

Metodología para la Determinación de Pesticidas Organoclorados mediante Cromatografía de Gases Acoplado Espectrometría de Masas y Detector de Captura de Electrones

Mendieta, Claudia J.¹, Ortega, Nicole A.², Solano-Cueva, Natalí.³, Figueroa, Jorge G.^{3*}

¹Universidad Técnica Particular de Loja, Titulación de Ingeniería Química, Loja, Ecuador

²Universidad Técnica Particular de Loja, Titulación de Ingeniero en Alimentos, Loja, Ecuador

³Universidad Técnica Particular de Loja, Departamento de Química y Ciencias Exactas, Loja, Ecuador
e-mail: jgfigueroa@utpl.edu.ec

Resumen: El uso de pesticidas en Ecuador es muy amplio y las concentraciones utilizadas son superiores a los límites máximos permitidos. Las agencias que controlan este tipo de compuestos no cuentan con tecnología sofisticada como tiempo de vuelo, utilizando el mismo equipo para distintos análisis. Por esta razón, en algunos casos dos columnas son instaladas simultáneamente, lo que podría llegar a ser un problema con la temperatura máxima que se puede utilizar. El objetivo de este trabajo fue desarrollar una metodología que permita cuantificar 32 pesticidas organoclorados mediante cromatografía de gases utilizando los detectores de captura de electrones y espectrometría de masas con temperatura reducida. Se evaluaron diferentes condiciones de rampa de temperatura, fase estacionaria, temperatura del inyector, flujo del gas de arrastre, flujo de purga y tipo de inyección. Únicamente la temperatura del inyector y el flujo del gas de arrastre no tuvieron efecto sobre el área de los picos. Empleando la columna DB5-ms y una misma rampa de temperatura, se pudieron separar 24 pesticidas. Pese a que se emplearon distintos gradientes de temperatura, tres pares de pesticidas compartieron el mismo tiempo de retención, pero aplicando el monitoreo de iones seleccionados se logró identificarlos. El coeficiente de determinación de las curvas de calibración fue mayor a 0,99. Los límites de detección encontrados fueron menores a los límites máximos permitidos.

Palabras clave: Cromatografía de gases, pesticidas organoclorados, validación.

Development of a Method for the Quantification of Organochlorine Pesticides by GC-ECD-MS

Abstract: In Ecuador the use of pesticides has been a problem due to the concentrations used are higher than the maximum allowable limits. The agencies that control this type of compounds do not have sophisticated technologies like tandem mass spectrometry or time of flight, and use the same equipment for different analysis. For these reason sometimes two columns are installed simultaneously, which consequently can be a problem with the maximum temperature that can use. The aim of this work was to develop a methodology to quantify 32 organochlorine pesticides by gas chromatography using electron capture detector and mass spectrometry with a low oven temperature. Different conditions of temperature ramp, stationary phase, injector temperature, carrier gas flow, purge flow and injection mode were evaluated. Only injector temperature and carrier gas flow had no effect on the peak area. Using a DB5-ms column and the same temperature ramp, 24 pesticides were separated. Although different oven temperature programs were tested, three pairs of pesticides shared the same elution time, but the identification was achieved using selected ion monitoring mode. The correlation coefficient of the calibration curves was greater than 0,99. The detection limits found were lower than the maximum residue levels allowed.

Keywords: Gas chromatography, organochlorine pesticides, validation.

1. INTRODUCCIÓN

Los pesticidas organoclorados (OCLs) son contaminantes orgánicos persistentes que han sido ampliamente utilizados desde 1950 para proteger los cultivos de las plagas (Li, et al., 2014; Moon, et al., 2009; Soceanu, et al., 2012; Wu, et al., 2014). La evidencia del peligro producido por ellos en el medio ambiente y la salud se ha demostrado en las últimas

décadas (Florax, et al., 2005; Pimentel, 2005), dada a la aplicación de técnicas analíticas de separación.

Para garantizar que los alimentos, piensos y agua sean inocuos y aptos para el consumo, las comisiones reguladoras internacionales han establecido límites máximos de residuos (LMRs) (Dömötöróvá & Matisová, 2008; Xu, et al., 2013). En Ecuador, muchas organizaciones agrícolas están preocupadas por el impacto de estos compuestos, ya que no existen mecanismos para controlar su uso adecuado (Crissman, et al., 1994; Donald C, et al., 2002; Hurtig, et al.,

jgfigueroa@utpl.edu.ec

Recibido: 13/03/2017

Aceptado: 23/10/2017

Publicado: 31/10/2017

2003; Paz-y-Miño, et al., 2002), a pesar de los cambios citogenéticos demostrados en los agricultores tras la exposición a estos compuestos tóxicos. Inclusive si los pesticidas son aplicados con buenas prácticas agrícolas (BPA), pueden dejar residuos que pueden causar efectos nocivos para la salud y el medio ambiente, aún si se encuentran en concentraciones muy bajas (Masci, et al., 2014; Štěpán, et al., 2005).

Los análisis de OCLs pueden llevarse a cabo por cromatografía de gases acoplada con detector de captura de electrones (GC/ECD), ofreciendo una alta eficiencia de separación y una mayor selectividad (Goñi, et al., 2009; Rial-Otero, et al., 2007). Por otro lado, esta técnica carece de poder de identificación. Pese a que existen técnicas más rápidas como tándem MS, tiempo de vuelo o trampa MS de iones, estos requieren de materiales y equipos costosos (Peré-Trepát, et al., 2007) y las instituciones privadas e inclusive las organizaciones gubernamentales no lo poseen. La cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-MS) es la técnica de análisis más utilizada para el análisis de residuos de pesticidas (Alder, et al., 2006; Matisová & Dömötöróvá, 2003). Detecta los analitos de interés a través de la selección de iones específicos determinados con el monitoreo de iones seleccionados (LeDoux, 2011), proporcionando información selectiva y sin interferencia espectral (Cajka, et al., 2008; Hernández, et al., 2006).

