

OPTIMIZACIÓN DEL INYECTOR DE TEMPERATURA PROGRAMADA EN EL ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS MEDIANTE EL MÉTODO SIMPLEX

OPTIMIZATION OF THE PROGRAMMED TEMPERATURE VAPORISER IN ANALYSIS OF PESTICIDE RESIDUES BY THE SIMPLEX METHOD

OTIMIZAÇÃO DO VAPORIZADOR DE TEMPERATURA PROGRAMADA NA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS PELO MÉTODO SIMPLEX

Diego A. Ahumada¹, Jairo A. Guerrero^{1,2}

Recibido: 18/05/10 – Aceptado: 31/08/10

RESUMEN

Este estudio muestra los resultados obtenidos en la aplicación del método simplex para optimizar el inyector de temperatura programada en cromatografía de gases en dos modos de operación: inyección sin división en frío (inyección de 4 μL) e inyección con venteo de solvente (inyección de 20 μL). Para el primer modo de operación se optimizaron 5 variables en 12 experimentos; para el modo de venteo de solvente se optimizaron 7 variables en 19 experimentos. Con el fin de evaluar el proceso de optimización se empleó como referencia la inyección de 1 μL en modo sin división en caliente con pulso de presión. Esta evaluación mostró que el modo de inyección sin división en frío presentaba respuestas cromatográficas hasta 5 veces más altas que el método en caliente. Finalmente, para la inyección con venteo

de solvente se determinó que para los compuestos con puntos de ebullición más altos se presentaban resultados equivalentes a la inyección sin división en frío.

Palabras clave: plaguicidas, cromatografía de gases, optimización, inyector de temperatura programada.

ABSTRACT

This study shows the results of the simplex method implementation for optimization of a programmed temperature vaporizer in two modes: cold splitless (injection 4 μL) and solvent vent (20 μL injection). Five variables in 12 experiments were optimized in the first mode of operation and seven variables were optimized in 19 experiments in the solvent vent mode. To evaluate the optimization process, the injection of 1 μL in hot pul-

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Carrera 30 No. 45-03. Bogotá, D.C., Colombia.

² jaguerrero@unal.edu.co

sed splitless mode was used as reference. The chromatographic responses obtained in cold splitless mode ($4 \mu\text{L}$) were up to 5 times higher than in hot splitless method. Finally, in the solvent vent mode, compounds with higher boiling points showed similar results to those obtained with cold splitless mode.

Key words: pesticides, gas chromatography, programmed temperature vaporizer, optimization.

RESUMO

Este estudo mostra os resultados obtidos na aplicação do método simplex para otimizar a temperatura do injetor em dois modos: sem divisão de fluxo a frio (injeção $4 \mu\text{L}$) e com remoção do solvente ($20 \mu\text{L}$ injeção). Para o primeiro modo de operação foram otimizadas cinco variáveis em 12 experimentos, enquanto que para o modo com remoção do solvente sete variáveis foram otimizadas em 19 experimentos. Para avaliar o processo de otimização foi utilizado como referência uma injeção de $1 \mu\text{L}$ no modo sem divisão de fluxo a quente e com pulso de pressão.

Os resultados indicam que o modo de injeção sem divisão de fluxo a frio apresentou respostas cromatográficas com intensidades de até cinco vezes maiores que o método aquecido. Finalmente, respostas equivalentes foram obtidas somente para alguns compostos, com pontos de ebulição altos, quando injetados no modo com remoção do solvente e comparados com o modo sem divisão de fluxo a frio.

Palavras-chave: pesticidas, cromatografia em fase gasosa, otimização, vaporizador de temperatura programável.

INTRODUCCIÓN

El inyector de temperatura programada (PTV por sus siglas en inglés), fue inicialmente desarrollado y aplicado para la introducción de grandes volúmenes de muestra en columnas capilares, en 1979 (1), y durante las últimas tres décadas este sistema ha evolucionado de tal manera que hoy en día se le considera el sistema más universal de introducción de muestras en el cromatógrafo de gases. Esta gran versatilidad se debe a sus múltiples modos de operación, entre los que se destacan los sistemas de inyección sin división en frío (SDF) y venteo de solvente (VS) (1).

En 1981, Schomburg (2) y Poy (3) demostraron la superioridad del método de inyección SDF frente a los métodos de inyección convencional, encontrando que mediante este modo de operación del PTV se reduce de manera significativa la discriminación de compuestos, y se pueden llegar a inyectar volúmenes superiores que los métodos de inyección en caliente convencionales (4-6). Esta última característica ha permitido obtener límites de cuantificación más bajos y reducir los procesos de preparación de la muestra, lo cual, en el análisis de muestras ambientales y en específico en la determinación de residuos de plaguicidas, resulta ser muy conveniente (7-10). En cromatografía de gases (CG) existen otras técnicas para la introducción de volúmenes grandes de muestra, tales como la inyección *On column LVI* y las interfaces tipo *loop* (1, 11). Estas técnicas de introducción de la muestra tienen como principal desventaja que se ingresa una gran cantidad de impurezas en la columna, lo cual ocasiona que con el tiempo se presenten

deterioros de la respuesta cromatográfica (12). Por su parte, el empleo del inyector PTV ha dispuesto que muchos de estos problemas puedan ser eliminados mediante su modo de operación conocido como venteo de solvente. En la inyección con venteo de solvente, la muestra se introduce lentamente con la válvula de división abierta y con una temperatura del inyector inferior a la temperatura de ebullición del solvente. Después de cierto tiempo, la válvula de división se cierra, y el inyector se calienta rápidamente hasta transferir los analitos a la columna de separación (8).

