

Desarrollo y validación de un método analítico para la detección y cuantificación de plaguicidas organoclorados en grasa de ganado porcino con un sistema GC/PTV/EI/MS²

Development and validation of an analytical method for the detection and quantification of organochlorine pesticides in pork fat with a GC/PTV/EI/MS² system

Osvaldo Nicolás Rodríguez Valdés*
Sonia del Carmen Soto Alvarado*

Laura Renné Velázquez Chong*
Guillermo Rodríguez Ventura**

Abstract

A capillary gas chromatography/mass spectrometry method was developed based on the requirements of the NMX-EC-17025-IMNC-2006/ISO/IEC17025:2005 and the Commission Decision 2002/657/EC in what regards to organochlorine pesticides measurement in swinish livestock 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, in order to suggest a technological alternative that the NOM-021-ZOO-1995 may determine, and fulfill the NOM-004-ZOO-1994. The optimization in the selection of the precursor ion for each pesticide was done changing the pressure in the ion trap increasing the ions product signals, and achieving MS² measurements with higher sensitivity that overcome to electronic capture detectors (ECD). The decision limit CC_α and detection capability CC_β fulfilled the maximum residue limits (MRL) for both regulations with $r \geq 0.990$ and recoveries between 70-110%.

Key words: PORCINE FAT, ORGANOCHLORINE PESTICIDES, ANALYTICAL METHOD, ION TRAP, GC/PTV/EI/MS².

Resumen

Se desarrolló un método empleando un sistema de cromatografía gaseosa-espectrometría de masas, de acuerdo con los requisitos de la NMX-EC-17025-IMNC-2006/ISO/IEC17025:2005 y la decisión de la Comisión 2002/657/EC, para la medición de plaguicidas organoclorados en grasa de ganado porcino: α -BHC, γ -BHC (lindano), β -BHC, δ -BHC, heptacloro, aldrín, heptacloro epóxido, γ -clordano, α -clordano, endosulfán I, p,p'-DDE, diedrín, endrín, endosulfán II, p,p'-DDD, endrín aldehído, p,p'-DDT, endosulfán sulfato, metoxicloro y mirex, con el fin de proponer una alternativa tecnológica para la determinación de la NOM-021-ZOO-1995, y dar cumplimiento a la NOM-004-ZOO-1994. La optimización en la selección del ion precursor de cada plaguicida se realizó variando la presión en la trampa de iones para incrementar las señales de los iones producto, logrando mediciones por MS² con sensibilidad superior a los detectores de captura electrónica (ECD). Los límites de decisión (CC_α) y capacidad de detección (CC_β), cumplen con los límites máximos de residuos (MRL) para ambas regulaciones con $r \geq 0.990$ y recuperaciones entre 70-110%.

Palabras clave: GRASA DE PORCINO, PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS, MÉTODO ANALÍTICO, TRAMPA DE IONES, GC/PTV/EI/MS².

Recibido el 7 de julio de 2010 y aceptado el 16 de diciembre de 2010.

*Laboratorio de Toxicología Analítica, Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, km. 3.5 Carretera Mexicali-San Felipe, Fracc. Campestre s/n, 21386. Mexicali, Baja California, México.

**Laboratorio de Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California. Calzada Tecnológico s/n, 22390. Delegación Mesa de Otay, Tijuana, Baja California, México.

Correspondencia: Osvaldo Nicolás Rodríguez Valdés, Teléfono: (01) 686 5 63 69 06. Fax: (01) 686 5 63 69 07, Correo electrónico: osvr_jim@hotmail.com

Introduction

In Mexico, the organochlorine pesticide (OCP) analysis is part of the food security control in the animal production. Pork fat is analyzed in accordance with the Norma Oficial Mexicana NOM-021-ZOO-1995,¹ using a gas chromatography system with a semi-specific electron capture detector (GC/ECD), in verification laboratories authorized and approved by the Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). The maximum residue limit (MRL) values are found in the NOM-004-ZOO-1994² and in the USDA-FSIS, 1991³ U.S. homologous test.

The methodologies for the detection of organochlorine pesticides in pork fat have been studied a bit in the gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) systems. Its modes of operation are basically three: full scan (SCAN), selective ion monitoring (SIM) and tandem mass spectrometry (MSMS or MS²). Every one of these methods has its advantages and disadvantages in the measurement of pesticide residues. In SCAN mode OCP analysis, a complete spectrum is produced that can be searched in the existing databases, but to achieve good results the OCPs must be in elevated concentrations, since at low concentrations the method could produce false negatives.⁴ With the SIM mode three or four specific ions are controlled. The matrix can produce false positives and false negatives by retention time variation, a by-product of the collateral compounds that are extracted, which represents a strong constraint in the complex matrices of animal origin. Retention time is key in this data acquisition mode, so SIM determinations present problems for laboratories dedicated to food residue analysis for human consumption. This is because in low concentrations one or more of the selected ions interfere with the ions originated at the matrix. In order to improve sensitivity analysis, different techniques and methodologies have been tested; among them, matrix interference reduction, using the GC/MS method with the selective ion technique,⁵ by using the negative chemical ionization method (NCI),⁶ although this presents the problem that in order to obtain adduct ions, variables related to temperature and ionization chamber pressure must be controlled. The decrease in thermal degradation in the injection port using different inlets, favors lower limits of detection.^{7, 8} Nonetheless, these methodologies have shown important limitations such as the detection levels,⁹ the requirement of larger injection volumes,¹⁰ prohibitive costs¹¹ or, these systems have not been studied using a pork fat matrix.^{12, 13}

In the last few years, the GC/MS² mode data acquisition has been gaining popularity because it eliminates the effects of the matrix in GC/MS and GC/MS/SIM modes. The selectivity in the ion trap

Introducción

En México, el análisis de plaguicidas organoclorados (OCL) forma parte del control de seguridad alimentaria en la producción animal. La grasa de ganado porcino es analizada de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-021-ZOO-1995,¹ utilizando un sistema de cromatografía gaseosa con un detector semi-específico de captura electrónica (GC/ECD), en laboratorios de constatación autorizados y aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Los valores de los límites máximos residuales (MRL) vienen descritos en la NOM-004-ZOO-1994² y en la prueba homóloga de Estados Unidos de América USDA-FSIS, 1991.³

