

1^{ER} EJERCICIO DE INTERCOMPARACIÓN APLICADO A RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN HORTALIZAS ANALIZADAS EN LA PROVINCIA DE ALMERÍA (1992-1993)

**Ana Agüera López¹
Ana Aguilera del Real²
Mariano Contreras Casas¹
Alicia Gallego Campos²
José Carlos Herrera de Pablo³
Adolfo Martínez de la Peña⁴
Amadeo Rodríguez Fernández-Alba⁵
Emilio Roldán del Valle³
Antonio Valverde García⁶**

INTRODUCCIÓN

El valor de la producción agraria y en especial el subsector de frutas y hortalizas, en la provincia de Almería, no ha dejado de aumentar en los últimos años, alcanzando la producción en el año 1991 un valor de 1,3 millones de toneladas, de las cuales aproximadamente el 40% se destinó a la exportación (1).

Hay dos aspectos importantes en este desarrollo agrícola que nos interesa señalar aquí, la fuerte incorporación de tecnología en la producción y la propia comercialización de la producción, que dan a este sector un gran dinamismo y actualización constante.

-
- 1 Laboratorio de Análisis de Residuos de COEXPHAL
 - 2 Laboratorio del SOIVRE, Ministerio de Industria, Comercio y Turismo
 - 3 Laboratorio del MAPA, Dirección Provincial de Almería
 - 4 Laboratorio de Protección de los Vegetales, Junta de Andalucía
 - 5 Departamento de Química Analítica. Universidad de Almería
 - 6 Departamento de Química Inorgánica. Universidad de Almería

Uno de los resultados ha sido la puesta en marcha en la provincia, en los últimos años, de laboratorios de rutina para el análisis de residuos de plaguicidas que examinan los diferentes productos hortofrutícolas, evitando la comercialización de aquellos que contengan niveles superiores a los permitidos (LMRs) por las diferentes legislaciones de los países de destino.

Este control también suministra información importante sobre otros aspectos como, el comportamiento del cultivo en los procesos de degradación de los agroquímicos o la posibilidad de evaluación de la ingesta anual de estos compuestos por el consumidor.

Para ejecutar estos programas de seguimiento de forma eficiente se requiere que los laboratorios de rutina que los lleven a cabo estén altamente cualificados y tengan una gran capacidad para incorporar a sus métodos nuevos compuestos, nuevas tecnologías, nuevos requerimientos en cuanto rapidez, seguridad etc.

Actualmente existen en Almería cuatro laboratorios dedicados al control de la exportación hortofrutícola en materia de residuos de plaguicidas:

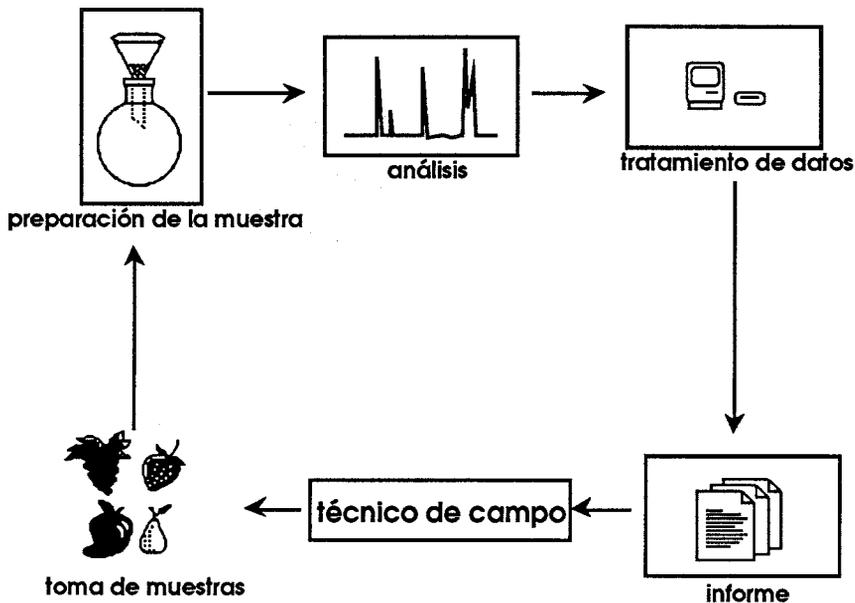
1. Laboratorio Coexphal (Sector exportador)
2. Laboratorio MAPA (Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación)
3. Laboratorio Protección de los vegetales (Consejería de Agricultura de la Junta de Andalucía)
4. Laboratorio SOIVRE (Ministerio de Comercio, Industria y Turismo)

En conjunto se realizan del orden de 6000 análisis/año, sobre unos 200 compuestos diferentes entre pesticidas y metabolitos. Estos valores indudablemente irán en aumento debido por una parte, a la finalización del período transitorio de la adhesión española a la CEE en frutas y hortalizas y por otra a la tendencia generalizada en las sociedades europeas a aumentar los controles necesarios para asegurar la salubridad de los productos alimenticios.

Es evidente por otra parte, que los resultados analíticos de residuos de plaguicidas están adquiriendo cada vez más importancia, ya que sirven de base a numerosas transacciones comerciales así como a iniciativas para el desarrollo de leyes internacionales sobre contaminación y control de calidad de productos agroalimentarios. Por lo que se hace necesario avanzar hacia una armonización (nacional e internacional) para que los resultados obtenidos en diferentes laboratorios sean comparables en todo momento.

Características de los métodos de análisis de residuos de plaguicidas en hortalizas

El desarrollo y aplicación de un método analítico usual en el análisis de plaguicidas en hortalizas se puede representar en forma de un diagrama de flujo como el de la figura:



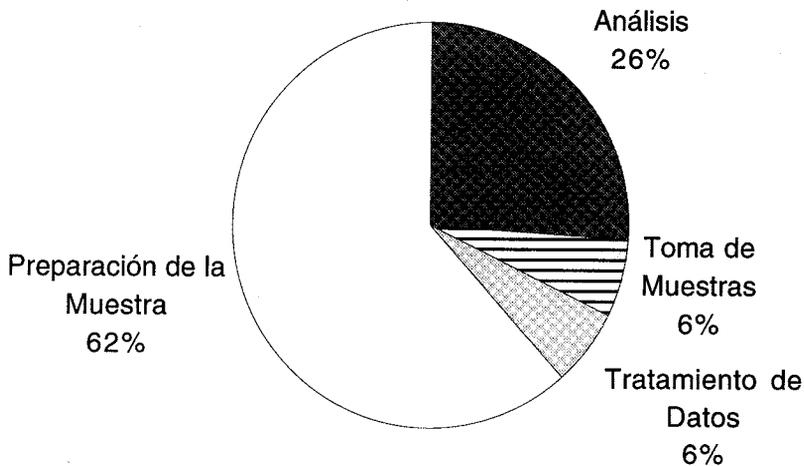
Etapas del método analítico aplicado a residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas

siendo los apartados Preparación de la muestra, Análisis, Tratamiento de datos e Informe competencia del laboratorio de residuos.

Debido a que el número de pesticidas y metabolitos a determinar en la actualidad es muy elevado (≈ 200), y que las determinaciones requeridas son muy bajas, ej. 10^{-12} g/g, uno de los aspectos más solicitados para el análisis de rutina por diferentes organismos internacionales es el control de la calidad, esto es, exactitud, de las medidas analíticas.

