

ACTUALIZACIÓN DE LAS LIBRERÍAS DE TIEMPOS DE RETENCIÓN DE PESTICIDAS PARA EL SISTEMA GC AGILENT INTUVO 9000



Cómo actualizar las librerías de tiempos
de retención en Intuvo



Introducción

A la hora de aplicar los métodos a un nuevo sistema de cromatografía de gases (GC), se recomienda verificar los tiempos de retención de los analitos críticos antes de comenzar con la producción en el flujo de trabajo habitual. Con frecuencia, debido a las diferencias en la configuración del sistema o en la variabilidad de la columna, los tiempos de retención entre dos sistemas GC similares pueden variar. Se puede emplear la congelación de tiempos de retención (RTL) para garantizar tiempos de retención reproducibles en distintos sistemas.

Si se utiliza una base de datos de tiempos de retención, en este caso el análisis de pesticidas con tiempos de retención de la base de datos de MRM de pesticidas y contaminantes medioambientales, pueden adoptarse otros pasos adicionales para garantizar que los tiempos de retención coinciden con la base de datos existente o bien se debe actualizar el método analítico para que refleje los tiempos de retención del nuevo sistema.

Esta nota técnica proporciona instrucciones sobre cómo realizar la congelación de tiempos de retención en un método de monitorización de reacciones múltiple (MRM) para análisis de pesticidas en un sistema GC Agilent Intuvo 9000 y cómo actualizar posteriormente los tiempos de retención para aprovechar la base de datos de MRM de pesticidas y contaminantes medioambientales.

El flujo de trabajo general para las fuentes de iones extractora o inerte consta de los pasos siguientes:

1. Generar un cromatograma de congelación de tiempos de retención.
2. Adquirir datos con el método dMRM y con ventanas de delta de TR izquierdo/derecho ampliadas.
3. Actualizar los tiempos de retención mediante el Análisis cuantitativo.
4. Importar los nuevos tiempos de retención en el método dMRM.
5. Validar el método.

Para obtener más información, visite:

www.agilent.com



Agilent Technologies

Congelación de tiempos de retención

A la hora de configurar un nuevo sistema para duplicar un análisis de pesticidas, utilice la congelación de tiempos de retención para asegurar la correspondencia de tiempos de retención entre los dos sistemas. Al adquirir la calibración de RTL, el sistema recopila cinco ficheros de datos con flujos o presiones variables (Figura 1).

Antes de recopilar los datos de calibración de RTL se introdujo la masa o las masas para el compuesto de RTL y el número de vial del patrón que contiene el compuesto de congelación. Para el análisis de pesticidas, se utiliza con frecuencia el clorpirifos metil como compuesto de congelación. Las masas analizadas para la congelación con clorpirifos metil se eligieron dentro del espectro de masas; normalmente se congela a 9,143 para un método de 20 minutos. Para un análisis de pesticidas típico de 20 minutos, este procedimiento requiere aproximadamente 3 horas. Esto incluye el análisis inicial de limpieza para garantizar que no quedan analitos arrastrados de análisis anteriores que pudieran interferir con las masas del compuesto de RTL.

Una vez recopilados los datos de calibración de RTL, se introdujeron los tiempos de retención del compuesto de congelación y se ajustaron los flujos (a partir de los datos de calibración) para obtener el tiempo de retención deseado (Figura 2).

Adquisición de datos de dMRM

Después de la congelación de tiempos de retención en el nuevo sistema, se verificaron los tiempos de retención de los compuestos críticos en todo el cromatograma para asegurarse de que las ventanas de MRM continuaban siendo exactas. El método MRM se convirtió a un método dMRM (Figura 3).

