

**DIRECTRICES SOBRE BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO EN EL ANÁLISIS DE
RESIDUOS DE PLAGUICIDAS
CAC/GL 40-1993**

Índice

PREFACIO	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. EL ANALISTA.....	2
3. RECURSOS BÁSICOS	2
3.1 EL LABORATORIO	2
3.2 EQUIPO Y SUMINISTROS.....	3
4. EL ANÁLISIS	4
4.1 EVITAR LA CONTAMINACIÓN.....	4
4.2 RECEPCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS	5
4.3 PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS NORMALIZADOS	5
4.4 VALIDACIÓN DE MÉTODOS	5
4.5 VERIFICACIÓN DEL RENDIMIENTO	8
4.6 ENSAYOS DE CONFIRMACIÓN	9
4.7 ESPECTROMETRÍA DE MASAS.....	10
4.8 DERIVACIÓN.....	11
4.10 EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS.....	12
GLOSARIO.....	35
SIGLAS	41

PREFACIO

La finalidad de estas Directrices es ayudar a garantizar la fiabilidad de los resultados analíticos cuando se intenta comprobar el cumplimiento de los límites máximos de residuos en alimentos que son objeto de comercio internacional. Unos resultados analíticos fiables son esenciales para proteger la salud de los consumidores y facilitar el comercio internacional.

Además de las presentes directrices, el Comité del Codex sobre Residuos de Plaguicidas (CCPR) ha elaborado otras recomendaciones del Codex pertinentes en la esfera de la aplicación de los límites máximos del Codex para residuos de plaguicidas, a saber:

- 1 Métodos de muestreo recomendados para la determinación de residuos de plaguicidas a efectos del cumplimiento de los LMR (CAC/GL 33-1999).
- 2 Parte del producto a la que se aplican los límites máximos del Codex para residuos y que se analiza (CAC/GL 41-1993).
- 3 Lista sobre los límites máximos del Codex para residuos de plaguicidas (los límites máximos para residuos de plaguicidas adoptados por la Comisión del Codex Alimentarius están disponibles en: <http://www.codexalimentarius.net>).
- 4 Métodos recomendados para muestreo de residuos de plaguicidas (CODEX STAN 229-1993).
- 5 Clasificación del Codex de Alimentos y Piensos (CAC/MISC 4-1993).

1. INTRODUCCIÓN

Se ha considerado que la consecución del objetivo de unas prácticas leales en el comercio internacional depende, entre otras cosas, de la fiabilidad de los resultados analíticos. Esto depende a su vez, particularmente en el análisis de residuos de plaguicidas, no sólo de la disponibilidad de métodos analíticos fiables, sino también de la experiencia del analista y de la observancia de unas “buenas prácticas en el análisis de plaguicidas”.

Estas Directrices definen dichas buenas prácticas analíticas y pueden dividirse en tres partes relacionadas entre sí:

El analista (párr. 2);

Recursos básicos (párr. 3);

El análisis (párr. 4).

Los requisitos relativos a las instalaciones, gestión, personal, garantía y control de la calidad, documentación de los resultados y datos no elaborados y otros temas pertinentes, que se consideran requisitos previos para obtener unos resultados fiables e identificables, se describen de forma general en la norma ISO/IEC 17025 (1999) y en una serie de documentos de orientación de la OCDE sobre buenas prácticas de laboratorio, así como en las leyes y reglamentos nacionales correspondientes. Estas Directrices del Codex, que no pretenden ser exhaustivas, esbozan los principios y prácticas más esenciales que deben aplicarse en el análisis de residuos de plaguicidas.

2. EL ANALISTA

2.1 El análisis de residuos consiste en una cadena de procedimientos, la mayoría de los cuales conocidos o fácilmente comprensibles, aplicados por un químico capacitado; sin embargo, dado que las concentraciones de las sustancias analizadas son del orden de $\mu\text{g}/\text{kg}$ a mg/kg y que los análisis pueden ser difíciles, es imprescindible prestar atención a los detalles. El analista encargado debe estar convenientemente calificado y poseer experiencia y competencia en análisis de residuos. El personal debe poseer una sólida formación y experiencia en el uso correcto de los equipos y la aplicación de las técnicas de laboratorio apropiadas. Además, cada analista que utilice el método por primera vez debe completar las pruebas especificadas en las secciones 4.4.5 del Cuadro 4 para demostrar que es capaz de utilizar el método dentro de los parámetros de rendimiento previstos, establecidos durante su validación, antes de realizar el análisis de muestras. El personal ha de comprender los principios del análisis de residuos de plaguicidas y las exigencias de los sistemas de garantía de la calidad analítica. Debe conocer la finalidad de cada etapa del método y entender la importancia de que los métodos se sigan exactamente en la forma prescrita, y señalar todas las desviaciones en que sea forzoso incurrir. Asimismo, el personal debe estar capacitado para evaluar e interpretar los datos obtenidos. Deberá llevarse un registro en el que conste la formación y experiencia de todo el personal del laboratorio.

2.2 Cuando se crea un laboratorio para análisis de residuos, el personal debe pasar parte de su período de capacitación en un laboratorio de prestigio donde se disponga del asesoramiento de expertos y de medios de capacitación. Si el laboratorio tiene que analizar una amplia variedad de residuos de plaguicidas, podrá ser necesario que el personal adquiera experiencia en más de uno de estos laboratorios especializados.

3. RECURSOS BÁSICOS

3.1 EL LABORATORIO

3.1.1 El laboratorio y sus instalaciones deben estar proyectados de forma que las distintas tareas se efectúen en zonas bien determinadas, con la máxima seguridad y la mínima posibilidad de contaminación de las muestras. Los laboratorios deberán estar contruidos y equipados con materiales resistentes a las sustancias químicas que probablemente se utilizarán entre ellos. Lo ideal sería que dispusieran de salas independientes para recibir y almacenar la muestra, para la preparación, extracción y purificación y para los instrumentos utilizados en la etapa de determinación. La zona utilizada para extracción y purificación deberá cumplir las especificaciones impuestas a los laboratorios en materia de disolventes, y todas las instalaciones

de extracción de humos deberán ser de alta calidad. La recepción, el almacenamiento y la preparación de las muestras deberán efectuarse en zonas dedicadas exclusivamente a la determinación de niveles de residuos. Los requisitos prioritarios son que se garantice la integridad de la muestra y se cuente con normas adecuadas en materia de seguridad del personal.

3.1.2 La seguridad del laboratorio se debe considerar también desde el punto de vista de lo que es necesario o deseable, ya que hay que reconocer que las rigurosas condiciones de trabajo exigidas en los laboratorios de residuos en algunas partes del mundo no serían en absoluto realistas en otras. No deberá permitirse fumar, comer, beber ni utilizar cosméticos en la zona de trabajo. En ésta sólo deberán almacenarse pequeños volúmenes de disolventes, debiéndose conservar la mayor parte de ellos en locales separados, lejos de la zona de trabajo principal. En la medida de lo posible, el uso de disolventes y reactivos muy tóxicos deberá reducirse al mínimo. Todos los disolventes sobrantes deberán almacenarse en lugar seguro y eliminarse de forma inocua y sin causar daños al medio ambiente tomando en cuenta, cuando se disponga de ella, la reglamentación nacional específica.

3.1.3 La zona de trabajo principal deberá estar diseñada y equipada de modo que pueda utilizarse una gama apropiada de disolventes analíticos. Todo el equipo (luces, maceradores, refrigeradores, etc.) deberá ser "antichispa" o "a prueba de explosiones". Las operaciones de extracción, purificación y concentración deberán efectuarse en una zona bien ventilada, preferiblemente en campanas de gases.

3.1.4 Deberán emplearse pantallas de seguridad cuando se utilice material de vidrio en vacío o a presión. Deberá haber un suministro abundante de gafas, guantes y ropa de protección, servicios de lavado de urgencia y equipos para tratar los materiales derramados. Se deberá disponer de un equipo adecuado contra incendios. El personal deberá ser consciente de que muchos plaguicidas presentan una toxicidad aguda o crónica, por lo que hay que tener gran cuidado al manipular los compuestos estándar de referencia.

3.2 EQUIPO Y SUMINISTROS

3.2.1 El laboratorio necesitará un abastecimiento eficiente y fiable de electricidad y agua. Es imprescindible disponer de un suministro adecuado de reactivos, disolventes, gas, material de vidrio, material para cromatografía, etc., de calidad adecuada.

3.2.2 El equipo de cromatografía, las balanzas, los espectrofotómetros, etc., deberán revisarse y calibrarse con regularidad para comprobar que su funcionamiento es correcto, y se llevará un registro de todas las revisiones o reparaciones que se efectúen a cada uno de los aparatos. En el caso de los instrumentos de medición, la calibración es fundamental. Puede ser suficiente el empleo de curvas de calibración y la comparación con patrones.

3.2.3 Sólo se deberá proceder a la calibración y recalibración periódica de los instrumentos de medición cuando el posible cambio en el valor nominal pueda contribuir en medida importante a la incertidumbre de la medición. Deben calibrarse regularmente las balanzas y pipetas/dispensadores automáticos o instrumentos similares. La temperatura de funcionamiento de los refrigeradores y congeladores se controlará constantemente o bien a intervalos especificados, actualizándose y manteniéndose todos los registros correspondientes.

3.2.4 El equipo utilizado deberá ser idóneo para realizar el trabajo requerido.

3.2.5 Todos los laboratorios deberán disponer de patrones de referencia de plaguicidas, de pureza conocida y convenientemente elevada. Deberán tener patrones analíticos de todos los compuestos originarios cuyas muestras se controlan en el laboratorio, así como de los metabolitos incluidos en los LMR.

3.2.6 Todos los patrones analíticos, las soluciones concentradas y los reactivos deben etiquetarse debidamente indicando la fecha de preparación, la identificación del analista, el disolvente utilizado y las condiciones de almacenamiento aplicadas, y aquellos compuestos cuya integridad pueda ser afectada por procesos de degradación deberán etiquetarse claramente con la fecha de caducidad y almacenarse en las condiciones adecuadas. Los compuestos de referencia se mantendrán en las condiciones que reduzcan al mínimo su tasa de degradación: temperatura baja, exclusión de humedad, oscuridad. Asimismo es importante que durante el almacenamiento las soluciones estándar de plaguicidas no se descompongan por efecto de la luz o el calor o se concentren por la evaporación del disolvente.

4. EL ANÁLISIS

Los métodos aplicados para la determinación de los residuos de plaguicidas deberán, en general, satisfacer los criterios indicados en el Cuadro 3.

4.1. EVITAR LA CONTAMINACIÓN

4.1.1 Uno de los aspectos importantes en los que el análisis de residuos de plaguicidas difiere notablemente del macroanálisis es el relacionado con la contaminación y la interferencia. Las trazas de contaminación en las muestras finales utilizadas en la etapa de determinación del método pueden dar lugar a errores tales como falsos resultados positivos o negativos y a una pérdida de sensibilidad, que puede impedir la detección de los residuos. La contaminación puede provenir prácticamente de todos los materiales empleados o relacionados con el muestreo, el transporte y almacenamiento de las muestras, y los análisis. El material de vidrio, los reactivos, los disolventes orgánicos y el agua deberán ser comprobados antes de su utilización para evitar la presencia de posibles contaminantes que puedan interferir, para lo cual se analizarán mediante un reactivo testigo.

4.1.2 Las sustancias limpiadoras, las cremas protectoras, los jabones que contengan germicidas, los rociados contra insectos y los perfumes y cosméticos pueden causar interferencias que resultan especialmente importantes cuando se utiliza un detector de captura de electrones. No hay ninguna solución efectiva al problema fuera de prohibir su uso por el personal dentro del laboratorio.

4.1.3 Los lubricantes, los obturadores, los plásticos, los cauchos naturales y sintéticos, los guantes de protección, el aceite de las conducciones corrientes de aire comprimido y las impurezas de fabricación en los conos de la extracción, papeles filtrantes y algodón pueden también provocar contaminación.

4.1.4 Los reactivos, adsorbentes y disolventes químicos generales de laboratorio pueden contener, adsorber o absorber compuestos que interfieren en el análisis. Puede ser necesario purificar los reactivos y adsorbentes y, en general, se deben utilizar disolventes redestilados. El agua desionizada es frecuentemente sospechosa, por lo que es preferible el agua redestilada, aunque en muchos casos bastará agua corriente o de pozo.

4.1.5 El material de vidrio, las jeringas y las columnas de la cromatografía de gases puede contaminarse por el contacto con muestras o extractos anteriores. Todos los objetos de vidrio deberán limpiarse con solución detergente y ser enjuagados cuidadosamente con agua destilada (u otra agua limpia) y, a continuación, enjuagados de nuevo con el disolvente que ha de utilizarse. El material de vidrio que se utilice en el análisis de trazas deberá guardarse por separado, y no se utilizará para ningún otro fin.

4.1.6 Los patrones de referencia de plaguicidas deberán almacenarse siempre a la temperatura adecuada, en una sala separada del laboratorio principal de residuos. Las soluciones y extractos analíticos concentrados estándar no se guardarán en la misma zona de almacenamiento.

4.1.7 Se deberá desconfiar de los aparatos que contengan cloruro de polivinilo (PVC) y, si se demuestra que son fuente de contaminación, deberá prohibirse su uso en los laboratorios de residuos. También habrá que tener cuidado con otros materiales que contengan plastificadores, si bien el PTFE y los cauchos silicónicos son, por regla general, aceptables y otros pueden serlo en determinadas circunstancias. Los recipientes en que se almacenan las muestras pueden provocar contaminación; quizás se necesitan botellas de vidrio con tapones de vidrio esmerilado. Lo ideal es que los instrumentos utilizados en los análisis se almacenen en una sala aparte. La naturaleza y la importancia de la contaminación pueden variar según el tipo de técnica de determinación que se utilice y según el nivel de residuos de plaguicida que deba determinarse. Por ejemplo, algunos problemas de contaminación que son importantes cuando se trata de métodos que utilizan la cromatografía de gases o la cromatografía líquida de alto rendimiento pueden serlo menos cuando se utiliza la espectrofotometría, y viceversa. Cuando los niveles del residuo son relativamente altos, la interferencia de fondo de los disolventes y otros materiales puede ser insignificante en comparación con la cantidad de residuo presente. Muchos problemas pueden resolverse utilizando detectores específicos. Si el contaminante no interfiere con el residuo que debe determinarse, su presencia puede ser admisible.

4.1.8 Se deberán utilizar laboratorios distintos para los análisis de residuos y los de formulación. La preparación y manejo de las muestras deben mantenerse separados de todas las demás actividades del laboratorio de residuos con el fin de impedir una posible contaminación recíproca.

