

Carla Pàmies Ferran

**PESTICIDE: avaluació de l'exposició a pesticides en la transició a
una dieta ecològica**

TREBALL DE FI DE GRAU

dirigit per la Dra. Montse Marquès Bueno

Grau de Nutrició Humana i Dietètica



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Reus

2020/2021

*** Treball grupal realitzat amb: Laura Martí del Amo i Paula Martínez Manzano**

Resum

La ingesta dietètica és la principal via d'exposició als pesticides. Per tant, el consum d'aliments ecològics és una bona estratègia per reduir-ne l'exposició. L'objectiu d'aquest estudi va ser avaluar l'exposició als pesticides organofosforats (OP), en concret els pesticides dialquilfosfats (DAP), en la transició d'una dieta convencional a una dieta formada majoritàriament per aliments ecològics. Una cohort de 32 persones va seguir una planificació dietètica constituïda per aliments d'agricultura ecològica durant 5 dies. Els participants van recollir una mostra d'orina a l'inici i al final de l'estudi i se'n van analitzar les concentracions dels següents metabòlits dels DAP: dimetil fosfat (DMP), dietil fosfat (DEP), dimetil tiofosfat (DMTP), dimetil ditionfosfat (DMDTP), dietil tiofosfat (DETP), dietil ditionfosfat (DEDTP). Els resultats van indicar que les concentracions de DEP, DMDTP, DETP, DMP i DMTP van davallar, tot i que només els dos últims van mostrar significació estadística ($p < 0.05$). Per tant, podem confirmar que consumir aliments provinents de l'agricultura ecològica durant 5 dies redueix l'exposició als DAP. Aquests resultats obren les portes a futures investigacions en les que: i) s'avaluarà l'exposició als DAP diàriament per explorar-ne la farmacocinètica; ii) es consumiran aliments ecològics durant més temps per estudiar el comportament dels metabòlits que han davallat sense significació estadística; iii) es reduirà la variabilitat dels resultats entre participants del dia 1 mitjançant una planificació dietètica d'agricultura convencional prèvia a l'agricultura ecològica; i iv) s'inclouran més participants a la cohort per aconseguir més potència estadística amb l'anàlisi dels resultats.

La ingesta dietética es la principal vía de exposición a los pesticidas. Por lo tanto, el consumo de alimentos ecológicos es una buena estrategia para reducir la exposición. El objetivo de este estudio fue evaluar la exposición a los pesticidas organofosforados (OP), en concreto los pesticidas dialquilfosfatos (DAP), en la transición de una dieta convencional a una dieta formada mayoritariamente por alimentos ecológicos. Una cohorte de 32 personas siguió una planificación dietética constituida por alimentos de agricultura ecológica durante 5 días. Los participantes recogieron una muestra de orina al inicio y al final del estudio y se analizaron las concentraciones de los siguientes metabolitos de los DAP: dimetil fosfato (DMP), dietil fosfato (DEP), dimetil tiofosfato (DMTP), dimetil ditionfosfato (DMDTP), dietil tiofosfato (DETP), dietil ditionfosfato (DEDTP). Los resultados indicaron que las concentraciones de DEP, DMDTP, DETP, DMP i DMTP descendieron, aunque sólo los dos últimos mostraron significación estadística ($p < 0.05$). Por lo tanto, podemos confirmar que consumir alimentos provenientes de la agricultura ecológica durante 5 días reduce la exposición a los DAP. Estos resultados abren las puertas a futuras investigaciones en las que: i) se evaluarán la exposición a los DAP diariamente por explorar la farmacocinética; ii) se consumirán alimentos ecológicos durante más tiempo para estudiar el comportamiento de los metabolitos que han descendido sin significación estadística; iii) se reducirá la variabilidad de los resultados entre participantes del día 1 mediante una planificación dietética de agricultura convencional previa a la agricultura ecológica; y iv) se incluirán más participantes en la cohorte para conseguir más potencia estadística con el análisis de los resultados.

Dietary intake is the main route of exposure to pesticides. Therefore, consuming organic food is a suitable strategy to reduce their exposure. This study was aimed at evaluating the exposure to organophosphate pesticides (OP), specifically dialkylphosphate pesticides (DAP), in the transition from a conventional diet to a diet consisting mostly of organic food. A cohort of 32 people followed a dietary plan consisting of organic food for 5 days. Participants

collected urine samples at the beginning and at the end of the study. Urine samples were analyzed to assess the concentration of the following metabolites of DAP: dimethyl phosphate (DMP), diethyl phosphate (DEP), dimethyl thiophosphate (DMTP), dimethyl dithiophosphate (DMDTP), diethyl thiophosphate (DETP) and diethyl dithiophosphate (DEDTP). The results showed that the concentrations of DEP, DMDTP, DETP, DMP and DMTP decreased, although only the last DMP and DMTP showed statistical significance ($p < 0,05$). Hence, it can be confirmed that consuming organic food during 5 days reduces the exposure to some DAP. These results lead to future research where: i) the exposure to DAP will be assessed on daily basis to explore the pharmacokinetics; ii) the organic food will be consumed for longer period of time to study those metabolites that had not decreased with statistical significance; iii) the variability of the results at the beginning of the study will be reduced by including a dietary plan with food from conventional agriculture; and iv) more participants will be enrolled to achieve more statistical power in the analysis of the results.

1. Introducció

Els pesticides són una família de substàncies químiques àmpliament utilitzades pel control de les males herbes i la infestació d'insectes als camps agrícoles [1]. Gràcies als pesticides s'ha pogut augmentar la capacitat productiva i respondre a la creixent demanda mundial d'aliments sense alterar el valor nutricional. A més a més, han disminuït la transmissió de malalties causades per la ingesta de microorganismes presents en aliments [2,3]. Malauradament, els modes d'acció dels pesticides no són específics d'una espècie, de manera que poden esdevenir un risc pel medi ambient i la salut humana. El risc depèn de la toxicitat de cada compost i del grau d'exposició. El seu ús creixent al llarg de les darreres dècades ha causat un augment de l'exposició humana, essent la dieta la principal via d'exposició de la població general, mentre que l'exposició ocupacional és significativa pels agricultors [4,5]. Independentment de la via, l'exposició crònica a dosis baixes pot representar un risc per a la salut humana [4,6]. Els infants són especialment vulnerables als efectes adversos dels pesticides ja que el seu metabolisme és més lent que el dels adults, de manera que el seu llindar de tolerància és més limitat [7,8].

Els efectes dels pesticides sobre la salut humana poden manifestar-se durant la infància, l'adolescència i l'etapa adulta [9]. Aquests varien en funció de si es tracta d'una exposició aguda (irritació de la pell i ulls, cefalea, marejos, nàusees, diaforesis o sudoració excessiva, etc.) o bé d'una exposició crònica (carcinogènesi, mutagènesi, danys pre i post-nats, danys al sistema reproductius, danys neurològics i endocrins), essent aquests darrers els més preocupants [1,10,11].

Per tal de reduir l'exposició a pesticides i mitigar els efectes nocius sobre la salut una bona estratègia és seguir una dieta basada en aliments ecològics. Els aliments ecològics compleixen uns estàndards certificats basats en la prohibició de l'ús de fertilitzants sintètics, pesticides i modificacions genètiques [12]. Per tant, els individus que consumeixen aliments ecològics redueixen significativament l'exposició als pesticides [13,14].

PESTICIDE és un estudi pioner a Europa: per primera vegada s'ha avaluat l'exposició als OP, en concret els dialquilfosfats (DAP), en la transició d'una dieta convencional a ecològica. A la literatura científica trobem intervencions dietètiques que s'han realitzat prèviament fora d'Europa, concretament als Estats Units [15,16,17] i a Austràlia [14,18]. Aquests estudis mostren com la introducció d'aliments ecològics a la dieta causa una disminució de l'excreció dels metabòlits dels DAP en orina al cap de pocs dies. Per tant, la hipòtesi de PESTICIDE és que seguir una dieta ecològica durant 5 dies redueix l'exposició als DAP.

L'objectiu de PESTICIDE va ser avaluar l'exposició als DAP en la transició d'una dieta convencional a una dieta formada majoritàriament per aliment provinents de l'agricultura ecològica. Una cohort de 32 persones va seguir una dieta constituïda per aliments d'agricultura ecològica durant 5 dies, a la vegada que es van determinar les concentracions dels següents metabòlits dels DAP: dimetil fosfat (DMP), dimetil tiofosfat (DMTP), dimetil ditiofosfat (DMDTP), dietil fosfat (DEP), dietil tiofosfat (DETP), dietil ditiofosfat (DEDTP) en orina a l'inici i final de l'estudi, els quals són els principals biomarcadors d'exposició a diversos DAP [19].