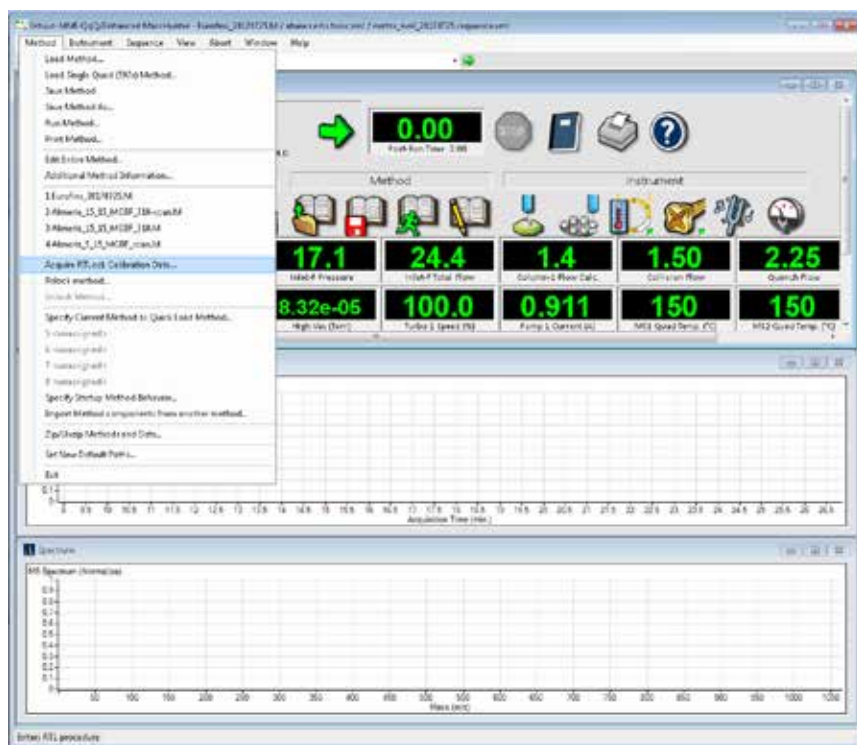


Figura 1. Se puede acceder con facilidad al comando **Acquire RTL Calibration Data** (Obtener datos de calibración de congelación de tiempos de retención) desde la lista Method (Método). De este modo se recopilan nuevos datos de calibración de RTL. Una vez finalizada la calibración inicial, se puede utilizar **Relock Method** (Volver a bloquear método).

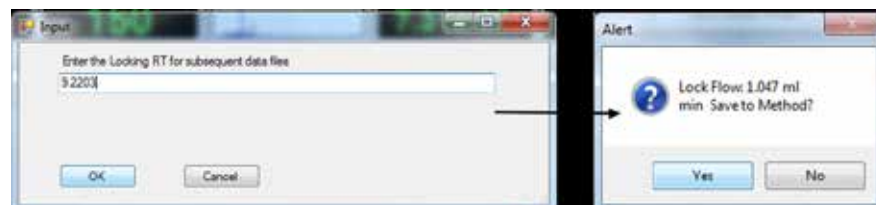


Figura 2. Se introduce el tiempo de retención deseado del compuesto de bloqueo y el sistema ajusta el flujo para conseguir el tiempo de retención seleccionado.

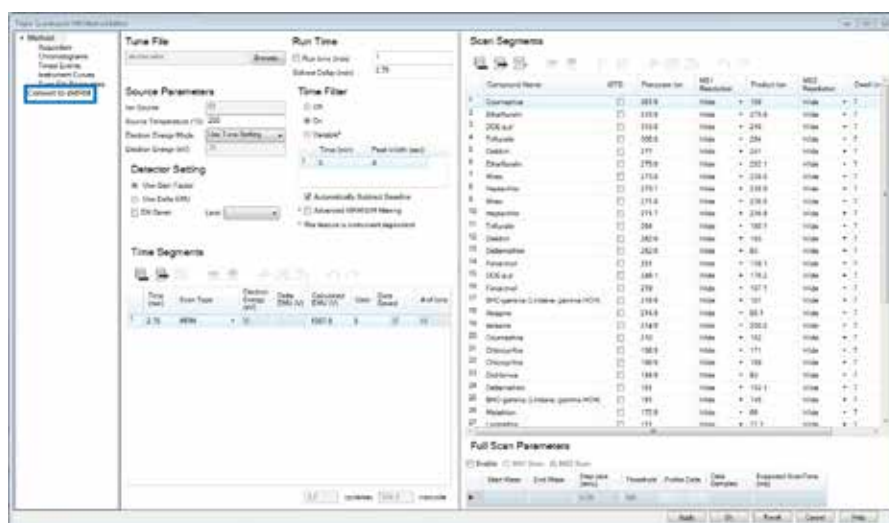


Figura 3. Se convirtió con facilidad un método MRM basado en segmentos de tiempo en un método dMRM con la ayuda del software Agilent MassHunter Acquisition.

Mediante el uso de las MRM existentes, el nuevo método dMRM conservó las transiciones. El software calculó los tiempos de retención de analitos promediando los tiempos de inicio y fin de cada segmento especificados anteriormente (Figura 4).