4.2 RECEPCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

4.2.1 Todas las muestras que se reciban en el laboratorio deberán ir acompañadas de información completa sobre el origen de la muestra, el análisis requerido y los posibles peligros que puede entrañar la manipulación de la muestra en cuestión.

4.2.2 Al recibirse una muestra se le adjudicará inmediatamente un código de identificación único que deberá llevar durante todas las fases del análisis y hasta la comunicación de los resultados. Deberá aplicarse un sistema apropiado de control de la eliminación de las muestras y se mantendrán todos los registros pertinentes.

4.2.3 El tratamiento de las muestras y el submuestreo deberán efectuarse empleando procedimientos para los que previamente se haya demostrado que no repercuten en la concentración de los residuos presentes en las muestras.

4.2.4 Si no es posible analizar las muestras inmediatamente pero su análisis ha de efectuarse con rapidez, éstas deben almacenarse a 1-5 °C, sin exponerlas a la luz solar directa, y ser analizadas en el plazo de pocos días. Sin embargo, las muestras que se reciben congeladas deben mantenerse a ≤ -16 °C hasta el momento del análisis. En algunos casos puede ser necesario almacenar las muestras por períodos más largos antes de proceder a su análisis. En tales ocasiones, la temperatura de almacenamiento deberá ser de -20 °C aproximadamente, dado que a dicha temperatura la degradación de los residuos de plaguicidas por la acción de enzimas suele ser sumamente lenta. Si es inevitable un almacenamiento prolongado se deberán comprobar los efectos del mismo analizando muestras enriquecidas que hayan sido almacenadas en las mismas condiciones durante un período similar. Se encontrará información útil sobre la estabilidad de los residuos de plaguicidas en el almacenamiento en la publicación anual de la FAO titulada: *Pesticide Residues – Evaluations* que prepara la JMPR de la FAO y la OMS, así como en la documentación presentada por los fabricantes para apoyar el registro de sus plaguicidas.

4.2.5 Cuando haya que congelar las muestras, es recomendable que se tomen las porciones de las mismas que han de analizarse antes de proceder a la congelación, para reducir al mínimo el efecto de separación del agua en forma de cristales de hielo durante el almacenamiento. No obstante, es necesario asegurarse de que en el análisis se emplea toda la porción extraída para tal fin.

4.2.6 Los envases no deberán tener pérdidas. Los envases utilizados para el almacenamiento y sus tapas o taponos deberán impedir la entrada de la sustancia o sustancias analizadas en el compartimiento de almacenamiento.

4.3 PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS NORMALIZADOS

4.3.1 Se aplicarán procedimientos operativos normalizados para todas las operaciones. Dichos procedimientos comprenderán instrucciones de trabajo completas así como información sobre la aplicación, el rendimiento previsto, los requisitos para el control de calidad interno (verificación del rendimiento) y el cálculo de los resultados. Asimismo deberá informar de todos los peligros que puedan derivarse del método, las sustancias patrón o los reactivos.

4.3.2 Todas las desviaciones de un procedimiento deberán ser registradas y autorizadas por el analista encargado.

4.4 VALIDACIÓN DE MÉTODOS¹

4.4.1 Se han publicado directrices para la validación de los procedimientos analíticos utilizados con diversos fines. Los principios expuestos en esta sección se consideran de carácter práctico, y adecuados para la validación de métodos de análisis de residuos. Esta orientación no es normativa. El analista deberá decidir cuál es el grado de validación necesario para demostrar que el método resulta adecuado para cumplir la finalidad prevista, y producir en consecuencia los datos de validación necesarios. Por ejemplo, las exigencias

¹ Esta sección se basa en las recomendaciones elaboradas por una Consulta AOAC/FAO/OIEA celebrada en Miskolc, Hungría, en 1999. El documento completo está disponible en www.iaea.org/trc y en A. Fajgelj & A. Ambrus Principles and Practices of Method Validation, Royal Society of Chemistry, 2000.

pueden ser muy diferentes según se trate de comprobar el cumplimiento de LMR o de proporcionar datos para un cálculo de la ingestión.

4.4.2 Un método de análisis es la serie de procedimientos que se aplican desde la recepción de la muestra hasta la producción del resultado final. La validación es el proceso mediante el cual se verifica la idoneidad del método para cumplir la finalidad prevista. El método puede desarrollarse internamente, extraerse de la literatura u obtenerse de terceros de alguna otra manera. Podrá luego adaptarse o modificarse para que se ajuste a los requerimientos y capacidades del laboratorio y/o al propósito para el que ha de utilizarse. Habitualmente la validación se efectúa una vez que se ha terminado de desarrollar el método y se supone que se han establecido de manera satisfactoria requisitos como la calibración, la idoneidad del sistema, la estabilidad del analito, etc. En la validación y utilización de un método de análisis se deberán efectuar mediciones comprendidas en la escala calibrada del sistema de detección que se emplee. Por lo general la validación precederá la aplicación práctica del método de análisis de las muestras, aunque la verificación posterior del rendimiento debe constituir un aspecto constante e importante del proceso. Los requisitos para los datos de verificación del rendimiento constituyen un subconjunto de los exigidos para la validación del método.

Cuando es viable la realización de ensayos de aptitud (u otros procedimientos de verificación entre laboratorios), éstos constituyen un instrumento importante para verificar la precisión general de los resultados generados por el método, y brindan información sobre la variabilidad de los resultados entre los distintos laboratorios. Sin embargo, por lo general los ensayos de aptitud no comprueban la estabilidad u homogeneidad de los analitos ni su extractabilidad de la muestra procesada.

Cuando se necesitan datos sobre la incertidumbre, éstos deben incluir información sobre la verificación del rendimiento y no deben basarse únicamente en datos sobre la validación del método.

4.4.3 Siempre que un laboratorio desarrolle un nuevo método o modifique un método ya existente, deberán determinarse los efectos de las variables analíticas, por ejemplo mediante una prueba de rugosidad. Deberán aplicarse estrictos controles en relación con todos los aspectos de la metodología que puedan influir en los resultados, como pueden ser: tamaño de la muestra; volúmenes de reparto; variaciones en el rendimiento de los sistemas de purificación empleados; estabilidad de los reactivos o de los derivados preparados; efectos de la luz, la temperatura, los disolventes y el almacenamiento en los analitos de los extractos; efectos de los disolventes, los sistemas de inyección, la columna de separación, las características de la fase móvil (composición y velocidad de flujo), la temperatura, el sistema de detección, las sustancias utilizadas en la extracción, etc., en el sistema de determinación. Es muy importante que se establezcan claramente las relaciones cualitativas y cuantitativas entre la señal medida y la sustancia que se trata de analizar.

4.4.4 Se dará preferencia a métodos que puedan aplicarse a varios tipos de residuos o a varios tipos de matrices. El empleo de analitos o matrices representativos es importante para la validación de los métodos. Para este fin los productos deberán diferenciarse suficientemente, pero no más de lo necesario. Por ejemplo, algunos productos están disponibles en una vasta gama de variantes manufacturadas, o variedades cultivadas, o razas, etc., con diferencias menores. Por lo general, aunque no invariablemente, se podrá considerar que una única variante de un producto particular representa a otras variantes del mismo producto, aunque, por ejemplo, no se debe considerar que una sola especie de frutas u hortalizas represente a todas las frutas u hortalizas (Cuadro 5). Cada caso se considerará con sus circunstancias específicas, teniendo en cuenta las situaciones en que se sabe que determinadas variantes de un producto difieren de otras en cuanto a su efecto en el rendimiento del método; será necesario analizar esas variantes. Pueden existir diferencias considerables entre las distintas especies en cuanto a la exactitud y precisión de los métodos, especialmente con respecto a la fase de determinación.

4.4.4.1 Si la experiencia indica que en matrices de productos/muestras generalmente similares se obtiene un rendimiento similar en la extracción y la purificación, será posible adoptar un criterio más sencillo de validación del rendimiento. Se podrá seleccionar del Cuadro 5 un producto representativo de cada grupo de productos con propiedades comunes, y utilizarlo para la validación del procedimiento o el método. En el Cuadro 5, los productos están clasificados con arreglo a la Clasificación del Codex².

² Clasificación del Codex de Alimentos y Piensos (CAC/MISC 4-1993).

He aquí algunos ejemplos que ilustran en qué medida los datos de validación pueden extenderse a otros productos:

- **cereales:** la validación relativa a los granos enteros no puede aplicarse al salvado o el pan, pero la validación del trigo en grano puede aplicarse a la cebada en grano o la harina de trigo;
- **productos animales:** no se debe considerar que la validación relativa al músculo sea aplicable a la grasa o los despojos comestibles, pero la validación efectuada para la grasa de pollo podrá aplicarse a la grasa de vacuno;
- **frutas y hortalizas:** la validación relativa a un producto fresco entero no debe considerarse aplicable al producto desecado, pero la referente a las coles podrá aplicarse a las coles de Bruselas.

4.4.4.2 Para evaluar el rendimiento de un método se podrán utilizar analitos de representatividad similar. Se pueden seleccionar compuestos que comprendan propiedades físicas y químicas de los analitos que se intenta determinar con el método. La selección de los analitos representativos debe efectuarse en función de la finalidad y el alcance del análisis, teniendo en cuenta lo siguiente.

- a) Los analitos representativos seleccionados deben:
 - i) poseer una gama de propiedades físico-químicas suficientemente amplia como para incluir la de los analitos representados;
 - ii) ser los que con toda probabilidad se detectarán regularmente o que serán objeto de decisiones críticas sobre la base de los resultados obtenidos.
- b) En la medida en que sea viable, todos los analitos incluidos en el proceso de validación inicial deben ser aquéllos que han de someterse a ensayo regularmente y que pueden ser determinados simultáneamente por el sistema de determinación empleado.
- c) La concentración de los analitos utilizados para caracterizar un método debe seleccionarse de manera que comprenda los límites aceptados (LA, véase el Glosario) de todos los analitos que se planea buscar en todos los productos. Por consiguiente los analitos representativos seleccionados deben incluir, entre otros, aquéllos con LA altos y bajos. Esto significa que los niveles de enriquecimiento utilizados en ensayos de rendimiento con analitos representativos/productos representativos no necesariamente corresponderán a los LA efectivos.

4.4.5. Cuando ya se dispone de datos apropiados quizás no sea necesario que el analista efectúe todos los ensayos. Sin embargo, los registros de validación deben incluir, directamente o mediante referencias, toda la información requerida. El Cuadro 1 ofrece un panorama general de los parámetros que deben evaluarse en la validación de los métodos, según la situación del método que deba validarse. Los parámetros y criterios específicos que se han de evaluar se enumeran en el Cuadro 2. Se evaluarán únicamente aquellos parámetros que resulten apropiados tanto para el método como para la finalidad con la que ha de aplicarse ese método particular. En muchos casos será posible obtener simultáneamente, mediante un único experimento, las características de rendimiento relacionadas con varios parámetros. El empleo de pruebas en las que se modifican varios factores diferentes al mismo tiempo (experimentos de diseño factorial) puede ayudar a reducir al mínimo los recursos requeridos. El rendimiento del método analítico deberá comprobarse tanto en la fase de elaboración del mismo como durante su uso posterior, tal como se indica en la sección 4.5, con arreglo a los criterios indicados en el Cuadro 3.

4.4.6 Los métodos individuales (para un solo residuo) deberán validarse por completo con todos los analitos y materiales de muestras especificados para ese fin, utilizando matrices de muestras representativas de los que ha de analizar el laboratorio.

4.4.7 Los métodos específicos para ciertos grupos se deberán validar inicialmente para uno o más productos representativos y para un mínimo de dos analitos representativos seleccionados del grupo.

4.4.8 Los métodos para residuos múltiples (MRM) podrán validarse con productos representativos y analitos representativos.

4.5 VERIFICACIÓN DEL RENDIMIENTO

4.5.1 Los objetivos principales de la verificación del rendimiento son:

- *seguir de cerca el rendimiento del método en las condiciones efectivas en que se emplea;*
- *tomar en cuenta el efecto de las inevitables variaciones provocadas, por ejemplo, por la composición de las muestras, el funcionamiento de los instrumentos, la calidad de las sustancias químicas, la aptitud variable de los analistas y las condiciones ambientales en el laboratorio;*
- *demostrar que las características de rendimiento del método son generalmente similares a las establecidas en el momento de su validación, lo que prueba que el método se halla “estadísticamente bajo control”, y que la precisión e incertidumbre de los resultados son comparables a los previstos para el método. Con este fin los datos obtenidos en la validación del método podrán actualizarse con información recabada de la verificación de su rendimiento durante el empleo regular del método.*

Los resultados del control interno de calidad proporcionan una información esencial sobre la reproducibilidad a largo plazo y otras características del rendimiento del método, incluidos los analitos y productos que se hayan incorporado durante la extensión del método.

Las características esenciales de rendimiento que han de comprobarse y los procedimientos de ensayo apropiados se describen en el Cuadro 2.

Para que la verificación del rendimiento sea eficaz, el análisis de las muestras se efectuará simultáneamente con los análisis apropiados de control de calidad (determinaciones de material testigo y de la recuperación, materiales de referencia, etc.). Se podrán utilizar gráficos de control para comprobar las tendencias del rendimiento del método y garantizar el mantenimiento del control estadístico.

4.5.2 Construcción y utilización de gráficos de control

4.5.2.1 Los gráficos de control pueden ser un instrumento útil para demostrar el rendimiento de un método y la reproducibilidad del parámetro seleccionado. Un ejemplo de ello son los gráficos de control utilizados para las recuperaciones. Su aplicación dependerá de las tareas de laboratorio; cuando se analiza un número elevado de muestras del mismo tipo con los mismos ingredientes activos, el gráfico de control se basará en la recuperación media y las desviaciones estándar obtenidas en el uso regular del método. Si, en cambio, el análisis se efectúa en un número pequeño de muestras de cada tipo para una gran variedad de muestras y un número considerable de analitos, aplicando un procedimiento de residuos múltiples, los gráficos de control no podrán utilizarse de la manera habitual. En tales casos inicialmente se construirá un gráfico de control con la recuperación promedio (Q) de los analitos representativos en matrices representativas y el coeficiente tipo de variación de la reproducibilidad dentro del laboratorio (CV_{Atip}), obtenido por el procedimiento descrito más abajo. Cuando el promedio de los datos de las recuperaciones y su coeficiente de variación obtenidos en la validación del método para los distintos analitos/matrices de la muestra no son estadísticamente diferentes, cada uno de ellos podrá considerarse como una estimación de la recuperación efectiva y de la precisión del método; combinándolas de manera apropiada se podrá establecer la recuperación típica (Q_{tip}) y el coeficiente de variación (CV_{Atip}) del método, que se utilizarán para construir el gráfico de control inicial. Los límites de control y de adopción de medidas serán, respectivamente, $Q_{tip} \pm 2 * CV_{Atip} * Q$ y $Q_{tip} \pm 3 * CV_{Atip} * Q$.

