

Mayo de 2017

## **PROTOCOLO DE CONTROL DE LA CALIDAD DEL CAFÉ PARA EXPORTACIÓN AL MERCADO JAPONÉS- VERSION 1-**

### **I. Objeto**

Este protocolo define lineamientos generales sobre toma de muestras, empaque, precauciones generales y condiciones de los certificados emitidos para la evaluación de calidad de café verde en almendra con destino al mercado de Japón y cuyo objeto sea la evaluación de residuos de agroquímicos y de manera particular el contenido de la molécula chlorpyrifos.

### **II. Alcance**

Aplica para todo el café verde en almendra Colombiano de Exportación.

El requisito para la exportación de café con destino al mercado japonés se cumple con la presentación y verificación ante la FNC -en el puerto Colombiano- de los análisis de laboratorios acreditados, que confirmen el cumplimiento de los estándares y límites exigidos para la molécula Chlorpyrifos (de manera particular).

Si en la corrida cromatografica del método "multi residuos", hay alguna evidencia de la presencia de la molécula "Chlorpyrifos", este valor se debe confirmar mediante método específico para dicha molécula.

La "Lista positiva" – Anexo 1- para café (Emitida por el MHWL de Japón) contempla un total de 140 principios activos que pueden ser evaluados mediante la técnica de análisis "Multi screening" (protocolo anexo 2). Si es detectado ó se tiene duda sobre la presencia de alguno ó algunos de estos principios activos, se aplica un método específico para ese ó esos compuestos hallados.

Para el caso de cualquier principio activo ò pesticida, el límite máximo permitido es el valor que se menciona en la "Lista positiva" – Anexo 1-. Puede leerse de este listado, que para el caso de la molécula "Chlorpyrifos" el Límite Máximo permitido (MRLs) es de 0,05 ppm (partes por millón, µg/Kg).

La preparación de la muestra para la marcha analítica, así como todas las etapas de extracción, concentración, obtención del extracto y las condiciones de las corridas cromatográficas se muestran en el **Anexo 2** de este protocolo.

### III. Consideraciones básicas

La muestra es el elemento de partida básico para un buen análisis de calidad.

La probabilidad de que el 100% de los granos que componen un lote de café tenga presencia de residuos de agroquímicos es muy baja. Por el contrario, es mucho más probable que fracciones de un lote de café sean las que contengan alguna cantidad de una sustancia determinada.

Las cantidades de residuos de agroquímicos, cuando están presentes, son muy pequeñas, del orden de las partes por millón (ppm,  $\mu\text{g/Kg}$ ) y menores.

Por ser muy pequeñas las cantidades a identificar, cualquier cambio o alteración de la muestra, puede conducir a errores en su determinación.

Tomar una muestra del 100% de las unidades de inspección mínima (sacos), conduce a la dilución de la sustancia y su posibilidad de ser encontrada disminuye sustancialmente. En consecuencia, una muestra comercial no es apropiada para este tipo de análisis.

La mayoría de estas sustancias o moléculas o principios activos (agroquímicos) se alojan en los tejidos grasos o sustancias lipídicas.

El método analítico para la determinación del contenido de agroquímicos debe estar validado.

### IV. Procedimiento de toma de muestras específico análisis de residuos de agroquímicos

A continuación el procedimiento rutinario para la toma de muestras con este propósito específico.

**NOTA:** Este procedimiento difiere de la toma de muestra comercial normal con la que usualmente se hace los análisis rutinarios de calidad. El muestreo para análisis de



residuos de agroquímicos es diferente al comercial y la muestra no se obtiene de partición de una muestra general.

1. Emplear una sola sonda de café, específica para esta tarea de muestreo.
2. La sonda se limpia con alcohol Metílico (Metanol), antes y después del muestreo. Tome las precauciones necesarias para la salud del operario.
3. Seleccione al azar el 10% aprox. De las unidades básicas de inspección para la toma de la muestra. De un lote de 250 sacos se selecciona al azar una estiba (25 sacos) y de allí se toma la muestra a enviar.
4. Tome un incremento por cada saco que compone el 10% de la fracción de lote.
5. Toda la muestra que se obtiene es enviada a los laboratorios de análisis. La cantidad aprox. que se obtendrá es de alrededor de 1,0 Kg.
6. La identificación de la muestra (etiqueta) debe colocarse fuera de la bolsa que contiene la muestra de café verde en almendra. Evitar el contacto de la muestra con materiales o productos que puedan contaminarla.
7. Asegúrese tanto de la integridad en el selle de la bolsa como de su adecuada protección para su manipulación en el envío a los laboratorios de análisis.
8. Emplear bolsas plásticas nuevas ò empaques inertes.

#### V. Precauciones a lo largo del protocolo

9. En regiones cálidas, tener precaución cuando se realice el control de insectos (mosquitos), para evitar contaminación cruzada.
10. No emplear herramientas ò utensilios de cuya procedencia ò manejo no se tenga certeza (sondas, bolsas, etiquetas).
11. El empaque (sacos de Fique) en donde se embala el café debe manejarse con precaución y evitar que sea fumigado con productos de alta toxicidad ò prolongados tiempo de descomposición. Ellos pueden ser fuente de contaminación cruzada.
12. Si realizan talleres de calidad, mencionar el tema de residuos de agroquímicos, haga énfasis en la necesidad de tener un producto limpio / seguro y seguir las instrucciones del comité de cafeteros – Servicio de extensión-.

