



# DESARROLLO DE UN SISTEMA PARA DETECTAR PESTICIDAS EN DATOS CROMATOGRÁFICOS DE PAPA Y PIÑA USANDO PROCESAMIENTO DIGITAL DE SEÑALES

**Autor: Huver David Jaimes Vergel**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN CONTROLES INDUSTRIALES**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONAPAMPLONA,**

**ABRIL DE 2019**

DQS is member of:



*Formando líderes para la construcción de un  
nuevo país en paz*



**DESARROLLO DE UN SISTEMA PARA DETECTAR PESTICIDAS EN DATOS  
CROMATOGRÁFICOS DE PAPA Y PIÑA USANDO PROCESAMIENTO DIGITAL DE  
SEÑALES**

**Autor: Huver David Jaimes Vergel**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN CONTROLES INDUSTRIALES**

**DIRECTOR: MS.C LUIS ENRIQUE MENDOZA**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONAPAMPLONA**

**ABRIL DE 2019**

DQS is member of:



*Formando líderes para la construcción de un  
nuevo país en paz*



# Contenido

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>10</b>
<b>RESUMEN. ....</b>	<b>10</b>
<b>JUSTIFICACIÓN. ....</b>	<b>11</b>
<b>OBJETIVO GENERAL. ....</b>	<b>13</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>13</b>
<b>ACOTACIONES .....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 1: .....</b>	<b>14</b>
<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1 CROMATOGRAFIA.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.1 Cromatografía de gases.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.2 Procesamiento de señales cromatográficas .....</b>	<b>17</b>
1.1.2.1 Tiempo de retención .....	17
1.1.2.2 Detección de picos:.....	18
1.1.2.3 Corrección de línea base: .....	19
1.1.2.4 Alineamiento de picos: .....	21
1.1.2.5 Calculo de energía: .....	22
1.1.2.6 Factores de respuesta: .....	23
<b>1.1.3 Aplicaciones de la cromatografía.....</b>	<b>24</b>
<b>1.2 PESTICIDAS .....</b>	<b>24</b>
<b>1.2.1 Clasificación de pesticidas.....</b>	<b>25</b>
<b>1.2.2 Usos en la industria .....</b>	<b>25</b>
<b>1.2.3 Efectos sobre la salud y el ambiente .....</b>	<b>27</b>



<b>1.3</b>	<b>INTERFAZ GRAFICA DE USUARIO (GUI) DE MATLAB .....</b>	<b>27</b>
1.3.1	Entorno de desarrollo (GUIDE).....	27
1.3.2	Creación de aplicaciones ejecutables .....	28
<b>1.4</b>	<b>ESTADO DEL ARTE .....</b>	<b>30</b>
1.4.1	Trabajos nacionales .....	30
1.4.2	Trabajos internacionales .....	33
<b>CAPÍTULO 2: .....</b>		<b>38</b>
<b>METODOLOGÍA .....</b>		<b>38</b>
<b>2.1</b>	<b>DEFINICIÓN DE PROPIEDADES .....</b>	<b>40</b>
<b>2.2</b>	<b>NORMATIVIDAD VIGENTE .....</b>	<b>41</b>
<b>2.3</b>	<b>OBTENCIÓN DE DATOS .....</b>	<b>42</b>
2.3.1	Clasificación de patrones .....	42
2.3.2	Cromatogramas patrón .....	43
<b>2.4</b>	<b>TRATAMIENTO DE LAS SEÑALES .....</b>	<b>43</b>
2.4.1	Detección de picos:.....	44
2.4.2	Corrección de línea base: .....	52
2.4.3	Tiempos de integración corregidos: .....	54
2.4.4	Tiempos de retención .....	55
<b>2.5</b>	<b>CALIBRACIÓN DE PATRONES .....</b>	<b>55</b>
2.5.1	Identificación del pico del patrón.....	56
2.5.2	Tiempos de retención relativos .....	57
2.5.3	Energía del patrón .....	58
2.5.4	Energía relativa del patrón.....	59
2.5.5	Factor de respuesta (Rf) .....	60
2.5.6	Actualización de calibraciones.....	60



2.5.7	Cromatograma general de patrones .....	61
2.6	ANÁLISIS DE MUESTRAS .....	62
2.6.1	Clasificación de muestras: .....	63
2.6.2	Análisis cualitativo de pesticidas.....	63
2.6.3	Análisis cuantitativo de pesticidas .....	65
2.7	INTERFAZ GRÁFICA.....	66
2.7.1	Módulo de gestión de tipos de análisis .....	66
2.7.1.1	Ver tipo de análisis.....	67
2.7.1.2	Modificar tipo de análisis.....	67
2.7.1.3	Crear nuevo tipo de análisis.....	67
2.7.2	Módulo de calibración.....	67
2.7.2.1	Ingresar patrón.....	68
2.7.2.2	Eliminar Patrón .....	68
2.7.2.3	Detectar picos .....	68
2.7.2.4	Calibrar patrón .....	69
2.7.2.5	Guardar calibración.....	70
2.7.2.6	Cromatograma general de patrones.....	70
2.7.3	Módulo de análisis .....	71
2.7.3.1	Ingresar muestra.....	71
2.7.3.2	Analizar muestra .....	71
2.7.3.3	Guardar análisis.....	72
2.7.3.4	Ver análisis .....	73
CAPÍTULO 3	.....	73
RESULTADOS	.....	73
3.1	VALIDACION DEL SISTEMA.....	73
3.1.1	Preparación de muestras.....	74



<b>3.1.2</b>	<b>Calibración del sistema.....</b>	<b>82</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Análisis con muestras sintéticas .....</b>	<b>85</b>
<b>3.1.4</b>	<b>Análisis de pesticidas en muestras reales .....</b>	<b>87</b>
<b>3.1.5</b>	<b>Cromatograma general de pesticidas .....</b>	<b>94</b>
<b>3.1.6</b>	<b>Desempeño del sistema.....</b>	<b>95</b>
3.1.6.1	Desempeño del método de detección de picos: .....	97
3.1.6.2	Desempeño del método de corrección de línea base:.....	99
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>102</b>
	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>103</b>



## Lista de tablas

TABLA 1. VALORES MÁXIMOS PERMISIBLES DE PESTICIDAS EN ALIMENTOS.....	41
TABLA 2. INFORMACIÓN REQUERIDA PARA CALIBRACIÓN .....	81
TABLA 3. RESULTADOS CUANTITATIVO CALIBRACIÓN DE ALDRIN EN PAPA. ....	84
TABLA 4. RESULTADOS DE CALIBRACIÓN DE 7 PESTICIDAS PARA DOS TIPOS DE ANÁLISIS. ....	84
TABLA 5. CONCENTRACIÓN CALCULADA VS MEDIDA DE LAS MUESTRAS SINTÉTICAS GENERADAS. ....	86
TABLA 6. RESULTADOS MUESTRAS DE VALIDACIÓN .....	87
TABLA 7. ANÁLISIS DE DESEMPEÑO DEL SISTEMA. ....	96
TABLA 8. RESULTADOS DESEMPEÑO DEL MÉTODO DE DETECCIÓN DE PICOS.....	97

## Lista de figuras

FIGURA 1. CROMATÓGRAFO .....	15
FIGURA 2. DETECTOR DE IONIZACIÓN DE LLAMA (FID) .....	16
FIGURA 3. DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES (ECD) [5] .....	16
FIGURA 4. TIEMPO DE RETENCIÓN [7] .....	17
FIGURA 5. DETECCIÓN DE PICOS POR DERIVADAS .....	18
FIGURA 6. CORRECCIÓN DE LÍNEA BASE [6] .....	19
FIGURA 7. LÍNEA BASE CORREGIDA YC(X) .....	21
FIGURA 8. INTEGRACIÓN TRAPEZOIDAL [7] .....	22
FIGURA 9. INCREMENTO EN EL MERCADO MUNDIAL DE PESTICIDAS (1980-2013) (PHILLIPS MCDUGALL,.....	26
2015). [16] .....	26
FIGURA 10. MERCADO MUNDIAL DE PESTICIDAS POR REGIÓN 2013 (PHILLIPS MACDOUGALL, 2015) .....	26
FIGURA 11. ENTORNO DE DESARROLLO DE GUI DE MATLAB (GUIDE) .....	28
FIGURA 12. ENTORNO HERRAMIENTA DEPLOYTOOL .....	29
FIGURA 14. CLASIFICACIÓN POR TIPO DE ANÁLISIS.....	43
FIGURA 15. SEÑAL OBTENIDA EN EL CROMATÓGRAFO, Y(X).....	44
FIGURA 16. DETERMINACIÓN DE TIEMPOS DE INTEGRACIÓN.....	45
FIGURA 17. PORCENTAJE DE ASIMETRÍA DE PICOS. ....	46
FIGURA 18. PRIMER PICO VALIDO Y SU RESPECTIVA VENTANA SUPRIMIDA.....	48
FIGURA 19. YS(X) AL DETENER EL BARRIDO POR CUMPLIR LA CONDICIÓN YS (XMAX) < HMIN .....	49
FIGURA 20. PICOS VALIDOS DETECTADOS. ....	50
FIGURA 21. VALLE INVALIDO DETECTADO POR VALOR DE A MUY GRANDE .....	51
FIGURA 22. CORRECCIÓN DE LÍNEA BASE. ....	52
FIGURA 23. PICO YA CORREGIDO DE LA SEÑAL PG(X) .....	53
FIGURA 24. ORIGEN DE LOS VALORES <b>PgX</b> NEGATIVOS.....	54
FIGURA 25. MUESTRA DE PAPA SIN CONTAMINAR.....	56
FIGURA 26. NUEVO PICO HALLADO EN LA MUESTRA.....	57
FIGURA 27. CALCULO DE ENERGÍA .....	58
FIGURA 28. CROMATOGRAMA GENERAL DE PATRONES.....	62
FIGURA 29. ANÁLISIS CUALITATIVO DE PESTICIDAS .....	64
FIGURA 30. INTERFAZ GRAFICA .....	66
FIGURA 31. GESTIÓN DE TIPOS DE ANÁLISIS .....	67
FIGURA 32. MÓDULO DE CALIBRACIÓN .....	68
FIGURA 33. PICOS DETECTADOS Y FUNCIÓN DE CORRECCIÓN .....	69
FIGURA 34. CROMATOGRAMA GENERAL SEGÚN TIPO .....	70





FIGURA 35. MÓDULO DE ANÁLISIS .....	71
FIGURA 36. RESULTADOS DEL ANÁLISIS CUALITATIVO .....	72
FIGURA 37. RESULTADOS DEL ANÁLISIS CUANTITATIVO .....	72
FIGURA 38. CROMATOGRAMA DE ALDRIN .....	75
FIGURA 39. CROMATOGRAMA DE BETA-BHC .....	75
FIGURA 40. CROMATOGRAMA DE DELTA-BHC .....	76
FIGURA 41. CROMATOGRAMA DE ENDOSULFAN.....	76
FIGURA 42. CROMATOGRAMA DE ENDRIN.....	77
FIGURA 43. CROMATOGRAMA DE GAMA.....	77
FIGURA 44. CROMATOGRAMA DE HEPTACHLOR .....	78
FIGURA 45. CROMATOGRAMA PARA EL TIPO DE ANÁLISIS PAPA.....	79
FIGURA 46. CROMATOGRAMA PARA EL TIPO DE ANÁLISIS PIÑA.....	79
FIGURA 47. CROMATOGRAMA PATRÓN DE ALDRIN EN PAPA.....	80
FIGURA 48. PICO DEL ALDRIN EN PAPA IDENTIFICADO COMO #8 .....	81
FIGURA 49. CALIBRACIÓN DE ALDRIN EN PAPA .....	82
FIGURA 50. RESULTADO CUALITATIVO DE CALIBRACIÓN DE ALDRIN EN PAPA.....	83
FIGURA 51. CROMATOGRAMA DE 25UG DE ALDRIN EN PAPA.....	85
FIGURA 52. RESULTADOS MUESTRA # 1 DE PAPA.....	88
FIGURA 53. RESULTADOS MUESTRA #2 DE PAPA.....	89
FIGURA 54. RESULTADOS MUESTRA #3 DE PAPA.....	90
FIGURA 55. RESULTADOS MUESTRA #1 DE PIÑA.....	91
FIGURA 56. RESULTADOS MUESTRA #2 DE PIÑA.....	92
FIGURA 57. RESULTADOS MUESTRA #3 DE PIÑA.....	93
FIGURA 58. CROMATOGRAMA GENERAL DE PESTICIDAS TIPO DE ANÁLISIS PAPA .....	94
FIGURA 59. CROMATOGRAMA GENERAL DE PESTICIDAS TIPO DE ANÁLISIS PIÑA .....	95
FIGURA 60. ERROR DE CORRECCIÓN DE LÍNEA BASE PICO DE ALDRIN .....	100

## INTRODUCCIÓN

### RESUMEN.

En este proyecto se muestra el diseño e implementación de un software que permite en un solo análisis evaluar el contenido y concentración de pesticidas en señales cromatográficas de papa y piña, el cual brinda al usuario la posibilidad de calibrar nuevos pesticidas. En el sistema se aplican técnicas de procesamiento de datos a información cromatográfica tales como corrección de línea base, normalización, detección de picos, cálculo de tiempos de retención y factores de respuesta. Para la detección de picos se implementó una nueva metodología la cual se llamó WSS (Windows supresor scanning). El software desarrollado en Matlab está compuesto por dos módulos, uno de calibración y otro de operación, a éste se ingresan los cromatogramas obtenidos al analizar muestras de papa y piña en un cromatógrafo. Luego de haber calibrado al menos un patrón, se pueden ingresar muestras para las cuales el software presentará en la interface el análisis cualitativo y cuantitativo de pesticidas encontrados en la muestra ingresada, aplicando las técnicas anteriormente mencionadas y teniendo como referencia los valores de calibración de cada patrón. Para probar el desempeño del software se realizó la calibración con cromatogramas patrón de los pesticidas ALDRIN, BETA-BHC, DELTA-BHC, ENDOSULFAN1, ENDRIN, GAMMA-BHC, HEPTACLORO en muestras de papa y piña y se generaron 12 muestras sintéticas de cada alimento obteniendo un error de 0% en el análisis cuantitativo para muestras con concentración de 50ug de pesticida, la cual fue utilizada en la calibración consiguiendo errores mínimos de 0.42% para el Aldrin en papa y máximos de 5,08% para el Endosulfan1 en papa, para muestras con concentraciones 50% por encima y por debajo de la concentración de calibración. El resto de errores para los demás pesticidas en papa y piña están dentro de los rangos mencionados.

## JUSTIFICACIÓN.

Debido a las condiciones cambiantes de los climas, el cambio en la fertilidad de los terrenos, las plagas, la industrialización a gran escala, se han ido incluyendo en el mercado diferentes productos que son utilizados por los agricultores en los procesos de siembra y cuidado de cultivos como la papa, piña y las espinacas entre otros. A pesar del tiempo transcurrido desde la siembra hasta el consumo, procesos de lavado y descontaminación, control de la cantidad aplicada a los cultivos, remanentes de estos productos permanecen en los alimentos al momento de consumirlos convirtiéndose en contaminantes. En contraste con los beneficios obtenidos en la utilización de pesticidas, están los daños a la salud que pueden provocar. Debido a la gran cantidad de residuos de pesticidas que están siendo consumidos a nivel mundial la preocupación va en aumento; Los estudios hasta el momento los relacionan con riesgo de cáncer, afectaciones al feto en desarrollo y a niños, cambios en el comportamiento, reducir la fertilidad, cambios hormonales, entre otros[3]

Dentro de las especificaciones de calidad que debe cumplir la industria alimentaria se ha implementado límites permisibles de contaminantes en su mayoría pesticidas, y para garantizar que estos límites no sean sobrepasados se deben realizar análisis que determinan si el producto es apto para su consumo. La cantidad de pesticidas utilizados en la agricultura tiende a aumentar en cantidad y en variedad por lo que los métodos de determinación y cuantificación de los mismos en los procesos de control de calidad deben ser adaptables para poder incluir continuamente nuevos pesticidas y garantizar un visto bueno de calidad más completo. Diseñar un sistema que integre en un solo análisis cromatográfico la determinación de múltiples pesticidas en un alimento siendo adaptable para adicionar nuevos pesticidas por parte del usuario, ya sea porque existe evidencia de la posible presencia de los mismos en el alimento evaluado, o por el uso de un nuevo pesticida en su proceso de

producción cuyo control de calidad requiere mantener los niveles de dichos pesticidas en el alimento, dentro del rango permitido. Esto significaría:

- 1) Evitar comprar múltiples analizadores o detectores para varios pesticidas.
- 2) Disminuir los tiempos de análisis en el control de calidad de alimentos, ya que se evalúa la presencia de todos los pesticidas en un solo análisis.
- 3) Disminuir costos en actualización de los equipos de análisis, ya que el usuario puede realizar la calibración de cada pesticida individualmente.
- 4) Hacer más accesible a pequeñas compañías contar con un sistema de análisis de pesticidas en sus alimentos.
- 5) Contar con un software en el cual los tiempos de integración y concentraciones son calculados automáticamente.
- 6) Mayor repetibilidad en los resultados ya que el software se adapta a pequeños corrimientos en los tiempos de integración causados por variaciones de las condiciones del cromatografo al utilizar dos picos característicos del alimento como referencia.

## OBJETIVO GENERAL.

Implementar una plataforma para detectar pesticidas en datos cromatográficos de papa y piña

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar el patrón de cada uno de los pesticidas con el fin de generar un cromatograma general de pesticidas.
- Implementar un algoritmo para realizar el análisis cualitativo y cuantitativo de cada contaminante en la muestra. Este algoritmo tendrá detección de picos, corrección de línea base, cálculo de energía y factores de respuesta de cada pesticida.
- Desarrollar en Matlab una interfaz de operación y calibración
- Validar el sistema desarrollado analizando muestras sintéticas y muestras contaminadas de manera controlada.

## ACOTACIONES

Aunque el método es aplicable a diferentes contaminantes, se utilizan inicialmente para el desarrollo del sistema solo 7 pesticidas. Estos son ALDRIN, BETA-BHC, DELTA-BHC, ENDOSULFAN, ENDRIN, GAMMA, HEPTACHLOR.

# CAPÍTULO 1:

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 CROMATOGRAFIA

La cromatografía es relativamente una nueva técnica la cual fue utilizada inicialmente por el botánico M. Tswett en 1906 para la separación de sustancias coloridas en sus componentes individuales. Desde entonces la técnica ha tenido grandes modificaciones y hoy en día varios tipos de cromatografía son usados para separar casi toda mezcla. [1]

Esencialmente, la técnica de cromatografía está basada en la diferencia en la velocidad en que los componentes de una mezcla se mueven a través de un medio poroso llamado fase estacionaria, bajo la influencia de un solvente o un gas, llamado fase móvil [1]. Cuando la fase móvil es un gas se le llama cromatografía de gases.

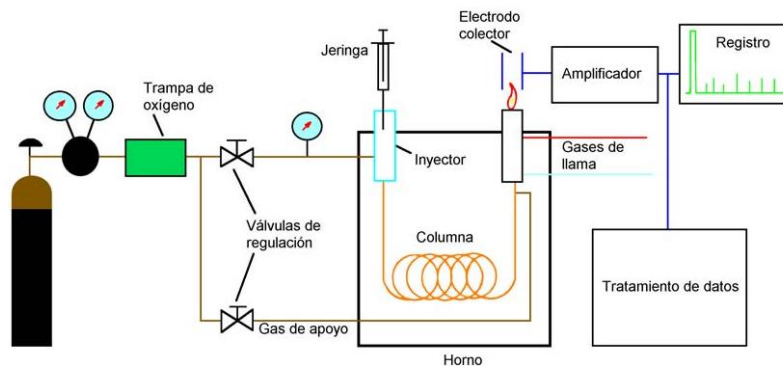
#### 1.1.1 Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es un método para separar componentes de una mezcla de compuestos volátiles. En la mayoría de los casos, la separación es llevada a cabo para identificar y cuantificar cada uno de los componentes de la muestra [2].

La figura 1 presenta un esquema general de un cromatógrafo de gases típico el cual está conformado principalmente por un horno que contiene la columna de separación, el sistema de suministro de gas portador que incluye cilindros y válvulas, el sistema de inyección de muestra y el sistema de detección y registro.

El componente principal en la cromatografía es la columna, la cual es un largo tubo empaquetado con determinado absorbente en la cual utilizando la técnica más común que es llamada técnica de elución, un flujo continuo de un gas inerte el cual es llamado gas portador a través de la columna, y la muestra a ser separada es introducida instantáneamente al inicio de la columna ya sea en forma de gas o de un líquido volátil. [2]

En la columna la solubilidad de cada componente es dependiente de su presión de vapor, la cual es una función de la temperatura de la columna y la afinidad entre el componente y la fase estacionaria. Consecuentemente componentes con diferentes propiedades físicas y químicas llegan al detector a tiempos diferentes. [3]



**Figura 1. Cromatógrafo**

Fuente: [http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia\\_de\\_gases.pdf](http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf)

El tipo de detector a utilizar depende de la aplicación sin embargo los tipos de detectores generalmente utilizados en cromatografía son el detector de ionización de llama (FID) y el detector de captura de electrones (ECD).

El detector de ionización de llama (FID) mostrado en la figura 2 requiere de hidrogeno y aire como gases de soporte para mantener encendida una llama la cual al quemar los componentes que salen de la columna, produce iones

que son capturados por un colector con un alto voltaje negativo generando una corriente que es amplificada [4]

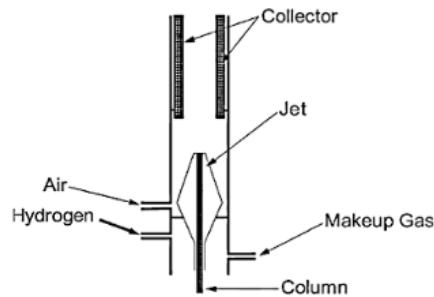


Figura 2. Detector de ionización de llama (FID)

En el detector de captura de electrones (ECD) mostrado en la figura 3, un isótopo radioactivo es usado como fuente Beta de electrones, los cuales bombardean el gas portador. La aplicación de una diferencia de potencial eléctrico en la celda del detector permite la recolección de estos electrones los cuales constituyen la corriente estándar del detector. El compuesto introducido en el gas portador que tenga la propiedad de capturar electrones hará que disminuya la corriente del detector. [5]

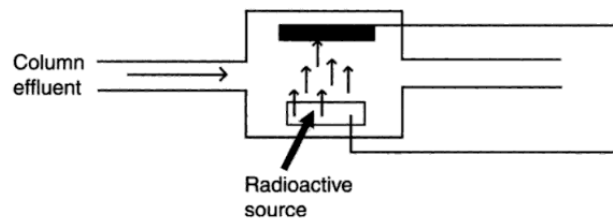


Figura 3. Detector de captura de electrones (ECD) [5]



## 1.1.2 Procesamiento de señales cromatográficas

### 1.1.2.1 Tiempo de retención

El tiempo de retención ( $R_t$ ) es el tiempo requerido por un componente para desplazarse desde el punto de inyección (Entrada de la columna) al detector (Salida de la columna) y es normalmente representado en minutos. En el cromatograma este representa la distancia medida desde el punto de inyección (coordenada X) hasta el valor máximo del pico. [6]

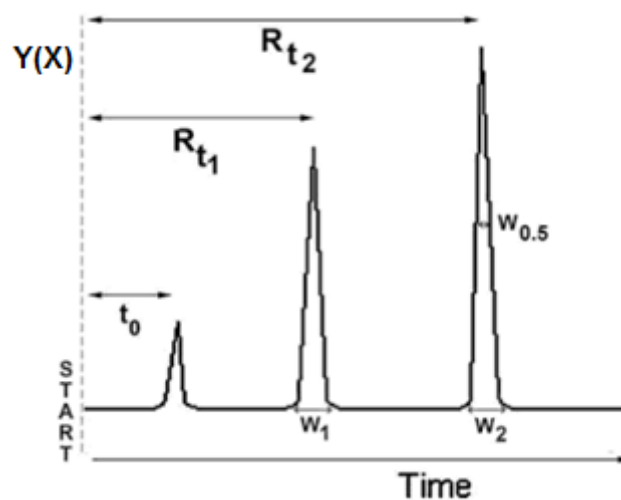


Figura 4. Tiempo de retención [7]

En la figura 4 se presenta un cromatograma en el cual  $Y(x)$  representa la señal generada en el detector y donde se identifican los tiempos de retención para el componente uno ( $R_{t_1}$ ) y para el componente dos ( $R_{t_2}$ ).