4.5.2.2 Si el método se aplica regularmente para analizar diversas combinaciones de analitos y matrices representadas durante la validación, se trazarán en el gráfico las distintas recuperaciones. La reproducibilidad del método en su uso normal podrá ser algo mayor a la obtenida durante la validación del método. Por consiguiente, si algunas de las recuperaciones quedan fuera de los límites de control o superan ocasionalmente los límites de adopción de medidas, pero están comprendidas dentro de las escalas calculadas a partir de los valores de la CV_A especificados en el Cuadro 3, no será necesario adoptar medidas particulares.

4.5.2.3 Sobre la base de los 15-20 ensayos de recuperación adicionales efectuados durante el uso regular del método como parte de la verificación de su rendimiento, se volverán a calcular el valor medio o recuperación típica y el CV_A y se construirá un nuevo gráfico de control que reflejará la reproducibilidad a largo plazo de la aplicación del método. Los nuevos parámetros establecidos deberán formar parte de las gamas de valores aceptables especificadas en el Cuadro 3.

4.5.2.4 Si esto no puede lograrse, por ejemplo en el caso de analitos particularmente problemáticos, se deberá notificar que los resultados recabados de las muestras tienen una exactitud o una precisión inferiores a las que se asocian normalmente a la determinación de residuos de plaguicidas.

4.5.2.5 Durante el uso regular del método, si el promedio de los primeros ≥ 10 ensayos de recuperación para una matriz particular de analito/muestra resulta significativamente diferente ($P=0,05$) de la recuperación promedio obtenida de las matrices representativas del analito/muestra, no serán aplicables la Q_{tip} ni el CV_{tip} . En este caso se calcularán nuevos límites de control y de adopción de medidas para esa matriz particular del analito/muestra, aplicando el nuevo promedio de recuperación y los valores del CV obtenidos.

4.5.2.6 Si los datos de la verificación del rendimiento exceden reiteradamente los límites de control (es aceptable que una de cada 20 mediciones exceda el límite), se deberán verificar las condiciones de aplicación del método, se identificarán las fuentes de los errores, y se adoptarán las medidas correctivas necesarias antes de seguir utilizando el método.

4.5.2.7 Si los datos de la verificación del rendimiento exceden los límites de adopción de medidas, afinados según se estipula en las secciones 4.5.2.1 a 4.5.2.3, deberá repetirse el ensayo en el lote analítico en cuestión (o por lo menos en las muestras en que se encuentran residuos $\geq 0,7$ LA o 0,5 LA respectivamente, para los analitos que se detecten en forma regular y ocasional).

4.5.2.8 Un nuevo análisis de la porción analítica de las muestras que den resultados positivos es otro instrumento de gran utilidad para verificar el rendimiento del método. Los resultados de este procedimiento pueden utilizarse para calcular la reproducibilidad global del método dentro del laboratorio (CV_{Ltip}), en general o para una matriz particular de analito/muestra. En este caso, el CV_{Ltip} incluirá también la incertidumbre del procesamiento de la muestra, pero no indicará si hay pérdida del analito durante el proceso.

4.6 ENSAYOS DE CONFIRMACIÓN

4.6.1 Cuando se llevan a cabo análisis con fines de vigilancia o aplicación reglamentaria, es especialmente importante que se generen datos de confirmación antes de dar un informe sobre muestras que contienen residuos de plaguicidas normalmente no asociados con el producto, o cuando parece que se han superado los LMR. Las muestras pueden contener sustancias químicas que interfieren en el análisis, que se han identificado erróneamente como plaguicidas. En la cromatografía de gases son ejemplos de esto las respuestas de los detectores de captura de electrones a los ésteres de ftalatos, y las que se obtienen de los detectores selectivos de fósforo con compuestos que contienen azufre y nitrógeno. Como primera medida, si al principio se había analizado una sola porción analítica, deberá repetirse el análisis utilizando el mismo método. Así se obtendrá una prueba de la repetibilidad del resultado en caso de que se confirme el residuo. Cabe señalar que la única prueba de la ausencia de residuos detectables la proporcionan los datos de verificación del rendimiento.

4.6.2 Los ensayos de confirmación pueden ser cuantitativos o cualitativos, pero en la mayor parte de los casos se necesitarán ambos tipos de información. Se plantean problemas particulares cuando se deben confirmar residuos en el límite de determinación o próximos al mismo, pero aunque en este nivel es difícil cuantificarlos es imprescindible que se confirme su nivel e identidad.

4.6.3 La necesidad de ensayos de confirmación puede depender del tipo de muestra o de su procedencia conocida. En algunos cultivos o productos se encuentran con frecuencia determinados productos. Tratándose de una serie de muestras de origen similar que contengan residuos del mismo plaguicida, quizás baste con confirmar la identidad de los residuos en una pequeña parte de las muestras, tomada al azar. De igual forma, cuando se sabe que se ha aplicado un determinado plaguicida al material de la muestra no hay mucha necesidad de confirmar la identidad, si bien deberá confirmarse una parte de los resultados seleccionada al azar. Cuando se dispone de muestras de control, habrá que utilizarlas para comprobar la presencia de posibles sustancias que interfieran en el análisis.

4.6.4 En función de la técnica de determinación utilizada inicialmente, quizás sea necesario aplicar un procedimiento alternativo, que podría ser una técnica de detección diferente, a efectos de verificar la cantidad. Para la confirmación cualitativa (identidad) es conveniente emplear datos del espectro de masas o una combinación de técnicas basadas en distintas propiedades físico-químicas (véase el Cuadro 6).

4.6.5 Las operaciones necesarias para una identificación positiva dependen del criterio del analista, debiendo prestarse atención particular a la elección de un método que reduzca al mínimo los efectos de compuestos que interfieren en el análisis. Las técnicas que se elijan dependerán de la disponibilidad de aparatos y conocimientos adecuados en el laboratorio de ensayo. En el Cuadro 6 se proporcionan algunos procedimientos alternativos de confirmación.

4.7 ESPECTROMETRÍA DE MASAS

4.7.1 Los datos sobre residuos obtenidos mediante espectrometría de masas pueden ofrecer pruebas definitivas; cuando se dispone del equipo necesario, es la técnica de confirmación preferible. Esta técnica puede utilizarse también para el cribado de residuos. Generalmente el análisis de residuos mediante espectrometría de masas se aplica conjuntamente con una técnica cromatográfica de separación, con el fin de obtener simultáneamente datos sobre el tiempo de retención, la relación masa/carga en los iones y la abundancia de los mismos. La técnica de separación concreta, el espectrómetro de masas, la interfaz y la variedad de plaguicidas que se han de analizar son interdependientes, por lo que no hay una combinación única que sirva para el análisis de todos los compuestos. La transmisión cuantitativa de analitos lábiles a través del sistema cromatográfico y su interfaz plantea problemas semejantes a los que se presentan con otros detectores. La confirmación más definitiva de la presencia de un residuo se consigue mediante la formación de su espectro “completo” de masas mediante ionización por impacto electrónico (en la práctica, normalmente, desde m/z 50 hasta más allá de la región de iones moleculares). Al confirmar la identidad del residuo, se ha de tener especialmente en cuenta la abundancia relativa de los iones en el espectro y la ausencia de iones que interfieran. Este método de análisis es uno de los menos selectivos, por lo que deberá ponerse el máximo cuidado para evitar la interferencia de contaminantes que puedan entrar en el sistema durante la elaboración y el almacenamiento de los extractos. Los sistemas de datos de espectrometría de masas permiten la supresión de las señales de interferencia de fondo (causadas, por ejemplo, por pérdidas en la columna) mediante una “sustracción” de dichas interferencias, pero esta técnica debe emplearse con cautela. Normalmente, se puede lograr una mayor sensibilidad mediante la exploración dentro de una escala de masas delimitada o mediante el control de determinados iones, aunque cuanto menor es el número de iones controlados (sobre todo cuando su masa es pequeña) menos concluyentes son los datos obtenidos. Se puede conseguir una confirmación complementaria i) utilizando además otra columna cromatográfica; ii) utilizando otra técnica de ionización (por ejemplo ionización química); iii) controlando otros productos de reacción de determinados iones mediante espectrometría doble de masas (EM/EM o EM^n); o iv) controlando otros iones con una masa mayor de resolución. En lo que respecta a la cuantificación, los iones que se controlen deberán ser los más específicos del analito, los que sufran menos interferencias y en los que la relación señal/ruido sea buena. Las determinaciones por espectrometría de masas deberán satisfacer unos controles de calidad analítica análogos a los que se aplican a otros sistemas.

4.7.2 La confirmación de los residuos detectados tras la separación por cromatografía líquida de alto rendimiento (CLAR) suele ser más problemática que la cromatografía de gases. Si la detección se efectúa por absorción de rayos UV, la producción de un espectro completo puede proporcionar una prueba adecuada de la identidad. Sin embargo, los espectros UV de algunos plaguicidas no son muy útiles para el diagnóstico por ser análogos a los producidos por muchos otros compuestos que poseen grupos funcionales o estructuras similares, y la elución simultánea de compuestos que provocan interferencia puede determinar otros problemas. Los datos sobre la absorción UV obtenidos con diversas longitudes de onda pueden apoyar o refutar la identificación, pero en general por sí solos no son suficientemente característicos. Se pueden emplear datos de fluorescencia para apoyar los obtenidos por absorción UV. El empleo de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM) puede proporcionar datos justificativos adecuados, pero considerando que habitualmente los espectros generados son muy simples y presentan una escasa fragmentación característica es improbable que los resultados obtenidos mediante CL-EM sean definitivos. Una técnica más potente es la aplicación de CL-EM/EM, ya que combina selectividad y especificidad y a menudo ofrece pruebas adecuadas de la identidad del compuesto. Las técnicas de CL-EM tienden a estar sujetas a los efectos de las matrices, especialmente la supresión, y por consiguiente para confirmar la cantidad puede hacerse necesaria la adición de compuesto tipo, o compuestos tipo marcados por isótopos. Asimismo se podrá recurrir a la derivación para confirmar los residuos detectados por CLAR (párr. 4.6.5.4).

4.7.3 En algunos casos será muy conveniente confirmar mediante cromatografía en capa fina (CCF) los resultados de la cromatografía de gases. La identificación se basa en dos criterios: valor *f*_R y reacción de visualización. Los métodos de detección basados en bioensayos (por ejemplo con enzimas, proliferación fúngica, inhibición del cloroplasto) resultan particularmente idóneos para la confirmación cualitativa puesto que son específicos de cierto tipo de compuestos, sensibles, y normalmente son muy poco afectados por los coextractos. La literatura científica contiene numerosas referencias a esta técnica; en el informe sobre plaguicidas de la UIQPA (13) (Bátora, V., Vitorovic, S.Y., Thier, H.-P. y Klisenko, M.A.; Pure y Appl. Chem., 53, 1039-1049 (1981)) se examina la técnica en cuestión y se ofrece una introducción adecuada a la misma. Sin embargo, los aspectos cuantitativos de la cromatografía en capa fina son limitados. Una extensión ulterior de esta técnica implica la eliminación de la superficie de la placa correspondiente al *f*_R del compuesto de interés, seguida de elución del material de la capa y de un nuevo análisis químico o físico de confirmación. Habrá que poner siempre en la placa, junto al extracto de la muestra, gotas de una solución del plaguicida estándar para evitar problemas de no repetibilidad del *f*_R. Echando sobre el extracto gotas del plaguicida estándar también se puede obtener información útil. Las ventajas de la cromatografía en capa fina son la rapidez, el bajo costo y la aplicabilidad a materiales sensibles al calor; las desventajas consisten en que normalmente es menos sensible que las técnicas instrumentales de detección cromatográfica y exige una purificación más eficiente cuando la detección se basa en las reacciones cromáticas de las sustancias químicas.

4.8 DERIVACIÓN

Esta forma de confirmación puede considerarse bajo tres amplios epígrafes:

a) Reacciones químicas

Se han utilizado frecuentemente reacciones químicas en pequeña escala que originan productos de degradación, adición o condensación de plaguicidas, seguidas de un nuevo examen de los productos por técnicas cromatográficas. Las reacciones dan origen a productos que tienen tiempos de retención y/o respuesta al detector distintos de los del compuesto de origen. Hay que tratar una muestra de plaguicida estándar juntamente con el residuo sospechado a fin de poder comparar directamente los respectivos resultados. Deberá incluirse también un extracto enriquecido para probar que la reacción ha tenido lugar en presencia de material de la muestra. Cuando los derivados se detectan gracias a las propiedades del reactivo del que se derivan, pueden producirse interferencias. Cochrane, W.P., ha publicado una reseña de las reacciones químicas utilizadas para fines de confirmación (Chemical derivatisation in pesticide analysis, Plenum Press, NY (1981)). Las reacciones químicas tienen la ventaja de ser rápidas y fáciles de realizar, pero es necesario comprar o purificar reactivos especializados.

b) Reacciones físicas

Una técnica útil es la alteración fotoquímica de un residuo de plaguicida para obtener uno o más productos de patrón cromatográfico reproducible. Hay que tratar siempre de igual manera una muestra del plaguicida estándar y extracto enriquecido. Las muestras que contienen más de un residuo de plaguicida pueden plantear problemas en la interpretación de los resultados. En tales casos, puede efectuarse antes de la reacción una separación previa de residuos específicos mediante CCF, cromatografía de alto rendimiento o fraccionamiento en columna.

c) Otros métodos

Muchos plaguicidas pueden degradarse o transformarse por la acción de enzimas. En contraposición a las reacciones químicas normales, estos procesos son muy específicos y generalmente consisten en oxidación, hidrólisis o desalquilación. Los productos de la conversión poseen características cromatográficas distintas de las del plaguicida de origen, y pueden utilizarse a efectos de confirmación si se comparan con los productos de reacción utilizando plaguicidas estándar.