## VI. Del certificado de análisis

Emitido por un laboratorio acreditado bajo la norma ISO IEC 17025:2005 para análisis de residuos de agroquímicos, ante el ente normalizador nacional de cada país (ONAC en el caso de Colombia).

Este documento debe tener los siguientes requisitos básicos, los cuales se revisarán en el momento de su presentación ante la autoridad cafetera:

- a) Un título (por ejemplo, "informe de ensayos").
- b) Nombre y dirección del laboratorio y el lugar donde se realizaron los ensayos.
- c) Una identificación única del informe de ensayo.
- d) Nombre y dirección del cliente.
- e) Identificación del método empleado, indicando la incertidumbre del mismo.
- f) Una descripción no ambigua de los ítems/ muestras ensayados.
- g) Fecha de recepción del ítem/muestra a ensayar y fecha de realización del ensayo.
- h) Los resultados del ensayo, con sus unidades de medida.
- i) Nombres, funciones y firmas o equivalente, de las personas que autorizan el informe.

El certificado emitido por un laboratorio ubicado fuera de Colombia, deberá presentarse para su revisión a la FNC en el idioma oficial de la OMC, es decir en español, inglés o francés. Este será entregado en el momento que se indique en la respectiva reglamentación.

Los altos estándares de calidad del café de Colombia son un compromiso de todos, para el mundo.

## VII. Otras consideraciones – Laboratorios Acreditados para la toma de muestras a nivel nacional e internacional.

El exportador para la toma de muestras a que se refiere este protocolo, podrá acudir a laboratorios en Colombia o en el exterior - autorizados ante el organismo nacional acreditador de cada país, en el cumplimiento de la norma ISO IEC 17025:2005 para análisis de residuos de Agroquímicos- para aplicar las pruebas que cumplan con el Protocolo Análisis de la determinación de residuos de agroquímicos en muestras de café empleando la técnica de multiresiduos, utilizando cromatografía de gases con detector selectivo de masas (GC-MS/SIM) norma de referencia AOAC 2007.01 Protocolos MHLW notificación No 499".

El exportador de café correrá con los costos que ello implique y asumirá por su propia cuenta y riesgo los perjuicios e indemnizaciones que se deriven de su no aplicación y de la veracidad de la información.



En todo caso, la Federación Nacional de Cafeteros o quien haga sus veces, como encargada de la vigilancia del cumplimiento de la medida de control de la calidad de café para exportación al mercado japonés, no se hará responsable de las diferencias estadísticas entre los resultados obtenidos en origen y cualquier otro análisis posterior que se desarrolle en destino, así como de las consecuencias derivadas de estos hallazgos<sup>1</sup>.

Firma,

A handwritten signature in dark ink, appearing to be "Octavio Castilla".

OCTAVIO CASTILLA G.  
Gerente general ALMACAFÉ S.A.

A handwritten signature in dark ink, appearing to be "Fernando Osorio".

FERNANDO OSORIO  
DIRECTOR OFICINA CALIDAD DE CAFÉ

A handwritten signature in dark ink, appearing to be "Rodrigo Alarcon".

RODRIGO ALARCON  
COORDINADOR LABORATORIO CENTRAL

<sup>1</sup> Artículo 23 del Decreto 1461 de 1932: "Si al examinar la calidad o procedencia del café salido de Colombia, se encontrare que aquella no está o no están de acuerdo con lo que aparezca en el respectivo conocimiento de embarque, o en la declaración presentada al inspector cafetero, cualquier responsabilidad o indemnización a que hubiere lugar será de cargo exclusivo del exportador."

## ANEXO 1 Lista Positiva Límite Máximo de residuos para pesticidas en café verde

The list of maximum residue limits (MRLs) for pesticide in green coffee beans.

	Item (English)	Item (Japanese)	MRL (ppm)
1	1-NAPHTHALENEACETIC ACID	1-ナフタレン酢酸	0.1
2	2,2-DPA	2,2-DPA	0.05
3	4-CPA	4-クロルフェノキシ酢酸	0.02
4	ABAMECTIN	アバメクチン	0.008
5	ACEQUINOCYL	アセキノシル	0.02
6	ALDICARB	アルジカルブ	0.1
7	ASULAN	アシュラム	0.02
8	AZOXYSTROBIN	アゾキシストロビン	0.02
9	BENSULFURON-METHYL	ベンスルフロンメチル	0.02
10	BENSULIDE	ベンスリド	0.03
11	BENTAZONE	ベンタゾン	0.02
12	BENZYLADENINE (BENZYLAMINOPURIN)	ベンジルアデニン (ベンジルアミノプリンをいう。)	0.02
13	BIFENAZATE	ビフェナゼート及びイソプロピル= (4-メトキシビフェニル-3-イル) ジアザゼニルホルマートの総和として	0.02
14	BILANAFOS (BIALAPHOS)	ビアラホス	0.001
15	BIORESMETHRIN	ビオレスメトリン	0.1
16	BRODIFACUM	ブロディファコウム	0.001
17	BROMIDE (METHYL BROMIDE)	臭素 (臭化メチル)	60
18	CARBENDAZIM, BENOMYL, THIOPHANATE-METHYL	カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル (総和をいう。)	0.1
19	CARBOFURAN	カルボフラン	1
20	CARPENTHAZONE-ETHYL	カルフェントラゾンエチル	0.1
21	CARPROPAMID	カルプロバミド	0.1
22	CHLORFLUAZURON	クロルフルアズロン	0.05
23	CHLOROTHALOXIL	クロロタロニル	0.2
24	CHLORPYRIFOS	クロルピリホス	0.05
25	CLODINAFOF-PROPARGYL	クロジナホッププロパギル	0.02
26	CLOFENTHIZINE	クロフェンテジン	0.02
27	CLOMAZONE	クロマゾン	0.02
28	CLOTHIANIDIN	クロチアニジン	0.01
29	COPPER NONYLPHENOLSULFONATE	ノニルフェノールスルホン酸銅	0.01
30	COPPER TELEPHITALATE	テレフタル酸銅	0.5



