N., Llobet , E., El Bari , N., Correig , X., & Bouchikhi, B. (2008). Electronic nose based on metal oxide semiconductor sensors as an alternative technique for the spoilage classification of red meat. *Sensors*, 8(1), 142-156.

- Esbensen, K. H., & Geladi, P. (2009). *Principal Component Analysis: Concept, Geometrical Interpretation, Mathematical Background, Algorithms, History, Practice*. Elsevier.
- Escalona, A., Galarraga, F., Fernández, R., Centeno, A., Velásquez, J., & Pérez, G. (2012). Desarrollo de métodos no convencionales para la extracción de fenantreno y pireno en partículas sedimentadas. *Rev. Fac. Ing. UCV*, 27(1), 41-48.
- Escuderos M., M., Santos D., M., Rubio B., S., & Polo D., L. M. (2003). Direct determination of monolinuron, linuron and chlorbromuron residues in potato samples by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *J. Chromatogr. A*, 1011, 143-153.
- España-Amórtegui, J. C. (2013). *Análisis de residuos de plaguicidas en frutas colombianas de exportación y cereales*. Tesis de Maestría., Universidad Nacional de Colombia, Bogotá-colombia.
- Farajzadeh, M. A., Asghari, A., & Feriduni, B. (May de 2016). An efficient, rapid and microwave-accelerated dispersive liquid-liquid microextraction method for extraction and pre-concentration of some organophosphorus pesticide residues from aqueous samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 48, 73-80.
- Farajzadeh, M. A., Yadeghari, A., & Khoshmaram, L. (March de 2017). Combination of dispersive solid phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for extraction of some aryloxy pesticides prior to their determination by gas chromatography. *Microchemical Journal*, 131, 182-191.
- Farina, Y., Abdullah, M., Bibi, N., Mohd, W., & Khalik, W. (2016). Determination of Pesticide Residues in Leafy Vegetables at Parts per Billion Levels by a Chemometric Study Using GC-ECD in Cameron Highlands, Malaysia. *Food Chemistry*.
- Fenik, J., Tankiewicz, M., & Biziuk, M. (2011). Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trends Anal. Chem.*, 30, 814-826.
- Fenoll, J., Hellín, P., López, J., & González, A. (2007). *Anal. Biomol. Chem.*, 389,643.
- Ferrer I., T. E., & Zweigmenbaum, J. (2011). LC/TOF-MS analysis of pesticides of fruits and vegetables the emerging of accurate mass in unambiguous identification of pesticides in food. *Mass Spectrometry in Food Safety. Series Methods in Molecular Biology*, 747, 193-218.
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(1), 155-171.
- Figaro. (2016). *Figaro USA,INC*. Recuperado el 15 de Julio de 2016, de <http://www.figarosensor.com/>
- Fischer, G., & Lüdders, P. (1997). Developmental changes of carbohydrates in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits in relation to the calyx and the leaves. *Agronomía Colombiana*, 14(2), 95-107.
- Foney, C. F., Kalt, W., McDonald, J. E., & Jordan, M. A. (1998). Changes in strawberry fruit quality during ripening on and off the plant. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 464-506.