En las décadas pasadas se han dedicado grandes esfuerzos para mejorar el tiempo de análisis, resolución, sensibilidad, adquisición y tratamiento de datos analíticos en el campo de la cromatografía tanto líquida como gaseosa. Así, en el análisis de residuos de plaguicidas se dispone de columnas capilares de alta resolución, detectores de respuesta rápida y sensible -cromatografía gaseosa GC-, bombas de alta precisión, columnas de micropartículas y una gran variedad de detectores de alta sensibilidad -cromatografía líquida de alta resolución HPLC-. Y en ambos casos una amplia oferta en cuanto a sistemas de adquisición y tratamiento de la señal analítica basados en el empleo de computadores.

Es de destacar que el tiempo empleado en este tipo de análisis viene determinado principalmente por la etapa de tratamiento de la muestra, ya que dicho tratamiento supone en el reparto total de tiempo empleado en el método aproximadamente el 61% del total (ver diagrama)



Distribución del tiempo empleado en cada etapa del método analítico (2)

Esto es debido a que en esta fase del método analítico se realizan la mayor parte de manipulaciones de la muestra, por lo que evidentemente, gran parte de las desviaciones producidas en los resultados estarán especialmente relacionados con este proceso de tratamiento de muestra.

Métodos para obtener calidad en un laboratorio de análisis

Cuatro cualidades son básicas en todo método analítico, Exactitud, Precisión, Sensibilidad y Selectividad. De ellas una buena exactitud es premisa de todo análisis. La exactitud se define según la International Organization of Standardization (ISO) como el grado de concordancia entre el resultado de una medida y el valor verdadero de la cantidad que se ha medido.

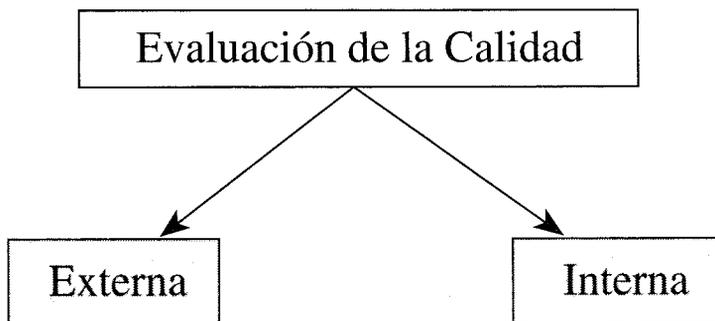
Es evidente por lo tanto la necesidad de que estos laboratorios dispongan de «herramientas» que le permitan comprobar y evaluar la calidad obtenida en estos cuatro apartados, que será un índice de la calidad de las medidas analíticas que proporciona.

A veces es frecuente confundir la calidad de las medidas con una gran sensibilidad o con una buena reproducibilidad de los resultados de un laboratorio, esto con ser esencial no es suficiente.

Es un hecho comprobado que las desviaciones, errores aleatorios principalmente, que suelen producirse con diferentes medidas de una misma muestra en un laboratorio de rutina son pequeñas. Sin embargo estas desviaciones aumentan considerablemente cuando las diferentes

medidas se obtienen en distintos laboratorios. La explicación de este hecho reside en la existencia de errores sistemáticos propios de cada laboratorio y que son difíciles de detectar de forma interna en cada uno de ellos

La evaluación de la calidad de un laboratorio, y por lo tanto de sus medidas analíticas, se puede llevar a cabo a través de dos vías, Externa e Interna (3), según el esquema:



Evaluación interna

Se proponen diferentes procedimientos para la evaluación interna de un laboratorio de análisis como son:

- a) Usar *cartas de control* en donde de manera gráfica se represente la variación con el tiempo del valor obtenido al medir repetidamente un mismo parámetro en una misma muestra. Estas cartas de control permiten detectar desviaciones y su magnitud de forma rápida (4,5).
- b) Comparación de los resultados con otros métodos de análisis diferentes. Es de destacar en este caso, las dificultades para su aplicación en los laboratorios de las características antes señaladas, debido a que previo a un cambio de metodología se requiere una destreza en el mismo y disponer de las técnicas necesarias.
- c) Comparación de resultados con materiales de referencia certificados, como garantía de la exactitud y trazabilidad del análisis. El empleo de estos materiales es un factor básico en todo programa de control de calidad de los resultados generados por un laboratorio. Sin embargo, no existe una gran disponibilidad de materiales de referencia certificados en matrices vegetales para el análisis de plaguicidas, que son los de mayor interés en nuestra provincia.
- d) Intercambio de operadores y equipos.
- e) Auditorías internas.

Una evaluación según los apartados d) y e) sólo es aplicable en laboratorios de un tamaño suficientemente grande.

Evaluación externa

La evaluación externa, esto es, aquella en la que participa conjuntamente más de un laboratorio, se puede llevar a cabo principalmente mediante:

- a) Intercambio de muestras entre los laboratorios participantes. Este intercambio permitirá decidir el nivel de coincidencia y por lo tanto la homogeneidad de los resultados.
- b) Auditorías externas. La participación de un laboratorio considerado de referencia en una o varias fases del proceso analítico permitirá definir la bondad de los resultados, si bien este hecho estará evidentemente limitado en el tiempo.
- c) Ejercicios de intercomparación. En la actualidad, es notable el gran interés de los ejercicios de intercomparación en los laboratorios de análisis de todo el mundo, como queda reflejado en el gran número de ejercicios de este tipo que se llevan a cabo. Muestra de ello es el elevado número de publicaciones sobre este tema que aparecen en bibliografía. Así el Chemical Abstract recoge mas de 1000 trabajos referidos a ejercicios de intercomparación en los últimos años (5,6), tendencia que se observa en aumento. Dentro de este elevado número, es el área de alimentación y plaguicidas uno de los de mayor importancia.

Ejercicios de Intercomparación

Un ejercicio de intercomparación se basa en la aceptación por parte de varios laboratorios de realizar un mismo trabajo analítico bajo la coordinación de una organización, con objeto de evaluar la calidad de su trabajo, su método de análisis o bien el contenido de un compuesto en un material (6,7).

La Organización es responsable de establecer los objetivos, condiciones de participación y protocolo de análisis, asegurar la calidad y estabilidad de la muestra objeto de análisis, así como de establecer el tratamiento estadístico adecuado.

Los laboratorios participantes a su vez se comprometen a seguir las normas y condiciones establecidas por la organización. Siendo misión de todos, conjuntamente, sacar conclusiones que permitan determinar la magnitud relativa del error sistemático, así como la precisión, aunque no las causas últimas de los mismos.

GENERALIDADES

Organización

Amadeo Rodríguez Fernández-Alba y Antonio Valverde García (Profesores titulares de la Universidad, Grupo Residuos de Plaguicidas).

Participantes

D. José Carlos Herrera de Pablo y D. Emilio Roldán del Valle
Laboratorio del MAPA (Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación)

D. Mariano Contreras Casas y Dña. Ana Agüera Lopez
Laboratorio Coexphal (Sector exportador)

D. Adolfo Martínez de la Peña
Laboratorio Protección de los Vegetales (Consejería de Agricultura-Junta de Andalucía)

Dña. Ana Aguilera del Real y Dña. Alicia Gallego Campos
Laboratorio SOIVRE (Ministerio de Comercio, Industria y Turismo)

Nota. El nombre de los laboratorios correspondientes a cada análisis en todo momento es considerado confidencial para los organizadores y laboratorios participantes.

