

Desarrollo de un método analítico para la determinación de plaguicidas organoclorados como modificación de la NOM-021-ZOO-1995

Oswaldo Nicolás Rodríguez Valdés*, Laura Renné Velázquez Chong*, Sonia del Carmen Soto Alvarado*, Guillermo Rodríguez Ventura** y Eduardo Sánchez López*

RESUMEN

Se desarrolló un nuevo método con un sistema GC/PTV/EI/MSMS, orientado a la detección y cuantificación de 21 plaguicidas organoclorados en grasa de ganado bovino: α -BHC, γ -BHC (lindano), β -BHC, δ -BHC, Heptacloro, Aldrin, Heptacloro epóxido, γ -clordano, α -clordano, Endosulfan I, p,p'-DDE, Dieldrin, Endrin, Endosulfan II, p,p'-DDD, Endrin aldehído, p,p'-DDT, Endosulfan sulfato, Metoxicloro y Mirex, como una propuesta de mejora tecnológica, para el cumplimiento de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994 basándose en la metodología de extracción según la Norma Oficial Mexicana NOM-021-ZOO-1995. Se utilizó un sistema de cromatografía gaseosa con analizador de trampa de iones, con un controlador automático de flujo en el espectrómetro de masas. Aumentando la presión en la trampa de iones con altos flujos de helio para la optimización en la selección del ion precursor de cada plaguicida y amplificando las señales de los iones producto, se lograron mediciones por MSMS con valores de sensibilidad que superan a los detectores de captura electrónica, se obtuvieron coeficientes de correlación $\geq 0,990$, alcanzando recuperaciones en grasa de bovino entre 60 % -120 %, cumpliendo el método con las exigencias de las Normas Oficiales Mexicanas.

ABSTRACT

A new method was developed with a GC/PTV/EI/MSMS system designed for the detection and quantification of 21 organochlorine pesticides in bovine fat: α -BHC, γ -BHC (lindane), β -BHC, δ -BHC, Heptachlor, Aldrin, Heptachlor epoxide, γ -chlordane, α -chlordane, Endosulfan I, p,p'-DDE, Dieldrin, Endrin, Endosulfan II, p,p'-DDD, Endrin aldehyde, p,p'-DDT, Endosulfan sulfate, Methoxychlor and Mirex, as a proposal for technological improvement in complying with the Mexican Official Norm NOM-004-ZOO-1994 based on the extraction methodology specified in the Mexican Official Norm NOM-021-ZOO-1995. A Gas Chromatography system was used with an ion trap analyzer and an automatic flow controller in the MS system's hardware. Increasing the pressure inside the ion trap with high helium flows to optimize the selection of the precursor ion for each pesticide, and amplifying the signals of the product ions, achieved measurements of MSMS with sensitivity values superior to those of electronic capture detectors (ECD), provided correlation coefficient values of $\geq 0,990$, and recovery values in bovine fat of between 60 % and 120 %, thus satisfying the requirements demanded by the Mexican Official Norm.

Recibido: 15 de Junio de 2009
Aceptado: 30 de Noviembre de 2009

INTRODUCCIÓN

El análisis de plaguicidas organoclorados en grasa animal, en los laboratorios de constatación Autorizados/Aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, se realiza empleando un sistema de cromatografía gaseosa con detector semi específico de captura electrónica (ECD), NOM-021-ZOO-1995.

Palabras clave:

Plaguicidas organoclorados; GC/PTV/EI/MSMS; Método analítico.

Keywords:

Organochlorine Pesticides; GC/EI/PTV/MSMS; Analytical method.

La metodología para la determinación de los plaguicidas organoclorados en grasa animal y sus MRL viene descrita en USDA-FSIS, 1991 y en la NOM-021-ZOO-1995.

La identificación se cumple estrictamente cuando se realiza empleando dos columnas de diferente polaridad y el tiempo de retención de los plaguicidas estudiados coincide con el de los estándares analíticos; y para una confirmación es necesario el empleo de un espectrómetro de masas. Con la

*Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Km. 3.5 Carretera Mexicali-San Felipe, Fracc. Campestre S/N C.P. 21386, Mexicali, Baja California, México

** Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Calzada Tecnológico S/N. Delegación Mesa de Otay, Tijuana, Baja California, México.

finalidad de mejorar la sensibilidad también se ha utilizado el método de GC/MS con la técnica de monitoreo del ion selectivo (Butler, 2007), el cual puede tener complicaciones por la interferencia de la matriz, también se han empleado métodos de Ionización Química Negativa (NCI) (Fannin, 1998), pero estos presentan el problema de que para obtener los iones pseudomoleculares, se tienen que controlar variables relacionadas con la temperatura y la presión de la cámara de ionización. El uso de diferentes inyectores también se han ensayado para mejorar la sensibilidad de los sistemas cromatográficos (Pigozzo, 1997).

Un análisis de multiresiduos de plaguicidas organoclorados fue realizado por Yumiko, (1994), aplicando la combinación de técnicas analíticas, pero para llegar a los límites de detección adecuados fue necesario utilizar GC-ECD obteniendo resultados de 0,1 µg/ml.

Para el análisis de plaguicidas organoclorados también se ha empleado la técnica de MSMS con la técnica de ionización por impacto electrónico (EI) (Martínez Vidal, 2002; Mateu, 2003); sin embargo también se emplean diferentes analizadores, trampa de iones, triple cuadrupolos y otros sistemas analíticos como sistemas LC/MSMS (Beck, 2008).

