

ESTUDIO DEL EFECTO MATRIZ EN EL ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

STUDY OF MATRIX EFFECT IN PESTICIDE ANALYSIS BY GAS CHROMATOGRAPHY

Diego A. AHUMADA F.^{1*}, Jairo A. GUERRERO D.¹

Recibido: Septiembre 04 de 2009 Aceptado: Febrero 02 de 2010

RESUMEN

Con el fin de estudiar la variación en las señales cromatográficas inducidas por las matrices de análisis (efecto matriz), se estudian tres matrices bióticas de diferente naturaleza (*Lactuca sativa* L., *Physalis peruviana* L., y *Solanum tuberosum*) y un grupo de plaguicidas de diferentes características fisicoquímicas, organoclorados, organofosforados y piretroides, entre otros. Los análisis se realizan por medio de un cromatógrafo de gases con detección simultánea por microcaptura electrónica (μ ECD) y nitrógeno-fósforo (NPD), acoplados en paralelo. En este estudio se evalúa el efecto matriz por medio de análisis de covarianza y regresión lineal, y se encuentra que cerca del 75% de los plaguicidas estudiados presentan variaciones en la respuesta cromatográfica con respecto a las señales en solvente. Por otro lado se encuentra que la naturaleza de la matriz afecta la respuesta cromatográfica de 18 de los 33 plaguicidas, mientras que la cantidad de matriz inyectada influye en la respuesta de sólo 13 de ellos.

Palabras clave: matriz, plaguicidas, cromatografía de gases.

ABSTRACT

In order to study the matrix-induced chromatographic response enhancement (matrix effect), we select three different types of biotic matrices (*Lactuca sativa* L., *Physalis peruviana* L. and *Solanum tuberosum*) and a group of pesticides of different physicochemical characteristics including organochlorine, organophosphorus and pyrethroids pesticides. These pesticides are determined by gas chromatography by electronic microcapture detector (μ ECD) and nitrogen-phosphorus detector (NPD), coupled in parallel. This study evaluates the matrix effect by analysis of covariance and linear regression. There are nearly 75% of the studied pesticides which have variations in the chromatographic response compared to solvent signals. Furthermore, we notice that the nature of the matrix affect the chromatographic response of 18 of the 33 pesticides and the amount of matrix injected affects the response of only 13 pesticides.

Keywords: matrix, pesticides, gas chromatography.

¹ Grupo de residualidad y destino ambiental de plaguicidas en sistemas agrícolas. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Ciudad Universitaria, Carrera 30 No. 45-03. Edificio 451. A.A. 14490. Bogotá, Colombia.

* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: daahumadaf@unal.edu.co.

INTRODUCCIÓN

En el análisis de residuos de plaguicidas, la necesidad de contar con técnicas analíticas selectivas, sensibles, robustas, y que cubran un gran número de compuestos con diferentes propiedades fisicoquímicas señalan las técnicas cromatográficas como la alternativa más viable. Las dos técnicas cromatográficas más empleadas son la cromatografía líquida de alta eficiencia y la cromatografía de gases de alta resolución. Esta última ha sido la más utilizada en las últimas tres décadas (1).

En el análisis de plaguicidas mediante cromatografía de gases es común encontrarse con variaciones en la respuesta, inducidas por componentes de la matriz. En general, estos fenómenos se caracterizan por aumentar la señal cromatográfica de algunos de los compuestos en estudio (2-7). Una de las principales causas de este fenómeno la constituyen los diferentes tipos de sitios activos que se pueden encontrar a lo largo del sistema cromatográfico, especialmente en la zona del inyector, responsables de la adsorción y/o descomposición térmica de ciertos analitos (2). La naturaleza de estos sitios activos se atribuye a impurezas de metales o grupos silanol, que se pueden encontrar en las superficies de la columna y del vaporizador (8). Por otro lado, este fenómeno se evidencia al comparar la respuesta

cromatográfica de un analito en solvente con la de un analito a la misma concentración en una muestra real, donde puede observarse que en muchos casos la señal del analito en solvente resulta ser inferior hasta en un 95% (9). En la figura 1 se ilustra el mecanismo por el cual se dan diferencias entre las respuestas en solvente y en matriz. Al inyectar los analitos en presencia de componentes de la matriz, la cantidad de estos que se transfieren a la columna resulta ser mayor que al inyectar la misma cantidad de analitos en solvente ($C-X < C-Y$). Este fenómeno se debe a un proceso de competencia entre los analitos y los componentes de la matriz por los sitios activos presentes en el sistema cromatográfico.