Un método accesible para controlar la materia prima en Ecuador tiene que ser certificado, por consiguiente, el objetivo de este trabajo es desarrollar y validar un procedimiento analítico rápido, sensible y selectivo para la identificación y cuantificación residual de una mezcla multicomponente de OCLs que son comúnmente utilizados en la actividad agrícola ecuatoriana.

2. METODOLOGÍA

2.1 Químicos y estándares analíticos

La mezcla certificada multicomponente de pesticidas organoclorados MIX 13 del Dr. Ehrenstorfer MIX 13 Augsburg (Germany): Aldrin, *cis*-Clordana (alfa), *trans*-clordano (gama), oxyclordano, 2,4'-DDD, 4,4'-DDD, 2,4'-DDE, 4,4'-DDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, Dieldrin, Endrin, alfa-Endosulfan, beta-Endosulfan, alfa-HCH, beta-HCH, gamma-HCH, delta-HCH, epsilon-HCH, Heptacloro, Heptacloro-exo-epóxido (*cis*-, isómero B), Heptacloro-endo-epóxido (*trans*-, isómero A), Hexaclorobenceno, Isodrin, Metoxicloro, Mirex, 2,4,4'-Triclorobifenilo, 2,2',5,5'-Tetraclorobifenilo, 2,2',4,5,5'-Pentaclorobifenilo, 2,2',3,4,4',5'-Hexaclorobifenilo, 2,2',4,4',5,5'-Hexaclorobifenilo, 2,2',3,4,4',5,5'-Heptaclorobifenilo fueron analizados. Todas las disoluciones fueron almacenadas en la oscuridad a 4°C, protegidas de la luz y dejadas por 1 hora a temperatura ambiente antes de su uso.

2.2 Equipo

Un cromatógrafo de gases Agilent 6890N equipado con dos detectores diferentes, un espectrómetro de masa AGILENT 5973 y un detector de captura de electrones, además de un inyector automático AGILENT 7683. La separación de los picos fue analizada en dos columnas capilares con fase estacionaria diferente, una columna DB-5ms (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm) de polímero fenil arileno equivalente a (5%-fenil)-metilpolisiloxano y una columna DB-35ms (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm) equivalente a (35%-fenil)-metilpolisiloxano. Helio (99,999%) y nitrógeno (99,999%) fueron utilizados como gas portador y gas auxiliar respectivamente, ambos provenientes de la empresa AGA.

2.3 Condiciones del GC-MS

Las siguientes condiciones se evaluaron: Quince rampas de temperatura fueron probadas para el horno, tres temperaturas del inyector (230, 250 y 280°C), dos tiempos de saturación del solvente en el inyector (1 y 2 min), dos flujo de gas de arrastre (1 y 2 mL/min), tres flujo de purga (5 mL/min @ 1 min, 5 mL/min @ 0 min y 10 mL/min @ 1 min), tres modos de inyección (pulsed split 15 psi @ 2 min, 30 psi @ 2 min y una en modo splitless).

La influencia de cada factor se analizó por experimentación monofactor y las mejores condiciones instrumentales se seleccionaron en términos de resolución y abundancia relativa.

El detector de espectrometría de masa con impacto electrónico de 70 eV fue operado en modo SIM (monitoreo de ion(es) selectivo), el voltaje del multiplicador de electrones se fijó en 1480V. Las temperaturas de la fuente de iones y la línea de transferencia fueron ajustadas a 230 y 260°C, respectivamente. Cada compuesto fue identificado a través de la comparación con la biblioteca Wiley7n. El programa usado fue MSD ChemStation Build 26 Agosto 2003 de Copyright © Agilent Technologies 1989-2003.

Metodologías distintas fueron probadas en modo de barrido total SCAN y dos pruebas mediante el modo de detección de iones seleccionados SIM. El detector universal operado en modo full SCAN permitió la identificación y el análisis del espectro de masas, mientras con el detector específico operado en modo SIM se seleccionaron tres iones característicos de cada uno, para su análisis confirmatorio.

Una vez seleccionadas las condiciones, las muestras se inyectaron mediante el detector selectivo de captura de electrones con los siguientes parámetros: 250°C; Constant column + makeup flow; flujo combinado de 60 mL/min y nitrógeno como makeup gas.

2.4 Validación del método

El análisis de precisión se realizó mediante la determinación del coeficiente de variación y la linealidad de las curvas de calibración por el coeficiente de determinación. Para el espectrómetro de masas, seis diferentes concentraciones del

pesticida MIX-13 fueron preparadas (0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 y 1 mg · L⁻¹), por triplicado (repetibilidad) en tres días diferentes (reproducibilidad), mientras que para el detector de captura de electrones, se inyectaron cinco concentraciones (0,05; 0,25; 0,5; 0,75 y 1 mg · L⁻¹) con tres repeticiones de cada uno en un solo día.

Para la determinación de los límites de detección (LDD) y cuantificación (LDC), la concentración más baja que dio una señal diferente al del ruido se inyectó nueve veces en tres días diferentes, la señal media (Y_s) y desviación estándar (S_s) se calcularon. La señal mínima detectable se calculó con la Ecuación (1):

$$Y = Y_s + 3 * S_s \quad (1)$$

El LDD se calculó a través de la Ecuación (2) lineal procedente de la curva de calibración:

$$LDD = \frac{Y - \text{intersección}}{\text{pendiente}} \quad (2)$$

El LDC se calculó usando la misma Ecuación (2), pero Y se calculó mediante la Ecuación (3):

$$Y = Y_b + 10 * S \quad (3)$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de desarrollo del método inició con la optimización de los parámetros instrumentales, enfocándose en tres elementos principales del sistema cromatográfico: El sistema de inyección, de separación y de detección.

