

# Registro Fitosanitario de Plaguicidas

Fundamentos técnicos



Carlos Hidalgo  
2012



# Registro Fitosanitario de Plaguicidas

---

Fundamentos  
técnicos

---



© 2012, CropLife Latin America

Todos los derechos reservados. Este material no se puede reproducir por ningún medio sin previa autorización por escrito de CropLife Latin America.

Carretera a Santa Ana. Frente a Price Smart de Escazú  
Condominio Trilogía  
Edificio 1, Oficina 112  
Teléfono: (506) 2288 6772  
[www.croplifela.org](http://www.croplifela.org)

**Diseño y diagramación:** [www.lightformconcept.net](http://www.lightformconcept.net)

**Impresión:** Panamericana Formas e Impresos S.A.

La presente obra pretende servir como referencia de conceptos técnicos relacionados con el desarrollo y registro de productos fitosanitarios. No intenta presentar de forma exhaustiva los elementos existentes o futuros, al momento de su elaboración. El texto ha sido redactado con la esperanza de asistir al entendimiento del lector de los elementos más comunes en el espacio y tiempo de su preparación. Tanto el autor como el patrocinador de la publicación no pretenden hacer recomendaciones a autoridades regulatorias sobre requisitos específicos para normar la evaluación y procedimiento del registro fitosanitario. Ambos son conscientes de la libertad de los países para establecer los requisitos regulatorios para la evaluación y aprobación de comercialización de dichos productos.



# Agradecimiento

---

Quiero dejar patente mi profundo agradecimiento a aquellos colegas y amigos que dedicaron valioso tiempo para revisar el presente trabajo, cuyos importantes aportes he tratado de dejar debidamente plasmados. Ellos son Boris Coto, Ricardo Acosta, Carmen Tiu, Javier Fernández, Bernhard Johnen y Michael Kaethner. Así mismo a Carlos Buzio, presidente ejecutivo de *CropLife Latin America* y a su representada, por auspiciar la publicación y distribución de la presente obra.

*El autor*

El autor es Ingeniero Agrónomo de la Universidad de Costa Rica. Desde el año 1984 ha estado vinculado a la Industria de Productos Fitosanitarios, laborando para compañías como Bayer, Abonos Superior y Dow AgroSciences, donde ha liderado la función de Investigación & Desarrollo y la de Asuntos Regulatorios & Gobierno. Fue Director Ejecutivo y Presidente de la Junta Directiva de la Cámara Nacional de Insumos Agropecuarios. Actualmente es el líder para Latinoamérica de Asuntos de Ambiente, Salud y Seguridad de Dow AgroSciences. Preside el Comité Regulatorio de *CropLife Latin America* y es miembro, representando a Latinoamérica, en el *Regulatory Steering Committee* de *CropLife International*.

---



# Presentación

---

## Una regulación adecuada garantiza la investigación, el desarrollo y el uso responsable

Los productos fitosanitarios o plaguicidas protegen los cultivos de plagas, malezas y enfermedades; se estima que del 30 al 45 % de las cosechas a nivel mundial se salvan por la acción de estos productos. De ahí su rol preponderante en la producción agrícola.

Para asegurar los beneficios de estos productos, se requiere una regulación adecuada que garantice su investigación, desarrollo, comercialización y uso responsable. Por lo general, la sociedad desconoce el alto grado de ciencia, inversión, conocimiento y regulación que hay detrás de esta tecnología a nivel mundial.

La Industria de Investigación y Desarrollo de los productos fitosanitarios cumple con rigurosas pruebas científicas y estándares internacionales antes de poner un producto en el campo. Las autoridades por su parte, evalúan la eficacia para controlar la plaga, maleza o enfermedad para la cual fueron diseñados; y la seguridad del producto para la salud y el ambiente.

El registro de un plaguicida puede considerarse su banderillazo de salida al mercado. Su evaluación y aprobación garantiza la calidad; el registro es un tamizaje fundamental para la protección de la salud y el ambiente.

¿Cuándo se puede terminar de aprender sobre regulación de plaguicidas? La respuesta más prudente es nunca. Consecuentemente, el mejor momento para empaparse de la materia es de inmediato.

Con esta necesidad en mente, CropLife Latin America considera importante dar a conocer elementos básicos sobre registro de plaguicidas. El estudiante de áreas afines, quien desee refrescar conocimiento, el lego en la materia, y también los reguladores, pueden beneficiarse de la consulta de esta obra. Por ende, CropLife Latin America se enorgullece en apoyar la presente publicación a cargo del Ing. Carlos Hidalgo que desinteresadamente aporta para el beneficio de todos.

Carlos Buzio  
Presidente CropLife Latin America



# Contenido

---

<b>Introducción</b> .....	13
<b>Capítulo I.</b>	
Investigación y desarrollo de los plaguicidas.....	17
<b>Capítulo II.</b>	
Dinámica de los plaguicidas en el ambiente .....	21
<b>Capítulo III.</b>	
Concepto del registro fitosanitario .....	27
<b>Capítulo IV.</b>	
Características y Comportamiento de los plaguicidas.....	31
A. Características de los plaguicidas .....	31
A.1. Formas de Plaguicidas.....	31
A.1.a. Ingrediente Activo Purificado (IAP).....	31
A.1.b. Ingrediente Activo Grado Técnico (IAGT) .....	32
A.1.c. Producto Final o Formulado (PF) .....	32
A.2. Identidad del plaguicida y su composición .....	32
A.2.a. Ingrediente activo (IA) .....	32
A.2.a.i. Nombre común propuesto o aceptado por ISO y sinónimos.....	32
A.2.a.ii. Nombre químico según nomenclatura internacional .....	33
A.2.a.iii. Número CIPAC y nombre CAS.....	33
A.2.a.iv. Concentración nominal del ingrediente activo.....	33
A.2.a.v. Fórmula estructural .....	33
A.2.a.vi. Fórmula empírica o molecular .....	34
A.2.a.vii. Peso molecular .....	34
A.2.a.viii. Codificación del fabricante .....	35

A.2.b. Impurezas asociadas al ingrediente activo .....	35
A.2.c. Ingredientes inertes .....	36
<b>A.3. Propiedades físico-químicas .....</b>	<b>37</b>
A.3.a. Apariencia (estado físico, color, olor) .....	39
A.3.b. Acidez, alcalinidad, pH .....	39
A.3.c. Punto de fusión / ebullición / descomposición .....	39
A.3.d. Punto de Destello ("Flash Point") .....	39
A.3.e. Inflamabilidad .....	40
A.3.f. Propiedades pirofóricas de sólidos y líquidos .....	40
A.3.g. Temperatura de auto - ignición (líquidos y gases) .....	40
A.3.h. Propiedades explosivas .....	40
A.3.i. Propiedades de oxidación / reducción o incompatibilidad química .....	41
A.3.j. Presión de vapor, volatilidad .....	41
A.3.k. Solubilidad en agua .....	42
A.3.l. Solubilidad en solventes orgánicos .....	42
A.3.m. Coeficiente de partición octanol-agua .....	43
A.3.n. Constante de disociación, pKa .....	43
A.3.o. Densidad, gravedad específica .....	44
A.3.p. Corrosividad .....	44
A.3.q. Índice de hidrólisis .....	45
A.3.r. Fotólisis .....	45
A.3.s. Espectros de absorción: ultravioleta (UV), visible (VIS), infra rojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) .....	45
<b>A.4. Formulaciones de plaguicidas y sus propiedades .....</b>	<b>50</b>
A.4.a. Propósito de las formulaciones .....	50
A.4.b. Propiedades físicas de las formulaciones .....	51
<b>B. Comportamiento de los plaguicidas .....</b>	<b>60</b>
<b>B.1. Riesgo a humanos y animales (toxicología) .....</b>	<b>60</b>
B.1.a. Estudios fenomenológicos .....	60
<i>B.1.a.i. Estudios de Toxicidad Aguda .....</i>	<i>61</i>
<i>B.1.a.ii. Estudios de Toxicidad Subcrónica .....</i>	<i>65</i>
<i>B.1.a.iii. Estudios de Toxicidad Crónica y de Carcinogenicidad .....</i>	<i>66</i>
<i>B.1.a.iv. Genotoxicidad .....</i>	<i>66</i>
<i>B.1.a.v. Toxicidad reproductiva y del desarrollo (teratogénesis) .....</i>	<i>67</i>
<i>B.1.a.vi. Neurotoxicidad .....</i>	<i>68</i>
<i>B.1.a.vii. Interpretación y aplicación de la información toxicológica .....</i>	<i>69</i>

B.1.b. Estudios mecanísticos.....	69
<i>B.1.b.i. Absorción.....</i>	70
<i>B.1.b.ii. Distribución .....</i>	70
<i>B.1.b.iii. Metabolismo.....</i>	70
<i>B.1.b.iv. Excreción.....</i>	71
B.2. Riesgo para organismos No Objetivo (ecotoxicología) .....	71
B.2.a. Aves .....	71
B.2.b. Peces .....	72
B.2.c. Invertebrados acuáticos .....	74
B.2.d. Plantas acuáticas.....	74
B.2.e. Plantas terrestres .....	75
B.2.f. Abejas .....	75
B.2.g. Artrópodos .....	76
B.2.h. Lombrices de tierra .....	76
B.2.i. Microorganismos .....	77
B.3. Destino ambiental .....	78
B.3.a. Degradación .....	79
<i>B.3.a.i. Suelo .....</i>	79
<i>B.3.a.ii. Agua.....</i>	80
<i>B.3.a.iii. Aire.....</i>	82
B.3.b. Movilidad .....	82
<i>B.3.b.i. Volatilidad.....</i>	82
<i>B.3.b.ii. Adsorción/desorción .....</i>	83
<i>B.3.b.iii. Lixiviación .....</i>	84
B.3.c. Disipación .....	86
B.3.d. Acumulación.....	86
<b>Capítulo V.</b>	
Análisis de riesgo .....	89
<b>Capítulo VI.</b>	
Establecimiento de Límites Máximos de Residuos (LMR) y Evaluación de Riesgo al Consumidor .....	95
<b>Bibliografía</b> .....	103
<b>ANEXOS</b>	
<b>Anexo I:</b>	
Sistema internacional de codificación para los tipos de productos y preparados.....	107
<b>Anexo II:</b>	
Directrices internacionales para evaluación de plaguicidas con fines de registro .....	115

**Anexo III:**

Características generales de los estudios toxicológicos ..... 123

**Anexo IV:**

Características generales de los estudios ecotoxicológicos ..... 133



# Introducción

La investigación moderna sobre nuevas moléculas con acción contra las plagas<sup>1</sup> que afectan los cultivos agrícolas, se ha enfocado cada vez más en lo que podríamos llamar el producto ideal, que es aquel que posea un excelente efecto contra dichas plagas, con bajo o nulo impacto sobre la salud de las especies no objeto de control y el ambiente en general. Selectivo a los organismos benéficos y rentable para el productor. El progreso alcanzado por otro lado con el desarrollo de modernos equipos de aplicación, tendiente a una distribución más efectiva de los plaguicidas<sup>2</sup> en los cultivos, ha contribuido a avanzar en esta dirección. No obstante, factores propios de la naturaleza físico-química de los plaguicidas, condiciones ambientales no controlables, así como prácticas agrícolas no óptimas, hacen que los productos diseñados para ser dirigidos a los sitios de interacción plaga-cultivo, puedan llegar a impactar compartimientos ambientales y por ende organismos que no son el blanco de las aplicaciones. Es por esta razón que en el proceso de investigación y desarrollo de los productos, es preciso generar información no solo en cuanto a su eficacia contra las plagas, sino también sobre el posible impacto que pudieran tener sobre los organismos a los que no está dirigida la aplicación, con el fin de evaluar su riesgo sobre los mismos, e identificar las medidas adecuadas para mitigarlo o eliminarlo.

Las evaluaciones antes mencionadas requieren la aplicación de diversas disciplinas técnico-científicas, en las áreas de la agronomía, biología, química, física, toxicología, etc., por lo que la presente publicación no pretende ser un tratado especializado en las ciencias regulatorias, sino más bien una especie de compendio que permita entender mejor los conceptos básicos involucrados. Empezaremos explicando el proceso de desarrollo de los plaguicidas, desde que se descubren nuevas moléculas promisorias en los laboratorios, hasta que son lanzadas al mercado, después de recibir la aprobación por parte de las agencias regulatorias. Haremos una descripción esquematizada de la dinámica potencial de los productos en el ambiente, que es en definitiva lo que justifica la extensa investigación realizada. Todo lo anterior servirá de base para explicar posteriormente el concepto de registro de los plaguicidas, a

---

1 En la presente obra nos estaremos refiriendo a las plagas en su concepto amplio, que incluye hongos, bacterias, virus, malezas, insectos, etc.

2 Plaguicidas: conocidos también como productos fitosanitarios o agroquímicos

lo cual se le dedica un breve capítulo. Para un mejor entendimiento de los últimos capítulos que se refieren al establecimiento de tolerancias y el análisis de riesgo para las distintas especies vegetales y animales no objeto de las aplicaciones de los plaguicidas, se explicará en los capítulos anteriores lo relacionado con la evaluación de las características físico-químicas de los plaguicidas, así como su comportamiento en los distintos compartimientos ambientales.

Esta obra está dirigida principalmente a los profesionales de los Gobiernos y la Industria Agroquímica, que están relacionados con los aspectos regulatorios en el campo de los plaguicidas. Un conocimiento básico en las áreas de la química, la biología y la fitoprotección es necesario, para un mejor aprovechamiento de los tópicos aquí tratados.



# Capítulo I

Investigación y desarrollo  
de los plaguicidas



# Capítulo I

---

## Investigación y desarrollo de los plaguicidas

---

El proceso de investigación y desarrollo de un nuevo compuesto químico con propiedades para proteger los cultivos agrícolas contra las plagas que los atacan, abarca desde que la sustancia es descubierta en el laboratorio hasta que es registrada ante las autoridades regulatorias correspondientes, como requisito previo para su posterior comercialización. Durante este proceso los plaguicidas son sometidos a una serie de evaluaciones, que incluyen su caracterización físico-química, biológica, evaluación de riesgo a la salud, evaluación de riesgo al ambiente en general, entre otras. La información así obtenida es la base para la preparación de los expedientes técnicos sometidos para el registro.

Los plaguicidas están entre los productos más rigurosamente regulados a nivel mundial, siendo el costo de investigación, desarrollo y registro de un nuevo producto alrededor de US\$ 256 millones, con un lapso de tiempo entre la primer síntesis y la comercialización, de 9,8 años en promedio (Phillips McDougall, 2010).

A continuación se hace una breve descripción de las mencionadas etapas de investigación, desarrollo y registro por las que deben pasar los agroquímicos, antes de ingresar al mercado:

- ◆ **Investigación:** descubrimiento de nuevas moléculas, ya sean estas de origen natural o producto de la síntesis química, y su subsiguiente evaluación biológica a nivel de laboratorio e invernadero para identificar y verificar su potencial contra plagas de cultivos. Esta etapa incluye evaluaciones preliminares de tipo toxicológica y ambiental, que ayudan en la decisión de si se continúa o no con el posterior desarrollo de los productos. En términos generales, la meta del proceso de investigación es generar productos cuyos perfiles biológico, químico, toxicológico, ambiental y comercial sean adecuados para continuar con su posterior desarrollo.
- ◆ **Desarrollo:** es la etapa de proyección de las moléculas que mostraron potencial en la etapa anterior de investigación, a fin de llevarlas a su comercialización. Se llevan a cabo los estudios regulatorios necesarios para soportar el registro, así como los de eficacia biológica y residuos en campo contra múltiples plagas y en los diferentes cultivos de interés; así mismo se inician los

procesos de manufactura y el desarrollo de las formulaciones. Se establece durante esta etapa la planta piloto para producir las cantidades adecuadas de material para las evaluaciones subsiguientes sobre eficacia biológica y seguridad. A diferencia de la etapa anterior de investigación donde la caracterización biológica se hace a nivel de laboratorio o invernadero, en la etapa de desarrollo dicha evaluación se hace a nivel de campo. Estos estudios son además básicos para la determinación del destino ambiental de los plaguicidas, y de los residuos y metabolitos en el suelo y las plantas.

- ◆ **Registro:** con la información generada en las dos etapas anteriores, se prepara la etapa de registro, en la cual se elaboran los expedientes técnicos para ser sometidos a las autoridades regulatorias, las que realizan una evaluación de riesgo para comprobar que el uso propuesto no representa un riesgo inaceptable a la salud de las personas, los animales y el ambiente en general, con lo cual se logra la autorización para la comercialización de los productos.

En la siguiente tabla se hace un desglose del costo antes citado en los países de origen, y de las diferentes actividades que se llevan a cabo en las tres etapas.

**Tabla 1:** etapas y costos asociados para llevar un nuevo producto fitosanitario al mercado

Etapa	Actividad	Costo (millones de US\$)
1. Investigación	Química	42
	Biología	32
	Toxicología / Química ambiental	11
Total Investigación		85
2. Desarrollo	Química	36
	Ensayos de campo	54
	Toxicología	32
	Química ambiental	24
Total Desarrollo		146
3. Registro		25
<b>Total 3 etapas</b>		<b>256</b>

Fuente: Phillips McDougall, 2010

Según datos correspondientes al año 2005-08 (Phillips McDougall, 2010), de 140.000 nuevos productos sintetizados en el laboratorio, únicamente 1.3 pasan a la etapa de desarrollo y 1 alcanza el registro. Este riguroso tamiz es el resultado de los altísimos niveles de exigencia actuales en los aspectos de seguridad y eficacia, que dejan rezagados en el camino a aquellos productos que en los estudios de evaluación química, toxicológica, ecotoxicológica, comportamiento en el ambiente y eficacia contra las plagas de interés económico, no cumplen con el perfil deseado.

A person wearing a wide-brimmed straw hat, a light-colored long-sleeved shirt, and brown pants is crouching in a field. They are wearing white gloves and examining a green plant with large leaves. The background shows a field of similar plants under a bright sky.

# Capítulo II

Dinámica de los plaguicidas  
en el ambiente



# Capítulo II

---

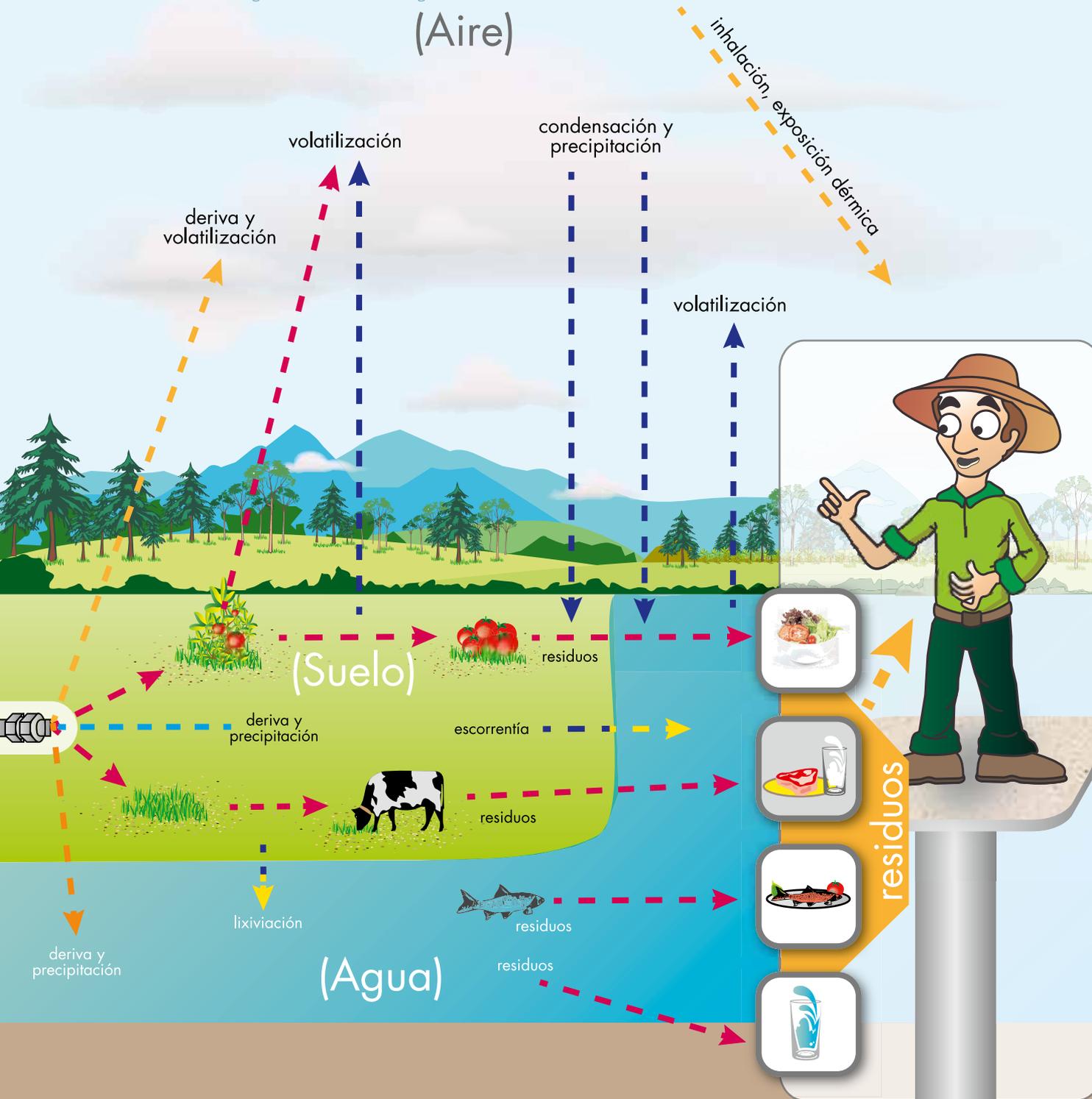
## Dinámica de los plaguicidas en el ambiente

---

Los plaguicidas agrícolas son desarrollados para controlar las plagas que perjudican los cultivos, para lo cual se requiere que entren en contacto con dichas plagas.

Dependiendo del tipo de interacción que se de entre el cultivo afectado y la plaga, así han de ser aplicados los plaguicidas sobre las estructuras vegetativas correspondientes (follaje, frutos, raíces, tubérculos, semillas, etc.), que son aquellas en las cuales se encuentra o se encontrará alojada la plaga. Se podrían aplicar también sobre la plaga misma sin impactar directamente a los cultivos (Ej. herbicidas no selectivos al cultivo a proteger). Lo ideal sería que el ingrediente activo entrara en contacto únicamente con el sitio específico de la interacción hospedante (cultivo) - plaga. Sin embargo, debido a las características propias de los plaguicidas, las condiciones climáticas y las técnicas de aplicación empleadas, resulta imposible evitar del todo la exposición del producto con una serie de compartimientos ambientales como son el suelo, el agua y el aire, en los que habitan especies vegetales y animales, tales como aves, peces, insectos benéficos, microorganismos y el hombre mismo. Por esta razón se requiere conocer la peligrosidad de los plaguicidas hacia todas aquellas especies que pudieran entrar en contacto con ellos, así como la magnitud de la exposición al seguirse los patrones de uso propuestos, a fin de evaluar si existe o no un riesgo inaceptable, y poder determinar las posibles medidas de mitigación.

En la figura 1 se ilustra la distribución y movimiento que podría seguir un plaguicida en los diferentes compartimientos ambientales desde que es aplicado, entrando en contacto en el camino con diferentes especies y en última instancia con el hombre.



**Figura 1:** dinámica de los plaguicidas en el ambiente.

La dinámica empieza con la aplicación del plaguicida, del cual, si existe una práctica de aplicación correcta, la mayor parte estaría impregnando el cultivo o la plaga meta, siendo que el resto de la aplicación podría impactar los compartimentos ambientales suelo, agua y aire, debido a los fenómenos que se mencionan a continuación:

- ◆ El suelo:
  - Deriva: las gotas más pequeñas y por tanto más livianas de la neblina de aplicación del plaguicida son desplazadas por el viento y llegan a precipitar al suelo, si antes no se volatilizan.
  - Incorporación de los rastrojos de los cultivos tratados que pudieran contener residuos del plaguicida.
  - Goteo: por exceso de aplicación que produce escurrimiento del follaje.
- ◆ El agua:
  - Deriva de la aplicación que después precipitaría a las fuentes de agua superficial (ríos, lagos, canales, mar, entre otras.)
  - Escorrentía: desplazamiento horizontal sobre el suelo de los residuos de plaguicidas presentes en el mismo, hacia las fuentes de agua superficiales.
- ◆ El aire:
  - Deriva de la aplicación.
  - Volatilización de los residuos presentes en la neblina de aplicación, en los cultivos tratados, en la superficie del suelo o en el agua superficial.

Una vez que entran en contacto con los compartimientos ambientales ya mencionados, los plaguicidas podrían moverse de uno a otro, a través de los siguientes mecanismos:

- ◆ Suelo – agua:
  - Lixiviación: movimiento vertical descendente, a través de los espacios aéreos del suelo.
  - Escorrentía.
- ◆ Suelo – aire:
  - Volatilización: este flujo se podría dar con aquellos productos que tienen una alta presión de vapor.
- ◆ Aire – suelo:
  - Condensación del plaguicida presente en forma gaseosa y posterior precipitación al suelo.
- ◆ Aire – agua:
  - Condensación y posterior precipitación.
- ◆ Agua – aire:
  - Volatilización. Este flujo se podría dar con aquellos productos que tienen una alta presión de vapor.

En los compartimientos ambientales habitan una serie de organismos que podrían entrar en contacto con los plaguicidas presentes en los mismos, entre los que podemos enumerar las siguientes:

- ◆ Organismos terrestres: microorganismos del suelo, lombrices, artrópodos, los cultivos tratados, los ganados, otros mamíferos, aves.
- ◆ Organismos acuáticos: algas, artrópodos, peces, anfibios.



En relación con el hombre, las principales rutas de exposición a los plaguicidas son las siguientes:

- ◆ Aplicadores: la exposición principal se relaciona con el manejo de los plaguicidas en las labores de mezclado y llenado de los equipos de aplicación, seguido probablemente de la aplicación como tal. El equipo de protección personal debe ser el adecuado y puede variar considerablemente para los diferentes productos. Las instrucciones en la etiqueta deben ser atendidas cuidadosamente.
- ◆ Trabajadores agrícolas: la exposición se podría dar por el contacto con las plantas tratadas. Los períodos de re-entrada deben ser establecidos responsablemente, considerando minimizar la exposición por inhalación y por residuos traslocables.
- ◆ Transeúntes: la exposición a la gente pasando o viviendo cerca de las áreas tratadas se debe minimizar, utilizando métodos adecuados de aplicación. Es inaceptable la aplicación aérea sobre áreas residenciales.
- ◆ Exposición por el alimento (exposición dietaria): si las instrucciones en la etiqueta son atendidas en lo que respecta a dosis, número de aplicaciones, intervalos última aplicación – cosecha, entre otros, es improbable que la exposición por la dieta exceda los niveles máximos de residuos establecidos y así pueda considerarse segura para los consumidores. Así mismo, los períodos de re-ingreso del ganado a pastar en áreas tratadas, deben ser estrictamente respetados.
- ◆ A partir del agua que es parte de la exposición dietaria: por contaminación de aguas superficiales como resultado del manejo inadecuado de los plaguicidas, que podría resultar en residuos inaceptables en peces y otras especies utilizadas por el hombre.

Es importante mencionar, que toda la dinámica anteriormente descrita depende por un lado de las características físico – químicas de los plaguicidas, tales como solubilidad, presión de vapor, capacidad de adsorción al suelo, etc. Por otro lado, depende también de las características presentes en los compartimientos ambientales, tales como textura y estructura del suelo, contenido de materia orgánica del mismo, temperatura, humedad relativa, luminosidad.

Los compartimientos ambientales antes descritos no son medios estáticos, sin ninguna influencia sobre los plaguicidas que entran en contacto con ellos, sino que ejercen efectos de dilución, fijación, desactivación y degradación de los productos, que llegan a mitigar o cancelar completamente el efecto tóxico que los productos podrían ejercer en las especies que habitan dichos compartimientos. En el suelo por ejemplo, los microorganismos presentes pueden descomponer parcial o totalmente los plaguicidas. En el agua, se producen reacciones de hidrólisis y fotólisis que descomponen los plaguicidas. En el aire, predominan las reacciones de fotólisis.

Si las prácticas agrícolas y de manejo en general han sido las adecuadas, los residuos potenciales a los que se verían expuestas las personas a través de las distintas vías antes mencionadas, serían nulos o estarían por debajo de los niveles permitidos de riesgo, que son aquellos que han mostrado no causar ningún efecto adverso a la salud.

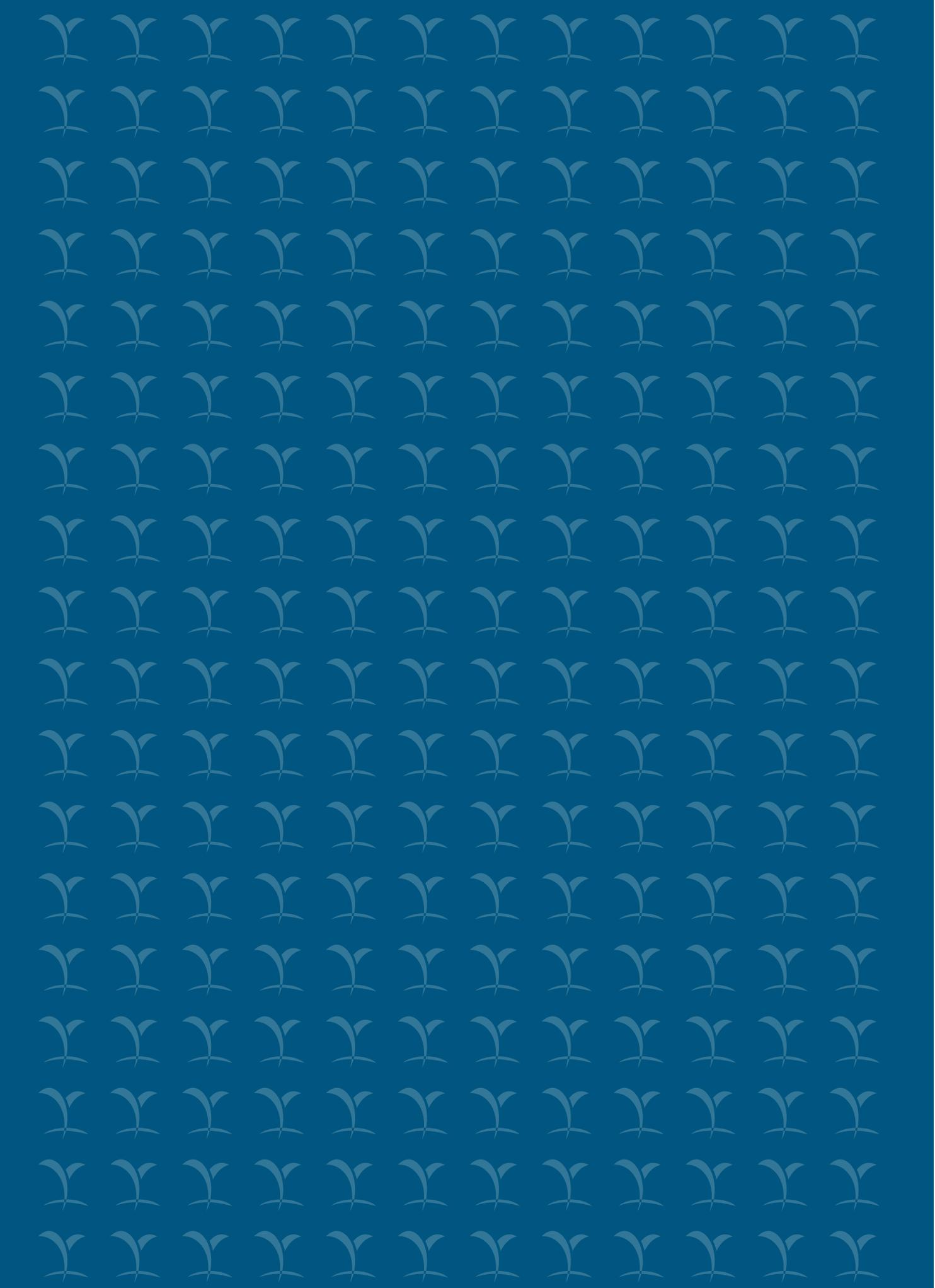
A close-up photograph of a scientist in a white lab coat looking through a microscope. The scientist's face is partially visible on the left side of the frame. The microscope is a Zeiss model, with the objective lens clearly visible, labeled 'ZEISS CF ACHROMAT 5x/0.12'. The eyepiece is labeled '10x/18'. The background is slightly blurred, showing a blue poster on the wall.

