

**PEREZ-GUERRERO TRUST FUND FOR ECONOMIC AND TECHNICAL
COOPERATION AMONG DEVELOPING COUNTRIES MEMBERS OF THE
GROUP OF 77**

**ASSESSMENT AND STUDY OF THE RESIDUAL EFFECT OF PESTICIDES
UTILIZATION ON CROP PRODUCTS AND FLOWERS IN AMERICA LATINA
(Final Report)**

**EVALUACION Y ESTUDIO DEL EFECTO RESIDUAL DE LA APLICACION DE
PLAGUICIDAS EN PRODUCTOS DE COSECHA
(Reporte Final)**

Country: Colombia

Number project: INT/00/K09

**Submitted by: Jairo Arturo Guerrero Dallos Ph.D.
Chemistry Department
Universidad Nacional de Colombia**

June 2004

RESUMEN

La mala utilización de los plaguicidas principalmente su uso excesivo, las sobredosis, la aplicación inadecuada por los agricultores pueden ocasionar la presencia de residuos de plaguicidas en las frutas y hortalizas; lo anterior puede originar riesgos tanto para la salud humana como para la comercialización en los diferentes mercados mundiales. El presente estudio tiene por objeto evaluar la presencia de residuos de plaguicidas de alto riesgo en fresa, repollo, uchuva, tomate y papa, cultivos representativos de diferentes regiones de Colombia y de esta forma determinar la calidad de estos alimentos; requisito importante dentro de convenios internacionales relacionados con la inocuidad de alimentos y su comercialización. El estudio de campo y la toma de muestras se efectuó en municipios de Cundinamarca, Boyacá y Huila; Colombia. En la mayoría de las muestras (96,4%) no se encontraron residuos que sobrepasaran los límites máximos de residuos, LMRs. Se encontraron tres muestras positivas con residuos de plaguicidas (4,6%); dos muestras con residuos de clorpirifos en tomate, y una muestra con residuos de aldicarb en papa. Para la evaluación de las muestras se diseñaron y validaron metodologías multiresiduo por cromatografía de gases con detectores de μ -ECD y NPD para compuestos organoclorados, organofosforados y piretroides y por HPLC con derivatización poscolumna y detección por fluorescencia para compuestos n-metilcarbamatos. Estas metodologías permitieron determinar concentraciones alrededor de los límites máximos de residuos de estos compuestos para cada una de la matrices.

Palabras Claves: Plaguicidas, Frutas, Hortalizas, Cromatografía, Residuos,

SUMMARY

The inappropriate use of pesticides mainly its excessive use, i.e. over dosage, dosage's changes and lacking of background information of agricultural practices, could generate the presence of pesticides residues in Colombian fruits and vegetables. Moreover, the occurrence of pesticide residues above the MRLs might create public health risk and affect the international trade. The present research work deals with the determination of pesticide residues of high risk potential in strawberry, cabbage, gooseberry, tomato and potato taken from representative areas in Colombia to evaluate the food quality and safety. These 2 factors being an important requirement for international agreements related to the trade of food commodities. Field sampling studies and samples collection were carried out in Cundinamarca, Boyaca and Huila, Colombia. In most of the samples (96.4%) residues were below the Maximum Residue Limits (MRLs). Three samples(4.6%) were contaminated with pesticides residues, two tomato samples having chlorpyrifos and one potato sample having aldicarb exceeding the MRLs. In order to evaluate residues of high pesticide risk potential, multi-residue methods were implemented and validated by GC using simultaneous parallel μ -ECD and NPD detectors to determine organochlorine, organophosphorus and pyrethroids compounds and by HPLC with postcolumn derivatization and fluorescence detection for determination of n-methyl carbamates. These methodologies allow the quantitation of concentrations at the level of MRLs for each matrix.

Key words: Pesticides residue , fruits, vegetables, Chromatography,

INTRODUCCIÓN

El hombre ha desarrollado la agricultura como una de sus principales fuentes alimentarias y ya que la población aumenta a un ritmo vertiginoso se han tenido que implementar modelos de producción agrícola de alto rendimiento para suplir con buena calidad y suficiente cantidad el mercado mundial.

Existen diferentes estrategias para aumentar la productividad alimentaria tales como: nuevas técnicas agrícolas, el empleo de semillas mejoradas y el uso de productos de protección de cultivos, grupo dentro del cual están los plaguicidas (1). Cuando se aplica una o varias de estas estrategias combinadas, puede llegar a multiplicarse la cosecha normal de un cultivo.

Colombia es un país agrícola por excelencia y el uso de plaguicidas se ha convertido en una necesidad básica en los cultivos de frutas y hortalizas como una herramienta eficaz para controlar enfermedades, insectos, malezas y otros organismos que pueden interferir con la producción de cultivos. Sin embargo, la mala utilización de los plaguicidas particularmente la sobredosisación, además de su aplicación en tiempos no apropiados y en cultivos en los que no han sido registrados, hacen de estas sustancias, un riesgo potencial para la salud humana y para el medio en general, ya que se trata de productos generalmente tóxicos, que pueden presentar residuos tóxicos en el producto final que va al consumidor y por ende disminución en su calidad (2).

Sin embargo, aunque los beneficios de los plaguicidas son claros en la producción agrícola, es necesario hacer un buen uso y manejo de los mismos, controlando los riesgos que se originan en todas las etapas de su manipulación incluyendo producción, transporte, almacenamiento y aplicación, esta última es la más importante por los riesgos de contaminación que puede originar al medio ambiente, aire, agua y suelo, así como los

residuos que se pueden originar en los alimentos pudiendo ocasionar riesgos para la salud, e impidiendo la fácil comercialización en los diferentes mercados.

En Colombia, debido a que una de las prácticas agrícolas más frecuentes es el monocultivo no tecnificado y al bajo nivel educativo de quienes manejan el producto en el campo, se genera la utilización indiscriminada de plaguicidas causando un incremento en el nivel de riesgo tanto para sí mismos como para los consumidores finales y el medio ambiente.

Con el objetivo de proteger la salud de los consumidores y asegurar que se aplique al alimento solamente la cantidad mínima de plaguicida que realmente es necesaria para combatir una plaga la legislación Colombiana sigue los Límites Máximos de Residuos (LMR's). Los LMR's indican la cantidad máxima de residuo de un plaguicida en un determinado producto, basándose en estudios de ingesta diaria promedio de ese alimento y en la toxicidad que presente ese plaguicida en particular (3).

Para la determinación de residuos de plaguicidas en productos de cosecha tales como frutas y hortalizas es necesario el montaje de metodologías analíticas, adecuadas, sensibles, reproducibles, confiables y debidamente validadas que permitan su cuantificación y determinación, para de esta forma evaluar la inocuidad y calidad de los productos que ingiere el consumidor (4,5,6,7)

En el Departamento de Química se viene trabajando desde hace cerca de tres años en el análisis de residuos de plaguicidas en el marco del convenio OIEA – Universidad Nacional de Colombia. Este incluye el proyecto COL5018 "Evaluación y Estudio Residual de la Aplicación de Plaguicidas en Productos de Cosecha y flores de Corte", del que hace parte el análisis de residuos de plaguicidas en productos de cosecha.

Esta investigación tuvo como objetivo principal la determinación de residuos de plaguicidas en cosechas de alto riesgo tales como fresa, repollo, uchuva, tomate y papa en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, y Huila, pues teniendo el conocimiento tangible de residuos en estos productos facilitará plantear estrategias de educación al agricultor para hacerlo consciente del riesgo en la salud humana, así como para educarlo en la aplicación adecuada y no indiscriminada de plaguicidas (8,9,10,11).

MATERIALES Y METODOS

Toma de las muestras de campo. Siguiendo un diseño de muestreo aleatorio estratificado, y basados en el estudio de Nausa (12), se analizaron 20 muestras de fresa tomadas en los municipios de Facatativa (una finca), Sibaté (13 fincas) y Guasca (6 fincas), departamento de Cundinamarca, los mayores productores de este fruto en Colombia. Siguiendo el mismo diseño y basados en el trabajo de Santiago (13), se analizaron muestras de repollo en el municipio de Madrid (5 fincas) , departamento de Cundinamarca.

Para el muestreo de uchuva se tuvo en cuenta la población encuestada por Nausa (12) en el municipio de Granada en el departamento de Cundinamarca, se utilizó un método de muestreo estratificado desproporcionado, con ocho estratos de seis fincas cada uno, se tomo una muestra por cada estrato, con un total de 8 muestras para la evaluación de campo.

Para el estudio en papa se aplicó un muestreo completamente al azar en 28 fincas con áreas entre 1 y 19 hectáreas ubicadas en los municipios de Carupa, Chivatá, Chocontá, Cogua, Pasca, Sibaté, Soracá, Subachoque, Tausa, Toca, Turmeque, Usme, Villapinzón y Zipaquirá por ser los de mayor producción del cultivo en los departamentos de Cundinamarca y Boyacá (14).

Las muestras de tomate que se analizaron se recolectaron en el municipio de Gigante, Huila mediante un muestreo simple aleatorio sin reemplazo, tomando un total de 10 muestras correspondientes a 10 fincas del municipio y teniendo como base la encuesta realizada por Farias (11).

En todos los casos la muestra de laboratorio fue de 1 kg proveniente por cuarteo de una muestra de campo entre 6 y 8 kg. Al llegar la muestra al laboratorio, se hizo la preparación de la muestra retirando restos de tejidos tales como cepalos, el caliz, las hojas en mal estado, el suelo, dependiendo de la matriz, y lavando con agua del grifo. Las muestras se almacenaron a -20°C en bolsas de polietileno debidamente codificadas.

Procedimiento de extracción y limpieza. Teniendo en cuenta las características de la matriz y de los analitos a determinar, se aplicó una misma metodología de extracción para compuestos tales como organoclorados, organofosforados y piretroides, y que pudieran determinarse por cromatografía de gases. La metodología aplicada se obtuvo como resultado de una evaluación y adaptación de las usadas en diferentes laboratorios de control

a nivel internacional (15,16). En las tablas de resultados se muestran los plaguicidas evaluados en cada una de las matrices, con Límites Máximos de Residuos establecidos por el Codex Alimentarius (3) y adoptados por Colombia según decreto 1843 de 1991 del Ministerio de Salud (17). Puesto que en Colombia no existe regulación para uchuva se consideraron los límites máximos de residuos establecidos para solanáceas, pues esta fruta corresponde a esta familia. Se buscó eliminar pasos como la partición líquido – líquido, los cuales son muy dispendiosos y requieren grandes cantidades de solventes pero que actualmente siguen siendo muy usados por los organismos de control en el análisis de residuos de plaguicidas en material vegetal (18). Una vez homogeneizada la muestra se realizó la extracción de la muestra analítica con acetato de etilo, ya que por no ser completamente miscible con el agua no requiere de particiones adicionales. Además, el acetato de etilo posee baja toxicidad y su miscibilidad con el agua es apropiada para permitir una buena penetración en las células vegetales (4).

