

Estudio de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas en áreas específicas de Colombia

Pesticide residue studies in fruits and vegetables from specific areas of Colombia

Jairo Arturo Guerrero¹

Resumen: La utilización incorrecta de los plaguicidas, debida principalmente a la sobredosificación y la aplicación inadecuada por parte de los agricultores, entre otros factores, puede ocasionar la presencia de residuos de plaguicidas en las frutas y las hortalizas. Ello origina riesgos para la salud humana y también afecta la comercialización en diferentes mercados mundiales. El presente estudio tiene por objeto evaluar la presencia de residuos de plaguicidas de alto riesgo en los cultivos de fresa, repollo, uchuva y tomate, representativos de diferentes regiones de Colombia, y determinar la calidad de estos alimentos, requisito importante para satisfacer convenios internacionales relacionados con la inocuidad de alimentos y su comercialización. El estudio de campo se efectuó en varios municipios de Cundinamarca y Huila, Colombia. En la mayoría de las muestras (95,4%) no se encontraron residuos que sobrepasaran los límites máximos de residuos, LMRs. Se encontraron dos muestras positivas con residuos de plaguicidas de clorpirifos en tomate (4,7%). 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. Estas metodologías permitieron determinar concentraciones de estos compuestos cercanas a los límites máximos de residuos permisibles para cada una de la matrices.

Palabras clave: Cromatografía de gases, límites máximos de residuos, método multiresiduo, organoclorados, organofosforados, piretroides.

Abstract: The inappropriate use of pesticides, mainly their excessive use (i.e. over-dosage, dosage changes and lack of background information regarding agricultural practice), could produce pesticide residues in Colombian fruits and vegetables. Pesticide residues occurring above Maximum Residue Limits (MRL) lead to public health risks and affect international trade. This study determines high-risk pesticide residues in strawberries, cabbages, cape gooseberries and tomatoes from representative areas in Colombia aimed at evaluating food quality and safety (important requirements for international agreements regarding the sale of food). Field-studies and sampling were carried out in the Colombian departments of Cundinamarca and Huila. Most samples (95.4%) contained residues below MRLs. Two tomato samples had chlorpyrifos exceeding MRL (4.7%). Multi-residue methods were implemented and validated by gas chromatography for evaluating potentially high pesticide risk residues using parallel μ -ECD and NPD detectors for determining organochlorine, organophosphorus and pyrethroid compounds. These methods allow quantifying concentrations around the MRLs for each matrix.

Key words: Gas chromatography, maximum residue limits, multi-residue method, organochlorine compounds, organophosphorus, pyrethroids.

Introducción

EL HOMBRE HA DESARROLLADO la agricultura como una de sus principales fuentes alimentarias y, ante el ritmo vertiginoso del crecimiento poblacional, ha tenido que implementar modelos de producción agrícola de alto

rendimiento para suplir con suficiente cantidad y buena calidad 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

Fecha de recepción: 01 de septiembre de 2003.

Aceptado para publicación: 28 de noviembre de 2003.

¹ Profesor Asociado, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. e-mail: jaguerrero@unal.edu.co

(Moreno, 2001). Cuando se aplica una o varias de estas estrategias combinadas se puede multiplicar 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 interfieren la producción de cultivos. Sin embargo, la utilización inapropiada de plaguicidas, particularmente su uso en exceso, 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 ambiente en general, ya que se trata de productos generalmente tóxicos, que pueden permanecer como residuos en el producto final que va al consumidor, y por tanto, reducen su calidad (Muñoz, 1992).

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 producción, transporte, almacenamiento y aplicación; esta última fase de su manipulación es la más importante por los riesgos de contaminación del medio ambiente, el aire, el agua y el suelo, así como por los residuos que pueden quedar en los alimentos y afectar gravemente la salud humana, a la vez que impiden su comercialización en diferentes mercados.

En Colombia ocurre una utilización indiscriminada de plaguicidas debido a que una de las prácticas agrícolas más frecuentes es el monocultivo no tecnificado, además del bajo nivel educativo de quienes manejan el producto en el campo; ello ocasiona un incremento en el nivel de riesgo, para los agricultores, los consumidores finales y el medio ambiente.

