

## Cinco claves para conseguir el máximo rendimiento en el análisis de más de 200 pesticidas en matrices alimenticias de gran exigencia mediante GC/MS/MS



### Autores

Anastasia A. Andrianova  
y Limian Zhao  
Agilent Technologies, Inc.

### Resumen

En esta nota de aplicación se describen las cinco prácticas recomendadas para aumentar el rendimiento analítico en el análisis de más de 200 pesticidas en matrices exigentes, como las espinacas, las nueces y la cayena. El novedoso procedimiento de limpieza de paso Agilent Captiva EMR después de la extracción QuEChERS de Agilent permitió obtener un fondo de matriz más limpio. La limpieza y la extracción redujeron las interferencias de la matriz con los analitos de interés y prolongaron el tiempo de funcionamiento del instrumento sin necesidad de mantenimiento. Se demostró el rendimiento de la calibración en un amplio intervalo analítico de más de cuatro órdenes de magnitud. Se verificó que el sistema de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 8890/7000E logró una linealidad excelente en un intervalo de concentraciones de entre 0,1 y 5.000 ppb. Los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 8890/7010C demostraron una sensibilidad de nivel superior, produciendo una mayor relación señal-ruido a concentraciones más bajas.

## Introducción

El sector agrícola a nivel mundial emplea más de mil pesticidas diferentes en la producción de alimentos. Los productores necesitan los pesticidas para cumplir la creciente demanda de alimentos a precios razonables. Esta creciente demanda ha aumentado el uso de pesticidas y ha fomentado prácticas agrícolas problemáticas que han incrementado los riesgos que suponen para el ámbito del suministro de alimentos y para el medio ambiente. La preocupación por los contaminantes químicos a nivel de trazas en los alimentos ha impulsado la demanda de métodos más rápidos y fiables para la identificación y cuantificación de residuos químicos. Los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo (GC/TQ) **Agilent 8890/7000E** y **8890/7010C** están equipados con todos los medios necesarios para satisfacer esta necesidad.

La Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE. UU. (EPA) establece las tolerancias que forman parte de la ecuación de la seguridad alimentaria.<sup>1</sup> La tolerancia hace referencia al límite de residuos máximo (MRL), que es el nivel máximo de residuos de pesticidas que se permite que permanezcan en los productos alimenticios tratados. Los MRL pueden variar dentro de un amplio intervalo de concentraciones en función de los distintos pesticidas y productos alimenticios. Por ejemplo, los MRL definidos para los 68 pesticidas regulados en las espinacas varían entre 10 ppb para fludioxonilo y 60.000 ppb para el boscalid.<sup>2</sup> Este abanico de límites supone una complicación para el análisis, ya que requiere tanto un alto nivel de sensibilidad como la capacidad de calibración en un amplio intervalo analítico.

Los cinco componentes clave del análisis de pesticidas adecuado que se tratan en esta nota de aplicación son:

- 1 Eficacia en la extracción de la muestra y en la limpieza de la matriz, para que el fondo de la matriz y las interferencias sean mínimos mientras se mantiene un alto nivel de recuperación de pesticidas. Además, un método analítico sólido que logre el rendimiento del método necesario mientras aumenta el funcionamiento continuado sin necesidad de mantenimiento.

- 2 Evaluación de la matriz en modo de adquisición de datos de barrido completo para garantizar el rendimiento más eficiente, especialmente con la fuente de alta eficiencia (HES).
- 3 Retroflujo en mitad de la columna para prolongar el funcionamiento del sistema sin necesidad de llevar a cabo mantenimiento. Esta técnica minimiza el recorte de la columna y la limpieza de la fuente, al tiempo que permite la reducción del tiempo de análisis.
- 4 Un sistema de GC/TQ sin fugas permite prolongar la vida útil de la columna para GC y facilita unas prestaciones de MS homogéneas y fiables sin necesidad de mantenimiento.
- 5 El uso de un inyector multimodo (MMI) Agilent con programación de temperatura y un liner biselado de 2 mm (sin lana de vidrio) para garantizar una volatilización eficaz incluso en los compuestos más termolábiles.

En esta nota de aplicación se presenta el análisis de más de 200 pesticidas en tres matrices exigentes: las espinacas en matriz natural con alto contenido en clorofila, la cayena de matriz seca compleja y la nuez de matriz seca oleosa. Los amplios intervalos analíticos que se lograron con una sensibilidad de método elevada permitieron la cuantificación precisa de pesticidas en estas matrices en sus MRL.

Se lograron calibraciones acopladas con matriz con  $R^2 > 0,99$  en un amplio intervalo analítico de entre 0,1 y 5.000 ppb con el sistema de GC/TQ 7000E y de entre 0,1 y 1.000 ppb con el sistema de GC/TQ 7010C. El sistema de GC/TQ 7010C equipado con la fuente de alta eficiencia (HES) ofreció una sensibilidad superior, produciendo una relación señal-ruido elevada incluso a concentraciones bajas, y permitió una cuantificación precisa a concentraciones por debajo de 0,1 ppb. Sin embargo, esto no era necesario en este estudio, ya que los MRL de los pesticidas regulados en los productos de interés no requerían una cuantificación por debajo de 0,1 ppb.

## Experimento

### Análisis por GC/TQ

Se usaron sistemas de GC/TQ 8890/7000E y 8890/7010C (Figura 1A), configurados para lograr la mayor eficiencia en un amplio intervalo de calibración. Este intervalo de calibración abarcó los distintos MRL de los pesticidas regulados en los productos analizados. El sistema de GC se configuró con el inyector automático de líquidos Agilent serie 7693A (ALS) y una bandeja de 150 posiciones. El sistema empleó un inyector multimodo (MMI) en modo de inyección splitless con temperatura programada. La capacidad de retroflujo en mitad de la columna le suministró la unión definitiva purgada (PUU) de Agilent, que se instaló entre dos columnas idénticas de 15 m, y el módulo del dispositivo de conmutación neumática (PSD) 8890 (Figura 1B). 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 y hasta 52 MRM simultáneas (Figura 2). Además, dMRM permite al analista agregar y quitar otros analitos con facilidad. El método de adquisición tenía un tiempo de retención bloqueado para ajustarse a los tiempos de retención de la base de datos de MRM de pesticidas y contaminantes medioambientales (P&EP 4) de Agilent MassHunter, que se empleó para crear de forma impecable un método de MS. El uso de P&EP 4 incrementó la facilidad y la velocidad de la configuración de un método de dMRM específico. El método de adquisición tuvo un tiempo de retención bloqueado con respecto a la biblioteca P&PE.

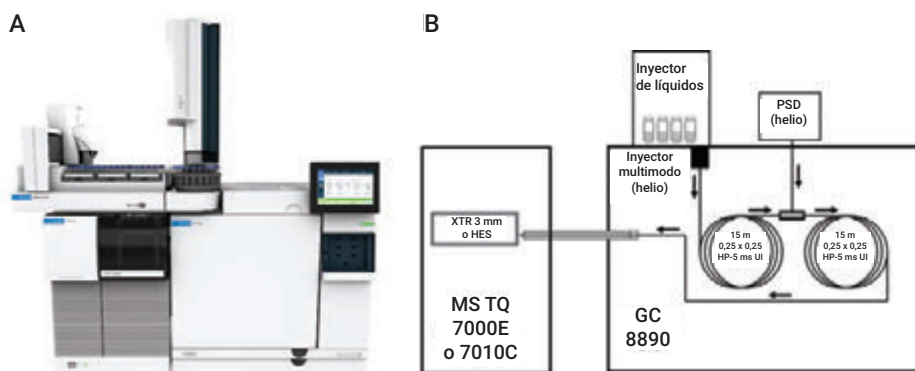


Figura 1. Los sistemas de GC/TQ Agilent 8890/7000E y 8890/7010C (A) y la configuración del sistema (B).

Tabla 1. Condiciones del cromatógrafo de gas y del espectrómetro de masas Agilent 8890/7000E y 8890/7010C para el análisis de pesticidas.

