

# Análisis de compuestos orgánicos semivolátiles por cromatografía de gases/espectrometría de masas de triple cuadrupolo (GC/MS/MS) con hidrógeno como gas portador y la fuente HydroInert

## **Autora**

Dra. Angela Smith Henry  
Agilent Technologies, Inc.

## **Resumen**

La cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) es una técnica esencial para el análisis de compuestos orgánicos semivolátiles (SVOC) en matrices medioambientales. En algunos métodos se ha ampliado el número de instrumentos para emplear la cromatografía de gases/espectrometría de masas de triple cuadrupolo (GC/MS/MS), ya que los usuarios requieren límites de detección cada vez más bajos. La reciente presión sobre el suministro de helio (He) ha obligado a las organizaciones a investigar de forma activa el uso de hidrógeno (H<sub>2</sub>) como gas portador; sin embargo, para la mayoría de los análisis por GC/MS y GC/MS/MS, esto reduce la sensibilidad y provoca reacciones de hidrogenación o decloración en los sistemas existentes de espectrometría de masas. Los nuevos avances en el diseño de los espectrómetros de masas han reducido las reacciones de hidrogenación y decloración en la fuente. La fuente Agilent HydroInert permite realizar análisis con un amplio intervalo de calibración, que para algunos compuestos abarca de 0,02 a 100 µg/ml, y cumple los criterios de calibración del método 8270 de la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) de EE. UU. utilizando H<sub>2</sub> como gas portador.

## Introducción

Se ha determinado que la GC/MS/MS es una técnica adecuada que cumple los requisitos del método 8270 (versión 8270E) de la EPA de EE. UU. para el análisis de extractos de residuos sólidos, suelos, aire y agua<sup>1,2</sup>.

En anteriores notas de aplicación se ha estudiado el uso del He como gas portador para la GC/MS/MS con el fin de llevar el límite inferior del intervalo de calibración del método 8270 de la EPA hasta 0,02 µg/ml, manteniendo a la vez el límite superior del intervalo del método en 160 µg/ml<sup>3</sup>.

La disponibilidad de helio constituye un problema desde hace años y últimamente ha aumentado notablemente el interés por hacer una transición hacia el uso de otros gases portadores. Sin embargo, en los sistemas actuales de espectrometría de masas existen problemas de hidrogenación de ciertos grupos funcionales (por ejemplo, los grupos nitro) o de cloración de compuestos muy clorados. Estos problemas alterarían los espectros de masas de los picos y darían lugar a una posible identificación incorrecta de los compuestos, o incluso a la imposibilidad de identificarlos si los iones precursores o producto se ven afectados por reacciones con H<sub>2</sub> en la fuente. Un ejemplo es el nitrobenzono, ya que al exponer el H<sub>2</sub> utilizado como gas portador y el nitrobenzono a elementos metálicos y a calor, tal como sucede en la fuente de un espectrómetro de masas, el nitrobenzono, con un valor de *m/z* de 123, se transformará en anilina, con un valor de *m/z* de 93. Esto queda demostrado por la identificación de la anilina en el tiempo de retención correspondiente al nitrobenzono y por el aumento de la abundancia de los fragmentos con un valor de *m/z* de 93 frente a aquellos con un valor de *m/z* de 123. Una fuente extractora con un nuevo diseño, denominada fuente HydroInert, diseñada para los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 7000C/D/E Inert Plus, resuelve estos problemas asociados al H<sub>2</sub> y contribuye a mejorar la eficiencia al usar H<sub>2</sub> como gas portador en aplicaciones de GC/MS y GC/MS/MS, incluidos los análisis de SVOC. La fuente HydroInert utiliza H<sub>2</sub> como gas portador, mantiene la fidelidad de los espectros de masas y permite que los usuarios puedan seguir usando las bibliotecas de espectros de masas, los métodos cuantitativos y las transiciones de monitorización de reacciones múltiples (MRM) empleados para el He.

En esta nota de aplicación se demuestra la capacidad de la fuente HydroInert para posibilitar el uso de H<sub>2</sub> como gas portador y, a la vez, preservar los grupos funcionales críticos, como los grupos nitro y los halógenos. El mantenimiento de la fidelidad de los espectros de masas supone un avance para el uso de H<sub>2</sub> como gas portador en sistemas de GC/MS, sobre todo para análisis medioambientales como los asociados al método 8270 de la EPA. Asimismo, se ha desarrollado un método que cumple los estándares del método 8270 de la EPA, ofrece una sensibilidad similar a la obtenida en el análisis con He como gas portador y consigue un intervalo de calibración de 0,02 a 100 µg/ml para la mayoría de los compuestos, de tal forma que menos del 20 % de los compuestos requieren un ajuste por regresión lineal o cuadrática.

## Experimento

Se seleccionó una serie de mezclas de patrones en solución que contenían 120 compuestos de interés y sustitutos para proporcionar una mezcla representativa de ácidos, bases y compuestos neutros, además de incluir varias clases de compuestos, desde los nitrofenoles hasta los PAH. La concentración en las nueve mezclas de patrones en solución de los analitos de interés era de 2.000 µg/ml; las referencias de dichas mezclas de patrones en solución son las siguientes: SVM-160, SVM-121, SVM-122, SVM-123, SVM-124, SVM-125, SVM-126-1, SVM-127 y US-211. Para preparar la solución patrón final de piridina de 1.000 µg/ml se partió de un patrón puro. La mezcla de patrones de sustitución (referencia ISM-332) contenía seis compuestos con una concentración de 2.000 µg/ml; dichos compuestos se indican en la Tabla 1. Se utilizó una mezcla de patrones internos de seis PAH deuterados para la recuperación y la calibración. Las mezclas de patrones en solución se combinaron y diluyeron en diclorometano a fin de obtener una solución patrón final de 200 µg/ml. La solución patrón final se diluyó a fin de obtener las siguientes concentraciones nominales de compuestos de interés y sustitutos para los patrones de calibración: 0,02, 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 0,8, 1, 2, 5, 10, 20, 35, 50, 75 y 100 µg/ml. Se añadieron patrones internos a cada patrón de calibración con un valor de concentración de 40 µg/ml. La Tabla 1 muestra los compuestos usados en este estudio. Los números de los compuestos de la Tabla 1 se asignaron en función del orden de retención de los compuestos de interés y sustitutos; los patrones internos aparecen al final de la tabla, sin tener en cuenta el orden de retención.

El patrón de sintonización (referencia GCM-150), que contenía una mezcla de bencidina, pentaclorofenol, 4,4'-diclorodifeniltricloroetano (4,4'-DDT) y decafluorotrietilfosfina (DFTPP), se diluyó hasta una concentración de 25 µg/ml y se utilizó para verificar el carácter inerte de la ruta de flujo para GC.

Se preparó una mezcla compuesta de suelos extraídos con diclorometano para el análisis conforme al método 8270 de la EPA. La mezcla era un residuo de matriz representativo y habitual en el laboratorio, y se adquirió a Pace Analytical (Mt. Juliet, TN (EE. UU.)).