Con el objetivo de proteger la salud humana y asegurar que se aplique a los alimentos solamente la cantidad mínima de plaguicida que realmente es necesaria para combatir una plaga, la legislación colombiana acoge los Límites Máximos de Residuos (LMR). Los LMR 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 de ese plaguicida en particular (Codex Alimentarius, 1996).

Para la determinación de residuos de plaguicidas en productos de cosecha tales como frutas y hortalizas,

es necesario montar y estandarizar técnicas analíticas, adecuadas, sensibles, reproducibles, confiables y debidamente validadas, que permitan su determinación y cuantificación; de esta forma es posible evaluar la calidad y el grado de inocuidad de los productos que ingiere el consumidor (Andersson y Palsheden, 1991; Sawyer *et al.*, 1990; Tekel y Hatik, 1996; Torres *et al.*, 1996).

Esta investigación tuvo como objetivo principal determinar residuos de plaguicidas organoclorados, organofosforados y piretroides en cosechas de alto riesgo como la fresa, el repollo, la uchuva y el tomate en los departamentos de Cundinamarca y Huila. Constatando de manera tangible la presencia de residuos en estos productos, será posible plantear estrategias de educación al agricultor para hacerlo conciente del riesgo para la salud humana, así como para educarlo en la aplicación adecuada y no indiscriminada de plaguicidas (Bourdon, 2002; Farias, 2003; Montaña, 2001; Moreno, 2001).

Materiales y métodos

Toma de las muestras de campo

Siguiendo un diseño de muestreo aleatorio estratificado, y basados en un estudio de Nausa (2004, sin publicar), 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 (2000), 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 (2004, sin publicar) en el municipio de Granada, departamento de Cundinamarca; allí se utilizó un método de muestreo estratificado desproporcionado, con ocho estratos de seis fincas cada uno, se tomó una muestra por cada estrato, con un total de ocho muestras para la evaluación de campo.

Las muestras de tomate se recolectaron en el municipio de Gigante, departamento del 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 (2003).

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 procedió a su preparación retirando restos de tejidos tales como sépalos, el cáliz, 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, de manera que pudieran determinarse por cromatografía de gases. La metodología aplicada se obtuvo como resultado de una evaluación y adaptación de las técnicas usadas en diferentes laboratorios de control a nivel internacional (Ghods, 2000; Hernández, 1990). En las tablas de resultados se muestran los plaguicidas evaluados en cada una de las matrices frente a los Límites Máximos de Residuos establecidos por el Codex Alimentarius (1996) y adoptados por Colombia según Decreto 1843 de 1991 del Ministerio de Salud (1991). Puesto que en el país no existe regulación para uchuva se consideraron los LMR establecidos para solanáceas, pues esta fruta pertenece a esta familia botánica. Se buscó eliminar pasos como la

partición líquido-líquido, los cuales son muy dispendiosos y requieren grandes cantidades de solventes, aunque actualmente siguen siendo muy usados por los organismos de control en el análisis de residuos de plaguicidas en material vegetal (Sawyer *et al.*, 1990).

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 (Torres *et al.*, 1996).

La limpieza para este tipo de compuestos, organoclorados, organofosforados y piretroides, se realizó mediante GPC para eliminar interferentes de alto peso molecular que contienen las matrices en estudio, como clorofilas, pigmentos, ceras, proteínas, carotenos, entre otros. La limpieza emplea una fase móvil compuesta por acetato de etilo y ciclohexano, solventes de baja toxicidad. Para el caso de repollo se llevó a cabo una limpieza adicional mediante una minicolumna empacada con silicagel y de la cual se eluyeron los plaguicidas con acetato de etilo (Kadenczki *et al.*, 1992). El procedimiento se muestra en la Figura 1.

