

Un análisis por GC/MS/MS rápido y robusto de 203 pesticidas en espinacas en 10 minutos



Autores

Anastasia A. Andrianova,
Bruce D. Quimby,
y Limian Zhao
Agilent Technologies, Inc.

Resumen

En esta nota de aplicación se describen dos métodos para conseguir un análisis robusto de multiresiduos de pesticidas en 10 minutos mediante GC/MS/MS, conservando la suficiente resolución cromatográfica como para el análisis de más de 200 pesticidas en espinacas, una difícil matriz natural con un alto contenido en clorofila. En primer lugar, se llevó a cabo una configuración de retroflujo en mitad de la columna convencional de 15 x 15 m (0,25 mm x 0,25 μ m) con una rampa de horno acelerada que dio como resultado un tiempo de análisis de 10 minutos. En segundo lugar, se utilizó una configuración de retroflujo en mitad de la columna con diámetro reducido de 10 m x 10 m (0,18 mm x 0,18 μ m), que permitió reducir el tiempo de análisis a 10 minutos. Este último método fue precisamente el que se amplió mediante la técnica de traducción de métodos para GC de Agilent. Se demostró que el retroflujo en mitad de la columna aportaba robustez al método y aumentaba el tiempo de funcionamiento del sistema sin necesidad de mantenimiento al minimizar el recorte de columna y la limpieza de la fuente. Los resultados verificaron que los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 7000E y 7010C ofrecen una linealidad excelente en un intervalo de concentraciones de 0,1 a 1.000 partes por billón (ppb). La robustez del método se demostró a través de 700 inyecciones consecutivas de extracto de espinacas, marcadas con pesticidas a 20 ppb, que se extendieron durante más de 175 horas de funcionamiento continuado en el sistema de GC/TQ.

Introducción

Existe una creciente demanda de métodos más rápidos de identificación y cuantificación de residuos químicos en análisis de alimentos que no reduzcan la robustez del método ni la eficiencia cromatográfica. Los métodos convencionales de análisis complejos de multiresiduos de pesticidas suelen durar, al menos, 20 minutos, dando lugar a tiempos de ciclo más prolongados. Como consecuencia, el tiempo de análisis por GC/MS de un lote de muestras puede abarcar fácilmente varios días. Esto provoca un cuello de botella de análisis de muestras y limita la productividad del laboratorio. Por tanto, la reducción del tiempo de análisis por GC/MS aumentará sin duda el número de muestras analizadas y, con el tiempo, la productividad del laboratorio. No obstante, los métodos de GC más breves suelen conllevar contrapartidas en la robustez y la eficiencia del método. Esta nota de aplicación se centra en demostrar dos métodos rápidos de GC/MS/MS mediante (a) el sistema de GC/MS de triple cuadrupolo **Agilent 8890 GC y 7000E** y (b) el sistema de GC/MS de triple cuadrupolo **Agilent 8890 GC y 7010C**. Los métodos que se presentan ofrecen un tiempo de análisis abreviado de 10 minutos al tiempo que conservan la robustez y eficiencia del sistema en el exigente extracto de espinacas, sin pérdida de sensibilidad ni de eficiencia del método.

Las dos configuraciones de retroflujo en mitad de la columna del sistema de GC/TQ que se describen en la nota de aplicación ofrecen tiempos de análisis de 10 minutos, al tiempo que conservan una resolución cromatográfica y una selectividad de MS suficientes para el análisis de 203 compuestos. Se tomó como referencia de los análisis optimizados y rápidos el método de GC/MS/MS de 20 minutos con tiempo de retención bloqueado con respecto a la base de datos de MRM de pesticidas y contaminantes medioambientales (base de datos de MRM P&PE) de Agilent MassHunter.

En primer lugar, se llevó a cabo una configuración de retroflujo en mitad de la columna convencional de 15 x 15 m (0,25 mm x 0,25 µm) con una rampa de horno acelerada que dio como resultado

un tiempo de análisis de 10 minutos. Esta configuración no precisó cambios en el hardware. En segundo lugar, se utilizó una configuración de retroflujo en mitad de la columna con diámetro reducido de 10 m x 10 m (0,18 mm x 0,18 µm), que permitió un tiempo de análisis de 10 minutos. Esta configuración precisó la incorporación de un nuevo conjunto de columnas en comparación con la configuración convencional de 15 x 15 m y un inserto de horno de GC (almohadillado). No obstante, la segunda configuración permitió una predicción más precisa de los tiempos de retención y conservó el orden de elución de todos los compuestos analizados.

Con ambos métodos rápidos, los tiempos de retención se predijeron de forma precisa mediante los tiempos de retención disponibles en la base de datos de MRM P&PE.¹ El uso de la técnica de traducción de métodos de GC y la conservación de la misma relación entre fases de la columna permitió llevar a cabo una predicción precisa de los tiempos de retención y mantener el orden de elución de los 203 pesticidas analizados con la configuración 10 x 10 m. Para actualizar los tiempos de retención del método de 10 minutos con la configuración convencional de 15 x 15 m se empleó una combinación de pesticidas y n-alcános.

El retroflujo en mitad de la columna con ambas configuraciones de columna aumentó la robustez del método reduciendo la frecuencia del mantenimiento periódico, como el recorte de la cabeza de la columna y la limpieza de la fuente. Además, cuando se usa un inyector multimodo (MMI) con temperatura programable, la sustitución del liner y otros procedimientos de mantenimiento del inyector se pueden llevar a cabo con mayor rapidez sin necesidad de refrigeración de la fuente MS ni de la línea de transferencia, en comparación con la configuración convencional con una columna que conecta el inyector directamente al espectrómetro de masas.

Los métodos desarrollados se pudieron aplicar al análisis de pesticidas para abarcar un amplio intervalo de límites de residuos máximos (MRL) de los diferentes pesticidas en las espinacas y para ofrecer un rendimiento de calibración excelente en un intervalo analítico de 0,1 a 1.000 ppb.

Para evaluar la robustez del método, se llevó a cabo una prueba de 700 inyecciones continuas del extracto de espinacas marcado con bajos niveles de pesticidas. La desviación relativa estándar (RSD) de la respuesta de numerosos analitos exigentes fue inferior al 15 % en las 700 inyecciones. No hubo necesidad de recortar la columna, limpiar la fuente ni sintonizar el MS durante la prueba. El mantenimiento se limitó a la sustitución del liner y el séptum cada 100 inyecciones.

Experimento

Análisis por GC/TQ

Se emplearon dos configuraciones de columnas con las combinaciones de GC/TQ 8890/7000E y 8890/7010C, como se muestra en la Figura 1. El sistema de GC se configuró con el inyector automático de líquidos Agilent serie 7693A (ALS) y una bandeja de 150 posiciones; un MMI que funcionaba en modo de inyección splitless con temperatura programada (splitless en frío); la capacidad de retroflujo en mitad de la columna que suministró la unión definitiva purgada Agilent (PUU) instalada entre dos columnas idénticas de 15 o 10 m y el módulo de dispositivo de conmutación neumática (PSD) del GC 8890. En la tabla 1 se indican los parámetros de funcionamiento del instrumento. Los datos se adquirieron en modo de MRM dinámica (dMRM), que ofrece la capacidad de utilizar ensayos grandes con múltiples analitos y de cuantificar con precisión los picos estrechos mediante una distribución automatizada del tiempo de residencia con la mayor eficiencia posible.

La capacidad de realizar dMRM permitió que se llevara a cabo correctamente el análisis de un gran panel de 203 pesticidas con un total de 614 transiciones MRM. El número máximo de transiciones MRM simultáneas con la configuración convencional de 15 x 15 m y de un análisis convencional de 20 minutos fue de 52. En el caso del análisis de 10 minutos, el número máximo de transiciones MRM simultáneas con las configuraciones de 15 x 15 m convencional y de diámetro reducido de 10 x 10 m fue de 127 y 83, respectivamente (Figura 2). Además, dMRM permite al analista agregar y quitar otros analitos con facilidad. El uso de la

base de datos de MRM P&EP incrementó la facilidad y la velocidad de la configuración de un método de dMRM específico.