Tabla 1. Analitos de interés, patrones de sustitución y patrones internos.

N.º	Compuesto	N.º	Compuesto	N.º	Compuesto
1	N-Nitrosodimetilamina (NDMA)	43	4-Cloro-3-metilfenol	85	Pentacloronitrobenzoceno
2	Piridina	44	2-Metilnaftaleno	86	4-Aminobifenilo
3	2-Picolina	45	1,2,4,5-Tetraclorobenceno	87	Propizamida
4	N-Nitroso-N-metiletilamina	46	Hexaclorociclopentadieno	88	Fenantreno
5	Metanosulfonato de metilo	47	2,4,6-Triclorofenol	89	Dinoseb
6	2-Fluorofenol (patrón de sustitución)	48	2,4,5-Triclorofenol	90	Disulfotón
7	N-Nitrosodietilamina	49	2-Fluorobifenilo (patrón de sustitución)	91	Antraceno
8	Metanosulfonato de etilo	50	1-Cloronaftaleno	92	Metil paratión
9	Fenol-d <sub>6</sub> (patrón de sustitución)	51	2-Cloronaftaleno	93	Di-n-butilftalato
10	Fenol	52	2-Nitroanilina	94	4-Nitroquinolina-1-óxido
11	Anilina	53	Dimetilftalato	95	Paratión
12	bis(2-Cloroetil) éter	54	Acenaftileno	96	Fluoranteno
13	2-Clorofenol	55	2,6-Dinitrotolueno	97	Bencidina
14	1,3-Diclorobenceno	56	3-Nitroanilina	98	Pireno
15	1,4-Diclorobenceno	57	Acenafteno	99	p-Terfenilo d <sub>14</sub> (patrón de sustitución)
16	Alcohol bencílico	58	2,4-Dinitrofenol	100	Aramita I
17	1,2-Diclorobenceno	59	Pentaclorobenceno	101	Aramita II
18	2-Metilfenol (o-cresol)	60	4-Nitrofenol	102	4-Dimetilaminoazobenceno
19	bis(2-Cloro-1-metiletil) éter	61	Dibenzofurano	103	Clorobencilato
20	4-Metilfenol (p-cresol)	62	2,4-Dinitrotolueno	104	3,3'-Dimetilbencidina
21	N-Nitrosopirrolidina	63	1-Naftilamina	105	Famfur
22	Acetofenona	64	2,3,4,6-Tetraclorofenol	106	Butilbencilftalato
23	4-Nitrosomorfolina	65	2-Naftilamina	107	Benz[a]antraceno
24	N-Nitrosodi-n-propilamina	66	Dietilftalato	108	3,3'-Diclorobencidina
25	o-Toluidina	67	Fluoreno	109	Criseno
26	Hexaclaroetano	68	Tionazina	110	bis(2-Etilhexil)ftalato
27	Nitrobenzoceno- d <sub>5</sub> (patrón de sustitución)	69	5-Nitro-o-toluidina	111	Di-n-octilftalato
28	Nitrobenzoceno	70	4-Clorofenil fenil éter	112	Benzo[b]fluoranteno
29	N-Nitrosopiperidina	71	4-Nitroanilina	113	7,12-Dimetilbenz[a]antraceno
30	Isoforona	72	2-Metil-4,6-dinitrofenol (DNOC)	114	Benzo[k]fluoranteno
31	2-Nitrofenol	73	N-Nitrosodifenilamina	115	Benzo[a]pireno
32	2,4-Dimetilfenol (2,4-xilenol)	74	Difenilamina	116	3-Metilcolantreno
33	Ácido benzoico	75	Azobenceno	117	Dibenz[a,j]acridina
34	bis(2-Cloroetoxi)metano	76	2,4,6-Tribromofenol (patrón de sustitución)	118	Indeno[1,2,3-c,d]pireno
35	2,4-Diclorofenol	77	Sulfotep	119	Dibenz[a,h]antraceno
36	1,2,4-Triclorobenceno	78	Dimetoato	120	Benzo[g,h,i]perileno
37	Naftaleno	79	Dialato I	121	1,4-Diclorobenceno-d <sub>4</sub> (patrón interno)
38	4-Cloroanilina	80	Forato	122	Naftaleno-d <sub>8</sub> (patrón interno)
39	2,6-Diclorofenol	81	Fenacetina	123	Acenaftaleno-d <sub>10</sub> (patrón interno)
40	Hexaclorobutadieno	82	4-Bromofenil fenil éter	124	Fenantreno-d <sub>10</sub> (patrón interno)
41	p-Fenilendiamina	83	Hexaclorobenceno	125	Criseno-d <sub>12</sub> (patrón interno)
42	N-Nitrosodi-n-butilamina	84	Pentaclorofenol	126	Perileno-d <sub>12</sub> (patrón interno)

## Métodos instrumentales

El sistema de GC Agilent 8890B se configuró con un inyector multimodal (MMI) y una columna para GC Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert (referencia 121-5522UI) y se acopló a un sistema de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 7000E Inert Plus con una fuente Agilent HydroInert. En la Tabla 2 se resumen los instrumentos de GC/MS y los consumibles utilizados en este estudio. Los parámetros de los métodos de GC y MS/MS (Tabla 3) se han optimizado con el fin de conseguir que el método tenga una duración de 12 minutos, manteniendo al mismo tiempo la resolución requerida para los pares de isómeros y siguiendo las directrices del método 8270 de la EPA respecto a los parámetros de los métodos. El espectrómetro de masas se configuró en modo de ionización por impacto electrónico y se sintonizó mediante el algoritmo etune. Se efectuaron comprobaciones periódicas de la sintonización para verificar que las relaciones iónicas y las posiciones de las masas de la perfluorotributilamina (PFTBA), utilizada como calibrante de sintonización, cumplieran las tolerancias. En este método analítico se usaron un liner de inyector Agilent Ultra Inert con baja caída de presión, una inyección en modo split con una relación de split de 20:1 y una columna para GC Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert de 20 m × 0,18 mm, 0,18 µm; esta columna es la opción más recomendable para usar H<sub>2</sub> como gas portador y mantener presiones de entrada razonables; además, exige una inyección en modo split para evitar sobrecargar la columna. Asimismo, la inyección en modo split es la opción más recomendable para el análisis por GC/MS/MS, ya que esta técnica se suele utilizar para análisis de trazas con concentraciones de analitos de interés inferiores a 1 µg/ml. La relación de split de 20:1 permite que la concentración máxima de los patrones (100 µg/ml) pase a ser 5 µg/ml en la columna. Debido al aumento de temperatura del inyector y al uso de H<sub>2</sub> como gas portador y de diclorometano como disolvente, es fundamental garantizar que las muestras extraídas no contengan agua; entre las etapas de extracción debe incluirse una para eliminar el agua residual y reducir el riesgo de que se forme ácido clorhídrico en el inyector y se produzcan daños en el instrumento y los consumibles. En el método de adquisición se aplicaron tiempos de retención bloqueados según el patrón interno (acenafteno-d<sub>10</sub>), con el fin de mantener unos tiempos de retención uniformes al cambiar de columna o usar diferentes instrumentos, lo que resulta crucial. Se hicieron análisis con tiempos de mantenimiento de la temperatura final del horno de 2 y 2,7 minutos; el benzo[g,h,i]perileno eluyó después de 10,13 minutos, y el mantenimiento de la temperatura final durante 2 minutos daría lugar a un tiempo de análisis de 11,3 minutos para el método, por si el tiempo de ciclo fuese un motivo de preocupación. No se utilizó gas de inactivación al usar H<sub>2</sub> como gas portador; asimismo, el tubo de He se desconectó de la parte trasera del módulo de control electrónico de la presión. Los datos se recopilaron mediante MRM dinámica (dMRM) con el fin de conseguir un uso más eficiente del tiempo de análisis por GC/MS/MS.