Compuestos y muestra objeto de análisis

Debido al interés que tienen actualmente en la actividad comercial en hortalizas en la provincia de Almería los plaguicidas seleccionados para el análisis en el ejercicio fueron:

Metamidofos

Clorpirifos

α -Endosulfan

β -Endosulfan

Endosulfan sulfato

Pirimifos metil

Clortalonil

La matriz elegida, por las mismas consideraciones, fue pimiento verde.

OBJETIVOS

Los objetivos del ejercicio interlaboratorio propuesto son:

- 1.- Estudiar los requisitos necesarios para establecer cartas de control de resultados analíticos en los laboratorios de residuos de plaguicidas. Esto permitirá disponer por parte de estos laboratorios de una evaluación interna de la calidad de sus medidas, que le suministren criterios de detección de errores de medida, rechazo de resultados y su corrección. Asimismo, se podrán utilizar estas cartas como control de la eficiencia analítica durante toda una campaña.

- 2.- Obtener una visión general de la calidad analítica de los laboratorios participantes.
- 3.- Valorar la eficiencia de las distintas metodologías empleadas en cada laboratorio. Esto permitirá decidir, para compuestos de especial interés en la provincia, qué método de análisis es más eficiente o si es necesario realizar modificaciones en los tratamientos aplicados. De esta forma, se podrá asegurar que la calidad de los resultados sea adecuada y que los errores analíticos estén bajo control.
- 4.- Proponer futuras acciones que permitan mejorar la calidad de los análisis de control de residuos de plaguicidas que se realizan en la provincia de Almería.
- 5.- Estimular el interés en la calidad de los datos.

EXPERIMENTAL

A cada laboratorio se le suministró junto con un completo protocolo 29 muestras fortificadas adecuadamente para su empleo como material de referencia externo y una disolución de patrones de los plaguicidas a determinar. El objetivo a cumplir por cada laboratorio era cuantificar las muestras suministradas, a lo largo de un período de tiempo establecido, utilizando la disolución patrón común a todos los laboratorios, como disolución de calibración por estandar externo. Las muestras de pimiento utilizadas en el ejercicio no fueron sometidas a tratamiento en campo con los plaguicidas objeto de estudio, y previamente al proceso de fortificación se confirmó en las mismas la inexistencia de cualquier tipo de residuo plaguicida. Asimismo, a cada laboratorio participante se le suministró una muestra sin fortificar para su utilización como blanco de referencia.

A fin de aumentar el número de métodos analíticos evaluados y como garantía de la correcta ejecución del Ejercicio, el equipo organizador realizó los mismos análisis que los laboratorios participantes.

Por otra parte, siguiendo las prácticas habituales en este tipo de ejercicios, un número de muestras (cuatro) elegidas al azar fueron analizadas por otro laboratorio no participante (Laboratorio Agrario de la Conselleria D'Agricultura i Pesca de la Generalitat Valenciana en Burjassot). De esta forma, se dispuso de un criterio de garantía sobre la homogeneidad de las muestras suministradas.

Material suministrado

(a) 100 mL de disolución de los patrones indicados disueltos en éter de petróleo al 10% en acetona con las siguientes concentraciones:

Metamidofos	9.6 ppm
Clorpirifos	15.4 ppm
α -Endosulfan	15.4 ppm
β -Endosulfan	17.7 ppm
Endosulfan sulfato	15.8 ppm
Pirimifos metil	15.2 ppm
Clortalonil	15.2 ppm

(b) 29 muestras de pimiento verde fortificadas con la misma disolución patrón debidamente homogeneizadas y envasadas.

(c) 1 Protocolo del ejercicio y 29 «hojas de resultados» para cumplimentar cada uno de los análisis.

(d) 1 Carta de «control de calidad» para cada plaguicida a cumplimentar durante todo el ejercicio.

INSTRUCCIONES RECOGIDAS EN EL PROTOCOLO

Preparación de las muestras

Cada uno de los participantes descongelará la muestra a analizar 24 h. antes de la extracción, homogeneizará y pesará 50 g. de la misma y procederá al tratamiento habitual que realice a las muestras de estas características para el análisis de plaguicidas.

En caso de haber alguna incidencia -menos peso, poca homogeneidad etc.- lo indicará en la hoja correspondiente.

Igualmente en caso de que un análisis no se lleve a cabo se saltará cumplimentando no obstante, la hoja de resultados correspondiente.

Disoluciones de calibración

La forma de calibración será por estándar externo a partir de la disolución de patrones suministrada. Podría ser un dato útil la relación entre esta disolución de calibración y la propia de cada laboratorio por lo que en caso de realizarse la comparación deberá anotarse como «comentarios» los días en que se compare.

Las medidas de la disolución de calibración se harán por *triplicado*.

Análisis

Se procurará realizar las medidas de las muestras en las condiciones más óptimas posibles en cuanto a estabilidad de respuesta y resolución siguiendo cada laboratorio su propio método cromatográfico.

Las medidas de cada muestras se harán por *triplicado*.

En el transcurso del ejercicio se distinguen tres períodos de tiempo que requieren diferente número de análisis cada uno de ellos, que son:

		TOTAL
«Período de inicio»	3 días 3 muestras cada día	9
«Período de seguimiento»	30 días 1 muestra cada día (4 semanales)	16
«Período de control»	30 días 1 muestra cada semana	4

Para evitar grandes disfunciones después del «Período de inicio» se recogerá copia de los resultados obtenidos en cada uno de los laboratorios.

Las fechas de los análisis de las muestras serán: **«Período de inicio»** (días 18,19 y 20 de Noviembre); **«Período de seguimiento»** (días 24,25,26,27 de Noviembre- días 1,2,3,4 de Diciembre- días 8.9.10,11 de Diciembre- días 15,16,17,18 de Diciembre) **«Período de control»** (semana 21-27 de Diciembre- semana 28-3 de Enero- semana 4-10 de Enero y semana 11-17 de Enero

Métodos analíticos empleados

Cada laboratorio participante y el equipo organizador realizó los análisis siguiendo el método habitualmente empleado en sus análisis de residuos de plaguicidas en hortalizas. En total los métodos analíticos empleados fueron seis, ya que uno de los laboratorios realizó sobre las mismas muestras dos procedimientos diferentes. Estos métodos se designan con los números 1 al 6 sin identificar el laboratorio que las aplica.

Las seis metodologías analíticas evaluadas se basan en los tres métodos multiresiduos más utilizados por las Agencias de control más importantes a nivel internacional (8,9 y 10) y se emplearon de la siguiente forma: Las metodologías 1,2,3 y 4 se aplicaron para la determinación de todos los plaguicidas, el método 6 fue aplicado únicamente en la determinación de Metamidofos, Pirimidofos Metil y Clorpirifos, mientras que el método 5 se aplicó en el análisis de los plaguicidas Clortalonil, Clorpirifos y los tres Endosulfanes.

Un resumen de la características básicas de estos seis métodos aparece indicado en la Tabla 1.