La validación del método tiene criterios particulares y va a depender de las necesidades del laboratorio y de la relación costo/beneficio (Rosso, 2003) publicó una sugerencia para la validación de métodos analíticos, en donde se menciona que se evalúa la reproducibilidad, linealidad, entre otros parámetros.

Se han publicado determinaciones de plaguicidas organoclorados aplicando el sistema de GC/MSMS estudiando la influencia del controlador de flujo automático del gas helio en la trampa con los diferentes métodos de adquisición Barrido total (*Full Scan*), monitoreo de Iones Selectivos (SIM) y Masas Masas (MSMS), estudiando el incremento de las señales con los diferentes modos de medición con los analizadores de trampa de iones (Crockett, 2002).

El análisis por GC/MSMS en matrices biológicas fue aplicado con éxito, describiendo la metodología usando trampa de iones en la determinación de residuos de organoclorados en muestras de origen marino (Edwards, 1998).

Wylie, en 1997, empleó para el análisis de plaguicidas organoclorados un inyector PTV, pero para llegar a los niveles de sensibilidad fue necesario inyectar grandes volúmenes de muestra, utilizó un sistema GC-MS con analizador cuadrupolo simple y el modo de adquisición fue el de monitoreo de iones selectivos (SIM).

El inyector de temperatura programable ha sido empleado con éxito en el análisis de residuos de compuestos anabólicos, evitando la degradación térmica y llegando a límites de detección por debajo de los µg/kg (Rodríguez, 2007).

En este desarrollo analítico se utiliza la técnica de MSMS, una trampa de iones con un modulo de control de flujo automático del gas helio en la trampa de iones para optimizar el trapeo de los iones precursores e incrementar la señales de los iones productos para cada uno de los plaguicidas. Se estudió la influencia de estos altos valores de flujo en los modos de barrido completo y en MSMS para la propuesta de la modificación de la NOM-021-ZOO-1995.

Se empleó un inyector de temperatura programable (PTV) y se estudiaron los métodos de introducción de muestra en este inyector, la inyección por pulsos y la de *splitless*, para estudiar la menor degradación de los plaguicidas organoclorados en el puerto de inyección y la menor pérdida que estos plaguicidas puedan tener después del inicio del análisis en la columna cromatográfica. Los niveles de detección y cuantificación cumplieron las exigencias de los MRL de la NOM-004-ZOO-1994 y de la UE para proteger las exportaciones mexicanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de soluciones madre

A partir de una mezcla de 20 plaguicidas organoclorados CLP de 2000 µg/ml, Supelco 47426-U (lote LB55990, autorización de trazabilidad hacia patrones extranjeros emitida por la Dirección General de Normas de la Secretaría DGN.312.01.2009.1111 página 1 renglón 9) con pureza entre (96,9-99,9)% de α -BHC, γ -BHC (lindano), β -BHC, δ -BHC, Heptacloro, Aldrín, Heptacloro epóxido, γ -clordano, α -clordano, Endosulfan I, p,p'-DDE, Dieldrín, Endrín, Endosulfan II, p,p'-DDD, Endrín aldehído, p,p'-DDT, Endosulfan sulfato, Endrín cetona, y Metoxicloro), se preparó una solución madre de 80µg/ml, diluyendo la mezcla en 25 ml de hexano:tolueno 50:50 grado Omnisolv/Unisolv (EM lote 41147; SPECTRUM lote LE0132) en un matraz volumétrico clase A.

Por separado se pesó 10 mg de Mirex, 99,4% pureza, Chem Service lote 243-54A, (autorización de trazabilidad hacia patrones extranjeros emitida por la Dirección General de Normas de la Secretaría DGN.312.01.2005.912 página 3 renglón 33) en una balanza analítica OHAUS AP210S (informe de calibración LMC-CCE1799/07), y se diluyó con hexano:tolueno 50:50 en un matraz volumétrico clase A de 100 ml, para obtener una solución madre con 100 µg/ml

aproximadamente, ya que se ajustó la concentración considerando la pureza del plaguicida.

Todas las soluciones de trabajo se diluyeron en matraces volumétricos clase A de 10 ml, con la mezcla hexano:tolueno 50:50, hasta conseguir los niveles de concentración de (0,04; 0,02; 0,01; 0,005 y 0,0025) µg/ml.

Extracción

Se pesaron 0,18 g de grasa animal, en vasos de precipitado de 100 ml, el siguiente lote de muestras: un blanco de disolventes, un blanco de muestras, las recuperaciones de la curva de calibración y recuperaciones de 0,04 µg/ml para evaluación al desempeño del analista.

Se transfirieron las muestras de grasa derretida con temperatura, al interior de columnas empacadas en el laboratorio con alúmina activada, neutra, (Brockmann1, grado estándar, ~150 malla, Aldrich 199974), evaluadas previamente de acuerdo con el procedimiento de extracción de la NOM-021-ZOO-1995. Se adicionó el volumen de elución de aproximadamente 70 ml de hexano Unisolv, sin permitir que la columna se secase, agregando poco a poco y regulando el flujo de salida del eluato, colectándose en un matraz redondo de fondo plano con junta esmerilada de 250 ml. La concentración de la muestra se llevó a cabo en un rotavapor Buchi (R-124, con baño de agua B-481), a 87 rpm y 47 °C, hasta obtener un volumen aproximado de 4 ml o menos. Se transfirió a un tubo de centrifuga graduado de vidrio y se llevó a volumen de 4 ml, finalmente se pasaron a viales ámbar de 2 ml de vidrio y tapón PTFE/Silicona para su inyección en el sistema GC/PTV/MSMS.