2. Materials i mètodes

2.1. Població d'estudi

Es va realitzar una sessió informativa sobre l'estudi PESTICIDE per tal de construir la cohort amb 32 individus. Aquesta mida de la cohort ens assegura veure diferències d'excreció de pesticides en la transició d'una dieta convencional a ecològica si aquestes existeixen. Els criteris d'inclusió per participar a l'estudi van ser: i) residir a Catalunya; ii) ser major de 18 anys; iii) entendre el català o el castellà; iv) no presentar cap al·lèrgia i/o intolerància alimentària coneguda. Tots els participants van rebre el full d'informació (Material Complementari, Figura S1), van signar el consentiment informat (Material Complementari, Figura S2) i van omplir un qüestionari amb dades no personals (edat, sexe i consum d'aliments ecològics habitual, entre d'altres) (Material Complementari, Figura S3). Es va assignar un codi a cada participant que va servir per identificar les seves mostres i el qüestionari de manera anònima durant l'estudi.

Un equip de dietistes-nutricionistes va planificar una dieta ecològica variada i equilibrada que tots els participants a l'estudi havien de seguir durant 5 dies (Taula 1). El dia abans de l'inici de l'estudi, es va entregar una cistella que contenia els aliments necessaris per seguir la dieta. Els aliments estaven en cru i/o envasats i els mateixos participants els van cuinar si era necessari. Juntament amb la cistella es va entregar la planificació dietètica, incloent les tècniques culinàries, el gramatge de cada àpat, i un espai destinat a anotar qualsevol tipus d'aliment i/o beguda que es s'havia consumit fora de la cistella entregada.

Taula 1. Planificació dietètica.

Àpat	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
Esmorzar	Bol de iogurt natural (125 g) amb flocs de blat torrats (45-50 g) i xocolata negra rallada/trossets (70% cacau). Una pera Cafè i sucre	2 torrades de pa de pagès amb blat sarraí Bio untades amb formatge. Una poma 1 got de llet semidesnata da bio / Cafè i sucre	2 torrades de pa de pagès amb blat sarraí Bio untades amb xocolata negra (70% cacau). Una mandarina 1 got de llet semidesnata da bio / Cafè i sucre	Bol de iogurt natural (125 g) amb flocs de blat torrats (45-50 g) i mel al gust. Una pera Cafè i sucre	2 torrades de pa de pagès amb blat sarraí Bio untades amb 1 alvocat i mig tomàquet fresc a làmines per sobre. 1 got de llet semidesnata da bio / Cafè i sucre
Mig matí	Un plàtan	Una taronja a làmines	Una plàtan	Una taronja a làmines	Un plàtan
Dinar	Macarrons amb sofregit de verdures (75 g macarrons, ½	Patata amb bledes bullides (1 patata i mitja amb bledes,	Llenties amb verdures (¼ d'una tassa de llenties, ¼ de	Lluç amb albergínia, carbassó i patata al forn (1 filet de lluç	Arròs a la cassola amb costella de porc (75 g d'arròs, ½ de

Àpat	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
	pastanaga, ¼ ceba, ½ pebrot vermell, 10 ml d'oli d'oliva verge extra [OOVE]) i un filet de gall d'indi a la planxa (120 g). Postres: Una poma	10 ml d'OOVE) i dos ous durs. Postres: Una mandarina	pastanaga, ¼ de ceba, ¼ pebrot vermell, 10 ml d'OOVE) i una truita a la francesa amb amanida de guarnició (10g d'enciam amb ½ ceba, ½ pastanaga). Postres: Un iogurt natural	(140 g) amb ½ carbassó, ½ albergínia ½ patata i 10 ml d'OOVE). Postres: Una mandarina	ceba, 1 pastanaga, ¼ de pebrot vermell 120 g de costella de porc, 10 ml d'OOVE). Postres: Una pera
Berenar	1 torrada de pa de pagès amb blat sarraí Bio untada amb xocolata negra (70% cacau) i 1 got de llet semidesnatada a bio / Cafè i sucre	Bol de flocs de blat torrats (45-50 g) amb llet semidesnatada da bio o cafè i sucre	Bol iogurt natural (125 g) amb 1 plàtan trossejat i mel al gust.	1 torrada de pa de pagès amb blat sarraí Bio untades amb formatge. 125 g de iogurt natural	Bol de iogurt natural (125 g) amb flocs de blat torrats (45-50 g) i mel al gust.
Sopar	Bol de cigrons amb gall d'indi a la planxa (80g cigrons, ½ ceba, ½ pebrot vermell, 120 g gall d'indi, 10 ml d'OOVE). Postres: Una mandarina	Coliflor amb ceba saltejada (½ coliflor i ½ ceba, 10 ml d'OOVE) Salmó al forn (1 suprema de salmó, 2 patates panaderes). Postres: Un iogurt natural	Caldo de pollastre (250ml de caldo, 25g fideus de cabell d'àngel). Bistec amb pebrot vermell a la planxa (1 bistec de vedella, ½ pebrot vermell i 10 ml d'OOVE). Postres: Una poma	Amanida d'hivern (100g d'enciam ½ alvocat, grapat de nous, 5 ml d'OOVE). Truita a la francesa amb albergínia i carbassó a la planxa (Truita d'1 ou, ½ carbassó, ½ albergínia ½ i 10 ml d'OOVE). Postres: Una pera	Saltejat de quinoa (1 tassa quinoa, ¼ ceba, ½ pastanaga, ½ pebrot, 120 g gall d'indi a la planxa, 1 gra d'all, 10 ml d'OOVE). Postres: Una taronja

2.2. *Recollida de mostres*

Es va recollir una mostra d'orina el primer dia de l'estudi a primera hora del matí (dia 1), abans de que els participants comencessin a seguir la planificació dietètica, i una segona l'endemà d'haver acabat els 5 dies de dieta ecològica (dia 6) a primera hora del matí també. Les mostres d'orina es van recollir en pots d'orina estèrils prèviament proporcionats i cada participant les va emmagatzemar a la nevera degudament etiquetades amb el número de participant i el dia de la recollida de la mostra. Posteriorment, els participants van entregar totes les mostres als responsables de l'estudi. Un cop al laboratori, les mostres es van dividir en alíquotes i es van emmagatzemar a -20°C fins a la seva anàlisi química.

2.3. *Anàlisi de les mostres d'orina*

2.3.1. *Solucions*

2.3.1.1. *Solució de bromur de pentafluorobencil*

Es van afegir 3 ml d'acetonitril sec a una ampolla de 5 g de bromur de pentafluorobencil (PFBBR). Tan bon punt el PFBBR es va dissoldre completament, la solució es va transferir a un vial de 10 ml. Es van col·locar 3 ml d'acetonitril sec a l'ampolla de 5 g. Es van agitar durant poc temps i es van transferir a un vial de 10 ml. La solució PFBBR resultant es va emmagatzemar a la nevera a 4 °C.

2.3.2. *Control de qualitat*

2.3.2.1. *Estàndard intern*

Es van preparar dues solucions de l'estàndard intern. Per preparar la solució mare, es van pesar 10 mg de D6-dimetil fosfat. A continuació, el matràs es va enrasar amb acetonitril ($c = 1000$ mg/l). La segona solució es va preparar a partir de la solució mare. Primerament, es van posar 5 ml de metanol en un matràs volumètric de 25 ml. S'hi va afegir 25 µl de la solució mare i el matràs es va enrasar amb metanol ($c = 2$ mg/l). Ambdues solucions es van emmagatzemar a -20 °C.

2.3.2.2. *Estàndard de calibració*

Per l'estàndard de calibració es van preparar tres tipus de solucions diferents. Per cada solució mare es va pesar 10 mg de cada compost de D6-dimetil fosfat, D6-dimetil tiofosfat, D6-di-metil ditiofosfat, D10-dietil fosfat, D10-dietil tiofosfat i 13C4-dietil ditiofosfat en un matràs volumètric de 10 ml i es va enrasar amb metanol ($c = 1$ g/l). A continuació, a partir d'aquesta primera solució es van crear dues dilucions. Per la primera, es van pesar 5 ml de metanol en un matràs volumètric de 10 ml, s'hi van afegir 500 µl de cadascuna de les solucions inicials ($c = 1$ g/l), i es va enrasar el matràs amb metanol ($c = 50$ mg/l). Per la segona dilució es van posar 5 ml de metanol en un matràs volumètric de 10 ml, s'hi van afegir 1000 µl de les solucions a 50 mg/l i es van enrasar amb metanol ($c = 5$ mg/l).