En análisis de trazas como en la detección de pesticidas, el modo de inyección splitless es el más usado, dado al incremento de la sensibilidad (Chasteen, s. f.). Yang, et al. (2007) dentro de su estudio evaluaron el modo de inyección, siendo el modo pulsed splitless el que mostró mejor resultado. Tras comparar los modos de inyección, se determinó que el modo splitless ofrece una mayor abundancia de los picos cromatográficos que las dos pruebas realizadas en modo pulsed split, mas no existió efecto en la resolución de los picos cromatográficos. Por ejemplo el compuesto 2,4,4'- Triclorobifenilo en modo splitless tiene un área 25% mayor que las otras pruebas utilizando pulsed split. La resolución entre el 2,4,4'- Triclorobifenilo y delta-HCH fue 3,4, 3,3 y 3,5 usando splitless, pulsed split 15 psi y pulsed split 30 psi respectivamente.

Según Stashenko y Martínez (2011), la temperatura del inyector tiene que ser identificada para asegurar la volatilidad de todos los compuestos y la no degradación de los mismos. La temperatura se programó en un rango de 230 a 280°C para impedir la ruptura de la mayoría de los compuestos termolábiles (Martínez Vidal, et al., 2000). Aunque la temperatura del inyector es útil para aumentar las áreas cromatográficas; en este caso, se demostró que no existió ninguna diferencia en la resolución y la abundancia de los

picos. La temperatura seleccionada fue de 250°C. El tiempo de saturación del solvente en el inyector (1 y 2 min) tampoco mostraron diferencia, siendo 1 min el tiempo seleccionado.

Tras seleccionar el modo de inyección, se evaluaron tres pruebas del flujo de purga: 5 mL/min (1 min), 5 mL/min (0 min) y 10 mL/min (1 min). Los resultados mostraron que utilizando 5 mL/min (1 min) se exhibió mayor área cromatográfica, seguido por 5 mL/min (0 min). Para el caso del 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexaclorobifenilo, al usar el primer flujo se logró áreas dos y cuatro veces mayores que usando el segundo y tercer flujo.

Al analizar la diferencia entre el flujo de gas de arrastre (1 y 2 mL/min) no se encontró mayor diferencia basándonos en resolución cromatográfica, por lo que se seleccionó 1 mL/min, permitiendo un ahorro significativo en el consumo de gas.

Comparando las dos columnas, una columna DB-5ms y una columna DB-35ms, se determinó que la primera columna expone ligeramente una mayor abundancia, mejor resolución y además de lograr una mayor identificación en el número de compuestos. Con la columna DB-35 ms se logró determinar que nueve de los treinta y dos compuestos coeluyen: epsilon-HCH con 2,2',5,5'-tetraclorobifenilo y con aldrin; 2,4'-DDE con 2,2',4,5,5'-pentaclorobifenilo; 4,4'-DDD con 2,4'-DDT; 2,2',3,4,4',5'-hexaclorobifenilo con 4,4'-DDT. Con la columna DB-5 ms coeluyen ocho compuestos: oxi-clordano con heptacloro-exo-epóxido; cis-clordano con alfa-endosulfan; 4,4'-DDD con 2,4'-DDT; 2,2',3,4,4',5'-hexaclorobifenilo con 4,4'-DDT.

Con el fin de separar todos los OCLs, se probaron quince programas de temperatura del horno, centrándose en la eficiencia de la separación de los picos y tiempo de ejecución; siendo la programación de horno de la columna: 70°C (durante 2 min) → 120°C (25°C/min) → 220°C (8°C/min, durante 10 min) → 250°C (25°C/min, durante 7 min).

Las condiciones instrumentales empleadas en esta metodología permitieron la identificación de veinticuatro pesticidas organoclorados, pues ocho de los treinta y dos presentes en el PESTICIDE MIX-13 coeluyen (ver Figura 1). Para la separación de los compuestos que compartieron el mismo tiempo de elución, se realizaron dos pruebas mediante SIM con los iones cualificantes de cada compuesto. En la primera corrida se seleccionaron los iones de oxi-clordano (115, 187 y 149), cis-clordano (373, 375 y 377) y de 4,4'-DDT (235, 237 y 165) y para la segunda se trabajó con los iones de heptacloro-exo-epóxido (353, 355 y 351); alfa-endosulfan (241, 239 y 195); y, de 2,2',3,4,4',5'-hexaclorobifenilo (360, 362 y 290). La Figura 2 muestra los cromatogramas obtenidos con la metodología en las dos pruebas SIM, en la que se aprecian las abundancias de dichos compuestos.