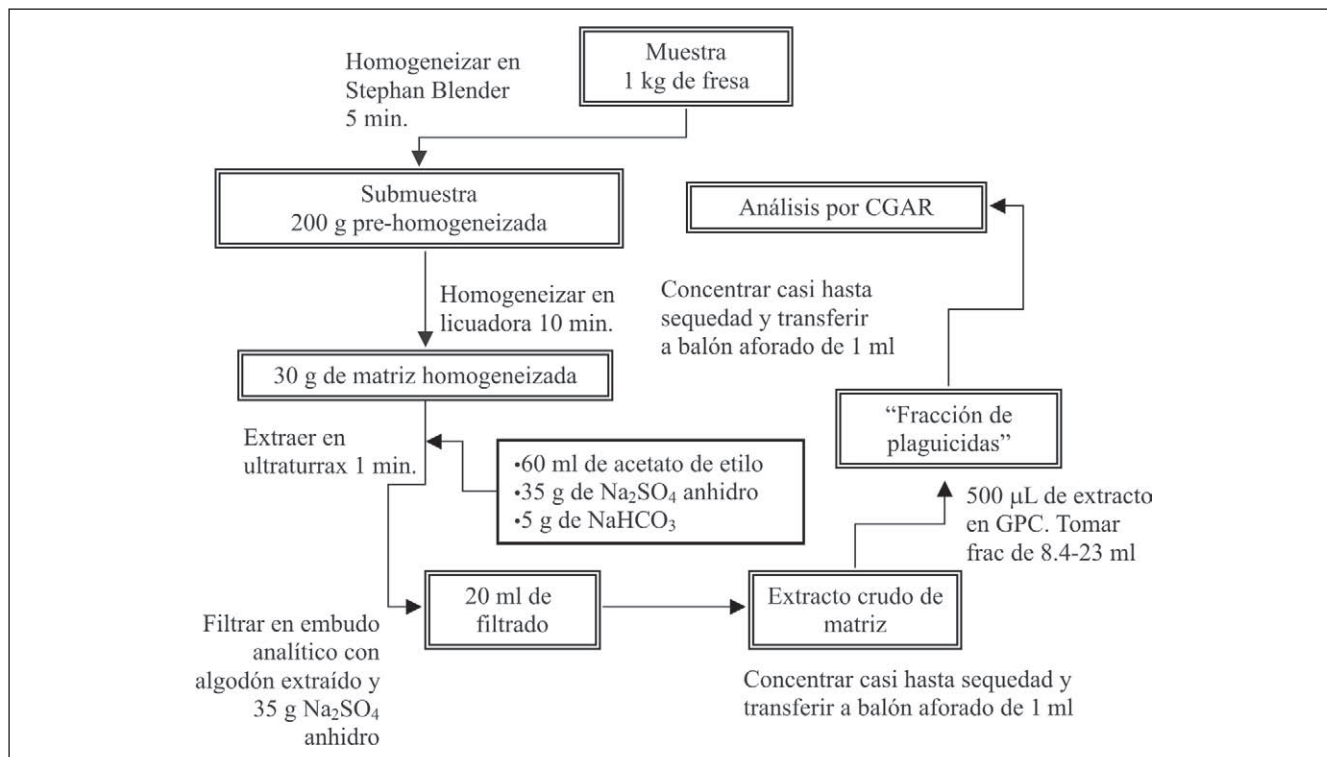


Figura 1. Procedimiento de extracción y limpieza en la determinación de organoclorados, organofosforados y piretroides por cromatografía de gases con detector μ -ECD y NPD.

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 microcaptura electrónica (μ -ECD) y detector de nitrógeno-fósforo (NPD) para los plaguicidas organoclorados, organofosforados y piretroides (Lee, 1991).

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 microcaptura 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).

Las condiciones cromatográficas comunes utilizadas en el análisis de los plaguicidas en las diferentes matrices fueron las siguientes: volumen de inyección 2 μL ; inyección en modo *splitless* pulsado con un pulso de presión. Se utilizó nitrógeno como gas de transporte en 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.

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 último 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.

