



**UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACIÓN INTERNACIONAL – COSTA RICA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD Y EDUCACIÓN  
MAESTRIA EN GERENCIA DE PROGRAMAS SANITARIOS EN INOCUIDAD DE  
ALIMENTOS  
MIA 13**

**“PROPUESTA DE UN MANUAL DE REFERENCIA PARA LA EJECUCIÓN DE  
ENSAYOS CONDUCENTES AL ESTABLECIMIENTO DE LÍMITES MÁXIMOS  
DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS QUÍMICOS DE USO AGRÍCOLA EN  
COLOMBIA”**

**HUGO ANDRÉS RODRÍGUEZ FAJARDO**

**PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MASTER EN GERENCIA DE  
PROGRAMAS SANITARIOS EN INOCUIDAD DE ALIMENTOS**

**OCTUBRE DE 2015**

## **HOJA DE APROBACIÓN**

UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACIÓN INTERNACIONAL

Este Proyecto Final de Graduación fue aprobado por la Universidad como requisito parcial para optar al grado de Máster en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos

---

Dr. Félix Modesto Cañet Prades (Ph.D)  
TUTOR

---

M.I.A. José Gabriel Solís Rodríguez  
LECTOR

---

Hugo Andrés Rodríguez Fajardo  
SUSTENTANTE

## **DEDICATORIA**

Dedico este proyecto de grado a mi hija y a mi esposa, ellas son mi motivación para continuar estudiando.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco inicialmente a Dios por su orientación en el desempeño de mi maestría y agradezco a las personas que me apoyaron de diversas formas para sacar adelante este proyecto, mi esposa, mi madre y mis amigos.

Extiendo el agradecimiento a las personas del Instituto Colombiano Agropecuario que han aportado su experiencia y conocimiento durante el desarrollo de este trabajo.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ASTM	American Society for Testing Materials
BPA	Buenas Prácticas Agrícolas
BPL	Buenas Prácticas de Laboratorio
CAC	Codex Alimentarius Commission
CAN	Comunidad Andina de Naciones
CCPR	Codex Committee of Pesticide Residues
DANE	Departamento Administrativo Nacional de Estadística
DRA	Dosis de Referencia Aguda
EPA	Environmental Protection Agency
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	U.S. Food and Drug Administration
GPS	Global Positioning System
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IDA	Ingesta Diaria Admisible
JMPR	Joint FAO/WHO Meetings on Pesticide Residues
LMR	Límites Máximos de Residuos
LOD	Límite de detección o determinación
LOQ	Límite de cuantificación
NOEL	Non Effect Level
OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
OMC	Organización Mundial del Comercio
OMS	Organización Mundial de la Salud
OTC	Acuerdo sobre Obstáculos Técnicos al Comercio
POE	Procedimiento Operativo Estandarizado
RASFF	Rapid Alert System for Food and Feed
UAC	Unidad de Aseguramiento de la Calidad
UE	Unión Europea

## TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	iii
TABLA DE CONTENIDO .....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
ÍNDICE DE TABLAS .....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	ix
RESUMEN .....	x
ABSTRACT .....	xii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. OBJETIVO GENERAL .....	5
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. ANTECEDENTES.....	6
2.2. MARCO NORMATIVO.....	11
2.2.1. Legislación nacional .....	11
2.2.2. Legislación internacional .....	11
➤ Unión Europea.....	12
➤ Estados Unidos.....	12
➤ Japón .....	13
2.2.3. Acuerdos internacionales multilaterales .....	13
➤ OTC .....	14
➤ MSF .....	14
2.2.4. Aplicación de BPL a ensayos de campo .....	15
2.2.5. Residuo de plaguicida .....	18
2.2.6. Diseño de los ensayos de campo.....	18
3. METODOLOGÍA .....	20

4. DESARROLLO DEL TRABAJO .....	22
4.1. GENERALIDADES.....	22
4.1.1. Organización del personal.....	23
4.1.2. Unidad de aseguramiento de la calidad (UAC) .....	25
4.1.3. Documentación.....	26
➤ Generalidades .....	26
➤ Sobre el protocolo.....	27
➤ Sobre los POEs .....	28
4.2. ENSAYOS DE CAMPO.....	30
4.2.1. Criterios para seleccionar las fincas del estudio.....	30
4.2.2. Variables del diseño de los ensayos de campo.....	31
4.2.3. Condiciones de los emplazamientos de campo .....	35
4.2.4. Muestreo .....	36
➤ Consideraciones para el muestreo .....	40
4.2.5. Libros de campo .....	44
4.3. ANÁLISIS DE LABORATORIO .....	47
4.3.1. Planificación .....	48
➤ Instalaciones y condiciones ambientales.....	48
➤ Equipos.....	50
➤ Personal.....	53
➤ Sustancias de referencia .....	54
➤ Método analítico .....	54
➤ Documentación.....	58
4.3.2. Actividades específicas del estudio .....	59
➤ Recepción de las muestras.....	59
➤ Preparación .....	60
➤ Almacenamiento .....	61
➤ Procesamiento.....	62
➤ Análisis .....	63

➤ Ejemplo de aplicación .....	66
4.4. REQUISITOS DOCUMENTALES DEL CÓDEX ALIMENTARIO .....	69
4.4.1. Presentación de datos al Códex.....	71
➤ Presentación del dossier a la JMPR .....	72
5. CONCLUSIONES .....	74
6. RECOMENDACIONES .....	75
7. BIBLIOGRAFÍA .....	76
8. ANEXOS .....	81

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura organizacional de un estudio de campo. ....	24
Figura 2. Esquema general de disposición de los ensayos. ....	36
Figura 3. Diagrama de la parcela tratada. ....	38
Figura 4. Ejemplo de emplazamiento de campo. ....	39
Figura 5. Ejemplo de muestreo en campo. ....	43
Figura 6. Ejemplo de un mapa descriptivo de un ensayo de campo en la finca....	44
Figura 7. Esquema general de una carta de control. ....	50
Figura 8. Secuencia de análisis de laboratorio.....	55
Figura 9. Ejemplo de preparación de una muestra de aguacate.....	61
Figura 10. Ejemplo del proceso de molienda de una muestra de aguacate.....	62
Figura 11. Etapas del análisis de residuos de plaguicidas. ....	63
Figura 12. Ejemplo de un análisis de residuos para el establecimiento de LMR...	65
Figura 13. Efecto de la matriz sobre la respuesta cromatográfica. ....	67

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ejemplo de un diseño de ensayos de campo.....	34
Tabla 2. Tamaño de muestra de frutas. ....	37
Tabla 3. Ejemplo del registro de una cadena de custodia.....	43
Tabla 4. Porcentajes de recuperación.....	68

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Acta (charter) del proyecto final de graduación (PFG) .....	81
Anexo 2. Responsabilidades del personal .....	86
Anexo 3. Lista de POES .....	94

## RESUMEN

Colombia exporta frutas y hortalizas principalmente a países europeos y a Estados Unidos. Entre los criterios de compra de estos países consumidores se encuentra la inocuidad de los alimentos, criterio que aplica a través de la imposición del cumplimiento de los Límites Máximos de Residuos (LMR), lo que determina que los productos alimenticios entren o no a esos países. Estos LMR son definidos por cada país, sin embargo, en armonía con los requisitos definidos en los diferentes acuerdos multilaterales internacionales suscritos por los países del mundo, se han adoptado los establecidos por el Códex alimentario. Muchos de los alimentos producidos en los países latinoamericanos, no cuentan con LMR en el Códex pues se carece de los estudios conducentes a estos criterios técnicos.

Con este panorama es necesario el desarrollo de estudios que conlleven a la generación de la información que pueda ser presentada ante la comisión conjunta de residuos de plaguicidas (JMPR) de la FAO y la OMS, que corresponde al comité consultivo del Códex alimentario para este tema. Los ensayos de campo y los análisis de laboratorio que se necesitan para el desarrollo de estos estudios deben seguir los parámetros de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

En Colombia estos estudios son relativamente nuevos, por lo que se necesita una guía que oriente su desarrollo adecuadamente y que reúna los requisitos del Códex y la experiencia que asegura la confiabilidad de la información.

El presente trabajo tiene como objetivo la elaboración de un manual de referencia que reúna información necesaria para el desarrollo de ensayos de campo y de análisis de laboratorio, que permitan la recopilación de los datos requeridos para su presentación ante la JMPR, empleando como estrategia la revisión de documentos, normativas y experiencias.

Para el desarrollo de los ensayos de campo y los análisis de laboratorio, el documento relaciona información clave sobre la organización del personal y sus responsabilidades. De igual manera el documento proporciona los lineamientos y el listado completo de los procedimientos operativos estandarizados (POE) y del protocolo que se necesitan para unificar las actividades y los registros que permiten evidenciar la ejecución de las tareas y mantener la rastreabilidad de la información.

En lo que respecta a los ensayos de campo, se logra identificar los lineamientos específicos sobre el número de ensayos necesarios y las variables a considerar, así como las características de las parcelas de experimentación, de tal manera que los ensayos sean representativos de la situación real en campo. Adicionalmente se rescatan los criterios para seleccionar las fincas experimentales y se da un ejemplo del diseño de un estudio que emplea seis ensayos en el cultivo de aguacate. AL final de esta etapa se dan las pautas para la ejecución de un

buen muestreo y para la recolección y el manejo adecuado de la información en los libros de campo.

Sobre los análisis de laboratorio se advierte que la competencia técnica es el pilar fundamental que garantiza la confiabilidad, por tal motivo se sugiere la implementación de un modelo de gestión con reconocimiento internacional, como lo es la norma ISO 17025.

La experiencia documentada en este trabajo resalta que para una correcta realización de los análisis, un laboratorio competente debe contar con las unas instalaciones y unas condiciones ambientales que eviten la contaminación cruzada de los analitos objeto del estudio, ya que estos son analizados al nivel de trazas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

En el texto se pueden encontrar lineamientos claros sobre las condiciones necesarias para el aseguramiento de la calidad de los análisis a través de la exposición de los componentes más críticos de un laboratorio: equipos debidamente mantenidos y calibrados, personal calificado y competente, uso de sustancias de referencia trazables y aplicación de métodos analíticos debidamente estandarizados y validados.

En cuanto a las actividades propias para la ejecución de estudios de establecimiento de LMR, el documento relaciona detalladamente las actividades específicas y los puntos de control que deben asegurarse: la recepción, el almacenamiento adecuado, la preparación y el procesamiento en condiciones que se garantice la estabilidad y la integridad de las muestras y la repetibilidad de los análisis, para garantizar la correcta identificación y cuantificación de los analitos buscados, es decir, el plaguicida de interés y sus metabolitos de interés para la generación de un LMR.

Por último este trabajo resume los requisitos documentales generales del Códex alimentario y de la JMPR, para la presentación de la información, de tal manera que se cumplan sus requisitos y formalidades.

Al final del trabajo se logra concluir que es posible reunir en un solo documento guía, una serie de información técnica que se encuentra diseminada en muchos textos densos, la cual se debe tener en cuenta para la ejecución de estudios de establecimiento de límites máximos de residuos a partir de ensayos de campo supervisados. El despliegue del documento muestra el rigor técnico-científico de los estudios basados en la aplicación de las Buenas Prácticas de Laboratorio, evidenciado en la cantidad y rigurosidad de los componentes que se deben contemplar para la correcta realización de los ensayos de campo y los análisis de laboratorio.

## **ABSTRACT**

Colombia exports fruit and vegetables mainly to European countries and the United States of America. Food safety is one of the buying criteria for consumers in these countries, this criteria applied through the imposition of compliance with the Maximum Residue Limits (MRLs), which determines that foodstuffs entering or not these countries. The MRLs are defined by each country; however, in harmony with the multilateral international agreements requirements signed by the countries of the world, they have adopted MRLs established by the Codex Alimentarius. Many of the foods produced in Latin American countries, do not have a Codex MRLs, because studies leading to these technical criteria are lacking.

It is necessary develop studies that lead to the generation of information that can be presented to the FAO/OMS joint committee of pesticide residues (JMPR), which corresponds to Codex food advisory committee for this issue. Field trials and laboratory tests needed for the development of these studies should follow the parameters of the Good Laboratory Practices (GLP).

In Colombia these studies are relatively new, so it is necessary a document to guide its proper development and meets the requirements of Codex and experience that ensures the reliability of the information.

This document aims at developing a reference manual to gather information necessary for the development of field trials and laboratory tests that allow the collection of data required for submission to the JMPR, using as strategy review documents, regulations and experiences.

For the development of field trials and laboratory tests, the document lists key information on the organization of staff and responsibilities. Similarly, the document provides the guidelines and the full list of standard operating procedures (SOPs) and protocol needed to unify the activities and records show that allow the execution of tasks and maintain traceability of information.

With regard to field trials, it is achieved identifying specific guidelines on the number of tests needed and variables to consider as well as the characteristics of the experimental plots, so that the trials are representative of the actual situation field. In addition the criteria for selecting the experimental farms and an example of study design using six trials in the cultivation of avocado is given. At the end of this stage are given guidelines for the implementation of a good sampling and for collection and proper handling of information in the field books.

About laboratory analysis the technical competence is the pillar that ensures reliability, for this reason the implementation of a management model is suggested with international recognition, such as the ISO 17025 standard.

The experience documented in this paper highlights that for a successful completion of the analysis, a competent laboratory must have the facilities and

environmental conditions which prevent cross contamination of the analytes, as these are analyzed to trace levels ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

In the text you can find clear guidelines on quality assurance conditions of the analysis through the exhibition of the most critical components of a laboratory conditions: properly maintained equipment and calibrated, qualified and competent personnel, substance use reference traceable and properly implementing standardized and validated analytical methods.

About the activities to carry out studies for the establishment of MRLs, the document lists in detail the specific activities and checkpoints: the reception, proper storage, preparation and processing conditions meeting which ensure stability and sample integrity and analysis repeatability, to ensure proper identification and quantification of target analytes, so, the pesticide of interest and its metabolites of interest for the generation of LMR.

Finally, this paper summarizes the general documentary requirements of Codex and JMPR for the presentation of information, meeting all their requirements and formalities.

At the end of the work is accomplished conclude that it is possible to bring together in one document guide, a series of technical information that is scattered in many dense texts, which should be taken into account for the execution of studies for the establishment of maximum residue limits from supervised field trials. The deployment of the document shows the technical and scientific rigor of the studies based on the application of Good Laboratory Practices, as evidenced by the number and severity of the components to look for the successful completion of field trials and laboratory analysis.

## 1. INTRODUCCIÓN

Colombia es un país exportador de productos agrícolas, principalmente frutas y hortalizas. Según cifras de la asociación hortofrutícola – Asohfrucol, en 2014 las exportaciones colombianas de frutas cerraron en US\$ 204,8 millones y 193 402 toneladas (Frutas, 2015). Dentro de las líneas productivas más destacadas en las ventas al exterior se encuentran: plátano, bananito bocadillo, demás frutos preparados, banano, naranja y uchuva (Frutas, 2015).

Según Procolombia (2015), Colombia exportó en el año 2014, más de US\$ 180 millones de banano a diferentes países del mundo, cerca de US\$ 21 millones de otras frutas y alrededor de US\$ 5 millones de legumbres y hortalizas frescas.

Los principales países destino de la producción tipo exportación de frutas y hortalizas colombianas, están liderados por Estados Unidos, a pesar de que su demanda ha fluctuado, hay un aumento representativo del 5% durante los dos últimos años. Seguidamente están: Reino Unido, Bélgica, y Países Bajos (Frutas, 2015).

Según el Departamento Nacional de Estadística (DANE) de Colombia, las cifras de exportación de frutas muestran que, como ejemplo, en 2014 se exportaron más de 1 millón de toneladas netas de banano colombiano, 88 700 toneladas netas de plátano y casi 5000 toneladas netas de otras frutas y partes comestibles de plantas (DANE, 2015).

DANE (2015) reporta que Estados Unidos importó en 2014, frutas colombianas por valor de US\$ 159 millones, Alemania US\$ 54 millones, Holanda US\$ 36 millones, Japón US\$ 1,3 millones y Bélgica US\$ 127,5 millones.

Dado el interés del consumidor actual por cuidar su salud, se ha incrementado el consumo mundial de productos inocuos, nutritivos y naturales, como las frutas y los vegetales, tal como lo recomiendan las guías y políticas alimentarias de varios países como Colombia (Gobierno, 2012) y Costa Rica (Presidencia, 2010).

Los alimentos listos para consumir tienen hoy día mayor demanda en los mercados internacionales. Las frutas son productos que se adaptan a esta tendencia (Procolombia s.f.).

Entre los criterios de compra de los consumidores están el precio, la responsabilidad social y medioambiental en el proceso de producción del producto, así como el aporte a la salud y al bienestar del comprador (Procolombia s.f.).

En la dinámica de la comercialización, los países industrializados han impuesto una serie de obstáculos técnicos al comercio de estos productos, los que tienen como objetivo la protección de la salud humana, animal y vegetal durante el comercio internacional, y que en el caso de productos agrícolas quedan manifiestos en la imposición del cumplimiento de los Límites Máximos de Residuos (LMR), lo que determina que los productos alimenticios entren o no a esos países, como medida preventiva para el aseguramiento de la inocuidad de los alimentos que se consumen (OMC, 2012a).

Para ello los gobiernos se han puesto a tono con la reglamentación que induzca a la introducción en sus mercados de productos que cumplan altos estándares de calidad. Por ejemplo, la Unión Europea ha armonizado requisitos en materia de inocuidad de alimentos, como el reglamento 178 de 2002: General Food Law (Ley General de Alimentos), el reglamento 543 de 2011 que define el estándar de calidad justa para la comercialización, el reglamento 1107 de 2009 del Parlamento Europeo que define las sustancias que están permitidas en materia fitosanitaria para el ingreso de productos agrícolas y el reglamento 396 de 2005 del Parlamento Europeo y del Consejo, que establece las normas aplicables a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal (Procolombia s.f.).

Los LMR son definidos por cada país, sin embargo, en armonía con los requisitos definidos en los diferentes acuerdos multilaterales internacionales suscritos por los

diferentes países del mundo, éstos han adoptado los LMR establecidos por el Códex alimentario. Colombia ha definido por decreto el uso de los LMR del Códex, hasta que pueda establecer los propios (Minsalud, 1991).

Muchos de los productos agrícolas, principalmente frutas y hortalizas, producidas en los países latinoamericanos, no cuentan con LMR en el Códex pues se carece de los estudios conducentes a estos criterios técnicos (FAO/OMS s.f.a.). Ante esta deficiencia de información, varios países optaron en algunas ocasiones por una estrategia de tolerancia cero, que es un criterio muy estricto, o un valor de tolerancia muy bajo (0,01 mg/kg), lo que impedía en ocasiones la entrada de los productos agrícolas en mercados de alto consumo.

La aplicación del principio de tolerancia cero o de valores de tolerancia muy bajos fue re-evaluado, incluso el Comité de Códex sobre Residuos de Plaguicidas (CCPR, por su sigla en inglés) desde hace muchos años ha señalado que el concepto de "tolerancia cero" debería definirse con respecto al límite de detectabilidad empleando un método de análisis adecuado (FAO/OMS, 1969).

Con este criterio se han venido desarrollando métodos que emplean técnicas analíticas cada vez más sensibles y específicas, pasando de la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC, por su sigla en inglés) y la Cromatografía de Gases, acopladas a detectores de ultravioleta/visible (UV/VIS) y captura de electrones (ECD, por su sigla en inglés) respectivamente, a novedosas técnicas cromatográficas acopladas a detectores de espectrometría de masas en tándem (MS/MS), muy sensibles y versátiles, que permiten detectar e identificar moléculas a niveles de concentración del orden de ng/kg o partes por trillón (ppt).

Esta clase de equipos son muy costosos. En Colombia un equipo HPLC-MS/MS cuesta alrededor de US\$ 400 000, a lo que se debe sumar la inversión de las instalaciones para mantener este tipo de equipos y los gastos de reactivos y materiales de referencia de alta pureza.

En un país como Colombia, la capacidad para contar con esta clase de equipamiento es posible principalmente para entidades del Estado que justifiquen la inversión, más aún cuando son equipos que permiten ejecutar las actividades de inspección, vigilancia y control del estatus sanitario y fitosanitario del país y de las condiciones de inocuidad alimentaria.

Con este panorama cabe resaltar que ante la carencia de los LMR de frutas y hortalizas exóticas propias de los países latinoamericanos, es necesario el desarrollo de estudios que conlleven a la generación de la información que pueda ser presentada ante la comisión conjunta de residuos de plaguicidas (JMPR por su sigla en inglés) de la organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura (FAO por su sigla en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), que corresponde al comité consultivo del Códex alimentario para el establecimiento de límites máximos de residuos.