Un inconveniente de los modos de inyección SDF y VS es el elevado número de variables que es necesario optimizar. Es por ello recomendable emplear métodos estadísticos tales como los diseños experimentales de Taguchi o Plackett-Burman con el fin de obtener las mejores condiciones de inyección (13). Otra alternativa que ha mostrado resultados satisfactorios para este tipo de optimizaciones corresponde al método Simplex o método de optimización autodirigida. Este método de optimización se basa en medir los efectos que producen determinados cambios en las variables de operación, y deducir de los resultados las direcciones en que deben realizarse sucesivos cambios para obtener mejoras en dicho comportamiento (14).

De esta manera, el presente trabajo tiene como objetivo presentar los resultados de la optimización de la inyección de 32 plaguicidas de diferentes características fisicoquímicas en el modo SDF para un volumen de $4 \mu\text{L}$ y en el modo VS para un volumen de $20 \mu\text{L}$.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales de referencia, reactivos y soluciones

Los estándares de plaguicidas empleados en este trabajo se obtuvieron del Dr Ehrenstorfer y de Chemservice, cada uno de estos, con una pureza mayor al 95%. Las soluciones madre se prepararon a concentraciones cercanas a $500 \mu\text{g/mL}$ en acetato de etilo y se almacenaron en frascos ámbar a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. La mezcla de plaguicidas se preparó en acetato de etilo tomando diferentes volúmenes de cada una de las soluciones madre hasta obtener un rango de concentraciones entre 1,6 y $98,3 \mu\text{g/mL}$. Esta se almacenó en frasco ámbar a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. Todos los solventes empleados en este estudio fueron J. T. Baker grado residuos. En la Tabla 1 se presentan los nombres de los compuestos y las concentraciones de una dilución de la mezcla preparada.

Instrumentos y equipos

El análisis cromatográfico se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Agilent technologies HP7890A acoplado a un detector selectivo de masas 5975C. El cromatógrafo se encontraba equipado con un inyector automático 7673 Agilent Technologies (Palo Alto, CA, EUA), con control electrónico de presión, y con un inyector de temperatura programada conectado a una columna capilar HP-5 MS (30 m, $0,25 \text{ mm d.i.}$, $0,25 \mu\text{m}$). La columna estaba conectada a tres detectores: un detector de microcaptura electrónica ($\mu\text{ECD}-^{63}\text{Ni}$), un detector fotométrico de llama (FPD), en modo fósforo y el espectrómetro de masas. Estos sistemas de detección estaban conectados en paralelo mediante un divisor de flujo con control

Tabla 1. Plaguicidas y concentraciones empleadas para la optimización de las inyecciones en los modos SDF y VS.

Compuesto	Concentración $\mu\text{g/mL}$	Compuesto	Concentración $\mu\text{g/mL}$
Acefato	0,48	Heptenofos	0,27
β -ciflutrina	0,09	Iprodion	0,13
Cihalotrina	0,18	Isofenfos	0,09
Cipermetrina	0,05	Malatión	0,18
Clorotalonil	0,06	Metalaxil	0,28
Clorpirifos	0,04	Metamidofos	0,48
Deltametrina	0,03	Monocrotofos	0,21
Diazinón	0,28	Metil-paratión	0,13
Diclofluand	0,05	4,4-DDT	0,03
Diclorvos	0,27	Permetrina	0,05
Difenoconazol	0,38	Pirazofos	0,14
Dimetoato	0,18	Profenofos	0,06
Endosulfan ($\alpha + \beta$)	0,05	Propargite	1,54
Fenamifos	0,05	Tebuconazol	0,46
γ -HCH	0,03	Tetradifon	0,09
HCB	0,03	Tiabendazol	1,02

electrónico de presión. Se operó en modo de presión constante (151 kPa) con helio como gas de transporte.

El detector de μECD funcionó a una temperatura de 310 °C con un flujo de gas auxiliar de 10 mL min⁻¹ (N₂). Por su parte, el detector FPD operó a una temperatura de 250 °C con un flujo de H₂ de 70 mL min⁻¹, un flujo de aire de 100 mL min⁻¹ y un flujo de gas auxiliar de 60 mL min⁻¹ (N₂).

El programa de temperatura en el horno fue de 70 °C a 155 °C, a una velocidad de 15 °C min⁻¹; posteriormente se incrementó la temperatura hasta 200 °C a 1,4 °C min⁻¹, a continuación se aumentó hasta 290 °C, a una velocidad de 12 °C min⁻¹ donde finalmente se mantuvo esta temperatura durante 6,5 min. Finalmente, para

las inyecciones de 20 μL se realizaron cuatro inyecciones consecutivas de 5 μL con un tiempo de espera de 0 ms.

Optimización por el método Simplex

Para la optimización de la inyección mediante este método se empleó un Simplex centrado en el origen (15). Las variables que se tuvieron en cuenta para la optimización de la inyección en el modo de operación SDF correspondieron a: temperatura inicial y final del inyector ($T_{\text{ini inyec}}$, $T_{\text{fin inyec}}$), velocidad de calentamiento (V_{calent}), tiempo de la temperatura inicial del inyector (t_{residen}) y temperatura inicial del horno ($T_{\text{ini horno}}$).

Para la optimización de la inyección de 20 μL mediante el modo de venteo de solvente se optimizaron las siguientes varia-

Tabla 2. Condiciones de partida, rangos de trabajo y módulos de paso para plantear el primer Simplex.