# Capítulo III

---

Concepto del registro  
fitosanitario

---



# Capítulo III

## Concepto del registro fitosanitario

**E**l Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas de la FAO<sup>3</sup>, define el registro como *"proceso por el que la autoridad nacional o regional responsable aprueba la venta y utilización de un plaguicida, previa evaluación integral de datos científicos que demuestren que el producto es efectivo para el fin a que se destina y no entraña un riesgo inaceptable para la salud humana, animal ni para el ambiente"*.

El registro de un plaguicida es un procedimiento técnico, legal y administrativo, a través del cual la autoridad regulatoria examina los componentes y la naturaleza del producto, los sitios particulares y cultivos en que va a ser aplicado, la cantidad de producto a ser utilizado, la frecuencia y los tiempos de aplicación, así como las prácticas propuestas de manejo, almacenamiento, transporte y disposición, entre otros.

En la evaluación que hace la agencia regulatoria, se considera una amplia gama de efectos potenciales asociados con el uso propuesto del producto para el cual se solicita el registro, sobre la salud humana, animal y el medio ambiente. Para esto el registrante debe proveer información sobre diversos estudios realizados con el producto, siguiendo directrices o protocolos de evaluación internacionalmente aceptadas. Estos estudios evalúan si el plaguicida tiene la probabilidad de causar efectos adversos en humanos, vida silvestre, peces, plantas y otros organismos a los cuales no va dirigida la aplicación, así como posible contaminación por aguas superficiales y subterráneas, escorrentía, deriva de aplicación, etc. Los riesgos potenciales evaluados en relación al hombre, van desde aquellos que se podrían producir desde el corto hasta el largo plazo.

Habiéndose completado los análisis y pasos antes descritos, la autoridad regulatoria concederá el registro o licencia de comercialización de un agroquímico, al comprobar que bajo el patrón de uso propuesto, no constituye un riesgo inaceptable para la salud de las personas (consumidores y aplicadores), los animales y el ambiente en general. Es por esto que en el proceso de registro, se llega a la aprobación del

---

3 FAO: Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

rotulado (etiqueta, panfleto, ficha técnica, etc.), cuyos usos serán los únicos legalmente permitidos, al cumplirse con los criterios de manejo del riesgo anteriormente mencionados. Cualquier cambio posterior que se quiera hacer a la etiqueta deberá estar fundamentada en los estudios correspondientes, que demuestren que se siguen cumpliendo los criterios correspondientes de seguridad.



# Capítulo IV

Características y  
Comportamiento  
de los plaguicidas



# Capítulo IV

---

## Características y Comportamiento de los plaguicidas

---

Existe relación entre las características físicas y químicas de los plaguicidas y el tipo de efecto (comportamiento) sobre los compartimientos ambientales y las especies que habitan en ellos. Por esta razón es importante conocer dichas características cuando se llevan a cabo los estudios de comportamiento, para tratar de establecer la asociación entre ambos aspectos: Características y Comportamiento.

### A. Características de los plaguicidas

#### A.1. Formas de Plaguicidas

Antes de entrar a definir las propiedades o características físicas y químicas de los plaguicidas, es necesario describir las diferentes formas en que se pueden encontrar los productos, a saber: Ingrediente Activo Purificado (IAP), Ingrediente Activo Grado Técnico (IAGT), y Producto Final o Formulado (PF).

##### A.1.a. Ingrediente Activo Purificado (IAP)

El IAP resulta de la purificación a nivel de laboratorio de un material proveniente de la síntesis (conocido como Ingrediente Activo Grado Técnico); tiene generalmente una pureza mayor a 99 % de ingrediente activo. Se utiliza para ciertos estudios físico-químicos en los cuales se evalúa solubilidad, coeficiente partición octanol / agua, presión de vapor, entre otros. No es posible encontrar esta categoría a nivel comercial debido al alto costo que implica su producción. Los estándares analíticos son también usualmente IAP's.



### A.1.b. Ingrediente Activo Grado Técnico (IAGT)

Se puede encontrar en forma de Material Técnico (TC) o Concentrado Técnico (TK), y es el material resultante del proceso de síntesis, que contiene al ingrediente activo junto con algunas impurezas asociadas. La diferencia entre el TC y el TK, es que el primero puede contener pequeñas cantidades de aditivos necesarios (ej. estabilizantes), mientras que el segundo además de dichos aditivos necesarios, puede contener diluyentes apropiados. Éste último (TK) está más asociado con el material para uso en manufactura (preparación de formulaciones).

Con este tipo de material (principalmente el tipo TC) se llevan a cabo los estudios de comportamiento (toxicología, ecotoxicología, destino ambiental, etc.) y de caracterización de algunas propiedades físico-químicas.

Los IAGT's (TC) usualmente tienen una pureza mayor a 90 %, pero existen casos en que puede ser igual o mayor a 99 % de ingrediente activo.

### A.1.c. Producto Final o Formulado (PF)

Plaguicida obtenido generalmente a partir de un IAGT tipo TK, por formulación del mismo, mezclándolo con los aditivos de formulación o coadyuvantes, más solventes o diluyentes y los inertes. Es el producto tal como utilizado para el control de plagas, como defoliante, desecante, regulador de plantas, etc.

## A.2. Identidad del plaguicida y su composición

Es la información tanto cualitativa (qué tiene) como cuantitativa (cuánto tiene) de los componentes de un plaguicida, ya sea éste un IAP, un IAGT o un PF. Gran parte de dicha información constituye secreto industrial y como tal se somete a las agencias regulatorias de los gobiernos. Los componentes a identificar y cuantificar son los siguientes: Ingrediente Activo (IA), Impurezas asociadas al IA y los Ingredientes Inertes.

La importancia de conocer la composición de los productos por parte de las agencias regulatorias, es que permite determinar si contienen algún ingrediente en cantidad tal que pueda causar un efecto adverso a la salud de personas, animales o el ambiente en general.

### A.2.a. Ingrediente activo (IA)

El ingrediente activo es el compuesto químico o molécula presente en cualquiera de las categorías de plaguicidas antes descritas (IAP, TC, TK o PF), descrito con un nombre común específico, y que confiere el efecto biológico al plaguicida.

La siguiente información es requerida para cada ingrediente activo presente en los plaguicidas.

#### A.2.a.i. Nombre común propuesto o aceptado por ISO y sinónimos

El nombre común o genérico es una denominación sencilla o abreviada del ingrediente activo propuesta por el descubridor de la molécula a la "Organización In-

ternacional para la Estandarización" (ISO, por sus siglas en inglés), o a alguna otra organización de estandarización.

#### *A.2.a.ii. Nombre químico según nomenclatura internacional*

El nombre químico es una denominación mucho más descriptiva y extensa que el nombre común (o genérico), en el cual está considerada de alguna forma la identificación de los diferentes átomos que componen la molécula, la cantidad de los mismos y su ubicación espacial dentro de la molécula. El nombre químico es propuesto por el descubridor de la molécula a la "Unión Internacional de Química Pura y Aplicada" (IUPAC, por sus siglas en inglés), o a alguna otra organización similar de estandarización.

A continuación se indica la dirección electrónica donde se puede acceder el listado de plaguicidas y sus nombres IUPAC: <http://www.alanwood.net/pesticides/index-iupac-a.html>

#### *A.2.a.iii. Número CIPAC y nombre CAS*

- Número CIPAC (Collaborative International Pesticides Analytical Council): el sistema de códigos numéricos CIPAC es un enfoque simple para codificar los ingredientes activos. Ordena los ingredientes activos en dos grandes tablas, una ordenando la secuencia por números y la otra por orden alfabético del nombre común. A continuación se transcribe el portal electrónico de esta organización: <http://www.cipac.org/cipacode/codenusu.htm>
- Nombre CAS (Chemical Abstract Service): es la abreviación del nombre "Chemical Abstract Service", el cual es un compendio que recoge información sobre nombres comunes, nombres químicos, y otra información química descriptiva de plaguicidas, cuyos nombres han sido aprobados por ISO e IUPAC. Recoge además información de plaguicidas cuyos nombres han sido aprobados por organismos nacionales e internacionales pero que todavía no cuentan con una denominación de ISO. A continuación se transcribe el portal electrónico de dicho compendio: <http://www.alanwood.net/pesticides/index.html>

#### *A.2.a.iv. Concentración nominal del ingrediente activo*

La concentración nominal se refiere a aquella cantidad de ingrediente activo que se espera que esté presente en una muestra típica de un plaguicida, al momento que el mismo es fabricado, y se expresa como porcentaje en peso (% p/p).

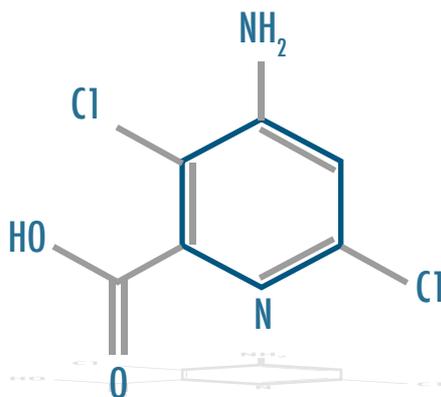
#### *A.2.a.v. Fórmula estructural*

Determina la estructura básica de un compuesto; cuáles y cuántos átomos contiene: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, cloro, fósforo, azufre, etc.

Es lo que caracteriza a un químico.

Ejemplo: aminopyralid (molécula de efecto herbicida de uso en pasturas y algunos cereales):





### A.2.a.vi. Fórmula empírica o molecular

Identificación de la molécula dada con los símbolos de los átomos y el número de los mismos que la componen. Para el caso del aminopyralid que venimos ilustrando, la fórmula empírica o molecular es la siguiente:



### A.2.a.vii. Peso molecular

Cada uno de los átomos que componen una molécula posee un peso atómico, y la suma de los pesos de todos los átomos, nos da el peso molecular.

En la fórmula empírica o molecular descrita anteriormente, conocemos los átomos que componen la molécula y la cantidad de los mismos. La tabla siguiente ilustra la forma de obtener el peso molecular de aminopyralid:

**Tabla 2:** ilustración del peso molecular de aminopyralid

(a) Átomo (nomenclatura)	(b) Peso atómico	(c) Número de átomos en la fórmula molecular	(d) Peso total
Carbón (C)	12	6	72
Hidrógeno (H)	1	4	4
Cloro (Cl)	35.5	2	71
Nitrógeno (N)	14	2	28
Oxígeno (O)	16	2	32
<b>Peso molecular</b>			<b>207</b>

En la columna (a) de la tabla anterior se indican los diferentes átomos que componen la molécula de aminopyralid, de acuerdo con la fórmula empírica o molecular. La columna (b) indica el peso atómico de cada uno de los átomos, y la (c) el número de átomos. En la columna (d) se obtiene el peso total de los átomos, al multiplicar el peso atómico (columna b) por el número de átomos (columna c). La suma de los pesos totales de todos los átomos nos da el peso molecular (en nuestro ejemplo, 207 g)

Tanto en el caso de los átomos como el de la molécula, el valor está dado en gramos, y corresponde al peso de un mol de átomos o de moléculas. El mol es equivalente a lo que se denomina químicamente como número de Avogadro, que corresponde a  $6,02 \times 10^{23}$  átomos o moléculas.

Lo anterior significa que  $6,02 \times 10^{23}$  átomos de Cloro pesan 35,5 gramos y que  $6,02 \times 10^{23}$  moléculas de aminopyralid pesan 207 gramos.

### A.2.a.viii. Codificación del fabricante

Se refiere a la nomenclatura dada por los fabricantes a las nuevas moléculas, cuando éstas están en su fase de desarrollo. Dicha codificación puede sufrir variantes conforme la molécula avanza en su proceso de investigación y desarrollo.

## A.2.b. Impurezas asociadas al ingrediente activo

Las impurezas son aquellos componentes diferentes al ingrediente activo, presente en el mismo tal como es fabricado (incluyendo isómeros no-activos siempre y cuando no estén cubiertos por el nombre ISO de la sustancia activa), que se originan del proceso de manufactura o de la degradación durante el almacenamiento (SANCO, 2009).

Las impurezas tienen entonces varias fuentes de procedencia, a saber:

- ◆ De las sustancias base de la preparación o síntesis (materias primas).
- ◆ De reacciones colaterales durante la síntesis.
- ◆ De la descomposición del ingrediente activo durante el almacenamiento o la formulación.
- ◆ De trazas de solventes (orgánicos o agua) de la síntesis o purificación.

Según el criterio indicado por SANCO<sup>4</sup>, podemos hacer una clasificación de las impurezas según el aspecto cuantitativo y el cualitativo. Desde el punto de vista cuantitativo, existen impurezas que se les denomina Significativas. Desde el punto de vista cualitativo, las impurezas pueden ser Relevantes o No Relevantes.

- ◆ Impurezas Significativas: son aquellas que se encuentran a niveles iguales o superiores a 1 gramo por kilogramo de Ingrediente Activo Grado Técnico. Las mismas deben ser identificadas químicamente. Pueden ser Relevantes o No Relevantes.
- ◆ Impurezas Relevantes: al igual que las significativas, deben ser identificadas químicamente. Son relevantes puesto que comparadas con el ingrediente activo al cual están asociadas, tienen efectos importantes en cuanto a:
  - Toxicología o ecotoxicología.
  - Fitotoxicidad a las plantas tratadas.
  - Residuos que pueden dejar en cultivos tratados.
  - Afectación a la estabilidad del plaguicida que puede impactar, entre otras cosas, la eficacia biológica.

4 SANCO es el Directorato General de la Unión Europea para la Protección de la Salud y los Consumidores.

En relación al primer criterio de los mencionados anteriormente, toxicología, existe una lista bien identificada de impurezas que pueden producir un efecto adverso importante dependiendo de su concentración. Dicha lista, sin ser exhaustiva, es la siguiente (SANCO, 2009):

- 2,3-Diaminofenazina (DAP) y 2-amino-3-hidroxifenazina (AHP)
- Anilinas y anilinas sustituidas
- Diclorodifeniltricloroetano (DDT) e impurezas relacionadas a DDT
- Etilen tiourea (ETU) y propilen tiourea
- Dibenzodioxinas halogenadas and dibenzofuranos halogenados
- Hexaclorobenceno (HCB)
- Metil isocianato (cualquier isocianato es de potencial preocupación)
- Nitrosaminas
- Análogos oxigenados de organofosforados
- Fenoles y fenoles sustituidos
- Hidrazina e hidrazina sustituida
- Tetracloroazobenceno (TCAB) y tetracloroazoxibenceno (TCAOB)
- Tetraetil ditiopirofosfato (Sulfotep) y tetraetil monotiopirofosfato (O,S-TEPP)

### A.2.c. Ingredientes inertes

Los ingredientes inertes se encuentran básicamente en los Productos Formulados, aunque también se pueden encontrar en los Ingredientes Activos Grado Técnico, principalmente en el tipo TK.

Son todos aquellos formulantes que por si mismos no contribuyen a la efectividad biológica que se pretende para el producto al cual están asociados, pero que en el conjunto de la formulación de la cual forman parte, confieren una serie de ventajas importantes como son: ayudar en la estabilidad del producto, permitir una adecuada aplicación y distribución del producto en los cultivos, evitar la pérdida del producto por volatilización o deriva, entre otros.

Ejemplos de inertes son los solventes, emulsificantes, diluyentes, dispersantes, agregantes, etc.

La información básica requerida sobre los ingredientes inertes para efectos del registro fitosanitario de las formulaciones es la siguiente:

- ◆ Nombre común y químico.
- ◆ Concentración nominal.
- ◆ Propósito de dichos ingredientes en las formulaciones.

La agencia ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés), ha dividido los inertes comúnmente contenidos en los plaguicidas en cuatro listas, de acuerdo con la siguiente categorización toxicológica:

1. Inertes de preocupación toxicológica (Lista 1).
2. Inertes con potencial tóxico / alta prioridad para evaluación (Lista 2).

3. Inertes de toxicidad desconocida (Lista 3).
4. Inertes de preocupación mínima (Lista 4).

A continuación se indica el portal de la EPA donde se puede acceder información completa sobre dicha disposición, así como las listas mencionadas: <http://www.epa.gov/opprd001/inerts/lists.html>

### A.3. Propiedades físico-químicas

El conocimiento de las propiedades físico-químicas de los plaguicidas reviste gran importancia para diferentes propósitos como son:

- ◆ Identificación de productos: a través de características como el color, olor, estado físico, puntos de fusión/ebullición, densidad, solubilidad, presión de vapor, y pH. La adecuada identificación de sustancias que no están rotuladas, permite el manejo adecuado de emergencias que se puedan dar con las mismas.
- ◆ Evaluación del riesgo: características como pH, estabilidad, acciones de oxidación-reducción, flamabilidad, explosividad, corrosión, etc., permiten conocer los posibles riesgos que presentan los productos y recomendar posibles medidas de mitigación o manejo.
- ◆ Base para requerir estudios adicionales: por ejemplo el coeficiente de partición octanol/agua, es utilizado como criterio para requerir o no estudios de toxicidad a peces y otras especies. Información sobre presión de vapor se utiliza directamente para determinar plazos de re-entrada a campos tratados.

Para la evaluación de aquellas propiedades relacionadas con la identificación de las sustancias, como son fórmula estructural, peso molecular, punto de ebullición, punto de fusión entre otras, se debe utilizar sustancias muy puras, tipo IAP, ya que las impurezas podrían interferir con la validez de las pruebas. Para el estudio de otros tipos de propiedades se pueden utilizar materiales con menor pureza.

En la siguiente tabla, se presenta la recomendación de la Oficina de Prevención, Plaguicidas y Sustancias Tóxicas (OPPTS, por sus siglas en inglés) de la Agencia para la Protección del Ambiente de los Estados Unidos, en cuanto al tipo de sustancia a utilizar para los diferentes estudios.

**Tabla 3:** Tipo de estudio y categoría de sustancia a la que aplica (de acuerdo con OPPTS de la EPA)

Tipo de estudio / propiedad a evaluar	Sustancia de prueba		
	Ingrediente Activo Grado Técnico (tipo TC)	Producto para Manufactura (tipo TK)	Producto Final o Formulado (PF)
Color	Sí	Sí	No
Estado físico	Sí	Sí	Sí
Olor	Sí	Sí	No
Estabilidad a temperaturas normales y elevadas, metales, y iones metálicos	Sí	No	No
Oxidación / reducción: incompatibilidad química	No	Sí	Sí
Inflamabilidad	No	Sí	Sí
Explosividad	No	Sí	Sí
Estabilidad en almacenamiento	No	Sí	Sí
Miscibilidad	No	Sí	Sí
Características de corrosión	No	Sí	Sí
Voltaje de descomposición dieléctrica	No	No	Sí
pH	Sí	Sí	Sí
Absorción UV/visible	Sí (IAP*)	No	No
Viscosidad	No	Sí	Sí
Punto de fusión / rango de fusión	Sí (sólidos – IAP*)	No	No
Punto de ebullición / rango de ebullición	Sí (sólidos – IAP*)	No	No
Densidad / densidad relativa / densidad bruta	Sí	Sí	Sí
Constante de disociación	Caso por caso (IAP*)	No	No
Coefficiente de partición (n-octanol/agua), método de matraz de agitación	Sí (para orgánicos no polares – IAP*)	No	No
Coefficiente de partición (n-octanol/agua), método generador de columna	Sí (para orgánicos no polares – IAP*)	No	No
Coefficiente de partición (n-octanol/agua), estimación por cromatografía líquida	Sí (para orgánicos no polares – IAP*)	No	No
Solubilidad en agua: método de elusión de columna; método de matraz de agitación	Sí (IAP*)	No	No
Solubilidad en agua: método generador de columna	Sí (IAP*)	No	No
Presión de vapor	Sí (IAP*)	No	No

\* IAP: ingrediente activo purificado

A continuación se hace una descripción de las principales propiedades físico-químicas de los plaguicidas, indicadas en la tabla anterior.

### A.3.a. Apariencia (estado físico, color, olor)

La finalidad es suministrar una descripción breve y clara del producto en términos de las propiedades que puedan ser verificadas por simple inspección, para describir el estado físico (gas, sólido o líquido), el color y el olor.

Dichas características pueden ayudar a identificar el producto y ayudar así en la respuesta en casos de emergencia, cuando el mismo no se encuentra debidamente rotulado.

### A.3.b. Acidez, alcalinidad, pH

El término pH significa potencial hidronio (hidronio:  $H_3O^+$  o simplemente  $H^+$ ), y corresponde al logaritmo negativo de la concentración (en moles por litro = molaridad) del hidronio. La escala de pH va de 0 a 14, donde un valor de 7 nos indica que la solución es neutra; valores menores de 7 indican que la solución es ácida y aquellos mayores de 7, que la solución es alcalina.

Un pH igual a 7 es definido como neutro (a 25 °C), debido a que a ese valor, la concentración de los iones hidronio ( $H_3O^+$ ) en agua pura, es igual a la de los iones  $OH^-$ .

La importancia de conocer el pH de las sustancias es porque nos indican si ellas pueden ser corrosivas o reaccionar con materiales incompatibles.

### A.3.c. Punto de fusión / ebullición / descomposición

Punto de fusión: es la temperatura a la cual un sólido pasa a la fase líquida.

Punto de ebullición: es la temperatura a la cual un líquido pasa a la fase gaseosa. Se requiere usualmente para líquidos.

Punto de descomposición: ciertos compuestos se descomponen antes de alcanzar las temperaturas de fusión o ebullición. Esto se observa por cambios en el color, presencia de humo, etc. La descomposición es la transformación o cambio de un material o sustancia, por causa de calor, reacción química u otros procesos, a otro compuesto químico. La descomposición puede tener efectos no deseados como puede ser la formación de sustancias peligrosas (explosivas, inflamables o tóxicas).

El propósito de conocer estos puntos (fusión, ebullición, descomposición) es el de evaluar el potencial movimiento de las sustancias en el ambiente, determinar su estado físico bajo condiciones ambientales y evaluar posibles efectos a la salud y el ambiente. Además permiten recomendar medidas tales como manejo, almacenamiento y transporte.

### A.3.d. Punto de Destello ("Flash Point")

El punto de destello de un líquido es la temperatura más baja a la cual se puede formar una mezcla con aire capaz de encenderse. A esta temperatura el vapor puede

dejar de quemarse cuando se retira la fuente de ignición. Si se producen destellos, el material es considerado además inflamable y se registra el punto de destello.

Relacionado con el punto de destello tenemos lo que se denomina el punto de fuego ("Fire Point"), y es una temperatura ligeramente más alta a la de destello, en la cual el vapor continúa quemándose aún después de retirar la fuente de ignición.

### A.3.e. Inflamabilidad

Inflamabilidad se refiere a la facilidad con que una sustancia se puede encender y sostener la combustión. También se puede expresar como la tasa a la cual la sustancia será consumida por el fuego.

Los límites de inflamabilidad son aquellos rangos de concentraciones en los cuales una sustancia inflamable puede producir fuego o explotar, cuando se expone a una fuente de ignición. La concentración se expresa generalmente como porcentaje de combustible (sustancia) por volumen de aire.

- ◆ Por encima del **límite más alto de inflamación (UFL**, por sus siglas en inglés), la mezcla de sustancia y aire es demasiado rico en combustible (deficiente en oxígeno) para encenderse. Se le conoce también como **límite más alto de explosividad (UEL**, por sus siglas en inglés).
- ◆ Por debajo del **límite más bajo de inflamación (LFL**, por sus siglas en inglés) la mezcla de sustancia y aire carece del suficiente combustible (sustancia) para encenderse. Se le conoce también como límite más bajo de explosividad (**LEL**, por sus siglas en inglés).

Cualquier concentración sustancia/aire dentro de dichos límites, UFL y LFL, puede encenderse o explotar con facilidad.

### A.3.f. Propiedades pirofóricas de sólidos y líquidos

Se consideran sustancias pirofóricas aquellas que se encienden o se carbonizan al exponerlas al aire.

### A.3.g. Temperatura de auto – ignición (líquidos y gases)

La temperatura de auto-ignición es la temperatura más baja a la cual una sustancia se enciende espontáneamente cuando se mezcla con el aire.

### A.3.h. Propiedades explosivas

Un material explosivo es aquel energéticamente inestable, que por efecto del calor, fricción u otro evento, produce una rápida reacción química, se descompone o se quema, con generación de calor y gases, llegando a un volumen combinado mucho mayor al de la sustancia original.

Vapores inflamables pueden formar mezclas explosivas con el aire bajo ciertas circunstancias. Ignición accidental por chispas, fuentes de calor o electricidad estática pueden provocar una explosión. Estos vapores pueden viajar distancias significativas

desde la fuente, de tal manera que es importante reducir o eliminar la formación de vapores cuando sea posible.

### A.3.i. Propiedades de oxidación / reducción o incompatibilidad química

Oxidación se refiere a la pérdida de electrones por parte de una molécula, átomo o ion. La reacción contraria, reducción, se refiere a la ganancia de electrones. Sustancias que tienen la habilidad de oxidar otras sustancias, son conocidas como agentes oxidantes. Al remover electrones y producir oxidación, se reducen ellas mismas. Por el contrario, aquellas que tienen la habilidad de reducir otras sustancias, se les conoce como agentes reductores, y al hacerlo, ellas mismas se oxidan.

Cuando sustancias oxidantes entran en contacto con sustancias reductoras, se puede producir incompatibilidad química, que lleva a reacciones variadas como pueden ser aumento de la temperatura, generación de gases, salpicaduras, producción de llama, etc. El conocer este tipo de comportamiento de las sustancias ayuda a evitar contactos peligrosos durante el ciclo químico de las sustancias (fabricación, procesamiento, distribución, almacenamiento, uso y disposición).

Sustancias incompatibles pueden llegar a producir polimerización, que es el proceso mediante el cual los monómeros (unidades químicas más pequeñas) se combinan para formar un polímero.

Un polímero es una sustancia hecha de muchas unidades repetidas llamadas unidades monomerales. Los polímeros son usualmente distinguidos por una alta masa molar (peso molecular), oscilando frecuentemente entre miles a millones de gramos por unidad de fórmula.

La polimerización es frecuentemente un proceso exotérmico (que produce calor). Si la misma ocurre cuando no es deseada, puede resultar en fuego o explosión. Para los materiales con este tipo de comportamiento, se indica en las Hojas de Seguridad (conocidas en inglés como SDS: Safety Data Sheet) que producen polimerización peligrosa.

### A.3.j. Presión de vapor, volatilidad

Presión de vapor es la presión de saturación en la superficie de una sustancia sólida o líquida a una temperatura dada. Su unidad de medida es el Pascal (Newton/m<sup>2</sup>). El Newton es la cantidad de fuerza requerida para acelerar un kilogramo de masa a una tasa de un metro por segundo cuadrado.

Todos los líquidos y sólidos tienen tendencia a evaporarse a una forma gaseosa, y todos los gases tienen la tendencia a condensarse para volver a su estado original (líquido o sólido). A alguna temperatura dada, para una sustancia en particular, existe una presión a la cual el gas de dicha sustancia se encuentra en equilibrio dinámico con su forma líquida o sólida. Una sustancia con una alta presión de vapor a temperaturas normales, se dice que es volátil.

A continuación se indica la conversión a Pascal (Pa) de otras unidades que son empleadas para medir la presión de vapor:



- ◆ 1 Torr (= 1 mm Hg) =  $1.333 \times 10^2$  Pa
- ◆ 1 atmósfera (física) =  $1.013 \times 10^5$  Pa
- ◆ 1 atmósfera (técnica) =  $9.81 \times 10^4$  Pa
- ◆ 1 bar =  $10^5$  Pa

La determinación de la presión de vapor no se requiere para un plaguicida con un punto de ebullición estándar menor a 30 °C (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

La presión de vapor de un plaguicida es importante para evaluar su distribución en el ambiente. Es la más importante característica que puede ser usada para calcular la volatilidad de una sustancia, y predecir la probabilidad de que el plaguicida se disperse en la atmósfera en concentraciones importantes. Ayuda de esta manera para evaluar exposición a los aplicadores, la inhalación potencial. Es utilizada para calcular los períodos de re-entrada a los campos tratados. Por otro lado, permite estimar el equilibrio de distribución del plaguicida, entre el aire y algún otro compartimiento o matriz ambiental (agua, aire, suelo).

Relacionado con presión de vapor está la Ley de Henry que mide la tasa  $P_v/S_w$ , donde  $P_v$  es presión de vapor y  $S_w$  la solubilidad de la sustancia en agua. Este cociente permitiría estimar la magnitud de la distribución de una sustancia entre el agua y el aire.

### A.3.k. Solubilidad en agua

La solubilidad en agua es un importante parámetro para estimar el transporte y la distribución de las sustancias en los diferentes compartimientos ambientales. Ella puede afectar la adsorción y desorción en el suelo y por tanto la movilidad; así mismo la volatilidad a partir de sistemas acuáticos. Sustancias solubles en agua tienen mayor posibilidad de entrar en contacto con humanos y otros organismos vivos, al ser el agua componente importante de dichos organismos. El conocimiento de la solubilidad en agua es un pre-requisito para pruebas de degradación y bio-acumulación en agua y otros compartimientos.

La solubilidad en agua de un plaguicida se define como la concentración de saturación en agua pura a una temperatura dada. Se expresa generalmente en g/L o mg/L.

### A.3.I. Solubilidad en solventes orgánicos

Los solventes más utilizados como referencia son los siguientes:

- ◆ Hidrocarburo (heptano)
- ◆ Polar (metanol)
- ◆ Solvente clorinado (dicloroetano)
- ◆ Xileno
- ◆ Acetona
- ◆ Etil acetato

Este parámetro es útil en los procesos de manufactura para elegir el tipo de formulación, para los planes de disposición de sobrantes, entre otros.