La limpieza para este tipo de compuestos, organoclorados, organofosforados y piretroides se realizó por GPC para eliminar interferentes de alto peso molecular que contienen las matrices en estudio, como por ejemplo: clorofilas, pigmentos, ceras, proteínas, carotenos, entre otros. La limpieza emplea una fase móvil compuesta por acetato de etilo y ciclohexano, solventes que son de baja toxicidad. Para el caso de repollo se realizó una limpieza adicional mediante una minicolumna empacada con silicagel y de la cual se eluyeron los plaguicidas con acetato de etilo (19). El procedimiento se muestra en la figura 1.

El proceso de extracción para los residuos n-metilcarbamatos (aldicarb, carbofuran y sus metabolitos aldicarb sulfoxido, aldicarb sulfona y 3-hidroxicarbofuran, respectivamente) en papa se realizó con Diclorometano, y la limpieza se llevo a cabo pasando los extractos a través cartuchos Extrelut (20,21). El procedimiento se muestra en la figura 2.

Proceso de separación, identificación y cuantificación. Una vez realizada la extracción y limpieza de cada una de las matrices, se procedió a la separación e identificación de cada uno de los plaguicidas mediante cromatografía de gases con detector de μ -captura electrónica (μ -ECD) y detector de nitrógeno-fósforo (NPD) para los plaguicidas organoclorados, organofosforados y piretroides (22) y mediante cromatografía líquida de

alta eficiencia con derivatización postcolumna y detección por fluorescencia para los n-metilcarbamatos (23,24).

Instrumentación y condiciones cromatográficas. Se utilizó un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6890 Plus (Palo Alto, CA.USA) con control electrónico de presión, equipado con un detector de micro-captura electrónica μ -ECD ^{63}Ni y un detector de nitrógeno-fósforo NPD, acoplados en paralelo mediante un divisor de flujo (Y) de borosilicato al final de la columna capilar HP-5 (30 m x 0,35 mm d.i.,df 0,25 μm).

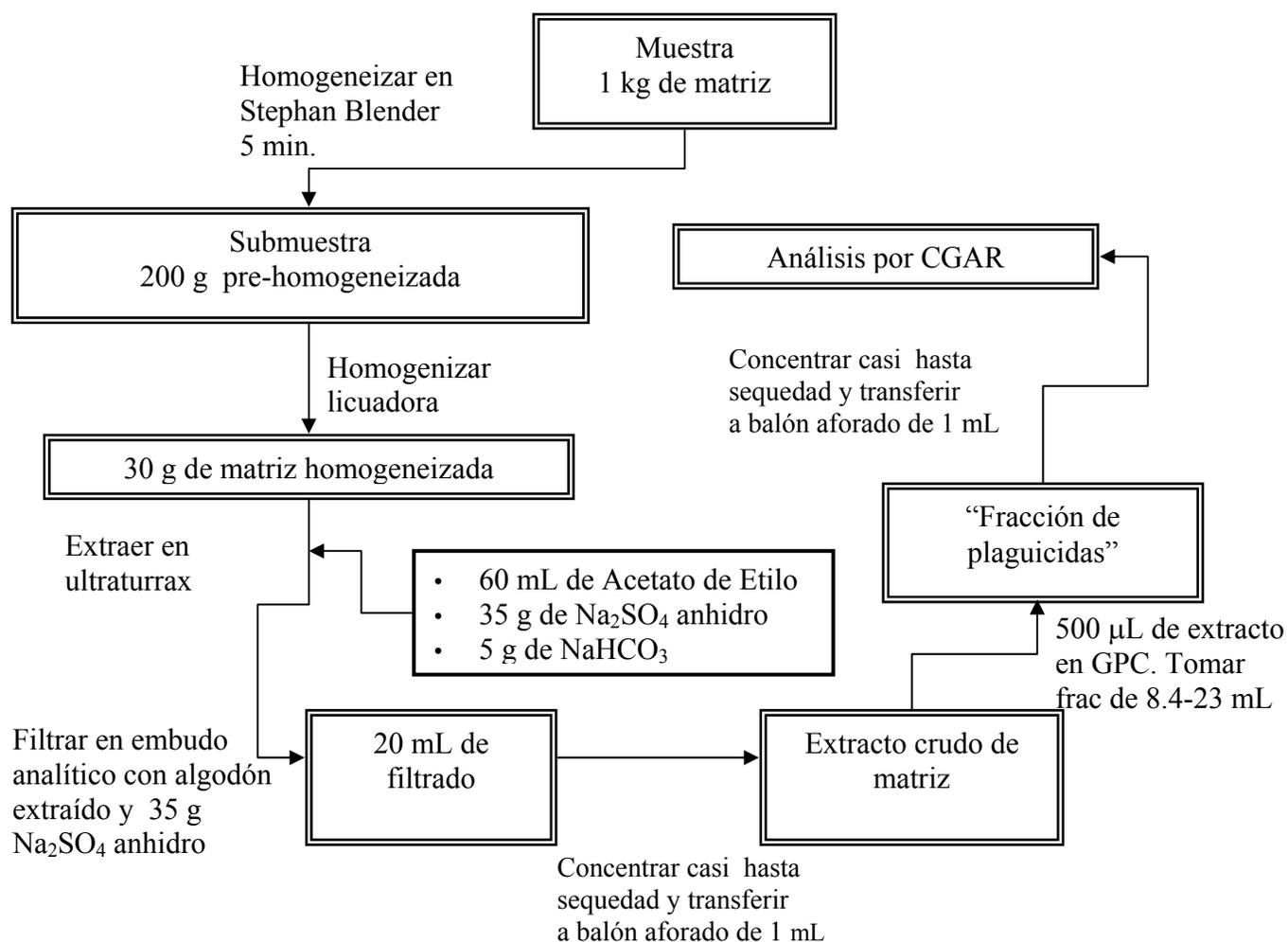


Figura 1. Procedimiento de extracción y limpieza en la determinación de organoclorados, organofosforados y piretroides por cromatografía de gases con detector μ -ECD y NPD.

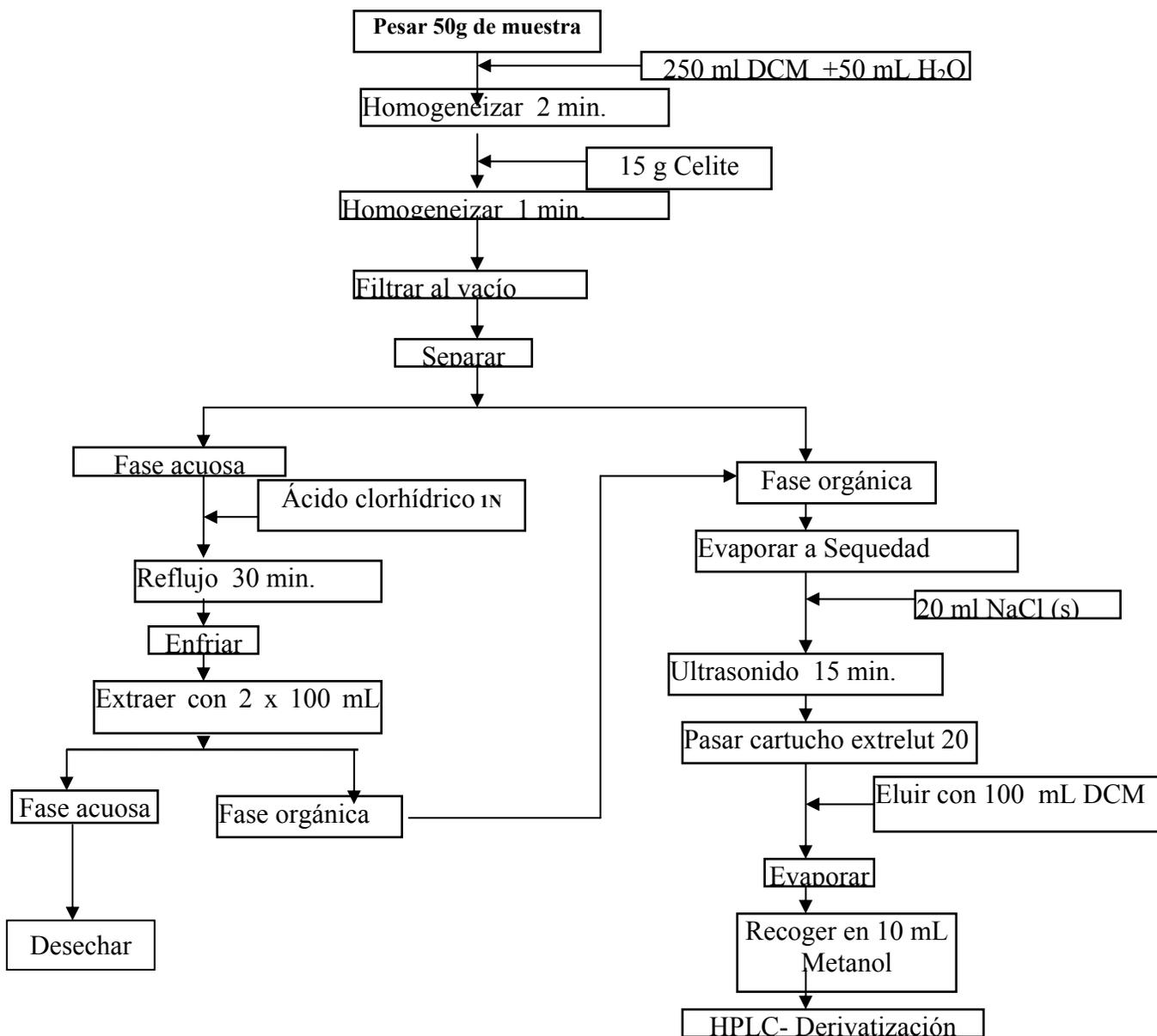


Figura 2. Procedimiento de extracción y limpieza en la determinación de residuos de plaguicidas n-metilcarbamatos en papa por HPLC con derivatización postcolumna.