En este estudio se aprovecharon las transiciones en MRM de otros métodos y notas de aplicación anteriores, con el fin de reducir el desarrollo de transiciones en MRM; no obstante, las energías de colisión se volvieron a optimizar con Agilent MassHunter Optimizer. Asimismo, se utilizó MassHunter Optimizer para identificar las transiciones en MRM y las energías de colisión idóneas para ciertos compuestos que no figuraban en los estudios anteriores; en concreto, fueron los siguientes: 2,6-diclorofenol, N-nitrosometiletilamina y N-nitrosomorfolina. Para los análisis de mezclas de sintonización para GC/MS, se empleó un método de adquisición en modo de barrido, ya que la DFTPP, el DDT y los productos de degradación del DDT no se incluyeron en el método de adquisición en modo de MRM.

## Instrumentos

Tabla 2. Instrumentos y consumibles para GC y MSD.

Parámetro	Valor
GC	Sistema de GC Agilent 8890
MS	Sistema de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent 7000E Inert Plus con fuente Agilent HydroInert
Lente de extracción	HydroInert de 9 mm
Jeringa	Jeringa para muestreador automático Agilent Blue Line, 10 µl, émbolo con punta de PTFE (ref. G4513-80203)
Columna	Columna para GC Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert, 20 m × 0,18 mm, 0,18 µm (ref. 121-5522UI)
Liner de inyector	Liner de inyector Agilent Ultra Inert, baja caída de presión, lana de vidrio (ref. 5190-2295)

## Condiciones de los instrumentos

Tabla 3. Condiciones de los instrumentos de GC y MSD.

Parámetro	Valor
Volumen de inyección	1 µl
Inyector multimodal	Split de 20:1 250 °C (mantener 0,3 min), aumento de la temperatura de 200 °C/min hasta 350 °C (mantener durante el resto del análisis) Tiempo posterior al análisis: 350 °C/min con flujo de split de 100 ml/min
Programa de temperatura de la columna	40 °C (mantener 0 min), 30 °C/min hasta 320 °C (mantener entre 2 y 2,7 min*) Tiempo posterior al análisis: 320 °C (mantener 2 min)
Gas portador y flujo	H <sub>2</sub> a 1,2 ml/min**, flujo constante
Temperatura de la línea de transferencia	320 °C
Temperatura de la fuente de iones	300 °C
Temperatura del cuadrupolo	150 °C
Gas de colisión y flujo	Nitrógeno, 1,5 ml/min
Gas de inactivación	No se utiliza gas de inactivación cuando se usa H <sub>2</sub> como gas portador
Modo EMV	Factor de ganancia
Factor de ganancia	1 (optimizado para cada sistema)
Tipo de barrido	MRM dinámica

\* Si la temperatura del horno se mantiene durante 2 minutos, eso haría que el tiempo de análisis fuese de 11,3 minutos; el benzo[g,h,i]perileno eluye a los 10,13 minutos.

\*\* El bloqueo de los tiempos de retención puede dar lugar a valores de flujo distintos en diferentes instrumentos.

## Resultados y comentarios

### Mezcla de sintonización para GC/MS

A pesar de que el sistema de GC/MS/MS se puede ajustar (y se ajustó) aplicando la sintonización recomendada por el fabricante, que es la sintonización etune predeterminada para los sistemas de GC/MS de triple cuadrupolo Agilent serie 7000, se consideraron los criterios de relaciones iónicas de la DFTPP especificados en la Tabla 3 del método 8270E de la EPA para evaluar la fuente HydroInert usando H<sub>2</sub> como gas portador<sup>1,2</sup>. La Tabla 4 resume las abundancias relativas de las relaciones iónicas de la DFTPP a 25 µg/ml, los criterios del método y si las abundancias relativas determinadas cumplieron los criterios; todas las abundancias relativas determinadas cumplieron los criterios de relaciones iónicas del método 8270E.

La limpieza del inyector y la columna siempre es un aspecto esencial para poder ejecutar correctamente el método 8270 de la EPA, sea cual sea el gas portador; se utilizaron DDT, pentaclorofenol y bencidina para controlar la degradación en el inyector y el estado de la columna. Un aumento de la degradación del DDT es indicativo de que hay que realizar el mantenimiento del inyector, mientras que el incremento de los factores de cola de la bencidina y el pentaclorofenol informa al usuario que es necesario recortar o cambiar la columna. La introducción de H<sub>2</sub> como gas portador puede hacer que los usuarios teman que se produzcan más reacciones de los compuestos activos, como el DDT, en el inyector; la recomendación es reducir la temperatura del inyector hasta un valor de entre 230 y 250 °C y usar un inyector de temperatura programable, como el MMI, para proteger los compuestos activos y, a la vez, poder aumentar la temperatura hasta 320 o 350 °C para eluir los PAH. En esta nota, hemos utilizado el MMI.