### A.3.m. Coeficiente de partición octanol-agua

El coeficiente octanol agua ( $K_{ow}$ ) es un valor de equilibrio de disolución de la sustancia en un sistema de dos fases: octanol y agua. El octanol es un representante de un medio lipofílico, no acuoso. Se expresa también en escala logarítmica ( $\log K_{ow}$  o  $\log P$ ). A mayor valor de  $K_{ow}$  mayor solubilidad en fases orgánicas (lipofílicas) y tendencia a bioacumularse.

El valor de distribución o partición de un compuesto entre una fase acuosa y otra orgánica, es importante ya que permite predecir la bioconcentración y por ende su efecto en humanos, ecosistemas, cadena alimenticia, su destino en el ambiente y la distribución en la planta.

No obstante la utilidad del índice  $K_{ow}$  para predecir bioconcentración, hay otros factores a considerar, como por ejemplo:

- ◆ Los compuestos se pueden ligar a componentes disueltos en el medio acuoso y quedar no disponibles para los sistemas biológicos.
- ◆ Otros factores biológicos pueden restringir el transporte dentro de células biológicas debido a efectos estéricos.
- ◆ Los materiales pueden ser metabolizados y desechados.
- ◆ Los materiales pueden ser adsorbidos al suelo.

De tal manera que no hay valores bajos o altos para juzgar la bioconcentración de una sustancia, basado en la propiedad del coeficiente  $K_{ow}$  por sí mismo.

### A.3.n. Constante de disociación, pKa

Disociación es la partición reversible en dos o más especies químicas que pueden ser iónicas. El proceso se indica generalmente por la fórmula:



La constante (K) de concentración de equilibrio que gobierna la reacción es:

$$K = [R^+][X^-] / [RX]$$

Por ejemplo, en el caso particular donde R es hidrógeno (la sustancia es ácida), la constante sería:

$$K_a = [H^+][X^-] / [HX]$$

$$pK_a = pH - \log [X^-] / [HX]$$



Donde,

- ◆  $X$  = concentración de la especie  $X$
- ◆  $HX$  = concentración de la especie molecular  $HX$
- ◆ La concentración de  $X$  y  $HX$  se calcula a través de UV/VIS (ultravioleta / visible)

La disociación de una sustancia química en agua resulta de gran importancia en la evaluación de su impacto en el ambiente. Esta propiedad gobierna la forma como la sustancia se va a mover y comportar en el ambiente. Puede afectar la adsorción en el suelo y sedimentos, así como en células biológicas. Determina si la sustancia tiene estructura iónica o ácida.

### A.3.o. Densidad, gravedad específica

Densidad y gravedad específica tienen definiciones similares, más no idénticas.

Densidad: se expresa como masa por unidad de volumen para un sólido, líquido o gas. Se expresa en  $\text{g}/\text{cm}^3$ . Para gases o polvos se puede expresar como  $\text{g}/\text{m}^3$ .

Gravedad específica: es una razón de la masa de un material con la masa de un volumen igual de agua a  $4\text{ }^\circ\text{C}$  ( $39\text{ }^\circ\text{F}$ ). Dado que es una razón, no se dan unidades. Por ejemplo, la gravedad específica del agua a  $4\text{ }^\circ\text{C}$  es 1.0, mientras que su densidad es  $1.0\text{ g}/\text{cm}^3$ .

Densidad relativa: es esencialmente lo mismo que gravedad específica, sin embargo la temperatura utilizada para el agua (o incluso otro material) no es necesariamente  $4\text{ }^\circ\text{C}$ . Por esta razón, una medición de densidad relativa incluye la temperatura empleada para ambos materiales. Por ejemplo, "densidad relativa 15/0: 0.87" indica que la densidad del material fue determinada a  $15\text{ }^\circ\text{C}$ , y está dividida por la densidad del agua a  $0\text{ }^\circ\text{C}$ .

A  $4\text{ }^\circ\text{C}$ , la densidad del agua es  $1.0\text{ g}/\text{cm}^3$ . De tal manera, la densidad y gravedad específica tienen el mismo valor a esta temperatura.

Desde el punto de vista de manufactura, el conocer la densidad en sólidos ayuda en el diseño de los empaques. Hay dos formas de medir dicha densidad, suelta o compacta. La densidad suelta se utiliza para determinar el tamaño mínimo que debe tener un empaque para contener un peso determinado del producto.

### A.3.p. Corrosividad

Un material corrosivo es una sustancia altamente reactiva que causa daño visible en tejidos vivos. Los corrosivos actúan tanto en forma directa por destrucción química (oxidación), como indirecta, causando inflamación.

Los ácidos y las bases son materiales corrosivos comunes. Materiales corrosivos como estos son conocidos también algunas veces como cáusticos.

Ejemplos típicos de corrosivos ácidos son el ácido clorhídrico (muriático) y el ácido sulfúrico. Ejemplo típico de corrosivo básico es el hidróxido de sodio.

Por otro lado, los estudios de las características de corrosión son necesarios para evaluar los efectos del producto formulado en el envase y equipos de dosificación o aplicación. Si el plaguicida es altamente corrosivo se deben tomar medidas apropiadas para evitar que los envases sean dañados, y se produzcan derrames durante el almacenamiento, manejo y uso.

### A.3.q. Índice de hidrólisis

Hidrólisis es la reacción química de un compuesto con agua, que usualmente da como resultado la formación de uno o más compuestos. La hidrólisis más común ocurre cuando la sal de un ácido o base débil se disuelve en agua. El agua se ioniza a iones hidroxilos negativos ( $\text{OH}^-$ ) y iones hidrógenos positivos ( $\text{H}^+$ ), los cuales se hidratan para formar iones hidronio positivos ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ). La sal también se parte en iones positivos y negativos.

Estudios de hidrólisis son requeridos para todos los plaguicidas que se vayan a aplicar directamente en cuerpos de agua, o aquellos que por su uso, tienen probabilidad de llegar a contaminar aguas.

Para los estudios de hidrólisis se debe utilizar el ingrediente activo pureza analítica en agua tampón ("buffer"), y el uso de compuestos radio marcados puede ser de utilidad. Una única concentración debe ser utilizada a un nivel aproximado a la concentración ambiental estimada, pero sin exceder el 50 % de su solubilidad en agua. Las pruebas se deben llevar a cabo en la oscuridad a valores de pH dentro de los distintos rangos: ácido, pH 3-5.5; neutro, pH 5.5-8; básico, pH 8-10, y cada valor separado por al menos dos unidades de pH (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

Si se observa menos de 10 % de degradación en los estudios preliminares de hidrólisis a 50 °C, durante un período de cinco días, el producto se puede considerar hidrolíticamente estable, y no requerirá estudios adicionales. Si se observa más de 10 % de degradación, se deben llevar a cabo estudios adicionales a temperaturas más bajas (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

### A.3.r. Fotólisis

Las sustancias químicas presentes en la atmósfera, en la superficie del suelo o en el agua pueden sufrir transformación de la sustancia original o parental en una o más sustancias, debido a la absorción de la luz solar y la reacción que ésta produce. Al evaluar los índices de transformación de las sustancias debido a la luz solar y su vida media, se puede conocer la importancia de este factor abiótico (luz solar) en las mismas.

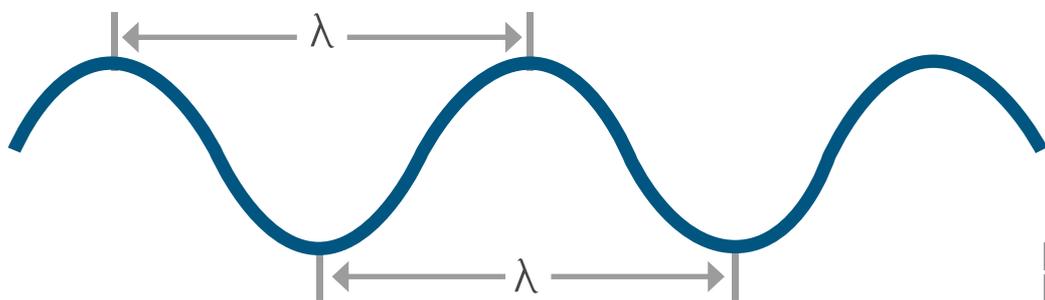
### A.3.s. Espectros de absorción: ultravioleta (UV), visible (VIS), infra rojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN)

Desde el punto de vista ambiental, el principal propósito en determinar los espectros de absorción de los compuestos químicos, es el de tener información sobre las diferentes longitudes de onda (ultravioleta, visible, infra rojo, etc.) a las cuales di-

chos compuestos pueden ser susceptibles a degradación fotoquímica. Dado que la degradación fotoquímica puede ocurrir tanto en la atmósfera como en ambientes acuáticos, el conocer los espectros en ambos medios, permite determinar si se requieren estudios adicionales sobre persistencia. La degradación dependerá de la energía total absorbida en las diferentes regiones del espectro.

Desde el punto de vista analítico, los espectros de absorción sirven para identificar y cuantificar los compuestos químicos.

La radiación se transmite en forma de ondas. Éstas se describen en términos de su longitud de onda ( $\lambda$ ) o de su frecuencia ( $\nu$ ), tal como se muestra en la siguiente figura:



**Figura 2:** representación de las ondas

La longitud de onda ( $\lambda$ ) es la distancia entre las crestas y el número de ciclos completos de onda que pasan por un punto determinado en cada segundo, a medida que la onda se mueve a través del espacio, se llama la frecuencia. Las longitudes de onda se expresan en micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) o nanómetros (nm). Un micrómetro corresponde a una millonésima de metro ( $1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{m}$ ), y un nanómetro a una mil millonésima de metro ( $1 \text{nm} = 10^{-9} \text{m}$ ).

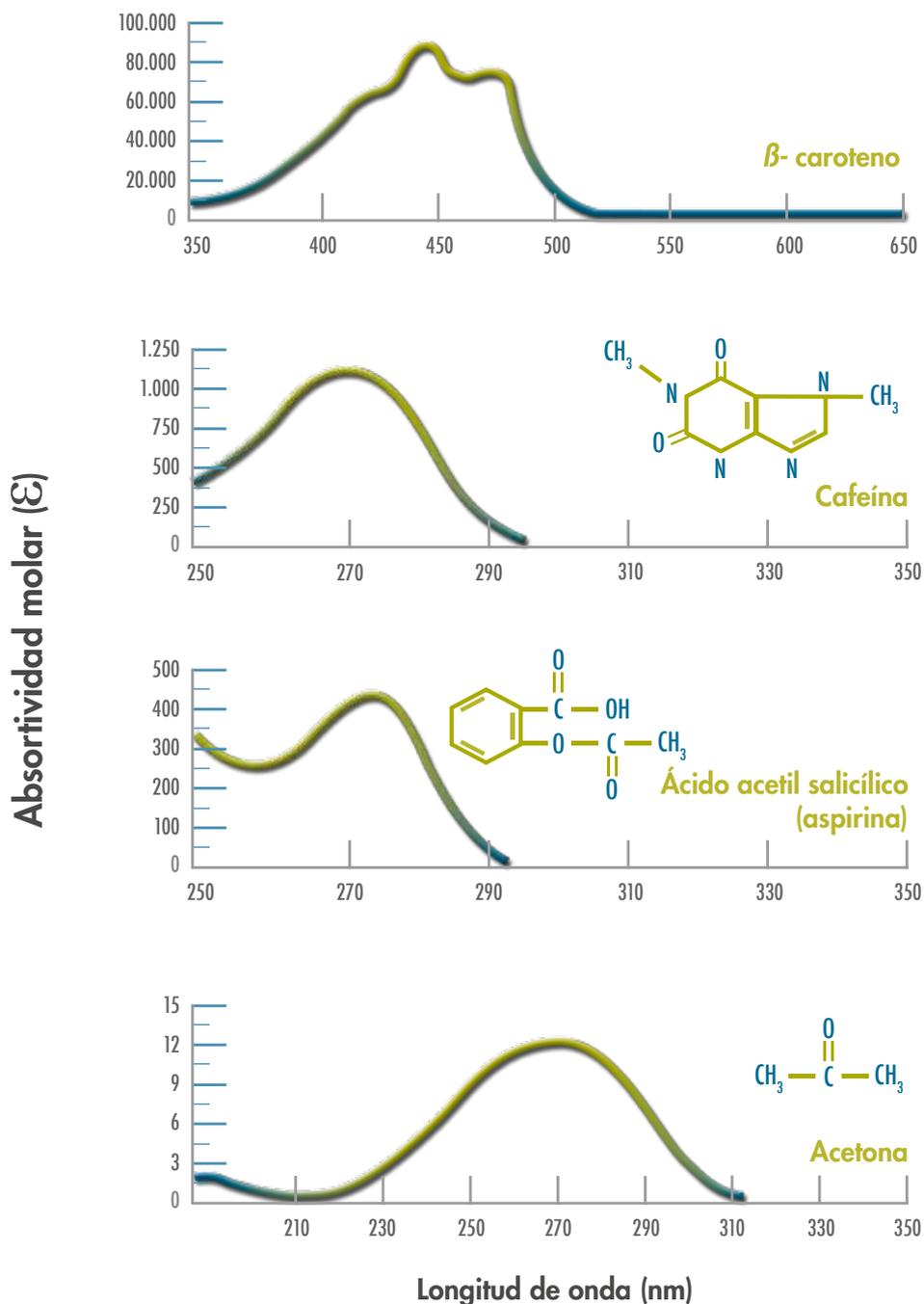
Las frecuencias de las ondas se miden por lo general en ciclos por segundo o hertz (en honor del físico alemán H. R. Hertz), abreviado como Hz.

La radiación se divide en ondas de diferentes longitudes y es lo que da el espectro respectivo. Así por ejemplo, la región ultravioleta (UV) del espectro está compuesta por ondas de 200 a 400 nm. La región visible al ojo humano, compuesta por los colores típicos del arco iris, lo componen ondas de 400 a 800 nm. El infrarrojo (IR), está compuesto por ondas que van desde los 800 nm a los 2  $\mu\text{m}$ .

#### Espectro visible - ultravioleta (UV):

Las sustancias dependiendo de su naturaleza química, poseen características específicas para absorber (absorbancia) diferentes cantidades de luz de acuerdo con sus longitudes de onda. Los espectrómetros visibles - ultravioleta grafican absorbancia vs longitud de ondas, lo que genera un espectro que es característico de cada sustancia, a manera de una huella que se utiliza para efectos de identificación.

La siguiente figura muestra el espectro de absorción ultravioleta de varios compuestos orgánicos típicos. La absorbancia o absorptividad se expresa como  $\epsilon$  (absortividad molar), que indica la fuerza de la misma.

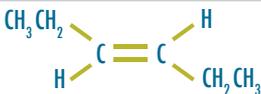
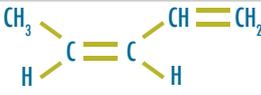
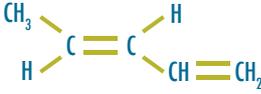
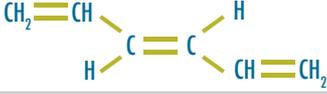


**Figura 3:** espectros ultravioleta de varios compuestos orgánicos típicos (Tomado de Skoog et. al. Química Analítica, pág. 617)

La evaluación de la absorbancia de diferentes longitudes de onda por parte de las sustancias de estudio, también puede ayudar para predecir la descomposición de las mismas por fotodegradación (degradación por la luz). Sustancias que absorben luz ultravioleta tienen potencial de fotodegradación.

La tabla 4 presenta una caracterización de diversas sustancias químicas, en la cual se indica para cada una de ellas la magnitud (en nm) de la frecuencia en la cual se da la máxima absorción, medida ésta como absorbancia molar ( $\epsilon$ ).

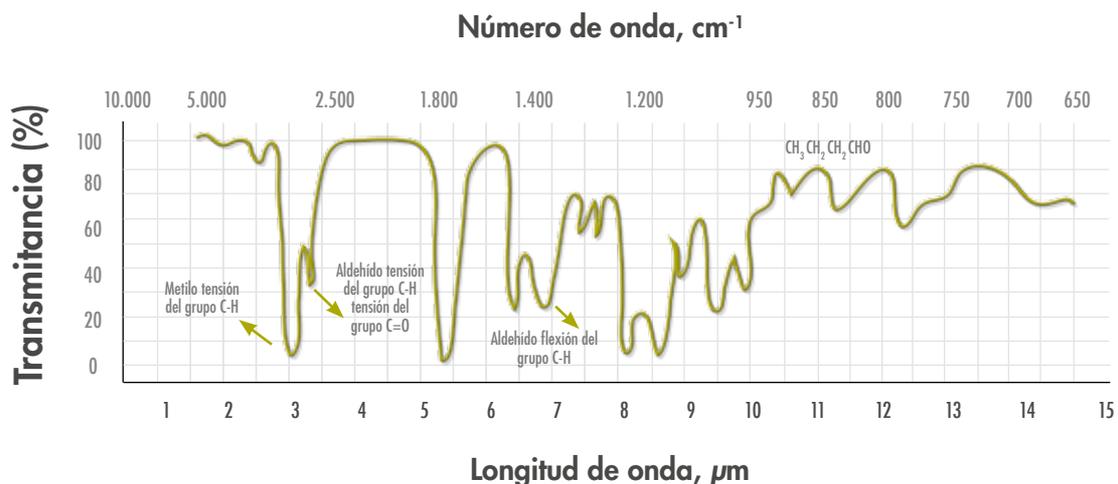
**Tabla 4:** máximos de absorción en longitudes de onda larga de los hidrocarburos insaturados (Tomado de Solomons, G. Fundamentos de Química Orgánica, pág. 655)

COMPUESTO	ESTRUCTURA	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$
Eteno	$\text{CH}_2 = \text{CH}_2$	171	15,530
<i>trans</i> -3-Hexeno		184	10,000
Ciclohexeno		182	7,600
1-Octeno	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH} = \text{CH}_2$	177	12,600
1-Octino	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{C} \equiv \text{CH}_2$	185	2,000
1,3-Butadieno	$\text{CH}_2 = \text{CHCH} = \text{CH}_2$	217	21,000
<i>cis</i> -1,3-Pentadieno		223	22,600
<i>trans</i> -1,3-Pentadieno		223,5	23,000
1-Buten-3-ino	$\text{CH}_2 = \text{CHC} \equiv \text{CH}$	228	7,800
1,4-Pentadieno	$\text{CH}_2 = \text{CHCH}_2\text{CH} = \text{CH}_2$	178	17,000
1,3-Ciclopentadieno		239	3,400
1,3-Ciclohexadieno		256	8,000
<i>trans</i> -1,3,5-Hexatrieno		274	50,000

### Espectro infrarrojo (IR):

La absorción de radiación en la región el IR puede dar información acerca de la naturaleza de los compuestos, de la existencia o no de grupos funcionales y de la estructura de la molécula. Con excepción de las moléculas diatómicas mononucleares, como  $O_2$ ,  $Cl_2$  y  $N_2$ , todas las moléculas orgánicas e inorgánicas absorben la radiación infrarroja. Por esta razón, la espectroscopía IR es uno de los métodos de análisis que tienen una aplicación más general. La absorción molecular de la radiación IR lleva a una serie de transiciones entre los niveles de energía de vibración de los estados energéticos electrónicos con la más baja excitación. La forma en que puede vibrar una molécula está relacionada con el número de enlaces y, por tanto, con el número de átomos que la componen (Skoog et. al).

En la siguiente figura, se muestra el espectro del n-butanal, que tiene 33 formas de vibración, que se diferencian entre sí principalmente en su energía. Nótese como a diferencia de los espectros visible y ultravioleta, en la región IR se mide transmitancia en vez de absorbancia.

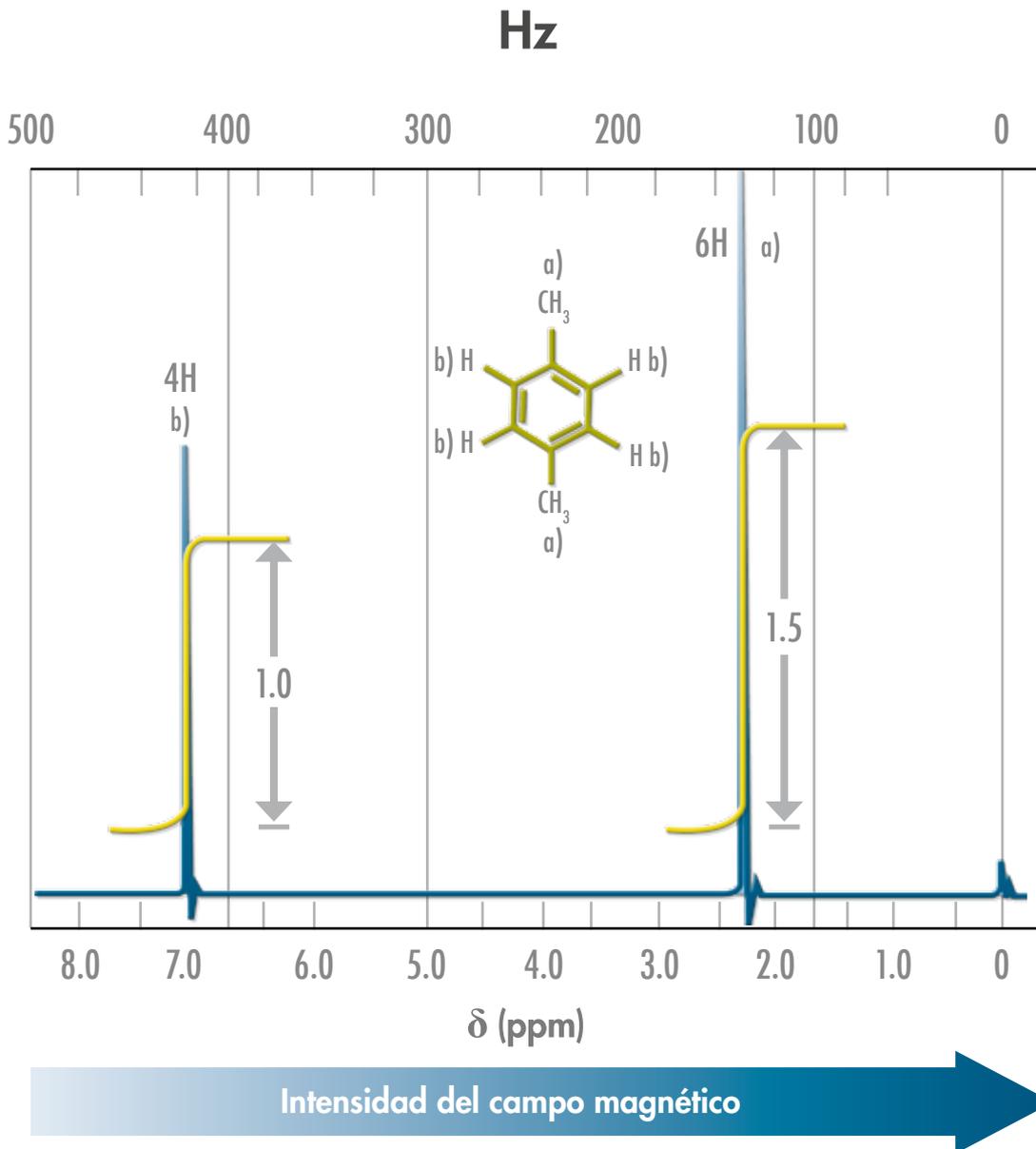


**Figura 4:** Espectro infrarrojo de n-butanal (n-butiraldehído) (Tomado de Skoog et. al. Química Analítica, pág. 632)

### Resonancia magnética nuclear (RMN):

El núcleo del hidrógeno, o protón, tiene propiedades magnéticas. Cuando se coloca un compuesto que contiene hidrógeno en un campo magnético muy fuerte y al mismo tiempo se le irradia con energía electromagnética, los núcleos de hidrógeno del compuesto pueden absorber energía por un proceso que se conoce como resonancia magnética (Solomons).

En la siguiente figura se muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de los protones del p-xileno. La fuerza del campo magnético se mide a lo largo de la parte inferior del espectro sobre una escala delta ( $\delta$ ) en unidades de partes por millón (ppm), y a lo largo de la parte superior en hertz (ciclos por segundo).



**Figura 5:** espectro rmn de protones del p-xileno (Tomado de Solomons, G. Fundamentos de Química Orgánica, pág. 658)

## A.4. Formulaciones de plaguicidas y sus propiedades

### A.4.a. Propósito de las formulaciones

Los ingredientes activos grado técnico (TC o TK), deben ser transformados físicamente en formulaciones (PF) con propiedades físico-químicas adecuadas, que permitan lograr el efecto biológico deseado y su aplicación en el campo.

Los objetivos que se persiguen a través de la elaboración de las diferentes formulaciones, son los siguientes:

- ◆ Optimizar la eficacia biológica del ingrediente activo.
- ◆ Mejorar el manejo del producto y su aplicación.
- ◆ Mejorar la seguridad y conveniencia para el usuario.
- ◆ Maximizar la estabilidad del empaque / envase y facilitar su disposición.
- ◆ Asegurar la seguridad durante su manufactura y uso.
- ◆ Extender el ciclo de vida del ingrediente activo (en el almacenamiento principalmente).
- ◆ Reducir la fitotoxicidad.

En el anexo I se describen los diferentes tipos de formulaciones presentes en el mercado.

#### A.4.b. Propiedades físicas de las formulaciones

Las propiedades físicas permiten por un lado caracterizar cualitativa y cuantitativamente un producto, y por otro lado revisten gran relevancia desde un punto de vista regulatorio y comercial, ya que están relacionadas con aspectos de eficacia, seguridad de los aplicadores e impacto en general en el ambiente.

Dichas propiedades varían de acuerdo con el tipo formulación de que se trate, y se pueden agrupar de la siguiente manera (FAO/WHO, 2010):

- ◆ (i) propiedades de densidad;
- ◆ (ii) propiedades de tensión superficial;
- ◆ (iii) propiedades de volatilización;
- ◆ (iv) propiedades granulométricas, de fragmentación y de adhesividad;
- ◆ (v) propiedades de dispersión;
- ◆ (vi) propiedades de flujo;
- ◆ (vii) propiedades de solución y disolución; y
- ◆ (viii) propiedades de estabilidad en almacenamiento.

La información en la tabla 5 se ha tomado del Manual sobre elaboración y empleo de las especificaciones de la FAO y de la OMS para plaguicidas. Describe las principales propiedades a ser evaluadas en los distintos tipos de formulaciones, al estar asociadas a características de seguridad y eficacia. Se incluye entre los paréntesis en la columna titulada "Finalidad", las metodologías MT (siglas de Miscellaneous Techniques) de CIPAC (Collaborative International Pesticides Analytical Council) recomendadas para la evaluación de la propiedad correspondiente, en aquellos casos en que se tenga disponible.

La dirección electrónica de CIPAC, para acceder mayores detalles sobre las metodologías es la siguiente: <http://www.cipac.org/cipacpub.htm>



Tabla 5: principales propiedades de las formulaciones

<b>i. Propiedades de densidad</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
Densidad aparente después de la compactación	Polvos y materiales granulados	Suministrar información para el embalaje, transporte y aplicación.  (Método: MT 186)	No se pueden dar límites generales
<b>ii. Propiedades de tensión superficial</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
Mojabilidad o humectabilidad	Polvos mojables (WP), polvos dispersables en agua para formar una pasta para tratamiento de semillas (WS), gránulos dispersables en agua (WG) y polvos solubles (SP)	Asegurar que los polvos mojables, los polvos solubles y los gránulos dispersables en agua, se humecten rápidamente al mezclarlos con agua, por ejemplo en el tanque de la pulverizadora  (Método: MT 53.3.1)	Normalmente la formulación deberá humectarse en 1 minuto, sin revolver
Persistencia de espuma	Todas las formulaciones que deben ser diluidas con agua antes de usar	Limitar la cantidad de espuma formada al llenar el tanque de la pulverizadora  (Método: MT 47.3)	Deberá haber un máximo de 60 ml de espuma después de 1 minuto
<b>iii. Propiedades de volatilización</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
Volatilidad	Líquidos para ultra bajo volumen (UL)	Asegurar que la aplicación de formulaciones de ultra bajo volumen no produzca una deriva inaceptable, por la evaporación excesivamente rápida de las gotitas pulverizadas	Generalmente no aceptado el método de evaluación disponible

<b>iv. Propiedades granulométricas, de fragmentación y de adhesividad</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
Prueba del tamizado en húmedo	Polvos mojables, suspensiones concentradas incluyendo las destinadas a tratamiento de semillas, gránulos dispersables en agua, suspensiones de encapsulado acuosas, concentrados dispersables, suspo-emulsiones, tabletas solubles en agua y tabletas dispersables	Restringir el contenido de partículas insolubles de tamaños tales que puedan tapar boquillas y filtros  (Método: MT 185)	Una cifra adecuada del residuo retenido podría ser: máximo 2% retenido en un tamiz de prueba de 75 µm
Prueba del tamizado en seco	Polvos y granulados de aplicación directa.	Restringir el contenido de partículas de tamaños no deseados  (Método: MT 170)	No se pueden dar límites generales
Rango nominal de tamaños	Granulados (GR)	Asegurar que una proporción aceptable de una formulación granulada esté dentro de un rango granulométrico adecuado, a fin de minimizar la segregación o separación de las partículas durante el transporte y la manipulación, garantizando de esta manera un flujo uniforme en el equipo de aplicación. El rango de tamaños puede afectar la actividad biológica y la capacidad de funcionamiento del equipo de aplicación  (Método: MT 170, MT 59.2)	No menos del 85% de la formulación deberá estar dentro del rango nominal de tamaño.

iv. Propiedades granulométricas, de fragmentación y de adhesividad			
Pulverulencia	Granulados (GR), gránulos dispersables en agua (WG), gránulos emulsificables (EG) y gránulos solubles (SG)	Restringir la pulverulencia o formación de polvo en formulaciones granuladas, que pueda producir liberación de polvo hacia el ambiente durante la manipulación y aplicación  (Método: MT 171)	La formulación deberá tener un máximo de polvo colectado de 30 mg por el método gravimétrico, o factor de polvo máximo de 25 por el método óptico.
Resistencia al atrito o a la abrasión	Formulaciones granuladas (GR, WG, SG y EG) y formulaciones en tabletas (DT, WT, ST, dependiendo en el modo de acción requerido).	Asegurar que las formulaciones granuladas permanezcan intactas hasta su uso; minimizar los riesgos del polvo generado por efecto de la desintegración producida durante la manipulación o uso y, en el caso de granulados (GR), evitar la generación de polvo y/o partículas finas que, además, pueden afectar la aplicación y la eficacia en el campo  (Método: MT 178, MT 178.2, MT 193)	No se pueden dar límites generales
Integridad	Tabletas (DT, ST y WT)	Asegurar que las tabletas permanezcan intactas hasta ser usadas y, de esta manera, evitar riesgos derivados del polvo y asegurar que se aplique siempre la dosis prevista	No debe haber presencia de tabletas rotas. El grado de integridad deberá expresarse como porcentaje del peso

<b>iv. Propiedades granulométricas, de fragmentación y de adhesividad</b>			
Adherencia a las semillas	Todas las formulaciones para tratamiento de semillas.	Asegurar que la dosis prevista permanezca adherida a las semillas y no pueda ser removida fácilmente, ya que su desprendimiento incrementaría los riesgos durante la manipulación, y afectaría la eficacia  (Método: MT 194, MT 83). MT 194 es actualmente el método preferido.	No se pueden dar límites generales
Rango de tamaño de partículas.	Formulaciones de fase múltiple, si es apropiado	Restringir el tamaño de partículas suspendidas a la suficiente dimensión de rango, para asegurar una eficacia óptima y/o seguridad del producto. (Method: MT 187)	Límites usualmente dependientes del producto.
Dureza de Tabletas	Tabletas que no deben desmoronarse antes o durante la aplicación.	Asegurar que las tabletas permanezcan intactas durante el manejo y aplicación.	Límites usualmente dependientes del producto.
<b>v. Propiedades de dispersión</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
Dispersibilidad y espontaneidad de la dispersión	Suspensiones concentradas (SC), suspo-emulsiones (SE), suspensiones acuosas de encapsulados (CS) y gránulos dispersables en agua (WG)	Asegurar que la formulación se disperse fácil y rápidamente al diluirse en agua  (Método: MT 160; MT 174)	Para Espontaneidad de la dispersión (MT 160) un mínimo de 60 % de ingrediente activo debe permanecer en suspensión. Para MT 174, un mínimo de dispersibilidad de 60 % (suspensibilidad total determinada gravimétricamente), debe permanecer en suspensión.