Materiales de referencia, reactivos y soluciones

Los materiales de referencia de plaguicidas con porcentajes de pureza entre 97-100% se obtuvieron del Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemania). El acetato de etilo y el ciclohexano con grado residuos de plaguicidas; bicarbonato de sodio y silica gel (60-200 mesh) con grado

analítico, y sulfato de sodio anhidro con grado residuos, se obtuvieron de J.T. Beaker y Mallinckrodt. Se prepararon soluciones madre de los materiales de referencia en concentración cercana a 1.000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en acetato de etilo, las cuales se almacenaron a -20°C .

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 (Farias, 2003; Santiago, 2000). 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) que permite su determinación simultánea con una sola inyección.

Validación de las metodologías

Una vez se determinaron las condiciones cromatográficas, y realizados 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 (Montaño y Guerrero, 2001; Moreno y Guerrero, 2002).

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 en las matrices. La Figura 2 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.

Precisión. La precisión se evaluó en todas las matrices a través de todo el rango de calibración bajo

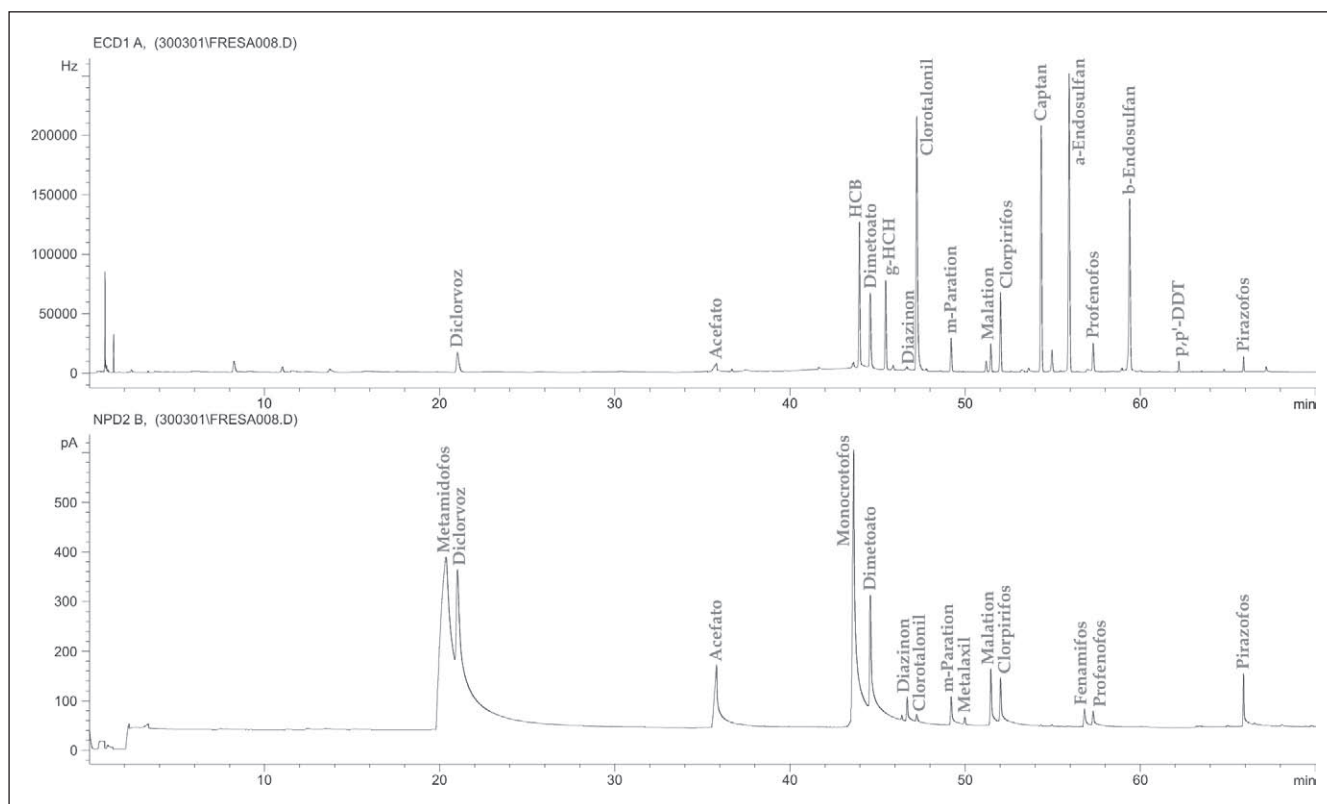


Figura 2. Cromatograma de extracto de fresa fortificado con mezcla de los plaguicidas organoclorados y organofosforados: a) usando detector μ -ECD, superior y b) detector NPD, inferior.

condiciones de repetibilidad y de precisión intermedia con tres réplicas en fresa y repollo y cuatro réplicas en uchuva y tomate, expresando los resultados como coeficientes de variación para visualizar la dispersión de los datos.

En general, se observó para todas las matrices un perfil claro de precisión, aumentando la dispersión a valores más pequeños de concentración. También se encontró 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 único día de análisis.

Se observó 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. El captan 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 (Hill *et al.*, 2000).

Así mismo, Hill *et al.* (2000) reportan anomalías en la respuesta de 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 (Montaño y Guerrero, 2001). En uchuva, tanto en el estudio de repetibilidad como en el de precisión intermedia, se obtuvieron valores menores del 21% (Bourdon, 2002). Para repollo dieron como resultados valores menores de 22% para

repetibilidad y 34% para precisión intermedia (Moreno y Guerrero, 2002).