GC		Columna 1		MSD	
Agilent 8890 con horno rápido, muestreador automático y bandeja		Tipo	Agilent HP-5ms UI (ref. 19091S-431UI-KEY)	Modelo	Agilent 7000E o 7010C
Inyector	Inyector multimodo (MMI)	Longitud	15 m	Fuente	Fuente extractora inerte con lente de 3 mm o HES
Modo	Splitless	Diámetro	0,25 mm	Bomba de vacío	Turbo de alto rendimiento
Flujo de purga hacia venteo de split	60 ml/min a los 0,75 min	Espesor de película	0,25 µm	Archivo de sintonización	Atunes.eiex.jtune.xml o Atunes.eihs.jtune.xml
Flujo de purga del séptum	3 ml/min	Modo de control	Flujo constante	Retardo del disolvente	3 min
Modo de flujo de purga del séptum	Conmutado	Flujo	1,016 ml/min	Temperatura del cuadrupolo (MS1 y MS2)	150 °C
Volumen de inyección	1,0 µl	Conexión del inyector	Inyector multimodo (MMI)	Temperatura de la fuente	280 °C
Tipo de inyección	Estándar	Conexión de salida	PSD (PUU)	Modo	dMRM o barrido
Espacio de aire L1	0,2 µl	Flujo de purga del PSD	5 ml/min	Gas de inactivación helio	2,25 ml/min
Ahorro de gas	Activado a 30 ml/min después de 3 min	Flujo en el tiempo posterior al análisis (retroflujo)	-7,873	Gas de colisión N <sub>2</sub>	1,5 ml/min
Temperatura del inyector	60 °C durante 0,1 min, luego hasta 280 °C a 600 °C/min	Columna 2		Estadísticas de MRM	
Temperatura del inyector en el tiempo posterior al análisis	310 °C	Tipo	Agilent HP-5ms UI (ref. 19091S-431UI-KEY)	MRM totales (modo dMRM)	614
Flujo total en el tiempo posterior al análisis	25 ml/min	Longitud	15 m	Tiempo de residencia mínimo	6,85 ms
Gas portador	Helio	Diámetro	0,25 mm	Tiempo de ciclo mínimo	69,8 ms
Liner de inyección	Liner Agilent Ultra Inert 2 mm biselado (ref. 5190-2297)	Espesor de película	0,25 µm	MRM simultáneas máximas	52
Horno		Modo de control	Flujo constante	Modo de ganancia de tensión del EM	10
Temperatura inicial del horno	60 °C	Flujo	1,216 ml/min	Parámetros de barrido	
Mantenimiento inicial del horno	1 min	Conexión del inyector	PSD (PUU)	Tipo de barrido	Barrido MS1
Velocidad de rampa 1	40 °C/min	Conexión de salida	MSD	Rango de barrido	Valores m/z de 45 a 450
Temperatura final 1	170 °C	Flujo en el tiempo posterior al análisis (retroflujo)	8,202	Tiempo de barrido (ms)	220
Mantenimiento final 1	0 min			Tamaño del paso	0,1 amu
Velocidad de rampa 2	10 °C/min			Umbral	0
Temperatura final 2	310 °C			Modo de ganancia de tensión del EM	1
Mantenimiento final 2	2,25 min				
Tiempo de análisis total	20 min				
Tiempo posterior al análisis	1,5 min				
Tiempo de equilibrio	0,25 min				

Se empleó el modo de adquisición de datos de barrido completo en el cribado preliminar del extracto de matriz.

Se empleó el cribado para evaluar la carga en origen y para monitorizar la eficiencia de la limpieza de muestras.

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 MassHunter Quantitative 10.1 y MassHunter Qualitative 10.

Se evaluó el rendimiento de la calibración mediante una serie de patrones de calibración acoplados con matriz que oscilaron entre 0,1 y 5.000 ppb, como los de 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1.000 y 5.000 ppb. Como patrón interno para la cuantificación de los pesticidas de interés se utilizó el patrón  $\alpha$ -BHC- $d_6$  a una concentración final de 20 ppb en vial. Se aplicó un ajuste de regresión lineal o cuadrático con un factor de ponderación de 1/x a todas las curvas de calibración.

### 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 EMR. Se utilizaron distintos productos Captiva EMR en las diferentes matrices en función de los diversos problemas que presentaron las matrices. Se empleó un cartucho Captiva EMR-HCF para las espinacas en matriz natural con alto contenido en clorofila. Se utilizó Captiva EMR-LPD para la nuez en matriz seca, de baja pigmentación pero oleosa. Se empleó Captiva EMR-GPD para la cayena en matriz seca, extremadamente complicada. 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 QuEChERS EN convencional (referencia 5892-5650). En el caso de las espinacas frescas, se utilizaron para la extracción 10 g de muestra de espinacas homogeneizadas. En el caso de la nuez, se utilizaron 5 g de polvo de nuez, a los que se añadieron 10 ml de agua; el conjunto se agitó en vórtex durante 10 minutos. En el caso de la cayena, se utilizaron 2 g de polvo de cayena, a los que se añadieron 10 ml de agua; el conjunto se agitó en vórtex durante 10 minutos. A continuación, se añadieron para la extracción 10 ml de acetonitrilo (ACN) con ácido acético al 1 %, y se realizó una extracción con QuEChERS EN. Tras la extracción, se transfirieron 3 ml de extracto crudo o con una mezcla con agua al 10 % a los cartuchos Captiva EMR

para llevar a cabo la limpieza de paso. Se emplearon los siguientes cartuchos: Captiva Enhanced Matrix Removal High Chlorophyll Fresh, con  $NH_2$ , (Captiva EMR-HCF1, referencia 5610-2088) para las espinacas, Captiva Enhanced Matrix Removal Low Pigment Dry (Captiva EMR-LPD, referencia 5610-2092) para la nuez y Captiva Enhanced Matrix Removal General Pigmented Dry (Captiva EMR-GPD, referencia 5610-2091) para la cayena. El eluyente de la muestra se recogió y se siguió secando con  $MgSO_4$  anhidro (referencia 5982-0102); las muestras quedaron listas para el análisis por GC/TQ. Se empleó el procesador 48 para colector de presión positiva (PPM-48, referencia 5191-4101) para el procesamiento de limpieza de paso Captiva EMR.



**Figura 2.** La distribución de 614 transiciones MRM con hasta 52 MRM simultáneas monitorizadas durante el análisis que permite una distribución del tiempo de residencia con la máxima eficacia.

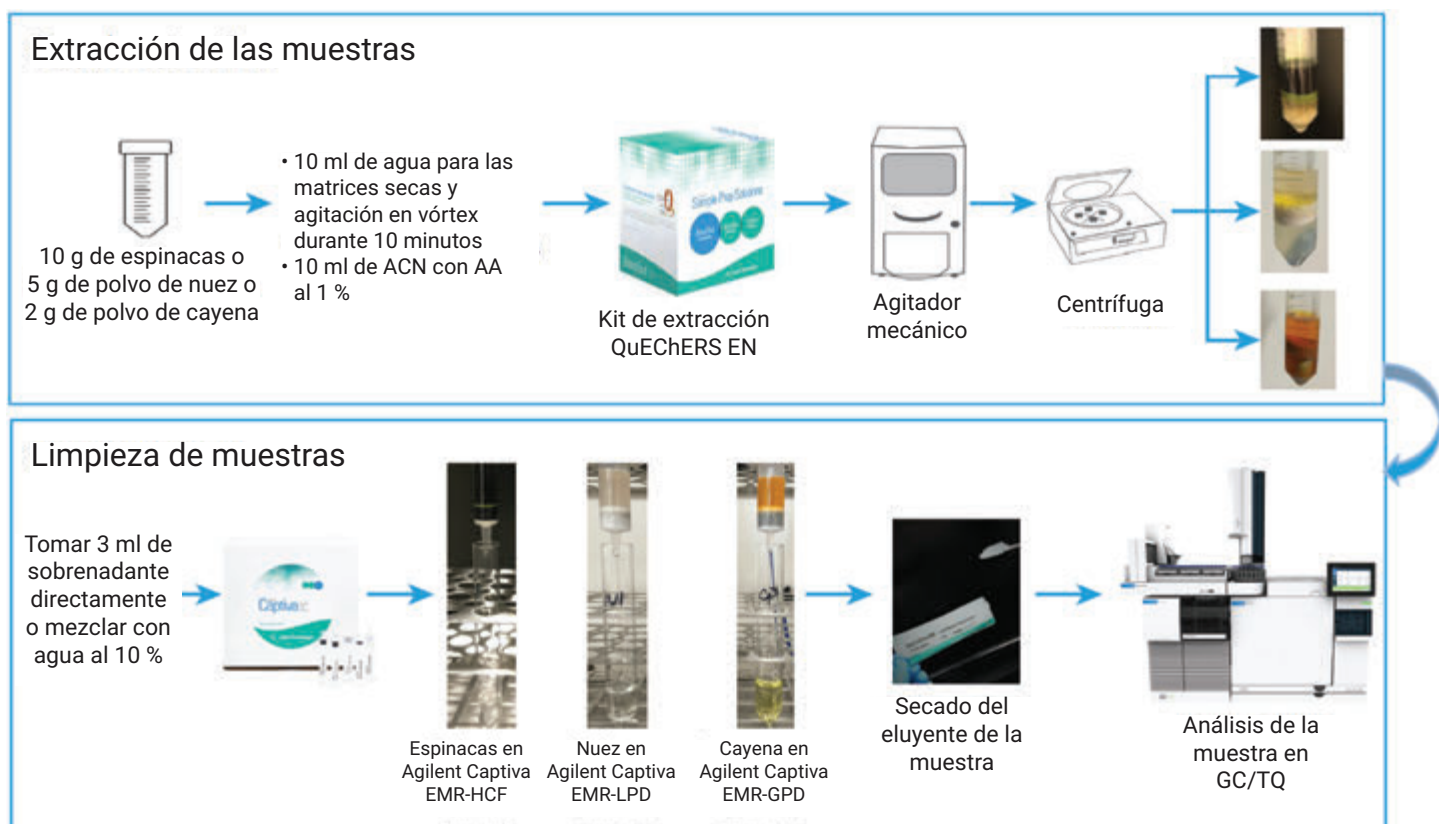


Figura 3. Diagrama de flujo de la preparación de muestras con la extracción QuEChERS convencional seguida de una limpieza de paso Captiva EMR.