<b>v. Propiedades de dispersión</b>			
Tiempo de desintegración y grado de dispersión o disolución	Tabletas solubles (ST) y tabletas dispersables en agua (WT)	Asegurar que las tabletas solubles o dispersables se desintegren rápidamente al agregarse al agua y que la formulación se disperse o disuelva rápidamente.	Máximo tiempo de desintegración de la tableta completa: segundos (ó minutos)
Suspensibilidad	Polvos mojables (WP), suspensiones concentradas (SC), suspensiones de encapsulado (CS), y gránulos dispersables en agua (WG).	Asegurar que una cantidad suficiente del ingrediente activo esté homogéneamente disperso en suspensión en el caldo, a fin de mantener una mezcla satisfactoria y eficaz durante la aplicación  (Método: MT 15.1, MT 161, MT 168, MT 177, MT 184). MT 184 es actualmente el método preferido.	En el caso de polvos mojables, suspensiones concentradas, suspensiones de encapsulado y gránulos dispersables en agua, no menos del 60% de ingrediente activo deberá permanecer en suspensión
Estabilidad de la dispersión	Suspo-emulsiones (SE), gránulos emulsificables (EG), polvos emulsificables (EP), concentrados dispersables (DC) y suspensiones concentradas base aceite (OD).	Asegurar que una cantidad suficiente del ingrediente activo se disperse homogéneamente en suspensión y emulsión en el caldo, para obtener una mezcla satisfactoria y efectiva durante la aplicación.  (Método: MT 180)	La formulación, diluida a $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ (a menos que se requieran otras temperaturas) con Aguas Estándar A y D CIPAC, deberá cumplir con determinados límites de estabilidad a diferentes tiempos (0, 0.5, 24 y 24.5 horas)
Estabilidad de la emulsión y re-emulsificación	Concentrados emulsionables (EC), emulsiones aceite en agua (EW), emulsiones para tratamiento de semillas (ES) y micro-emulsiones (ME)	Asegurar que una cantidad suficiente del ingrediente activo se disperse homogéneamente en emulsión, para formar una mezcla satisfactoria y efectiva durante la aplicación  (Método: MT 36.1, MT 36.3, MT 183). El método preferido es MT 36.3	La formulación, diluida a $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (a menos que se requieran otras temperaturas) con Aguas Estándar A y D CIPAC, deberá cumplir con determinados límites de estabilidad a diferentes tiempos (0, 0.5, 2, 24 y 24.5 horas)

<b>vi. Propiedades de flujo</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
Floabilidad (Fluidez)	Gránulos dispersables en agua (WG), gránulos solubles en agua (SG), gránulos (GR) y gránulos emulsificables (EG).	Asegurar que los polvos de aplicación directa fluyan libremente desde la maquinaria de aplicación; y asegurar que los granulados o polvos dispersables en agua o solubles en agua fluyan libremente en lugar de aglutinarse, después del almacenamiento.  (Método: MT 172)	No se pueden dar límites generales
Vertido/vaciado	Suspensiones concentradas (SC, FS y OD), suspensiones acuosas de encapsulados (CS), suspo-emulsiones (SE) y formulaciones de similar viscosidad; también puede aplicarse a formulaciones en solución, tales como concentrados solubles (SL) y concentrados emulsionables (EC)	Asegurar que las formulaciones tengan propiedades que les permitan ser vertidas fácilmente de los envases  (Método: MT 148.1)	Residuo" máximo: 5 %.  Nota: el "residuo" es la porción de la formulación que queda en el cilindro.
Viscosidad	Aplicable a formulaciones UL	Asegurar que las formulaciones tipo UL, tengan propiedades de viscosidad adecuadas para su uso.  (Método: MT 192, MT 22)	Límites dependientes del producto.
<b>vii. Propiedades de solución y disolución</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
Acidez, alcalinidad o pH	Aplicable a cualquier producto	Minimizar la potencial descomposición del ingrediente activo, el deterioro de las propiedades físicas de la formulación, o la potencial corrosión del envase.  (Método: MT 31, MT 191, MT 75.3)	No se pueden dar límites generales.  La acidez y la alcalinidad deben expresarse como g/Kg. de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y NaOH, indistintamente de la naturaleza de las especies del ácido o álcali presentes. El pH se debe expresar como un rango con límite superior e inferior, así como con el dato de temperatura.

<b>vii. Propiedades de solución y disolución</b>			
Miscibilidad con aceites hidrocarbonados	Aplicable a cualquier formulación diseñada para ser diluida con aceite antes de usar (p. ej. OL)	Asegurar que se produzca una mezcla homogénea cuando una formulación es diluida con aceite.  (Método: MT 23)	No se pueden dar límites generales.
Disolución de bolsas hidrosolubles	Aplicable a todas las formulaciones envasadas en bolsas hidrosolubles	Asegurar que las formulaciones envasadas en bolsas hidrosolubles se dispersen o disuelvan y no tapen los filtros o las boquillas del equipo de aplicación.  (Método: MT 176)	Un valor adecuado podría ser un máximo de 30 segundos
Grado de disolución y/o estabilidad de la solución	Aplicable a todas las formulaciones hidrosolubles	Asegurar que las formulaciones hidrosolubles se disuelvan rápidamente y, una vez diluidas, producen soluciones estables sin precipitación, floculación, etc.; los concentrados solubles produzcan soluciones estables al diluirse.  (Método: MT 179, MT 41.1)	No se pueden dar límites generales.
<b>viii. Propiedades de estabilidad en almacenamiento</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
Estabilidad a 0 °C y a altas temperaturas	Estabilidad a 0 °C: aplicable a todas las formulaciones líquidas.	Estabilidad a 0 °C: asegurar que las propiedades de las formulaciones no sean afectadas adversamente por el almacenamiento durante períodos de frío, respecto de las propiedades de dispersión y de granulometría.  (Método: MT 39.3)	Estabilidad a 0°C: después de un almacenamiento a 0 ± 2°C por 7 días, la formulación deberá seguir cumpliendo con los requisitos de las cláusulas para dispersión inicial, estabilidad de emulsión o suspensión, y prueba de tamizado húmedo. La cantidad máxima normal permitida de sólidos y líquidos separados será de 0,3 ml.

<b>viii. Propiedades de estabilidad en almacenamiento</b>			
<b>Propiedad</b>	<b>Formulaciones a las que aplica</b>	<b>Finalidad</b>	<b>Requisito</b>
	Estabilidad a temperatura elevada: aplicable a todas las formulaciones.	<p>Estabilidad a temperatura elevada: asegurar que las propiedades de las formulaciones no sean afectadas por el almacenamiento a alta temperatura, y evaluar su estabilidad a largo plazo en almacenamiento con una temperatura más moderada, en lo que respecta al contenido de ingrediente activo (y un posible incremento de impurezas significativas) y a las propiedades físicas.</p> <p>(Método: MT 46.3)</p>	<p>Estabilidad a temperatura elevada: después de un almacenamiento a <math>54 \pm 2</math> °C por 14 días, la formulación deberá seguir cumpliendo con los requisitos de las cláusulas apropiadas referidas al contenido de ingrediente activo, impurezas significativas, granulometría y dispersión. El contenido de ingrediente activo no deberá descender a menos del 95% del contenido previo a la prueba, y las propiedades físicas significativas no deberán cambiar al punto que puedan afectar la aplicación y/o la seguridad. Debe proveerse información adicional si la degradación del ingrediente activo excede el 5 % o alguna propiedad física es afectada. Por ejemplo, los productos de degradación deben ser identificados y cuantificados. En formulaciones de 1 % o menos, pueden darse requisitos analíticos de identificar los productos de degradación que pueden estar únicamente a niveles de 0.05 %. En tales casos, se debe aportar evidencias disponibles y argumentos científicos sobre los posibles productos de degradación.</p> <p>Cuando la formulación no sea adecuada ni haya sido prevista para usarse en climas cálidos, y sea afectada adversamente por temperaturas muy altas, las condiciones de la prueba pueden ser modificadas. Probablemente sea necesario evitar temperaturas que excedan los 50 °C cuando la formulación esté envasada en bolsas hidrosolubles. Las condiciones alternativas son: 4 semanas a <math>50 \pm 2</math> °C; 6 semanas a <math>45 \pm 2</math> °C; 8 semanas a <math>40 \pm 2</math> °C; 12 semanas a <math>35 \pm 2</math> °C ó 18 semanas a <math>30 \pm 2</math> °C.</p> <p>En general, se espera que las formulaciones sigan siendo aptas para uso después de un almacenamiento (en envases originales intactos) de por lo menos 2 años desde la fecha de liberación, siempre y cuando los envases hayan sido almacenados de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta</p>

## B. Comportamiento de los plaguicidas

### B.1. Riesgo a humanos y animales (toxicología)

La evaluación del riesgo para humanos se lleva a cabo mediante un proceso de cuatro etapas:

1. Identificación de la Peligrosidad (Toxicidad): qué efecto es causado por el agente (sustancia química).
2. Evaluación de Dosis – Respuesta: qué efectos a la salud son observados a diferentes niveles de exposición.
3. Evaluación de la Exposición: descripción cuantitativa de la exposición a, por ejemplo, trabajadores y consumidores.
4. Caracterización del Riesgo: evaluación de si el riesgo dado por la exposición al agente es considerada aceptable.

En el Anexo III se hace una descripción resumida de las características de los diferentes estudios toxicológicos de acuerdo con las directrices OECD<sup>5</sup>.

Los estudios toxicológicos se pueden dividir en dos grandes grupos, a saber:

- ◆ Fenomenológicos, y
- ◆ Mecanísticos.

#### B.1.a. Estudios fenomenológicos

El objetivo de los estudios fenomenológicos es encontrar lo que afecta el producto evaluado: células, tejidos, órganos, sistemas, etc., así como la magnitud de los efectos. Forman la base de la toxicología, de acuerdo con el principio de Paracelsus, "la dosis hace el veneno". El aspecto más importante de la evaluación es determinar la relación dosis / respuesta, o sea, la cantidad de exposición a la sustancia evaluada en relación con la incidencia o severidad de los efectos observados.

De acuerdo con la duración de la exposición y al sistema evaluado, los estudios fenomenológicos se pueden clasificar en:

- ◆ Agudos
- ◆ Sub-crónicos
- ◆ Crónicos y de carcinogénesis
- ◆ Reproducción y desarrollo (teratogénesis)
- ◆ Neurotoxicidad
- ◆ Genotoxicidad

Para la mayoría de los estudios mencionados, los animales utilizados son obtenidos de fuentes certificadas para garantizar que estén sanos, sean genéticamente similares y que tengan un historial debidamente documentado en aspectos tales como ocurrencia de tumores y otras enfermedades.

5 OECD: The Organisation for Economic Co-operation and Development

Se utilizan diferentes tipos de animales como ratones, ratas, conejos, perros, entre otros, porque se conoce su sensibilidad a ciertos efectos, y que la respuesta toxicológica a la exposición es comparable a la de los humanos.

### *B.1.a.i. Estudios de Toxicidad Aguda*

Los estudios de toxicidad aguda están diseñados para evaluar la peligrosidad de las sustancias en una sola exposición, o en exposiciones repetidas en un corto período de tiempo, máximo 24 horas. Llevan a estimar las dosis mínimas que causarían muerte en los animales de prueba.

Se evalúa en los animales de prueba aquellas rutas (oral, dermal, inhalatoria) a las cuales se pudieran ver expuestos los humanos a las sustancias, con el fin de generar información sobre la peligrosidad probable a la salud en el corto plazo.

La información generada en los estudios de toxicidad aguda es la base para la caracterización de peligrosidad de las sustancias; es utilizada para la clasificación toxicológica a través del etiquetado. Además, es la base para el establecimiento del régimen de dosificación para los estudios posteriores de toxicidad sub-crónica y otros. Pueden proveer información sobre absorción y el modo de acción tóxica de las sustancias evaluadas. Otra información que se puede obtener a partir de estos estudios incluye: la relación – si la hubiera – entre la exposición de los animales y la incidencia y severidad de todas las anomalías, incluyendo anomalías en el comportamiento y clínicas, la reversibilidad de las anomalías observadas, lesiones generales, cambios en el peso corporal, efectos en la mortalidad, entre otros.

Aunque se recomienda un período de observación de 14 días, el mismo no debe ser rígido ya que deberá estar determinado por las reacciones tóxicas y los momentos en que las mismas aparecen, así como los períodos de recuperación. Son muy importantes los tiempos en los cuales los signos de toxicidad aparecen y desaparecen, especialmente si existe una tendencia de retardo en los mismos.

Todos los animales, incluyendo aquellos que murieron durante la prueba o fueron removidos por razones humanitarias, deben someterse a una necropsia general. Es recomendable también llevar a cabo exámenes microscópicos de aquellos órganos que mostraron evidencia de patología general en animales que sobrevivieron las 24 horas o más de la prueba, ya que puede generar información útil.

La toxicidad aguda se evalúa a través de la siguiente batería de estudios, que involucra las diferentes rutas probables de exposición:

- ◆ Oral
- ◆ Dermal
- ◆ Inhalación
- ◆ Irritación dermal y ocular
- ◆ Sensibilización dermal

### **Toxicidad oral aguda**

La toxicidad oral aguda es el efecto adverso que ocurre por una sola ingestión o ingestiones repetidas durante un período corto (máximo 24 horas). La sustancia de



prueba es administrada a través de una sonda estomacal o cánula, que permite colocarla directamente en el estómago.

Los estudios de toxicidad oral aguda permiten calcular el valor de  $DL_{50}$  (dosis letal media) oral, que es la dosis de la sustancia derivada estadísticamente, que se puede esperar que cause la muerte del 50 % de los animales de prueba, cuando se administra por la vía oral. La  $DL_{50}$  se expresa en términos de peso de la sustancia evaluada por unidad de peso del animal (mg/Kg.).

Los animales son observados individualmente por lo menos una vez durante los primeros 30 minutos después de la dosificación; en forma periódica durante las primeras 24 horas, dando especial atención durante las primeras 4 horas; y posteriormente en forma diaria hasta los 14 días, excepto cuando los animales necesiten ser removidos del estudio y ser sacrificados, debido a fuertes padecimientos.

### Toxicidad dermal aguda

La toxicidad dermal aguda es el efecto adverso que ocurre por exposición a través de la piel de la sustancia evaluada. Los estudios de toxicidad dermal aguda permiten calcular el valor de  $DL_{50}$  (dosis letal media) dermal, que es la dosis estadísticamente derivada de la sustancia, que se puede esperar que cause la muerte del 50 % de los animales de prueba. La  $DL_{50}$  se expresa en términos de peso de la sustancia evaluada por unidad de peso del animal (mg/Kg.).

Las especies animales utilizadas son ratas, conejos o cobayos. El conejo albino es el preferentemente utilizado debido a su tamaño, facilidad de manejo, permeabilidad de la piel y extensa información disponible. Generalmente se hace la evaluación en los dos sexos.

Cuando se conoce que la dosificación de una sustancia determinada pueda causar severo dolor o estrés a los animales, debido a sus características corrosivas o irritantes, no es necesario llevar a cabo la prueba.

La sustancia a evaluar debe ser aplicada uniformemente sobre un área afeitada del animal de aproximadamente un 10 % de la superficie del cuerpo. Con sustancias altamente tóxicas, dicha superficie puede ser menor. El material no se remueve hasta pasadas 24 horas de la aplicación.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto una clasificación toxicológica con base en los valores de  $DL_{50}$  oral y dermal, tal como se ilustra en la siguiente tabla.

**Tabla 6:** clasificación toxicológica propuesta por la OMS de acuerdo a la toxicidad aguda

Clasificación OMS		$DL_{50}$ rata (mg/kg peso corporal)	
		Oral	Dermal
Ia	Extremadamente peligrosa	< 5	< 50
Ib	Altamente Peligrosa	5 - 50	50 - 200
II	Moderadamente peligrosa	50 - 2000	200 - 2000
III	Ligeramente peligrosa	Sobre 2000	Sobre 2000
U	Improbable de presentar toxicidad aguda	5000 ó mayor	

Fuente: IPCS. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2009

Para mayor información sobre la clasificación toxicológica vigente de la OMS, se puede acceder al siguiente portal: [http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard/en/](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard/en/)

Cabe aclarar que dependiendo de la normativa regulatoria que se trate (ej. Norma Andina, Brasil, etc.), la clasificación toxicológica puede variar, al contemplar otros valores o rangos de toxicidad.

### **Toxicidad Inhalatoria**

La toxicidad inhalatoria aguda es el efecto adverso causado después de una sola exposición por inhalación ininterrumpida por un período corto de tiempo (24 horas o menos), a una sustancia capaz de ser inhalada.

Los estudios de toxicidad inhalatoria aguda permiten calcular el valor de  $CL_{50}$  (concentración letal media) inhalatoria, que es la concentración estadísticamente derivada de la sustancia, que se puede esperar que cause la muerte del 50 % de los animales expuestos. La  $CL_{50}$  se expresa en términos de peso de la sustancia evaluada por unidad de volumen de aire (miligramos por litro) o partes por millón.

Los animales deben ser evaluados con equipos inhalatorios diseñados para mantener un flujo de aire de al menos 10 cambios de aire por hora, un contenido de oxígeno de al menos 19 %, y condiciones uniformes en toda la cámara de exposición.

Aunque se pueden utilizar varias especies de animales mamíferos, la especie preferida es la rata.

De acuerdo con la directiva actual de la Unión Europea, los estudios de toxicidad inhalatoria se deben llevar a cabo en plaguicidas que tengan alguna de las siguientes características:

- ◆ Sea un gas o gas licuado
- ◆ Sea un fumigante o formulación que genere humo
- ◆ Sea una preparación que libera vapor
- ◆ Sea utilizado con equipo de nebulización
- ◆ Sea un aerosol
- ◆ Contenga un ingrediente activo con una presión de vapor  $> 1 \times 10^{-2}$  Pa y es para ser utilizado en espacios cerrados tales como bodegas o invernaderos
- ◆ Sea un polvo que contenga una proporción significativa de partículas con diámetro  $< 50 \mu\text{m}$  ( $> 1\%$  con base peso)
- ◆ Sea para ser aplicado por avión en casos en que la exposición por inhalación es relevante
- ◆ Sea para ser aplicado de manera que genere una proporción significativa de partículas o gotas de diámetro  $< 50 \mu\text{m}$  ( $> 1\%$  con base peso)

### **Corrosión / Irritación dermal**

La corrosión dermal es la producción de daño irreversible en tejidos de la piel debido a la aplicación de una sustancia. Por su lado, la irritación dermal es la producción de cambios inflamatorios reversibles en la piel.



La sustancia de prueba es aplicada en una sola dosificación a la piel de los animales de experimentación. El grado de irritación es evaluado a intervalos específicos. La duración del estudio debe ser lo suficiente para permitir una completa evaluación de reversibilidad o irreversibilidad de los efectos observados, pero se necesita que no exceda los 14 días.

Sustancias fuertemente ácidas (pH igual o menor a 2) o fuertemente alcalinas (pH igual o mayor a 11,5) no requieren ser evaluadas. Tampoco es necesario evaluar sustancias que hayan mostrado ser altamente tóxicas ( $DL_{50}$  menor a 200 mg/Kg.) por la vía dermal, o que hayan mostrado no producir irritación a la piel a la dosis límite de 2000 mg/Kg. de peso corporal.

El conejo albino es la especie preferible para esta prueba.

### **Corrosión / Irritación ocular**

La información que se deriva de esta prueba sirve para indicar la existencia de posibles peligros que se podrían dar por la exposición ocular y las membranas mucosas asociadas.

Corrosión ocular es la producción de daño irreversible a los tejidos oculares por la aplicación de la sustancia a la superficie anterior del ojo. Irritación ocular por su lado, es la producción de cambios reversibles en el ojo.

La sustancia de prueba se aplica en una sola dosificación a uno de los ojos en cada uno de los animales experimentales. El ojo no tratado es usado como control (testigo). El grado de irritación/corrosión se evalúa a intervalos específicos. La duración del estudio debe ser lo suficiente para permitir una evaluación total de la reversibilidad o irreversibilidad de los efectos observados. El período de observación debe ser de al menos 72 horas, pero se necesita que no exceda los 21 días. Los animales que muestren signos severos de dolor y estrés, deben ser sacrificados de una forma humanitaria.

Sustancias fuertemente ácidas (pH igual o menor a 2) o alcalinas (pH igual o mayor a 11,5), no requieren ser evaluadas. Tampoco aquellas que hayan demostrado corrosión o irritación severa en los estudios dermales.

Se recomienda llevar a cabo este estudio con conejos albinos adultos.

### **Sensibilización dermal**

Una sustancia química sensibilizante es aquella que causa en una sustancial proporción de animales o personas expuestas, una reacción alérgica en tejidos normales, después de exposición repetida.

Ciertos químicos carecen de efectos inmediatos a la salud, pero ante la exposición repetida a los mismos, puede producir reacción alérgica a otras sustancias. Un ejemplo clásico es el formaldehído ( $CH_2O$ ). Reacciones típicas a sensibilizadores pueden incluir desórdenes en la piel tales como eczemas.

Las especies comúnmente empleadas son el cobayo y el ratón.

### *B.1.a.ii. Estudios de Toxicidad Subcrónica*

Los estudios de toxicidad subcrónica están diseñados para evaluar el efecto de dosis repetidas de las sustancias objeto de experimentación, durante un período de tiempo relativamente corto, que puede ir desde 14 a 90 días. A diferencia de los estudios de toxicidad aguda, los estudios subcrónicos no tienen como objetivo encontrar las dosis que producen mortalidad a los animales de prueba, sino más bien analizar los efectos tóxicos sobre tejidos, órganos, sistemas, que podrían llegar a producir dosis subletales del producto. Las dosis evaluadas están por debajo de aquella que produjo mortalidad en los estudios de toxicidad aguda. Los estudios subcrónicos permiten además determinar los Niveles de No Efecto Adverso Observado (NOAEL, por sus siglas en inglés), que es la dosis máxima utilizada que no produce ningún efecto adverso en los animales de experimentación. El NOAEL se expresa usualmente en términos de peso de la sustancia evaluada administrada diariamente, por unidad de peso corporal del animal (miligramos por kilogramo por día).

Estos estudios no son capaces de determinar aquellos efectos que requieren de un largo período de latencia para desarrollarse, como son por ejemplo los efectos cancerígenos.

Sirven además para seleccionar las dosis que se utilizarían en los estudios crónicos, así como para establecer los criterios de seguridad en relación con la exposición humana.

En el diseño de los estudios de toxicidad subcrónica, se evalúan aquellas rutas de exposición que podrían ser relevantes para los humanos. Los estudios requeridos comúnmente para evaluar la toxicidad subcrónica, son los siguientes:

- ◆ Toxicidad oral con dosis repetidas durante 28 días en roedores: este estudio da énfasis a efectos neurotóxicos potenciales, que podrían requerir estudios más especializados. Se evalúan además, posibles efectos inmunológicos y sobre los órganos reproductivos. La principal especie roedora utilizada es la rata, aunque se podrían utilizar otras.
- ◆ Toxicidad oral con dosis repetidas durante 90 días, en roedores y no roedores: estos estudios proveen información útil en los órganos que se afectan, posibilidades de acumulación, y para seleccionar los niveles de dosis para los estudios crónicos, así como para establecer los criterios de seguridad para la exposición de humanos a la sustancia.
- ◆ Toxicidad dermal con dosis repetidas durante 21-28 o 90 días: este estudio provee información útil sobre el grado de absorción percutánea que se podría dar por exposición a la sustancia, órganos que se verían afectados, posibilidades de acumulación, para seleccionar los niveles de dosis para los estudios de más largo plazo por la vía dermal, así como para el establecimiento de criterios de seguridad para los humanos. Especies como la rata, el conejo o el cobayo pueden ser utilizados en esta prueba.
- ◆ Toxicidad inhalatoria con exposición repetida durante 28 o 90 días: este estudio provee información en órganos que se podrían afectar, posibilidades de acumulación, establecimiento de los niveles de dosis para los estudios crónicos, así como para establecer los criterios de seguridad por exposición para los humanos. La peligrosidad por inhalación de las sustancias está influen-

ciada por su toxicidad inherente, así como por factores físicos tales como volatilidad y tamaño de las partículas.

### ***B.1.a.iii. Estudios de Toxicidad Crónica y de Carcinogenicidad***

El objetivo de los estudios de toxicidad crónica es determinar los efectos de las sustancias en especies mamíferas, por exposición repetida y prolongada por las vías oral, dermal o inhalatoria, durante la mayor parte de la vida de los animales de experimentación. El diseño de los estudios debe permitir la detección de efectos tóxicos generales de tipo neurológico, fisiológico, bioquímico, hematológico, así como morfológicos (patológicos) relacionados con la exposición.

Los estudios típicos solicitados para evaluar la toxicidad crónica/carcinogénesis son los siguientes:

- ◆ Un estudio de largo plazo de toxicidad oral y uno de largo plazo sobre carcinogénesis (2 años) de la sustancia activa en ratas. Cuando es posible, estos dos estudios se pueden combinar en uno.
- ◆ Un segundo estudio sobre carcinogenicidad de la sustancia activa utilizando al ratón como especie a tratar, a menos que se pueda justificar científicamente que no es necesario. En tal caso, se pueden utilizar modelos alternativos de carcinogenicidad validados científicamente.
- ◆ Genotoxicidad: en un proceso escalonado se inicia con la prueba *in-vitro*, y si es necesario, se sigue con estudios *in-vivo*.
- ◆ Toxicidad reproductiva: estudio conducido en ratas durante dos generaciones. Alternativamente, se puede considerar extender los estudios de toxicidad reproductiva a una generación más, de acuerdo a OECD.
- ◆ Toxicidad al desarrollo o teratogenicidad: en ratas y conejos por la vía oral. La prueba en ratas no tendría que llevarse a cabo, si la toxicidad al desarrollo ha sido adecuadamente evaluada como parte de los estudios de toxicidad reproductiva ampliada a una generación.

### ***B.1.a.iv. Genotoxicidad***

El propósito de los estudios de genotoxicidad es el siguiente:

- ◆ Predecir potencial genotóxico.
- ◆ Identificar carcinógenos genotóxicos en una etapa temprana.
- ◆ Elucidar los mecanismos de acción de algunos cancerígenos.

Se utilizan los niveles de dosis adecuados, dependiendo de los requisitos de cada prueba, tanto en los estudios *in-vitro* como *in-vivo*. Se emplea un proceso escalonado (conocido en inglés como "tiered approach"), pasando a los escalones (o tiers) más avanzados según la interpretación de los resultados en cada etapa o escalón.

En un primer escalón (Tier I) tendríamos los siguientes estudios:

- ◆ Mutagenicidad *in-vitro* en bacterias: se utilizan cepas de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* para detectar en las mismas puntos de mutación.

- ◆ Mutagenicidad *in-vitro* en genes de células de mamíferos.
- ◆ Aberraciones cromosómicas *in-vitro* utilizando células somáticas de mamíferos.

Para el segundo escalón (Tier II), se conducen los siguientes estudios:

- ◆ Prueba *in-vivo* de micronúcleos en eritrocitos de mamíferos: se utilizan células de médula ósea y/o células sanguíneas periféricas, usualmente de roedores (ratones y ratas).
- ◆ Prueba *in-vivo* sobre aberraciones cromosómicas de médula ósea de mamíferos.
- ◆ Estudio *in-vivo* en mamíferos de síntesis no programada de ADN, utilizando células del hígado de ratas.

Tercer escalón (Tier III):

- ◆ Estudio *in-vivo* sobre aberración en mamíferos de cromosomas de células espermatogónicas.

Cuando se conducen estudios de genotoxicidad *in-vivo* como los que se indican en los escalones II y III, se evalúa en los animales de experimentación únicamente las rutas de exposición y métodos relevantes (tales como administración en la dieta, en el agua, aplicación en la piel, inhalación, fístula esofágica). Debe existir evidencia convincente de que los tejidos relevantes a evaluar, son realmente alcanzados por las rutas escogidas de exposición y los métodos de aplicación. Otras técnicas de exposición (tales como intraperitoneal e inyección subcutánea), que podrían implicar cinética, distribución y metabolismo anormal, deben ser justificadas.

### ***B.1.a.v. Toxicidad reproductiva y del desarrollo (teratogénesis)***

#### **Toxicidad en la Reproducción:**

Los estudios generacionales reportados, junto con información relevante sobre la sustancia activa, deben ser suficientes para permitir identificar los efectos en la reproducción, después de una exposición repetida a la sustancia y en particular deben ser suficientes para:

- (a) Identificar efectos directos e indirectos en la reproducción, resultante de la exposición a la sustancia activa.
- (b) Identificar cualquier efecto adverso no-reproductivo que ocurra a dosis menores a las utilizadas en las pruebas de toxicidad de corto plazo y crónicas.
- (c) Establecer los NOAEL's para toxicidad parental, efectos reproductivos y desarrollo de las crías.

Es requerido un estudio de toxicidad reproductiva en ratas sobre por lo menos dos generaciones. Extenderlo a otra generación, de acuerdo a OECD, puede ser considerado como un enfoque alternativo al estudio multi-generacional.

Cuando sea necesario para una mejor interpretación de los efectos en la reproducción, estudios adicionales podrían ser necesarios para proveer información sobre efecto en los géneros y los posibles mecanismos.

#### Toxicidad en el Desarrollo:

Los estudios de toxicidad en el desarrollo reportados, junto con información relevante sobre la sustancia activa, deben ser suficientes para permitir la evaluación de los efectos en el desarrollo embrionario y fetal, después de una exposición repetida a la sustancia, y en particular debe ser suficiente para:

- (a) Identificar efectos directos e indirectos en el desarrollo embrionario y fetal resultantes de la exposición a la sustancia activa.
- (b) Identificar cualquier toxicidad materna.
- (c) Establecer la relación entre las respuestas observadas y las dosis en ambos, la madre y la descendencia.
- (d) Establecer los NOAEL's para la toxicidad materna y el desarrollo de las crías.
- (e) Proveer información adicional sobre efectos adversos en hembras preñadas en comparación con no preñadas.
- (f) Proveer información adicional sobre cualquier aumento en efectos tóxicos generales en animales preñados.