Instrumentación analítica

Se utilizó un sistema de Cromatografía Gaseosa Thermo Trace GC Ultra con un inyector de temperatura programable (PTV), un sistema automatizado de inyección de muestras, AS 3000, Espectrómetro de Masas POLARIS Q de la firma Thermo Fisher Scientific con analizador de trampa de iones y un módulo de control automático de flujo.

Procedimiento analítico

Los parámetros de operación del sistema GC/PTV/EI/MS se resumen en las siguientes tablas: en la Tabla 1, Parámetros de operación del Automuestreador; Tabla 2, los parámetros de operación del Cromatógrafo de gases; la Tabla 3, muestra los parámetros de operación del inyector de temperatura programable (PTV) y en la Tabla 4, los parámetros del Espectrómetro de masas.

Tabla 1.
Parámetros de operación del Automuestreador AS 3000.

Volumen de muestra	3,00 µl
Enjuagues de émbolo	3
Muestra viscosa	No
Profundidad de muestreo en el vial	Fondo
Profundidad de inyección	Mínimo
Solvente de Pre-Inyección	A
Ciclos de solvente de Pre-Inyección	4
Enjuagues de la muestra	2
Solvente de Post Inyección	A
Ciclos del solvente de Post-Inyección	4

Tabla 2.
Parámetros de Operación del Cromatógrafo de gases TRACE GC ULTRA.

Columna	Thermo TRACE TR-5 MS, 5% Fenilmetil polisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
Flujo constante de columna	1,00 ml/min
Programa del horno	50 °C, 1 min, 25 °C/min; 125 °C, 1,00 min, 10,0 °C/min; 300 °C, 2 min
Ahorro de gas	Activado
Flujo del gas ahorrador	20 ml/min
Compensación de vacío	Activado
Temperatura de la línea de transferencia MS	220 °C

Tabla 3.
Parámetros de operación del inyector de temperatura programable (PTV).

Temperatura inyector	240 °C:
Modo	CT Splitless con pulso
Flujo Split	50 ml/min
Tiempo Splitless	1,00 min
Modo de temperatura de la válvula de solventes	No Habilitado
Temperatura de la válvula de solventes	150 °C
Presión del pulso	200,00 kPa
Duración del pulso	1,00 min
Purga constante	Activado
Parar purgado a tiempo, t	0,00 min
Fase de evaporación	No Habilitado
Fase de limpieza	Activado
Rampa de presión	Activado
Sub-ambiente	No Habilitado
Flujo de fondo	No Habilitado
Presión del inyector	120,00 kPa
Tiempo de inyección	0,2 min
Presión de transferencia	120,00 kPa
Velocidad de transferencia	10,0 °C/s
Temperatura de transferencia	250 °C
Tiempo de transferencia	2,0 min
Velocidad de limpieza	10,0 °C/s
Temperatura de limpieza	280 °C
Tiempo de limpieza	27,0 min
Flujo de limpieza	50 ml/min

Tabla 4.
Parámetros de operación del ESPECTRÓMETRO DE MASAS POLARIS Q.

Gas de calibración:	No Habilitado
Gas reactante:	No Habilitado
Temperatura de la fuente:	200 °C
Modo de adquisición	MS-MS
Modo de ionización	EI
Polaridad	Positiva
Ganancia del Detector (<i>gain detector</i>)	1033,5V
Lente 1 (<i>lens 1</i>)	-18 V
Lente 3 (<i>lens 3</i>)	-16 V
Activación de Apertura de las lentes (<i>Gate lens on</i>)	-82
Desactivación de Apertura de las lentes (<i>Gate lens off</i>)	100
Encendido de los electrones en las lentes (<i>Electron lens on</i>)	15 V
Apagado de los electrones en las lentes (<i>Electron lens off</i>)	85 V
Energía de los electrones (<i>Electron energy</i>)	-70 eV
Desviación de la trampa (<i>trap offset</i>)	-17,50

Para determinación analítica, se aplicó la técnica de Ionización Electrónica (EI) con el analizador de trampa de iones, realizando mediciones MSMS, con flujos variables de helio en la trampa de iones en el rango de (0,3-2) ml/min para optimizar el aislamiento de los iones precursores e incrementar la intensidad de los iones productos para los plaguicidas: α -BHC, γ -BHC (lindano), β -BHC, δ -BHC, Heptacloro, Aldrín, Heptacloro epóxido, γ -clordano, α -clordano, Endosulfan I, p,p'-DDE, Dieldrín, Endrín, Endosulfan II, p,p'-DDD, Endrín aldehído, p,p'-DDT, Endosulfan sulfato, Metoxicloro y Mirex.

Medición en el sistema GC/PTV/EI/MSⁿ

1. Inyectar 3 μ l de la solución de referencia de la mezcla de los 21 organoclorados 0,08 μ g/ml en modo barrido completo

para ajustar los tiempos de inicio de los iones precursores para las mediciones MSMS.