4.9 EL CONCEPTO DE NIVEL CALIBRADO MÁS BAJO (NCMB)

4.9.1 Cuando el objetivo del análisis consiste en controlar y verificar el cumplimiento de LMR u otros límites aceptados (LA), los métodos aplicados a los residuos deben ser suficientemente sensibles para determinar de manera fiable los que probablemente estarán presentes en un cultivo o una muestra ambiental en niveles equivalentes al LMR o LA o cercanos a los mismos. Sin embargo, no es preciso que tengan una sensibilidad que permita determinar cantidades de residuos dos o más veces inferiores. Los métodos

desarrollados para la medición de residuos a niveles bajos resultan, en general, muy caros y difíciles de aplicar. El uso del nivel calibrado más bajo (NCMB, véase el Glosario) tendría la ventaja de disminuir las dificultades técnicas que plantea la obtención de los datos, al tiempo que se reducirían los costos. Los NCMB para diversas muestras que se proponen a continuación podrían ayudar al analista de residuos en el diseño de métodos apropiados.

4.9.2 Cuando se trata de ingredientes activos registrados para los que se han acordado LMR, los NCMB podrán especificarse como una fracción del LMR. Para facilitar el análisis esta fracción variará, pudiendo ser:

LMR (mg/kg)	NCMB (mg/kg)
5 o más	0,5
de 0,5 a 5	0,1 aumentando hasta 0,5 en los LMR más elevados
de 0,05 a 0,5	0,02 aumentando hasta 0,1 en los LMR más elevados
menos de 0,05	0,5 x LMR

Cuando el LMR esté fijado en el límite de determinación del método analítico, el NCMB se fijará también en dicho nivel.

4.10 EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

A efectos reglamentarios, sólo deberán comunicarse los datos comprobados, que se expresarán tal como se definen en los LMR. Se considerarán valores nulos los inferiores al nivel calibrado más bajo, y no los inferiores a un nivel calculado por extrapolación. En general los resultados no deberán corregirse en función de la recuperación; sólo se podrán corregir si ésta difiere considerablemente del 100%. En caso de que los resultados se notifiquen corregidos de acuerdo con la recuperación, deberán proporcionarse tanto los valores de la medición como los valores corregidos. También deberá notificarse la base adoptada para la corrección. En caso de resultados positivos obtenidos mediante determinaciones repetidas (por ej. en distintas columnas de CG, con diferentes detectores o sobre la base de iones diferentes de los espectros de masa) de una misma porción de ensayo (submuestra), se deberá notificar el valor más bajo que se haya obtenido. Si los resultados positivos derivan del análisis de varias porciones de ensayo, se notificará la media aritmética de los valores más bajos que se han obtenido en cada porción de ensayo. Considerando, en general, una precisión relativa de 20-30%, los resultados deben expresarse únicamente con dos cifras significativas (por ej.: 0,11; 1,1; 11 y $1,1 \times 10^2$). Puesto que a concentraciones más bajas la precisión podrá ser del orden de 50%, los valores de los residuos inferiores a 0,1 deberán expresarse con una cifra significativa solamente

Figura II.1. Cuadro general de la validación del método

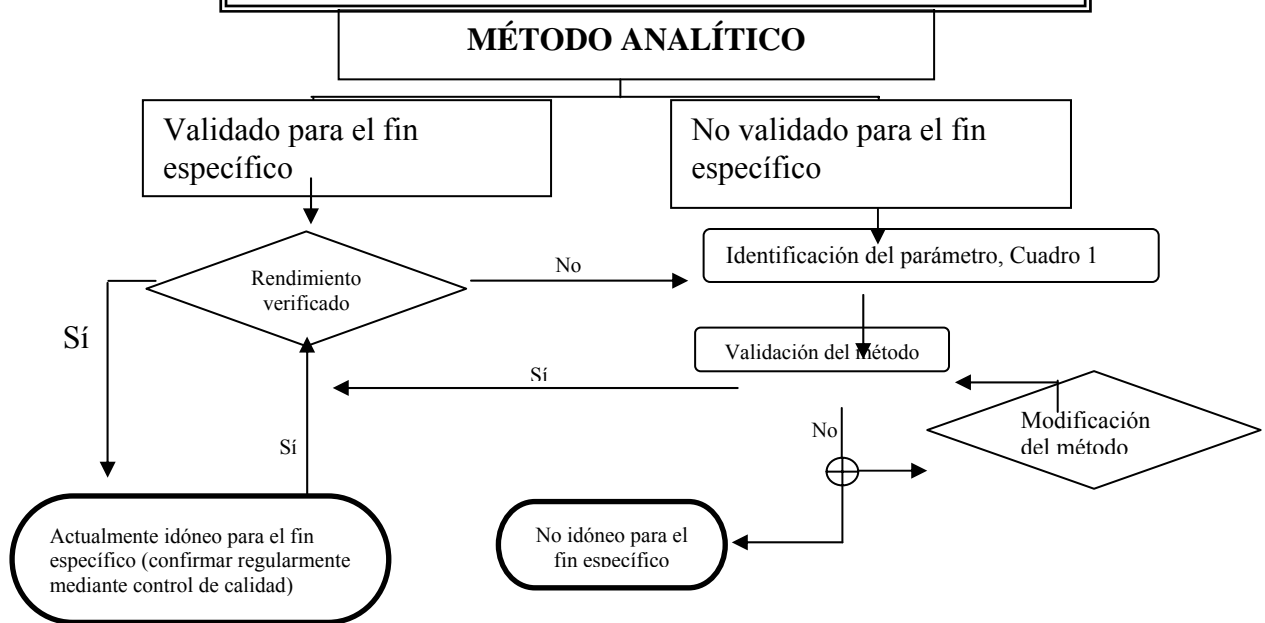
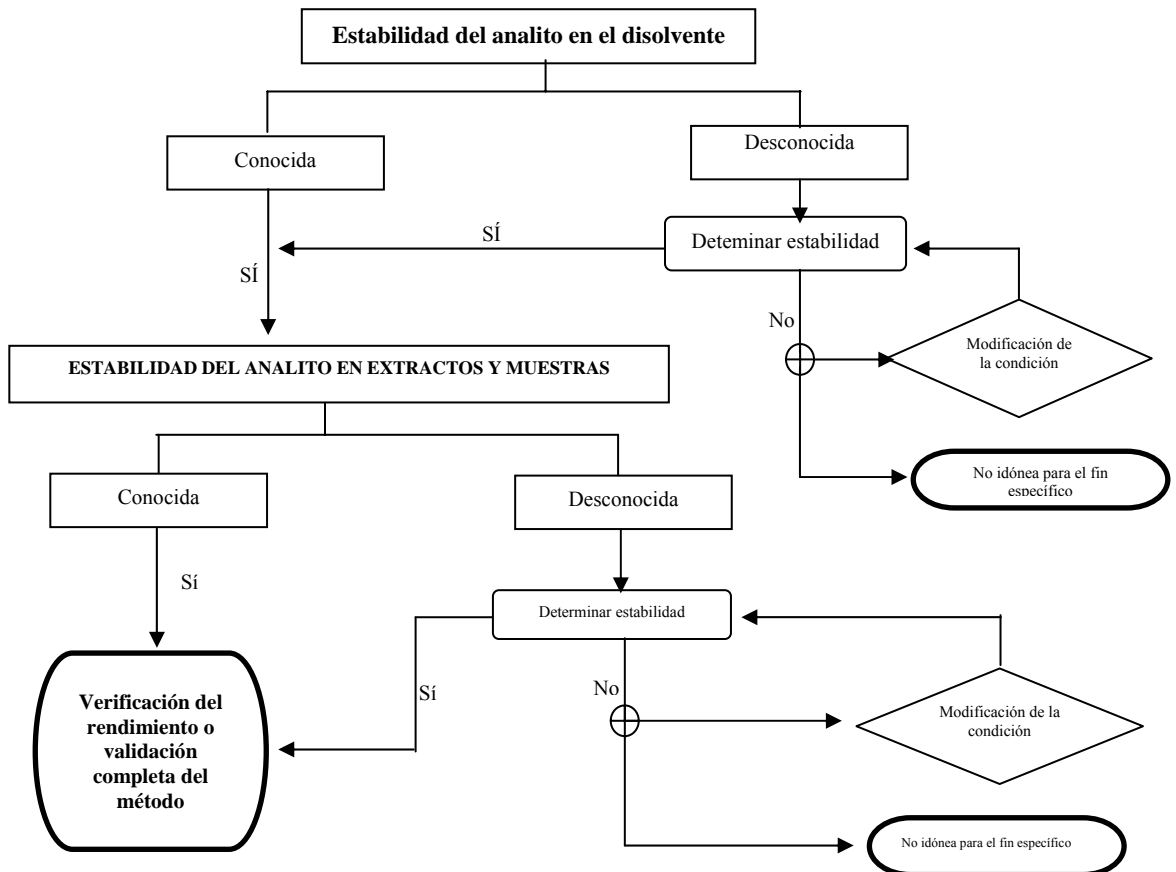


Figura II.2. Verificación de la estabilidad del analito



Cuadro 1 Resumen de los parámetros que deben evaluarse para validar el método

Parámetros que deben comprobarse	Método analítico existente, del que ensayos anteriores con el parámetro han demostrado la validez para una o más combinaciones de analitos/matrices					Modificación de un método existente	Método nuevo, aún no validado	Tipos de experimentos que pueden combinarse
	Verificación del rendimiento *	Matriz adicional	Analito adicional	Concentración mucho más baja del analito	Otro laboratorio			
Especificidad, (demuestra que la señal detectada se debe al analito y no a otro compuesto)	No (si se cumplen los criterios sobre matrices testigo y confirmación del analito)	Sí, si el control de la calidad evidencia interferencias de la matriz	Sí	Sí, si el control de calidad evidencia interferencias de la matriz	No se necesitan controles rigurosos si el rendimiento del sistema de determinación es similar o mayor	Sí o no. Podrían requerirse controles rigurosos si el sistema de determinación es fundamentalmente diferente o es incierta la magnitud de las interferencias de la matriz	Sí. Pueden necesitarse controles rigurosos si el sistema de determinación es diferente o es incierta la magnitud de las interferencias de las matrices, en comparación con métodos existentes.	
Escala analítica, recuperación mediante extracción, purificación, derivación y medición	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Escala de calibración Escala analítica LD/LC Efecto de la matriz
Escala de calibración para la determinación del analito	No	No	Sí	Sí	Sí, para analitos representativos	Sí, para analitos representativos	Sí, para analitos representativos	Linealidad, reproducibilidad y señal/ruido

Parámetros que deben comprobarse	Método analítico existente, del que ensayos anteriores con el parámetro han demostrado la validez para una o más combinaciones de analitos/matrices					Modificación de un método existente	Método nuevo, aún no validado	Tipos de experimentos que pueden combinarse
	Verificación del rendimiento *	Matriz adicional	Analito adicional	Concentración mucho más baja del analito	Otro laboratorio			
LD y LC	No	Sí, (parcial si la matriz proviene de una clase representada)	Sí, parcial para analitos representados	Sí	Sí	Sí	Sí	Nivel calibrado más bajo y datos de recuperación de material enriquecido a nivel bajo
Límite de notificación, NCMB	Sí	No	No	No	No	No	No	
Estabilidad del analito en extractos de las muestras ⁸	No	Sí, salvo que la matriz provenga de una clase representada	Sí, salvo que el analito esté representado	Sí	No	No, salvo que la extracción/disolvente final sea diferente o la purificación sea menos rigurosa	Sí, si la extracción/disolvente final es diferente de un método existente, o la purificación es menos rigurosa en comparación con los otros métodos empleados	
Estabilidad del analito en el almacenamiento de las muestras ⁹	Sí	Sí	Sí	Preferiblemente sí	No	No	No	
Eficiencia de la extracción ¹⁰	No	Preferiblemente sí	Preferiblemente sí	Preferiblemente sí	No	No, salvo que se empleen condiciones de extracción diferentes	Sí, salvo que se emplee un procedimiento de extracción comprobado anteriormente	

Parámetros que deben comprobarse	Método analítico existente, del que ensayos anteriores con el parámetro han demostrado la validez para una o más combinaciones de analitos/matrices					Modificación de un método existente	Método nuevo, aún no validado	Tipos de experimentos que pueden combinarse
	Verificación del rendimiento *	Matriz adicional	Analito adicional	Concentración mucho más baja del analito	Otro laboratorio			
Homogeneidad ^Ξ de las muestras analíticas	Sí [≅]	No, salvo que la matriz sea sustancialmente distinta	No	No	No, salvo que haya cambiado el equipo	No, salvo que haya cambiado el equipo	Sí, salvo que se emplee un procedimiento ya comprobado para procesar la muestra	Véase más abajo
Estabilidad del analito en el procesamiento de la muestra ^Ξ	No	Sí, salvo en matriz representada	Sí, salvo para analito representado	Preferiblemente sí	No	No, salvo que el procedimiento comporte una temperatura más elevada, un tiempo mayor, una trituración más gruesa, etc.	No, salvo que el procedimiento comporte temperatura más elevada, tiempo mayor, trituración más fina, etc. que los procedimientos validados	Repetibilidad, reproducibilidad

* Control de calidad constante.

Ξ Si no se dispone de información pertinente

= Los analitos representativos podrán elegirse por sus características de hidrólisis, oxidación y fotólisis.

§ Los datos de estabilidad en el interior o la superficie de productos representativos deberían proporcionar información suficiente. Se necesitarán ensayos adicionales, por ejemplo, cuando:

- a las muestras se almacenan durante un período más prolongado que el que se comprueba (por ej., estabilidad comprobada hasta cuatro semanas con pérdidas mensurables del analito durante este período, pero las muestras no se analizan antes de seis semanas)
- b ensayos de estabilidad efectuados a $\leq -18^{\circ}\text{C}$, almacenamiento de las muestras en el laboratorio a $\leq 5^{\circ}\text{C}$;
- c muestras almacenadas normalmente a $\leq -15^{\circ}\text{C}$, pero la temperatura de almacenamiento se eleva hasta $+5^{\circ}\text{C}$.

^v La información sobre la eficacia de la extracción puede obtenerse del fabricante o la empresa que registra el compuesto.

≅ Ocasionalmente con análisis repetidos de porciones de ensayo de muestras positivas.