Los estudios de toxicidad al desarrollo se llevan a cabo en ratas y conejos utilizando la ruta de exposición oral. El estudio en ratas se puede obviar si la toxicidad al desarrollo ha sido adecuadamente evaluada como parte de los estudios de toxicidad a la reproducción, extendiendo a una generación adicional.

#### ***B.1.a.vi. Neurotoxicidad***

Una batería de testes estandarizados de neurotoxicidad determina la neurotoxicidad retardada que resulta de la exposición a las sustancias anticolinérgicas, como son ciertos plaguicidas. Las gallinas son protegidas del efecto neurológico inmediato de la sustancia, y observadas durante 21 días para detectar neurotoxicidad retardada.

Otras pruebas de neurotoxicidad incluyen las siguientes mediciones:

- ◆ Actividad motora: se utilizan ratas o ratones, a los cuales se les evalúa su capacidad disminuida de moverse en espacios cerrados.
- ◆ Conducción nerviosa periférica: se exponen roedores durante 90 días a las sustancias de prueba y se evalúan la conducción eléctrica en nervios motores y sensoriales.
- ◆ Neuropatología: a través de exámenes microscópicos se evalúa el daño a los nervios.

### B.1.a.vii. Interpretación y aplicación de la información toxicológica

#### Dosis de referencia

La dosis de referencia, expresada en la literatura como RfD (“reference dose”), es la cantidad estimada de una sustancia a la que podría estar expuesta una persona a través de la comida, el agua y otras fuentes durante toda su vida, sin que le cause un riesgo apreciable en su salud. Se le conoce también como Ingesta Diaria Admisible (conocida en inglés como ADI: Accceptable Daily Intake), y se mide en miligramos de ingrediente activo del plaguicida por kilogramo de peso corporal de la persona por día (mg/Kg./día).

La RfD o ADI se calcula a partir del NOAEL<sup>6</sup>, que es el nivel más alto evaluado del plaguicida en los estudios toxicológicos correspondientes, que no causa un efecto adverso observable. Los valores de NOAEL obtenidos en las diversas pruebas toxicológicas con animales, se divide por lo que se llaman factores de incertidumbre, con el fin de extrapolar dichos valores al hombre y convertirlos así, tal como se explicó antes, en la RfD o ADI.

Los factores de incertidumbre típicamente utilizados son 10 x 10, que nos produce un factor total de 100, según el siguiente criterio:

- ◆ Primer factor 10, por la variabilidad ínter especie: para extrapolar de los animales de laboratorio al hombre, asumiendo que éste es 10 veces más susceptible que aquellos.
- ◆ Segundo factor 10, por la variabilidad intra especie: para extrapolar dentro de los seres humanos a aquellos más susceptibles, asumiendo que se pueden encontrar personas 10 veces más susceptibles.

De esta manera se calcula la RfD o ADI de la siguiente manera:

$$\text{RfD (o ADI)} = \text{NOAEL} / 10 \times 10$$

A criterio de las diferentes agencias regulatorias en el mundo, debido a otros factores de incertidumbre (ej. Carencia de datos en los estudios disponibles o protección a grupos sensibles), algunos reguladores agregan más factores de incertidumbre que se multiplican al factor 100 antes citado, lo cual lleva a un valor de RfD o ADI mucho más bajo, ya que el NOAEL se estaría dividiendo por un valor más grande.

### B.1.b. Estudios mecanísticos

Los estudios mecanísticos detallan los procesos por los cuales se manifiestan los efectos. Algunos tipos de estudios determinan cómo las sustancias evaluadas son absorbidas, distribuidas, metabolizadas y eliminadas de un organismo determinado. Otros tipos identifican los procesos fisiológicos y/o bioquímicos afectados por la sustancia.

Siendo el hígado el órgano que con más frecuencia es sujeto a daños toxicológicos, se ha desarrollado una variedad de pruebas con el fin de demostrar que la hepato-

6 NOAEL: siglas correspondientes a “Non Observable Adverse Effect Level” (Nivel de No Efecto Adverso Observable)

toxicidad y los tumores en el hígado, son inducidos a través de mecanismos de acción no relevantes para los humanos.

Los estudios ADME que corresponde a Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción, están comprendidos en las pruebas mecánicas. Ellos brindan información esencial para entender la ocurrencia de efectos tóxicos, las rutas de excreción, e indican sobre los riesgos de bio-acumulación de la sustancia activa en tejidos y órganos. Los estudios ADME se llevan a cabo con sustancias activas radio-marcadas.

### ***B.1.b.i. Absorción***

Absorción es el transporte de un químico desde la superficie de absorción al torrente sanguíneo. Los mecanismos de absorción que pueden intervenir para llevar los químicos al torrente sanguíneo son los siguientes:

- ◆ Ingestión, a través del tracto gastrointestinal.
- ◆ Dermal, por transporte a través de la piel.
- ◆ Inhalación, a través del tracto respiratorio.

### ***B.1.b.ii. Distribución***

Es el movimiento del químico desde el torrente sanguíneo hacia diferentes órganos, como podrían ser el cerebro, hígado, riñones, pulmones, etc.

### ***B.1.b.iii. Metabolismo***

Es importante en primer lugar entender si un plaguicida es transformado y de qué manera dentro de un organismo. Metabolismo es el término general utilizado para procesos bióticos que llevan a cambios químicos en las sustancias, como es el caso de metabolitos formados por reacciones químicas inducidas por enzimas.

Procesos abióticos por factores físicos tales como luz solar o hidrólisis, llevan al desdoblamiento del compuesto parental, produciendo los llamados productos de degradación.

Los estudios de metabolismo se llevan a cabo tanto en animales como en plantas, con el fin de evaluar la relevancia para los consumidores de las nuevas sustancias formadas. Estas sustancias pueden ser iguales o menos tóxicas que los compuestos parentales, pero algunas veces son también más tóxicas. De esta manera, es importante entender qué compuestos se han formado y en qué cantidad.

Dependiendo de sus propiedades físico-químicas, los metabolitos pueden ser degradados o excretados rápidamente, o pueden tener el potencial para bio-acumulación en partes de plantas, animales y en última instancia en tejidos humanos.

En estudios de metabolismo en animales de laboratorio (ratas) y en ganado, se dosifica el plaguicida y se investiga cómo es metabolizado (alterado químicamente) dentro del organismo, qué tan rápido los metabolitos son degradados o excretados vía orina y heces, y si existe algún potencial de transferencia a los tejidos.

### B.1.b.iv. Excreción

Las principales rutas de excreción de aquellas sustancias producto del metabolismo denominadas metabolitos, son la biliar, la urinaria y la exhalación. A través del hígado, sustancias liposolubles pueden pasar a la bilis y finalmente a las heces para su final eliminación. Los riñones producen excreción a través de la orina de sustancias solubles al agua. Los pulmones también pueden jugar un papel importante de eliminación de sustancias orgánicas volátiles y CO<sub>2</sub>, a través de la espiración.

## B.2. Riesgo para organismos No Objetivo (ecotoxicología)

La ecotoxicología evalúa los posibles efectos adversos que se podrían derivar del uso de los plaguicidas en las especies, poblaciones, comunidades y el ambiente natural. Su propósito es caracterizar los riesgos en los diferentes objetivos antes mencionados, con el fin de proponer las medidas correspondientes de mitigación.

En el Anexo IV se hace una descripción resumida de las características de los diferentes estudios ecotoxicológicos de acuerdo con las directrices OECD.

La información generada en mamíferos con los plaguicidas durante el programa de estudios de toxicología y metabolismo, sirven para indicar las propiedades toxicológicas de los compuestos, su modo de acción, así como los órganos blanco. Dicha información resulta útil además para identificar la peligrosidad de los productos para otros grupos de organismos.

### B.2.a. Aves

Para aves, la secuencia de pruebas debe empezar con un estudio de toxicidad aguda que permita determinar la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) para una especie. Si el patrón de uso propuesto del producto hace probable una exposición considerable a las aves, o los estudios con mamíferos indican una acción acumulativa, se debe llevar a cabo un estudio de exposición por la dieta de cinco días con una especie. Especies adicionales deben ser evaluadas, si el uso del producto pudiera producir una exposición peligrosa, o si los estudios en mamíferos muestran una variación significativa entre especies en sensibilidad.

Si se indican efectos acumulativos junto con exposición prolongada y significativa, se deben considerar estudios de laboratorio de más largo plazo, incluyendo posibles efectos en la reproducción. Si ocurre acumulación, es deseable caracterizar y cuantificar residuos en los órganos apropiados, de tal manera que se pueda evaluar la significancia toxicológica de los residuos encontrados bajo condiciones comerciales de uso.

Pruebas con jaulas en campo se pueden requerir si la toxicidad oral del compuesto, en términos de la probabilidad de niveles de exposición, indica que las aves pueden estar en riesgo. En estos casos las pruebas se hacen con el producto formulado, con las dosis recomendadas de aplicación, reproduciendo lo más posible las condiciones comerciales de uso.

Si después de realizados los estudios de laboratorio y jaulas en el campo, persistiera la duda en cuanto a si el nivel de seguridad es suficientemente alto, se deben llevar a cabo estudios de campo con el producto formulado. El uso del producto en tales casos, en términos de tipo de formulación, método de aplicación, dosis, etc., debe ser lo más cercano posible a las recomendaciones comerciales de uso.

A continuación se presenta un esquema general sobre el diseño de los estudios de laboratorio:

- ◆ Especies evaluadas:
  - Codorniz Bobwhite (*Colinus virginianus*)
  - Pato Mallard (*Anas platyrhynchos*)
  - Codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japónica*)
- ◆ Tipos de exposición evaluados:
  - Toxicidad oral aguda:
    - ▶ Una sola dosis.
    - ▶ 14 días de observación.
    - ▶ Determinación de la  $DL_{50}$  en mg/Kg. de peso corporal.
  - Toxicidad dietaria de corto plazo:
    - ▶ Tratamiento por la dieta por cinco días, con tres días de recuperación.
    - ▶ Determinación de la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) en partes por millón (ppm).
  - Toxicidad dietaria de largo plazo:
    - ▶ Dieta tratada por cerca de 22 semanas.
    - ▶ Determinación de la Concentración de No Efecto Observado (NOEC), dado en ppm.

Para la evaluación de  $DL_{50}$ , el compuesto es dispersado en agua o algún otro inerte, y administrado ya sea por intubación o insertando un cápsula de gelatina que lo contiene dentro del proventrículo.

Los valores de  $CL_{50}$  y NOEC se convierten a dosis diaria (mg/Kg. de peso corporal/día) para efectos de análisis de riesgo.

Para evaluación de disrupción endocrina (efectos en el sistema endocrino u hormonal), se lleva a cabo estudios de dos generaciones en codorniz japonesa.

## B.2.b. Peces

La toxicidad de un plaguicida a organismos acuáticos debe ser investigado si el producto se va a utilizar en espacios abiertos.

Las pruebas deben comenzar con estudios de laboratorio para toxicidad aguda.

Estudios de toxicidad a más largo plazo pueden ser indicados para compuestos a ser aplicados directamente en cuerpos de agua.

Estudios de bioacumulación en peces pueden ser requeridos para compuestos con suficiente estabilidad en agua, si el coeficiente octanol/agua es mayor a 1000 ( $\log P_{ow} > 3$ ), y la solubilidad en agua menor a 1.0 mg/L. Estos estudios deben ser diseñados para evaluar tanto la absorción por los tejidos como la eliminación de los mismos.

Si los resultados de laboratorio no permiten una evaluación adecuada de la peligrosidad, pueden ser útiles entonces estudios de simulación de campo o estudios de campo.

Los estudios de campo deben incluir investigación sobre el destino y efectos de los compuestos en los ecosistemas acuáticos, y debe permitir observar la recuperación de las poblaciones afectadas. En algunos casos, puede ser posible evaluar efectos indirectos en varias especies del sistema, como por ejemplo en el crecimiento de peces, en la inducción del florecimiento de algas, etc.

A continuación se presenta un esquema general sobre las condiciones de los estudios de laboratorio:

◆ Especies evaluadas:

- Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*)
- Pez dorado (Bluegill sunfish) (*Lepomis macrochirus*)
- Carpa (*Cyprinus carpio*)

◆ Tipos de toxicidad:

- Toxicidad aguda (letalidad):
  - 96-horas de exposición continua para determinar la concentración letal media (96h CL<sub>50</sub> mg/L).
- Toxicidad crónica (sobrevivencia, crecimiento, estados de vida críticos)
  - Exposición continua desde 28 días hasta ciclo completo de vida, dependiendo de la toxicidad.
  - Se evalúa persistencia, factor de bioacumulación (BCF), disrupción endocrina.
  - Se determina la concentración de no efecto (NOEC, en mg/L).
- Bioacumulación:
  - Hasta 4 semanas de exposición, y 8 semanas de depuración.
  - Se determina el factor de bioconcentración (BCF).

$$BCF = \text{conc. Pez} / \text{conc. Agua}$$



### B.2.c. Invertebrados acuáticos

La pulga de agua, *Daphnia magna*, es ampliamente utilizada como especie apropiada para evaluar los posibles efectos en crustáceos acuáticos, que son considerados generalmente como altamente susceptibles a los plaguicidas.

Estos organismos son importantes como alimento de peces, y pueden ser componentes ecológicos significativos para las comunidades invertebradas acuáticas.

En algunas circunstancias puede ser considerado apropiado investigar la toxicidad a algas acuáticas, que llenan el rol de productores primarios en la cadena alimenticia acuática.

A continuación se presenta un esquema general sobre las condiciones de los estudios de laboratorio:

- ◆ Especies evaluadas:
  - Pulga acuática (*Daphnia magna*)
  - Mosca no masticadora (Non biting midge) (*Chironomus riparus* o *C. tentans*)
- ◆ Tipos de toxicidad evaluados:
  - Toxicidad aguda (inmovilización / letalidad):
    - ▶ 48 horas de exposición continua.
    - ▶ *Daphnia* más *Chironomus*, para insecticidas. *Gammarus* y gastrópodos, para productos de uso acuáticos.
    - ▶ Se determina la concentración de efecto a las 48 horas (48-h EC<sub>50</sub> en mg/L).
  - Toxicidad crónica para *Daphnia* (sobrevivencia, crecimiento, reproducción):
    - ▶ Prueba de 21-días del ciclo de vida, desde el primer instar hasta 4 progenies.
    - ▶ Se determina la Concentración de No Efecto Observado (NOEC, en mg/L).
  - Toxicidad crónica para *Chironomus* (sobrevivencia, tasa de desarrollo, emergencia):
    - ▶ Prueba de 28 días del ciclo de vida desde estado larval a emergencia.
    - ▶ Determinación de NOEC en mg/L.

### B.2.d. Plantas acuáticas

Se debe evaluar el efecto de los plaguicidas en plantas acuáticas, cuando por el patrón de uso de los mismos, cabe la posibilidad que entren en contacto con fuentes de agua superficial.

Las principales especies a seleccionar para evaluación son:

- ◆ Algas verdes: *Pseudokirchneriella subcapitata*
- ◆ Diatomeas: *Navicula pelliculosa*
- ◆ Alga azul-verdosa: *Anabaena flos-aquae*
- ◆ Duckweed: *Lemna gibba*

### B.2.e. Plantas terrestres

Se evalúa el efecto de los plaguicidas sobre la emergencia y crecimiento temprano de plantas superiores, cuando los mismos son aplicados en la superficie del suelo o incorporados al mismo. Con tal propósito las semillas de las plantas se ponen en contacto con suelo tratado con el plaguicida a evaluar, a fin de observar los posibles efectos de los 14 a los 21 días después de que han emergido un 50 % de las plántulas en el tratamiento testigo. Los parámetros evaluados son emergencia de plántulas, biomasa, altura de tallos, así como efectos detrimentales en diferentes partes de las plantas.

En el caso de los herbicidas, tendientes a controlar plantas nocivas (malezas) en cultivos de importancia económica, es en los estudios de eficacia donde se evalúa su efecto sobre las malezas y la forma en que resultan selectivos a los cultivos donde se recomienda su uso.

### B.2.f. Abejas

El riesgo de los plaguicidas en relación con las abejas se da en aquellos casos en que los mismos se aplican a cultivos en floración, o en cultivos que conviven con malezas que están en floración, o cultivos infestados por áfidos que producen miel que puede atraer a las abejas. La exposición de las abejas a los plaguicidas se podría dar por contacto directo que resultaría del impacto con las gotas de la aplicación, por contacto con los residuos en material vegetal como por ejemplo el polen, y por ingestión del caldo o mezcla aplicada.

La información sobre efecto en las abejas se debe solicitar sólo en aquellos casos en que por el patrón de uso del plaguicida, se les pueda poner en riesgo por alguna de las vías de exposición antes mencionadas. Se exige entonces por ejemplo a herbicidas pre-emergentes, granulados, productos para tratamiento de semillas, entre otros.

Los estudios de laboratorio se pueden llevar a cabo ya sea con ingrediente activo grado técnico o el producto formulado.

Las dosis a evaluar en el laboratorio, además de las propias de los testes de toxicidad aguda, deben corresponder a la de la posible exposición en campo de acuerdo con el patrón comercial de uso.

Si se estima que habrá riesgo para las abejas debido al patrón de uso recomendado, se deberán realizar estudios de simulación de campo y de campo propiamente. Estos estudios deben incluir evaluación a corto plazo (ej. Mortalidad y comportamiento) y de largo plazo (ej. Monitoreo del desarrollo de colonias). Podría ser además apropiado investigar el destino de residuos en polen, miel y cera.

### Estudios de laboratorio:

- ◆ Toxicidad oral: el compuesto evaluado debe ser dispersado en solución de agua azucarada o con miel, la cual será expuesta a individuos o pequeños grupos de abejas obreras, por un lapso de 2-3 horas, en un rango de dosis tal que se pueda evaluar valores de dosis letal media ( $DL_{50}$ ).
- ◆ Toxicidad de contacto: el compuesto se dispersa en acetona y es aplicado tópicamente a abejas obreras individuales, en un rango de dosis que permita calcular los valores  $DL_{50}$ .

Experimentos de campo: en aquellos casos en que el riesgo no pueda ser debidamente evaluado con las pruebas de laboratorio, se deben llevar a cabo ensayos simulados de campo o de campo propiamente, en los cuales se exponen las abejas a aplicaciones similares a las que se harían comercialmente.

## B.2.g. Artrópodos

La información del efecto de los plaguicidas en depredadores y artrópodos parasitoides, debe ser requerida únicamente para aquellos productos que se pretenden utilizar en programas de manejo integrado de plagas.

La secuencia de pruebas debe empezar con estudios de toxicidad en laboratorio, pero mayor énfasis deberá ponerse en información bajo condiciones simuladas de campo o de campo propiamente, cuando las interacciones de predador/plaga y parásito/hospedero son bien conocidas.

Las principales especies evaluadas son las siguientes:

- ◆ Avispa parasitoide (*Aphidius rhopalosiphi*)
- ◆ Ácaro predador (*Typhlodromus pyri*)
- ◆ Habitante del follaje (ej. *Chrysoperla carnea*)
- ◆ Habitantes del suelo (ej. *Pardosa* spp., *Poecilus cupreus*)

## B.2.h. Lombrices de tierra

La secuencia de ensayos comienza con simples testes de laboratorio para evaluar toxicidad aguda. Si los resultados indican una toxicidad significativa, se deben llevar a cabo ensayos de campo para evaluar el riesgo en el nivel de población.

La principal especie utilizada es la lombriz del compost *Eisenia foetida*.

En el estudio de toxicidad aguda donde se evalúa letalidad y crecimiento, se exponen las lombrices a un test de dosis respuesta de 14 días. Se aplica un factor de corrección de 2 al valor de concentración letal media ( $CL_{50}$ , como mg/Kg. de suelo seco) a sustancias lipofílicas, para compensar por el alto contenido de carbón orgánico de los suelos artificiales utilizados.

En pruebas subletales, para evaluar letalidad, crecimiento y reproducción, los adultos son expuestos a la superficie aplicada con el producto evaluado durante 28 días. Se remueven los adultos y los jóvenes se dejan desarrollar durante 28 días más. Se puede utilizar suelo natural para evitar el uso de factores de corrección. Se calcula

el NOEC (Concentración de No Efecto Observable), como gramos de ingrediente activo por hectárea.

Estudios de campo o de laboratorio con especies adicionales (ej. *Collembola*) podrían ser requeridos, si se encuentran problemas de persistencia del producto o indicaciones de riesgo agudo o crónico.

### B.2.i. Microorganismos

Cuando la información del plaguicida concerniente a propiedades físico-químicas relevantes, espectro de actividad, destino ambiental y del patrón de uso indica la posibilidad de efectos adversos en los micro-organismos del suelo, se deben llevar a cabo los estudios correspondientes.

Es generalmente aceptado que los estudios del efecto de los plaguicidas en los micro-organismos del suelo deben dirigirse a investigar los efectos posibles en las funciones del suelo, más que en los organismos específicos. Dichas funciones son básicamente la tasa de respiración del suelo (ciclo del carbono) y la transformación del nitrógeno (ciclo del N).

Los plaguicidas pueden ser evaluados como ingrediente activo o producto formulado. Las dosis deberán estar acorde con la estimación de concentración en el suelo, producto de aplicaciones comerciales, según las recomendaciones de uso. Se deben utilizar de uno a dos suelos típicos agrícolas, tales como franco arenoso y franco, con diferentes contenidos de carbón orgánico. Se debe reportar características del suelo tales como pH, contenido de carbón orgánico, capacidad de intercambio catiónico, distribución de tamaño de partículas y capacidad de retención de agua.

Para los diferentes organismos no objetivo de las aplicaciones de plaguicidas, se presentan en la siguiente tabla, los valores de no toxicidad esperada

Organismo, prueba	Rango de valores de toxicidad, dentro de los cuales no se espera problemas de toxicidad, bajo condiciones típicas de uso
Aves, DL <sub>50</sub> aguda	100 - 500 mg/Kg. de peso corporal
Aves, CL <sub>50</sub> de 5 días en la dieta	500 - 1000 mg/Kg. de alimento
Mamíferos, DL <sub>50</sub> en rata	100 - 500 mg/Kg. de peso corporal
Peces, CL <sub>50</sub> (96 horas de exposición)	5 - 10 mg/L de agua
Invertebrados acuáticos, EC <sub>50</sub> en Daphnia (48 horas de exposición)	5 - 10 mg/L de agua
Abejas, DL <sub>50</sub> oral aguda	50 - 100 µg/abeja

Referencia: CropLife International. Technical Monograph N° 3. Environmental Criteria for the Registration of Pesticides

Nota: en relación con los valores y organismos enlistados en la tabla arriba, valores menores de DL<sub>50</sub>, CL<sub>50</sub> o EC<sub>50</sub>, no significan *a priori* un peligro específico.

### B.3. Destino ambiental

Los estudios de destino ambiental evalúan el comportamiento de los plaguicidas en los diferentes compartimientos ambientales que se podrían ver expuestos a sus aplicaciones, como son el suelo, el agua y el aire principalmente. Estiman en cada uno de ellos la degradación, proceso mediante el cual son transformadas las sustancias en estructuras químicas más simples, por efecto de factores bióticos (microorganismos) y abióticos (ej. hidrólisis, fotólisis). Evalúan además la disipación, que es la pérdida del plaguicida aplicado, ya sea por efecto del proceso de degradación antes mencionado o por efecto del movimiento o transferencia (volatilización, lixiviación).

En cada compartimiento evaluado, se estima tanto la ruta como la tasa de degradación de los plaguicidas.

El análisis de la ruta lleva a conocer la importancia relativa de los distintos procesos envueltos en la degradación, ya sean ellos bióticos o abióticos, así como las reacciones que suceden; además, la naturaleza y magnitud de los productos de degradación. Cuando estos tengan características toxicológicas o ecotoxicológicas relevantes, y las concentraciones encontradas sean significativas, se deberán llevar a cabo estudios separados para conocer su impacto potencial.

El análisis de la tasa por su lado, permite estimar la magnitud de degradación de los productos en períodos determinados de tiempo. Por ejemplo, el tiempo requerido para la degradación del 50 % de la concentración inicial de la sustancia evaluada, conocido como vida media y representada como  $DT_{50}$ , o el tiempo requerido para la degradación del 90 % de la concentración inicial ( $DT_{90}$ ).

Los estudios de destino ambiental permiten evaluar el riesgo de los plaguicidas sobre los organismos presentes en los compartimientos ambientales antes mencionados, pues permiten estimar la concentración a la cual pudieran verse expuestos dichos organismos, conocida como la Concentración Ambiental Esperada (abreviado en inglés como PEC o EEC, para "Predicted Environmental Concentration" y "Expected Environmental Concentration", respectivamente), y compararla con la concentración que no produjo ningún efecto en los estudios toxicológicos y ecotoxicológicos respectivos.

Para efectos de describir los principales estudios de destino ambiental requeridos en el proceso de registro fitosanitario de los plaguicidas, los vamos a agrupar de la siguiente manera:

- ◆ Estudios sobre Degradación en los siguientes compartimientos ambientales:
  - Suelo
  - Agua
  - Aire
- ◆ Estudios sobre Movilidad por factores tales como:
  - Volatilización
  - Adsorción / desorción
  - Lixiviación (movilidad vertical en el suelo).
- ◆ Disipación
- ◆ Acumulación

### B.3.a. Degradación

Tal como se mencionó anteriormente, la degradación es el proceso mediante el cual la sustancia aplicada se transforma en estructuras químicas más sencillas, por efecto de factores bióticos o abióticos. Los estudios para conocer los procesos de degradación se llevan a cabo inicialmente a nivel de laboratorio, pero dependiendo de los resultados obtenidos, se podrían requerir estudios bajo condiciones más realistas a nivel de campo.

#### *B.3.a.i. Suelo*

El suelo es un compartimiento ambiental con características físicas, químicas y microbiológicas, capaces de ejercer gran influencia en la degradación y movimiento de los plaguicidas que entran en contacto con él. Está conformado por partículas sólidas, que dejan entre sí espacios en los que se puede encontrar agua en estado líquido o gaseoso. Dependiendo de su textura y estructura, puede ser penetrado el suelo en menor o mayor grado, por la luz solar. Dentro del componente sólido podemos encontrar materiales tanto inorgánicos como orgánicos. Éste último formado por la descomposición de partes de plantas, insectos, algas, etc., y que es una fuente importante de microorganismos.

Las condiciones antes mencionadas que se dan en el suelo favorecen diversos procesos de degradación de los plaguicidas, debido a factores tanto bióticos (por acción de microorganismos) como abióticos (químicos, fotoquímicos).

Aún cuando la degradación debida a microorganismos es la más importante, se llevan a cabo estudios para evaluar los procesos abióticos. La degradación fotoquímica no es un mecanismo importante de degradación de los plaguicidas en el suelo; además, los productos que se forman a través de la misma son idénticos a los formados por las reacciones microbiales y químicas (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

Los estudios de degradación en el suelo de los plaguicidas son requeridos por la probabilidad que tienen de alcanzar este compartimiento, ya sea porque se aplican directamente (herbicidas preemergentes, insecticidas para plagas del suelo, nematocidas, etc.), o porque llegan a través del escurrimiento o la deriva del caldo de aplicación o a través de los tejidos vegetales tratados que se llegan a incorporar al suelo.

En los estudios de degradación se deben reportar todas aquellas características del suelo que tienen relevancia como son el pH, el contenido de materia orgánica, la capacidad de intercambio catiónico, la capacidad de retención de agua, la textura, estructura, etc. Se deben utilizar diversos tipos de suelos que sean representativos de aquellos donde serán utilizados los plaguicidas. Es deseable hacer una estimación de la actividad microbial al inicio y final del estudio.

Los estudios en suelos deben ser llevados a cabo en laboratorio. Si el compuesto se muestra persistente, se deben correr ensayos simulados de campo o en el campo mismo.

Se pueden utilizar para estos ensayo plaguicidas altamente purificados o ingredientes activos grado técnico. Sin embargo, para el estudio de productos de degradación,

es recomendable utilizar materiales radio marcado. Para estudios de campo, es preferible utilizar productos formulados y en las dosis que se esperaría alcanzar según las recomendaciones de uso.

La cantidad de plaguicida evaluada tanto en laboratorio como en campo debe estar en consonancia con el uso recomendado comercialmente.

Se deben correr los ensayos normalmente bajo condiciones aeróbicas. Sin embargo, cuando el plaguicida está para ser utilizado en condiciones de suelos inundados, se deben hacer estudios simulando dichas condiciones.

Estudios de degradación aeróbica en laboratorio: se evalúa la tasa de degradación así como la ruta (reacciones y productos de degradación), tratando de simular la degradación normal que ocurre en el suelo. Se utilizan por lo general 4 tipos de suelo. La evaluación se realiza durante un período de 120 días, a una temperatura de 20 °C en la oscuridad, 40 % de humedad y con acceso a oxígeno. Si la tasa de vida media ( $DT_{50}$ ) en estos estudios de laboratorio arroja un valor mayor de 60 días, se requiere la realización de estudios de campo (Reeves, G.).

Estudios de degradación anaeróbica en laboratorio: se evalúa la tasa de degradación así como la ruta (reacciones y productos de degradación), tratando de simular la degradación que ocurre en un suelo anegado. Se utiliza un tipo de suelo empapado. La evaluación se realiza durante un período de 120 días, a una temperatura de 20 °C en la oscuridad, con adición de nitrógeno (Reeves, G.).

Estudio de fotólisis en el suelo: se evalúa la tasa de degradación por fotólisis así como la ruta (reacciones y productos de degradación), tratando de simular el efecto de la luz solar en la superficie del suelo. Se utiliza una capa fina de un tipo de suelo; se somete a luz artificial (xenón) durante 30 días. El tratamiento testigo se mantiene en la oscuridad (Reeves, G.).

### ***B.3.a.ii. Agua***

Los estudios de degradación de los plaguicidas en agua son importantes para conocer su persistencia en este compartimiento ambiental, así como el riesgo al cual estarían expuestos los organismos que viven en el agua y en los sedimentos, y para estimar la contaminación potencial que podrían sufrir aguas superficiales y subterráneas.

En este compartimiento son importantes los procesos de hidrólisis, fotólisis y microbial (biodegradación). Éste último sobre todo por la actividad microbial que se puede encontrar en los sedimentos suspendidos en el agua.

Una evaluación corta y simple del potencial de hidrólisis del compuesto es todo lo que es generalmente necesario como una primera fase. Información disponible indica que  $H^+$  y  $OH^-$  contribuyen significativamente a catalizar la hidrólisis en aguas frescas naturales.

Los estudios de laboratorio de degradación de plaguicidas en los sistemas agua/sedimento no toma en cuenta normalmente la fotodegradación natural, que se complica por la presencia de absorbentes de luz o fotosensibilizadores, como son los ácidos húmicos y fúlvicos (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

Los estudios de degradación en agua son requeridos para todos los plaguicidas aplicados directamente en cuerpos de agua, o para los cuales el uso puede resultar en su contaminación. Los procesos de biodegradación, hidrólisis y fotólisis se deben llevar a cabo generalmente bajo condiciones de laboratorio, a fin de determinar las tasas y productos de degradación. Si los estudios de laboratorio indican que los compuestos pueden persistir en ambientes acuáticos, a concentraciones que pudieran poner en riesgo los organismos acuáticos, ensayos de simulación de campo o de campo deben ser considerados.