Los ensayos de campo y los análisis de laboratorio que se necesitan para el desarrollo de los estudios tendientes a la presentación de la información ante la JMPR, deben seguir unos parámetros establecidos en referentes internacionales tales como las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) (FAO/OMS, 2015a).

Dado que este tipo de estudios son relativamente nuevos en muchos países latinoamericanos y especialmente en Colombia, es necesario contar con una guía que permita desarrollar los estudios nacionales de manera adecuada, con miras a que la información que se presente al Códex alimentario cumpla una serie de requisitos establecidos por esta organización para su estudio y sea técnicamente confiable y representativa.

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Elaborar un manual de referencia que sirva como guía, para la ejecución de ensayos conducentes al establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas químicos de uso agrícola en Colombia.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Diseñar un modelo de ensayos de campo que cumpla los requerimientos de las buenas prácticas de laboratorio, para obtener muestras representativas de productos agrícolas.
- Documentar los lineamientos técnicos aplicables sobre los métodos de análisis de muestras en el laboratorio, con el fin de aportar algunos parámetros técnicos que son críticos para la validez de los ensayos de establecimiento de LMR.
- Hacer un compendio de requisitos técnicos definidos por el Códex alimentario para el establecimiento de LMR, para relacionar la información recolectada con los requerimientos de esta normativa internacional.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

La exportación de frutas y hortalizas de Colombia ha crecido significativamente en los últimos años. Por ejemplo, las estadísticas del año 2000 sobre las importaciones de la UE, revelaron que el segundo producto de importación para la UE desde la Comunidad Andina (CAN) - Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú, fueron las frutas y hortalizas (12,4% del total) superado solamente por el petróleo. En el 2007 la UE importó de Colombia cerca del 5,3% del total de frutas y hortalizas consumidas, muy cerca de las cantidades importadas de productores tradicionales como Sudáfrica (5,7%) y Brasil (6,2%) (Martínez, citado por España, 2013).

Sin embargo, tradicionalmente los exportadores latinoamericanos de frutas y hortalizas a Estados Unidos, se han tenido que enfrentar a la detención de sus cargamentos en ese país, debido a la detección por parte de la FDA de residuos de plaguicidas en sus productos. Según Muñoz (2001), entre 1984 y 1994, a Colombia se le hicieron 79 detenciones de cargamentos de frutas y verduras, por valor de US\$ 200 000, a Costa Rica 102 detenciones por valor de US\$ 411 000 en ese mismo período de tiempo y a México, país altamente exportador, 7492 detenciones costeadas en US\$ 54 589 000 dólares.

Igual ha sucedido en vía contraria. Según un diario de Nicaragua, en el año 2014, tres cargamentos de melocotón y uno de nectarina fueron destruidos en Costa Rica por la presencia de residuos del fungicida propiconazol que sobrepasaban el límite máximo (El nuevo diario 2014).

El panorama en Europa no es más halagador. Según el informe anual de residuos de plaguicidas en alimentos de la Unión Europea para el año 2013, en ese año los alimentos importados por los países de este bloque económico superaron los límites máximos de residuos en un 5,7%, frente a los alimentos producidos

internamente en los países europeos, que superaron los límites en un 2,6% apenas (AECOSAN, s.f.).

Para el año 2014, el reporte anual del sistema de alerta rápida para alimentos y piensos de Europa (RASFF, por su sigla en inglés), muestra que se levantaron 3157 notificaciones por presencia de contaminantes en alimentos, de las cuales, 620 se dieron en frutas y vegetales, en donde 435 se debieron a la presencia de residuos de plaguicidas (European, 2015).

En Estados Unidos la situación es similar, según Buzby et al. (2008), en 2004 se rechazaron 1057 embarques de frutas y productos a base de ellas, y 2566 embarques de vegetales y productos vegetales.

La OMC señala que la aplicación de los LMR tiene un efecto negativo sobre las importaciones. Otsuki et al., citados por OMC (2012b), destacan que la aplicación de las normas más estrictas de la Comisión Europea, redujo las exportaciones africanas de cereales, frutos secos y nueces a Europa en 670 millones de dólares americanos. Wilson y Otsuki, citados por OMC (2012b) encontraron un efecto similar con los LMR de clorpirifos en las exportaciones de bananos de América Latina, Asia y África a los países de la OCDE.

Según Barbosa<sup>1</sup> (2015), la importancia de los límites máximos de residuos reside en su finalidad como criterio técnico que determina la entrada de los productos agrícolas, y en general los alimentos, a los mercados internacionales. De igual manera Barbosa expresa que la aplicación de los LMR constituye un importante criterio de cumplimiento y seguridad en materia de inocuidad de alimentos para consumo interno de los países.

Es importante señalar que actualmente los productos agrícolas tales como las frutas y hortalizas autóctonas y exóticas provenientes de los países tropicales, no cuentan con LMRs científicamente establecidos, igualmente se carece de LMRs

---

<sup>1</sup> Barbosa, E. 2015. Desarrollo de estudios de campo para establecimiento de límites máximos de residuos (entrevista). Bogotá, CO, Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

para moléculas plaguicidas nuevas, lo que se evidencia al revisar las listas de LMRs de referentes internacionales como el Código alimentario ((FAO/OMS s.f.a.).

El uso creciente de los plaguicidas en la agricultura mundial preocupó a los gobiernos de los países industrializados por su creciente problemática en la salud y en el ambiente, por esta razón, en 1959, la FAO convino un panel de expertos, el cual debía considerar los problemas que estaban conectados al uso de los plaguicidas. Este panel recomendó la realización de estudios sobre los crecientes peligros de los residuos de plaguicidas en los alimentos, sobre la necesidad de preparar un código de datos toxicológicos de estos productos y sobre la necesidad de datos que determinaran factores de seguridad en el uso de los plaguicidas (FAO, 2009).

En el caso de los estudios de residuos de plaguicidas, éstos se hicieron principalmente en los productos agrícolas de mayor demanda del mercado, los que no incluían en esa época (años 50s y 60s), las frutas y hortalizas de los países tropicales, cuya demanda era muy baja.

Estos esfuerzos pudieron ser, muy probablemente, los inicios del listado de límites máximos de residuos de plaguicidas que encontramos actualmente en el Código alimentario.

Recientemente, debido a la problemática de los plaguicidas por su evidente toxicidad y residualidad, las empresas han optado por desarrollar nuevas moléculas clasificadas con una menor toxicidad aparente, las cuales han tenido mucho auge en el mercado de agroquímicos.

Adicionalmente se encuentra la situación de los cultivos menores, cultivos con baja área de siembra o para los que no existe una oferta suficiente de agroquímicos para el control de plagas y enfermedades. En esta categoría entran algunas frutas, hierbas y hortalizas tropicales, de poca demanda o de poca oferta que no eran de interés para las exportaciones de los países productores ni para los países importadores de alimentos. Esta situación ha venido cambiando desde

hace más de una década y esos alimentos considerados menores han tomado gran auge comercial en todo el mundo, situación que ha fijado el interés de la protección en términos de la inocuidad y la seguridad alimentaria (Wauchope, 2010).

Wauchope (2010) también señala que en la actualidad los cultivos menores están recibiendo mucha atención internacional. Igualmente destaca que la falta de opciones de protección de los cultivos y la negligencia regulatoria provoca dificultades para los productores, así como que estos problemas son una fuente de conflictos comerciales continuos.

Ante las situaciones expuestas, las comunidades que se mueven en el comercio internacional de alimentos han visto que la información del Códex no es suficiente, faltan los datos de LMR de muchos de los cultivos menores de auge comercial, por tanto se ha visto la necesidad de realizar nuevos estudios para la generación de la información toxicológica o de evaluación agronómica, concerniente a los límites máximos de residuos, de tal manera que el Códex se nutra con nuevos valores de LMR, generados de una manera más participativa por los países del mundo entero, adelantados con bases científicas y estudios de investigación muy serios, para que se produzca una información confiable y realmente representativa.

Cabe señalar que el LMR es un estándar para verificar que el plaguicida está siendo utilizado de acuerdo a la etiqueta autorizada del producto, siguiendo unas buenas prácticas agrícolas. Aunque los residuos resultantes del uso del plaguicida deben ser seguros para el consumidor, el LMR no es un estándar de seguridad. Es un concepto legal más que toxicológico (Castro, 2015).

Para la determinación de este límite se siguen dos vías: una toxicológica y otra agronómica. En la primera, lo que se pretende es que la ingesta diaria del residuo considerada, no provoque efectos nocivos. Para ello se determina el "nivel sin efecto" (NOEL, non effect level, por su sigla en inglés) en animales en

experimentación, que luego se extrapola al hombre, aplicando coeficientes de seguridad y expresándose como "ingesta diaria admisible" (IDA) y posteriormente, teniendo en cuenta la dieta alimentaria media del país considerado y los alimentos que pueden ser tratados con ese plaguicida, se le aplica un coeficiente o factor alimentario y se obtiene una cifra que representa el nivel permisible de residuos de un plaguicida en un producto vegetal desde el punto de vista toxicológico (Castro, 2015).

Una vez establecido el máximo nivel toxicológico, que nunca puede superarse, hay que tener en cuenta los residuos que realmente quedan del plaguicida en el momento de la recolección, cuando se utiliza de manera adecuada y segura, siguiendo buenas prácticas agrícolas. Esto se determina por medio de ensayos de campo y, como consecuencia de ello, se obtiene un residuo real en cosecha, que se espera sea inferior al nivel toxicológicamente permisible (Castro, 2015).

El Códex alimentario determina que los LMR obtenidos por la JMPR, deben basarse en estimaciones hechas después de la evaluación toxicológica del plaguicida y su residuo y el examen de datos de residuos obtenidos a partir de ensayos y usos supervisados, ajustados a las prácticas agrícolas nacionales de los países (FAO/OMS, s.fb.).

Según FAO/OMS (s.fb.), el examen de las diversas estimaciones y determinaciones, tanto de ámbito nacional como internacional, de los niveles de ingestión de residuos a través de la alimentación, teniendo en cuenta los niveles de ingesta diaria admisible (IDA), debería indicar que los alimentos que se ajustan a los LMR del Códex son inocuos para el consumo humano.

Los valores de LMR obtenidos por evaluación toxicológica son comparados con los determinados por evaluación agronómica a partir de ensayos de campo supervisados. El valor de LMR más bajo obtenido por estos dos métodos, corresponde al límite máximo de residuos considerable como legalmente permitido, ya que expresa un factor de seguridad mayor (Castro, 2015).

## **2.2. MARCO NORMATIVO**

### **2.2.1. Legislación nacional**

A nivel de Colombia el Decreto 1843 de 1991 del Ministerio de Salud, por el cual se reglamentó la Ley 09 de 1979, en lo relacionado con el uso y manejo de plaguicidas en el país, definió todo el capítulo XII para los temas de los desechos y los residuos de plaguicidas. Específicamente en el artículo 157 determina que: *“Mientras el Ministerio de Salud, con la colaboración del Consejo Asesor Nacional, establece los valores máximos permisibles en el ambiente para cada plaguicida, se utilizarán los indicados por la OMS, Comité Mixto FAO/OMS u otros organismos”*. Complementariamente el artículo 160 señala que *“Mientras se establecen oficialmente límites máximos para residuos de plaguicidas, se utilizarán los indicados en el Códex alimentario”* (Minsalud, 1991). Este fue uno de los primeros avances en el tema del establecimiento de LMR en Colombia, al reconocer los valores del Códex.

De eso hace ya 24 años, razón por la cual el Ministerio de la Protección Social (actual Ministerio de Salud de Colombia) en el año 2007, emitió conjuntamente con el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, la Resolución 2906 de ese año, por la cual se establecen los Límites Máximos de Residuos de Plaguicidas – LMR en alimentos para consumo humano y en piensos o forrajes (Minsalud, 2007).

En esta Resolución se despliega un listado de valores de LMR de varios plaguicidas en varios tipos de alimentos y piensos.

En el artículo 5, se aclara que dichos valores de LMR se actualizarán anualmente de acuerdo con lo establecido en el Códex Alimentario.

### **2.2.2. Legislación internacional**

La legislación internacional que circunda el tema de los límites máximos de residuos es aplicable bajo el principio de inocuidad alimentaria, orientada a la producción y el consumo de alimentos sanos que no contengan sustancias que

puedan afectar la salud de los consumidores (OMC, 2005). En el caso de los plaguicidas, el enfoque es un poco distinto, dado que el uso de este tipo de productos se requiere para proteger los cultivos de plagas que diezman la cantidad de alimentos, su uso es necesario para garantizar suficientes alimentos para una demanda creciente. Ante esto, la presencia de residuos de plaguicidas se enfoca al cumplimiento de niveles de seguridad, determinados por el cumplimiento de límites máximos legalmente establecidos, que permitan garantizar alimentos inocuos al margen de los esquemas productivos.

#### ➤ **Unión Europea**

Para el tema de los límites máximos de residuos de plaguicidas, en la UE se aplica el Reglamento 396 del año 2005, que fija las cantidades máximas autorizadas de residuos de plaguicidas que pueden encontrarse en los productos de origen animal o vegetal destinados al consumo humano o animal en los países europeos que hacen parte de la UE. Dichos LMR comprenden, por una parte, unos límites específicos para ciertos alimentos destinados a las personas o los animales y, por otra, un límite general aplicable cuando no se haya fijado ningún LMR. Este límite por defecto es de 0,01 mg/kg (UE, 2005).

En algunos casos, los LMR específicos que figuran en el anexo II del Reglamento, son superiores al límite por defecto.

#### ➤ **Estados Unidos**

La agencia de protección ambiental (EPA, por su sigla en inglés – Environmental Protection Agency), es la entidad gubernamental encargada de la regulación del uso y control de los plaguicidas en ese país. Una de sus funciones es fijar los límites de la cantidad de plaguicidas que pueden permanecer dentro o sobre los alimentos comercializados al interior del país. Estos límites son nombrados “tolerancias”, pero equivalen a los LMR que se manejan en Europa, Colombia y el resto de Latinoamérica.

En agosto de 1996 se enmendó la Ley federal de alimentos, drogas y cosméticos, con fines de incluir la Ley de protección a la calidad de los alimentos (FQPA por su sigla en inglés). Esta ley requirió que la EPA volviera a evaluar, para agosto del 2006, todas las tolerancias de plaguicidas que estaban vigentes a principios de agosto de 1996, para asegurar que cumplieran con nuevos estándares actuales de seguridad basados en evaluación de riesgos y contaran con el respaldo de datos científicos actualizados (EPA, s.f.).

➤ **Japón**

Aunque Japón no es el mayor destino de las frutas y hortalizas colombianas, algunos productos agrícolas son exportados a ese país en pequeños volúmenes.

El gobierno del Japón emitió en 1947 la Ley de Sanidad Alimentaria. Recientemente, en mayo de 2006, el gobierno japonés, modificó esa Ley estableciendo nuevos límites máximos de residuos químicos, que deberán cumplir los alimentos que sean para consumo humano de origen vegetal o animal.

En esta nueva reforma a la Ley se definió el “Sistema de Lista Positiva”, que establece una lista con 758 sustancias químicas, y su correspondiente LMR por alimento. A las sustancias que no figuran en la lista se les determinó por defecto un LMR de 0,01 ppm (JETRO, s.f.).

### **2.2.3. Acuerdos internacionales multilaterales**

En el contexto internacional, los países que hacen parte de la Organización Mundial del Comercio, como es el caso de Colombia, están obligados a cumplir los acuerdos internacionales multilaterales suscritos, cuya aplicación se somete a la legislación del derecho internacional que reglamenta el comercio internacional. Algunos de los acuerdos suscritos que hacen alusión al tema del cumplimiento de los límites máximos de residuos son:

➤ **OTC**

El Acuerdo sobre obstáculos técnicos al comercio (OTC) tiene por objeto el que los reglamentos técnicos, las normas y los procedimientos comerciales de los países miembros de la OMC, no sean discriminatorios ni creen obstáculos innecesarios al comercio.

En su artículo segundo refiere la elaboración, adopción y aplicación de reglamentos técnicos por instituciones del gobierno central para el comercio de productos.

El numeral 2.1 expresa el ánimo del Acuerdo de brindar garantía de equidad comercial a los productos importados y de origen nacional, lo cual tiene relación directa con el establecimiento de límites máximos de residuos para productos agrícolas y alimentos, como se ha hecho en la UE (reglamento 396 de 2005) y en Estados Unidos (ley FQPA de 2006).

En esta misma dirección el Acuerdo OTC en su numeral 2.4 determina que cuando existan normas internacionales, como el Códex alimentario, los reglamentos técnicos utilizarán esas normas internacionales (OTC, s.f.).

El inconveniente radica en que la norma internacional del Códex no contiene los LMR suficientes para todas las moléculas plaguicidas y para todos los productos agrícolas comercializados actualmente en el mundo, como son varias de las frutas y hortalizas producidas en Latinoamérica.

➤ **MSF**

El Acuerdo sobre la aplicación de medidas sanitarias y fitosanitarias (MSF) tiene como objetivo fundamental reafirmar el derecho soberano de todo gobierno a garantizar el nivel de protección sanitaria que estime apropiado y evitar al mismo tiempo un mal uso de ese derecho, con fines proteccionistas, que se traduzca en la imposición de obstáculos innecesarios al comercio internacional.

Los miembros de la OMC tienen derecho a adoptar las medidas sanitarias y fitosanitarias necesarias para proteger la salud y la vida de las personas y de los animales o para preservar los vegetales. Las medidas sanitarias y fitosanitarias no se aplicarán de manera que constituyan una restricción encubierta del comercio internacional (OMC, 2005).

El artículo tercero es fundamental pues declara que los países basarán sus medidas sanitarias o fitosanitarias en normas, directrices o recomendaciones internacionales, cuando existan. Se considera que las medidas tomadas conformes con normas, directrices o recomendaciones internacionales, son necesarias para proteger la salud y la vida de las personas y de los animales o para preservar los vegetales.

Por otra parte establece que los países miembros podrán mantener medidas que representen un nivel de protección más elevado que el que se lograría mediante la aplicación de normas, directrices o recomendaciones internacionales pertinentes, si existe una justificación científica o si ello es consecuencia de un nivel de protección más adecuado.

Nuevamente se pone de manifiesto que las normas internacionales, como el Códex alimentario, no contiene los LMR suficientes para todas las moléculas plaguicidas y para todos los productos agrícolas comercializados actualmente en el mundo.

#### **2.2.4. Aplicación de BPL a ensayos de campo**

Las BPL son un sistema de garantía de calidad relativo al modo de organización de estudios de investigación no clínicos, de salud y medio- ambientales. Este sistema establece las condiciones para la planificación, ejecución, control, registro, archivo y difusión de este tipo de estudios (OCDE, 1999).

Los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) han sido desarrollados para promover la calidad y la validez de los datos originados en

ensayos de investigación para determinar la seguridad de productos químicos, con un enfoque de prevención de riesgos. Estos principios están enmarcados en un concepto de gestión que cubre los procesos organizativos y las condiciones bajo las cuales los estudios de laboratorio son planeados, ejecutados, monitoreados, registrados y reportados (OCDE, 1999). Es posible aplicarlos en diferentes tipos de estudios de investigación en diversos ámbitos (OCDE, 1999).

En 1981, el informe del grupo de expertos que elaboró los Principios de BPL precisó explícitamente que los principios deberían aplicarse a diversos tipos de estudios, entre los que se cuentan los estudios ecotoxicológicos destinados a evaluar los efectos de las sustancias químicas sobre el medio ambiente (a corto y largo plazos) y los estudios ecológicos destinados a evaluar la trayectoria medioambiental de los productos químicos (transporte, biodegradación, y bioacumulación) (OCDE, 1999).

OCDE (1999) especifica que la clasificación general de los estudios ecológicos incluye las pruebas destinadas a determinar la identidad y magnitud de los residuos de plaguicidas y metabolitos, con el fin de definir su tolerancia y otros aspectos relacionados con la exposición a los mismos en la alimentación.

Los ensayos supervisados de campo para el establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas, aplican los principios generales de las Buenas Prácticas de Laboratorio en su concepto más amplio, el cual no se limita a ser simplemente un compendio de reglas de buen desempeño en un laboratorio de análisis (OCDE, 1999).

Para desplegar estas temáticas la OCDE realiza reuniones especiales para promover el consenso de la comunidad científica en torno a temas de interés. En el marco del segundo taller sobre Buenas Prácticas de Laboratorio de la OCDE, realizado en el año de 1991 en Estados Unidos, los expertos deliberaron y llegaron a un consenso relativo a la aplicación de los principios de BPL a los estudios de campo (OCDE, 1999).