Las metodologías para la determinación de los plaguicidas organoclorados en grasa de ganado porcino han sido poco estudiadas en los sistemas de cromatografía gaseosa/espectrometría de masas (GC/MS). Sus modos de operación son básicamente tres: barrido total (SCAN), monitoreo de iones selectivos (SIM) y espectrometría de masas por etapas (MSMS o MS²). Cada uno de estos métodos tiene ventajas y desventajas en la medición de plaguicidas. En el análisis de OCL por el modo SCAN, se produce el espectro completo que puede ser buscado en las bases de datos existentes, pero para lograr buenos resultados los OCL deben estar en concentraciones elevadas, ya que en concentraciones bajas el método pudiera producir falsos negativos.⁴ Con el modo SIM se controlan tres o cuatro iones específicos. En esta matriz se pueden generar falsos positivos y falsos negativos por variación de los tiempos de retención, producto de los compuestos colaterales que se extraen, lo que representa una fuerte limitante en las matrices complejas de origen animal. El tiempo de retención es fundamental en este modo de adquisición de datos, por lo que las determinaciones por SIM presentan problemas para los laboratorios que se dedican al análisis de residuos en los alimentos para consumo humano. Ello se debe a que en concentraciones bajas uno o más iones de los seleccionados interfieren con los iones que se originan de la matriz. Con la finalidad de mejorar la sensibilidad para el análisis, se han probado diversas técnicas y metodologías; entre ellas, la reducción de la interferencia de la matriz, utilizando el método GC/MS con la técnica de ion selectivo,⁵ mediante el empleo del método de ionización química negativa (NCI),⁶ aunque ésta presenta 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. La disminución de la degradación térmica en el puerto de inyección mediante el uso de diferentes inyectores,

is done selecting the main ion called precursor and then it is fragmented with the analytical conditions of the method, producing a second mass spectrum (MS^2), where quantification is done with an adequate analytical security. In this sense, there is information about determinations of organochlorine pesticides in vegetables, applying the GC/ MS^2 system, in which the influence of the variable buffer gas control of helium gas in the trap with the different methods of full scan (FS), SIM and MS^2 is evaluated, studying the signal increase.¹⁴ On the other hand, the GC/ MS^2 analysis in biological matrices was applied with success, using the ion trap in the determination of organochlorine pesticide residues of marine samples.¹⁵

The purpose of this study was to compare the efficiency of the GC/PTV/EI/ MS^2 system with respect to GC/ECD by determining organochlorine pesticide residues in pork fat. For this reason, a programmable temperature vaporization injector (PTV) was used, to obtain the least degradation of the OCP in the injection port, and minimize the loss of these pesticides at the beginning of the analysis in the chromatographic column. In the mass spectrometry detection, the precursor ion selection technique (MS^2) was applied, evaluating the influence of different helium flow values, in order to obtain the maximum product ions signal from the selected precursor ions for each of the pesticides.

Material and methods

The development of this method was made in the Laboratorio de Toxicología Analítica facilities of the Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias of Universidad Autónoma de Baja California, with approval No. Const-028 as verification laboratory in animal health for the Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) of the SAGARPA and SA-010-001/06 accreditation as test laboratory in the agricultural health branch by the entidad mexicana de acreditación, A. C.

Preparation of stock solutions

From a mixture of 20 CLP organochlorine pesticides of 2 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$,* with purity between 96.9 and 99.9% of α -BHC, γ -BHC (lindane), β -BHC, δ -BHC heptachlor, aldrin, heptachlor epoxide, α -chlordane, γ -chlordane, endosulfan I, p,p'-DDE, dieldrin, endrin, endosulfan II, p,p'-DDD, endrin aldehyde, p,p'-DDT, endosulfan sulfate, endrin ketone and methoxychlor, a stock solution of 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ was prepared, diluting the mixture in 25 ml of hexane** toluene*** 50:50 in a class A volumetric flask.

Separately, 10 mg of mirex,† 99.4% purity, were

favorece límites de detección más bajos.^{7,8} Sin embargo, estas metodologías han mostrado limitantes importantes tales como los niveles de detección,⁹ el requerimiento de mayores volúmenes de inyección,¹⁰ costos prohibitivos¹¹ o bien, no se han estudiado estos sistemas utilizando una matriz de grasa porcina.^{12,13}

En los últimos años, el modo de adquisición de datos por GC/ MS^2 ha tenido mayor popularidad debido a que elimina los efectos de la matriz en los modos GC/MS y GC/MS/SIM. La selectividad en la trampa de iones se realiza seleccionando el ion principal denominado precursor y éste es fragmentado con las condiciones analíticas del método, produciendo un segundo espectro de masas (MS^2), donde se realiza la cuantificación con una adecuada seguridad analítica. En ese sentido, existe información acerca de determinaciones de plaguicidas organoclorados en vegetales, aplicando el sistema de GC/ MS^2 , en las cuales se evalúa la influencia del controlador de flujo automático del gas helio en la trampa con los diferentes métodos de adquisición barrido total (*Full Scan*), SIM y MS^2 , estudiando el incremento de las señales.¹⁴ Por otra parte, el análisis por GC/ MS^2 en matrices biológicas fue aplicado con éxito, usando una trampa de iones en la determinación de residuos de organoclorados en muestras de origen marino.¹⁵

El propósito de este estudio fue comparar la eficacia del sistema GC/PTV/EI/ MS^2 con respecto al GC/ECD en la determinación de residuos de plaguicidas organoclorados en grasa de ganado porcino. Para ello, se utilizó un inyector de vaporización de temperatura programable (PTV), a fin de obtener la menor degradación de los OCL en el puerto de inyección, así como minimizar la pérdida de estos plaguicidas al inicio del análisis en la columna cromatográfica. En la detección por espectrometría de masas, se utilizó la técnica de selección del ion precursor (MS^2), evaluando la influencia de los diferentes valores de flujo de helio, con la finalidad de obtener la máxima señal de los iones producto a partir de los iones-precursores seleccionados para cada uno de los plaguicidas.

Material y métodos

El desarrollo de este método se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Toxicología Analítica, del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, con aprobación No. Const-028 como laboratorio de constatación en salud animal ante el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) de la SAGARPA y acreditación SA-010-001/06 como laboratorio de ensayos en la rama de sanidad agropecuaria por la entidad mexicana de acreditación, A. C.

weighed, on an analytical balance and was diluted with hexane:toluene 50:50 in a class A 100 ml volumetric flask, to obtain a stock solution of 100 µg/ml approximately, since the concentration was adjusted considering the purity of the pesticide.

All working solutions were diluted in a class A volumetric flasks of 10 ml with the mixture hexane:toluene 50:50, to achieve the concentration levels of 0.04, 0.02, 0.01, 0.005 y 0.0025 µg/ml.

Extraction

For extraction, 0.18 g of pork fat were weighed in 100 ml beakers, the next batch of samples: a solvent blank, a blank sample, the recoveries of the calibration curve and recoveries of 0.04 µg/ml to assess the performance of the extraction analyst.