31	CUMYLURON	クミルロン	0.02
32	CYCLOPROTHIRIN	シクロプロトリン	0.02
33	CYCLOXYDIM	シクロキシジム	0.05
34	CYFLUTHRIN	シフルトリン	0.02
35	CYMOXANIL	シモキサニル	0.05
36	CYPERMETHRIN	シベルメトリン	0.05
37	CYPROCONAZOLE	シプロコナゾール	0.1
38	CYROMAZINE	シロマジン	0.02
39	DBEDC	DBEDC	0.5
40	DELTAMETHRIN, TRALOMETHRIN	デルタメトリン及びトラロメトリン (総和をいう。)	2
41	DEMETON-S-METHYL	デメトン-S-メチル	0.05
42	DIAFENTHIURON	ジアフェンチウロン	0.02
43	DICHLORVOS, NALED	ジクロルボス及びナレド	0.2
44	DICLOMEZINE	ジクロメジン	0.02
45	DIELDRIN, ALDRIN	アルドリン及びディルドリン (総和をいう。)	0.1
46	DIFENZOQUAT	ジフェンゾコート	0.05
47	DIFLUBENZURON	ジフルベンズロン	0.05
48	DIFLUFENICAN	ジフルフェニカン	0.002
49	DIFLUFENZOPYR	ジフルフェンゾピル	0.05
50	DIMETHIPIN	ジメチピン	0.04
51	DIQUAT	ジクワット	0.05
52	DISULFOTON	ジスルホトン	0.2
53	DITHIOCARBAMATES	ジチオカルバメート	5
54	DIURON	ジウロン	0.02
55	ENDOSULFAN	エンドスルファン	0.1
56	ENDRIN	エンドリン	N.D.
57	ETHEPHON	エテホン	0.1
58	ETHIPROLE	エチプロール	0.02
59	ETHOPROPHOS	エトプロホス	0.005
60	ETHOXYQUIN	エトキシキン	0.05
61	ETHYCHLOZATE	エチクロゼート	0.05
62	NAPROPAMIDE	ナプロバミド	0.1
63	ETHYLENE DIBROMIDE (EDB)	二臭化エチレン	N.D.
64	FENBUTATIN OXIDE	酸化フェンブタスズ	0.05
65	FENOXYCARB	フェノキシカルブ	0.05
66	FENPYROXIMATE	フェンピロキシメート	0.02
67	FENTIN	フェンチン	0.1
68	FIPRONIL	フィプロニル	0.002
69	FLAZASULFURON	フラザスルフロ	0.02
70	FLUAZIFOP	フルアジホップ	0.1
71	FLUCYTHRINATE	フルシトリネート	0.05
72	FLUFENOXURON	フルフェノクスロン	0.02
73	FLUOMETURON	フルオメツロン	0.02

74	FLUOROIMIDE	フルオルイミド	0.04
75	FOSETYL	ホセチル	0.5
76	FURAMETPYR	フラメトピル	0.1
77	GLUFOSINATE	グルホシネート	0.05
78	GLYPHOSATE	グリホサート	1
79	HALOSULFURON METHYL	ハロスルフロンメチル	0.02
80	HEXACONAZOLE	ヘキサコナゾール	0.05
81	HEXAFLUMURON	ヘキサフルムロン	0.02
82	HYDROGEN CYANIDE	シアン化水素	1
83	HYDROGEN PHOSPHIDE	リン化水素	0.06
84	HYMEXAZOL	ヒメキサゾール	0.02
85	IMAZAQUIN	イマザキン	0.05
86	IMAZETHIAPYR AMMONIUM	イマゼタビルアンモニウム塩	0.05
87	IMINOCTADINE	イミノクタジン	0.02
88	IPRODIONE	イプロジオン	0.05
89	ISOURON	イソウロン	0.02
90	LINDANE (gamma-BHC)	リンデン (γ-BHC)	0.002
91	LINURON	リニュロン	0.02
92	LUFENURON	ルフェヌロン	0.02
93	MALATHION	マラチオン	0.5
94	MALEIC HYDRAZIDE	マレイン酸ヒドラジド	0.2
95	METHIDATHION	メチダチオン	1
96	METHOMYL, THIOTICARB	チオジカルブ及びメソミル (総和をいう。)	1
97	MILBEMECTIN	ミルベメクチン	0.02
98	MOLINATE	モリネート	0.02
99	NITENPYRAM	ニテンピラム	0.03
100	NOVALURON	ノバルロン	0.02
101	OXAMYL	オキサミル	0.1
102	OXAZICLOMETHONE	オキサジクロメホン	0.02
103	OXYFLUORFEN	オキシフルオルフェン	0.05
104	ORYZALIN	オリザリン	0.1
105	PARAQUAT	パラコート	0.05
106	PENCYCURON	ペンシクロン	0.1
107	PERMETHRIN	ペルメトリン	0.05
108	PHENOTHRIN	フェノトリン	0.02
109	PHORATE	ホレート	0.02
110	PHOXIM	ホキシム	0.02
111	PINDONE	ピンドン	0.001
112	PROBENAZOLE	プロベナゾール	0.03
113	PROCHLORAZ	プロクロラズ	0.2
114	PROHEXADIONE-CALCIUM	プロヘキサジオンカルシウム塩	0.02
115	PROPICONAZOLE	プロピコナゾール	0.1
116	PYRAZOLYNATE	ピラゾリネート	0.02