En el método dMRM, las ventanas de delta izquierda y derecha se ampliaron globalmente hasta 2 minutos utilizando la función **Overwrite RT Delta** (Sobrescribir delta de TR) (Figura 5).

Dependiendo del número de compuestos y transiciones en el método dMRM, podría superarse el número máximo de MRM simultáneas (200) (Figura 6).

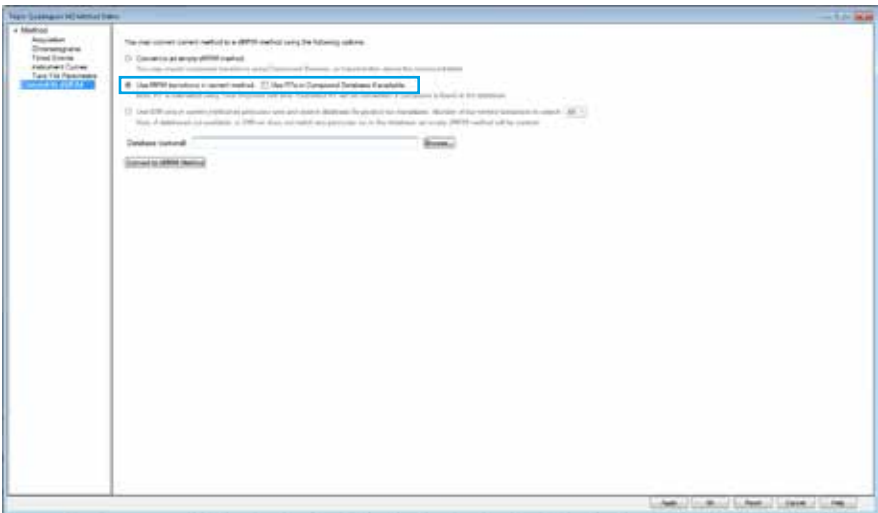


Figura 4. Se emplearon las transiciones MRM desde el método actual al convertir el método en un método dMRM.

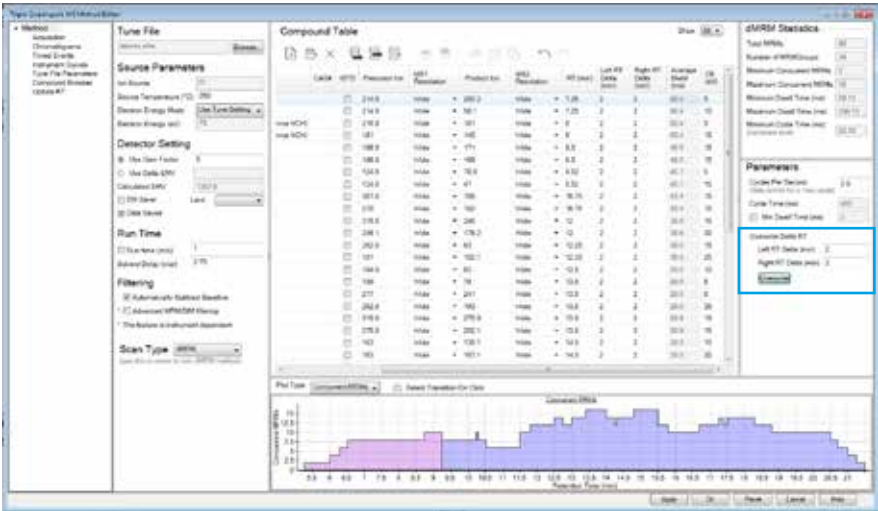


Figura 5. Al sobrescribir globalmente el delta de tiempo de retención izquierdo y derecho, se ensanchan las ventanas de transición MRM para asegurar que se detectan todos los analitos, aunque el tiempo de retención se haya modificado ligeramente.