Hidrólisis: se debe utilizar para esta prueba el ingrediente activo analíticamente puro en agua buffer estéril, con radio marcadores de ser posible. Se evalúa aquella concentración aproximada que se espera encontrar en el ambiente acuático, pero que no exceda el 50 % de la solubilidad en agua. Cuando la falta de solubilidad se convierta en un factor limitante, podría ser necesario agregar solventes orgánicos (ej. Acetonitrilo) a bajas concentraciones (> 1%). No se debe utilizar alcoholes. Se requiere recipientes sellados y estériles para mantener la esterilidad y minimizar la volatilización. La prueba se debe llevar a cabo en la oscuridad, dentro de los siguientes rangos de pH: ácido, pH 3 – 5,5; neutro, pH 5.5 – 8; básico, pH 8 – 10 y cada valor separado por al menos dos unidades de pH. Si se observa menos de 10 % de degradación en los estudios preliminares de hidrólisis a 50 °C, durante un período de cinco días, se puede considerar el químico hidrolíticamente estable y no requerirá estudios adicionales. Si se observa más de 10 % de degradación, se debe llevar a cabo otro estudio a una menor temperatura (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

Fotólisis: estos estudios simulan el efecto de la luz solar en el agua. Se debe utilizar para esta prueba ingredientes activos analíticamente puros en agua destilada estéril. Se debe evitar el uso de formulaciones comerciales, ya que sus constituyentes pueden causar reacciones fotoquímicas indirectas. Para facilidad del análisis, se utiliza en la medida de lo posible químicos radio-marcados. Se evalúa una sola concentración, que será la esperada en el ambiente, pero sin que exceda el 50 % de la solubilidad en agua. Donde la solubilidad en agua sea una limitante, se puede utilizar un cosolvente adecuado no fotosensible (ej. Acetonitrilo a una concentración no mayor a 1 %). No se deben utilizar alcoholes. La prueba se debe llevar a cabo en el rango de pH de 5 – 8 (preferiblemente cerca de la neutralidad) en agua destilada saturada de aire. Podría ser necesario hacer estudios con más valores de pH, en aquellos compuestos que ionizan o protonan. Se requieren vasos de vidrio esterilizados con capacidad de transmisión de 290 nm y mayores, de tal forma que se elimine la biodegradación y se minimice la volatilización. Las muestras deben ser expuestas a la fuente de luz artificial (xenón) por un período de tiempo suficiente (30 días) que permita estimar la vida media. El tratamiento control se mantiene en la oscuridad. Aun cuando las reacciones fotoquímicas no son influenciadas significativamente por la temperatura, las pruebas se deben llevar a cabo preferiblemente a temperaturas constantes (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

Biodegradación (estudio agua/sedimento): este tipo de estudio simula la degradación que se da después de que el producto entra en la superficie del agua por efecto de la deriva. El sedimento utilizado se debe analizar en cuanto a su pH al inicio y finalización del estudio, contenido de carbón orgánico, capacidad de intercam-

bio catiónico, distribución de tamaño de partículas y biomasa microbial. También se debe medir el pH del agua. Se puede utilizar material puro o técnico y se recomienda el uso de plaguicidas radio-marcados para los estudios sobre los productos de degradación. En estudios de campo es preferible el uso de formulaciones. Las dosis evaluadas serán aquellas estimadas en los cuerpos de agua, bajo los patrones recomendados de uso. La duración de la prueba no debe exceder los tres meses. En estudios de laboratorio la temperatura de incubación debe mantenerse constante. Los sistemas agua/sedimento deben ser representativos de ambientes tratados o con probabilidad de contaminarse, tales como diques, ríos, etc. (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

### ***B.3.a.iii. Aire***

La capacidad de los plaguicidas de transferirse a la atmósfera a partir de la superficie del suelo, del agua o de los tejidos vegetales (hojas, tallos, frutos) aplicada, está relacionada principalmente con la volatilidad de los productos. Para plaguicidas con alto potencial de transferirse al aire, se debe medir su degradación en este compartimiento, donde un proceso de gran relevancia será la fotólisis o degradación por efecto de la luz solar.

## **B.3.b. Movilidad**

La movilidad de un plaguicida es su habilidad de trasladarse en el ambiente, entre los diferentes compartimientos y es importante considerarla para determinar el destino del plaguicida y sus productos de degradación. Hay una serie de características, principalmente influenciadas por propiedades físico-químicas, que son de gran relevancia para predecir la movilidad, entre las que se pueden mencionar solubilidad en agua, presión de vapor, volatilidad, coeficiente de adsorción/desorción, entre otras.

### ***B.3.b.i. Volatilidad***

La volatilidad puede ser una manera de redistribución de los plaguicidas entre el aire, suelo y agua. Cuando se conoce las características de presión de vapor, solubilidad en agua y adsorción/desorción en el suelo, se puede estimar la probabilidad de que ocurra volatilización bajo condiciones prácticas. Se debe hacer evaluación de volatilización para todos aquellos compuestos con probabilidad de contaminar el suelo o ambientes acuáticos. Estudios de volatilidad no serán necesarios para productos que se pueden considerar no volátiles a partir del suelo y el agua, como se puede predecir de los coeficientes de distribución suelo/aire y agua/aire, los cuales pueden ser calculados utilizando la solubilidad en agua, presión de vapor y adsorción en el suelo. La información de volatilidad de plaguicidas y productos de degradación se puede obtener también de estudios de degradación en sistemas de flujo de aire. Estudios de campo se deben solicitar únicamente cuando lo sugieran las predicciones hechas a partir de los estudios de laboratorio. Estos estudios deben llevarse a cabo con los productos formulados y a las dosis recomendadas (Technical Monograph N° 3. CropLife International, 1990).

### *B.3.b.ii. Adsorción/desorción*

Mencionábamos anteriormente que el suelo posee un componente sólido compuesto por las partículas, que dejan entre ellas espacios donde encontramos agua en solución y gases. Las sustancias (plaguicidas, fertilizantes, etc.) que entran en contacto con el suelo y se disuelven o suspenden en el agua que ocupa los espacios aéreos del suelo, entran en una dinámica de transferencia entre la solución del suelo y las partículas sólidas. Esta dinámica dependerá de las características físicas y químicas, tanto del suelo como de las sustancias. En cuanto al suelo, características tales como la distribución del tamaño de partículas (textura), la capacidad de intercambio catiónico, el contenido de materia orgánica, entre otras, influirán en que las sustancias presentes en la solución se adhieran con menor o mayor fuerza a las partículas del suelo. En cuanto a las sustancias en solución por su parte, características tales como solubilidad, presión de vapor, potencial iónico, entre otras, influirán en que las mismas tengan una mayor afinidad a la solución del suelo o a la adherencia a las partículas. Se llega a producir así un equilibrio entre la solución y las partículas sólidas del suelo, por el que se produce un sistema dinámico de transferencia continua de las sustancias entre ambas fases (partículas y solución).

La actividad microbial del suelo se encuentra principalmente en la solución, por lo que la biodegradación de los plaguicidas estará influida también por la afinidad que tengan en relación con las dos fases del suelo.

Si debido a las características del suelo y de las sustancias, se da una mayor tendencia a que las mismas estén adsorbidas (o adheridas) a las partículas del suelo que a permanecer en la solución, dichas sustancias tendrán menor probabilidad de contaminar aguas subterráneas. Por otro lado, también serán menos susceptibles a la biodegradación.

La dinámica descrita se define a través del cociente de adsorción/desorción, que se refiere a la distribución del plaguicida entre el suelo y el agua, donde adsorción o fijación es la partición desde el agua al suelo, y la desorción la partición desde el suelo al agua.

La lixiviación en el suelo y la volatilización en superficies de suelo húmedo, están directamente influenciadas por el equilibrio de adsorción/desorción en los sistemas suelo/agua, y esto puede definir la extensión a la que un químico se encuentra disponible para degradación.

Se debe conocer la estabilidad del plaguicida antes de llevar a cabo estudios de adsorción/desorción en el suelo. Si presenta una rápida degradación, no es necesario medir este cociente.

La prueba se debe realizar utilizando el ingrediente activo y preferiblemente radiomarcado. Se deben utilizar al menos cuatro concentraciones del plaguicida, y se recomienda incluir al menos dos tipos de suelo. Las características de los suelos empleados, tales como pH, carbón orgánico, capacidad de intercambio catiónico, y la distribución de tamaño de partículas, deben ser reportadas.

El método más ampliamente utilizado para llevar a cabo estudios de adsorción/desorción de plaguicidas en el suelo, consiste en agitar el suelo con soluciones acuosas

del plaguicida de concentraciones conocidas, hasta que se alcance el equilibrio. Se separan las suspensiones acuosas por centrifugación o filtración y las concentraciones en equilibrio en el agua y el suelo son determinadas ya sea por análisis directo o después de la extracción con un solvente orgánico.

Se utilizan dos coeficientes para evaluar a nivel de laboratorio el fenómeno de adsorción/desorción de los plaguicidas en el suelo,  $K_d$  y  $K_{oc}$

- ◆ Coeficiente de partición en el suelo ( $K_d$ ): es la relación experimental en equilibrio de la concentración del plaguicida en el suelo y la concentración disuelta en la fase acuosa. Es un coeficiente de distribución que refleja la afinidad relativa de un plaguicida para ser adsorbido por la fase sólida del suelo, y por tanto su potencial para percolar a través del suelo.

- $K_d = \frac{\text{concentración en el suelo}}{\text{concentración en el agua}}$

- ◆ Coeficiente de partición en la porción orgánica del suelo ( $K_{oc}$ ): es la relación en equilibrio de la concentración de un plaguicida adsorbido en el componente orgánico del suelo o sedimento, y la concentración en la fase acuosa. El  $K_{oc}$  se calcula dividiendo el valor de  $K_d$  por la fracción de carbón orgánico presente en el sedimento del suelo.

- $K_{oc} = \frac{K_d}{\% \text{ de C orgánico}} \times 100$

Criterios de evaluación para el potencial de lixiviación, basados en el coeficiente de partición en la porción orgánica del suelo (Reeves, G.):

- ◆  $K_{oc} > 500$ , no hay preocupación de lixiviación.
- ◆  $K_{oc} < 100$ , preocupación de media a alta

Materia orgánica del suelo: es la fracción orgánica del suelo, incluyendo los residuos frescos o añejos (ej. humus) de origen biológico.

### **B.3.b.iii. Lixiviación**

Información sobre lixiviación es requerida para todos los plaguicidas a ser utilizados en la agricultura, aun cuando la necesidad de información adicional se pueda reducir, si se tienen disponibles en varios suelos medidas de los coeficientes de adsorción/desorción. Se ha demostrado una correlación entre adsorción y lixiviación, y de esta manera, las constantes de adsorción pueden ser utilizadas para estimar la movilidad de los pesticidas en el suelo.

Se pueden utilizar platos con suelo o columnas cromatográficas de suelo, para evaluar la lixiviación de los compuestos parentales. El modelo de columna es el más apropiado para mostrar las características de lixiviación de los productos de degradación de un plaguicida, después de aplicar el compuesto parental.

Para sustancias que son móviles y persistentes, se puede requerir estudios adicionales bajo condiciones de campo, con la utilización por ejemplo de lisímetros con monolitos de suelo no disturbado. Estos lisímetros son típicamente de 1 m<sup>2</sup> por 1 m de profundidad, de suelo no disturbado. Se siembra en la superficie del mismo un cultivo

representativo de acuerdo a las buenas prácticas agrícolas. El plaguicida se aplica de acuerdo con la formulación, dosis y forma de aplicación real de campo, utilizando productos radio-marcados. Se aplica un mínimo correspondiente a 760 mm de agua. En la parte inferior del lisímetro se recogen muestras de los lixiviados durante un período de 2 años. En la figura 6, se presenta un esquema y fotografía que ilustra el funcionamiento del lisímetro.



**Figura 6:** esquema y foto de un lisímetro (Tomado de Graham Reeves. Field Exposure & Effects Reg Labs, Milton Park, UK. Dow AgroSciences)

En el caso de estudios en platos o columnas se puede utilizar tanto el ingrediente activo grado técnico como el formulado. En el caso de estudios de campo (lisímetro) se debe utilizar el producto formulado.

Las concentraciones evaluadas en el laboratorio deben tener una relación realista con las dosis recomendadas, y los estudios de campo (lisímetro) deben llevarse a cabo según la recomendación de uso.

Se debe reportar las características de los suelos utilizados en laboratorio, tales como pH, contenido de carbón orgánico, capacidad de intercambio catiónico, distribución del tamaño de partículas, capacidad de retención de agua, etc.

En el caso de estudios de campo (lisímetro), se debe registrar mediciones meteorológicas como temperatura, precipitación, entre otras.

El potencial de lixiviación puede ser previsto a través de la combinación de los valores de adsorción  $K_{oc}$  y la tasa de degradación ( $DT_{50}$ ) del producto en el suelo tal como se ejemplifica a continuación (Reeves, G.):

- ◆ Un valor bajo de  $K_{oc}$  (más afinidad hacia la fase acuosa del suelo) con ...
  - Corta  $DT_{50}$ : sugiere bajo potencial de lixiviación; el plaguicida degrada rápido.
  - Larga  $DT_{50}$ : sugiere alto potencial de lixiviación; el plaguicida podría persistir en el suelo.

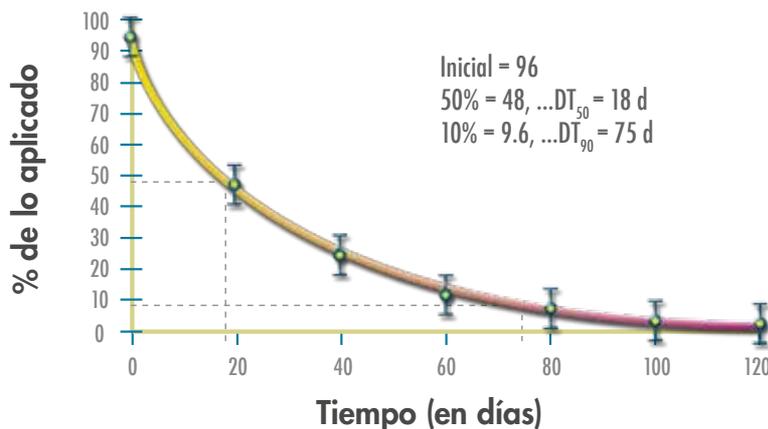
### B.3.c. Disipación

Es importante distinguir entre los términos degradación y disipación. Degradación se refiere al desdoblamiento o transformación de la sustancia original o compuesto parental en moléculas más simples o metabolitos, dentro de un compartimiento ambiental (ej.: suelo, agua, aire). Disipación por su lado se refiere a la pérdida o desaparición de la sustancia de dicho compartimiento.

Los estudios de disipación en el suelo deben proveer información sobre el tiempo requerido para que se disipe por ejemplo el 50 % y el 90 % ( $DT_{50}$  y  $DT_{90}$  respectivamente) del ingrediente activo aplicado, bajo condiciones de campo. Si como resultado de la degradación de la sustancia se producen metabolitos relevantes, se deben reportar también las tasas de disipación de los mismos.

Dichos estudios deben llevarse a cabo cuando los valores de  $DT_{50}$  obtenidos en laboratorio a 20 °C, superan los 60 días. Se deben realizar pruebas en un rango de suelos representativos, normalmente 4 tipos diferentes, hasta que se haya alcanzado más de un 90 % de la disipación de la cantidad aplicada. La duración máxima de los estudios es de 24 meses (1107/2009/EEC).

En la figura 7 se presenta la gráfica de un estudio de disipación, en el cual con ayuda de programas de cómputo, se pueden calcular las  $DT_{50}$  y  $DT_{90}$ . Se puede apreciar como al inicio del estudio (a los 0 días), se tenía en el suelo evaluado un 96 % de la sustancia aplicada. La  $DT_{50}$  en la cual tenemos un 50 % de la sustancia aplicada equivale a 18 días y la  $DT_{90}$ , que corresponde a un 10 % en el suelo de la sustancia aplicada, es de 75 días.



**Figura 7:** ejemplo de curva de disipación (Tomado de Graham Reeves. *Field Exposure & Effects* Reg Labs, Milton Park, UK. Dow AgroSciences)

### B.3.d. Acumulación

Los estudios de acumulación deben proveer suficiente información para evaluar la posibilidad de la permanencia de residuos en el suelo, de la sustancia evaluada y de sus metabolitos o productos de degradación relevantes. Son estudios de largo plazo (máximo 5 años) que serán necesarios sólo bajo circunstancias excepcionales, como es el caso cuando en los estudios de disipación, bajo condiciones de campo, la  $DT_{90}$  es mayor a un año, y se prevé aplicaciones repetidas del producto en estudio. Se deben realizar en dos tipos de suelo relevantes e incluir aplicaciones múltiples (1107/2009/EEC).



# Capítulo V

---

Análisis de riesgo

---



# Capítulo V

## Análisis de riesgo

**E**n el capítulo II explicamos como los plaguicidas, aún cuando han sido desarrollados para ser dirigidos a las plagas agrícolas, pueden llegar también a entrar en contacto con organismos no objetivo, entre los cuales podemos citar al hombre, además de los animales tanto vertebrados como invertebrados, insectos benéficos, etc.

El objetivo de la evaluación de riesgo, es asegurar que los plaguicidas utilizados de acuerdo con las prácticas agrícolas recomendadas por el registrante, no resulten nocivos a los usuarios de los plaguicidas, los consumidores de los productos tratados y los demás organismos que componen el ambiente en general. Lo anterior se llega a verificar cuando al estimar la magnitud de la exposición, la misma está por debajo de los niveles que en los estudios toxicológicos y ecotoxicológicos, no produjeron ningún tipo de efecto adverso en los organismos evaluados.

En relación con plaguicidas, por la variedad de compartimientos ambientales que podrían afectar y las especies que viven en ellos, se podrían clasificar los tipos de riesgo de la siguiente manera (Tiu, C. 2001):

- ◆ Riesgos a la Salud Humana:
  - Salud Ocupacional: por la exposición de operadores y aplicadores a los plaguicidas.
  - Dietarios: para la población en general, debido a potenciales residuos de plaguicidas en alimentos tratados o en el agua de consumo.
  - Residenciales: por plaguicidas de uso doméstico.
  - Re-entrada: riesgo de exposición para personas que ingresen a campos tratados.
- ◆ Riesgos Ambientales:
  - Agua subterránea: debido a lixiviación.
  - Agua superficial: por deriva o escorrentía.

- Suelo: por movilidad o persistencia.
- Aire: por volatilidad.
- Sedimento, en fuentes de agua.
- ◆ Riesgos Ecológicos:
  - Ecosistemas Acuáticos
    - ▶ Vertebrados (peces)
    - ▶ Invertebrados (pulgas de agua, crustáceos, moluscos, etc.)
    - ▶ Plantas acuáticas, algas.
  - Ecosistemas terrestres
    - ▶ Mamíferos (herbívoros, carnívoros, roedores)
    - ▶ Aves (pequeñas y grandes)
  - Benéficos
    - ▶ Abejas
    - ▶ Lombrices
    - ▶ Microorganismos nitrificadores del suelo
  - Otros organismos no objeto de control
    - ▶ Otros cultivos
    - ▶ Especies en peligro de extinción

El riesgo se da en función (*f*) de dos componentes básicos, a saber: la toxicidad del plaguicida y el nivel de exposición al plaguicida, de tal manera que se puede representar con la siguiente ecuación:

$$\text{RIESGO} = f (\text{TOXICIDAD} \times \text{EXPOSICIÓN})$$

Donde,

- ◆ Toxicidad del plaguicida: tal como se explicó en el capítulo IV, la toxicidad se refiere a la dosis que produce algún tipo de daño a los organismos evaluados.
- ◆ Exposición: se refiere a la cantidad de plaguicida a la cual los organismos no blanco como el hombre y los animales, se podrían ver expuestos como consecuencia de la aplicación de los plaguicidas.

Si el nivel de exposición al que se podrían ver sometidos las especies no objeto de control presentes en los diferentes compartimientos ambientales, está suficientemente por debajo del máximo nivel evaluado que no produjo ningún tipo de daño en los estudios toxicológicos/ecotoxicológicos, se podría concluir que el riesgo es aceptable, o que no hay preocupación.

De forma general, el riesgo se mide a través de un cociente, en donde el numerador será la exposición al plaguicida, y el denominador será un valor de toxicidad determinado (ejs.  $DL_{50}$ ,  $CL_{50}$ , NOAEL, etc.). En el siguiente apartado (Capítulo VI) referente a Residuos y Tolerancias, se planteará un sencillo ejercicio para estimar el riesgo dietario para los consumidores, donde se evaluará si la cantidad máxima de residuos del plaguicida consumidos en la dieta (exposición), están por debajo del valor de toxicidad aceptable IDA (Ingesta Diaria Aceptable ó ADI por sus siglas en inglés).

A continuación expondremos en forma muy esquemática y como un ejemplo hipotético, un ejercicio de análisis de riesgo ambiental para organismos acuáticos. Tenemos que iniciar planteando el Cociente de Riesgo (CR) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$CR = CAE / CL_{50}$$

Donde:

CAE: concentración ambiental estimada (en este caso se refiere a la concentración del plaguicida en el ambiente acuático/agua donde se encuentran los organismos).

$CL_{50}$ : concentración del plaguicida que mataría al 50 % de la población, según las evaluaciones de los estudios ecotoxicológicos realizados.

Seguidamente, se deben caracterizar las exposiciones de los organismos acuáticos al plaguicida, así como los efectos o toxicidad del plaguicida a los mismos:

- ◆ Caracterización de los efectos o toxicidad: este ejercicio ha sido desarrollado para peces y pulga acuática (*Daphnia magna*), y los valores de toxicidad asumidos de los estudios ecotoxicológicos, son los siguientes:
  - Toxicidad peces:  $CL_{50}$ , 96 horas, carpa = 4,99 ppm
  - Toxicidad pulgas de agua:  $CL_{50}$ , 48 horas, *D. magna* = 92.7 ppm
- ◆ Caracterización de la exposición: se refiere a la concentración del plaguicida que puede llegar a encontrarse en el agua donde habitan los peces y la pulga acuática, como consecuencia de una aplicación del producto. La medición de la misma, se puede hacer en forma escalonada según lo requiera los resultados del análisis de riesgo. En un primer escalón para la estimación de la concentración del plaguicida en el agua, se utilizan modelos matemáticos propuestos, para los cuales se debe conocer la dosis aplicada, la solubilidad del producto en agua, y factores de escorrentía y deriva propuestos en tablas, entre otros. El escalón más avanzado implicaría la medición directa (monitoreo) de la concentración del plaguicida en el agua. Si con los escalones iniciales, los resultados de la evaluación de riesgo, sugieren que no hay preocupación a los organismos acuáticos, no es necesario pasar a escalones más refinados de medición de la exposición. Los escalones iniciales, menos refinados, incorporan factores de incertidumbre para compensar la falta de valores más refinados. Conforme se afinan los escalones, se bajan

o se eliminan dichos factores de incertidumbre, ya que se trabaja con datos cada vez más realistas. Para el ejemplo que nos ocupa, vamos a asumir que la Concentración Ambiental Estimada (CAE; o EEC, por sus siglas en inglés) obtenida a través del modelo matemático, del plaguicida en el medio acuático, fue de 3,125 ppb (0,003125 mg/L ó ppm).

Con los valores de los efectos y la exposición, calculamos ahora el cociente de riesgo (CR), para las dos especies del presente ejercicio:

◆ Peces:

- $CR = 0,003125 / 4,99 = 0,000626$

◆ Pulga acuática:

- $CR = 0,003125 / 92,7 = 0,0000337$

Para el ejercicio que nos ocupa, existen estándares internacionales que proponen que para peces y pulga acuática, CR menores a 0,1 indican ninguna inquietud de riesgo (Tiu, 2000). Los valores obtenidos están muy por debajo de dicho valor, por lo que la aplicación del producto no entraña riesgo inaceptable para peces y pulga acuática.

El mismo principio ilustrado con el ejercicio anterior en organismos acuáticos, aplicaría para aves, insectos benéficos, mamíferos, donde lo que tocaría es calcular el cociente de riesgo con los valores de exposición y de toxicidad, y compararlo con valores o umbrales ya definidos.

Es importante señalar que la evaluación de riesgo se lleva a cabo, asumiendo la aplicación de las buenas prácticas agrícolas, donde se siguen las recomendaciones de la etiqueta del producto evaluado. Si bajo estas condiciones, se determinara que la aplicación entraña un riesgo inaceptable, se debe implementar una segunda fase que es el manejo del riesgo para tratar de eliminarlo o mitigarlo. Algunos ejemplos podrían ser una recomendación de disminución de dosis o del número de aplicaciones, cambio de técnica de aplicación, eliminación de cultivos en la etiqueta que sean más sensibles a aumentar el riesgo, contraindicar ciertos tipos de suelo que por su estructura permiten una mayor percolación del producto a mantos acuíferos, etc.

A background image showing laboratory glassware, including test tubes and beakers, with a bokeh effect of light spots. The text is overlaid on a semi-transparent white band.

# Capítulo VI

---

Establecimiento de  
Límites Máximos de  
Residuos (LMR) y  
Evaluación de Riesgo  
al Consumidor

---



# Capítulo VI

---

## Establecimiento de Límites Máximos de Residuos (LMR) y Evaluación de Riesgo al Consumidor

---

**E**l uso de plaguicidas en cultivos, forrajes para consumo animal o en aplicaciones directas como desparasitantes en animales, podría generar residuos en el alimento de consumo humano. La importancia de dichos residuos está dada por la naturaleza y nivel (concentración) de los mismos, así como por su toxicidad. Es por esta razón que en el proceso de desarrollo de los plaguicidas, se evalúa su comportamiento en los cultivos y animales expuestos, para conocer de acuerdo con la práctica agrícola o pecuaria recomendada, cómo se mueven dentro de los tejidos vegetales o animales, en qué partes tienden a acumularse, qué procesos de transformación sufren y el tipo de metabolitos producidos, así como los niveles o concentraciones que podrían alcanzar; información toda que es útil para evaluar los posibles riesgos.

El incluir los metabolitos dentro de la definición de residuo, dependerá de sus características, concentración y toxicidad. En este sentido FAO (2009) define residuo como "(...) aquella combinación del plaguicida y sus metabolitos, compuestos derivados y relacionados para los cuales aplica un MRL".

El concepto de MRL (siglas en inglés correspondientes a Límite Máximo de Residuos) también conocido como Tolerancia, es definido por FAO (2009) de la siguiente manera: "concentración máxima de residuo de plaguicida (expresada en mg/kg), recomendada (...) como legalmente permitida en alimentos y piensos. Los MRLs están basados en datos derivados de GAP y los alimentos derivados de fuentes

que cumplen con los respectivos MRL's se consideran como toxicológicamente aceptables".

El concepto de GAP (siglas en inglés para Buena Práctica Agrícola), es definido por FAO (2009) como sigue: "La buena práctica agrícola en el uso de plaguicidas incluye los usos seguros autorizados nacionalmente, bajo las condiciones reales necesarias para un control efectivo de las plagas. Abarca un rango de niveles de aplicaciones del plaguicida hasta su máximo uso autorizado, aplicado de forma que deje un residuo que sea el mínimo práctico. Los usos seguros autorizados se determinan a nivel nacional e incluyen usos registrados o recomendados nacionalmente, que toman en cuenta consideraciones de salud pública y ocupacional y de seguridad ambiental".

Así entonces, los MRL's son los límites máximos de residuos encontrados en los productos agrícolas, como resultado de la aplicación de los plaguicidas, según el más extenso uso autorizado que se pudiera dar en el campo dentro de la GAP. Esto es, la dosis más alta del plaguicida, la menor frecuencia entre aplicaciones, la mayor cantidad de aplicaciones en el ciclo del cultivo, el intervalo más corto entre aplicación y cosecha, etc.

Para evaluar los MRL's se requiere, de acuerdo con el país o región, un cierto número de ensayos supervisados, determinado principalmente por tres factores, a saber: área plantada en el país o región respectiva (cultivo mayor, o menor), la intensidad del consumo de los alimentos en la población y la frecuencia del intercambio entre países. Normalmente se requieren entre 3 y 20 ensayos en zonas representativas del cultivo y siguiendo las prácticas de uso recomendadas en la etiqueta (GAP). Estos estudios están realizados bajo GLP (siglas en inglés para Buenas Prácticas de Laboratorio) y metodología validada internacionalmente, lo que permite extrapolar los resultados para cualquier otra combinación parecida (producto, cultivo, GAP).

Con el fin de armonizar el cálculo de los MRL's, la OECD ha desarrollado una calculadora de MRL's aceptada por CODEX. Se ha construido en una hoja de Excel y no requiere un conocimiento extenso de estadística para su uso.

Después de calcular los valores de MRL's a partir de los estudios de residuos, es posible determinar el nivel de exposición por la dieta al plaguicida correspondiente, considerando los diferentes productos agropecuarios en los cuales está autorizada la aplicación de dicho plaguicida y el nivel de consumo de dichos productos. La exposición al plaguicida que la población tendría vía dietaria, debe estar suficientemente por debajo del nivel máximo que no produjo ningún tipo de efecto adverso en los estudios toxicológicos correspondientes. Para evaluar esto se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{Riesgo (\%)} = \frac{\text{Exposición}}{\text{Toxicidad aceptable}} \times 100$$

Donde la exposición se estima sumando todos los residuos en los alimentos consumidos con recomendación de uso del plaguicida (información de la etiqueta aprobada), según la siguiente fórmula:



$$\text{Exposición} = \frac{\sum (\text{Residuos} \times \text{Consumo})}{\text{Peso corporal de la persona}}$$

El nivel de residuos en un primer escalón de evaluación es el mismo MRL propuesto, o la suma de todos MRL's propuestos y existentes. El consumo procede de estadísticas nacionales, o cuando no estén disponibles, de datos publicados por la FAO, por ejemplo.

La toxicidad aceptable a utilizar puede ser el ADI (siglas en inglés que corresponden a Ingesta Diaria Aceptable por exposición crónica), que tal como se explicó en el apartado B.1.a.vii. (Interpretación y aplicación de la información toxicológica), se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Toxicidad aceptable (ADI)} = \frac{\text{NOAEL}}{10 \times 10}$$

Los valores de 10 representan el nivel de incertidumbre por extrapolar datos de estudios hechos en animales a humanos (variabilidad inter-especies) y la variabilidad individual (intra-especie) entre los mismos humanos. De manera que el valor de toxicología de referencia procede de un efecto no-tóxico dividido por un margen de seguridad de 100.

A continuación se ilustra un ejemplo hipotético de evaluación de riesgo dietario, según metodología FAO/OMS, utilizada por JMPR<sup>7</sup> cuando establecen MRL-Codex (tolerancias Codex). Para tal efecto tomaremos el caso de un herbicida para uso en potreros y cereales. Por su utilización en potreros se puede esperar exposición de residuos del plaguicida en la dieta a través del consumo de partes del ganado (carne, leche, etc.) que podría pastorear campos tratados. Por tal razón existen MRL's para dichas partes comestibles del ganado. Por su utilización en cereales, se deben incluir los MRL's en los subproductos de los mismos consumidos por las personas. Si el análisis de riesgo dietario no pasa con estos datos de residuos, en un segundo escalón se pueden usar datos más reales, tomados de los mismos ensayos de campo, pero considerando situaciones más apegadas a la realidad en cuanto a dosis, frecuencia de aplicación, etc. Si aún aplicando este segundo escalón no pasa el análisis, en un tercer nivel de refinamiento se pueden tomar datos de residuos del monitoreo hecho por las agencias de gobierno encargadas de seguridad alimentaria. Este monitoreo puede ser realizado a nivel de productos saliendo de las fincas, o directamente en supermercados.