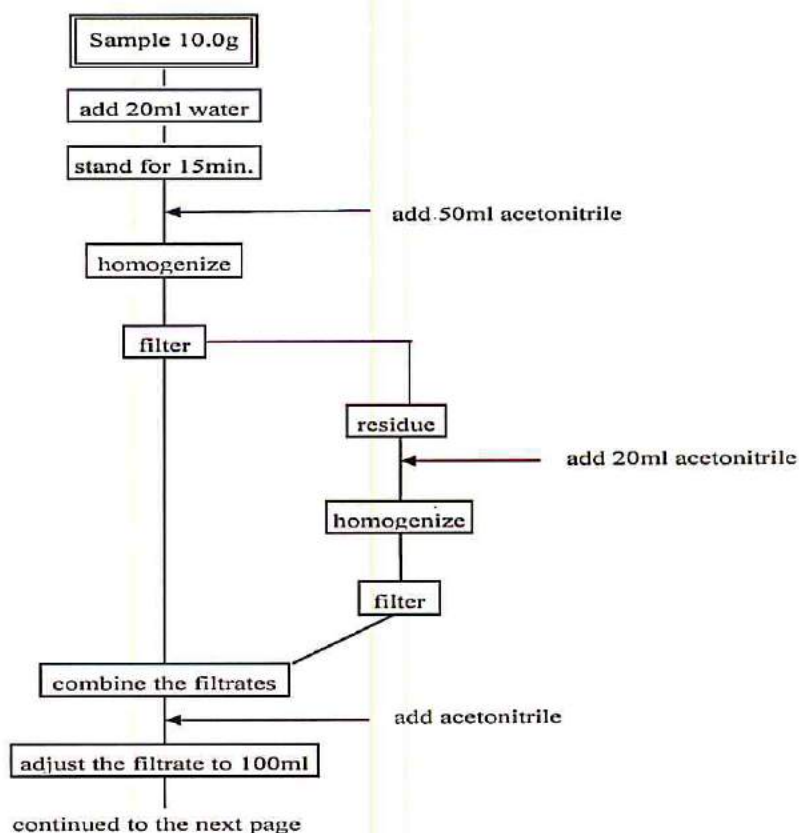
117	PYRETHRINS	ピレトリン	0.05
118	PYRIDALYL	ピリダリル	0.02
119	PYRIPROXYFEN	ピリプロキシフェン	0.1
120	Sec-BUTYLAMINE	Sec-ブチルアミン	0.1
121	SILAFLOUFEN	シラフルオフエン	0.05
122	SULFENTRAZONE	スルフエントラゾン	0.05
123	SULFURYL FLUORIDE	フッ化スルフリル	1
124	TEBUFENOZIDE	テブフェノジド	0.05
125	TEBUTHIURON	テブチウロン	0.02
126	TEFLUBENZURON	テフルベンズロン	0.02
127	TEPRALOXYDIM	テブラロキシジム	0.05
128	TERBUFOS	テルブホス	0.05
129	THIAMETHOXAM	チアメトキサム	0.04
130	TRIADIMEFON	トリアジメホン	0.05
131	TRIADIMENOL	トリアジメノール	0.1
132	TRIAZOPHOS	トリアゾホス	N.D.
133	TRICHLAMIDE	トリクラミド	0.1
134	TRICLOPYR	トリクロビル	0.03
135	TRIFLUMIZOLE	トリフルミゾール	0.05
136	TRIFLUMURON	トリフルムロン	0.02
137	TRICYCLAZOLE	トリシクラゾール	0.02
138	TRINEXAPAC-ETHYL	トリネキサパックエチル	0.02
139	VANIDOTHION	バミドチオン	0.02
140	WARFARIN	ワルファリン	0.001

## ANEXO 2 Análisis de Multi residuos de pesticidas GC/Ms

### MHLW Notification No499

### Multi-residue pesticide analysis using GC/MS (for agricultural products)

1. Analytical objects  
See attached appendix 1..
2. Instrument  
Gas-chromatograph mass spectrometer (GC/MS)
3. Reagents
4. Preparation of testing liquid
  - 1) Extraction
    - 1)-1 For grains and beans