En este estudio se emplearon las versiones 10.1 y 10.2 de Agilent MassHunter Workstation, con el software MassHunter Acquisition para sistemas de GC/MS 10.2 y los paquetes de software de análisis cuantitativo MassHunter 10.1 y de software de análisis cualitativo MassHunter 10.

Se evaluó el rendimiento de la calibración mediante una serie de patrones de calibración acoplados con matriz que oscilaron entre 0,1 y 1.000 ppb, como los de 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 250, 500 y 1.000 ppb (p/v). Se empleó el kit de GC multirresidual de pesticidas que contenía 203 compuestos (Restek, Bellefonte, PA, USA), regulados por la FDA, la USDA y otros organismos gubernamentales en la preparación de los patrones de calibración específicos para la matriz. Se utilizó α -BHC-d6, a una concentración final de 20 ppb en vial, como patrón interno para la cuantificación de los pesticidas de interés (patrón número 6 Agilent Bond

Elut QuEChERS IS, referencia PPS-610-1). Se aplicó un factor de ponderación de 1/x a todas las curvas de calibración.

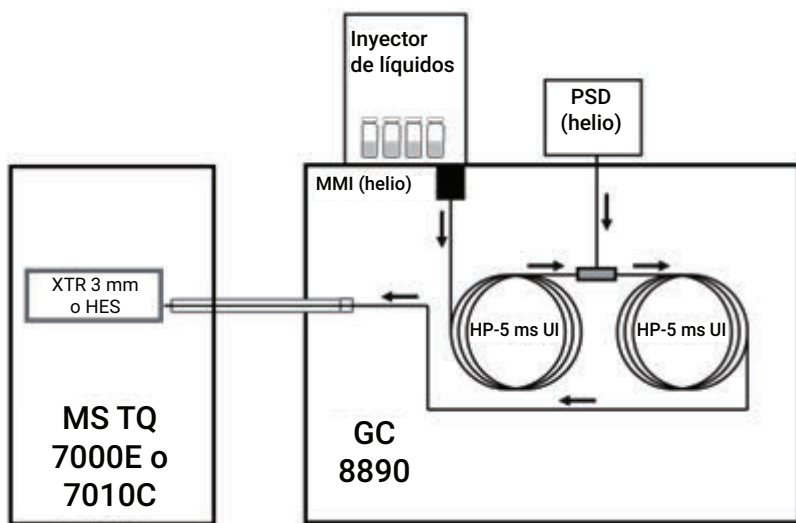
Congelación de tiempos de retención en los métodos de 10 minutos

La congelación de tiempos de retención permite que una columna o un instrumento nuevos presenten tiempos de retención que coincidan de forma exacta con la base de datos de MRM o con un método que ya existe, de forma que los métodos se puedan migrar de un instrumento a otro y en todos los instrumentos de forma general. Todo ello simplifica el mantenimiento del método y la configuración del sistema. Los tiempos de retención del análisis de pesticidas convencional en 20 minutos aparecen en la base de datos de MRM de pesticidas y contaminantes medioambientales. En el método de 10 minutos con configuración convencional de 15 x 15 m se utilizó el mismo flujo de la columna para GC al que se había congelado el análisis de 20 minutos con la base de datos de MRM de pesticidas y contaminantes

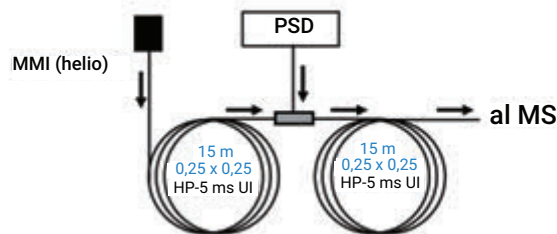
medioambientales. Como resultado, la nueva congelación del tiempo de retención del clorpirifos metil fue a los 5,520 minutos. A fin de actualizar los tiempos de retención del resto de los analitos, se empleó una combinación de pesticidas y n-alcenos para predecir los tiempos de retención del nuevo método en función de los tiempos de retención del método de 20 minutos de la base de datos de MRM de pesticidas y contaminantes medioambientales.

El análisis de 10 minutos con la configuración de diámetro reducido de 10 x 10 m se ajustó de forma precisa mediante la herramienta de traducción de métodos, lo que dio lugar al análisis del doble de muestras en el mismo tiempo. El ajuste fino del método permitió la mayor coincidencia posible entre los tiempos de retención de la predicción y los observados en un intervalo de elución de 203 pesticidas, lo que dio como resultado un desfase de 0,09 minutos. Los nuevos tiempos de retención (TR) se calcularon mediante la siguiente ecuación:

$$TR_{\text{nuevo}} = TR_{\text{antiguo}} \div 2 + 0,09 \text{ minutos.}$$



Configuraciones de retroflujo en mitad de la columna con columna convencional de 15 x 15 m:



Configuraciones de retroflujo en mitad de la columna con columna de diámetro reducido de 10 x 10 m:

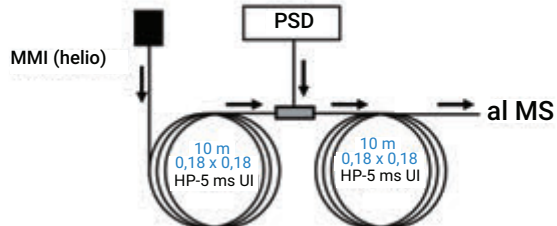


Figura 1. Sistema de GC/TQ Agilent con las dos configuraciones usadas de retroflujo en mitad de la columna (derecha).

Tabla 1. Condiciones de los sistemas de GC Agilent 8890 y GC/TQ de la serie 7000 y GC Agilent 8890 y GC/TQ 7010C que permiten un análisis de pesticidas en 10 minutos.

GC		
Sistema de GC Agilent 8890 (horno de 220 V) con horno rápido, muestreador automático y bandeja		
Inyector	Inyector multimodo (MMI)	
Modo	Splitless en frío	
Flujo de purga hacia venteo de split	60 ml/min a los 0,75 min	
Flujo de purga del séptum	3 ml/min	
Modo de flujo de purga del séptum	Conmutado	
Volumen de inyección	1,0 µl	
Tipo de inyección	Estándar	
Espacio de aire L1	0,2 µl	
Ahorro de gas	Activado a 30 ml/min después de 3 min	
Temperatura del inyector	60 °C durante 0,1 min, luego hasta 280 °C a 600 °C/min	
Temperatura del inyector en el tiempo posterior al análisis	310 °C	
Flujo total en el tiempo posterior al análisis	25 ml/min	
Gas portador	Helio	
Liner de inyección	Liner biselado de 2 mm Agilent Ultra Inert	
Referencia del liner de inyección	5190-2297	
Horno		
	Con 15 x 15 m	Con 10 x 10 m
Temperatura inicial del horno	60 °C	60 °C
Mantenimiento inicial del horno	1 min	0,5 min
Velocidad de rampa 1	80 °C/min	80 °C/min
Temperatura final 1	170 °C	170 °C
Mantenimiento final 1	0 min	0 min
Velocidad de rampa 2	35 °C/min	20 °C/min
Temperatura final 2	310 °C	310 °C
Mantenimiento final 2	3,625 min	1,125 min
Tiempo de análisis total	10 min	10 min
Tiempo posterior al análisis	1,5 min	1,5 min
Tiempo de equilibrio	0,25 min	0,25 min
		Inserto para horno de alta velocidad (almohadillado)

Columna 1		
	Con 15 x 15 m	Con 10 x 10 m
Tipo	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert
Referencia de Agilent	19091S-431UI-KEY	Columna a medida ²
Longitud	15 m	10 m
Diámetro	0,25 mm	0,25 mm
Espesor de película	0,25 µm	0,25 µm
Modo de control	Flujo constante	Flujo constante
Flujo	1,016 ml/min	1,3 ml/min
Conexión del inyector	Inyector multimodo (MMI)	Inyector multimodo (MMI)
Conexión de salida	PSD (PUU)	PSD (PUU)
Flujo de purga del PSD	5 ml/min	5 ml/min
Flujo en el tiempo posterior al análisis (retroflujo)	-7,873	-3,174
Columna 2		
	Con 15 x 15 m	Con 10 x 10 m
Tipo	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert
Referencia de Agilent	19091S-431UI-KEY	Columna a medida ²
Longitud	15 m	10 m
Diámetro	0,25 mm	0,25 mm
Espesor de película	0,25 µm	0,25 µm
Modo de control	Flujo constante	Flujo constante
Flujo	1,216 ml/min	1,5 ml/min
Conexión del inyector	PSD (PUU)	PSD (PUU)
Conexión de salida	MSD	MSD
Flujo en el tiempo posterior al análisis (retroflujo)	8,202	3,290