En tomate, los resultados obtenidos para el ensayo de repetibilidad mostraron coeficientes de variación por debajo del 16%, excepto el triflumuron, que presentó un CV de 21% y en el ensayo de precisión intermedia se encontraron valores entre 1,7% y 32%. Ocurrieron dispersiones grandes para triflumuron, tebuconazol y metamidofos, estos dos últimos detectados por NPD (Farias, 2003). En la Tabla 1 se presentan, como ejemplo, los resultados del estudio de repetibilidad para aquellos compuestos detectados por NPD en uchuva.

Tabla 1. 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

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 sílica. 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 (Godula *et al.*, 1999; Haslova *et al.*, 1998; Soboleva *et al.*, 2000). Este incremento se presenta 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. 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 una mayor cantidad de muestra se transfiera a la columna.

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 (Bourdon, 2002; Farias, 2003; Soboleva *et al.*, 2000).

En fresa se encontró que 10 compuestos detectados por μ -ECD y 11 compuestos detectados por NPD presentaron efecto matriz (Montaño, 2001). 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 (Moreno, 2001). En uchuva se encontró que todos los compuestos tanto por μ -ECD como por NPD presentan efecto matriz (Bourdon, 2002). En tomate se encontró que todos los compuestos presentan efecto matriz a excepción de λ -cihalotrina (Farias, 2003).

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.

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, y cinco niveles de concentración para uchuva y tomate con un número de 4 y 5 réplicas realizadas durante días diferentes para todas las matrices. 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. Las curvas de calibración se modelaron según el método de mínimos cuadrados simple (IUPAC, 1998). Se evalua-

ron la pendiente y el intercepto mediante un estadístico de *T-student* (IUPAC, 1998; Meier y Zund, 1993) y la regresión y desvío de la linealidad mediante un análisis de varianza ANOVA con estadístico *F* de *Fisher* (Meier y Zund, 1993). En la Tabla 2 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 obtuvieron coeficientes de correlación por debajo de 0,999 opor que hubo un desvío de la linealidad (Bourdon, 2002; Farias, 2003; Montaña, 2001; Moreno, 2001). La Figu-

Tabla 2. 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
Clortalonil	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.

ra 3 muestra la curva de calibración con sus límites de confianza en fresa mediante μ -ECD para malation.