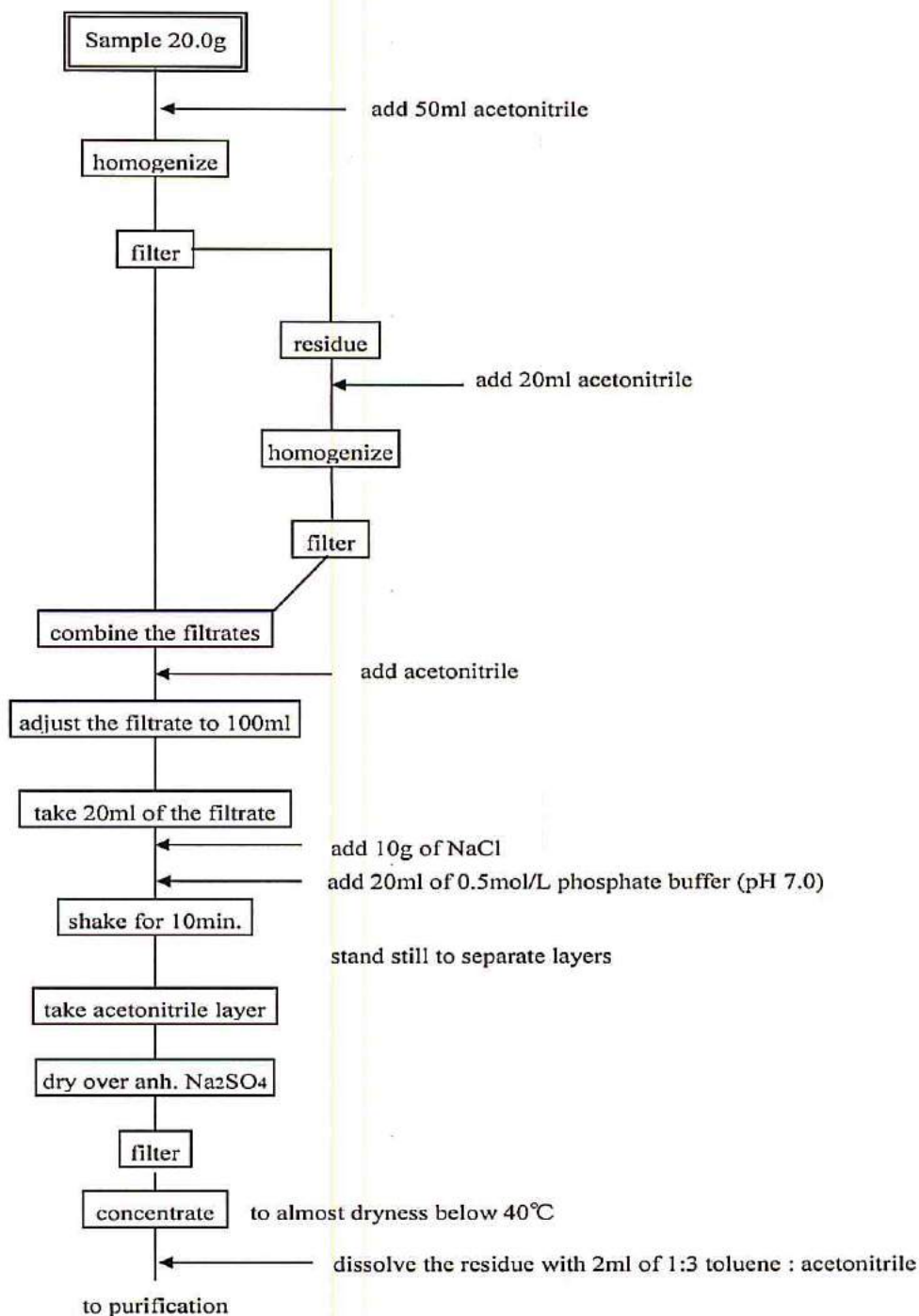




```

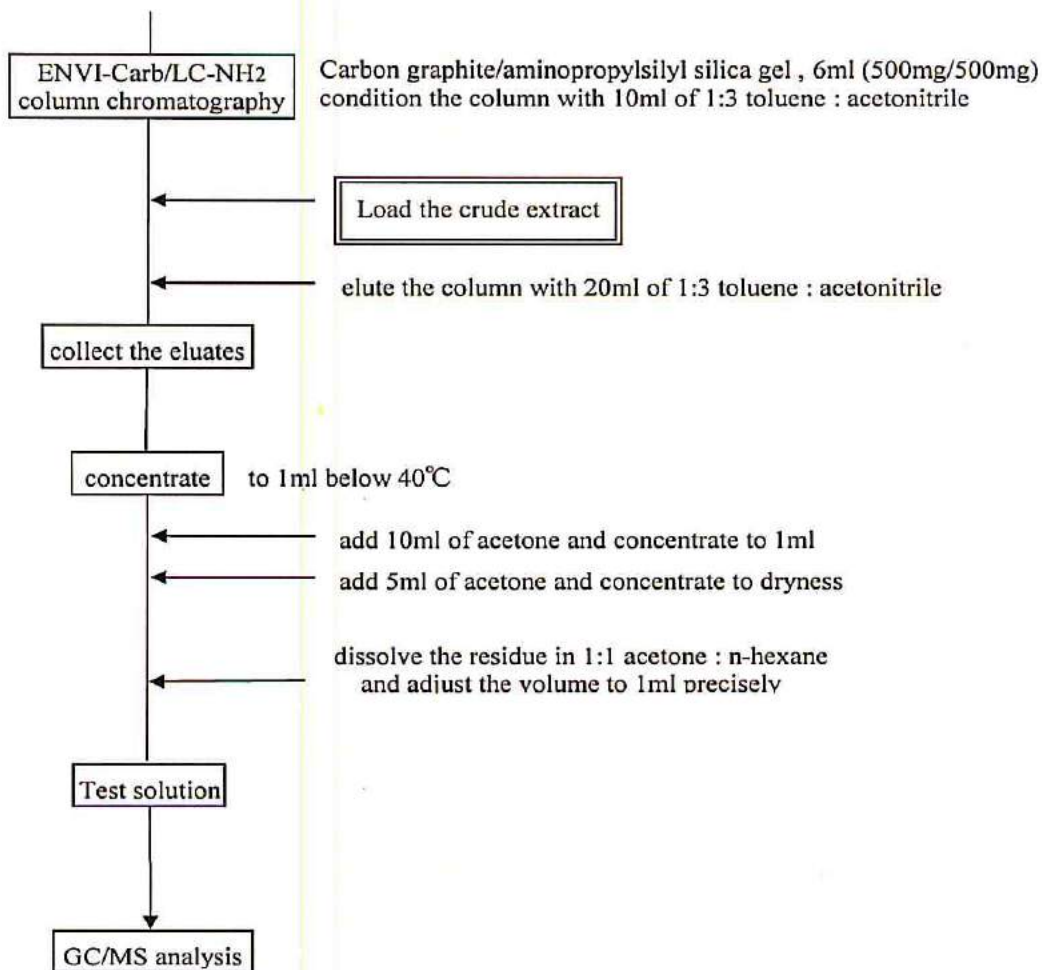
graph TD
    A[take 20ml of the filtrate] --> B[shake for 10min.]
    C[add 10g of NaCl] --> A
    D[add 20ml of 0.5mol/L phosphate buffer pH 7.0] --> A
    B --> E[stand still to separate layers]
    E --> F[take acetonitrile layer]
    F --> G[ODS column chromatography]
    H[octadesylsilyl silica gel mini-column 1.0g  
condition with 10ml acetonitrile] --> G
    I[Load acetonitrile layer] --> G
    J[Elute with 2ml of acetonitrile] --> G
    G --> K[dry over anh. Na2SO4]
    K --> L[filter]
    L --> M[concentrate]
    N[to almost dryness below 40°C] --> M
    M --> O[dissolve the residue with 2ml of 1:3 toluene : acetonitrile]
    O --> P[to purification]
  