MSD		
Modelo	Agilent serie 7000 (7000D y 7000E) o GC/MS de triple cuadrupolo 7010C	
Fuente	Fuente extractora inerte con lente de 3 mm o HES	
Bomba de vacío	Turbo de alto rendimiento	
Archivo de sintonización	Atunes.eiex.jtune.xml o Atunes.eihs.jtune.xml	
Retardo del disolvente	3 min	
Temperatura del cuadrupolo (MS1 y MS2)	150 °C	
Temperatura de la fuente	280 °C	
Modo	dMRM	
Gas de inactivación helio	2,25 ml/min	
Gas de colisión N ₂	1,5 ml/min	
Estadísticas de MRM		
	Con 15 x 15 m	Con 10 x 10 m
MRM totales (modo dMRM)	614	614
Tiempo de residencia mínimo	2,33 ms	3,99 ms
Tiempo de ciclo mínimo	167,86 ms	110,38 ms
MRM simultáneas máximas	127	83
Modo de ganancia de tensión del EM	10	10

Preparación de muestras

En la Figura 3 se muestra un gráfico con el flujo de trabajo de la preparación de muestras. La preparación de muestras incluyó dos pasos principales: la extracción de la muestra mediante extracción QuEChERS convencional seguida de una limpieza de paso Captiva con eliminación mejorada de la matriz (EMR). En la matriz natural con alto contenido en clorofila (espinacas) se empleó el cartucho Agilent Captiva EMR-High Chlorophyll Fresh con NH₂ (Captiva EMR-HCF1). El nuevo flujo de trabajo de preparación de muestras presenta un procedimiento simplificado con mejoras tanto en la eliminación de matriz de la muestra como en la calidad de los datos de cuantificación de los compuestos de interés.

Tal y como se muestra en la Figura 3, las muestras se sometieron primero a una extracción con el kit de extracción Agilent Bond Elut QuEChERS EN convencional (referencia 5982-5650CH). Para la extracción se utilizaron espinacas frescas homogeneizadas (10 g). A continuación, se añadieron 10 ml de acetonitrilo (ACN) con ácido acético al 1 % y se procedió a la extracción. Tras la extracción, se transfirieron 3 ml de extracto en crudo al cartucho Captiva EMR-HCF1 (referencia 5610-2088) para la limpieza de paso. El eluyente de la muestra se recogió y se siguió secando con MgSO₄ anhidro (referencia 5982-0102). Las muestras quedaron listas para el análisis por GC/TQ. Se empleó el procesador 48 para colector de presión positiva de Agilent (PPM-48; referencia 5191-4101) para el procesamiento de la limpieza de paso Captiva EMR.

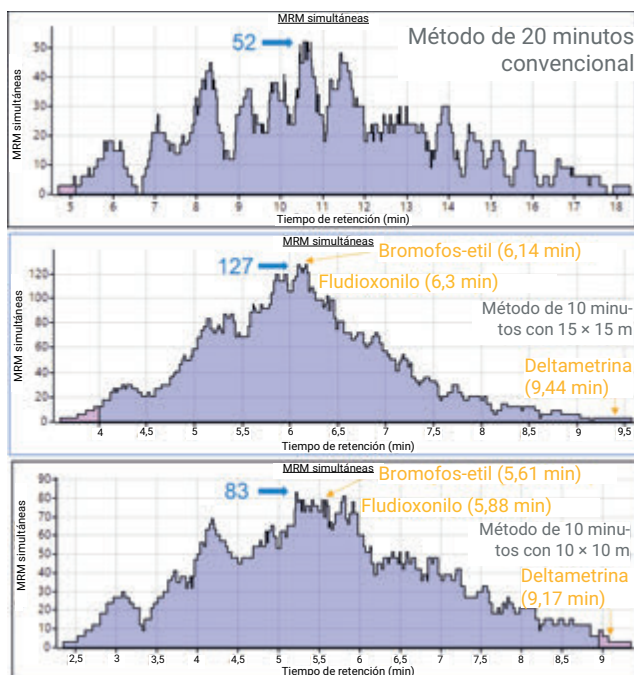


Figura 2. Distribución de las 614 transiciones dMRM con el análisis de pesticidas convencional de 20 minutos, el análisis de 10 minutos utilizando la configuración convencional de 15 x 15 mm y el método de 10 minutos empleando la configuración de columna de 10 x 10 mm de diámetro reducido.



Figura 3. Diagrama de flujo de la preparación de muestras con extracción QuEChERS convencional de Agilent seguida de una limpieza de paso Agilent Captiva EMR.

Resultados y comentarios

Conservación de la resolución cromatográfica con el análisis de 10 minutos de más de 200 pesticidas

Las configuraciones de retroflujo en mitad de la columna para GC que se han presentado, la convencional de 15 x 15 m y la de diámetro reducido de 10 x 10 m, permitieron un análisis de 203 pesticidas en 10 minutos con tres transiciones MRM adquiridas por cada compuesto. En la Figura 4 se demuestra que la resolución cromatográfica con el método rápido de 10 minutos se conservó en gran medida con la configuración convencional de 15 x 15 m (Figura 4A) y se conservó por completo en la configuración de diámetro reducido de 10 x 10 m (Figura 4B).

La técnica de traducción de métodos para GC que sirvió para transferir el método a la configuración de 10 x 10 m permitió la conservación del orden de elución relativo de los compuestos.

Sensibilidad y rendimiento de la calibración en un amplio intervalo analítico con separaciones de 10 minutos

La sensibilidad del método que se logró con las diferentes configuraciones de columna y las separaciones de 10 minutos fue comparable a la observada con el método convencional de 20 minutos. Ambos métodos de 10 minutos con las configuraciones de columna de 15 x 15 m y 10 x 10 m permitieron la detección de

todos los pesticidas diana por debajo de los MRL regulados, incluso en el caso de los más exigentes. Por ejemplo, la deltametrina, un compuesto exigente para su análisis por GC/MS, presentó una cuantificación precisa en las espinacas a un nivel de 0,1 ppb con el sistema de GC/TQ 7010C y de 1 a 5 ppb con el sistema de GC/TQ de la serie 7000 (Figura 5A). A pesar de que no se ha establecido un MRL para la deltametrina en espinacas, está regulado en otros productos alimenticios, como los grupos de verduras 8 y 9 y los subgrupos IB e IC, con MRL de 40 a 300 ppb.³ Los intervalos de calibración que se observaron con los sistemas de GC/TQ 7010 y de la serie 7000 permitirían al analista satisfacer sus necesidades en cuanto al análisis de la deltametrina en diferentes matrices alimenticias.

Aunque la deltametrina es conocida por ser un compuesto exigente para el análisis por GC/MS, su elución al final de los análisis de 10 minutos da lugar a varias transiciones MRM simultáneas. Con solo unas transiciones MRM simultáneas, los MRM que se monitorizan en la deltametrina presentan tiempos de residencia relativamente prolongados (sobre 50 ms) incluso con los métodos rápidos de 10 minutos (Figura 2). Por el contrario, el fludioxonilo, un fungicida con un MRL establecido en 10 ppb en las espinacas⁴, eluye durante el segmento de saturación de los métodos MRM con 120 y 80 transiciones MRM simultáneas en las configuraciones de método de

15 x 15 m y de 10 x 10 m, respectivamente. A pesar de los tiempos de residencia relativamente cortos de 3 y 4,9 ms de las dos configuraciones, se logró la cuantificación precisa del fludioxonilo a un nivel de 0,1 ppb con ambos sistemas de GC/TQ, el 7010C y el 7000, con al menos diez puntos de datos en el pico (Figura 5B). El sistema de GC/TQ 7010C, equipado con una fuente de alta eficiencia (HES), demostró una sensibilidad superior en comparación con el sistema de GC/TQ de la serie 7000. Permite una cuantificación precisa por debajo de 0,1 ppb, aunque este aspecto no fuera necesario para el estudio, ya que los MRL de los pesticidas regulados por la EPA de EE. UU. en la mayor parte de los productos alimenticios no precisa una cuantificación por debajo de 0,1 ppb. De forma parecida, el bromofos-etil eluyó en una ventana de tiempo de retención saturada con una gran cantidad de transiciones MRM monitorizadas simultáneas, dando lugar a un tiempo de residencia breve de 2,7 y 4,7 ms con las configuraciones de 15 x 15 m y de 10 x 10 m, respectivamente. Las tolerancias recomendadas del bromofos-etil oscilan entre las 20 y las 2.000 ppb en diversos productos.⁵ En las Figuras 5B y 5C se muestra la cuantificación precisa del fludioxonilo y del bromofos-etil en un amplio intervalo de concentraciones de 0,1 a 1.000 ppb con una linealidad y sensibilidad excelentes en la matriz exigente de la espinaca y, al menos, diez puntos de datos en el pico.