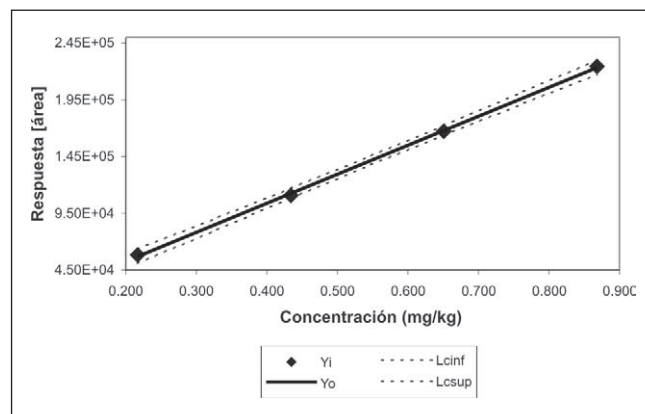


Figura 3. Curva de calibración en extracto de matriz de fresa fortificado para malation por μ -ECD.

Límites críticos. La cantidad mínima detectable (CMD) y la cantidad mínima cuantificable (CMC) se calcularon por el método de la IUPAC (Long y Winfordner, 1983) para todas las matrices a excepción de tomate, los cuales se calcularon por el método de Meier y Zund (1993). En todos los casos se utilizaron las curvas de calibración en extracto de matriz. En la Tabla 3 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 del 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 3. Rangos de CMD Y CMC para plaguicidas evaluados en diferentes matrices.

	μ -ECD		NPD	
	CMD ($\mu\text{g/kg}$)	CMC ($\mu\text{g/kg}$)	CMD ($\mu\text{g/kg}$)	CMC ($\mu\text{g/kg}$)
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

Exactitud. Este parámetro se evaluó por medio del porcentaje de recuperación a través de todo el rango de calibración, con cuatro réplicas para uchuva, cinco réplicas 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 y 101%; para ocho 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 y 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 (Montaño y Guerrero, 2001).

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 (Ambrus *et al.*, 2000; Hill *et al.*, 2000). 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 y el 124%. Metamidofos y acefato presentaron bajas recuperaciones debidas 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% (Moreno, 2001).

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% (Bourdon, 2002).

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% (Farias, 2003). En la Tabla 4 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 de Youden-Steiner donde se toman siete factores determinantes y ocho experimentos. En el caso de uchuva el análisis estadístico se llevo a cabo por un diseño factorial incompleto de dos niveles (Bourdon, 2002).

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.

Análisis de muestras

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

Tabla 4. 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 réplicas

t = evaluador de T-student para el % de recuperación

G = evaluador de Cochran

R = rechaza la hipótesis

NR = no rechaza la hipótesis.

En fresa en el municipio de Facatativá se encontraron residuos de malation a nivel de trazas y de captan por debajo del LMR. De acuerdo con el estudio realizado por Nausa (sin publicar) 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 sobrepasó los LMR. En dos muestras se encontró clorotalonil y en una muestra se encontró malation en concentración cuantificable. Se encontraron clorpirifos (dos muestras), dimetoato (una muestra) y profenofos (dos 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 más alto 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.

En repollo, en ninguna de las muestras analizadas del municipio de Madrid se encontraron residuos de pla-

guicidas. De acuerdo con el estudio de Santiago (2000) 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 (sin publicar), 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. Tri-

flumuron 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, λ -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 (Farias, 2003) mostró que los plaguicidas de mayor uso son los piretroides, tales como λ -cihalotrina, permetrina y λ -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 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 sólo 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. Las Tablas 5 y 6 muestran los resultados de las muestras en fresa y tomate. La Figura 4 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. Cuando los plaguicidas se aplican indiscriminadamente, y no bajo las recomendaciones técnicas para su aplicación, existe mayor posibilidad de encontrar muestras positivas; ello fue lo que sucedió con las dos muestras de tomate, 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 prácticas agrícolas haciendo énfasis en las recomendaciones técnicas para su aplicación. Esto garantiza productos adecuados e inocuos para el consumo humano.

Como conclusión los resultados de este estudio son muy importantes para Colombia pues las posibilidades de comercialización y exportación de los productos colombianos son muy altas si se asegura la no presencia de residuos de plaguicidas en nuestras frutas y hortalizas. 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 eliminando el riesgo para la salud humana.