Tratamiento de los resultados

El proceso seguido en el tratamiento de los resultados fue el siguiente:

- Obtención de las cartas de control de cada método para cada plaguicida.
- Rechazo de resultados.
- Tratamiento estadístico.

Tabla 1
TABLA DE METODOS

Método	Extracción	Partición/Clean-up	Extracto final	Análisis
1	50 g de muestra 100 g Na ₂ SO ₄ 100+100+100 mL AcEt	—	10 mL (EP)	GC-NPD GC-ECD (dilución 1:5)
2	50 g de muestra 50 g Na ₂ SO ₄ 50 g Na ₂ SO ₄ 100+100 mL AcEt	En ECD 10 mL extracto final 100 mL H ₂ O/NaCl 50 mL EP	10 mL (CHex)	GC-NPD GC-ECD
3	50 g de muestra 50 g Na ₂ SO ₄ 150+100 mL AcEt	En ECD SPE-Silica	10 mL (CHex)	GC-FPD GC-ECD
4	50 g de muestra 100 mL de Acetona	100 mL EP 100 mL CH ₂ Cl ₂ NaCl	5 mL (EP)	GC-FPD GC-ECD
5	50 g de muestra 150 mL de AcN	300 mL H ₂ O/NaCl 100+50 mL de EP	10 mL (EP)	GC-ECD
6	50 g de muestra 40 g Na ₂ SO ₄ 100+100 mL AcEt	—	10 mL (EP)	GC-NPD

AcEt=Acetato de Etilo, EP=Eter de petróleo, CHex=Ciclohexano, AcN=Acetonitrilo

Cartas de Control

Indican la precisión de las medidas obtenidas a lo largo de un período de tiempo, pudiendo valorar las variaciones aleatorias del sistema de detección o del tratamiento de la muestra, así como la detección de posibles errores accidentales puntuales. Igualmente en caso de haber tendencias claras en la sucesión de medidas debidas a muy diversos factores (pérdida o ganancia de sensibilidad, defectos en los estándares externos o internos etc.) son de fácil detección en las gráficas.

En el presente ejercicio se obtuvieron de la siguiente forma:

Eje X. En este eje se representaron a igual distancia cada uno de los días que abarcó el ejercicio, esto es, 61 días (del 18 de Noviembre al 17 de Enero).

Eje Y. En este eje se representaron los valores de concentración (expresados en ppm=mg/kg) obtenidos en el análisis de cada una de las muestras analizadas correspondientes a cada día.

En estas cartas de control se trazaron las líneas «media», «+2s», «-2s», «+3s» y «-3s» correspondientes a los valores de concentración media de los análisis realizados en el «período de control» (tres primeros días/nueve muestras) y los valores de dos veces y tres veces la desviación estandar correspondientes al mismo período. Las zonas fuera del intervalo +2s/-2s se consideran zonas de «precaución» y las zonas fuera del intervalo +3s/-3s, zona de «alarma» (4).

Rechazo de resultados

Se consideraron como datos rechazables aquellos que estaban fuera del intervalo $\pm 3s$ o zona de «alarma» de cada una de las cartas de control obtenidas.

Tratamiento estadístico

Recuperación

La recuperación (R) obtenida para cada plaguicida en cada método se calcula como:

$$R = \text{concentración determinada} / \text{concentración de fortificación}$$

El valor de R se expresa en tanto por ciento. Como concentración determinada se utilizó la media de todos los valores no rechazados.

Coeficiente de variación

El coeficiente de variación (CV) para cada plaguicida en cada método se calcula de la forma:

$$CV = \text{desviación estandar} / \text{valor medio}$$

El valor de CV se expresa en tanto por ciento. Para el cálculo de la desviación estandar y valor medio se utilizaron todos los valores no rechazados para cada uno de los métodos.

Z-score

El valor z-score para cada plaguicida en cada método se calcula como:

$$z = (x - x_1) / d$$

donde x es el valor medio, x_1 la concentración de fortificación, y d el error estandar. En este caso el valor asignado a d fue del $\pm 20\%$ sobre el valor de la fortificación, siguiendo recomendaciones para este tipo de ejercicios.

Los valores de z-score, y por tanto las gráficas que lo representan, se pueden interpretar de la siguiente forma:

$|z| < 2$: Valor satisfactorio. Este valor se produce en un 95% de los casos en laboratorios con control de calidad adecuado.

$2 < |z| < 3$: Valor cuestionable. Este valor se produce en ~ 5% de los casos en laboratorios con control de calidad adecuado.

$|z| > 3$: Valor Insatisfactorio. Este valor se produce ~0,1 % de los casos en laboratorios con control de calidad adecuado.

Exactitud y Precisión

La evaluación de la exactitud y precisión de las metodologías empleadas se realizó gráficamente. Las gráficas se obtuvieron por la representación, para cada método, de los valores de concentración medios obtenidos en los análisis de cada plaguicida y el intervalo de error calculado como $\pm ts$ (t = parámetro t de Student y s =desviación estandar). En las mismas, se superponen las líneas del valor de la fortificación, +20% el valor de la fortificación y -20% el valor de la fortificación.

Estas gráficas muestran la calidad de la medida de forma global, ya que permiten visualizar conjuntamente, la precisión y exactitud de las medidas realizadas. La exactitud se visualiza como proximidad del valor medio al valor «objetivo» (fortificación) y la precisión como intervalo de confianza obtenido frente al intervalo considerado como aceptable en este tipo de análisis ($\pm 20\%$). En ningún caso se multiplicaron los valores obtenidos por un valor de corrección, con el fin de que la comparación de métodos no fuera distorsionada. No obstante, esta práctica a veces puede ser recomendable para una mejor exactitud.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos corresponden a la aplicación de las metodologías 1,2,3 y 4 para la determinación de todos los plaguicidas. El método 6 fue aplicado al caso de Metamidofos, Pirimidofos Metil y Clorpirifos, mientras que el método 5 se aplicó en el análisis de los plaguicidas Clortalonil, Clorpirifos y los tres Endosulfanes.

En el Anexo I se muestran las «cartas de control» para cada plaguicida y cada método ensayado, excepto para el caso de Metamidofos con la metodología 2. Cada medida (círculo) se representa en función del tiempo. Sobre ella está dibujado (línea continua) el valor medio obtenido con las medidas correspondientes al «período de control» (1a semana, 9 medidas) y dos intervalos (líneas discontinuas) correspondientes a los valores $\pm 2s$ (dos veces la desviación estandar) y $\pm 3s$ (tres veces la desviación estandar) consideradas como límites de «precaución» y «alarma». Esta desviación estandar fue calculada a partir de las medidas correspondientes al «período de control».

En las Tablas 2-7 se dan los datos considerados válidos en cada laboratorio, según el cri-

terio de rechazo de resultados antes descrito. La diferencia de número de datos aportados por cada laboratorio se debe fundamentalmente a que no todos los laboratorios realizaron el mismo número de medidas (los días en los que los laboratorios/métodos no efectuaron la determinación quedan reflejados en las Tablas de Control), y en menor medida al diferente número de datos rechazados.

En las Tablas 8 y 9 se indican los valores de Recuperación (R) y Coeficiente de variación (C.V.) obtenidos por cada método y cada plaguicida.