### 1.1.2.2 Detección de picos:

La detección de picos en cromatografía es crucial para el análisis cualitativo y cuantitativo, por la cantidad de información aumenta a medida que más picos son detectados. Solapamiento de picos y ruido de la línea base hacen la detección más complicada. La ubicación e intensidad de los picos son mejor estimadas cuando la forma exacta de los picos y su amplitud son conocidas previamente. En otros casos un pico falso puede ser detectado cuando ruido de la línea base es tomado como un pico pequeño, o un pico puede ser perdido cuando la existencia de solapamiento no es reconocida. [7]

La mayoría de métodos de detección utilizados no emplea alguna suposición para la forma de los picos o el ruido de la línea base. Usualmente solo las derivadas de la señal son analizadas y un pico es detectado cuando un umbral es alcanzado. [7].

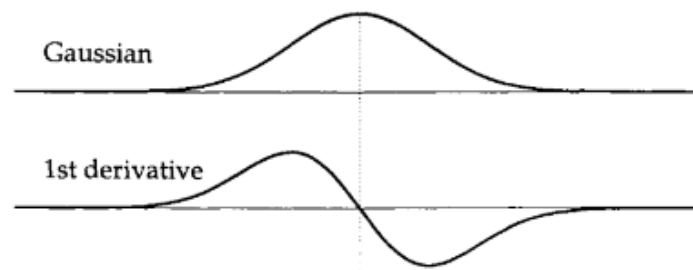


Figura 5. Detección de picos por derivadas

El método más sencillo para calcular la primera derivada de un cromatograma o cualquier otra señal digitalizada es calcular las diferencias así:

$$X'_k = \frac{X_{k+1} - X_k}{\Delta t} \quad \text{O también} \quad X'_k = \frac{X_k - X_{k-1}}{\Delta t} \quad (1)$$

Como lo muestra figura 5, al derivar la señal se obtiene la pendiente de la recta tangente en cada punto, por lo que cuando la pendiente alcanza un umbral configurado en el cromatógrafo se detectara el inicio del pico, cuando es cero se detecta el máximo el pico y cuando vuelve a estar por debajo del umbral se detecta el final del pico. [7]

Por ejemplo si tenemos la señal:

$$Y = [ 0 \ 2 \ 5 \ 8 \ 10 \ 13 \ 14 \ 18 \ 16 \ 15 \ 11 \ 7 \ 3 \ 10 ]$$

Su derivada sería:

$$Y' = [ 2 \ 3 \ 3 \ 2 \ 3 \ 1 \ 4 \ -2 \ -1 \ -4 \ -4 \ -4 \ -2 \ -1 ]$$

En este caso se puede identificar que en el elemento  $Y [1,8]$  existe un valor pico, ya que en el elemento  $Y' [1,8]$  hubo un cambio de signo de positivo a negativo.

### 1.1.2.3 Corrección de línea base:

En el análisis de datos cromatográficos la corrección de línea base es típicamente el primer paso de preprocesamiento. Los procedimientos de corrección de línea base son diseñados para corregir el desplazamiento de la línea base y para reducir las variaciones de baja frecuencia de la señal de línea base que aparecen debido a incontrolables efectos en la columna, ionización de fondo y variaciones de baja frecuencia del detector. [8]

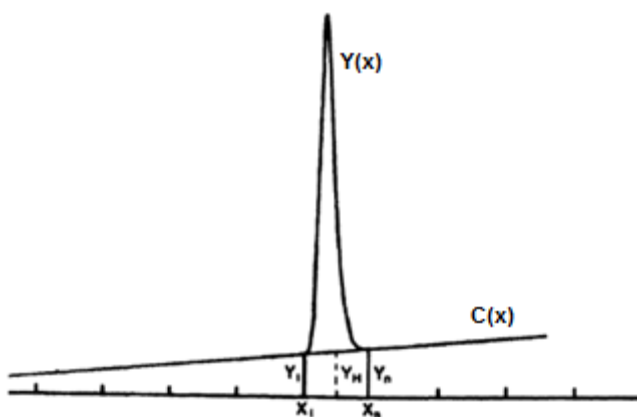


Figura 6. Corrección de línea base [6]

Un método utilizado para corregir la línea base de un pico detectado es la mostrada en la figura 6 en la cual:

$$Y_H = \frac{Y_1 + Y_n}{2} \quad (2)$$

Donde  $Y_H$  es la señal del detector al comienzo del pico y  $Y_n$  es la señal del detector al final del pico. [9]

Y junto con los valores  $X_1, Y_1, X_n, Y_n$  se halla la ecuación de una recta  $C(X)$  tal que:

$$C(X) = m * X + b \quad (3)$$

Donde: 
$$m = \frac{Y_n - Y_1}{X_n - X_1} \quad (4)$$

$$b = Y_1 - m * X_1 \quad (5)$$

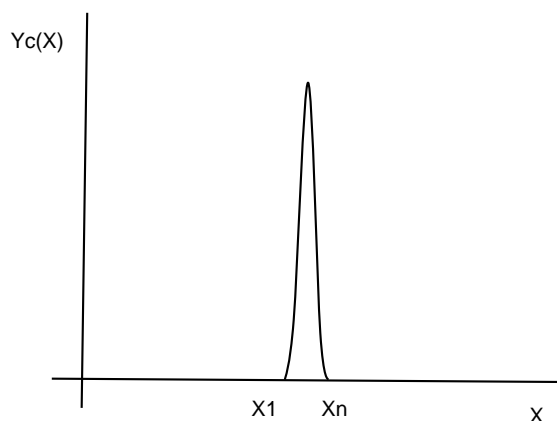
Por lo que:

$$C(X) = \frac{Y_n - Y_1}{X_n - X_1} (X - X_1) + Y_1 \quad (6)$$

Luego la señal  $Y(X)$  corregida sería:

$$Y_c(X) = \begin{cases} 0, & X < X_1 \\ [Y(X) - C(X)], & X_1 \leq X \leq X_n \\ 0, & X > X_n \end{cases} \quad (7)$$

Y su representación gráfica es presentada en la figura 7



**Figura 7. Línea base corregida  $Y_c(x)$**

En general la pendiente es usualmente considerada lineal debajo del pico y, de hecho, si no lo es, las condiciones operacionales cromatográficas necesitan ser ajustadas. [9]

#### 1.1.2.4 Alineamiento de picos:

Esto se requiere debido a que el tiempo de retención no es específicamente definido para cada analito en varios instrumentos, varios análisis, o inclusive para diferentes muestras en un análisis. Estas desviaciones deben ser corregidas antes de realizar otros procedimientos a la señal, de tal forma que cada analito aparezca en el tiempo donde se espera. El alineamiento debe la información relevante en los datos, manteniendo el área de los picos y su forma intacta para la subsecuente cuantificación. [10]

La forma más simple de hacer el alineamiento de picos es mover digitalmente todo un cromatograma con respecto a un cromatograma de referencia por un número de puntos de muestra determinado sin modificar la forma de los picos ni la distancia entre picos. Para esto divide la señal en varias ventanas de tiempo las cuales son comparadas con el cromatograma de referencia para

determinar su ubicación. Sin embargo esta técnica puede fallar cuando picos se ubican en la posición equivocada o son afines a dos ventanas [10]

Uno de los más robustos métodos es el algoritmo llamado COW, este usa dos parámetros, longitud de la sección (Segment) y flexibilidad (slack) para controlar como las secuencias de tiempo pueden ser movidas hacia el cromatograma de referencia. La longitud de la sección es usada para dividir la señal en secciones que pueden ser estiradas o comprimidas tanto como el parámetro de flexibilidad lo permita moviendo los puntos finales de las secciones. [10]

#### 1.1.2.5 Calculo de energía:

El cálculo fundamental llevado a cabo es la determinación del área bajo un pico. Aunque la forma de los picos, y la línea base puede variar el procedimiento para el cálculo del área una vez los límites han sido encontrados es similar. El área entre los límites es integrada usando un algoritmo de sumas el cual puede ser basado en la regla de Simpson, sumando las lecturas digitales o integración trapezoidal, siendo esta la más exacta. [11]

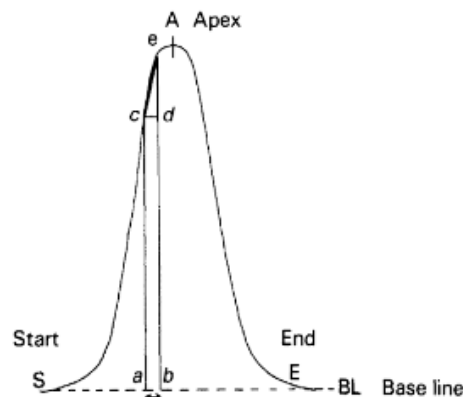


Figura 8. Integración trapezoidal [7]

En el método trapezoidal mostrado en la figura 8, una sección de área o integral del pico es determinada usando las lecturas sucesivas del conversor analógico digital,  $ac$  y  $eb$  y la pendiente  $ce$  del triángulo  $ced$  para calcular el área del trapecio  $aceb$ . Se debe notar que la línea BL es restada de las lecturas para poder obtener  $ac$  y  $eb$ . [11]. El área total del pico es calculada sumando las contribuciones de todas las secciones de área.

El total del área de todos los picos y el porcentaje de contribución de cada pico es calculado como sigue:

$$A_{TOTAL} = \sum_1^n A_n \quad (8)$$

$$A_n \% = \frac{A_n}{A_{TOTAL}} * 100 \quad (9)$$

#### 1.1.2.6 Factores de respuesta:

Los factores de respuesta o  $Rf_S$  son el valor numérico que permite cuantificar la relación entre la concentración de cada uno de los componentes y la respuesta del detector del cromatógrafo.

Existen dos procedimientos para usar estándares de referencia: En el primer método una pequeña cantidad del estándar puede ser añadida directamente a la muestra y el área o la altura de los picos es comparada con la del estándar. Este método es llamado método de estándar interno. En el segundo procedimiento una cantidad pesada de estándar puede ser añadida a un volumen conocido de solvente y analizada exactamente bajo las mismas condiciones que la muestra desconocida pero en dos corridas independientes. En este caso el área del pico o la altura es comparada con el área del pico o altura del soluto de interés en el cromatograma de la muestra. Este método es llamado de estándar externo [9]

Para el método de estándar interno los factores de respuesta para cada uno de los componentes son calculados de la siguiente forma:

$$RF_n = \frac{C_{st} * A_n}{C_n * A_{st}} \quad (10)$$

Donde  $C_{st}$  y  $A_{st}$  es la concentración y área del pico del estándar,  $C_n$  y  $A_n$  son la concentración y el área del pico del componente  $n$  y  $RF_n$  es el factor de respuesta para el componente  $n$ . [9]

Para el método de estándar externo utiliza la siguiente ecuación para determinar la concentración de cada componente:

$$C_n = \frac{x * A_1}{A_2 - A_1} \quad (11)$$

Donde  $(A_2 - A_1)$  es la diferencia en el área del pico debida a la adición de  $x$  mg del componente añadido. [11]

### 1.1.3 Aplicaciones de la cromatografía

La cromatografía es una técnica ampliamente utilizada en la industria petrolera y petroquímica, aplicaciones clínicas y farmacéuticas, aplicaciones ambientales, ciencias forenses. [12]

## 1.2 PESTICIDAS

Un pesticida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias, naturalmente o sintéticamente formuladas para controlar o repeler cualquier plaga que compite con los humanos por la comida, destruye propiedades, o prolifera enfermedades. [13]

Cada pesticida está diseñado para interrumpir las actividades fisiológicas normales de un organismo, contra el cual este es aplicado. Por lo tanto este puede causar la muerte o una disfunción a tal organismo o reducir su vitalidad. Los pesticidas fueron creados sobre la base de que una plaga es un organismo



no deseado en lugar no deseado que merece ser eliminado o dejado fisiológicamente disfuncional. [14]

### 1.2.1 Clasificación de pesticidas

Los pesticidas se pueden clasificar en tres grupos convencionales. El primer grupo lo componen los hidrocarburos clorados también conocidos como organoclorados. Estos pesticidas generalmente se descomponen muy lentamente y pueden permanecer en el ambiente por largos periodos de tiempo. Dieldrin, Chlordane, Aldrin, DDT y Heptachlor son pesticidas de este tipo. [15].

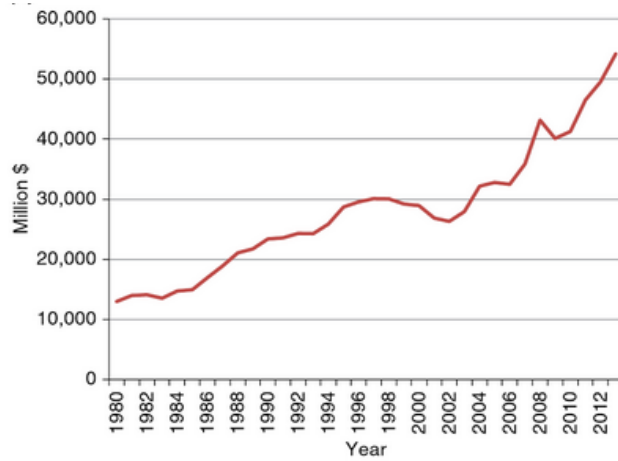
El segundo grupo es conocido como fosfatos u organofosfatos. Estos pesticidas son en su mayoría altamente tóxicos para humanos, pero generalmente no permanecen en el ambiente por largo tiempo. Diazinon, malathion, dimethoate, chlorpyrifos son pesticidas de esta clasificación. [15]

El último grupo es el de los carbamatos, ellos son generalmente menos tóxicos para humanos, pero aún persiste la preocupación con respecto a los potenciales efectos de algunos carbamatos sobre los sistemas inmune y nervioso. Carbaryl, carbofuran, and methomyl son ejemplos de carbamatos [15]

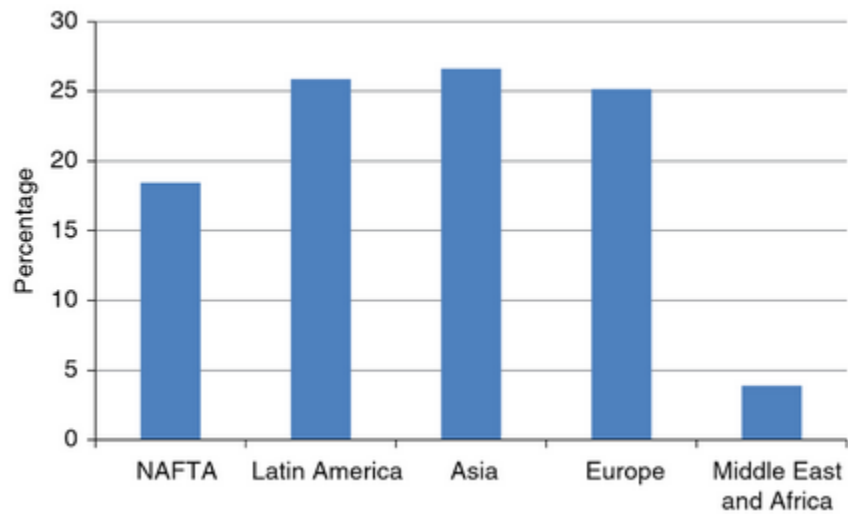
### 1.2.2 Usos en la industria

Las aplicaciones de los pesticidas en la industria son variados sin embargo los usos más comunes son la eliminación de insectos que puedan dañar la corteza o los frutos de una cosecha y la eliminación de maleza.

El uso de pesticidas en la industria se ha generalizado a nivel mundial y su uso ha ido en aumento sobre todo en los últimos años según un estudio publicado en 2015 por Phillips Mcdougall cuyos datos se muestran en la figura 9, donde se muestra que en el año 2012 este mercado ya superaba los 50.000 millones de dólares. Siendo la región de Asia el mejor mercado para su comercialización y medio oriente y África donde menos son utilizados como se muestra en la figura 10 con datos del mismo estudio.



**Figura 9. Incremento en el mercado mundial de pesticidas (1980-2013) (phillips mcdougall, 2015). [16]**



**Figura 10. Mercado mundial de pesticidas por región 2013 (Phillips Macdougall, 2015)**

### 1.2.3 Efectos sobre la salud y el ambiente

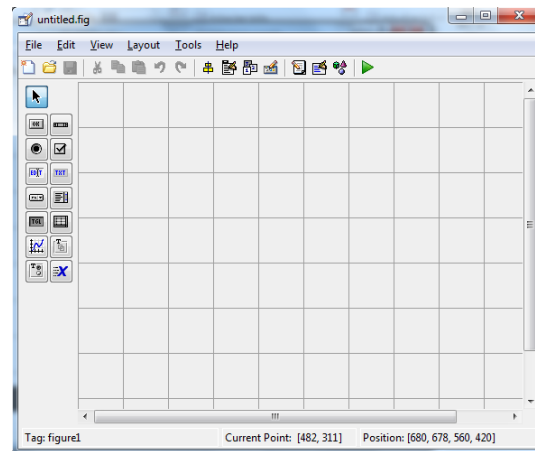
Los pesticidas han sido asociados con el desarrollo de ciertos tipos de cáncer en niños, incluyendo leucemia, sarcomas, y tumores cerebrales. Muchas clases de pesticidas han afectado el desarrollo del sistema nervioso de animales en experimentos. La exposición a pesticidas ha sido asociada con defectos de nacimiento en niños. Nuevos estudios sugieren que los pesticidas pueden comprometer el sistema inmune en infantes y niños. [15]

## 1.3 INTERFAZ GRAFICA DE USUARIO (GUI) DE MATLAB

Luego de tener los algoritmos necesarios para llevar a cabo una tarea específica se debe seleccionar una herramienta que permita implementarlos y además que brinde al usuario final la posibilidad de interactuar con la aplicación. Para esto se utilizan las conocidas interfaces graficas de usuario (GUI) de las cuales una de la más utilizada es la de MATLAB.

### 1.3.1 Entorno de desarrollo (GUIDE)

Para desarrollar interfaces gráficas de usuario, MATLAB cuenta con un entorno de desarrollo llamado GUIDE. En éste se pueden agregar cuadros de dialogo, (controles de interfaz como botones y controles deslizantes) y contenedores (como paneles y grupos de botones) [17]. En la figura 11 se muestra el entorno de desarrollo el cual está compuesto por un área de trabajo en el cual se pueden insertar cada uno de los cuadros de dialogo, controles y/o contenedores disponibles en el lado izquierdo del entorno según los requerimientos de la interfaz.

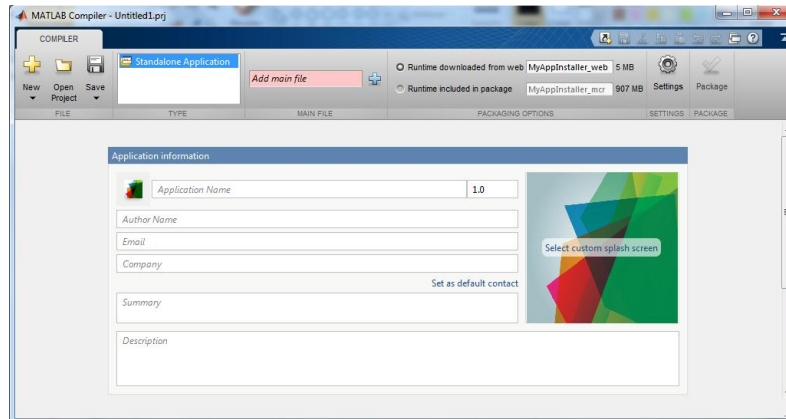


**Figura 11. Entorno de desarrollo de GUI de Matlab (GUIDE)**

El diseño del aspecto visual de la interfaz gráfica, el cual es guardado por Matlab en un archivo con extensión “.fig”, se vincula a un archivo con extensión “.m” con el mismo nombre, en el cual se debe implementar el código relacionado a cada uno de los controles de la interfaz. Utilizando las herramientas del entorno de Matlab se puede depurar y ejecutar la aplicación.

### 1.3.2 Creación de aplicaciones ejecutables

Cuando se tiene una interfaz de usuario totalmente operativa se ve necesario crear un archivo que sea ejecutable en cualquier ordenador independientemente de si tiene o no instalado Matlab. Para la creación de ejecutables Matlab cuenta con la herramienta *Deploytool* cuyo entorno se muestra en la figura 12.



**Figura 12. Entorno herramienta Deploytool**

Para abrir la herramienta Deploytool se ejecuta desde la consola de Matlab el comando “deploytool”, para crear el ejecutable se selecciona el archivo “.m” correspondiente utilizando la opción “add main file”, se introducen los datos en los campos que describen la aplicación, se selecciona la opción “Runtime included in package” y se le da click a la opción “package”. Al culminar el proceso la herramienta abrirá una carpeta con el ejecutable creado.

## 1.4 ESTADO DEL ARTE

A continuación, se mencionarán algunos trabajos nacionales e internacionales relacionados con la detección de pesticidas en alimentos utilizando técnicas cromatográficas con diferentes detectores.

### 1.4.1 Trabajos nacionales

#### **Residuos de plaguicidas en tomate (*Solanum lycopersium*) comercializado en Armenia, Colombia**

Autores: Alejandro Garcia Rios, Cristian Camilo Rodriguez Vidal, Esteban Restrepo Montes, Alberto Sanchez Lopez.

Colombia, Universidad de Antioquia, 2017

En este trabajo se analizan muestras de tomate de diferentes puntos de venta de la ciudad de Armenia utilizando cromatografía de gases y detector uECD, encontrando en la mayoría de muestras presencia de pesticidas restringidos o prohibidos en Colombia. [18]

#### **Identificación de carbamatos en el cultivo de durazno: suelo y fruto producido en pamplona, Colombia**

Autores: Alfonso Quijano, Maghdriel Portilla M, Monica Juliana Quijano V.

Colombia, Universidad de pamplona, 2016

En este trabajo se realiza la identificación de carbofurano en suelo y fruto de durazno en la provincia de Pamplona, utilizando cromatografía de gases y detector de microcaptura de electrones (uECD), encontrando carbofurano en el suelo y no en el fruto. [19]

## **Residuos de pesticidas organofosforados en frutas obtenidas de plaza de mercado y supermercados en Cartagena, Colombia**

Autores: Beatriz E. Jaramillo Colorado, Flor Palacio Herrera, Ingrid Perez Sierra.

Colombia, Universidad de Cartagena, 2016

En este trabajo se presenta un estudio de los residuos de pesticidas organofosforados presentes en mango, guayaba y papaya consumidas en la ciudad de Cartagena de indias, se cualificaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas donde se confirmó la presencia de pesticidas organofosforados. [20]

## **Implementación de la metodología Quechers en el análisis de residuos de plaguicidas en maíz blanco (Zea mays)**

Autores: Martha Paez, Jina Martinez

Colombia, Universidad de Cordoba, 2015

En este trabajo se utiliza cromatografía de gases con detector ECD para evaluar la presencia de pesticidas en maíz blanco logrando niveles mínimos de detección de 10-50 ug/Kg. [21]

## **Presencia de residuos de plaguicidas organoclorados en leche pasteurizada**

Autores: Yolanda Castilla Pinedo, Ivan Dario Mercado Martinez, Mario Alberto Jurado Erazo.