## Resultados y comentarios

Un análisis de pesticidas robusto y compatible con un flujo de trabajo de alta productividad debe ofrecer un funcionamiento prolongado sin necesidades de mantenimiento con un tiempo de inactividad mínimo. El flujo de trabajo también debe ofrecer la sensibilidad necesaria, que puede encontrarse en un nivel por debajo de las partes por billón (ppb). También es necesario que permita la eficiencia en la calibración en un amplio intervalo analítico que debe abarcar los MRL de los compuestos monitorizados en el producto, que a menudo varían dentro de un amplio intervalo analítico. Las cinco estrategias clave que se recogen en esta nota de aplicación permitieron lograr límites de cuantificación (LOQ) de hasta 0,1 ppb al tiempo que se mantenía la eficiencia en la calibración en un intervalo de hasta 5.000 ppb en el caso del sistema 7000E y de 1.000 ppb en el caso del sistema 7010C. Además, las estrategias permitirían ofrecer

un tiempo de inactividad de los instrumentos mínimo limitado a la sustitución del liner y del séptum cada ~100 inyecciones.

El trabajo que se presenta en esta nota de aplicación y el estudio de fiabilidad del sistema con 700 inyecciones consecutivas que se describen en otra publicación<sup>3</sup> dieron como resultado más de 1.000 inyecciones de extractos de matrices complejas, entre otras, espinacas, nueces y cayena. En este período no ha sido necesario llevar a cabo la sintonización de TQ MS, la limpieza de la fuente ni el recorte de la columna para GC.

### Preparación de muestras

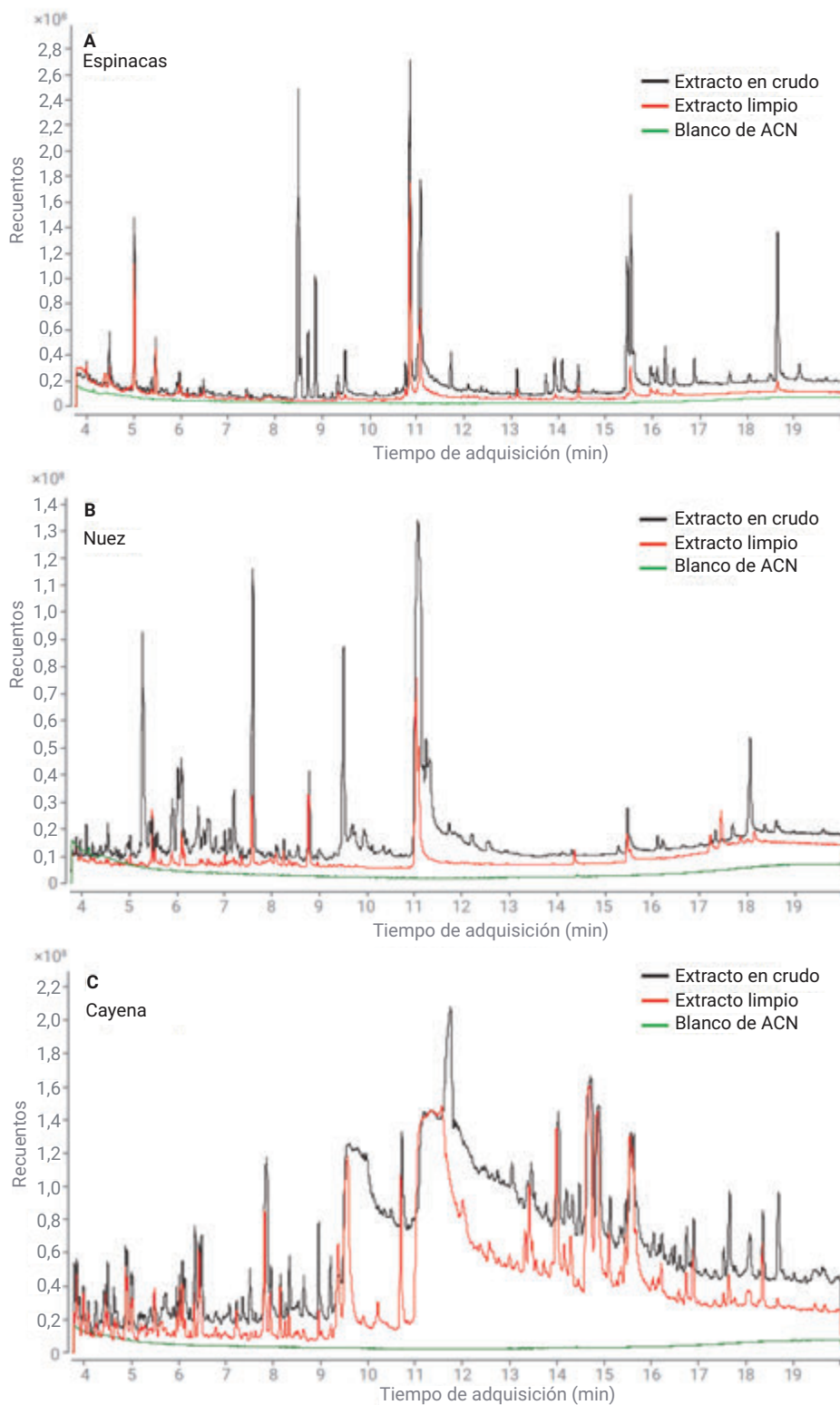
La clave para llevar a cabo un análisis de pesticidas con resultados satisfactorios es la eficiencia en la extracción de la muestra y en la limpieza de la matriz. El análisis de extractos QuEChERS en crudo, especialmente de matrices complejas (con pigmentos y oleosas), puede aumentar de forma significativa la necesidad de sustituir los liners, limpiar el inyector, recortar la

columna para GC y limpiar la fuente de MS. Estos procedimientos de mantenimiento reducen la productividad del análisis. Llevar a cabo una limpieza eficaz de la matriz tras la extracción QuEChERS reduce la carga de la matriz en origen y las interferencias con los compuestos diana, al tiempo que mejora la relación señal-ruido, la precisión y la reproducibilidad de los pesticidas de interés. En este estudio se empleó la limpieza de paso Captiva EMR después de la extracción QuEChERS convencional. El nuevo protocolo de limpieza de muestras es un procedimiento simplificado que presenta mejoras tanto en la eliminación de matriz de la muestra como en la recuperación general de compuestos diana y en la reproducibilidad. Tal y como se muestra en la Figura 4, la abundancia de la señal del TIC en el modo de adquisición de datos de barrido completo se redujo de forma significativa en el caso de los extractos de espinacas, nueces y cayena tras la limpieza, en comparación con los extractos en crudo antes de la limpieza.

### Cribado de la matriz en el modo de adquisición de datos de barrido completo

Llevar a cabo un cribado de la muestra en el modo de adquisición de datos de barrido completo facilita la evaluación de la carga de la matriz en origen. Cada fuente de MS tiene un límite en cuanto a la cantidad de material presente en origen, en un momento dado, para que se mantenga una eficiencia óptima. La exactitud de la cuantificación del análisis se puede ver comprometida de forma significativa si la fuente está sobrecargada de matriz. Por tanto, es fundamental analizar la matriz en modo de barrido completo para evaluar el TIC y mantener una eficiencia de GC/TQ óptima. Se recomienda que la abundancia del TIC en el modo de barrido completo no supere los  $7 \times 10^7$  recuentos al analizarse con una ganancia de EM establecida en 1. De las tres matrices analizadas, la cayena presentó el fondo de matriz más elevado, aunque se redujo significativamente tras el procedimiento de limpieza. Esta evaluación puso de manifiesto que se esperaba que los pesticidas que eluyen entre 11 y 12,5 minutos redujeran su eficiencia en la matriz de cayena al evaluar la sensibilidad y el intervalo analítico. Por ejemplo, el endosulfán I eluyó a los 11,273 minutos y se pudo cuantificar únicamente a partir de 5 ppb en la matriz de cayena tanto con el sistema 7000E como con el 7010C, mientras que las matrices de espinacas y nueces presentaron unos niveles de matriz significativamente más bajos que coelúan con el endosulfán I, con un LOQ observado de 0,1 ppb. En la nota de aplicación 5994-3859EN<sup>4</sup> se pueden encontrar las prácticas recomendadas sobre el uso del sistema Agilent GC/TQ en el modo de adquisición de datos de barrido completo.

Algunas de las prácticas que pueden servir para reducir el fondo de matriz son, entre otras, una limpieza de muestras adecuada, la dilución de las muestras y un menor volumen de inyección. Los dos últimos abordajes a menudo mejoran los LOQ, especialmente con el sistema de GC/TQ 7010C equipado con HES.



**Figura 4.** TIC de barrido de extractos de espinacas (A), nuez (B) y cayena (C). La traza roja corresponde a la muestra de matriz con la limpieza Captiva EMR y la traza negra corresponde a la muestra de matriz sin limpiar. La traza verde corresponde al blanco de acetonitrilo usado como disolvente.