```

1)-2 For vegetable and fruit





## 2) purification



## 5. Preparation of calibration curve

Prepare the standard pesticide mixture of several different concentration in 1:1 acetone : n-hexane, mixing the individual objective pesticides solutions in acetone.

Prepare the calibration curve utilizing the peak-height or the peak-area acquired by 2µl injections of the standard mixtures.

## 6. Quantitative analysis

Inject 2 $\mu$ l of testing liquid and calculate the amount of pesticides using the calibration curve prepared in 5.

7. Confirmation

The results should be confirmed by GC/MS.

8. Measuring conditions

GC/MS

Column ; 5% phenyl-methyl-silicone 30m x 0.25mm i.d., 0.25 $\mu$  film thickness

Column oven program ; 50°C (1 min)  $\rightarrow$  25°C/min  $\rightarrow$  125°C (0 min)  $\rightarrow$  10°C/min  $\rightarrow$  300°C (6.5 min)

Injection temp. ; 250°C

Carrier gas ; He

Carrier gas flow rate ; 1ml/min

Injection volume ; 2 $\mu$ l (splitless)

Ionization ; EI (70eV)

Monitoring ions ; see appendix 1

Retention indices ; see appendix 1

9. Detection limit

See appendix 1 (The measuring limit (ng) of the analytical instrument is listed.)

10. Important notices for the analysis

11. References

Fillion, J. et.al. J. AOAC Int, 83, 698~713 (2000)



## Multi-residue pesticide analysis using LC/MS (for agricultural products)

### 1. Analytical objects

See attached appendix 2..

### 2. Instrument

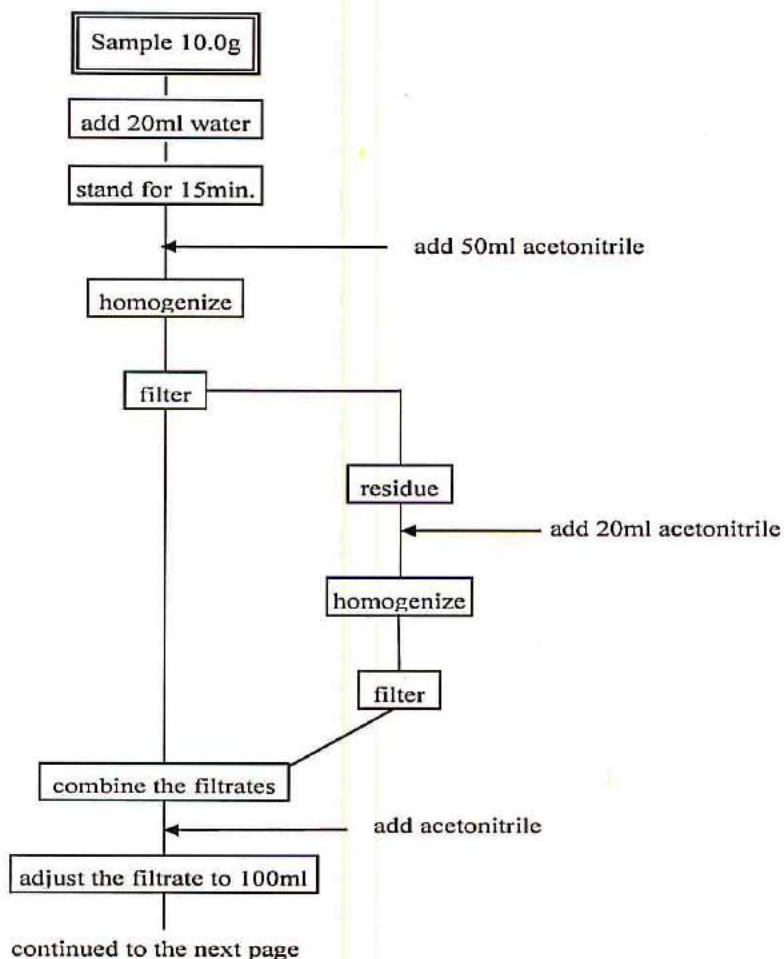
HPLC mass spectrometer (LC/MS) or HPLC tandem mass spectrometer (LC/MS/MS)