- Food Agriculture Organization United Nations (FAO). (2008). *International code of conduct on the distribution and use of pesticides*. Roma.
- Frank, I., & Todeschini, R. (1994). The data analysis handbook. . *Elsevier Science B.V.*
- Frank, M. (1999). Solid State Chemical Sensors . *Sensors for Food Applications*.
- Fraser, P. D., Truesdale, M. R., Bird, C. R., Schuch, W., & Bramley, P. M. (1994). Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development. *Plant Physiology*., 105(1), 405-413.
- Fu, X., Cheng, S., Zhang, Y., Du, B., Feng, C., Zhou, Y., y otros. (2017). Differential responses of four biosynthetic pathways of aroma compounds in postharvest strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) under interaction of light and temperature. *Food Chemistry*.
- Fuentes E., B. M. (2009). Microwaveassisted extraction at atmospheric pressure coupled to different clean-up methods for the determination of organophosphorus pesticides in olive and avocado oil. *J. Chromatogr. A.*, 1216, 8859- 8866.
- Galvis, J. A., Fischer, G., & Gordillo, O. P. (2005). Cosecha y Poscosecha de la Uchuva. En G. Fischer, D. Miranda, W. Piedrahita, & J. Romero, *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.) en Colombia* (págs. 165-188). Bogotá-Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Unibiblos.
- Gancarz, M., Wawrzyniak, J., Gawrysiak-Witulska, M., Wiącek, D., Nawrocka, A., Tadla, M., y otros. (2017). Application of electronic nose with MOS sensors to prediction of rapeseed quality. *Measurement*.
- García Cambero , J. P. (2002). *Estado actual de la contaminación por metales pesados y pesticidas organoclorados en el parque natural de Monfragüe*. Tesis Doctoral, Universidad de Extremadura, España.
- Garrido, L. R. (1988). *Toxicología de Pesticidas*. México: Garrido-Lestache.
- Ghasemi-Varnamkhasi, M., Mohtasebi, S. S., Siadat, M., Lozano, J., Ahmadi, H., Razavi , S. H., y otros. (2011). Aging fingerprint characterization of beer using electronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 159, 51-59.
- Gualdrón, O. (2006). *Desarrollo de diferentes métodos de selección de variables para sistemas multisensoriales*. Tesis de Doctorado, Universitat Rovira I Virgili, Departament D'Enginyeria Electrònica Elèctrica I Automàtica, Tarragona.
- Gualdrón, O., Duran, C., Ortiz, J., & Araque, J. (2014). Implementation of a neural model in a hardware device(FPGA) for the classification of chemical compounds in a multisensory (E-nose). *Rev. Colomb. Tecnol. Av*, 2(24), 127-133.
- Guerrero, J. A. (2003). Estudio de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas en áreas específicas de Colombia. *Agronomía Colombiana*, 21(3), 198-209.
- Guerrero, M., & Herrera, J. (2016). Desarrollo, validación y estimación de incertidumbre de un método cromatográfico para determinar residuos de plaguicidas organofosforados y cipermetrina en tomate. *Revista Agua y Conocimiento CIRA - UNAN*, 2(1), 19-33.

- Guerrero-Dallos, J. A. (2004). *Evalución y estudio del efecto residual de la aplicación de plaguicidas en productos de cosecha*. Colombia.
- Gutierrez Alonso, E. (2007). *Aplicación de las Máquinas de sopotr Vectorial para el reconocimiento de Matrículas*. Universidad Pontificia Comillas. Escuela Técnica Superior de Ingeniería (ICAI), Madrid.
- Haddi, Z., Alami, H., El Bari, N., Tounsi, M., Barhoumi, H., Maaref, A., y otros. (2013). Electronic nose and tongue combination for improved classification of Moroccan virgin olive oil profiles. *Food Research International*, 54(2), 1488 -1498.
- Henao, S., & Nieto, O. (1998). *Insecticidas Organoclorados, Piretrinas y Piretroides*. Medellín-Colombia.
- Hernández, M. S. (2001). *Coservación del Fruto de arazá (Eugenia stipitata) durante la poscosecha mediante la aplicación de diferentes técnicas*. Bogotá: Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia.
- Hernández-Gómez, A., Wang, J., Hu, G., & García-Pereira, A. (2008). Monitoring storage shelf life of tomato using electronic nose technique. *Journal of Food Engineering*, 85, 625-631.
- Hirahara , Y., Kimura, M., Inoue , T., Uchikawa , S., Otani, S., Haganuma , A., y otros. (2005). Validation of multiresidue screening methods for the determination of 186 pesticides in 11 agricultural products using gas chromatography (GC). *J. Health Sci.*, 51, 617-627.
- Hirahara , Y., Kimura , M., Inoue , T., Uchikawa , S., Otani , S., Haganuma , A., y otros. (2005). Validation of multiresidue screening methods for the determination of 186 pesticides in 11 agricultural products using gas chromatography (GC). *J. Health Sci.*, 51, 617-627.
- Hjorth , K., Johansen , K., Holen , B., Andersson , A., Christensen , H. B., Siivinen , K., y otros. (2011). Pesticide residues in fruits and vegetables from South America - A Nordic project. *Food Control.*, 22, 1701-1706.
- Hong, X., & Wang, J. (2014). Detection of adulteration in cherry tomato juices based on electronic nose and tongue: comparison of different data fusion approaches. *Journal of Food Engineering*, 126, 89.97.
- Huang, L., Liu, H., Zhang, B., & Wu, D. (2015). Food and Bioprocess Technology. *Application of electronic nose with multivariate analysis and sensor selection for botanical origin identification and quality determination of honey*, 9(2), 359-370.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). (1999). *NTC 4580*. Bogotá (Colombia).
- Jaramillo, C. B., Torres, L. L., & Pinzon, M. I. (2000). Caracterización y cuantificación de azúcares y ácidos no volátiles de tres materiales de mora, (*Rubus glaucus* Benth) por HPLC. *Memorias Tercer Seminario de Frutales de*, 330-335.
- Kafilzadeh, F. (2015). Assessment of Organochlorine Pesticide Residues in Water, Sediments and Fish from Lake Tashk, Iran. *Achievements in the Life Sciences*, 9, 107-111.