En las Figuras 1 y 2 se presentan los valores de exactitud y precisión, dándose el valor medio (círculo) y los intervalos de confianza ($\pm ts$) para cada determinación. Sobre estas gráficas están dibujados, en forma de líneas horizontales, el valor objetivo esto es, el valor de fortificación de las muestras.

En la Figura 3 se muestran los diagrama de barras, correspondientes a los valores de z-score de cada plaguicida y cada método.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Cartas de Control. Como se observa en las gráficas del Anexo I, los plaguicidas estudiados, excepto Metamidofos, en todos los métodos aplicados presentan una distribución aleatoria de resultados dentro de los límites $\pm 2s$. Siendo el número de puntos rechazados $\leq 10\%$ del total, lo que indica un buen control y reproducibilidad, por parte de todos los laboratorios en sus determinaciones. En el caso del Metamidofos la dispersión de resultados es notable, observándose además, tendencias claras a valores superiores o inferiores de la media establecida en el «período de control» (métodos 1,3 y 6). Esto motiva que en este caso no se realicen tratamientos estadísticos de resultados, al no considerarse representativos de una adecuada determinación.

Recuperación. Las recuperaciones de cada método (Tabla 8) sobre el «valor objetivo» (fortificación) son próximas o superiores al 70%, valor que se considera adecuado, para todos los plaguicidas y todos los métodos excepto:

- Clortalonil en todos los métodos
- a-endosulfan en el método 2
- b-endosulfan en el método 2
- Endosulfan sulfato en el método 2
- Clorpirifos en el método 2
- Pirimifos metil en los métodos 2 y 4

En primer lugar cabe destacar la baja recuperación del Clortalonil en todos los métodos utilizados ($R = 12\%-44\%$). Este hecho no está en concordancia con otros datos recogidos en bibliografía y experiencias anteriores realizadas en estos laboratorios. Por tanto estos resultados cabe pensar que son consecuencia de causas ajenas al proceso de determinación, como pueden ser, el proceso de fortificación o almacenamiento de las muestras.

La baja recuperación obtenida por la metodología 2 para los plaguicidas determinados con

detector de captura de electrones (ECD), parece estar motivada por la etapa de clean up empleada cuando se utiliza este sistema de detección cromatográfica.

Es de destacar que la metodología nº 5 obtiene recuperaciones en el rango 100-107% para los plaguicidas a-endosulfan, b-endosulfan, endosulfan sulfato y clorpirifos.

Coeficiente de Variación. Tal como se observa en la Tabla 9, los valores de coeficientes de variación (CV) son aceptables (próximos o inferiores al 20%) en todos los casos. No obstante la metodología 2 es la que obtiene, en general, valores superiores de CV.

Exactitud y precisión. Los valores de Recuperación y Coeficiente de variación ya son indicativos de la exactitud y precisión de las determinaciones. No obstante, para una mejor comparación y visualización global de estos parámetros de calidad de cada una de las metodologías, se representaron las gráficas de exactitud y precisión que se recogen en las Figuras 1 y 2. Puede observarse que los valores medios (círculo) están dentro o próximos del intervalo $\pm 20\%$ del valor objetivo excepto en el caso del clortalonil, en cuya gráfica no aparece el valor objetivo al estar fuera de escala. Respecto a los intervalos de confianza calculados, estos son adecuados de forma general en todos los casos.

Z-Score. En todos los casos se observan valores de z-score (Figura 3) relativamente bajos ($|z| < 5$), indicando una calidad de resultados considerable, teniendo en cuenta el tipo de determinaciones realizadas. Para los plaguicidas: clorpirifos, a-endosulfan, b-endosulfan, endosulfan sulfato y pirimifos metil, las metodologías empleadas son adecuadas, obteniéndose valores de z-score menores de 3. En el caso de las metodologías 1,3,4,5 y 6 los valores de z-score son satisfactorios ($z < 2$) para todos los plaguicidas estudiados, excepto clortalonil.

Por último, debemos mencionar que los resultados obtenidos en el análisis de las cuatro muestras por el laboratorio no involucrado en el ejercicio (Laboratori Agrari, Conselleria d'Agricultura i Pesca, Generalitat Valenciana), confirman la homogeneidad de las muestras empleadas en el mismo. Igualmente, estos resultados confirman las tendencias observadas a lo largo del ejercicio y apoyan de forma clara las conclusiones que a continuación se exponen.

CONCLUSIONES

- 1.- Las cartas de control son adecuadas según la propuesta realizada en cuanto a número de determinaciones y tiempo correspondientes al período de control. El criterio $3s$ (tres veces la desviación estandar del período de control) aplicado para rechazo de resultados es adecuado ya que se observa una distribución aleatoria de valores y la mayoría de estos ($\geq 90\%$) dentro de la zona $\pm 2s$
- 2.- En el caso del Metamidofos se observa una gran dispersión de resultados en las cartas de control en todos los laboratorios. Esta dispersión aconseja la no aplicación del tratamiento estadístico propuesto. Este hecho puede estar motivado por:

- Falta de reproducibilidad en el análisis cromatográfico
 - Falta de reproducibilidad en el proceso de extracción
- 3.- Las recuperaciones sobre el «valor objetivo» (fortificación) son próximas o superiores al 70% para todos los plaguicidas y todos los métodos excepto:
- Clortalonil en todos los métodos
 - α -endosulfan en el método 2
 - β -endosulfan en el método 2
 - Endosulfan sulfato en el método 2
 - Clorpirifos en el método 2
 - Pirimifos metil en los métodos 2 y 4
- Es de destacar que la metodología nº 5 obtiene recuperaciones en el rango 100-107% para los plaguicidas α -endosulfan, β -endosulfan, endosulfan sulfato y clorpirifos.
- 4.- Se observan valores de coeficientes de variación (CV) aceptables (próximos o inferiores al 20%) en todos los casos. No obstante la metodología 2 es la que obtiene, en general, valores superiores de CV.
- 5.- Para los plaguicidas, clorpirifos, α -endosulfan, β -endosulfan, endosulfan sulfato y pirimifos metil, las metodologías empleadas por todos los laboratorios son adecuadas, obteniéndose valores de z-score menores de 3. En el caso de las metodologías 1,3,4,5 y 6 los valores de z-score son satisfactorios ($z < 2$) para todos los plaguicidas estudiados, excepto clortalonil.
- 6.- En el caso del clortalonil se observan fuertes desviaciones negativas con todas las metodologías aplicadas. Este hecho puede ser motivado por:
- Baja recuperación de los métodos
 - Pérdidas durante el almacenamiento y posterior descongelación
 - Pérdidas durante el proceso de fortificación

PROPUESTAS

1. Realizar un nuevo ensayo sobre muestras de referencia recién fortificadas con clortalonil, con objeto de establecer la influencia del proceso de almacenamiento y descongelación en la determinación de este plaguicida.

