


aoxlab	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas

AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-111 Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Santiago Valencia Alvarez	Analista de Laboratorio		2024-07-25
Revisó:	Ángela P. Patiño Pérez	Directora de calidad		2024-07-26
Aprobó:	Laura S. Guerra Foronda	Directora Técnica		2024-07-26
Localización del documento:		Plataforma SGC		


Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2024-01-30	1	Ninguno (versión original).	SVA	APPP	LSGF
Vigente	2024-07-26	2	Se adicionan los estándares individuales, además de la utilización del estándar interno. Se modifica la preparación de la curva y las muestras, además del proceso de Clean UP. Se mejora el control de calidad.	SVA	APPP	LSGF


	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

ÍNDICE

1.	OBJETIVO Y ALCANCE.	5
1.1	Objetivo.	5
1.2	Alcance.	5
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.	5
2.1	Definiciones.	5
2.2	Notaciones.	6
3.	REFERENCIAS.	6
4.	DESARROLLO	8
4.1	EQUIPOS DE MEDICIÓN.	8
4.2	CONDICIONES GENERALES	8
4.2.1	Inspección visual.	8
4.2.2	Estabilización.	9
4.2.3	Verificación de equipos.	9
4.3	Manejo de la muestra.	9
4.4	Medidas de seguridad.	10
4.5	Instrucciones De Ensayo.	10
4.5.1	Reactivos y/o soluciones	10
4.5.2	Preparación de la muestra	17
4.5.2.1	Extracción para muestras con alto contenido de agua (Mandarina, Naranja, Maracuyá, Curuba, Gulupa, Piña, Mango, entre otros):	17
4.5.2.2	Extracción para muestras con alto contenido de grasa y contenido intermedio de agua (Aguacate, entre otros)	17
4.5.2.3	Extracción para muestras con alto contenido de grasa y contenido bajo de agua (granos de café, granos de cacao y derivados)	18
4.5.3	<i>Clean Up</i>	18
4.5.3.1	Muestras con alto contenido de agua (Mandarina, Naranja, Maracuyá, Curuba, Gulupa, Piña, entre otros)	18
4.5.3.2	Muestras con alto contenido de clorofila o carotenoides (Mango)	18
4.5.3.3	Muestras con alto contenido de grasa y contenido bajo de agua (granos de café, granos de cacao y derivados)	18
4.5.3.4	Muestras con alto contenido de grasa y contenido intermedio de agua (Aguacate, coco, ajo, entre otros)	19
4.5.3.5	Condiciones cromatográficas	19
4.6	Revisión de resultados	19
4.7	Informe	22

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

4.8	Control de la calidad	23
5.	RESPONSABILIDADES.	25
5.1	Director técnico.	25
5.2	Director de Calidad.	25
5.3	Líder de Laboratorio.	25
5.4	Analista.	25
6.	FORMATOS RELACIONADOS.	26
7.	ANEXOS.	26

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar la determinación de Plaguicidas en Alimentos de acuerdo con las directrices establecidas en el documento EN 15662:2019 EUROPEAN STANDARD [2], así como con los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método
Pesticidas en Alimentos	EN 15662:2019	Cromatografía Gaseosa acoplada masas-masas (Triple cuadrupolo)

Este método se aplica a las siguientes matrices:

- Frutas Cítricas (Naranja, Limón, Mandarina, Maracuyá, entre otras)
- Frutas con alto contenido de agua (Piña, Mango, entre otros)
- Frutas con alto contenido de grasa y contenido medio de agua (Aguacate, entre otros).
- Alimentos con alto contenido de grasa y bajo contenido de agua (granos de Cacao, granos de Café, entre otros).

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Calibración [4].

Operación que, bajo condiciones especificadas, en un primer paso, establece una relación entre los valores de las magnitudes con su incertidumbre de medición provista por patrones de medición y las indicaciones correspondientes con incertidumbres de medición asociadas y, en segundo paso, usa esta información para establecer una relación para obtener un resultado de medición de una indicación.

Desviación Estándar Relativa (DSR%) [4].


Estimador del grado de dispersión de medidas repetidas. Se calcula como

$$DSR \% = \frac{D.S.}{\bar{x}} \times 100$$

Donde D. S. es la desviación estándar de las réplicas y \bar{x} es el promedio de estas

Error relativo porcentual (E. R. %) [4].

Estimador del sesgo de una medición. Se calcula como

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

$$b\% = E.R.\% = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$$

Donde x_{ref} es el valor teórico o aceptado como verdadero y \bar{x} es el promedio de estas

Ensayo/prueba [3]. Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento

Procedimiento [3].

Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso.

Pesticidas [5].

Un pesticida es cualquier producto (natural, orgánico o sintético) que se usa para controlar, prevenir, eliminar, contener o repeler plagas. La palabra “pesticida” tiene un significado amplio. Incluye insecticidas (para matar insectos), herbicidas (para matar malezas y otras plantas), fungicidas (para matar hongos), rodenticidas (para matar roedores) y reguladores de crecimiento. Además, incluye otros productos tales como acaricidas, que se usan para controlar ácaros, y productos para matar caracoles y babosas (llamados molusquicidas).