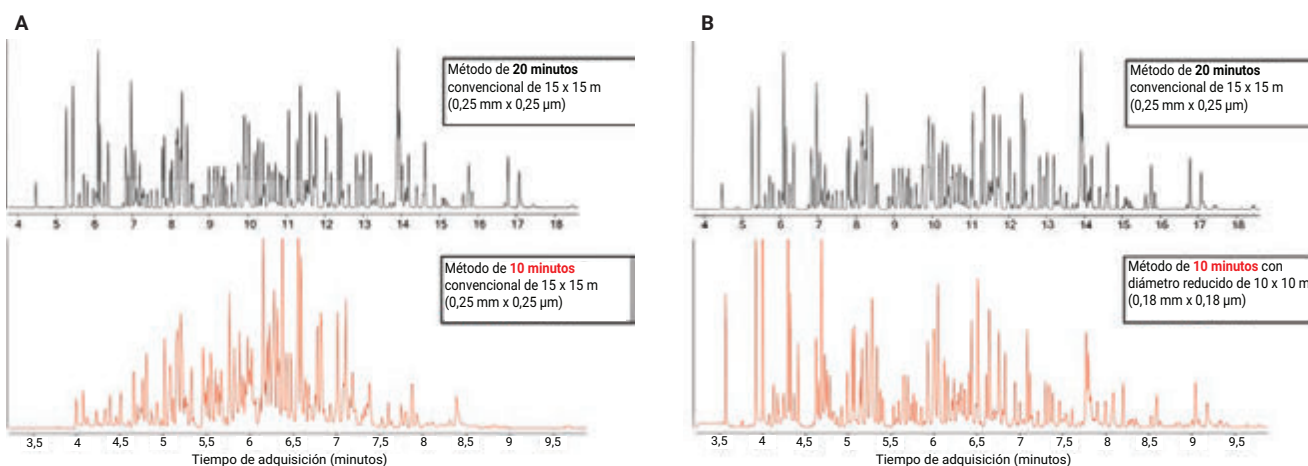
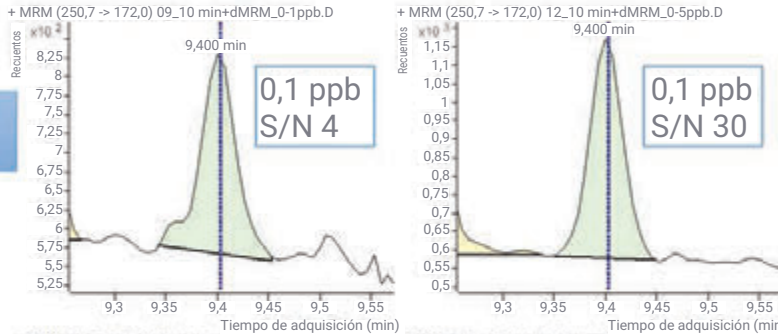


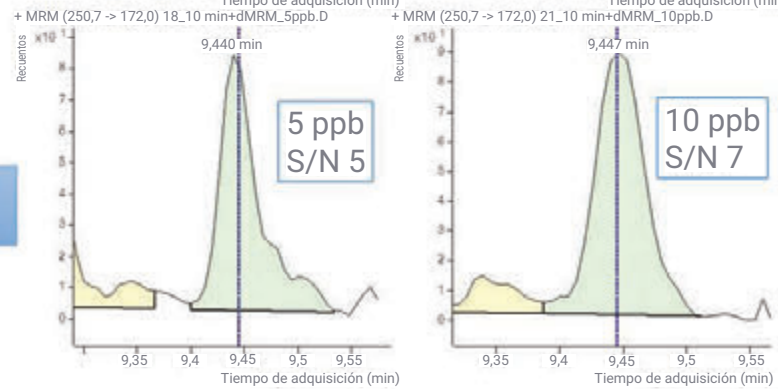
Figura 4. Cromatogramas MRM de corriente iónica total (TIC) de una mezcla de 203 pesticidas adquiridos con (A) la configuración convencional de 15 x 15 m y (B) la configuración de diámetro reducido de 10 x 10 m.

A) Deltametrina

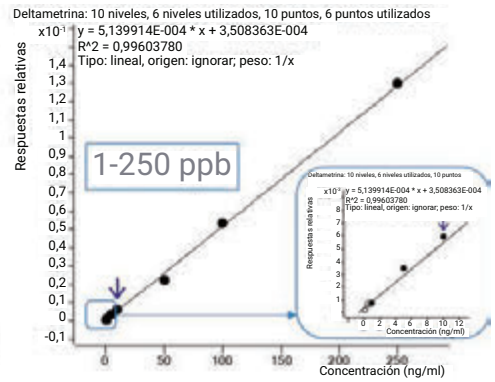
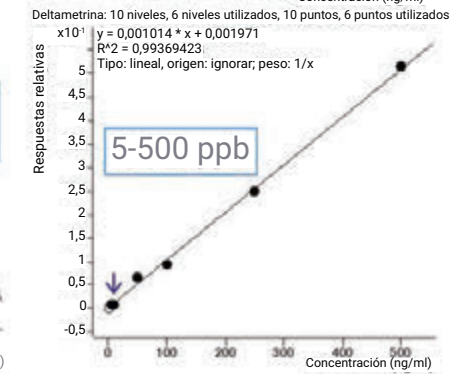
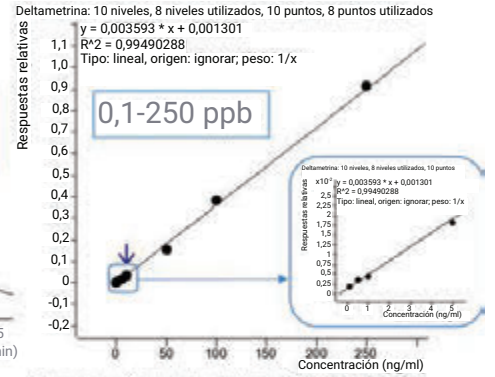
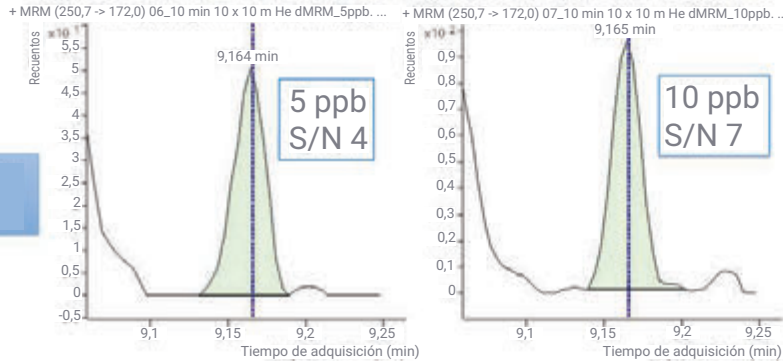
7010C
15 x 15 m