	Nivel base	Rango de trabajo		Módulo de paso
$T_{\text{ini inyec}} (^{\circ}\text{C})$	60	55	100	4,5
$T_{\text{fin inyec}} (^{\circ}\text{C})$	240	200	300	10
$V_{\text{calent}} (^{\circ}\text{C}/\text{min})$	600	500	720	25
$t_{\text{residen}} (\text{min})$	0,5	0	3	0,25
$T_{\text{ini horno}} (^{\circ}\text{C})$	60	50	80	5

bles: tiempo de venteo (t_{venteo}), flujo de venteo (F_{venteo}), presión inicial del inyector ($P_{\text{ini inyec}}$), temperatura inicial del inyector ($T_{\text{ini inyec}}$), velocidad de inyección ($V_{\text{inyección}}$), tiempo de la temperatura inicial del horno ($t_{\text{ini horno}}$) y velocidad de calentamiento (V_{calent}). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización de la inyección sin división en frío (4 μL)

La optimización mediante el método Simplex exige plantear algunas condiciones de partida para llevar a cabo los experimentos (16). Para ello, luego de una revisión en literatura y una serie de ensayos

previos se llegó a las condiciones que se reportan en la Tabla 2; de igual manera, en esta tabla se presentan los módulos de paso y el rango de trabajo para cada una de las variables que se pretenden optimizar (6, 11). En la Tabla 3 se presenta el simplex de partida (S_0).

Como muestran diversas publicaciones, un factor determinante en el proceso de optimización mediante el método simplex es la respuesta que se va a medir a cada uno de los experimentos (16, 17). De esta manera, la expresión [1] muestra la respuesta empleada para medir cada uno de los experimentos realizados mediante el método Simplex.

$$\text{Respuesta} = \sum \frac{A_i}{t_n} \times S_i \quad [1]$$

Tabla 3. S_0 para la optimización del modo de inyección sin división en frío.

Vértice	$T_{\text{ini inyec}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{fin inyec}} (^{\circ}\text{C})$	$V_{\text{calent}} (^{\circ}\text{C}/\text{min})$	$t_{\text{residencia}} (\text{min})$	$T_{\text{ini horn}} (^{\circ}\text{C})$
1	60	240	600	0,5	60
2	66	242	605,1	0,55	61
3	60,9	253,4	605,1	0,55	61
4	60,9	242	633,4	0,55	61
5	60,9	242	605,1	0,83	61
6	60,9	242	605,1	0,55	66,7

donde A_i corresponde al área cromatográfica, t_{ri} tiempo de retención y S_i , a la simetría de cada uno de los compuestos i . Para esta optimización se emplearon todas las señales cromatográficas del detector de μ ECD.

Teniendo en cuenta que en los sistemas de inyección en los que se trata de eliminar parte del solvente se corre el riesgo de perder algunos de los compuestos que presentan los puntos de ebullición bajos, se decidió dar una ponderación en la respuesta que se va a medir; esto con el fin de garantizar que se realiza un proceso de optimización homogéneo para todos los plaguicidas en estudio. Por ello se asoció este punto de ebullición al tiempo de retención, por lo cual se empleó en el denominador de la expresión [1].

La Tabla 4 muestra los 12 experimentos que se realizaron y las respuestas obtenidas para cada ensayo. Se puede obser-

var cómo, a medida que se realizaron las proyecciones respectivas, la respuesta aumentó notablemente. Por otro lado, si se compara el experimento 1 con el experimento 12, se encuentra que la respuesta aumentó en más de un 100%.

En la Figura 1 se expone el promedio de las simetrías de todos los compuestos en función del número de experimentos. En esta gráfica se puede observar que con las proyecciones correspondientes, la simetría de las señales cromatográficas se acercaban más a 1. Durante los experimentos iniciales (1 a 5) se encontraba que las señales cromatográficas eran asimétricas, lo cual posiblemente era por procesos de enfoque al inicio de la columna (18). Después del experimento 6 se logró obtener una mejor simetría; solo después del experimento 9 se obtuvieron simetrías cercanas a 1, y los anchos de las señales fueron inferiores a los anteriores ocho experimentos.

Tabla 4. Experimentos en la optimización del método de inyección SDF.

Vértice	$T_{ini\ inyec}$ (°C)	$T_{in\ inyec}$ (°C)	V_{calent} (°C/min)	$t_{residencia}$ (min)	$T_{ini\ horn}$ (°C)	RESPUESTA (Hz)
1	60	240	600	0,5	60	75243035
2	66	242	605,1	0,55	61	94235887
3	60,9	253,4	605,1	0,55	61	100156053
4	60,9	242	633,4	0,55	61	99029370
5	60,9	242	605,1	0,83	61	102713605
6	60,9	242	605,1	0,55	66,7	127522028
7	63,9	248,6	621,6	0,72	64,3	146214452
8	59,3	254,4	636	0,86	67,2	153812617
9	60,5	252,1	590,6	0,8	66	151387972
10	61,3	258,1	618,2	0,56	69,1	160485896
11	61,5	260,1	623,4	0,56	72,3	169635871
12	61,7	267,3	630,8	0,85	68,9	170393850