The melted fat samples were transferred inside columns packed in the laboratory with neutral activated alumina,[•] previously evaluated according to the extraction procedure of NOM-021-ZOO-1995.^{••} The elution volume of approximately 70 ml of hexane was added, without allowing the column to dry, adding it little by little and regulating the outflow of the eluate, and it was collected in a 250 ml flat bottom flask with a ground glass joint. The concentration of the sample was carried out in a rotary evaporator,^{•••} 0.034 × g and 47°C, until an approximate volume of 2 ml was obtained. It was then transferred to a graduated glass centrifuge tube and taken to 4 ml in volume; finally, it was transferred to 2 ml amber glass vials and PTFE/silicone cap, for its injection into the GC/PTV/MS² system.

Analytical instrumentation

A gas chromatography system* with a programmable temperature injector (PTV) was used, an AS 3000^{®**} automated sample injection system and a Polaris Q^{®***} mass spectrometer with an ion trap analyzer and automatic flow control module.

Analytical procedure

A TR-5MS capillary column (30m × 0.25 mm × 0.25 µm) was set up. The operating conditions are described below. PTV injector: injector temperature 240°C in CT splitless mode. Sample injection 3 µl. Chromatographic separation program: 50°C, 1 min, 25°C/min, 125°C, 1.00 min, 10 ml/min, 300°C, 2 min. Helium carrier gas flow of 1.0 ml/min. Transfer line 220°C. The MS detector operated in EI/MS² mode, variable buffer gas control with helium flow of 0.3 to 2.0 ml/min and source temperature of 200°C. The analytical testing was performed with the electron

Preparación de soluciones madre

A partir de una mezcla de 20 plaguicidas organoclorados CLP de 2000 µg/ml,* 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, endosulfán I, p,p'-DDE, diedrín, endrín, endosulfán II, p,p'-DDD, endrín aldehído, p,p'-DDT, endosulfán sulfato, endrín cetona y metoxicloro, se preparó una solución madre de 80 µg/ml, diluyendo la mezcla en 25 ml de hexano**: tolueno*** 50:50 en un matraz volumétrico clase A.

Por separado, se pesaron 10 mg de mirex,† 99.4% de pureza, en una balanza analítica‡ 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 de porcino en vasos de precipitado de 100 ml, el siguiente lote de muestras: un blanco de solventes, un blanco de muestras, las recuperaciones de la curva de calibración y recuperaciones de 0.04 µg/ml para evaluación al desempeño del analista en la extracción.

Se transfirieron las muestras de grasa derretida con temperatura dentro de columnas empacadas en el laboratorio con alúmina activada neutra,[•] 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, sin permitir que la columna se secase, agregando poco a poco y regulando el flujo de salida del eluato, y se recolectó 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^{•••} a 0.034 × g y 47°C, hasta obtener un volumen aproximado de 2 ml. Se transfirió a un tubo de centrifuga de vidrio graduado 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/MS².

*Supelco. Sigma-Aldrich Co. Estados Unidos de América.

**EMD Omnisolv®. VWR International. Estados Unidos de América.

***Grado Unisolv®. SPECTRUM. Estados Unidos de América.

†Chem Service. Sigma Aldrich Co. Estados Unidos de América.

‡OHAUS AP210S®. OHAUS Corporation. Estados Unidos de América.

•Brockmann1, grado estándar, ~150 malla. Aldrich. Sigma Aldrich Co. Estados Unidos de América.

••23 de mayo de 1995.

•••Büchi. Büchi Labortechnik AG. Suiza.

ionization acquisition mode (EI), making MS² measurements, with variable flows of helium in the ion trap in the range of 0.3-2 ml/min to optimize the isolation of precursor ions and increase the intensity of product ions for pesticides: 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.

Measurement in the GC/PTV/EI/MS² system

Three μ l of reference solution of the mixture of the 21 organochlorines of 0.08 μ g/ml of concentration was injected, to be analyzed in full scan mode and adjust the start times of the precursor ions for the MS² measurement. The reagent blank was analyzed and the run of 20 sample blanks of pork fat was checked for possible matrix interferences. The calibration curve was analyzed injecting 3 μ l of the 21 organochlorine mixtures in triplicate for each concentration in levels 0.04, 0.02, 0.01, 0.005 and 0.0025 μ g/ml. Finally, the recoveries of the tissue samples fortified with the calibration curve for each pesticide were calculated.

Validation Method

This method was validated meeting the requirements of the NMX-EC-17025-IMNC-2006/ISO/IEC17025:2005¹⁶ and the Commission Decision 2002/657/EC¹⁷ oriented in the detection and quantification of 21 organochlorine pesticides of pork fat, determining the specificity of the system analyzing sample blanks (n=20) of pork fat, with the developed method. The specificity was measured using several modes of operation (EI/MS and EI/MSMS) and studying the relative intensities of precursor ions and product ions of the pesticides; the linearity of the system was determined preparing calibration curves with five points, making three repetitions per point and calculating the correlation coefficient (r); the precision and the accuracy measured as the coefficient of variation (%CV) in the enrichments with pork fat, using control samples fortified at levels of 0.005, 0.01 and 0.02 μ g/ml, calculating the coefficients of variation (CV%). The criteria for acceptance of the results were based on the Horwitz¹⁸ equation $2^{(1-0.5\log C)}$ the recovery and repeatability were evaluated in samples fortified at the level of 0.04 μ g/ml.

The values obtained were compared with a standard reference solution with amounts of the substances corresponding to 0.04 μ g/ml. The CC _{α} and CC _{β} were calculated as follows: the decision limit

Instrumentación analítica

Se utilizó un sistema de cromatografía gaseosa* con un inyector de temperatura programable (PTV), un sistema automatizado de inyección de muestras, AS 3000*** y un espectrómetro de masas Polaris Q®*** con analizador de trampa de iones y módulo de control automático de flujo.

Procedimiento analítico

Se instaló una columna capilar TR-5MS† (30m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m). Las condiciones de operación se describen a continuación. Inyector PTV: temperatura del inyector 240°C en modo CT sin división (CT *splitless*). Inyección de muestra 3 μ l. Programa de separación cromatográfica: 50°C, 1 min, 25°C/min; 125°C, 1.00 min, 10 ml/min; 300°C, 2 min. Flujo del gas portador helio 1.0 ml/min. Línea de transferencia 220°C. El detector MS operó en el modo EI/MS², gas separador con flujo de helio de 0.3 a 2.0 ml/min y temperatura de la fuente 200°C.

La experimentación analítica se efectuó con el modo de adquisición de ionización electrónica (EI), realizando mediciones MS², 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, heptachloro, aldrín, heptachloro epóxido, γ -clordano, α -clordano, endosulfán I, p,p'-DDE, diedrín, endrín, endosulfán II, p,p'-DDD, endrín aldehído, p,p'-DDT, endosulfán sulfato, metoxicloro y mirex.