7000E
15 x 15 m

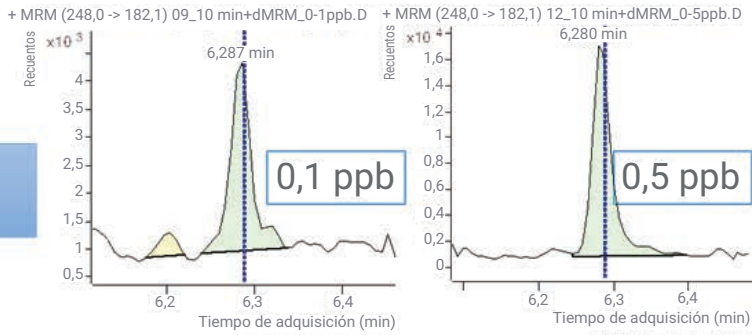


Serie 7000
10 x 10 m

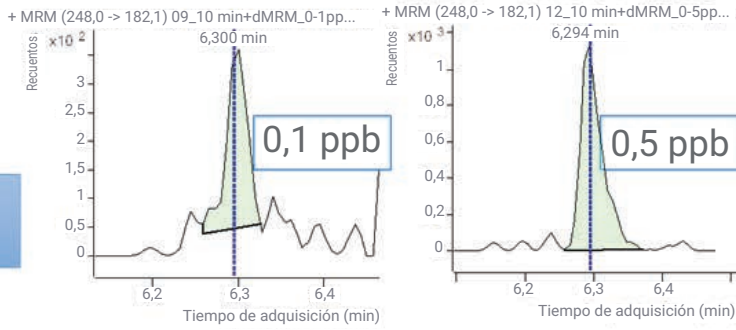


B) Fludioxonilo

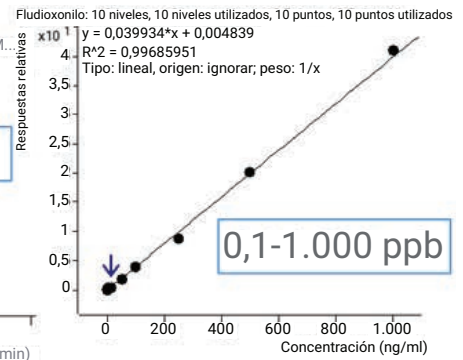
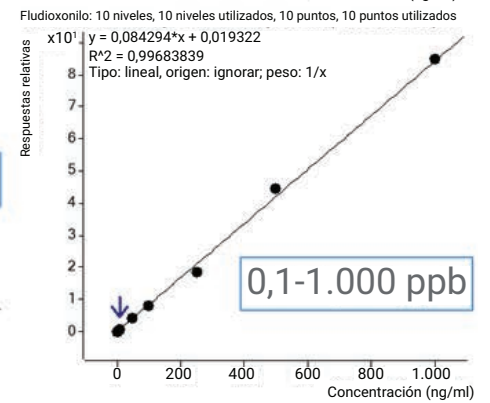
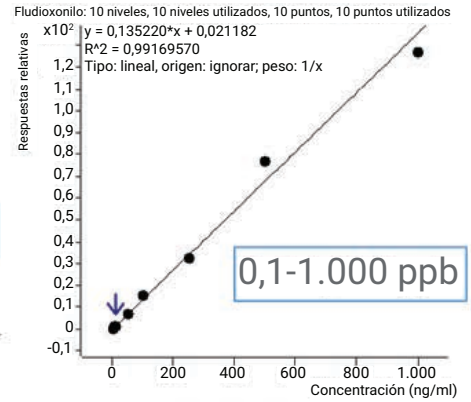
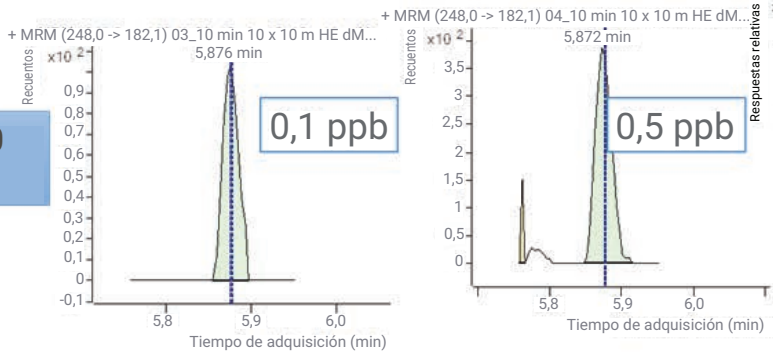
7010C
15 x 15 m



7000E
15 x 15 m

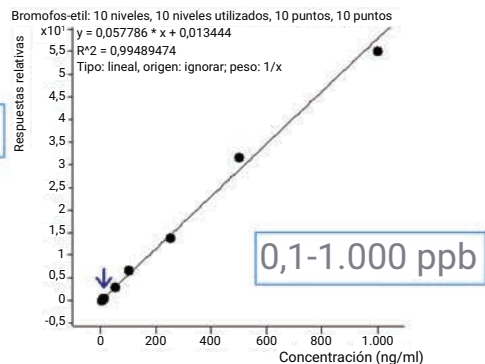
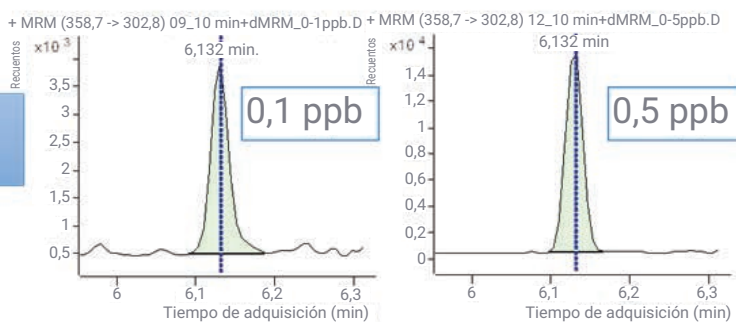


Serie 7000
10 x 10 m

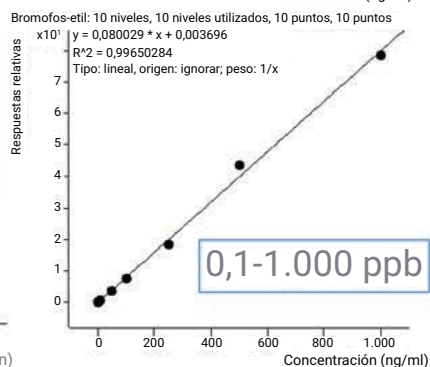
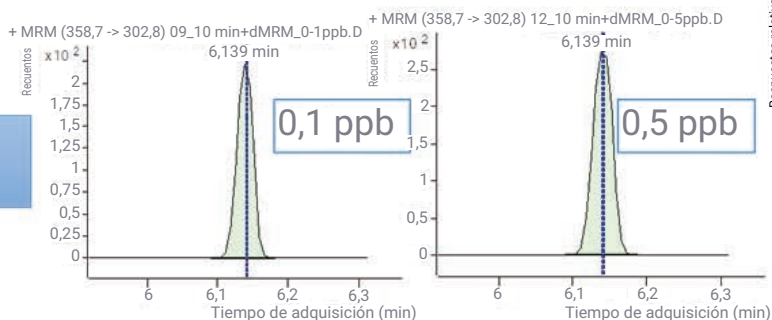


C) Bromofos-etil

7010C
15 x 15 m



7000E
15 x 15 m



Serie 7000
10 x 10 m

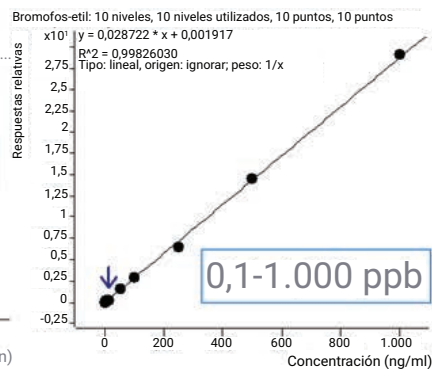
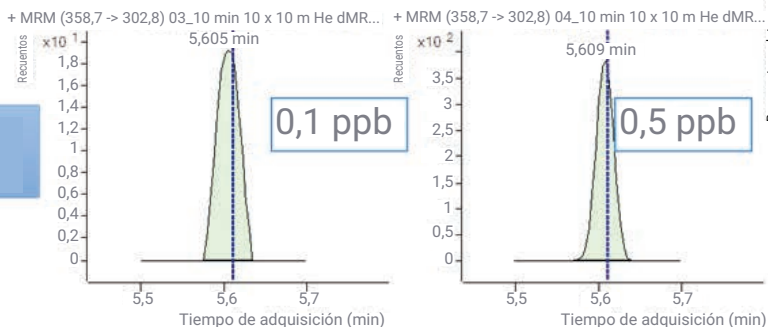


Figura 5. Cromatogramas MRM y curvas de calibración acoplada con matriz en las espinacas para (A) deltametrina, (B) fludioxonilo y (C) bromofos-etil que se observaron con las diferentes configuraciones de columna y las separaciones en 10 minutos mediante los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 7010C y de la serie 7000.