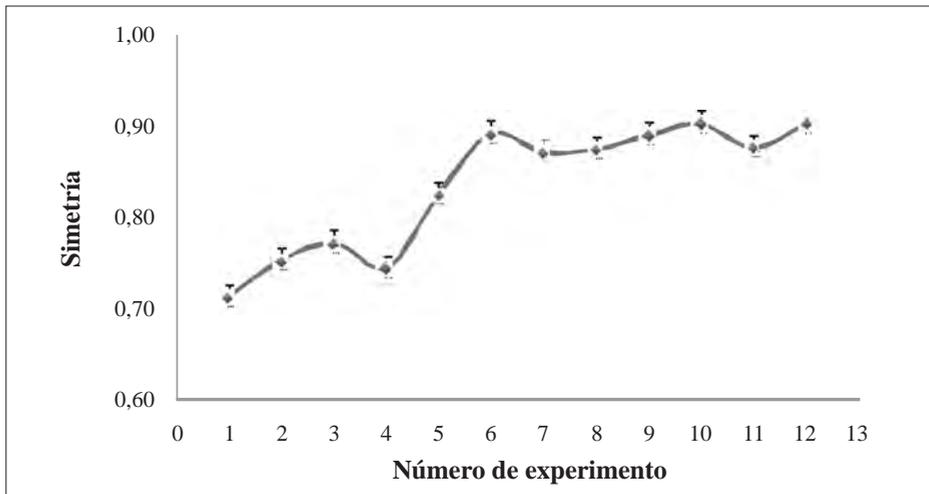


Figura 1. Variación de la simetría en función del número de experimentos para la inyección SDF (+/- σ).

La Figura 2 muestra el promedio de la relación de la respuesta y el tiempo de retención en función del número de experimentos. En esta figura se puede observar que la sensibilidad (como área cromatográfica) mejora de una manera notoria, pues al comparar el experimento 12 con el experimento 1 se encuentra que la respuesta resulta ser cerca del doble. De otra parte, esta figura señala que la mayor respuesta se encuentra en el experimento 11, lo cual indica que con este experimento se logró el máximo de sensibilidad. El experimento 11 no fue escogido como el óptimo debido a que con estas condiciones se presentaban problemas de simetría; de

hecho en la Figura 1 se observa que para este experimento hubo un descenso en este parámetro, razón por la cual la respuesta mediante la expresión [1] no correspondía al máximo valor (Tabla 4).

Por otro lado, en vista de los resultados que se presentan en la Figura 2, se decidió realizar una mejora al experimento 12 de manera independiente al método Simplex. La Tabla 5 presenta los datos de los experimentos realizados, los cuales se llevaron a cabo por duplicado; esta tabla muestra que las respuestas obtenidas para cada experimento no superaron los resultados encontrados en el experimento 12.

Tabla 5. Variaciones del experimento 12 para mejorar la sensibilidad.

Experimento	T _{ini inyec} (°C)	T _{fin inyec} (°C)	V _{calent} (°C/min)	t _{residencia} (min)	T _{ini horn} (°C)	RESPUESTA (Hz)
12	61,7	267,3	630,8	0,85	68,9	170393850
12A	65	267,3	630,8	0,85	68,9	158466281
12B	62	267,3	630,8	0,85	68,9	165282035
12C	61	267,3	630,8	0,85	68,9	168689912

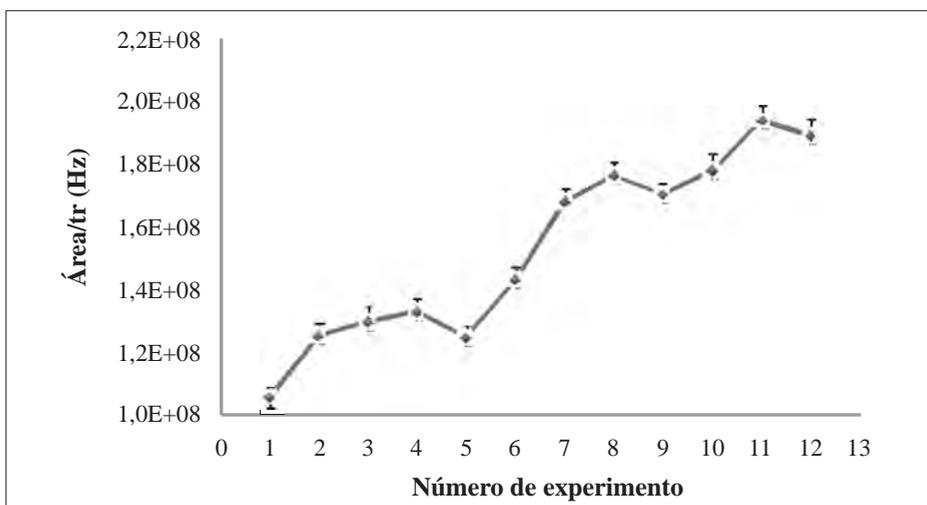


Figura 2. Promedio de las relaciones área/tiempo de retención en el proceso de optimización de la inyección SDF (+/- σ).

Finalmente, en la Tabla 5 aparecen resultados interesantes, pues según la información, para variaciones pequeñas de las condiciones del experimento 12 se presenta un descenso en la respuesta. Por ejemplo, para el caso del experimento 12B –en el cual se aumentó la temperatura inicial del inyector en solo 0,3 °C– se encuentra que la respuesta decrece en un 3%. Por otro lado, en el experimento 12C se bajó la temperatura del inyector en 0,7 °C, y se halló que la respuesta disminuía en cerca de un 1%. Estos resultados indican que, efectivamente, la temperatura inicial del inyector que se determinó mediante el método Simplex resulta ser en apariencia la óptima.

Evaluación del proceso de optimización de inyección en modo SDF

Para evaluar las condiciones determinadas mediante el método Simplex, se realizó una comparación del método desarrollado con un método de inyección en caliente.

Esta inyección correspondió a una inyección sin división, con pulso de presión y volumen de inyección de 1 μ L (10, 19-21). Se realizaron tres inyecciones mediante cada uno de los métodos, y adicionalmente se empleó el método de inyección en frío con diferentes volúmenes de inyección (1 μ L, 2 μ L, 3 μ L y 4 μ L).