Medición en el sistema GC/PTV/EI/MS²

Se inyectó 3 μ l de la solución de referencia de la mezcla de los 21 organoclorados de concentración 0.08 μ g/ml, para ser analizado en el modo de barrido completo y ajustar los tiempos de inicio de los iones precursores para las mediciones MS². Se analizó posteriormente el blanco de reactivos y se evaluó la corrida de 20 blancos de muestra de grasa de porcino para ver las posibles interferencias de la matriz. Se analizó 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. Finalmente, se calcularon las recuperaciones de las

*Thermo Trace GC Ultra®. Thermo Fisher Scientific. 81 Wyman Street Waltham, MA 02454. Estados Unidos de América.

**Thermo Fisher Scientific. 81 Wyman Street Waltham, MA 02454. Estados Unidos de América.

***Thermo Fisher Scientific. 81 Wyman Street Waltham, MA 02454. Estados Unidos de América.

†Thermo Fisher Scientific. 81 Wyman Street Waltham, MA 02454. Estados Unidos de América.

was determined by analyzing the samples fortified with increasing concentrations of the compounds (0.0025-0.04 µg/ml). A calibration curve was calculated and the decision limit and detection capability were calculated with these mathematical expressions:¹⁹

$$CC\alpha = \frac{\gamma_{\text{intercept} + 2.33} \times S_{\text{intercept}}}{\text{slope (method sensitivity)}}$$

$$CC\beta = \frac{\gamma_{\text{intercept} + 2.33} + 1.64 \times S_{\text{intercept}}}{\text{slope (method sensitivity)}}$$

Finally, for the ruggedness and reproducibility studies, testing was performed with different samples on consecutive days in two different ion trap systems, the Polaris Q®* and ITQ 900®,** where comparative results were obtained in different concentrations.

Results

The method developed by the GC/PTV/EI/MS² system is based on the optimization of the parameters of the ion trap analyzer (Table 1). This table also summarizes the specific energy values of collision induced dissociation (CID) and the precursor ions of organochlorine pesticides analyzed from the fragmentation of their molecular structures.

GC/MS² system tunings, previous to MS² measurements were performed with the helium flow values of 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 ml/min using perfluorotributylamine and achieving values of seven significant digits for the ion $m/z = 131$ amu and six significant figures for the ion $m/z = 69$ amu, the latter ion with a relative intensity in the range of 50-70% minimum to ensure good sensitivity in MSMS measurements.

Table 2 summarizes the values obtained from the linearity of the system with the correlation coefficient (r), precision and accuracy values, as coefficient of variation (%CV) of the recovery samples at concentrations of 0.02 and 0.04 µg/g of fortification with pork fat, the calculated recovery in the curve levels 0.005, 0.01 and 0.02 µg/g, ranging between 60 and 120%. Also, the values of the weighed standard deviations of each of the curves of the studied pesticides with the %CV of the signals for each of the concentrations of the points of the curve were calculated, and that in all the registered correspond to 2/3 of the value of the Horwitz equation ($CV = 2^{(1-0.5\log C)}$), analyzed in a concentration range of [0.0025-0.04 µg/g] of the fortified samples. The repeatability of successive runs by calculating the %CV of the signals and the retention times, as well as the $CC\alpha$ and $CC\beta$ are

muestras de tejido fortificadas con la curva de calibración para cada plaguicida.

Validación del método

Este método fue validado cumpliendo con las exigencias de la NMX-EC-17025-IMNC-2006/ISO/IEC17025:2005¹⁶ y con la Decisión de la Comisión 2002/657/EC¹⁷ orientado en la detección y cuantificación de 21 plaguicidas organoclorados de grasa de ganado porcino, determinando la especificidad del sistema analizando blancos de muestra (n = 20) de grasa de porcino, con el método desarrollado. La especificidad se midió realizando varios modos de operación (EI/MS y EI/MSMS) y estudiando las intensidades relativas de los iones precursores y de iones producto de los plaguicidas; la linealidad del sistema se determinó preparando curvas de calibración con cinco puntos, realizando tres repeticiones por punto y calculando el valor del coeficiente de correlación (r); la precisión y exactitud medida como el coeficiente de variación (%CV), en los enriquecimientos con la grasa de porcino, utilizando muestras controles enriquecidas a niveles de 0.005, 0.01 y 0.02 µg/ml, calculando los coeficientes de variación (CV%). El criterio de aceptación de los resultados se basó en la ecuación de Horwitz¹⁸ ($CV = 2^{(1-0.5\log C)}$); la recuperación y repetibilidad se evaluaron en muestras fortificadas al nivel de 0.04 µg/ml.

Los valores obtenidos se compararon con una solución estándar de referencia, con cantidades de las sustancias correspondientes a 0.04 µg/ml. Los $CC\alpha$ y $CC\beta$ se calcularon de la siguiente manera: el límite de decisión se determinó analizando muestras fortificadas con concentraciones ascendentes de los compuestos (0.0025-0.04 µg/ml). Se calculó una curva de calibración y el límite de decisión y la capacidad de detección se calcularon con las expresiones matemáticas:¹⁹

$$CC\alpha = \frac{\gamma_{\text{intercepto} + 2.33} \times S_{\text{intercepto}}}{\text{pendiente(sensibilidad del método)}}$$

$$CC\beta = \frac{\gamma_{\text{intercepto} + 2.33} + 1.64 \times S_{\text{intercepto}}}{\text{pendiente(sensibilidad del método)}}$$

Finalmente, para los estudios de robustez y reproducibilidad se realizaron ensayos con muestras diferentes en días consecutivos en dos sistemas diferentes de trampa de iones el Polaris Q®** e ITQ

*Thermo Fisher Scientific. 81 Wyman Street Waltham, MA 02454. Estados Unidos de América.

**Thermo Fisher Scientific. 81 Wyman Street Waltham, MA 02454. Estados Unidos de América.

described in Table 3. Besides expressing the expanded uncertainty (U) with coverage factor $k = 2$ for 95% confidence.

The linearity of the method met the requirements of NOM-021-ZOO-1995, where the correlation coefficients were ≥ 0.990 for all pesticides; Table 2 summarizes the linearity values obtained for the calibration curves with five points and three replicates per concentration in 0.0025-0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ranges.

Figure 1 shows the separation of 20 pesticides and MS/MS spectrum of one of them, mirex; the signals obtained are in compliance with the MRL of the NOM-004-ZOO-1994 norm, by analyzing the fortified samples under these levels.

Discussion

The verification laboratories of animal health in Mexico have the responsibility of verifying the food security of the import and export meats for human consumption, meeting the requirements of the destination country's health authorities. The dictum of the results must be issued with the delivery time covered in Mexico by the Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994. Monitoring results are reported to the Dirección General de Salud Animal, especially the positive cases that exceed the MRL.