En esta reunión se consiguió llegar a un acuerdo sobre la gestión de los estudios de campo por lo que respecta a la conformidad con los Principios de BPL, interpretando conceptos tales como: estudio, sitio de pruebas, Director del estudio, responsabilidades de la dirección y aseguramiento de la calidad, entre otros, para su aplicación en este contexto específico. El documento de consenso imparte orientaciones para la interpretación de los principios de BPL pertinentes en relación con los estudios de campo.

De acuerdo con la OCDE, la expresión "estudios de seguridad no clínicos relativos a la salud y el medio ambiente" en la definición de Buenas Prácticas de Laboratorio se entiende que incluye los estudios de campo. Un estudio de campo es un estudio que comprende actividades experimentales realizadas fuera de las situaciones habituales de laboratorio, tales como en parcelas de terreno, lagunas exteriores o invernaderos, por lo general en combinación o en secuencia con actividades llevadas a cabo en un laboratorio de análisis (OCDE, 1999).

Los ensayos de campo supervisados se desarrollan para determinar niveles de residuos de plaguicidas en cultivos agrícolas de interés. Su diseño debe reflejar los patrones de uso de los plaguicidas en estudio, que conlleven a los más altos residuos posibles (FAO, 2009).

Las buenas prácticas agrícolas (BPA) nacionales, en materia de plaguicidas, se refieren a los usos inocuos autorizados a nivel nacional de estas sustancias bajo condiciones reales necesarias para el control eficiente de las plagas. Los residuos derivados de ensayos a campo supervisados solo pueden utilizarse para estimar los límites máximos de residuos si las condiciones del ensayo pueden coincidir con la BPA nacional máxima/crítica o cualquier BPA dentro de la región del país. Los ensayos realizados en condiciones de protección (invernaderos) pueden coincidir con cualquier BPA existente (Dutra, s.f.).

### **2.2.5. Residuo de plaguicida**

En el glosario de términos del Códex alimentario, residuo de plaguicida significa cualquier sustancia especificada presente en alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales como consecuencia del uso de un plaguicida. El término incluye cualquier derivado de un plaguicida, tales como productos de conversión, metabolitos, productos de reacción o las impurezas que se considera que tienen una importancia toxicológica (FAO/OMS, s.fb).

De igual manera, la definición de límite máximo de un residuo (LMR), se entiende como la concentración máxima (mg/kg) de un residuo que es legalmente permitido o reconocido como aceptable en, o sobre, un alimento, producto agrícola o alimento animal (FAO/OMS, s.fb.).

### **2.2.6. Diseño de los ensayos de campo**

La cantidad mínima de ensayos para la estimación de límites máximos de residuos depende esencialmente de la importancia del producto básico en términos de producción, comercio y consumo dietético. En el caso de los principales cultivos, como cereales, papa, manzana y uva, en general entre 6 y 10 ensayos son representativos. En el caso de los cultivos menores como las frutas tropicales, se necesita un mínimo de 3 ensayos (Dutra, s.f.). Según directivas de la FAO, el número de ensayos va generalmente entre 6 y 10. Depende de la variabilidad de las condiciones de uso, la consiguiente dispersión de los datos de residuos, y la importancia de los productos agrícolas o cultivos estudiados, en términos de producción, comercio y dieta de consumo (FAO, 2009).

Recientemente el Códex publicó en su página web un documento de información sobre la aplicación de la orientación para facilitar el establecimiento de LMR de plaguicidas para cultivos menores (FAO/OMS, 2015b). En él se da una orientación sobre el número de ensayos necesarios para los estudios supervisados en campo, con base en un criterio de nivel de consumo. Este lineamiento persigue ayudar a

los países miembros del Códex a identificar cultivos menores y facilitar la presentación de datos a la JMPR (FAO/OMS, 2015b).

En el documento se define que a partir de los niveles de consumo (% del consumo diario/cápita total) se derivan 3 categorías:

- Categoría 1 - Ningún dato en FAOSTAT y ningún dato en los grupos de SIMUVIMA/Alimentos: se consideraría caso por caso.
- Categoría 2 - <0,5% en todo el mundo y < 0,5% en todos los grupos: mínimo de 4 ensayos.
- Categoría 3 - <0,5% en todo el mundo y > 0,5% en uno o varios grupos: mínimo de 5 ensayos.

Los ensayos de campo deben llevarse a cabo en las regiones donde los cultivos tienen volumen comercial y en donde se empleen diversas técnicas de mantenimiento de los cultivos y de prácticas agrícolas, por ejemplo, técnicas de poda, sistemas de riego diferentes, embolsado del fruto, como en el caso del banano; especialmente aquellos que puedan afectar significativamente la posibilidad de presencia de residuos. Igualmente si existen diversidad de suelos para el mismo cultivo (FAO, 2009).

### 3. METODOLOGÍA

Este proyecto de graduación consta de tres secciones fundamentales:

- Diseño de un modelo de ensayos de campo que cumpla los requerimientos de las BPL.
- Descripción de los lineamientos técnicos aplicables a los métodos de análisis de muestras en el laboratorio.
- Elaboración de un compendio de requisitos técnicos definidos por el Códex alimentario para el establecimiento de LMR.

Las tres secciones están relacionadas respectivamente con los objetivos específicos de este trabajo.

El documento es desarrollado empleando como estrategia la revisión de documentos, normativas y experiencias que contextualizan los mecanismos para:

- La aplicación de los principios de las buenas prácticas de laboratorio a los estudios de campo.
- La ejecución de análisis para la determinación de residuos de plaguicidas, en laboratorios que tienen implementados modelos de gestión de calidad basados en las buenas prácticas de laboratorio y la norma ISO/IEC 17025 de competencia técnica para ensayos.
- La presentación y evaluación de datos de residuos de plaguicidas para la estimación de límites máximos de residuos en alimentos.

El propósito del trabajo es reunir información veraz y pertinente, que sirva de guía para efectuar estudios de establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas, lo cual es novedoso en Colombia en razón a que este tipo de estudios no ha sido desarrollado por organizaciones ni entidades relacionadas con el tema, advirtiéndose la falta de experiencia en la materia.

Fundamentado en lo anterior es pertinente señalar que la metodología del presente trabajo se basa en reunir información disponible en la bibliografía

reseñada al final del documento, determinar los puntos más importantes que permitan la correcta ejecución de estudios supervisados de campo y análisis de laboratorio, que conlleven a la obtención de información representativa y confiable.

El trabajo se redondea con la aplicación aproximada de estos aspectos relevantes, en un ejemplo real para el establecimiento de límites máximos de residuos de un plaguicida comercial registrado en Colombia, tanto en la fase de estudio de campo como en el análisis de muestras en el laboratorio, por lo cual se presentan datos de análisis de laboratorio reales.

Finalmente se relacionan los requisitos y requerimientos teóricos determinados por el Códex alimentario para la presentación de la información ante el ente internacional competente.

La información del desarrollo del trabajo corresponde a la presentación de aspectos fundamentales y suficientes que sirven de guía para llevar a cabo estudios de establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas, por eso su escritura se encuentra en forma propositiva.

Es importante aclarar que el trabajo se basa en la recopilación de información referida en la bibliografía y en el aporte del autor con base en su experiencia profesional en este tipo de estudios.

## 4. DESARROLLO DEL TRABAJO

### 4.1. GENERALIDADES

Para el desarrollo de un estudio de establecimiento de límites máximos de residuos se deben considerar algunos aspectos generales y conceptos que enmarcan todo el trabajo:

Cada estudio se entiende en BPL como una “instalación de pruebas”, que para ensayos de campo supervisados, está compuesta por varios “emplazamientos de pruebas”, ubicados en una o más localidades geográficas.

Lo anterior indica que para el desarrollo de estudios supervisados de campo empleando BPL como modelo de gestión, se deben tener en cuenta los siguientes emplazamientos:

- Las fincas o invernaderos en donde se adelantarán los ensayos.
- El o los laboratorios de análisis de las muestras tomadas en las fincas.
- Lugar en donde se ubica el Director de estudio.
- Instalación en donde se ubica el archivo general del estudio.

Adicionalmente pueden existir otros emplazamientos como son:

- Instalaciones temporales o permanentes para hacer un pre-tratamiento de las muestras antes de llevarlas al laboratorio. Pueden estar fuera de las fincas o dentro si se asegura que no haya riesgo de contaminación cruzada con el plaguicida en estudio. Generalmente en estas instalaciones se prepara la muestra (corte, pelado, extracción de jugo, embalaje), antes de su envío al laboratorio de análisis.
- Laboratorios de investigación en donde se caracteriza el plaguicida bajo estudio, que se trabajará en dos formas principales:
  - Sustancia de prueba, que corresponde a la formulación del plaguicida usada en el campo.

- Sustancias de referencia, constituidas por los estándares de alta pureza del plaguicida en estudio y de sus metabolitos de interés.

En estos laboratorios se realiza la determinación de la identidad, pureza, concentración, estabilidad, volatilidad, etc.

Es importante marcar que un estudio o instalación de pruebas incluye a las personas, los lugares y los equipos necesarios para el estudio. Esto difiere del emplazamiento de pruebas. Estos dos conceptos deben mantenerse claramente identificados durante todo el desarrollo de los estudios.

Según lo anterior es primordial destacar que el objetivo principal de una prueba de campo es cuantificar el rango esperado de residuos en un cultivo después de la aplicación del producto plaguicida de acuerdo con la buena práctica agrícola establecida para el cultivo.

Los LMR se derivan en gran parte de los datos de residuos obtenidos en ensayos supervisados, diseñados para determinar la naturaleza y el nivel de los residuos resultante del uso registrado o aprobado del plaguicida.

#### **4.1.1. Organización del personal**

Un estudio o instalación de pruebas debe tener una organización específica de los roles involucrados. En la figura 1 se muestra la estructura organizacional de este tipo de estudios.



Fuente: Autor

**Figura 1. Estructura organizacional de un estudio de campo.**

Cabe señalar sobre la figura que los roles de los investigadores de campo y de laboratorio, corresponden a los ejecutores principales del estudio, cuyas actividades son coordinadas por un Director de estudio, con el apoyo del Inspector de calidad.

Los roles de los investigadores de campo y laboratorio los pueden desempeñar varias personas. Por ejemplo, con el investigador de laboratorio trabajarán para el estudio, los analistas y los auxiliares de laboratorio.

Para cada rol participante en el estudio es necesario definir sus responsabilidades dentro del mismo. Las responsabilidades generales del personal se pueden extraer de las Buenas Prácticas de Laboratorio, sin embargo, en el anexo 2 se relacionan las más importantes. Los puntos más importantes en que hace énfasis la presente guía son los siguientes:

- Las responsabilidades de todos los roles deben estar documentadas en un procedimiento operativo estandarizado (POE) revisado y aprobado.

- El POE de responsabilidades debe darse a conocer a todas las personas participantes en el estudio.
- Las responsabilidades deben ser claras, precisas y concisas.
- Se debe dejar registro de la divulgación del POE.

#### **4.1.2. Unidad de aseguramiento de la calidad (UAC)**

Para el desarrollo de un estudio de campo para el establecimiento de límites máximos de residuos se debe contar con una Unidad de aseguramiento de la calidad, conformada por una o más personas, nombradas por la Organización del estudio, con la responsabilidad asignada y la experiencia en las actividades objeto del mismo.

La razón fundamental de la conformación de esta Unidad es la necesidad de verificar para asegurar, desde una óptica independiente de las fases operativas del estudio, que éste se lleva a cabo de conformidad con los Principios de las BPL.

Las personas que hacen parte de la Unidad de aseguramiento de la calidad, no pueden participar en la ejecución del estudio, deben ser independientes.

Funciones principales de la UAC:

- Revisar y aprobar toda la documentación generada en el estudio, como son los POEs, el protocolo, los libros de campo, los datos crudos y cálculos y los informes.
- Ejecutar actividades de inspección y auditoría a las diferentes etapas del estudio y a las instalaciones de los ensayos de campo y del laboratorio.
- Informar cualquier desviación encontrada, que ponga en riesgo el estudio o en incumplimiento de las BPL.

### 4.1.3. Documentación

En el estudio se maneja una serie de documentos que corresponden a los lineamientos para su ejecución y a los soportes, evidencias y resultados de la misma.

El protocolo es el documento principal que señala los lineamientos de cada estudio.

Las actividades de ejecución se establecen en los procedimientos operativos estandarizados (POE), que describen la manera de hacer las cosas.

Las evidencias y los soportes de ejecución de las actividades se mantienen en los registros, llevados en libros de campo y en formatos.

Los documentos que se deben mantener en los estudios de LMR son:

- El protocolo general del estudio.
- Los Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs).
- Los formatos.
- Los libros de campo.
- Los registros.
- Los informes de inspecciones de la UAC.
- Los informes de avance.
- El informe final del estudio.

#### ➤ **Generalidades**

- Los datos generados durante la realización del estudio deberán ser registrados inmediatamente, de forma directa, exacta y legible.
- Los registros deben llevarse en tinta indeleble. La información manuscrita preferiblemente en tinta de color azul, para diferenciar claramente los registros originales.

- Mantener un registro de firmas e iniciales de todas las personas del estudio, incluyendo las fechas de inicio y finalización.
- Identificar todos los documentos con el nombre del estudio.
- Las páginas o secciones que queden en blanco deben “cerrarse” mediante el trazo de una línea diagonal, para evitar que sean usadas en el ingreso de nueva información.

➤ ***Sobre el protocolo***

- El protocolo es el documento que describe los objetivos y el diseño experimental a realizar en el estudio.
- Debe estar aprobado antes de iniciar las actividades propias del estudio.
- Debe estar aprobado, firmado y fechado por el Director del estudio.
- La UAC debe verificar que cumpla las BPL.
- Debe estar disponible y darse a conocer a todo el personal del estudio.
- Debe permitir la reconstrucción del estudio.
- Su información debe permitir su uso como un estándar de comparación para evaluar el desarrollo del estudio.
- Debe tener identificación única, paginado y de distribución controlada.
- Contenido:
  - Título y propósito del estudio (justificación y objetivos).
  - Nombre y dirección del Patrocinador.
  - Nombre y dirección del Director de estudio.
  - Fechas propuestas de inicio y finalización.
  - Nombres de los emplazamientos de prueba (fincas, laboratorios, oficinas).
  - Identificación y manejo de las sustancias de prueba y de referencia.
  - Nombre y dirección del laboratorio.
  - Descripción del diseño experimental de campo.
  - Vía de administración de la sustancia de prueba en el campo.

- Cada nivel de dosis para la sustancia de prueba.
- Tratamiento del cultivo durante el estudio y post-cosecha.
- Descripción de la recolección de muestras.
- Identificación de las muestras.
- Manejo del inventario de muestras.
- Manejo y envío de las muestras.
- Manejo de la documentación de campo y de laboratorio.
- Informe y almacenamiento histórico de los registros del estudio.
- Relación del personal del estudio.
- Descripción del procesamiento y análisis de las muestras en el laboratorio.
- Referencia del método analítico de laboratorio.
- Métodos estadísticos empleados.
- Almacenamiento y disposición de muestras.
- Modificaciones al protocolo.
- Manejo del archivo.
- Descripción del informe final.
- Espacios de elaboración, revisión y aprobación del protocolo.
- Si es necesario hacer modificaciones al protocolo, denominadas enmiendas, deben documentarse, justificarse y firmarse por el Director del estudio. Deben ser fechadas y mantenerse junto a los datos del estudio.

➤ **Sobre los POEs**

- Para cada actividad del estudio, debe haber una descripción escrita de la forma en la cual ésta se realiza. Los POEs son instructivos que al seguirlos permiten llevar a cabo las actividades, por tanto se deben documentar POEs para las principales etapas del estudio y para las actividades transversales: POEs de campo, de laboratorio, generales del estudio y de la Unidad de Aseguramiento de la Calidad.

- Deben estar disponibles permanentemente para el personal que ejecuta las actividades.
- Deben presentar suficientes detalles para que el personal pueda seguir las instrucciones y recopilar buenos datos.
- Los POEs no deben ser muy específicos o demasiado detallados, ya que esto puede dar pie a la generación frecuente de desviaciones a los documentos. Su aplicación debe estar acompañada de un entrenamiento previo.
- Los POEs son documentos dinámicos que deben ser revisados con regularidad. Pueden ser actualizados para satisfacer las necesidades operacionales.
- Los cambios en los POEs deben estar autorizados por el Director de estudio.

En el anexo 3 se presenta una lista de los POEs más importantes de este tipo de estudios.

## 4.2. ENSAYOS DE CAMPO

### 4.2.1. Criterios para seleccionar las fincas del estudio

Los criterios de selección varían dependiendo de diferentes aspectos. Presento los requisitos necesarios para que el estudio sea representativo.

Cada finca debe cumplir los siguientes requisitos:

- El cultivo de interés debe estar bien establecido, si es perenne.
- El área de la finca debe ser lo suficientemente grande para evitar contaminación cruzada producto de las aplicaciones del plaguicida del estudio. El área depende del cultivo en cuestión (distancia entre surcos, tamaño de las plantas o árboles).

En cada finca se requiere contar con dos parcelas como mínimo, separadas entre sí por la mayor distancia posible, para evitar una posible contaminación cruzada. Lo mejor es que se encuentren en extremos opuestos de la finca.

- Debe aplicar Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y preferiblemente debe estar certificada.
- Se debe asegurar que en la finca y en las fincas que la rodean, no se haya aplicado nunca el plaguicida objeto del estudio o uno de la misma familia química. Para esto es recomendable contar con análisis de laboratorio de determinación de residuos del plaguicida de interés, en el suelo, en las plantas y en el agua, si hay fuentes cercanas o producto de escorrentía superficial desde otras fincas.
- Una vez muestreados los productos agrícolas cosechados en el estudio para su envío al laboratorio, el tiempo hasta la congelación de las muestras en el laboratorio no puede ser superior a 12 horas, por lo tanto, el acceso de la finca al medio de envío de las muestras al laboratorio (aeropuerto, puerto, envío terrestre, etc.) debe ser muy fácil y rápido.
- Contar con seguridad para evitar daño o pérdida de las plantas y de los frutos objeto de estudio.

- Tener un área cerrada y separada para el almacenamiento del plaguicida y aparte de las herramientas de manejo del cultivo.

Por otra parte:

- La distancia mínima entre finca y finca debe ser de treinta (30) kilómetros.
- Se debe asegurar que para el estudio, cada finca tenga personas que garanticen la disponibilidad del cultivo y de recursos de mantenimiento del mismo, como son agua de riego, podas, control de plagas, etc. Si es el caso, la organización del estudio puede hacer convenios o contratos de servidumbre para asegurar estos servicios.
- Se debe asegurar el acceso permanente del investigador de campo, del director del estudio y eventualmente del inspector de la UAC, a las parcelas del estudio en cada finca.

#### **4.2.2. Variables del diseño de los ensayos de campo**

Una vez seleccionadas las fincas, se debe establecer el diseño experimental, teniendo en cuenta las variables a analizar en el estudio.

Estas variables deben cubrir varias posibilidades del cultivo en relación con la presencia de residuos del plaguicida objeto de estudio. Las variables a considerar dependen en gran medida de las características del cultivo.

Los criterios de selección de variables dependen de las prácticas agrícolas que se empleen en el país del estudio y en sus regiones particulares, por otra parte se deben tener en cuenta las características propias del cultivo.

No obstante, un criterio muy importante que debe imperar en el estudio, es el seguimiento de las recomendaciones agrícolas informadas en la etiqueta del producto. Si el estudio se lleva a cabo con un producto no registrado, se deben seguir las recomendaciones de un ingeniero agrónomo competente, que para el caso de este tipo de estudios, puede tratarse del investigador de campo.

Es muy importante resaltar que los estudios de establecimiento de límites máximos de residuos deben reflejar las condiciones habituales y reales de manejo del cultivo de interés.

Para efectos de la presente guía, en relación con su aplicación en estudios llevados a cabo en el territorio colombiano, es importante aclarar que un producto plaguicida se puede emplear en campo, en el país, una vez el productor y el producto, cuenten con el respectivo registro emitido por la autoridad nacional correspondiente, es decir, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) (Minsalud, 1991).

Para estudios de experimentación con plaguicidas, solo se pueden emplear una vez se cuente con un permiso especial del Ministerio de Salud (Minsalud, 1991). No obstante, Colombia, al hacer parte de la Comunidad Andina de Naciones (CAN), está obligada a cumplir la decisión 436 de 1998, la cual indica que los permisos especiales de experimentación otorgados por la autoridad nacional competente se podrán expedir para realizar pruebas experimentales de eficacia, o en caso de emergencias fitosanitarias (CAN, 1998).