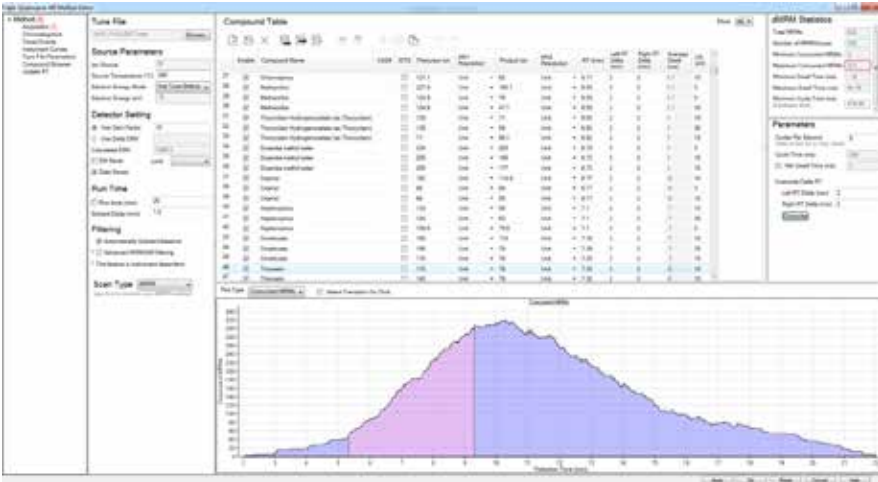


Figura 6. Un método dMRM con un elevado número de analitos y transiciones superó el número de MRM simultáneas con el delta de tiempo de retención izquierdo y derecho configurado en 2 minutos.

Las ventanas de delta de TR izquierdo y derecho se estrecharon hasta 1 minuto o 0,5 minutos para reducir el número de MRM simultáneas, al tiempo que se conservaba una ventana suficientemente ancha como para identificar los analitos diana. Los tiempos de retención actuales se guardaron en formato de fichero CSV (Figura 7).

Actualización de los tiempos de retención

Se analizó un patrón con las ventanas más anchas utilizando el Agilent MassHunter Quantitative Analysis; los tiempos de retención se actualizaron en un método de análisis cuantitativo existente. Con el lote que contiene el nuevo patrón abierto y seleccionado, se cargó un método cuantitativo anteriormente guardado. En la vista del editor de métodos, se seleccionó **Update Retention Times** (Actualizar tiempos de retención) en el menú Update (Actualizar) (Figura 8). Se usó **Select All** (Seleccionar todo) para actualizar todos los tiempos de retención en el método existente, punto en el cual el método se guardó, validó y aplicó al lote (Figura 9).



Figura 7. La tabla de compuestos dMRM se exportó haciendo clic en el icono **Save** (Guardar) y guardando la tabla localmente en formato de archivo CSV.

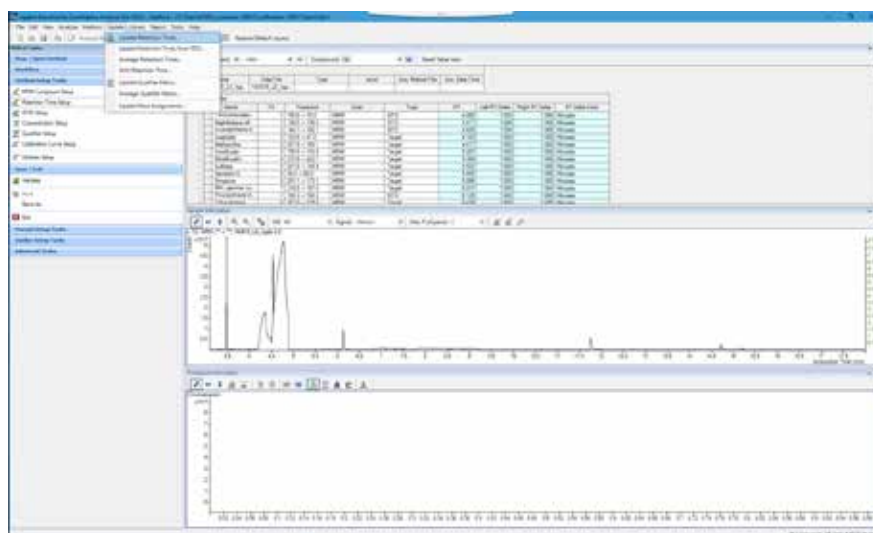


Figura 8. Se accedió a **Update Retention Times** (Actualizar tiempos de retención) en la vista Method Editor (Editor de métodos) desde el menú **Update** (Actualizar) en Agilent Mass Hunter Quantitative Analysis.