The conventional system is suggested in the NOM-021-ZOO-1995, uses a semi-selective detector with electron capture (ECD) with an inlet at the scheduled mode of operation without venting flow (split-splitless) where organochlorine pesticides are injected at 230°C. The system of sample introduction, using the PTV, has the versatility of performing different operation modes that were tested in the development of this method. The pesticides were analyzed first by injecting them at low temperatures to study the degradation in the injection port. PTV modes were tested without splitting (splitless) with the initial temperature program of 60°C without splitting and CT without flow division (CT-splitless w/surge), both methods gave good results, although the pulse mode achieved appropriate outcomes for research purposes, given the recovery of the matrix fortifications for different levels of the curve.

The proposed method was compared with that of Butler and Conoley,⁵ who used a PTV injector with precolumn concentration for statistical studies of signals for organophosphate pesticides comparing the signals of areas and heights with flow values in ion traps of 0.3, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0 and 5.0 ml/min. In the developed method, the intensity of the ions of the pesticides was optimized with a flow rate of 1.0 ml/min for the isolation of precursor ions and product ions signals, in which decision limit values and adequate

900*, donde se obtuvieron resultados comparativos en las diferentes concentraciones.

Resultados

El método desarrollado por el sistema GC/PTV/EI/MS² está basado en la optimización de los parámetros de medición del analizador de la trampa de iones (Cuadro 1). En este cuadro también se resumen los valores de energía de colisión inducida (CID) específicos, así como los iones precursores de los plaguicidas organoclorados analizados a partir de las fragmentaciones de sus estructuras moleculares.

Las afinaciones del sistema GC/MS², previas a las mediciones MS², se realizaron con los valores de flujo de helio de 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ml/min utilizando perfluorotributilamina y logrando valores de siete cifras significativas para el ion $m/z = 131$ uma y seis cifras significativas para el ion $m/z = 69$ uma, este último ion con una intensidad relativa en el rango de 50-70% mínima, para asegurar buena sensibilidad en las mediciones de MSMS.

En el Cuadro 2 se resumen los valores obtenidos de la linealidad del sistema con el valor del coeficiente de correlación (r), precisión y exactitud, como coeficiente de variación (%CV) de las muestras de recuperación, a concentraciones de 0.02 y 0.04 $\mu\text{g}/\text{g}$ de los enriquecimientos con la grasa de porcino, la recuperación calculada en los niveles de la curva 0.005, 0.01 y 0.02 $\mu\text{g}/\text{g}$, con un rango entre 60 y 120%. También se calculan los valores de las desviaciones estándar ponderadas de cada una de las curvas de los plaguicidas estudiados con los %CV de las señales para cada una de las concentraciones de los puntos de la curva, y que en todos los registrados corresponden a 2/3 del valor de la ecuación de Horwitz ($CV = 2^{(1-0.5\log C)}$), analizada en rango de concentraciones de [0.0025-0.04 $\mu\text{g}/\text{g}$] de las muestras fortificadas. La repetibilidad en corridas consecutivas calculando el %CV de las señales y de los tiempos de retención, así como el CC_α y CC_β , descritos en el Cuadro 3. Además de expresar la incertidumbre expandida (U) con factor de cobertura $k = 2$ para 95% de confianza.

La linealidad del método cumplió con las exigencias de la NOM-021-ZOO-1995, donde los coeficientes de correlación fue ≥ 0.990 para todos los plaguicidas; en el Cuadro 2 se resumen los valores de linealidad obtenidos para las curvas de calibración con cinco puntos y tres repeticiones por concentración, en el rango de 0.0025-0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

En la Figura 1 se muestra la separación de los 20 plaguicidas y el espectro MS/MS de uno de ellos, mirex; las señales obtenidas cumplen con los MRL de la norma NOM-004-ZOO-1994, al analizar muestras fortificadas por debajo de estos niveles.

Cuadro 1

Iones precursores, iones producto y parámetros optimizados en MSMS para la cuantificación de plaguicidas organoclorados en grasa de ganado porcino

Precursor ions, product ions and optimized parameters in MSMS for quantification of organochlorine pesticides in pig fat

Seg No.	Segment Init (min)	Compound	Retention time (min)	Peak Init (FS/MSn)	Base peak	Precursor Ion (m/z)	Isolation Gas (ml/min)	Q Value	Width	Isolation time (ms)	CID (volts)	Collision time CID	Product Ion Scan (m/z)
1	10.50	CID stabilization 1st pesticide	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	Heptachlor	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	Heptachlor epoxide	16.98	16.49	354.8	354.8	1.0	0.225	4.0	12	4.0	60	220-380
9	15.40	γ -chlordane	17.21	16.56	374.73	374.8	1.0	0.450	6.0	12	4.5	60	200-400
10	15.90	α -chlordane	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	p,p'-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	p,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 aldehyde	19.17	17.98	243.02	279.0	1.0	0.300	3.5	12	4.5	60	100-300
18	17.90	p,p'-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 sulfate	18.19	18.40	238.94	238.9	1.0	0.225	6.0	12	1.0	60	100-300
20	19.00	Endrin ketone	20.10	18.78	243.03	243.0	1.0	0.450	6.0	12	2.5	50	150-300
21	19.20	Methoxychlor	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

Cuadro 2

Resultados de la validación e incertidumbre del método

Results of method validation and uncertainty

Compound	Linear regression ($y = mx+b$)	Correlation coefficient, r	Average recovery %	S_{weighed}	% CV Curve signals	$U = u_c(C_{\text{plug}}) \times k$ (95 % confidence, $k = 2$)
α -BHC	$y = 28206051.28x - 187426.65$	0.993	116.46	24585.61	23.76	0.0003
γ -BHC	$y = 26769525.80x - 161647.61$	0.993	90.79	79723.56	11.93	0.0008
β -BHC	$y = 9630827.26x - 78830.26$	0.990	78.67	41646.10	20.23	0.0001
δ -BHC	$y = 44158477.97x - 321213.33$	0.993	85.48	138167.81	13.19	0.0009
Heptachlor	$y = 74008478.12x - 85415.33$	0.994	110.89	120399.29	5.49	0.0004
Aldrin	$y = 38814079.21x - 28951.87$	0.995	81.40	80016.88	6.81	0.0001
Heptachlor epoxide	$y = 4069461.02x - 3973.13$	0.993	78.77	20542.96	25.78	0.0001
γ -chlordane	$y = 15356816.84x - 15629.67$	0.993	76.84	74734.91	25.59	0.0001
α -chlordane	$y = 34304114.49x - 36548.44$	0.994	80.06	119548.06	12.08	0.0001
Endosulfan I	$y = 29363357.73x + 4204.03$	0.992	76.89	97114.63	11.00	0.0001
p,p'-DDE	$y = 190937573.82x - 907952.10$	0.998	81.00	1077934.10	22.83	0.0001
Dieldrin	$y = 8650261.65x + 11539.19$	0.988	90.28	35601.38	13.27	0.0008
Endrin	$y = 15121149.25x - 33130.69$	0.998	76.36	81599.12	19.27	0.0001
Endosulfan II	$y = 18429575.13x - 27265.60$	0.995	62.71	61638.57	28.37	0.0003
p,p'-DDD	$y = 223185460.30x - 1753810.20$	0.996	62.79	1307474.05	26.96	0.0003
Endrin aldehyde	$y = 13810727.23x - 16056.17$	0.991	78.75	50526.47	12.21	0.0001
p,p'-DDT	$y = 10926337.36x - 21955.97$	0.992	76.75	24585.61	23.76	0.0001
Endosulfan sulfate	$y = 16681509.26x - 58050.18$	0.994	54.92	102178.32	23.65	0.0001
Methoxychlor	$y = 65415679.81x - 406781.10$	0.996	75.05	125117.18	15.39	0.0001
Mirex	$y = 77160817.39x + 204093.84$	0.991	72.48	327883.11	13.05	0.0001