El mayor problema que suponen los análisis complejos de multiresiduos de pesticidas es que los MRL establecidos para los pesticidas en los diferentes productos alimenticios varían de forma significativa. Todo esto hace necesaria la reinyección de la muestra si los intervalos de calibración del método no abarcan todos los MRL de los compuestos de interés. Es recomendable contar con unos intervalos de calibración dinámicos y amplios para utilizar un método de cuantificación más genérico para el análisis de diferentes pesticidas en el

producto o en varios productos alimenticios y para simplificar el pretratamiento de las muestras antes de la detección del instrumento, como una dilución mayor. En la Figura 6 se resume el rendimiento de la calibración de los 203 pesticidas que se analizaron en las espinacas con las separaciones de 10 minutos mediante la configuración convencional de 15 x 15 m combinada con los sistemas de GC/TQ 7010C y 7000E y mediante la configuración de diámetro reducido de 10 x 10 m combinada con el sistema de GC/TQ de

la serie 7000. El gráfico ilustra el número de compuestos con el coeficiente de correlación de calibración $R^2 > 0,99$ con los diferentes ajustes de regresión (lineal o cuadrático) dentro de los distintos intervalos de calibración.

La mayor parte de los compuestos de interés presentaron curvas de calibración combinadas lineales en un amplio intervalo de o bien 0,1 a 1.000 ppb o bien de 0,5 a 1.000 ppb, lo que permitió su cuantificación fiable a los diferentes MRL establecidos para los distintos compuestos.

Número de compuestos con $R^2 > 0,99$ y sus intervalos de calibración con los sistemas de GC/TQ de la serie 7000 y 7010C con configuraciones de dos columnas y separaciones de 10 minutos

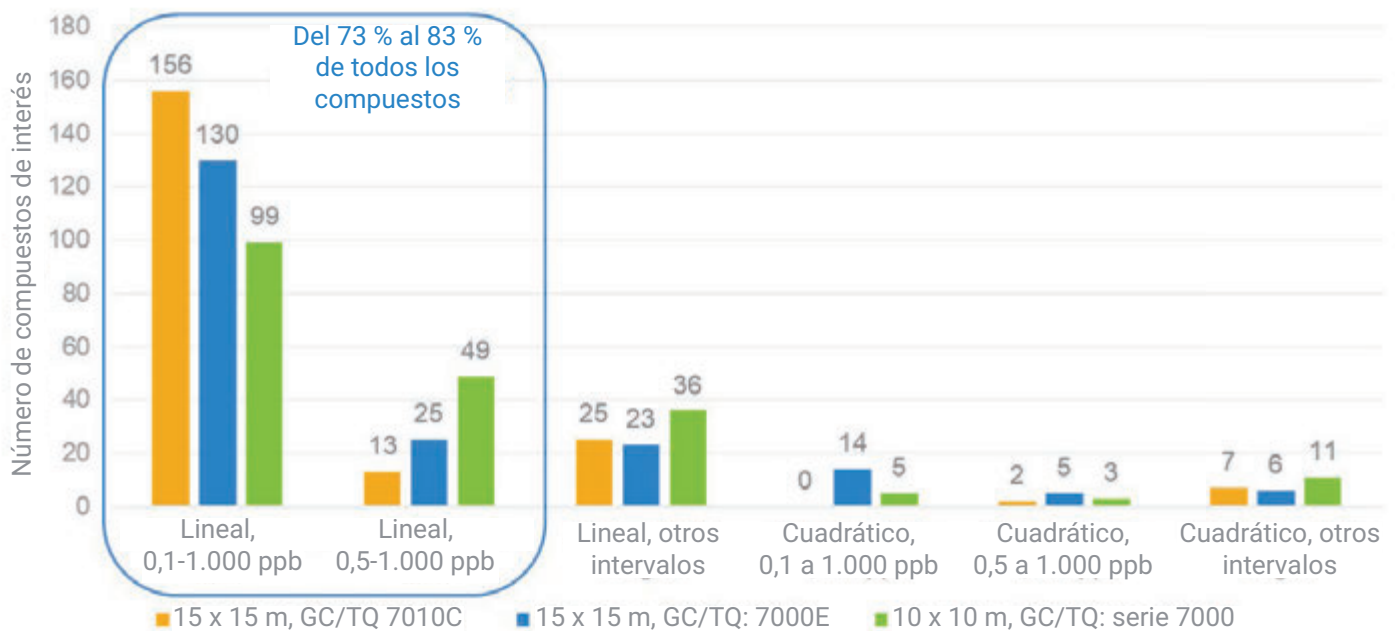


Figura 6. Eficiencia de la calibración de los 203 pesticidas con los métodos de 10 minutos mediante la configuración convencional de 15 x 15 m, combinada con los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 7010C y 7000E, y la configuración de diámetro reducido de 10 x 10 m, combinada con los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent de la serie 7000. El gráfico muestra el número de compuestos y sus intervalos de calibración.

Robustez del método con 700 inyecciones de un extracto de espinacas

Se demostró la robustez del análisis de 10 minutos mediante el análisis de un exigente extracto de espinacas con elevado nivel de pigmentación marcado con pesticidas a 20 ppb. El área de los analitos se monitorizó durante 700 inyecciones consecutivas. La respuesta de los analitos, normalizada con los patrones internos (ISTD), permaneció homogénea en las 700 inyecciones que se llevaron a cabo en un periodo de 175 horas de funcionamiento continuo con el método de 10 minutos y la configuración de columna convencional de 15 x 15 m combinada con el sistema de GC/TQ 7000E. El único procedimiento de mantenimiento que se llevó a cabo durante la prueba de robustez fue la sustitución del séptum y del liner cada 100 inyecciones.

No fue necesario llevar a cabo la limpieza del inyector, el recorte de la columna para GC ni la limpieza de la fuente de MS, como tampoco hubo que resintonizar el MS durante todo el estudio, que comprendió más de 1000 inyecciones (la prueba de robustez con más de 700 análisis y otros análisis que se llevaron a cabo para la evaluación y la calibración del sistema).

La clave de un análisis de pesticidas satisfactorio y robusto que permita un rendimiento estable del sistema de GC/TQ en más de 700 inyecciones se describe en la nota de aplicación 5994-4965ES.⁶ Las prácticas recomendadas de este estudio fueron:

- Preparación de muestras simplificada y mejorada, lo que se consigue gracias a la novedosa limpieza de paso Captiva EMR mejorada después de una extracción QuEChERS convencional.

- Evaluación de la carga de la matriz en origen en modo de adquisición de datos de barrido completo.
- Retroflujo en el tiempo posterior al análisis con las configuraciones de retroflujo en mitad de la columna convencional de 15 x 15 m y de diámetro reducido de 10 x 10 m.
- Sistema de GC/TQ sin fugas gracias a las tuercas de columna de autoapriete con collarín y a las férulas metálicas flexibles recubiertas de oro con CFT.
- Uso del MMI con temperatura programada y liner biselado Ultra Inert de 2 mm (sin lana de vidrio).