Las condiciones cromatográficas comunes utilizadas en el análisis de los plaguicidas en las diferentes matrices fueron las siguientes: volumen de inyección 2 μ L; inyección en modo *splitless* pulsado con un pulso presión. El gas de transporte fue nitrógeno, utilizando modo de presión constante. Tanto el detector μ -ECD como el detector NPD trabajaron con flujo de nitrógeno como gas auxiliar. El programa de temperatura utilizado para cada matriz fue diferente puesto que los plaguicidas evaluados eran diferentes. Las condiciones cromatográficas para la evaluación de los plaguicidas en tomate se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones del cromatógrafo de gases para la determinación de plaguicidas en tomate.

| Parámetro cromatografico | Valor |
|--|--------------|
| Temperatura del inyector °C | 259 |
| Presión del pulso de inyección (psi) | 78,7 |
| Tiempo del pulso de inyección (min) | 1,10 |
| Flujo de purga en la válvula de venteo (mL/min) | 30,1 |
| Tiempo apertura de la válvula de venteo (min) | 1,11 |
| Temperatura del detector NPD °C | 321 |
| Flujo de aire en el NPD (mL/min) | 89 |
| Flujo de hidrógeno en el NPD (mL/min) | 5,0 |
| Flujo del gas auxiliar en el NPD (mL/min) | 4,1 |
| Tiempo que permanece cerrado el flujo de hidrógeno (min) | 1,75 |
| Temperatura del detector μ -ECD (°C) | 325 |
| Flujo del gas auxiliar en el μ -ECD (mL/min) | 4,0 |
| Flujo de la columna (mL/min) | 2,3 |
| Temperatura inicial del horno (°C) | 36 |
| Tiempo del horno en las condiciones iniciales (min) | 1,0 |
| Incremento en la primera rampa (°C/min) | 38 |
| Temperatura final rampa I (°C) | 261 |
| Tiempo de espera temperatura final rampa I (min) | 9,97 |
| Incremento en la segunda rampa (°C) | 40 |
| Temperatura final rampa 2 (°C) | 280 |
| Tiempo de espera temperatura final rampa 2 | 6,49 |

Todas las muestras se inyectaron en acetato de etilo. En el proceso de extracción y limpieza se utilizaron un homogenizador Stephan Blender 2010, un homogenizador de alta velocidad Ultraturrax T25 (IKA) y un equipo de GPC KL-SX-3 de Redemend Bt, este ultimo empacado con un polímero de estireno-divinilbenceno con 3% de entrecruzamiento. Las

condiciones de este equipo fueron: solvente de elución acetato de etilo-ciclohexano(1:1); flujo de elución 1 mL/min.

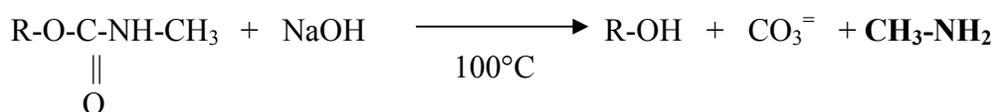
Los n-metil carbamatos se analizaron por HPLC. Se usó un cromatógrafo líquido de alta eficiencia Shimadzu SCL-6B con unidad de derivatización postcolumna Pickering PCX 5100, detector de fluorescencia Shimadzu RF-535 ($\lambda_{\text{excitación}}=330$ nm y $\lambda_{\text{emisión}}=465$ nm), estación de procesos Shimadzu C-R4A Chromatopac con registrador, software C-R4A Chromatopac system Versión 2.8. La separación se llevo a cabo con una columna Pickering RP-18 (150x4mm d.i., 8 μm). Las condiciones cromatográficas y condiciones de derivatización utilizadas en el análisis de los plaguicidas n-metilcarbamatos fueron las siguientes: volumen de inyección 10 μL , se uso como fase móvil acetonitrilo-agua mediante un programa de gradiente el cual se muestra en la tabla 2, flujo de la fase móvil 1.0 mL/min, temperatura de la columna 42 °C, temperatura del reactor de hidrólisis 100 °C, derivatización a temperatura ambiente, flujos de los reactivos de hidrólisis y de derivatización 0,3 mL/min.

Tabla 2. Programa de elución para la separación de los plaguicidas n-metilcarbamatos.

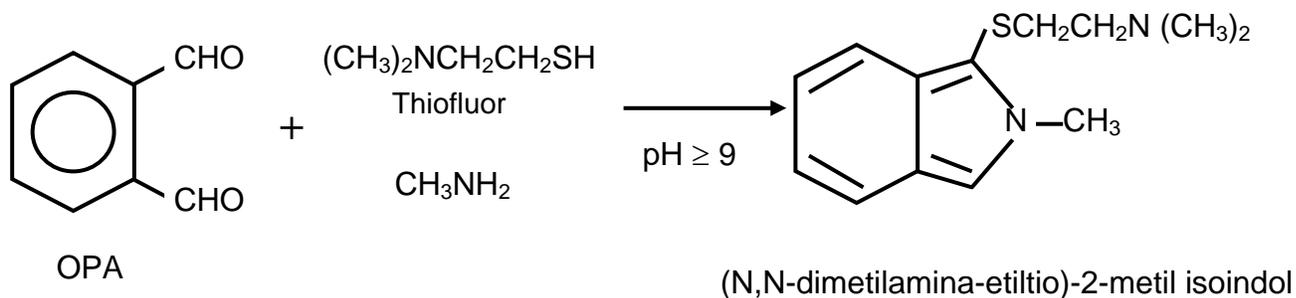
| ETAPA | TIEMPO (min.) | % ACETONITRILO | % AGUA |
|-------|------------------|----------------|--------|
| 1 | 0 – 3 | 15 | 85 |
| 2 | 3 – 30 (Lineal) | 55 | 45 |
| 3 | 30 – 32 | 55 | 45 |
| 4 | 32 – 35 (Lineal) | 15 | 85 |
| 5 | 35 – 45 | 15 | 85 |

Las reacciones involucradas en la derivatización para la determinación de los n-metilcarbamatos son las siguientes: los n-metilcarbamatos eluidos de la columna son hidrolizados en medio básico a una temperatura de 100°C con la producción de alcohol, carbonato y la metilamina correspondiente al plaguicida.

La reacción que involucra la etapa de hidrólisis es la siguiente:



Posteriormente la amina primaria reacciona con el O-ftalaldehido (OPA) y el tioflor en un segundo reactor postcolumna para producir el derivado (N,N-dimetilamina-etiltio)-2-metilisoindol altamente fluorescente y el cual es el que se detecta. La reacción que se lleva a cabo en esta segunda etapa de derivatización es:



Materiales de referencia, reactivos y soluciones. Los materiales de referencia de plaguicidas con porcentajes de pureza entre 97-100% se obtuvieron de Dr.Ehrensthorfer (Augsburg, Germany). Los estándares de aldicarb, aldicarb sulfoxido y aldicarb sulfona fueron suministrados por Rhone Poulenc y el carbofuran y su metabolito 3-hidroxicarbofuran por Bayer Pflanzenschutz Zentrum Monheim. El acetato de etilo, ciclohexano y diclorometano grado residuos de plaguicidas; metanol, acetonitrilo solventes HPLC; bicarbonato de sodio, silica gel (60-200 mesh) grado analítico y sulfato de sodio anhidro grado residuos se obtuvieron de J.T. Beaker y Mallinckrodt. Ortoftalaldehido, OPA, para análisis por fluorometria y tioflor grado cromatografico se obtuvieron de Merk y Pickering Laboratories respectivamente.

Se prepararon soluciones madre de los materiales de referencia en concentración cercana a 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en acetato de etilo para los compuestos a determinar por cromatografía de gases y en metanol a una concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para los n-metilcarbamatos, las cuales se almacenaron a -20°C .

La solución de hidrólisis para la determinación y derivatización de los n-metilcarbamatos se preparo pesando 2,0 g de hidróxido de sodio en un litro de agua grado HPLC. El reactivo de derivatización se preparo disolviendo 3,0 g de ácido bórico y 0,9 g de hidróxido de sodio en un litro de agua grado HPLC (solución buffer). En 5 mL de esta solución se disolvieron

2,0 g de tiofluor y se adicionaron a la solución buffer. Se disolvieron 0,1 g de o-ftalaldehído en 10 mL de metanol grado HPLC y se adicionaron a la solución buffer.

Muestras blanco. Para la obtención de las matrices blanco, exentas de plaguicidas, se obtuvieron de fincas donde se cultivan productos orgánicos. Estas matrices se analizaron cromatográficamente para verificar su utilización como blancos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos de los estudios agronómicos realizados por la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional, se seleccionaron los plaguicidas de alto riesgo a evaluar en cada una de las matrices en estudio (10,11,12,13). Los plaguicidas organoclorados, organofosforados y piretroides se determinaron simultáneamente por cromatografía de gases con detector μ -ECD y detector de nitrógeno-fósforo NPD, mediante un divisor de flujo (Y), permitiendo su determinación simultánea con una sola inyección. Los plaguicidas Aldicarb, carbofuran y sus metabolitos se determinaron por cromatografía líquida de alta eficiencia con derivatización postcolumna y detección por fluorescencia puesto que estos plaguicidas son de alta toxicidad y además son de los más utilizados en el cultivo de papa, matriz seleccionada para la evaluación de estos plaguicidas.

Validación de las metodologías. Una vez se determinaron las condiciones cromatográficas, los procesos de extracción y limpieza de los plaguicidas de interés en cada una de las matrices en estudio, se validaron las metodologías bajo los parámetros de especificidad y selectividad, linealidad, precisión, exactitud, límites de detección, límites de cuantificación y robustez (25,26).

Especificidad y Selectividad. Se inyectaron los extractos blancos, exentos de plaguicidas, correspondientes a cada una de las matrices. Las metodologías demostraron ser específicas y selectivas puesto que los programas de temperatura en cromatografía de gases permitieron separar adecuadamente los analitos analizables de los interferentes de las matrices. La figura 4 muestra como ejemplo el cromatograma de la mezcla de plaguicidas en extracto de matriz de fresa al segundo nivel de calibración por μ -ECD y NPD.

En la determinación de los n-metilcarbamatos por HPLC la especificidad es demostrada por Las reacciones de hidrólisis y de derivatización con la producción del (N,N-dimetilamina-etilto)-2-metil isoindol que es altamente fluorescente y la capacidad del detector de seleccionar radiación de excitación y de emisión a la vez. La selectividad se demostró por la capacidad del método para dar una respuesta diferenciada de los componentes endógenos de la papa, de la respuesta diferenciada del blanco de reactivos y de los plaguicidas aldicarb y sus metabolitos aldicarb sulfoxido y aldicarb sulfona y carbofuran y su metabolito 3-hidroxicarbofuran . La figura 3 muestra el cromatograma para la muestra de papa fortificada con los plaguicidas n-metil carbamatos.

Precisión. Se evaluó para todas las matrices a través de todo el rango de calibración bajo condiciones de repetibilidad y de precisión intermedia con tres replicas para fresa, repollo y papa y cuatro replicas para uchuva y tomate expresando los resultados como coeficientes de variación para visualizar la dispersión de los datos. En general, se observa para todas las matrices un perfil claro de precisión, aumentando la dispersión a valores mas pequeños de concentración. También se encuentra que la dispersión es mayor en los estudios de precisión intermedia para la mayoría de los compuestos, ya que estos ensayos implican la variación debida a las fluctuaciones del equipo, analista, soluciones, etc. en diferentes días, mientras que la repetibilidad muestra la variación en un solo día de análisis.