detection capability were obtained to meet the MRLs required by NOM-004-ZOO-1994.

The CID is critical for optimizing the product ion signals obtained for the stabilization of different ionic transitions. Each assigned value of CID results in the formation of fragment ions in the mode of operation of stage mass spectrometry MS², and the mass range to detect the characteristic fingerprint of the precursor ion depending on the values of maximum excitation energy (q), which varied in the range of 0.225 to 0.45. These values are fundamental to optimize the product ions signals and the time value applied of radio frequency (R_f), the range of time ranging from 50-60 ms for all pesticides analyzed.

The effect of buffer gas pressure (damping flow) was studied on the intensity of precursor ions for the determinations of the mass spectrometry technique in

Discusión

Los laboratorios de constatación de salud animal en México tienen la responsabilidad de constatar la seguridad alimentaria de las carnes de importación y exportación destinadas al consumo humano, cumpliendo con las exigencias de las autoridades sanitarias del país destino. El dictamen de los resultados debe emitirse con el tiempo de entrega regulado en México por la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994. Los resultados del seguimiento se informan a la Dirección General de Salud Animal, sobre todo los casos positivos que excedan los MRL.

El sistema convencional que se sugiere en la NOM-021-ZOO-1995, utiliza un detector semi-selectivo de captura de electrones (ECD) con un inyector en la modalidad operacional programada sin

Cuadro 3

Cálculo de los límites de decisión ($CC\alpha$), capacidad de detección ($CC\beta$) y comparación de los MRL de México y la Unión Europea (UE)

Calculation of the decision limit ($CC\alpha$), detection capability ($CC\beta$) and comparison of MRL of Mexico and the European Union (EU)

<i>Compound</i>	<i>slope (a)</i>	<i>y intercept (b)</i>	<i>S_{intercept}</i>	<i>CCα</i> $\mu\text{g/g}$	<i>CCβ</i> $\mu\text{g/g}$	<i>MRL</i> <i>NOM-004-Z00-1994</i> <i>mg/kg</i>	<i>MRL</i> <i>EU</i> <i>mg/kg</i>
α -BHC	28206051.2776	-187426.6515	35895.5014	0.0016	0.0037	0.3	0.1
γ -BHC	26769525.7955	-161647.6050	35635.1929	0.0008	0.0029	-	0.1
β -BHC	9630827.2593	-78830.2624	15019.6189	0.0020	0.0046	7.0	2.0
δ -BHC	44158477.9733	-321213.3345	60644.5916	0.0018	0.0041	-	0.1
Heptachlor	74008478.1219	-85415.3253	94959.8386	0.0018	0.0039	0.2	0.2
Aldrin	38814079.2064	-28951.8741	43226.8944	0.0018	0.0037	0.3	0.1
Heptachlor epoxide	4069461.0248	-3973.1273	5492.4224	0.0022	0.0044	0.2	0.2
γ -chlordane	15356816.8353	-15629.6654	20710.3512	0.0021	0.0043	-	0.1
α -chlordane	34304114.4863	-36548.4367	39061.6377	0.0016	0.0035	-	0.1
Endosulfan I	29363357.7298	4204.0265	41035.9940	0.0034	0.0057	0.2	0.1
p,p'-DDE	190937573.8169	-907952.0964	130250.9192	-0.0032	-0.0020	5.0	0.05
Dieldrin	8650261.6493	11539.1855	14699.2155	0.0053	0.0081	5.0	0.2
Endrin	15121.1490	-33130.69	10.265	0.0005	0.0006	0.3	0.02
Endosulfan II	18429575.1280	-27265.6041	25668.3838	0.0018	0.0040	0.2	0.1
p,p'-DDD	223185460.3036	-1753810.1976	226757.6040	-0.0055	-0.0038	5.0	0.05
Endrin aldehyde	13810727.2301	-16056.1669	20333.3993	0.0023	0.0047	0.3	-
p,p'-DDT	10926337.3586	-21955.9665	13104.9330	0.0008	0.0028	5.0	1.0
Endosulfan sulfate	16681509.2572	-58050.1795	19763.2916	0.0007	0.0012	0.2	0.1
Methoxychlor	-406781.1016	65415679.8061	58964.6866	0.0026	0.0041	3.0	3.0
Mirex	77160817.3905	204093.8396	108289.4092	0.0059	0.0082	0.1	-

MS², studying the signals with helium pressure values of 100, 110 and 120 psi, in which it was possible to optimize the effect of loading with a pressure of 110 psi of helium for entry directly into the ion trap, using flow values of 0.3, 1.0 and 2.0 ml/min on each of the precursor ions and pesticide products, to achieve adequate sensitivity required to meet national and international regulations.

The combination of electron ionization source with ion trap analyzer (EI/Ion-Trap/MSMS) is very reliable, but relatively complex, so it is necessary to make adjustments to the procurement methods for the routine runs, the system is productive and safe, avoiding false positives and negatives that are registered with the procurement methods GC-ECD

venteos de flujo (*split-splitless*) donde los plaguicidas organoclorados son inyectados a 230°C. El sistema de introducción de la muestra, utilizando el PTV, tiene la versatilidad de realizar diferentes modos de operación que se ensayaron en el desarrollo de este método. Los plaguicidas fueron analizados primero inyectando a bajas temperaturas para estudiar las degradaciones en puerto de inyección. Se probaron los modos PTV sin división de flujo (*splitless*) con temperatura de inicial del programa de 60°C y CT sin división de flujo (CT *splitless* con pulso), ambos modos dieron buenos resultados, aunque con el modo por pulso se lograron resultados adecuados para los propósitos del estudio, dada las recuperaciones de los enriquecimientos de la matriz para los diferentes niveles de la curva.