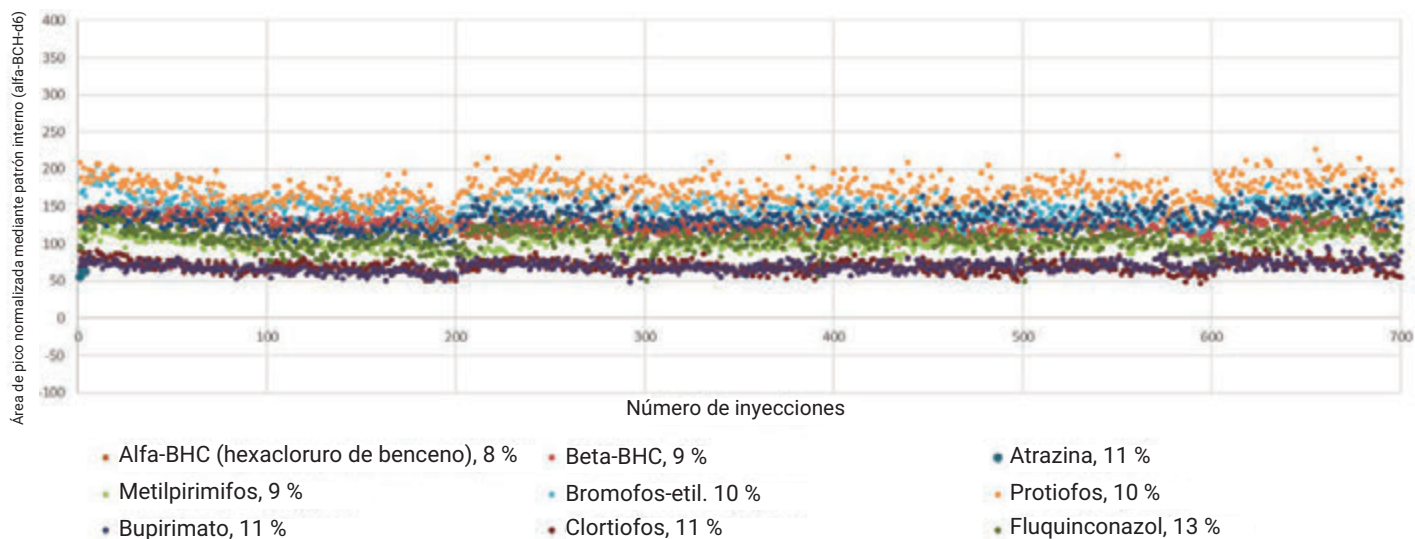


Figura 7. Estabilidad del área de los picos para los pesticidas marcados a 20 ppb en el extracto de espinacas, normalizados mediante el patrón interno, en 700 inyecciones consecutivas. Análisis de 10 minutos con la configuración de columna convencional de 15 x 15 m combinada con el sistema de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 7000E.

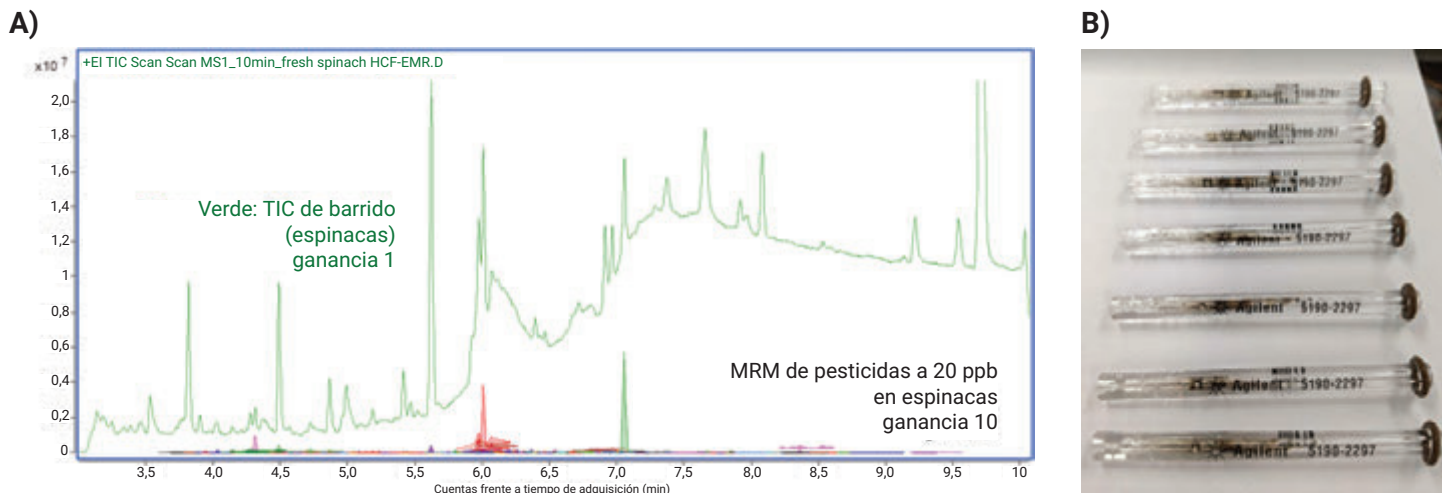


Figura 8. (A) TIC de un cromatograma de barrido completo adquirido para un extracto de espinacas y MRM TIC de pesticidas a 20 ppb. (B) Liners de inyección de GC sustituidos tras 100 inyecciones al analizar un extracto de espinacas durante la evaluación de la robustez.

El extracto de espinacas con elevado nivel de pigmentación, seleccionado para llevar a cabo la prueba de robustez, presentó un fondo relativamente elevado en el modo de adquisición de datos de barrido completo, tal y como se muestra en la Figura 8A, en comparación a la abundancia de la señal MRM de los pesticidas a 20 ppb. Los liners que se sustituyeron después de 100 inyecciones, siete veces durante el estudio de robustez, se muestran en la Figura 8B. Esto indica que el extracto de espinacas realmente supone un desafío para el análisis por GC/MS y, por lo tanto, se consideró una matriz válida para la evaluación de la robustez.

Conclusión

En esta nota de aplicación se describen dos configuraciones de sistemas de GC/TQ con retroflujo en mitad de la columna que permiten, en ambos casos, un análisis de pesticidas robusto en 10 minutos al tiempo que mantienen una resolución cromatográfica suficiente para 203 compuestos. Se emplearon las configuraciones de retroflujo en mitad de la columna convencional de 15 x 15 m (0,25 mm x 0,25 μ m) y de diámetro

reducido de 10 x 10 m (0,18 mm x 0,18 μ m) para lograr un tiempo de análisis de 10 minutos. Los resultados demuestran que se logró alcanzar una excelente linealidad, en un intervalo analítico de calibración de 0,1 a 1.000 ppb o de 0,5 a 1.000 ppb, con los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 7010C y de la serie 7000. La robustez del método se demostró mediante 700 inyecciones consecutivas de extracto de espinacas marcado con pesticidas a 20 ppb.

Referencias

1. Base de datos Agilent MassHunter de MRM de pesticidas y contaminantes medioambientales (P&EP 4.0). G9250AA. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms/gc-ms-application-solutions/gc-ms-ms-pesticides-analyzer>
2. Se puede realizar el pedido de columnas para GC de Agilent a medida en <https://explore.agilent.com/individual-column>
3. 40 CFR § 180.435 - Deltamethrin; tolerances for residues. [https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.435#:~:text=\(2\)%20A%20tolerance%20of%200.05,establishments%20or%20as%20a%20wide](https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.435#:~:text=(2)%20A%20tolerance%20of%200.05,establishments%20or%20as%20a%20wide). Acceso el 22 de abril de 2022.
4. Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity), US EPA. 12 de diciembre de 2012. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-01/documents/tolerances-commodity.pdf>. Acceso el 28 de abril de 2022.
5. IPCS INCHEM. <https://incchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v072pr04.htm>. Acceso el 28 de abril de 2022.
6. Andrianova, A; Zhao, L. Cinco factores clave para conseguir un rendimiento óptimo en el análisis de más de 200 pesticidas en matrices alimenticias de gran exigencia mediante GC/MS/MS, *nota de aplicación Agilent Technologies*, número de publicación 5994-4965ES, **2022**.

Apéndice 1

Compuestos analizados en este estudio y sus tiempos de retención observados con configuraciones de dos columnas y separaciones de 10 minutos.