Adicionalmente, se deben seguir en todo momento las especificaciones de uso y las recomendaciones agronómicas, definidas en el registro del producto plaguicida y publicadas en la etiqueta del mismo, los cuales incluyen información sobre las características generales del producto, la forma y mecanismo de acción, los cultivos y las plagas en los cuales se ha registrado su empleo, las dosis recomendadas, el momento oportuno para la aplicación, el intervalo entre la última aplicación y la cosecha (período de carencia) e información referida a la compatibilidad, fitotoxicidad y volúmenes de mezclas recomendados.

Lo anterior indica que para estudios de establecimiento de límites máximos de residuos en Colombia, se deben emplear productos registrados en el país, lo que favorece el diseño de los estudios de campo, ya que se cuenta con la información precisa sobre los factores agronómicos asociados al uso del plaguicida en estudio.

Ejemplos de variables para el estudio:

- Diferentes variedades del producto agrícola.
- Diferentes sistemas de aplicación del plaguicida (bomba estacionaria, bomba a motor, bomba nebulizadora, fumigación aérea, etc.).
- Diferentes pisos térmicos (si el cultivo lo permite).
- Diferentes formulaciones del mismo plaguicida, si las hay disponibles en el mercado (líquidas – líquido soluble, concentrado emulsionable, sólidas – polvo de espolvoreo, polvo mojable, polvo soluble, etc.)
- Diferentes dosis de aplicación del plaguicida, incluso dosis exageradas (si el producto formulado lo permite).
- Diferentes tipos de aplicación (foliar dirigido, foliar generalizado, en el riego).
- Diferentes tamaños de la gota de aspersión en la aplicación (ultra bajo volumen, fina, media, gruesa y muy gruesa).
- Uso de diferentes tipos de adyuvantes.
- Diferentes aplicadores.
- Diferentes sistemas de irrigación (goteo elevado, surco, aspersión, goteo superficial o enterrado, riego).
- Diferentes estadios fenológicos de las plantas.

Un ejemplo del diseño de un estudio con seis ensayos para el establecimiento de límites máximos de residuos del insecticida Spinetoram en aguacate en Colombia se muestra en la tabla 1.

Para efectos del ejemplo destaco las razones para elegir la molécula del insecticida Spinetoram. Este insecticida se seleccionó por ser un plaguicida desarrollado por su casa matriz en tiempos recientes, lo cual indica que existen menos LMR en el Códex, además, muy importante, este plaguicida está registrado en el Instituto Colombiano Agropecuario para uso en aguacate -registrado como Exalt 60 SC (Dow, s.f.).

**Tabla 1. Ejemplo de un diseño de ensayos de campo.**

		REGIONES					
		ANTIOQUIA		CAUCA		RISARALDA	
Identificación del ensayo		1	2	3	4	5	6
VARIABLES	Finca	1	2	3	4	5	6
	Variedad de aguacate	Hass	Reed	Hass	Hass	Hass	Papelillo
	Coadyuvantes	Sin coadyuvante	Coadyuvante	Sin coadyudante	Sin coadyudante	Coadyuvante	Coadyuvante
	Equipo de aplicación	Bomba estacionaria	Bomba nebulizadora	Bomba de espalda a motor	Bomba de espalda a motor	Bomba estacionaria	Bomba nebulizadora
	Diferentes aplicadores	Aplicador 1	Aplicador 2	Aplicador 3	Aplicador 4	Aplicador 5	Aplicador 2
	Volumen de aspersión	200	250	200	300	250	300

Fuente: Barbosa<sup>2</sup> (2015).

En esta tabla se observa la selección de variables aplicables en seis diferentes fincas de tres regiones productoras de aguacate en Colombia<sup>3</sup>. Se incluyó la selección de tres variedades diferentes de aguacate (hass, reed y papelillo), altamente comercializadas en el interior y en el exterior del país. Otra variable fue el uso de coadyuvante que ayuda a mejorar la efectividad o eficiencia de la aplicación del plaguicida. Por otra parte se empleó como variable del estudio el equipo de aplicación (bomba estacionaria, bomba nebulizadora y bomba de espalda a motor), con el fin de evaluar diferentes medios de aplicación convencionalmente utilizados en el manejo de cultivos en Colombia, como el caso del aguacate. Otra variable fue el cambio de aplicadores, que influye ampliamente sobre la disponibilidad de producto plaguicida aplicado sobre las plantas, y

<sup>2</sup> Barbosa, E. 2015. Desarrollo de estudios de campo para establecimiento de límites máximos de residuos (entrevista). Bogotá, CO, Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

<sup>3</sup> Barbosa, E. 2015. Desarrollo de estudios de campo para establecimiento de límites máximos de residuos (entrevista). Bogotá, CO, Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

finalmente el volumen de aspersión, como variable del estudio, determinado a partir de la dosificación recomendada por el productor del plaguicida que se encuentra establecida entre 200 y 300 cc/ha (Dow, s.f.).

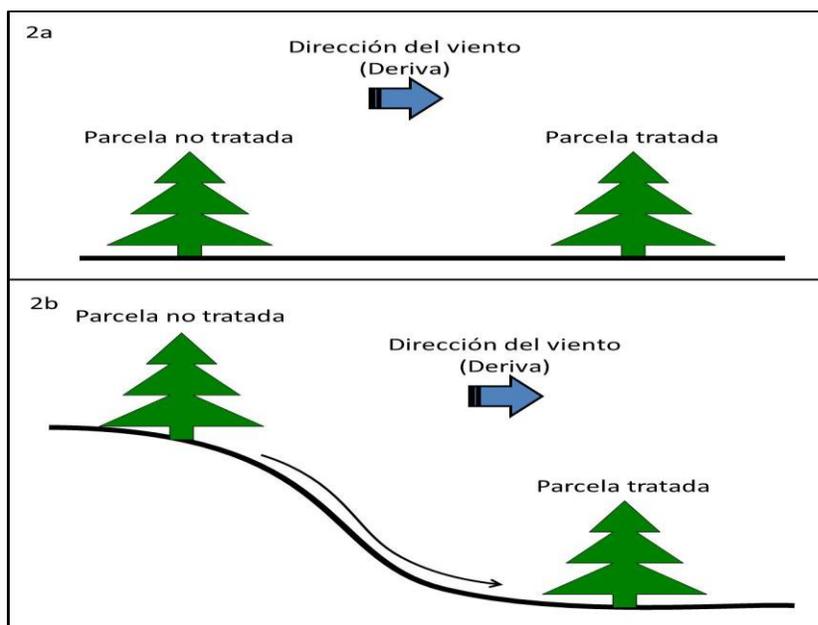
Un factor muy importante para el diseño de los ensayos de campo en relación con la logística del cronograma es el manejo del tiempo de aplicación y el de la cosecha. Este aspecto está determinado por el período de carencia definido para el producto formulado registrado. Este período de carencia corresponde al factor de seguridad en días que debe transcurrir entre la última aplicación y la cosecha, para garantizar que el fruto es seguro para su consumo. En el caso del ejemplo de la tabla 1, el producto Exalt 60 SC tiene un período de carencia de 1 día en Colombia (Dow, s.f.).

#### **4.2.3. Condiciones de los emplazamientos de campo**

Como se mencionó anteriormente, en cada finca se debe contar con dos parcelas mínimo, una de ellas debe servir como parcela testigo, a la cual no se le hará aplicación del producto en estudio. Las otras parcelas recibirán las aplicaciones correspondientes del producto plaguicida, según la dosificación de producto y el diseño establecido.

La ubicación de los ensayos depende de las condiciones de pendiente de las fincas y de las condiciones climáticas para la aplicación del plaguicida. En la figura 2 se muestran dos esquemas principales.

La figura 2a muestra un esquema general de la disposición de los ensayos en terreno plano. La figura 2b muestra el esquema cuando la finca está ubicada en una pendiente. Esta disposición es importante ya que el plaguicida puede ser lavado por la lluvia después de una aplicación, y el agua puede transportar el plaguicida de una parcela a la otra por el suelo.



Fuente: Autor

**Figura 2. Esquema general de disposición de los ensayos.**

#### 4.2.4. Muestreo

Las muestras deben ser representativas para permitir que el resultado analítico pueda ser extrapolado a toda la población muestreada en cada parcela.

Se considera que cuanto mayor es el número de plantas muestreadas en una parcela, la muestra es más representativa. Sin embargo, el factor económico y los problemas prácticos y logísticos de envío involucrados en el manejo de grandes muestras, afectan la magnitud del muestreo.

El tamaño de la muestra sugerido por FAO (2009) es el mínimo necesario que corresponda a una muestra representativa y válida, de tal manera que se pueda extrapolar a toda la población objeto del muestreo. Algunas entidades regulatorias, tales como la EPA (1996) o la FAO (2009), definen los tamaños de las muestras necesarias para los estudios supervisados de campo para el establecimiento de LMR. Ambas referencias se basan en la normativa establecida por el Códex

Alimentario, por lo tanto sirven como documentos consultivos para fines prácticos de esta guía.

En la tabla 2 se muestra un fragmento de la información concerniente al tamaño de las muestras para estudios supervisados de campo, orientados al establecimiento de LMR.

**Tabla 2. Tamaño de muestra de frutas.**

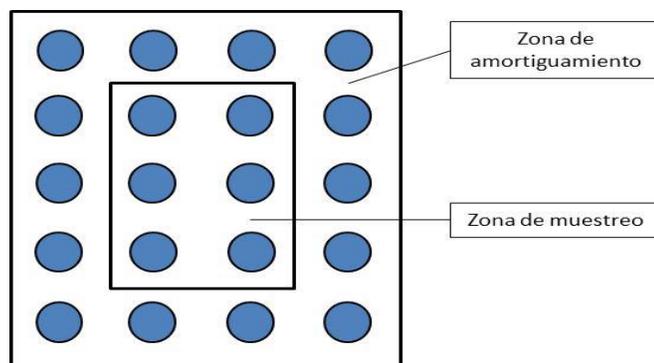
Grupo de frutas	No. de código Códex	Tamaño de la muestra
Pequeñas frutas con semilla (ej.: cereza)	Grupo 003	1 kg de diferentes lugares en 4 árboles.
Cítricos (ej.: naranja, limón, mandarina)	Grupo 001	12 frutos de diferentes lugares en 4 árboles. Si esta cantidad corresponde a un peso <2 kg, se debe completar con más frutos hasta alcanzar un peso $\geq$ 2 kg.
Frutas con semilla pequeña (ej.: manzana, pera, membrillo, níspero)	Grupo 002	
Frutas con semilla grande (ej.: durazno, albaricoque, nectarina, melocotón, ciruela)	Grupo 003	
Frutas misceláneas (ej.: aguacate, guayaba, mango, papaya, granadilla, kiwi)	Grupo 006	
Uvas	FB 0269	

Grosellas, frambuesas y otras bayas pequeñas	Grupo 004	1 kg de 12 arbustos separados.
Piñas	FI 0353	12 frutos.
Banano	FI 0327	24 frutos de cuatro racimos cosechables.

Fuente: FAO, 2009.

En esta tabla se aprecia como el tamaño de la muestra se expresa de dos formas diferentes, ya sea en número de frutos o en peso total, dependiendo del tamaño de los mismos. La misma información está disponible para vegetales, cereales, forrajes, piensos, hierbas y especias.

En la figura 3 se muestra un diagrama de una parcela seleccionada que ha sido tratada con el plaguicida objeto del estudio.



Fuente: Autor

### Figura 3. Diagrama de la parcela tratada.

La figura corresponde a una parcela tratada con el plaguicida objeto del estudio. La formulación del agroquímico se aplica sobre toda la parcela seleccionada. Nótese que el recuadro interior señala la zona en donde se encuentran los árboles que se emplean para el muestreo.

Los árboles de la parcela que rodean a esta zona interior de muestreo conforman la zona de amortiguamiento, que aunque recibe las aplicaciones del plaguicida, no son tenidos en cuenta al momento de tomar muestras.

Es muy probable que la deriva del producto en la aplicación, haga que otros árboles circundantes reciban parte del plaguicida, sin embargo, es importante delimitar claramente los árboles de la parcela tratada, ya que el área superficial de la parcela es la que se emplea en los cálculos de aplicación.

Para efectos prácticos, la figura 4 ejemplifica un emplazamiento de campo de un ensayo para el establecimiento de LMR.



Fuente: ICA (2014).

#### **Figura 4. Ejemplo de emplazamiento de campo.**

En esta figura se puede apreciar la delimitación de un ensayo debidamente marcado. El encerramiento de las parcelas es fundamental para mostrar su existencia y advertir a las personas que transitan por la finca, sobre el desarrollo del ensayo. También determina el área superficial que se emplea en los cálculos de aplicación del producto y de la calibración de la velocidad de aplicación, en el caso de la parcela tratada.

➤ **Consideraciones para el muestreo**

- Antes de comenzar cualquier actividad de muestreo se deben repasar las condiciones previamente establecidas en el protocolo del estudio y en los POEs correspondientes. Esta información se debe repasar con todo el personal involucrado en el muestreo.
- Es muy importante elaborar una relación de las muestras que se van a tomar en cada ensayo, identificando cuales y cuantas son de la parcela no tratada y de igual manera las de la parcela tratada.
- Se debe organizar previamente toda la logística asociada al muestreo:
  - Materiales necesarios, como son bolsas plásticas suficientes (exteriores) y de tela (interiores, que tendrán contacto con las muestras), etiquetas para la rotulación de las muestras, material de seguridad como guantes, botas y delantal (tantas unidades como sean necesarias o suficientes), utensilios como cuchillos, tijeras, podadoras, escalera, cuerda, material de limpieza, esferos, marcadores indelebles, toallas de papel, flexómetro, báscula, termómetros aéreos y de suelo, pluviómetro, higrómetro, cronómetro y sistema de posicionamiento global (GPS, por su sigla en inglés).

El material de muestreo debe desinfectarse antes de su uso.
  - Embalaje: neveras portátiles, bolsas de congelación (gel packs, en inglés) no con hielo acuoso porque se descongela muy rápido y podría inundar las muestras, cinta, formatos para identificar y rotular las neveras, termómetros portátiles, cinta de sellado, etc.
  - Logística de envío de las muestras: Transporte suficiente e higiénico para las muestras desde la finca hasta el sitio de embarque que las llevará hasta el laboratorio (medio aéreo, terrestre, fluvial o marítimo). Las muestras deben llegar al laboratorio lo más rápido posible, el tiempo desde el muestreo hasta la congelación en el laboratorio no puede ser superior a doce horas.
  - Si el envío se hace a través de empresas prestadoras del servicio, se debe haber coordinado con anterioridad todas las condiciones que aseguren un

envío adecuado. Ejemplo: requisitos de transporte de mercancías de la empresa transportadora. En algunos casos no permiten transportar los “gel packs”, tienen restricciones de peso o volumen de los elementos de envío, requieren conocer con exactitud el contenido de las neveras, por lo que demandan destaparlas, lo cual influye sobre la temperatura de las muestras.

- Se debe coordinar la recogida de las muestras en el punto de llegada, sea el laboratorio directamente o un punto diferente como el aeropuerto, una terminal o un puerto, los horarios de entrega, autorizaciones al personal que recoja las muestras, etc.
- En todos los casos se debe manejar y diligenciar una cadena de custodia de las muestras, sin omitir ningún eslabón en la cadena de traslado.
- Alistamiento de libros de campo y de formatos.
- Comunicación eficaz con el dueño o encargado de la finca en donde se tomarán las muestras. Es importante informarle las fechas de muestreo y tratar de que estas sean previas a la cosecha comercial, para evitar contratiempos y contrariedades.
- Durante el muestreo es muy importante tomar todas las medidas necesarias para evitar la contaminación de las muestras, el uso del material de seguridad para el personal es muy importante (guantes, delantales y botas).
- Todo el material de muestreo debe ser nuevo y debe estar limpio.
- Se debe iniciar siempre muestreando y empacando las muestras de la parcela no tratada (control o testigo) y después la parcela tratada con el plaguicida de interés. Es posible dividir el trabajo según la cantidad de personas del grupo de trabajo en campo. Si existe más de una parcela tratada (diferentes dosis), se toman primero las muestras que tengan menor dosis.
- El estado de maduración del fruto a muestrear no es un aspecto a tener en cuenta, ya que este lo determina el tiempo normal de cosecha en el cultivo según su ciclo vegetativo y el período de carencia establecido para el producto

plaguicida formulado debidamente registrado ante la autoridad competente correspondiente.

- Cada muestra debe ser rotulada de forma inequívoca y unívoca, con letra legible y con tinta indeleble.
- Las muestras tratadas se deben embalar separadas de las tratadas, es decir, en lo posible, en neveras independientes.
- Las muestras tomadas deben ser de calidad comercial.
- Para tomar muestras por duplicado, se deben hacer dos muestreos independientes, no una división de una sola muestra.
- No lave las muestras, a menos que el protocolo lo permita.
- Se debe retirar de la muestra el material que no será analizado, como son hojas, tallos y raíces. Igualmente residuos de suelo.
- Las muestras se deben embalar secas. El exceso de humedad superficial se puede secar suavemente con toallas de papel.
- Las muestras deben enviarse junto con sus correspondientes cadenas de custodia. En la tabla 3 se muestra un ejemplo de una cadena de custodia.
- Los factores climáticos severos deben informar inmediatamente al Director del estudio para que se tome la decisión respectiva. Por ejemplo, si cae lluvia o un fuerte aguacero antes o después del preciso momento del muestreo.
- Cualquier desvío a los POEs o al protocolo se debe informar rápidamente al Director del estudio para la toma de decisiones importantes.

En la tabla 3 se puede apreciar que la razón fundamental de la existencia de la cadena de custodia es poder mostrar todos los “cambios de mano” de las muestras. Se debe mantener la rastreabilidad completa de cada muestra desde que ha sido tomada hasta su destino final en el laboratorio.

**Tabla 3. Ejemplo del registro de una cadena de custodia.**

CADENA DE CUSTODIA DE MUESTRAS							
Fecha	Hora	Identificación de la muestra	Ubicación	Motivo de la custodia	Entregada por:	Recibida por:	Observaciones
26/09/2015	10:15	Muestra A	Finca Los Almendros	Muestreo		Mario Moreno	Muestra embalada en 2 neveras de icopor
26/09/2015	11:00	Muestra A	Aeropuerto Cisneros	Entrega en la aerolínea para envío desde Florencia hacia Bogotá	Mario Moreno	Aerolínea Caída libre (Florencia)	1 nevera de icopor
26/09/2015	11:20	Muestra A	Aeropuerto Cisneros	Transporte hacia Bogotá	Aerolínea Caída libre (Florencia)	Aerolínea Caída libre (Bogotá)	1 nevera de icopor
26/09/2015	14:25	Muestra A	Aeropuerto El Dorado	Entrega en el aeropuerto de Bogotá	Aerolínea Caída libre (Bogotá)	Damaso Carrión	1 nevera de icopor
26/09/2015	15:30	Muestra A	Laboratorio de análisis	Entrega en el laboratorio	Damaso Carrión	Alan Brito	1 nevera de icopor conteniendo 2 bolsas con muestra
26/09/2015	17:00	Muestra A	Laboratorio de análisis	Congelación	Alan Brito	Pedro Morales	Muestra pesada, cortada y embalada en 2 bolsas. Se almacena a -20 °C en congelador 245.

Fuente: Autor

En la figura 5 se muestra una secuencia de un caso real de muestreo que incluye la aplicación de las consideraciones explicadas anteriormente.



Fuente: ICA (2014).

**Figura 5. Ejemplo de muestreo en campo.**

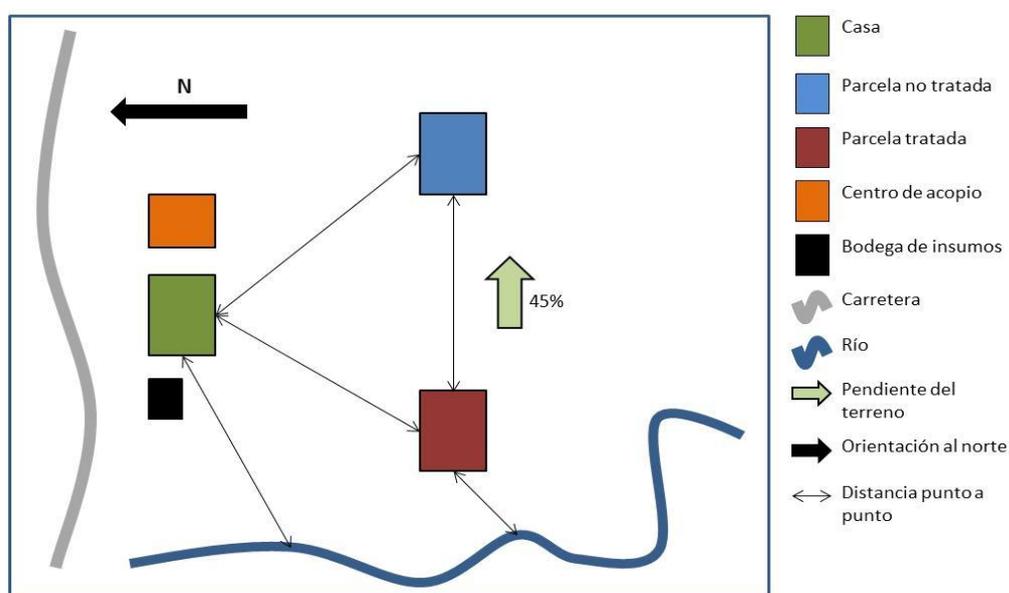
En las figuras 5a y 5b se observa el uso del material de seguridad, como factor determinante para minimizar el riesgo de contaminación de los frutos muestreados. En la figura 5c se muestra el embalaje de las muestras dentro de una nevera antes de adicionar las pilas de congelación. En la figura 5d se aprecia la separación en el embalaje para las muestras tratadas y no tratadas.