2.4. Preparació de la mostra

La Figura 1 mostra el procés d'extracció dels metabòlits dels DAP (DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP i DEDTP) de les mostres d'orina. Primerament, les mostres d'orina es van descongelar a temperatura ambient, i a continuació, es van agitar vigorosament. Cada mostra es va transferir 2 ml a un vial de 25 ml i es va liofilitzar (Telstar cryodos-80) durant una hora com a mínim per tal de dessecar-la (Figura 1A). Es van afegir 50 µl de la solució estàndard intern i seguidament es va agitar. A continuació, es van afegir 2 ml d'acetonitril líquid i 2 ml d'èter dietílic a la mostra liofilitzada. Cada mostra va ser segellada hermèticament i es va barrejar amb vòrtex (IKA) (10 minuts, 220 rpm). Es va deixar reposar 5 minuts i el sobrenedant es va transferir amb cura a un vial de 25 ml (Figura 1B). Seguidament, es va afegir 1 ml d'acetonitril sec al residu, el seu contingut es va barrejar a al vòrtex (10 minuts, 220 rpm). Després de 5 minuts, el sobrenedant es va retirar acuradament i es va afegir al primer extracte, el qual es va evaporar fins a 1,5 ml amb N₂ (Figura 1C). Es van afegir 25 mg de carbonat potassi i 100 µl de la solució de PFBBR, la mostra es va tancar hermèticament i es va barrejar amb el vòrtex. La mostra es va derivatitzar durant 15 hores a 40°C a l'armari d'assecat. Un cop la mostra es va refredar a temperatura ambient, es van afegir 5 ml d'aigua destil·lada i 5 ml de *n*-hexà, la mostra es va tancar hermèticament i es va agitar (10 minuts, 200 rpm) (Figura 1D). Després de centrifugar la mostra (5 minuts, 300 rpm), el sobrenedant (la fase superior d'hexà) es va transferir a un nou vial de 25 ml. Aquest procediment d'agitar-centrifugar es va repetir una segona vegada únicament amb 5 ml de *n*-hexà. Seguidament aquest segon sobrenedant d'hexà es va retirar i va afegir al primer extracte d'hexà. La mostra es va evaporar fins a aproximadament 1 ml amb N₂, i a continuació es va transferir a un vial

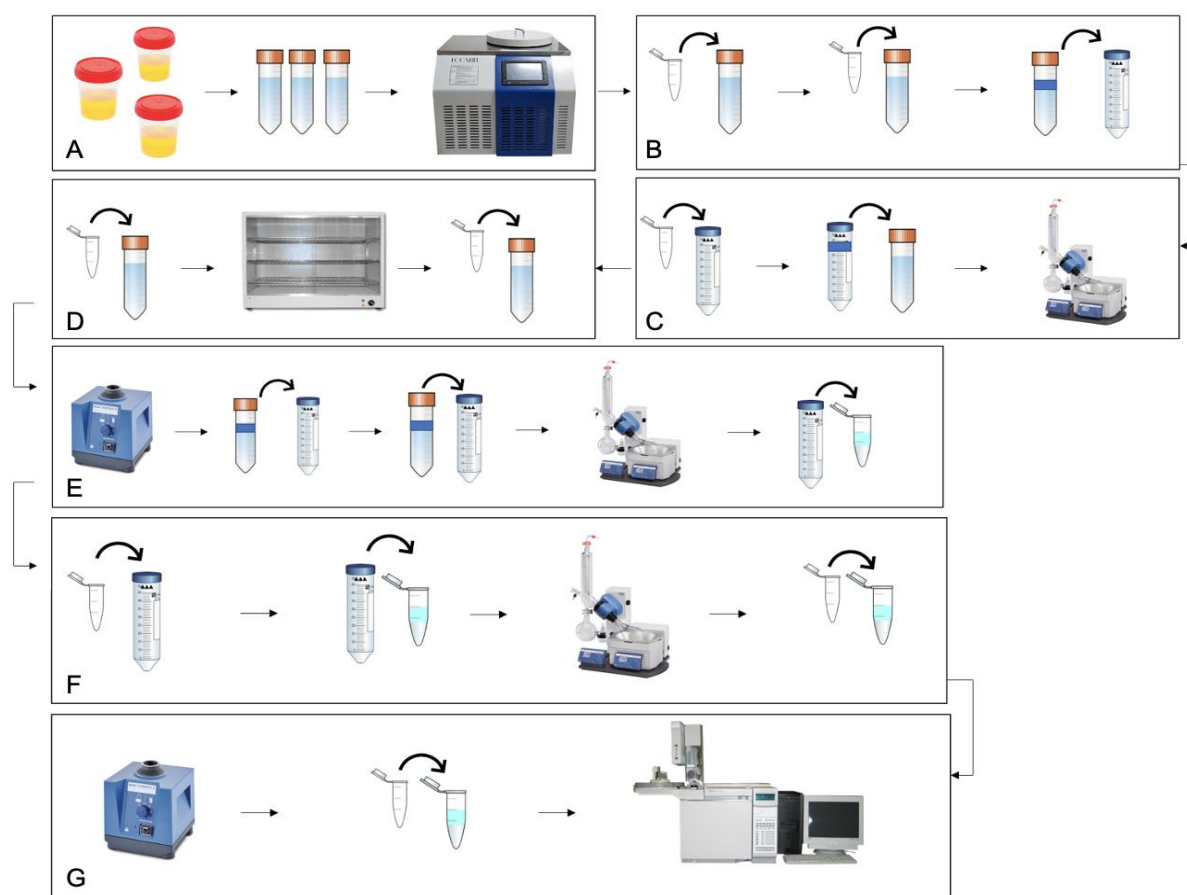


Figura 1. Diagrama de flux del procés de preparació de la mostra

d'1,5 ml (Figura 1E). Es van rentar les parets del vial amb 200 µl de toluè diverses vegades, i es va anar evaporant amb N₂ fins a 100 µl. Finalment es va reconstituir amb 100 µl de n-hexà (Figura 1F). Per últim, es va agitar durant 10 minuts i es va col·locar a un vial d'1,5 ml amb un microinsert de 0,2 ml que després es va tancar hermèticament (Figura 1G).

2.5. Anàlisi mitjançant GC-MSMS

L'anàlisi es va realitzar mitjançant cromatografia de gasos acoblat a espectrometria de masses en tàndem (GC-MSMS, 7890A Agilent Technologies). Es va injectar 1 µl de la mostra al GC-MSMS seguint les condicions del mètode cromatogràfic descrit al Material Suplementari (Taula S1 i Taula S2).

2.6. Determinació de la creatinina

Es va analitzar la creatinina de totes les mostres d'orina a través de l'analitzador Cobas Mira Plus CC (Roche, Estats Units) per tal de recalcular les concentracions dels metabòlits dels DAP obtingudes. Es van descongelar les mostres a temperatura ambient, es van centrifugar a 2000 rpm durant 5 minuts, i es va recollir el sobrenedant amb una pipeta pasteur, el qual es va introduir a un eppendorf. Es van traslladar 100 µl de mostra a un tub d'assaig de 5 ml juntament amb 1900 µl d'aigua ultrapura miliQ, es va tapar i posar al vòrtex 30 segons. Seguidament es va preparar el patró intern de Seriscann Normal de kit reactiu de creatinina QCA (mètode de Jaffe modificat, ref:998891). Es van pipetejar 100 µl del patró i 100 µl de cada mostra amb micropipeta en vials de reacció blaus. Es van posar al rack del Cobas intercalant un patró cada 5 mostres.

2.7. Anàlisi estadística

L'anàlisi estadística es va realitzar mitjançant el programari *Statistical Package for the Social Science* (SPSS v.27). Es va avaluar si existien diferències estadísticament significatives entre les concentracions de DMP, DEP, DMTP, DMDTP, DETP i DEDTP del dia 1 i el dia 6. Primerament, es va fer el test de Levene per determinar si les variables tenien una distribució normal. En cas de normalitat, es va aplicar el test ANOVA, mentre que si les variables no tenien una distribució normal, la prova U de Mann-Whitney. La significació estadística es va establir a 0.05 ($p < 0.05$).

3. Resultats i discussió

3.1. Concentracions dels metabòlits dels DAP a les mostres d'orina

Les concentracions del DMP, DEP, DMTP, DMDTP, DETP i DEDTP a les dues mostres d'orina (dia 1 i dia 6) de cada participant es troben al Material Suplementari (Taula S3). Es van descartar els resultats de dos participants a l'estudi, un per problemes analítics amb les mostres, i l'altre per incompliment de les instruccions i consumir aliments provinents de l'agricultura convencional durant l'estudi. Per tant, els resultats analitzats i presentats pertanyen a 30 participants.

3.2. Concentracions de DMP

El metabòlit DMP es relaciona amb l'exposició als següents DAP: azinphos metil, metil clorpirifos, diclorvós (DDVP), dicrotofos, dimetoat, fenitrotió, fentió, isazafès-metil, malatió, metidatió, metil paratió, naled, oxidemetó-metil, fosmet, pirimifos-metil, temefos, tetraclorvinfos i triclorfon (Material Suplementari, Taula S4).

La concentració mitjana de DMP en orina va disminuir significativament ($p < 0,05$) entre el dia 1 ($0,483 \pm 0,848$ $\mu\text{g/g}$ creatinina) i dia 6 ($0,053$ $\mu\text{g/g}$ creatinina $\pm 0,263$) (Figura 2). Tanmateix, Hyland et al. (2019) [15] va trobar una reducció estadísticament significativa en l'excreció de DMP després de que una cohort de 16 persones consumissin aliments ecològics durant 5 dies. L'elevada desviació estàndard de la concentració mitjana de DMP del dia 1 es deu a que un participant va presentar una concentració ($4,479$ $\mu\text{g/g}$ creatinina) molt superior a la resta de participants.