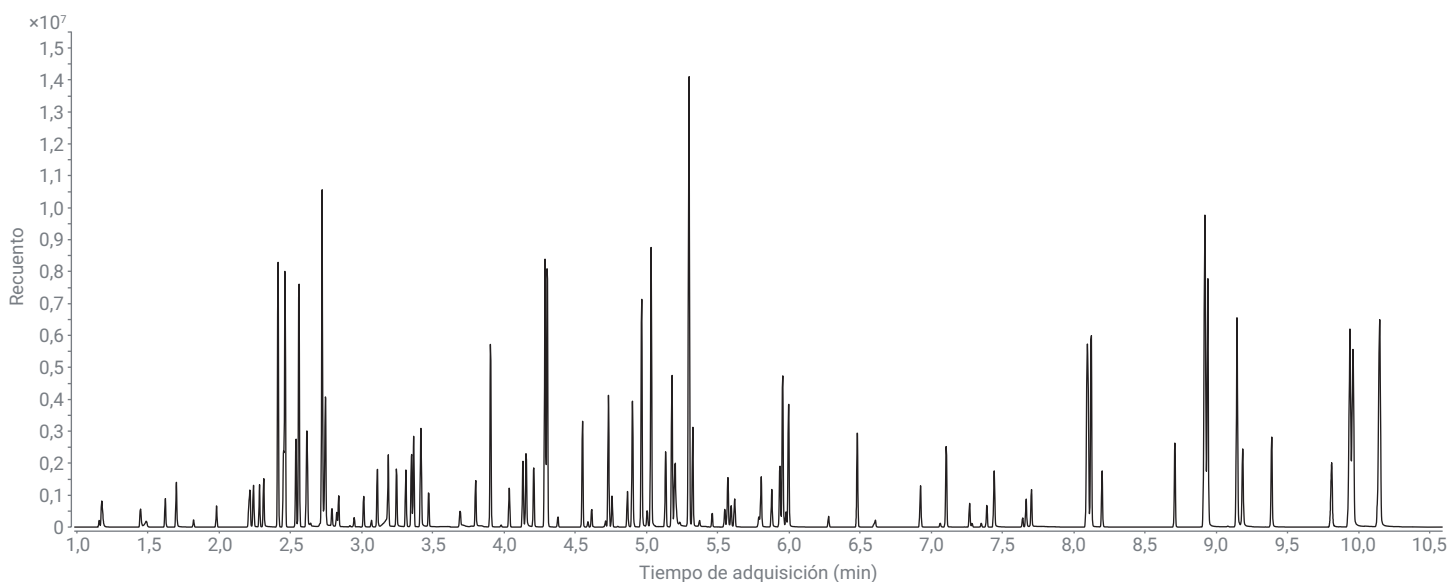
Al revisar los resultados de degradación del DDT y de los factores de cola de los compuestos correspondientes a la mezcla de sintonización para GC/MS tras un análisis en el modo de barrido, la degradación del DDT (%) fue del 1,4 %, mientras que los factores de cola del pentaclorofenol y la bencidina fueron de 1,0 y 1,4, respectivamente. Todos los valores cumplieron los criterios del método 8270 de la EPA; a saber, un valor de degradación del DDT (%) <20 % y factores de cola <2,0.

### Calibración inicial

La Figura 1 muestra un cromatograma de corriente iónica total (TIC) correspondiente a la separación de 120 analitos de interés y seis patrones internos. Se realizó una calibración de múltiples puntos con 15 valores de concentración entre 0,02 y 100 µg/ml, y se determinó el factor de respuesta (FR) relativo de cada compuesto para cada valor de concentración. Asimismo, se calcularon el FR promedio para la curva de calibración de cada compuesto y la desviación estándar relativa (RSD porcentual). El criterio recomendado de conformidad para el método 8270 de la EPA es una RSD porcentual del FR promedio inferior al 20 %; si esto no puede conseguirse con una calibración de seis o más puntos, habrá que realizar un ajuste por regresión lineal (o cuadrática), cuyo valor de R<sup>2</sup> deberá ser igual o superior a 0,990. En lo que respecta a la exactitud del punto con el valor de concentración más bajo, la desviación máxima debe ser del 30 % respecto a la concentración estimada.

**Tabla 4.** Iones de la DFTPP, criterios de abundancia del método 8270E de la EPA<sup>2</sup>, abundancia relativa determinada y cumple/no cumple de la abundancia relativa para el análisis con la fuente Agilent HydroInert en un sistema de GC/MS/MS con H<sub>2</sub> como gas portador.

Masa prevista (m/z)	Criterios de abundancia iónica	Abundancia relativa determinada	Cumple/ No cumple
68	<2 % del valor obtenido para m/z = 69	0 %	Cumple
69	Presente	36,4 %	Cumple
70	<2 % del valor obtenido para m/z = 69	1,1 %	Cumple
197	<2 % del valor obtenido para m/z = 198	0 %	Cumple
198	Pico base o presente	100 % (pico base)	Cumple
199	5-9 % del valor obtenido para m/z = 198	7,0 %	Cumple
365	>1 % del pico base	1,8 %	Cumple
441	<150 % del valor obtenido para m/z = 443	51,8 %	Cumple
442	Pico base o presente	46,7 % (pico base)	Cumple
443	15-24 % del valor obtenido para m/z = 442	21,9 %	Cumple



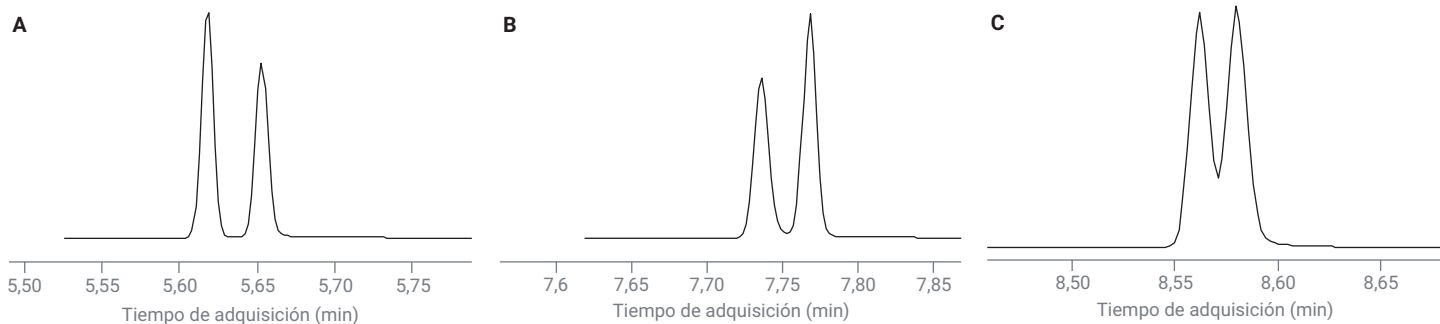
**Figura 1.** TIC del patrón de calibración de 50 µg/ml, en el que se observa que la separación se produce en menos de 10 minutos.

### Resolución de pares críticos

Para el método de menor duración y con una columna diferente, se constató una resolución de los pares críticos superior al 50 % para el fenantreno y el antraceno (transición en MRM con valores de  $m/z$  de 178,1 y 152,1), el benz[a]antraceno y el criseno (valores de  $m/z$  de 228,1 y 226,1) y el benzo(b)fluoranteno y el benzo(k)fluoranteno (valores de  $m/z$  de 252,1 y 250,1). Los tres pares de isómeros se muestran en la Figura 2 para un valor intermedio de concentración de 5 µg/ml: el fenantreno y el antraceno (Figura 2A) presentan resolución en la línea de base; el benz[a]antraceno y el criseno (Figura 2B) presentan resolución prácticamente en la línea de base; y el benzo(b)fluoranteno y el benzo(k)fluoranteno (Figura 2C) presentan una resolución cercana al 70 %, lo que satisface los criterios del método 8270 de la EPA.