RT: 9.54 - 21.45

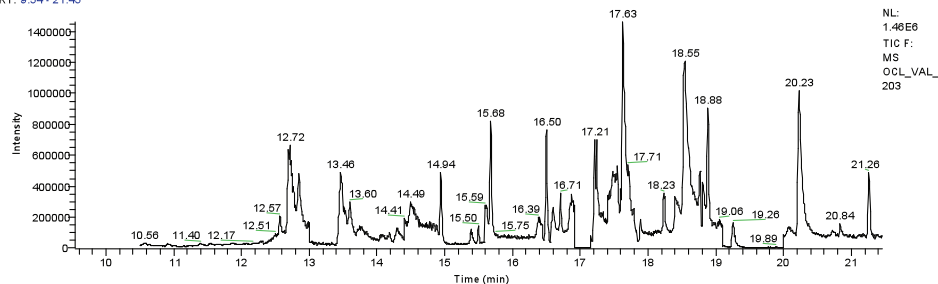
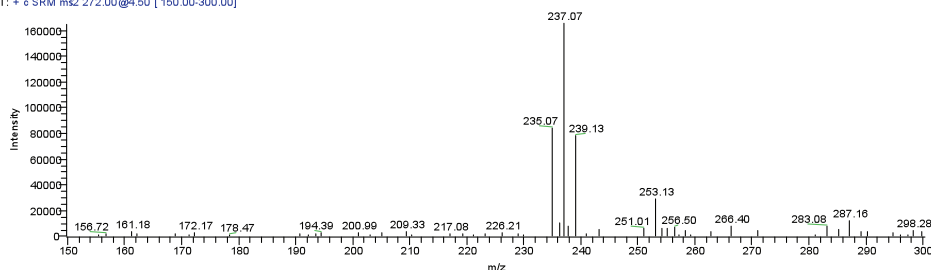
OCL_VAL_203 #1782 RT: 21.26 AV: 1 NL: 1.64E5
T: + e SRM m/z 272.00@4.50 [150.00-300.00]

Figura 1. Recuperación de los plaguicidas organoclorados en grasa de porcino por el modo de espectrometría de masas por etapas, enriquecimiento 0.005 µg/g. Espectro de masas del mirex, ion precursor m/z = 272.00

Figure 1. Recovery of organochlorine pesticides in pig fat by mass spectrometry in stages, 0.005 µg/g of fortification. Mass spectrum of mirex, precursor ion m/z=272.00

and GC/EI/MS/SIM in laboratories that perform public services.

In the last few years, a big advantage of the technological developments that the ion traps have had for laboratories that serve food safety, is that they are very sensitive in full scan mode and stage mass spectrometry. The operating mode MS² is used more today, it provides greater analytical security in food analyses that are controlled with this technology. Furthermore, when the analytical measurements are made with automatic helium flow controllers inside the trap and the method of data acquisition is optimized with the exact values of the molecular masses of precursor ions selected from the organochlorine pesticides with two decimal places values, the trapping efficiency of selected ion fragments are optimized and outperforms the blind chromatographic GC-ECD systems. This is very important in measurements done with the technique of MSMS because although these devices are low resolution, if precursor ions are not controlled with whole molecular weights, without considering the fractions, the trap does not optimize the selection of precursor ions for radio frequency values (R_f) needed in these analyzers and therefore, do not properly select the mass/charge ratio (m/z) of precursor ions and low-intensity is obtained from the product ions.

The method developed with the analytical instrumentation GC/PTV/EI/MS/MS eliminates the interference effects of the pork fat that is obtained with a semi-selective detector with electron capture. The decision limit and detection capability meets the maximum residue limits demanded by the Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-19942 and European

El método propuesto fue comparado con el de Butler y Conoley,⁵ quienes emplearon un inyector PTV con precolumnas de concentración, para realizar estudios estadísticos de las señales para plaguicidas organofosforados, comparando las señales de áreas y alturas con valores de flujo en trampa de iones de 0.3, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0 y 5.0 ml/min. En el método desarrollado, la intensidad de los iones de los plaguicidas fue optimizada con un flujo de 1.0 ml/min para el aislamiento de los iones precursores y señales de los iones-producto, en el cual se obtuvieron valores de límites de decisión y capacidad de detección adecuados para cumplir con los MRL exigidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994.

La CID es de importancia fundamental para la optimización de las señales de los iones producto obtenidos para estabilización de las diferentes transiciones iónicas. Cada valor asignado de CID produce la formación de los fragmentos de iones en el modo de operación de espectrometría de masas por etapas MS², y el rango de masas para detectar la huella característica del ion precursor depende de los valores de energía máxima de excitación (q), que oscilaron en un rango de 0.225 a 0.45. Estos valores son fundamentales para lograr optimizar las señales de los iones-producto así como el tiempo aplicado de valor de radiofrecuencia (R_f); el rango de tiempo comprendido oscila entre 50-60 ms para todos los plaguicidas analizados.

Se estudió el efecto de la presión del gas separador (*damping flow*) sobre la intensidad de los iones precursores para las determinaciones por la técnica de espectrometría de masas por etapas MS², estudiando las señales con valores presión de helio 100, 110 y

Union requirements. The use of the control module for automatic flow for the ion trap optimizes the efficiency of trapping the precursor ions, increasing the product ions signals, taking decision limits and detection capability with better results than those achieved with electron capture detectors recommended in the NOM-021-ZOO-1995.¹ With a flow of 1 ml/min it was observed that most pesticide signals increased between 400-500% of the normal values of 0.3 ml/min reference value set ion trap in the Polaris Q.

Acknowledgements

Special thanks to Dr. Alejandro Plascencia Jorquera, of the Cuerpo Academico de Nutricion y Biotecnologia of the Universidad Autnoma de Baja California, for his support and contributions as a reviewer of the article.