En la Tabla 6 se presentan las áreas relativas para cada uno de los modos de inyección y los volúmenes evaluados. En esta tabla se observa que con el método de inyección en frío las relaciones son superiores para todos los compuestos en análisis. Por otro lado, no se encuentra ningún tipo de tendencia de aumento de la respuesta cromatográfica en función del tiempo de retención, lo cual garantiza que el método de inyección funciona de manera satisfactoria en un amplio rango de puntos de ebullición, y que no se están generando problemas de discriminación.

Los resultados presentados en la Tabla 6 indican que para todos los volúmenes de

Tabla 6. Resultados de la evaluación del método de inyección SDF. Detección μ ECD.

Compuesto	t'_{retenci} (min)	Áreas relativas a <i>splitless</i> (n=3)				
		Hot 1 μ L	Cold 1 μ L	Cold 2 μ L	Cold 3 μ L	Cold 4 μ L
Heptenofos	7,12	1,00	1,09	2,50	3,57	4,96
Diclorvos	8,61	1,00	1,04	2,30	3,48	4,48
Acefato	17,99	1,00	1,08	2,18	3,66	4,48
Triflumuron	18,57	1,00	1,09	2,46	3,18	4,52
HCB	25,27	1,00	1,07	2,38	3,30	4,65
Dimetoato	25,87	1,00	1,14	2,34	3,69	4,60
γ -HCH	26,65	1,00	1,04	2,30	3,48	4,80
Diazinon	27,82	1,00	1,06	2,22	3,24	4,76
Clorotalonil	28,29	1,00	1,18	2,42	3,63	4,44
Metil-paration	30,05	1,00	1,12	2,12	3,27	4,84
Diclofluanid	31,72	1,00	1,11	2,42	3,60	5,04
Malatión	32,01	1,00	1,09	2,32	3,69	4,52
Clorpirifos	32,42	1,00	1,09	2,46	3,18	4,96
Isofenofos	35,34	1,00	1,02	2,40	3,24	4,92
Endosulfan (α)	36,41	1,00	1,14	2,26	3,15	4,48
Profenofos	37,84	1,00	1,06	2,30	3,39	4,36
Endosulfan (β)	39,49	1,00	1,03	2,3	3,51	4,84
4,4-DDT	39,81	1,00	1,15	2,28	3,69	4,84
Propargite	40,58	1,00	1,1	2,44	3,45	4,52
Iprodion	41,55	1,00	1,09	2,12	3,21	4,8
Cihalotrina	42,90	1,00	1,14	2,14	3,42	4,32
Pirazofos	44,15	1,00	1,17	2,44	3,6	4,6
Permetrina	45,62	1,00	1,13	2,4	3,15	4,48
β -Cliflutrina	47,33	1,00	1,02	2,28	3,69	4,48
Cipermetrina	47,77	1,00	1,19	2,12	3,6	4,88
Difenoconazol	50,96	1,00	1,18	2,22	3,72	4,32
Deltametrina	51,99	1,00	1,21	2,16	3,24	4,94

inyección se presentan relaciones superiores a las esperadas, lo cual implica que este método de inyección también funciona adecuadamente para diferentes volú-

menes de inyección. Por otro lado, para los volúmenes de inyección de 3 μ L y 4 μ L se esperaban relaciones iguales a 3 y 4, respectivamente, pero se encuentra

que estos valores para algunos compuestos como –diclofluanid, clorpirifos, isofenfos, 4,4-DDT y deltametrina– resultan ser mayores, e incluso igualan o se acercan a la unidad siguiente, lo cual permite establecer que entre mayor sea el volumen de inyección, hay una menor discriminación o degradación de los compuestos (22, 23).

Optimización de inyección con venteo de solvente (20 μL)

La Tabla 7 presenta el experimento de partida, los módulos de paso y los rangos de cada una de las variables que se optimizaron para el modo de inyección VS. De igual manera que con el método de inyección sin división en frío, las condiciones de partida se obtuvieron a partir de reportes en literatura y el desarrollo de algunos ensayos preliminares (1, 7, 11, 24, 25). Por otro lado, a partir de la información registrada en la Tabla 7, se plantea el Simplex de partida para esta optimización; este corresponde a los primeros ocho experimentos de la Tabla 8.

Para medir los experimentos de la optimización de la inyección con venteo de

solvente, se empleó como respuesta la expresión [2].

$$\text{Respuesta} = \frac{\sum_{i=1}^{A_i} t_{ri}}{\%CV} \quad [2]$$

donde A_i corresponde al área cromatográfica y t_{ri} corresponde al tiempo de retención del compuesto i . Como elemento adicional a esta respuesta, se adicionó el coeficiente de variación de la sumatoria del área de todos los compuestos (%CV), debido a que es común en estos modos de operación presentar grandes variaciones en la respuesta (6).

La Figura 3 muestra las respuestas obtenidas para cada experimento. Se observa cómo, a medida que se avanzó en el método de optimización, la respuesta aumentó de manera progresiva. Se encuentra que la respuesta aumentó en más del doble desde el experimento inicial. La finalización de esta optimización se llevó a cabo mediante la estimación de una respuesta máxima esperada (como relación área/ $t_{\text{retención}}$) a partir de los resultados obtenidos para una inyección de 4 μL mediante el método de inyección sin división en frío. El valor obtenido para esta estimación correspondió a 94558186 Hz.

Tabla 7. Condiciones de partida, rangos de trabajo y módulos de paso para la optimización de la inyección con VS.