Colombia, Universidad Libre, 2014

En este trabajo se presenta un estudio utilizando la técnica de cromatografía de gases, para la evaluación de presencia de pesticidas organoclorados en leche pasteurizada vendida en la ciudad de Cartagena, encontrando niveles altos de medición. [22]

### **Residuos de plaguicidas en cultivos de pasifloras en regiones altas de alta producción en Colombia**

Autores: Dario A. Bastidas, Jairo A. Guerrero, Kriss Wyckhuys

Colombia, Universidad Nacional de Colombia, Universidad Jorge Tadeo Lozano, 2013

En este trabajo se analizan por el método IAEA-QUECHERS muestras de maracuyá, gurupa y granadilla de los principales municipios productores de Colombia y se observó en algunas muestras la presencia de residuos de plaguicidas que sobrepasan los límites máximos de residuos. [23]

### **Plaguicidas organoclorados en leche de bovinos suplementados con residuos de algodón en san pedro, Colombia, 2010**

Autores: Mariluz Hernandez, Jhon V. Vidal, Jose L. Marrugo

Colombia, Universidad de Sucre, Universidad de Cordoba, 2010.

En este trabajo se tomaron 48 muestras de leche procedente de tres fincas ganaderas, dos de ellas con suplementación alimenticia con semillas y soca de algodón y se les determino la concentración de pesticidas organoclorados empleando cromatografía de gases con detector de microcaptura de electrones (uECD) [24].



## 1.4.2 Trabajos internacionales

### **A fully automated algorithm of baseline correction based on wavelet feature points and segment interpolation**

Autores: Fang Qian, Yihui Wu, Peng Hao

CHINA, Academia china de ciencias, 2017

Se desarrolla una metodología llamada AWFPSI utilizando la transformada wavelet e interpolación de segmentos. [25]

### **Assisted baseline subtraction in complex chromatograms using BEADS algorithm**

Autores:

ESPAÑA, Universidad de Valencia, 2017

Se desarrolla una herramienta de configuración para el método de sustracción de línea base BEADS, la cual mejora inconsistencias y la confiabilidad del método original. [26]

### **Estimating complicated baselines in analytical signals using the iterative training of Bayesian regularized artificial neural networks.**

Autores: Ahmad Mani-Varsosfaderani, Atefeh Kanginejad, Kambiz Gilany, Abolfazl Valadkhani

IRAN, Universidad de Teherán, 2016

Se desarrolla algoritmo llamado iBRANN con una red neuronal basado en el teorema de probabilidad de Bayes previendo la superposición y encontrando una línea base generalizada. Muestra mejores resultados que los métodos CC, MPLS, air PLS y iPF. [27]

## **Simple automatic strategy for background drift correction in chromatographic data analysis.**

Autores: Hai-Yan Fu, He-Dong Li, Yong-Jie Yu, Bing Wang, Peng Lu, Hua-Peng Cui, Ping-Ping Liu, Yuan-Bin She

CHINA, South-central University for nationalities, Zhengzhou Tobacco Research institute, Zhejiang University of technology. 2016

Se desarrolla una estrategia de detección de mínimos locales que son organizados como un nuevo vector de línea base, luego de forma iterativa se optimiza ajustando los outliers los cuales pertenecen a los picos de interés, finalmente el vector de corrección se sustrae de la señal por interpolación lineal para obtener la señal corregida. Mostro mejores resultados que MPLS, Valor mínimo de la ventana móvil y el método de corrección de la deriva de fondo por proyección subespacial ortogonal. [28].

## **Chromatogram baseline estimation and denoising using sparsity (BEADS)**

Autores: Xiaoran Ning, Ivan W. Selesnick, Laurent Duval

FRANCIA, USA, New York University, Paris University, 2014

Modela la corrección de línea base como una señal de baja frecuencia y junto con las derivadas de los picos del cromatograma utiliza un algoritmo iterativo de optimización. Logra mejores resultados que los metodos Backcor y airPLS.

[29]

### **Baseline correction using asymmetrically reweighted penalized least squares smoothing.**

Autores: Sung- June Baek, Aaron Park, Young- Jin Ahn, Jaebum Choo

SOUTH KOREA, Chonnam Nacional University, Hanyang University, 2014

Se desarrolla un método basado en un algoritmo que modifica valores de peso aplicados al cálculo de la corrección utilizando mínimos cuadrados para lograr la respuesta óptima. Logra mejores resultados que los métodos asLS y airPLS. [30]

### **A miniaturized portable instrument for rapid determination pesticides residues in vegetables and fruits, 2015**

Autores: Yemin Guo; Xiaoxu Sun; Xianfu Liu; Xia Sun

Se diseña un detector de pesticidas portátil basado en un biosensor y un circuito detector de señal con un tiempo de análisis de 15 minutos [31]

### **Assessment of organochlorine pesticide residues in Indian flue-cured tobacco with gas chromatography-single quadrupole mass spectrometer, 2014.**

Autores: Ghosh Rakesh Kumar, Khan Zareen S., Rao C. V. N., Banerjee Kaushik, Reddy D. Damodar, Murthy T. G. K, Johnson Nalli, Ray Deb Prasad

Se realiza un estudio de 10 pesticidas en tabaco utilizando la técnica de cromatografía de gases con un espectrómetro de masas como detector [32]

## **Analytical methods for pesticide residues in rice, 2011**

Autores: Pareja Lucía, Fernández-Alba, Cesio Verónica, Heinzen Horacio

Se realiza un estudio de pesticidas en tres tipos de arroz comparando técnicas de cromatografía líquida y gaseosa [33]

## **A multi-residue method for fast determination of 78 pesticides in cranberry extract by gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry with quechers sample preparation, 2011**

Autores: Zhao Jie; Yao Binghua; Huang Jiangrui; Kong Xianghong

Se utiliza la técnica de preparación de muestras QuEChERS, cromatografía de gases y un detector de masas con triple cuadrupolo para analizar 78 pesticidas en fresas [34]

En estos estudios se puede comprobar que son utilizadas diferentes técnicas para la detección de pesticidas en alimentos, sin embargo algunas como la espectroscopia de masas tienen un costo elevado y otras como la utilización de biosensores están aún en etapa de desarrollo, lo cual los hace poco viables para ser implementada en los sistemas de control de calidad de pequeños productores en los cuales solo se requiere mantener la cantidad de pesticida aplicado bajo un valor determinado. En cuanto a los métodos de detección de picos y corrección de línea base de los cromatogramas, se han desarrollado varias técnicas, sin embargo no se encontró ninguna que incluyendo el concepto de barrido y eliminación de ventanas que fue desarrollado.

Se integró la necesidad de desarrollar una plataforma práctica para evaluación de pesticidas en datos cromatográficos con el desarrollo de un método de detección de picos basado en barridos que van suprimiendo ventanas (WSS), lo cual elimina la necesidad de manejar máximos y/o mínimos locales ya siempre es posible encontrar con precisión el máximo de cada pico sin depender de la magnitud del mismo.



La herramienta de detección desarrollada (DETPEST) permite obtener un análisis cualitativo y cuantitativo de pesticidas basado en el archivo del cromatograma generado por el cromatógrafo, utiliza tiempos de retención relativos a picos característicos del mismo alimento, evitando el uso de sustancias marcadoras lo cual baja los costos y también aumenta la tolerancia de variación de las condiciones del cromatógrafo al momento de realizar el análisis. Por lo que para ser implementado en un sistema de control de calidad, dependiendo de las posibilidades del usuario se puede considerar la adquisición de un cromatógrafo con un detector FID, el cual es más económico que un espectrómetro de masas, o contratar un servicio de análisis de muestras en el cual se obtenga un cromatograma por lote de alimento producido y se realice la evaluación de pesticidas por parte del usuario utilizando la herramienta desarrollada.

DQS is member of:



# CAPÍTULO 2:

## METODOLOGÍA

En este capítulo se muestra en detalle el desarrollo del proyecto desde la etapa de caracterización y selección de pesticidas hasta la etapa de validación del sistema.

En la figura 13 se presenta un diagrama general del sistema, el cual consta de un cromatógrafo el cual se usa para tomar los cromatogramas de los patrones de pesticidas y los cromatogramas de las muestras de alimento analizadas, se ingresan en el software desarrollado, el cual incluye un módulo de calibración y un módulo de análisis. El sistema se validó ingresando muestras controladas y se analizaron los resultados arrojados.

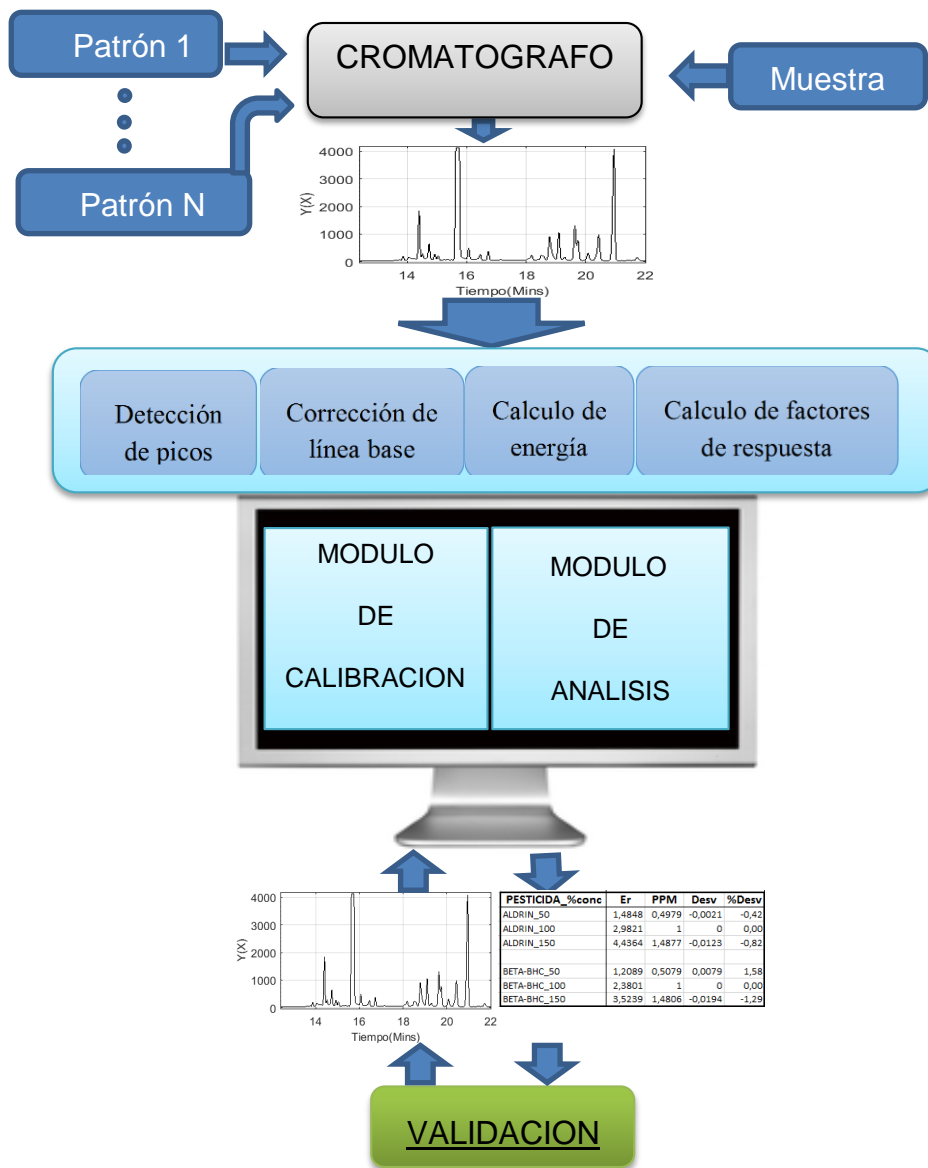


Figura 13. Diagrama general del sistema

## 2.1 DEFINICIÓN DE PROPIEDADES

La necesidad de determinar la cantidad de un pesticida en un alimento a partir de la señal obtenida en el detector del cromatógrafo, requiere evaluar las características de esta señal ante la presencia de cada uno de los pesticidas.

Como se mencionó en el capítulo 2 el detector del cromatógrafo aumenta su señal al llegar cada uno de los componentes de la muestra sin hacer ninguna discriminación entre ellos; Por lo que su identificación se basa en la característica principal de las técnicas cromatográficas que es separar los componentes mediante la columna e identificarlos al determinar el tiempo de retención de cada uno de ellos.

Las propiedades a tener en cuenta para cada uno de los pesticidas fueron:

- **Tiempo de retención:** tiempo que toma el detector en medir el pico máximo de cada pesticida después de haber sido inyectada la muestra.
- **Tiempo inicial de integración:** tiempo en el que el detector comienza a variar su señal a causa de la llegada del pesticida
- **Tiempo final de integración:** tiempo en el que la señal del detector termina de ser afectada por el pesticida
- **Energía:** Es la cuantificación de la intensidad de la señal medida al paso del pesticida en el detector que será utilizada en el análisis cuantitativo al relacionarlo con la concentración del pesticida en la muestra. Esta es medida como el área bajo el pico de señal de cada componente.
- **Concentración:** Es la cantidad de pesticida que contiene la muestra analizada por unidad de peso de muestra.

Se debe tener en cuenta que estas propiedades dependen de las características de la columna utilizada, los flujos y las temperaturas configuradas en el cromatógrafo, por lo que se deben mantener estable la



configuración del cromatógrafo después de obtener las propiedades mencionadas para cada uno de los pesticidas.

Teniendo en cuenta el grado de toxicidad y uso en la industria alimenticia, los pesticidas seleccionados para la evaluación del sistema fueron ALDRIN, BETA-BHC, DELTA-BHC, ENDOSULFAN, ENDRIN, GAMMA, HEPTACHLOR.

## 2.2 NORMATIVIDAD VIGENTE

Se deben obtener las propiedades para cada pesticida teniendo en cuenta los contenidos de cada uno de ellos que generalmente podrían ser encontrados en las muestras de alimentos que serán analizadas, por lo que se buscó en la normatividad vigente los valores máximos permisibles de cada pesticida evaluado para varios alimentos. La tabla 1 presenta algunos de estos valores:

PESTICIDA	CAS No	IDHL
ALDRIN	309-00-2	25 mg/m <sup>3</sup>
BETA-BHC	72-20-8	2 mg/m <sup>3</sup>
DELTA-BHC	76-44-8	35 mg/m <sup>3</sup>
ENDOSULFAN	58-89-9	50mg/m <sup>3</sup>

**Tabla 1. Valores máximos permisibles de pesticidas en alimentos**

Obtener las propiedades de cada uno de los pesticidas trabajando con concentraciones dentro de estos rangos permite tener una calibración más exacta.

## 2.3 OBTENCIÓN DE DATOS

### 2.3.1 Clasificación de patrones

La clasificación de los patrones se realizó por tipos de análisis con base a los parámetros que son ajustados por el usuario, cada tipo de análisis definido permite ajustar los siguientes parámetros:

- **Tiempo de análisis ( $T_a$ ):** Es el tiempo total de duración del cromatograma el cual depende del método utilizado en el cromatógrafo y es medido en minutos.
- **Tiempo de muestreo ( $T_m$ ):** Es el tiempo mínimo entre muestra y muestra, este tiempo depende de las características de la tarjeta amplificadora del detector.
- **Altura mínima de pico (HMIN):** Es la altura mínima que debe tener un pico en el cromatograma para ser considerado valido.
- **Picos de referencia ( $P_{ref_a}$ ) y ( $P_{ref_b}$ ):** Son los picos del cromatograma del alimento, que se toma como referencia para calcular los tiempos de retención relativos de los demás picos. Se deben elegir picos muy característicos del alimento, generalmente los de mayor altura. También es posible utilizar como picos de referencia lo de dos sustancias conocidas utilizadas como marcadores.

Por cada tipo definido el sistema va creando un cromatograma general de patrones a medida que se van incluyendo más patrones, el cual es utilizado en el análisis cualitativo y cuantitativo solo de muestras del mismo tipo como se muestra en la figura 14.

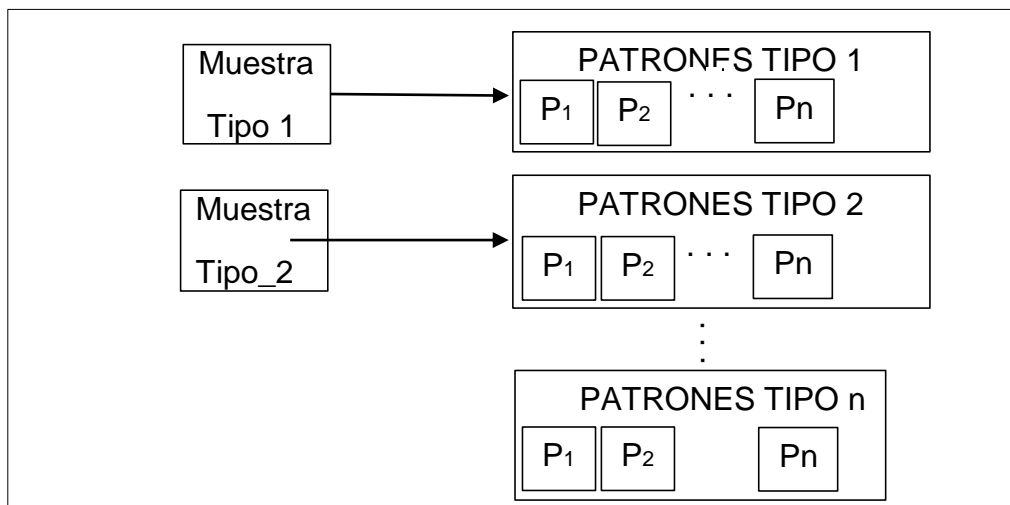


Figura 14. Clasificación por tipo de análisis

Inicialmente se crearon dos tipos de análisis llamados PAPA y PIÑA.

### 2.3.2 Cromatogramas patrón

Para la obtención de los cromatogramas patrón de cada uno de los tipos definidos se debe contar con un cromatograma del alimento contaminado con una cantidad conocida del pesticida a detectar, ubicando en el mismo, el pico generado por el pesticida. Esto para cada uno de los pesticidas definidos ALDRIN, BETA-BHC, DELTA-BHC, DELTA-BHC, ENDOSULFAN, ENDRIN, GAMMA y para cada uno de los tipos definido.

## 2.4 TRATAMIENTO DE LAS SEÑALES

Generalmente se requiere de un acondicionamiento inicial de la señal para poder realizar análisis sobre ella, sin embargo en este proceso se modifica la señal original perdiendo información que puede ser valiosa. Para analizar la señal con la mínima afectación se implementó una metodología para detectar los picos y seguidamente se realiza una corrección de la línea base.

### 2.4.1 Detección de picos:

La detección de picos se realizó utilizando una metodología basada en barridos verticales del cromatograma, evaluando si el pico máximo detectado es válido para ser guardado o inválido para desecharlo, en ambos casos suprimiendo las ventanas de tiempo del pico detectado, continuando los barridos hasta eliminar todo el cromatograma. El método que se llamó barrido supresor de ventanas (WSS: Windows Suppressor Scanning) se explica a continuación:

Definiendo la señal discreta original entregada por el cromatógrafo mostrada en la figura 15 como  $Y(X)$ , se define inicialmente:

$$Y_s(X) = Y(X) \quad (12)$$

Donde  $Y_s(X)$  es la señal a la cual se le irán suprimiendo ventanas de tiempo.

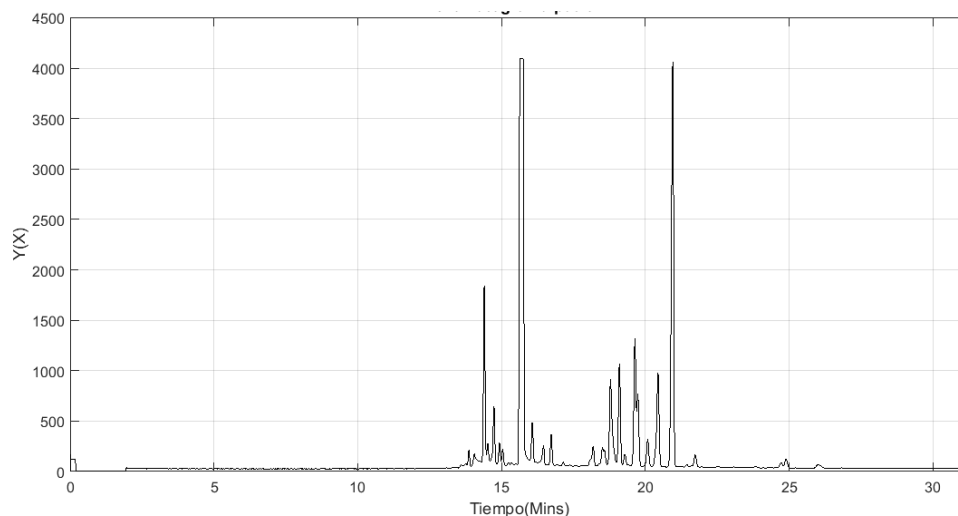
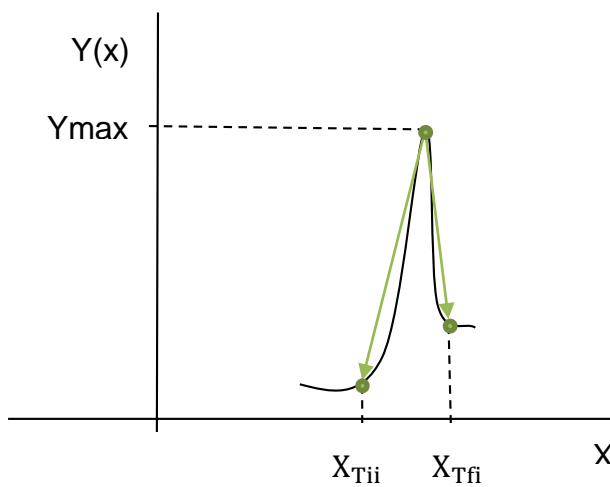


Figura 15. Señal obtenida en el cromatógrafo,  $Y(X)$

Luego se halla  $Y_{max}$  que es el máximo valor de  $Y_s(X)$ , su ubicación  $X_{max}$  y se verifica si cumple la condición:

$$Y_s(X_{max}) > H_{min} \quad (13)$$

Dónde  $H_{min}$  es la altura mínima de los picos válidos configurada por el usuario



**Figura 16. Determinación de tiempos de integración.**

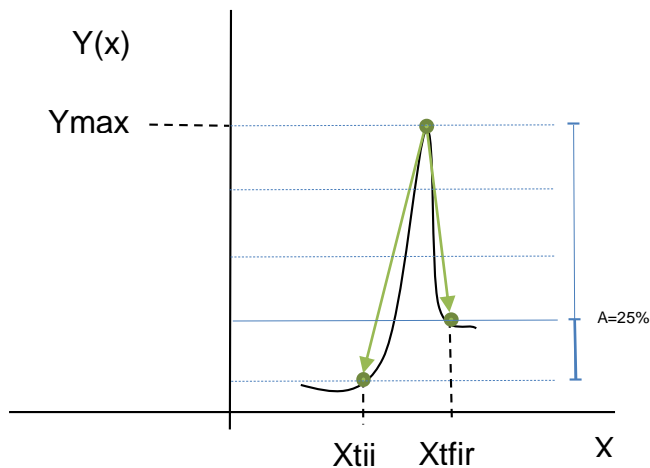
Luego, realizando un desplazamiento desde  $X_{max}$  hacia cada uno de sus dos extremos (derecha e izquierda) como lo muestra la figura 16, se buscan valles en la señal para estimar los tiempos de integración del pico. Así para estimar el tiempo inicial de integración ( $T_{ii}$ ) se busca hacia la izquierda un valor  $X_{Tii}$  tal que:

$$Y_s(X_{Tii} - 1) > Y_s(X_{Tii}) \leq Y_s(X_{Tii} + 1) \quad (14)$$

Y además:

$$100 * \frac{|Y_s(X_{Tii}) - Y_s(X)|}{|Y_s(X_{Tfi}) - Y_{max}|} < A \quad (15)$$

Donde  $A$  es la asimetría máxima de un pico valido configurada por el usuario.  
 La figura 17 muestra un pico con una asimetría de 25%.