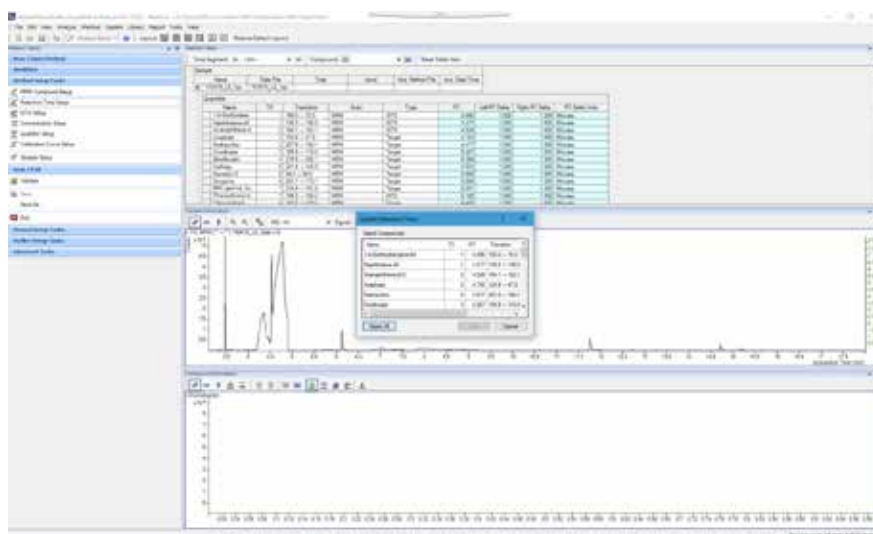


Figura 9. Se actualizó cada analito del método dado en un solo paso a partir del análisis de un patrón.

Importación de los nuevos tiempos de retención en el método dMRM

Con tiempos de retención actualizados en el método cuantitativo, la tabla de compuestos se exportó desde el lote a un fichero CSV (Figura 10).

Los tiempos de retención actualizados del análisis de patrones y el nuevo método cuantitativo se actualizaron en el fichero CSV anteriormente exportado y guardado desde el método dMRM y este se guardó con un nuevo nombre (Figura 11). Los datos esenciales del fichero CSV son la columna de compuesto y la columna de TR.

Los tiempos de retención en el método dMRM se actualizaron desde el nuevo fichero CSV (Figura 12), en el Editor de métodos de MassHunter Acquisition.

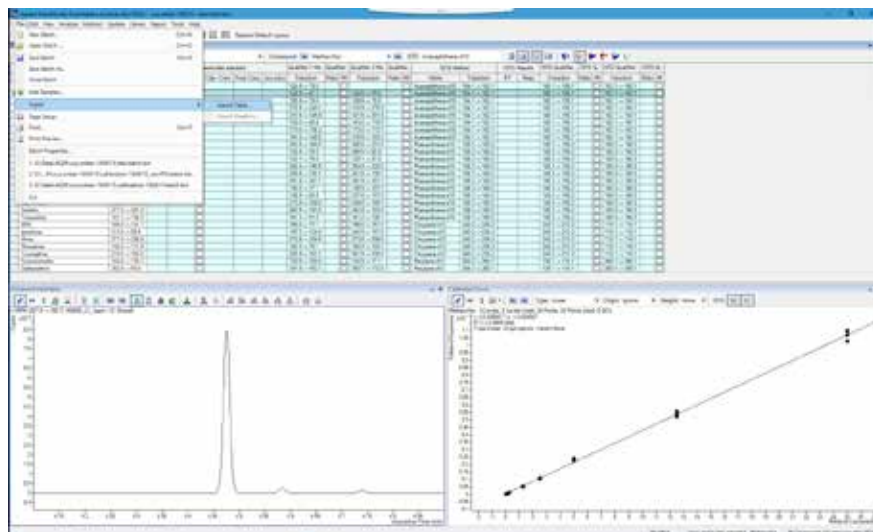


Figura 10. Al exportar la tabla de compuestos se originó un fichero CSV que se guardó localmente.