2. Realizar un ensayo sobre diferentes disoluciones patrón de Metamidofos que permita evaluar su reproducibilidad cromatográfica en diferentes disolventes o mezclas de disolventes.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a D. Miguel Gamon (Laboratori Agrari, Conselleria d'Agricultura i Pesca, Generalitat Valenciana) por su valiosa colaboración en este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **Consejería de Agricultura y Pesca**. Junta de Andalucía (1991).
- 2.- **R.E. Majors** LC-GC, 4, 2 (1991)10.
- 3.- **G. Rauret** «La calidad en los laboratorios analíticos» **M. Valcárcel y A. Ríos**, Editores. Ed. Reverté, pag. 249. Barcelona (1992).
- 4.- **J.K. Taylor** «Quality Assurance of Chemical Measurements», Lewis Publ. Michigan (1987).
- 5.- **Analytical Methods Committee**, Royal Society of Chemistry, Analyst, 114 (1989) 1497.
- 6.- **W. Horwitz**, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71 (1988) 160.
- 7.- **B. Griepink**, Química Analítica, 8 (1989) 1.
- 8.- **AOAC**, «Official Methods of Analysis» 14th Ed. cap.29. Washington (1984).
- 9.- **M.A. Luke, J.E. Froberg, G.M. Doose y H.T. Masumoto**, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 64 (1981) 1187.
- 10.- **J.B. Leary**, Anal. Meth. Pest. Plant Growth Regul., 7 (1973) 339.

Tabla 2

Valores válidos obtenidos y parámetros estadísticos básicos calculados para cada uno de los métodos utilizados en la determinación de *a*-Endosulfan.

A) Valores no rechazados.

Método1	Método2	Método3	Método4	Método5
0,121	0,051	0,127	0,107	0,166
0,106	0,063	0,130	0,129	0,177
0,108	0,045	0,136	0,099	0,181
0,112	0,063	0,110	0,123	0,169
0,120	0,067	0,108	0,125	0,162
0,116	0,070	0,101	0,107	0,166
0,133	0,074	0,078	0,113	0,139
0,124	0,070	0,083	0,121	0,166
0,120	0,084	0,098	0,112	0,165
0,109	0,088	0,130	0,110	0,157
0,122	0,071	0,144	0,121	0,134
0,120	0,047	0,101	0,093	0,134
0,110	0,060	0,129	0,123	0,132
0,118	0,081	0,120	0,108	0,154
0,117	0,040	0,119	0,111	0,138
0,111	0,069	0,125	0,142	0,149
0,134	0,080	0,142	0,098	0,171
0,135	0,066	0,113	0,096	0,159
0,119	0,075	0,126	0,105	0,137
	0,063	0,119	0,118	0,162
	0,068	0,111	0,121	0,152
	0,060	0,113	0,123	0,161
		0,108	0,138	0,164
		0,099	0,115	0,163
		0,113	0,115	0,166
		0,110	0,121	0,157
		0,099	0,137	
			0,156	

B) Parámetros estadísticos

nº	19	22	26	27	28
Mínimo	0,106	0,040	0,078	0,093	0,132
Máximo	0,135	0,088	0,144	0,142	0,181
Rango	0,029	0,048	0,066	0,049	0,049
Media	0,119	0,066	0,115	0,114	0,156
s	0,009	0,012	0,016	0,012	0,014

s=desviación estandar

Tabla 3

Valores válidos obtenidos y parámetros estadísticos básicos calculados para cada uno de los métodos utilizados en la determinación de b-Endosulfan.

A) Valores no rechazados.

	Método1	Método2	Método3	Método4	Método5
	0,142	0,053	0,157	0,123	0,207
	0,126	0,060	0,162	0,163	0,210
	0,130	0,051	0,171	0,122	0,227
	0,133	0,060	0,156	0,141	0,201
	0,143	0,078	0,139	0,142	0,180
	0,134	0,069	0,132	0,125	0,192
	0,158	0,072	0,090	0,137	0,161
	0,149	0,072	0,096	0,135	0,190
	0,151	0,085	0,115	0,139	0,190
	0,126	0,083	0,168	0,123	0,179
	0,147	0,076	0,150	0,152	0,153
	0,142	0,062	0,121	0,113	0,145
	0,133	0,074	0,165	0,127	0,172
	0,137	0,055	0,155	0,127	0,154
	0,130	0,064	0,158	0,105	0,170
	0,130	0,059	0,205	0,123	0,212
	0,160	0,092	0,125	0,125	0,194
	0,162	0,072	0,138	0,103	0,162
	0,138	0,082	0,135	0,148	0,194
		0,059	0,125	0,163	0,231
		0,060	0,138	0,155	0,218
		0,043	0,131	0,164	0,162
			0,128	0,134	0,180
			0,147	0,133	0,191
			0,146	0,121	0,171
			0,154	0,131	0,158
					0,188
					0,147

B) Parámetros estadísticos

	Método1	Método2	Método3	Método4	Método5
nº	19	22	26	26	28
Mínimo	0,126	0,043	0,090	0,103	0,145
Máximo	0,162	0,092	0,205	0,164	0,231
Rango	0,036	0,049	0,115	0,061	0,086
Media	0,141	0,067	0,143	0,134	0,184
s	0,011	0,012	0,024	0,017	0,024

s=desviación estandar

Tabla 4

Valores válidos obtenidos y parámetros estadísticos básicos calculados para cada uno de los métodos utilizados en la determinación de Clortalonil.

A) Valores no rechazados.

	Método1	Método2	Método3	Método4	Método5
	0,035	0,012	0,026	0,055	0,036
	0,026	0,018	0,027	0,065	0,037
	0,028	0,009	0,023	0,047	0,037
	0,030	0,015	0,022	0,058	0,029
	0,028	0,018	0,023	0,082	0,032
	0,034	0,015	0,015	0,043	0,040
	0,032	0,019	0,015	0,091	0,026
	0,039	0,018	0,019	0,083	0,035
	0,037	0,024	0,035	0,082	0,036
	0,032	0,024	0,020	0,072	0,032
	0,030	0,015	0,035	0,074	0,025
	0,038	0,022	0,030	0,058	0,028
	0,027	0,022	0,028	0,063	0,026
	0,030	0,020	0,025	0,048	0,028
	0,035	0,018	0,021	0,052	0,028
	0,034	0,024	0,027	0,063	0,029
	0,029	0,020	0,025	0,072	0,041
	0,034	0,017	0,020	0,051	0,035
	0,040	0,019	0,020	0,068	0,023
	0,032	0,014	0,019	0,075	0,034
		0,015	0,020	0,082	0,036
		0,015	0,025	0,075	0,036
			0,029	0,083	0,035
				0,053	0,030
				0,083	0,034
				0,072	0,035
				0,056	0,025
					0,034

B) Parámetros estadísticos

	20	22	23	27	28
nº	20	22	23	27	28
Mínimo	0,026	0,009	0,015	0,043	0,023
Máximo	0,040	0,024	0,035	0,091	0,041
Rango	0,014	0,015	0,020	0,048	0,018
Media	0,033	0,018	0,024	0,067	0,032
s	0,004	0,004	0,005	0,014	0,005

s=desviación estandar

Tabla 5

Valores válidos obtenidos y parámetros estadísticos básicos calculados para cada uno de los métodos utilizados en la determinación de Endosulfan sulfato.

A) Valores no rechazados.