### Fidelidad de los espectros de masas

Un problema habitual del uso de  $H_2$  como gas portador es la reactividad del  $H_2$  en los sitios activos, como el metal caliente del interior de una fuente, lo que puede provocar reacciones de hidrogenación y de cloración. Las transformaciones de los compuestos, como la hidrogenación de los grupos funcionales nitro para formar grupos amino, podría provocar una respuesta baja o nula de las transiciones en MRM identificadas con He como gas portador y hacer que un compuesto presente en una muestra no se pueda identificar o se identifique de forma incorrecta. La opción recomendada es conservar las transiciones en MRM del método existente para reducir el trabajo asociado al desarrollo de métodos. Gracias a la fuente HydroInert, los usuarios pueden mantener las mismas transiciones en MRM para los análisis con  $H_2$  como gas portador que aquellas desarrolladas con sistemas



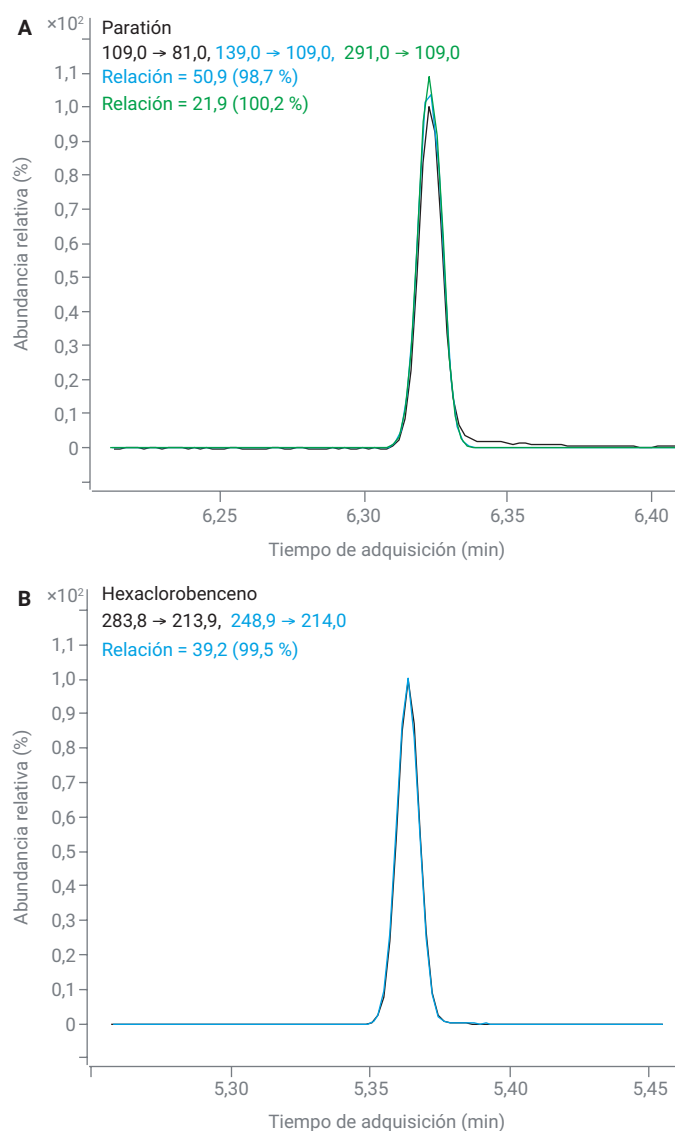
**Figura 2.** Cromatogramas de iones extraídos (EIC) para transiciones en MRM de un patrón de concentración intermedia (5 µg/ml) correspondientes a pares críticos de isómeros: (A) fenantreno y antraceno (transición en MRM con valores de  $m/z$  de 178,1 y 152,1); (B) benz[a]antraceno y criseno (valores de  $m/z$  de 228,1 y 226,1); y (C) benzo(b)fluoranteno y benzo(k)fluoranteno (valores de  $m/z$  de 252,1 y 250,1).

que usan He. Será necesario reevaluar los tiempos de retención y las energías de colisión; en particular, los tiempos de retención si se modifican las dimensiones de la columna y el programa de aumento de temperatura del horno. La lista anterior de compuestos incluye varios compuestos con grupos funcionales nitro y compuestos muy clorados (como nitrobenzono, pentaclorofenol, hexaclorobenceno y pentacloronitrobenzono) que podrían sufrir reacciones con  $H_2$  en una fuente extractora convencional. Para estudiar la conservación de los grupos funcionales, podemos comprobar que las transiciones en MRM existen en los cromatogramas de iones extraídos (EIC) y verificar las relaciones previstas entre las transiciones en MRM de cuantificación y cualificación. Si las relaciones de las transiciones de cualificación (en comparación con las transiciones de cuantificación) están próximas al 100 %, eso significa que no se están produciendo reacciones con  $H_2$ . Unos valores nulos o excesivamente bajos o altos de las relaciones entre las transiciones en MRM indicarían que existe reacción con  $H_2$ . La Figura 3 muestra una superposición de un conjunto de transiciones en MRM para el paratión (Figura 3A), un compuesto con un grupo nitro, y el hexaclorobenceno (Figura 3B), un compuesto muy clorado. Las relaciones entre las transiciones, expresadas como porcentajes, aparecen en la esquina superior izquierda de las Figuras 3A y 3B. En el caso del paratión, si el grupo funcional nitro sufriera una hidrogenación y se transformara en un grupo amino, la abundancia de la transición 291/109 sería menor respecto a la transición de cuantificación, ya que el valor de  $m/z$  asociado sería de 259, en lugar de 291. Tal como se muestra en la Figura 3A, las relaciones de transición tuvieron un valor del 100 %, lo que significa que se conservó el grupo funcional nitro. Para el hexaclorobenceno, la dechloración daría lugar a una abundancia mayor de la transición 249/214 y una abundancia menor de la transición 284/214; sin embargo, en la Figura 3B se observa un valor del 100 %, lo que indica que se mantuvo la relación prevista entre estas dos transiciones; es decir, no se produjo una dechloración importante.

### Datos de calibración

Hubo 6 de los 120 compuestos que necesitaron ajustes por regresión lineal; también fueron necesarios 10 ajustes por regresión cuadrática. En la Tabla 5 se resumen los resultados de calibración para los 120 compuestos de interés y sustitutos, junto con los valores de RSD porcentual de los factores de respuesta (FR) promedio, el ajuste de la curva y el valor de  $R^2$  (si procede), y los valores de concentración mínimo y máximo en aquellos casos en que los valores son diferentes a los del intervalo de calibración ampliado (de 0,02 a 100  $\mu\text{g/ml}$ ). Más del 86 % de los 120 compuestos cumplieron los criterios de calibración, con un valor de RSD porcentual del FR promedio inferior al 20 %. De los 120 compuestos, hubo 13 (<11 %) con un

intervalo de calibración más estrecho que el intervalo normal del método 8270 de la EPA (de 0,1 a 100  $\mu\text{g/ml}$ ); aun así, todos ellos cumplieron los criterios del método 8270E de la EPA para, como mínimo, siete puntos de la calibración. Si examinamos los estudios realizados anteriormente usando el método 8270E de la EPA y un sistema de GC/MS/MS con He como gas portador, hubo ocho compuestos que requirieron un ajuste de la curva para cumplir los criterios de calibración<sup>3</sup>. Era previsible que se produjera un aumento del número de ajustes por regresión lineal y cuadrática, ya que el  $H_2$  es más reactivo que el He. Además, la temperatura del inyector se ajustó inicialmente a un valor más bajo para evitar la formación de ácido clorhídrico a altas temperaturas y en presencia de agua (ya procediera esta



**Figura 3.** Superposiciones de EIC de las transiciones en MRM para el paratión (A) y el hexaclorobenceno (B), obtenidas mediante el uso de  $H_2$  como gas portador y de la fuente Agilent Hydrolnert en un sistema de GC/MS/MS, que demuestran la conservación de los grupos funcionales principales en presencia de  $H_2$ .