QuEChERS [6].

Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (rápido, fácil, económico, eficaz, solido, Seguro), técnica de preparación de muestras sencilla y directa, ideal para el análisis multiresiduos de pesticidas, fármacos veterinarios y micotoxinas en una amplia gama de productos agrícolas y alimentarios, usado generalmente seguido de una extracción en fase solida por dispersión (dSPE).

2.2 Notaciones.

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:


“**Laboratorio**”: se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.

“**Servicios**”: para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.


“**Ítem**”: se refiere a los objetos o materiales bajo ensayo.

3. REFERENCIAS.

[1] ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories / Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

- [2] EN 15662:2019 European Standard “Foods of plant origin - Multimethod for the determination of pesticides residues using GC – and LC-based analysis following acetonitrile extraction / partitioning and clean up by dispersive SPE – Modular QuEChERS-method”.
- [3] ISO 9000:2015 Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary/ Sistemas de gestión de la calidad-- Fundamentos y vocabulario.
- [4] VIM: 2012, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.
- [5] ipm.ucanr.edu. 2021. Pesticidas: Uso Seguro y Eficaz en el Hogar y en Jardines--UC IPM. [online] Available at: <<http://ipm.ucanr.edu/PMG/PESTNOTES/pn74138.html>> [Accessed 15 March 2024].
- [6] [Waters.com](https://www.waters.com). 2021. QuEChERS Simplificado. [online] Available at: <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720003048es.pdf>> [Accessed 15 March 2024].

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

4. DESARROLLO

4.1 EQUIPOS DE MEDICIÓN.

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos y componentes clave:

Tabla 1. Equipos empleados en la ejecución del ensayo

Equipos y materiales
Balanza analítica con resolución de 0.1 mg
Shaker
Beakers de diferentes tamaños
Centrífuga
Cromatógrafo de gases acoplado a masas-masas
Automuestreador AOC-6000
Columna capilar ZB-5 30m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df
Balones volumétricos de 1 mL, 2 mL y 5 mL
Transfer pipeta de 1 mL, 200 µL y 10 µL
Viales de vidrio ámbar de 2 mL
Vortex

4.2 CONDICIONES GENERALES


4.2.1 Inspección visual.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, ésta es inspeccionada a fin de asegurar que se garanticen las condiciones conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que la muestra se encuentra empaçada y sellada herméticamente, y etiquetada con el sticker de identificación interna del laboratorio. Se debe contar con al menos 8 gramos de muestra para realizar este análisis.

Adicionalmente para análisis de pesticidas es importante que la muestra se conserve en un lugar fresco y apartado de luz natural y artificial

En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de Laboratorio.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

4.2.2 Estabilización.

Los ítems de ensayo, patrones y controles de calidad deben atemperarse con suficiente antelación de tal manera que se encuentren en equilibrio térmico con el ambiente en el cual se ejecutarán los ensayos.

La balanza analítica y otros equipos electrónicos que realicen mediciones de alguna magnitud correspondiente a condiciones de influencia en la ejecución del ensayo deben encenderse por lo menos media hora antes de su uso. Así mismo, deben verificarse los equipos, de acuerdo con lo establecido en el numeral siguiente.

4.2.3 Verificación de equipos.


Antes de iniciar el ensayo, debe verificarse que el estado de funcionamiento de los equipos sea adecuado. Esto puede llevarse a cabo revisando que cuenten con la etiqueta de mantenimiento vigente y que estos no tengan alguna etiqueta que lo identifique como “Fuera de servicio”. Además, en el caso en el cual se lleve el control de uso, deben registrarse los últimos registros consignados en el formato FOR-TC-017, con el propósito de verificar que no se han registrado fallas en el funcionamiento. Si algún equipo es utilizado para la medición de alguna magnitud de influencia en el ensayo, este debe estar calibrado. Por tanto, se debe verificar la etiqueta de calibración adherida a este, y comprobar que se encuentre vigente.

Así mismo, debe verificarse que se haya realizado y registrado la verificación diaria de la balanza analítica en el formato FOR-TC-005

Además de lo anterior, debe verificarse la fecha de expiración de los patrones, materiales de referencia y controles de calidad empleados en el ensayo con el fin de evitar el uso de materiales vencidos.

El cromatógrafo de gases acoplado a masas-masas, en caso de encontrarse apagado, se debe estabilizar el vacío que se genera en el espectrómetro de masas aproximadamente 12 horas para su correcto funcionamiento, esto se hace a través del *Software GCMS Real Time Analysis*. Asegurarse que no se tenga fugas en el sistema, verificar que el liner sea el adecuado para el análisis, en este caso el inserto splitless, el liner no puede estar despicado, parcialmente quebrado y mucho menos sucio, de ser así se debe de cambiar inmediatamente. Verificar el estado de la septa, esta no puede presentar deterioros aparentes, de igual manera la septa al igual que el liner se debe de cambiar aproximadamente cada 200 inyecciones, esto con el fin de prevenir fugas o contaminaciones. Se debe de realizar la verificación de la columna, verificar que la columna no se encuentra partida o quemada; se debe de verificar las conexiones de la columna y de igual manera verificar que la columna no se encuentre quemada o mal cortada en el extremo que se conecta al inyector y/o detector.