2. Análisis del blanco de reactivos.
3. Evaluar la corrida de los 20 blancos de muestra de grasa animal para ver las posibles interferencias.
4. Analizar la curva de calibración inyectando 3 μ l de las mezclas de los 21 organoclorados por triplicado de cada concentración en los niveles (0,04; 0,02; 0,01; 0,005 y 0,0025) μ g/ml.
5. Calcular las recuperaciones de las muestras de tejido fortificadas con la curva de calibración para cada plaguicida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

El método desarrollado por el sistema GC/PTV/EI/MSMS (Figuras 1 y 2) demostró que presenta ventajas comparado con el sistema convencional que se sugiere en la NOM-021-ZOO-1995, donde se emplea un detector semi-selectivo de captura de electrones (ECD) con inyector de split-splitless y los plaguicidas organoclorados son inyectados a 230 °C. La utilización del inyector de temperatura programable (PTV), tiene gran versatilidad por diferentes modos de operación del mismo, los plaguicidas pueden ser inyectados a bajas temperaturas evitando las degradaciones en puerto de inyección. Se estudiaron los modos *PTV splitless* y *CT splitless w/surge*, ambos modos dieron buenos resultados, aunque con el modo por pulso se lograron los más adecuados para los propósitos del estudio, observados en las recuperaciones de las fortificaciones a los diferentes niveles de la curva.

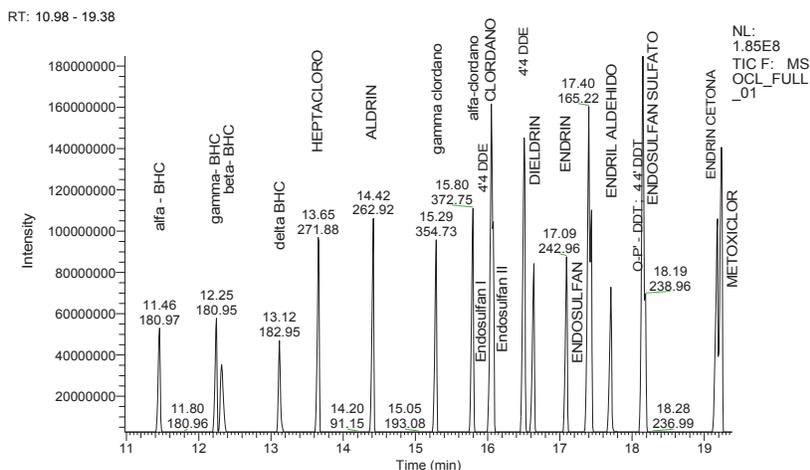


Figura 1. Plaguicidas organoclorados en grasa de bovino. Barrido completo. 0,8 μ g/ml.

En este método propuesto se realizaron estudios estadísticos para las determinaciones, comparando los datos de áreas y alturas con valores de flujo en trampa de iones de (0,3; 0,5; 1,0; 1,5; y 2,0) ml/min con valores