**Tabla 5.** Resultados de la calibración inicial para 120 compuestos de interés y sustitutos, realizada con H<sub>2</sub> como gas portador y la fuente Agilent HydroInert en un sistema de GC/MS/MS conforme al método 8270 de la EPA.

Nombre	TR (min)	FR prom.	RSD porcentual del FR prom.	Ajuste de la curva (R <sup>2</sup> )	Ajuste de la curva	Patr. conc. mín. (µg/ml)	Patr. conc. máx. (µg/ml)
						Intervalo predeterm.: 0,02-100 µg/ml	
NDMA	1,1613	0,074	17,28			0,02	100
Piridina	1,1832	0,487	16,17			0,05	100
2-Picolina	1,4508	0,154	11,23			0,05	100
N-Nitroso-N-metiletilamina	1,4893	0,101	13,58			0,02	100
Metanosulfonato de metilo	1,6215	0,385	6,18			0,02	100
2-Fluorofenol (patrón de sustitución)	1,6962	0,515	12,02			0,02	100
N-Nitrosodietilamina	1,8184	0,069	15,15			0,02	100
Metanosulfonato de etilo	1,9794	0,307	7,28			0,02	100
Fenol-d <sub>6</sub> (patrón de sustitución)	2,2064	0,287	9,81			0,02	100
Fenol	2,2135	0,278	12,45			0,05	100
Anilina	2,2394	0,638	11,65			0,02	100
bis(2-Cloroetil) éter	2,2817	0,538	4,95			0,02	100
2-Clorofenol	2,3106	0,536	11,28			0,02	100
1,3-Diclorobenceno	2,413	0,922	2,68			0,02	100
1,4-Diclorobencidina-d <sub>4</sub> (patrón interno)	2,450		3,46			0,02	100
1,4-Diclorobenceno	2,461	0,917	3,36			0,02	100
Alcohol bencílico	2,5379	0,388	14,57			0,02	100
1,2-Diclorobenceno	2,5582	0,879	2,65			0,02	100
2-Metilfenol (o-cresol)	2,6123	0,524	7,24			0,02	100
bis(2-Cloro-1-metiletil) éter	2,639	0,031	7,60			0,02	100
N-Nitrosopirrolidina	2,7006	0,029	14,89			0,05	100
4-Metilfenol (p-cresol)	2,7173	0,738	8,05			0,02	100
Acetofenona	2,7202	0,971	7,46			0,05	100
N-Nitrosodi-n-propilamina	2,722	0,027		0,9951	Regresión lineal	0,1	100
4-Nitrosomorfolina	2,7331	0,097	16,61			0,02	100
o-Toluidina	2,741	0,735	9,62			0,02	100
Hexacloroetano	2,7897	0,150	6,42			0,02	100
Nitrobenceno- d <sub>5</sub> (patrón de sustitución)	2,8228	0,074	11,46			0,02	100
Nitrobenceno	2,837	0,259	12,83			0,05	100
N-Nitrosopiperidina	2,9445	0,049	15,16			0,1	100
Isoforona	3,0114	0,251	9,29			0,02	100
2-Nitrofenol	3,0661	0,067	16,02			0,02	100
2,4-Dimetilfenol (2,4-xilenol)	3,107	0,441	7,45			0,02	100
Ácido benzoico	3,1093	0,202		0,9965	Regresión lineal	2	100
bis(2-Cloroetoxi)metano	3,186	0,741	6,02			0,02	100
2,4-Diclorofenol	3,2418	0,420	17,51			0,02	100
1,2,4-Triclorobenceno	3,3073	0,577	7,97			0,02	100
Naftaleno-d <sub>8</sub> (patrón interno)	3,348		3,25			0,02	100
Naftaleno	3,3634	0,902	3,21			0,02	100
4-Cloroanilina	3,4127	0,558	5,69			0,02	100
2,6-Diclorofenol	3,4162	0,353	15,57			0,02	100
Hexaclorobutadieno	3,4689	0,410	4,92			0,02	100

Nombre	TR (min)	FR prom.	RSD porcentual del FR prom.	Ajuste de la curva (R <sup>2</sup> )	Ajuste de la curva	Patr. conc. mín. (µg/ml)	Patr. conc. máx. (µg/ml)
						Intervalo predeterm.: 0,02-100 µg/ml	
p-Fenilendiamina	3,6874	0,232	11,54			0,1	100
N-Nitrosodi-n-butilamina	3,6903	0,069	8,48			0,02	100
4-Cloro-3-metilfenol	3,7999	0,372	11,05			0,02	100
2-Metilnaftaleno	3,9022	1,689	4,44			0,02	100
Hexaclorociclopentadieno	4,0322	0,034	18,12			0,02	100
1,2,4,5-Tetraclorobenceno	4,0348	0,230	6,13			0,02	100
2,4,6-Triclorofenol	4,1305	0,171	19,08			0,02	100
2,4,5-Triclorofenol	4,1537	0,255	15,58			0,02	100
2-Fluorobifenilo (patrón de sustitución)	4,2061	0,364	3,16			0,02	100
1-Cloronaftaleno	4,2848	0,810	4,80			0,02	100
2-Cloronaftaleno	4,2998	0,784	4,74			0,02	100
2-Nitroanilina	4,3763	0,060	15,70			0,02	100
Dimetilftalato	4,5458	0,799	10,18			0,02	100
2,6-Dinitrotolueno	4,5829	0,034	9,97			0,02	100
Acenaftileno	4,6136	0,146	7,06			0,02	100
3-Nitroanilina	4,7069	0,034	16,75			0,1	100
Acenafteno-d <sub>10</sub> (patrón interno)	4,731		3,03			0,02	100
Acenafteno	4,7548	0,184	2,87			0,02	100
2,4-Dinitrofenol	4,801	0,006		0,9988	Regresión lineal	1	100
Pentaclorobenceno	4,8623	0,149	4,46			0,02	100
4-Nitrofenol	4,8639	0,055	15,34			0,1	100
Dibenzofurano	4,8969	1,389	4,27			0,02	100
2,4-Dinitrotolueno	4,9036	0,030	17,05			0,1	100
1-Naftilamina	4,9616	0,746	10,88			0,02	100
2,3,4,6-Tetraclorofenol	5,0024	0,066	18,19			0,1	75
2-Naftilamina	5,0276	0,906	7,70			0,02	100
Dietilftalato	5,1254	0,583	12,91			0,1	100
Fluoreno	5,1741	1,433	4,42			0,02	100
Tionazina	5,1855	0,037		0,9992	Regresión cuadrática	0,05	100
5-Nitro-o-toluidina	5,1925	0,052	17,22			0,2	100
4-Clorofenil fenil éter	5,1941	0,363	8,62			0,02	100
4-Nitroanilina	5,1986	0,111	15,16			0,1	100
2-Metil-4,6-dinitrofenol (DNOC)	5,2271	0,009		0,9992	Regresión lineal	0,2	75
N-Nitrosodifenilamina	5,2922	2,207	5,19			0,02	100
Difenilamina	5,2923	2,697	5,23			0,02	100
Azobenceno	5,3216	0,966	19,48			0,1	100
2,4,6-Tribromofenol (patrón de sustitución)	5,3661	0,048	18,64			0,05	100
Sulfotep	5,4547	0,046		1,0000	Regresión cuadrática	0,1	100
Dimetoato	5,4556	0,004		0,9996	Regresión cuadrática	0,1	100
Dialato I	5,5446	0,056		0,9995	Regresión cuadrática	0,2	100
Forato	5,5454	0,112	19,23			0,05	50
Fenacetina	5,5584	0,395		0,9926	Regresión lineal	0,2	100