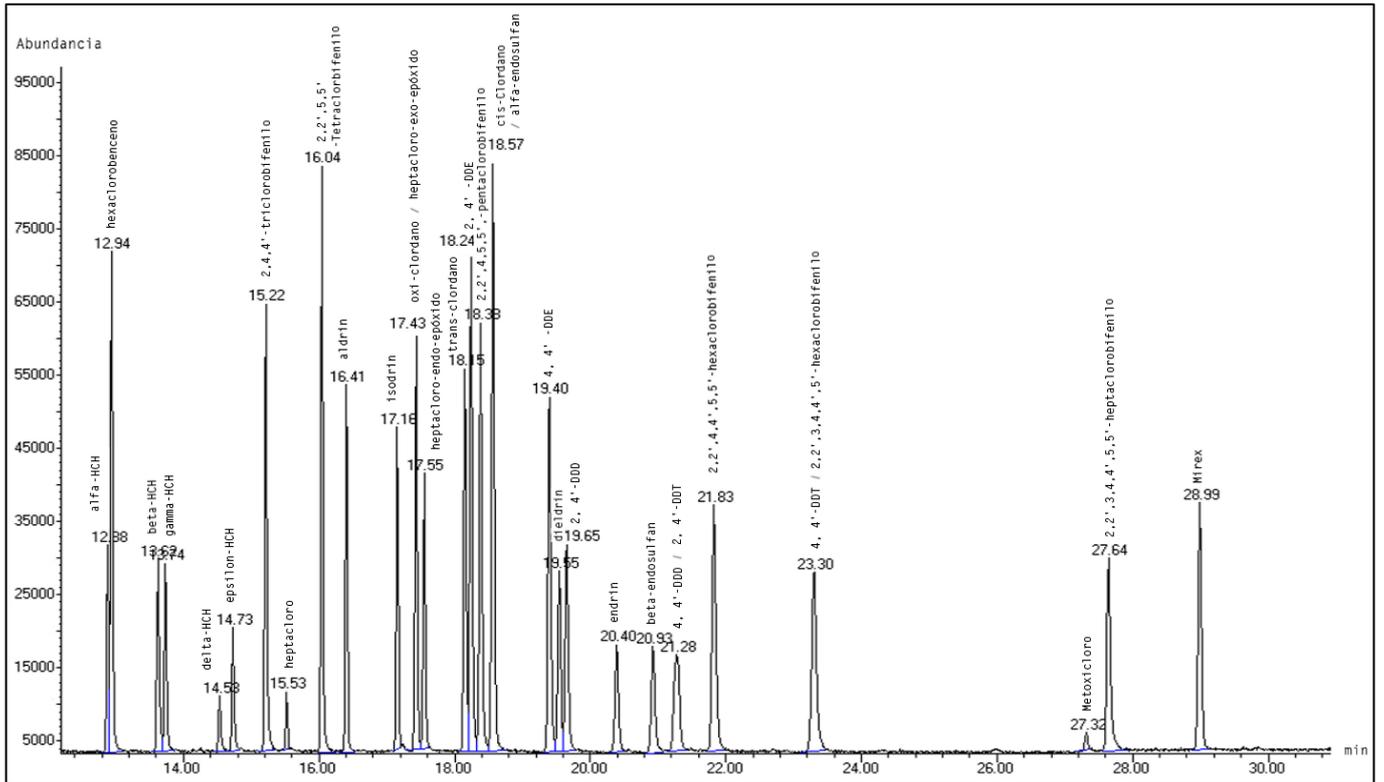


Figura 1. Cromatograma con las condiciones seleccionadas

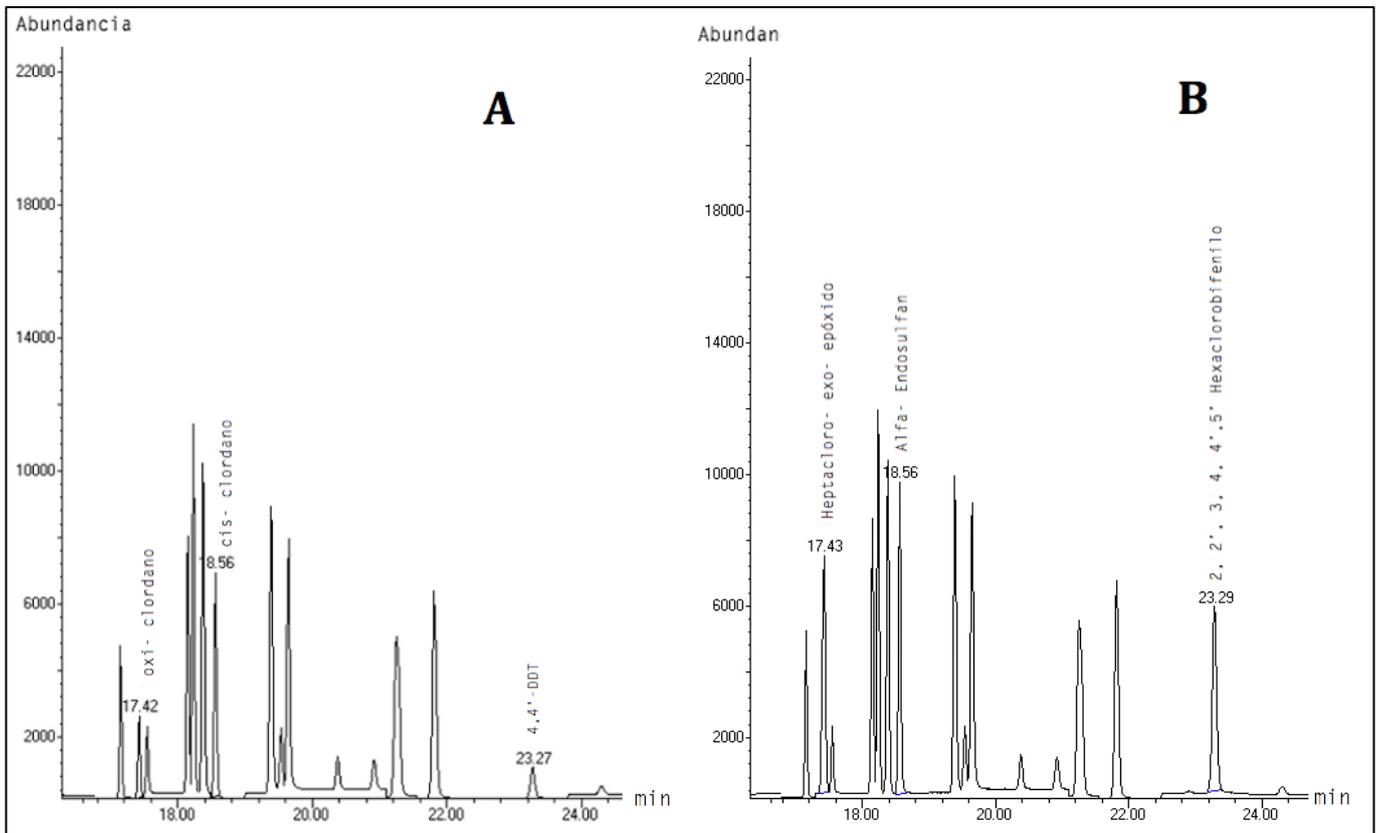


Figura 2. Grupos en modo SIM. A). Grupo 1: Clordano, cis-clordano y 4,4'-DDT B). Grupo 2: Heptacloro-exo-epóxido, alfa-endosulfan y 2,2',3,4,4',5'-Hexaclorobifenilo

Tabla 1. Tiempo de retención, coeficiente de determinación, pendiente e intersección conseguidos con las condiciones seleccionadas

Pesticida	Detector	TR(min)	Coefficiente determinación	Pendiente (L/mg)	Intersección
Alpha-HCH	MS	12,89	0,997 ± 0,001	55 ± 2	-23 ± 5
	ECD	13,98	0,999 ± 0,001	152 ± 3	-6 ± 7
Hexaclorobenceno	MS	12,94	0,999 ± 0,001	154 ± 4	-13 ± 14
	ECD	14,05	1,000 ± 0,000	104 ± 2	7 ± 5
beta-HCH	MS	13,63	0,994 ± 0,003	53 ± 23	1 ± 20
	ECD	14,70	0,998 ± 0,001	67 ± 1	-13 ± 3
gamma-HCH	MS	13,74	0,995 ± 0,002	59 ± 1	-21 ± 10
	ECD	14,84	0,997 ± 0,001	115 ± 2	-44 ± 4
delta-HCH	MS	14,53	0,991 ± 0,005	21 ± 1	-26 ± 6
	ECD	15,37	0,996 ± 0,002	11 ± 1	7 ± 2
epsilon- HCH	MS	14,73	0,995 ± 0,003	36 ± 3	-15 ± 7
	ECD	15,61	0,997 ± 0,001	101 ± 2	-31 ± 6
2,4,4'-Triclorobifenilo	MS	15,22	0,998 ± 0,001	142 ± 3	-56 ± 15
	ECD	15,82	0,998 ± 0,000	65 ± 1	-10 ± 2
Heptacloro	MS	15,53	0,999 ± 0,001	15 ± 1	2 ± 2
	ECD	16,29	0,999 ± 0,001	34 ± 1	6 ± 3
2, 2',5,5'-Tetraclorobifenilo	MS	16,05	0,999 ± 0,001	165 ± 4	-48 ± 14
	ECD	16,63	0,999 ± 0,000	55 ± 2	-17 ± 4
Aldrin	MS	16,41	0,998 ± 0,001	100 ± 3	-40 ± 10