	Nivel base	Rango de trabajo		Módulo de paso
V_{inyec} ($\mu\text{L}/\text{min}$)	300	20	700	68
$T_{\text{ini inyec}}$ ($^{\circ}\text{C}$)	65	57,2	70	1,28
t_{venteo} (min)	0,50	0,1	0,6	0,08
V_{calent} ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	630,8	400	720	32
V_{calent} ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	100	80	250	17
P_{inyec} (kPa)	34,5	0	137,9	13,8
$t_{\text{ini horno}}$ (min)	0,2	0	4	0,4

Tabla 8. Experimentos realizados en la optimización del modo de inyección con VS (inyección 20 μL).

Experimento	Velocidad de inyección ($\mu\text{L min}^{-1}$)	$T_{\text{ini inyec}}$ ($^{\circ}\text{C}$)	t_{venteo} (min)	Velocidad de calentamiento ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	Flujo de purga (mL min^{-1})	Presión inicial (kPa)	$t_{\text{inicial horno}}$ (min)
1	300,0	65,0	0,50	630,8	100,0	34,5	0,200
2	367,5	65,2	0,51	636,7	103,1	37,0	0,274
3	312,6	66,3	0,51	636,7	103,1	37,0	0,274
4	312,6	65,2	0,58	636,7	103,1	37,0	0,274
5	312,6	65,2	0,51	662,6	103,1	37,0	0,274
6	312,6	65,2	0,51	636,7	116,9	37,0	0,274
7	312,6	65,2	0,51	636,7	103,1	48,2	0,274
8	312,6	65,2	0,51	636,7	103,1	37,0	0,597
9	254,0	65,5	0,53	642,4	106,2	39,5	0,345
10	292,2	64,2	0,53	644,0	107	40,2	0,365
11	361,7	64,6	0,52	638,8	104,3	37,9	0,300
12	317,2	64,7	0,54	611,9	107,6	40,6	0,379
13	318,5	64,6	0,54	630,6	91,2	41,7	0,409
14	320,2	64,4	0,47	628,9	101,5	43,0	0,447
15	338,6	64,4	0,54	634,2	105,1	48,0	0,592
16	333,5	63,9	0,53	627,6	102,5	34,2	0,609
17	339,4	63,6	0,53	625,0	102,4	44,6	0,289
18	373,2	64,4	0,51	612,2	97,1	42,7	0,499
19	307,1	63,9	0,52	609,9	97,9	46,3	0,621

Por su parte, en la Figura 4, se muestran los dos componentes (numerador y denominador) de la respuesta obtenida mediante la expresión [2]. En la gráfica correspondiente a la relación $\text{área}/t_{\text{retención}}$ se encuentra que ésta no cambia considerablemente, hecho que implica que no hubo mejoras en la sensibilidad. Por otro lado, en esta figura se observa que el valor de respuesta para el experimento 1 se encuentra cercano al valor que se estimó; esto indica que la sensibilidad del método del cual se partió era bastante buena, y

por ello no se presenta mayor variación de la respuesta con el número de experimentos. Con respecto al comportamiento del coeficiente de variación, se dan resultados bastante satisfactorios, pues se logró reducir este de 17,3% a 5,9%, hecho que explica la mejora observada en la Figura 3.

Finalmente, la sumatoria de las relaciones de área y tiempo de retención dio un valor de 85206506 Hz, que corresponde al 90,1% del valor esperado, 94558186 Hz. Esto demuestra que el pro-

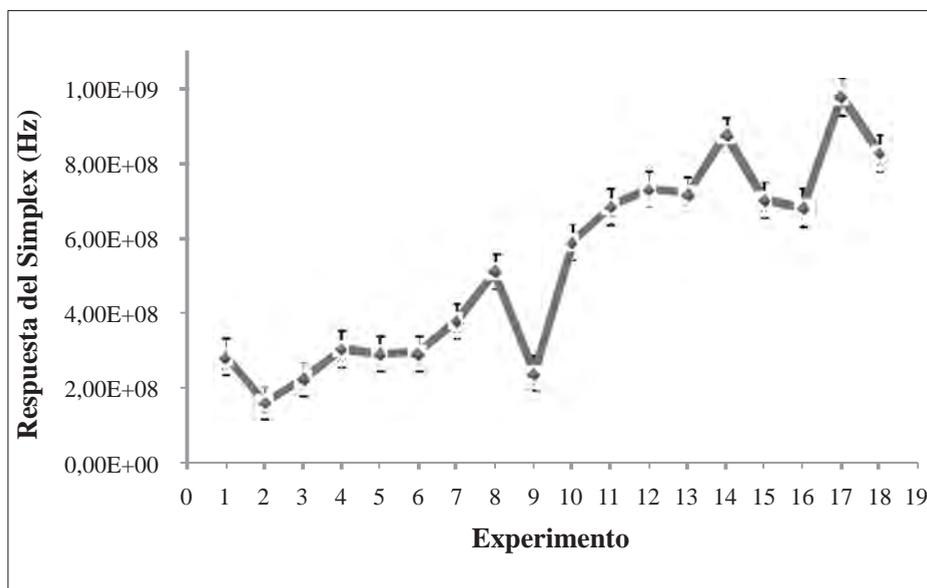


Figura 3. Respuesta calculada para el método Simplex en función del número de experimentos. Optimización de una inyección de 20 μ L con VS (+/- σ).