Cuadro 2 Parámetros que deben evaluarse en la validación de los métodos en diversas circunstancias

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
1. Rendimiento del método optimizado en el laboratorio (un solo laboratorio)					
1.1 Estabilidad del analito en extractos y soluciones estándar	En \leq LA, o con residuos claramente detectables	≥ 5 : se repite a intervalos temporales apropiados (tiempo cero inclusive) y para cada analito/producto representativo. Enriquecer los extractos de la muestra testigo para comprobar la estabilidad de los residuos. Comparar la concentración del analito en soluciones estándar almacenadas y recién preparadas.	Ningún cambio significativo en la concentración del analito en extractos y soluciones analíticas estándar almacenados ($P=0,05$)	Al final del período de almacenamiento hay residuos añadidos detectables en el NCMB	Será necesario comprobar la estabilidad en los extractos si la aplicación del método analítico se suspende durante el proceso de determinación y es probable que el material se almacene durante un período más prolongado que el necesario para determinar la precisión, o si se obtuvieron recuperaciones bajas durante la optimización del método. Si los extractos de recuperación se almacenan, durante la optimización del método la recuperación se medirá con respecto a patrones de calibración “viejos” y “recién preparados”. El tiempo de almacenamiento debe comprender el período más prolongado ha de requerirse probablemente para completar el análisis.
1.2 Función de calibración Efecto de la matriz	NCMB a 2 (3) veces el LA	Comprobar las funciones de respuesta de todos los analitos incluidos en el método con ≥ 2 repeticiones en ≥ 3 niveles del analito más la muestra testigo. Para respuestas no lineales, determinar la curva de la respuesta en ≥ 7 niveles y ≥ 3 repeticiones. Comprobar el efecto de la matriz con todos los analitos y matrices representativos. Aplicar los compuestos estándar preparados en disolvente y sacar muestras aleatorias de los extractos.	Calibración lineal: coeficiente de regresión de las soluciones analíticas estándar ($r \geq 0,99$. DE de residuales ($S_{y/x}$) $\leq 0,1$ Para la función polinómica ($r \geq 0,98$. El efecto de la matriz se confirma si la diferencia es significativa en $P = 0,05$.	Para calibración lineal: coeficiente de regresión ($r \geq 0,98$. DE de los residuos $0,2$ Para la función polinómica ($r \geq 0,95$	Los parámetros de la calibración pueden establecerse durante la optimización del procedimiento o en la determinación de la precisión o la capacidad de detección. Preparar soluciones de calibración en diferentes concentraciones. Para los MRM realizar la calibración con mezclas de analitos (“mezcla estándar”) que pueda separar adecuadamente el sistema cromatográfico. Utilizar patrones estándares analíticos ajustados a la matriz para efectuar nuevos ensayos si el efecto de la matriz es significativo. La validación del método podría no dar una información concluyente sobre los efectos de la matriz puesto que éstos cambian en función del tiempo, la muestra (a veces), la columna, etc.

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
1.3 Escala analítica, exactitud, fidelidad y precisión, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC)	NCMB a 2 (3) veces el LA*	Analizar combinaciones de matrices de analitos representativos: ≥ 5 porciones analíticas enriquecidas en los niveles: 0, NCMB, LA y ≥ 3 repeticiones en el nivel de 2-3 LA. Las pruebas de recuperación deben repartirse entre los analistas que utilizarán el método y los instrumentos que han de emplearse en el análisis.	El LC debe ser idóneo para el fin específico. Recuperación mediana y CV_A ; véase el Cuadro 3. El valor mediano de los residuos* medido en el material de referencia no difiere en medida significativa del valor de consenso ($P = 0,05$).	Todas las recuperaciones son detectables en el NCMB	<p>Los analistas deben demostrar que el método es idóneo para determinar la presencia del analito en el LA apropiado, con errores máximos (falso negativo y falso positivo) especificados.</p> <p>Para los MRM, el nivel de enriquecimiento de las muestras testigo debe comprender los LA de los analitos representados. Por consiguiente estos podrían no corresponderse con los LA efectivos de los analitos representativos.</p> <p>Enriquecer las porciones analíticas con mezclas estándar.</p> <p>Las escalas de exactitud y precisión determinadas para las combinaciones representativas de analitos y matrices pueden considerarse típicas del método, y se utilizarán como criterios de aplicabilidad para su extensión a nuevos analitos y productos y para una orientación inicial con respecto al control interno de calidad del método.</p> <p>Notificar los resultados sin corregir, el valor medio de recuperación y el CV_A de las repeticiones. El CV_A equivale a la reproducibilidad del análisis de las muestras dentro del laboratorio.</p> <p>* Corregir los resultados de la recuperación media si difieren considerablemente del 100%.</p> <p>Si el método no permite calcular la recuperación, la exactitud y precisión serán las de la calibración.</p>
1.4 Especificidad y selectividad de la detección del analito	En el nivel de calibración más bajo (NCMB)	Identificar mediante espectrometría de masas, una técnica de especificidad similar, o la combinación apropiada de las técnicas de separación y detección disponibles. Analizar ≥ 5 muestras testigo de cada producto representativo, obtenidas	La respuesta medida se debe exclusivamente al analito. Los residuos medidos en dos columnas diferentes deben estar dentro de la escala crítica de determinaciones	Normalmente la tasa de muestras con resultados negativos falsos (error β) en el LA será $< 5\%$.	Se aplica únicamente a una combinación específica de técnicas de separación y detección. En lugar de muestras sin tratar podrán emplearse muestras con un historial de tratamiento conocido, para analitos distintos de los aplicados durante el tratamiento. La madurez de las matrices de la muestra podrá afectar considerablemente la respuesta de la muestra testigo. Los valores testigo también deberán comprobarse

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
		preferiblemente de fuentes diferentes. Notificar el equivalente del analito en la respuesta del ensayo testigo. Determinar y notificar la selectividad (δ) del detector y los relativos factores de respuesta (fRR) de analitos representativos con los detectores específicos empleados.	cromatográficas repetidas.		regularmente durante la verificación del rendimiento (véase la Sección 5 <i>infra</i>). Notificar los valores extremos presentes habitualmente en los extractos de las muestras testigo. Es preferible que el NCMB sea $\leq 0,3$ LA, excepto cuando este último se haya fijado en el límite de cuantificación o en torno a él. El ensayo puede realizarse combinándose con la determinación del límite de adopción de decisiones y de la capacidad de detección, y también proporcionará información sobre los tiempos de retención relativa (tRR) y fRR de los compuestos. Alterar las condiciones cromatográficas si la respuesta de la muestra testigo interfiere con el analito, o utilizar un sistema de detección alternativo. La combinación idónea de detectores selectivos aumenta la especificidad al crecer la cantidad de información sobre el analito.
1.5 Selectividad de la separación	En el LA	Determinar los valores de tRR de todas las sustancias que deben analizarse con el método (no sólo los compuestos de referencia). Cuando se utilizan técnicas cromatográficas sin detección espectrométrica, aplicar principios de separación diferentes y/o determinar los tRR en columnas de polaridad diferente. Determinar y notificar la resolución (R_s) y los factores de cola (fC) de los valores críticos.	El valor máximo más cercano debe estar separado del valor máximo designado del analito por lo menos por un ancho entero en el 10% de la altura máxima, o bien se requiere una detección más selectiva de todos los analitos.	Identificación provisional de todas las sustancias sometidas al análisis. (No es necesario separar todos los analitos)	A menos que se combinen la separación cromatográfica y la detección espectrométrica, notificar los valores de tRR en columnas de polaridad diferente, para permitir la separación ($R \geq 1,2$ como mínimo) de todos los analitos sometidos a ensayo. El ensayo puede combinarse con la determinación de la función de calibración y el efecto de la matriz (véase 1.7)

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
1.6 Homogeneidad del analito de la muestra analítica	En el LA o residuos claramente detectables	Analizar ≥ 5 porciones idénticas de la muestra de ensayo de un producto representativo de cada grupo (Cuadro 5), después del procesamiento. Determinar el coeficiente de variación en el procesamiento de la muestra (CV_{pm}) mediante análisis de la varianza. Se deberá controlar la homogeneidad del analito con analitos que se sabe que son estables	$CV_{pm} \leq 10\%$	$CV_{pm} \leq 15\%$ Para los métodos de cribado puede ser conveniente tomar una porción en la que puedan esperarse residuos más altos (por ej. cáscara de cítricos) y quizás no sea necesario lograr la homogeneidad	Utilizar de preferencia productos con residuos superficiales <u>estables</u> , o tratar la superficie de una pequeña parte de las unidades naturales (<20%) de la muestra de laboratorio antes de cortarla o picarla para representar la peor hipótesis de procesamiento de la muestra. Procesamiento validado para el empleo con cualquier procedimiento subsiguiente. Validación aplicable a otros productos con propiedades físicas similares, e independiente del analito. El ensayo puede combinarse con la comprobación de la estabilidad del analito (véase la Sección 1.7 de este cuadro). Determinar la constante de muestreo ^{3,4} para calcular el tamaño de la porción analítica necesaria a fin de satisfacer los criterios de calidad del $CV \leq 10\%$ especificado. Si el CV_L de los residuos no añadidos a la muestra se encuentra dentro de los límites especificados en el Cuadro 2, quizás no sea necesario determinar por separado el CV_{pm} .
1.7 Estabilidad del analito en el procesamiento de la muestra	En torno al LA	Enriquecer los productos con cantidades conocidas de los analitos antes de procesar la muestra. Efectuar ≤ 5 repeticiones con cada producto, después del procesamiento. Aplicar un compuesto marcador teóricamente estable junto con los analitos que se someten al ensayo. Para MRM y métodos para grupos específicos es posible analizar al mismo tiempo varios analitos que puedan separarse adecuadamente.	No es necesario especificar la estabilidad del analito cuando el promedio de la recuperación total del analito añadido antes del procesamiento de la muestra (incluida la recuperación del procedimiento) y el CV_A se hallan dentro de los límites especificados en el Cuadro 3. Cuantificar la estabilidad	El analito añadido en el NCMB sigue siendo detectable después del procesamiento	La temperatura de la muestra durante el procesamiento puede ser crítica. Procesamiento validado para el uso con cualquier procedimiento subsiguiente. La validación puede ser específica para el analito y/o la matriz de la muestra. Para comprobar la estabilidad determinar la recuperación mediana y el CV_L de compuestos marcadores inestables y estables. Utilizar estos compuestos en las pruebas internas de calidad (véase la Sección 5). Expresar la proporción entre la concentración promedio de los compuestos inestables y estables para indicar la estabilidad de los residuos. Los CV de los compuestos estables indicarán también la repetibilidad dentro del laboratorio.

³ Wallace, D. y Kratochvil, B., analytical Chemistry, 59, 1987, 226.

⁴ Ambrus, A., Solymosné, E.M. y Korsós, I., J. Environ. Sci. and Health, B31, 1996, 443.

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
			en caso de que la recuperación global y la recuperación del procedimiento difieran considerablemente (P=0,05)		
1.8 Eficiencia de la extracción	En el LA o residuos de fácil medición	Analizar ≥ 5 porciones idénticas de muestras o material de referencia con presencia de residuos no añadidos. Comparar el procedimiento de referencia (o diferente) con el que es objeto del ensayo. En caso de MRM es preferible que los analitos sometidos al ensayo tengan una vasta gama de coeficientes de reparto octanol/agua. Se determinarán utilizando únicamente los residuos no añadidos.	Para las muestras con presencia de residuos no añadidos, la media de los resultados obtenidos con el procedimiento de referencia y el procedimiento que es objeto de la comprobación no debe presentar diferencias significativas en el nivel P=0,05, aplicando el CV _L en el cálculo. O bien, el valor de consenso del material de referencia y la media de los residuos no deben presentar diferencias significativas en el nivel de P=0,05 si el cálculo se efectúa con el CV _A del método examinado. En caso de que el CV _A del método sea mayor de 10%, será necesario incrementar el número de repeticiones del análisis para mantener el error estándar relativo de la media <5%. De lo	Los residuos medios no añadidos que se sabe que están presentes en el límite de cuantificación o el NCMB o en torno a los mismos son efectivamente detectables en las muestras.	La temperatura del extracto, la velocidad del mezclador o Ultra Turrax, el tiempo de extracción y la proporción solvente/agua/matriz pueden influir considerablemente en la eficiencia de la extracción. Es posible medir el efecto de estos parámetros mediante una prueba de rugosidad. Las condiciones optimizadas deben mantenerse tan constantes como sea posible. En general la validación es aplicable a los productos pertenecientes a un mismo grupo y los analitos representados con propiedades físicas y químicas similares. La validación es independiente de los procedimientos subsiguientes del método. La recuperación promedio de cada método se determinará a partir de porciones analíticas enriquecidas. Ajustar los resultados a la recuperación promedio del análisis si ésta difiere considerablemente del 100%. De acuerdo con ciertos reglamentos es necesario comprobar la capacidad de los equipos de cribado para detectar un resultado positivo con un 95% de confianza.

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido		Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo		Método de cribado	
			contrario se deberá cuantificar y notificar la eficiencia de la extracción (excluyendo la recuperación de la fase analítica después de la extracción).			
1.9 Estabilidad del analito durante el almacenamiento de la muestra	En torno al LA	Analizar muestras que acaban de homogeneizarse y contienen residuos no añadidos, o bien homogeneizar y enriquecer muestras testigo (tiempo 0) y luego analizar las muestras almacenadas con arreglo a los procedimientos habituales del laboratorio (por lo general a $\leq -18^{\circ}\text{C}$). El tiempo de almacenamiento debe ser \geq que el intervalo más largo previsto entre el muestreo y el análisis. Efectuar ≥ 5 repeticiones en cada momento elegido. Cuando las porciones almacenadas se analizan en ≥ 4 ocasiones, examinar ≥ 2 porciones y ≥ 1 porción testigo enriquecida en el momento del análisis.	No hay pérdidas significativas de analito durante el almacenamiento ($P=0,005$)	El analito añadido en el nivel de calibración más bajo (NCMB) sigue siendo detectable después del almacenamiento.		El almacenamiento se validará para su uso con cualquier procedimiento subsiguiente. La validación es específica para el analito. Sin embargo, en general los datos sobre la estabilidad en el almacenamiento obtenido con matrices de muestras representativas podrán considerarse válidos para matrices similares. Las matrices se seleccionarán tomando en cuenta la estabilidad química (por ej. hidrólisis) del analito y el uso previsto de la sustancia. Se encontrará información útil sobre la estabilidad en el almacenamiento en las evaluaciones de la JMPR ⁵ o la documentación presentada para el registro de los compuestos. Notificar la concentración inicial del residuo, la concentración del residuo restante y la recuperación del analito en el procedimiento. Para evitar un almacenamiento innecesario de las muestras se efectuará una planificación cuidadosa del muestreo y el análisis consiguiente, por medio de arreglos administrativos que no forman parte del método de análisis.