	ECD	17,15	0,999 ± 0,001	16 ± 1	5 ± 3
Isodrin	MS	17,16	0,998 ± 0,002	94 ± 4	-35 ± 7
	ECD	17,61	0,999 ± 0,001	152 ± 3	18 ± 5
Heptacloro-endo-epóxido (<i>trans</i> -, isómero A)	MS	17,56	0,995 ± 0,003	98 ± 3	-62 ± 16
	ECD	18,84	0,999 ± 0,001	227 ± 4	3 ± 7
Trans-Clordano	MS	18,15	0,998 ± 0,001	131 ± 5	-54 ± 13
	ECD	18,98	0,999 ± 0,001	138 ± 2	2 ± 3
2, 4'-DDE	MS	18,25	0,998 ± 0,001	186 ± 5	-87 ± 18
	ECD	19,72	0,999 ± 0,001	146 ± 3	-5 ± 6
2,2',4,5,5'-Pentaclorobifenilo	MS	18,39	0,999 ± 0,001	169 ± 3	-59 ± 12
	ECD	19,76	0,999 ± 0,000	81 ± 2	5 ± 4
4,4'-DDE	MS	19,40	0,996 ± 0,002	150 ± 5	-84 ± 14
	ECD	20,23	0,999 ± 0,001	257 ± 5	31 ± 11
Dieldrin	MS	19,55	0,999 ± 0,001	69 ± 7	-18 ± 5
	ECD	21,21	0,999 ± 0,001	147 ± 3	-1 ± 6
2,4'-DDD	MS	19,66	0,999 ± 0,001	69 ± 8	-20 ± 5
	ECD	21,42	0,999 ± 0,000	136 ± 3	13 ± 4
Endrin	MS	20,39	0,995 ± 0,003	41 ± 10	-1 ± 6
	ECD	21,48	0,999 ± 0,000	102 ± 1	3 ± 3
beta-Endosulfan	MS	20,93	0,994 ± 0,003	49 ± 7	-20 ± 7
	ECD	22,51	1,000 ± 0,000	56 ± 2	-7 ± 7
2,2',4,4',5,5'-Hexaclorobifenilo	MS	21,83	0,997 ± 0,001	142 ± 5	-64 ± 13
	ECD	23,52	0,998 ± 0,000	157 ± 2	-25 ± 4
Metoxicloro	MS	27,32	0,995 ± 0,005	9 ± 1	-2 ± 4
	ECD	27,78	0,997 ± 0,003	5 ± 0	5 ± 2
2,2',3,4,4',5,5'-Heptaclorobifenilo	MS	27,65	0,993 ± 0,004	102 ± 6	-91 ± 14
	ECD	28,17	0,996 ± 0,001	30 ± 1	-10 ± 4
Mirex	MS	28,99	0,996 ± 0,002	116 ± 5	-47 ± 9
	ECD	29,29	0,998 ± 0,000	62 ± 1	-1 ± 3