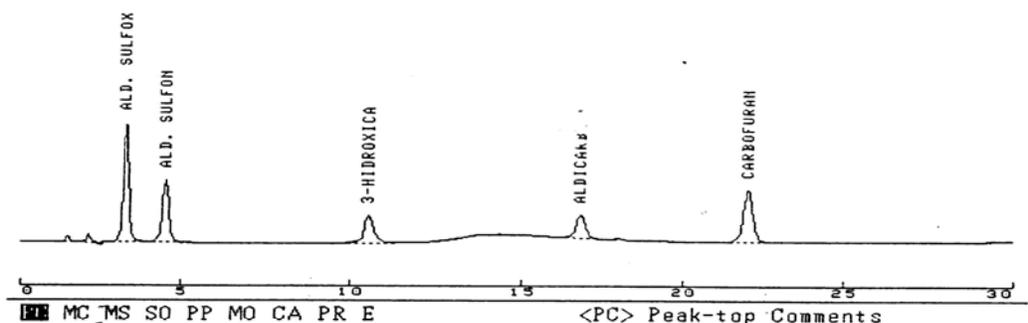


Figura 3. Extracto de papa fortificado con aldicarb sulfóxido, aldicarb sulfona, 3-hidroxicarbofuran, aldicarb y carbofuran a concentración de 0,1 mg/kg.

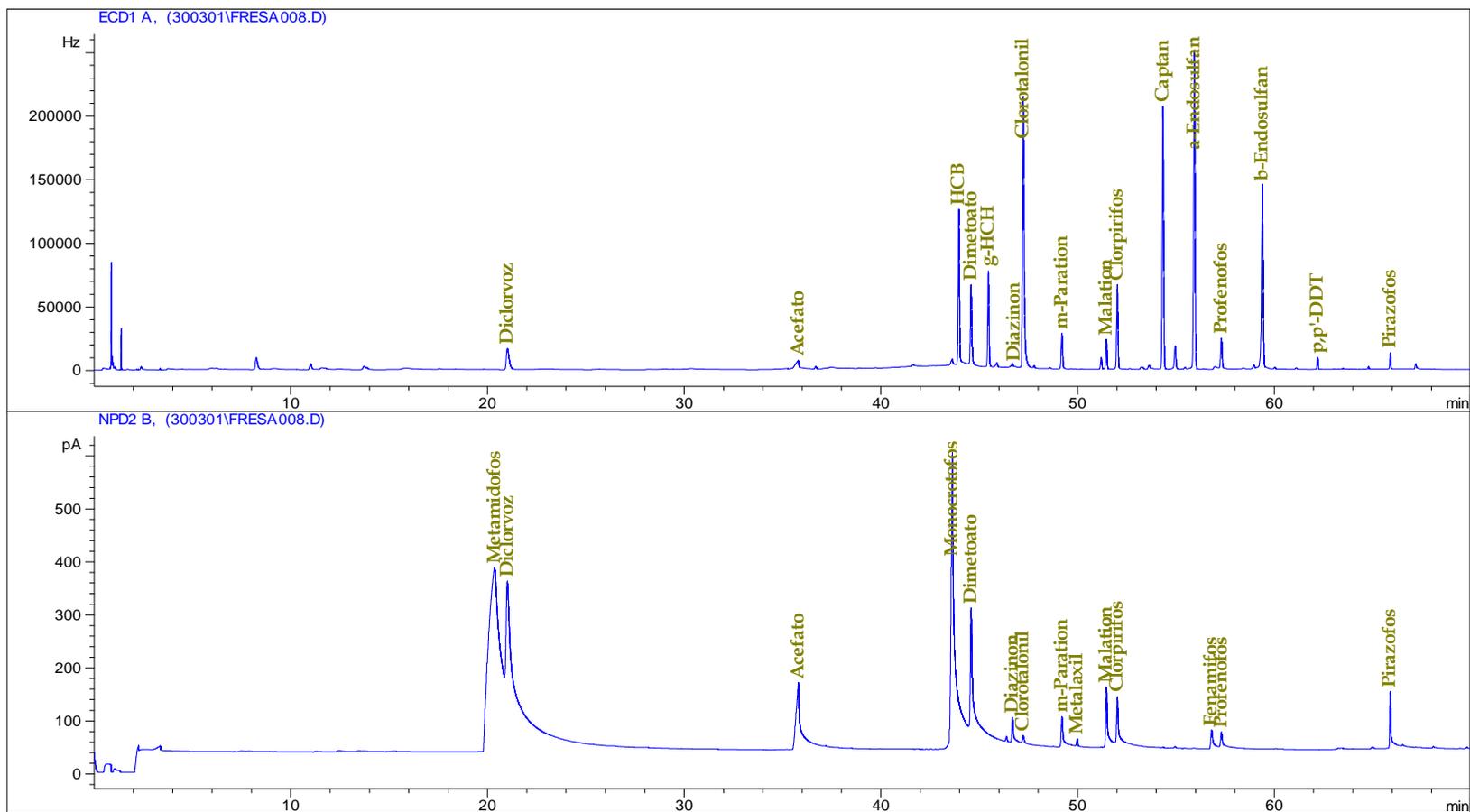


Figura 4. Cromatograma de extracto de fresa fortificado con mezcla de los plaguicidas organoclorados y organofosforados

a) usando detector μ -ECD y b) detector NPD

Se observo también una mayor dispersión para aquellos compuestos que eran detectados por NPD, principalmente debido a problemas de inestabilidad en este detector y a la asimetría que presentan muchos de los picos, principalmente los más polares, lo cual impide una cuantificación más precisa.

Algunos compuestos tales como clorotalonil, captan, y algunos organofosforados han sido ampliamente estudiados por su inestabilidad durante el procesamiento de la muestra y se ha concluido en algunos casos, especialmente para clorotalonil que no debería ser incluido en metodologías multiresiduo. Aunque el clorotalonil tiene una gran presión de vapor, mayor que la de otros plaguicidas, su volatilidad es relativamente baja (27,28).

El caso del captan es un poco diferente, ya que a diferencia del clorotalonil, sus rutas de degradación son bien conocidas. Este plaguicida tiende a ser pirolizado muy rápidamente durante la inyección en cromatografía de gases, generando tetrahidroftalimida. Este producto de degradación también puede ser formado metabólicamente, por lo que es probable que ocurra en el procesamiento de la muestra durante las metodologías planteadas (27).

Hill, Harris y Warburton reportan anomalías en la respuesta para algunos compuestos en matrices frutales, lo que necesariamente conduce a que la dispersión presente valores altos. En fresa dieron como resultado valores de CV menores a 20 % y 28% para los estudios de repetibilidad y precisión intermedia respectivamente. En uchuva tanto en el estudio de repetibilidad como de precisión intermedia se obtuvieron valores menores del 21% (9). Para repollo dieron como resultados valores menores de 22 % para repetibilidad y 34% para precisión intermedia (26).

En tomate los resultados obtenidos para el ensayo de repetibilidad mostraron coeficientes de variación por debajo del 16% a excepción de triflumuron, que presentó un CV de 21% y en el ensayo de precisión intermedia se encontraron valores entre 1.7 % y 32 % ; con dispersiones grandes para triflumuron, tebuconazol y metamidofos, estos dos últimos detectados por NPD (12). En papa, los resultados encontrados presentaron coeficientes de variación por debajo del 15 % para los dos ensayos (10). En la tabla 3 se presenta como ejemplo los resultados del estudio de repetibilidad para aquellos compuestos detectados por NPD en uchuva.

Teniendo en cuenta las concentraciones tan bajas a las cuales se trabajó y la complejidad de las matrices estudiadas, se encontró que la matriz repollo, es una de las más complejas razón por la cual fue necesario un proceso adicional de limpieza con Silica. A pesar de esta limpieza, fue la matriz en la que mayor dispersión se encontró tanto en el estudio de repetibilidad como en el estudio de precisión intermedia. También se puede estimar que las grandes dispersiones para aquellos compuestos detectados por NPD son consecuencia de la inestabilidad del detector y a la asimetría que presentan estos picos en el mismo.

Efecto matriz. Uno de los mayores inconvenientes en la cuantificación por cromatografía de gases es el denominado “efecto matriz”, el cual consiste en el aumento de la respuesta del analito cuando se encuentra en presencia de la matriz (29,30,31) . Este incremento se puede

Tabla 3. Repetibilidad de la metodología y LMR para uchuva por NPD

| ITEM | COMPUESTO | C.V. N5 | C.V. N4 | C.V. N3 | C.V. N2 | C.V. N1 | LMR |
|------|--------------|---------|---------|---------|---------|---------|------|
| 1 | Monocrotofos | 4,21 | 4,05 | 10,0 | 7,38 | 6,94 | 1,0 |
| 2 | Metalaxil | 2,75 | 2,43 | 4,85 | 6,60 | 5,87 | 0,5 |
| 3 | Tiabendazol | 4,45 | 2,36 | 4,26 | 2,13 | 8,03 | 2,0 |
| 4 | Profenofos | 2,75 | 1,85 | 4,00 | 1,72 | 5,87 | 2,0 |
| 5 | Iprodion | 6,66 | 6,69 | 5,06 | 7,24 | 15,4 | 10,0 |

* El valor del LMR esta dado en mg/kg

determinar cuando los componentes de la matriz u otros plaguicidas en una mezcla compleja compiten con los analitos por los sitios activos en el inyector, principalmente en el liner, protegiéndolos de la absorción o degradación. Si se consideran dos muestras que contienen concentraciones idénticas de plaguicidas, una de las cuales está preparada en solvente puro y la otra en extracto de matriz y son analizados por cromatografía de gases, esta ultima puede presentar picos cromatograficos mayores. Los componentes de la matriz (ceras, pigmentos, lípidos etc), que muchas veces no pueden ser separados de los analitos durante el proceso de limpieza, parecen proteger a los plaguicidas de la adsorción o descomposición catalítica en el inyector, permitiendo que más muestra sea transferida a la columna.

Este fenómeno no se da por igual en todos los analitos ni en todas las matrices, el aumento de la señal está determinado por parámetros tales como el carácter más o menos polar del plaguicida, el tipo de matriz (con mayor incidencia se da en las de alto contenido de aceites esenciales, como la naranja y las que contienen ceras, como muchos granos), la relación de concentración analito/matriz y el cuidado del sistema cromatográfico. Por tanto, es posible que en un método multiresiduo se presente el efecto matriz para alguno de los analitos, caso en el cual es necesario cuantificar dicho analito en extracto de matriz.

Como consecuencia del error asociado a este efecto es necesario evaluar la respuesta de los analitos en solvente puro y compararla con la respuesta en extracto de matriz para determinar si el efecto es representativo por medio de diferentes herramientas estadísticas (9,11,31).