- Korel, F., Luzuriaga, D., & Balaban, M. (2001). Objective Quality Assessment of Raw Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets Using Electronic Nose and Machine Vision. *Journal of Food Science*, 66, 1018.
- Krüger, E., Dietrich, H., Schöpplein, E., Rasim, S., & Kûrbelp. (2011). Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 31-37.
- Lambropoulou, D. A., & Albanis, T. A. (2007). Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: a review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 389, 1663-1683.
- Leadprathom, N., Parkpian, P., Satayavivad, J., Delaune, R., & Jugsujinda, A. (2009). Transport and deposition of organochlorine pesticides from farmland to estuary under tropical regime and their potential risk to aquatic biota. *J. Environ. Sci. Health Part B*, 44, 249-261.
- Lehotay, S. J. (2005). Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. *J. AOAC Int.*, 88, 595-614.
- Li, J.-W., Wang, Y.-L., Yan, S., Li, X.-J., & Pan, S.-Y. (1 de February de 2016). Molecularly imprinted calixarene fiber for solid-phase microextraction of four organophosphorous pesticides in fruits. *Food Chemistry*, 192, 260-267.
- Liu, H., Kong, W., Gong, B., Miao, Q., Qi, Y., & Yang, M. (January de 2015). Rapid analysis of multi-pesticides in *Morinda officinalis* by GC-ECD with accelerated solvent extraction assisted matrix solid phase dispersion and positive confirmation by GC-MS. *Journal of Chromatography B*, 974, 65-74.
- Llácer, J. (2008). La calidad Interna de los Cítricos de Mesa. *Infopost*(23).
- López-Rodríguez, M. L., Benimeli, C., Madrid, R. E., & Giacomelli, C. E. (2015). A simple *Streptomyces* spore-based impedimetric biosensor to detect lindane pesticide. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 447-454.
- Loutfi, A., Coradeschi, S., Mani, G. K., Shankar, P., & Bosco, J. (2014). Electronic Noses for Food Quality: A Review. *Journal of Food Engineering*.
- Lozano, J., Arroyo, T., Santos, J., Cabellos, J., & Horrillo, M. (28 de Jul de 2008). Electronic Nose for Wine Ageing Detection. *Sensors Actuators B-Chem*, 133(1), 180-186.
- Ludermir, T. B., & Yamazaki, A. (2003). Neural networks for odor recognition in artificial noses. *Proceedings of the International Joint Conference on Neural Networks.*, 1.
- Ma, J., Pan, L.-b., Yang, X.-y., Liu, X.-l., Tao, S.-y., Zhao, L., y otros. (25 de august de 2016). DDT, DDD, and DDE in soil of Xiangfen County, China: Residues, sources, spatial distribution, and health risks. (H. E. Boer, Ed.) *Chemosphere*, 163, 578-583.
- Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal. Chim.* , 1-19.