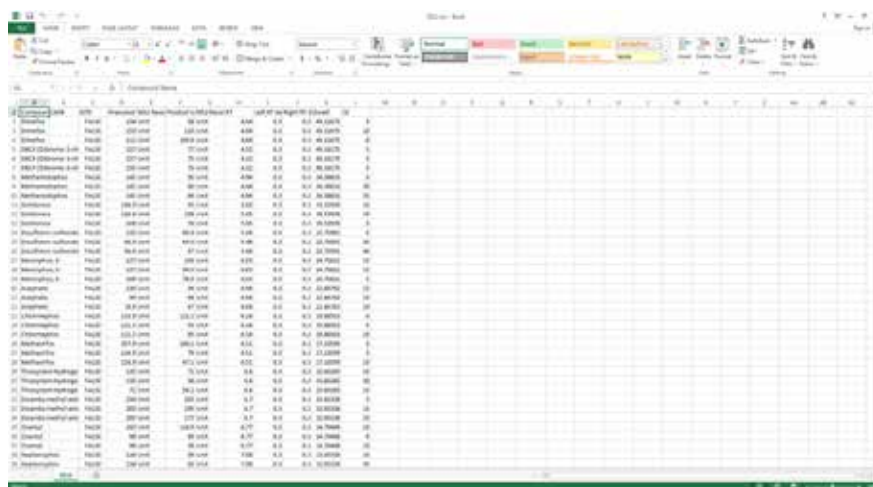


Figura 11. El fichero CSV exportado a partir del método dMRM contenía el nombre del compuesto en una columna y el tiempo de retención en la otra. En este ejemplo, cada transición MRM está asociada al tiempo de retención del compuesto respectivo.

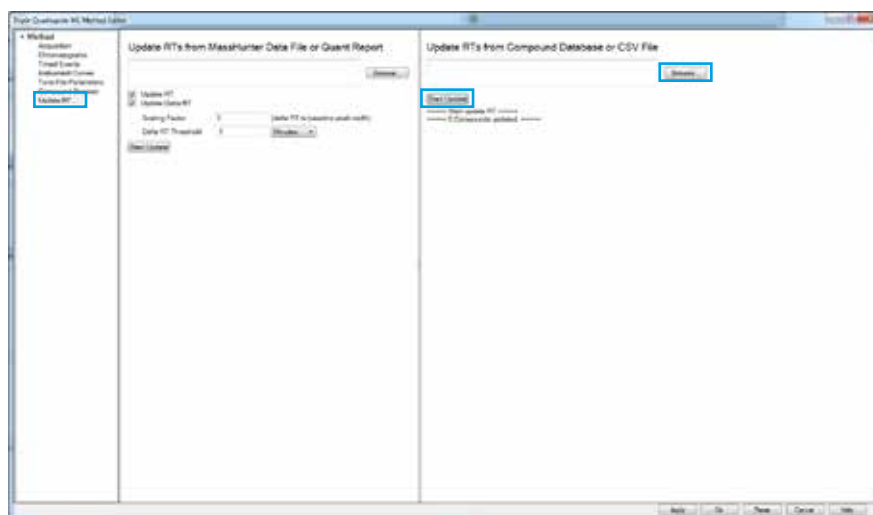


Figura 12. El archivo CSV guardado que contenía los tiempos de retención actualizados se seleccionó como archivo para usarlo en **Update RT** (Actualizar TR).

Antes de comenzar la actualización, se seleccionó el fichero CSV mediante la función **Update RT** (Actualizar TR). Después de actualizar los tiempos de retención, se mostró la lista de compuestos con los tiempos de retención modificados (Figura 13). Los tiempos de retención anteriores del método se muestran entre paréntesis.

De forma alternativa, se pueden actualizar los tiempos de retención desde un informe cuantitativo siguiendo un procedimiento similar. Se generó un informe desde el Análisis cuantitativo (Figura 14), que se usó para actualizar los tiempos de retención en el editor de métodos de adquisición.

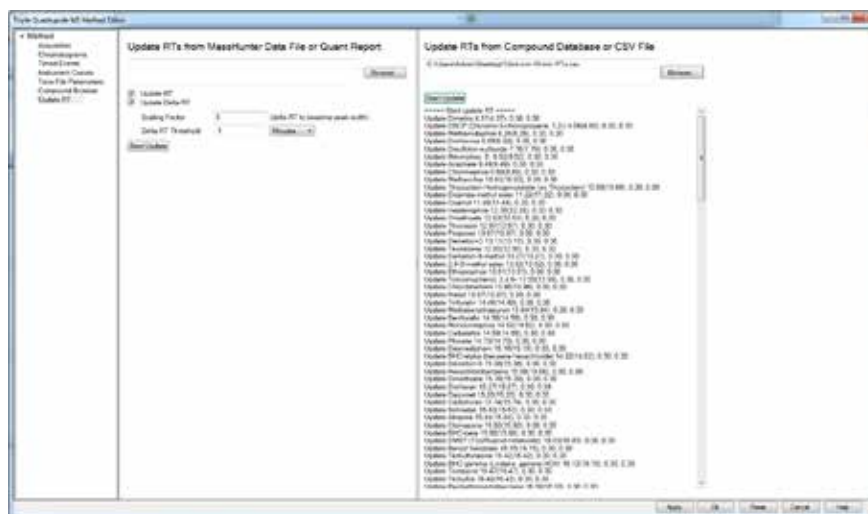


Figura 13. Después de actualizar los tiempos de retención, se mostró la lista de compuestos con los cambios realizados.