⁵ FAO, Residuos de plaguicidas en los Alimentos – Evaluaciones, publicado anualmente en la serie de documentos de la FAO: Producción y protección vegetal

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
2. Extensión del método validado					
2.1 Estabilidad del analito durante el almacenamiento de las muestras, el procesamiento, y en los extractos y soluciones estándar	Véase 1.1, 1.2 y 1.9				Solamente si aún no se dispone de información sobre la estabilidad en las condiciones de elaboración y sobre la matriz representativa
2.2 Función de calibración, efecto de la matriz	NCMB a 2(3) veces el LA	Calibración en tres puntos que comprenden el LA con y sin patrones analíticos ajustados a la matriz	Para la calibración lineal: coeficiente de regresión para las soluciones analíticas estándar (r) $\geq 0,99$. DE de las residuales relativas ($S_{y/x}$) $\leq 0,1$ Para la función polinómica (r) $\geq 0,98$.	Para la calibración lineal: coeficiente de regresión (r) $\geq 0,98$. DE de las residuales relativas $\leq 0,2$ Para la función polinómica (r) $\geq 0,95$.	La validación del método podría no proporcionar información concluyente sobre los efectos de la matriz, ya que éstos cambian con el tiempo, la muestra (a veces), la columna, etc.
2.3 Exactitud, precisión, LD, LC	En el LA	Si se programa por anticipado: a) Analizar 3 porciones analíticas de matrices de muestras representativas de interés enriquecidas en el LA. Si se encuentran de manera imprevista: Enriquecer 2, o preferiblemente 3 porciones adicionales de la muestra analítica aproximadamente en el nivel del nuevo analito. Calcular la recuperación del analito añadido. Utilizar una matriz de una muestra similar para la prueba de	Los residuos recuperados no deben exceder los límites de repetibilidad del método: 3 porciones: $C_{\text{máx}} - C_{\text{mín}} \leq 3,3 CV_{\text{Atip}} Q$ Dos porciones: $C_{\text{máx}} - C_{\text{mín}} \leq 2,8 * CV_{\text{Atip}} Q$ C_{Atip} es el coeficiente de variación típico de la repetibilidad del método que ha de adaptarse. Q=recuperación promedio del nuevo analito; debe ajustarse a	Los analitos añadidos a las muestras testigo en el nivel de notificación estipulado deben ser mensurables en todos los ensayos.	Utilizar el CV_{Atip} establecido durante la validación del método. El método deberá ensayarse únicamente con productos que representen el uso previsto (uso erróneo posible) del analito.

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
		recuperación si no se dispone de una cantidad suficiente de muestra analítica.	lo estipulado en el Cuadro 32.		
2.4 Especificidad y selectividad de la detección del analito	En el NCMB	<p>Identificar mediante espectrometría de masas o la combinación apropiada de las técnicas de separación y detección disponibles.</p> <p>Si se programa por anticipado:</p> <p>a) analizar una muestra testigo representativa de cada grupo de productos de interés (en los que sea probable la presencia del nuevo analito).</p> <p>Analizar una nueva matriz con compuestos representativos.</p> <p>Detección imprevista:</p> <p>b) Comprobar la respuesta de la muestra testigo (si está disponible) o demostrar que la respuesta obtenida corresponde exclusivamente al analito, utilizando la mejor técnica disponible en el laboratorio.</p> <p>Comprobar δ y el fRR de la detección, así como los tRR de analitos representativos.</p> <p>Comparar el tRR y la respuesta del nuevo analito con otros analitos examinados durante la validación del método y con las respuestas testigo obtenidas durante la extensión del mismo y en su validación previa.</p>	<p>La respuesta que se mide se debe exclusivamente al analito. El sistema de detección utilizado debe tener un detector de rendimiento igual o superior al utilizado en la validación del método.</p> <p>Los residuos medidos en dos columnas diferentes deben estar dentro de la gama crítica de valores de determinaciones cromatográficas repetidas. La retención relativa de los analitos representativos que se miden, obtenidos durante la validación del método, debe estar entre el 2% para la cromatografía en película delgada y 5% para la determinación por CLAR.</p>	<p>La proporción de muestras con falsos negativos (error β) en el límite concertado debe ser <5%.</p>	<p>Si se planea extender el método a un nuevo analito, habrá que comprobar su aplicabilidad para todas las matrices de muestras representativas en las que la sustancia pueda estar presente. Si un analito se detecta de manera imprevista, la prueba de rendimiento podrá efectuarse para la matriz concreta únicamente. Véase también 1.4.</p> <p>Las respuestas de las muestras testigo no deben interferir con los analitos que probablemente han de medirse en la muestra. Notificar los valores máximos que se detecten habitualmente en los extractos de la muestra testigo. El ruido de fondo de un extracto de una matriz nueva debe hallarse dentro de la gama obtenida para matrices de productos/muestras representativas.</p> <p>Si la selectividad de la detección no elimina la respuesta de la matriz, usar una combinación apropiada de columnas cromatográficas que permita separar los analitos de los valores máximos de la matriz. Véanse otras opciones en el Cuadro 6.</p>

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
2.5 Selectividad de la separación	Véase 1.5	Véase 1.5	Véase 1.5	Véase 1.5	Véase 1.5. Únicamente si no se dispone de información
2.6 Eficiencia de la extracción	Véase 1.8	Véase 1.8	Véase 1.8	Véase 1.8	Véase 1.8. Únicamente si no se dispone de información
3. Adaptación del método validado en otro laboratorio					
3.1 Pureza e idoneidad de las sustancias químicas, reactivos y ad(ab) sorbentes		Comprobar la solución testigo y la aplicabilidad de los ad(ab) sorbentes y reactivos. Efectuar la derivación con y sin la muestra.	Ninguna respuesta de interferencia superior a 0,3 NCMB	Ninguna respuesta de interferencia superior a 0,5 AL	Algunos de los problemas más comunes para la transferencia de métodos se relacionan con diferencias en la selección de los reactivos, disolventes y medios cromatográficos, o en la capacidad del equipo. Siempre que sea posible intente confirmar qué materiales y equipos concretos ha utilizado el elaborador del método, si tal información no se proporciona con el método o la publicación recibidos. Cuando el método ya esté funcionando en su laboratorio puede tratar de efectuar sustituciones.
3.2 Estabilidad del analito en extractos y soluciones estándar	Véase 1.10	Véase 1.1	Véase 1.1	Véase 1.1	Podrá omitirse esta comprobación si junto con el método se proporciona información completa sobre la estabilidad del analito, o si el método reemplaza a otro que se empleaba anteriormente para el mismo analito y la información sobre la estabilidad del mismo se había proporcionado para el método anterior.
3.3 Función de calibración Efecto de la matriz	NCMB a 2(3) veces el LA	Comprobar las funciones de respuesta de analitos representativos incluidos en el método y ≥ 3 niveles del analito más el testigo. Para la respuesta no lineal, determinar la curva de respuesta en ≥ 7 niveles y ≥ 3 repeticiones. Comprobar el efecto de la matriz con analitos y matrices representativos.	Para la calibración lineal: coeficiente de regresión de soluciones analíticas estándar $(r) \geq 0,99$. DE de las residuales relativas $(S_{y/x}) \geq 0,1$. Para la función polinómica $(r) \geq 0,98$.	Para la calibración lineal: coeficiente de regresión $(r) \geq 0,98$. DE de las residuales relativas $\geq 0,2$. Para la función polinómica $(r) \geq 0,95$.	Véase 1.2

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios		Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
3.4 Escala analítica Exactitud y precisión, límite de detección, límite de cuantificación	Extracto testigo o LA	Analizar combinaciones de analitos/matrices representativos: ≥ 5 porciones analíticas de cada una de las muestras testigo enriquecidas en 0 y el LA, y tres porciones enriquecidas en 2 LA. Las pruebas de recuperación deben repartirse entre los analistas que usarán el método y los instrumentos que participarán en el análisis.	La recuperación promedio y el CV_A deben estar dentro de los límites indicados en el Cuadro 3.	Todas las recuperaciones serán detectables en el NCMB. Materiales de referencia en el LA: analito detectado.	Véanse las observaciones en 1.3.
3.5 Especificidad y selectividad de la detección del analito	En el LA	Comprobar las características de rendimiento de los detectores utilizados y compararlas con las especificadas en el método. Comprobar la respuesta de un testigo de cada producto representativo, o bien realizar la prueba como se describe en la sección 1.4.	La respuesta que se mide se debe únicamente al analito. El rendimiento del detector (sensibilidad y selectividad) debe ser igual o mejor que el especificado en el método. Véase la sección 1.4	La proporción habitual de muestras con falsos negativos (error β) en el LA debe ser $< 5\%$.	La respuesta relativa de los detectores específicos puede variar considerablemente de un modelo a otro. Una comprobación apropiada de la especificidad de la detección es fundamental para obtener resultados fiables. Comparar la respuesta testigo observada con los valores máximos típicos notificados en extractos testigo. Véanse otras observaciones en la sección 1.4
3.6 “Homogeneidad” del analito	En torno al LA o residuos claramente detectables	Analizar dos productos representativos de naturaleza diferente	$CV_{pm} < 10\%$	$CV_{pm} < 15\%$ Para los métodos de cribado puede ser conveniente tomar una porción en la que puedan esperarse los residuos más altos (por ej. cáscaras de cítricos), y quizás no sea necesario lograr la homogeneidad	Las pruebas se efectúan para confirmar la analogía de las condiciones de aplicación y la aplicabilidad de los parámetros obtenidos mediante la validación del método en el laboratorio. Cuando el ensayo indica CV_{pm} similares, las condiciones de procesamiento de la muestra podrán considerarse análogas y no se requerirán otros ensayos para la validación del método.
3.7 Estabilidad del analito en extractos y soluciones estándar	Véase 1.1	Véase 1.1	Véase 1.1	Véase 1.1	Esta comprobación podrá omitirse si junto con el método se proporciona información completa sobre la estabilidad del analito o bien el método sustituye a otro utilizado previamente para el mismo analito y la información sobre la estabilidad del mismo se ha proporcionado para el método anterior.

Cuadro 3. Criterios para validar en el laboratorio los métodos de análisis de residuos de plaguicidas

Concentración	Repetibilidad		Reproducibilidad		Fidelidad ²
	CV _A % ³	CV _L % ⁴	CV _A % ³	CV _L % ⁴	Escala de porcentajes medios de recuperación
≤1 µg/kg	35	36	53	54	50–120
> 1 µg/kg ≤ 0,01 mg/kg	30	32	45	46	60–120
> 0,01 mg/kg ≤ 0,1 mg/kg	20	22	32	34	70–120
> 0,1 mg/kg ≤ 1 mg/kg	15	18	23	25	70–110
> 1 mg/kg	10	14	16	19	70–110

1. En el caso de los métodos para residuos múltiples, podrá haber ciertos analitos para los que no pueden cumplirse estrictamente estos criterios cuantitativos de rendimiento. La aceptabilidad de los datos producidos en estas condiciones dependerá de la finalidad de los análisis; por ejemplo, al comprobar el cumplimiento de los LMR los criterios indicados deberán respetarse en la medida en que sea técnicamente posible, mientras que todos los datos muy inferiores al LMR podrán ser aceptables con la incertidumbre más elevada.
2. Estas escalas de recuperación son apropiadas para los métodos aplicables a residuos múltiples. Para ciertos fines se requerirán criterios más estrictos, como en el caso de los métodos para analitos individuales o residuos de medicamentos veterinarios (véase Codex Vol. 3, 1996).
3. CV_A: Coeficiente de variación para el análisis, excluido el procesamiento de la muestra. El parámetro puede calcularse a partir de ensayos efectuados con materiales de referencia o porciones analíticas enriquecidas antes de la extracción. En ausencia de materiales de referencia certificados se podrá emplear un material de referencia preparado en el laboratorio.
4. CV_L: Coeficiente global de variación del resultado en un laboratorio, que permite hasta un 10% de variabilidad de los residuos entre las porciones analíticas (CV_{Sp}). Nota: La variabilidad de los residuos entre porciones analíticas puede calcularse a partir de la incertidumbre de la medición de porciones repetidas de muestras (CV_L) que contienen los residuos: $CV_L^2 = CV_{Sp}^2 + CV_A^2$

Cuadro 4. Requisitos para la verificación del rendimiento

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido		Criterios	Observaciones
			Método cuantitativo	Método de cribado	
4. Control de calidad (verificación del rendimiento)					
4.1 Métodos empleados regularmente					
4.1.1 Idoneidad de las sustancias químicas, absorbentes y reactivos		Para cada nuevo lote: comprobación de la solución testigo, aplicabilidad de los ad(ab)- sorbentes y reactivos. Efectuar la derivación sin muestra	Ninguna respuesta de interferencia $\geq 0,3$ NCMB.	Ninguna respuesta de interferencia $\geq 0,5$ LA.	Como alternativa, en caso de que la prueba con solución testigo, la calibración y la recuperación sean satisfactorias se confirmará la idoneidad de los reactivos, etc.
4.1.2 Calibración y escala analítica		Se podrá utilizar la calibración en un solo punto con mezclas estándar si la intersección de la función de calibración es cercana a 0. Aplicar calibración en puntos múltiples (3x2) para la confirmación cuantitativa.	Se puede considerar que el lote analítico se halla bajo control estadístico si se inyectan alternativamente las soluciones estándar y extractos de la muestra y la DE de residuales relativas es $\leq 0,1$.	El analito se detecta en el NCMB.	La solución estándar y las muestras deben inyectarse alternativamente. El escalonamiento con inyecciones del compuesto tipo apropiado puede ser una alternativa a la calibración en puntos múltiples que permite ahorrar tiempo, sobre todo si no se dispone de un muestreador automático. Puesto que la respuesta del sistema cambia frecuentemente, la calibración en puntos múltiples debe efectuarse periódicamente para confirmar que la intersección es cercana a cero. No se requerirá calibración en puntos múltiples para la confirmación cuantitativa si el calibrante tiene una concentración muy similar a la de la muestra.
4.1.3 Exactitud y precisión	Dentro de la escala analítica	Incluir en cada lote analítico ≥ 1 una muestra enriquecida con mezcla estándar, o efectuar un nuevo análisis en una porción idéntica de una muestra positiva.	El rendimiento del detector y la columna cromatográfica deberá ser igual o mejor que el especificado en el método. Es preferible que todas las recuperaciones se mantengan dentro del límite de control del gráfico de control diseñado con arreglo a la sección 4.5.2. Durante una utilización prolongada una de cada 20 o 100 muestras puede exceder los límites de control y de adopción de medidas, respectivamente. Habrá que repetir el lote de análisis si cualquiera de las recuperaciones excede los límites de adopción de medidas, o si los resultados de análisis repetidos de la muestra positiva exceden la gama de valores críticos. $C_{\max} - C_{\min} > 2.8 * CV_{Ltip} Q$ Q es el residuo promedio obtenido de las mediciones		Enriquecer la porción analítica con mezcla o mezclas estándar. Alterar las mezclas estándar en distintos lotes para obtener las recuperaciones de todos los analitos de interés a intervalos regulares. Efectuar alternativamente estudios de recuperación en el LA, en el NCMB y en el doble del LA, según proceda, para confirmar la aplicabilidad del método dentro de la escala analítica. La frecuencia de los estudios de recuperación en el LA debe ser dos o tres veces mayor que en otros niveles. Análisis reiterados de muestras positivas pueden sustituir la prueba de recuperación en un lote particular. Para los MRM preparar mezclas estándar específicas