- Mandal , K., & Singh , B. (2010). Magnitude and frequency of pesticide residues in farmgate samples of cauliflower in Punjab, India. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 85, 423-426.
- Mannino, S., Benedetti, S., Buratti, S., & Cosio, M. S. (2005). Gas and liquid sensors for quality control in food processing. *Food Chemistry*.
- Manviri , R., Uma , S., & Vidhisha , J. (2017). Recent strategies for removal and degradation of persistent & toxic organochlorine pesticides using nanoparticles: A review. *Journal of Environmental Management*, 208-222.
- Marín A., Z. T., Cortés R., M., & Montoya C., O. I. (2010). Frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo ‘Colombia’ mínimamente procesados, adicionados con microorganismos probióticos utilizando la Ingeniería de Matrices. *Rev.Fac.Nal.Agr*, 63(1), 5395-5407.
- Márquez C., C. J., Trillos, G. O., Cartagena V., J. R., & Cotes T., J. M. (2009). Evaluación físicoquímica y sensorial de frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Vitae*, 16(1), 42-48.
- Marrs, T., & Ballantyne, B. (2004). *Pesticide Toxicology and International Regulation*. John Wiley & Sons.
- Martínez, G., Mercado, J., López, M., & Prieto, B. Z. (2008). Propiedades físicoquímicas de seis variedades de Fresa (*Fragaria ananassa*) que se cultivan en Guanajuato. *Revista Salud Pública y Nutrición*.
- Martínez-Soto, G., Mercado-Flores, J., López-Orozco, M., & Prieto-Velásquez, B. Z. (2008). Propiedades Físicoquímicas de Seis Variedades de Fresa (*Fragaria ananassa*) que se Cultivan en Guanajuato. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 8.
- Matsumura, F. (1985). *Toxicology of Pesticides*. New York: Segunda Edición, Plenum Press.
- Mcelyea K, et al.,. (2003). Evaluation of the Electronic Nose for Rapid Determination of Meat Freshness. *Arkansas Animal Science*, 509, 32-35.
- Men, H., Liu, H., Pan, Y., Wang, L., & Zhang, H. (2011). Electronic Nose Based on an Optimized Competition Neural Network. *Sensors*, 11, 5005-5019.
- Mendoza Patiño, N., & León Rodríguez, J. A. (2005). Prohibición del uso del lindano. *Rev Fac Med UNAM*, 48(3), 113-114.
- Mendoza, J. H., Rodríguez de S., A., & Millan, P. C. (2012). Caracterización Físico Química de la Uchuva (*Physalis peruviana*) en la Región de Silvia Cauca. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), 188-196.
- Mezcua, M., Martínez-Uroz, M. A., Wylie, P. L., & Fernández-Alba, A. R. (2009). Simultaneous screening and target analytical approach by gas chromatography-quadrupole-mass spectrometry for pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of AOAC International*, 92(6), 1790–1806.
- Mijangros R., O. F. (2010). *Optimización de métodos de extracción acelerados mediante energías auxiliares y caracterización de la fracción fenólica de Prosthechea karwinskii y Prosthechea varicosa*. Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca.

- Miszczak, A., Foney, C. F., & Prange, R. K. (1995). Development of aroma volatile and color during ripening of “Kent” strawberries. *J. Amer.Soc. Hort. Sci.*, 120(4), 650-655.
- Mitcham, B. (1996). Quality assurance for strawberries:a case study. *Perishables Handling Newsletter*, 85, 6-9.
- Mohamed , H., EL-Saeid, Saleh , A., & AL-Dosari. (July de 2010). Monitoring of pesticide residues in Riyadh dates by SFE, MSE, SFC, and GC techniques. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(3), 179–186.
- Montalvo, D. A. (2010). Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) provenientes de las provincias de Tungurahua y Bolívar. *Escuela Politécnica Nacional*, 174.
- Montaño Garcés, M., & Guerrero Dallos, J. A. (2001). Validación de una Metodología Multiresiduo para la determinación de residuos plaguicidas en fresa (*fragaria* spp) por Cromatografía de Gases. *Revista Coombiana de Química*, 30(1).
- Moon, H.-B., Kim, H.-S., Minkyu, C., Jun, Y., & Hee-Gu, C. (2009). Human health risk of poly chlorinated biphenyls and organochlorine pesticides resulting from sea food consumption in South Korea, 2005-2007. *Food Chem. Toxicol*, 1819-1825.
- Moreno, I., Cballero, R., Galan, R., Matía, F., & Jiménez, A. (2009). La Nariz Electrónica: Estado del Arte. *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial*, 6(3), 76-91.
- Moreno, M. (2001). *Evaluación de la residualidad de plaguicidas en el repollo (Brassica Oleracea var 'capitata) en el departamento de Cundinamarca*. Trabajo de Grado, Universidad Nacional de Colombia, Cundinamarca, Bogotá.
- Moses , M. (1993). *Pesticides*. Williams & Wilkin.
- Muñoz, V. (1992). Situación y perspectivas de la horticultura en Colombia. *Primer curso de horticultura de clima frio. Conferencia. ICA . Tibaitatá*. Mosquera.
- Muñoz-Bedoya, L. A., Mendoza, L. A., & Velandia-Villamizar, H. J. (2013). Segmentación de Imágenes de Resonancia Magnética IRM utilizando LS-SVM y Análisis Multiresolución Wavelet. *Tecnológicas*, 681-693.
- Murcia, A. M., & Stashenko, E. (2008). Determinación de Plaguicidas Organofosforados en Vegetales producidos en Colombia. *Agro Sur*, 36, 71-81.
- Musaiger , A. O., Al-Jedah , J. H., & D' Zousa , R. (2008). Occurrence of contaminants in foods commonly consumed in Bahrain. *Food Control*, 19, 854-861.
- Musaiger , A. O., Al-Jedah , J. H., & D' Zousa, R. (2008). Occurrence of contaminants in foods commonly consumed in Bahrain. *Food Control*, 19, 854-861.
- Natale, C. D., Olafsdottir , G., Einarsson, S., Martinelli , E., Paolesse, R., & D'amico, A. (2001). Comparison and integration of different electronic noses for freshness evaluation of cod-fish fillets. *Sensor Actuat B-chem*, 77(1-2), 572-578.
- Norli, H. R., Christiansen, A., & Holen, B. (2010). “Independent evaluation of a commercial deconvolution reporting software for gas chromatography mass spectrometry analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1217(13), 2056-2064.