C:\Xcalibur\...OCL_VAL_32

3/24/2009 2:40:36 PM

OCL 0.2 ug/mL

mezcla plaguicidas NOM0.2ug/mL MSMS

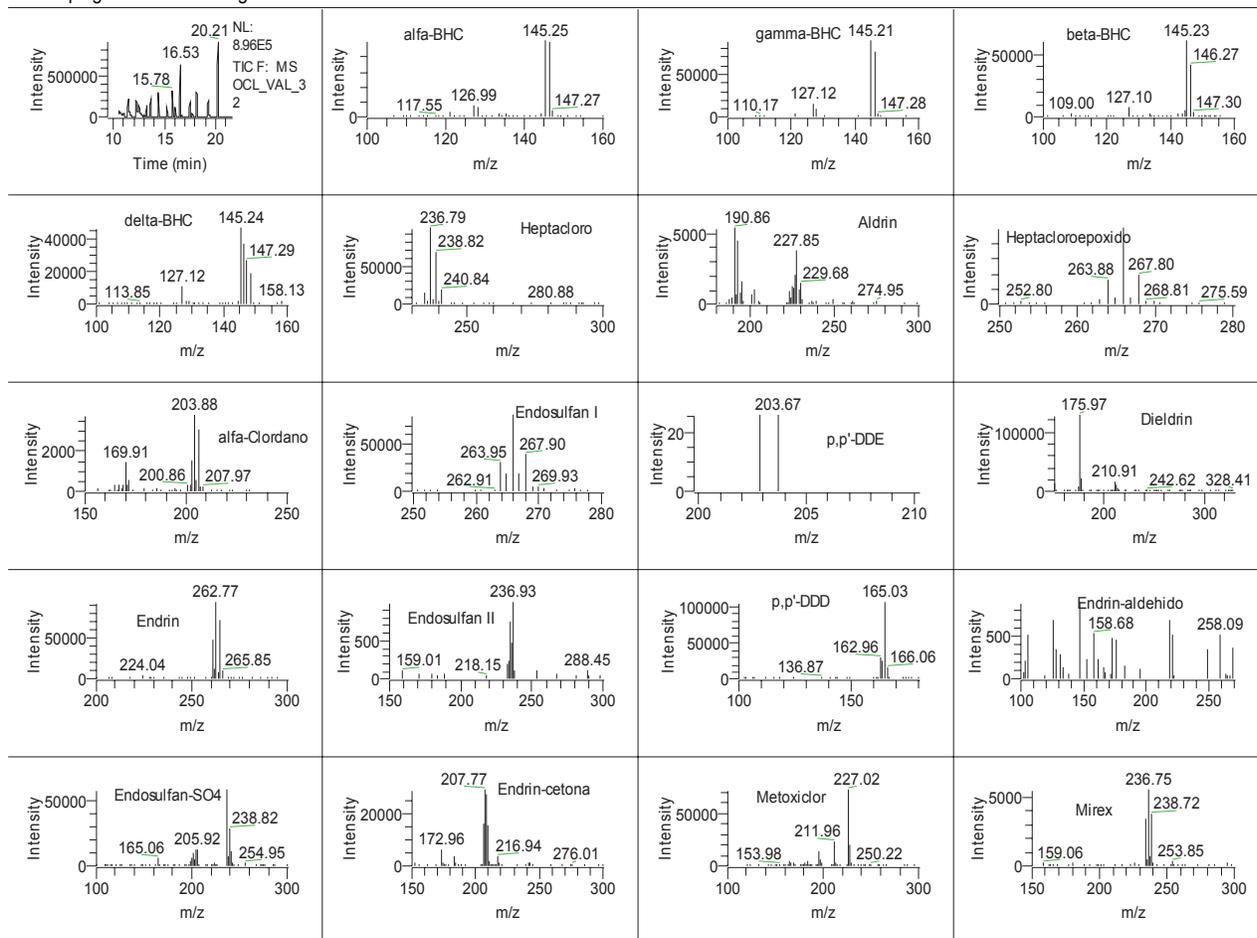


Figura 2. Espectros MSMS de plaguicidas organoclorados en grasa de bovino, 0,2 µg/ml.

de flujo de 1,0 ml/min en método de adquisición. Se obtuvieron valores de sensibilidad adecuados para llegar a los LMR y cumplir con la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994, la vigente en la actualidad en México.

En la Tabla 5 se resumen los parámetros utilizados, aquí se puede analizar que la energía de colisión inducida (CID) es específica para las diferentes estructuras moleculares de los iones precursores de cada plaguicida organoclorado, por lo que es muy importante en el método para la optimización de las señales de los iones productos obtenidos para cada compuesto, y dependiendo de esto, los valores de energía máxima de excitación (q) que oscilaron entre

0,225 a 0,45, este valor es clave para lograr optimizar las señales de los iones precursores de energía de colisión inducida (CID), estando en el rango entre (50-60) ms para cada uno de los plaguicidas que son monitoreados por la norma oficial y otros plaguicidas que también fueron estudiados.

Se estudió el efecto del gas separador (*damping flow*) sobre la intensidad de los iones precursores para la determinación por MSMS estudiando tres valores del efecto de carga de los plaguicidas en la trampa de iones con valores de (0,3, 1 y 2) ml/min, incrementándose la señal cuatro veces del valor estándar de medición que es de 0,3 ml/min en las trampas de iones.

Tabla 5.

iones precursores, iones producto y parámetros optimizados en MSMS.

Seg No.	Inicio segmento (min)	Nombre del Organoclorado	Tiempo de retención (min)	Inicio pico (FS/MSn)	Pico base	Ion Precursor (m/z)	Gas de aislamiento (ml/min)	Valor Q	Ancho	Tiempo de aislamiento (ms)	CID (volts)	Tiempo colisión-CID	Iones producto (m/z)
1	10,50	Estabilización CID para 1er plaguicida	N/A	N/A	N/A	180,09	0,3	0,450	6,0	12	3,5	50	100-200
2	11,10	α -BHC	12,83	12,32	180,93	180,9	1,0	0,450	6,0	12	3,5	50	100-200
3	12,00	γ -BHC	13,50	13,00	182,99	182,9	1,0	0,450	6,0	12	3,5	60	130-200
4	12,27	β -BHC	13,65	13,50	180,99	183,0	1,0	0,450	6,0	12	3,5	50	100-200
5	13,00	δ -BHC	14,44	14,40	180,96	180,9	1,0	0,450	6,0	12	3,5	50	100-200
6	13,30	Heptacloro	15,68	14,89	234,98	273,8	1,0	0,450	6,0	12	3,5	50	150-300
7	14,10	Aldrin	16,49	15,59	262,91	262,9	1,0	0,450	6,0	12	3,5	50	150-300
8	15,00	Heptacloro epóxido	16,98	16,49	354,8	354,8	1,0	0,225	4,0	12	4,0	60	220-380
9	15,40	γ -clordano	17,21	16,56	374,73	374,8	1,0	0,450	6,0	12	4,5	60	200-400
10	15,90	α -clordano	17,24	16,92	372,79	372,8	1,0	0,450	6,0	12	4,5	60	200-400
11	16,07	Endosulfan I	17,61	17,23	170,09	238,9	1,0	0,450	6,0	12	3,5	50	150-250
12	16,30	4,4'-DDE	17,79	17,25	246,05	246,05	1,0	0,450	6,0	12	3,5	60	150-330
13	16,56	Dieldrin	18,23	17,40	262,99	262,9	1,0	0,225	4,0	12	3,0	60	200-300
14	16,80	Endrin	18,50	17,54	262,97	263,0	1,0	0,450	6,0	12	5,0	60	150-280
15	17,23	Endosulfan II	18,51	17,60	165,13	235,0	1,0	0,225	5,0	12	0,8	60	150-300
16	17,42	m,p'-DDD	18,80	17,90	165,12	165,0	1,0	0,225	4,0	12	0,8	60	100-250
17	17,57	Endrin aldehído	19,17	17,98	243,02	279,0	1,0	0,300	3,5	12	4,5	60	100-300
18	17,90	4,4'-DDT	19,23	18,20	165,15	165,1	1,0	0,300	3,0	12	4,5	60	100-270
19	18,17	Endosulfan sulfato	18,19	18,40	238,94	238,9	1,0	0,225	6,0	12	1,0	60	100-300
20	19,00	Endrin cetona	20,10	18,78	243,03	243,0	1,0	0,450	6,0	12	2,5	50	150-300
21	19,20	Metoxicloro	20,21	18,80	227,08	227,1	1,0	0,300	5,0	12	1,0	60	100-300
22	20,00	Mirex	21,26	19,26	272,87	272,0	1,0	0,450	6,0	12	4,5	50	150-300

El método desarrollado fue validado determinando la linealidad del sistema, precisión y exactitud, repetibilidad, límite de detección y cuantificación del método.