Nombre	Tiempo de retención (min)		Nombre	Tiempo de retención (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Alidocloro	3,773	2,542	Gamma-BHC (lindano, HCH gamma)	5,201	4,174
Diclorobenzonitrilo, 2,6-	3,972	2,720	Pirimetanil	5,222	4,246
Bifenilo	4,055	2,812	Teflutrín	5,223	4,310
Mevinfos, E-	4,110	2,901	Fonofos	5,225	4,223
3,4-Dicloroanilina	4,193	2,954	Pentacloronitrobenzeno	5,227	4,210
Pebulato	4,223	3,006	Pentaclorobenzonitrilo	5,247	4,228
Etridiazol	4,246	3,016	Disulfotón	5,273	4,312
N-(2,4-dimetilfenil)formamida	4,305	3,091	Isazofos	5,285	4,361
cis-1,2,3,6-Tetrahidroftalimida	4,312	3,090	Terbacil	5,285	4,323
Metacrifós	4,321	3,129	Trialato	5,322	4,379
Cloroneb	4,375	3,171	Delta-BHC	5,330	4,351
2-fenilfenol	4,444	3,228	Clorotalonil	5,350	4,392
Pentaclorobenceno	4,495	3,276	Propanil	5,463	4,570
Propacloro	4,702	3,546	Endosulfán éter	5,466	4,523
Tecnazeno	4,712	3,547	Transflutrina	5,476	4,658
Difenilamina	4,734	3,582	Dimetacloro	5,477	4,596
Cicloato	4,757	3,626	Pentacloroanilina	5,482	4,552
Clorprofam	4,769	3,656	Acetocloro	5,502	4,641
2,3,5,6-Tetracloroanilina	4,793	3,633	Vinclozolín	5,503	4,654
Trifluralina	4,798	3,724	Metil paratión	5,526	4,668
Benfluralina	4,811	3,740	Clorpirifos metil	5,526	4,668
Etalfluralin	4,812	3,670	Tolclofós-metilo	5,559	4,710
Sulfotep	4,869	3,789	Alacloro	5,564	4,725
Dialato I	4,928	3,846	Propisocloro	5,579	4,765
Forato	4,932	3,852	Metalaxil	5,583	4,763
Beta-BHC	5,010	4,115	Ronnel	5,614	4,791
Alfa-BHC (hexacloruro de benceno)	5,011	3,918	Prodiamina	5,622	4,871
Hexaclorobenceno	5,069	3,987	Heptacloro	5,630	4,763
Atrazina	5,072	4,048	Metilpirimifos	5,650	4,892
Diclorán	5,072	3,998	Fenitrotión	5,676	4,891
Pentacloroanisol	5,083	4,013	Malatión	5,696	4,962
Clomazona	5,122	4,092	Linurón	5,708	4,927
Profluralina	5,123	4,156	Diclofluanida	5,745	4,980
Terbutilazina	5,155	4,163	Pentacloro tioanisol	5,767	4,972
Terbufos	5,173	4,178	Aldrina	5,768	5,061
Propizamida	5,175	4,188	Fentión	5,779	5,057
Diacinón	5,191	4,244	Metolacloro	5,783	5,046
Flucloralin	5,199	4,261	Clorpirifos	5,790	5,075

Nombre	Tiempo de retención (min)		Nombre	Tiempo de retención (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Paratión	5,793	5,081	Clorfenson	6,275	5,784
Triadimefón	5,811	5,100	Nonacloro, trans-	6,279	5,787
DCPA (dactal, clortal-dimetilo)	5,829	5,124	Dieldrina	6,279	5,955
Antraquinona	5,831	5,053	Fludioxonilo	6,294	5,876
Diclorobenzofenona, 4,4-	5,840	5,110	Protiofos	6,300	5,844
Etilpirimifos	5,869	5,241	Oxadiazón	6,303	5,920
MGK-264	5,881	5,315	Pretilaclor	6,303	5,895
Isopropalina	5,898	5,267	Yodofenfós	6,304	5,828
Fenson	5,902	5,194	Profenofos	6,312	5,877
Difenamida	5,908	5,235	Oxifluorfen	6,314	5,960
Bromofos	5,918	5,237	DDE-p,p'	6,342	5,906
Ciprodinilo	5,941	5,314	Bupirimato	6,361	6,014
Pendimetalina	5,975	5,356	Miclobutanil	6,364	5,970
Clozolinato	5,976	5,378	Clorfenapir	6,365	6,122
Aletrina	5,979	5,393	Flusilazol	6,370	5,995
Triflumizol	5,979	5,473	Fluazifop-p-butil	6,388	6,090
Fipronil	5,993	5,431	DDD-o,p'	6,404	5,990
Penconazol	5,998	5,375	Triciclazol	6,412	5,932
Metazaclor	5,999	5,358	Endrina	6,423	6,153
Clorfenvinfos	6,016	5,436	Ethylan	6,453	6,121
Heptacloro exo-epóxido	6,016	5,402	Nitrofén	6,477	6,101
Isodrín	6,018	5,319	Clorobencilato	6,506	6,189
Captan	6,020	5,472	Etión	6,571	6,315
Tolilfluánida	6,026	5,413	DDD-p,p'	6,582	6,280
Bromfenvinfos-metilo	6,036	5,436	DDT-o,p'	6,582	6,318
Quinalfos	6,047	5,463	Clortiofos	6,587	6,338
Triadimenol	6,053	5,476	Endosulfán II (isómero beta)	6,603	6,235
Procimidona	6,090	5,515	Triazofos	6,644	6,428
Folpet	6,127	5,513	Sulprofós	6,659	6,420
Paclobutrazol	6,137	5,653	Nonacloro, cis-	6,667	6,341
Clorbenside	6,137	5,549	Carfentrazona-etil	6,668	6,509
Bromofos-etil	6,139	5,609	Metoxicloro olefina	6,702	6,519
DDE-o,p'	6,176	5,631	Endrina aldehído	6,709	6,402
Tetraclorvinfos	6,181	5,680	Carbofenotión	6,726	6,513
Clordano-trans	6,187	5,610	Norflurazona	6,754	6,576
Clordano-cis	6,196	5,744	Edifenfós	6,786	6,566
Fenamifós	6,227	5,797	Lenacil	6,787	6,588
Flutolanil	6,233	5,801	DDT-p,p'	6,805	6,615
Bromfenvinfos	6,252	5,800	Iprodiona	6,826	6,947
Flutriafol	6,255	5,764	Metoxicloro, o,p'-	6,846	6,703
Endosulfán I (isómero alfa)	6,274	5,724	Endosulfán sulfato	6,852	6,610

Nombre	Tiempo de retención (min)		Nombre	Tiempo de retención (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Butóxido de piperonilo	6,854	6,788	Acrinatrina	7,415	7,607
Propargita	6,856	6,760	Leptofos	7,417	7,413
Resmetrina	6,857	6,756	Pirazofos	7,556	7,660
Hexazinona	6,861	6,708	Fenarimol	7,631	7,641
Tebuconazol	6,886	6,739	Mirex	7,636	7,533
Captafol	6,890	6,805	Piraclofós	7,645	7,728
Nitralín	6,913	6,862	Azinfos-etilo	7,675	7,700
Bifentrina	7,044	7,057	Permetrina, (1R)-cis-	7,785	7,901
Piridafentión	7,048	7,004	Permetrina, (1R)-trans-	7,842	7,962
Tetrametrina I	7,052	6,999	Piridabén	7,916	7,980
Fenpropatrina	7,106	7,121	Cumafos	7,964	8,028
Bromopropilato	7,109	7,061	Fluquinconazol	7,964	8,023
EPN	7,112	7,061	Procloraz	7,988	8,058
Tebuftenpirad	7,130	7,152	Ciflutrin I	8,157	8,184
Metoxicloro, p,p'-	7,131	7,111	Cipermetrina I	8,250	8,339
Fosmet	7,135	7,054	Flucitrinato I	8,359	8,444
Endrina cetona	7,189	7,033	Acequinocilo	8,409	8,534
Fenotrina I	7,230	7,243	Etofenprox	8,431	8,485
Azinfos-metilo	7,330	7,405	Fluridona	8,708	8,662
Tetradifón	7,330	7,305	Fenvalerato I	8,881	8,799
Cialotrina (lambda)	7,334	7,438	Tau-fluvalinato I	8,970	8,894
Piriproxifeno	7,358	7,406	Deltametrina	9,444	9,166
Fosalón	7,389	7,387			

www.agilent.com

DE13474802

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2022
Impreso en EE. UU., 29 de septiembre de 2022
5994-4967ES