- Novoa Castro, C. F. (2012). *Seguimiento de la producción del aroma del yogurt durante la fermentación ácido láctica mediante nariz electrónica y evaluación sensorial*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Bogotá.
- OMS, OPS, División Salud y Ambiente. (1993). *Plaguicidas y salud en las Américas*. Washington.
- Ongo, E., Falasconi, M., Sberveglieri, G., Antonelli, A., Montevecchi, G., Sberveglieri, V., y otros. (2012). Chemometric Discrimination of Philippine Civet Coffee Using Electronic Nose and Gas Chromatography Mass Spectrometry. *Procedia Engineering*, 47, 977-980.
- Ordóñez-Araque, R. (2014). *Evaluación de un Sistema de enmascaramiento de olor de muestras de ajo, mediante un sistema de Nariz Electrónica*. Trabajo de Grado de Maestría, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Ortiz S., J. E. (2016). *Detección de Plaguicidas (organoclorados) en alimentos frescos (Frutas) usando una nariz electrónica*. Tesis de Maestría, Universidad de Pamplona, Norte de Santander, Pamplona.
- Ortiz, J., Gualdrón, O., & Duran, C. (June de 216). Detection of pesticide in fruits using an electronic nose. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(10), 107-113.
- Osorio, D. P., Novoa, C. F., & Gutiérrez, L. F. (2012). Determinación de la viabilidad de la nariz electrónica en la predicción de la vida útil del queso doble crema. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos Alimentos Hoy*, 21(26), 26-42.
- Pabon Mora, C. (2016). *Evaluación del grado de adulteración del café (coffea arabica) tostado y molido con habas (Vicia faba)*. Tesis de Maestría, Universidad de Pamplona, Facultad de Ingenierías y Arquitectura, Pamplona.
- Pabuena, D. E., Ortiz, I. C., Lopez, J., Orozco, L. J., Quijano, A., Pardo, E., y otros. (Septiembre de 2015). Actividad genotóxica por extracto de fresa fumigada con pesticidas en Pamplona, Norte de Santander, Colombia. *Universidad, Ciencia y Tecnología*, 19(76), 111-117.
- Pabuena, D. E., Ortiz, I. C., Orozco, L. J., Quijano-Parra, A., Pardo, E., & Meléndez, I. (2015). Actividad Genotóxica inducida por extracto de fresa fumigada con pesticidas en Pamplona, Norte de Santander, Colombia. *Universidad, Ciencia y Tecnología*, 19(76), 111-117.
- Páez, M. I., & Martínez, J. M. (2015). Implementación de la metodología QuEChERS en el análisis de residuos de plaguicidas en maíz blanco (*Zea mays*). *Temas Agrarios*, 20(2), 30-42.
- Palamareva, M. D. (2005). *Liquid chromatography Principles*. (W. Paul, T. Alan , & P. Colin , Edits.) Elsevier.
- Parellón, O. B. (2004). *Diseño y realización de una nariz electrónica para maduración de quesos*. España.