Método1	Método2	Método3	Método4	Método5
0,139	0,044	0,119	0,118	0,196
0,120	0,058	0,124	0,156	0,213
0,112	0,051	0,132	0,120	0,185
0,122	0,053	0,127	0,141	0,194
0,137	0,074	0,113	0,142	0,190
0,128	0,064	0,102	0,125	0,219
0,160	0,071	0,083	0,125	0,158
0,147	0,064	0,083	0,128	0,170
0,152	0,085	0,095	0,131	0,170
0,120	0,067	0,153	0,121	0,157
0,152	0,062	0,101	0,104	0,136
0,144	0,051	0,140	0,129	0,134
0,134	0,074	0,139	0,118	0,129
0,118	0,076	0,163	0,115	0,144
0,137	0,063	0,166	0,118	0,144
0,159	0,055	0,125	0,103	0,155
0,125	0,047	0,128	0,115	0,202
0,153	0,065	0,123	0,107	0,178
0,173	0,052	0,124	0,123	0,135
0,159	0,063	0,147	0,153	0,179
0,135	0,041		0,119	0,215
	0,046		0,163	0,191
	0,069		0,121	0,199
			0,105	0,148
			0,115	0,166
			0,125	0,184
			0,101	0,158
				0,186

B) Parámetros estadísticos

	21	23	20	27	28
nº	21	23	20	27	28
Mínimo	0,112	0,041	0,083	0,101	0,129
Máximo	0,173	0,085	0,166	0,163	0,219
Rango	0,061	0,044	0,083	0,062	0,090
Media	0,139	0,061	0,124	0,124	0,173
s	0,017	0,011	0,024	0,016	0,026

s=desviación estandar

Tabla 6

Valores válidos obtenidos y parámetros estadísticos básicos calculados para cada uno de los métodos utilizados en la determinación de Clorpirifos.

A) Valores no rechazados.

	Método1	Método2	Método3	Método4	Método5	Método6
	0,122	0,081	0,134	0,133	0,103	0,182
	0,118	0,099	0,142	0,171	0,096	0,188
	0,099	0,083	0,158	0,138	0,105	0,185
	0,111	0,096	0,125	0,142	0,099	0,172
	0,107	0,084	0,137	0,146	0,096	0,159
	0,116	0,087	0,095	0,135	0,095	0,168
	0,123	0,136	0,109	0,128	0,111	0,144
	0,110	0,098	0,140	0,125	0,118	0,170
	0,118	0,100	0,128	0,130	0,114	0,168
	0,105	0,126	0,127	0,142	0,101	0,168
	0,119	0,087	0,126	0,143	0,115	0,144
	0,107	0,084	0,113	0,131	0,115	0,136
	0,104	0,097	0,135	0,128	0,106	0,145
	0,104	0,093	0,118	0,163	0,112	0,162
	0,103	0,099	0,112	0,151	0,107	0,145
	0,119	0,190	0,126	0,122	0,113	0,154
	0,099	0,076	0,144	0,108	0,106	0,179
	0,107	0,108	0,116	0,173	0,094	0,168
	0,108	0,086	0,125	0,148	0,098	0,152
	0,108	0,094	0,130	0,151	0,097	0,198
	0,114	0,080	0,115	0,148	0,111	0,176
		0,092	0,130	0,133	0,108	0,172
		0,080	0,110	0,131	0,106	0,158
			0,113	0,134	0,094	0,165
			0,111	0,125	0,100	0,162
			0,111		0,094	0,147
					0,096	0,166
					0,097	

B) Parámetros estadísticos

	21	23	26	25	28	27
n°	21	23	26	25	28	27
Mínimo	0,099	0,076	0,095	0,108	0,094	0,136
Máximo	0,123	0,136	0,158	0,173	0,118	0,198
Rango	0,024	0,060	0,063	0,065	0,024	0,062
Media	0,111	0,094	0,124	0,139	0,104	0,164
s	0,007	0,014	0,014	0,015	0,008	0,015

s=desviación estandar

Tabla 7

Valores válidos obtenidos y parámetros estadísticos básicos calculados para cada uno de los métodos utilizados en la determinación de Pirimifos metil.

A)Valores no rechazados

	Método1	Método2	Método3	Método4	Método5
	0,124	0,080	0,127	0,103	0,097
	0,124	0,095	0,135	0,080	0,100
	0,100	0,071	0,172	0,070	0,107
	0,110	0,094	0,123	0,074	0,107
	0,109	0,062	0,133	0,079	0,100
	0,114	0,082	0,098	0,070	0,097
	0,126	0,126	0,112	0,101	0,113
	0,111	0,106	0,140	0,093	0,110
	0,117	0,126	0,127	0,111	0,113
	0,106	0,104	0,128	0,093	0,103
	0,112	0,113	0,125	0,095	0,117
	0,107	0,065	0,129	0,078	0,117
	0,107	0,087	0,122	0,079	0,107
	0,105	0,086	0,117	0,098	0,118
	0,104	0,081	0,116	0,073	0,107
	0,125	0,096	0,125	0,087	0,114
	0,097	0,078	0,132	0,185	0,086
	0,107	0,064	0,117	0,089	0,093
	0,114	0,093	0,130	0,095	0,098
	0,111	0,064	0,135	0,115	0,102
	0,113	0,086	0,105	0,101	0,115
		0,090	0,130	0,083	0,100
		0,100	0,108	0,098	0,106
			0,112	0,115	0,096
			0,110	0,086	0,096
			0,110	0,075	0,094
				0,095	0,094
					0,098

B)Parámetros estadísticos

	21	23	26	27	28
nº	21	23	26	27	28
Mínimo	0,097	0,062	0,098	0,070	0,086
Máximo	0,126	0,0126	0,172	0,115	0,118
Rango	0,029	0,064	0,074	0,045	0,032
Media	0,112	0,089	0,124	0,090	0,104
s	0,008	0,018	0,014	0,013	0,009

s=desviación estandar

Tabla 8

Valores de recuperación, obtenidos por cada metodología, referidos al «valor objetivo» (fortificación).

Recuperación (%)						
Método	Clortalonil	α -endosulfan	β -endosulfan	Endosulfan sulf.	Clorpirifos	Pirimifosmetil
1	21.7	77.3	79.7	88.0	72,1	73,7
2	11.8	42.9	37.9	38.6	61.0	58.6
3	15.8	74.7	80.8	78.5	80.5	81.6
4	44.1	74.0	75.7	90.3	90.3	59.2
5	21.1	101.3	104.0	106.5	106.5	
6					67.5	68.4

Tabla 9

Valores de coeficientes de variación (CV), obtenidos por cada metodología, referidos al «valor objetivo» (fortificación).

Coeficiente de variación (%)						
Método	Clortalonil	α -endosulfan	β -endosulfan	Endosulfan sulf.	Clorpirifos	Pirimifosmetil
1	12.1	7.6	7.8	12.2	6.3	7.1
2	22.2	18.2	17.9	18.0	14.9	20.2
3	20.8	13.9	16.8	19.4	11.3	11.3
4	20.9	10.5	14.7	12.9	10.8	14.4
5	15.6	9.0	13.0	15.0	9.1	
6					7.7	8.7