**Figura 17. Porcentaje de asimetría de picos.**

Por lo que:

$$T_{ii} = X_{Tii} * T_m \quad (16)$$

Donde  $T_m$  es el tiempo de muestreo configurado por el usuario en base al cromatógrafo utilizado.

Complementariamente para estimar el tiempo final de integración  $T_{fi}$  se busca hacia la derecha un valor tal que:

$$Y_s(X_{Tfi} - 1) \geq Y_s(X_{Tfi}) < Y_s(X_{Tfi} + 1) \quad (17)$$

Por lo que:

$$T_{fi} = X_{Tfi} * T_m \quad (18)$$

Si el pico encontrado cumple las condiciones de altura ( $H_{min}$ ) y asimetría ( $A$ ), es un pico valido y es guardado en la función  $P(X)$ :

$$P(X) = Y(X) / \frac{X_{Tfi}}{X_{Tii}} \quad (19)$$

Adicionalmente se suprime la ventana de tiempo correspondiente al pico encontrado:

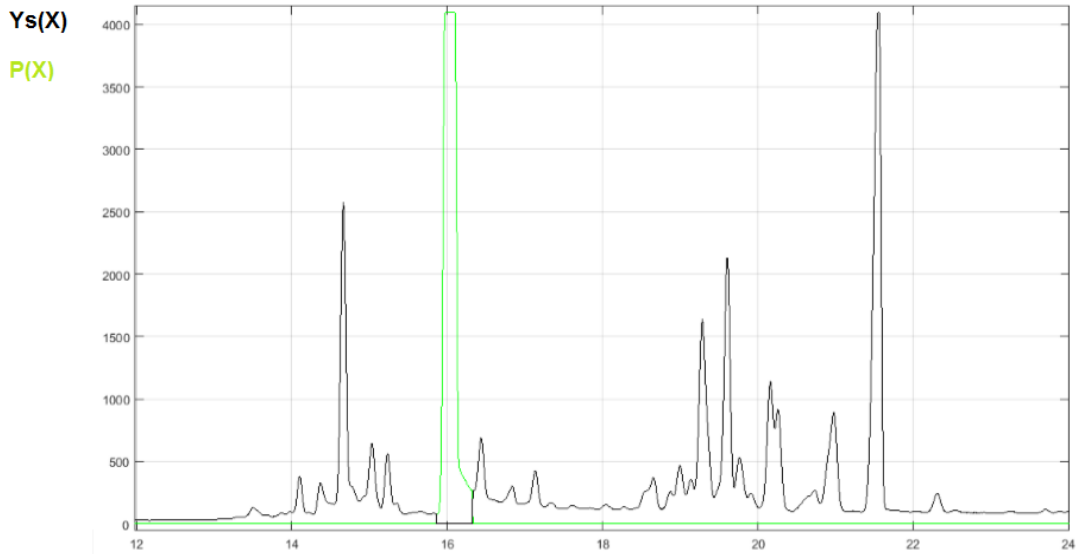
$$Y_s(X) / \frac{X_{Tfi}}{X_{Tii}} = -1.23456789 \quad (20)$$

Donde -1.123456789 es el valor marcador que identifica las ventanas que ya fueron suprimidas.

Si el pico encontrado no cumple las condiciones de altura ( $Hmin$ ) y asimetría ( $A$ ), es un pico invalido y no se guarda sino que solamente se suprime su ventana de tiempo:

$$Y_s(X) / \frac{X_{Tfi}}{X_{Tii}} = -1.23456789 \quad (21)$$

En la figura 18 en verde se muestra el primer pico detectado de la señal  $Y(X)$ , y en negro se muestra la señal  $Y_s(X)$  donde se puede evidenciar la supresión de la ventana de tiempo bajo el pico valido detectado, esto es que el valor de la señal se hace igual a -1.23456789 desde el tiempo inicial hasta el tiempo final del pico indicando que ya hubo una supresión.



**Figura 18. Primer pico valido y su respectiva ventana suprimida**

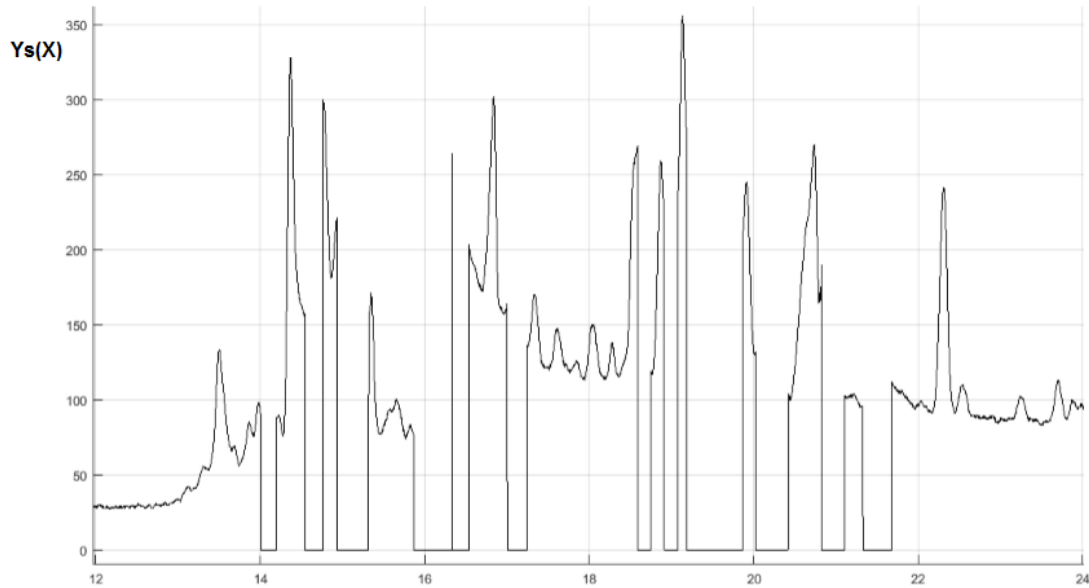
Se inicia un nuevo barrido identificando el nuevo valor  $Y_{max}$  de  $Y_s(X)$ . Este procedimiento se repite hasta obtener una de las siguientes condiciones:

$$Y_s(X)/_1^N = -1.23456789 \quad (22)$$

$$Y_s(X_{max}) < H_{min} \quad (23)$$

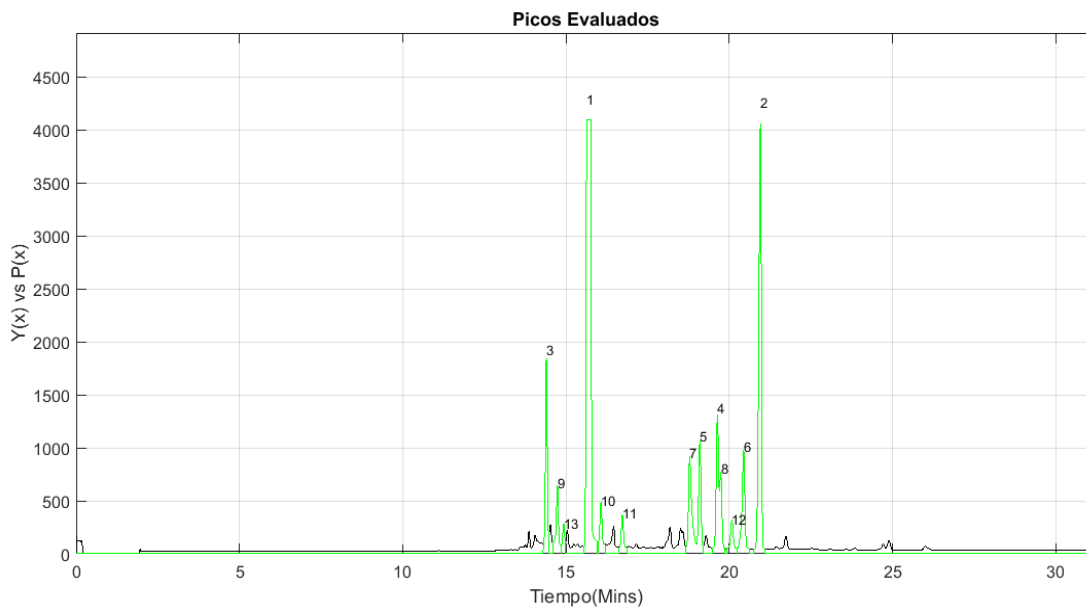
En la figura 19 se muestra la señal  $Y_s(X)$  luego de parar la detección de picos por no cumplir la condición de la ecuación 17, por lo que ya  $Y_s(X)$  se considera ruido y es desechada.





**Figura 19.  $Y_s(X)$  al detener el barrido por cumplir la condición  $Y_s(X_{max}) < H_{min}$**

En  $P(X)$  quedan los picos validos detectados. Sin embargo como lo muestra la figura 20, presentan deformaciones en su base que son dependientes de las variaciones de la línea base del detector.



**Figura 20. Picos validos detectados.**

Se encontró que en algunos casos en los que el pico característico de un patrón no es bien definido en la parte superior y se estabiliza por un momento la señal del detector, se pueden llegar a detectar valles inválidos que harían encontrar unos tiempos de integración errados.

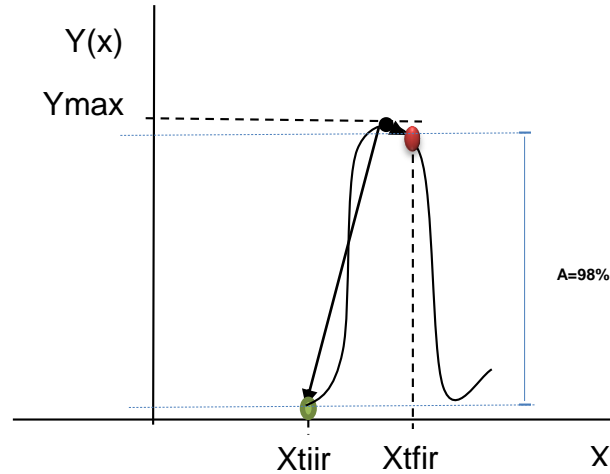


Figura 21. Valle invalido detectado por valor de A muy grande

Para evitar este inconveniente se debe ajustar correctamente el parámetro de asimetría  $A$ , de tal forma que sea lo suficientemente grande para que tolere picos con su línea base inclinada pero no tan grande para que tome valles presentes en la parte superior del pico y como lo muestra la figura 21 en la cual un valle es detectado en la parte superior del pico y como la asimetría máxima aceptada es 98%, el pico es tomado como válido y se estima un valor errado para el tiempo final de integración ( $X_{tfir}$ ).

## 2.4.2 Corrección de línea base:

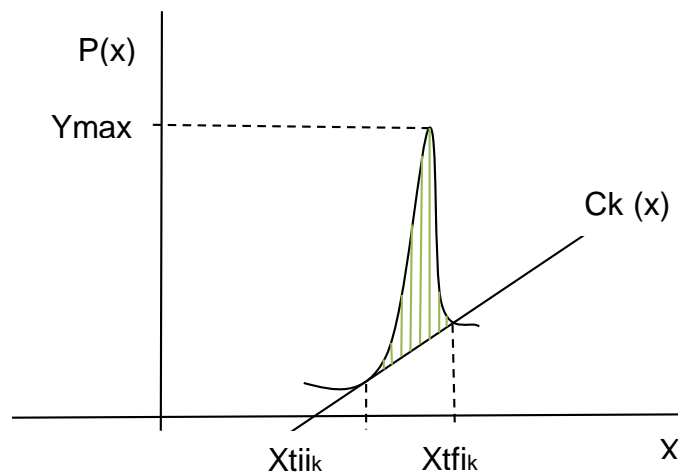


Figura 22. Corrección de línea base.

Para la corrección de línea base de cada pico se encuentra inicialmente la función  $C_k(X)$  mostrada en la figura 22, que es una línea recta que pasa por los puntos  $(X_{Tii_k}, P(X_{Tii_k}))$  y  $(X_{Tfi_k}, P(X_{Tfi_k}))$  por lo que:

$$m_k = \frac{Y(X_{Tfi_k}) - Y(X_{Tii_k})}{X_{Tfi_k} - X_{Tii_k}} \quad (24)$$

$$b_k = Y(X_{Tii_k}) - m_k * X_{Tii_k} \quad (25)$$

Donde:

- $m_k$ : Es la pendiente de la recta de corrección de línea base para el pico numero k
- $b_k$ : Es el término constante de la ecuación de la recta de corrección.

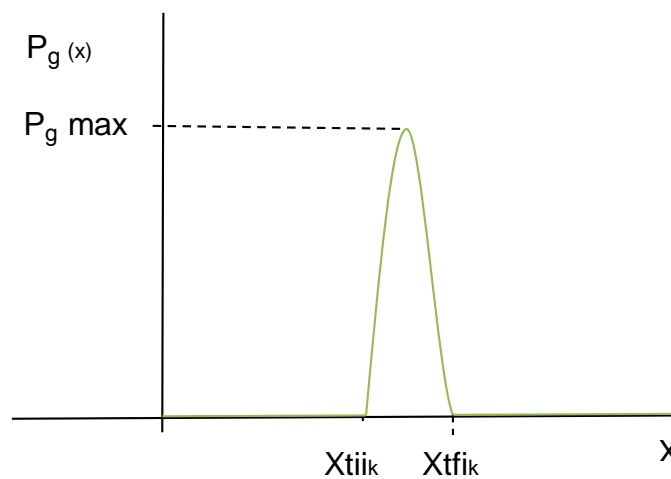
Quedando definida la función de la línea de corrección del pico  $k$  como:

$$C_k(X) = m_k * X + b_k \quad (26)$$

Luego se aplica la corrección a la señal  $P(x)$  para todos los picos:

$$P_g(x) / X_{Tf i_k} = P(x) / X_{Tf i_k} - C(x) / X_{Tf i_k} \quad (27)$$

Donde  $P_g(x)$  es la señal que contiene todos los picos validos ya corregidos. En la figura 23 se muestra uno de los picos de la señal ya corregido.



**Figura 23. Pico ya corregido de la señal  $P_g(X)$**

Igualmente se integran todas las líneas  $C_k(X)$  de corrección en una sola función para todos los picos  $k$ .

$$C(x) / X_{Tf i_k} = C_k(x) / X_{Tf i_k} \quad (28)$$

Dependiendo de la forma específica del pico, se encontró que en algunos casos como el mostrado en la figura 24, la pendiente de la línea  $C_k(X)$  es lo suficientemente elevada para generar algunos valores negativos en la señal  $P_g(X)$ , los cuales afectarían el cálculo de energía del pico convirtiéndose en un componente de error para la medición, por lo que se estableció un

procedimiento para eliminar estos valores negativos y hallar unos tiempos de integración corregidos.

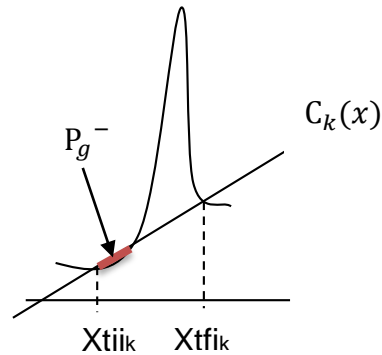


Figura 24. Origen de los valores  $P_g(X)$  negativos

### 2.4.3 Tiempos de integración corregidos:

Para la corrección del  $X_{Tfi}$  del pico  $k$  de la función  $P_g(X)$ , se evalúa:

$$C_k(X) / X_{max_k}^{X_{Tfi_k}} \quad (29)$$

En busca de un valor tal que:

$$C(X_e) > Y(X_e) \quad (30)$$

Al encontrarlo se establece que:

$$X_{Tfic} = X_e - 1 \quad (31)$$

$$P_g(X) / X_e^{X_{Tfi}} = 0 \quad (32)$$

Para la corrección del  $X_{Tii}$  del pico  $k$  de la función  $P_g(X)$ , se evalúa:

$$C_k(X) / X_{maxk}^{X_{Tii_k}} \quad (33)$$

Se busca de un valor  $X_e$  tal que:

$$C(X_e) > Y(X_e) \quad (34)$$

Al encontrarlo se establece que:

$$X_{Tii_c} = X_e + 1 \quad (35)$$

$$P_g(X) / X_{Tii}^{X_e} = 0 \quad (36)$$

#### 2.4.4 Tiempos de retención

Los tiempos de retención de cada uno de los picos  $k$  encontrados se hallan como:

$$X_{Tr_k} = \max( P_g(X) / X_{Tii_c_k}^{X_{Tii_c_k}} ) \quad (37)$$

$$T_{r_k} = X_{Tr_k} * T_m \quad (38)$$

## 2.5 CALIBRACIÓN DE PATRONES

La calibración se realiza tomando un cromatograma de una muestra del alimento de análisis contaminado con una cantidad conocida de pesticida, se le realiza la detección de picos, identificando el número de pico del pesticida patrón, se determinan sus tiempos de integración y el tiempo de retención relativo y se calcula su energía y su factor de respuesta  $R_f$ .

## 2.5.1 Identificación del pico del patrón

El pico del patrón a calibrar se identifica al correr una muestra del alimento solo y otra muestra del alimento contaminado con una cantidad conocida del patrón y se identifica el nuevo pico en el cromatograma de éste último. La figura 25 muestra por ejemplo un cromatograma de una muestra de papa sin contaminar y la figura 26 muestra el cromatograma de la muestra contaminada en la cual se identifica el nuevo pico el cual corresponde al pico del pesticida patrón.

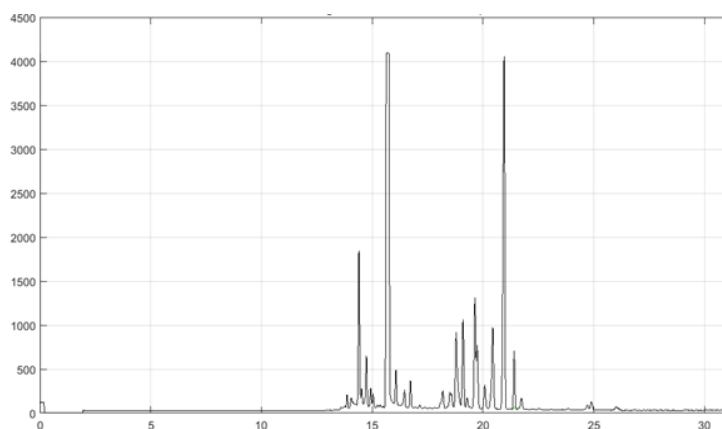


Figura 25. Muestra de papa sin contaminar



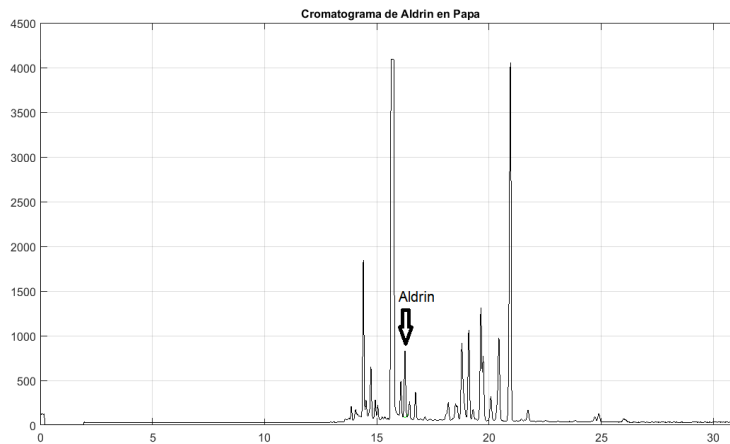


Figura 26. Nuevo pico hallado en la muestra

Al ejecutar el procedimiento de detección de picos indicándole el número de pico del patrón, se genera la señal del pico patrón  $n$  llamada  $P_{pn}(X)$  y definida:

$$P_{pn}(X) = P_{gn}(X) / \frac{X_{tficn}}{X_{tiicn}} \quad (39)$$

Donde  $n$  es el número de patrón calibrado.

### 2.5.2 Tiempos de retención relativos

Teniendo en cuenta que los tiempos de retención tienen leves variaciones de un análisis a otro para una misma muestra, éstos se calculan de forma relativa a dos picos de referencia característicos del alimento de análisis que son definidos por el usuario en base a su experiencia, estos picos son:

- $P_{refa}$ : Utilizado para corregir el desplazamiento del cromatograma.
- $P_{refb}$ : Utilizado para corregir la compresión o expansión del cromatograma.

Para corregir el error de desplazamiento se definió  $Tr_a$  como el tiempo de retención de  $P_{ref_a}$ , por lo que el tiempo de retención corregido de un componente sería:

$$T'r = Tr - Tr_a \quad (40)$$

Para corregir el error de compresión o expansión se definió  $Tr_b$  como el tiempo de retención de  $P_{ref_b}$  por lo que:

$$T'r_b = Tr_b - Tr_a \quad (41)$$

Luego se calcula el tiempo de retención relativa del componente como:

$$T'rr = \frac{T'r}{T'r_b} \quad (42)$$

### 2.5.3 Energía del patrón

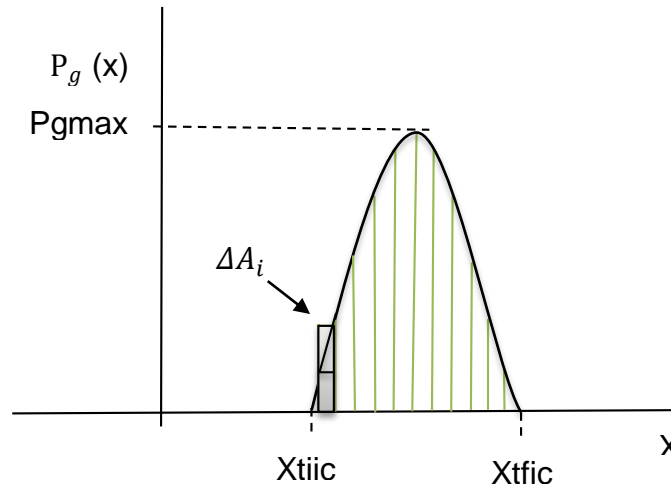


Figura 27. Cálculo de energía

El cálculo de energía del pico se realizó hallando la sumatoria de los segmentos de área mostrados en la figura 27 así:

$$E_p = \sum_{i=1}^{N-1} (\Delta A_i) \quad (43)$$

Donde  $\Delta A_i$  se calcula teniendo en cuenta si la pendiente superior del segmento es positiva o negativa, por lo que si  $P_g(X + 1) > P_g(X)$ , entonces:

$$\Delta A_i = T_m * P_g(X - 1) + \frac{P_g(X) - P_g(X-1)}{2} \quad (44)$$

Por otro lado si  $P_g(X + 1) < P_g(X)$ , entonces:

$$\Delta A_i = T_m * P_g(X) + \frac{P_g(X-1) - P_g(X)}{2} \quad (45)$$

#### 2.5.4 Energía relativa del patrón

La energía relativa del patrón se calcula en relación a la energía total del cromatograma, la cual es:

$$E_T = \sum_{i=1}^{P_e} E_i \quad (46)$$

Donde:

- $P_e$  : Es el número de picos encontrados en el cromatograma
- $E_i$ : Es la energía de cada pico detectado

Por lo que la energía relativa del pico del patrón se calcula como:

$$E_{rp} = \frac{100 * E_p}{E_T} \quad (47)$$

Este cálculo de energía relativa se realiza considerando que se utilizó una muestra de alimento que no contiene otros contaminantes, sin embargo, no siempre es posible contar con estas muestras totalmente limpias, por lo que se adaptó el software a esta condición, haciendo inicialmente un análisis del cromatograma patrón en busca de los pesticidas que han sido calibrados en el sistema hasta el momento cuando es ejecutada una calibración, esto con el fin de recalcular la energía total de la ecuación 37 que fue utilizada como referencia descontando la energía aportada por los picos de pesticidas

detectados ya que no serían picos propios del alimento, por lo que la energía total corregida sería:

$$E_{T_c} = \sum_{i=1}^{i=Pe} E_i - \sum_{i=1}^{i=N_p} E_{pi} \quad (48)$$

Donde:

- $N_p$ : Es el número de picos de pesticidas detectados en el análisis
- $E_{pi}$ : Es la energía del pico del pesticida detectado
- $Pe$ : Es el total de picos encontrados.