- Patrash, S. J., & Zellers, E. T. (1993). Characterization of polymeric surface acoustic wave sensor coatings and semiempirical models of sensor responses to organic vapors. *Analytical Chemistry*, 65(15), 2055-2066.
- Pérez, M. A., Navarro, H., & Miranda, E. (2013). Residuos de Plaguicidas en Hortalizas: problemática y riesgo en México. *Rev. Int. Contam. Ambie*(29), 45-64.
- Pérez, R., Salas, J., & Amaro, R. (2015). Comparación de dos métodos de acción para la determinación de pesticidas anoclorados y organofosforados en fresas. *Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences*, 23(3), 158-167.
- Perkins-Veazie, P., Clark, J. R., Huber, D. J., & Balwin, E. A. (2000). Ripening physiology in 'Navaho' thornless blackberries: color, respiration, ethylene production, softening, and compositional changes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 125(3), 357-363.
- Persaud, K., & Dodd, G. (1982). Analysis of discrimination mechanisms of the mammalian olfactory system a model nose. *Nature*, 299, 352-355.
- Philip, M. J., Wylie, L., & Meng, C.-K. (2004). "Comprehensive Pesticide Screening by GC/MSD using Deconvolution Reporting Software. *Agilent Technologies, Inc.*
- Poustka, J., Holadová, K., & Hajšová, J. (2003). Application of supercritical fluid extraction in multi-residue pesticide analysis of plant matrices. *Eur. Food. Res. Technol.*, 216, 68-74.
- Qiu, S., Wang, J., & Gao, L. (2014). Discrimination and Characterization of Strawberry Juice Based on Electronic Nose and Tongue: Comparison of Different Juice Processing Approaches by LDA, PLSR, RF, and SVM. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 6426-6434.
- Quicazan S, M. C., Diaz M, A. C., & Zuluaga D, C. M. (2011). La Nariz Electrónica, una novedosa herramienta para el control de procesos y calidad en la Industria Agroalimentaria. *Rev. Vitae*, 18(2), 209-217.
- Quicazan, M. C., Díaz M., A. C., & Zuluaga D., C. M. (2011). La Nariz electrónica, una novedosa herramienta para el control de procesos y calidad en la industria agroalimentaria. *Vitae, Rev.de la Fac. de Química Farmacéutica*, 18(2), 209-217.
- Radi, Ciptohadijoyo, S., Litananda, W. S., Rivai, M., & Purnomo, M. H. (2016). Electronic nose based on partition column integrated with gas sensor for fruit identification and classification. *Computers and Electronics in Agriculture*, 121, 429-435.
- Rajapakse, N. C., & Shahak, Y. (2007). Light-quality manipulation by horticulture industry. En *Light and plant development*. Blackwell publishing (págs. 290-312). Oxford: Whitelam, G.C. and K.J. Halliday.
- Raldúa Pérez, D. (1995). *Estudio de la Contaminación por plaguicidas organoclorados y mercurio en la ictiofauna de los ríos altoaragoneses Gállego y Cinca*". Tesis Doctoral.
- Ramirez, J. A., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, 4(2), 67-75.

- Ramírez, J., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, 4(2), 67-75.
- Rejczak, T., & Tuzimski, T. (February de 2017). QuEChERS-based extraction with dispersive solid phase extraction clean-up using PSA and ZrO₂-based sorbents for determination of pesticides in bovine milk samples by HPLC-DAD. *Food Chemistry*, 217, 225-233.
- Restrepo-Duque, A. M., Cortés R., M., & Márquez C., C. J. (2009). Nuevas perUchuvas (*Physalis peruviana* L.) mínimamente procesadas fortificadas con vitamina E. *Vitae*, 16(1), 19-30.
- Revista Dinero. (s.f.). *www.dinero.com*. Recuperado el 11 de 10 de 2016, de <http://www.dinero.com/pais/articulo/exportaciones-colombianas-fruta/209741>
- Rincon, M. C., Buitrago, C. M., Ligarreto, G. A., Torres, W. S., & Balaguera, H. E. (2012). Comportamiento del Fruto Agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) Cosechado en Diferentes Estados de Madurez y Almacenado en Refrigeración. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 65(2), 6615-6625.
- Rissato, S. R., Galhiane, M. S., & Gerenutti, M. (2005). Método Multiresiduo para determinar Pesticidas en Frutas por Extracción con Fluido Supercrítico. *Información Tecnológica*, 16(6), 13-19.
- Rissato, S. R., Galhiani, M. S., & Gerenutti, M. (2005). Multiresidue Method for Determination of Pesticides in Fruits using superficial Fluid Extraction. *Información Tecnológica*, 16(6), 13-19.
- Rodríguez, L., López, L., & García, M. (2010). Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos estados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus* B.), maracuyá (*Passiflora edulis* S.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y papayuela (*Carica cundinama*). *Alimentos hoy*(21), 35-42.
- Rodríguez-Gonzalo, E., Carabias-Martínez, R., Miranda-Cruz, E., Domínguez-Alvarez, J., & Hernández-Méndez, J. (2009). Ultrasonic solvent extraction and nonaqueous CE for the determination of herbicide residues in potatoes. *J. Sep. Sci.*, 32, 575-584.
- Rodríguez-Méndez, M. L. (2001). Análisis sensorial de alimentos. Nariz Electrónica. *Investigación química*.
- Roeck, F., Barsan, N., & Weimar, U. (2008). Electronic nose: Current status and future trend. *Chemical Reviews*, 108, 705-725.
- Rojas, M., Comina, G., & Solís, J. (2012). Prototipo de una nariz electrónica. 75-80.
- Rubio, J. d., Hernández-Aguilar, A., Avila-Camacho, J., Stein-Carrillo, M., & Meléndez-Ramírez, A. (2016). Sistema sensor para el monitoreo ambiental basado en redes Neuronales. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 17(2), 211-222.
- Sanaeifar, A., Mohtasebi, S. S., Ghasemi-Varnamkhasti, M., & Ahmadi, H. (2015). Application of MOS based electronic nose for the prediction of banana quality properties. *Measurement*.