En fresa se encontró que 10 compuestos detectados por μ -ECD y 11 compuestos detectados por NPD presentan efecto matriz (8). En repollo la mayoría de los compuestos detectados por NPD presentan efecto matriz, mientras que por μ -ECD 6 de 15 compuestos dieron positivo el efecto matriz (1). En uchuva se encontró que todos los compuestos tanto por μ -ECD como por NPD presentan efecto matriz (9). En tomate se encontró que todos los compuestos presentan efecto matriz a excepción de λ -Cihalotrina (11).

Teniendo en cuenta los resultados de las pruebas estadísticas realizadas en las cuales la mayoría de los compuestos presentan efecto matriz en cada una de las matrices evaluadas, se decidió realizar las curvas de calibración para la cuantificación de las muestras con curvas de calibración en extracto de matriz fortificado con cada una de las mezclas de plaguicidas a evaluar en cada una de las matrices. En la tabla 4 se presentan los resultados de la prueba estadística realizada para la evaluación del efecto matriz en tomate.

Tabla 4. Promedio de pendientes e interceptos de las curvas de calibración en solventes y extracto de matriz de tomate empleadas en las pruebas de diferencia de medias para determinar el efecto matriz de los analitos detectados por μ -ECD y NPD .

| Compuesto | Pendiente en solvente | Pendiente en extracto | Hipótesis de igualdad de pendientes | Intercepto curva en solventes | Intercepto curva en extracto | Hipótesis igualdad de interceptos | Efecto matriz |
|------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|---------------|
| Triflumuron | 162458,486 | 267194,5825 | Rechaza | -76892,989 | 95780,7538 | Rechaza | Presenta |
| Clorotalonil | 1463386,57 | 2326311,932 | Rechaza | -74105,674 | 30374,7673 | Acepta | Presenta |
| Clorpirifos | 1156545,45 | 1546249,456 | Rechaza | -6132,2383 | 70835,6666 | Acepta | Presenta |
| Endosulfan | 1618865,75 | 1793403,885 | Rechaza | 107552,851 | 366030,818 | Rechaza | Presenta |
| Propargite | 22664,1357 | 23600,41693 | Acepta | -16983,031 | 39427,4583 | Rechaza | Presenta |
| λ -Cihalotrina | 2408969,86 | 2347506,847 | Acepta | -45700,031 | -13613,612 | Acepta | No presenta |
| Permetrina | 191366,212 | 414837,6652 | Rechaza | 1139886,56 | 82385,7148 | Rechaza | Presenta |
| β -Ciflutrina | 1875418,92 | 2683637,719 | Rechaza | -82216,58 | 123546,244 | Acepta | Presenta |
| Cipermetrina | 1466097,97 | 1848229,737 | Rechaza | -94756,175 | 213466,975 | Acepta | Presenta |
| Deltametrina | 1031872,93 | 1677548,527 | Rechaza | -3400,3181 | 300834,694 | Rechaza | Presenta |
| Metamidofos* | 131,662529 | 315,0008197 | Rechaza | -28,477989 | -24,748611 | Acepta | Presenta |
| Tebuconazol* | 23,7339955 | 36,13966832 | Rechaza | -0.4987274 | -0.4208495 | Acepta | Presenta |

Linealidad. Las curvas de calibración se generaron a partir de las áreas de las señales cromatográficas correspondientes a cada uno de los plaguicidas. Se prepararon las curvas de calibración a cuatro niveles de concentración para fresa y repollo, 5 niveles de concentración para uchuva y tomate y 10 niveles de calibración para papa, con un número de 4 y 5 replicas realizadas durante días diferentes para todas las matrices, a excepción de la papa la cual se trabajó con 7 replicas. Los niveles de concentración de cada plaguicida se prepararon en tal forma que el LMR estuviera dentro del rango de la curva de calibración. Las curvas de calibración se prepararon en extracto de matriz, puesto que en cromatografía de gases se encontró efecto matriz para la mayoría de los plaguicidas. Para los plaguicidas evaluados en papa los niveles de calibración se prepararon en solvente, puesto que estos plaguicidas se evaluaron por HPLC, donde el efecto matriz es insignificante. Las curvas de calibración se modelaron según el método de mínimos cuadrados simple (32). Se evaluaron la pendiente y el intercepto mediante un estadístico de *t Student* (32,33) y la regresión y desvío de la linealidad mediante un análisis de varianza ANOVA con estadístico de *F de Fisher* (33). En la tabla 5 se muestran las concentraciones de las curvas de calibración en

extracto de matriz para repollo. En general, como análisis de las pruebas de linealidad en las diferentes matrices (fresa, repollo, uchuva y tomate) se concluye que las curvas de calibración, en el rango de calibración trabajado y bajo las condiciones instrumentales previamente diseñadas, presentan comportamiento lineal por tanto los resultados son proporcionales a la concentración en las curvas de calibración en matriz. Se presentaron algunos problemas en la cuantificación en fresa, repollo y tomate principalmente con aquellos compuestos detectados por NPD como metamidofos donde debido al ensanchamiento y forma irregular del pico se obtuvo coeficientes de correlación por debajo de 0.999 o hubo un desvío de la linealidad (1,8,9,11).

Para el caso de las curvas de calibración realizadas para los analitos en papa todos los compuestos cumplieron con las pruebas de linealidad, demostrando que la cuantificación es adecuada para la determinación de residuos de estos n-metilcarbamatos (10). La figura 5 muestra la curva de calibración con sus límites de confianza en fresa por μ -ECD para malation.

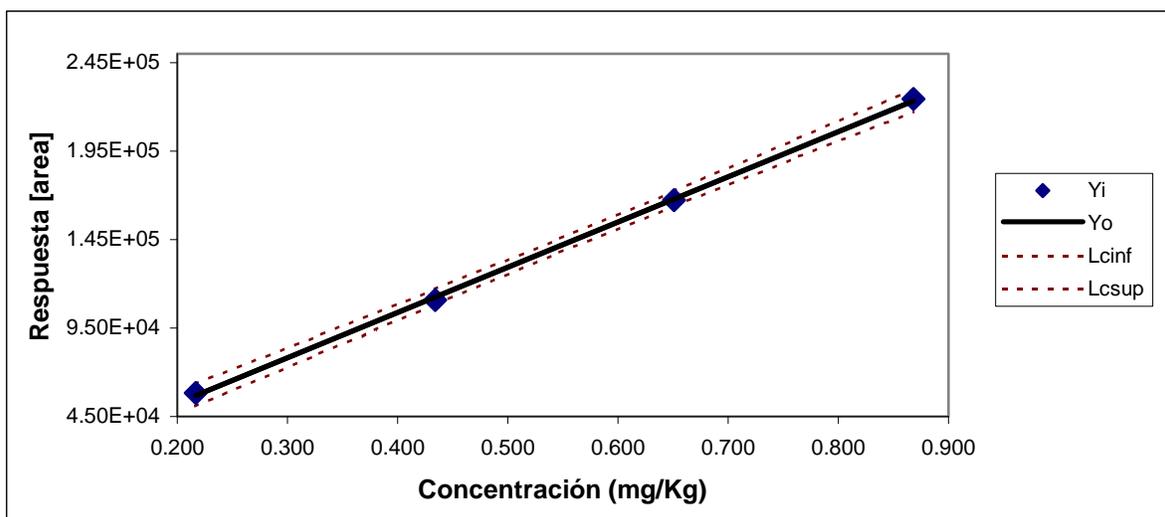


Figura 5. Curva de calibración en extracto de matriz de fresa fortificado para malation por μ -ECD

Tabla 5. Concentraciones de las curvas de calibración en extracto de matriz de repollo

| Compuesto | Nivel 1 ($\mu\text{g/mL}$) 0,25 L.A. | Nivel 2 ($\mu\text{g/mL}$) 0,5 L.A. | Nivel 3 ($\mu\text{g/mL}$) L.A.* | Nivel 4 ($\mu\text{g/mL}$) 2 L.A. |
|------------------|--|---|--|---|
| Metamidofós | 3,07 | 6,14 | 12,27 | 24,55 |
| Diclorvos | 2,62 | 5,24 | 10,48 | 20,97 |
| Acefato | 4,95 | 9,90 | 19,80 | 39,59 |
| HCB | 0,25 | 0,50 | 1,00 | 2,01 |
| Dimetoato | 2,50 | 4,99 | 9,99 | 19,98 |
| γ -HCH | 0,76 | 1,51 | 3,03 | 6,05 |
| Monocrotofós | 3,05 | 6,09 | 12,19 | 24,38 |
| Diazinón | 0,90 | 1,80 | 3,61 | 7,21 |
| Clorotalonil | 0,99 | 1,99 | 3,98 | 7,96 |
| M-paratión | 0,50 | 1,00 | 2,00 | 4,00 |
| Metalaxil | 2,49 | 4,98 | 9,97 | 19,94 |
| Malatión | 6,71 | 13,41 | 26,83 | 53,65 |
| Clorpirifos | 0,25 | 0,50 | 0,99 | 1,99 |
| Captan | 1,24 | 2,48 | 4,96 | 9,93 |
| Endosulfán | 2,00 | 4,00 | 8,00 | 16,00 |
| Fenamifos | 0,25 | 0,50 | 1,00 | 2,00 |
| Profenofos | 0,47 | 0,93 | 1,87 | 3,73 |
| DDT | 0,63 | 1,25 | 2,50 | 5,00 |
| Pirazofos | 2,48 | 4,96 | 9,92 | 19,84 |

*L.A. Es la concentración en $\mu\text{g/mL}$ equivalente al LMR

Limites críticos. La cantidad mínima detectable (CMD) y la cantidad mínima cuantificable (CMC) se calcularon por el método de la IUPAC (34) para todas las matrices a excepción de tomate, los cuales se calcularon por el método de Meier y Zund (33). En todos los casos se utilizaron las curvas de calibración en extracto de matriz. En la tabla 6 se muestran los rangos para los límites críticos encontrados para los plaguicidas evaluados en cada una de las matrices. Como se puede ver, las metodologías son lo suficientemente sensibles pues permiten determinar concentraciones en el orden de los $\mu\text{g/kg}$ para la mayoría de los plaguicidas de interés. Además la CMC se encuentra por debajo del límite máximo de residuos establecido por el Codex Alimentarius, lo que permite determinar concentraciones cercanas al LMR con exactitud y precisión. En repollo se encontró que no es posible cuantificar monocrotofós a concentraciones cercanas a LMR (0,2 mg/kg); pues

se determinó para este compuesto una CMD de 0,61 mg/kg, valor muy por encima del límite máximo de residuos.