4.3 Manejo de la muestra.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

La identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, deben realizarse de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

Si la muestra es líquida, mezclar hasta homogeneidad aparente mediante agitación magnética, y con la ayuda de un gotero o una pipeta tomar la cantidad necesaria de muestra, mientras se continua con la agitación.

Si la muestra es sólida, moler, macerar o licuar en seco según sea el caso, la muestra debe de ser homogeneizada en su totalidad, es decir, para alimentos como la naranja, mandarina, mango, entre otros, se homogeneiza la muestra con la cáscara.

4.4 Medidas de seguridad.

Durante el análisis tener en cuenta que se debe seguir el procedimiento aquí descrito sin modificar u omitir ningún paso.

Tener en cuenta las instrucciones dadas en el reglamento interno de trabajo PROC-GC-015 Reglamento Interno AOXLAB S.A.S, capítulo XIII.

4.5 Instrucciones De Ensayo.


4.5.1 Reactivos y/o soluciones

NOTA: Los reactivos deben ser grado cromatográfico

- 4.5.1.1 Acetonitrilo
- 4.5.1.2 Ácido Fórmico
- 4.5.1.3 Acetona
- 4.5.1.4 *n*-Hexano
- 4.5.1.5 Cloruro de sodio
- 4.5.1.6 Sulfato de magnesio
- 4.5.1.7 Trisodium citrate dihydrate
- 4.5.1.8 Disodium hydrogen citrate sesquihydrate
- 4.5.1.9 Hidróxido de sodio

4.5.1.10 Sales QuEChERS

Pesar aproximadamente 4.0 g \pm 0.2 g de Sulfato de magnesio, 1.0 g \pm 0.05 g de cloruro de sodio, 1.0 g \pm 0.05 g de trisodium citrate dihydrate y 0.5 g \pm 0.03 g de Disodium hydrogen citrate sesquihydrate, todo dentro de un tubo falcón de 50 mL.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

4.5.1.11 Fases dispersantes

La fase dispersante utilizada en el *clean up* de los extractos contiene sulfato de magnesio, PSA, C18 y GCB, dependiendo de la matriz analizada.

4.5.1.12 Solución de hidróxido de sodio 5 M

Disolver 20 g de hidróxido de sodio en 50 mL de agua Tipo I, llevar a volumen de 100 mL con agua Tipo I.

4.5.1.13 GC Multiresidue Pesticide STD #1 -OPP Cat: 32563 Restek 100 µg/mL


Tabla 2 Composición CRM GC Multiresidue Pesticide STD # 1

Plaguicidas		
Chlorpyrifos	Chlorpyrifos methyl	Fenitrothion
Pirimiphos ethyl	Diazinon	Pirimiphos methyl
Quinalphos	Isazophos	Pyridaphenthion
Phosmet	EPN	Phosalone
Azinphos methyl	Pyrazophos	Azinphos ethyl
Pyraclofos		

4.5.1.14 GC Multiresidue Pesticide STD #2 -OCP Cat: 32564 Restek 100 µg/mL

Tabla 3 Composición CRM GC Multiresidue Pesticide STD #2

Plaguicidas		
Aldrin	<i>alpha</i> -BHC	<i>beta</i> -BHC
<i>delta</i> -BHC	<i>gamma</i> -BHC (Lindane)	Hexachlorobenzene
<i>cis</i> -Chlordane	<i>trans</i> -Chlordane	2,4'-DDD
4,4'-DDD	2,4'-DDE	4,4'-DDE
2,4'-DDT	4,4'-DDT	Dieldrin
Endosulfan I	Endosulfan II	Endosulfan ether
Endosulfan sulfate	Endrin	Endrin aldehyde
Heptachlor	Heptachlor epoxide (Isomer B)	Mirex

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

Plaguicidas		
Pentachloroanisole	Tetradifon	Chloroneb
Pentachlorobenzene	Pentachlorothioanisole	4,4'-Dichlorobenzophenone
Fenson	Isodrin	cis-Nanochlor
Chlorbenside	trans-Nonachlor	Chlorfenson (Ovex)
Ethylan (Perthane)	Endrin ketone	4,4'-Methoxychlor olefin
2,4'-Methoxychlor		


4.5.1.15 GC Multiresidue Pesticide STD #3 -ONP Cat: 32565 Restek 100 µg/mL

Tabla 4 Composición GC Multiresidue Pesticide STD #3

Plaguicidas		
Pendimethalin	Pentachloronitrobenzene (Quintozene)	Tetrachloronitrobenzene (Tecnazene)
2,6-Dichlorobenzonitrile (Dichlobenil)	Biphenyl	3,4-Dichloroaniline
THPI (Tetrahydrophthalimide)	Diphenylamine	2,3,5,6-Tetrachloroaniline
Ethalfuralin	Trifluralin	Benfluralin
Benfluralin	Pentachlorobenzonitrile	Profluralin
Fluchloralin	Chlorothalonil	Pentachloroaniline
Prodiamine	Dichlofluanid	Isopropalin
Nitrofen	Tolyfluanid	Oxyfluorfen
Nitralin		