En la mayoría de los laboratorios se ha optado por el empleo de curvas de calibración en blancos de matriz, lo cual evita la sobreestimación en los resultados cuantitativos (10,11). La principal desventaja de esta práctica es el notorio deterioro del sistema cromatográfico, debido a la introducción de componentes no volátiles que generan nuevos sitios activos ocasionando que los analitos de interés sean adsorbidos. De otra parte, la inyección de matriz ocasiona pérdida en la resolución de la columna y coelución, por lo que se hace necesario el empleo de sistemas cromatográficos más complejos, como cromatografía bidimensional o cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (12, 13).

En este documento se presentan los resultados del estudio del efecto matriz, en el cual se estudiaron algunas de las principales variables que afectan el proceso de adsorción y/o descomposición en el puerto de inyección, entre las cuales se encuentran la concentración del analito, la naturaleza de la matriz, las propiedades fisicoquímicas del analito y la cantidad de matriz inyectada (2).

MATERIALES Y MÉTODOS

Estándares, reactivos y soluciones

Los estándares de plaguicidas empleados en este trabajo fueron obtenidos del Dr. Ehrenstorfer y de Chemservice, todos con una pureza mayor al 95%. Las soluciones madre fueron preparadas en concentraciones cercanas a $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ en acetato de etilo, y fueron almacenadas en frascos ámbar a -20°C . La mezcla de plaguicidas se preparó en acetato de etilo, tomando diferentes volúmenes de cada una de las soluciones madre hasta obtener un rango de concentraciones entre 1,6 y $98,3 \mu\text{g mL}^{-1}$ y se almacenó en frasco ámbar a -20°C . Todos los

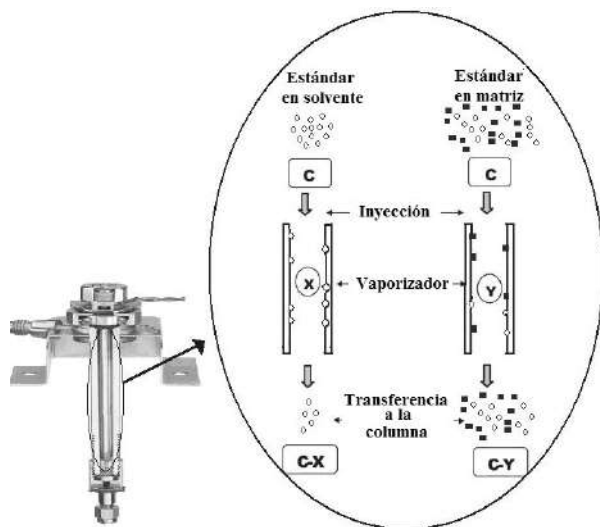


Figura 1. Adsorción de compuestos en el vaporizador del inyector cromatográfico. ○ Analitos de interés ■ Diferentes componentes de la matriz, donde C corresponde a la concentración del analito y X y Y corresponden al número de moléculas que se adsorben ($C-X < C-Y$). Modificado de Hajslová J, Zrostlíková J. 2003 (2).

solventes empleados en este estudio fueron J.T. Baker, grado residuos.

Obtención y preparación de los extractos blanco

Se utilizaron muestras de papa (*Solanum tuberosum*), lechuga (*Lactuca sativa* L.), y uchuva (*Physalis peruviana* L.), exentas de plaguicidas, obtenidas en supermercados de cadena y certificadas como productos orgánicos. Se lavaron con abundante agua y se retiró todo material ajeno de su superficie. Finalmente, para asegurarse de que las muestras se encontraran libres de plaguicidas, se evaluaron mediante cromatografía de gases.