TR: Tiempo de Retención

Para MS: Pendiente x 10 000, Intersección x 1000

Para ECD: Pendiente x 1E+08, Intersección x 1E+07

Tabla 2. Límites de detección y cuantificación para MS y máximos límites de residuos para alimentos y agua de consumo

Pesticida	LMRs		Límite de Detección (MS)		Límite de Cuantificación (MS)	
	Cereales	Agua	Alimentos	Agua	Alimentos	Agua
	(ppm)	(ppb)	(ppm)	(ppb)	(ppm)	(ppb)
alfa-HCH	0,2 ^{c3}	-	0,006	0,097	0,01	0,146
Hexaclorobenceno	0,01 ^b	1 ^a	0,005	0,069	0,008	0,113
beta-HCH	0,2 ^{c3}	-	0,008	0,113	0,019	0,284
gamma-HCH	0,01 ^b	0,2 ^a	0,007	0,104	0,012	0,176
delta-HCH	0,2 ^{c3}	-	0,021	0,319	0,028	0,415
epsilon-HCH	0,2 ^{c3}	-	0,01	0,144	0,013	0,195
2,4,4'-Triclorobifenilo	-	0,5 ^{a2}	0,006	0,086	0,008	0,125
Heptacloro	0,01 ^{b3}	0,4 ^a	0,006	0,084	0,01	0,143
2,2',5,5'-Tetraclorobifenilo	-	0,5 ^{a2}	0,005	0,081	0,008	0,12
Aldrin	0,01 ^{b4}	0,03 ^{c2}	0,006	0,095	0,01	0,147
Isodrin	-	-	0,006	0,085	0,007	0,111
oxy-Clordano	-	0,2 ^{c2}	0,009*	0,132*	0,016*	0,237*
Heptacloro-exo-epóxido (<i>cis</i> -, isómero B)	0,01 ^{b3}	0,2 ^{a1}	0,009*	0,132*	0,016*	0,237*
Heptacloro-endo-epóxido (<i>trans</i> -, isómero A)	0,01 ^{b3}	0,2 ^{a1}	0,008	0,119	0,012	0,181
<i>trans</i> -Clordano (gamma)	0,02 ^{c1}	0,2 ^{c2}	0,006	0,093	0,009	0,14
2, 4'-DDE	-	-	0,006	0,088	0,009	0,128
2,2',4,4,5,5'-Pentaclorobifenilo	-	0,5 ^{a2}	0,006	0,085	0,009	0,129
<i>cis</i> -Clordano (alfa)	0,02 ^{c1}	0,2 ^{c2}	0,006*	0,097*	0,010*	0,148*
alfa-Endosulfan	0,05 ^{b2}	-	0,006*	0,097*	0,010*	0,148*
4, 4'-DDE	0,05 ^{b1}	1 ^{c2}	0,006	0,095	0,008	0,122
Dieldrin	0,01 ^{b4}	0,03 ^{c2}	0,006	0,09	0,01	0,146
2, 4'-DDD	-	-	0,006	0,094	0,011	0,165
Endrin	0,01 ^b	2 ^a	0,008	0,117	0,014	0,206
beta-Endosulfan	0,05 ^{b2}	-	0,007	0,11	0,01	0,149
4, 4'-DDD	0,05 ^{b1}	1 ^{c2}	0,014*	0,211*	0,023*	0,348*
2, 4'-DDT	0,05 ^{b1}	1 ^{c2}	0,014*	0,211*	0,023*	0,348*
2,2',4,4',5,5'-Hexaclorobifenilo	-	0,5 ^{a2}	0,006	0,093	0,008	0,12
4, 4'-DDT	0,05 ^{b1}	1 ^{c2}	0,013*	0,189*	0,020*	0,305*
2,2',3,4,4',5'-Hexaclorobifenilo	-	0,5 ^{a2}	0,013*	0,189*	0,020*	0,305*
Metoxicloro	2 ^c	40 ^a	0,024	0,355	0,037	0,549
2,2',3,4,4',5,5'-Heptaclorobifenilo	-	0,5 ^{a2}	0,012	0,179	0,017	0,254
Mirex	-	-	0,006	0,095	0,008	0,126

^a La Agencia de Protección Medioambiental (EPA) establece máximo nivel de contaminantes para sustancias tóxicas en agua de consumo. Disponible en <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#one>

^{a1} Valores referidos a heptacloro epóxido

^{a2} Valores referidos a Bifenilos policlorados

^b LMRs establecidos por la Unión Europea. Disponible en http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/?event=pesticide.residue.selection&language=EN

^{b1} Sum of p,p'-DDT, o,p'-DDT, p-p'-DDE and p,p'-TDE (DDD) expressed as DDT

^{b2} Suma de isómeros alfa- y beta- y endosulfan-sulfato expresados como endosulfan

^{b3} Suma de heptacloro y heptacloro epóxido expresado como heptacloro

^{b4} Aldrin y dieldrin combinados expresados como dieldrin

^c LMRs establecidos por la Fundación Japonesa de Investigación en Química de Alimentos. Disponible en <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html>

^{c1} LMRs para clordano están establecidos como la suma de los residuos de *cis*-clordano y *trans*-clordano en productos agrícolas

^{c2} Valores fijados para agua mineral (agua mineral natural y aguas de consumo envasadas/embotelladas)

^{c3} Suma de isómeros del BHC, a excepción de isómero gamma

* Límites de detección y cuantificación están expresados como la suma de los compuestos que comparten el mismo tiempo de retención

Al co-eluir y poseer los mismos iones característicos (235, 237 y 165), el 4,4'-DDD y 2,4'-DDT no pudieron ser identificados mediante SIM, más recurriendo a un ajuste en la rampa de temperatura: 70°C (durante 2 min) → 190°C (25°C/min) → 235°C (8°C/min) → 250°C (30°C/min, durante 10 min), se logró una separación con 0,67 de resolución; en contraste, los compuestos restantes redujeron su abundancia e inclusive algunos pesticidas no fueron identificados.