Tabla 6. Rangos de CMD Y CMC para plaguicidas evaluados en diferentes matrices

| | μ -ECD | | NPD | |
|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | CMD (μ g/kg) | CMC (μ g/kg) | CMD (μ g/kg) | CMC (μ g/kg) |
| Uchuva | 15,0 - 78,0 | 15,0 - 200,0 | 16,0 - 42,0 | 40,0 - 400,0 |
| Fresa | 16,0 - 44,0 | 17,0 - 400,0 | 10,0 - 1800,0 | 17,0 - 2900,0 |
| Repollo | 30,0 - 520,0 | 50,0 - 520,0 | 10,0 - 930,0 | 20,0 - 990,0 |
| Tomate | 4,0 - 178,0 | 7,0 - 282,0 | 31,0 - 62,0 | 49,0 - 98,0 |
| Papa* | 0,9 - 1,4 | 3,0 - 4,7 | | |

* Detectados por fluorescencia

Exactitud. Se evaluó por medio del porcentaje de recuperación a través de todo el rango de calibración, con 3 replicas para papa, 4 replicas para uchuva, 5 replicas para fresa repollo y tomate. Se tomaron porciones analíticas de blanco de cada una de las matrices y se fortificaron con la mezcla de plaguicidas correspondiente a cada matriz. Se analizó cada porción analítica bajo la metodología planteada anteriormente.

Con los resultados de recuperación obtenidos se realizó una prueba con estadístico G de Cochran para evaluar si la variabilidad de los resultados se ve afectada por los niveles de concentración, y una prueba con estadístico de *t Student* para evaluar si los porcentajes de recuperación difieren del 100 %.

En fresa, para aquellos compuestos detectados por μ -ECD se encontraron recuperaciones promedio entre 80 - 101 %; para 8 compuestos se determinó la influencia de la concentración en el %R y para diclorvos y P,P' DDT se encontró que las recuperaciones son diferentes al 100%. Los compuestos detectados por NPD presentaron porcentajes de recuperación promedio entre 55 - 98%. Acefato y metamidofos presentaron %R menores a 70 %. Tres compuestos presentaron porcentajes de recuperación significativamente diferentes al 100 % y dos compuestos presentaron influencia de la concentración en el porcentaje de recuperación (8).

En repollo para aquellos compuestos detectados por μ -ECD se encontraron recuperaciones promedio entre 100-124% a excepción de captan, compuesto en el que se han reportado problemas en su análisis (27,28). Para la mayoría de los compuestos no existe influencia en la concentración en el porcentaje de recuperación, y en 9 de los 15 compuestos determinados por este detector existe diferencia significativa del 100%. Los compuestos detectados por NPD presentaron porcentajes de recuperación promedio entre el 62 -124%. Metamidofos y acefato presentaron bajas recuperaciones debido principalmente a sus propiedades fisicoquímicas las cuales los hace muy solubles en agua. El dimetoato presentó influencia de la concentración en el porcentaje de recuperación y 7 de los 12 compuestos determinados por este detector difieren estadísticamente del 100% (1).

Para uchuva se encontraron recuperaciones promedio entre 72 y 105% para los compuestos detectados por μ -ECD y, entre 80 y 103% para los compuestos detectados por NPD. En todos los compuestos no se encontró influencia de la concentración en el porcentaje de recuperación y solamente para monocrotofos, metalaxil y tiabendazol no hay que realizar corrección del porcentaje de recuperación, pues para estos tres compuestos el porcentaje de recuperación es estadísticamente igual al 100 % (9).

En tomate se encontraron recuperaciones promedio del 90% teniendo en cuenta los dos detectores, y en todos los analitos no se encontró influencia de la concentración en el porcentaje de recuperación; pero para todos los compuestos se encontró que sus recuperaciones eran estadísticamente diferentes al 100% (11).

En papa los porcentajes de recuperación obtenidos para aldicarb fueron bastante bajos, 19,8%, 36,1% y 59,7% para las concentraciones de 0,5 mg/kg, 0,4 mg/kg y 0,1 mg/kg respectivamente. En todos los cromatogramas se presentaba evidencia de la transformación del aldicarb a sus metabolitos, principalmente hacia el aldicarb sulfona. Lo anterior coincide con lo reportado por Cairns, Siegmund y Savage (35). Para carbofuran y su metabolito 3-hidroxicarbofuran se presentaron recuperaciones entre 76,7% y 104,7%. La prueba de Cochran mostró que la variabilidad de los resultados no se ve afectada por los niveles de concentración para los analitos y la prueba *t-student* mostró que para carbofuran y su metabolito su porcentaje de recuperación es estadísticamente igual al 100% mientras que para aldicarb y sus metabolitos no lo es (10).

En la tabla 7 se presentan los resultados de la exactitud en fresa para los compuestos detectado por μ -ECD con sus respectivas pruebas estadísticas de homogeneidad de varianzas y *t-student* para porcentaje de recuperación.

Robustez. Con el objetivo de determinar los parámetros críticos que pueden afectar la reproducibilidad de los resultados se evaluó la robustez mediante variaciones deliberadas en parámetros del método para las mismas muestras. La evaluación estadística se realizó por el modelo experimental propuesto por Plackett y Burman donde se toman 7 factores determinantes y ocho experimentos. En el caso de uchuva el análisis estadístico se llevó a cabo por un diseño factorial incompleto de dos niveles (9).

En fresa se encontró necesario mantener especial cuidado con la temperatura del evaporador rotatorio al concentrar los extractos. En repollo se encontraron como parámetros críticos la temperatura del evaporador rotatorio, el volumen del solvente de extracción y la fracción recogida en el proceso de limpieza. En Uchuva se encontraron como parámetros críticos el ajuste en la respuesta del detector NPD y la temperatura del inyector; y en tomate se encontró que no se debe llevar a sequedad en el proceso de concentración en el evaporador rotatorio.

Sería importante controlar cada una de las variables críticas encontradas en cada una de las metodologías. En el caso de la papa la longitud de onda de emisión y de excitación tienen un efecto significativo en la metodología propuesta por tanto es necesario tener muy bien calibrado el detector de fluorescencia. La tabla 8 muestra los resultados del estudio de robustez para la determinación de plaguicidas n-metil carbamatos en papa.

Análisis de muestras. Siguiendo las metodologías validadas se determinaron los residuos de plaguicidas evaluados en cada una de las matrices de acuerdo al muestreo citado previamente.

En fresa en el municipio de Facatativa se encontraron residuos de malation a nivel de trazas y de captan por debajo del LMR. De acuerdo con el estudio realizado por Nausa (12) estos dos plaguicidas tenían un 100% de uso en este cultivo en este municipio. En Sibaté se encontró captan en el 46 % de las fincas pero en ninguna sobrepasa los LMR. En dos muestras se encontró clorotalonil y en una muestra se encontró malation en concentración cuantificable. Se encontraron clorpirifos (2 muestras), dimetoato (1 muestra) y Profenofos

(2 muestras) en concentración a nivel de trazas. El estudio de Nausa mostró que en este municipio el porcentaje de uso de estos plaguicidas encontrados era bastante bajo siendo el

Tabla 7. Porcentajes de recuperación y pruebas estadísticas para compuestos detectables por μ -ECD en fresa.

| Compuesto | N1 | | N2 | | N3 | | N4 | | Evaluadores | |
|----------------------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------------|----|
| | %R | CV | %R | CV | %R | CV | %R | CV | t | G |
| Diclorvozo | 63,4% | 23 | 80,9% | 7,2 | 80,3% | 8,9 | 96,7% | 5,1 | R | NR |
| HCB | 75,4% | 8,3 | 96,4% | 13 | 88,5% | 4,7 | 119% | 4,8 | NR | NR |
| Dimetoato | 108% | 41 | 113% | 18 | 96,3% | 6,4 | 124% | 8,2 | NR | R |
| γ -HCH | 81,5% | 18 | 93,4% | 5,8 | 89,4% | 5 | 115% | 4,8 | NR | R |
| Clorotalonil | 74,2% | 20 | 93,6% | 5,9 | 89,8% | 6,9 | 115% | 7,1 | NR | NR |
| m-Paration | 87,5% | 17 | 96,2% | 3,2 | 92,8% | 4,9 | 118% | 5,8 | NR | R |
| Malation | 93,1% | 16 | 99,8% | 3,6 | 96,5% | 5,6 | 114% | 3,1 | NR | R |
| Clorpirifos | 83,6% | 16 | 94,5% | 5,3 | 90,0% | 4,3 | 119% | 4,4 | NR | R |
| Captan | 85,0% | 13 | 91,6% | 9,4 | 86,4% | 11 | 114% | 12 | NR | NR |
| α -Endosulfan | 81,7% | 17 | 95,9% | 5,2 | 90,4% | 4,6 | 117% | 3,3 | NR | R |
| Profenofos | 102% | 10 | 99,4% | 5,7 | 91,7% | 11 | 111% | 5,2 | NR | NR |
| β -Endosulfan | 85,8% | 15 | 96,5% | 4,4 | 92,4% | 5,3 | 121% | 3,4 | NR | R |
| p,p'-DDT | 86,9% | 11 | 89,4% | 6,6 | 84,3% | 6,1 | 109% | 7,9 | R | NR |
| Pirazofos | 81,2% | 22 | 92,8% | 15 | 85,0% | 18 | 112% | 6,0 | NR | NR |
| Endosulfanes | 83,4% | 16 | 96,1% | 4,5 | 91,2% | 4,8 | 119% | 3,3 | NR | R |

N = nivel de calibración

%R porcentaje de recuperación al nivel especificado

C.V. coeficiente de variación para n=5, donde n es el número de replicas

t Evaluador de t de student para el % de recuperación

G Evaluador de Cochran

R Rechaza la hipótesis .

NR no rechaza la hipótesis

Tabla 8. Resultados de la evaluación de robustez de n-metilcarbamatos en papa por HPLC

| Variable/ ensayo | Diferencia Significativa | | | | |
|-------------------------------------|--------------------------|------------------|----------------------|----------|------------|
| | Aldicarb sulfoxido | Aldicarb sulfona | 3-hidroxi-carbofuran | Aldicarb | Carbofuran |
| T hidrólisis ($^{\circ}$ C) 100/90 | NO | NO | NO | SI | NO |
| T columna ($^{\circ}$ C) 42/37 | NO | NO | NO | NO | NO |
| Y Excitación (nm) 330/320 | SI | SI | SI | SI | SI |
| Y Emisión (nm) 465/455 | SI | SI | SI | SI | SI |
| V elución (ml) 100/80 | NO | NO | NO | NO | SI |
| t elución (min) 20/15 | NO | SI | SI | NO | SI |
| t inyección (h) 2/100 | NO | NO | NO | NO | NO |

mas altos el de clorpirifos, captan y endosulfan con porcentajes de uso de 76%, para Clorpirifos y de 60.8% para captan y endosulfan. En el municipio de Guasca se encontró captan en el 50% de las muestras analizadas a concentración cuantificable pero por debajo del LMR. Este plaguicida presentó un porcentaje de uso de 52.9 % en esta región, de acuerdo con Nausa (12).