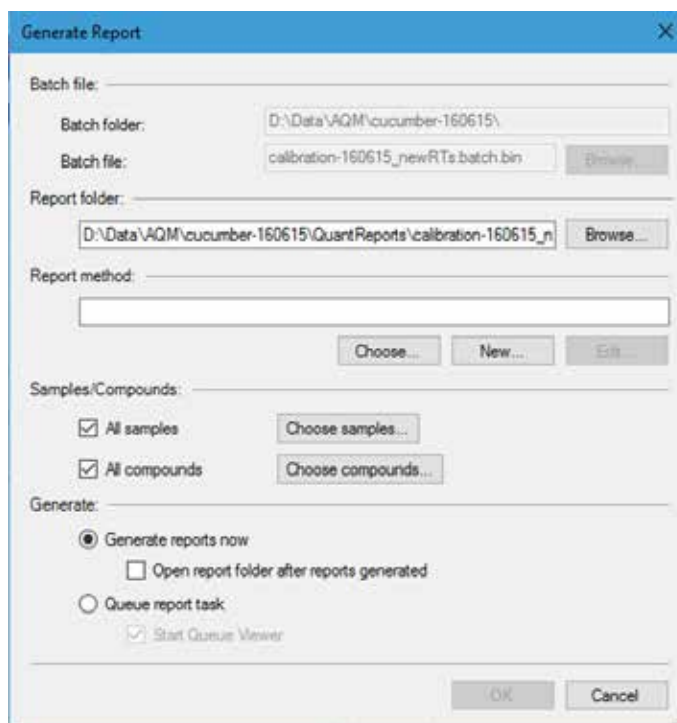


Figura 14. Al generar un informe en el Análisis cuantitativo, se proporcionó un método alternativo para actualizar los tiempos de retención en el método de adquisición.

Si se prefiere un método MRM basado en segmentos de tiempo para el método final actualizado, se puede crear un fichero de transiciones a partir del método de cuantificación actualizado (Figura 15). Especificando un esquema Time Segment (Segmento de tiempo) (Figura 16) se puede importar el fichero resultante en la tabla de compuestos (Figura 17).

Validar el método

Después de aplicar los cambios al método, se verificó el patrón antes de continuar con la calibración y el análisis de muestras.

Conclusiones

Se ha mostrado un procedimiento paso a paso para la congelación de tiempos de retención y el modo de actualizar los tiempos de retención en un método de librería o base de datos. El proceso fue relativamente sencillo y directo. Se requirió un análisis adicional además de la calibración de la congelación de tiempos de retención. Para que este proceso sea óptimo, es necesario un patrón o una muestra que contenga analitos diana conocidos.

Estos resultados podrían variar en función de las fuentes de iones instaladas en el espectrómetro de masas. Si el método se optimiza para mejorar su sensibilidad, es posible que los flujos, probablemente más altos, obtenidos por este procedimiento provoquen un rendimiento que no sea el óptimo.