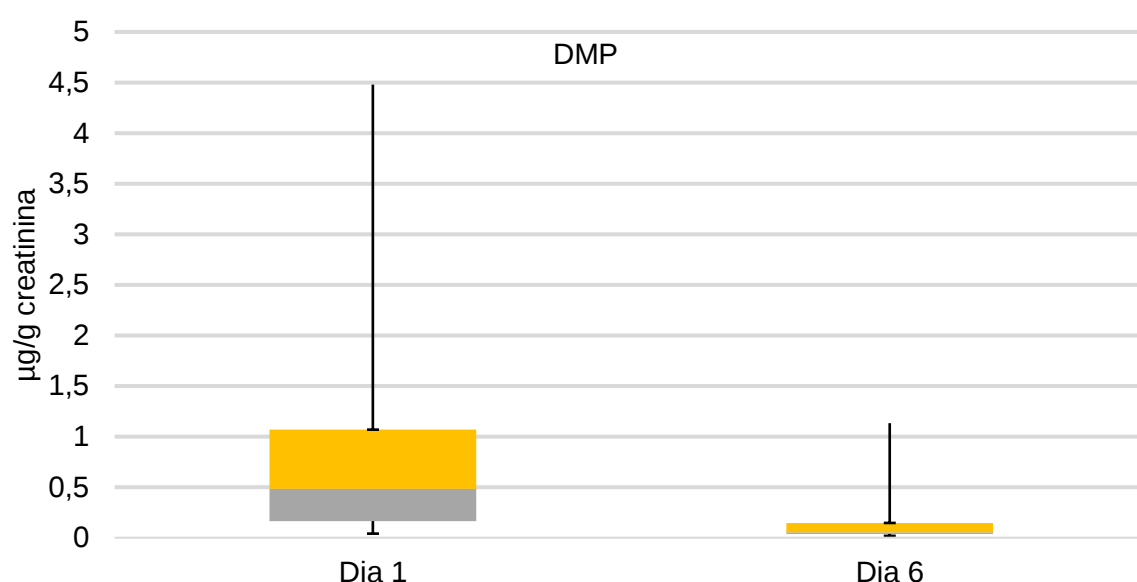


Figura 2. Diagrames de caixes de les concentracions de DMP en orina el dia 1 i el dia 6.

3.3. Concentracions de DEP

El metabòlit DEP es relaciona amb l'exposició a cloretoxifos, clorpirifos, cumafòs, diazinon, disulfotó i etió (Material Suplementari, Taula S3).

La concentració mitjana de DEP en orina va disminuir entre el dia 1 ($0,264 \pm 0,488$ $\mu\text{g/g}$ creatinina) i el dia 6 ($0,126$ $\mu\text{g/g}$ creatinina $\pm 0,415$) (Figura 3). Aquesta disminució no va mostrar significació estadística ($p > 0,05$) igual que, Hyland et al. (2019) [15] va provar en el seu estudi. Cal destacar que tres participants van presentar una concentració de DEP a la mostra d'orina del dia 1 molt superior a la resta (concentració 1 = $2,303$ $\mu\text{g/g}$ creatinina; concentració 2 = $1,634$ $\mu\text{g/g}$ creatinina; concentració 3 = $1,020$ $\mu\text{g/g}$ creatinina) donant lloc a una elevada desviació estàndard. De manera similar, dos altres participants diferents van excretar concentracions de DEP el dia 6 superiors a la resta de participants ($1,741$ $\mu\text{g/g}$ creatinina i $1,475$ $\mu\text{g/g}$ creatinina).

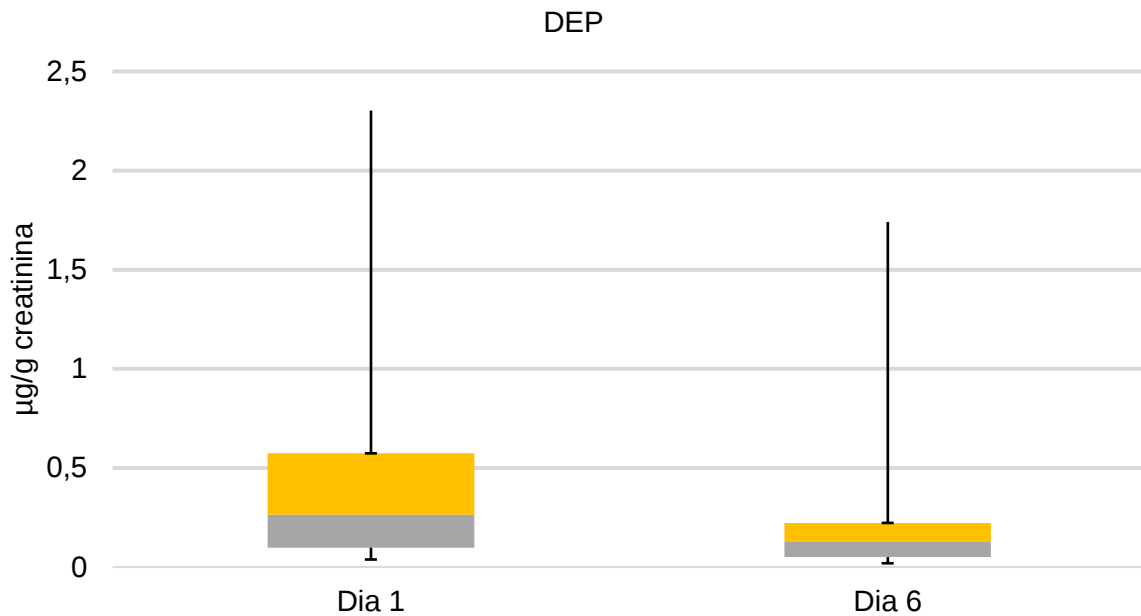


Figura 3. Diagrames de caixes de les concentracions de DEP en orina el dia 1 i el dia 6.

3.4. Concentracions de DMTP

L'excreció del metabòlit DMTP es relaciona amb l'exposició als següents DAP: azinphos metil, metil clorpirifos, dimetoat, fenitrotió, fentió, isazafès-metil, malatió, metidatió, metil paratió, oxidemetó-metil, fosmet, pirimifos-metil i temefos (Material Suplementari, Taula S3).

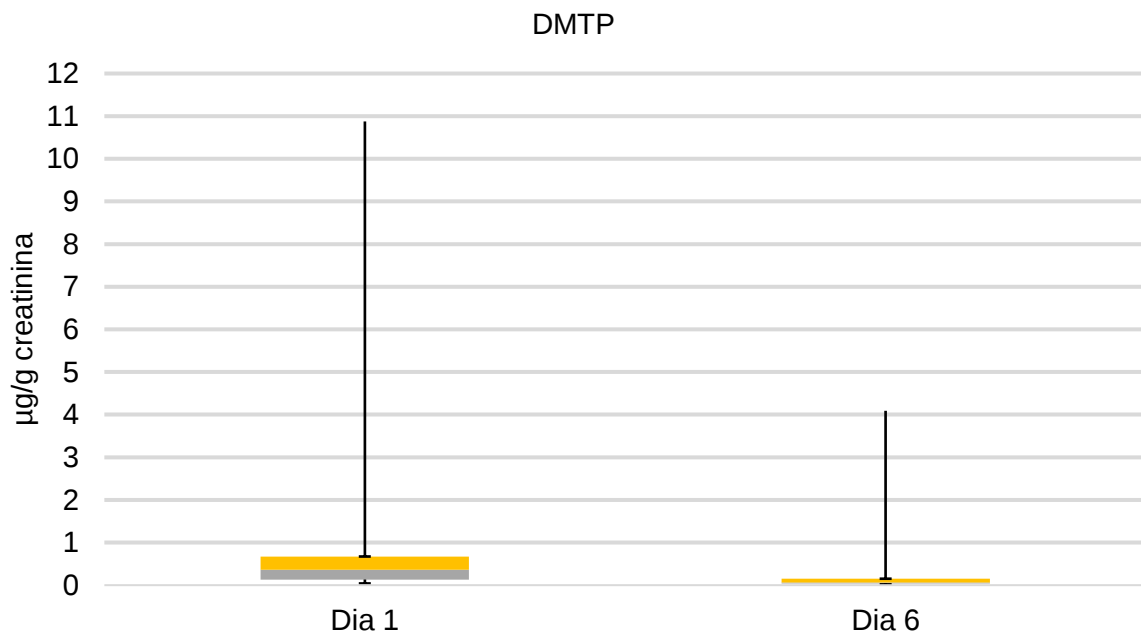


Figura 4. Diagrames de caixes de les concentracions de DMTP en orina el dia 1 i el dia 6.