La linealidad del método (Figura 3) cumplió con las exigencias de la NOM-021-ZOO-1995, donde los coeficientes de correlación fueron $\geq 0,990$ para todos los plaguicidas; en la Tabla 6 se resumen los valores de linealidad obtenidos para las curvas de calibración con 5 puntos y tres repeticiones por concentración, en el rango de (0,0025-0,04) $\mu\text{g/ml}$.

En la Tabla 7 se describen los valores de precisión y exactitud del método y detallan el rango de las recuperaciones conseguidas en los

Tabla 6.

Resultados de la Linealidad del método.

Plaguicida Organoclorado	b	m	r
α -BHC	-93730,86	38377441,19	0,997
γ -BHC	-46515,55	53052784,97	0,998
β -BHC	-169,76	5495379,74	0,999
δ -BHC	-35194,36	19467082,22	1,000
Heptacloro	-37319,23	55840053,86	1,000
Aldrin	-12946,55	36324045,77	1,000
Heptacloro epóxido	-7520,97	10129154,59	0,999
γ -clordano	-37560,11	40969713,71	1,000
α -clordano	-24921,37	36437138,64	1,000
Endosulfan I	-48969,41	38703440,35	0,999
p,p'-DDE	-446956,58	238963999,91	1,000
Dieldrin	-4234,25	10408706,90	1,000
Endrin	-29614,82	19857530,38	0,998
Endosulfan II	-168576,80	83025601,90	0,999
p,p'-DDD	-1134085,76	337990624,38	0,997
Endrin aldehído	-30460,36	19013774,05	0,999
p,p'-DDT	-94415,83	39810626,68	0,999
Endosulfan sulfato	-69493,23	23125113,46	0,997
Metoxicloro	-389318,28	130764340,21	0,998
Mirex	-137491,14	63925687,80	0,996

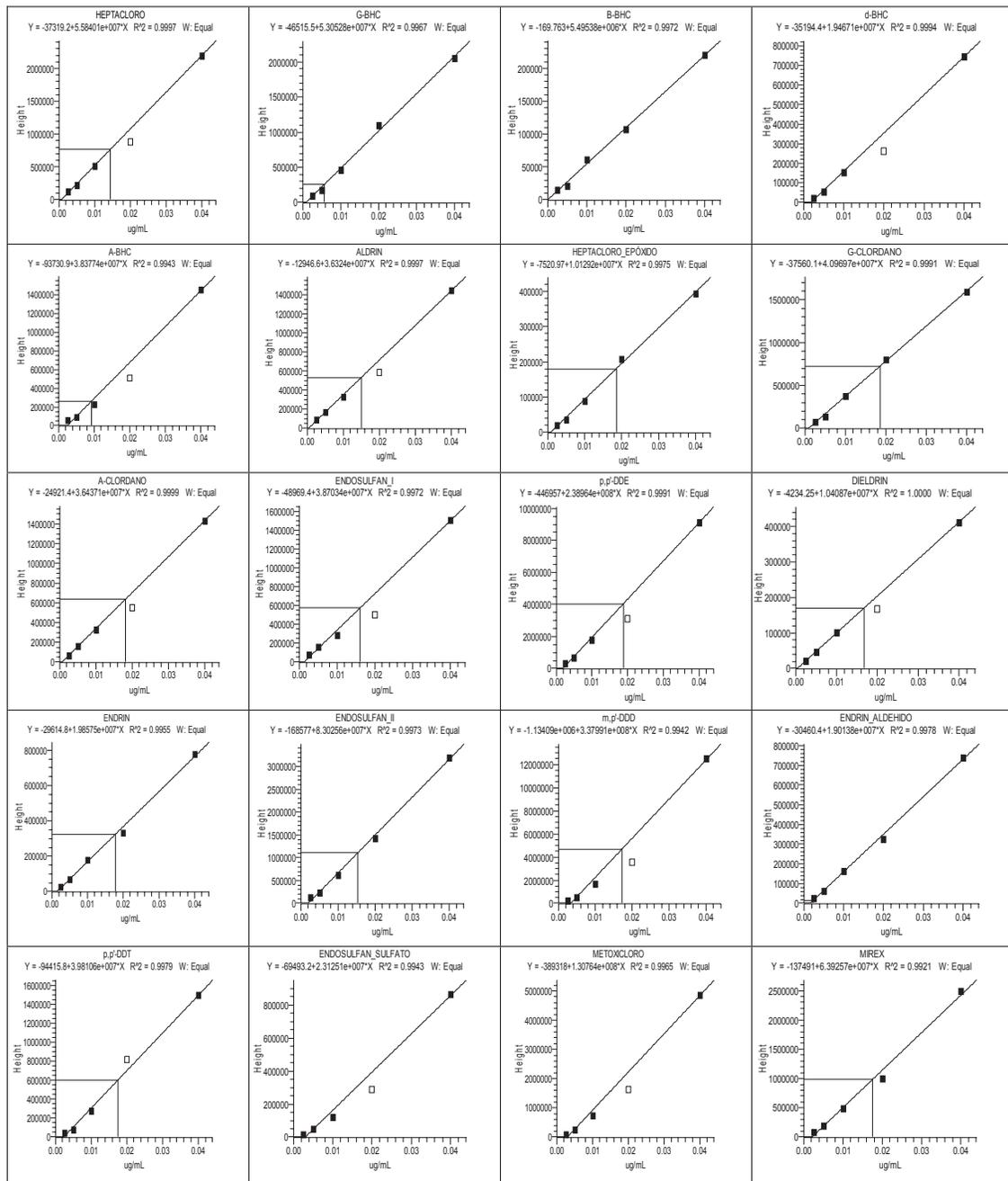


Figura 3. Linealidad de plaguicidas organoclorados en extractos de grasa de bovino.