En repollo, en ninguna de las muestras analizadas del municipio de Madrid se encontraron residuos de plaguicidas. De acuerdo con el estudio de Santiago (13) realizado en el municipio de Madrid, Cundinamarca, en el repollo se aplicaban 25 ingredientes activos donde se destaca el insecticida clorpirifos con más de un 60% de uso, también se reportó el uso de dimetoato, profenofos, clorotalonil, metamidofos y captan, pero en porcentajes mucho menores, los cuales también fueron evaluados en este estudio y no se encontraron residuos.

De acuerdo con el estudio de Nausa (12), en uchuva los productos más usados fueron profenofos con el 28 % de uso, metalaxil 22%, difenoconazol 20% y deltametrina 16%, pero no encontrándose residuos de los 13 plaguicidas evaluados en ninguna de las muestras analizadas.

En tomate se encontró clorpirifos en el 50 % de las muestras analizadas, presentándose en dos muestras concentraciones que sobrepasaron el LMR. Propargite fue el segundo plaguicida más frecuente, encontrándose en dos muestras a concentración cuantificable pero por debajo del LMR y en una muestra a nivel de trazas. Triflumuron presentó residuos en una muestra a concentración más baja que el LMR. λ -cihalotrina se encontró en una finca por debajo del LMR y en dos muestras a nivel de trazas, lo mismo que endosulfan. Permetrina, Cipermetrina, β -ciflutrina y metamidofos se encontraron a nivel de trazas en algunas fincas y en otras no fueron detectables. La información que entregó la encuesta de patrones de uso y manejo en las fincas muestreadas en el municipio de Gigante, Huila (11) mostró que los plaguicidas de mayor uso son los piretroides, tales como λ -cihalotrina, permetrina y β -ciflutrina y de estos compuestos no se encontraron residuos que sobrepasaran los LMR. En el caso de clorpirifos donde se encontraron dos muestras positivas no se reportó por parte del agricultor el uso de ese plaguicida, lo cual lleva a pensar en la omisión de los patrones de uso por parte del agricultor. El porcentaje de uso de este plaguicida en el municipio de Gigante en tomate solo fue del 13.8 %.

Las muestras positivas se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas verificando por medio del espectro de masas del clorpirifos la confirmación de las dos muestras positivas en tomate en el municipio de Gigante, Huila.

En papa, el análisis de las 28 fincas mostró que en el 43% de las muestras los metabolitos aldicarb sulfoxido y aldicarb sulfona estaban presentes, no encontrándose el compuesto parental en dichas muestras. Solo una muestra, la proveniente del municipio de Usme sobrepaso el LMR establecido por el Codex Alimentarius el cual es de 0.5 mg/kg; y el cual es expresado como la suma de los metabolitos aldicarb sulfoxido y aldicarb sulfona (Codex Alimentarius). El análisis de las 28 fincas mostró que solo en tres fincas se detectó carbofuran a nivel de trazas y en ninguna de las muestras se detectó el metabolito 3-hidroxicarbofuran. De acuerdo con el manejo fitosanitario suministrado por los agricultores, en la muestra que resulto positiva con aldicarb se había aplicado el plaguicida de acuerdo con las recomendaciones técnicas. Posiblemente en esta muestra se omitió información por parte del agricultor. Las tablas 9 y 10 muestran los resultados de las muestras en fresa y tomate y en la figura 6 se muestran los resultados de aldicarb en las muestras de papa. La figura 7 muestra el cromatograma de una de las muestras positivas con clorpirifos en tomate.

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron, se observa en general, la no presencia de residuos de plaguicidas que sobrepasen los límites máximos de residuos. En el caso donde los plaguicidas se apliquen indiscriminadamente y no bajo las recomendaciones técnicas para su aplicación, existe mayor posibilidad de encontrar muestras positivas; lo que sucedió con las dos muestras en tomate y una muestra en papa, donde posiblemente se omitió la información verídica por parte del agricultor. Para evitar riesgos es necesario promover un uso adecuado de los plaguicidas dentro de las buenas practicas agrícolas haciendo énfasis en las recomendaciones técnicas para su aplicación. Esto garantiza productos adecuados e inocuos para el consumo humano.

Como conclusión de este estudio, se podría decir que el riesgo potencial de generar residuos en los cultivos de frutas y hortalizas está asociado directamente con los patrones de uso y manejo que le da el agricultor a los agroquímicos. Además los resultados son muy importantes para Colombia pues las posibilidades de comercialización y exportación de los productos colombianos son muy altas si se asegura un adecuado uso de los

plaguicidas por parte del agricultor. También es importante recalcar que este estudio es un aporte para la comunidad pues el hecho de consumir productos libres de plaguicidas, garantiza productos apropiados para el consumo humano.

Tabla 9. Resultados de la evaluación de residuos en fresa.

| Cod. | Muestra | Compuesto | Concentración (mg/Kg) | LMR (mg/Kg) |
|-------------|-----------------|------------------|----------------------------------|------------------------|
| FrA001 | Facatativá # 01 | Malation | Trazas | 1,0 |
| | | Captan | 2,8 ± 0,34 | 20,0 |
| FrA002 | Sibaté # 01 | Clorotalonil | 0,25 ± 0,07 | |
| | | Captan | 1,13 ± 0,28 | 20,0 |
| FrA003 | Sibaté # 02 | Clorpirifos | Trazas | |
| FrA004 | Sibaté # 03 | | | |
| FrA005 | Sibaté # 04 | Captan | 0,709 ± 0,31 | 20,0 |
| FrA006 | Sibaté # 05 | Malation | 0,138 ± 0,04 | 1,0 |
| | | Profenofos | Trazas | |
| FrA007 | Sibaté # 06 | | | |
| FrA008 | Sibaté # 07 | Captan | 0,628 ± 0,31 | 20,0 |
| FrA009 | Sibaté # 08 | Clorotalonil | 1,14 ± 0,07 | |
| | | Captan | 1,41 ± 0,27 | 20,0 |
| FrA010 | Sibaté # 09 | | | |
| FrA011 | Sibaté # 10 | Captan | 2,76 ± 0,34 | 20,0 |
| FrA012 | Sibaté # 11 | Clorpirifos | Trazas | |
| FrA013 | Sibaté # 12 | Dimetoato | Trazas | 1,0 |
| | | Profenofos | Trazas | |
| FrA014 | Sibaté # 13 | Captan | 0,767 ± 0,30 | 20,0 |
| FrA015 | Guasca # 01 | Captan | 0,659 ± 0,31 | 20,0 |
| FrA016 | Guasca # 02 | | | |
| FrA017 | Guasca # 03 | | | |
| FrA018 | Guasca # 04 | Captan | 0,461 ± 0,33 | 20,0 |
| FrA019 | Guasca # 05 | | | |
| FrA020 | Guasca # 06 | Captan | 1,38 ± 0,27 | 20,0 |

Trazas: concentraciones entre CMD y CMC

Tabla 10. Resultados de la evaluación de residuos en Tomate

| Muestra | Compuesto | Concentración mg/kg | LMR (mg/kg) |
|---------|----------------|---------------------|-------------|
| ToA001 | Propargite | Trazas | |
| ToA002 | Triflumuron | 0,040 ± 0,02 | 0,05 |
| | Clorpirifos | 2,66 ± 0,12 | 0,5 |
| | Endosulfan | Trazas | |
| | Propargite | 0,652 ± 0,55 | 2,0 |
| | Permetrina | Trazas | |
| ToA003 | Cipermetrina | N.D. | |
| ToA004 | λ- Cihalotrina | 0.04 ± 0,002 | 0,05 |
| ToA005 | Clorpirifos | Trazas | 0,5 |
| | Endosulfan | 0,254 ± 0,07 | 2,0 |
| | Propargite | N.D. | |
| ToA006 | Clorpirifos | 0,095 ± 0,01 | 0,5 |
| ToA007 | β-ciflutrina | N.D. | |
| | Metamidofos | Trazas | |
| | λ -Cihalotrina | Trazas | |
| ToA008 | Clorpirifos | 0,862 ± 0,02 | 0,5 |
| | λ -Cihalotrina | Trazas | |
| ToA009 | Clorpirifos | Trazas | |
| ToA010 | Endosulfan | Trazas | |
| | Propargite | 1,357 ± 0,68 | 2,0 |

Trazas: concentraciones entre CMD y CMC

N.D. Concentraciones menores a CMD

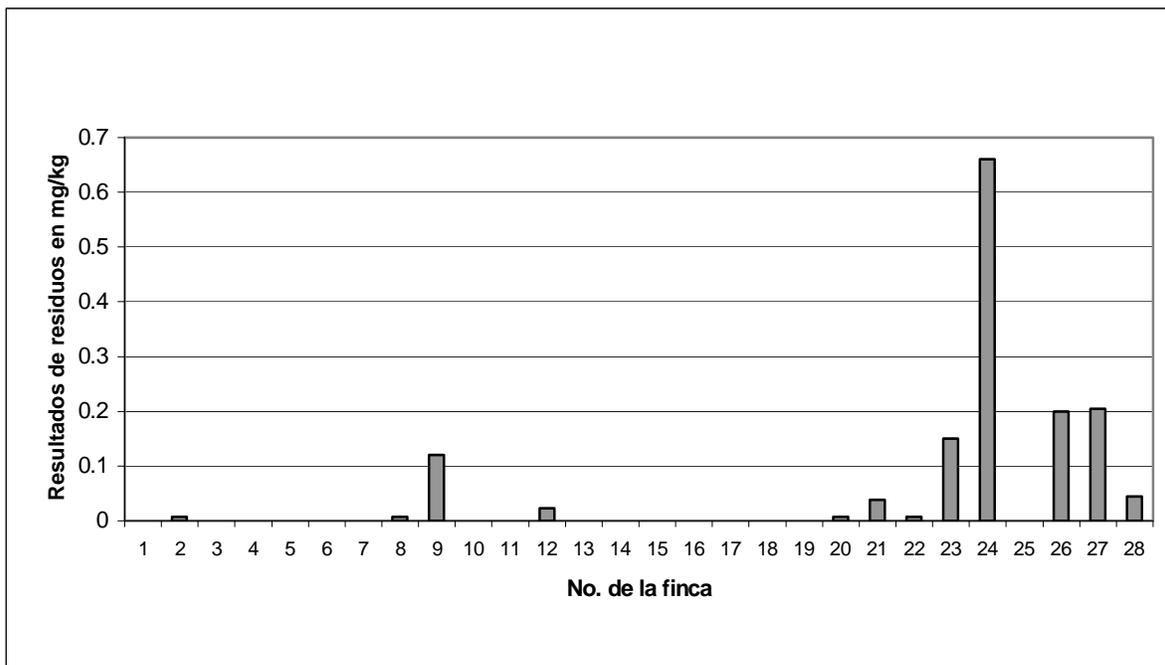


Figura 6. Residuos de aldicarb en muestras de papa.