#### 4.2.5. Libros de campo

Se debe tener un libro de campo por cada ensayo.

Cada libro de campo debe contener los siguientes registros:

- Copia del protocolo y de las enmiendas al mismo.
- Instrucciones generales para el diligenciamiento del libro de campo.
- Formulario de desviaciones al protocolo, en donde se describa la desviación y su impacto.
- Formulario de relación del personal involucrado en el estudio.
- Ubicación de la finca, incluyendo la ruta de acceso a la misma.
- Mapa descriptivo de la finca. En la figura 6 se muestra un ejemplo de éste.



Fuente: Barbosa (2015).

**Figura 6. Ejemplo de un mapa descriptivo de un ensayo de campo en la finca.**

En esta figura se aprecian los diferentes elementos que se deben tener en cuenta para la elaboración del mapa descriptivo de un ensayo de campo.

Ejemplifica diversos accidentes geográficos e instalaciones dentro de finca que son importantes para describir el entorno del ensayo.

- Información sobre las características del emplazamiento y el suelo: pendiente de la parcela, textura del suelo, composición, pH, % arena, % limo, % arcilla, % materia orgánica, capacidad de intercambio iónico (CIC).
- Datos históricos de aplicaciones en la finca: ingrediente activo, nombre comercial, dosis, día o época de aplicación, cultivo.
- Uso de la sustancia de prueba: cantidad sacada del envase, fecha, propósito.
- Registro del cultivo de ensayo: variedad, método de siembra, fecha de siembra, distancia de siembra, ancho de la era, número de hileras/parcela, número de hileras/cama, número de camas/parcela, ancho de la cama, si es ensayo de invernadero, dimensiones de las parcelas (tratada(s) y no tratada).
- Aplicaciones de agroquímicos (fertilizantes y plaguicidas) para el mantenimiento del cultivo (diferentes al plaguicida de estudio): fecha de aplicación, ingrediente activo, nombre comercial, dosis, propósito.
- Almacenamiento y desecho de la sustancia de prueba (plaguicida de estudio): nombre comercial en la etiqueta, lote empleado, fecha de recibido, fecha de vencimiento, persona que recibe la sustancia de prueba, cantidad recibida, número de envases, descripción de los envases, condición de los envases, temperatura de almacenamiento (mínima y máxima).
- Prácticas culturales: actividad, fecha, equipo.
- Registros de aplicación por cada aplicación del cronograma del ensayo:
  - a. Del equipo: número de aplicación, equipo, identificación del equipo, capacidad del tanque, número de boquillas utilizadas, marca, tipo y tamaño de las boquillas, tamaño de las mallas en los filtros, número de pases necesarios por planta, superficie tratada (m<sup>2</sup>).
  - b. Diagrama del equipo de aplicación, fotografías del equipo de aplicación (si es pertinente).

- c. De la aplicación: fecha, calibración del equipo, número de días desde la última aplicación, sustancia de prueba, lote de la sustancia de prueba, identificación del equipo, lugar de almacenamiento de la sustancia de prueba, presión en la barra de aspersión, temperatura.
  - d. Calibración de la descarga: fecha, nombre del ejecutor, hora, descripción del procedimiento, número de repeticiones, tiempo de descarga, volumen descargado, cálculo de descarga (volumen total /promedio del tiempo), coeficiente de variación (<5%). Para esta calibración se emplea agua.
  - e. Calibración de la velocidad de aplicación: pendiente del terreno, descripción del procedimiento, largo del trayecto, tiempo calculado, tiempo empleado, tiempo por árbol, tiempo total.
  - f. Cálculo de volumen y mezcla para la aplicación: tamaño de la parcela (área), número de árboles o plantas/Ha, L/Ha, cantidad de sustancia de prueba, cantidad de aditivo, cantidad de agua, volumen total a preparar, volumen por árbol, tiempo de aplicación por árbol o planta.
  - g. Condiciones ambientales durante y después de la aplicación: fecha, vigor del cultivo, temperatura del aire, temperatura del suelo, humedad relativa, dirección y velocidad del viento, nubosidad, presencia de neblina, hora de preparación de la mezcla, hora de inicio y finalización de la aplicación, humedad del suelo, humedad del follaje (seco, húmedo, mojado), firma.
  - h. Limpieza del equipo: descripción del procedimiento, fecha, reparación.
  - i. Información adicional: notas del investigador de campo.
- Procedimiento de muestreo: uso de herramientas, limpieza de las mismas, uso de guantes, zonas muestreadas de las plantas, empaque de las muestras, condiciones de embalaje (temperatura, uso de hielo seco, pilas de hielo, etc.), procesamiento de la muestra (corte, pelado, según aplique).
  - Condiciones de transporte de las muestras: fecha, hora de embarque, empresa transportadora, fecha y hora de llegada al laboratorio.
  - Inventario de las muestras recolectadas.

### 4.3. ANÁLISIS DE LABORATORIO

La etapa complementaria en los estudios de establecimiento de límites máximos de residuos basados en la evaluación agronómica de plaguicidas en campo, corresponde a los análisis de laboratorio de las muestras tomadas en los ensayos de campo.

Esta etapa también está cubierta por el sistema de gestión basado en los principios de las buenas prácticas de laboratorio, que fundamenta el trabajo para proporcionar confiabilidad a los resultados de los ensayos. En el caso del trabajo del laboratorio, su confiabilidad se apoya en la competencia técnica durante la realización de las actividades analíticas.

Actualmente la competencia técnica de un laboratorio se soporta con la implementación de sistemas de gestión de la calidad, basados en modelos internacionalmente reconocidos. Los modelos más destacados son el de la norma ISO 17025 (Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración) y el de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

Es importante aclarar que las BPL asociadas a los estudios de establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas, corresponden a las pautas generales de aplicación de los principios de las buenas prácticas de laboratorio, como concepto de gestión que abarca la totalidad del proceso de organización y de las condiciones en las cuales los estudios de laboratorio se planifican, se aplican, se verifican, se registran y se informan (OCDE, 1998).

No obstante, en el ámbito de los laboratorios de análisis, es muy pertinente seguir unos lineamientos más específicos y apropiados para el desarrollo de actividades analíticas. En este caso la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó recientemente una guía relacionada con la garantía de calidad de laboratorios de control, publicada con el nombre de "*Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos*" (OMS, 2010). Esta

guía es muy completa, tiene aplicación directa a cualquier tipo de laboratorio de análisis y está completamente alineada con los requisitos de la norma ISO 17025.

El modelo de la norma ISO 17025 hace parte del esquema mundial de acreditación de ensayos de laboratorio, que en el caso de Colombia es coordinada por el ONAC (Organismo Nacional de Acreditación de Colombia), ente acreditador del país para las actividades que demuestren competencia en relación con la evaluación de la conformidad, como lo son los laboratorios de ensayo. El modelo de las BPL no es acreditable pero sí existe la certificación como mecanismo de reconocimiento de su implementación.

Para fines prácticos de esta guía es recomendable que los laboratorios que participen en la ejecución de estudios para el establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas, tengan implementado al menos uno de estos dos modelos de gestión.

#### **4.3.1. Planificación**

Antes de comenzar la etapa de análisis de muestras, el laboratorio debe estar debidamente preparado en relación con los aspectos relacionados a continuación:

##### **➤ *Instalaciones y condiciones ambientales***

Las instalaciones deben garantizar que su organización interna evita el riesgo de contaminación cruzada. Este punto es muy importante para el laboratorio, ya que el propósito de los análisis es detectar y cuantificar moléculas de plaguicidas al nivel de trazas, es decir, en concentraciones muy pequeñas del orden de  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , también llamadas partes por billón (ppb). En este orden de ideas, el laboratorio no puede realizar también análisis de plaguicidas a nivel de concentraciones de las formulaciones comerciales, y si lo hace, debe ejecutar estos análisis en áreas del laboratorio completamente separadas, con material, reactivos y equipos independientes y exclusivos.

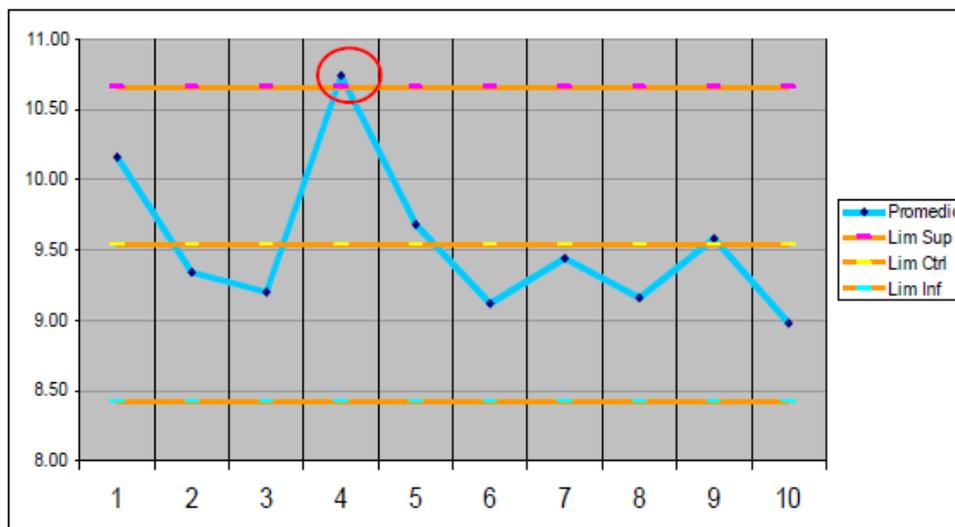
Deben existir unas áreas internas de trabajo bien diferenciadas:

- Recepción de muestras.
- Procesamiento y extracción de muestras.
- Almacenamiento de muestras.
- Lavado de material.
- Sala de pesaje.
- Área de análisis instrumental.
- Área de cálculos y archivo (oficina).

Adicionalmente se debe contar con unas áreas conexas que apoyan la actividad del laboratorio como son: planta eléctrica para suministrar energía eléctrica permanentemente y zona de almacenamiento de gases especiales (argón, nitrógeno, etc.) que utilizan varios de los equipos de laboratorio.

Las instalaciones del laboratorio deben garantizar las condiciones ambientales para los análisis. Generalmente se deben controlar la temperatura y la humedad relativa de las áreas en donde se procesan las muestras y en donde se mantienen los equipos. Los métodos empleados destacan esta información relevante. De igual manera en los manuales de operación de los equipos se destacan las especificaciones técnicas que señalan los requerimientos de temperatura y humedad necesarias para su correcta operación.

La mejor herramienta para el seguimiento de las condiciones ambientales es una carta de control, la cual permite el análisis rápido y eficaz de los datos y muestra las tendencias de los mismos, de tal manera que se facilita la toma de decisiones. En la figura 7 se muestra un esquema general de una carta de control.



Fuente: Autor.

### Figura 7. Esquema general de una carta de control.

En esta figura se aprecian un valor medio objeto de la medición o verificación a ejecutar, por ejemplo, la humedad relativa de trabajo, y los límites superior e inferior que determinan la tolerancia de la medición. La línea azul muestra el comportamiento obtenido de la medición en el tiempo. El círculo rojo indica un valor de medición que se salió del límite superior, lo que indica que la medición se salió de control y que por tanto se deben tomar medidas correctivas para solucionar la situación a futuro.

#### ➤ **Equipos**

Para la ejecución de análisis de residuos de plaguicidas se debe contar con equipos normales de laboratorio y otros equipos más sofisticados o críticos. Dentro de los primeros se cuentan equipos como balanzas electrónicas con división de escala 0,01 g y 0,0001 g, centrífuga, agitador magnético, homogeneizador de alta velocidad, molino, micro-pipetas, refrigerador, etc. Todo depende del método de análisis implementado en el laboratorio.

En cuanto a los equipos más sofisticados o críticos, para estudios de establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas son fundamentales:

- Uno o dos congeladores de alta capacidad de almacenamiento (aproximadamente 1500 litros cada uno). Este tipo de equipos es muy importante porque la cantidad de muestras de un estudio ocupan mucho espacio de almacenamiento en congelación, lo cual debe preverse antes de iniciar el trabajo, ya que es fundamental que el laboratorio pueda garantizar las condiciones de almacenamiento en temperaturas cercanas a los  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . El volumen de las muestras está determinado por la especie vegetal que se vaya a analizar. No es lo mismo analizar uvas que piñas.
- El equipo más sofisticado de todos es el cromatógrafo. Para la determinación de residuos de plaguicidas se emplean métodos que requieren una muy alta sensibilidad y confiabilidad en la identificación de las moléculas. Por experiencia sé que la mayoría de los métodos actuales usan el cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia (HPLC, por su sigla en inglés) acoplado a un espectrómetro de masas en tándem, que hace las veces del detector. El equipo se conoce comúnmente como un HPLC-MS/MS. También se emplea el cromatógrafo de gases con sistemas similares de detección, GC-MS/MS. Se emplea el uno y/o el otro dependiendo de la volatilidad de las moléculas que se requieran analizar. Estos equipos son los que permiten la identificación y cuantificación de analitos al nivel de trazas (ppb).
- Equipo purificador de agua. El laboratorio debe mantener producción frecuente de agua de alta pureza conocida como agua tipo I, requerida para las extracciones de los residuos de plaguicidas y para las fases móviles que emplea el cromatógrafo de líquidos. Es posible conseguir este tipo de agua comprada pero es muy costosa y tendría que gastarse muy rápido. La ASTM (American Society for Testing Materials, en inglés), ha clasificado las diferentes calidades del agua con base en su pureza y otros criterios técnicos.

El agua tipo I corresponde a un agua que contiene un mínimo de componentes ionizados, lo cual se evidencia en una muy baja conductividad eléctrica. Es usada para procedimientos que requieren de máxima exactitud y precisión como la cromatografía HPLC (Valdivia et al, 2010).

El laboratorio debe asegurar el mantenimiento preventivo de los equipos, especialmente de los más críticos, y el mantenimiento correctivo cuando sea necesario.

De igual manera, los instrumentos de medición, tales como balanzas, termómetros, micro-pipetas deben tener calibración vigente.

Los equipos críticos que no hacen mediciones directas de magnitudes físicas, como el cromatógrafo, deben someterse a calificación operacional.

Además de los anteriores controles metrológicos descritos, se deben realizar periódicamente verificaciones intermedias para determinar si el equipo está operando correctamente. De estas verificaciones se deben llevar cartas de control.

Para cada uno de los equipos es necesario mantener su respectiva hoja de vida, en donde se deben tener los registros que permitan evidenciar las intervenciones y el seguimiento del desempeño. Generalmente una hoja de vida de un equipo contiene los siguientes registros:

- Ficha técnica (hoja de identificación y caracterización de un equipo).
- Bitácora de seguimiento (en donde se escribe todo lo que le sucede en el tiempo al equipo).
- Reportes de mantenimiento.
- Certificados de calibración.
- Informes de calificación.
- Cartas de control.
- Manual de operación del equipo.

➤ **Personal**

Las personas que ejecutan los análisis de determinación de residuos de plaguicidas deben ser personas altamente competentes. Su competencia técnica se cimienta en cuatro pilares: educación, formación, experiencia y habilidades.

- La primera hace referencia a los títulos académicos. Para el caso de análisis de residuos de plaguicidas, se requiere contar con un profesional en Química, quien por su conocimiento adquirido en la Universidad, conoce la fisicoquímica de las moléculas orgánicas (tipo plaguicidas) y la de los solventes, conoce el fundamento y la operación de las técnicas cromatográficas y además maneja y conoce los riesgos del trabajo en un laboratorio de química. El perfil de este profesional se maximiza si ha adelantado estudios de post-grado en relación con la temática del estudio.
- La formación hace referencia a la adquisición de conocimiento específico a nivel de cursos, diplomados, seminarios, etc. sobre el trabajo en laboratorio para análisis de residuos de plaguicidas. Esta formación va de la mano con el entrenamiento específico en el laboratorio.
- La experiencia, medida en tiempo, es el resultado del trabajo en el laboratorio haciendo análisis de residuos de plaguicidas.
- La habilidad se refiere a la destreza adquirida con la experiencia para hacer las extracciones, manejar el cromatógrafo e interpretar la información de los cromatogramas, los espectros de masas y la resultante de los cálculos y manipulación de los datos crudos.

También se debe contar con personal auxiliar de apoyo competente en su medida para las actividades concernientes, como por ejemplo, el lavado técnico del material del laboratorio, la preparación de reactivos y soluciones, el registro de cartas de control de seguimiento a los equipos, el manejo de equipos auxiliares, la recepción de muestras y la digitación de resultados.

Para cada persona se debe llevar una carpeta de hoja de vida en donde se tengan los registros que evidencien su competencia técnica.

➤ **Sustancias de referencia**

Para la ejecución de los ensayos de laboratorio es necesario contar con materiales o sustancias de referencia confiables y trazables.

Por principio la cromatografía es una técnica analítica de separación que se ha vuelto muy versátil llevándola al punto de aprovecharla para la identificación de moléculas y la cuantificación de la cantidad de éstas en unidades de concentración. Para lograr esto es necesario comparar el compuesto que se separe en una muestra, contra el estándar del mismo, empleado como referencia.

Este estándar de referencia debe ser una sustancia pura (>95%), declarada en un certificado de análisis, trazable incluyendo una incertidumbre de su pureza.

Estas sustancias de referencia tienen un período de vigencia, generalmente 1 ó 2 años, garantizable si se mantiene en condiciones adecuadas establecidas por el proveedor del material. Generalmente estas condiciones son temperatura y humedad, que determinan un requisito para el laboratorio de análisis.

Cada vez que se emplea esta sustancia, se debe verificar si mantiene sus características que le confieren el título de estándar.

En el caso de estándares para cromatografía, se prepara una solución de concentración conocida y se inyecta en el cromatógrafo para determinar si el estándar no se ha degradado y si aún da la respuesta cromatográfica inicial (intensidad de señal).

Para evidenciar lo anterior se pueden llevar cartas de control.

➤ **Método analítico**

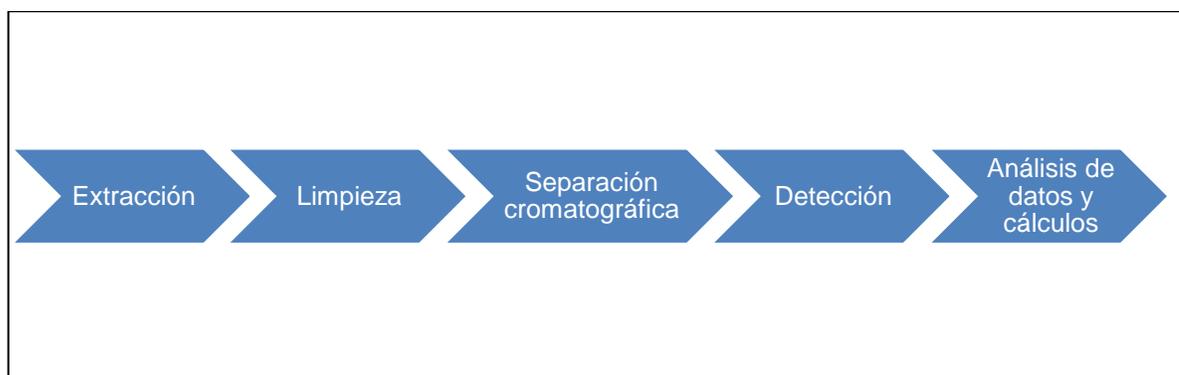
La selección de los métodos de análisis de residuos depende de varios aspectos fundamentales, uno de ellos es la matriz, es decir, el producto agrícola en donde

se encuentran contenidos los residuos. Para efectos analíticos estas matrices se clasifican según su contenido de agua o su contenido de grasa, entre otros criterios. La matriz influye bastante sobre la disponibilidad de los residuos de plaguicidas para su extracción.