Y la energía relativa sería:

$$E_{rp} = \frac{100 \cdot E_p}{E_{T_c}} \quad (49)$$

### 2.5.5 Factor de respuesta (Rf)

Al tener los valores de los tiempos y energías de cada patrón es posible obtener los factores de calibración para cada pesticida, los cuales son utilizados en el análisis cuantitativo para calcular la cantidad de pesticida en la muestra analizada.

Asumiendo un comportamiento lineal en la respuesta del detector con respecto a la concentración del pesticida en la muestra:

$$R_f = \frac{E_{rp}}{C_p} \quad (50)$$

Donde:

- $C_p$  : Es la concentración del patrón;
- $E_{rp}$ : Es la energía relativa del patrón.

### 2.5.6 Actualización de calibraciones

Cuando se calibra el sistema para un nuevo pesticida, es posible que hubiese estado presente en los cromatogramas patrón de las calibraciones de los demás pesticidas ya calibrados, influyendo en el cálculo de energía relativa. Por lo que se incluyó una herramienta de actualización de calibraciones.

Se recomienda realizar la actualización de las calibraciones cada vez que se calibra un nuevo pesticida. Al ejecutarla se realiza automáticamente todo el proceso de calibración para cada pesticida, analizando previamente sus cromatogramas para detectar la posible presencia de los pesticidas calibrados hasta el momento en el sistema y recalculando la energía total como:

$$E_T = \sum_{i=1}^{i=Pe} E_i - \sum_{i=1}^{i=Np} E_{pi} \quad (51)$$

Donde:

- $N_p$ : Es el número de picos de pesticidas detectados
- $E_{pi}$ : Es la energía del pico del pesticida detectado.
- $Pe$ : Es el total de picos encontrados.

A continuación se calcula la energía relativa de cada pesticida:

$$E_{ri} = \frac{100 * E_{pi}}{E_T} \quad (52)$$

Y se halla y actualizan sus nuevos valores de  $R_f$ :

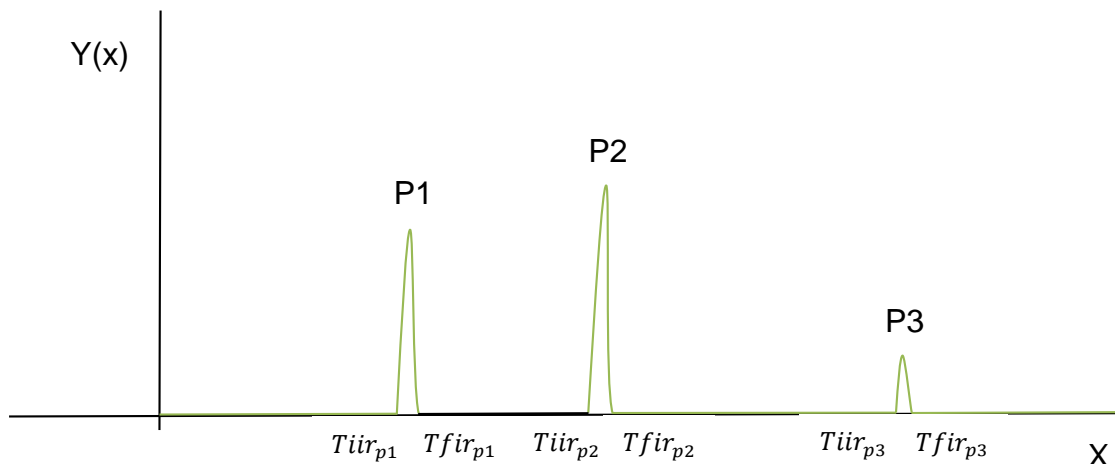
$$R_{fi} = \frac{E_{rpi}}{C_p} \quad (53)$$

## 2.5.7 Cromatograma general de patrones

Teniendo en cuenta que el pico generado por cada patrón posee una ventana de tiempo característico y el resto es cero, un cromatograma general de patrones se genera integrando todos los picos de los patrones calibrados para cada tipo así:

$$CG_t(X) = P_{g_1}(X) / \frac{X_{Tfic_1}}{X_{Tüic_1}} + P_{g_2}(X) / \frac{X_{Tfic_2}}{X_{Tüic_2}} + \dots + P_{g_n}(X) / \frac{X_{Tfic_n}}{X_{Tüic_n}} \quad (54)$$

En la figura 28 se presenta un cromatograma general el cual contiene tres patrones calibrados.



**Figura 28. Cromatograma general de patrones**

Luego de aplicar la ecuación 46, se obtiene para cada tipo de análisis un cronograma general de patrones como el mostrado en la figura 28, el cual es la base del análisis cualitativo.

## 2.6 ANÁLISIS DE MUESTRAS

El procedimiento de análisis de las muestras se realiza partiendo de que ya se ha calibrado al menos un patrón, el cual va a ser detectado y cuantificado en la muestra a analizar.



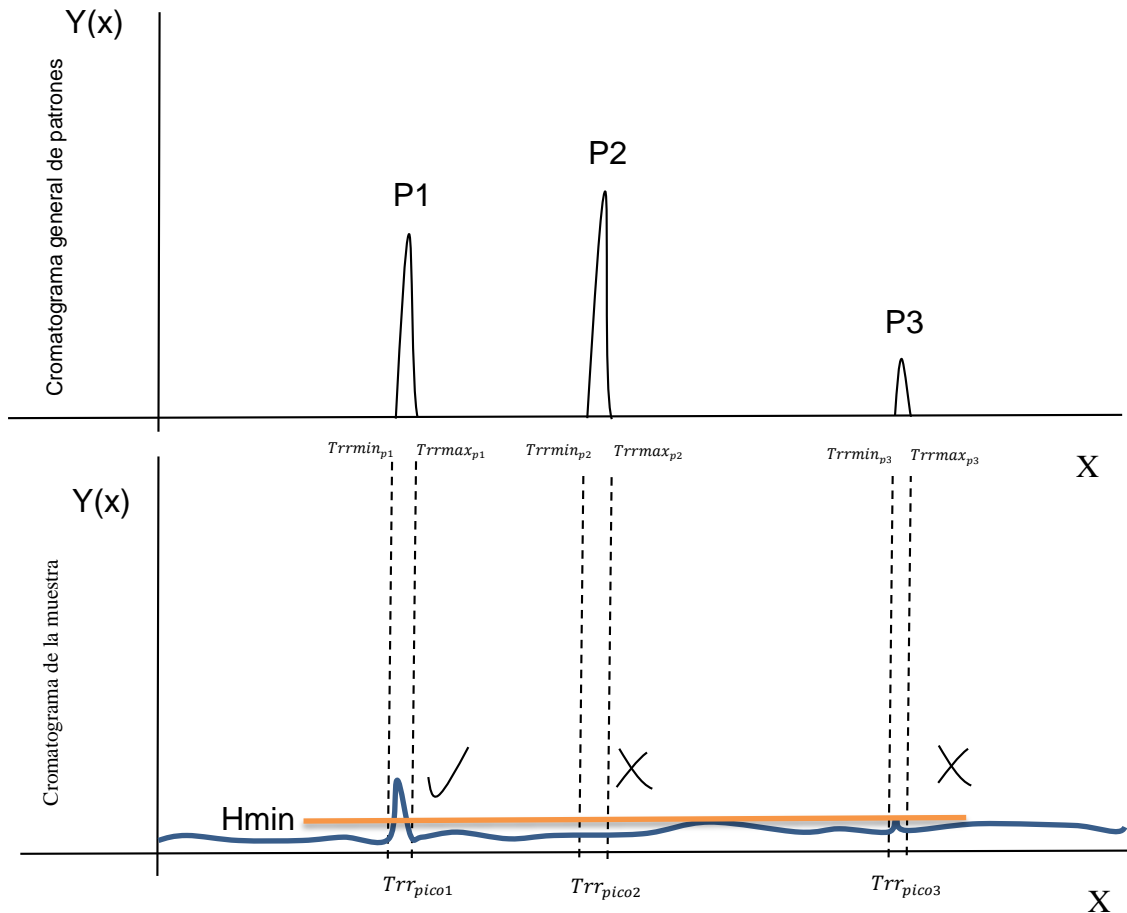
Para el proceso de análisis de la muestra, previamente se aplica a su cromatograma las mismas técnicas de detección de picos, corrección de línea base, estimación de tiempos y cálculo de energías, vistas en el proceso de calibración de patrones.

### 2.6.1 Clasificación de muestras:

Al igual que lo patrones las muestras deben ser clasificadas por el tipo de análisis teniendo en cuenta los mismos parámetros que la clasificación de patrones.

### 2.6.2 Análisis cualitativo de pesticidas

La evaluación cualitativa se realiza en base al cromatograma general de patrones que se tiene almacenado para cada tipo de análisis, tomando el tiempo de retención relativo de cada uno de los picos detectados en la muestra y evaluando si la ventana de tiempos de retención relativo de alguno de los patrones lo contiene, confirmando así la presencia del pesticida en la muestra.



**Figura 29. Análisis cualitativo de pesticidas**

Según la figura 29 se supone presencia del pesticida identificado como  $P_1$  si se detecta un pico cuyo máximo supera el valor de pico mínimo establecido  $H_{min}$  y también si:

$$T_{rrmin_{p1}} < T_{rr_{pico1}} < T_{rrmax_{p1}} \quad (55)$$



Donde:

- $T_{rrpico1}$  : Es el tiempo de retención relativo del pico 1
- $T_{rrminp1}$  : Es el tiempo de retención relativo mínimo del patrón 1
- $T_{rrmaxp1}$ : Es el tiempo de retención relativo máximo del patrón 1.

### 2.6.3 Análisis cuantitativo de pesticidas

Luego de realizar el análisis cualitativo, ya se conoce cuáles de los pesticidas calibrados en el sistema se encuentran en la muestra analizada; Por lo que se calcula la energía relativa de cada uno haciendo cero la energía generada por los demás pesticidas detectados en la muestra. Por ejemplo la energía total de referencia para el patrón ALDRIN se calcula como:

$$E_T = \sum_{i=1}^{i=Pe} E_i - \sum_{i=1}^{i=Np} E_{pi} \quad (56)$$

Donde:

- $N_p$ : Número de picos de pesticidas detectados en el análisis
- $E_{pi}$ : Energía del pico de cada pesticida detectado
- $Pe$ : Total de picos encontrados en la muestra
- $E_i$ : Energía de cada pico encontrado.

Se calcula la energía del ALDRIN con la ecuación 46, por lo que la energía relativa sería:

$$E_{r\_aldrin} = \frac{100 * E_{aldrin}}{E_T} \quad (57)$$

Y la concentración del pesticida ALDRIN en la muestra se calcula como:

$$PPM_{aldrin} = R_{f\_aldrin} * E_{r\_aldrin} \quad (58)$$

## 2.7 INTERFAZ GRÁFICA

Para la implementación del sistema se diseñó una interfaz gráfica llamada DETPEST (Detector de pesticidas) utilizando la herramienta Guide de Matlab y se creó el respectivo ejecutable. La interfaz mostrada en la figura 30 contiene el visor de cromatogramas, el módulo de calibración y el módulo de análisis y un módulo de gestión de tipos de análisis, cada uno de los cuales permite el ingreso de los parámetros necesarios para su funcionamiento permitiendo calibrar el sistema con los patrones seleccionados por el usuario y de analizar las muestras de alimentos para evaluar el contenido de los patrones calibrados en las mismas.

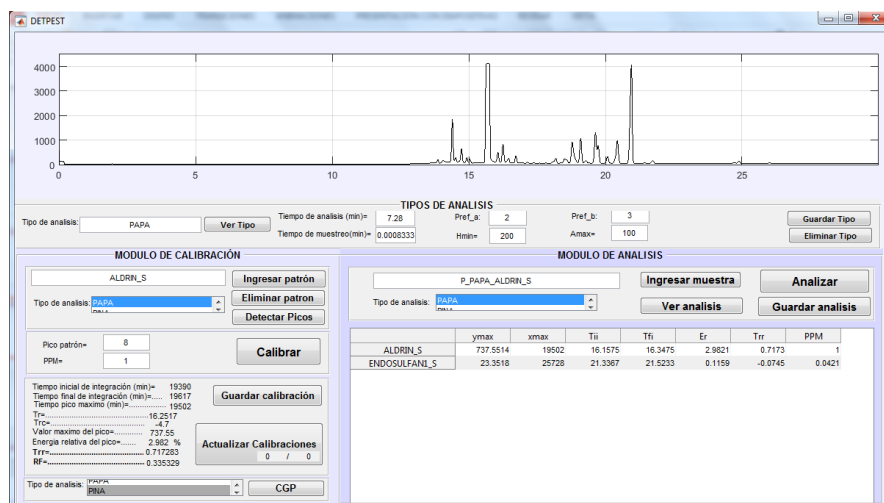


Figura 30. Interfaz gráfica DETPEST

### 2.7.1 Módulo de gestión de tipos de análisis

En este módulo mostrado en la figura 31, se pueden ver y cambiar los valores para cada uno de los parámetros de cada tipo de análisis y crear nuevos tipos de análisis que el usuario defina. El procedimiento en cada caso es el siguiente:

TIPOS DE ANALISIS	
Tipo de analisis: <NOMBRE TIPO>	Ver Tipo
Tiempo de analisis (min)= 7.28	Pref_a: 2
Tiempo de muestreo(min)= 0.0008333	Hmin= 200
	Pref_b: 3
	HPV= 100
	Dmax= 40000
	Guardar Tipo
	Eliminar Tipo

**Figura 31. Gestión de tipos de análisis**

### 2.7.1.1 Ver tipo de análisis

Para ver los parámetros establecidos para un tipo de análisis guardado en el sistema:

- Introducir el nombre del tipo de análisis
- Oprimir el botón “Ver tipo”.

### 2.7.1.2 Modificar tipo de análisis

Para modificar los parámetros establecidos para un tipo de análisis guardado en el sistema:

- Introducir el nombre del tipo de análisis Oprimir el botón “Ver tipo”.
- Modificar el valor deseado.
- Oprimir el botón “guardar tipo”

### 2.7.1.3 Crear nuevo tipo de análisis

Para crear un nuevo tipo de análisis en el sistema:

- Introducir el nombre del nuevo tipo de análisis
- Introducir los valores de los parámetros para el tipo de análisis
- Oprimir el botón “guardar tipo”

## 2.7.2 Módulo de calibración

El módulo de calibración presentado en la figura 32, permite hacer la gestión de patrones del sistema, en el cual se pueden ingresar uno a uno los patrones a calibrar, realizar el proceso de calibración, guardar las calibraciones, actualizar la calibración para un patrón determinado, eliminar patrones que ya

no sean utilizados, visualizar el cromatograma general de pesticidas para cada tipo de patrón.

Figura 32. Módulo de calibración

### 2.7.2.1 Ingresar patrón

Para ingresar un cromatograma patrón se debe previamente indicar el tipo de análisis y guardar el archivo en la carpeta de trabajo del software, conteniendo Nx1 datos y siendo nombrado como: P\_<tipo de analisis>\_<patron>.txt.

### 2.7.2.2 Eliminar Patrón

Para eliminar del sistema un patrón que ya no esté siendo utilizado se debe seleccionar el tipo de análisis y oprimir el botón “Eliminar Patrón”.

### 2.7.2.3 Detectar picos

Esta función permite tomar el cromatograma ingresado y aplicándole el algoritmo de detección de picos implementado genera el grafico de los picos detectados y la función de corrección de línea base aplicada mostradas en la figura 33.

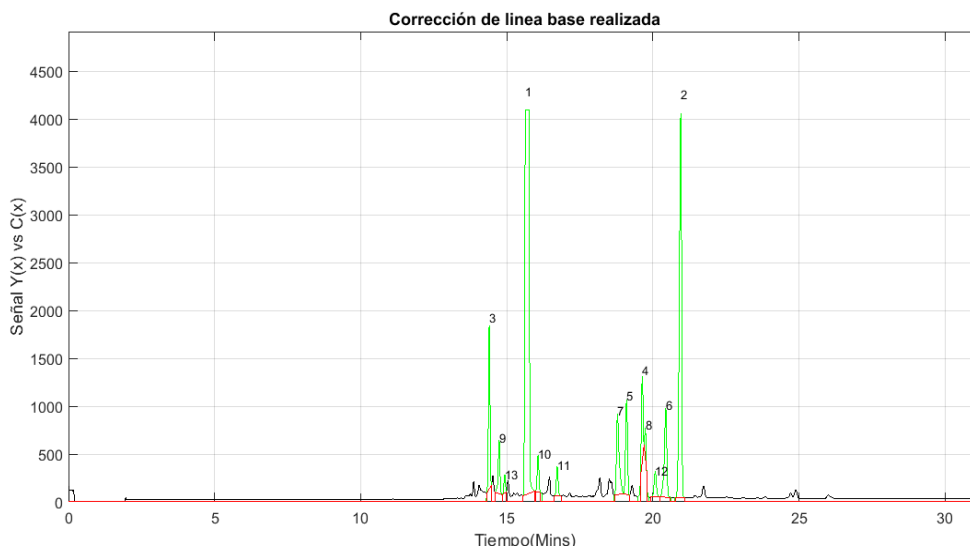


Figura 33. Picos detectados y función de corrección

#### 2.7.2.4 Calibrar patrón

Al ejecutar la calibración, el sistema toma los picos de referencia, calcula los tiempos de retención relativos de cada uno de los picos detectados, la energía relativa del patrón y el factor de respuesta. Los parámetros a ingresar son los siguientes:

- **PPM:** Contenido de pesticida presente en la muestra
- **Pref\_a:** Pico de referencia utilizado para corregir los tiempos de retención.
- **Pref\_b:** Pico de referencia utilizado para convertir los tiempos de retención corregidos a valores relativos al tiempo de retención del pico Pref\_b.

### 2.7.2.5 Guardar calibración

Luego de realizar una calibración y verificar los resultados de la misma, el usuario puede almacenarlos oprimiendo el botón “guardar calibración” y se crearan los siguientes archivos:

- **LP\_<tipo de patrón>.txt:** Es el listado de patrones para el tipo definido
- **MP\_<tipo de patrón>.txt:** Son los valores de calibración para cada uno de los patrones calibrados.

### 2.7.2.6 Cromatograma general de patrones

Con el fin de tener en cuenta la totalidad de pesticidas para los cuales el sistema esta calibrado, en la figura 34 se muestra el cromatograma general que se genera al oprimir el botón “CGP” previa selección del tipo de análisis, por lo que existe un cromatograma general de patrones para cada uno de los tipos definidos por el usuario.

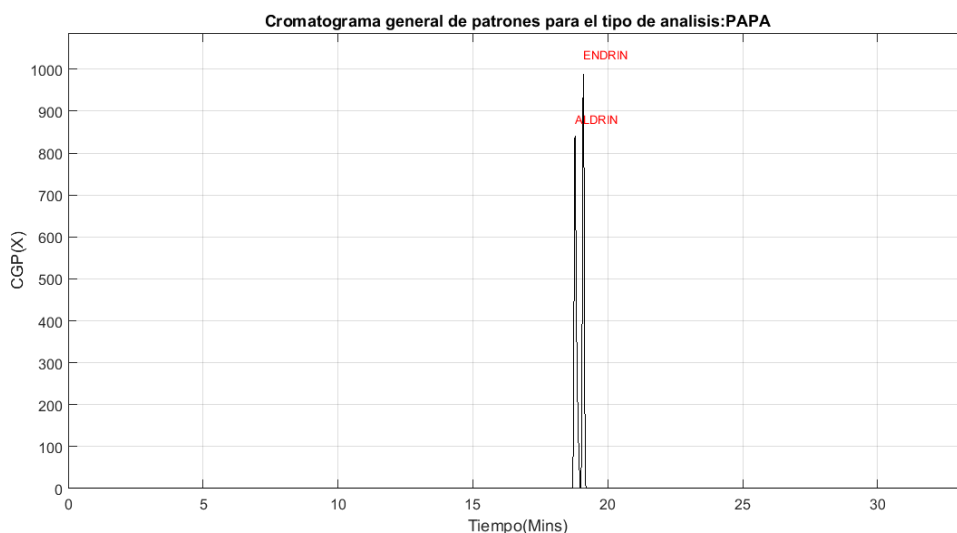


Figura 34. Cromatograma general según tipo

## 2.7.3 Módulo de análisis

El módulo de análisis mostrado en la figura 35, permite el ingreso del cromatograma de la muestra a ser analizada para detectar la presencia de los pesticidas calibrados en el sistema.

	#	Mins	Tiir	Tfi	Ymax	Tymax	Energia	mg	P
Patron1									
Patron2									
Patron3									
Patron4									
Patron5									
Patron6									
Patron7									

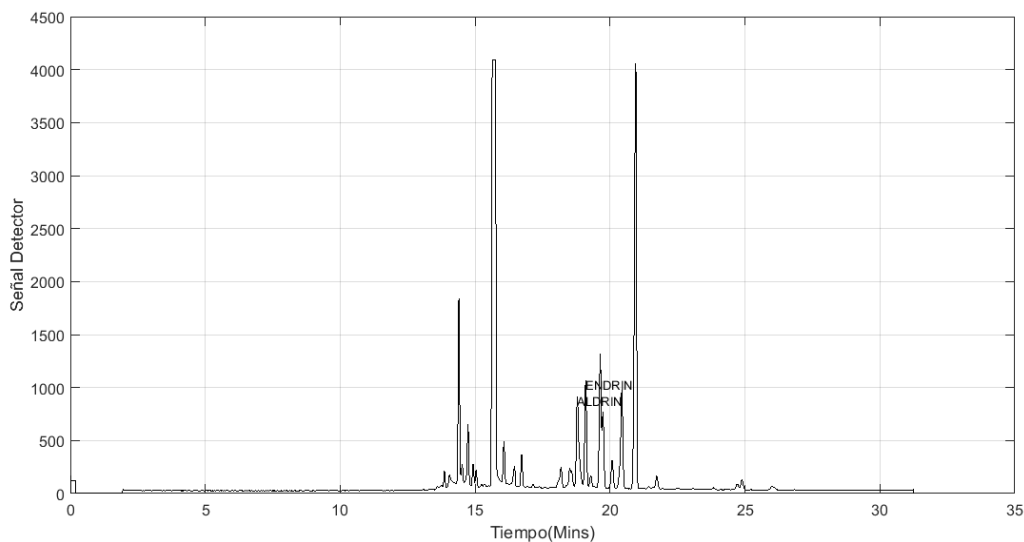
Figura 35. Módulo de análisis

### 2.7.3.1 Ingresar muestra

Para ingresar una muestra a ser analizada se debe previamente indicar el tipo de análisis y guardar el archivo en formato “.txt” en la carpeta de trabajo del software, conteniendo Nx1 datos.

### 2.7.3.2 Analizar muestra

Al oprimir éste botón el sistema acondiciona la señal ingresada, identifica los picos, realiza el análisis cualitativo presentando los resultados en la forma gráfica mostrada en la figura 36 y el análisis cuantitativo en la forma de la figura 37.