### 3. Reagents

### 4. Preparation of testing liquid

#### 1) Extraction

##### 1)-1 For grains and beans



```
graph TD; A[take 20ml of the filtrate] --> B[shake for 10min.]; A --> C[add 10g of NaCl]; A --> D[add 20ml of 0.5mol/L phosphate buffer (pH 7.0)]; B --> E[stand still to separate layers]; B --> F[take acetonitrile layer]; F --> G[ODS column chromatography]; G --> H[octadesylsilyl silica gel mini-column (1.0g) condition with 10ml acetonitrile]; G --> I[Load acetonitrile layer]; G --> J[Elute with 2ml of acetonitrile]; H --> K[dry over anh. Na2SO4]; K --> L[filter]; L --> M[concentrate]; M --> N[to almost dryness below 40°C]; M --> O[dissolve the residue with 2ml of 1:3 toluene:acetonitrile]; O --> P[to purification];
```

take 20ml of the filtrate

add 10g of NaCl

add 20ml of 0.5mol/L phosphate buffer (pH 7.0)

shake for 10min.

stand still to separate layers

take acetonitrile layer

ODS column chromatography

octadesylsilyl silica gel mini-column (1.0g)  
condition with 10ml acetonitrile

Load acetonitrile layer

Elute with 2ml of acetonitrile

dry over anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

filter

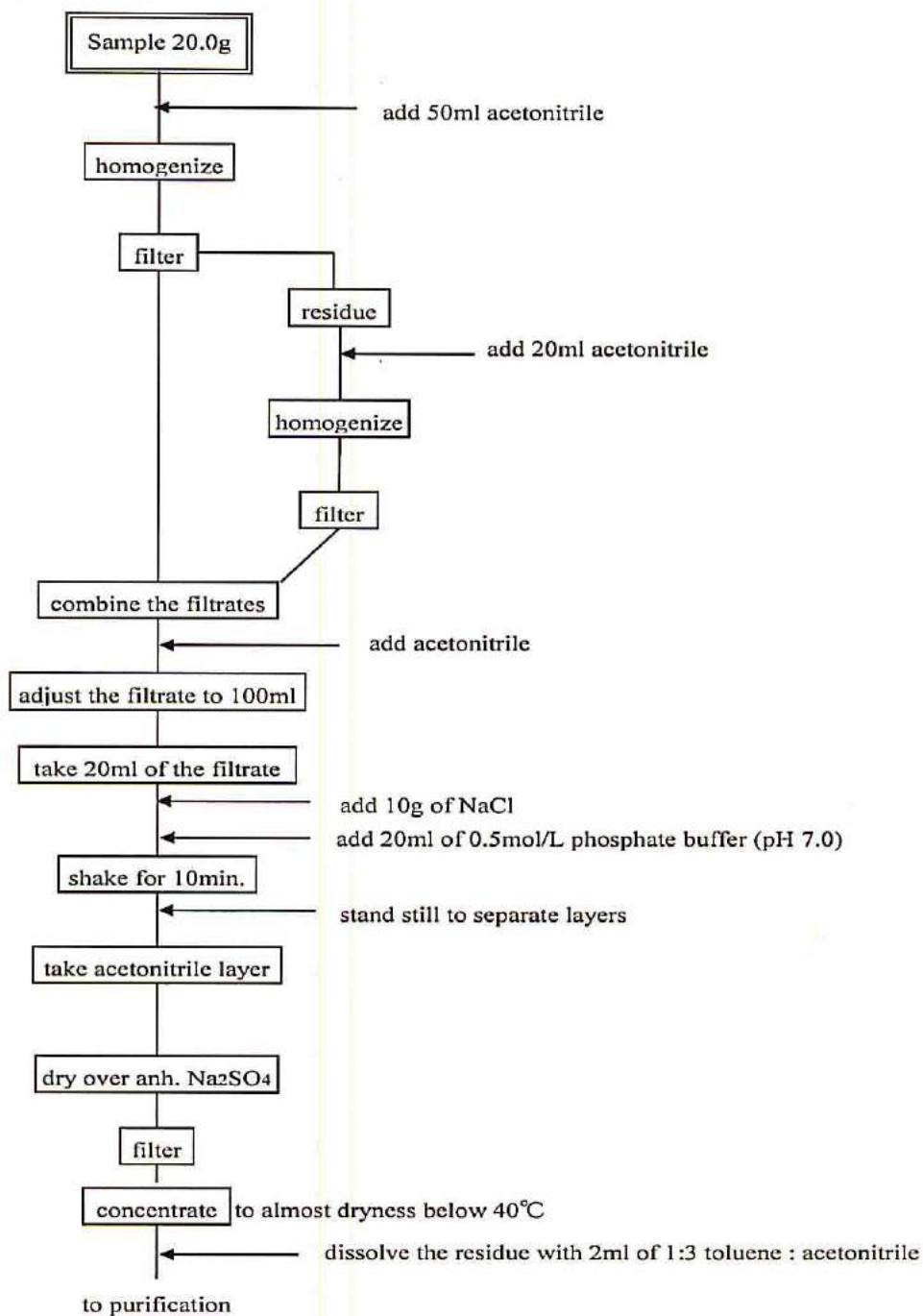
concentrate

to almost dryness below 40°C

dissolve the residue with 2ml of 1:3 toluene:acetonitrile

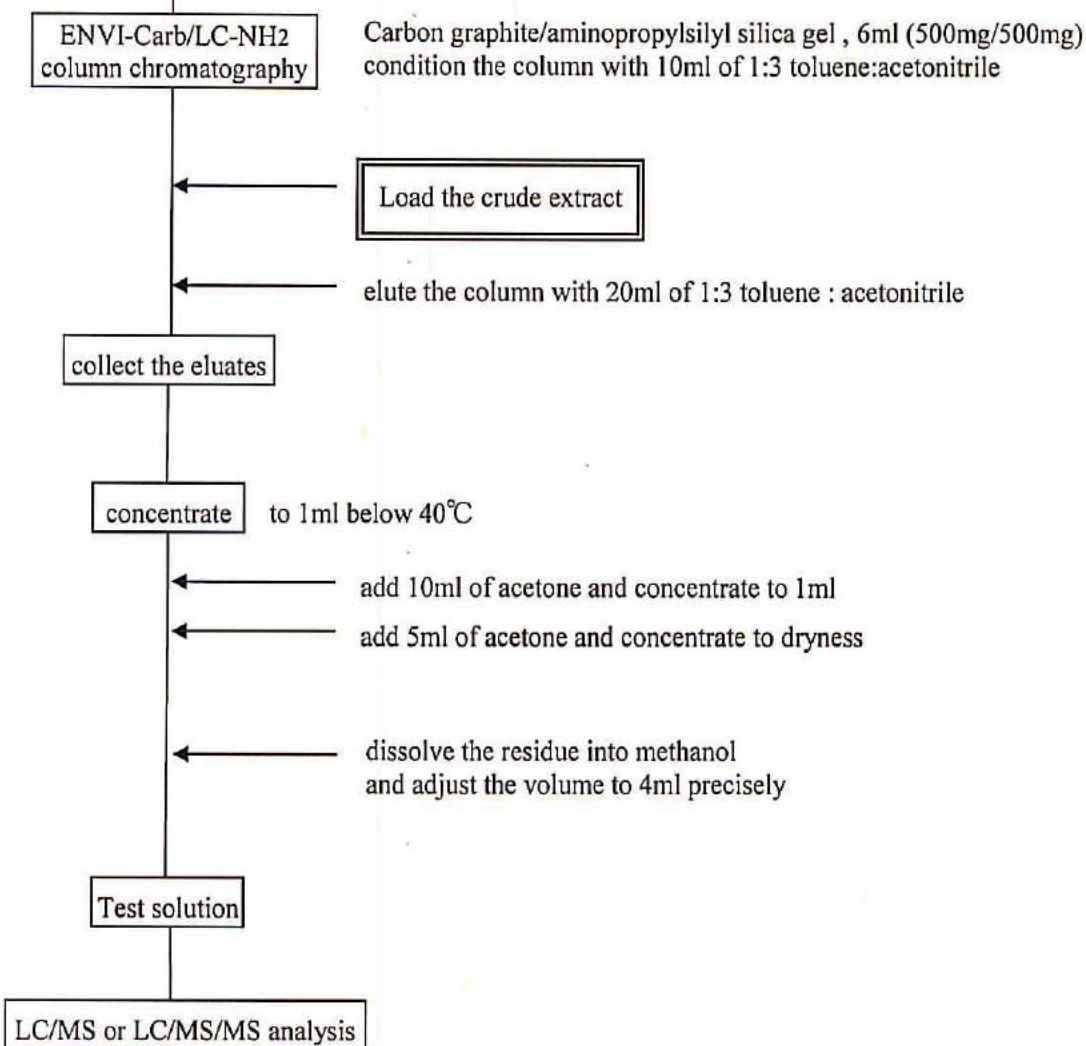
to purification