Otro aspecto es la volatilidad del plaguicida a analizar, esto determina el tipo de cromatografía a emplear. Para moléculas volátiles se emplea cromatografía de gases y para moléculas no volátiles se emplea cromatografía de líquidos.

El tipo de compuesto químico de las moléculas plaguicida y de sus metabolitos determina el sistema de detección a emplear. Sin embargo, un detector se elige según la especificidad y la selectividad necesarias, lo que depende ampliamente de los componentes de la matriz y los niveles de concentración de los residuos.

En general, los métodos de análisis de residuos de plaguicidas constan de cuatro etapas principales, seguidas en secuencia. Ver la figura 8.



Fuente: Autor

### **Figura 8. Secuencia de análisis de laboratorio.**

En la figura se aprecia que la secuencia de trabajo en el laboratorio comienza con la etapa de extracción, en la cual se retiran los plaguicidas y sus metabolitos de la matriz, mediante el uso de solventes, sin embargo, también salen algunos componentes de la matriz que son solubles en el solvente, regularmente productos pigmentados, que influyen en la cromatografía.

Para retirar los excipientes se limpia el extracto colocándolo en contacto con fases sólidas de diferente afinidad química. El extracto final obtenido se inyecta en el cromatógrafo, en donde se da la separación de las diferentes moléculas. Para identificarlas se deben inyectar previamente estándares puros (sustancias de referencia) de las moléculas de interés, es decir, los plaguicidas y sus metabolitos.

La señal cromatográfica de cada analito obtenida en la etapa de detección determina la presencia de las moléculas.

La comparación entre las señales de cada estándar y el de las muestras extraídas y limpiadas, permite determinar si hay presencia o no de las moléculas de interés.

Como se están buscando residuos de plaguicidas al nivel de trazas (concentraciones del orden de ppb y ppt), el detector debe ser muy sensible. Para lograr esta capacidad de detección, actualmente se emplea la espectrometría de masas en tándem como medio de detección de alta versatilidad. Este sistema de detección permite lograr la sensibilidad necesaria y permite establecer con altísima precisión la identidad de las moléculas buscadas (Espectrometría de ..., 2014).

En la etapa final de análisis de datos y cálculos, se cuantifican las señales resultantes de las muestras por interpolación en una curva de calibración construida con estándares.

Dadas estas consideraciones es importante marcar que la selección del método de análisis a emplear también depende de factores reglamentarios establecidos por las entidades regulatorias internacionales.

En el caso de Estados Unidos, la EPA ha reglamentado pautas para su uso en el ensayo de plaguicidas y sustancias tóxicas, así como el desarrollo de los datos de prueba que deben presentarse para revisión de datos bajo las regulaciones federales. Estas pautas se reúnen en la guía OPPTS 860.1340 (EPA, 1996).

La Comisión Europea desarrolló la guía SANCO, como orientación para los laboratorios que participan en el control oficial de residuos de plaguicidas en

alimentos y piensos en la Unión Europea. El documento describe los requisitos de validación de los métodos y control de calidad analítica para apoyar la validez de los datos reportados, en el marco de controles oficiales de los residuos de plaguicidas. Se utilizan para comprobar el cumplimiento de los niveles máximos de residuos (LMR), acciones de cumplimiento, o la evaluación de los consumidores por exposición a los plaguicidas (European, 2013).

En este orden de ideas el método seleccionado debe cumplir dos requisitos: debe proporcionar datos confiables de residuos que sirvan como insumo para juzgar sobre la identidad y la magnitud de los residuos resultantes del uso propuesto de los plaguicidas, y debe proporcionar un medio para el cumplimiento de la tolerancia establecida en el LMR (EPA, 1996).

El método seleccionado finalmente debe ser estandarizado en las condiciones particulares de cada laboratorio. Se debe confirmar que funciona para el fin propuesto, que permite llegar a los niveles de concentración requeridos y que permite identificar con total certeza las moléculas de interés, separándolas de los componentes de la matriz.

Una vez estandarizado, el método debe validarse, para lo cual se deben seguir las indicaciones de las guías señaladas (EPA o SANCO).

En la validación del método existen tres parámetros que determinan la viabilidad del mismo para su aplicación en el establecimiento de LMR. Estos parámetros son el límite de detección (LOD, por su sigla en inglés), el límite de cuantificación (LOQ, por su sigla en inglés) y la exactitud.

El LOD es la menor cantidad de analito que puede detectarse pero no cuantificarse. Generalmente se representa como una concentración diferenciable tres veces mayor que la señal promedio del ruido instrumental (background) (Quattrocchi et al, 1992).

El LOQ es la menor concentración de analito que puede determinarse con cierta precisión y exactitud. Generalmente corresponde al primer nivel de concentración de la curva de calibración (Quattrocchi et al, 1992).

La exactitud del método corresponde a la diferencia entre el valor obtenido de la medición y el valor reconocido como real o teórico (Quattrocchi et al, 1992). Se expresa como porcentaje de recuperación.

No existe un criterio de aplicabilidad del LOD y el LOQ, porque estos dos parámetros dependen netamente de la sensibilidad instrumental y del efecto de la matriz. Estos dos parámetros deben estar por debajo de la concentración estimada del LMR, la cual se recomienda que se ubique más o menos en la mitad de la curva de calibración.

Por otra parte el porcentaje de recuperación aceptable de la validación del método analítico debe estar entre 70 y 120 % (EPA, 1996 y European, 2013).

#### ➤ **Documentación**

Las actividades que se ejecutan en el laboratorio deben estar debidamente documentadas y deben ser de conocimiento de todo el personal involucrado. En el anexo 3 se relacionan los POEs más importantes del laboratorio, necesarios para el desarrollo de estudios de establecimiento de límites máximos de residuos.

Es muy importante mantener el control de los documentos y los registros llevados durante el desarrollo de los estudios. Ninguna persona ajena a estos estudios puede acceder a esta información.

Se debe mantener la rastreabilidad de los documentos, de tal manera que se puedan recrear los análisis a tal punto que sean repetibles en las mismas condiciones iniciales, por tal razón es fundamental el registro de la información fechada y firmada por quien haga los registros.

Los registros magnéticos, ejemplo los reportes y cromatogramas que guarda directamente el cromatógrafo, deben mantenerse en carpetas con sus rutas de

acceso debidamente identificadas. Se deben hacer copias de seguridad de estos archivos para prevenir su pérdida.

El archivo se debe mantener bajo llave.

#### **4.3.2. Actividades específicas del estudio**

##### **➤ *Recepción de las muestras***

Una vez que llegan las muestras al laboratorio se debe revisar que toda la información sea coincidente entre lo establecido en el cronograma del ensayo, la cadena de custodia, la remisión de las muestras y las actas de muestreo.

Se deben inspeccionar las muestras para determinar su condición frente a los requerimientos del ensayo. Lo más importante a revisar es que la cadena de frío (si es necesaria en el ensayo) se haya mantenido desde la cosecha hasta la recepción en el laboratorio.

Se debe inspeccionar que no estén almacenadas juntas la muestra de la parcela no tratada (testigo) y la tratada, claro está que si su separación no fue posible, se debe asegurar que hubo una separación efectiva dentro de la cava de envío, por ejemplo, que hayan tenido una separación física lograda con papel, cartón, pilas de hielo u otro elemento aislante.

Cada bolsa de muestra debe estar cerrada y debe verse limpia y seca.

Cualquier hallazgo se debe notificar inmediatamente al Director del estudio, quien decidirá sobre qué hacer.

En el laboratorio se debe diligenciar y firmar los siguientes registros:

- La cadena de custodia de cada muestra.
- El ingreso de cada muestra al inventario de almacenamiento del laboratorio.
- La lista de chequeo de revisión de las condiciones de recepción de las muestras.

Una vez recibidas y aceptadas las muestras, se deben codificar en el laboratorio según lo establecido en el protocolo y en los POEs que correspondan.

Además se debe informar al Investigador de campo y al Director del estudio sobre el arribo de las muestras, las condiciones de llegada de las mismas y los códigos asignados, así como cualquier desvío encontrado.

### ➤ **Preparación**

Cada muestra se debe desempacar y se debe pesar en su totalidad, luego se pesa uno por uno cada fruto, es decir, cada aguacate, col, naranja, etc.

Según las condiciones del estudio puede que sea necesario pelar y/o retirar la cáscara y las semillas. En este caso se deben registrar los pesos de cada parte del fruto, así no se vayan a emplear posteriormente. Por ejemplo, en el caso del aguacate la semilla no se usa en el estudio, pero se consigna su peso de todos modos.

En todas estas operaciones se deben emplear guantes de nitrilo nuevos y utensilios completamente limpios, preferiblemente de uso exclusivo para el procedimiento. Ejemplo: cuchillos, cucharas, pinzas, espátulas, platos, etc.

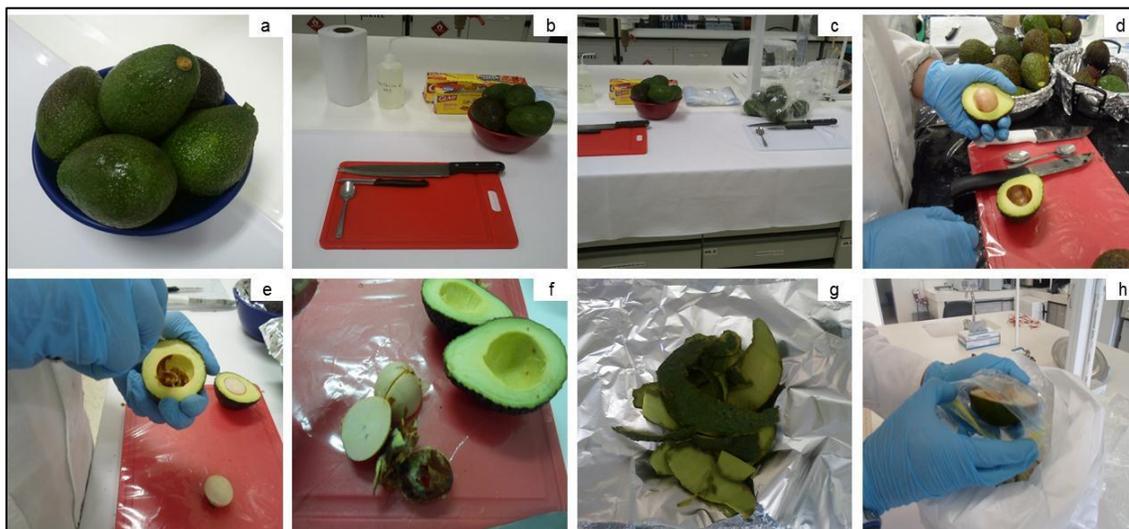
Las superficies de los mesones en donde se vaya a colocar los frutos deben estar completamente limpias. Lo más recomendable es colocar sobre ellas un plástico grueso que pueda ser sustituido entre muestra y muestra.

Todos los utensilios deberán lavarse antes de proceder con la siguiente muestra, con solución de hipoclorito de sodio y agua abundante. Igualmente se deben cambiar los guantes.

Lo más importante es evitar cualquier posibilidad de contaminación cruzada.

Es fundamental que primero se prepare la muestra no tratada y después la (s) muestra (s) tratada(s).

En la figura 9 se muestra un ejemplo de preparación de una muestra de aguacate.



Fuente: ICA (2014).

### **Figura 9. Ejemplo de preparación de una muestra de aguacate.**

En la fotografía a se encuentra la muestra compuesta de aguacate, en las fotografías b y c se aprecia el material requerido para el trabajo y la organización, en las fotografías d y e se ve el procedimiento (nótese el uso de los guantes), en las fotografías f y g se destacan las partes del aguacate separadas (pulpa, semilla y cáscara) y en la figura h se observa el empaque final de las mitades de fruto.

#### **➤ Almacenamiento**

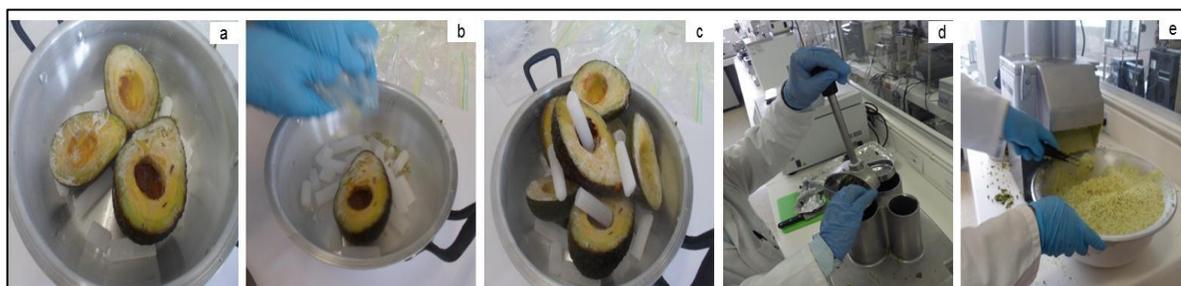
Cada muestra preparada debe empacarse nuevamente en bolsa plástica, cerrarse, empacarse ésta dentro de bolsa de tela, cerrarse y empacarse esta última dentro de bolsa plástica nuevamente. Se debe asegurar que cada muestra empacada quede rotulada sin que se pierda la información durante el almacenamiento. Una vez empacada cada muestra, se debe ingresar al congelador de almacenamiento y se debe registrar la hora de ingreso. Se debe llevar registro de cada salida del congelador y de cada ingreso al mismo.

Se deben llevar cartas de control de seguimiento a la temperatura del congelador.

### ➤ **Procesamiento**

Las muestras deben procesarse antes de comenzar la extracción de las mismas. Esta actividad gasta al menos un día, lo que debe tenerse en cuenta en la planeación de análisis.

El procesamiento consiste en moler y homogeneizar todos los frutos que componen una muestra. Es fundamental realizar esta tarea empleando hielo seco, de tal manera que se eviten las pérdidas de plaguicida por calentamiento de la muestra, más aún cuando en la molienda ésta se somete a fricciones con materiales abrasivos del molino. En la figura 10 se muestra un ejemplo del procedimiento de molienda de una muestra de aguacate.



Fuente: ICA (2014).

#### **Figura 10. Ejemplo del proceso de molienda de una muestra de aguacate.**

En la fotografía a se observa la muestra congelada, en las fotografías b y c se destaca la adición de hielo seco, en la fotografía d se presenta el procedimiento de molienda y finalmente en la fotografía e se ve el resultado de la homogeneización.

Una vez homogeneizada la muestra, se debe dejar en congelación hasta que el hielo seco se sublime. Posteriormente se almacenan porciones pesadas de la muestra homogeneizada, en frascos de vidrio limpios y nuevos. Estas porciones son: Sub-muestras de trabajo, sub-muestras de almacenamiento de largo plazo (reservas) y sub-muestras para el estudio de estabilidad.

En el caso de las sub-muestras del estudio de estabilidad, se guardan porciones de peso equivalente al requerido para la extracción. Éstas se deben reforzar

(spike, por el término en inglés) con una cantidad de concentración conocida del plaguicida en estudio.

Las sub-muestras del estudio de estabilidad se deben analizar al final de todo el estudio.

### ➤ **Análisis**

Las etapas de análisis se muestran en la figura 11.



Fuente: Autor

### **Figura 11. Etapas del análisis de residuos de plaguicidas.**

En la etapa de alistamiento se preparan los reactivos y las soluciones necesarios para el tratamiento y el análisis de la muestra.

En la etapa de extracción se deben pesar las muestras, teniendo en cuenta la secuencia de análisis. En una secuencia de análisis se deben incluir:

- Un blanco de reactivos (control negativo sin muestra pesada, al que se le sigue todo el proceso analítico, se requiere para evaluar que durante el proceso no se haya producido una contaminación cruzada o que el material o los reactivos estén contaminados).

- Muestra no tratada (testigo que sirve de control negativo de la matriz). Dos réplicas.
- Muestra tratada. Dos réplicas.
- Muestra no tratada reforzada a una concentración baja de los analitos de interés. Dos réplicas.
- Muestra no tratada reforzada a una concentración intermedia de los analitos de interés. Dos réplicas.
- Muestra no tratada reforzada a una concentración alta de los analitos de interés. Dos réplicas.
- Curva de calibración con al menos cinco niveles de concentración.

Para los niveles de concentración de los refuerzos se tienen en cuenta los niveles de la curva de calibración.

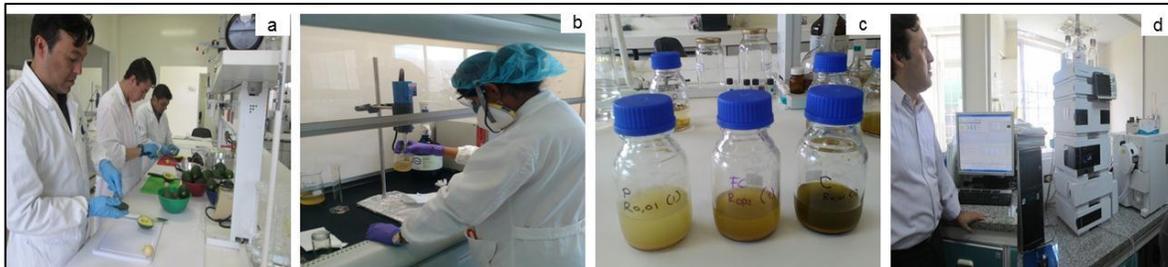
En esta etapa se extraen los plaguicidas del resto de la matriz, sin embargo, los extractos contienen muchas sustancias que no son del interés del análisis, por lo que es necesaria la etapa de limpieza para retirar al máximo esos otros compuestos interferentes.

El extracto, una vez limpiado, se pasa por cromatografía para su identificación y cuantificación.

Los análisis de residuos de plaguicidas requieren de un trabajo muy cuidadoso y fino, ya que se están buscando cantidades ínfimas que pueden perderse fácilmente durante el proceso o aparecer por culpa de una inadecuada manipulación de las muestras y los demás insumos del análisis o por falta de cuidado, que puede conllevar al reporte de un falso positivo.

Es importante recordar que se están buscando compuestos al nivel de trazas, es decir partes por billón o menos, lo que equivale a la búsqueda de siete personas en medio de toda la población mundial actual.

En la figura 12 se muestra un ejemplo de un análisis de residuos de plaguicidas para el establecimiento de LMR para aguacate.



Fuente: ICA (2014).

### **Figura 12. Ejemplo de un análisis de residuos para el establecimiento de LMR.**

En el orden de las fotografías de la figura se logran apreciar las cuatro etapas del análisis:

- Fotografía 12a. Alistamiento de las muestras para obtener el material de análisis,
- Fotografía 12b. Extracción con solventes.
- Fotografía 12c. Limpieza de los extractos. Se puede apreciar la carga de pigmentos que deben ser limpiados en matrices diferentes de aguacate (de izquierda a derecha: pulpa, fruto completo y cáscara).
- Fotografías 12d. Equipo de cromatografía líquida HPLC acoplado a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS).

Para fines del estudio de establecimiento de límites máximos de residuos se sugiere seguir las indicaciones de guías que son referentes internacionales, como son los casos de la guía OPPTS 860.1340 de la EPA (EPA, 1996) y de la guía SANCO de la Comisión Europea (Europea, 2013).

Algunas consideraciones que se deben tener en cuenta:

- El material que se emplea debe ser nuevo o por lo menos debe haberse lavado exhaustivamente con mezclas de solventes, esto con el fin de prevenir problemas de contaminación cruzada.
- Se deben montar controles de calidad durante todo el proceso analítico:
  - Rotulado de las soluciones.
  - Montaje de controles analíticos, tales como el testigo (control negativo con y sin matriz) y refuerzos (controles positivos en matriz blanco).
  - Verificación de los equipos (balanzas, micro-pipetas, cromatógrafo).
  - Verificación de los estándares de referencia.
  - Supervisión de actividades críticas (pesaje de muestras, refuerzo, preparación de la curva de calibración, montaje de la secuencia de corrida en el cromatógrafo).
  - Registro de datos crudos (solamente en tinta, corrección de datos errados, legibilidad, uso de formatos establecidos).
  - Revisión de datos y cálculos (cálculos hechos para establecer las concentraciones de las soluciones de estándares, resultados finales por muestra, porcentajes de recuperación).

➤ ***Ejemplo de aplicación***

Con el fin de dar una idea más real del trabajo de laboratorio, para fines ilustrativos de esta guía presento información derivada de datos del ensayo de establecimiento de límites máximos de residuos del insecticida spinetoram en aguacate, que ha servido de ejemplo en todo el documento<sup>4</sup>.