**Figura 36. Resultados del análisis cualitativo**

	y <sub>max</sub>	x <sub>max</sub>	T <sub>ii</sub>	T <sub>fi</sub>	Er	T <sub>rr</sub>	PPM
ENDRIN	987.5375	22917	18.9917	19.2025	5.3381	0.7169	100
ALDRIN	840.3830	22544	18.6675	18.9917	8.4281	0.6695	100

**Figura 37. Resultados del análisis cuantitativo**

### 2.7.3.3 Guardar análisis

Guarda los resultados del análisis para su posterior revisión creando los siguientes archivos en la carpeta del sistema:

- **<nombre de muestra>\_LC:** Guarda el listado de todos los patrones del mismo tipo de la muestra que fueron evaluados.
- **<Nombre de muestra>\_MC:** Guarda las características de cada uno de los patrones evaluados incluyendo su concentración.



Adicionalmente guarda los datos para reproducir nuevamente el pico encontrado en la muestra al solicitar ver el análisis.

#### 2.7.3.4 Ver análisis

Permite ver los análisis guardados ingresando el nombre de la muestra y oprimiendo el botón “Ver análisis”. El sistema mostrara nuevamente los resultados del análisis cualitativo y cualitativo para la muestra.

## CAPÍTULO 3

### RESULTADOS

#### 3.1 VALIDACION DEL SISTEMA

Para la validación del sistema se realizó inicialmente la calibración del software para dos tipos de análisis, papa y piña utilizando muestras de los alimentos contaminadas con cantidades conocidas de los pesticidas, ALDRIN, BETA-BHC, DELTA-BHC, ENDOSULFAN, ENDRIN, GAMMA y HEPTACHLOR generando picos sintéticos de los patrones en basados en datos reales provenientes de una corrida del patrón RESTEK #AB1, el cual incluye los siete pesticidas con una concentración de 200ug/ml cada uno en un cromatógrafo HP6890N Agilent Technologies y un detector uECD, con una columna Agilent J&W HP-5 (30m x 0,320m x 0,25um) 95% methyl-polysiloxane, 5% phenyl, con una temperatura de horno programada de 140°C hasta 180°C (durante 5min), a razón de 6°C/min, de 180°C hasta 200°C (durante 3min) a razón de 2°C/min, y de 200°C hasta 260°C (durante 2min) a razón de 12°C/min, con un tiempo de corrida de 29,6min. [35]

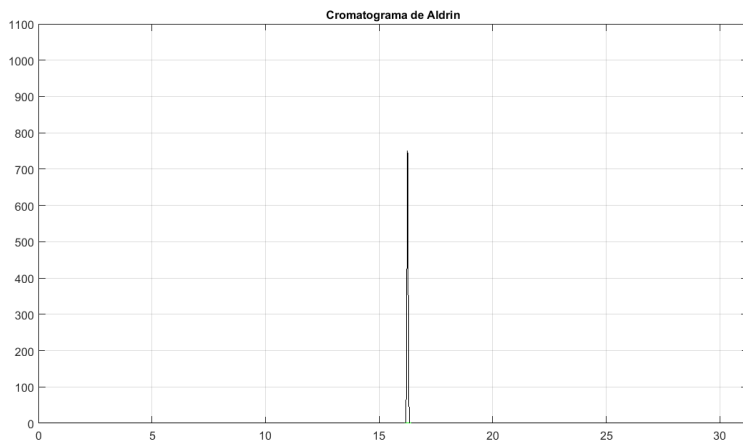
Luego se generaron 42 muestras sintéticas, tres para cada pesticida con 50% 100% y 150% de la concentración utilizada en la calibración, tanto para papa como para piña analizándolas y obteniendo resultados del desempeño del software.

Finalmente se analizaron seis cromatogramas, tres de papa y tres de piña obtenidos de muestras reales y se presentan resultados cualitativos y cuantitativos de cada uno.

### 3.1.1 Preparación de muestras

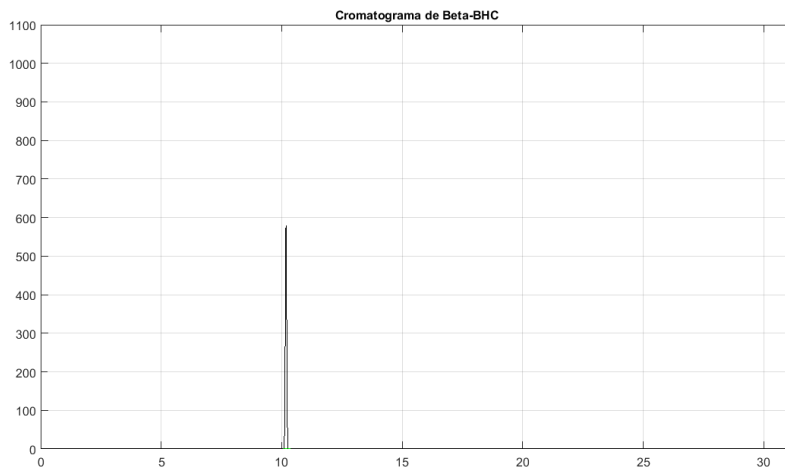
Se obtuvo un cromatograma de cada uno de los pesticidas a evaluar hallando sus tiempos de retención utilizando en cada caso una cantidad de 0.25ml que corresponde a 50ug de pesticida de un patrón con una concentración de 200ug/ml. A continuación se presenta cada uno de ellos con el tiempo de retención según gráfico.

La figura 38 muestra el pico generado por 50ug del pesticida Aldrin en el cual se obtiene un tiempo de retención de 16.250 minutos.



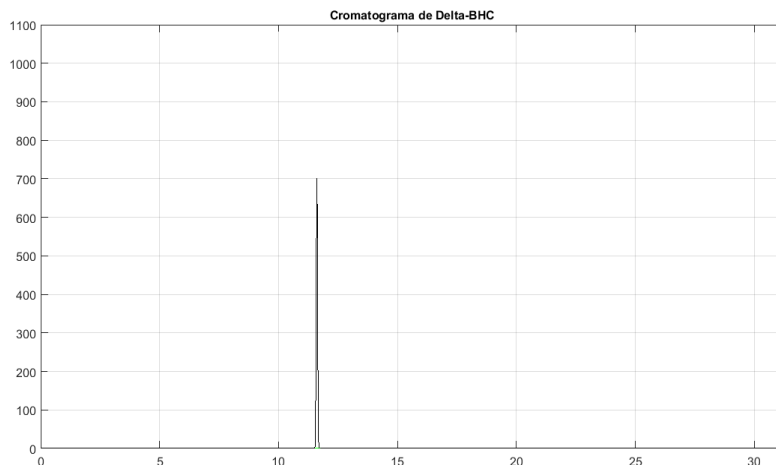
**Figura 38. Cromatograma de Aldrin**

La figura 39 muestra el pico generado por 50ug del pesticida Beta-BHC en el cual se obtiene un tiempo de retención de 10.176 minutos.



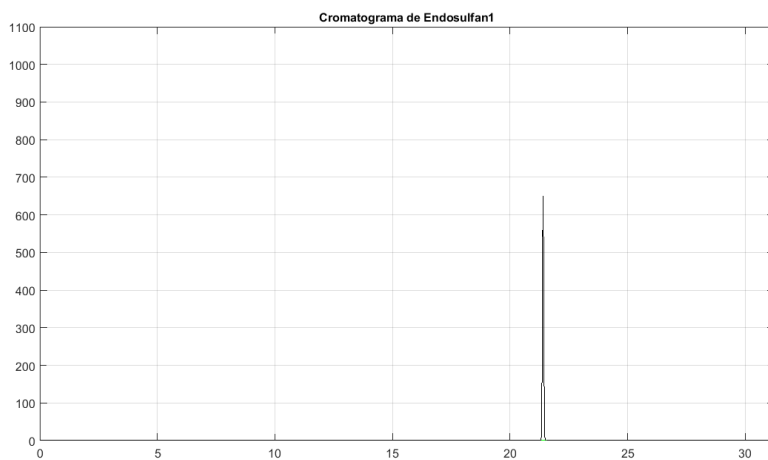
**Figura 39. Cromatograma de Beta-BHC**

La figura 40 muestra el pico generado por 50ug del pesticida Delta-BHC en el cual se obtiene un tiempo de retención de 11.610 minutos.



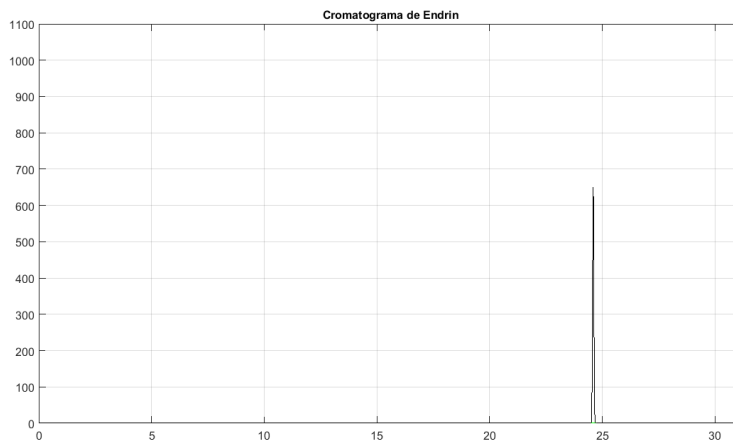
**Figura 40. Cromatograma de Delta-BHC**

La figura 41 muestra el pico generado por 50ug del pesticida Endosulfan I en el cual se obtiene un tiempo de retención de 21.402 minutos.



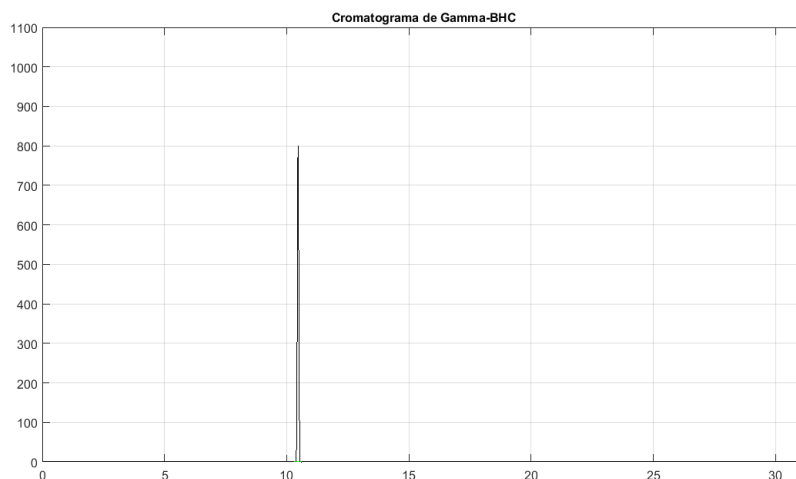
**Figura 41. Cromatograma de Endosulfan**

La figura 42 muestra el pico generado por 50ug del pesticida Endrin en el cual se obtiene un tiempo de retención de 24.592 minutos.



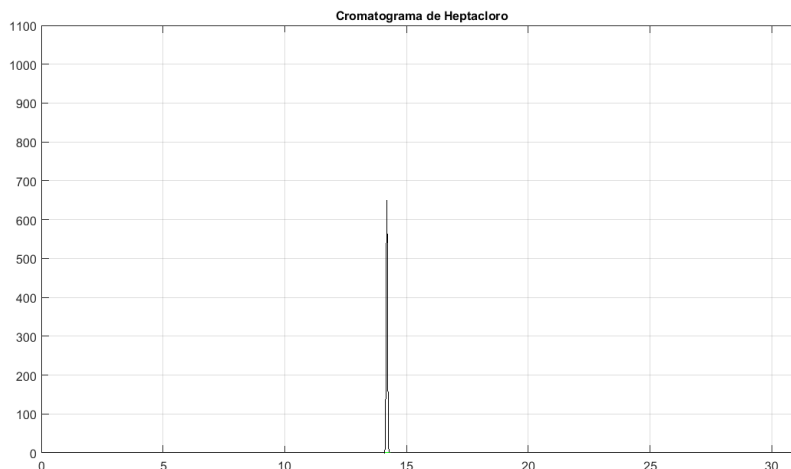
**Figura 42. Cromatograma de Endrin**

La figura 43 muestra el pico generado por 50ug del pesticida Gamma-BHC en el cual se obtiene un tiempo de retención de 10.464 minutos.



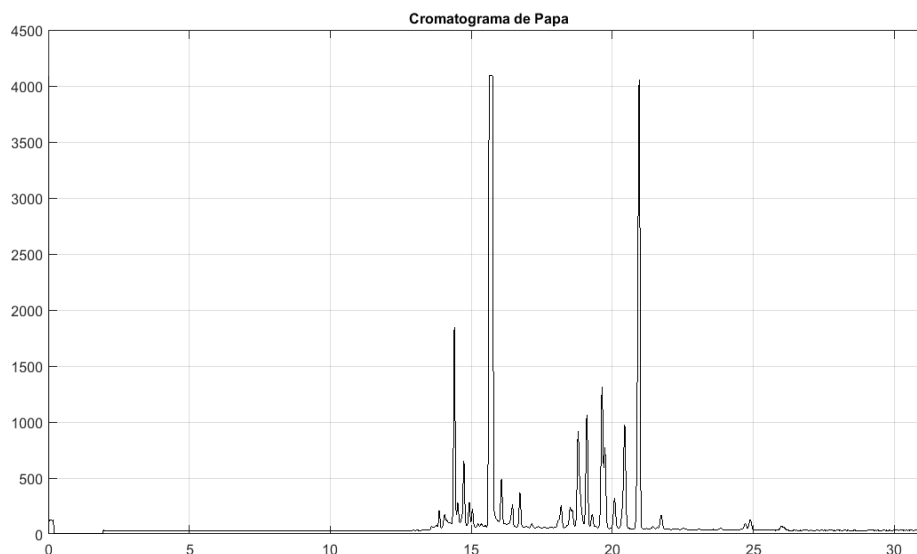
**Figura 43. Cromatograma de Gama**

La figura 44 muestra el pico generado por 50ug del pesticida Heptacloro en el cual se obtiene un tiempo de retención de 14.190 minutos.

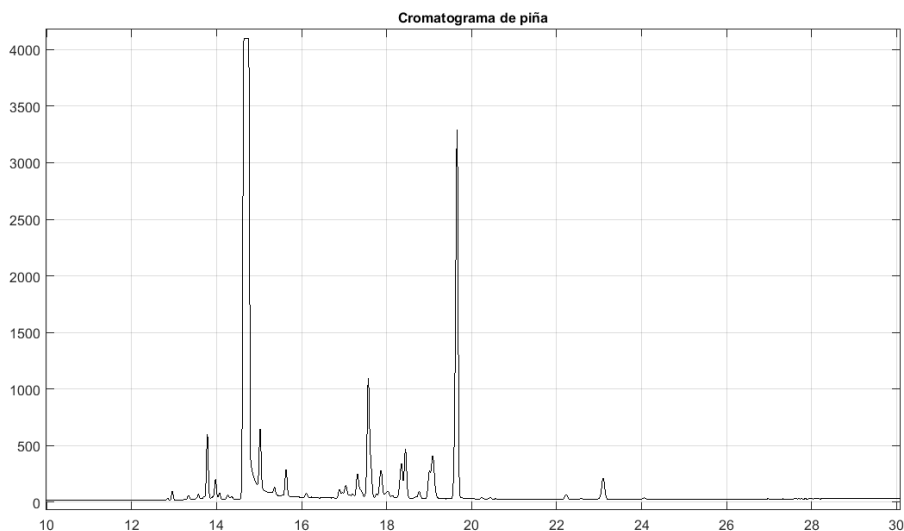


**Figura 44. Cromatograma de Heptachlor**

Adicionalmente se obtuvo un cromatograma por cada uno de los tipos a ser calibrados utilizando una cantidad de 20g de alimento en cada caso, en la figura 45 se presenta el cromatograma obtenido de papa y en la figura 46 se presenta el cromatograma el de piña.

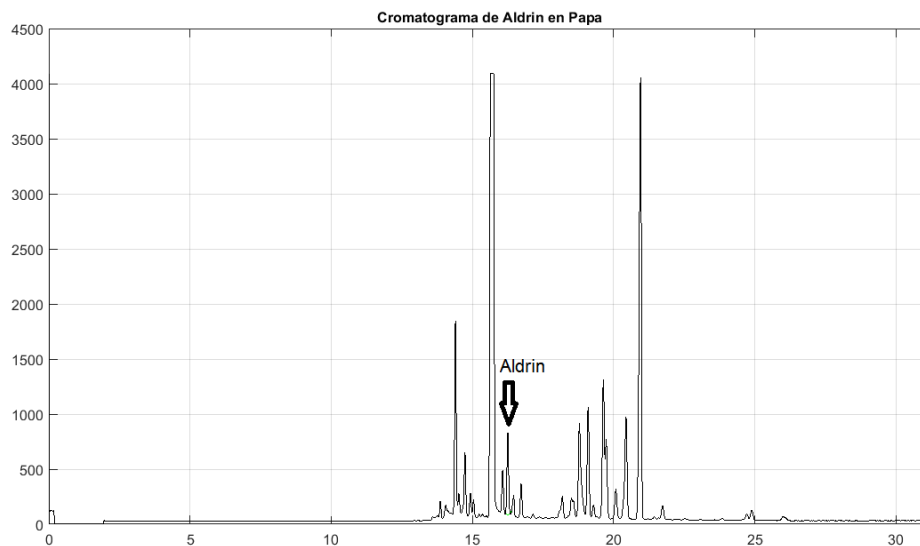


**Figura 45. Cromatograma para el tipo de análisis papa.**



**Figura 46. Cromatograma para el tipo de análisis piña.**

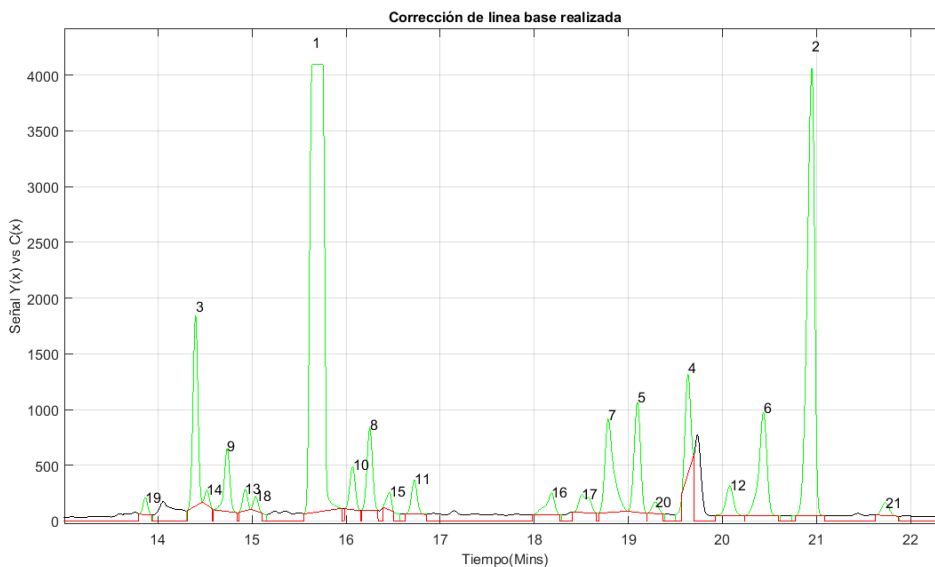
Luego se crearon los cromatogramas patrón para cada uno de los pesticidas, integrando el cromatograma del alimento y el pesticida a calibrar. En la figura 47 se presenta como ejemplo el cromatograma integrado para el Aldrin en papa.



**Figura 47. Cromatograma patrón de Aldrin en papa.**

Utilizando la herramienta “detectar picos” del módulo de calibración, se identificó el número de pico del pesticida en cada uno de los cromatogramas patrón, lo cual se resume en la tabla 2 junto con la concentración en relación a la cantidad de alimento de la muestra en cada caso. Por ejemplo en la figura 48 se muestra que el pico de Aldrin en el cromatograma de papa fue identificado como el número 8, siendo presentados los picos validos en verde, los picos inválidos en negro y la corrección de línea base aplicada en rojo.





**Figura 48. Pico del Aldrin en papa Identificado como #8**

PESTICIDA	PAPA		PIÑA	
	#PICO	PPM	#PICO	PPM
ALDRIN	8	1.0	4	1.0
BETA-BHC	9	1.0	6	1.0
DELTA-BHC	8	1.0	4	1.0
ENDOSULFAN	8	1.0	4	1.0
ENDRIN	8	1.0	4	1.0
GAMMA	8	1.0	6	1.0
HEPTACLOR	8	1.0	4	1.0

**Tabla 2. Información requerida para calibración**

### 3.1.2 Calibración del sistema

Inicialmente se crearon en el módulo de tipos de análisis los tipos papa y piña con los siguientes valores:

- Tiempo de análisis: 30 minutos
- Tiempo de muestreo: 0.00083333 minutos
- Pico de referencia a (Pref\_a): 2 papa; 1 piña
- Pico de referencia b (Pref\_b): 3 papa; 2 piña
- Altura mínima picos validos:Hmin: 20
- Asimetría máxima del pico (Amax): 100 %

La calibración se realizó ingresando uno a uno los cromatogramas patrón para cada pesticida-alimento en el módulo de calibración, incluyendo número de pico y concentración del pesticida. En la figura 49 se muestra el ingreso del cromatograma patrón de Aldrin en papa.

Figura 49. Calibración de Aldrin en papa

Luego se realizó nuevamente la detección de picos encontrando los 21 picos validos mostrados en la figura 48.

Se ejecutó la calibración, generando la gráfica con la identificación del pico mostrada en la figura 50 y los parámetros de calibración de la tabla 3, de los cuales los dos principales son el tiempo de retención relativo (Trr) con el cual se identifica exclusivamente cada pesticida y el factor de respuesta (Rf) con el cual se calcula la concentración del mismo. Al culminar la calibración exitosamente, se procede a guardarla.

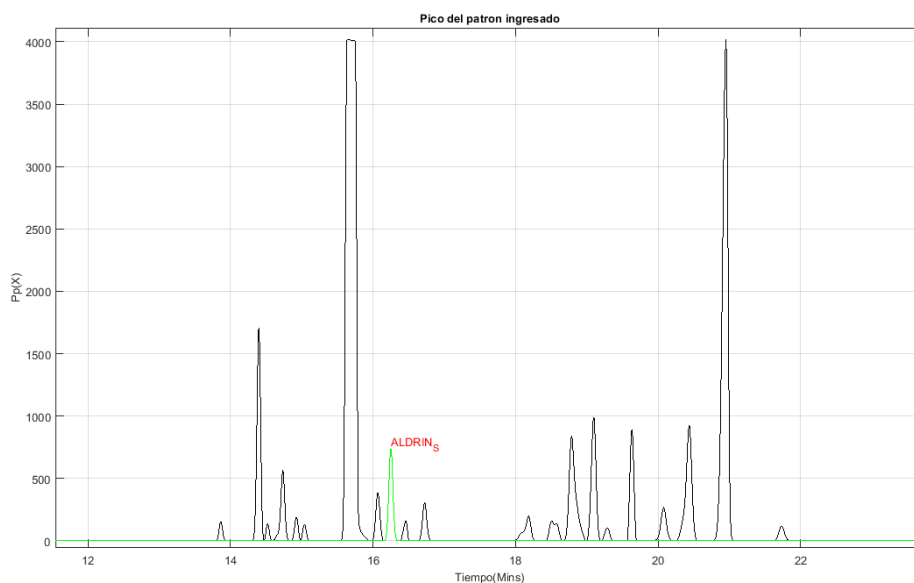


Figura 50. Resultado cualitativo de calibración de Aldrin en Papa.