La concentració mitjana de DMTP en orina va disminuir significativament ($p < 0,05$) entre el dia 1 ($0,364 \pm 1,913 \mu\text{g/g creatinina}$) i el dia 6 ($0,063 \pm 0,75 \mu\text{g/g creatinina}$) (Figura 4), tal i com Hyland et al. (2019) [15] va trobar en el seu estudi. Per contra, Curl et al. (2015) [16] en la seva intervenció dietètica, amb 4466 participants i de 2 anys de durada en el marc d'un estudi d'arteriosclerosi, no va mostrar una significació estadística ($p > 0,05$). Cal destacar l'elevada desviació estàndard de DMTP del dia 1, deguda a l'excreció de DMTP d'un participant (diferent als dels altres OP) més elevada que la resta ($10,875 \mu\text{g/g creatinina}$). Al final de l'estudi també hi va haver un altre participant diferent als del dia 1, que va excretar una concentració de DMTP superior a la resta ($4,090 \mu\text{g/g creatinina}$), tot i que en aquest cas la diferència en comparació amb la resta de participants fou menor.

3.5. Concentracions de DMDTP

El DMDTP es relaciona amb l'exposició de 5 DAPs diferents, aquests són els següents: azinphos metil, dimetoat, malatí, metidatió i fosmet (Material Suplementari, Taula S3).

Pel que fa a les concentracions de DMDTP hi ha una molt lleugera disminució sense significació estadística ($p > 0,05$) entre el dia 1 ($0,053 \pm 0,062 \mu\text{g/g creatinina}$) al dia 6 ($0,049 \pm 0,107 \mu\text{g/g creatinina}$) (Figura 5). Això pot ser degut a que aquest metabòlit es troba normalment en concentracions relativament baixes en comparació amb els altres DAP [20]. Per últim, cal destacar que la desviació estàndard de les concentracions de DMDTP el dia 6 fou més elevada que el dia 1 com a resultat de la concentració de DMDTP en orina d'un participant aïllat ($3,778 \mu\text{g/g}$) molt superior a la resta.

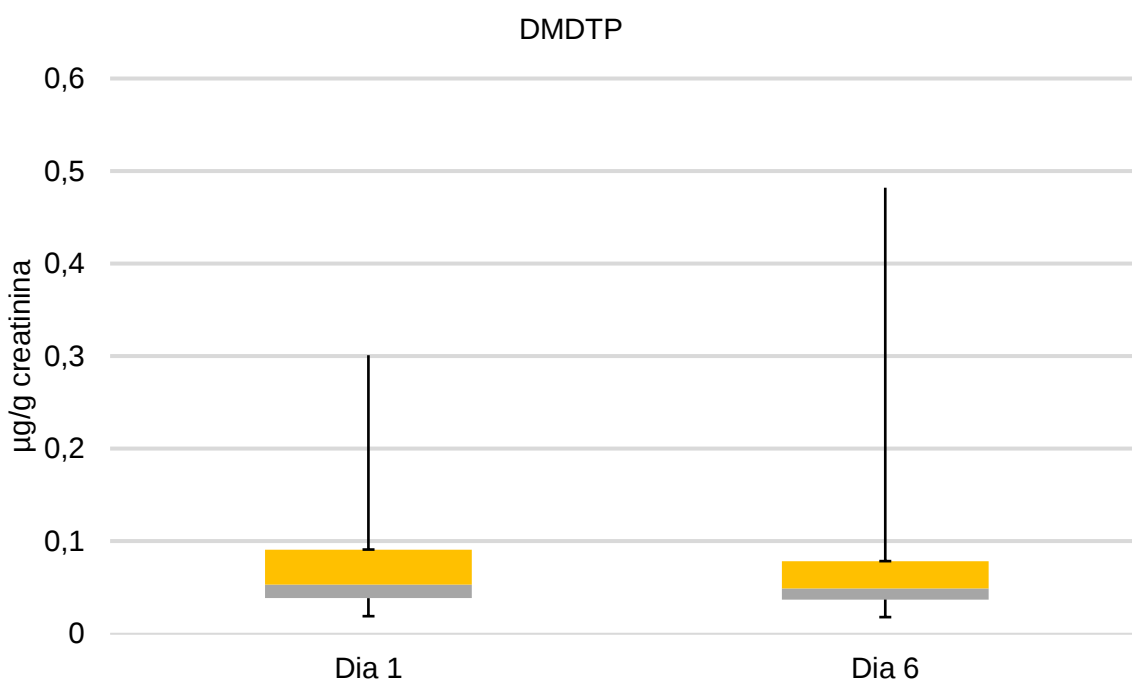


Figura 5. Diagrames de caixes de les concentracions de DMDTP en orina el dia 1 i el dia 6.

3.6. Concentracions de DETP

El metabòlit DETP es relaciona amb l'exposició dels mateixos pesticides que el DEP: cloretoxifos, clorpirifos, cumafòs, diazinon, disulfotó i etió (Material Suplementari, Taula S3).

Pel que fa el DETP, es pot veure una lleugera disminució de la seva excreció entre el dia 1 ($0,055 \pm 0,053 \mu\text{g/g creatinina}$) i el dia 6 ($0,05 \pm 0,049 \mu\text{g/g creatinina}$) sense significació estadística ($p > 0,05$) (Figura 6). En canvi Curl et al. (2015) [16], va trobar una relació significativa entre l'augment del consum de productes ecològics i els nivells més baixos de DETP. Tots els participants mostraren concentracions similars, de manera que la desviació estàndard fou menor que en els altres metabòlits estudiats.

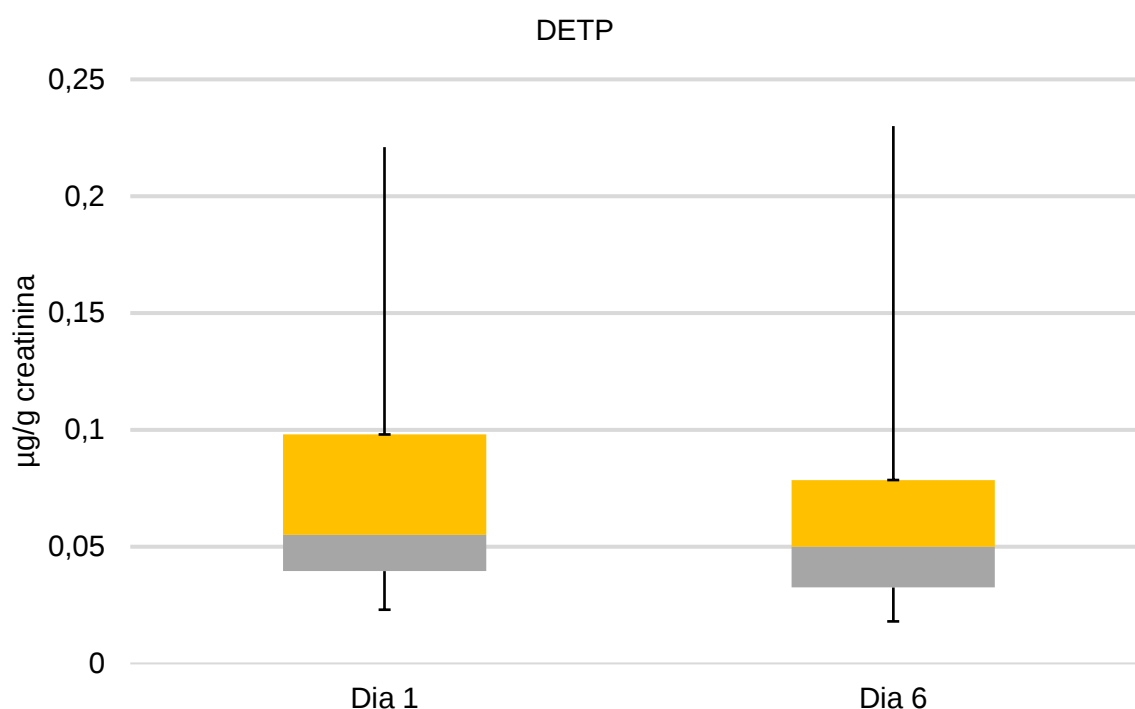


Figura 6. Diagrames de caixes de les concentracions de DETP en orina el dia 1 i el dia 6.

3.7. Concentracions de DEDTP

La concentració mitjana de DEDTP en orina entre el dia 1 ($0,004 \pm 0,004 \mu\text{g/g creatinina}$) i el dia 6 ($0,005 \pm 0,008 \mu\text{g/g creatinina}$) va augmentar molt lleugerament i sense significació estadística ($p > 0,05$) (Figura 7). De totes maneres, cal destacar que les concentracions foren molt baixes tant a l'inici com al final de l'estudi, i és que aquest metabòlit només es relaciona amb l'exposició a quatre pesticides: disulfotó, etió, forat i terbufos (Material Suplementari, Taula S3). Tot i així, Oates et al. (2014) [14] va demostrar una reducció estadísticament significativa de l'excreció de DEDTP. I per contra, Bradman A, et al. (2015) [17] en una intervenció dietètica amb 40 infants va trobar significació estadística en la disminució del DEDTP.