## Retroflujo en mitad de la columna

El uso de la configuración de retroflujo en mitad de la columna permite al analista limitar el tiempo de análisis al tiempo de retención del compuesto de interés que se eluye en último lugar. Las matrices exigentes, especialmente las oleosas, como la de nuez, contienen un alto nivel de componentes con elevado punto de ebullición y tiempos de retención prolongados. Estos tiempos de retención suelen superar a los de los pesticidas de interés. Una forma habitual de evitar los picos fantasma en los análisis posteriores fue emplear un acondicionamiento térmico prolongado de la columna una vez que el último analito de interés hubiera eluido de la columna. No obstante, este método presenta varias desventajas, como el depósito de compuestos de elevado punto de ebullición y de la fase estacionaria de la columna para GC en la fuente EI, la contaminación de la cabeza de la columna para GC, la reducción de la vida útil de la columna y un tiempo de ciclo más prolongado debido a la mayor duración del acondicionamiento térmico.

El retroflujo en mitad de la columna permite la elución de la columna de los componentes de la matriz con elevado punto de ebullición sin los inconvenientes que aparecen con el método de acondicionamiento térmico. El retroflujo en mitad de la columna es una técnica en la que el flujo de gas portador se invierte una vez que el último analito ha salido de la columna. Después de recoger los datos de MS, el horno se mantiene a la temperatura final en el modo de tiempo posterior al análisis y se invierte el flujo de gas portador a través de la primera columna. Este flujo invertido elimina los componentes de elevado punto de ebullición que estuvieran presentes en la columna al final de la recogida de datos. Los componentes de elevado punto de ebullición se llevan desde la cabeza de la columna hasta la trampa para el venteo de split (Figura 5A). La capacidad de invertir el flujo la aporta la unión definitiva purgada (PUU) de Agilent. La PUU es una conexión en "T" que se inserta, en este caso, entre dos columnas idénticas de 15 m.

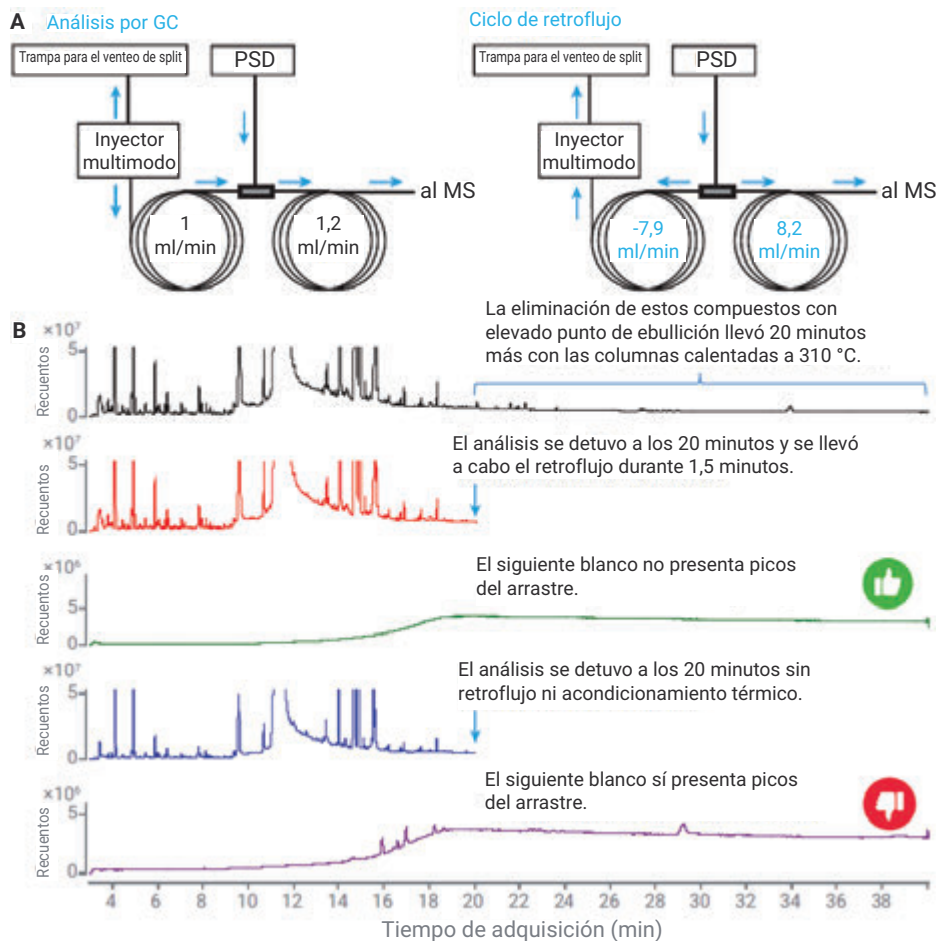
Durante el análisis, un pequeño flujo auxiliar de gas portador procedente del módulo 8890 del dispositivo de conmutación neumática (PSD) sirve para limpiar la conexión. Durante el retroflujo, el flujo auxiliar procedente del PSD se eleva a un nivel mucho más alto, retirando

los componentes de elevado punto de ebullición de la primera columna al tiempo que proporciona un flujo hacia delante en la segunda columna. En la configuración de esta aplicación, el tiempo del retroflujo fue de 1,5 minutos. Se pueden consultar más detalles sobre el uso del PSD para el retroflujo en el sistema de GC 8890 en la nota de aplicación 5994-0550EN.<sup>5</sup>

Los cromatogramas que se muestran en la Figura 5B ilustran la eficacia de la técnica de retroflujo para reducir el arrastre de muestras en el tiempo de ciclo. El tiempo de ciclo se redujo en un 50 % y las columnas no tuvieron que estar expuestas a las temperaturas de acondicionamiento térmico, más elevadas, durante un periodo prolongado. Con el uso del retroflujo, no se introducen en el sistema MSD un excesivo sangrado de la columna ni residuos pesados, con lo que se reduce el riesgo de

contaminación de la fuente de iones.

Además, gracias a la configuración de retroflujo en mitad de la columna se ahorra un tiempo significativo cuando se combina con el inyector multimodo. Los procedimientos de mantenimiento, como el cambio del séptum y del liner, y el recorte de la columna se pueden llevar a cabo sin necesidad de refrigerar la línea de transferencia de MS y la fuente. Cuando se retira el séptum, el PSD suministra el flujo inverso del gas portador a través de la columna 1. El PSD también evita que entre aire en las columnas para GC y en el MS. La rápida capacidad de refrigeración del MMI permite ahorrar aún más tiempo. Como consecuencia, la sustitución del liner y del séptum, que son los procedimientos de mantenimiento más habituales, se pueden llevar a cabo en cuestión de minutos.



**Figura 5.** Configuración del retroflujo en mitad de la columna y flujo de gas durante el análisis por GC y el ciclo de retroflujo (A); cromatogramas de barrido TIC de un extracto de cayena seguido del análisis de un blanco del instrumento con acondicionamiento térmico de columna, con retroflujo y sin retroflujo ni acondicionamiento térmico (B).

## Un sistema de GC/TQ sin fugas

Mantener sin fugas al sistema de GC/MS resulta fundamental para conseguir una eficiencia adecuada a largo plazo del instrumento. Las fugas imprevistas reducen la vida útil de la columna para GC y producen la oxidación de la fuente EI, lo que deteriora su rendimiento.

Las herramientas que permiten una conexión hermética consiguen que la instalación resulte sencilla y reproducible, e incluyen las tuercas de columna de autoapriete con collarín para GC (Figuras 6A y 6B, referencias G3440-81011 y G3440-81013) y las férulas metálicas flexibles recubiertas de oro con tecnología de flujo capilar (Figura 6C, referencia G2855-28501).

Las tuercas de columna de autoapriete con collarín cuentan con un innovador pistón accionado por resorte. El pistón presiona continuamente la férula corta de grafito/poliimida, manteniendo un sellado sin fugas incluso después de cientos de ciclos de temperatura del horno. La incorporación del collarín facilita la instalación de la columna en el inyector de GC y de la línea de transferencia de MS y reduce la posibilidad de que se produzcan variaciones. El collarín de bloqueo permite bloquear la columna en su sitio para que los resultados de la instalación sean precisos y reproducibles una y otra vez. La sencillez del proceso de instalación de la columna con las tuercas de columna de autoapriete con collarín queda demostrada en estos vídeos.<sup>6,7</sup> Cuando no es necesario llevar a cabo el mantenimiento de la fuente de MS, la tuerca con collarín, junto con la herramienta de instalación de la columna (referencia G1099-20030), permiten la instalación de la columna en el MS sin necesidad de abrir la puerta lateral.

Las férulas metálicas flexibles recubiertas de oro son inertes y proporcionan un sellado excepcionalmente fiable. Evitan la formación de microfugas en la conexión CFT (PUU) y permiten conservar un elevado nivel de sensibilidad en el sistema de GC/TQ.