4.5.1.16 GC Multiresidue Pesticide STD #4 -ONP Cat: 32566 Restek 100 µg/mL

Tabla 5 Composición GC Multiresidue Pesticide STD #4

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

Plaguicidas		
Allidochlor	Pebulate	N-(2,4-Dimethylphenyl) formamide
Propachlor	Cycloate	Diallate (cis and trans)
Clomazone (Command)	Propyzamide	Triallate
Dimethachlor	Propanil	Acetochlor
Alachlor	Propisochlor	Linuron
Metolachlor	Diphenamid	Metazachlor
Flutolanil	Pretilachlor	Oxadiazon
Norflurazon	Methoxychlor	Fenpropathrin
Tebufenpyrad	Pyridaben	Fluquinconazole
Prochloraz		

4.5.1.17 GC Multiresidue Pesticide STD #5 -ONP Cat: 32567 Restek 100 µg/mL

Tabla 6 Composición GC Multiresidue Pesticide STD #5

Plaguicidas		
Etridiazole	Atrazine	Terbuthylazine
Pyrimethanil	Terbacil	Vinclozolin
Triadimefon	MGK-264	Cyprodinil
Penconazole	Captan	Triadimenol
Fipronil	Folpet	Procymidone
Triflumizole	Paclobutrazol	Flutriafol
Tricyclazole (Beam)	Fludioxonil	Myclobutanil
Flusilazole	Bupirimate	Chlorfenapyr
Lenacil	Tebuconazole	Hexazinone (Velpar)
Propargite	Captafol	Iprodione
Pyriproxyfen	Fenarimol	Etofenprox
Fluridone (Sonar)		

aoxlab	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

4.5.1.18 GC Multiresidue Pesticide STD #6 -SPP Cat: 32568 Restek 100 µg/mL

Tabla 7 Composición GC Multiresidue Pesticide STD #6

Plaguicidas		
Tefluthrin	Transfluthrin	Anthraquinone
Allethrin	Resmethrin	Tetramethrin
Bifenthrin	Phenothrin (cis & trans)	lambda-Cyhalothrin
Acrinathrin	cis-Permethrin	trans-Permethrin
Cyfluthrin	Cypermethrin	Flucythrinate
Fenvalerate	tau-Fluvalinate	Deltamethrin

4.5.1.19 GC Multiresidue Pesticide STD #7 -HME Cat: 32569 Restek 100 µg/mL


Tabla 8 Composición GC Multiresidue Pesticide STD #7

Plaguicidas		
2-Phenylphenol	Chlorpropham	Metalaxyl
DCPA methyl ester (Chlorthal-dimethyl)	Chlozolate	Fluazifop-p-butyl
Chlorobenzilate	Carfentrazone ethyl	Bromopropylate
Acequinocyl		

4.5.1.20 GC Multiresidue Pesticide STD #8 -OPP Cat: 32570 Restek 100 µg/mL

Tabla 9 Composición GC Multiresidue Pesticide STD #8

Plaguicidas		
Bromophos methyl	Bromophos ethy	Fenchlorphos (Ronnel)
Ethion	Fenthion	Prothiofos
Malathion	Methacrifos	Profenofos
Sulfotepp	Terbufos	Tolclofos-methyl
Coumaphos	Bromfenvinfos-methyl	Chlorfenvinfos
Tetrachlorvinphos	Fenamiphos	Iodofenphos

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

Plaguicidas		
Bromfenvinphos	Leptophos	Chlorthiophos
Sulprofos	Carbophenothion	Edifenphos


4.5.1.21 GC Multiresidue Pesticide STD #9 -OPP Cat: 32571 Restek 100 µg/mL

Tabla 10 Composición GC Multiresidue Pesticide STD #9

Plaguicidas		
Parathion (Ethyl parathion)	Fonofos	Methyl parathion
Mevinphos	Phorate	Disulfoton
Triazophos	Piperonyl butoxide	

4.5.1.22 Estándares individuales

- Amitraz 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Ametryn 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Dichlorvos 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Omethoate 1000 µg/mL in acetone marca LGC
- Dimethoate
- Simazine 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Carbofuran 100 µg/mL in methanol marca LGC
- Ethoprophos 100 µg/mL in cyclohexane marca LGC
- Carbaryl
- Bromacil 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Dicofol 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Napropamide 100 µg/mL in cyclohexane marca LGC
- Hexaconazole 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Imazalil 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Chlorantranilipole 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Fenazaquin 100 µg/mL in cyclohexane marca LGC
- Boscalid 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Azoxystrobin 1000 µg/mL in acetone marca LGC
- Methidathion 1000 µg/mL in toluene marca LGC
- Propiconazol 100 µg/mL in acetonitrilo marca LGC
- Pyraclostrobin 1000 µg/mL in toluene marca LGC

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

4.5.1.23 GC-NPD and LC-MS/MS Internal Standard Mix Restek 20-50 µg/mL

4.5.1.24 Solución Intermedia de trabajo 1 µg/mL mix estándar Interno 2-5 µg/mL

- Tomar 100 µL de solución y transferirlos a un balón volumétrico de 1 mL, completar el volumen con acetonitrilo, homogeneizar con la ayuda del vortex.