Nombre	TR (min)	FR prom.	RSD porcentual del FR prom.	Ajuste de la curva (R <sup>2</sup> )	Ajuste de la curva	Patr. conc. mín. (µg/ml)	Patr. conc. máx. (µg/ml)
						Intervalo predeterm.: 0,02-100 µg/ml	
4-Bromofenil fenil éter	5,591	0,214	4,60			0,02	100
Hexaclorobenceno	5,6139	0,411	3,63			0,02	100
Pentaclorofenol	5,785	0,106		0,9996	Regresión cuadrática	0,5	100
Pentacloronitrobenzoceno	5,7933	0,053	17,34			0,02	100
4-Aminobifenilo	5,8011	0,415	7,12			0,02	100
Propizamida	5,8731	0,228	18,96			0,1	75
Fenantreno-d <sub>10</sub> (patrón interno)	5,936		2,96			0,02	100
Fenantreno	5,9516	1,117	6,24			0,02	100
Dinoseb	5,9596	0,046	16,84			0,2	100
Disulfotón	5,9761	0,189		0,9999	Regresión cuadrática	0,05	100
Antraceno	5,9921	0,857	3,53			0,02	100
Metil paratión	6,2746	0,068	18,32			0,02	100
Di- <i>n</i> -butilftalato	6,4745	0,567	19,97			0,05	100
4-Nitroquinolina-1-óxido	6,5908	0,011	19,12			0,2	75
Paratión	6,6037	0,032	16,40			0,05	100
Fluoranteno	6,9204	0,344	4,85			0,02	100
Bencidina	7,0591	0,029	17,04			0,1	100
Pireno	7,1006	0,361	4,52			0,02	100
<i>p</i> -Terfenilo-d <sub>14</sub> (patrón de sustitución)	7,2656	0,141	3,33			0,02	100
Aramita I	7,2822	0,014	12,68			0,02	100
Aramita II	7,3467	0,013	11,52			0,02	100
4-Dimetilaminoazobenceno	7,3855	0,053		0,9989	Regresión cuadrática	0,05	100
Clorobencilato	7,4376	0,171	19,35			0,02	75
Famfur	7,6348	0,061	11,33			0,02	50
3,3'-Dimetilbencidina	7,6608	0,097	11,45			0,05	100
Butilbencilftalato	7,6991	0,155		0,9986	Regresión cuadrática	0,05	100
Benz[ <i>a</i> ]antraceno	8,0875	1,018	9,47			0,05	100
3,3'-Diclorobencidina	8,0933	0,075	16,78			0,1	100
Criseno-d <sub>12</sub> (patrón interno)	8,100		3,61			0,02	100
Criseno	8,1151	0,437	6,10			0,02	100
bis(2-Etilhexil)ftalato	8,1936	0,250		0,9992	Regresión cuadrática	0,05	100
Di- <i>n</i> -octilftalato	8,7044	0,470		0,9991	Regresión cuadrática	0,05	100
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno	8,9096	1,258	3,89			0,02	100
7,12-Dimetilbenz[ <i>a</i> ]antraceno	8,9135	0,603	14,52			0,02	100
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno	8,9307	1,258	4,48			0,02	100
Benzo[ <i>a</i> ]pireno	9,1396	0,922	11,99			0,02	100
Perileno-d <sub>12</sub> (patrón interno)	9,183		5,97			0,02	100
3-Metilcolantreno	9,3835	0,455	19,13			0,02	100
Dibenz[ <i>a</i> , <i>j</i> ]acridina	9,7986	0,375		0,9923	Regresión lineal	0,2	100
Indeno[1,2,3- <i>c</i> , <i>d</i> ]pireno	9,9277	0,961	12,31			0,02	100
Dibenz[ <i>a</i> , <i>h</i> ]antraceno	9,9494	0,140	10,41			0,02	100
Benzo[ <i>g</i> , <i>h</i> , <i>i</i> ]perileno	10,133	1,265	4,92			0,02	100

del gas portador o del procedimiento de extracción de la muestra) en el inyector. En los resultados obtenidos usando H<sub>2</sub> y He como gas portador, fue necesario realizar un ajuste por regresión cuadrática para que el bis(2-etilhexil)ftalato y el di-*n*-octilftalato cumplieran los criterios de calibración. Sin embargo, algunos compuestos que requerían un ajuste de la curva presentaron diferencias entre ambos conjuntos de datos. Por ejemplo, para la N-nitrosodipropilamina se obtuvo un valor de RSD porcentual del FR promedio del 12,3 % en el caso del He, que cumplió los criterios; sin embargo, cuando se usó H<sub>2</sub> como gas portador con la fuente HydroInert, fue necesario realizar un ajuste por regresión lineal. Aunque hubo que realizar un ajuste por regresión lineal de los datos generados con He para la N-nitrosodimetilamina (NDMA), este compuesto cumplió los criterios de calibración para todo el intervalo predeterminado (de 0,2 a 100 µg/ml), con una RSD porcentual del FR promedio del 17,3 %, usando H<sub>2</sub> como gas portador y la fuente HydroInert<sup>3</sup>. Se prevén diferencias individuales para compuestos específicos, ya que en el método se hicieron modificaciones, pasando de usar un gas inerte a usar otro más reactivo, y también se hicieron cambios en los parámetros del inyector y el horno.