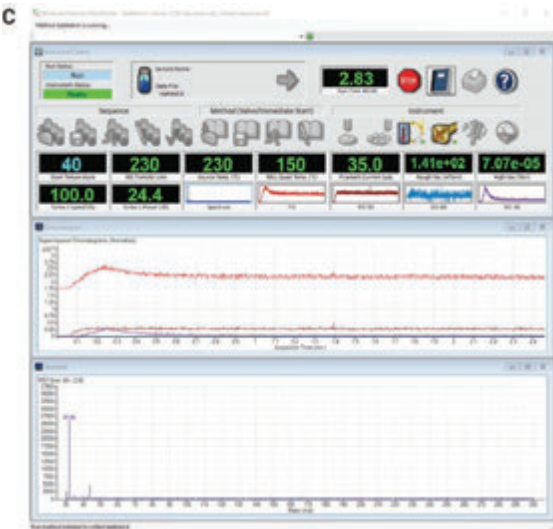
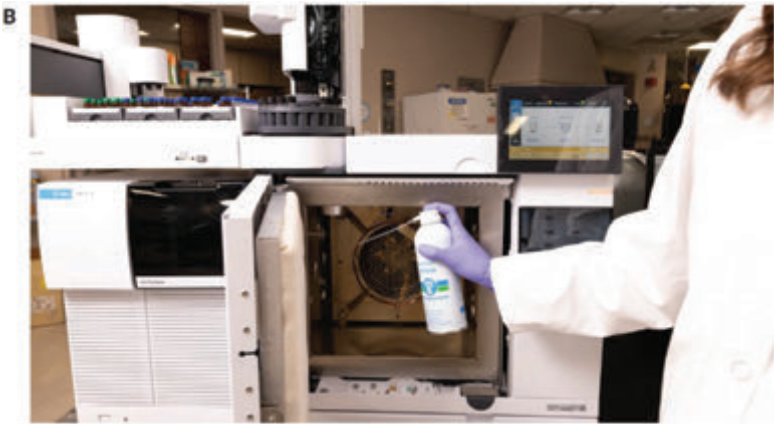
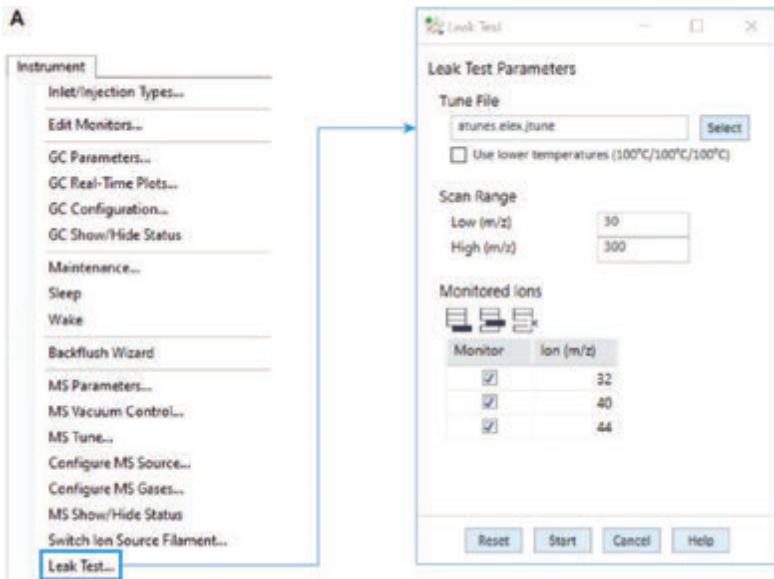
**Figura 6.** Tuercas de columna de autoapriete con collarín para el inyector (A) y para la conexión de la línea de transferencia de MS (B) y férulas metálicas flexibles recubiertas de oro (C).

Para confirmar la ausencia de fugas en el sistema, a menudo se evalúa la comprobación de aire/agua, o el informe de sintonía, para determinar en qué medida el sistema de MS detecta una fuga. No obstante, de esta forma no se consigue identificar el origen de la fuga. Además, se podrían dejar de detectar microfugas como las que se pueden presentar en las conexiones del usuario.

La novedosa funcionalidad de comprobación de fugas está disponible con los sistemas de GC/TQ 7000E y 7010C con MassHunter Data Acquisition 10.2 y versiones posteriores. La comprobación de fugas puede identificar el origen de la fuga y monitorizar su magnitud. La herramienta monitoriza hasta 10 iones especificados por el usuario (Figura 7A), incluidos los iones procedentes de un gas de prueba de fugas como un pulverizador ( $m/z$  69 y 83, Figura 7B). La herramienta genera los cromatogramas correspondientes, como los EIC y el TIC (Figura 7C).

## Una inyección optimizada con el inyector multimodo (MMI) con temperatura programable

Uno de los componentes esenciales para conseguir un análisis por GC/MS satisfactorio es la volatilización eficiente de la muestra en el inyector del GC. Algunos pesticidas, como el captafol, el captan, el dicofol, el folpet y la deltametrina, son conocidos por su labilidad térmica. Se prevé que sufran una degradación térmica durante la inyección. Iniciar la inyección con una temperatura inferior a los 60 °C y aumentarla gradualmente hasta los 280 °C permite que se volatilicen todos los analitos de interés, conservándose su integridad química durante la introducción en la columna para GC. Además, la capacidad de programar la temperatura del inyector permite calentarlo a temperaturas superiores a los 310 °C durante el tiempo posterior al análisis mientras se lleva a cabo el retroflujo. Este calentamiento permite al sistema llevar a cabo el acondicionamiento térmico de cualquier residuo de matriz que pueda permanecer en el inyector.



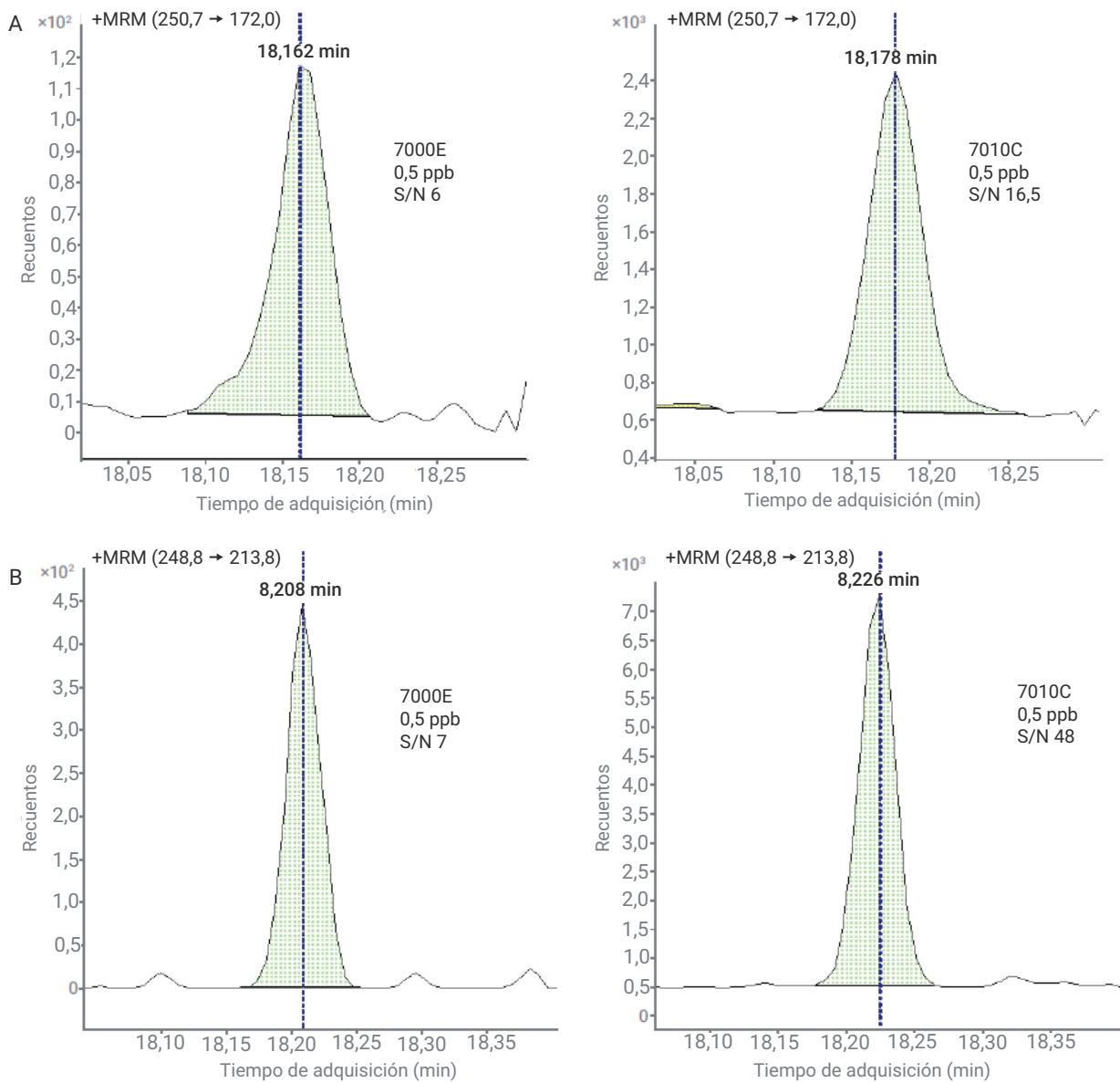
**Figura 7.** La novedosa herramienta de prueba de fugas que permite la monitorización de los iones especificados por el usuario para identificar el origen y la intensidad de la fuga.