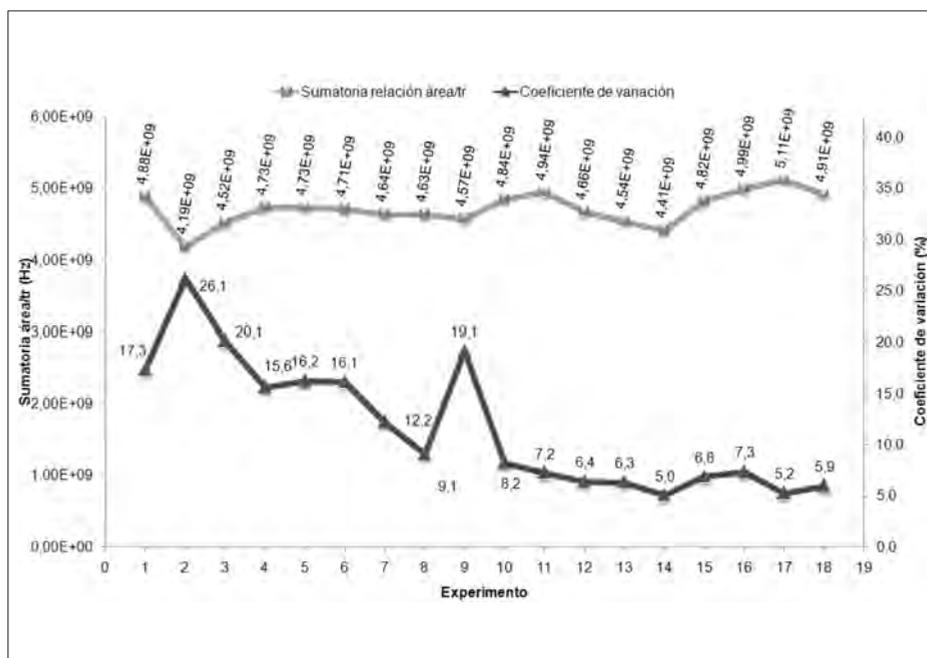


Figura 4. Variación de los componentes área/tr y % CV en función del número de experimentos en la optimización de una inyección de 20 μ L con VS.

ceso de optimización fue adecuado, aunque es importante recalcar que esta optimización no mejoró tanto la sensibilidad como la precisión.

Evaluación del proceso de optimización de la inyección con VS

La evaluación de la eficiencia de la inyección con venteo de solvente se realizó mediante la estimación de las respuestas para cada uno de los plaguicidas, empleando como referencia los resultados encontrados en las inyecciones con el método SDF ($4 \mu\text{L}$). Estos resultados se muestran en la Tabla 9.

Se observa que sólo para algunos plaguicidas se presentan eficiencias superiores a 1, lo cual revela que no se logró obtener el máximo de respuesta para la gran mayoría de los casos. Por otro lado, para los compuestos que presentan tiempos de retención altos, se tienen relaciones cercanas o superiores a 1; esto indica que para estos compuestos se optimizó el sistema de manera satisfactoria. Para compuestos como diclorvos, acefato, triflumuron y HCB se presentan relaciones muy bajas, lo que sugiere que el método discrimina los compuestos con puntos de ebullición bajos, hecho común en este tipo de inyección, pues al tener un flujo alto de gas en el momento del venteo de solvente, se pierden los compuestos más volátiles.

Para compuestos con tiempos de retención intermedios se encuentran, en promedio, las mismas relaciones, cercanas a un 85%.

Al comparar los diferentes volúmenes de inyección, se observa que este método presenta resultados adecuados, pues, a diferencia del método SDF, no se manifiesta un aumento de las relaciones en función del volumen de inyección.

CONCLUSIONES

La optimización del modo de inyección sin división en frío mediante el método Simplex presentó excelentes resultados en comparación al sistema de inyección en caliente sin división con pulso de presión, pues se encontró que para los cuatro volúmenes de inyección evaluados se presentaban eficiencias superiores al 100%, lo cual indicó que la sensibilidad mediante este sistema de inyección es superior.

En el proceso de optimización del inyector de temperatura programada en modo de venteo de solvente, se logró llegar a un 90% de la sensibilidad esperada en tan solo 18 experimentos. Por otro lado, la mejora más significativa se logró en la precisión del método. De igual manera, se determinó que este método funciona adecuadamente para un rango de volúmenes de inyección de $8 \mu\text{L}$ a $20 \mu\text{L}$.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento al Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá y a la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA).

Tabla 9. Resultados de la evaluación de la inyección con venteo de solvente. Detección μ ECD.

Compuesto	t'_{retenci} (min)	Eficiencias relativas a SDF*			
		8 μ L	10 μ L	15 μ L	20 μ L
Heptenofos	7,12	0,58	0,7	0,7	0,67
Diclorvos	8,61	0,63	0,67	0,67	0,7
Acefato	17,99	0,65	0,67	0,69	0,71
Triflumuron	18,57	0,63	0,65	0,66	0,68
HCB	25,27	0,69	0,66	0,68	0,71
Dimetoato	25,87	0,63	0,69	0,69	0,69
γ -HCH	26,65	0,66	0,7	0,68	0,72
Diazinon	27,82	0,66	0,67	0,67	0,69
Clorotalonil	28,29	0,64	0,68	0,72	0,7
Metil-paration	30,05	0,78	0,84	0,85	0,80
Diclofluanid	31,72	0,86	0,83	0,9	0,86
Malatión	32,01	0,87	0,86	0,91	0,89
Clorpirifos	32,42	0,89	0,87	0,85	0,87
Isofenofos	35,34	0,89	0,85	0,86	0,88
Endosulfan (α)	36,41	0,87	0,87	0,89	0,89
Profenofos	37,84	0,89	0,83	0,9	0,87
Endosulfan (β)	39,49	0,83	0,86	0,91	0,87
4,4-DDT	39,81	0,89	0,87	0,89	0,91
Propargite	40,58	0,88	0,83	0,88	0,86
Iprodion	41,55	0,84	0,85	0,87	0,87
Cihalotrina	42,9	0,81	0,88	0,87	0,86
Pirazofos	44,15	0,81	0,88	0,84	0,83