- Sánchez, R. (2002). Plaguicidas y fitosanitarios. *Memorias. XIII Congreso Nacional Farmacéutico*. Granada, España.
- Sharma, D., Nagpal, A., Pakade, Y. B., & Katnoria, J. K. (2010). Analytical methods for estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables: A review. *Talanta*, 82, 1077-1089.
- Sliwinska, M., Wisniewska, P., Dymerski, T., Wardencki, W., & Namiesnik, J. (2016). *Advances in Electronic Noses and Tongues for Food Authenticity Testing*. Poland.
- Socas-Rodríguez, B., González-Sálamo, J., Herrera-Herrera, A. V., Hernández-Borges, J., & Rodríguez-Delgado, M. A. (20 de February de 2017). Recent Advances and Developments in the QuEChERS Method. *Comprehensive Analytical Chemistry*.
- Soler, C., & Picó, Y. (2007). Recent trends in liquid chromatography-tandem mass spectrometry to determine pesticides and their metabolites in food. *Trends in Anal. Chem.*, 26, 103-115.
- Szczesniak, A. S., & Smith, B. J. (1969). Observations on Strawberry Texture, a three-pronged approach. *J. Texture Studies*, 65-89.
- Tang, K., Page, J. S., Kelly, R. T., & Marginean, I. (2010). Electrospray Ionization in Mass Spectrometry. En J. L., & J. L. (Ed.), *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. (págs. 467-74). Oxford: Academic Press.
- Tárrega, A. (2014). *Técnicas Instrumentales Avanzadas en el estudio y control de las características sensoriales de alimentos*. Bogotá (Colombia): Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos.
- Thomas, A., Leontjew Toms, L. M., Harden, F. A., Hobson, P., White, N. M., Mengersen, K. L., y otros. (2017). Concentrations of organochlorine pesticides in pooled human serum by age and gender. *Environmental Research*, 154, 10-18.
- Thompson, A. K. (1996). Harvest Maturity and Methods (Chapter 2) and Postharvest Treatments (Chapter 4). *Postharvest Technology of Fruits and Vegetables.*, 95, 35-37.
- Torri, L., & Piochi, M. (2016). Sensory methods and electronic nose as innovative tools for the evaluation of the aroma transfer properties of food plastic bags. *Food Research International*, 85, 235-243.
- Torri, L., Sinelli, N., & Limbo, S. (2010). Shelf life evaluation of fresh-cut pineapple by using an electronic nose. *Postharvest Biology and Technology*, 56, 239-245.
- Trtic-Petrovic, T., Dordevic, J., Dujakovic, N., Kumric, K., Kavasiljevic, T., & Lausevic, M. (Jul de 2010). Determination of selected pesticides in environmental water by employing liquid-phase microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.*, 397(6), 2233-43.
- Trujillo, Y., Arroqui, & Viserda, P. (2005). Mejora de la calidad y vida útil de las papas refrigeradas mínimamente procesadas mediante el empleo de agentes conservantes. @LIMENTECH CIENCIA Y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA, 2(2), 17.