La precisión entre ensayos para la mayoría de los compuestos es muy buena en los tres días de análisis, dado a que el coeficiente de variación se encuentra por debajo del 14%, lo cual nos indica la reproducibilidad del método. Únicamente para el caso del beta-HCH, 2,4'-DDD y endrin, este parámetro tiene valores superiores, por lo que se podría optar por utilizar un estándar interno.

La linealidad del método fue probada por ECD y MS mediante el ajuste lineal entre el área de los picos frente a la concentración correspondiente para generar la curva de calibración. La respuesta del detector MS fue lineal en el intervalo de 0,05 a 1 mg L⁻¹, a excepción de beta-HCH con un intervalo de 0,05 a 0,75 mg · L⁻¹, delta-HCH desde 0,25 a 1 mg · L⁻¹, epsilon-HCH de 0,1-0,75 mg · L⁻¹, metoxicloro desde 0,25 a 1 mg · L⁻¹ y 2,2', 3,4,4', 5,5'-heptaclorobifenilo de 0,1 a 1 mg · L⁻¹. Para ECD, las concentraciones analizadas fueron 0,05; 0,25; 0,5; 0,75 y 1 mg · L⁻¹, todas ellas con un coeficiente de determinación superior a 0,99 (ver Tabla 1).

Este método puede utilizarse como análisis de control de calidad dado que la LDD y LDC fueron inferiores a los niveles máximos de residuos de alimentos y de agua establecidos por organismos reguladores (ver Tabla 2). Sólo para el aldrin y el dieldrin este método no sería apropiado para evaluar en agua de consumo.

4. CONCLUSIONES

La metodología desarrollada permitió la identificación de veinticuatro compuestos organoclorados en la misma serie cromatográfica a través del empleo de un detector de captura de electrones y un análisis confirmatorio por espectrometría de masas. En el caso de 4,4'-DDD y 2,4'-DDT, que coeluyen y poseen los mismos iones característicos, se realizó un ajuste en la rampa de temperatura, con lo cual se logró una resolución de 0,67.

La eficiencia del método fue demostrado por la obtención de un coeficiente de variación menor al 14% y un coeficiente de determinación mayor a 0,99; siendo este método una herramienta accesible para controlar los pesticidas en el Ecuador.

REFERENCIAS

Alder, L., Greulich, K., Kempe, G., & Vieth, B. (2006). Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass Spectrometry Reviews*, 25(6), 838-865.

Cajka, T., Hajslova, J., Lacina, O., Mastovska, K., & Lehota, S. J. (2008). Rapid analysis of multiple pesticide residues in fruit-based baby food using programmed temperature vaporiser injection-low-pressure gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1186(1-2), 281-294.

Crissman, C. C., Cole, D. C., & Carpio, F. (1994). Pesticide use and farm worker health in Ecuadorian potato production. *American Journal of Agricultural Economics*, 76(3), 593-597.

Chasteen, T. G. (s. f.). Split/ Splitless gas chromatography injection. In). Texas: Sam Houston State University.

Dömötöróvá, M., & Matisová, E. (2008). Fast gas chromatography for pesticide residues analysis. *Journal of Chromatography A*, 1207(1-2), 1-16.

Donald C. C., Sherwood, S., Crissman, C., Barrera, V., & Espinosa, P. (2002). Pesticides and health in highland Ecuadorian potato production: Assessing impacts and developing responses. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 8(3), 182-190.

Florax, R. J. G. M., Travisi, C. M., & Nijkamp, P. (2005). A meta-analysis of the willingness to pay for reductions in pesticide risk exposure. *European Review of Agricultural Economics*, 32(4), 441-467.

Goñi, F., López, R., Etxeandia, A., Millán, E., Vives, A., & Amiano, P. (2009). Method for the determination of selected organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human serum based on a gel permeation chromatographic clean-up. *Chemosphere*, 76(11), 1533-1539.

Hernández, F., Pozo, O. J., Sancho, J. V., Bijlsma, L., Barreda, M., & Pitarch, E. (2006). Multiresidue liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of 52 non gas chromatography-amenable pesticides and metabolites in different food commodities. *Journal of Chromatography A*, 1109(2), 242-252.

Hurtig, A. K., Sebastián, M. S., Soto, A., Shingre, A., Zambrano, D., & Guerrero, W. (2003). Pesticide Use among Farmers in the Amazon Basin of Ecuador. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 58(4), 223-228.

LeDoux, M. (2011). Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin. A review of the past two decades. *Journal of Chromatography A*, 1218(8), 1021-1036.

Li, J., Liu, D., Wu, T., Zhao, W., Zhou, Z., & Wang, P. (2014). A simplified procedure for the determination of organochlorine pesticides and polychlorobiphenyls in edible vegetable oils. *Food Chemistry*, 151(0), 47-52.

Martínez Vidal, J. L., Pablos Espada, M. C., Garrido Frenich, A., & Arrebola, F. J. (2000). Pesticide trace analysis using solid-phase extraction and gas chromatography with electron-capture and tandem mass spectrometric detection in water samples. *Journal of Chromatography A*, 867(1-2), 235-245.