extractos de grasa de ganado bovino. En general, en el rango entre el 60%-120%, también fueron calculados los valores de las desviaciones estándar ponderadas de cada una de las curvas de los plaguicidas estudiados con los valores de %CV de las señales

para cada una de las concentraciones de los puntos de la curva, y que en todos los reportados corresponden a 2/3 del valor de la ecuación de Horwitz analizada en rango de concentraciones de (0,0025-0,04) µg/g de las muestras fortificadas.

Tabla 7.
Precisión y exactitud del método.

Plaguicida organo-clorado	Desviación estándar ponderadas	Coefficiente de variación de las señales de la curva	%Recuperación
α -BHC	24585,61	23,76	116,46
γ -BHC,	79723,56	11,93	90,79
β -BHC	41646,10	20,23	78,67
δ -BHC	138167,81	13,19	85,48
Heptacloro	120399,29	5,49	110,89
Aldrin	80016,88	6,81	81,40
Heptacloro epóxido	20542,96	25,78	78,77
γ -clordano	74734,91	25,59	76,84
α -clordano	119548,06	12,08	80,06
Endosulfan I	97114,63	11,00	76,89
p,p'-DDE	1077934,10	22,83	81,00
Diedrin	35601,38	13,27	90,28
Endrin	81599,12	19,27	76,36
Endosulfan II	61638,57	28,37	62,71
p,p'-DDD	1307474,05	26,96	62,79
Endrin aldehído	50526,47	12,21	78,75
p,p'-DDT	24585,61	23,76	76,75
Endosulfan Sulfato	102178,32	23,65	54,92
Metoxicloro	125117,18	15,39	75,05
Mirex	327883,11	13,05	72,48

Tabla 8.
Límites de detección y cuantificación del método.

Plaguicida Organoclorado	Límite de detección $\mu\text{g/ml}$	Límite de cuantificación $\mu\text{g/ml}$	MRL NOM-004-ZOO-1994 mg/kg	MRL UE mg/kg
α -BHC	0,016	0,032	0,3	0,1
γ -BHC	0,008	0,016	-	0,1
β -BHC	0,013	0,026	7,0	2,0
δ -BHC	0,008	0,016	-	0,1
Heptacloro	0,008	0,016	0,2	0,2
Aldrin	0,007	0,013	0,3	0,1
Heptacloro epóxido	0,034	0,068	0,2	0,2
γ -clordano	0,036	0,072	-	0,1
α -clordano	0,012	0,024	-	0,1
Endosulfán I	0,013	0,026	0,2	0,1
p,p'-DDE	0,014	0,028	5,0	0,05
Diedrin	0,018	0,036	5,0	0,2
Endrin	0,013	0,026	0,3	0,02
Endosulfan II	0,062	0,124	0,2	0,1
p,p'-DDD	0,014	0,028	5,0	0,05
Endrin aldehído	0,016	0,032	0,3	-
p,p'-DDT	0,050	0,100	5,0	1,0
Endosulfan sulfato	0,017	0,034	0,2	0,1
Metoxicloro	0,014	0,028	3,0	3,0
Mirex	0,013	0,026	0,1	-

El límite de detección del método (MDL) y de cuantificación para los plaguicidas organoclorados logrados cumplieron con requerimientos de la NOM-004-ZOO-1994 y las exigencias de la Unión Europea. En la Tabla 8 se resumen los resultados alcanzados, así también se muestra que se cumple con los valores de los niveles de detección y cuantificación. Para todos los compuestos los valores logrados son inferiores a los LMR, por lo que el método desarrollado puede ser una alternativa capaz de sustituir eficientemente las determinaciones de residuos de plaguicidas organoclorados en las muestras de grasa de ganado bovino por GC-ECD.

Las determinaciones que utilizan la combinación de fuente de ionización electrónica con analizador de trampa de iones EI/TRAMPA/MSMS son muy confiables, pero relativamente complejas, porque es necesario realizar ajustes de los métodos de adquisición para el desarrollo del método; para las corridas de rutina, el sistema es productivo y seguro pues evita falsos positivos y negativos que comúnmente son reportados con los métodos de adquisición GC-ECD y GC/EI/MS/SIM en laboratorios que realizan servicios al público (Butler, 2007). Los laboratorios que brindan servicios de constatación a las empresas controlan la inocuidad alimentaria de las carnes de importación y exportación que van destinadas al consumo humano, éstas deben cumplir con las exigencias de las autoridades sanitarias del país destino. El dictamen de los resultados debe emitirse con los tiempos de entrega regulados por las diferentes normas nacionales (NOM-030-ZOO-1995) e internacionales y reportar a la Dirección General de Salud Animal los casos positivos que excedan los LMR en México (NOM-004-ZOO-1994).