DESCRIPCION	VALOR
Tiempo inicial de integración	16.03
Tiempo final de integración	16.382
Tiempo pico máximo	16.2508
Tiempo de retención (Tr)	16.2508
Tiempo de retención corregido (Trc)	-4.7016
Valor máximo del pico	739.27
Energía relativa del pico	3.77
Tiempo de retención relativo (Trr)	0.717447
Factor de respuesta (Rf)	0.335329

**Tabla 3. Resultados cuantitativo calibración de Aldrin en papa.**

El mismo procedimiento se realizó para cada uno de los cromatogramas patrón de papa y piña para cada uno de los pesticidas obteniendo las constantes de calibración presentadas en la tabla 4.

PEST	PAPA		PIÑA	
	TRR	RF	TRR	RF
ALDRIN	0.717283	0.335329	0.308992	0.236662
BETA-BHC	1.644283	0.420150	-0.923089	0.299891
DELTA-BHC	1.425410	0.350852	-0.632183	0.249983
ENDOSULFAN1	-0.069057	0.363671	1.353955	0.267380
ENDRIN	-0.555767	0.397211	2.001014	0.269608
GAMMA-BHC	1.600406	0.307935	-0.864773	0.220261
HEPTACLORO	1.031667	0.380434	-0.108857	0.273366

**Tabla 4. Resultados de calibración de 7 pesticidas para dos tipos de análisis.**

### 3.1.3 Análisis con muestras sintéticas

Se generaron 42 muestras sintéticas, tres de cada uno de los siete pesticidas para los dos tipos de análisis papa y piña.

Para generar la primera muestra sintética de Aldrin en papa, se tomó el cromatograma de Aldrin solo mostrado en la figura 51, se calculó la energía del pico con las ecuaciones 33, 34 y 35 obteniendo que:

$$E_p: 6.12196721 \times 10^{-6}$$

Teniendo en cuenta que este valor de energía corresponde a una cantidad de 50ug de Aldrin, y definiendo la señal de este pico como  $P(X)$ , se generó una nueva señal:

$$P(x)_{50\%} = M * P(X)$$

Donde se halló el valor de M para obtener la mitad de la energía:

$$E_{p50} = 50\% E_p ; M = 0.5$$

Luego se mezcló el pico generado con el cromatograma de Aldrin obteniendo el cromatograma mostrado en la figura 51.

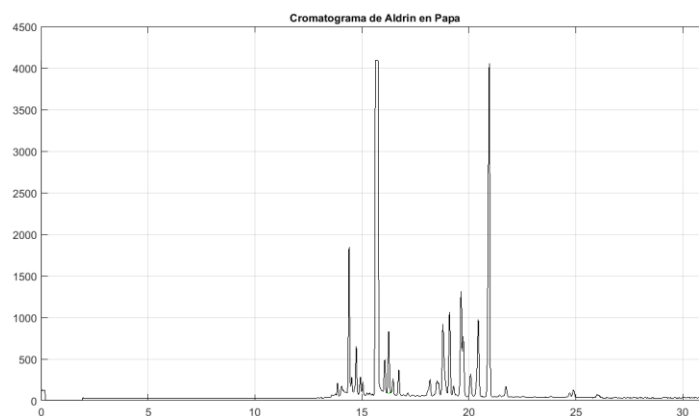


Figura 51. Cromatograma de 25ug de Aldrin en papa

Para la otra muestra sintética de Aldrin en papa se generó un pico  $P(x)_{150\%}$  tal que:

$$E_{p_{150}} = 150\% E_p ; \quad M = 1.5$$

Utilizando el mismo procedimiento se obtuvo el total de muestras sintéticas presentadas en la tabla 5 en la cual se presenta el dato medido por el sistema.

PESTICIDA_%conc	PAPA		PIÑA	
	PPM calc	PPM med	PPM calc	PPM med
ALDRIN_50	0,5	0,4979	0,5	0,5081
ALDRIN_100	1	1	1	1
ALDRIN_150	1,5	1,4877	1,5	1,4723
BETA-BHC_50	0,5	0,5079	0,5	0,5089
BETA-BHC_100	1	1	1	1
BETA-BHC_150	1,5	1,4806	1,5	1,475
DELTA-BHC_50	0,5	0,5075	0,5	0,5113
DELTA-BHC_100	1	1	1	1
DELTA-BHC_150	1,5	1,4787	1,5	1,4696
ENDOSULFAN1_50	0,5	0,5254	0,5	0,5125
ENDOSULFAN1_100	1	1	1	1
ENDOSULFAN1_150	1,5	1,462	1,5	1,4697
ENDRIN_50	0,5	0,4845	0,5	0,5079
ENDRIN_100	1	1	1	1
ENDRIN_150	1,5	1,5063	1,5	1,4733
GAMMA-BHC_50	0,5	0,509	0,5	0,5119
GAMMA-BHC_100	1	1	1	1
GAMMA-BHC_150	1,5	1,4753	1,5	1,4665
HEPTACLORO_50	0,5	0,5036	0,5	0,5087
HEPTACLORO_100	1	1	1	1
HEPTACLORO_150	1,5	1,4831	1,5	1,4765

Tabla 5. Concentración calculada vs medida de las muestras sintéticas generadas.

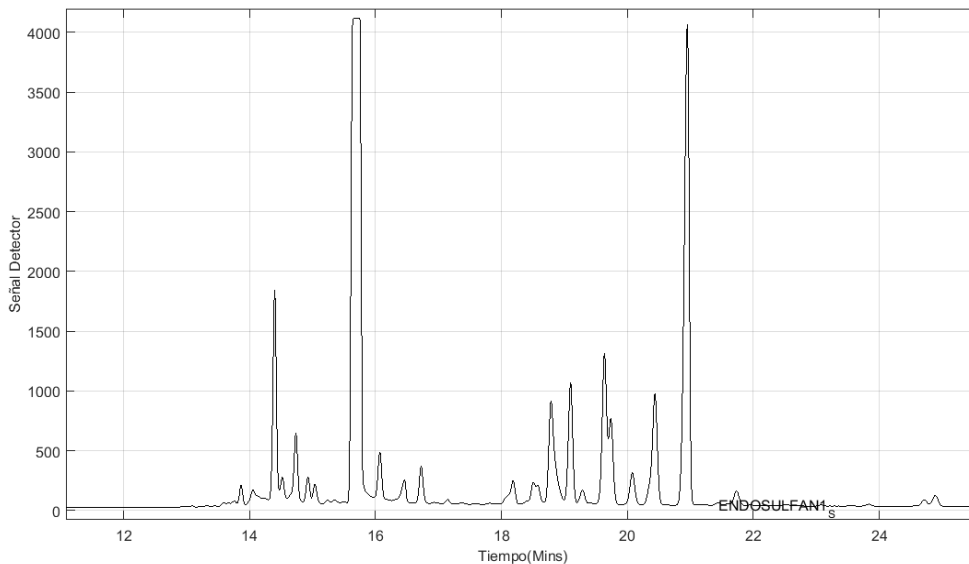
### 3.1.4 Análisis de pesticidas en muestras reales

Se realiza el análisis de las seis muestras reales obteniendo los resultados cualitativos y cuantitativos mostrados en las figuras 52 a 57, los cuales se resumen en la tabla 6.

PESTIC	PAPA (PPM)			PIÑA (PPM)		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3
ALDRIN	-	-	-	0.056	-	-
BETA-BHCO	-	-	-	-	-	-
DELTA-BHC	-	-	-	-	-	-
ENDOSULFAN	0.0421	-	0.8050	-	-	-
ENDRIN	-	0.0322	-	-	-	-
GAMMA	-	-	-	-	-	-
HEPTACLORO	-	0.3738	0.1126	0.029	0.031	0.042

**Tabla 6. Resultados muestras de validación**

En la figura 52 se muestra los resultados del análisis de la muestra #1 de papa en la que se encuentra el pesticida ENDOSULFAN1 con una concentración de 0.0421 PPM.

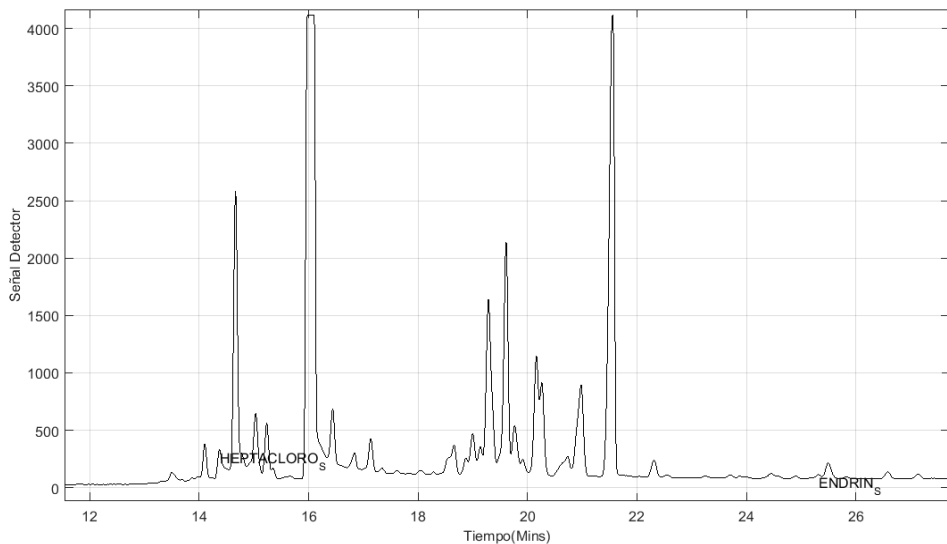


	y <sub>max</sub>	x <sub>max</sub>	T <sub>ii</sub>	T <sub>fi</sub>	Er	T <sub>rr</sub>	PPM
ENDOSULFANI_S	23.3518	25728	21.3367	21.5233	0.1158	-0.0745	0.0421

**Figura 52. Resultados muestra # 1 de papa.**

En la figura 53 se muestra los resultados del análisis de la muestra #2 de papa en la que se encontraron los pesticidas HEPTACLORO y ENDRIN con una concentración de 0.3738 PPM y 0.0322 PPM respectivamente.

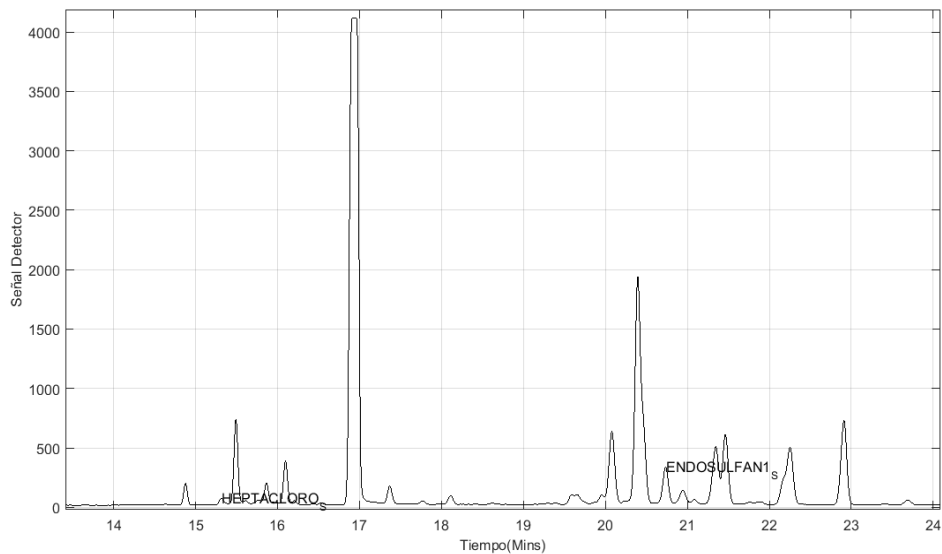




	y <sub>max</sub>	x <sub>max</sub>	T <sub>ii</sub>	T <sub>fi</sub>	Er	T <sub>rr</sub>	PPM
HEPTACLORO_S	225.2140	17243	14.2800	14.5425	0.9826	1.0427	0.3738
ENDRIN_S	22.4455	30377	25.2033	25.3808	0.0810	-0.5451	0.0322

**Figura 53. Resultados muestra #2 de papa.**

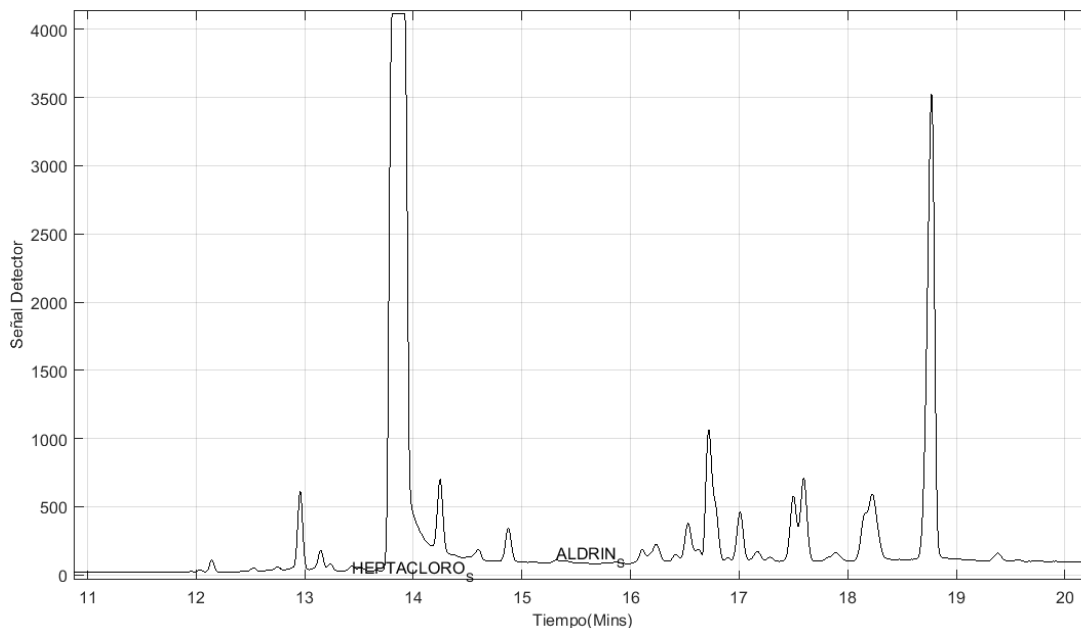
En la figura 54 se muestra los resultados del análisis de la muestra #3 de papa en la que se encontraron los pesticidas ENDOSULFAN1 y HEPTACLORO con una concentración de 0.8050 PPM y 0.1126 PPM respectivamente.



	y <sub>max</sub>	x <sub>max</sub>	T <sub>ii</sub>	T <sub>fi</sub>	Er	T <sub>rr</sub>	PPM
ENDOSULFANI_S	304.4363	24883	20.6275	20.8408	2.2135	-0.0692	0.8050
HEPTACLORO_S	51.9365	18378	15.2442	15.4083	0.2960	1.0364	0.1126

**Figura 54. Resultados muestra #3 de papa.**

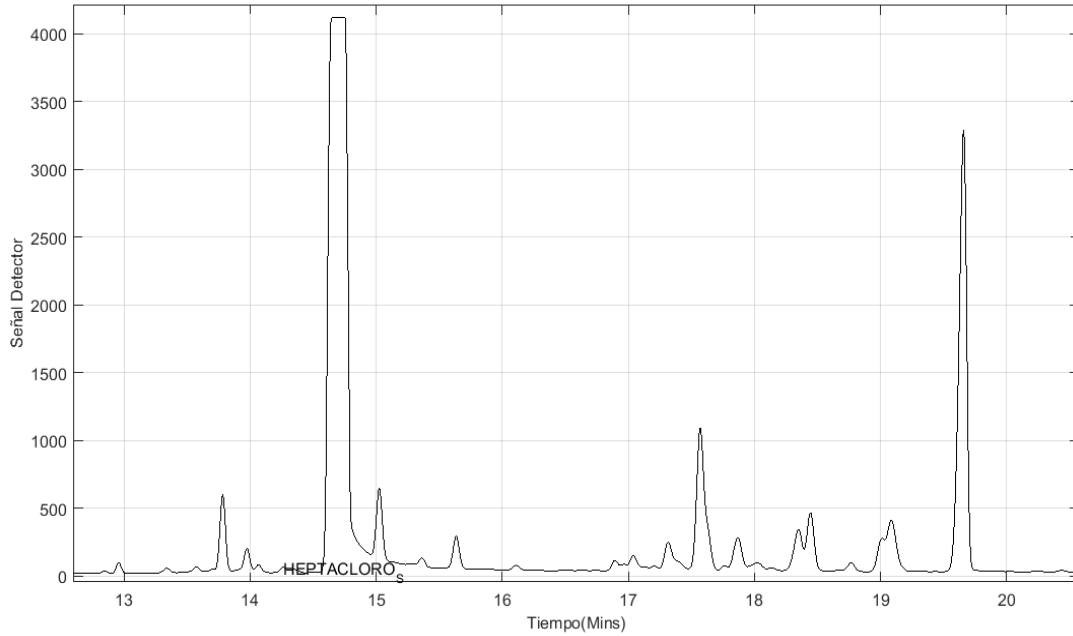
En la figura 55 se muestra los resultados del análisis de la muestra #1 de piña en la que se encontraron los pesticidas ALDRIN y HEPTACLORO con una concentración de 0.056 PPM y 0.029 PPM respectivamente.



	y <sub>max</sub>	x <sub>max</sub>	T <sub>ii</sub>	T <sub>fi</sub>	Er	T <sub>rr</sub>	PPM
ALDRIN_S	24.5262	18377	15.2392	15.4942	0.2365	0.2918	0.0560
HEPTACLORO_S	28.0659	16120	13.3500	13.4767	0.1059	-0.0933	0.0290

**Figura 55. Resultados muestra #1 de piña.**

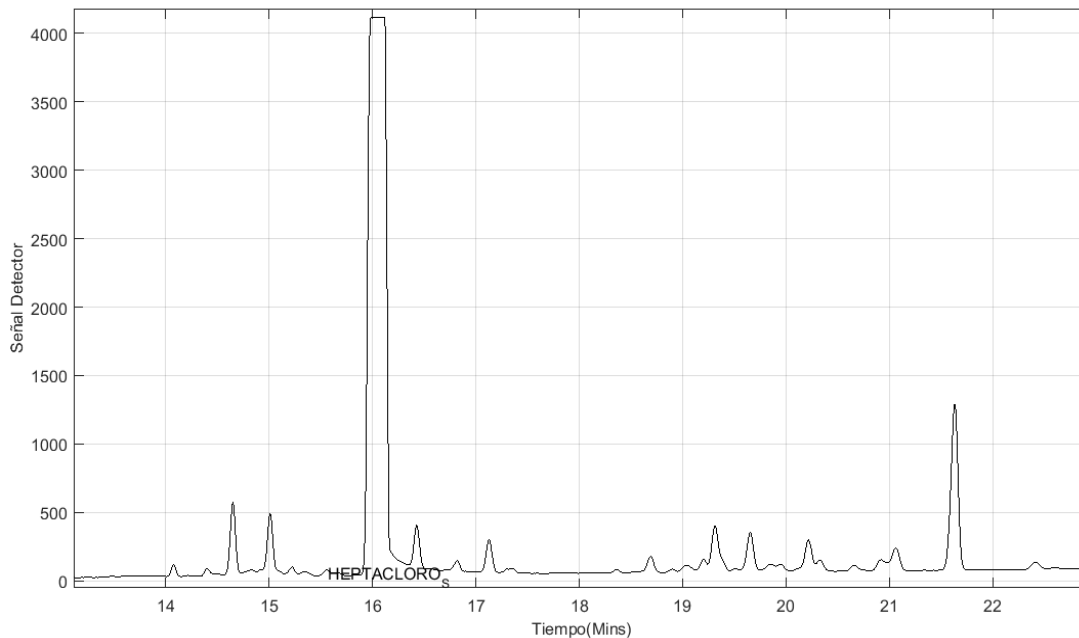
En la figura 56 se muestra los resultados del análisis la muestra #2 de piña en la que se encuentra el pesticida HEPTACLORO con una concentración de 0.031 PPM.



	y <sub>max</sub>	x <sub>max</sub>	T <sub>ii</sub>	T <sub>fi</sub>	Er	T <sub>rr</sub>	PPM
HEPTACLORO_S	28.6131	17117	14.1658	14.3042	0.1134	-0.0942	0.0310

**Figura 56. Resultados muestra #2 de piña.**

En la figura 57 se muestra los resultados de análisis de la muestra #3 de piña, en la que se encontró el pesticida HEPTACLORO con una concentración de 0.042 PPM.



	y <sub>max</sub>	x <sub>max</sub>	T <sub>ii</sub>	T <sub>fi</sub>	Er	T <sub>rr</sub>	PPM
HEPTACLORO_S	28.7803	18675	15.4658	15.6108	0.1537	-0.0904	0.0420

**Figura 57. Resultados muestra #3 de piña.**

### 3.1.5 Cromatograma general de pesticidas

A medida que se van calibrando más patrones en el sistema, este va incluyéndolos en un cromatograma general de patrones para cada tipo que puede ser visualizado en cualquier momento para identificar la capacidad de detección que tiene el sistema.

Al culminar la calibración de los siete pesticidas para los tipos papa y piña se generaron los cromatogramas generales mostrados en la figura 58y 59 al pulsar el botón CGP del software.

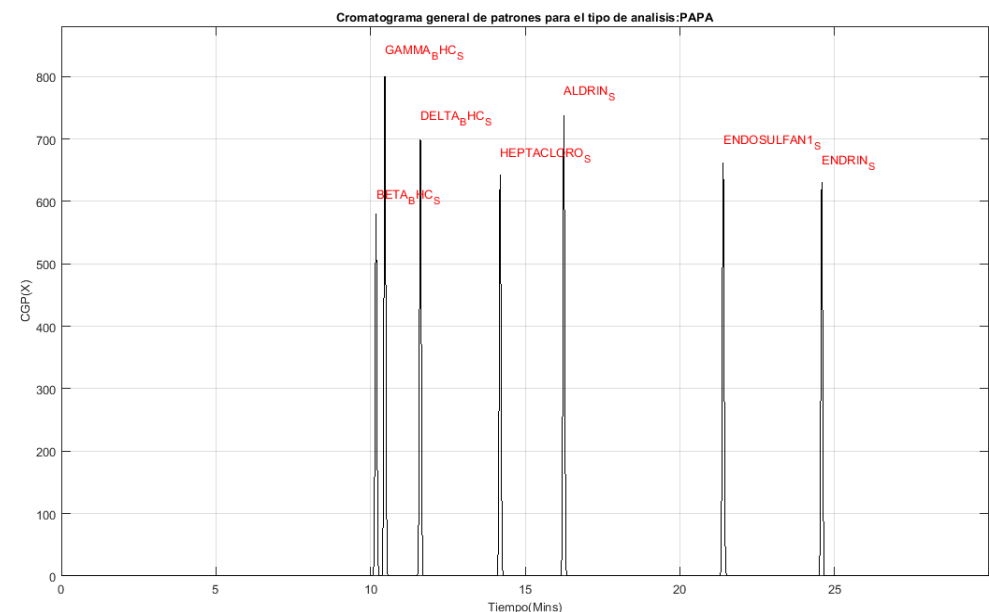


Figura 58. Cromatograma general de pesticidas tipo de análisis papa

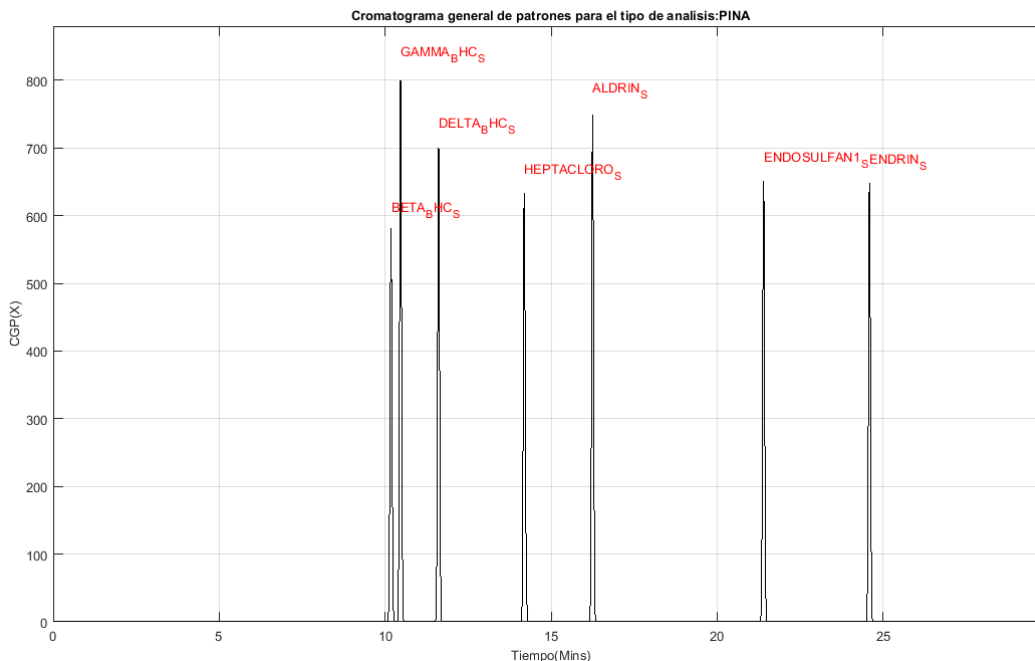


Figura 59. Cromatograma general de pesticidas tipo de análisis piña

### 3.1.6 Desempeño del sistema

En la tabla 5 se presentan los datos del análisis de desempeño del sistema en la validación en el cual se observa que el mejor desempeño se obtuvo para las muestras de Aldrin en papa ya que el error máximo fue de 0.82%. El error se acerca a 0% hacia el valor de calibración y llega en promedio a 2% al alejarse 50% por encima o por debajo del valor de calibración.