4.5.1.25 Solución Intermedia de trabajo 1 µg/mL mix Pesticidas

- Tomar con micropipeta 10 µL del estándar de 100 µg/mL de cada mix y de cada compuesto individual y transferirlos a un balón volumétrico de 1 mL, completar el volumen con acetonitrilo, homogeneizar con la ayuda del vortex.
- Esta solución debe de ser preparada y se debe de usar inmediatamente.

4.5.1.26 Preparación curva de calibración

Nota: Las curvas de calibración se realizan sobre un extracto blanco de matriz.

Tabla 11 Preparación curva de calibración.

Concentración mg/L	Volumen solución trabajo 1 µg/mL (µL)	Volumen solución estándar interno (µL)	Volumen de aforo con extracto blanco de matriz (mL)
0.005	5	40	1
0.01	10	40	1
0.02	20	40	1
0.03	30	40	1
0.05	50	40	1
0.08	80	40	1
0.10	100	40	1
0.20	200	40	1

aoxlab	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas	Identificación: PROC-TC-111
	AOXLAB S.A.S	Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

- **Punto de curva 0.50 mg/L:** Tomar con micropipeta 5 µL del estándar de 100 µg/mL de cada mix y de cada compuesto individual y transferirlos a un balón volumétrico de 1 mL, adicionar 40 µL de la solución de estándar interno, completar el volumen con blanco de matriz, homogenizar con la ayuda del vortex.
- **Punto de curva 0.80 mg/L:** Tomar con micropipeta 8 µL del estándar de 100 µg/mL de cada mix y de cada compuesto individual y transferirlos a un balón volumétrico de 1 mL, adicionar 40µL de la solución de estándar interno, completar el volumen con blanco de matriz, homogenizar con la ayuda del vortex.
- **Punto de curva 1.0 mg/L:** Tomar con micropipeta 10 µL del estándar de 100 µg/mL de cada mix y de cada compuesto individual y transferirlos a un balón volumétrico de 1 mL, adicionar 40µL de la solución de estándar interno, completar el volumen con blanco de matriz, homogenizar con la ayuda del vortex.


4.5.2 Preparación de la muestra

4.5.2.1 Extracción para muestras con alto contenido de agua (Mandarina, Naranja, Maracuyá, Curuba, Gulupa, Piña, Mango, entre otros):

- Pesar aproximadamente 10 ± 0.1 g de muestra en un tubo falcón de 50 mL.
- Adicionar 40 µL del mix estándar interno 20-50 µg/mL.
- En el caso del limón adicionar 0.6 mL de NaOH 5 N.
- Adicionar 10 mL de Acetonitrilo grado cromatográfico con 1% de ácido fórmico.
- Agitar por 15 minutos.
- Adicionar al tubo las sales QuEChERS de extracción y agitar por 1 minuto.
- Centrifugar la muestra a 5000 rpm por 5 minutos. Remover el sobrenadante para posterior limpieza.

4.5.2.2 Extracción para muestras con alto contenido de grasa y contenido intermedio de agua (Aguacate, entre otros)

- Pesar aproximadamente 5.0 ± 0.1 g de muestra en un tubo falcón de 50 mL.
- Adicionar 40 µL del mix estándar interno 20-50 µg/mL
- Adicionar 10 mL de Acetonitrilo grado cromatográfico con 1% de ácido acético glacial.
- Agitar por 15 minutos.
- Adicionar al tubo las sales QuEChERS de extracción y agitar por 1 minuto.
- Centrifugar la muestra a 5000 rpm por 5 minutos. Remover el sobrenadante para posterior limpieza.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

4.5.2.3 Extracción para muestras con alto contenido de grasa y contenido bajo de agua (granos de café, granos de cacao y derivados)

- Pesar aproximadamente 2.0 g de muestra en un tubo falcón de 50 mL.
- Adicionar 40 µL del mix estándar interno 20-50 µg/mL.
- Adicionar 10 mL de Acetonitrilo grado cromatográfico con 1% de ácido acético glacial.
- Agitar a 2500 rpm por 15 minutos.
- Adicionar al tubo las sales QuEChERS de extracción y agitar por 1 minuto.
- Centrifugar la muestra a 5000 rpm por 5 minutos. Remover el sobrenadante para posterior limpieza (*Clean Up*).

4.5.3 *Clean Up*

4.5.3.1 Muestras con alto contenido de agua (Mandarina, Naranja, Maracuyá, Curuba, Gulupa, Piña, entre otros)


- Tomar un 1 mL de sobrenadante de los extractos y adicionarlo a un tubo de 2 mL que contiene 150 mg de sulfato de magnesio y 25 mg de PSA.
- Agitar las muestras por 1 minuto manualmente, centrifugar a 5000 rpm por 3 minutos.
- Tomar todo el sobrenadante y depositarlo en un vial ámbar para el análisis cromatográfico.