Para la obtención de los extractos blancos se empleó una metodología estandarizada en ensayos previos (14-16). Para este proceso, en una probeta de extracción se depositaron 30 g de la matriz homogeneizada, se les adicionaron 60 mL de acetato de etilo, 4 g de bicarbonato de sodio y 30 g de sulfato de sodio anhidro; se sometieron a extracción en un homogeneizador de alta velocidad a 11000 rpm durante 1,50 minutos. Se pasaron 30 mL de extracto a través de un embudo de vástago corto, que contenía algodón previamente lavado con acetato de etilo y 25 g de sulfato de sodio anhidro. El filtrado se transfirió a un balón y se evaporó a 35°C, teniendo precaución de dejar aproximadamente 0,5 mL de solvente sin evaporar. Se realizó una transferencia cuantitativa a un balón de 2 mL, se efectuó una dilución 1:2. Se inyectaron 500 μ L del extracto diluido en un cromatógrafo de permeación por gel, se recogió la fracción de plaguicidas (7 mL a 22 mL) en un balón de 20 mL. Se sometió a evaporación a una temperatura de 35°C, dejando aproximadamente 0,5 mL de la mezcla de solventes sin evaporar, y se hizo una transferencia cuantitativa a un balón de 2 mL. Finalmente se llevó a volumen con acetato de etilo.

Instrumentos y equipos

En el proceso de extracción se empleó un homogeneizador Stephan Blender 2010, un homogeneizador de alta velocidad Ultraturrax (IKA T25), y un evaporador rotatorio Buchi R-114. Para el proceso de limpieza se utilizó un cromatógrafo de permeación en gel de Redement Bt, modelo KL-SX-3, equipado con una columna de vidrio de 20 cm x 10 mm d.i., empacada con gel Biobeads® S-X3 como fase estacionaria y una mezcla de ciclohexano: acetato de etilo (1:1) como fase móvil a un flujo de 1 mL min⁻¹.

El análisis cromatográfico se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases HP6890 plus con inyector automático 7683 Agilent Technologies (Palo Alto, CA, EUA), con control electrónico de presión, equipado con inyector split/splitless conectado a un divisor de flujo (Y) de borosilicato unido una columna capilar HP-5 (30 m; 0,32 mm d.i; 0,25 μ m), acoplada a un detector de microcaptura electrónica μ -ECD⁶³Ni y una columna capilar HP-50 (30 m; 0,32 mm d.i; 0,25 μ m) acoplada a un detector de nitrógeno-fósforo NPD en paralelo. Las condiciones cromatográficas empleadas en el análisis de los plaguicidas fueron las siguientes: volumen de inyección 2 μ L, inyección en modo splitless pulsado con presión de pulso de 152 kPa durante 0,8 minutos; tiempo de purga de 0,6 minutos, flujo de purga 40 mL min⁻¹ y temperatura de inyector de 256°C. El gas de portador fue nitrógeno. El programa de temperatura en el horno fue de 52°C (0 min) a 100°C, a una velocidad de 4°C min⁻¹. Gradualmente se incrementa la temperatura hasta 110°C a 2°C min⁻¹, a continuación se lleva hasta 130°C a una velocidad de 20°C min⁻¹, luego, hasta 195°C a 4°C min⁻¹ y, finalmente, se alcanza una temperatura de 280°C a una velocidad de 5°C min⁻¹. El tiempo total del análisis es de 64,25 minutos.

Finalmente, la temperatura del detector μ -ECD fue 310°C con flujo de gas auxiliar de 10 mL min⁻¹ (N₂). El detector NPD trabajó a 330°C, con flujos de gas auxiliar de 10 mL min⁻¹, de H₂ de 3 mL min⁻¹ y aire de 60 mL min⁻¹.

Estudio del efecto matriz

Para la determinación del efecto matriz se prepararon curvas de calibración en solvente y en el extracto de matriz previamente obtenido. Cada una de las curvas estaba constituida por cinco niveles de calibración y cada uno de estos niveles presentaba tres réplicas. Su elaboración se logró con una mezcla de plaguicidas de diferentes concentraciones, que aparecen en la tabla 1. Para ello se tomaron 16 μ L, 32 μ L, 48 μ L, 64 μ L y 80 μ L y se llevaron a 1 mL con solvente o extracto de matriz. En todos estos ensayos se empleó fosfato de tris (2-cloro-1(clorometil) etil), como estándar interno.

Para estudiar el efecto de la cantidad y el tipo de matriz, se realizó un diseño factorial con 4 niveles de cantidad de matriz (0,91 g mL⁻¹; 0,76 g mL⁻¹; 0,61 g mL⁻¹ y 0,46 g mL⁻¹), y tres diferentes matrices (lechuga, papa y uchuva). Para este ensayo se emplearon 16 μ L de la mezcla de plaguicidas (nivel

Tabla 1. Concentraciones de los plaguicidas empleados en el estudio.