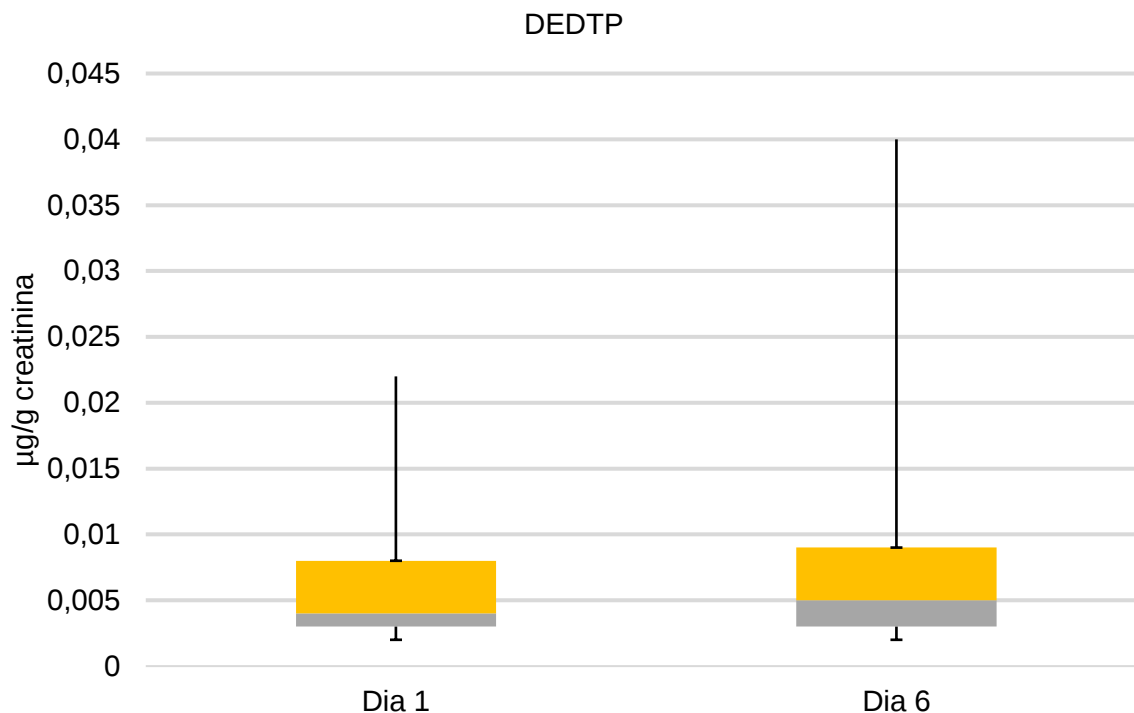


Figura 7. Diagrames de caixes de les concentracions de DEDTP en orina el dia 1 i el dia 6.

4. Conclusions

PESTICIDE és la primera intervenció dietètica realitzada a Europa que avalua l'exposició a DAPs en la transició d'una dieta convencional a una dieta amb aliments provinents majoritàriament de l'agricultura ecològica. L'exposició s'ha avaluat a través de la determinació de les concentracions dels següents metabòlits dels DAP: DMP, DEP, DMTP, DMDTP, DETP i DEDTP abans i després de consumir aliments ecològics durant 5 dies.

Els resultats de PESTICIDE conclouen que dur a terme una dieta formada majoritàriament per aliments provinents de l'agricultura ecològica durant 5 dies redueix l'excreció dels següents metabòlits dels DAP: DEP, DMDTP, DETP, DMP i DMTP, essent significativa pels dos últims.

Es durà a terme un estudi més ampli i detallat per explorar el comportament del DEDTP, metabòlit del DAP que ha mostrat un lleuger augment, tot i que aquest no ha estat significatiu. Les futures investigacions també ens permetran solventar les limitacions detectades i així: i) esbrinar l'excreció del conjunt de metabòlits dels DAP dia a dia i així explorar la seva farmacocinètica amb més profunditat; ii) determinar si cal consumir aliments ecològics durant més dies per tal de reduir significativament l'excreció de DEP, DMDTP i DETP, els quals podrien estar relacionats amb l'exposició a DAP més persistents; iii) reduir l'elevada variabilitat dels resultats del dia 1 mitjançant una planificació dietètica d'agricultura convencional prèvia a la d'agricultura ecològica; iv) construir una cohort amb més participants per aconseguir més potència estadística amb l'anàlisi dels resultats.

Amb tot, els resultats de PESTICIDE ens permeten recomanar a la població general consumir aliments provinent d'agricultura ecològica per tal reduir l'exposició als DAP ràpidament i mitigar els efectes adversos sobre la salut que se'n deriven.

5. Agraïments

Aquest projecte ha rebut finançament de l'Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR, ajut No. SGR 2017-SGR-245) i del Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació (DARP, ajut No. ARP147/21/00004).

Material Suplementari

Taula S1. Paràmetres de funcionament de la cromatografia de gasos.

<i>Columna capil·lar</i>	
Material	Sílice fosa
Fase estacionària	DB-35 MS
Llargada	60 m
Diàmetre intern	0,25 mm
Gruix de la pel·lícula	0,25 µm
<i>Temperatura</i>	
Columna	Temperatura inicial 80°C
	0,5 minuts isotèrmic
	Augmentar a una velocitat de 6 °C / min a 195 °C, 5 minuts isotèrmica, després a una velocitat de 8 °C / min a 210 °C, després a una velocitat de 25 °C / min a 300 °C, 10 minuts isotèrmica a temperatura final
Injector	250°C
<i>Línia de transferència</i>	280°C
<i>Gas portador</i>	Heli 5.0, flux constant a 1,5 ml / min
<i>Dividir</i>	sense dividir, dividir-se al cap d'1 min
<i>Volum mostra</i>	1 µl
<i>Tipus d'ionització</i>	ionització per impactes electrònics (EI)

Taula S2. Temps de retenció, transicions d'ions i energies de col·lisió

Analit (derivat PFBBR)	Temps de retenció	Transició quantitativa	Transició qualitativa
D6-DMP	18,6	312,0 → 116,0 (15)	312 → 196,0 (10) 312 → 98,0 (25)
DMP	18,8	306,0 → 110,0 (15)	306,0 → 194,0 (5)
DEP	20,3	334,0 → 125,0 (15)	334,0 → 153,0 (5)
DMTP	22,6	322,0 → 110,0 (15)	322,0 → 207,0 (5)
DMDTP	24,5	338,0 → 157,0 (5)	338,0 → 93,0 (35)
DETP	24,7	350,0 → 111,0 (15)	350,0 → 169,0 (5)
DEDTP	26,5	366,0 → 185,0 (5)	366,0 → 157,0 (25)

Nota. Els números d'ítems entre parèntesis reflecteixen l'energia de col·lisió de cada transició

Taula S3. Concentracions dels metabòlits DMP, DEP, DMTP, DMDTP, DETP i DEDTP.

SAMPLE	DMP (µg/g creatinina)	DEP (µg/g creatinina)	DMTP (µg/g creatinina)	DMDTP (µg/g creatinina)	DETP (µg/g creatinina)	DEDTP (µg/g creatinina)
Participant 1 dia 1	0,483	<0,1	0,271	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 1 dia 6	<0,1	0,570	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 2 dia 1	1,136	0,452	0,176	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 2 dia 6	0,888	<0,1	0,271	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 3 dia 1	1,000	0,264	4,099	<0,1	0,053	<0,01
Participant 3 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 4 dia 1	1,274	<0,1	0,873	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 4 dia 6	<0,1	<0,1	0,130	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 5 dia 1	1,188	<0,1	0,657	<0,1	<0,1	<0,1
Participant 5 dia 6	<0,1	0,126	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 6 dia 1	0,318	0,301	0,124	0,301	<0,1	<0,01
Participant 6 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 7 dia 1	<0,1	2,303	0,118	<0,1	0,221	<0,01
Participant 7 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 8 dia 1	0,555	0,174	0,323	0,143	<0,1	<0,1
Participant 8 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01