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido		Criterios	Observaciones
			repetidas, mientras que el $CV_{L,tip}$ da la medida de la reproducibilidad dentro del laboratorio, que incluye la incertidumbre combinada del procesamiento y el análisis de la muestra.		del producto/muestra a partir de los analitos que pueden estar presentes en una muestra particular. La selección de analitos para una mezcla debe garantizar una separación/detección selectiva exenta de problemas. Para la identificación provisional: preparar lotes analíticos que contengan la mezcla apropiada para el ensayo de detección, y las muestras. Para la determinación/confirmación cuantitativa incluir en el lote analítico la mezcla del ensayo de detección, un número apropiado de mezclas de calibración, una o más muestras testigo enriquecidas, o bien una muestra positiva repetida y las nuevas muestras positivas. Inyectar alternativamente las soluciones estándar y las muestras.
4.1.4 Selectividad de la separación, especificidad de la detección, rendimiento de los detectores		Incluir en cada lote de cromatografía una mezcla apropiada para la prueba de detección. Incluir en el lote analítico el producto no tratado (si está disponible). Añadir solución estándar si no se dispone de muestras sin tratar (similares a las analizadas en el lote). Confirmar la identidad y cantidad de cada analito presente en un nivel de $\geq 0,7$ LA.	Los valores de R_s y fC de los compuestos sometidos al ensayo, así como el fRR y el valor δ de la detección, deben estar comprendidos en la escala especificada. La retención relativa no debe exceder el 2 % en la CGL y el 5 % en las determinaciones mediante CLAR. El rendimiento del detector debe hallarse dentro de los límites especificados. No debe haber sustancias coextractivas de la muestra que interfieran con el analito en un nivel $\geq 0,3$ NCMB. La recuperación de la solución añadida no debe	El rendimiento del detector debe hallarse dentro de los límites especificados. El analito debe observarse por encima del NCMB o $CC\alpha$ para los compuestos prohibidos.	Ésta se denomina también, a veces, prueba de "idoneidad del sistema". Preparar la mezcla de la prueba de detección para cada método de detección. Seleccionar los componentes de la mezcla a efectos de indicar los parámetros característicos de la separación cromatográfica y la detección. Ajustar la base de datos de la retención relativa para los compuestos de la mezcla de la prueba de detección y los analitos empleados en la calibración. Definir el valor de fRR específico del sistema de detección. Efectuar la confirmación cuantitativa con solución analítica preparada en extracto de la matriz testigo si el efecto de la matriz es significativo.

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido		Criterios	Observaciones
				exceder los límites aceptables de recuperación del analito.	
4.1.5 Homogeneidad del analito en la muestra procesada	En una concentración del analito claramente detectable.	Seleccionar al azar una muestra positiva. Repetir el análisis en una o dos porciones analíticas más.		Los residuos medidos en dos días diferentes no deben exceder el límite de reproducibilidad de las porciones analíticas repetidas: $C_{\max} - C_{\min} \leq 2.8 * CV_{L\text{tip}} Q$ Q es el residuo promedio obtenido de las mediciones repetidas; $CV_{L\text{tip}}$ es la incertidumbre combinada del procesamiento y análisis de la muestra obtenida durante la validación del método.	Efectuar el ensayo en forma alternada para cubrir todos los productos analizados. Comprobar la homogeneidad al principio del período vegetativo, o al comenzar el análisis del tipo de muestra considerado. Los resultados aceptables de la prueba también confirman que era apropiada la reproducibilidad de los análisis (CV_A).
4.1.6 Eficiencia de la extracción					La eficiencia de la extracción no puede controlarse durante el análisis. Para asegurar una eficiencia apropiada, el procedimiento de extracción validado debe llevarse a cabo sin cambios.
4.1.7 Duración del análisis				Las muestras, extractos etc. no deben almacenarse durante un período más prolongado que el adoptado durante la validación del método para comprobar la estabilidad en el almacenamiento. Se deberán controlar y registrar con regularidad las condiciones de almacenamiento.	En el Cuadro 2 se proporcionan ejemplos de la necesidad de pruebas de estabilidad adicionales.
4.2 Analito detectado ocasionalmente					
APLICAR LAS PRUEBAS DESCRITAS EN 4.1, CON LAS SIGUIENTES EXCEPCIONES:					
4.2.1 Exactitud y precisión	En el LA o en torno a él	Volver a analizar otra porción analítica. Recurrir a la adición de solución estándar en el nivel del analito medido.		Los residuos medidos en dos días diferentes deben estar comprendidos en la siguiente zona crítica: $C_{\max} - C_{\min} \leq 2.8 * CV_{L\text{tip}} Q$ Q es el residuo promedio obtenido de las mediciones repetidas, mientras que $CV_{L\text{tip}}$ se obtiene durante la validación del método. La recuperación tras la adición de solución estándar no debe exceder los límites de adopción de medidas.	Comprobar la exactitud si se detectan residuos $\geq 0,5$ LA.
4.3 Métodos empleados a intervalos irregulares					
Aplicar las pruebas descritas en 4.1, con las siguientes excepciones:					
4.3.1 Exactitud y	En el LA y el	Incluir en cada lote analítico una muestra enriquecida en el NCMB		Dos recuperaciones como mínimo deben estar dentro del límite de control; una puede estar dentro del límite de	Los resultados aceptables prueban también la idoneidad de las sustancias químicas, adsorbentes y

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios	Observaciones
precisión (repetibilidad)	NCMB	y dos muestras en el LA. Recurrir a la adición de solución estándar si no se dispone de una muestra no tratada (similar a las analizadas en el lote). Efectuar el análisis en ≥ 2 porciones analíticas.	adopción de medidas. Los residuos medidos en las porciones repetidas deben estar dentro de la siguiente zona crítica: $C_{\text{máx}} - C_{\text{mín}} \leq 2.8 * CV_{\text{Ltip}} Q$ or $C_{\text{máx}} - C_{\text{mín}} \leq f_{(n)} * CV_{\text{Ltip}} Q$ Q es el residuo promedio obtenido de las mediciones repetidas; el CV_{Ltip} se obtiene durante la validación del método; $f_{(n)}$ es el factor de cálculo de la zona extrema, que depende del número de muestras repetidas.	reactivos empleados. Confirmar los residuos superiores a 0,5 LA. Si no se satisfacen los criterios de rendimiento, el método se pondrá en práctica y sus características de rendimiento (Q , CV_{Atip} , CV_{Ltip}) volverán a establecerse durante su revalidación parcial.
4.4. Cambios en la aplicación del método				
Cambio	Parámetros que deben comprobarse		Métodos de ensayo y criterios de aceptabilidad: véanse las secciones correspondientes del Apéndice 1.	
4.4.1 Columna cromatográfica	Comprobar la selectividad de la separación, resolución, calidad de inerte, valores de tRR.		Las características de rendimiento no deben verse afectadas.	Aplicar mezclas de ensayo apropiadas para obtener información sobre el rendimiento de la columna.
4.4.2 Equipo de procesamiento de las muestras	Homogeneidad de la muestra procesada; estabilidad de los analitos.		Se realizarán las pruebas descritas en 1.6 y 1.7, que deben dar resultados conformes a los criterios pertinentes.	Sólo se requiere la prueba de homogeneidad cuando el grado de desmenuzamiento y/o mezcla es inferior al del equipo original. Será necesario comprobar la estabilidad de los analitos si el tiempo y la temperatura de procesamiento aumentan considerablemente.
4.4.3 Equipo de extracción	Comparar los residuos no añadidos que se detectan con el equipo viejo y con el nuevo en ≥ 5 repeticiones.		La media de los residuos no debe presentar diferencias significativas en el nivel $p=0,05$.	La prueba es necesaria si se utiliza un nuevo tipo de equipo.
4.4.4 Detección	Comprobar la selectividad de la separación y la selectividad y sensibilidad de la detección		Las características de rendimiento deben ser iguales o mejores que las especificadas en la descripción del método	Comprobar también por separado la detectabilidad con los nuevos reactivos empleados en la detección

Parámetro	Niveles	Nº de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios	Observaciones
4.4.5 Analista		≥5 pruebas de recuperación en cada nivel (NCMB, LA y 2 (3) LA); analizar nuevamente una muestra testigo y dos muestras positivas (desconocidas para el analista)	Todos los resultados deben estar dentro de los límites de control especificados para el método en el laboratorio. Los análisis de muestras repetidas deben dar valores comprendidos en la zona crítica	Se trata de un requisito mínimo. Laboratorios que trabajan con residuos en ciertas áreas emplean un protocolo más detallado, que incluye: 1) el trazado de una curva estándar dentro de los criterios de aceptabilidad; 2) la realización de dos análisis, como mínimo, para cada matriz que contenga analitos representativos enriquecidos por el analista a tres niveles como mínimo en el duplicado; 3) la realización de un análisis, como mínimo, con muestras enriquecidas o con residuos no añadidos, tres niveles en el duplicado, desconocidas para el analista. Todos los resultados deben satisfacer los criterios de aceptabilidad, o bien repetirse.
4.4.6 Laboratorio		Exactitud y precisión ≥3 pruebas de recuperación en cada nivel (NCMB, LA y 2 (3) LA) a cargo de (diferentes) analistas en días distintos.	Todos los resultados deben estar dentro de los límites de control especificados para el método en el laboratorio	Se deberá establecer la reproducibilidad del método en las nuevas condiciones; esto debe hacerlo más de un analista, si está disponible.

Cuadro 5. Productos/muestras representativos para la validación de procedimientos analíticos para residuos de plaguicidas

Grupo de productos	Propiedades comunes	Clase de productos ⁶	Especies representativas
Productos vegetales			
I.	Elevado contenido de agua y clorofila	Hortalizas brasicáceas de hoja Hortalizas de hoja Hortalizas leguminosas	espinaca o lechuga brécoles, col, berza común frijoles verdes
II.	Elevado contenido de agua y contenido escaso o ausencia de clorofila	Frutas pomáceas Frutas de hueso Bayas Frutas pequeñas Hortalizas de fruto Raíces	manzana, pera melocotón (durazno), cerezas fresa uva tomate, pimiento morrón, melón hongos comestibles patata, zanahoria, perejil
III.	Elevado contenido de ácido	Frutos cítricos	naranja, limón
IV.	Elevado contenido de azúcar		uvas pasas, dátiles
V.	Elevado contenido de aceite o grasa	Semillas oleaginosas Nueces	aguacate (palta), semilla de girasol nuez de nogal, pacanas, pistachos
VI.	Materiales secos	Cereales	trigo, arroz o maíz en grano
		Productos de cereales	salvado de trigo, harina de maíz
	Productos que requieren una prueba individual		p. ej., ajo, lúpulo, té, especias, arándanos
Productos de origen animal			
		Carnes	Carne de bovino, carne de aves
		Despojos comestibles	Hígado, riñón
		Grasa	Grasa de carne
		Leche	Leche de vaca
		Huevos	Huevos de gallina

Nota: El método debe validarse con plaguicidas representativos de cada grupo de productos. Los productos difíciles de analizar requerirán pruebas individuales.

⁶ Clasificación del Codex de Alimentos y Piensos (CAC/MISC 4-1993).

Cuadro 6. Ejemplos de métodos de detección idóneos para análisis de confirmación de sustancias

Método de detección	Criterio
CL o CG y espectrometría de masas	Si se controla un número suficiente de iones de diagnóstico
CL-DAD o exploración mediante UV	Si el espectro UV es característico
CL - fluorescencia	Combinado con otras técnicas
2-D cromatografía en capa fina - (espectrometría)	Combinado con otras técnicas
CG-DCE, DNF, DF	Sólo si se combina con dos o más técnicas de separación ¹
Derivación	Si no es el método de primera opción
CL- inmunograma	Combinado con otras técnicas
CL-UV/VIS (una sola longitud de onda)	Combinado con otras técnicas

1. Otros sistemas cromatográficos (aplicando fases estacionarias o móviles diferentes) u otras técnicas.

GLOSARIO

Límite aceptado (LA)	Valor de concentración de un analito que corresponde a un límite reglamentario o valor de referencia que constituye la finalidad del análisis, por ej. LMR, LMP, norma comercial, límite de concentración (evaluación de la exposición dietética), nivel de aceptación (medio ambiente), etc. Para una sustancia que no tiene LMR o está prohibida puede no existir un LA (por ser éste igual a 0 o porque no hay límite alguno), o el LA puede ser la concentración por encima de la cual es necesario confirmar los residuos detectados (límite de adopción de medidas o límite administrativo).
Exactitud	Grado de conformidad entre el resultado de una prueba y el valor de referencia aceptado.
Error alfa (α)	Probabilidad de que la concentración efectiva del analito en la muestra de laboratorio sea inferior a un valor particular (por ej. el LA) cuando las mediciones efectuadas en una o más porciones analíticas/de ensayo indican que la concentración supera ese valor (falso positivo). Habitualmente los valores aceptados de esta probabilidad son del orden del 1 al 5%.
Analito	La sustancia química buscada o determinada en una muestra.
Homogeneidad del analito (en la muestra)	Uniformidad o dispersión del analito en la matriz. La variabilidad de los resultados analíticos derivados del procesamiento de la muestra depende del tamaño de la porción analítica. La constante de muestreo ⁷ describe la relación entre el tamaño de la porción analítica y la variación prevista en una muestra analítica adecuadamente mezclada: $K_S = w (CV_{pm})^8$, donde w es la masa de la porción analítica y CV_{pm} es el coeficiente de variación de la concentración del analito en las porciones analíticas repetidas de w (g) que se retiran de la muestra analítica.
Porción analítica	Una cantidad representativa de material extraído de la muestra analítica, de tamaño adecuado para medir la concentración del residuo.
Muestra analítica	El material preparado para el análisis a partir de la muestra de laboratorio separando la parte del producto que ha de analizarse y luego mezclándola, triturándola, picándola finamente, etc., para extraer porciones analíticas con un error de muestreo mínimo.
Aplicabilidad	Los analitos, matrices y concentraciones para los que se ha demostrado que un método de análisis es satisfactorio.
Error (β)	Probabilidad de que la concentración efectiva del analito en la muestra de laboratorio sea superior a un valor particular (por ej. el LA) cuando las mediciones efectuadas en una o más porciones analíticas indican que la concentración no excede ese valor (falso negativo). Por lo general los valores aceptados de esta probabilidad van de 1 a 5%.