Compuesto	Concentración ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Compuesto	Concentración ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Acefato	30,00	Heptenofos	17,0
β -ciflutrina	5,70	Iprodion	8,2
Cihalotrina	11,50	Isofenfos	5,7
Cipermetrina	2,90	Malatión	11,5
Clorotalonil	4,00	Metalaxil	17,2
Clorpirifos	2,20	Metamidofos	30,0
Deltametrina	1,70	Monocrotofos	12,9
Diazinón	17,20	m-paratión	8,0
Diclofluanid	3,20	4,4-DDT	1,6
Diclorvos	16,90	Permetrina	3,0
Difenoconazol	23,70	Pirazofos	8,7
Dimetoato	11,50	Profenofos	3,6
Endosulfán ($\alpha + \beta$)	3,30	Propargite	96,1
Fenamifos	3,00	Tebuconazol	28,8
γ -HCH	2,00	Tetradifón	5,7
HCB	2,00	Tiabendazol	64,0

1 de la curva de calibración), 20 μL del E.I., se adicionaron diferentes volúmenes de blanco de matriz indicados en la tabla 2, y finalmente se completó a 1 mL con acetato de etilo.

Tabla 2. Estudio de la cantidad y del tipo de matriz inyectada.

Experimento	Volumen de extracto empleado (μL)	g de matriz obtenidos / mL de extracto
1	964	0,91
2	804	0,76
3	645	0,61
4	485	0,46

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Expresión y evaluación del efecto matriz

En el presente trabajo el efecto matriz se expresará por medio del porcentaje de efecto matriz (%EM), que consiste en determinar la relación entre la respuesta como área en matriz y la respuesta como área en solvente (17). En la tabla 3 se muestran los

resultados de %EM obtenidos para algunos de los plaguicidas en estudio a un nivel 1 de la curva de calibración.

En la tabla 3 se observa que, para todos estos compuestos, se presentan %EM superiores al 100%, a excepción del β -endosulfán y el 4,4'-DDT. Esto indica que, probablemente, se presenta efecto matriz. En algunos casos, como el acefato, diclorvos, dimetoato, malatión, profenofos, monocrotofos entre otros, estos valores de %EM se correlacionan con lo reportado en la literatura (7). Por otro lado, al comparar el %EM en las matrices se observa que en el caso de la papa se presentan los mayores valores, lo cual indica que esta matriz es posiblemente la que evita en mayor proporción la adsorción de los analitos en el vaporizador del cromatógrafo (conocido en inglés como liner).

Para determinar la presencia del efecto matriz se aplicaron dos pruebas estadísticas: la primera correspondió al método de regresión lineal (17), y la segunda al análisis de covarianza (ANCOVA), donde se empleó como covariable la concentración de cada uno de los plaguicidas. En la evaluación de los supuestos de estos dos modelos, se encontró que el error es una V.A.I. $N(\Phi, \sigma^2)$. Todo el análisis

Tabla 3. Determinación de porcentaje de efecto matriz (%EM) mediante los dos detectores empleados.

Compuesto / Detector	%EM (n=3)			Compuesto / Detector	%EM (n=3)		
	Lechuga	Papa	Uchuva		Lechuga	Papa	Uchuva
4,4-DDT μ ECD	74,3	134,1	137,9	Heptenofos μ ECD	176,7	151,1	172,4
Acefato NPD	172,6	146,9	197,3	Iprodion μ ECD	126,8	176,4	118,2
Clorotalonil μ ECD	128,8	127,6	106,0	Isofenfos NPD	133,9	119,0	103,3
Clorpirifos NPD	156,8	139,1	120,4	Isofenfos μ ECD	111,7	231,2	373,5
Diazinón NPD	122,8	104,5	113,0	Malatión NPD	138,4	129,4	151,2
Diazinón μ ECD	123,6	109,4	93,9	Monocrotofos NPD	156,6	245,2	174,5
Diclorvos NPD	133,0	187,8	236,2	m-paration NPD	127,7	144,7	139,5
Diclorvos μ ECD	761,8	1160,3	634,0	m-paration μ ECD	126,0	130,1	103,4
Dimetoato NPD	142,7	167,9	139,3	Permetrina μ ECD	302,0	104,4	117,4
Dimetoato μ ECD	167,1	164,8	146,3	Pirazofos NPD	111,4	139,5	109,5
α -Endosulfan	121,7	108,1	99,7	Profenofos NPD	125,7	131,4	111,0
β -Endosulfan	104,5	100,9	119,0	Profenofos μ ECD	124,6	117,9	104,7
Fenamifos NPD	108,6	111,8	104,7	Tebuconazol NPD	220,8	118,7	130,6
HCB	124,0	111,1	101,7	Tiabendazol NPD	362,9	221,4	195,4

estadístico se llevó a cabo con el paquete estadístico SAS®, a un nivel de significancia del 5%.