SAMPLE	DMP (µg/g creatinina)	DEP (µg/g creatinina)	DMTP (µg/g creatinina)	DMDTP (µg/g creatinina)	DETP (µg/g creatinina)	DEDTP (µg/g creatinina)
Participant 9 dia 1	<0,1	0,585	1,593	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 9 dia 6	<0,1	0,124	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 10 dia 1	<0,1	0,375	0,526	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 10 dia 6	<0,1	0,146	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 11 dia 1	<0,1	<0,1	0,523	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 11 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 12 dia 1	0,220	0,581	0,344	0,220	0,220	<0,1
Participant 12 dia 6	0,230	0,424	0,465	0,230	0,230	<0,1
Participant 13 dia 1	0,863	0,286	0,542	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 13 dia 6	<0,1	0,992	0,450	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 14 dia 1	0,172	0,236	0,364	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 14 dia 6	0,664	1,741	4,090	0,482	0,113	<0,1
Participant 15 dia 1	0,437	0,294	1,580	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 15 dia 6	0,334	0,530	0,484	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 16 dia 1	0,660	0,694	1,000	0,113	0,113	<0,1
Participant 16 dia 6	0,134	0,134	0,134	0,134	0,134	<0,1
Participant 17 dia 1	0,156	0,168	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 17 dia 6	<0,1	<0,1	0,146	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 18 dia 1	0,249	1,634	0,152	0,096	0,096	<0,1
Participant 18 dia 6	<0,1	0,117	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 19 dia 1	0,487	0,184	0,292	<0,1	0,113	<0,01
Participant 19 dia 6	0,320	<0,1	0,107	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 20 dia 1	0,289	0,266	0,625	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 20 dia 6	<0,1	0,356	0,574	3,778	0,098	<0,1
Participant 21 dia 1	1,267	0,358	0,482	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 21 dia 6	0,101	0,174	0,101	<0,1	0,101	<0,1
Participant 22 dia 1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 22 dia 6	<0,1	0,195	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 23 dia 1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Participant 23 dia 6	0,168	1,475	0,370	0,337	0,168	<0,1

SAMPLE	DMP (µg/g creatinina)	DEP (µg/g creatinina)	DMTP (µg/g creatinina)	DMDTP (µg/g creatinina)	DETP (µg/g creatinina)	DEDTP (µg/g creatinina)
Participant 24 dia 1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 24 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 25 dia 1	1,319	0,230	0,688	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 25 dia 6	<0,1	0,205	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 26 dia 1	0,463	0,566	0,142	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 26 dia 6	<0,1	0,238	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 27 dia 1	4,479	0,740	1,228	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 27 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 28 dia 1	1,488	0,624	0,602	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 28 dia 6	<0,1	0,207	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 29 dia 1	0,946	0,252	0,510	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 29 dia 6	1,132	0,469	0,190	0,281	0,130	<0,1
Participant 30 dia 1	0,384	<0,1	0,122	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 30 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 31 dia 1	1,614	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 31 dia 6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,01
Participant 32 dia 1	0,370	1,020	0,521	0,107	0,135	<0,01
Participant 32 dia 6	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	<0,1

Taula S4. Biomarcadors d'exposició a DAP (DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP i DEDTP)

Pesticida	DMP	DMTP	DMDTP	DEP	DETP	DEDTP
Azinphos metil	✓	✓	✓			
Cloretoxifos				✓	✓	
Clorpirifos				✓	✓	
Metil clorpirifos	✓	✓				
Cumafòs				✓	✓	
Diclorvós (DDVP)	✓					
Diazinon				✓	✓	
Dicrotofos	✓					
Dimetoat	✓	✓	✓			
Disulfotó				✓	✓	✓
Etió				✓	✓	✓
Fenitrotió	✓	✓				
Fentió	✓	✓				
Isazafès-metil	✓	✓				
Malatió	✓	✓	✓			
Metidatió	✓	✓	✓			
Metil paratió	✓	✓				
Naled	✓					
Oxidemetó-metil	✓	✓				
Paratió				✓	✓	
Forat				✓	✓	✓
Fosmet	✓	✓	✓			
Pirimifos-metil	✓	✓				
Tetraetilditiopirofosfat				✓	✓	
Temefos	✓	✓				
Terbufos				✓	✓	✓

Pesticida	DMP	DMTP	DMDTP	DEP	DETP	DEDTP
Tetraclorvinfos	✓					
Triclorfon	✓					

Extreta de Bravo, R, et al. (2004) [19]

MODEL DE FULL D'INFORMACIÓ AL PARTICIPANT

TÍTOL DE L'ESTUDI: Exposició dietètica a pesticides: transició d'una dieta convencional a una ecològica

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Martí Nadal, Laboratori de Toxicologia i Salut Ambiental – TecnATox (correu electrònic: marti.nadal@urv.cat; telèfon: 977758930)

CENTRE: Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV) i Universitat Rovira i Virgili (URV)

INTRODUCCIÓ:

Ens dirigim a vostè per tal d'informar-lo sobre l'estudi d'investigació en el que se'l convida a participar. Aquest estudi ha estat aprovat pel Comitè Ètic d'Investigació en Persones, Societat i Medi Ambient del nostre centre.

La nostra intenció és tan sols que rebí la informació correcta i suficient perquè pugui avaluar i decidir si vol o no participar en aquest estudi. Per aquest motiu, llegeixi aquest full informatiu amb atenció i nosaltres li aclarirem els dubtes que li puguin sorgir després de l'explicació. Es lliure de consultar amb les persones que consideri oportú.

PARTICIPACIÓ VOLUNTÀRIA:

Ha de saber que la seva participació en aquest estudi és voluntària i que pot decidir no participar o canviar la seva decisió i retirar el consentiment en qualsevol moment.

DESCRIPCIÓ GENERAL DE L'ESTUDI:

Aquest estudi té com objectiu avaluar l'exposició dietètica a pesticides en la transició d'una dieta convencional a una d'ecològica.

Durant 5 dies realitzarà una dieta basada en aliments ecològics per tal d'avaluar si una l'alimentació ecològica és un mètode eficaç per disminuir l'exposició a pesticides. Els responsables de l'estudi li entregaran una cistella amb els aliments necessaris per seguir la dieta, juntament amb dos pots estèrils per la recollida d'orina, full d'instruccions de l'estudi i un qüestionari. Es recolliran 100mL d'orina de primera hora del matí del mateix dia que comença la dieta ecològica (dia 1) i 100mL d'orina de primera hora del matí de l'endemà d'acabar l'estudi (dia 6). Els mateixos participants guardaran les dues mostres d'orina a la nevera i les entregaran als responsables de l'estudi, juntament amb el qüestionari, quan aquests els contactin. Un cop al laboratori, les mostres es guardaran a -20°C, fins a l'anàlisi química dels següents pesticides: dimetil fosfat (DMP), dimetil tiofosfat (DMTP), dimetil ditiiofosfat (DMDTP), dietil fosfat (DEP), dietil tiofosfat (DETP), dietil ditiiofosfat (DEDTP).

No serà necessària cap visita mèdica, només caldrà que respongui el qüestionari amb preguntes relacionades amb l'estil de vida i hàbits alimentaris previs a l'estudi.

BENEFICIS I RISCOS

L'estudi no suposa cap risc, ja que la recollida de mostres d'orina no és invasiva. El benefici de l'estudi és avaluar l'exposició a pesticides en un context de transició d'una dieta convencional a una d'ecològica. A curt termini no es preveu que els resultats obtinguts de l'estudi puguin beneficiar el subjecte participant, però sí que tractats en la seva totalitat seran d'utilitat per la comunitat científica, així com per altres parts implicades (participants, professionals de la salut, indústries, autoritats, legisladors, etc.). Finalment, aquest estudi representa la base d'un projecte ambiciós en el que es pretén derivar recomanacions personalitzades en funció dels hàbits alimentaris.

CONFIDENCIALITAT I PROTECCIÓ DE DADES

El promotor es compromet a complir la Llei Orgànica 3/2018, de 5 de desembre, de Protecció de Dades Personals i garantia dels drets digitals, i la Normativa de Protecció de Dades General de la UE 2016/679 en vigor des del 25 de maig de 2018.

D'acord al que estableix la legislació esmentada, vostè pot exercir els drets d'accés, modificació, oposició i eliminació de les seves dades incorrectes i demanar una còpia (una vegada que hagi acabat l'estudi) o transferir les seves dades a un tercer així com retirar el consentiment sobre l'ús de dades. Pot interrompre la seva participació a l'estudi retirant el seu consentiment en qualsevol

He rebut aquest Full d'informació:

Figura S1. Full d'informació al participant

moment, sense donar explicacions. Si decideix retirar el consentiment per participar en aquest estudi, no s'afegiran dades noves a la base de dades, però les seves dades no es podran eliminar encara que deixi de participar a l'estudi, per garantir la validesa dels resultats i complir amb les obligacions legals. El dret d'ús de les dades personals es pot exercir en qualsevol moment durant i després de la finalització de l'estudi. Per exercir els seus drets, poseu-vos en contacte amb l'investigador principal mitjançant el correu electrònic o el telèfon de contacte que trobarà a l'inici del document. També té dret a posar-se en contacte amb l'Autoritat Catalana de Protecció de Dades si no està satisfet amb el resultat.

Les dades recollides per a l'estudi estaran identificades mitjançant un codi i només l'investigador principal i col·laboradors podran relacionar aquestes dades amb vostè i amb la seva història clínica. Per tant, la seva identitat no serà revelada a cap persona llevat d'excepcions, a les autoritats sanitàries (Agència Espanyola del Medicament i Productes Sanitaris), al Comitè d'Ètica d'Investigació en Persones, Societat i Medi Ambient i personal autoritzat pel promotor, quan ho necessitin per comprovar les dades i procediments de l'estudi, en cas d'urgència mèdica o requeriment legal.