Referencias

1. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, 1995. Norma Oficial Mexicana NOM-021-ZOO-1995. Análisis de residuos de plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados en grasa de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves por cromatografía de gases. 23 de Mayo de 1995.
2. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, 1996. NOM-004-ZOO-1994. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994, Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos, por lo que ahora se denominará grasa, hígado, músculo y riñón en aves, bovinos, caprinos, cérvidos, equinos, ovinos y porcinos. Residuos tóxicos. Límites máximos permisibles y procedimientos de muestreo. 25 de Octubre de 1996.
3. USDA-FSIS. Analytical Chemistry Laboratory Guidebook. Residue chemistry. Washington, D C: United States Department of Agriculture, 1991:CHC2.
4. ROBARGE TC, PHILLIPS E, COLONEY M. Use of a Novel Large volume Splitless Injection Technique and sequential Full Scan/SIM for simultaneous screening and confirmation of toxicological Specimens. United States of America:Thermo Fisher Scientific Inc., 2007:AN10014.
5. BUTLER J, CONOLEY M. Comparison of GC/MS/MS to GC/MS analysis of pesticides in vegetables. United States of America:Thermo Fisher Scientific Inc., 2007:AN10017.
6. FANNIN ST, CONOLEY M, EDWARDS J. Analytical tandem mass spectrometry with a benchtop GC/MS/MS system for the analysis of chlorinated pesticides. United States of America: Thermo Quest 1998:TR9120.
7. PIGOZZO F, ANDERSON R, CLAY DE. Quick screening of complex mixtures through fast GC analysis: preliminary results on performance of the "BEST PTV" injector. United States of America: Thermo Quest 1997:AN9148.
8. RODRÍGUEZ VALDÉS ON, VELÁZQUEZ CHONG LR,

120 psi, en el que fue posible optimizar el efecto de carga con una presión de 110 psi para la entrada de helio directa en la trampa de iones, aplicando valores de flujo de 0.3, 1.0 y 2.0 ml/min sobre cada uno de los iones precursores y productos de los plaguicidas, para lograr la sensibilidad adecuada y requerida para cumplir con las regulaciones nacionales e internacionales.

La combinación de la fuente de ionización electrónica con analizador de trampa de iones (EI/Ion-Trap/MSMS) es muy confiable, pero relativamente compleja; por ello es necesario realizar ajustes de los métodos de adquisición para las corridas de rutina, el sistema es productivo y seguro evitando falsos positivos y negativos que se registran con los métodos de adquisición GC-ECD y GC/EI/MS/SIM en laboratorios que realizan servicios al público.

Una gran ventaja del desarrollo tecnológico que han tenido en los últimos años las trampas de iones para los laboratorios que están al servicio de la seguridad alimentaria, es que son muy sensibles en los modos de barrido total y la espectrometría de masas por etapas. El modo de operación MS² es más utilizado en la actualidad, proporciona una mayor seguridad analítica en los análisis de alimentos que son controlados con esta tecnología. Además, cuando las mediciones analíticas se hacen con los controladores automáticos de flujos de helio para el interior de la trampa y el método de adquisición de datos es optimizado con los valores exactos de las masas moleculares de iones precursores seleccionados de los plaguicidas organoclorados con valores de dos cifras decimales, la eficiencia del trapeo de los fragmentos iónicos seleccionados son optimizados y supera a los sistemas cromatográficos ciegos de GC-ECD. Ello es muy importante en las mediciones con la técnica de MSMS porque aunque estos equipos sean de baja resolución, si los iones precursores no son controlados con pesos moleculares enteros, sin tener presentes las fracciones, la trampa no optimiza la selección de los iones precursores para los valores de radio frecuencia (R_f) necesarios en estos analizadores y, como consecuencia, no seleccionan adecuadamente las relaciones de masa/carga (m/z) de los iones precursores y se obtiene baja intensidad de los iones-producto.

El método desarrollado con la instrumentación analítica GC/PTV/EI/MS/MS elimina los efectos de interferencia de la grasa de ganado porcino que se obtienen con un detector semi-selectivo de captura de electrones. El límite de decisión y la capacidad de detección cumplen con los límites máximos de residuos exigidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994² y los requerimientos de la Unión Europea. La utilización del módulo de control

SOTO ALVARADO S DEL C, RODRÍGUEZ VENTURA JG, TEMORES PEÑA J, ESCOBOZA GARCÍA MI *et al.* Desarrollo de un método analítico para el análisis de compuestos anabólicos en matrices biológicas con un sistema GC/EI/PTV/MS. Memorias *in extenso* del XXI Congreso Nacional de Química Analítica; 2007 septiembre 3-7; Monterrey (Nuevo León) México. México D F: Asociación Mexicana de Química Analítica A C, 2007; 142-145. ISBN: 978-968-9400.

9. YUMIKO N, YASUHIDE T, YUKIHIRO S. Multiresidue analysis of 48 pesticides in agricultural products by capillary gas chromatography. *J Am Chem Soc* 1994; 42:2508-2518.
10. WYLIE PL. Trace level pesticide analysis by GC/MS using large-volume injection. United States of America: Agilent Technologies Inc., Gas Chromatography Application Note. 1997.
11. MARTINEZ VIDAL JL, ARREBOLA FJ, MATEU-SANCHEZ M. Application to routine analysis of a method to determine multiclass pesticide residues in fresh vegetables by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Mass Spectrom*. 2002; 16:1106-1115.
12. MATEU-SANCHEZ M, MORENO M, ARREBOLA JF. Analysis of acetamiprid in vegetables using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Mass Spectrom* 2003; 19:701-704.
13. BECK JR, YANG C. LC-MS/MS Analysis of herbicides in drinking water at femtogram levels using 20 mL. EQuan direct injection techniques. United States of America: Thermo Fisher Scientific Inc., 2008:AN437.
14. CROCKETT BJ, CONOLEY M. Improved GC/MS/MS pesticide residue analysis on the ion trap by incorporating variable buffer gas control. United States of America: Thermofinnigan, 2002:AN 9172.
15. EDWARDS J, FANNIN ST, KLEIN D, STEINMETZ G. The analysis of pesticide compounds in biological matrices by GC-MS/MS. United States of America: Thermo Quest, 1998:AN 9137.

de flujo automático para la trampa de iones optimiza la eficiencia del trapeo de los iones precursores, incrementando las señales de los iones-producto, teniendo límites de decisión y capacidad de detección con resultados mejores de los que se logran con los detectores de captura electrónica recomendados en la NOM-021-ZOO-1995.¹ Con un flujo de 1 ml/min se observó para casi todos los plaguicidas el incremento de las señales entre 400-500% de los valores normales de 0.3 ml/min valor configurado de referencia en trampa de iones en el Polaris Q.

Agradecimientos

Se agradece al Dr. Alejandro Plascencia Jorquera, del Cuerpo Académico de Nutrición y Biotecnología de Rumiantes de la Universidad Autónoma de Baja California, por el apoyo brindado y sus aportaciones como revisor del artículo.

16. INSTITUTO MEXICANO DE NORMAS Y CERTIFICACIÓN, A.C. NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025:2005 COPANT/ISO/IEC 17025:2005. Evaluación de la conformidad - Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. 2006.
17. COMMISSION DECISION 2002/657/CE 2002/657/EC of August 12th, 2002. *Off J Eur Commun* L221 (2002) 8.
18. HORWITZ, W. The Certainty of Uncertainty. *J AOAC Int* 2003;86,(Pt 1):109-111.
19. NICOLICH RS, WERNECK-BARROSO E, SÍPOLI MARQUES MA. Food Safety Evaluation: Detection and confirmation of chloramphenicol in milk by HPLC-MS/MS. *Anal Chem* 2006; 565:1:97-102