El ADI del plaguicida para este ejemplo es 0,5 mg/kg de peso corporal/día.

La columna (A) de la siguiente tabla (Tabla 7) indica los subproductos de los cultivos incluidos en la etiqueta del herbicida, así como las partes de consumo humano del ganado alimentado con los pastos tratados.

La columna (B) reporta los MRL's encontrados en los subproductos de cultivos tratados y en las partes del ganado.

7 JMPR: (del inglés Joint Meeting on Pesticide Residue) reunión del grupo de expertos de FAO/OMS, encargado de establecer las tolerancias CODEX.

La columna (C) indica el consumo humano de los diferentes subproductos y partes del ganado, para una región, o país en particular.

La columna (D) resulta a partir de la multiplicación de las columnas (B) y (C), e indica la ingestión total del plaguicida, debida al consumo diario de cada uno de los subproductos de los cultivos tratados y las partes del ganado. En la última línea de esta columna se indica el total de residuos ingeridos del plaguicida a través del consumo de todos los subproductos y partes de ganado indicados en la tabla.

**Tabla 7.** Ejemplo de dieta para análisis de riesgo al consumidor

(A) ALIMENTO	(B) LMR (mg/kg)	(C) CONSUMO DE ALIMENTO (g/persona/día)	(D) CONSUMO DEL PLAGUICIDA (ug/persona/día)
Granos de cereales	0.01	252.40	2.524
Trigo	0.01	116.80	1.168
Germen de trigo	0.01	0.10	0.001
Harina de trigo	0.01	112.00	1.12
Pan blanco	0.01	37.30	0.373
Pan integral	0.01	74.70	0.747
Preparaciones cereales	0.01	0.00	0
Carne mamíferos	0.01	47.00	0.47
Grasa de mamíferos	0.01	4.30	0.043
Menudos comestibles de mamíferos	0.01	6.10	0.061
Riñones	0.01	0.00	0
Hígado	0.01	0.00	0
Leche total y productos lácteos	0.01	167.90	1.679
Mantequilla de vaca	0.01	3.30	0.033
Queso (leche descremada de vaca)	0.01	0.00	0
Queso (entero)	0.01	4.50	0.045
Crema fresca	0.01	0.00	0
Grasa de leche	0.01	0.00	0
			<b>Consumo total: 8,264 ug/persona/día</b>

Asumiendo un peso corporal por persona de 60 kilogramos, tendríamos un consumo total de 137,7 ug/kg de peso corporal por día, que resulta de dividir 8,264 entre 60.

Al aplicar la fórmula de riesgo antes descrita, donde tenemos que la exposición por la dieta es de 137,7 ug/kg de peso/día, y la toxicidad aceptable (ADI) es de 0,5 mg/kg de peso/día (igual a 500 ug/kg de peso/día), tenemos el siguiente resultado:

$$\text{Riesgo (\%)} = \frac{137,7}{500} \times 100 = 27,54 \%$$

El resultado anterior indica que con la dieta indicada en la tabla, las personas estarían consumiendo un máximo de 27,54 % de la ingesta del plaguicida que se considera segura, de acuerdo con todos los estudios toxicológicos llevados a cabo con el plaguicida en cuestión. Solo cuando la ingesta excede 100% del valor de referencia toxicológica seguro, el análisis se considera inaceptable y se debe refinar en los siguientes escalones, usando datos más cercanos a la realidad.

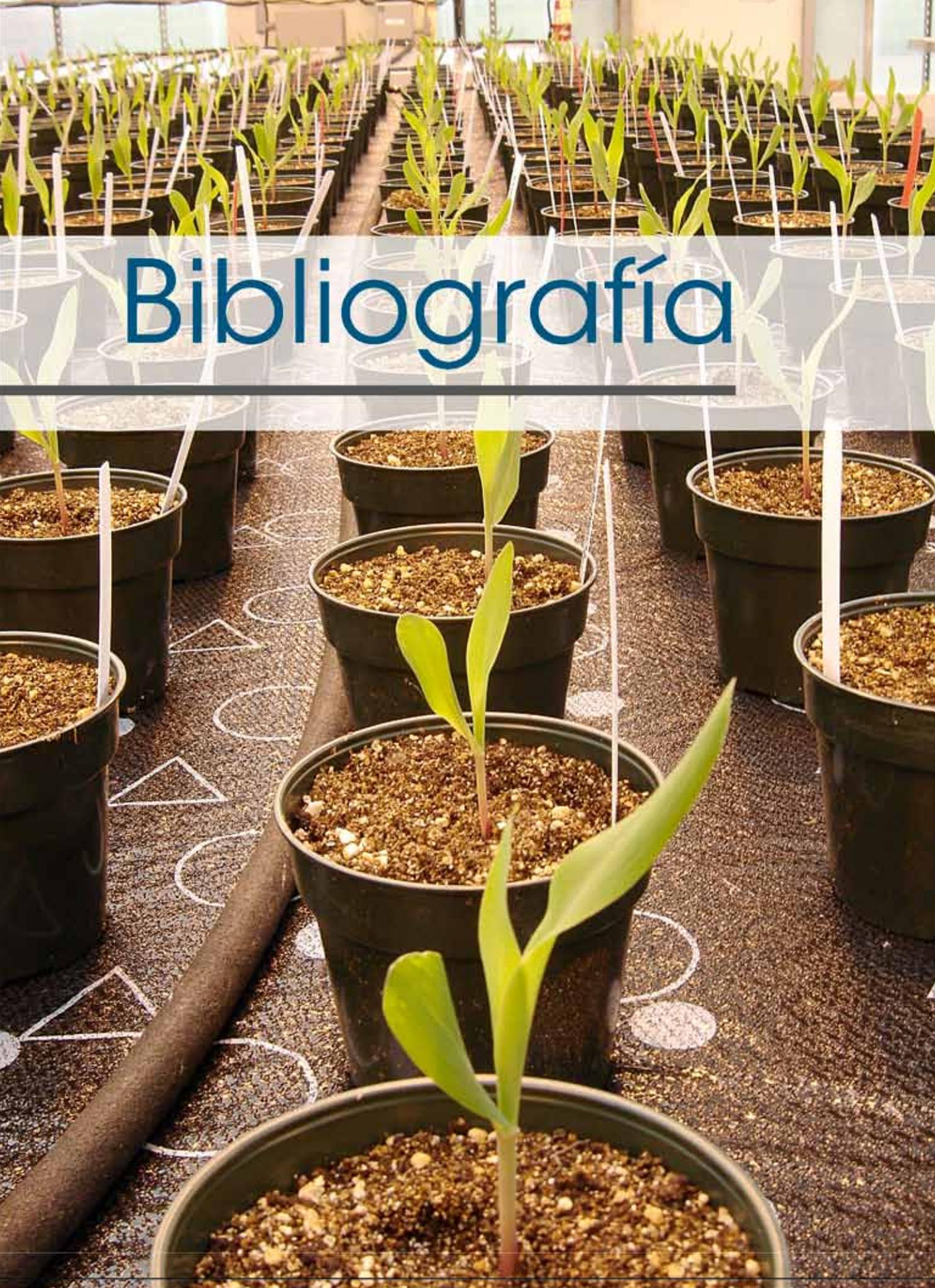
Es importante resaltar que el nivel máximo de residuo (MRL) para cada uno de los alimentos, sale del uso más amplio que es posible dentro de la Buena Práctica Agrícola (GAP): máxima dosis, máxima frecuencia de aplicaciones, mínimo intervalo entre última aplicación y cosecha, etc. Por otro lado, la estimación del consumo de plaguicida asume que todos los cultivos fueron aplicados con el plaguicida y que todo el ganado pastoreó pastos tratados. Las anteriores son situaciones que están muy lejos de la realidad, con lo que la exposición al plaguicida por la dieta es en la práctica muy inferior al resultado del ejemplo, y por ende el riesgo dietario.

Para el ejemplo anterior, no sería necesario afinar el análisis de riesgo con datos de monitoreo, pues con el peor escenario, considerando los niveles máximos de residuos de los estudios de campo, la exposición potencial de los consumidores al plaguicida, está por debajo del nivel permitido (ADI).

Las agencias regulatorias de países con un sistema avanzado de registro, con base en la información toxicológica y de residuos que generan las empresas registrantes, establecen sus propias tolerancias o MRL's en los productos agropecuarios. Requieren además para ello, contar con información confiable sobre consumo de la población de los diferentes cultivos incluidos en las etiquetas de los plaguicidas. Al ser las tolerancias niveles máximos de plaguicidas a ser regulados, cuando las Autoridades detectan productos agropecuarios con valores excedidos, deben proceder a evitar su destino al consumidor. Esto ha llevado a problemas de comercio internacional, debido a que los MRL's son establecidos con base en la información y criterios técnicos locales, que genera en muchos casos diferencias entre los socios comerciales. Por esta razón existen iniciativas regionales y globales para armonizar los niveles de tolerancias entre países. A nivel mundial, el programa denominado *Codex Alimentarius* creado por la FAO y la OMS, ha venido trabajando en el establecimiento de tolerancias armonizadas. Sin embargo, por tratarse de una propuesta voluntaria, no ha sido

adoptada al día de hoy por todos los países. Para mayor información se incluye a continuación la dirección del portal de este programa: [http://www.codexalimentarius.net/web/index\\_en.jsp](http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp)





# Bibliografía



# Bibliografía

---

CIPAC (Collaborative International Pesticides Analytical Council)  
<http://www.cipac.org/index.htm>

COUNCIL DIRECTIVE of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market (91/414/EEC)

CropLife International. Catalogue of pesticide formulation types and international coding system. Technical Monograph n° 2, 6<sup>th</sup> edition. Revised May 2008

CropLife International. Environmental Criteria for the Registration of Pesticides Technical Monograph n°3. March 1990

Dybowski, Joe. Global Mammalian Toxicology Testing Requirements and Registration Process of Agricultural Chemicals. Dow AgroSciences. July 19, 2006

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. Rome, 2009

FAO. Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas. Noviembre 2002

FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Specifications (JMPS). Manual on development and use of FAO and WHO specifications for pesticides. Rome. November 2010

Graham Reeves. *Field Exposure & Effects*. Reg Labs, Milton Park, UK. Dow AgroSciences.

International Programme on Chemical Safety. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification, 2009.  
[http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard/en/](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard/en/)

IUPAC Reports on Pesticides (36). GLOSSARY OF TERMS RELATING TO PESTICIDES (IUPAC Recommendations 1996). *Prepared for publication by* PATRICK T. HOLLAND. HortResearch Institute of New Zealand Ltd, Private Bag 3123, Hamilton, New Zealand

NLM (National Library of Medicine). Environmental Health and Toxicology. Toxicology tutorials. Toxicology and Environmental Health Information Program of the National Library of Medicine, U.S. Department of Health and Human Services.  
<http://sis.nlm.nih.gov/enviro/toxtutor.html>



OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) Guidelines for the Testing of Chemicals  
[www.oecd.org/document/40/0,3343,en\\_2649\\_34377\\_37051368\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/40/0,3343,en_2649_34377_37051368_1_1_1_1,00.html)

Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (OPPTS). Harmonized Test Guidelines.  
<http://www.epa.gov/ocsp/ocsp/pubs/frs/home/guidelin.htm>

Phillips McDougall. The cost of new agrochemical product discovery, development and registration in 2005-08. 2010

Purdue Pesticide Programs. Purdue University Cooperative Extension Service. Pesticides and Human Health Risk Assessment. Policies, Processes, and Procedures. 1999

Rao, K.S. Basic Toxicology and Pesticide Risk Communication. Dow AgroSciences. 1995

Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC

Sanco/10597/2003 –Rev. 10.1, 13 July 2012 GUIDANCE DOCUMENT ON THE ASSESSMENT OF THE EQUIVALENCE OF TECHNICAL MATERIALS OF SUBSTANCES REGULATED UNDER Regulation (EC) No 1107/2009

Skoog, D.A.; West, D.M.; Holler, F.J. y Crouch, S.R. Química Analítica. 7ª edición. McGraw-Hill. 2001

Solomons, T.W. Graham. Fundamentos de Química Orgánica. Editorial Limusa. 1999

The MSDS Hyper Glossary  
[www.ilpi.com/msds/ref/index.html](http://www.ilpi.com/msds/ref/index.html)

Tiu, Carmen. A Proposed Tool for Ecological Risk Assessment in Latin-America. IUPAC-CICA/UCR-MAG International Workshop on Crop Protection Chemistry in Latin America, February 2005

Tiu, Carmen. Reunión CONAP (Lima, Perú). Febrero 22/2000

Tiu, Carmen. Simposio Nacional sobre Residuos de Plaguicidas y Tolerancias. San José, Costa Rica. 2007



# Anexo I

---

Sistema internacional de  
codificación para los tipos  
de productos y preparados

---



# Anexo I

## Sistema internacional de codificación para los tipos de productos y preparados

La siguiente tabla está tomada de CropLife International, *Catalogue of Pesticide Formulation Types and International Coding System*. Monografía Técnica n° 2, 6ª edición, revisada en mayo 2008

CÓDIGO	TÉRMINO	DEFINICIÓN
<b>AE</b>	AEROSOL	Formulación contenida en un recipiente, desde el cual es dispersada en forma de finas gotas por el efecto de un agente propelente, liberado por una válvula.
<b>AL</b>	CUALQUIER OTRO LÍQUIDO	Líquido no designado aún por un código específico, para aplicar sin diluir.
<b>AP</b>	CUALQUIER OTRO POLVO	Polvo no designado aún por un código específico, para aplicar sin diluir.
<b>BR</b>	BRIQUETA	Bloques sólidos, diseñados para la liberación lenta del activo en el agua.
<b>CB</b>	CEBO CONCENTRADO	Cebo sólido o líquido que se utiliza diluido.
<b>CP</b>	POLVO DE CONTACTO	Formulación roenticida o insecticida en la forma de polvo para aplicación directa.
<b>CS</b>	SUSPENSIÓN DE ENCAPSULADO	Suspensión estable de cápsulas conteniendo sustancia(s) activa(s), en líquido, para aplicar diluida en agua.
<b>DC</b>	CONCENTRADO DISPERSABLE	Líquido homogéneo para ser aplicado como dispersión, luego de ser diluido en agua. (Nota: Existen formulaciones que presentan características intermedias entre DC y EC).
<b>DP</b>	POLVO SECO	Polvo con buena movilidad para aplicación en espolvoreo.
<b>DS</b>	POLVO PARA TRATAMIENTO SECO DE SEMILLAS.	Formulación sólida, uniforme, en forma de polvo, para aplicación directa sobre las semillas.

<b>DT</b>	TABLETAS PARA APLICACIÓN DIRECTA	Formulación en forma de tabletas para ser aplicadas individual y directamente en el campo y/o cuerpos de agua, sin preparación de una solución o dispersión.
<b>EC</b>	CONCENTRADO EMULSIONABLE	Líquido homogéneo para ser aplicado como emulsión, luego de ser diluido en agua.
<b>EG</b>	GRÁNULOS EMULSIONABLES	Formulación granular para ser aplicada como emulsión aceite en agua del ingrediente activo, después de la desintegración en agua, pudiendo contener auxiliares de formulación insolubles.
<b>EO</b>	EMULSIÓN AGUA EN ACEITE	Fluido heterogéneo por dispersión de finos glóbulos de agua con activo en fase continua en un líquido orgánico.
<b>EP</b>	POLVO EMULSIFICABLE	Formulación polvo, que puede contener formulantes insolubles en agua, para ser aplicada como una emulsión aceite en agua del ingrediente activo, después de dispersión en agua.
<b>ES</b>	EMULSIÓN PARA TRATAMIENTO DE SEMILLAS.	Emulsión estable para aplicación directa sobre las semillas, como tal o luego de diluida en agua.
<b>EW</b>	EMULSION ACEITE EN AGUA	Fluido heterogéneo por dispersión de finos glóbulos de un líquido orgánico con activo, en fase continua en agua.
<b>FS</b>	CONCENTRADO FLOABLE PARA TRATAMIENTO DE SEMILLAS	Suspensión estable para aplicación a la semilla, tanto directo como después de diluir.
<b>FU</b>	GENERADOR DE HUMO	Formulación combustible, generalmente sólida, que al encenderla libera el ingrediente activo en la forma de humo.
<b>GA</b>	GAS	Gas empacado en una botella o tanque de presión.
<b>GE</b>	PRODUCTO GENERADOR DE GAS	Formulación que genera un gas por reacción química.
<b>GL</b>	GEL EMULSIFICABLE	Formulación gelatinizada a ser aplicada como una emulsion en agua.
<b>GR</b>	GRÁNULOS	Formulación sólida de libre fluidez de un rango de tamaños de gránulos definidos, lista para ser usada.

<b>GS</b>	GRASA	Producto muy viscoso, de formulación en base a aceite o grasa.
<b>GW</b>	GEL SOLUBLE EN AGUA	Formulación gelatinizada a ser aplicada como una solución acuosa.
<b>HN</b>	CONCENTRADO TERMO-NEBULIZABLE	Formulación adecuada para aplicación por equipo de nebulización en caliente, tanto directamente como después de dilución.
<b>KK</b>	COMBI-PAK Sólido- Líquido	Una formulación sólida y una líquida contenidas separadamente en un mismo envase exterior, para aplicación simultánea en una mezcla de tanque.
<b>KL</b>	COMBI-PAK: Líquido - Líquido	Dos formulaciones líquidas contenidas separadamente en un mismo envase exterior, para aplicación simultánea en una mezcla de tanque.
<b>KN</b>	NEBULIZACIÓN EN FRIO	Formulación específica para aplicación directa mediante nebulización a temperatura ambiente.
<b>LN</b>	NET INSECTICIDA DE LARGA DURACIÓN	Formulación de liberación lenta o controlada, en la forma de una net, que provee barreras físicas y químicas a los insectos. LN se refiere tanto a nets en bulto como productos listos para utilizar, por ejemplo mosquitero.
<b>LS</b>	SOLUCION PARA TRATAMIENTO DE SEMILLAS.	Producto en solución líquida para aplicar a las semillas directamente o diluido en agua. El líquido puede contener agentes formulantes insolubles en agua.
<b>MC</b>	ESPIRALES DE MOSQUITOS	Espiral que se quema (arde) sin producir llama y libera el ingrediente activo dentro de la atmósfera local, como un vapor o humo.
<b>ME</b>	MICROEMULSIÓN	Líquido claro a opalescente, conteniendo aceite y agua, para ser aplicado directamente o diluido en agua, pudiendo formar una microemulsión diluida o una emulsión convencional.
<b>OD</b>	DISPERSIÓN OLEOSA	Suspensión estable de ingrediente activo en un fluido inmisible en agua, que puede contener otros ingredientes activos disueltos, para ser diluida en agua antes de usar.

<b>OF</b>	SUSPENSIÓN MISCIBLE	Suspensión líquida estable, para aplicar diluida en un líquido orgánico.
<b>OL</b>	LÍQUIDO MISCIBLE	Líquido homogéneo para aplicar diluido en un líquido orgánico.
<b>OP</b>	POLVO DISPERSABLE EN ACEITE	Polvo para aplicar como suspensión, luego de ser dispersado en un líquido orgánico.
<b>PA</b>	PASTA	Producto de base acuosa, uniforme, muy viscosa, para aplicación directa, en forma de película sobre la superficie a tratar.
<b>PR</b>	VARILLA VEGETAL	Pequeña varilla, generalmente de pocos centímetros de longitud y algunos milímetros de diámetro, que contiene un ingrediente activo.
<b>PS</b>	SEMILLA REVESTIDA DE UN PLAGUICIDA	Se autodefine.
<b>RB</b>	CEBO (LISTO PARA EL USO)	Producto destinado a atraer a la especie objetivo deseada, y/o a ser ingerido por ella.
<b>SC</b>	SUSPENSIÓN CONCENTRADA (= floable concentrado)	Suspensión estable de ingrediente activo con agua como fluido, para ser diluido en agua antes de usar.
<b>SD</b>	SUSPENSIÓN CONCENTRADA PARA APLICACIÓN DIRECTA	Suspensión estable de ingrediente activo en un fluido, que puede contener otros ingredientes activos disueltos, para aplicación directa en arroz anegado, por ejemplo.
<b>SE</b>	SUSPO-EMULSIÓN	Formulación heterogénea fluida consistente de una dispersión estable de sustancias activas en la forma de partículas sólidas y glóbulos finos en una fase acuosa continua.
<b>SG</b>	GRANULADO SOLUBLE EN AGUA	Gránulos para aplicación luego de la disolución de la(s) sustancia(s) activa(s) en agua, en forma de solución verdadera, pudiendo, sin embargo, contener auxiliares de formulación insolubles.
<b>SL</b>	CONCENTRADO SOLUBLE	Líquido homogéneo que, al ser diluido en agua, forma una emulsión verdadera del activo, pudiendo contener auxiliares de formulación insolubles.
<b>SO</b>	ACEITE DISPERSIVO	Formulación líquida, homogénea, para aplicación directa, capaz de formar una película en el objetivo deseado.

<b>SP</b>	POLVO SOLUBLE	Polvo para aplicación luego de la dilución de la(s) sustancia(s) activa(s) en agua, en forma de solución verdadera, pudiendo contener auxiliares de formulación insolubles.
<b>ST</b>	TABLETAS SOLUBLES	Formulación en forma de tabletas para ser usadas individualmente para formar una solución del ingrediente activo después de su desintegración en agua. La formulación puede contener auxiliares de formulación insolubles.
<b>SU</b>	SUSPENSIÓN ULTRA BAJO VOLUMEN	Suspensión líquida estable, para aplicar directa y específicamente con equipos de Ultra Bajo Volumen (ULV).
<b>TB</b>	TABLETAS	Producto sólido en forma de tabletas pequeñas, para aplicar en forma directa luego de su disolución o dispersión en agua..
<b>TC</b>	MATERIAL TÉCNICO	Material resultante de un proceso de manufactura que comprende el ingredient activo, junto con impurezas asociadas. Puede contener pequeñas cantidades de aditivos necesarios.
<b>TK</b>	TÉCNICO CONCENTRADO	Material resultante de un proceso de manufactura que comprende el ingredient activo, junto con impurezas asociadas. Puede contener pequeñas cantidades de aditivos necesarios y diluyentes apropiados.
<b>UL</b>	ULTRA BAJO VOLUMEN	Líquido homogéneo listo para su aplicación directa con equipos Ultra Bajo Volumen (ULV).
<b>VP</b>	PRODUCTO LIBERADOR DE VAPOR	Producto a base de activo(s) volátil(es), cuyos vapores se desprenden, de modo controlado, en el aire.
<b>WG</b>	GRANULADO DISPERSABLE	Gránulos para aplicación en forma de suspensión, luego de su desintegración y dispersión en agua.
<b>WP</b>	POLVO MOJABLE.	Polvo para aplicar como suspensión, luego de ser dispersado en agua
<b>WS</b>	POLVO DISPERSABLE PARA TRATAMIENTO DE SEMILLAS (Slurry).	Polvo para ser dispersado a alta concentración en agua, antes de su aplicación a la semilla.
<b>WT</b>	TABLETAS DISPERSABLES EN AGUA	Formulación en forma de tabletas para ser usadas individualmente para formar una suspensión del ingrediente activo después de su desintegración en agua.

<b>XX</b>	OTRAS	Código temporario para formulaciones nuevas, cuya definición aún no ha sido acordada.
<b>ZC</b>	FORMULACIÓN MIXTA DE CS Y SC	Suspensión estable de cápsulas e ingrediente activo en fluido, para ser normalmente diluido en agua antes de usar.
<b>ZE</b>	FORMULACIÓN MIXTA DE CS Y SE	Un fluido, formulación heterogénea que consiste de una dispersión estable de ingrediente activo en la forma de cápsulas, partículas sólidas, y finos glóbulos en una fase acuosa continua, para ser normalmente diluida en agua antes de usar.
<b>ZW</b>	FORMULACIÓN MIXTA DE CS Y EW	Un fluido, formulación heterogénea que consiste de una dispersión estable de ingrediente activo en la forma de cápsulas, y finos glóbulos en una fase acuosa continua, para ser normalmente diluida en agua antes de usar.

A photograph of a greenhouse filled with young rice seedlings. The plants are growing in rows of green plastic pots. The background shows the metal frame of the greenhouse and some trees outside. The text is overlaid on a semi-transparent white banner.

# Anexo II

---

Directrices internacionales  
para evaluación de plaguicidas  
con fines de registro

---



# Anexo II

---

## Directrices internacionales para evaluación de plaguicidas con fines de registro

---

En la tabla de este anexo se indican los métodos recomendados por OPPTS y OECD. Los mismos buscan armonizar las metodologías o directrices a seguir para generar la información de soporte para el registro de los plaguicidas. Existen además otras guías internacionales para el registro de plaguicidas, como son las de la FAO y la Unión Europea, por citar dos ejemplos.

Los estudios incluidos en el presente anexo no son una lista de control que deba ser requerida en su totalidad en todos los casos de registro de plaguicidas, ya que hay situaciones donde aplica el proceso escalonado ("tier approach"), en donde la interpretación científica en cada fase de la evaluación, dicta si se requieren o no estudios más avanzados.

De seguido se hace una breve presentación sobre OPPTS y OECD, y más adelante se enlistan los diferentes estudios con los números asignados por parte de estas organizaciones, a las directrices técnicas correspondientes.

- ◆ OPPTS: corresponde a las siglas de "Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances", de la EPA (Environmental Protection Agency), Estados Unidos de América. Las directrices se pueden acceder a través de la siguiente dirección electrónica: <http://www.epa.gov/ocspp/pubs/frs/home/guidelin.htm>
- ◆ OECD: corresponde a "Organization for Economic Cooperation and Development". Sus directrices son una colección de las metodologías de evaluación más relevantes acordadas a nivel internacional, utilizadas por los gobiernos, la industria y laboratorios independientes, para determinar la seguridad de los químicos. Se pueden acceder a través de la siguiente dirección: [http://www.oecd.org/document/40/0,3343,en\\_2649\\_34377\\_37051368\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/40/0,3343,en_2649_34377_37051368_1_1_1_1,00.html)

TIPO DE ESTUDIO	DIRECTRICES	
	OPPTS	OECD
Propiedades físico – químicas		
Color	830.6302	
Estado físico	830.6303	
Olor	830.6304	
Estabilidad a temperaturas normales y elevadas, metales y iones metálicos	830.6313	
Oxidación/reducción: incompatibilidad química	830.6314	
Inflamabilidad	830.6315	
Explosividad	830.6316	
Estabilidad de almacenamiento	830.6317	113
Miscibilidad	830.6319	
Características de corrosión	830.6320	
Voltaje de quiebre dieléctrico	830.6321	
pH	830.7000	
Absorción UV/Visible	830.7050	101
Viscosidad	830.7100	114
Punto de fusión / rango de fusión	830.7200	102
Punto de ebullición / rango de ebullición	830.7220	103
Densidad / densidad relativa / densidad bruta (sin compactar)	830.7300	109
Constante de disociación en agua	830.7370	112
Tamaño de partículas, largo de fibra, y distribución de diámetros	830.7520	110
Coefficiente de partición (n-octanol/agua), método de agitación en frasco	830.7550	107
Coefficiente de partición (n-octanol/agua), método de generador de columna	830.7560	
Coefficiente de partición (n-octanol/agua), estimación por cromatografía líquida	830.7570	117
Solubilidad en agua: método de elusión de columna; método de agitación en frasco	830.7860	105
Presión de vapor	830.7950	104
Efectos a la salud		
Toxicidad aguda:		
Toxicidad oral	870.1100	420, 423, 425
Toxicidad dermal	870.1200	402
Toxicidad inhalatoria	870.1300	403, 433

Irritación ocular	870.2400	405
Irritación dérmica	870.2500	404
Sensibilización dermal	870.2600	429 (ratón) 406 (cobayo)
Toxicidad subcrónica:		
Dosificación repetida 28-días, oral aguda roedores	870.3050	407
Oral 90-días en roedores	870.3100	408
Oral 90-días en no roedores	870.3150	409
21 /28-días dermal	870.3200	410
90-días dermal	870.3250	411
90-días inhalación	870.3465	413
Reproducción / desarrollo	870.3550	421
Combinación de dosificación repetida con reproducción / desarrollo	870.3650	422
Desarrollo prenatal	870.3700	414
Reproducción y efectos en la fertilidad	870.3800	416
Toxicidad crónica:		
Crónica	870.4100	452
Carcinogenicidad	870.4200	451
Combinado toxicidad crónica / carcinogenicidad	870.4300	453
Toxicidad genética:		
Mutación bacterial reversible	870.5100	471
Mutación genética en <i>Aspergillus nidulans</i>	870.5140	
Test bioquímico de posición (gen) específica en ratones	870.5195	
Test visual de posición (gen) específica en ratones	870.5200	
Mutación genética en <i>Neurospora crassa</i>	870.5250	
Test letal recesivo ligado al sexo en <i>Drosophila melanogaster</i>	870.5275	477
Test de mutación genética celular in vitro en mamíferos	870.5300	476
Test de aberración cromosómica in vitro en mamíferos	870.5375	473
Test de aberración cromosómica espermatogonia en mamíferos	870.5380	483
Test de aberración cromosómica en médula ósea en mamíferos	870.5385	475
Test de micronúcleos de eritrocitos en mamíferos	870.5395	474
Ensayo letal dominante en roedores	870.5450	478
Ensayo de translocación hereditaria en roedores	870.5460	485
Daño de DNA bacterial o test de reparación	870.5500	
Síntesis de DNA no programado en cultivo de células de mamífero	870.5550	482
Conversión mitótica genética en <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	870.5575	481
Ensayo in vitro de intercambio de cromátidas hermanas	870.5900	479
Ensayo in vivo de intercambio de cromátidas hermanas	870.5915	

Neurotoxicidad:		
Aguda y neurotoxicidad retardada 28-días de sustancias organofosforadas	870.6100	418, 419
Batería de tamizado de neurotoxicidad	870.6200	424
Neurotoxicidad del desarrollo	870.6300	426
Comportamiento del operante programado-controlado	870.6500	
Función nerviosa periférica	870.6850	
Neurofisiología: potencial sensorial producido	870.6855	
Estudios especiales:		
Seguridad del animal compañero	870.7200	
Metabolismo y farmacocinética	870.7485	417
Penetración dermal	870.7600	
Inmunotoxicidad	870.7800	
Efectos ecológicos		
Fauna acuática:		
Test de toxicidad aguda de invertebrados, dáfidos de agua dulce	850.1010	202
Test de reproducción, dáfidos ( <i>Daphnia magna</i> )		211
Toxicidad aguda de gamáridos	850.1020	
Toxicidad aguda ostras (deposición de la concha)	850.1025	
Toxicidad aguda mísidos	850.1035	
Toxicidad aguda penaeidos	850.1045	
Toxicidad aguda bivalvos (larva embrional)	850.1055	
Toxicidad aguda peces, agua dulce y marinos	850.1075	203
Toxicidad prolongada, peces, 14-días		204
Toxicidad aguda peces, mitigada por ácidos húmicos	850.1085	
Toxicidad crónica dáfidos	850.1300	
Toxicidad crónica mísidos	850.1350	
Toxicidad estados tempranos, peces	850.1350	210
Toxicidad en ciclo de vida, peces	850.1500	
Oyster BCF	850.1710	
Peces BCF	850.1730	305
Toxicidad aguda invertebrados, sedimento completo, agua dulce	850.1735	
Toxicidad aguda invertebrados, sedimento completo, agua marina	850.1740	
Toxicidad en sedimento chironomido	850.1790	218
Toxicidad subcrónica Renacuajo/sedimento	850.1800	
Vida silvestre terrestre:		
Toxicidad oral aguda aves	850.2100	
Toxicidad dietaria aves	850.2200	205