4.5.3.2 Muestras con alto contenido de clorofila o carotenoides (Mango)

- Tomar un 1 mL de sobrenadante de los extractos y adicionarlo a un tubo de 2 mL que contiene 150 mg de sulfato de magnesio, 25 mg de PSA y 2.5 mg de GCB.
- Agitar las muestras por 1 minuto manualmente, centrifugar a 5000 rpm por 3 minutos.
- Tomar todo el sobrenadante y depositarlo en un vial ámbar para el análisis cromatográfico.

4.5.3.3 Muestras con alto contenido de grasa y contenido bajo de agua (granos de café, granos de cacao y derivados)

- Tomar un 1 mL de sobrenadante de los extractos y adicionarlo a un tubo de 2 mL que contiene 150 mg de sulfato de magnesio, 25 mg de PSA y 25 mg de C18.
- Agitar las muestras por 1 minuto manualmente, centrifugar a 5000 rpm por 3 minutos.
- Tomar todo el sobrenadante y depositarlo en un vial ámbar para el análisis cromatográfico.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

4.5.3.4 Muestras con alto contenido de grasa y contenido intermedio de agua (Aguacate, coco, ajo, entre otros)

- Tomar un 1 mL de sobrenadante de los extractos y adicionarlo a un tubo de 2 mL que contiene 150 mg de sulfato de magnesio, 50 mg de PSA y 50 mg de C18.
- Agitar las muestras por 1 minuto manualmente, centrifugar a 5000 rpm por 3 minutos.
- Tomar todo el sobrenadante y depositarlo en un vial ámbar para el análisis cromatográfico.

4.5.3.5 Condiciones cromatográficas

Tabla 12 Condiciones cromatográficas para el ensayo de pesticidas

GC Column:	ZB-5 30m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df	Flow Mode:	Constant linear velocity (36.7 cm/s)
Inj. Mode:	Splitless	Interface Temp:	250 °C
GC Oven Temp:	70 °C for 2 minutes, 19 °C / min to 170 °C, 3 °C / min to 210 °, 8 °C / min to 300 °C.	Ion Source Temp:	230 °C
		Sample:	2 µL

Los pesticidas son determinados en el modo MRM (Multiple Reaction Monitoring), esto fue creado para cada compuesto con la ayuda del programa SmartDatabase de Shimadzu. De igual forma, las condiciones cromatográficas ya se encuentran creadas en el Método: Medición pesticidas.

4.6 Revisión de resultados

Luego de terminar la adquisición de datos por el equipo se procede a realizar la revisión de los resultados, para esto se debe de seguir los siguientes pasos:

1. Abrir el archivo en el GCMS Postrun Analysis


	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26



Ilustración 1 Ícono GCMS postrun analysis

- Revisar cada uno de los compuestos. Para poder aceptar un compuesto como positivo se debe verificar que las transiciones del ion cuantificador y los iones cualificadores se superpongan; adicional, el ion ratio no debe superar el 30%.

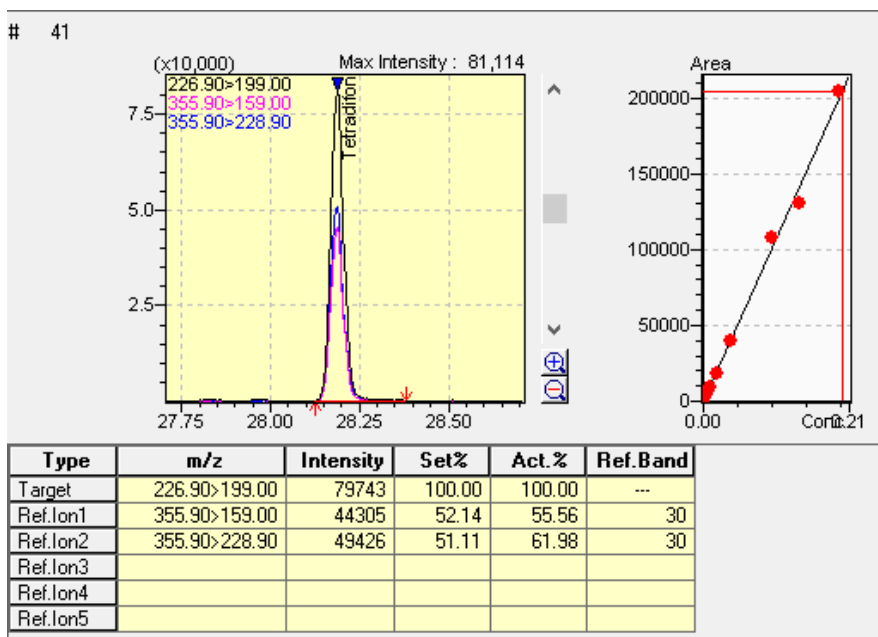


Ilustración 2 Ejemplo de la identificación positiva de un compuesto

En la imagen se puede observar un ejemplo de un compuesto positivo, en ella se puede apreciar la superposición de las tres transiciones en el pico, además los iones ratio cumplen el 30%, esto se puede observar en la tabla.