Una gran ventaja del desarrollo tecnológico que ha tenido en los

los últimos años la trampa de iones para los laboratorios de constatación, es que cuando las mediciones analíticas se hacen con los controladores automáticos de flujos de helio y el método de adquisición de datos es optimizado con los valores exactos de las masas moleculares de iones precursores seleccionados de cada plaguicida organoclorado con valores de dos cifras decimales, la eficiencia del trapeo se optimiza y superan a los sistemas cromatográficos ciegos de GC-ECD; esto es muy importante en las mediciones con la técnica de MSMS aunque estos equipos sean de baja resolución, si los iones precursores son monitoreados con pesos moleculares enteros, sin tener presentes las fracciones, la trampa no optimiza la selección de los iones precursores porque los valores de Radio Frecuencia (R_f) necesarios en estos analizadores no seleccionan adecuadamente las relaciones de masa/carga (m/z) de los iones precursores y se obtiene baja intensidad de los iones productos.

Las mejoras tecnológicas de los analizadores de trampa cuando son optimizados con los parámetros resumidos en la Tabla 5 tienen la sensibilidad adecuada para llegar a los niveles requeridos y dar cumplimiento a los valores de los límites de detección y cuantificación exigidos por las autoridades sanitarias y los laboratorios tengan el desempeño técnico que cumplan con los valores LMR para cada uno de los pesticidas organoclorados.

CONCLUSIONES

El método desarrollado con el sistema GC/PTV/EI/MS/MS elimina los efectos de interferencia de la grasa de ganado bovino que se obtienen con un detector semi-selectivo de captura de electrones. Las recuperaciones logradas por las fortificaciones se encuentran entre el 60%-120%, así como los valores de correlación, precisión y exactitud fueron aceptables. La utilización del módulo de control de flujo automático para trampa de iones optimiza la eficiencia del trapeo de los iones precursores, incrementando las señales de los iones productos, como resultados el sistema mejora los límites de detección y cuantificación que se logran con los detectores de captura electrónica recomendado en la NOM-021-ZOO-1995. Con un flujo de 1ml/min se observó, para todos los plaguicidas el incremento de las señales entre 4-5 veces de los valores normales de 0,3 ml/min empleados en trampa de iones. El método desarrollado cumple con niveles máximos permisibles de la NOM-004-ZOO-1994 y con los límites de funcionamiento exigidos para los laboratorios de la Unión Europea para el análisis de los plaguicidas organoclorados en grasa de ganado bovino.

REFERENCIAS

- Beck, J. R., Yang C. (2008). LC-MS/MS Analysis of herbicides in drinking water at femtogram levels using 20 ml. EQuan direct injection techniques. *Thermo Fisher Scientific*, San Jose, CA, USA. Note Application 437.
- Butler, J., Conoley, M. (2007). Comparison of GC/MS/MS to GC/MS analysis of pesticides in vegetables. *Thermo Fisher Scientific*, Austin, TX, USA: AN 10017.
- Crockett, B. J., Conoley, M. (2002). Improved GC/MS/MS pesticide residue analysis on the ion trap by incorporating variable buffer gas control. *ThermoFinnigan*: AN 9172.
- Edwards, J., Fannin, S. T., Klein, D., Steinmetz, G. (1998). The analysis of pesticide compounds in biological matrices by GC-MS/MS. *ThermoQuest Application Note*: AN 9137.
- Fannin, S. T., Conoley, M., Edwards, J. (1998). Analytical tandem mass spectrometry with a benchtop GC/MS/MS system for the analysis of chlorinated pesticides. *Thermoquest Application Note*: TR9120.
- Martínez Vidal, J. L., Arrebola, F. J., Mateu-Sánchez, M. (2002). Application to routine analysis of a method to determine multiclass pesticide residues in fresh vegetables by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *rapid commun. Mass Spectrom* 16, 1106-1115.
- Mateu-Sánchez, M., Moreno, M., Arrebola, J. F. (2003). Analysis of acetamidrid in vegetables using gas chromatography-tandem mass spectrometry. 19 701-704.
- NOM-004-ZOO-1994. (1994). Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos.
- NOM-021-ZOO-1995. (1995). Análisis de residuos de plaguicidas organoclorados y Bifenilos Policlorados en grasa de bovinos, Equinos, Porcinos, Ovinos y Aves por Cromatografía de Gases.
- NOM-030-ZOO-1995. (1995). Especificaciones y procedimientos para la verificación de carne, canales, vísceras y despojos de importación en puntos de verificación zoonosanitaria.
- Pigozzo, F., Anderson, R., Clay, D., E. (1997). Quick screening of complex mixtures through fast GC analysis: preliminary results on performance of the "BEST PTV" injector. *ThermoQuest Application Note*: AN 9148.
- Rodríguez, O.; Velázquez, L.; Soto, S.; Rodríguez, G.; Temores, J.; Escoboza, I.; Meléndez, J. (2007). Desarrollo de un método analítico para el análisis de compuestos anabólicos en matrices biológicas con un sistema GC/EI/PTV/MS. *Memorias in extenso XXI Congreso Nacional de Química Analítica*. Editadas por la Asociación Mexicana de Química Analítica A.C. México.
- Rosso, A., Álvarez, P. (2003). Criterios de Validación en Métodos Analíticos Instrumentales para Industria Farmacéutica. CEQUIPE. Available from URL: <http://www.calidadsigloxxi.com.mx/html/soft-vdma.html>.
- USDA-FSIS. (1991). *Analytical chemistry laboratory guidebook residue chemistry*. United States Department of Agriculture. United States.
- Wylie, P. L. (1997). Trace level pesticide analysis by GC/MS using large-volume injection. Agilent Technologies, Inc. *Gas Chromatography Application Note*.
- Yumiko, N., Yasuhide, T., Yukihiko, S. (1994). Multiresidue analysis of 48 pesticides in agricultural products by capillary gas chromatography. *American Chemical Society* 42, 2508-2518.