Les seves dades es recolliran en un fitxer de recerca de Laboratori de Toxicologia i Salut Ambiental - TecnaTox i es processaran pel que fa a la seva participació en aquest estudi. Tota la informació recopilada sobre vostè en el marc d'aquest estudi es mantindrà estrictament confidencial. Mai de l'identificarà en cap informe, presentació ni publicació que sorgeixi d'aquest estudi.

El període de conservació de les dades és de 5 anys un cop ha finalitzat l'estudi.

MOSTRES A RECOLLIR:

En el marc d'aquest projecte aprovat pel Comitè Ètic d'Investigació en Persones, Societat i Medi Ambient proporcionarà dos mostres d'orina per utilitzar-la amb fins d'investigació, a fi d'augmentar els coneixements sobre la relació entre la dieta i el consum de pesticides.

ORINA: La recollida de la mostra d'orina de forma espontània no suposa cap risc per a vostè.

Les mostres obtingudes s'emmagatzemaran al Laboratori de Toxicologia i Salut Ambiental i el responsable d'aquestes serà el/la Dr. Martí Nadal.

Règim de conservació: col·lecció.

Un cop finalitzada la investigació, és possible que hi hagi mostra sobrant. En relació a aquestes, s'ofereixen les següents opcions:

- A.** La **destrucció** de la mostra sobrant
- B.** La seva **utilització en futurs projectes** d'investigació biomèdica relacionats amb el mateix tema

He rebut aquest Full d'Informació

Data:

Nom i cognoms:

Signatura:

MODEL DE CONSENTIMENT INFORMAT

TÍTOL DE L'ESTUDI: Exposició dietètica a pesticides: transició d'una dieta convencional a una ecològica

INVESTIGADOR PRINCIPAL Martí Nadal, Laboratori de Toxicologia i Salut Ambiental – TecnATox (correu electrònic: marti.nadal@urv.cat; telèfon: 977758930)

CENTRE: Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV) i Universitat Rovira i Virgili (URV)

Jo (nom i cognoms)

- ✓ He llegit el full d'informació de la qual se m'ha entregat una còpia. He rebut informació sobre les característiques de l'estudi, comprenc els riscos i beneficis que comporta, que la meua participació és voluntària i que em puc retirar o demanar que retirin les meves dades i/o mostres sempre que vulgui, sense haver de donar explicacions i sense que repercuteixi en les meves cures mèdiques.

SI ☐ NO ☐

- ✓ Comprend la meua participació d'acord al full d'informació.

SI ☐ NO ☐

- ✓ He pogut fer preguntes sobre l'estudi.

SI ☐ NO ☐

- ✓ Dono lliurement la meua conformitat per participar a l'estudi.

SI ☐ NO ☐

- ✓ Dono el meu consentiment per l'accés i utilització de les meves dades en les condicions detallades al full.

SI ☐ NO ☐

- ✓ [En el cas d'estudis que impliquin la utilització de mostres biològiques]

- ✓ Un cop finalitzada la investigació, és possible que hi hagi mostra sobrant. En relació a aquestes, s'ofereixen les següents opcions:

A. La **destrucció** de la mostra sobrant ☐

B. La seva **utilització en futurs projectes** d'investigació biomèdica relacionats amb el mateix tema ☐

	Nom i Cognoms	Data	Signatura
Pacient			
Representant legal			
Relació amb el pacient:			
Informa			

Figura S2. Consentiment informat

QÜESTIONARI PESTICIDE

Codi participant:

Dades personals

Edat:

Sexe:

Pes (*kg*):

Alçada (*cm*):

Fuma? Sí ☐ No ☐

Número de cigarretes que fuma al dia:

Fa exercici habitualment? Sí ☐ No ☐

- Si la resposta és Sí, indiqui quants dies a la setmana i quantes hores li ha dedicat
 - ✓ Setmana anterior a l'estudi:
 - ✓ Durant l'estudi:

Qüestions relacionades amb els hàbits alimentaris

Menja habitualment aliments ecològic? Sí ☐ No ☐

Si la resposta és Sí, indiqui quin tipus d'aliments ecològics menja:

- Fruita ☐
- Verdura ☐
- Hortalisses ☐
- Ous ☐
- Carn ☐
- Llet ☐
- Derivats làctics (ex: formatge o iogurts) ☐
- Cereals ☐
- Pasta ☐
- Café, te o infusions ☐
- Altres (especifiqui quins):

Ha consumit algun aliment d'agricultura convencional fora de la planificació dietètica? En cas afirmatiu indiqui de quin aliment es tracta i la quantitat (g) aproximada.

Figura S3. Qüestionari

Referències

1. Kim KH, Kabir E, Jahan SA. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Sci Total Environ*. 2017 Jan 1;575:525-535.
2. de Albuquerque NCP, Carrão DB, Habenschus MD, de Oliveira ARM. Metabolism studies of chiral pesticides: A critical review. *J Pharm Biomed Anal*. 2018 Jan 5;147:89-109.
3. Tudi M, Daniel Ruan H, Wang L, Lyu J, Sadler R, Connell D, Chu C, Phung DT. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Jan 27;18(3):1112
4. Sánchez-Santed F, Colomina MT, Herrero Hernández E. Organophosphate pesticide exposure and neurodegeneration. *Cortex*. 2016 Jan;74:417-26.
5. Damalas CA, Eleftherohorinos IG. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *Int J Environ Res Public Health*. 2011 May;8(5):1402-19. doi: 10.3390/ijerph8051402. Epub 2011 May 6.
6. Weiss B, Amler S, Amler RW. 2. Pesticides. *Pediatrics*. 2004 Apr;113(4 Suppl):1030-6. PMID: 15060196.
7. James R. Roberts, Catherine J. Karr, COUNCIL ON ENVIRONMENTAL HEALTH *Pediatrics* Dec 2012, 130 (6) e1765-e1788.
8. Council On Environmental Health. Pesticide exposure in children. *Pediatrics*. 2012 Dec;130(6):e1757-63. doi: 10.1542/peds.2012-2757. Epub 2012 Nov 26.
9. Pascale A, Laborde A. Impact of pesticide exposure in childhood. *Rev Environ Health*. 2020 Sep 25;35(3):221-227.
10. Leong WH, Teh SY, Hossain MM, Nadarajaw T, Zabidi-Hussin Z, Chin SY, Lai KS, Lim SE. Application, monitoring and adverse effects in pesticide use: The importance of reinforcement of Good Agricultural Practices (GAPs). *J Environ Manage*. 2020 Apr 15;260:109987.
11. Alavanja MC, Hoppin JA, Kamel F. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annu Rev Public Health*. 2004;25:155-97.
12. REGLAMENTO (UE) 2018/848 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 30 de mayo de 2018 sobre producción ecológica y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CE) n.º 834/2007 del Consejo
13. Mie, A., Andersen, H.R., Gunnarsson, S. et al. Human health implications of organic food and organic agriculture: a comprehensive review. *Environ Health*. 16, 111 (2017).

14. Oates L, Cohen M, Braun L, Schembri A, Taskova R. Reduction in urinary organophosphate pesticide metabolites in adults after a week-long organic diet. *Environ Res.* 2014 Jul;132:105-11.
15. Hyland C, Bradman A, Gerona R, Patton S, Zakharevich I, Gunier RB, Klein K. Organic diet intervention significantly reduces urinary pesticide levels in U.S. children and adults. *Environ Res.* 2019 Apr;171:568-575.
16. Curl CL, Beresford SA, Fenske RA, Fitzpatrick AL, Lu C, Nettleton JA, Kaufman JD. 2015. Estimating pesticide exposure from dietary intake and organic food choices: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Environ Health Perspect* 123:475–483.
17. Bradman A, Quirós-Alcalá L, Castorina R, Aguilar Schall R, Camacho J, Holland NT, Barr DB, Eskenazi B. Effect of Organic Diet Intervention on Pesticide Exposures in Young Children Living in Low-Income Urban and Agricultural Communities. *Environ Health Perspect.* 2015 Oct;123(10):1086-93. doi: 10.1289/ehp.1408660. Epub 2015 Apr 10.
18. Vigar V, Myers S, Oliver C, Arellano J, Robinson S, Leifert C. A Systematic Review of Organic Versus Conventional Food Consumption: Is There a Measurable Benefit on Human Health? *Nutrients.* 2019 Dec 18;12(1):7.
19. Bravo, R., Calabiano, L., Weerasekera, G. *et al.* Measurement of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in human urine using lyophilization with gas chromatography-tandem mass spectrometry and isotope dilution quantification. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 14, 249–259 (2004).
20. Hardt J, Angerer J. Determination of Dialkyl Phosphates in Human Urine using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology.* Nov-Dec 2000;24(8):678-84.