En la tabla 4 se encuentran los resultados de la evaluación del efecto matriz por medio de análisis de covarianza. Se observa que la papa es la matriz que genera un mayor número de compuestos con efecto matriz, lo cual se correlaciona con los porcentajes de efecto matriz determinados y presentados previamente en la tabla 3. En este estudio se evidenció el efecto matriz en extracto de papa para compuestos que comúnmente no lo presentan. Tal es el caso del HCB (2).

También en la tabla 4 se observa que las tres matrices inducen el efecto matriz en algunos compuestos en común, tales son los casos de acefato, dimetoato y pirazofos, conocidos por su gran sensibilidad a procesos de adsorción en el vaporizador del inyector (8).

Por otro lado se encontró que la uchuva es la solanácea que presenta el menor número de compuestos con efecto matriz. En términos generales, de los 25 compuestos que presentaron efecto matriz, 12 se encuentran en una sola matriz, lo cual evidencia la influencia del carácter de la matriz, aunque no resulta conveniente concluir a partir de esto pues se trata de experimentos independientes.

Finalmente, con respecto a los resultados de la evaluación del efecto matriz mediante el empleo de la regresión lineal, se encuentra que todos los plaguicidas lo presentan, a excepción del isofenfos en la matriz de lechuga. Esta falta de concordancia entre los resultados que se observan en cada una de las técnicas estadísticas es objeto de discusión en algunas publicaciones (17).

Tabla 4. Resultados en la evaluación del efecto matriz mediante ANCOVA (X indica que se presenta efecto matriz en uno de los detectores, al menos).

Compuesto	Lechuga	Papa	Uchuva
Accefato	X	X	X
Cihalotrina		X	
Clorotalonil		X	
Clorpirifos		X	X
Diazinón	X	X	
Diclofluanid	X		
Diclorvos	X	X	
Dimetoato	X	X	X
α Endosulfan		X	
β Endosulfan	X		
γ -HCH	X		
HCB		X	
Heptenofos		X	X
Isofenfos			X
Malation	X	X	
Metamidofos	X	X	
Monocrotofos		X	
m-paration		X	X
4,4'-DDT		X	
Permetrina		X	
Pirazofos	X	X	X
Profenofos	X	X	
Propargite	X		
Tetradifon		X	
Tiabendazol			X

Estudio de la cantidad y el tipo de matriz

Como se mencionó con anterioridad, para estudiar la influencia del tipo y la cantidad de matriz se empleó un diseño factorial, que se puede representar mediante la siguiente ecuación:

$$R_n = C + TM + C \times TM + \varepsilon_{EE} \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde R_n corresponde a la respuesta del n plaguicida en área, C corresponde a la cantidad de matriz inyectada junto con el plaguicida, TM corresponde al tipo de matriz (lechuga, papa o uchuva), y ε_{EE} corresponde al error experimental. Las hipótesis que se plantean con este diseño son:

H_{01} : No existe interacción significativa entre el tipo de matriz y la cantidad de ésta.

H_{11} : Existe interacción significativa entre el tipo de matriz y la cantidad de ésta.

H_{02} : La respuesta no varía significativamente entre matrices.

H_{12} : Al menos una respuesta en una matriz es diferente.

H_{03} : La respuesta no varía significativamente con la cantidad de matriz.

H_{13} : Al menos una respuesta para una cantidad de matriz es diferente.

Se probó cada uno de los supuestos de este modelo, encontrándose que el error es V.A.I. $NN(\Phi, \sigma^2)$; por lo tanto, se puede aplicar el análisis de varianza (ANAVA) correspondiente, con el fin de probar cada una de las hipótesis planteadas.

Se encontró que para los plaguicidas cihalotrina, diclorvos, iprodión, 4,4-DDT, permetrina, profenofos, β endosulfan, dimetoato, heptenofos, clorpirifos y cipermetrina se rechaza la hipótesis H_{01} , por lo cual se puede concluir que el efecto matriz que estos plaguicidas puedan tener es función tanto de la matriz como de la cantidad de ésta y que existe una interdependencia de estas dos variables que afecta la respuesta cromatográfica. Esto concuerda con lo planteado con anterioridad sobre la influencia del tipo de matriz en las respuestas cromatográficas.