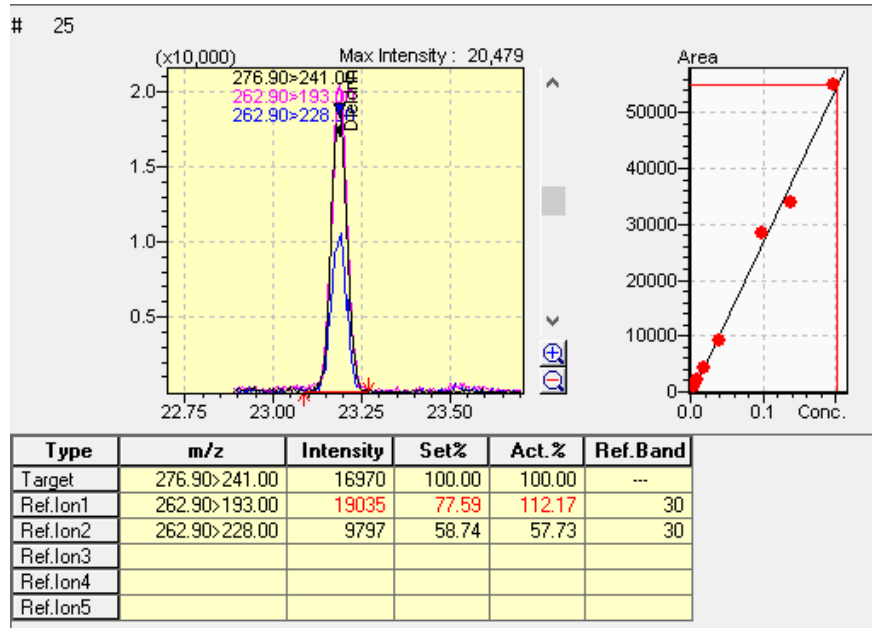


Ilustración 3 Ejemplo incumplimiento del parámetro ion ratio

Cuando una de las transiciones no cumple con el Ion ratio, el resultado que se muestra en la casilla se torna en rojo, por lo que ese pico no debe de ser tomado como confirmatorio, puede ser una interferencia o un falso positivo. En estos casos se puede realizar una adición de estándar para confirmar la presencia e identidad del pico. De igual manera, se debe de verificar que la S/N del compuesto sea mayor de 3.

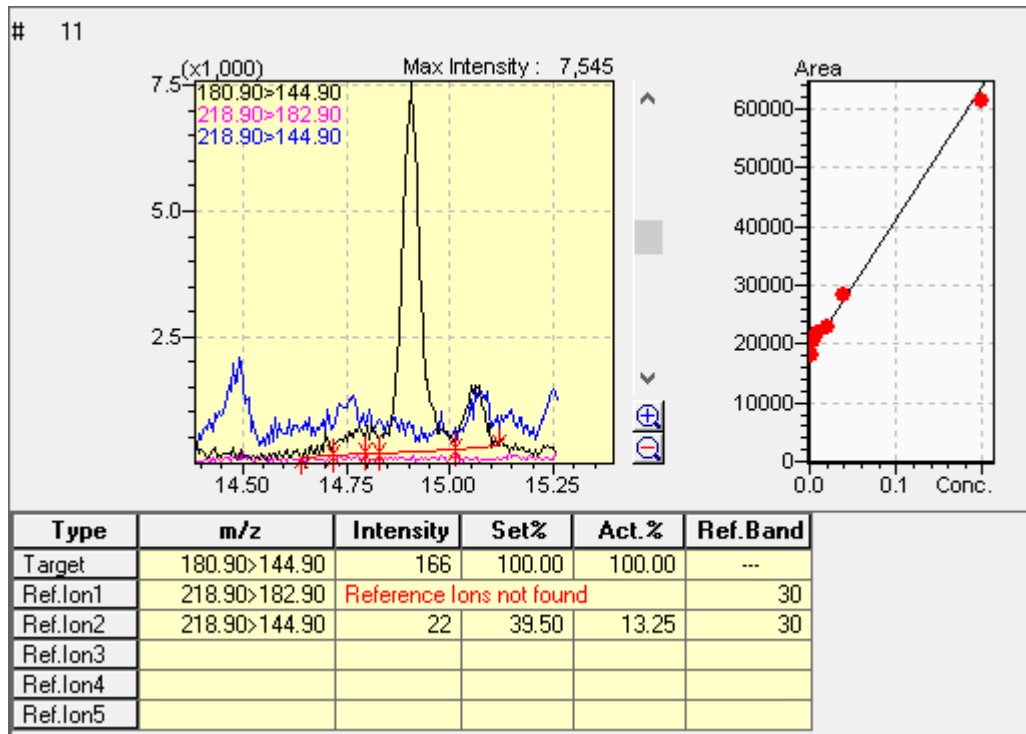


Ilustración 4 Ejemplo de señales causadas por interferencia

En este caso se puede observar que el Ion cuantitativo apareció, pero los iones cualificadores no presentaron crecimiento, por lo cual el pico no se toma como positivo para el compuesto, simplemente el crecimiento del pico se debe a la interferencia posiblemente debida a otro compuesto o la matriz.