La combinación de la inyección con temperatura programable y el liner biselado Ultra Inert de 2 mm dio como resultado una elevada sensibilidad incluso en los pesticidas más exigentes, como la deltametrina en una compleja matriz de nuez. En la Figura 8A se presenta la respuesta de la deltametrina, un pesticida con un MRL bien establecido en la nuez, a 0,5 ppb, con el sistema de GC/TQ 7000E y el 7010C. El sistema de GC/TQ 7010C

está equipado con una HES que aumenta la sensibilidad, lo que a su vez aumenta la relación señal-ruido (S/N).

El pentacloronitrobenceno es un pesticida que se analiza habitualmente mediante GC/MS en diversos productos alimenticios, dado que cuenta con unos MRL bien establecidos en una gran cantidad de frutas y verduras (grupo de cultivos 8 de frutas y verduras),

en los cacahuetes y en las semillas de soja, que oscilan entre 20 ppb y 1 ppm.<sup>8</sup> El pentacloronitrobenceno supone un problema para el análisis mediante LC/MS, por lo que el método elegido es el análisis mediante GC/MS. En la Figura 8B aparecen los cromatogramas de una transición MRM selectiva del pentacloronitrobenceno en extracto de nuez con los sistemas 7000E y 7010C.



**Figura 8.** Cromatogramas MRM de la deltametrina (A) y del pentacloronitrobenceno (B) a 0,5 ppb en extracto de nuez analizado con los sistemas de GC/TQ 7000E y 7010C.

### Eficiencia de la calibración en un amplio intervalo analítico con los sistemas de GC/TQ 7000E y 7010C

El mayor problema que supone el análisis multiresiduo de los productos alimenticios es que los MRL establecidos para los pesticidas varían en un amplio intervalo, lo que podría precisar la siempre indeseable reinyección de la muestra. Si se logra un amplio intervalo de calibración dinámico, se puede reducir significativamente la necesidad de diluir la muestra y repetir el análisis.

Los MRL establecidos para la bifentrina en espinacas, nueces y cayena son de 200, 50 y 500 ppb, respectivamente. En la Figura 9 se muestran las rectas de calibración adquiridas con el sistema 7000E en los intervalos de calibración de 0,1 a 1.000 ppb ( $R^2 = 0,996$ ) para las espinacas, de 0,1 a 5.000 ppb ( $R^2 = 0,991$ ) para las nueces y de 0,1 a 5.000 ppb ( $R^2 = 0,995$ ) para la cayena, que abarcan los valores de MRL establecidos.

Los MRL de los pesticidas varían de forma significativa no solo entre los diferentes productos, sino también en los distintos pesticidas regulados que se encuentran en un mismo producto. Por ejemplo, el piriproxifeno y el fludioxonilo se monitorizan en las espinacas con unos MRL de 3.000 y 10 ppb, respectivamente. La Figura 10A muestra que el sistema de GC/TQ 7000E mantuvo la eficiencia de calibración lineal tanto para el piriproxifeno como para el fludioxonilo en extracto de espinacas desde 0,1 a 5.000 ppb, presentando una excelente exactitud incluso a bajas concentraciones (consulte la calibración ampliada para el fludioxonilo).

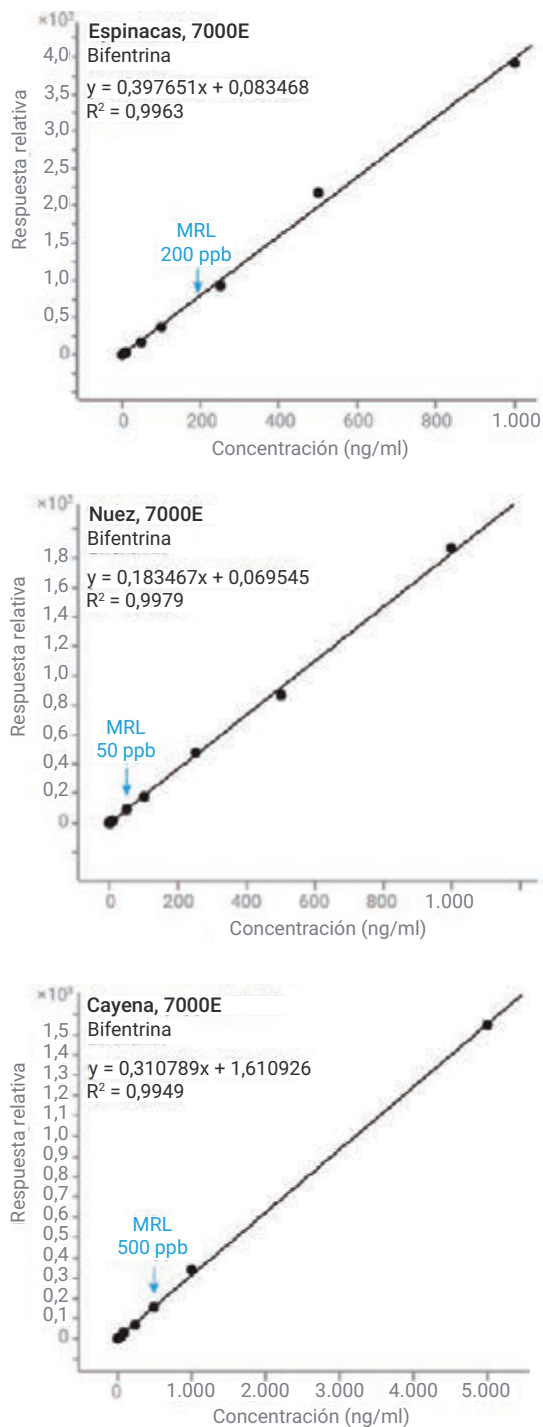
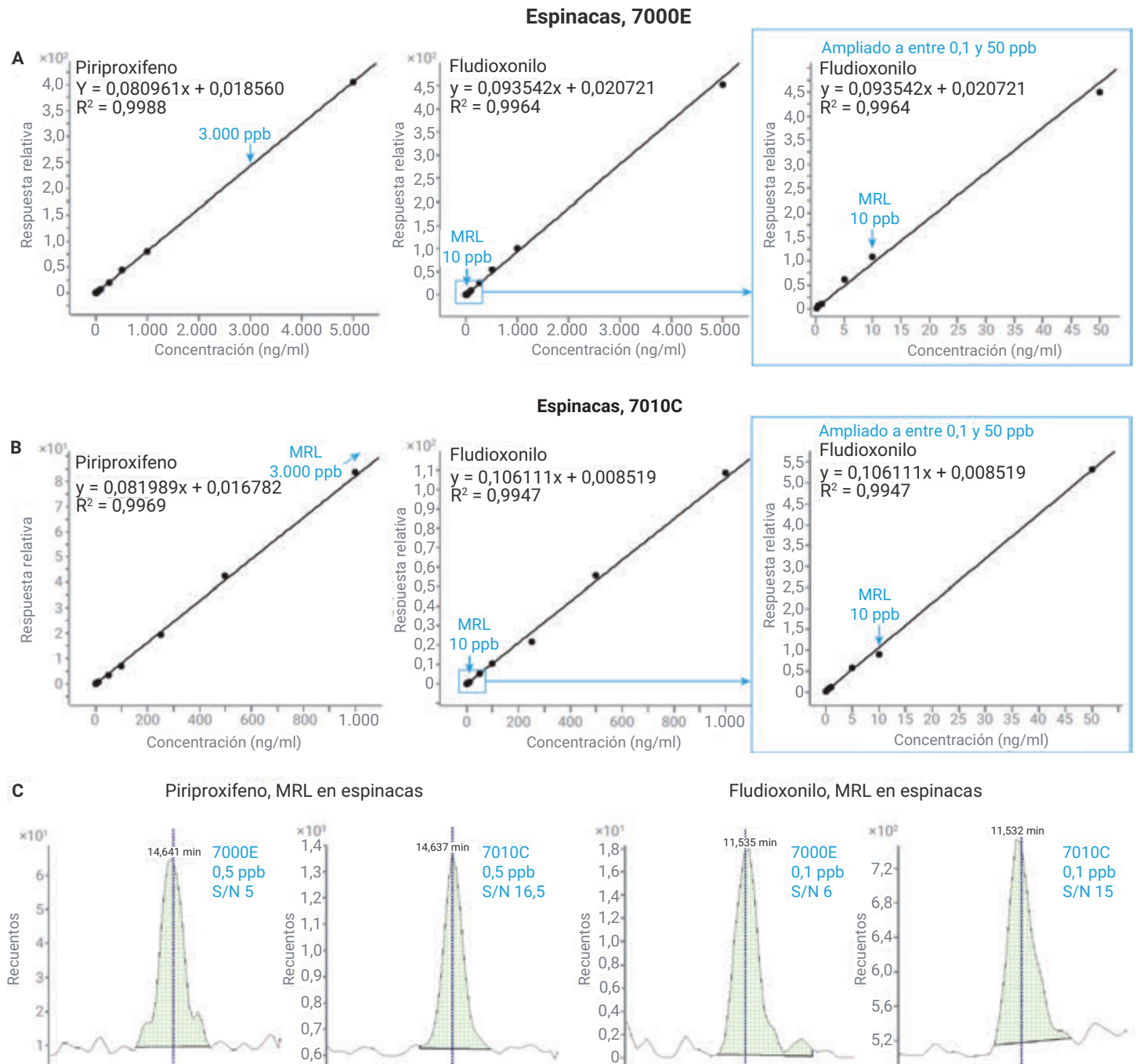


Figura 9. Curvas de calibración acoplada con matriz de la bifentrina en extractos de espinacas, nueces y cayena con el sistema de GC/TQ 7000E.