1)-2 For vegetable & fruit





## 2) purification



## 5. Preparation of calibration curve

Prepare the standard pesticide mixture of several different concentration in methanol ;, mixing the individual objective pesticides solutions in acetonitrile.

Prepare the calibration curve utilizing the peak-height or the peak-area acquired by 5µl injections of the standard mixtures.

## 6. Quantitative analysis

Inject 5µl of testing liquid and calculate the amount of pesticides using the calibration curve prepared in 5.

## 7. Confirmation

The results should be confirmed by LC/MS or LC/MS/MS.

## 8. Measuring conditions

### LC/MS

Column ; octadesyl silyl silica gel (particle size 3 - 3.5µ) 150mm x 2 - 2.1mm i.d.

Column oven temp. ; 40°C

Eluent ; Gradient solution system

### Gradient program

time	A%	B%
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
5	50	50
7	45	55
18.5	5	95
30	5	95
30	85	15

A ; 5mmol ammonium acetate aqueous solution

B ; 5mmol ammonium acetate methanol solution

Flow rate ; 0.2ml/min

Injection volume ; 5µl

Ionization ; ESI

Monitoring ions ; see appendix 2

Retention indices ; see appendix 2

## 9. Detection limit

See appendix 2 (The measuring limit (ng) of the analytical instrument is listed.)

## 10. Important notices for the analysis

### 1. References

Fillion, J. et.al. J. AOAC Int, 83, 698~713 (2000)