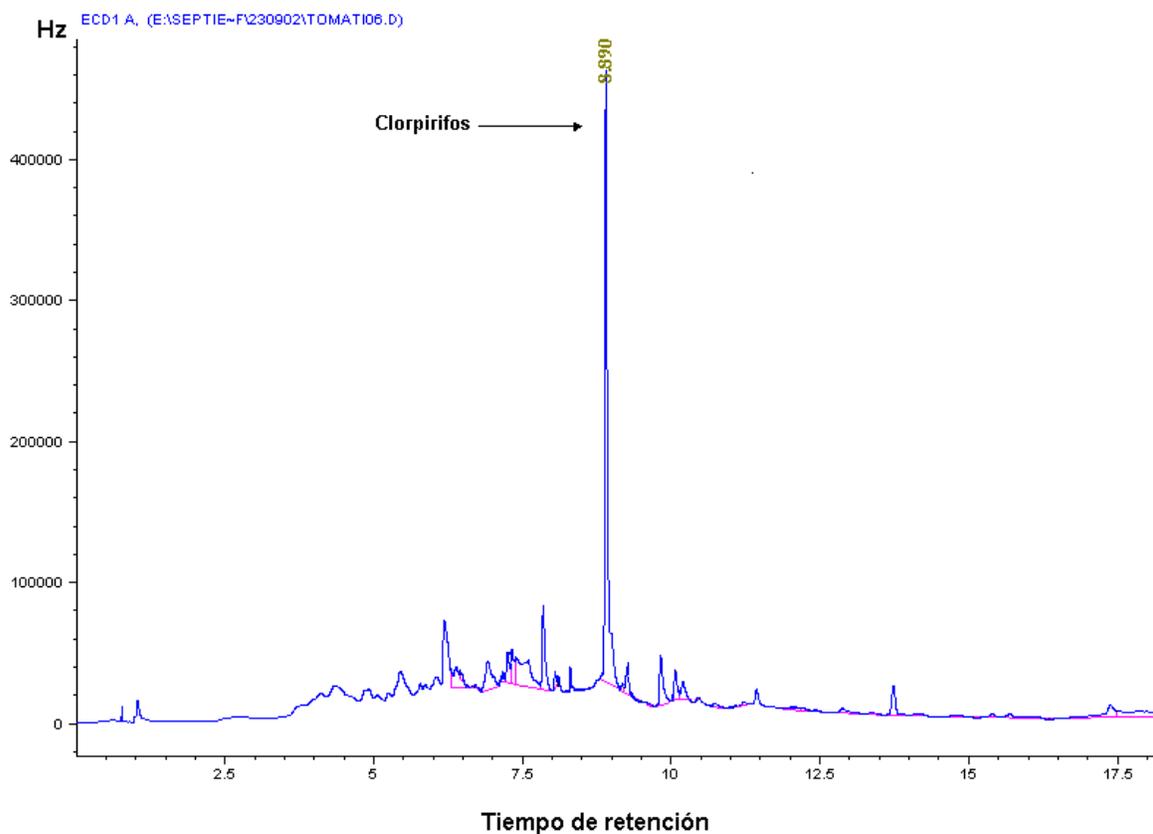


Figura 7. Cromatograma de extracto de tomate, muestra No 8, Gigante, Huila, con residuos de clorpirifos.

LITERATURA CITADA

1. Moreno, M.L. Evaluación de la residualidad de plaguicidas en el repollo (*Brassica Oleracea var'capitata*) en el departamento de Cundinamarca. Bogotá, (2001), 127 p. Trabajo de grado (Químico). Universidad Nacional de Colombia, Departamento de química, Facultad de Ciencias.
2. MUÑOZ, V.H. (1992). Situación y perspectivas de la horticultura en Colombia. En: Primer curso de horticultura de clima frío. Conferencia. ICA Tibaitatá. Mosquera.
3. PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS. Codex Alimentarius.(1996) 2 ed. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación, Organización Mundial de la Salud, 473 p.
4. TORRES, C.M.; PICO, Y.; MAÑES, J. (1996).Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. En : *J. Chrom A*. Vol. 754, 301.
5. SAWYER, L.D.; Y Otros. (1990). Pesticide and industrial chemical residues. En: HELRICH, K. (Editor). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Agricultural Chemicals, Contaminants, Drugs. Volume 1. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA, p.274-290.
6. ANDERSSON, A.; PALSHEDEN, H. (1991). Comparison of the efficiency of different GLC multi-residue methods on crops containing pesticide residues. En: *Fresenius j. Anal. Chem.* Vol 339, 365.
7. TEKEL, J.; HATRIK, S. (1996). Pesticide residue analyses in plant material by chromatographic methods: clean-up procedures and selective detectors. En: *J. Chrom A*. Vol. 754, 397.
8. MONTAÑO, M. Evaluación de la residualidad de plaguicidas en fresa (*Fragaria spp*) en el departamento de Cundinamarca. . Bogotá, (2001), 97 p. Trabajo de grado (Químico). Universidad Nacional de Colombia, Departamento de química, Facultad de Ciencias.
9. BOURDON, R.D. Evaluación de la residualidad de plaguicidas en uchuva (*Physalis peruviana L.*) en el departamento de Cundinamarca. Bogotá,(2002), 107 p. Trabajo de grado (Químico). Universidad Nacional de Colombia, Departamento de química, Facultad de Ciencias.
10. CASTRO, R.A. Evaluación del efecto residual de la aplicación de plaguicidas n-metilcarbamatos en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*), variedad parda pastusa en Cundinamarca y Boyaca. Bogotá, (2003), 114 p. Trabajo de grado (Maestría en Ciencias Químicas). Universidad Nacional de Colombia, Departamento de química, Facultad de Ciencias.
11. FARIAS, D.M. Estudio de residuos de plaguicidas en tomate. Bogotá, (2003), 92 p.

Trabajo de grado (Maestría en Ciencias Química). Universidad Nacional de Colombia, Departamento de química, Facultad de Ciencias.

12. NAUSA, O.F. Proyecto de grado: Diagnostico de patrones de uso y manejo de plaguicidas en frutales de clima frío en el Departamento de Cundinamarca. Director: PIEDRAHITA, W. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. (Sin publicar).

13.SANTIAGO, J.C. Diagnóstico de uso y manejo de plaguicidas en tres cultivos hortícolas en la sabana de Bogotá y propuesta de un índice de predicción de residuos de plaguicidas. Bogotá, (2000), 60 p. Trabajo de grado (Ingeniero agrónomo). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía.

14. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. República de Colombia. Anuario estadístico del sector Agropecuario y Pesquero. 1999-2000. Bogotá, D.C.

15.GHODS, A. Principles and Practice of Extraction and Clean-up for pesticide residue analysis. Seibersdorf: FAO/IAEA Training and Reference Center for Food and pesticide Control, (2000). 42 p.

16. HERNANDEZ, F.H.; GRASES, J.M.; BELTRAN, J.; SANCHO, J.V. (1990) A comparative study of different multiresidue methods for the determination of pesticides in fruit samples by gas chromatography. En: Chromatographia Vol. 29, No 9/10, (1990) p. 459-466.

17. MINISTERIO DE SALUD DE COLOMBIA. Decreto No 1843 de 1991. Uso y manejo de plaguicidas. Capitulo XII.

18. SAWYER, L.D. (1990). Pesticide and industrial chemical residues. En: Official methods of Analysis, AOAC, agricultural chemicals, contaminants and drugs. Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA, USA. P. p.274-290

19. KADENCZKI, L.; y Otros.(1992). Column extraction of residues of several pesticides from fruits and vegetables: a simple multiresidue analysis method. En: J. AOAC Int. Vol. 75, No. 1, 53

20. MOYE, A. (1980).Analysis of pesticide residues. Chapter 4. Edited by H. Anson Moye. Published by Jhin Wiley y Sons INC. Copyright. p. 157-197.

21. KRAUSE, R. (1980). Multiresidue method for determining N-methylcarbamate insecticides in crops, using High performance Liquid Chromatography. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Vol.63, No5,114.

22. MARK LEE, S. (1991).Comparison of the atomic emission detector to other element-selective detectors for the gas chromatographic analysis of pesticide residues. En: J. Agric. Food. Chem. Vol. 39, 2192.

23. FILLION, J.; y Otros.(1995).Multiresidue determination of pesticides in fruit and vegetables by gas chromatography - Mass- selective detection and liquid Chromatography with fluorescence detection. *J. AOAC int.* 78, 1252.
24. SUNDARAM, K.M.S. (1994).High performance liquid chromatographic method for the analysis of aminocarb, mexacarbate and some of their N-methylcarbamate metabolites by post-column derivatization with fluorescence detection. *J. chromat A.*672, 117.
25. MONTAÑO, M. (2001).Validación de una metodología multiresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en fresa (*Fragraria spp*) por cromatografía de gases. *Revista Colombiana de química*, 30,No 1, 37.
26. MORENO, M.L. (2002). Validación de una metodología multiresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en repollo. (*Brassica Oleracea var. Capitata.*) por cromatografía de gases. *Revista Colombiana de química*, 31,No1,19
27. HILL, A. Y otros. (2000).Effects of sample processing on pesticide residues in fruits and vegetables . En Principles and practices of method validation. MPG Books Ltd. Bodmin, Coenwall, UK, p. 41-48
28. AMBRUS, A. y otros. (2000). Testing the effect of sample processing and storage on the stability of residues. En Principles and practices of method validation. MPG Books Ltd. Bodmin, Coenwall, UK, p. 75-88
29. GODULA, M. y otros. (1999). Pulsed splitless injection and the extent of matriz effects in the análisis of pesticides. *J. High Resol. Chromatogr.* 22, 395.
30. HASLOVA, J. Y otros. (1998). Matriz- induced effects: a critical point in the chromatographic análisis of pesticide residues. *J. Chromatogr. A* 800, 283.
31. SOBOLEVA, E. Y otros. (2000).Estimation of significance of “matriz-induced “ chromatographic effects. En Principles and practices of method validation. MPG Books Ltd. Bodmin, Coenwall, UK,. p. 138-156
32. IUPAC (1998). “Guideline for calibration in analytical chemistry. Pure and applied Chem. 70, 993.
33. MEIER, P.C.; ZUND, R.E. (1993) “statistical methods in analytical chemistry”. En: WINEFORDER, jd (editor). A series of monographs on analytical chemistry and its applications. Vol,123. John Willey&Sons. USA.
34. LONG, G.L.; WINEFORDER; J.D. (1983).Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition . Report. *Anal. Chem.* 55, 712A.
35. CAIRNS, T. y otros (1984).Persistence and metabolism of aldicarb in fresh potatoes . *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 32, 274.