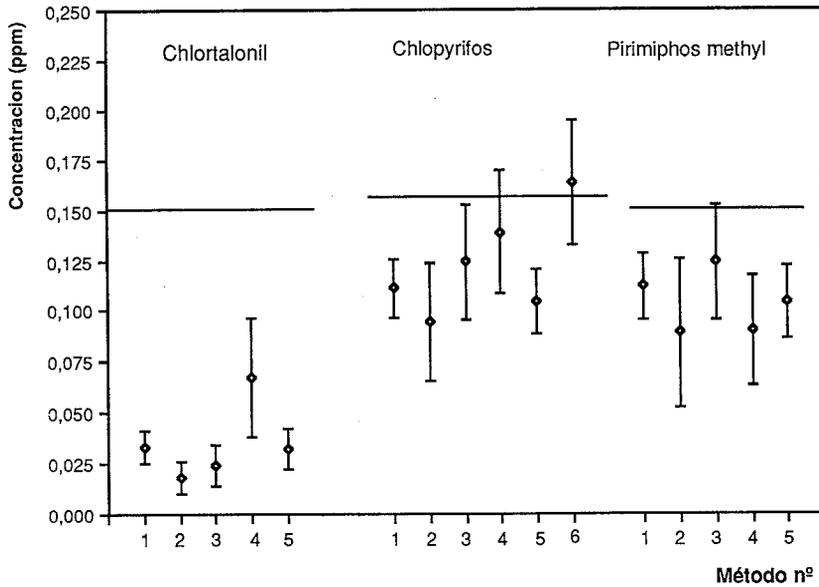
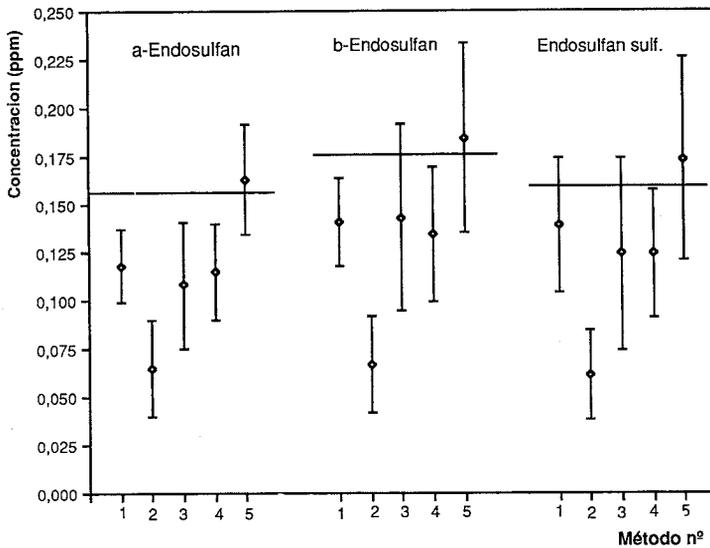


Figura 1

Exactitud y precisión de los métodos utilizados para la determinación de los residuos de Chlortalonil, Chlopyrifos y Pirimiphos methyl



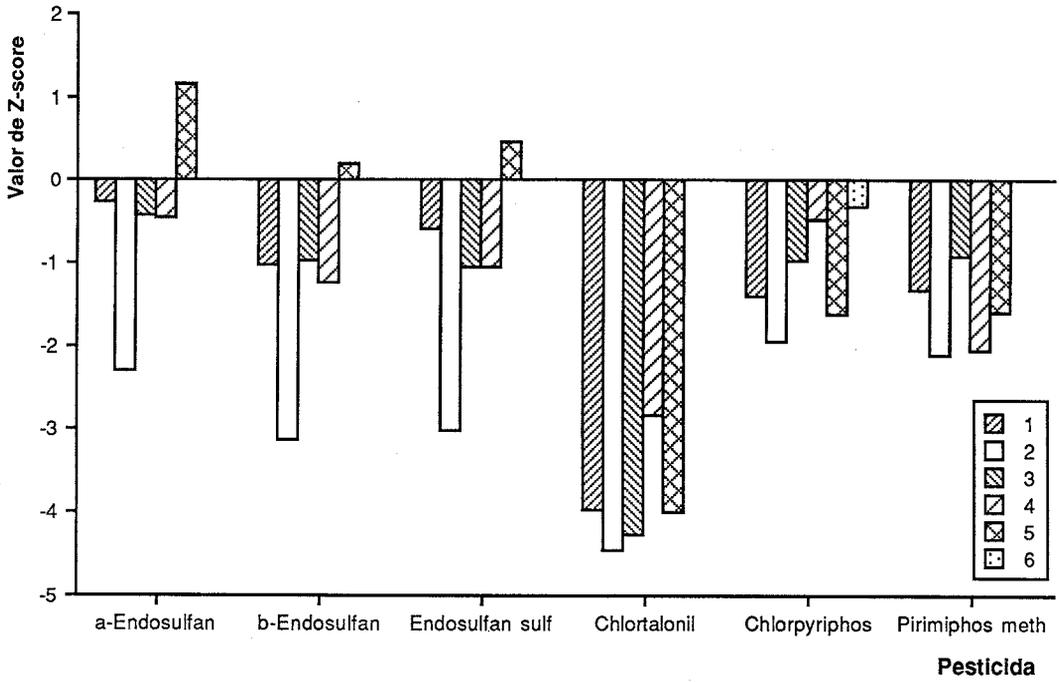


Figura 2
 Exactitud y precisión de los métodos utilizados para la determinación de los residuos de a-Endosulfan, b-Endosulfan y Endosulfan sulf.

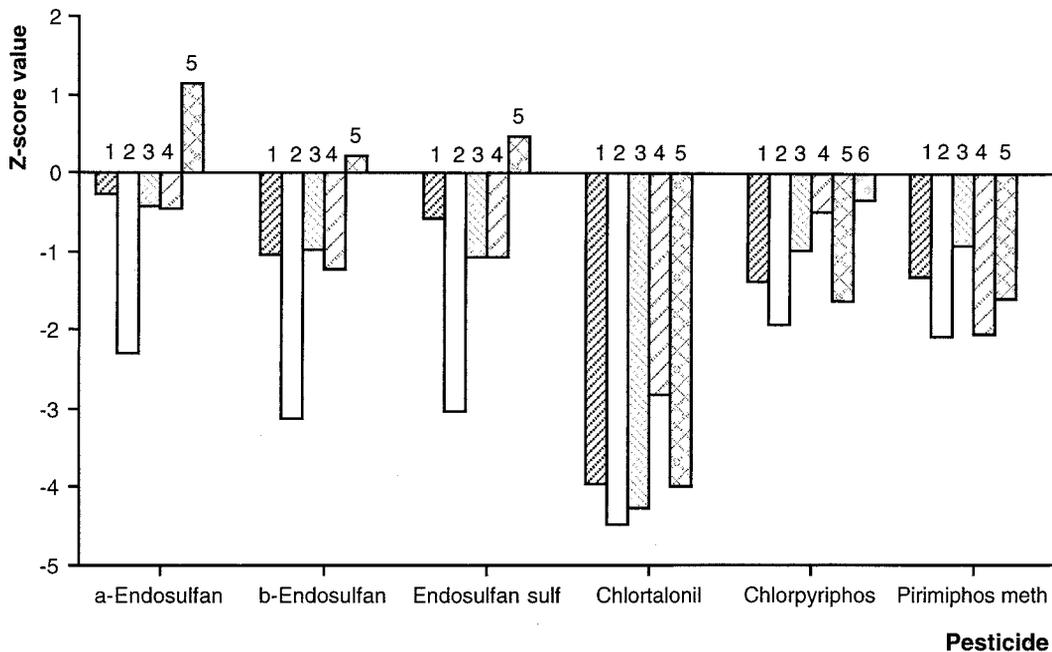


Figura 3
Valores de Z-score para cada plaguicida y método analítico utilizado