*Nota: Esta eficiencia se calcula mediante la relación del área obtenida y el área estimada para el volumen correspondiente (8 μ L, 10 μ L, 15 μ L o 20 μ L).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hoh, E.; K. Mastovska, Large volume injection techniques in capillary gas chromatography. *J Chromatogr A*. 2008. **1186** (1-2): 2-15.
2. Schomburg, G. Proceed. of the 4th Int. Symp. on Capillary Chromatography. Kaiser, R.E. Ed. Hindelang. 1981.
3. Poy, F.; Visani, S.; Terrosi, F. Automatic injection in high-resolution gas chromatography: A programmed temperature vaporizer as a general purpose injection system. *J Chromatogr A*. 1981. **217**: 81-90.
4. Anja, F.-N.; Koni, G. Injector-internal thermal desorption from edible oils performed by programmed temperature vaporizing (PTV) injection. *J. Sep. Sci.* 2006. **29** (15): 2365-2374.
5. Teske, J.; Engewald, W. Methods for, and applications of, large-volume injection in capillary gas chromatography. *Trends Anal. Chem.* 2002. **21** (9-10): 584-593.
6. Michal, G.; Jana, H.; Katerina, M.; Jitka, K. Optimization and application of the PTV injector for the analysis of pesticide residues. *J. Sep. Sci.* 2001. **24** (5): 355-366.
7. Cajka, T.; Lehotay, S. J.; Hajslova, J. Rapid analysis of multiple pesticide residues in fruit-based baby food using programmed temperature vaporiser injection-low-pressure gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2008. **1186** (1-2): 281-294.
8. Villén, J.; Herraiz, M. Very large volume sample introduction in capillary gas chromatography using a programmed temperature injector for pesticide analysis. *J. Microcolumn Sep.* 1999. **11** (2): 89-95.
9. Teske, J.; Efer, J; Engewald, W. Large-volume PTV injection: Comparison of direct water injection and in-vial extraction for GC analysis of triazines. *Chromatographia*. 1998. **47** (1): 35-41.
10. Guerrero, J. A. Estudio de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas en áreas específicas de Colombia. *Rev. Agron. Colomb.* 2003. **21**: 198-209.
11. Hans, G.; Mariken, A.; Hans, J.; Carel, A. Environmental applications of large volume injection in capillary GC using PTV injectors. *J. High. Resolut. Chromatogr.* 1996. **19** (2): 69-79.
12. Van Hout, M.; Zeeuw, R.; Franke, J.; Jong, G. Evaluation of the programmed temperature vaporiser for large-volume injection of biological samples in gas chromatography. *J. Chromatogr. B*. 1999. **729** (1-2): 199-210.
13. Fernández, A. R. Chromatographic-Mass Spectrometric Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues. Almeria, Elsevier. 2007. pp. 245.
14. Morgan, S. L.; Deming, S. N. Simplex optimization of analytical chemical methods. *Anal. Chem.* 1974. **46** (9): 1170-1181.

15. Burton, K. W. C.; Nickless, G. Optimisation via simplex. Part I. Background, Definitions and a Simple Application. *Chemometr Intell Lab.* 1987. **1** (2): 135-149.
16. Öberg, T. Importance of the first design matrix in experimental simplex optimization. *Chemometr Intell Lab.* 1998. **44** (1-2): 147-151.
17. Gustavsson, A.; Sundkvist, J. E. Design and optimization of modified simplex methods. *Anal. Chim. Acta.* 1985. **167** (C): 1-10.
18. Snow, N. H. Inlet Systems for Gas Chromatography, En: *Modern Practice of Gas Chromatography*. New York, Robert L. Grob, Ed. 2004. pp. 461-489.
19. Montaña, M.; Guerrero, J. Validación de una metodología multiresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en fresa (*Fragraria* spp.) por cromatografía de gases. *Rev. Colomb. Quím.* 2001. **30**: 37-46.
20. Moreno, M.; Guerrero, J. Validación de una metodología multiresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en repollo (*Brassica Oleracea* var. *Capitata*) por cromatografía de gases. *Rev. Colomb. Quím.* 2002. **31**: 19-32.
21. Dallos, D.; Guerrero, J. Desarrollo y validación de una metodología multiresiduo para la determinación de plaguicidas en café por cromatografía de gases. *Rev. Colomb. Quím.* 2005. **34** (2): 175-188.
22. Pinho, G.; Neves, A.; Queiroz, M.; Silverio, F. Matrix effect in pesticide quantification by gas chromatography. *Quím. Nova*, 2009. **32**(4): 987-995.
23. Ahumada, D. A.; Guerrero, J. A. Estudio del efecto matriz en el análisis de plaguicidas por cromatografía de gases. *VITAE*. 2010. **17** (1): 51-58.
24. Stajnbaher, D.; Zupancic-Kralj, L. Optimisation of programmable temperature vaporizer-based large volume injection for determination of pesticide residues in fruits and vegetables using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2008. **1190** (1-2): 316-326.
25. Chang, F.; Lin, T.; Huang, C.; Chao, H.; Chao, M-R. Application of PTV injection in GC analysis of PAHs emitted from incense burning in indoor environment. *J. Aerosol Sci.* 1999. **30** (Supplement 1): S363-S364.