Masci, M., Orban, E., & Navigato, T. (2014). Organochlorine pesticide residues: An extensive monitoring of Italian fishery and aquaculture. *Chemosphere*, 94(0), 190-198.

Matisová, E., & Dömötöróvá, M. (2003). Fast gas chromatography and its use in trace analysis. *Journal of Chromatography A*, 1000(1-2), 199-221.

Moon, H.-B., Kim, H.-S., Choi, M., Yu, J., & Choi, H.-G. (2009). Human health risk of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides resulting from seafood consumption in South Korea, 2005–2007. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), 1819-1825.

Paz-y-Miño, C., Bustamante, G., Sánchez, M. E., & Leone, P. E. (2002). Cytogenetic monitoring in a population occupationally exposed to pesticides in Ecuador. *Environmental Health Perspectives*, 110(11), 1077-1080.

Peré-Trepat, E., Lacorte, S., & Tauler, R. (2007). Alternative calibration approaches for LC–MS quantitative determination of coeluted compounds in complex environmental mixtures using multivariate curve resolution. *Analytica Chimica Acta*, 595(1-2), 228-237.

Pimentel, D. (2005). Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States'. *Environment, Development and Sustainability*, 7(2), 229-252.

Rial-Otero, R., Gaspar, E. M., Moura, I., & Capelo, J. L. (2007). Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview. *Talanta*, 71(2), 503-514.

Soceanu, A., Dobrinas, S., Stanciu, G., Popescu, V., & Epure, D. T. (2012). Evaluation of pesticides residues in fresh fruits. *Revista de Chimie*, 63(5), 455-458.

Stashenko, E., & Martínez, J. R. (2011). Algunos consejos útiles para el análisis cromatográfico de compuestos orgánicos volátiles. *Scientia Chromatographica*, 3(3).

Štěpán, R., Tichá, J., Hajšlová, J., Kovalczuk, T., & Kocourek, V. (2005). Baby food production chain: Pesticide residues in fresh apples and products. *Food Additives & Contaminants*, 22(12), 1231-1242.

Wu, C., Luo, Y., Gui, T., & Huang, Y. (2014). Concentrations and potential health hazards of organochlorine pesticides in shallow groundwater of Taihu Lake region, China. *Science of The Total Environment*, 470–471(0), 1047-1055.

Xu, M.-L., Liu, J.-B., & Lu, J. (2013). Determination and control of pesticide residues in beverages: a review of extraction techniques, chromatography, and rapid detection methods. *Applied Spectroscopy Reviews*, 49(2), 97-120.

Yang, F. Q., Li, S. P., Zhao, J., Lao, S. C., & Wang, Y. T. (2007). Optimization of GC–MS conditions based on resolution and stability of analytes for simultaneous determination of nine sesquiterpenoids in three species of *Curcuma* rhizomes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(1), 73-82.



Claudia J. Mendieta. Posee graduación en Ingeniería Química por la Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador, Maestría Profesional en Ingeniería de Biocombustibles y Petroquímica, con énfasis en Biocombustibles, por la Universidad Federal de Rio de Janeiro, Brasil. Actualmente es estudiante de Doctorado en Procesos Químicos y Bioquímicos en la Universidad Federal de Rio de Janeiro, Brasil. Sus líneas de investigación son: Análisis Cromatográfico de Pesticidas en Flores y Aguas; Análisis, Producción y Caracterización de Microalgas para Producción de Biomasa, Ácidos Grasos, Pigmentos y Biocombustibles. Sus áreas de actuación son: Ingeniería Química, Procesos Bioquímicos y Ecología Industrial.



Nicole A. Ortega. Estudió Ingeniería en Alimentos en la Universidad Técnica Particular de Loja en el tema de aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria como fuente de antioxidantes. Becario y técnico de investigación en la UTPL en la línea de revalorización de subproductos agroindustriales como fuente de compuestos bioactivos. Línea investigativa de interés: Métodos analíticos para la cuantificación de antioxidantes, microencapsulación de compuestos bioactivos, formulación y desarrollo de alimentos con compuestos bioactivos.



Natalí Solano-Cueva. Máster en "Ciencias y Tecnologías Químicas, KHEMIA" de la Universidad de Granada - España. Ingeniera Química de la Universidad Técnica Particular de Loja. Sus áreas de investigación son: Colorantes naturales como sensibilizadores de celdas solares, Determinación de tocoles y antioxidantes en aceites vegetales, Cuantificación de minerales y metales pesados en varias matrices, Cuantificación de pesticidas y Determinación de biofenoles mediante HPLC. Forma parte desde Abril 2016 hasta la fecha, del Comité de Acceso a Recursos Biológicos y Genéticos de la UTPL. En la actualidad se desempeña en el cargo de docente e investigador del Departamento de Química y Ciencias Exactas de la UTPL.



Jorge G. Figueroa. Ingeniero en Industrias Agropecuarias de la Universidad Técnica Particular de Loja – Ecuador. *Magister Scientiae* en Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria La Molina - Perú. Máster en Gestión de la Formación de la Universidad de Sevilla - España. Candidato a Doctor en Química por la Universidad de Granada – España. Sus áreas de investigación son valorización de subproductos de la industria alimentaria como fuente de compuestos bioactivos. Evaluación in-vitro del efecto de la digestión gastro-intestinal. Caracterización de compuestos volátiles. Cuantificación de pesticidas y minerales en alimentos y agua. Se ha desempeñado como coordinador de la Titulación de Ingeniería de Alimentos de la UTPL (2012 - Ene 2015). En la actualidad se desempeña en el cargo de docente e investigador del Departamento de Química y Ciencias Exactas de la UTPL.