3. Verificar que los picos no hayan sufrido ningún cambio en los tiempos de retención. En caso de que esto ocurra se mide nuevamente los índices de retención con la mezcla de hidrocarburos y se realiza la corrección en los tiempos.

4.7 Informe


Los resultados se analizan de la siguiente manera:

4.7.1 Registro de datos.

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC- 175 "Formato para el registro de datos primarios GC-MS".

4.7.2 Cálculos.

La concentración de los plaguicidas en las muestras es calculada automáticamente por el software, cargando el método con su respectiva curva de calibración.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

Los resultados son calculados de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$Cp = \frac{A + I}{m} * FD$$

Cp: Concentración plaguicida en mg/L

A: Área del pico

I: Intercepto de la curva

m: Pendiente de la curva

FD: Factor de dilución

$$C = \frac{Cp * Ve}{w}$$

C: Concentración plaguicida en mg/Kg

Ve: Volumen de extracción en L

w: Peso de la muestra en Kg

Para el cálculo de los plaguicidas que no muestran una calibración lineal, si no una calibración cuadrática de segundo orden se utiliza la siguiente formula:

$$Cp = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 + (c \pm A)}}{2a} * FD$$

Cp: Concentración plaguicida en mg/L

A: Área del pico

FD: Factor de dilución

$$C = \frac{Cp * Ve}{w}$$

C: Concentración plaguicida en mg/Kg

Ve: Volumen de extracción en L

w: Peso de la muestra en Kg

4.8 Control de la calidad

El tipo, periodicidad y criterios de aceptación para los resultados obtenidos de los ensayos para el control de calidad se resumen en la tabla siguiente:



	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

Tabla 13 Control de calidad analítico para el ensayo

CONTROL	PERIODICIDAD	CRITERIO
Blanco de reactivos.	Cada que se realice un cambio de lote en los reactivos de extracción.	Menor o igual a la mitad del límite de cuantificación.
Estándar	Cada que se realice el análisis.	Este es un estándar con concentración dentro de los niveles de la curva, con el fin de verificar tiempos de retención y realizar el cálculo punto a punto.
Muestra enriquecida con al menos 10 % de los analitos al límite de cuantificación o de 2 a 10 veces el límite de cuantificación.	Cada montaje.	El %R debe de estar entre el 70 % y 120 %. Los analitos representativos se deben ir rotando durante las corridas.
Duplicado muestra enriquecida con al menos 10 % de los analitos al límite de cuantificación o de 2 a 10 veces el límite de cuantificación.	Cada montaje.	El %R debe de estar entre el 70 % y 120 %. Los analitos representativos se deben ir rotando durante las corridas.
Muestra enriquecida con todos los analitos al límite de cuantificación o de 2 a 10 veces el límite de cuantificación.	Cada seis meses.	El %R debe de estar entre el 70 % y 120 %.
Material de referencia certificado MRC*	Trimestral	El resultado del ensayo debe estar en el intervalo de valores establecidos como aceptables en el certificado del material.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

*El material de referencia será utilizado si se encuentra disponible en el mercado. De igual manera se puede realizar el análisis con muestras retenidas, como por ejemplo pruebas interlaboratorio.

El seguimiento de los resultados obtenidos del control de calidad listado en la tabla control debe realizarse y analizarse mediante el uso de cartas control, de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-077.

Estos datos son registrados en las cartas control, lo que permite realizar el análisis de tendencias, de acuerdo con PROC -TC – 077.

5. RESPONSABILIDADES.

5.1 Director técnico.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.
- Asesorar y orientar los analistas en la resolución de dudas e inconvenientes surgidos durante el desarrollo de los ensayos.
- Realizar o revisar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método y autorizar las indicaciones a seguir.
- Establecer los casos en los cuales se realiza la retención de muestras.


5.2 Director de Calidad.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Realizar y registrar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método.
- Archivar los registros técnicos relacionados con los ensayos.

5.3 Líder de Laboratorio.

- Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.
- Revisar los resultados obtenidos del aseguramiento de calidad del método.
- Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis.

5.4 Analista.

	Procedimiento de ensayo Determinación de residuos de Plaguicidas en alimentos y productos agrícolas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-111
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2024-07-26

- Revisar los resultados obtenidos del aseguramiento de calidad del método.
- Digitar los resultados de los ensayos en la plataforma para el reporte de resultados.
- Aplicar el presente documento.
- Seguir todas las instrucciones establecidas en este procedimiento y en el reglamento del laboratorio
- Ingresar y entregar todos los resultados en los tiempos pactados.
- Entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.
- Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados en los cuadros de mandos, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas control.
- Registrar los resultados de los ensayos de control de calidad y hacer el análisis de tendencias de estos.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al líder de laboratorio las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder del laboratorio.
- Informar cualquier incidente que suceda durante la realización del método.
- Revisar que los equipos usados en el desarrollo del método tengan mantenimiento, calibración y/o verificación vigente, de acuerdo con el programa de mantenimiento y calibración.

6. FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-175 "Formato para el registro de datos primarios GC-MS "

7. ANEXOS.

No aplica.