PESTICIDA_%conc	PAPA				PIÑA			
	Er	PPM	Desv	%Desv	Er	PPM	Desv	%Desv
ALDRIN_50	1,4848	0,4979	-0,0021	-0,42	2,1467	0,5081	0,0081	1,62
ALDRIN_100	2,9821	1	0	0,00	4,2254	1	0	0,00
ALDRIN_150	4,4364	1,4877	-0,0123	-0,82	6,2211	1,4723	-0,0277	-1,85
BETA-BHC_50	1,2089	0,5079	0,0079	1,58	1,6971	0,5089	0,0089	1,78
BETA-BHC_100	2,3801	1	0	0,00	3,3345	1	0	0,00
BETA-BHC_150	3,5239	1,4806	-0,0194	-1,29	4,9184	1,475	-0,025	-1,67
DELTA-BHC_50	1,4464	0,5075	0,0075	1,50	2,0453	0,5113	0,0113	2,26
DELTA-BHC_100	2,8502	1	0	0,00	4,0003	1	0	0,00
DELTA-BHC_150	4,2145	1,4787	-0,0213	-1,42	5,8788	1,4696	-0,0304	-2,03
ENDOSULFAN1_50	1,4446	0,5254	0,0254	5,08	1,9167	0,5125	0,0125	2,50
ENDOSULFAN1_100	2,7497	1	0	0,00	3,74	1	0	0,00
ENDOSULFAN1_150	4,0201	1,462	-0,038	-2,53	5,4968	1,4697	-0,0303	-2,02
ENDRIN_50	1,2199	0,4845	-0,0155	-3,10	1,8838	0,5079	0,0079	1,58
ENDRIN_100	2,5175	1	0	0,00	3,7091	1	0	0,00
ENDRIN_150	3,7921	1,5063	0,0063	0,42	5,4645	1,4733	-0,0267	-1,78
GAMMA-BHC_50	1,653	0,509	0,009	1,80	2,3239	0,5119	0,0119	2,38
GAMMA-BHC_100	3,2474	1	0	0,00	4,5401	1	0	0,00
GAMMA-BHC_150	4,7909	1,4753	-0,0247	-1,65	6,6579	1,4665	-0,0335	-2,23
HEPTACLORO_50	1,3237	0,5036	0,0036	0,72	1,8608	0,5087	0,0087	1,74
HEPTACLORO_100	2,6286	1	0	0,00	3,6581	1	0	0,00
HEPTACLORO_150	3,8984	1,4831	-0,0169	-1,13	5,401	1,4765	-0,0235	-1,57

Tabla 7. Análisis de desempeño del sistema.

El desempeño del sistema también se evaluó teniendo en cuenta las fuentes de error para los análisis cualitativo y cuantitativo. Para el análisis cualitativo puede haber picos de pesticidas tan pequeños que no sean detectados y para el cuantitativo puede haber desviaciones que afecten el cálculo de la concentración de pesticida detectado. Por lo que se evaluó el método de detección de picos y el método de corrección de línea base.



### 3.1.6.1 Desempeño del método de detección de picos:

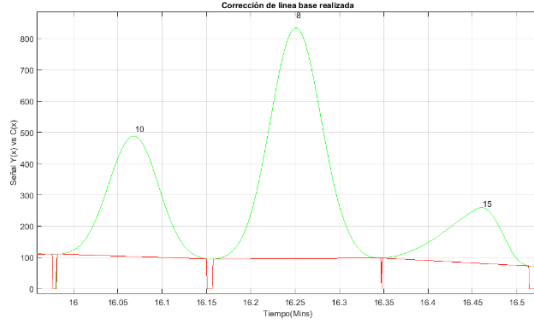
Para evaluar el desempeño del método de detección de picos se tomó el pico de Aldrin de la figura 38 y utilizando el cromatograma de papa de la figura 45, se generaron 8 muestras sintéticas disminuyendo proporcionalmente la energía del pico desde 100% hasta hallar la energía en la cual éste no fuera detectado.

%Energía	Energía	%Energía relativa	Hmax	#Pico detectado
100	6258,4762	3,0603	737,5513	8
50	30688,1779	1,5234	362,9930	10
10	5414,8013	0,2654	64,6124	21
5	2201,5613	0,1077	27,0709	23
4	1613,7715	0,0789	19,8843	23
3	1010,4575	0,0493	12,5995	23
2	=	=	=	No detectado
1	=	=	=	No detectado

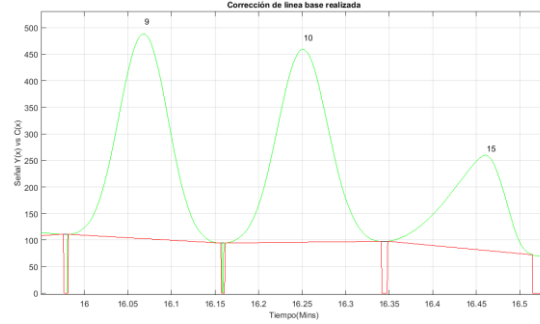
Tabla 8. Resultados desempeño del método detección de picos.

Los resultados de la tabla 4 muestran que el pico fue detectado hasta con una altura mínima de 12,5995 y una energía relativa a la energía de todos los picos del alimento de 0,0493%. Al evaluar estos datos en términos de concentración de pesticida se tiene que el pico de Aldrin de la figura 38 tiene una Hmax de 750 para una cantidad de 50ug. Teniendo en cuenta por ejemplo la respuesta lineal de un detector FID, se podrían detectar cantidades de Aldrin hasta de:

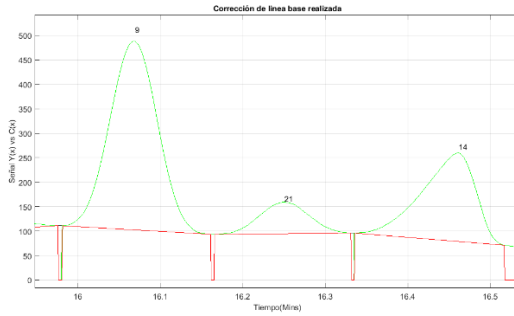
$$C_{min\,aldrin} = \frac{50\,ug}{\frac{750}{12,5995}} = \frac{50\,ug}{59,5261} = 0,84\,ug$$



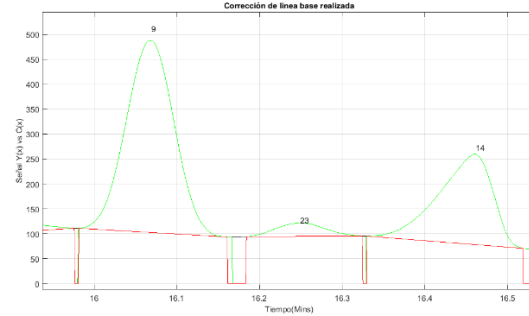
a)



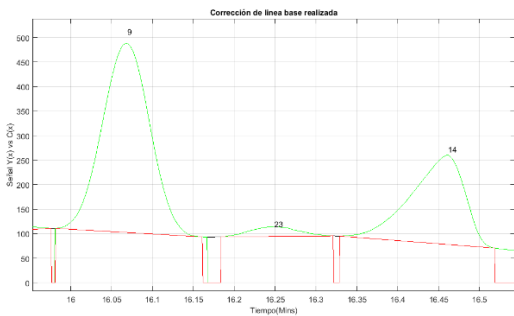
b)



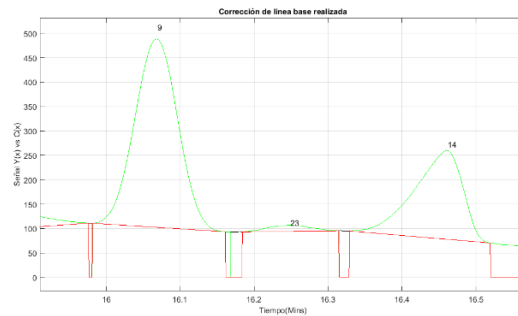
c)



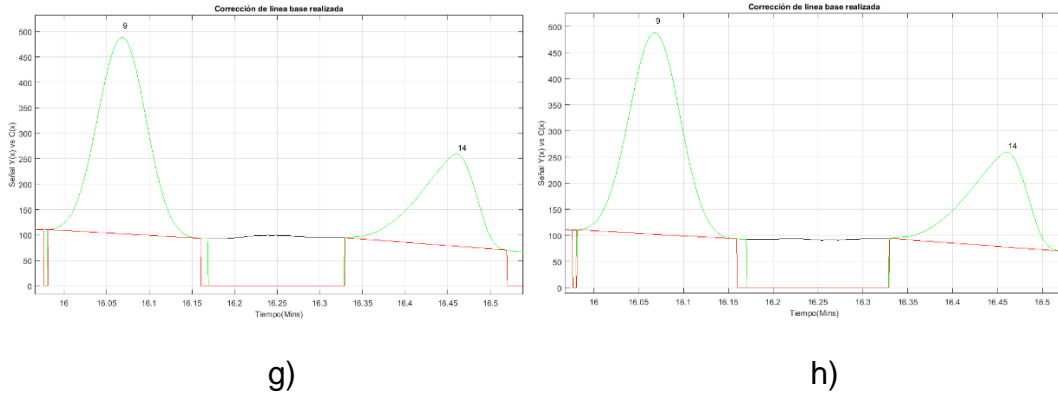
d)



e)



f)



**Figura 60. Detección del pico del Aldrin a diferentes concentraciones a) 100% b) 50% c) 10% d) 5% e) 4% f) 3% g) 2% h) 1%**

### 3.1.6.2 Desempeño del método de corrección de línea base:

Para evaluar el desempeño del método utilizado para la corrección de línea base se tomó el pico patrón de Aldrin de la figura 38 como  $P(X)$ , tomando como tiempo inicial de integración el primer valor  $X$  donde  $P(X) > 0$  y como final el valor donde deja de serlo:

$$X_{ii} = 19376 \quad ; \quad X_{fi} = 19656$$

Se realizó el cálculo de energía con la ecuaciones 40,41 y 42, obteniendo:

$$E_p = \sum_{i=1}^{279} (\Delta A_i) = 63674,9648$$

Luego se tomó la señal del cromatograma de papa mostrado en la figura 45 como  $Y(X)$  y se le adicióno el pico del Aldrin:

$$Y_m(i) = Y(i) + P(i) \quad /_{19376}^{19656}$$

Se hallaron los tiempos de integración ubicando los valles del pico según las ecuaciones 14 y 17 dando:

$$X_{ii} = 19397 \quad ; \quad X_{fi} = 19607$$

Se halló la función de corrección con las ecuaciones 24 y 25:

$$m = \frac{Y_m(19607) - Y_m(19397)}{19607 - 19397} = 0,1446 \quad ; \quad b = Y_m(19397) - m \cdot 19397 = -185,2954$$

Por lo que la señal de corrección es:

$$C(X) = 0,1446 \cdot X - 185,2954$$

Y se realizó la corrección de línea base del pico con la ecuación 27:

$$P_g(i) / 19656 = Y_m(i) / 19376 - C(i) / 19376$$

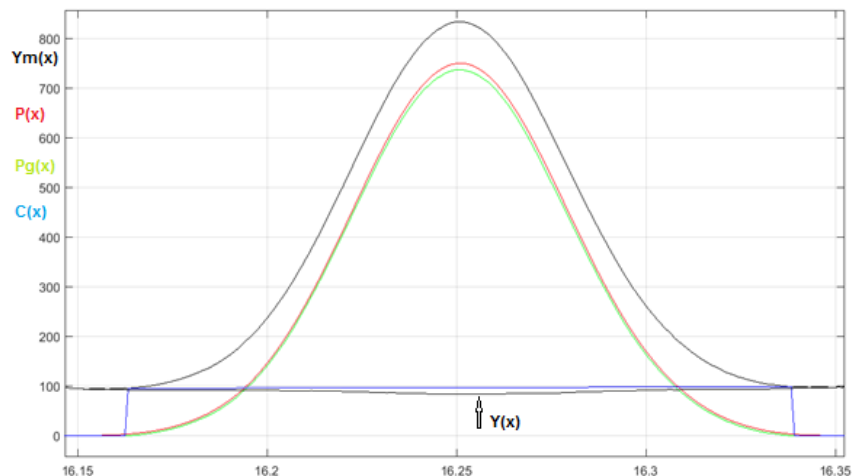
Se calculó la energía del pico corregido:

$$E_{p_g} = \sum_{i=1}^{279} (\Delta A_i) = 62085,4600$$

Por lo que el error en el cálculo de energía generado por el proceso de corrección de la línea base es:

$$\text{Err}_{clb} = E_p - E_{p_g} = -1589,5048$$

$$\% \text{Err}_{clb} = 100 \cdot \frac{\text{Err}_{clb}}{E_p} = -2,4962 \%$$



**Figura 61. Error de corrección de línea base pico de Aldrin**



Con el fin de determinar gráficamente la fuente del error generado se presentan en la figura 60 todas las señales implicadas en el proceso, allí se evidencia que la amplitud del pico  $P_g(x)$  fue disminuida sobre todo en la parte superior, esto se debe a que para hacer la corrección se sustrae de  $Y_m(x)$  la señal de corrección  $C(x)$ , sin embargo, como el pico fue generado sintéticamente se cuenta con la señal original  $Y(x)$  y se puede evidenciar que la señal de corrección que se ha supuesto como lineal, no lo es completamente y es la causa del error generado en el proceso de corrección.

DQS is member of:



## CONCLUSIONES

- Al utilizar técnicas cromatográficas para la determinación de patrones se garantiza una clasificación inicial por tiempos que es generada por la columna cromatográfica.
- Disminuyendo Hmin se pueden detectar picos tan pequeños como 4 de altura máxima, lo que permite tener una buena sensibilidad.
- Al ser calibrado y validado con muestras sintéticas, se encontró un error que va de 0% en el valor de calibración, a 2% al alejarse 50% del mismo, por lo que es recomendable calibrar el sistema lo más cercano a los valores de medición más recurrentes para el pesticida en el alimento analizado.
- Algunas veces no es fácil identificar picos característicos del cromatograma de un alimento determinado, por lo que para estos casos se debería usar los picos de dos sustancias marcadoras como referencia.
- Debido a que en el cálculo de energía relativa se toma como referencia la energía total generada por los picos del alimento de análisis, el sistema es ideal para hacer control de calidad y seguimiento continuo en una línea de producción de un alimento específico.
- Antes de crear un tipo de análisis se debe contar con varios cromatogramas del alimento de interés, para poder establecer los parámetros del tipo de análisis que brinden la mejor capacidad de detección de picos y la mejor exactitud.
- A pesar de realizar una corrección de línea base, existen algunas condiciones como rizado en la señal del detector o picos muy próximos que se afectan mutuamente, que alcanzan a generar un error considerable en la determinación de tiempos de retención y de concentración de un componente.



# BIBLIOGRAFIA

- [1] R. Singh, Chromatography, Mittal Publications, 2002.
- [2] A. B. Littlewood, Gas Chromatography: Principles, Techniques, and Applications. Second Edition., Elsevier, 2013.
- [3] B. Stuart, Gas Chromatography, Royal Society of Chemistry, 2003.
- [4] Z. P. F. G. K. O. David Sparkman, Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A practical guide, Academic Press, 2011.
- [5] C. P. A. Zlatkis, Electron Capture: Theory and Practice in Chromatography, Elsevier, 1981.
- [6] J. Cazes, Analytical Instrumentation Handbook, Third Edition, CRC Press, 2004.
- [7] A. Felinger, Data Analysis and Signal Processing in Chromatography, Elsevier, 1998.
- [8] C. F. Poole, Gas Chromatography, Elsevier, 2012.
- [9] B. B. Thomas Beesley, Quantitative Chromatographic Analysis, CRC Press, 2000.

- [10] P. R. H. C. P. M.-L. R. Salvatore Fanali, Liquid Chromatography, Elsevier, 2017.
- [11] A. Braithwaite, Chromatographic Methods, Springer Science & Business Media, 2012.
- [12] P. E. F. B. P. Robert L. Grob, Modern Practice of Gas Chromatography, John Wiley & Sons, 2004.
- [13] J. L. Tadeo, Analysis of pesticides in food and environmental samples, CRC Press, 2008.
- [14] M. Joshi, Perils of pesticides, Foundation Books, 2005.
- [15] M. J. Levine, PESTICIDES: A toxic Time Bomb in Our Midst, Greenwood Publishing Group, 2007.
- [16] G. Matthews, Pesticides: Health, Safety and Environment, John Wileys & Sons, 2016.
- [17] MATHWORKS, «MATHWORKS.COM,» 23 06 2018. [En línea]. Available: <https://la.mathworks.com/discovery/matlab-gui.html>.
- [18] C. C. R. V. E. R. M. A. S. L. Alejandro Garcia Rios, «Residuos de plaguicidas en tomate (*Solanum Lycopersium*),» *Vitae, Revista de la facultad de ciencias farmaceuticas y alimentarias*, vol. 24, nº 2, pp. 68-79, 2017.
- [19] M. P. M. y. M. J. Q. V. Alfonso Quijano P., «Identificación de carbamatos en el cultivo de durazno : suelo y fruto producido en pamplona, Colombia,» *Agronomía Colombiana*, vol. 34(1 Supl.), pp. S746-S750, 2016.



- [20] F. P. H. I. P. S. Beatriz E. Jaramillo Colorado, «Residuos de pesticidas organofosforados en frutas obtenidas de plaza de mercado y supermercados en Cartagena, Colombia.,» *Revista Ciencias Tecnicas Agropecuarias*, vol. 25, nº 4, pp. 39-46, 2016.
- [21] M. J. Paez M., «Implementacion de la metodologia Quechers en el analisis de residuos de plaguicidas en maiz blanco(Zea mays),» *Temas Agrarios*, vol. 20, nº 2, pp. 30-42, 2015.
- [22] Y. Castilla Pinedo, I. D. Mercado Martinez y M. A. Jurado Eraso, «Presencia de residuos de plaguicidas organoclorados en leche pasteurizada.,» *Revista Avances: Investigacion en Ingenieria*, vol. 11, nº 2, pp. 66-72, 2014.
- [23] J. A. G. K. W. Dario A. Bastidas, «Residuos de plaguicidas en cultivos de pasifloras en regiones de alta produccion en Colombia,» *Revista Colombiana de Quimica*, vol. 42, nº 2, pp. 39-47, 2013.
- [24] J. V. V. J. L. M. Mariluz Hernandez, «Plaguicidas organoclorados en leche de bovinos suplementados con residuos de algod6n en San Pedro, Colombia.,» *Rev. salud publica*, vol. 12(6), pp. 982-989, 2010.
- [25] Y. W. P. H. Fang Qian, «A fully automated algorithm of baseline correction based on wavelet feature points and segment interpolation,» *Optics & Laser Technology*, vol. 96, pp. 202-207, 2017.
- [26] J. T.-L. S. L.-. U. M. G.-. A.-. C. J.A Navarro-Huerta, «Assisted baseline subtraction in complex chromatograms using BEADS algorithm,» *Journal of Chromatography A*, vol. 1507, pp. 1-10, 2017.
- [27] A. K. K. G. A. V. Ahmad Mani-Varsosfaderani, «Estimating complicated baselines in analytical signals using the iterative training of Bayesian

- regularized artificial neural networks,» *Analytica Chimica Acta*, vol. 940, pp. 56-64, 2016.
- [28] H.-D. L. Y.-J. Y. B. W. P. L. H.-P. C. P.-P. L. Y.-B. S. Hai-Yan Fu, «Simple automatic strategy for background drift correction in chromatographic data analysis,» *Journal of Chromatography A*, vol. 1449, pp. 89-99, 2016.
- [29] I. W. S. L. D. Xiaoran Ning, «Chromatogram baseline estimation and denoising using sparsity (BEADS),» *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, vol. 139, pp. 156-167, 2014.
- [30] A. P. Y.-J. A. J. C. Sung-June Baek, «Baseline correction using asymmetrically reweighted penalized least squares smoothing,» *Royal Society of Chemistry*, vol. 140, pp. 250-257, 2015.
- [31] Y. Guo, X. Sun, X. Liu y X. Sun, «A miniaturized portable instrument for rapid determination pesticides residues in vegetables and fruits».
- [32] G. R. Kumar, K. Z. S., R. C.C.N., B. Kaushik, R. D. Damodar, M. T. G.K, J. Nalli y R. D. Prasad, «Assessment of organochlorine pesticide residues in Indian flue-cured tobacco with gas chromatography-single quadrupole mass spectrometer,» *Springer-Verlag 186*, 2014.
- [33] P. Lucia, Fernandez-Alba, C. Veronica y H. Horacio, «Analytical methods for pesticide residues in rice,» *Elsevier B.V30*, vol. 30, pp. 270-291, 2011.
- [34] Z. Jie, Y. Binghua, H. Jiangrui y K. Xianghong, «A multi-residue method for fast determination of 78 pesticides in cranberry extract by gas chromatography triple quadripole mass spectrometry with quechers sample preparation,» *Water resource and Environmental Protection 3*, pp. 2084-2087, 2011.



- [35] A. G. R. A. L. L. B. R. C. Santiago Bedoya P., «Determinación de residuos de plaguicidas organoclorados en suero sanguíneo de trabajadores de cultivo de café y plátano en el departamento del Quindío por GC-uECD,» *Revista colombiana de química*, vol. 43, nº 3, pp. 11-16, 2014.
- [36] W. A. J. v. P. a. P. d. V. Harrie F.G van Dijk, *Fate of Pesticides in the Atmosphere*, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1999.
- [37] J. Kerkel, *Analytical Chemistry for Technicians*, Third Edition, CRC Press, 2010.



Universidad de Pamplona  
Pamplona - Norte de Santander - Colombia  
Tels: (7) 5685303 - 5685304 - 5685305 - Fax: 5682750 - [www.unipamplona.edu.co](http://www.unipamplona.edu.co)

DQS is member of:



*Formando líderes para la construcción de un  
nuevo país en paz*