En cuanto a los plaguicidas restantes, como no existe ningún tipo de interacción entre tipo y cantidad de matriz, se pueden comprobar las hipótesis restantes (H_{02} y H_{03}).

En la figura 2 aparecen los resultados de probabilidad de aceptar H_{02} . Allí puede observarse que no hay diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las respuestas cromatográficas para clorotalonil, clorpirifos, HCB, iprodión, isofenfos, metalaxil y metamidofos. Estos resultados indican que es posible preparar curvas de calibración para estos compuestos en cualquiera de las matrices en estudio y la respuesta cromatográfica sería estadísticamente igual. Por otro lado, los compuestos que tienen probabilidades inferiores al 0,05 indicados en la figura 2, son aquellos en los que se presentan diferencias significativas entre las matrices, lo cual indica que las respuestas cromatográficas se ven afectadas por el tipo de matriz.

En la figura 3 se muestran los resultados para probar la influencia de la cantidad de matriz sobre la respuesta cromatográfica (H_{03}). Allí se puede observar que solamente acefato y fenamifos presentan diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto a las diferentes cantidades de matriz inyectada. Esto implica que en ninguno de los plaguicidas restan-

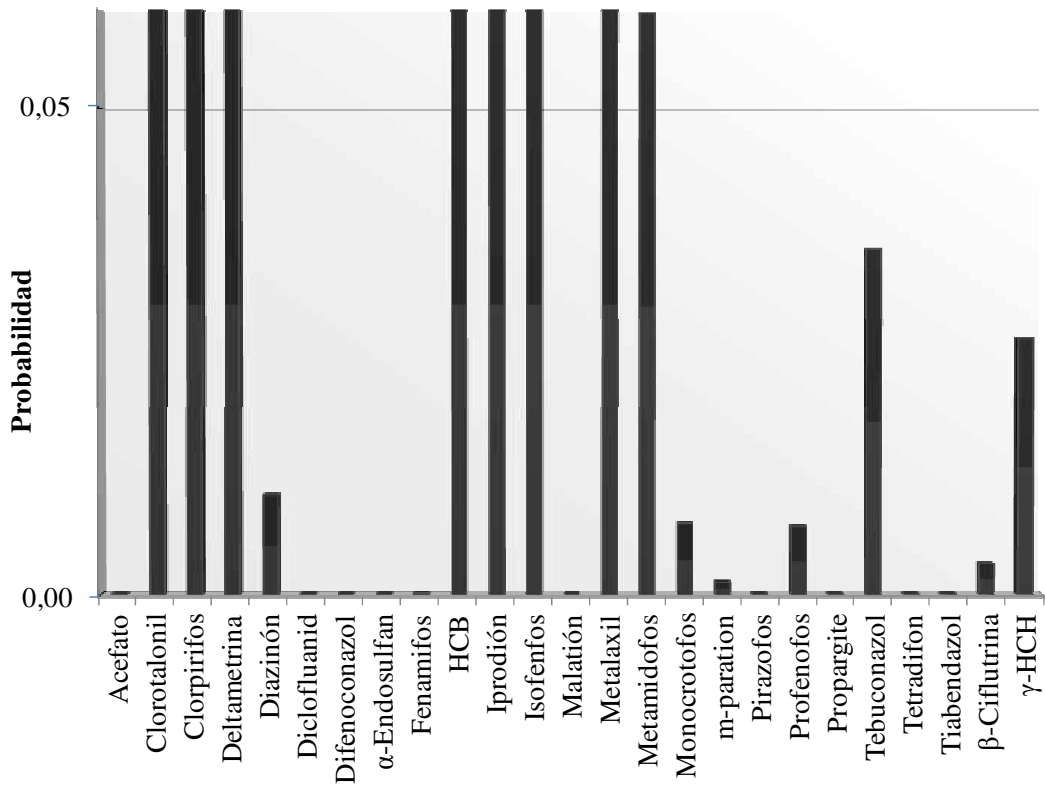


Figura 2. Probabilidad de aceptar H_{02} (la respuesta no varía significativamente entre matrices).