- Uzcátegui, J., Araujo, Y., & Mendoza, L. (2011). Residuos de Plaguicidas Organoclorados y su relación con parámetros fisicoquímicos en suelos del Municipio Pueblo Llano, estado Mérida. *Bioagro*, 23(2), 115-120.
- van Pinxteren, M., Bauer, C., & Popp, P. (2009). High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of 10 pesticides in water: A comparison between membrane-assisted solvent extraction and solid phase extraction. *J. Chromatogr. A*, 1216, 5800-5806.
- Vandewalla, J. (2004). Benchmarking. Least squares support vector machine classifiers. *Machine Learn - ing*, 54(1), 5-32.
- Velasco, R. J., Villada, H. S., & Carrera, J. E. (2007). Aplicaciones de los Fluidos Supercríticos en la Agroindustria. *Información Tecnológica*, 18(1), 53-65.
- Vestergaard, J. S., Martens, M., & Turkki, P. (2007). Analysis of sensory quality changes during storage of a modified atmosphere packaged meat product (pizza topping) by an electronic nose system. *science direct*, 1083-1094.
- Vogeser, M., & Seger, C. (2008). A decade of HPLC-MS/MS in the routine clinical laboratory Goals for further developments. *Clinical Biochemistry*, 41(9), 649-62.
- Wang, H., Ding, J., & Ren, N. (January de 2016). Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 75, 197-208.
- Wang, L., Liang, Y., & Jiang, X. (2008). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 81,377.
- Wang, S. Y., Galletta, G. J., & Camp, M. J. (1998). Mulch types affect fruit quality and composition of two strawberry genotypes. *HortScience*, 33(4), 636-640.
- Wang, Y. Q., Wang, Y., Huo, X. X., & Zhu, Y. C. (2015). Why some restricted pesticides are still chosen by some farmers in China? empirical evidence from a survey of vegetable and apple growers. *Food Control*, 51, 417-424.
- Wanwimolruk, S., Kanchanamayoon, O., Phopin, K., & Prachayasittikul, V. (2015). Food safety in Thailand 2: pesticide residues found in Chinese kale (*Brassica oleracea*), a commonly consumed vegetable in Asian countries. *Science Total Enviroment*, 532, 447-455.
- Winter, C. K., & Jara, E. A. (2015). Pesticide food safety standards as companions to tolerances and maximum residue limits. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(11), 2358-2364.
- Wu, L., Zhou, X., Zhao, D., Feng, T., Zhou, J., Sun, T., y otros. (2017). Seasonal variation and exposure risk assessment of pesticide residues in vegetables from Xinjiang Uygur Autonomous Region of China during 2010–2014. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1-9.
- Wylie, P. L., & Meng, C. K. (2008). The benefits of incorporating GC/QqQ into pesticide analysis methods. *LC-GC Eur.*, 9-11.
- X. Yang, H. Zhang, Y. Liu, J. Wang, Y.C. Zhang, A.J. Dong, y otros. (15 de July de 2011). Multiresidue method for determination of 88 pesticides in berry fruits using solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry:

- Determination of 88 pesticides in berries using SPE and GC-MS. *Food Chemistry*, 27(2), 855-865.
- Yongwei, W., Wang, J., Zhou, B., & Lu, Q. (2009). Monitoring storage time and quality attribute of egg based on electronic nose. *Analytica Chimica Acta*, 650, 183-188.
- Yu, H., Wang, J., Zhang, H., Yu, Y., & Yao, C. (2008). Identification of green tea grade using different feature of response signal from E-nose sensors. *Sensors and Actuators B*, 128, 455-461.
- Yu-feng, S., Xiao, L., & Feng-Shan, R. (2011). Variability of Pesticide Residues in Vegetables from the Marketplaces in Jinan City. *Agricultural Sciences in China*, 10, 1646-1652.
- Zhang, W. J. (2008). A forecast analysis on world population and urbanization process. *Environ. Dev. Sustain*, 10, 717-730.
- Zuluaga D, C. M. (2011). Análisis Estadístico Multivariado: una Herramienta Estratégica para el Control de Procesos y Calidad en la Industria Agroalimétrica. *Publicaciones e Investigación*, 5.
- Zuluaga, C. M., Díaz, A. C., & Quicazan, M. C. (2011). Estandarización y validación del método de análisis del perfil aromático por nariz electrónica. *Ingeniería e Investigación*, 31(2), 65-73.
- Zuluaga, C. M., Díaz-Moreno, C., & Quicazan, M. C. (2011). Quimiometría aplicada a la diferenciación por origen de productos de las abejas. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos: Alimentos Hoy*, 24-46.

Lista de Anexos

Anexo 1.
Registro Fotográfico de los Análisis Físicoquímicos



**Anexo 2.
Registro Fotográfico de los análisis Cromatográficos**



Anexo 3. Registro Fotográfico de los Análisis con Nariz Electrónica