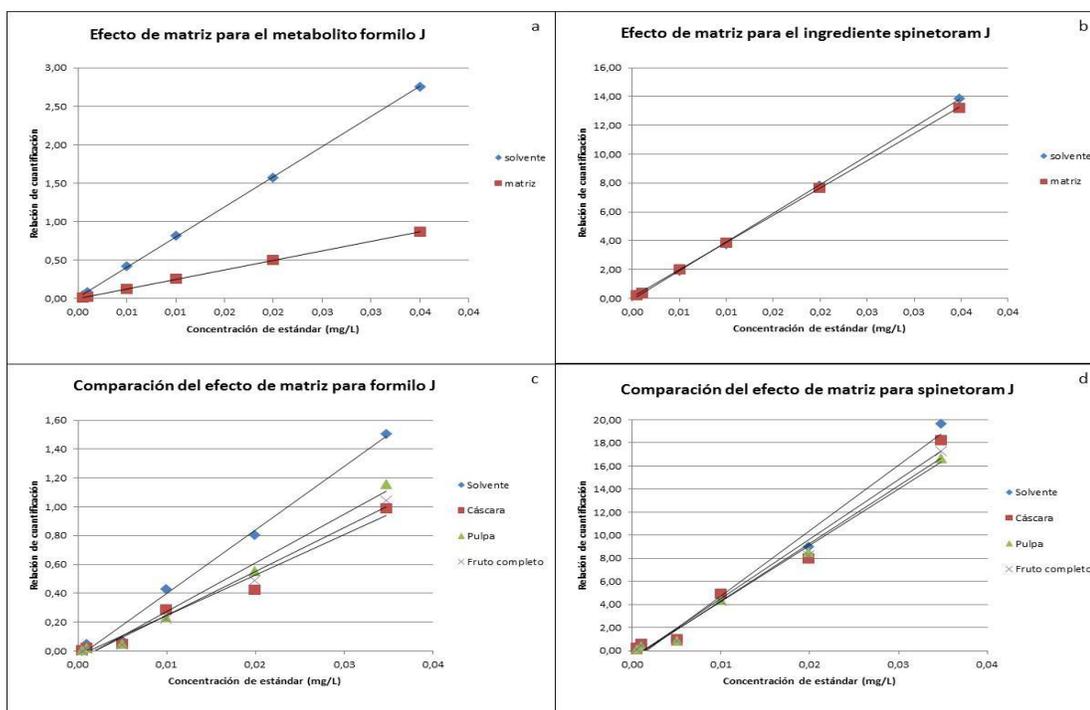
En la figura 13 se muestran los efectos de matriz sobre las curvas de calibración. La figura permite observar el comportamiento en el caso del metabolito (formilo J) y del ingrediente activo mayoritario (spinetoram J).

Las figuras 13a y 13b muestran el efecto de la matriz fruto completo sobre la pendiente de la curva de calibración. En la figura 13a se aprecia que la pendiente

---

<sup>4</sup> Cortesía del ICA: Proyecto ICA-IR4. Participación del autor en el proyecto.

de la curva en solvente es mayor que en matriz, lo que indica que la respuesta cromatográfica es mayor cuando se emplea solvente como diluyente para preparar las soluciones de la curva de calibración, mientras que al emplear extracto de matriz blanco, la respuesta cromatográfica es menor.



Fuente: Autor

### Figura 13. Efecto de la matriz sobre la respuesta cromatográfica.

Es importante señalar que el efecto de matriz puede ser negativo o positivo, es decir, que puede disminuir o aumentar la respuesta cromatográfica. Esto se debe principalmente a que los componentes de la matriz compiten con los analitos para ionizarse en la fuente de ionización a la entrada del espectrómetro de masas.

Aunque en el caso mostrado se puede deducir que es mejor trabajar con curvas de calibración preparadas en solvente, no siempre es recomendable, ya que puede suceder el fenómeno contrario y la respuesta cromatográfica puede mejorarse al trabajar con extracto de matriz blanco. Esto depende de los componentes de la matriz y de la naturaleza de los analitos en estudio.

Las figuras 13c y 13d muestran una comparación entre las curvas de calibración en solvente y en extracto de tres matrices de aguacate distintas (fruto completo, cáscara y pulpa). Se observa que la pendiente entre las tres matrices no difiere mucho, sin embargo el patrón muestra que, independiente del analito (formilo J o spinetoram J), la pendiente decrece en el orden cáscara-pulpa-fruto completo.

Es importante señalar que la pendiente de una curva de calibración determina la sensibilidad del sistema cromatográfico, por tanto, a mayor pendiente la sensibilidad es mayor y viceversa. Este es un aspecto crítico al momento de estandarizar y validar el método de análisis, ya que afecta la estimación de los límites de detección (LOD, por su sigla en inglés) y de cuantificación (LOQ, por su sigla en inglés), además influye sobre la matemática de la ecuación de la recta, por lo que influye sobre el cálculo de porcentaje de recuperación al hacer la cuantificación de muestras reforzadas.

Para el método de análisis de spinetoram en aguacate, los LOD para spinetoram J y formilo J estuvieron alrededor de 0,0003 mg/L y 0,0007 mg/L respectivamente. Los LOQ para spinetoram J y formilo J estuvieron alrededor de 0,0005 mg/L y 0,001 mg/L respectivamente. Esto muestra la sensibilidad de la metodología y su utilidad para el desarrollo de estudios de establecimiento de LMR.

Al realizar análisis de muestras reforzadas de fruto completo, se encontraron porcentajes de recuperación que cumplen los criterios de aceptación (70-120%):

**Tabla 4. Porcentajes de recuperación.**

Analito	0,02 mg/kg	0,2 mg/kg
Spinetoram J	85 %	97 %
Formilo J	86 %	98 %

Fuente: ICA, 2014

#### **4.4. REQUISITOS DOCUMENTALES DEL CÓDEX ALIMENTARIO**

Según se indica en el Manual de procedimiento de la Comisión del Código Alimentario (FAO/OMS, 2015a), el proceso de establecimiento de un LMR se inicia cuando un miembro u observador propone un plaguicida al CCPR del Código para que la JMPR lo evalúe. Al examinar la propuesta, el CCPR, en consulta con la Secretaría Conjunta de la JMPR, puede priorizar y programar la evaluación del plaguicida.

Es importante detallar como está conformada la JMPR, con el fin de entender el proceso de evaluación de información conducente al establecimiento de un LMR.

La JMPR está integrada por el Grupo Básico de Evaluación de la OMS y el Cuadro de Expertos de la FAO sobre Residuos de Plaguicidas en los Alimentos y el Medio Ambiente (Dutra, s.f.).

El Grupo de Evaluación de la OMS se encarga de examinar los datos toxicológicos de los plaguicidas y establece las ingestas diarias admisibles (IDA) y las dosis agudas de referencia (DAR). Asimismo, según lo determinen los datos y las circunstancias, este grupo estima y caracteriza otros criterios toxicológicos tales como la exposición no dietética (Dutra, s.f.).

El Cuadro de Expertos de la FAO sobre residuos de plaguicidas en los alimentos y el ambiente, evalúa los datos sobre patrones de uso registrados, destino de los residuos, metabolismo animal y vegetal, metodología analítica y los datos sobre residuos obtenidos de ensayos supervisados de residuos, con el fin de proponer definiciones de residuos y los niveles máximos de residuos del plaguicida en alimentos y piensos (FAO/OMS, 2015a).

Se recomiendan límites máximos de residuos al CCPR para su consideración como LMR del Código que posteriormente adoptará la Comisión del Código Alimentario (CAC, por su sigla en inglés) (Dutra, s.f.).

Se debe tener en cuenta que los LMR en los alimentos se basan en la información de las BPA, tomando en consideración la información sobre las ingestas dietéticas, y los alimentos derivados de productos básicos que se ajustan a los respectivos LMR deben resultar toxicológicamente aceptables (FAO/OMS, 2015a).

El CCPR y la JMPR deben asegurar que la información aportada al proceso de análisis de riesgos tenga un fundamento científico, sea plenamente transparente, esté exhaustivamente documentada y esté disponible para los miembros, razón por la cual es necesario que los estudios sean conducidos con todo el rigor técnico-científico correspondiente.

Para el proceso de evaluación de la JMPR se debe tener en cuenta que las Secretarías Conjuntas de la FAO y la OMS deciden el programa de las reuniones de la JMPR basándose en la lista de prioridades propuesta por el CCPR y aprobada por la CAC y en la información sobre la disponibilidad de datos suficientes para la evaluación.

La Secretaría Conjunta de la FAO para la JMPR asigna los compuestos a los miembros del Cuadro de Expertos de la FAO para su examen y lo informa a quienes presentaron datos.

El Cuadro de Expertos evalúa la información disponible y prepara el proyecto de evaluación que contiene una síntesis de los datos crudos, el proyecto de estimación que incluye la evaluación de los resultados y el proyecto de recomendaciones (Dutra, s.f.).

La información se cruza con la del Grupo de Evaluación, los dos grupos evaluadores coordinan sus actividades, discuten sobre los diferentes aspectos relevantes, químicos y toxicológicos, aclaran o resuelven cuestiones problemáticas y, por último, emiten un informe conjunto con las conclusiones y recomendaciones emanadas de la reunión (Dutra, s.f.).

Es importante marcar que la JMPR estudia la información derivada de estudios supervisados en campo considerando que la base de datos es suficiente, más allá de si representa el uso a nivel mundial o regional.

Los residuos derivados de ensayos a campo supervisados solo pueden utilizarse para estimar los límites máximos de residuos si las condiciones del ensayo pueden coincidir con la BPA nacional máxima/crítica o cualquier BPA dentro de la región del país. Los ensayos realizados en condiciones de protección (invernaderos) pueden coincidir con cualquier BPA existente (Dutra, s.f.).

#### **4.4.1. Presentación de datos al Códex**

Según Dutra (s.f.), el procedimiento en el sistema del Codex para la presentación de datos por parte de los gobiernos dependerá de la condición del plaguicida. Pueden darse dos situaciones, que el plaguicida ya se encuentre programado para ser evaluado por parte de la JMPR o que el compuesto no esté aún incluido en el programa de la JMPR.

La información presentada debe brindar todos los detalles esenciales del estudio. La información debe ser muy completa y debe garantizar la rastreabilidad de la misma, de lo contrario la JMPR puede considerar el abandono de la evaluación.

Dos aspectos importantes a considerar, uno de forma y otro de fondo. La información debe presentarse en idioma inglés y los estudios deben haberse realizado de acuerdo con las BPL (Dutra, s.f.).

Una clave importante es que para presentar la información al Códex, el plaguicida debe estar disponible para su uso como producto comercial, es decir que debe tener registro de venta en los países de interés, lo que garantiza que el plaguicida ya tenga estudios científicos y evaluaciones en los sistemas nacionales de registro. Tales estudios son generalmente adecuados para los propósitos de la JMPR y los expedientes de los informes preparados por los sistemas de registro modernos son generalmente adecuados para la JMPR (FAO, 2009).

Según Dutra (s.f.), los datos que se presenten deberían incluir:

1) Información sobre las BPA nacionales.

2) Informe de los ensayos supervisados de residuos, con información esencial, tal como:

- Objetivo y dosis real aplicada.
- Métodos de aplicación y su relación con los usos registrados.
- Método de muestreo, tamaño de las muestras (cantidad de las principales muestras, masa total de las muestras), de acuerdo con el Apéndice V del Manual del Codex.
- Condiciones de almacenamiento de las muestras durante el período desde la toma hasta el análisis, tiempo entre la toma y el análisis.
- Porción del producto básico analizado (matrices de análisis).
- Síntesis de los ensayos con los resultados.

3) Informe analítico:

- Describir el método analítico utilizado en el ensayo, incluir los datos de validación, cromatogramas típicos para muestras testigo y muestras tratadas.
- Informar todos los residuos significativos para la observancia de LMR y la evaluación de la ingestión dietética individualmente en la medida de lo técnicamente posible. Controlar en cada caso la definición de residuo.
- Distinguir repeticiones analíticas de los resultados de las muestras repetidas tomadas de la misma parcela.

➤ **Presentación del dossier a la JMPR**

Se debe presentar una carta de solicitud formal de estudio, junto con un dossier que contiene los soportes técnicos del estudio.

El dossier debe ser organizado con los siguientes documentos (FAO, 2009):

- Tabla de contenido.

- Información de fondo (ficha técnica): incluye la identidad de la molécula, estructura, nombre comercial y nombre químico, propiedades físicas y químicas, presión de vapor, coeficiente partición octanol-agua, etc.
- Metabolismo y destino ambiental del plaguicida: metabolismo en animales y en plantas, destino ambiental en suelo, agua y sedimento.
- Análisis de residuos: métodos de análisis de residuos empleados en los ensayos supervisados de campo, métodos de control de calidad de la formulación, estudio de estabilidad de los residuos en muestras analíticas almacenadas.
- Patrones de uso: Lista de cultivos en que se usa el plaguicida y que está registrado, información de las BPA aplicadas, información de los registros otorgados y las etiquetas autorizadas.
- Los residuos resultantes de ensayos supervisados sobre los cultivos (objeto central de este documento).
- El destino de los residuos en el almacenamiento y procesamiento: Rutas metabólicas y de degradación, condiciones que promueven la degradación.
- Los residuos en productos de origen animal: Estudio de las técnicas y hábitos de alimentación de animales en granjas.
- Los residuos en los alimentos en el comercio: Resultados de programas nacionales de monitoreo (si se aplican).
- Las definiciones nacionales de residuos.
- Referencias.

Nótese que la información requerida abarca muchos más temas que solo los resultados de los ensayos supervisados de campo y sus respectivos análisis de residuos.

La información debe presentarse en medio físico y en medio electrónico en formato Word. Si los datos originales no están disponibles en medio electrónico, los reportes deben escanearse y entregarse en formato pdf (FAO, 2009).

## 5. CONCLUSIONES

- Se logró elaborar un documento que contiene los lineamientos de guía para la ejecución de estudios de establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas a partir de ensayos de campo supervisados en Colombia, con base en información científica y veraz, sustentada con su aplicación en un caso concreto de ensayo en aguacate para un plaguicida comercial.
- Se logró implementar un método de análisis de residuos de spinetoram en aguacate, con LOD para spinetoram J y formilo J, que estuvieron alrededor de 0,0003 mg/L y 0,0007 mg/L respectivamente. Los LOQ para spinetoram J y formilo J estuvieron alrededor de 0,0005 mg/L y 0,001 mg/L respectivamente. Esta metodología demostró ser muy sensible y ser muy útil para el desarrollo de estudios de establecimiento de LMR con base en las buenas prácticas de laboratorio (BPL).
- El compendio de información reunida en esta guía reúne y condensa literatura diseminada en muchos textos densos, lo que la proyecta como un documento de gran interés y consulta para la ejecución de estudios de establecimiento de límites máximos de residuos a partir de ensayos de campo supervisados.

## 6. RECOMENDACIONES

- Para trabajos futuros de ejecución de los estudios para el establecimiento de límites máximos de residuos deben emplearse las buenas prácticas de laboratorio (BPL) como sistema de gestión, ya que requieren de un rigor técnico-científico muy elevado, de alta cantidad y rigurosidad de los componentes, para asegurar la correcta realización de los ensayos de campo y los análisis de laboratorio.
- Divulgar los resultados metodológicos de esta tesina, para que sean utilizados por la comunidad científica y para fines docentes.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- AECOSAN (Agencia española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición). s.f. Informe anual UE de residuos de plaguicidas en alimentos de 2013. En línea. Consultado 31 jul. 2015. Disponible en <http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/web/.shtml>.
- España, J. 2013. Análisis de residuos de plaguicidas en frutas colombianas de exportación y cereales. Tesis Msc. Universidad Nacional de Colombia. 247 p.
- Buzby, J, Unnevehr, L y Roberts, D. 2008. Food Safety and Imports. An analysis of FDA food-related import refusal reports. USDA. 47 p.
- CAN (Comunidad Andina de Naciones). 1998. Decisión 436. Norma Andina para el registro y control de plaguicidas químicos de uso agrícola. 32 p.
- Castro, R. 2015. Proyecto IR-4. Estudio para el establecimiento de Límites Máximos de Residuos (LMR): Caso de spinetoram en aguacate (diapositivas). Bogotá, CO. 39 p.
- DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística, CO). Comercio internacional. Exportaciones. Informe de julio de 2015. En línea. Consultado 22 sep. 2015. Disponible en <http://www.dane.gov.co/index.php/comercio-y-servicios/comercio-exterior/exportaciones>.
- Dow Agrosiences. s.f. Etiqueta Web – Colombia. Exalt 60 SC. Consultado 28 oct. 2015. Disponible en [https://www.dowagro.com/co/pdfs/EXALT60SC\\_ETIQUETA\\_WEB\\_COLOMBIA.pdf](https://www.dowagro.com/co/pdfs/EXALT60SC_ETIQUETA_WEB_COLOMBIA.pdf).
- Dutra, E. s.f. Principios y métodos para estimar límites máximos de residuos de plaguicidas según la JMPR. BR. 8 p.
- El nuevo diario. 2014. Destruyen cargamentos de frutas de EEUU por plaguicidas. En línea. NI, oct. 02. Consultado 11 ago. 2015. Disponible en

<http://www.elnuevodiario.com.ni/internacionales/331356-destruyen-cargamentos-frutas-eeuu-plaguicidas/>.

- EPA (Environmental Protection Agency, US). 1996. Residue chemistry test guidelines. OPPTS 860.1500. Crop field trials. EPA 712–C–96–183. 91 p.
- \_\_\_\_\_. 1996. Residue chemistry test guidelines. OPPTS 860.1340. Residue analytical method. EPA 712–C–96–174. 14 p.
- \_\_\_\_\_. s.f. Límites de tolerancia para pesticidas. En línea. Consultado 21 jul. 2015. Disponible en <http://www.epa.gov/pesticides/regulating/tolerances-sp.html>.
- España, J. 2013. Análisis de residuos de plaguicidas en frutas colombianas de exportación y cereales. Tesis Msc. Universidad Nacional de Colombia. 247 p.
- Espectrometría de masa. Biofísica. 2014. En línea. Consultado 05 oct. 2015. Disponible en [www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/.../2014-04-29\\_TEORIA-MS.pdf?...1](http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/.../2014-04-29_TEORIA-MS.pdf?...1).
- European Commission. 2015. RASFF annual report 2014. UE. 56 p.
- \_\_\_\_\_. 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANCO/12571/2013. UE. 48 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2009. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. Rome, IT. Segunda edición. 279 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) y OMS (Organización Mundial de la Salud). 1969. Alinorm 70/24. Cuarto período de sesiones del CCPR. 70 p.

- \_\_\_\_\_. 2015a. Comisión del Codex Alimentarius: Manual de procedimiento. 23° edición. Roma, IT. 243 p.
- \_\_\_\_\_. 2015b. Documento de información sobre la aplicación de la orientación para facilitar el establecimiento de LMR de plaguicidas para cultivos menores. Consultado 09 oct. 2015. Disponible en <http://www.codexalimentarius.org/infodoc/es/>. 15 p.
- \_\_\_\_\_. s.f.a. Codex Alimentarius: Pesticides residues in food and feed. En línea. Consultado 19 jun. 2015. Disponible en <http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/index.html>.
- \_\_\_\_\_. s.fb. Codex Alimentarius: Residuos de plaguicidas en los alimentos y piensos. Glosario de términos. En línea. Consultado 7 sep. 2015. Disponible en <http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/reference/glossary.html?lang=es>.
- Frutas, el nuevo camino exportador. 2015. Revista Dinero. CO. Publicación en línea de fecha 6/22/2015. Consultado 09 ago. 2015. Disponible en <http://www.dinero.com/pais/articulo/exportaciones-colombianas-fruta/209741>.
- Gobierno nacional de Colombia. Plan Nacional de Seguridad Alimentaria y Nutricional (PNSAN), 2012 -2019. 2012. 68 p.
- ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2014. (Análisis de muestras de aguacate para proyecto de LMR). (Fotografías). Proyecto ICA-IR4. Bogotá. 6 fotografías, color.
- JETRO (Japan External Trade Organization, JP). s.f. Nueva legislación sobre Límites Máximos de Residuos de Plaguicidas (LMR) entró en vigencia en Japón a partir del 29 de mayo 2006. En línea. Consultado 12 ago. 2015. Disponible en <https://www.jetro.go.jp/peru/mercado/res.html>.
- Ministerio de Salud. 1991. Decreto número 1843 de 1991. Uso y manejo de plaguicidas. Artículo 160. CO. 71 p.