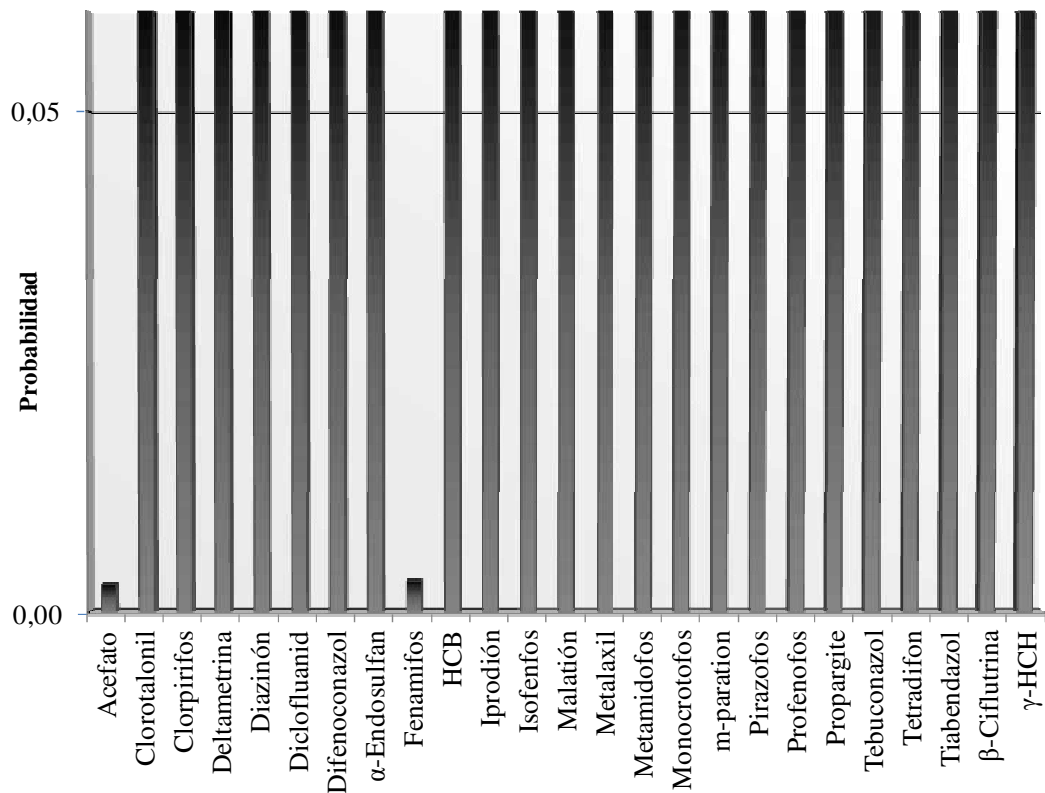


Figura 3. Probabilidad de aceptar H_{03} (la respuesta no varía significativamente con la cantidad de matriz).

tes que aparecen en la figura 3, se aprecia alguna diferencia en la señal cromatográfica al emplear la máxima cantidad de matriz o la mínima, lo cual podría indicar que la cantidad de componentes inyectados de la matriz en la mínima cantidad (0,46 g mL⁻¹), es suficiente para ocupar los sitios activos del sistema cromatográfico y, en consecuencia, no hay diferencias en las respuestas cromatográficas para la mayoría de los compuestos.

CONCLUSIONES

Mediante el análisis de covarianza se encontró que 25 de los plaguicidas estudiados sufrieron efecto matriz en una de las matrices estudiadas, al menos. Tanto el porcentaje de efecto matriz como la evaluación estadística del efecto matriz indicaron que la matriz de papa afecta en mayor proporción la respuesta cromatográfica para 19 plaguicidas, mientras que para los extractos de uchuva y lechuga se encontró efecto matriz sólo en 8 y 12 plaguicidas respectivamente.

Se encontró que la respuesta cromatográfica para los plaguicidas cihalotrina, diclorvos, iprodión, 4,4'-DDT, permetrina, profenofos, β -endosulfan, dimetoato, heptenofos, clorpirifos y cipermetrina depende tanto del tipo de matriz como de la cantidad de matriz inyectada. Por su parte, las respuestas cromatográficas para clorotalonil, clorpirifos, HCB, iprodión, isofenfos, metalaxil y metamidofos varían de acuerdo con el tipo de matriz, lo cual evidenció la influencia de la naturaleza de la matriz.