Las metodologías aplicadas y validadas ofrecen al país una herramienta analítica de gran valor, confiabilidad e idoneidad que facilitarían estudios y monitoreo en la determinación de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas.

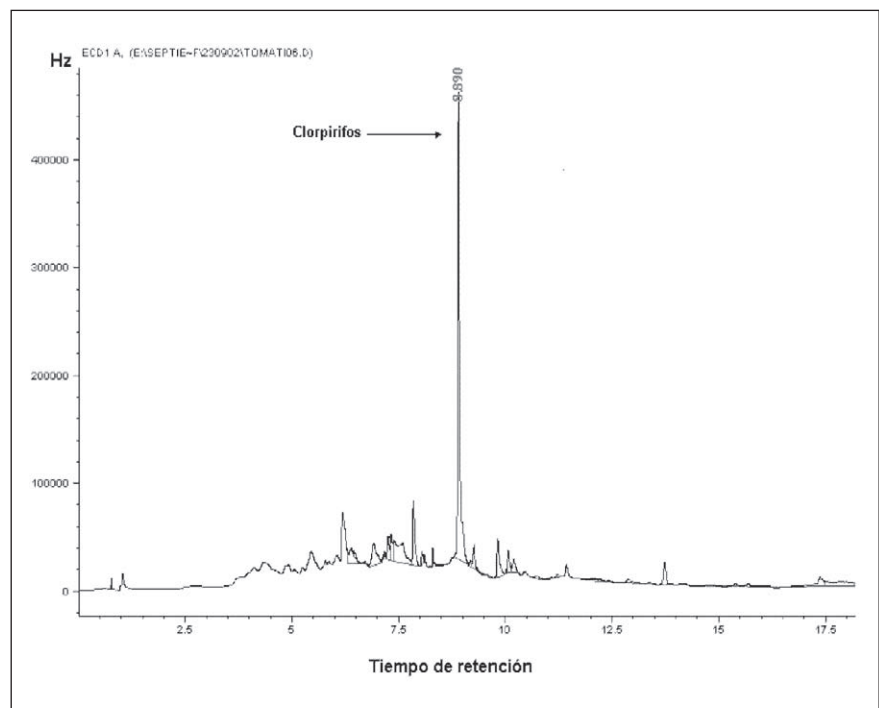


Figura 4. Cromatograma de tomate, muestra No. 8, Gigante (Huila), con residuos de clorpirifos.

Tabla 5. 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	20,0
		Captan	1,13 ± 0,28	
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	20,0
		Captan	1,41 ± 0,27	
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 6. 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	
ToA003	Propargite	0,652 ± 0,55	2,0
	Permetrina	Trazas	
	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	λ-ciflutrina	N.D.	
	Metamidofos	Trazas	
ToA008	λ-cihalotrina	Trazas	
	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

Bibliografía

Andersson, A. y H. Palsheden. 1991. Comparison of the efficiency of different GLC multi-residue methods on crops containing pesticide residues. *Fresenius J. Anal. Chem.* 339, 365-367.

Bourdon, R.D. 2002. Evaluación de la residualidad de plaguicidas en uchuva (*Physalis peruviana* L.) en el departamento de Cundinamarca. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Bogotá. 107 p.

El-Bidaoui, M.; O. Jarju; B. Maestroni; Y. Phakaeiw y A. Ambrus. 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, Cornwall, UK, pp. 75-88.

Farias, D.M. 2003. Estudio de residuos de plaguicidas en tomate. Tesis de grado (Maestría en Ciencias Químicas). Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Bogotá. 92 p.

Ghods, A. 2000. Principles and practice of extraction and clean-up for pesticide residue analysis. Seibersdorf: FAO/IAEA Training and Reference Center for Food and Pesticide Control. 42 p.

Godula, M.; J. Haslova y A. Katerina. 1999. Pulsed splitless injection and the extent of matrix effects in the analysis of pesticides. *J. High Resol. Chromatogr.* 22, 395-402.