- \_\_\_\_\_. 2007. Resolución 2906 de 2007. Límites Máximos de Residuos de Plaguicidas – LMR en alimentos para consumo humano y en piensos o forrajes. CO. 50 p.
- Muñoz, G. 2001. Regulaciones ambientales, reconversión productiva y el sector exportador. Primera edición. EC. Corporación editora nacional. 76 p.
- OCDE (Organisation for Economic Co-operation and Development, FR). 1998. Principios de buenas prácticas de laboratorio de la OCDE. ENV/MC/CHEM(98)17. 44 p.
- \_\_\_\_\_. 1999. Documento de consenso sobre buenas prácticas de laboratorio. Aplicación de los principios de buenas prácticas de laboratorio a los estudios de campo. ENV/JM/MONO(99)22. 15 p.
- OMC (Organización Mundial del Comercio). 2005. Medidas sanitarias y fitosanitarias. Serie de los acuerdos de la OMC. Segunda edición. 62 p.
- \_\_\_\_\_. 2012a. OMC E-learning. Medidas sanitarias y fitosanitarias. 396 p.
- \_\_\_\_\_. 2012b. Informe sobre el comercio mundial 2012. Los efectos de las medidas no arancelarias y las medidas relativas a los servicios en el comercio. Lausana, CH. 252 p.
- \_\_\_\_\_. s.f. Acuerdo sobre obstáculos técnicos al comercio. 22 p.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2010. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos. Guía de autoevaluación de BPL. Reporte técnico 44, anexo 1, No. 957, 2010. 87 p.
- Presidencia de la República de Costa Rica. 2010. Política nacional de inocuidad de los alimentos, N° 35960-S-MAG-MEIC-COMEX. San José, CR. 6 p.
- Procolombia. 2015. Exportaciones de Colombia por renglón. En línea. Consultado 22 sep. 2015. Disponible en <http://www.procolombia.co>.

- \_\_\_\_\_. s.f. Siete datos que desconocía para exportar frutas a Europa. En línea. Consultado 03 ago. 2015. Disponible en <http://www.procolombia.co/actualidad-internacional/agroindustria/>.
- Quattrocchi, O, Abelaira, S y Laba, R. 1992. Introducción a la HPLC. Buenos Aires, AR. Artes gráficas Farro. 407 p.
- UE (Unión Europea). 2005. Reglamento (CE) No. 396/2005 del Parlamento europeo y del Consejo. Límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal. s.p.
- Valdivia, R, Pedro, S y Laurel, M. 2010. Agua para uso en laboratorios. Boletín científico técnico de INIMET (Instituto Nacional de Investigaciones en Metrología, CU). No. 1. pp. 3-10.
- Wauchope, D. 2010. Pesticides and minor crops. (En línea). IUPAC, 7 ABR. 2010. Consultado 25 sep. 2015. Disponible en [http://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com\\_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=3&sobi2Id=37](http://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=3&sobi2Id=37).

## 8. ANEXOS

### Anexo 1. Acta (charter) del proyecto final de graduación (PFG)

Nombre y apellidos: Hugo Andrés Rodríguez Fajardo

Lugar de residencia: Bogotá D.C., Colombia

Institución: Instituto Colombiano Agropecuario - ICA

Cargo / puesto: Profesional especializado

<b>Información principal y autorización del PFG</b>	
<b>Fecha:</b> 2015-06-22	<b>Nombre del proyecto:</b> Propuesta de un manual de referencia para la ejecución de ensayos conducentes al establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas químicos de uso agrícola en Colombia.
<b>Fecha de inicio del proyecto:</b> 2015-07	<b>Fecha tentativa de finalización:</b> 2015-10
<b>Tipo de PFG:</b> Tesina	
<b>Objetivos del proyecto:</b>	
<b>OBJETIVO GENERAL</b> Elaborar un manual de referencia que sirva como guía, para la ejecución de ensayos para el establecimiento de límites máximos de residuos (LMR) de plaguicidas químicos de uso agrícola.	
<b>Objetivos específicos</b>	
1. Diseñar un modelo de ensayos de campo que cumpla los requerimientos de las buenas prácticas de laboratorio (BPL), para obtener muestras	

representativas de productos agrícolas.

2. Documentar los lineamientos técnicos aplicables sobre los métodos de análisis de muestras en el laboratorio, con el fin de aportar algunos parámetros técnicos que son críticos para la validez técnica de los ensayos de establecimiento de LMR.

3. Hacer un compendio de requisitos técnicos definidos por el Códex alimentarius para el establecimiento de LMR, para relacionar la información recolectada con los requerimientos de esta normativa internacional.

**Justificación del proyecto:**

La mayoría de los países latinoamericanos exportan productos agrícolas, principalmente frutas y hortalizas a países industrializados. En la dinámica de la comercialización, los países industrializados han impuesto una serie de obstáculos técnicos al comercio de estos productos, como por ejemplo la imposición del cumplimiento de los límites máximos de residuos (LMR), lo que determina que los productos alimenticios entren o no a esos países, como medida preventiva para el aseguramiento de la inocuidad de los alimentos que se consumen.

Los LMR son definidos por cada país, sin embargo, en armonía con los requisitos definidos en los diferentes acuerdos multilaterales internacionales suscritos por los diferentes países del mundo, los países han adoptado los LMR establecidos por el Códex alimentarius. Por ejemplo, Colombia ha definido por decreto que va a usar de referencia los LMR del Códex, hasta que pueda establecer los propios (Minsalud, 1991).

Sin embargo, los LMR del Códex obedecen a la información técnica proporcionada principalmente por los países desarrollados, para los productos agrícolas de su interés y en sus condiciones.

Muchos de los productos agrícolas, principalmente frutas y hortalizas, producidas en los países latinoamericanos, no cuentan con LMR en el Codex

pues se carece de los estudios conducentes a estos criterios técnicos (FAO/OMS s.f.). Ante esta deficiencia de información en éste, los países desarrollados optan por una estrategia de tolerancia cero, que es un criterio muy estricto, o un valor de tolerancia muy bajo (0,01 ug/kg), lo que impide la entrada de los productos agrícolas en los mercados europeos, asiáticos y norteamericanos.

Ante la carencia de los LMR de frutas y hortalizas exóticas propias de los países latinoamericanos, es necesario el desarrollo de estudios que conlleven a la generación de la información que pueda ser presentada ante la comisión conjunta de residuos de plaguicidas (JMPR por su sigla en inglés) de la organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura (FAO por su sigla en inglés) y la organización mundial de la salud (OMS), la cual es el comité consultivo del códex alimentarius para el establecimiento de LMR.

Los ensayos de campo y los análisis de laboratorio que se necesitan para el desarrollo de los estudios tendientes a la presentación de la información ante la JMPR, deben seguir unos parámetros establecidos en referentes internacionales tales como las BPL (FAO/OMS, 2015).

Dado que este tipo de estudios son completamente nuevos en nuestros países latinoamericanos, es necesario contar con una guía que permita desarrollar los estudios de manera adecuada, con miras a que la información que se presente al códex alimentarius, sea aceptada por esta organización como ente responsable de la normativa mundial de los alimentos.

Con lo mencionado anteriormente, se justifica el desarrollo de este proyecto final de graduación (PFG), como requisito obligatorio para obtener el grado de maestría en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos (MIA).

**Restricciones:**

Ninguna.

**Entregables:**

Avances del Proyecto Final de Graduación (PFG).  
Documento final del PFG para revisión y aprobación.

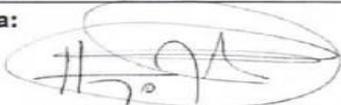
**Identificación de grupos de interés:**Clientes directos

Entidades del Estado colombiano responsables de la definición de directrices en materia de inocuidad alimentaria.

Clientes indirectos

Productores, exportadores, consumidores y comercializadores de productos agrícolas.

Segmento de firmas: (tomado del documento firmado que reposa en el archivo de la UCI).

<b>Aprobado por Director MIA:</b> Dr. Félix Cañet Prades	<b>Firma:</b> 
<b>Aprobado por profesor (a) curso Seminario de graduación:</b> MIA. Ana Cecilia Segreda Rodríguez	<b>Firma:</b> 
<b>Estudiante:</b> Hugo Andrés Rodríguez Fajardo	<b>Firma:</b> 

**BIBLIOGRAFÍA**

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) y OMS (Organización Mundial de la Salud). s.f. Codex Alimentarius: Pesticides residues in food and feed. En línea. Consultado 19 jun. 2015. Disponible en <http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/index.html>.

- \_\_\_\_\_. 2015. Comisión del Codex Alimentarius: Manual de procedimiento. 23° edición. Roma, IT. 243 p.
- Ministerio de Salud. 1991. Decreto número 1843 de 1991. Uso y manejo de plaguicidas. Artículo 160. CO. 71 p.

## **Anexo 2. Responsabilidades del personal**

### **Generales:**

- Mantenerse completa y correctamente informado de las partes de los Principios de Buenas Prácticas de Laboratorio aplicables.
- El personal del estudio debe tener acceso al protocolo del estudio y a los procedimientos estandarizados (POE) aplicables.
- Respetar las instrucciones impartidas en los documentos del estudio. Cualquier desviación con respecto a estas instrucciones deberá estar debidamente respaldada por documentos y puesta en conocimiento del Director del estudio.
- Registrar los datos originales de forma rápida y precisa y asumir la responsabilidad de la calidad de estos datos.
- Diligenciar los registros que estén bajo su cargo en forma clara y legible.
- Mantener buenas condiciones higiénicas en la ejecución de las actividades.
- Poner en conocimiento de las personas del estudio cualquier estado de salud o de afección de que se tenga conocimiento y que puede ejercer una influencia sobre el estudio.

### **Del Organizador del estudio:**

- Velar por el respeto de los Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio durante todo el estudio.
- Realizar todas las actividades de gestión necesarias para la ejecución del estudio.
- Asegurar la buena calidad de los suministros adquiridos para la ejecución del estudio (insumos, reactivos, sustancia de prueba, sustancias de referencia, equipos, documentos, etc.)

- Gestionar que todos los recursos necesarios se encuentren disponibles en sus lugares de uso.
- Asegurar que el Director del estudio apruebe el protocolo.
- Asegurar que el Director del estudio ha puesto a disposición del personal, el protocolo y los POEs debidamente aprobados.
- Verificar que la sustancia de prueba y las sustancias de referencia se han caracterizado correctamente.
- Revisar que los POEs estén de acuerdo con los requerimientos técnicos del estudio.

**Del Patrocinador:**

- Velar por el respeto de los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio durante todo el estudio.
- Asegurar la disponibilidad de los recursos del estudio.
- Realizar las actividades administrativas que haya lugar para la ejecución del presupuesto aprobado para el estudio.
- Verificar la existencia de una declaración que designe al personal del estudio y sus responsabilidades.
- Asegurar que existan y se encuentran disponibles el número suficiente de personas calificadas, así como instalaciones, equipos y materiales necesarios para el estudio.
- Asegurar que el personal comprenda claramente las actividades y responsabilidades que debe llevar a cabo, y cuando proceda, gestionar para capacitarle sobre este particular.
- Asegurar que exista una Unidad de aseguramiento de la calidad dotada de personal específicamente designado para tal fin.

- Verificar que el Director del estudio designado posee las calificaciones, la capacitación y la experiencia requeridas, antes de iniciar el estudio.
- Asegurar que se haya designado una persona como responsable de la gestión de los archivos.

**Del Director del estudio:**

- Velar por el respeto de los Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio durante todo el estudio.
- Dirigir en forma general el estudio y llevar los controles que sean necesarios.
- Describir las actividades y responsabilidades del personal involucrado en el estudio.
- Consolidar y gestionar con el organizador del estudio el presupuesto del estudio.
- Realizar las actividades necesarias, para la ejecución del presupuesto en bien de la correcta ejecución del estudio.
- Escribir el protocolo del estudio.
- Asegurar que se mantenga un archivo numerado de todos los POEs.
- Informar al patrocinador y al organizador, cualquier requerimiento necesario para llevar a cabo el estudio.
- Enviar a la Unidad de aseguramiento de la calidad el protocolo del estudio, para su evaluación.
- Revisar y aprobar el protocolo del estudio y cualquier enmienda que hubiese sido introducida a éste.
- Asegurar que el protocolo haya sido firmado por el patrocinador.
- Asegurar que los procedimientos operativos estandarizados sean pertinentes y técnicamente valederos.

- Revisar que los procedimientos operativos estandarizados sean adecuados y estén acordes con el protocolo.
- Asegurar que las fincas seleccionadas para el estudio, cumplan con los requerimientos técnicos correspondientes.
- Informar a la Unidad de aseguramiento de calidad, cualquier enmienda eventual que se dé al protocolo del estudio o algún procedimiento operativo estandarizado.
- Enviar y verificar que todo el personal que lleva a cabo el estudio dispone del protocolo y de los POEs del estudio correspondientes, con las enmiendas aprobadas a que haya lugar.
- Evaluar y reportar cualquier desviación que incida en la integridad del estudio y, llegado el caso, tomar las medidas correctivas adecuadas.
- Elaborar el informe final del estudio.

**Del Investigador de campo:**

- Aplicar las BPL en todo momento del estudio.
- Elaborar el pedido de los equipos, materiales e insumos de campo, necesarios para la ejecución del estudio.
- Revisar el protocolo y expresar oportunamente los comentarios técnicos que se tengan hacia el mismo.
- Salvaguardar el protocolo y los POEs que están bajo su cargo.
- Realizar y supervisar los ensayos de campo de acuerdo al protocolo y a los POEs correspondientes.
- Informar al Director del estudio cualquier desviación que haya sufrido el estudio con respecto al protocolo y a los POEs.

- Mantener controladas las condiciones de almacenamiento y las especificaciones técnicas de la sustancia de prueba.
- Recolectar la información de campo necesaria durante la implementación del estudio.
- Llevar y conservar los registros de la información de campo necesaria durante la implementación del estudio.
- Responder con prontitud a los requerimientos del Director de estudio y de la Unidad de aseguramiento de la calidad.
- Proporcionar entrenamiento al personal técnico que esté bajo su cargo y/o participe en el estudio.
- Brindar la información técnica necesaria durante el estudio, con el fin de que se cumpla a cabalidad el protocolo del estudio.
- Recolectar, embalar y custodiar las muestras tomadas para el estudio, hasta su llegada al laboratorio.
- Notificar en el menor tiempo posible al Director del estudio y al Investigador de laboratorio, sobre el envío de las muestras.
- Realizar el tratamiento post cosecha a los sitios de prueba instalados para la realización del estudio.
- Realizar la disposición correcta de los envases de la sustancia de prueba, de acuerdo al POE correspondiente.
- Asegurar la rastreabilidad de la información de los estudios de campo.
- Proveer la información de campo, los registros y documentos (Libros de campo y todos los datos crudos) al encargado del archivo histórico del estudio y al Director del estudio.

- Firmar y enviar la declaración de conformidad, junto con cualquier desviación de las BPL, en su informe o paquete de datos.
- Confirmar la finalización del estudio realizando el contacto con el Director de Estudio.

**Del Investigador de laboratorio:**

- Aplicar las BPL en los análisis de laboratorio.
- Elaborar el pedido de los equipos, materiales y reactivos del laboratorio, necesarios para la ejecución del estudio.
- Revisar el protocolo y expresar oportunamente los comentarios técnicos que se tengan hacia el mismo.
- Salvaguardar el protocolo y los POEs que están bajo su cargo.
- Realizar y supervisar los análisis de laboratorio de acuerdo al protocolo y a los POEs.
- Informar al Director del estudio en el menor tiempo posible, sobre cualquier desviación que haya sufrido el estudio con respecto al protocolo y a los POEs.
- Mantener controladas las condiciones de almacenamiento y las especificaciones técnicas de las sustancias de referencia.
- Analizar las muestras del estudio, de acuerdo con los POEs establecidos, así como también custodiar las mismas durante su estancia en laboratorio y el tiempo necesario de archivo.
- Recolectar la información necesaria de los análisis de laboratorio durante el desarrollo del estudio.
- Llevar y conservar los registros de la información necesaria de los análisis de laboratorio durante el desarrollo del estudio.
- Crear y mantener un archivo del estudio junto con los análisis.

- Responder con prontitud a los requerimientos del Director de estudio y de la Unidad de aseguramiento de la calidad.
- Proporcionar entrenamiento al personal técnico que este bajo su cargo y/o participe en el estudio.
- Brindar la información técnica necesaria durante el estudio, con el fin de que se cumpla a cabalidad el protocolo del mismo.
- Realizar el informe de investigación del laboratorio, de acuerdo con lo descrito en el protocolo, proporcionando la información necesaria.
- Asegurar la rastreabilidad de la información derivada de los análisis de laboratorio.
- Firmar y enviar la declaración de conformidad, junto con cualquier desviación de las BPL, en su informe o paquete de datos.

**Del Inspector de la Unidad de aseguramiento de la calidad:**

- Verificar que el protocolo del estudio contiene la información necesaria en correlación con los Principios de Buenas Prácticas de Laboratorio. Esta verificación se deberá respaldar por medio de los documentos o listas de chequeo.
- Firmar el protocolo del estudio.
- Conservar copias del protocolo y de los POEs aprobados.
- Elaborar las listas de chequeo o inspección, correspondientes a la Unidad de aseguramiento de la calidad.
- Establecer por medio de inspecciones si el protocolo del estudio y los POEs se encuentran disponibles para el personal del estudio.

- Establecer por medio de inspecciones (auditorias), al laboratorio y a los demás emplazamientos de campo, si el protocolo del estudio y los procedimientos operativos han sido respetados debidamente.
- Conservar debidamente las actas relativas a las inspecciones realizadas.
- Dar cuenta sin mayor demora, y por escrito, de cualquier resultado de inspección, al Director del estudio.
- Examinar el informe final con objeto de confirmar que los métodos analíticos empleados en el laboratorio, los POEs y las observaciones, se describen de forma fidedigna y en su totalidad, como también que los resultados consignados reflejan de forma exacta y completa los datos originales del estudio.
- Redactar y firmar una declaración, que se deberá integrar al informe final, la cual precise la naturaleza de las inspecciones y las fechas en que se han llevado a cabo, las fases del estudio sometidas a inspección, así como las fechas en que los resultados de las inspecciones se han comunicado al Director del estudio, o a los responsables principales de las pruebas, según convenga. Esta declaración servirá asimismo para confirmar que el informe final contiene la totalidad de los datos originales.

### **Anexo 3. Lista de POES**

#### **Generales:**

- Requerimientos generales para el desarrollo y uso de los procedimientos operativos estandarizados POEs
- Sistema de numeración de POEs y formatos
- Esquema para la escritura de POEs y formatos
- Entrenamiento del personal
- Actividades y responsabilidades del personal del estudio
- Organigrama del proyecto
- Instalaciones de oficina
- Procedimientos generales de archivo
- Almacenamiento de datos crudos durante la vida útil del proyecto
- Recolección y anotación de datos crudos
- Corrección de errores de datos crudos

#### **De campo:**

- Selección de los sitios de prueba
- Preparación del sitio de prueba
- Seguimiento a la parcela durante el estudio
- Almacenamiento de la sustancia de prueba
- Calibración de los equipos de aplicación
- Operación y mantenimiento del equipo de aplicación
- Aplicación de productos de plaguicidas químicos

- Tratamientos agronómicos adicionales al cultivo
- Recolección, embalaje y envío de muestras
- Tratamientos post-cosecha del sitio de prueba
- Medición de la sustancia de prueba
- Uso, conservación y verificación de equipos de campo

**De laboratorio:**

- Instalaciones del laboratorio
- Instalaciones para el almacenamiento de reactivos químicos
- Instalaciones para el almacenamiento de muestras en el laboratorio
- Manejo y control de sustancias de referencia
- Seguridad en el laboratorio
- Requerimientos generales para mantenimiento y calibración de equipos
- Lavado de material de laboratorio
- Almacenamiento en sistemas de enfriamiento
- Control de soluciones
- Preparación de soluciones estándar
- Recepción y codificación de muestras
- Preparación de la muestra para el análisis de residuos de plaguicidas
- Estudio de estabilidad durante el almacenamiento de muestras en el laboratorio
- Movimiento de muestras y almacenamiento a largo plazo
- Control y manejo de registros
- Revisión y análisis de datos de laboratorio

- Disposición de desechos químicos
- Chequeo de micropipetas
- Método analítico
- Validación del método analítico
- Disposición de las muestras
- Emisión de resultados de laboratorio

**De la Unidad de aseguramiento de la calidad:**

- Unidad de aseguramiento de la calidad (UAC), términos y responsabilidades
- Auditoría a los datos crudos de campo
- Inspección de instalaciones
- Inspección durante la fase analítica del estudio
- Auditoría a los datos crudos de análisis de laboratorio