Tal y como se muestra en la Figura 10B, el sistema de GC/TQ 7010C también permitió lograr una recta de calibración en un amplio intervalo para ambos pesticidas (de 0,1 a 1.000 ppb). No obstante, en el intervalo analítico del sistema 7010C sería precisa una inyección adicional de muestra

diluida para lograr una cuantificación precisa del piriproxifeno a su MRL de 3.000 ppb. Mientras que el límite superior del intervalo de calibración que se logra con el sistema 7010C para el piriproxifeno y para el fludioxonilo es inferior al que se logra con el sistema 7000E, el sistema

7010C ofrece una mayor sensibilidad a concentraciones más bajas. Esto se ilustra en la Figura 10C y puede ser crucial en el análisis de estos pesticidas en los productos con los MRL definidos más bajos.

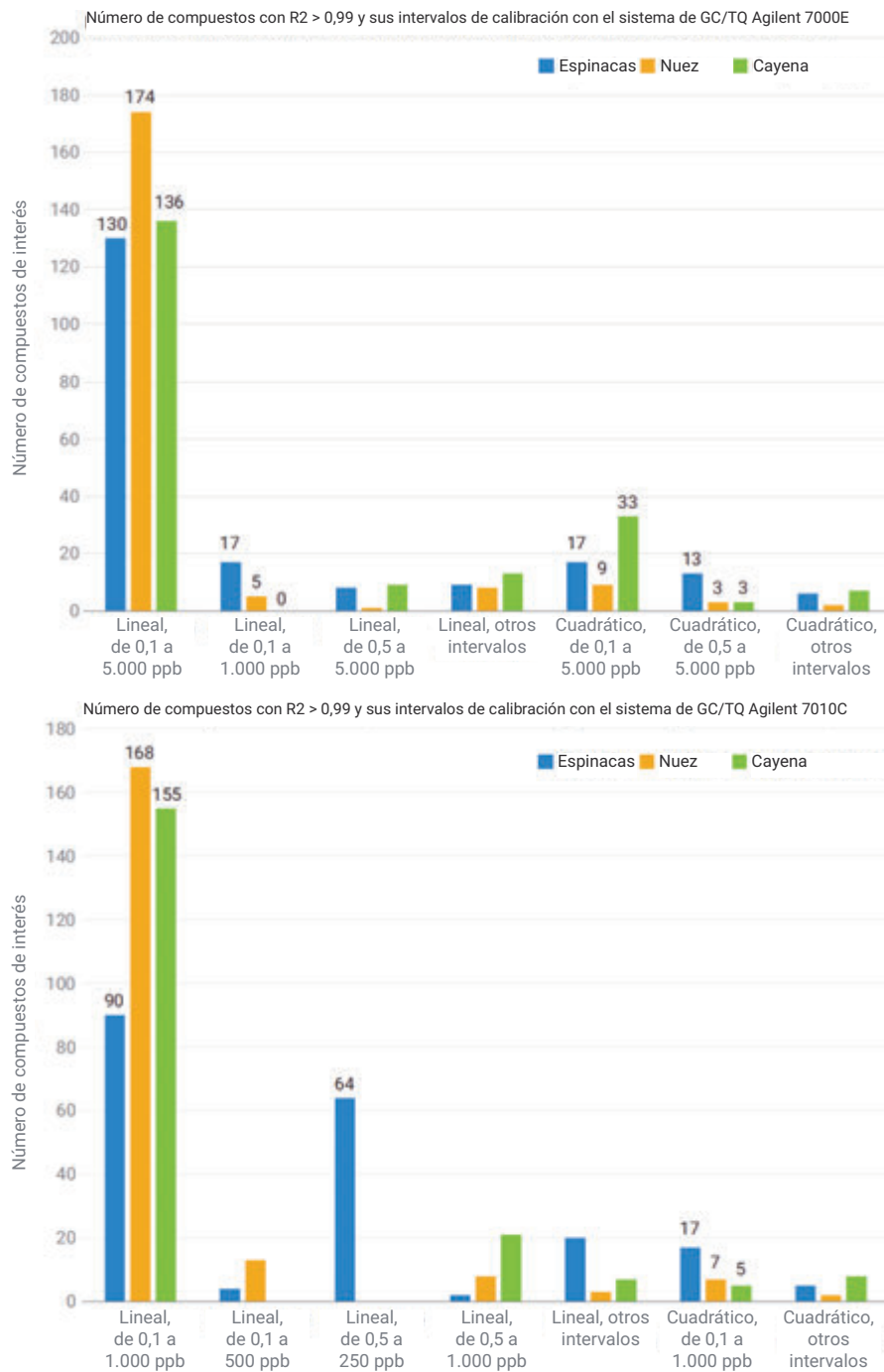


**Figura 10.** Curvas de calibración acoplada con matriz de piriproxifeno y fludioxonilo en extractos QuEChERS de espinacas con el sistema de GC/TQ 7000E (A) y con el sistema de GC/TQ 7010C (B); cromatogramas MRM de piriproxifeno y fludioxonilo a 0,5 y 0,1 ppb en extractos QuEChERS de espinacas analizados con el sistema de GC/TQ 7000E y 7010C (C).

De forma alternativa, las muestras con los MRL por encima de 1.000 ppb se pueden diluir aún más antes del análisis con el sistema de GC/TQ 7010C. Una sensibilidad superior que se consigue gracias a la fuente de alta eficiencia (HES) para cuantificar de forma precisa mientras se mantienen unos LOQ bajos incluso en la muestra diluida. Además, la inyección de las muestras diluidas incrementó el tiempo de funcionamiento sin necesidad de mantenimiento, lo que aumentó el número de inyecciones que se pudieron llevar a cabo antes de que fuera necesaria la sustitución del liner de inyección del GC.

El resumen de la Figura 11 muestra la eficiencia de la calibración de los 203 pesticidas que se analizaron en los extractos de espinacas, nueces y cayena con los sistemas de GC/TQ 7000E y 7010C. El gráfico ilustra el número de compuestos con el coeficiente de correlación de calibración  $R^2 > 0,99$ , el ajuste de calibración (lineal o cuadrático) y el intervalo de calibración.

Tal y como estaba previsto, teniendo en cuenta que la carga recomendada no debe superar 1 ng por analito, el límite superior de calibración del sistema 7010C fue inferior al del sistema 7000E (1.000 ppb frente a 5.000 ppb). Sin embargo, el intervalo de calibración que se logró con el sistema 7010C fue de hasta cuatro órdenes de magnitud con un ajuste lineal para la mayoría de los compuestos analizados. El sistema de GC/TQ 7010C equipado con la fuente de alta eficiencia (HES) ofrece una sensibilidad superior, produciendo una relación señal-ruido elevada incluso a concentraciones bajas, y permite una cuantificación precisa a concentraciones por debajo de 0,1 ppb. Sin embargo, no era necesario en este estudio, ya que los MRL de los pesticidas regulados en los productos de interés no requerían una cuantificación por debajo de 0,1 ppb. De forma alternativa, las muestras con los MRL por encima de 1.000 ppb se pueden diluir aún más antes del análisis con el sistema de GC/TQ 7010C. La HES permite conservar la elevada sensibilidad al nivel del LOQ incluso en la muestra diluida.



**Figura 11.** Eficiencia de la calibración para los 203 pesticidas con los sistemas de GC/TQ 7000E y 7010C en espinacas. El gráfico muestra el número de compuestos y sus intervalos de calibración.

## Conclusión

En esta nota de aplicación se describen cinco prácticas recomendadas para la preparación de muestras y el análisis en los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 8890/7000E y 8890/7010C aplicados a 203 pesticidas en matrices alimenticias exigentes, como las espinacas, las nueces y la cayena. Estas prácticas son:

- Preparación de muestras simplificada y mejorada, lo que se consigue gracias a la novedosa limpieza de paso Agilent Captiva EMR mejorada después de una extracción QuEChERS de Agilent convencional.
- Evaluación de la carga de la matriz en origen en modo de adquisición de datos de barrido completo.
- Retroflujo en mitad de la columna.
- Sistema de GC de triple cuadrupolo 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 inyector multimodo con temperatura programada y liner biselado de 2 mm (sin lana de vidrio).