⁷ Wallace, D. y Kratochvil, B., Analytical Chemistry, 59, 226-232, 1987

⁸ Ambrus, A., Solymosné, E. y Korsós, I. J. Environ. Sci. Health, B31, (3) 1996

Sesgo	Diferencia entre el valor mediano de la medición para un analito y un valor de referencia aceptado para la muestra. El sesgo es el error sistemático total, en contraposición al error aleatorio. Puede haber uno o más componentes de errores sistemáticos que contribuyen al sesgo. Una diferencia sistemáticamente mayor con respecto al valor de referencia aceptado se traduce en un valor más elevado del sesgo.
Grupo de productos	Grupos de alimentos o piensos con suficientes características químicas comunes que los hacen similares a efectos de su análisis por un método. Las características pueden basarse en sus componentes principales (por ej. agua, grasa, azúcar, ácidos) o en relaciones biológicas, y pueden estar definidas por la reglamentación.
Método de confirmación	<p>Métodos que proporcionan una información completa o complementaria que permite identificar el analito con un grado aceptable de certidumbre [en el límite aceptado o el nivel de interés]. En la medida de lo posible los métodos de confirmación proporcionan información sobre el carácter químico del analito, utilizando preferiblemente técnicas espectrométricas. Si una técnica particular no posee suficiente especificidad, la confirmación podrá efectuarse mediante procedimientos adicionales que consisten en combinaciones idóneas de purificación, separación cromatográfica y detección selectiva. Los bioensayos también pueden proporcionar algunos datos de confirmación.</p> <p>Además de la confirmación de la identidad de un analito, también se deberá confirmar su concentración. Esto podrá lograrse analizando una segunda porción de ensayo y/o volviendo a analizar la porción de ensayo inicial con un método alternativo apropiado (por ej. columna y/o detector diferente). La confirmación cuantitativa y cualitativa también podrá efectuarse con el mismo método, cuando sea apropiado.</p>
Límite de adopción de decisiones (CCα)	<p>Límite en el cual se podrá decidir que la concentración del analito presente en una muestra efectivamente excede el límite con una probabilidad de error de α (falso positivo). En el caso de sustancias con LA igual a cero, el CCα es el nivel de concentración más bajo en el que un método puede discriminar con una probabilidad estadística de $1 - \alpha$ la presencia del analito identificado. El CCα es equivalente al límite de detección (LD) de acuerdo con algunas definiciones (habitualmente para $\alpha = 1\%$).</p> <p>En el caso de sustancias con LA establecido, el CCα es el valor de medición de la concentración por encima del cual se puede decidir, con una probabilidad estadística de $1 - \alpha$, que el contenido del analito identificado efectivamente es superior al LA.</p>

Capacidad de detección (CCβ)	<p>La concentración efectiva del analito más baja que se puede detectar, identificar y cuantificar en una muestra con un error beta (falso negativo). En el caso de sustancias prohibidas el CCβ es la concentración más baja a la que un método está en condiciones de determinar el analito en muestras contaminadas con una probabilidad estadística de $1 - \beta$. En el caso de sustancias con LMR establecido, CCβ es la concentración a la que el método está en condiciones de detectar las muestras que exceden este LMR con una probabilidad estadística de $1 - \beta$.</p> <p>Cuando se aplica al nivel de concentración más bajo que puede detectarse la finalidad de este parámetro es proporcionar una información equivalente al límite de cuantificación (LC), pero el CCβ se asocia siempre con una probabilidad estadística especificada de detección y por ello se prefiere con respecto al LC.</p>
Mezcla de ensayo de detección	Mezcla de soluciones analíticas estándar apropiada para comprobar las condiciones de separación y detección cromatográfica. La mezcla de ensayo de detección debe contener analitos que proporcionen información sobre la selectividad y los factores de respuesta de los detectores, la calidad de inerte (por ej. caracterizada por el factor de cola fC) y la capacidad de separación (resolución, Rs) de la columna, así como sobre la reproducibilidad del tRR. La mezcla de ensayo de detección podrá ser específica para cada columna y detector.
Falso resultado negativo	Véase error beta
Falso resultado positivo	Véase error alfa.
Método específico para un grupo de compuestos	Método destinado a detectar sustancias que tienen una fracción común o una estructura química similar, por ejemplo ácidos acéticos fenoxi, ditiocarbamatos, metilcarbamatos
Residuo no añadido	Residuos de un analito que han entrado en una matriz por la vía prevista habitualmente para las trazas de la sustancia, en contraposición al enriquecimiento de muestras en el laboratorio. También: residuo meteorizado.
Método individual	Método idóneo para determinar uno o más compuestos especificados. Se podrá necesitar un método individual separado, por ejemplo, para determinar algunos metabolitos incluidos en la definición del residuo de un plaguicida o medicamento veterinario particular.
Muestra de laboratorio	La muestra tal como se recibe en el laboratorio (sin incluir el envasado).
Límite de detección (LD)	Concentración más pequeña en la que puede identificarse el analito. Se define habitualmente como la concentración mínima del analito en la muestra objeto del ensayo que puede medirse con una probabilidad establecida de que el analito esté presente en una concentración superior a la de la muestra testigo. La UIPQA y la ISO han recomendado la abreviación LD. Véase también Límite de adopción de decisiones.
Límite de cuantificación (LC)	Concentración más pequeña del analito que es posible cuantificar. Se define habitualmente como la concentración mínima del analito en la muestra objeto del ensayo que puede determinarse con precisión (repetibilidad) y exactitud aceptables en las condiciones establecidas del ensayo. Véase también Capacidad de detección.

Nivel calibrado más bajo (NCMB)	Concentración más baja del analito detectada y medida en la calibración del sistema de detección. Puede expresarse como concentración de la solución en la muestra objeto del ensayo o como masa, y no debe incluir la contribución del testigo.
Matriz	Material o componente muestreado para estudios analíticos, excluido el analito.
Matriz testigo	Material de la muestra que no contiene niveles detectables de los analitos de interés.
Calibración ajustada a la matriz	Calibración que utiliza soluciones estándar preparadas en un extracto del producto analizado (o de un producto representativo). El objetivo es compensar los efectos de las sustancias coextractivas en el sistema de determinación. Éstos son a menudo imposibles de predecir, pero el ajuste a la matriz puede ser innecesario si se demuestra que los efectos de las sustancias coextractivas son insignificantes.
Método	La serie de procedimientos aplicados desde la recepción de una muestra para su análisis hasta la producción del resultado final.
Validación del método	Proceso mediante el cual se verifica que el método es idóneo para la finalidad prevista.
Método para residuos múltiples, MRM	Método idóneo para identificar y cuantificar una gama de analitos, por lo general en diversas matrices diferentes.
Resultado negativo	Un resultado que indica que el analito no está presente en el nivel calibrado más bajo o en un nivel superior (véase también Límite de detección)
Verificación del rendimiento	Series de datos de control de calidad generados durante el análisis de lotes de muestras para respaldar la validez de los análisis en curso. Los datos pueden emplearse para afinar los parámetros de rendimiento del método.
Resultado positivo	Un resultado que indica la presencia del analito con una concentración igual o superior al nivel calibrado más bajo.
Precisión	Grado de conformidad entre resultados de ensayos independientes obtenidos en ciertas condiciones estipuladas.
Método cuantitativo	Un método capaz de producir resultados, expresados como valores numéricos en unidades apropiadas, con exactitud y precisión idóneas para la finalidad prevista. El grado de precisión y exactitud debe ajustarse a los criterios especificados en el Cuadro 3.
Recuperación	Fracción o porcentaje de un analito que se recupera tras la extracción y el análisis de una muestra testigo a la que se ha añadido el analito en una concentración conocida (muestra enriquecida o material de referencia).
Ensayo con solución testigo	Análisis completo efectuado sin incluir materiales de la muestra para fines de control de calidad.
Material de referencia	Material o materiales en que las concentraciones del analito son suficientemente homogéneas y claras como para emplearse en la evaluación de un método de medición, o para asignar valores a otros materiales. En el contexto de este documento el término “material de referencia” no se refiere a los materiales empleados para calibrar los aparatos.

Método de referencia	Método analítico cuantitativo de fiabilidad probada que se caracteriza por tener exactitud, especificidad, precisión y capacidad de detección conocidas. Por lo general estos métodos han sido objeto de estudios en colaboración, y suelen basarse en la espectrometría molecular. La condición de método de referencia vale únicamente si el método se aplica dentro del régimen apropiado de garantía de la calidad.
Procedimiento de referencia	Procedimiento de eficacia establecida. Si no está disponible, podrá adoptarse como procedimiento de referencia un procedimiento que en teoría se considere sumamente eficaz y que sea fundamentalmente distinto del que es objeto del ensayo.
Repetibilidad	Precisión en condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones en las que se obtienen resultados de ensayos independientes mediante la aplicación del mismo método en porciones analíticas repetidas, en el mismo laboratorio, a cargo del mismo analista y utilizando el mismo tipo a intervalos de tiempo breves. (ISO 3534-1)
Analito representativo	Analito elegido para representar un grupo de analitos que probablemente tendrán un comportamiento similar al aplicar un método de análisis para residuos múltiples, como se deduce por sus propiedades físico-químicas como estructura, hidrosolubilidad, K_{ow} , polaridad, volatilidad, estabilidad hidrolítica, pKa, etc.
Analito representado	Analito con propiedades físico-químicas que forman parte de la gama de propiedades de los analitos representativos.
Reproducibilidad	Grado de conformidad entre los resultados obtenidos con el mismo método en porciones analíticas idénticas, por distintos analistas que utilizan diferentes equipos (reproducibilidad dentro del laboratorio). Análogamente, cuando los ensayos se efectúan en laboratorios diferentes se obtiene la reproducibilidad entre laboratorios.
Producto representativo	Alimento o pienso utilizado para representar un grupo de productos a los efectos de la validación del método. Un producto podrá considerarse representativo sobre la base de la composición inmediata de la muestra, por ejemplo contenido de agua, grasa/aceite, ácido, azúcar y clorofila o por analogías biológicas de los tejidos, etc.
Rugosidad	Capacidad de un proceso de medición química de resistir a los cambios en los resultados del ensayo cuando se producen cambios menores en las variables ambientales y de procedimiento del método, los laboratorios, el personal, etc.
Preparación de la muestra	Procedimiento empleado, cuando es necesario, para convertir la muestra de laboratorio en muestra analítica, eliminando aquellas partes (tierra, piedras, huesos, etc.) que no deben incluirse en el análisis.
Procesamiento de la muestra	Procedimiento (s) (por ej. cortar, triturar, mezclar) empleado para dar a la muestra analítica una homogeneidad aceptable con respecto a la distribución del analito antes de extraer la porción analítica. El componente de procesamiento en la preparación de la muestra debe diseñarse de tal modo que se evite inducir cambios en la concentración del analito.

Método de cribado	Método empleado para detectar la presencia de un analito o una clase de analitos en un nivel igual o superior a la concentración mínima de interés. Debe estar diseñado para evitar resultados negativos falsos en un nivel de probabilidad especificado (generalmente $\beta = 5\%$). Es posible que sea necesario confirmar los resultados cualitativos positivos mediante métodos de referencia o de confirmación. Véase Límite de adopción de decisiones y Capacidad de detección.
Selectividad	Grado de probabilidad de que el analito se distinga de otros componentes de la muestra, ya sea por separación (por ej., cromatografía) o por la respuesta relativa del sistema de detección.
Especificidad	Medida en que un método proporciona respuestas del sistema de detección que se pueden considerar características exclusivas del analito.
Adición de solución estándar	Un procedimiento mediante el cual se añaden cantidades conocidas del analito a fracciones de un extracto de la muestra que contiene el analito (para una concentración X medida inicialmente), a fin de producir nuevas concentraciones nominales (por ej. $1,5X$ y $2X$). Se miden las respuestas del analito producidas por las fracciones enriquecidas y el extracto original, y se determina la concentración del analito en el extracto original (adición nula de analitos) a partir de la pendiente y la intersección de la curva de la respuesta. Si la curva de la respuesta obtenida no es lineal se requerirá cautela para interpretar el valor de X .
Factor de cola	Medida de la asimetría del pico de la cromatografía; en el 10% de la altura máxima del pico, proporción entre su ancho en los segmentos frontal y de cola separados por una línea vertical que se traza a través del pico máximo.
Porción de ensayo	Véase "Porción analítica"
Muestra de ensayo	Véase "Muestra analítica"
Fidelidad	Grado de conformidad entre el valor promedio obtenido de una larga serie de resultados de ensayos y un valor de referencia aceptado.
Incertidumbre de la medición	Parámetro individual (habitualmente una desviación estándar o un intervalo de confianza) que expresa la posible gama de valores, en torno al resultado de la medición, dentro de la cual se prevé que se encuentre el valor efectivo con un grado establecido de probabilidad. Debe tomar en cuenta todos los efectos reconocidos que influyen en el resultado, a saber: precisión global a largo plazo (reproducibilidad dentro del laboratorio) del método completo; sesgo del método; submuestreo e incertidumbres de la calibración; y cualquier otra fuente conocida de variación en los resultados.

SIGLAS

C_{máx}	Residuo mayor detectado en porciones analíticas repetidas	MRM	Método para residuos múltiples
C_{mín}	Residuo menor detectado en porciones analíticas repetidas	fRR	Factor de respuesta relativa
CV_{Atíp}	Coficiente típico de variación de los residuos determinados en una porción analítica	tRR	Valor del tiempo de retención relativa de un pico
CV_{Ltíp}	Coficiente típico de variación en análisis de porciones de una muestra de laboratorio	Rs	Resolución de dos picos cromatográficos
CV_{sp}	Coficiente de variación de residuos en porciones analíticas	DE	Desviación estándar
BPL	Buenas prácticas de laboratorio	S_{y/x}	Desviación estándar de las residuales calculada a partir de la función de calibración lineal
MEG	Método específico para un grupo	OMS	Organización Mundial de la Salud
LMR	Límite máximo de residuos		