Reproducción aves	850.2300	206
Toxicidad aguda mamíferos silvestres	850.2400	
Insectos benéficos e invertebrados:		
Toxicidad aguda oral, abejas		213
Toxicidad aguda por contacto, abejas	850.3020	214
Toxicidad por residuos en follaje, abejas	850.3030	
Pruebas de campo, polinizadores	850.3040	
Lombrices, toxicidad aguda		207
Lombrices, toxicidad subcrónica	850.6200	
Lombrices, test reproducción		222
Plantas No Blanco:		
Fitotoxicidad	850.4025	
Toxicidad plantas terrestres, Escalón I (emergencia plántulas)	850.4100	208
Toxicidad plantas terrestres, Escalón I (vigor vegetativo)	850.4150	227
Toxicidad de germinación de las semillas/elongación	850.4200	
Emergencia plántulas, Escalón II	850.4225	
Toxicidad temprana de las plántulas	850.4230	
Vigor vegetativo, Escalón II	850.4250	
Estudio de campo de plantas terrestres, Escalón III	850.4300	
Algas, inhibición del crecimiento		201
Toxicidad plantas acuáticas usando <i>Lemma</i> spp, Escalón I y II	850.4400	221
Estudio campo plantas acuáticas, Escalón III	850.4450	
Toxicidad a leguminosa Rhizobium	850.4600	
Plantas, absorción y translocación	850.4800	
Toxicidad microorganismos:		
Comunidad microbial del suelo	850.5100	
Toxicidad algas, Escalones I y II	850.5400	
<b>Destino, transporte y transformación</b>		
Estudios transporte, laboratorio:		
Lixiviación en columnas de suelo		312
Isotermas de sorción de fango activado	835.1110	303
Suelo, cromatografía de capa fina	835.1210	
Isotermas de adsorción/desorción, sedimento y suelo	835.1220	106
Estudios transformación abiótica, laboratorio:		
Hidrólisis en función del pH	835.2110	111
Hidrólisis en función del pH y la temperatura	835.2130	
Tasa de fotólisis directa en agua por luz solar	835.2210	
Tasa máxima de fotólisis directa en aire de espectroscopia UV/visible	835.2310	

Estudios transformación biológica, laboratorio:		
Transformación aeróbica y anaeróbica en suelo		307
Biodegradación aeróbica acuática	835.3100	
Biodegradabilidad disponible	835.3110	301
Producción de dióxido de carbono en vasos sellados	835.3120	310
Biodegradación en agua/sedimento, microcosmo	835.3180	
Biodegradación, suelo	835.3300	304A
Biodegradación anaeróbica de químicos orgánicos	835.3400	311

# Anexo III

---

Características generales  
de los estudios toxicológicos

---





# Anexo III

## Características generales de los estudios toxicológicos

(Fuente: Directrices OECD para la evaluación de químicos)

TIPO DE ESTUDIO	OBJETIVO DEL ESTUDIO	METODOLOGÍA	EVALUACIONES
<b>Toxicidad aguda</b>			
Oral	Provee información sobre peligrosidad a la salud por la ruta oral, debida a una sola exposición o a varias exposiciones en un período no mayor a 24 horas. Permite clasificar a la sustancias por su peligrosidad.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Especie, sexo.</li><li>• Dosis e individuos/dosis.</li><li>• Administración de la sustancia.</li><li>• Duración de la prueba.</li></ul> <ul style="list-style-type: none"><li>• Roedores, preferiblemente ratas hembras.</li><li>• 3 dosis, 3 individuos.</li><li>• Generalmente una sola ingestión a través de fístula estomacal (gavage).</li><li>• Animales son observados durante 14 días, con especial atención durante las primeras 4 horas.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Parámetros</li><li>• Peso de los animales, semanalmente.</li><li>• Necropsia general.</li><li>• DL50: dosis que produce mortalidad al 50 % de los individuos evaluados.</li></ul>
Dermal	Provee información sobre peligrosidad a la salud por la ruta dermal, debida a una sola exposición o a varias exposiciones en un período no mayor a 24 horas. Permite clasificar a la sustancias por su peligrosidad.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Roedores (rata, conejo o cerdo de guinea).</li><li>• Mínimo 3 dosis y 5 animales de un mismo sexo por dosis.</li><li>• Aplicación en la piel, cubriendo no menos de 10 % de la superficie del cuerpo.</li><li>• Período de observación mínimo de 14 días.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Necropsia y cambios patológicos generales.</li><li>• DL50.</li></ul>

Inhalatoria	<p>Provee información sobre peligrosidad a la salud por inhalación de la sustancia (gas, material volátil o aerosol) en un corto período.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rata es la especie preferida.</li> <li>• Mínimo 3 dosis y 10 animales (5 de cada sexo) por dosis.</li> <li>• Se utiliza un equipo con un sistema de inhalación dinámico.</li> <li>• Período de exposición mínimo de 4 horas, y mínimo 14 días de observación.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peso de los animales.</li> <li>• Síntomas de temblores, convulsiones.</li> <li>• Necropsia general.</li> <li>• CL50: concentración que produce mortalidad del 50 % de los animales evaluados.</li> </ul>
Irritación dermal	<p>Provee información sobre peligrosidad por aplicación a la piel.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El conejo albino es la especie preferida.</li> <li>• Una dosis y un animal.</li> <li>• Aplicación en un área de piel de aproximadamente 6 cm<sup>2</sup>. El resto de la superficie de piel no tratada, actúa como control.</li> <li>• Período de exposición de 4 horas, al cabo de los cuales se retira cualquier residuo. Observación durante 14 días.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Síntomas de eritemas y edemas. Si al final de los 14 días persisten, la sustancia se considera irritante.</li> </ul>
Irritación ocular	<p>Provee información sobre peligrosidad por aplicación al ojo.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El conejo albino es la especie preferida.</li> <li>• Una dosis y un animal inicialmente. Si no da reacción, se utilizan hasta dos animales más para confirmar.</li> <li>• Aplicación en saco de la conjuntiva de uno de los ojos. El ojo no aplicado actúa como control.</li> <li>• Período de exposición suficiente para evaluar reacción y recuperación. Observación durante 1, 24, 48 y 72 horas después de la aplicación.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Irritación ocular. Su reversibilidad o falta de reversibilidad.</li> </ul>
Sensibilización a la piel	<p>Proveer información sobre peligrosidad por exposición vía inyección intradérmica y/o epidérmica.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cerdo de guinea preferiblemente; además ratones.</li> <li>• Una dosis al inicio. Se deja un período de inducción de 10-14 días y se aplica otra dosis. De 10 a 20 individuos en el grupo de tratados y de 5 a 10 en el grupo control.</li> <li>• Evaluación durante 23 a 32 días.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reacciones de la piel y cualquier otro síntoma extraño.</li> </ul>

Toxicología subcrónica			
<p><b>Toxicidad oral 28-días en roedores</b></p>	<p>Provee información en peligrosidad por exposiciones repetidas por la vía oral durante 28 días</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Roedores (Rata preferiblemente).</li> <li>• Tres grupos de prueba de al menos 10 animales (5 de cada sexo) cada uno.</li> <li>• Una dosificación diaria durante 28 días, a través de intubación o en el alimento o agua.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pesado de los animales al menos semanal; observaciones diarias y detalladas (hematología y bioquímica clínica). Necropsia general e histopatología.</li> </ul>
<p><b>Toxicidad oral 90-días en Roedores</b></p>	<p>Provee información en peligrosidad por exposiciones repetidas por la vía oral durante 90 días</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Roedores (Rata preferiblemente).</li> <li>• Tres concentraciones mínimas con al menos 20 animales (10 de cada sexo) por cada una.</li> <li>• Una dosificación diaria durante 90 días, a través de intubación o en el alimento o agua.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pesaje al menos semanal.</li> <li>• Medición de consumo de alimento y agua.</li> <li>• Observaciones detalladas: oftalmología, hematología, bioquímica clínica, urinalisis, necropsia general e histopatología.</li> <li>• Estimación del nivel de no efecto.</li> </ul>
<p><b>Toxicidad oral 90-días en No Roedores</b></p>	<p>Provee información en peligrosidad por exposiciones repetidas por la vía oral durante 90 días</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Comúnmente el perro (raza Beagle)</li> <li>• Tres concentraciones mínimas con al menos 8 animales (4 de cada sexo) por cada una.</li> <li>• Una dosificación diaria durante 90 días, a través de intubación, cápsulas, en el alimento o el agua.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pesaje al menos semanal.</li> <li>• Medición de consumo de alimento y agua.</li> <li>• Observaciones detalladas: oftalmología, hematología, bioquímica clínica, urinalisis, necropsia general e histopatología.</li> <li>• Estimación del nivel de no efecto.</li> </ul>
<p><b>Toxicidad dermal 21/28 días</b></p>	<p>Provee información en peligrosidad por exposiciones repetidas por la vía dermal durante 21 a 28 días</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rata, conejo o cerdo de Guinea.</li> <li>• Tres concentraciones mínimas con al menos 10 animales (5 de cada sexo) por cada una.</li> <li>• Aplicación repetida durante varias horas al día durante 21/28 días, cubriendo al menos 10 % del la superficie de piel.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mediciones diarias y detalladas (hematología, bioquímica clínica, urianálisis), así como necropsia general e histopatología.</li> <li>• Estimación del nivel de no efecto.</li> </ul>

Toxicidad dermal 90 días	<p>Proporciona información en peligrosidad por exposiciones repetidas por la vía dermal durante 90 días</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rata adulta o cerdo de Guinea.</li> <li>• Tres concentraciones mínimas con al menos 20 animales (10 de cada sexo) por cada una.</li> <li>• Aplicación repetida durante varias horas al día durante 90 días, cubriendo al menos 10 % del la superficie de piel.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mediciones diarias y detalladas (oftalmología, hematología, bioquímica clínica, urianálisis), así como necropsia general e histopatología.</li> <li>• Estimación del nivel de no efecto.</li> </ul>
Toxicidad inhalatoria: estudio de 28 o 14 días	<p>Análisis de los riesgos por inhalación de gases, materiales volátiles o aerosoles, por exposición de varias horas diarias durante 28 ó 14 días</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Roedores.</li> <li>• Tres concentraciones mínimas con al menos 10 animales (5 de cada sexo) por cada una.</li> <li>• Aplicación a través de un sistema inhalatorio dinámico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mediciones diarias y detalladas (hematología, bioquímica clínica y urianálisis), necropsia general e histopatología.</li> <li>• Efectos de exposición durante 28 ó 14 días, e información sobre necesidad de evaluaciones más prolongadas (ej. 90 días)</li> </ul>
Toxicidad inhalatoria: estudio de 90 días	<p>Análisis de los riesgos por inhalación de gases, materiales volátiles o aerosoles, por exposición de varias horas diarias durante 90 días</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Roedores.</li> <li>• Tres concentraciones mínimas con al menos 20 animales (10 de cada sexo) por cada una.</li> <li>• Aplicación a través de un sistema inhalatorio dinámico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mediciones diarias y detalladas (hematología, bioquímica clínica y urianálisis), necropsia general e histopatología.</li> <li>• Nivel de No Efecto.</li> </ul>
<b>Toxicidad crónica y carcinogénesis</b>			
Toxicidad crónica	<p>Caracterizar el perfil de la sustancia en especies mamíferas en exposiciones repetidas y prolongadas</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dos especies mamíferas: un roedor (generalmente la rata) y el perro (o primate).</li> <li>• Mínimo tres grupos de evaluación además del control. Para cada grupo: roedores, al menos 20 individuos de cada sexo; perro o primate, al menos 4 individuos de cada sexo.</li> <li>• Exposición normalmente diaria, por un período de al menos 12 meses.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peso y observaciones detalladas (hematología, urianálisis, química clínica), necropsia y histopatología.</li> <li>• Toxicidad general.</li> </ul>

Carcinogénesis	<p>Evaluar el desarrollo de lesiones neoplásicas durante la mayor parte del ciclo de vida de los animales, durante o después de repetidas dosis de la sustancia de prueba, administrada por la ruta apropiada</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Al menos dos especies: rata y ratón.</li> <li>• Al menos tres niveles de dosis. Cada grupo compuesto de al menos 50 individuos de cada sexo.</li> <li>• Frecuencia de la exposición varía con la ruta aplicada (oral, dermal, inhalatoria). Duración de 18 meses para ratones y hámster y 24 meses para ratas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peso y observaciones detalladas (hematología, urianálisis, química clínica), necropsia y histopatología.</li> <li>• Detección de efectos neoplásicos y potencial carcinogénico.</li> </ul>
Estudio combinado crónico / carcinogénico	<p>Identificar la mayoría de efectos crónicos y carcinogénicos y determinar la relación dosis-respuesta, tras exposiciones repetidas y prolongadas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rata.</li> <li>• Por lo menos tres niveles de dosis aparte del control. Para cada grupo, mínimo 50 individuos de cada sexo.</li> <li>• Duración de 18 meses para ratones y hámster y 24 meses para ratas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peso y observaciones detalladas (hematología, urianálisis, química clínica), necropsia y histopatología.</li> <li>• Detección de efectos neoplásicos y potencial carcinogénico, así como toxicidad general.</li> </ul>
<b>Toxicidad a la reproducción / desarrollo (teratogénesis)</b>			
Toxicidad al desarrollo (teratogénesis)	<p>Evaluar el efecto de la exposición prenatal en el animal preñado expuesto y en su progenie</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rata y conejo.</li> <li>• Tres concentraciones o dosis; mínimo 20 hembras por concentración.</li> <li>• Administración generalmente oral, por intubación, desde la implantación hasta un día previo al sacrificio programado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peso de las hembras y observaciones clínicas diarias.</li> <li>• Hembras son sacrificadas un día antes del día esperado del parto. Fetos son evaluados en cuanto a tejidos blandos y cambios esqueléticos.</li> </ul>
Toxicidad reproductiva - una generación	<p>Evaluar efectos de la sustancia en el comportamiento reproductivo de machos y hembras</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rata y ratón.</li> <li>• Al menos tres niveles de dosis. Se requieren tantos animales por grupo o nivel de dosis, como para asegurar lograr al menos 20 hembras preñadas.</li> <li>• Machos dosificados durante el crecimiento y durante al menos un ciclo espermatogénico completo. Hembras dosificadas durante al menos dos ciclos estruales completos. Luego son apareados. La sustancia se administra a través del alimento o el agua, a ambos sexos durante el período de apareamiento, y más allá a las hembras durante la preñez y el amamantamiento.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pesaje, consumo de alimento y observaciones detalladas diarias, necropsia e histopatología.</li> <li>• Efectos en la reproducción, el parto, lactancia y crecimiento postnatal.</li> <li>• Nivel de No Efecto (NOEL).</li> </ul>

<p><b>Toxicidad reproductiva – dos generaciones</b></p>	<p>Proveer información en la integridad y comportamiento del sistema reproductivo de machos y hembras, así como en el crecimiento y desarrollo de la progenie.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rata.</li> <li>• Al menos tres niveles de dosis. Se requieren tantos animales por grupo o nivel de dosis, como para asegurar lograr al menos 20 hembras preñadas.</li> <li>• Machos y hembras de la generación parental son dosificados durante el crecimiento, apareamiento, preñez y hasta el destete de la primera generación. Se continúa dosificando a la primera generación durante su crecimiento, apareamiento y producción de una segunda generación (hasta el destete). La sustancia se administra oralmente a través del alimento, el agua o por intubación.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pesaje, parámetros en la esperma, ciclos estruales, parámetros de la progenie. Además observaciones clínicas diarias, necropsia general e histopatología.</li> <li>• Efectos en la reproducción, el parto, lactancia y crecimiento postnatal incluyendo crecimiento y desarrollo sexual.</li> <li>• Nivel de No Efecto (NOEL).</li> </ul>
<b>Neurotoxicidad</b>			
<p><b>Neurotoxicidad en roedores</b></p>	<p>Obtener la información necesaria para confirmar o caracterizar mejor el potencial neurotóxico de la sustancia en animales adultos</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rata.</li> <li>• Tres niveles de dosis y un control. Mínimo 20 (10 de cada sexo) individuos por grupo o nivel de dosis.</li> <li>• Administración diaria por intubación, en la dieta o el agua o por cápsulas. Régimen de dosificación puede ser de 28 días, subcrónico (90 días) o crónico (1 año o más).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pesaje, consumo de agua y alimento.</li> <li>• Observaciones diarias y detalladas (oftalmología, hematología, bioquímica clínica e histopatología).</li> <li>• Neurohistopatología</li> <li>• Incidencia de efectos neurológicos del comportamiento y neuropatológicos.</li> </ul>
<p><b>Neurotoxicidad retardada por organofosforados por exposición aguda</b></p>	<p>Evaluar efectos neurotóxicos de sustancias organofosforadas por una única dosificación</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gallina doméstica.</li> <li>• Al menos 12 gallinas por grupo o nivel de dosis de los tratamientos y 6 gallinas en el grupo control positivo.</li> <li>• Administración de una sola dosis por intubación o cápsulas de gelatina. Observación durante 21 días.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pesaje de los animales.</li> <li>• Evaluación de esterazas neuropáticas blanco.</li> <li>• Necropsia general.</li> <li>• Incidencia de efectos neurológicos, bioquímicos e histopatológicos.</li> </ul>

<p><b>Neurotoxicidad retardada por organofosforados por dosificación repetida durante 28 días</b></p>	<p>Evaluar efectos neurotóxicos de sustancias organofosforadas por dosificación repetida durante 28 días</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gallina doméstica.</li> <li>• Mínimo tres niveles de dosis; 12 individuos por dosis.</li> <li>• Administración por intubación o cápsulas de gelatina, durante 28 días.</li> <li>• Animales observados</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pesaje de los animales, al menos semanal.</li> <li>• Evaluación de esterases neuropáticas blanco.</li> <li>• Necropsia general.</li> <li>• Incidencia de efectos neurológicos, bioquímicos e histopatológicos.</li> </ul>
<p><b>Genotoxicidad</b></p>			
<p><b>Bacterias – reversión mutagénica</b></p>	<p>Detectar mutaciones que reversion mutaciones presentes en las cepas, restaurando la capacidad funcional de las bacterias de sintetizar aminoácidos esenciales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suspensiones de cepas de bacterias Salmonella typhimurium y Escherichia coli son expuestas a la sustancia evaluada.</li> <li>• Al menos cinco diferentes concentraciones son utilizadas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Después de dos o tres días de incubación a 37 °C, se cuentan las colonias revertidas.</li> </ul>
<p><b>Aberración cromosómica <i>in vitro</i></b></p>	<p>Identificar agentes que causan aberraciones cromosómicas estructurales en cultivos de células somáticas de mamíferos</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cultivos celulares expuestos a la sustancia.</li> <li>• Se utilizan al menos 3 concentraciones. A cada concentración se utilizan cultivos duplicados.</li> <li>•</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Células analizadas microscópicamente para detectar presencia de aberraciones.</li> </ul>
<p><b><i>In vivo</i> – micronúcleos en ratones</b></p>	<p>Identificar sustancias que causan daños citogenéticos que resultan en la formación de micronúcleos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dosificación por gavage o intubación o intraperitoneal.</li> <li>• Cada tratamiento y el control incluye al menos cinco ratones por sexo.</li> <li>• Una sola dosificación o varias por día hasta por 14 o más días.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se analiza la presencia de micronúcleos en preparados de médula ósea y/o células sanguíneas.</li> </ul>

<b>Aberración cromosómica - medula ósea</b>	Identificar sustancias que causan aberraciones estructurales cromosómicas en células de médula ósea.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Se utilizan usualmente roedores (ratas, ratones o hámster).</li><li>• Animales dosificados por gavage o intubación o por la vía intraperitoneal.</li><li>• Cada grupo tratado y el control compuesto por al menos 5 animales de cada sexo.</li><li>• Administración durante 14 días o más.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Presencia de aberraciones cromosómicas en células de médula ósea.</li></ul>
---	--	--	---



# Anexo IV

---

Características generales de los estudios ecotoxicológicos

---



# Anexo IV

## Características generales de los estudios ecotoxicológicos

(Fuente: Directrices OECD para la evaluación de químicos)

TIPO DE ESTUDIO	OBJETIVO DEL ESTUDIO	METODOLOGÍA	EVALUACIONES
Organismos acuáticos			
<b>Algas - inhibición del crecimiento</b>	Determinar el efecto de la sustancia en el crecimiento de microalgas de agua dulce y/o de cianobacterias.	<ul style="list-style-type: none"><li>Exposición normalmente por un período de 72 horas.</li><li>Exposición a un mínimo de 5 concentraciones de la sustancia. Tres réplicas por cada concentración.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Reducción en crecimiento.</li><li>Determinaciones diarias de la biomasa de las algas, medición del pH al comienzo y al final, observaciones microscópicas.</li></ul>
<b><i>Daphnia</i> sp (pulga acuática) - inmovilización aguda</b>	Determinar la toxicidad aguda en <i>Daphnia</i> (usualmente <i>Daphnia magna</i> ).	<ul style="list-style-type: none"><li>Dáfnidos jóvenes, de menos de 24 horas al comenzar el test.</li><li>Exposición a un mínimo de 5 concentraciones de la sustancia, por un período de 48 horas.</li><li>Al menos 20 animales, divididos en 4 grupos de 5 animales cada uno.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Cálculo del EC<sub>50</sub> (concentración que produce inmovilización del 50 % de la población evaluada) a las 24 y 48 horas, en grupos tratados y el control.</li></ul>

<b>Daphnia magna</b> - reproducción	Evaluar el efecto de la sustancia en la reproducción de <i>Daphnia magna</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dáfnidos jóvenes expuestos a un mínimo de 5 concentraciones de la sustancia.</li> <li>• Al menos 10 animales por cada concentración evaluada.</li> <li>• Duración es de 21 días.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Parámetros reproductivos de los padres, así como el número total de progenie viva.</li> <li>• Conteo diario de la progenie, mortalidad diaria de los padres, medición semanal de la concentración de oxígeno, temperatura, valores de dureza y pH del agua, así como la concentración de la sustancia.</li> <li>• Determinación del LOEC (concentración mínima que produce efecto), así como del NOEC (concentración máxima sin efecto).</li> </ul>
<b>Peces - toxicidad aguda</b>	Evaluar la toxicidad de la sustancia a peces.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peces expuestos por un período de 96 horas.</li> <li>• Una o dos especies de peces son utilizadas.</li> <li>• Al menos 7 peces por cada concentración evaluada y en los controles. Mínimo 5 concentraciones son evaluadas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mortalidad a las 24, 48 y 72 horas.</li> <li>• <math>CL_{50}</math> (concentración que mata el 50 % de los peces)</li> <li>• Observaciones de los peces al menos después de 24, 48, 72 y 96 horas.</li> </ul>
<b>Peces - toxicidad prolongada (14 días)</b>	Observar mortalidad y otros efectos en peces	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Exposición durante 14 días.</li> <li>• Al menos 10 peces por cada concentración y el control. Se usan una o más especies.</li> <li>• Si es necesario el período se puede extender más allá de 14 días, por una o dos semanas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar el NOEC (nivel de no efecto).</li> <li>• Evaluación de mortalidad diaria.</li> <li>• Observación de efectos letales y otros efectos (cambios en apariencia, comportamiento, etc.).</li> <li>• Mediciones del pH, oxígeno disuelto y temperatura al menos dos veces por semana.</li> </ul>
<b>Peces - toxicidad en fase temprana del ciclo de vida</b>	Definir los efectos letales y subletales de la sustancia en las fases tempranas de las especies evaluadas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fases tempranas de peces expuestas a un mínimo de 5 concentraciones de la sustancia.</li> <li>• Inicia con colocación de huevos fértiles (al menos 60), y continúa hasta que al menos todos los peces en los controles se alimenten libremente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Efectos letales y subletales en comparación con los controles.</li> <li>• Concentración mínima que produce algún efecto (LOEC); concentración máxima que no produce ningún efecto (NOEC)</li> <li>• Mediciones de concentración de sustancia en el agua, oxígeno disuelto, pH, dureza total y salinidad.</li> <li>• Peso y longitud de los peces.</li> <li>• Observaciones de apariencia anormal, comportamiento anormal, eclosión y sobrevivencia.</li> </ul>

Aves		
<b>Toxicidad en la dieta</b>	<p>Determinar el efecto de la sustancia suministrada en el alimento de aves</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Administrada en la dieta de aves por un período de 5 días.</li> <li>• Dos grupos control y uno tratado para cada uno de los niveles en dieta. Al menos 5 niveles evaluados. Cada grupo de 10 aves.</li> <li>• Duración mínima 8 días: 5 días de dieta tratada seguido de 3 días de dieta normal.</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mortalidad y signos de toxicidad registrados diariamente.</li> <li>• Signos de intoxicación y comportamiento anormal, peso corporal, consumo de alimento.</li> </ul>
<b>Reproducción</b>	<p>Determinar el efecto en la reproducción de la sustancia suministrada en la dieta.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aves alimentadas con dieta tratada, con varias concentraciones, por un período no menor a 20 semanas.</li> <li>• Mínimo tres concentraciones en la dieta.</li> <li>• Aves mantenidas en parejas, o en grupos de un macho y dos o tres hembras.</li> <li>• Aves inducidas por foto período a poner huevos. Huevos son recogidos por un período de diez semanas, incubados artificialmente y eclosionados, y los polluelos mantenidos por 14 días.</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mortalidad de adultos, producción de huevos, huevos quebrados, huevos con cáscara débil, viabilidad, eclosión, efectos en aves jóvenes.</li> </ul>

Lombrices			
Toxicidad aguda	<p>Evaluar la toxicidad de la sustancia a lombrices.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Especie recomendada: <i>Eisetia foetida</i>.</li> <li>Dos métodos: 1) contacto en papel filtro impregnado, en la oscuridad por 48 horas; 2) en suelo artificial. En ambos, se usan 5 o más concentraciones. Se recomienda 10 réplicas para papel y 4 para suelo artificial. Una lombriz por réplica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mortalidad a los 7 y 14 días de la aplicación.</li> </ul>
	<p>Evaluar efecto de la sustancia en la capacidad reproductiva, así como otros efectos subletales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lombrices <i>Eisetia foetida</i> adultas.</li> <li>Sustancia mezclada en el suelo o aplicada en la superficie.</li> <li>Rango de dosis establecido para encontrar efectos tanto subletales como letales, durante un período de 8 semanas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Observación de comportamiento y morfología inusuales.</li> <li>Conteo y pesaje de gusanos adultos después de las 4 primeras semanas.</li> <li>Número de juveniles eclosionados al final de las 4 semanas.</li> <li>Comportamiento reproductivo de tratados vs. controles.</li> <li>Determinación de la concentración de no efecto (NOEC).</li> </ul>
Plantas			
Emergencia y crecimiento	<p>Evaluar el efecto en la emergencia y crecimiento temprano de plantas superiores, cuando se aplica el plaguicida a la superficie o dentro del suelo.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se evalúan los efectos en semillas en contacto con suelo tratado, a los 14 ó 21 días de alcanzada un 50 % de emergencia en el grupo control.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Evaluación de los efectos en semillas: emergencia, medida de biomasa, altura de plántulas, efectos detrimentales visuales en las diferentes partes de la planta.</li> <li>Se puede calcular la concentración de no efecto (NOEC), así como la concentración más baja en la cual se observa efecto (LOEC)</li> </ul>
	<p>Lemna sp - inhibición de crecimiento</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se dejan crecer en al menos cinco concentraciones de la sustancia en estudio, por un período de siete días.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Conteo del número de frondas y del área de las mismas, peso seco y húmedo.</li> <li>% de inhibición del crecimiento o rendimiento.</li> <li>NOEC y LOEC.</li> </ul>

Microorganismos del suelo			
<b>Nitrificadores</b>	<p>Determinar los efectos a largo plazo después de una sola exposición, en la actividad de los microorganismos transformadores del nitrógeno en el suelo.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suelo tamizado se enmienda con harina de plantas y es tratado con la sustancia de prueba.</li> <li>• Para plaguicidas se evalúa al menos dos concentraciones.</li> <li>• Un mínimo de tres réplicas para ambos, tratado y no tratado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Después de 0, 7, 14 y 28 días de incubación, se evalúa la cantidad de nitratos.</li> </ul>
<b>Transformadores del Carbono</b>	<p>Investigar el efecto potencial a largo plazo de una simple exposición del plaguicida evaluado, sobre la actividad de los microorganismos del suelo transformadores del carbono</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mínimo dos concentraciones. Un mínimo de tres replicas por concentración, tanto para tratados como para el testigo.</li> <li>• Después de 0, 7, 14 y 28 días de incubación, los suelos tratados y los controles se mezclan con glucosa, y se mide la tasa de respiración por 12 horas consecutivas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Medición de la liberación de dióxido de carbono u oxígeno consumido.</li> <li>• Comparación de la respiración en el control respecto a los tratados.</li> <li>• Cuando la diferencia en la tasas de respiración entre el tratamiento menor y el control es igual o menor a 25 %, después del día 28, se estima que el plaguicida evaluado no tiene efecto potencial a largo plazo sobre la transformación de carbono en el suelo.</li> </ul>
Abejas			
<b>Toxicidad oral aguda</b>	<p>Evaluar la toxicidad oral aguda del plaguicida en abejas obreras adultas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas adultas obreras alimentadas con cinco dosis del plaguicida, disperso en solución de sucrosa.</li> <li>• Grupos de diez abejas por tratamiento, y un mínimo de tres replicas.</li> <li>• Se utiliza un control tóxico (usualmente dimetoato).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Registro de mortalidad diaria durante por lo menos 48 horas en los grupos tratados, es comparada con el control.</li> <li>• Observación de cualquier comportamiento anormal.</li> <li>• Cálculo de la <math>DL_{50}</math> a las 24 y 48 horas, y si el estudio se prolonga, a las 72 y 96 horas.</li> </ul>

**Toxicidad  
aguda por  
contacto**

Evaluar la toxicidad aguda por contacto del plaguicida en abejas obreras adultas.

- Abejas obreras adultas anestesiadas son expuestas a cinco dosis del plaguicida, disuelto en un vehículo apropiado (volumen total de 1 ml), mediante aplicación directa de gotas al tórax.
  - Tres réplicas mínimo, cada una de diez abejas.
  - Se utiliza un control tóxico (usualmente dimetoato).
  - La duración de la prueba es de 48 horas.
- Registro de mortalidad diaria durante por lo menos 48 horas en los grupos tratados, es comparada con el control.
  - Observación de cualquier comportamiento anormal.
  - Cálculo de la  $DL_{50}$  a las 24 y 48 horas, y si el estudio se prolonga, a las 72 y 96 horas.



# CropLife

LATIN AMERICA



[www.croplifela.org](http://www.croplifela.org)