El método resultante permitió una excelente eficiencia de la calibración en un amplio intervalo analítico de hasta cuatro órdenes de magnitud. La eficiencia de la calibración alcanzó una amplitud de entre 0,1 y 5.000 ppb y de entre 0,1 y 1.000 en la mayoría de los compuestos con el sistema 7000E y el sistema 7010C, respectivamente. El sistema 7010C presentó mejor sensibilidad, consiguiendo una relación señal-ruido mayor a concentraciones bajas. Los amplios intervalos analíticos en combinación con la elevada sensibilidad convierten a los sistemas 7000E y 7010C en las herramientas perfectas para el análisis de pesticidas a sus MRL en diversos productos, como aquellos con matrices complejas (con elevada pigmentación y oleosas).

## Referencias

1. Setting Tolerances for Pesticide Residues in Foods, US EPA <https://www.epa.gov/pesticide-tolerances/setting-tolerances-pesticide-residues-foods>. Acceso el 28 de abril de **2022**.
2. 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**.
3. Andrianova, A.; Quimby, B.; Zhao, L. Un análisis por GC/MS/MS rápido y robusto de 203 pesticidas en espinacas en 10 minutos. *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5994-4967EN, **2022**.
4. Andrianova, A.; Quimby, B. Full Scan Quantitative Analysis of Semivolatile Organic Compounds: Evaluating the Performance of an Agilent 7000D GC/TQ in Full Scan Data Acquisition Mode for SVOCs Analysis. *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5994-3859EN, **2021**.
5. Fritz, B. Using the PSD for Backflushing on the Agilent 8890 GC System. *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5994-0550EN, **2018**.
6. Self Tightening Column Nut Installation – Inlet & Detectors. <https://www.agilent.com/es-es/video/stcn-inlet-detector> Acceso el 2 de mayo de **2022**.
7. Self Tightening Column Nut Installation – MS Interface. <https://www.agilent.com/en/video/stcn-mass-spec> Acceso el 2 de mayo de 2022.
8. 40 CFR § 180.291 - Pentachloronitrobenzene; Tolerance for Residues. <https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.291> Acceso el 2 de mayo de **2022**.

## Apéndice 1

Compuestos analizados en este estudio y sus tiempos de retención observados.

Nombre	Tiempo de retención (min)	Nombre	Tiempo de retención (min)	Nombre	Tiempo de retención (min)
Alidocloro	4,893	Pirimetanil	8,282	DCPA (dactal, clortal-dimetilo)	10,062
Diclorobenzonitrilo, 2,6-	5,244	Diacinón	8,291	Fenson	10,201
Bifenilo	5,423	Flucloralin	8,326	Difenamida	10,288
Mevinfos, E-	5,597	Disulfotón	8,427	Bromofos	10,297
3,4-Dicloroanilina	5,708	Teflutrín	8,431	Etilpirimifos	10,304
Pebulato	5,803	Terbacil	8,432	Isopropalina	10,358
Etridiazol	5,833	<i>Delta</i> -BHC	8,504	Ciprodinilo	10,407
cis-1,2,3,6-Tetrahidroftalimida	5,966	Isazofos	8,527	MGK-264	10,443
N-(2,4-dimetilfenil)formamida	5,973	Trialato	8,569	Isodrin	10,455
Metacrifós	6,055	Clorotalonil	8,584	Metazaclor	10,532
Cloroneb	6,136	Endosulfán éter	8,857	Pendimetalina	10,535
2-fenilfenol	6,246	Pentacloroanilina	8,913	Penconazol	10,562
Pentaclorobenceno	6,343	Propanil	8,942	Clozolinato	10,584
Propacloro	6,888	Dimetacloro	8,996	Heptacloro exo-epóxido	10,621
Tecnazeno	6,889	Acetocloro	9,093	Tolilfluanida	10,646
Difenilamina	6,959	Vinclozolin	9,115	Aletrina	10,648
Cicloato	7,043	Transflutrina	9,129	Fipronil	10,662
2,3,5,6-Tetracloroanilina	7,059	Metil paratión	9,145	Clorfenvinfos	10,676
Clorprofam	7,102	Clorpirifos metil	9,146	Bromfenvinfos-metilo	10,683
Etafluralin	7,139	Tolclofós-metilo	9,233	Captan	10,732
Trifluralina	7,245	Alacloro	9,263	Triadimenol	10,746
Benfluralina	7,279	Propisocloro	9,333	Quinalfos	10,747
Sulfotep	7,376	Heptacloro	9,336	Triflumizol	10,77
Dialato I	7,481	Metalaxil	9,337	Folpet	10,847
Forato	7,498	Ronnel	9,396	Procimidona	10,858
Alfa-BHC (hexacloruro de benceno)	7,636	Prodiamina	9,556	Clorbenside	10,918
Hexaclorobenceno	7,768	Fenitrotión	9,596	Bromofos-etil	11,041
Diclorán	7,798	Metilpirimifos	9,598	Clordano- <i>trans</i>	11,043
Pentacloroanisol	7,823	Linurón	9,668	DDE-o,p'	11,09
Atrazina	7,885	Malatión	9,743	Paclobutrazol	11,106
Clomazona	7,982	Pentacloro tioanisol	9,758	Tetraclorvinfos	11,169
Beta-BHC	8,025	Diclofluanida	9,764	Endosulfán I (isómero <i>alfa</i> )	11,273
Profluralina	8,117	Metolacloro	9,902	Clordano- <i>cis</i>	11,305
Terbutilazina	8,119	Antraquinona	9,916	Flutriafol	11,322
Gamma-BHC (lindano, HCH <i>gamma</i> )	8,146	Fentión	9,928	Fenamifós	11,355
Terbufos	8,159	Aldrina	9,942	Clorfenson	11,382
Propizamida	8,175	Clorpirifos	9,964	Nonacloro, <i>trans</i> -	11,392
Pentacloronitrobenzeno	8,219	Paratión	9,98	Bromfenvinfos	11,4
Fonofos	8,251	Triadimefón	10,011	Flutolanil	11,402
Pentaclorobenzonitrilo	8,259	Diclorobenzofenona, 4,4-	10,033	Yodofenós	11,479

Nombre	Tiempo de retención (min)	Nombre	Tiempo de retención (min)	Nombre	Tiempo de retención (min)
Protiofos	11,514	Carbofenotión	12,849	Fenotrina I	14,334
Fludioxonilo	11,556	Carfentrazona-etil	12,851	Tetradifón	14,445
Profenofos	11,56	Metoxicloro olefina	12,865	Fosalón	14,61
Pretilaclor	11,592	Edifenfós	12,949	Azinfos-metilo	14,64
DDE-p,p'	11,637	Norflurazona	12,964	Piriproxifeno	14,662
Triciclazol	11,645	Lenacil	12,976	Leptofos	14,666
Oxadiazón	11,659	Endosulfán sulfato	13,04	Cialotrina ( <i>lambda</i> )	14,731
Dieldrina	11,73	DDT-p,p'	13,054	Mirex	14,898
Oxifluorfen	11,737	Hexazinona	13,23	Acrinatrina	15,076
Miclobutanil	11,747	Metoxicloro, o,p'-	13,241	Fenarimol	15,121
DDD-o,p'	11,799	Tebuconazol	13,294	Pirazofos	15,168
Flusilazol	11,8	Propargita	13,352	Azinfos-etilo	15,252
Bupirimato	11,831	Butóxido de piperonilo	13,404	Piraclofós	15,303
Fluazifop-p-butil	12,007	Resmetrina	13,44	Permetrina, (1R)- <i>cis</i> -	15,656
Nitrofén	12,023	Captafol	13,466	Permetrina, (1R)- <i>trans</i> -	15,772
Ethylan	12,063	Nitralín	13,563	Piridabén	15,807
Clorfenapir	12,064	Iprodiona	13,726	Fluquinconazol	15,895
Endrina	12,127	Tetrametrina I	13,836	Cumafos	15,902
Clorobencilato	12,194	Piridafentión	13,838	Procloraz	15,958
Endosulfán II (isómero beta)	12,291	Endrina cetona	13,898	Ciflutrin I	16,207
DDD-p,p'	12,383	Fosmet	13,931	Cipermetrina I	16,421
Etión	12,453	Bromopropilato	13,952	Flucitrinato I	16,75
DDT-o,p'	12,457	EPN	13,955	Etofenprox	16,829
Clortiofos	12,503	Bifentrina	13,956	Fluridona	17,034
Nonacloro, <i>cis</i> -	12,508	Metoxicloro, p,p'-	14,062	Fenvalerato I	17,459
Endrina aldehído	12,618	Fenpropatrina	14,077	Tau-fluvalinato I	17,646
Sulprofós	12,669	Tebufenpirad	14,142	Deltametrina	18,177
Triazofois	12,674				

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE10556921

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2022  
Impreso en EE. UU., 13 de septiembre de 2022  
5994-4965ES