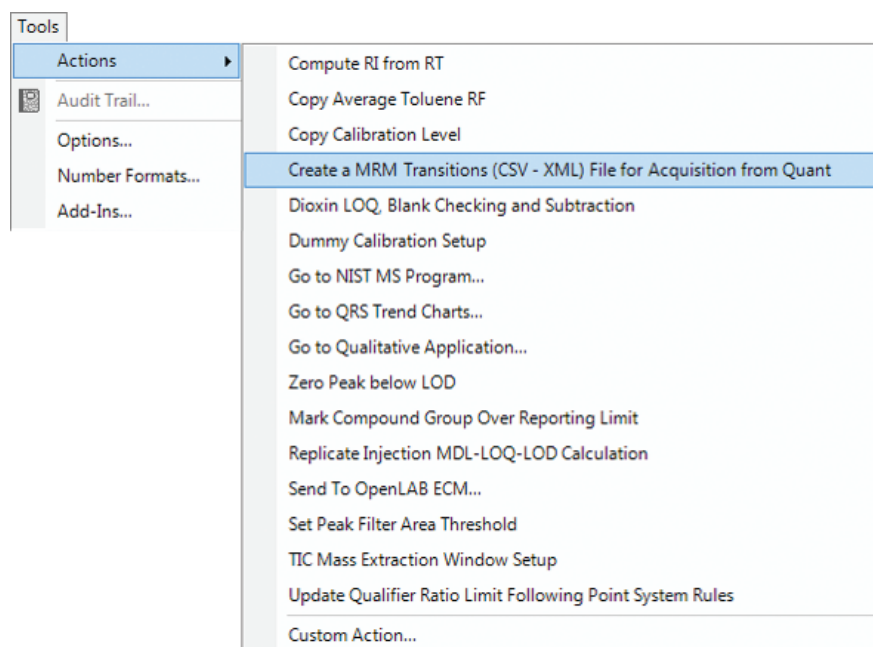


Figura 15. Fichero CSV o XML con los tiempos de retención actualizados y las transiciones MRM existentes en el nuevo método cuantitativo.

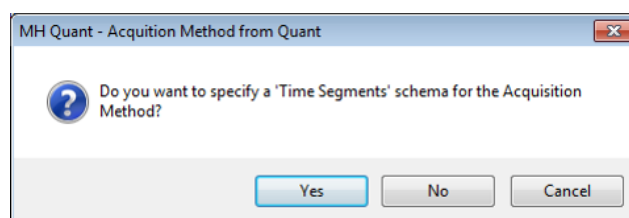


Figura 16. Al seleccionar **Yes (Sí)** en **specify a 'Time Segments' schema** (especificar un esquema de 'Segmentos de tiempo'), se puede importar el fichero CSV en la tabla de compuestos de un método MRM basado en segmentos de tiempo.

		CASE	ISTD	Precursor Ion	MS1 Resolution	Product Ion	MS2 Resolution	RT (min)
1	☒	Dimetox	☐	154	Unit	= 58	Unit	= 4.06
2	☒	Dimetox	☐	153	Unit	= 110	Unit	= 4.06
3	☒	Dimetox	☐	111	Unit	= 109.9	Unit	= 4.06
4	☒	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)	☐	157	Unit	= 77	Unit	= 4.33
5	☒	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)	☐	157	Unit	= 75	Unit	= 4.33
6	☒	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)	☐	155	Unit	= 75	Unit	= 4.33
7	☒	Methamidophos	☐	141	Unit	= 95	Unit	= 4.95
8	☒	Methamidophos	☐	141	Unit	= 80	Unit	= 4.95
9	☒	Methamidophos	☐	141	Unit	= 64	Unit	= 4.95
10	☒	Dichlorvos	☐	184.9	Unit	= 93	Unit	= 5.06
11	☒	Dichlorvos	☐	144.9	Unit	= 109	Unit	= 5.06
12	☒	Dichlorvos	☐	109	Unit	= 79	Unit	= 5.06
13	☒	Disulfoton-sulfoxide	☐	125	Unit	= 96.9	Unit	= 5.5
14	☒	Disulfoton-sulfoxide	☐	96.9	Unit	= 64.9	Unit	= 5.5
15	☒	Disulfoton-sulfoxide	☐	96.9	Unit	= 47	Unit	= 5.5
16	☒	Mevinphos, E-	☐	127	Unit	= 109	Unit	= 6.05
17	☒	Mevinphos, E-	☐	127	Unit	= 94.9	Unit	= 6.05
18	☒	Mevinphos, E-	☐	109	Unit	= 78.9	Unit	= 6.05
19	☒	Acephate	☐	136	Unit	= 94	Unit	= 6.08
20	☒	Acephate	☐	94	Unit	= 64	Unit	= 6.08
21	☒	Acephate	☐	78.9	Unit	= 47	Unit	= 6.08
22	☒	Chlorfenvos	☐	153.9	Unit	= 121.1	Unit	= 6.18

Figura 17. El fichero CSV con los tiempos de retención actualizados desde el Análisis cuantitativo se puede importar en el método de adquisición con MRM basados en segmentos de tiempo.

www.agilent.com
La información, las descripciones y las
especificaciones de este documento están
sujetas a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc., 2017
Publicado en EE.UU., 29 de septiembre de 2017
5991-8446ES



Agilent Technologies