- Haslova, J.; K. Holadova; V. Kocourek; J. Poustka; M. Godula; P. Cuhra y M. Kempny. 1998.** Matrix-induced effects: a critical point in the chromatographic analysis of pesticide residues. *J. Chrom. A* 800, 283-295.
- Hernández, F.; J. Grases; J. Beltrán y J. Sancho. 1990.** A comparative study of different multiresidue methods for the determination of pesticides in fruit samples by gas chromatography. *Chromatographia* 29(9/10), 459-466.
- Hill, A.; C. Harris, C. y A. Warburton. 2000.** Effects of sample processing on pesticide residues in fruits and vegetables. En: *Principles and practices of method validation*. MPG Books Ltd. Bodmin, Cornwall, UK, pp. 41-48.
- IUPAC. 1998.** Guideline for calibration in analytical chemistry. *Pure and Applied Chem.* 70, 993.
- Kadenczki, L.; Z. Arpad e I. Gardi. 1992.** Column extraction of residues of several pesticides from fruits and vegetables: a simple multiresidue analysis method. *J. AOAC Int.* 75(1), 53-61.
- Lee, S.M. 1991.** Comparison of the atomic emission detector to other element-selective detectors for the gas chromatographic analysis of pesticide residues. *J. Agric. Food. Chem.* 39, 2192-2199.
- Long, G.L. y J.D. Winefordner. 1983.** Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition. *Report. Anal. Chem.* 55, 712A-715A.
- Meier, P.C. y R.E. Zund. 1993.** Statistical methods in analytical chemistry. En: Winefordner, J.D. (ed). *A series of monographs on analytical chemistry and its applications*. John Wiley y Sons. USA. Vol 123, 321 p.
- Ministerio de Salud de Colombia. Decreto 1843 de 1991.** Uso y manejo de plaguicidas. Capítulo XII.
- Montaño, M. 2001.** Evaluación de la residualidad de plaguicidas en fresa (*Fragaria spp.*) en el departamento de Cundinamarca. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Bogotá. 97 p.
- Montaño, M. y J.A. Guerrero. 2001.** Validación de una metodología multiresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en fresa (*Fragaria spp.*) por cromatografía de gases. *Revista Colombiana de Química* 30(1), 37-46.
- Moreno, M.L. 2001.** Evaluación de la residualidad de plaguicidas en el repollo (*Brassica oleracea* var. Capitata) en el departamento de Cundinamarca. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Bogotá. 127 p.
- Moreno, M.L. y J.A. Guerrero. 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(1), 19-32.
- Muñoz, V.H. 1992.** Situación y perspectivas de la horticultura en Colombia. En: *Primer curso de horticultura de clima frío*. Conferencia. ICA Tibaitatá. Mosquera.
- Nausa, O.F. Sin fecha.** Diagnóstico de patrones de uso y manejo de plaguicidas en frutales de clima frío en el departamento de Cundinamarca. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia.
- Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Codex Alimentarius. 1996.** 2 ed. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Organización Mundial de la Salud. Roma. 473 p.
- Santiago, J.C. 2000.** 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. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Bogotá. 60 p.
- Sawyer, L.; B. McMahon; W. Newsome y G. Parker. 1990.** Pesticide and industrial chemical residues. En: Helrich, K. (ed.) *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Agricultural chemicals, contaminants and drugs. Volume 1. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA. pp. 274-290.
- Soboleva, E.; N. Rathor; A. Mageto y A. Ambrus. 2000.** Estimation of significance of matrix-induced chromatographic effects. En: *Principles and practices of method validation*. MPG Books Ltd. Bodmin, Cornwall, UK, pp. 138-156.
- Tekel, J. y S. Hatrik. 1996.** Pesticide residue analyses in plant material by chromatographic methods: clean-up procedures and selective detectors. *J. Chrom. A* 754, 397-410.
- Torres, C.M.; Y. Pico y J. Mañes. 1996.** Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. *J. Chrom. A* 754, 301-331.