En el estudio del efecto de la cantidad de matriz se encontró que las respuestas cromatográficas de tiabendazol, β -Ciflutrina, tetradifón, monocrotofos, difenoconazol, malatión, isofenfos, deltametrina, iprodión, diclofluanid, metamidofos, tebuconazol, diazinón, pirazofos, α -endosulfan, profenofos, γ -HCH, clorotalonil, HCB, clorpirifos, metalaxil, propargite y m-paratión no presentan diferencias significativas al inyectar la mayor cantidad de matriz (0,91 g mL⁻¹) o la menor (0,46 g mL⁻¹). Pero para los nueve plaguicidas restantes se apreciaron diferencias significativas en las respuestas obtenidas a las diferentes cantidades de matriz estudiadas.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros agradecimientos al Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, y al Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA), Viena, Austria, por su colaboración y financiación de este proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fong WG, Moye HA, Seiber JN, Toth JP. Pesticide Residues in Foods: techniques and regulations. Munich: John Wiley & Sons; 1999.
2. Hajslová J, Zrostlíková J. Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. *J Chromatogr A*. 2003; 1000 (1-2): 181-97.
3. Anastassiades M, Mastovská K, Lehotay SJ. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *J Chromatogr A*. 2003; 1015 (1-2): 163-84.
4. Cuadros-Rodríguez L, García-Campaña AM, Almansa-López E, Egea-González FJ, Castro Cano L, Garrido Frenich A, *et al*. Correction function on biased results due to matrix effects: Application to the routine analysis of pesticide residues. *Anal Chim Acta*. 2003; 478 (2) :281-301.
5. Dijkman E, Mooibroek D, Hoogerbrugge R, Hogendoorn E, Sancho JV, Pozo O, *et al*. Study of matrix effects on the direct trace analysis of acidic pesticides in water using various liquid chromatographic modes coupled to tandem mass spectrometric detection. *J Chromatogr A*. 2001; 926 (1): 113-25.
6. Pinho GP, Neves A, Queiroz M, Silvério FO. Matrix effect in pesticide quantification by gas chromatography. *Quimi Nova*. 2009; 32 (4): 987-995.
7. Egea González FJ, Hernández Torres ME, Almansa López E, Cuadros-Rodríguez L, Martínez Vidal JL. Matrix-effects of vegetable commodities in electron-capture detection applied to pesticide multiresidue analysis. *J Chromatogr A*. 2002; 966 (1-2): 155-65.
8. Hajlová J, Holadová K, Kocourek V, Poustka J, Godula M, Cuhra P, *et al*. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. *J Chromatogr A*. 1998; 800 (2): 283-95.
9. Erney DR, Gilvydis DM, Poole CF. Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with splitless or hot on-column injection and flame photometric detection. *J Chromatogr A*. 1993; 638 (1): 57-63.
10. Mastovska K, Lehotay SJ, Anastassiades M. Combination of Analyte Protectants to Overcome Matrix Effects in Routine GC Analysis of Pesticide Residues in Food Matrixes. *Anal Chem*. 2005; 77 (24): 8129-8137.
11. Kocourek V, Hajlová J, Holadová K, Poustka J. Stability of pesticides in plant extracts used as calibrants in the gas chromatographic analysis of residues. *J Chromatogr A*. 1998; 800 (2): 297-304.
12. Zrostlíková J, Hajslová J, Godula M, Mastovská K. Performance of programmed temperature vaporizer, pulsed splitless and on-column injection techniques in analysis of pesticide residues in plant matrices. *J Chromatogr A*. 2001; 937 (1-2): 73-86.
13. Bordajandi LR, Ramos JJ, Sanz J, González MJ, Ramos L. Comprehensive two-dimensional gas chromatography in the screening of persistent organohalogenated pollutants in environmental samples. *J Chromatogr A*. 2008; 1186 (1-2): 312-324.
14. Dallüge J, van Rijn M, Beens J, Vreuls RJJ, Brinkman UAT. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection applied to the determination of pesticides in food extracts. *J Chromatogr A*. 2002; 965 (1-2): 207-217.
15. Guerrero JA. Estudio de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas en áreas específicas de Colombia. *Revista Agronomía Colombiana*. 2003; 21 (3): 198-209.
16. Montaña M. Validación de una metodología multiresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en fresa (*Fragaria spp.*) por cromatografía de gases. *Rev Colomb Quim*. 2001; 30 (1): 37-46.
17. Ambrus A, Fajgelj A. Principles and practices of method validation. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2000.