Durante el desarrollo del método, la temperatura inicial del MMI se varió para estudiar qué valor ofrecía unos resultados óptimos durante todo el tiempo de análisis. Los mejores resultados con este método se obtuvieron cuando se aplicó un programa de aumento de la temperatura de 250 a 350 °C al MMI. También se hicieron análisis con una temperatura inicial más baja del inyector (230 °C), lo que hizo que mejoraran los resultados para algunos de los compuestos sensibles de elución más temprana, como el ácido benzoico. Sin embargo, para los PAH que eluyen más tarde, los resultados no fueron tan buenos en lo que respecta a los intervalos lineales; además, existe cierto riesgo de efecto de arrastre. El usuario debe optimizar los parámetros específicos del inyector según sus necesidades analíticas.

Se ha detectado pérdida de sensibilidad al usar H<sub>2</sub> como gas portador en los sistemas existentes de espectrometría de masas. Debido a este problema, se prestó especial atención al intervalo de calibración y se verificó que la mayoría de los compuestos alcanzaran el mismo intervalo de calibración que en los análisis anteriores con He. En lo que respecta a la sensibilidad, en una aplicación anterior se analizaron 77 compuestos conforme al método 8270 de la EPA con He como gas portador en un sistema de GC/MS/MS<sup>3</sup>. Al analizar esos compuestos con una configuración experimental idéntica (también de GC/MS/MS), pero usando H<sub>2</sub> como gas portador y la fuente HydroInert, tan solo 8 compuestos más requirieron un ajuste por regresión lineal o cuadrática

respecto a los datos obtenidos con He. Como es normal, el ácido benzoico requirió un ajuste por regresión lineal para un intervalo de calibración de 2 a 100 µg/ml; el ajuste y el intervalo de calibración fueron idénticos para los datos obtenidos con H<sub>2</sub> y He. Para el 2,4-dinitrofenol, en ambos análisis fue necesario realizar ajustes por regresión lineal; sin embargo, el intervalo para los datos obtenidos con H<sub>2</sub> fue más estrecho, ya que comenzó en 1 µg/ml, mientras que en el caso del He comenzó en 0,5 µg/ml. Con una temperatura inicial de 230 °C en el inyector, el intervalo de calibración del 2,4-dinitrofenol comenzó en 0,5 µg/ml; si la detección de 2,4-dinitrofenol es el aspecto más crítico, el método debería diseñarse específicamente para este compuesto sensible. Para el pentaclorofenol, se realizó un ajuste idéntico (por regresión cuadrática) de la curva y se obtuvo un intervalo de calibración de 0,5 a 100 µg/ml tanto con He como con H<sub>2</sub> y la fuente HydroInert. Por otra parte, el 4-nitrofenol cumplió los criterios de calibración con una RSD porcentual del FR promedio de 15,34 % y un intervalo de 0,1 a 100 µg/ml para el análisis con H<sub>2</sub>, mientras que los resultados obtenidos con He conllevaron un ajuste por regresión lineal de 5 a 160 µg/ml. Asimismo, la bencidina se identificó de forma rutinaria en todos los análisis con H<sub>2</sub> y la fuente HydroInert en el sistema de GC/MS/MS; para este método específico, se obtuvo una RSD porcentual del FR promedio del 17,5 % para el intervalo ampliado completo de calibración (de 0,02 a 100 µg/ml). En cambio, en los resultados obtenidos con He no se incluyeron datos correspondientes a la bencidina. Otros dos ejemplos de intervalo ampliado de calibración con H<sub>2</sub> y la fuente HydroInert son el bis(2-etilhexil)ftalato y el di-*n*-octilftalato. Para ambos ftalatos, el uso de H<sub>2</sub> se tradujo en un intervalo de calibración más amplio (de 0,05 a 100 µg/ml) con un ajuste por regresión cuadrática, mientras que en el caso del He fue de 0,5 a 100 µg/ml, también con un ajuste por regresión cuadrática. Al examinar los patrones internos, todos los valores de RSD porcentual del FR promedio son inferiores al 6 %, lo que indica una eficiencia uniforme del H<sub>2</sub> utilizado como gas portador, la fuente HydroInert y el sistema de GC/MS/MS, así como la ausencia de problemas de hidrogenación de los compuestos deuterados. Los análogos deuterados (nitrobenzeno-d<sub>5</sub>, fenol-d<sub>6</sub> y *p*-terfenilo-d<sub>14</sub>) respaldan la conservación de los enlaces en los que está presente el deuterio, con unos valores de RSD porcentual del FR promedio inferiores al 12 % para las curvas ampliadas de calibración. De los 77 compuestos equiparables que aparecen en los datos obtenidos con H<sub>2</sub> y He, los intervalos de calibración fueron similares o más amplios en el 80 % de los casos (60 compuestos) para los resultados obtenidos con H<sub>2</sub> y la fuente HydroInert. El uso de H<sub>2</sub> como gas portador y de la fuente HydroInert mantiene la sensibilidad para la mayoría de los compuestos al comparar los datos con los obtenidos con He.

## Comparación de los factores de respuesta (FR)

La sensibilidad y la uniformidad de los factores de respuesta (FR) de los sistemas de cuadrupolo simple y de triple cuadrupolo al realizar análisis en los que el He se sustituye por H<sub>2</sub> como gas portador son aspectos que siempre generan preocupación. En la Tabla 6 se presentan los FR de los criterios orientativos del método 8270E de la EPA (Tabla 4); de un análisis por GC/MS con He como gas portador; y de un análisis por GC/MS/MS con H<sub>2</sub> como gas portador y la fuente HydroInert. En todos los sistemas utilizados en estos análisis se usaron lentes de extracción de 9 mm compatibles con el tipo de fuente correspondiente (p. ej., para la fuente HydroInert se usó una lente de extracción HydroInert de 9 mm). Los FR del método 8270E de la EPA (Tabla 4) son criterios orientativos, y no valores exigidos para cumplir los requisitos

del método; no obstante, lo ideal es que los FR sean similares a esos valores orientativos. En el análisis por GC/MS con He, dos compuestos presentaron FR inferiores a los criterios orientativos: el hexacloroetano y la N-nitroso-di-*n*-propilamina. En el análisis por GC/MS/MS con H<sub>2</sub> y la fuente HydroInert, hubo otros 14 compuestos con valores de FR inferiores a los criterios orientativos en comparación con el sistema de GC/MS con He; sin embargo, la GC/MS/MS también ofrece la posibilidad de analizar valores de concentración menores, de hasta 20 ng/ml, mientras que el intervalo normal de calibración es de 100 ng/ml a 100 µg/ml. Siete de estos compuestos con FR bajos presentan una desviación máxima de 0,2 unidades respecto al valor recomendado de FR. Resulta difícil determinar la importancia de esta diferencia, ya que los valores de FR de referencia son datos generados con sistemas de GC/MS de cuadrupolo simple con He como gas portador.

**Tabla 6.** FR de compuestos específicos (por orden alfabético en inglés) correspondientes al método 8270E de la EPA (Tabla 4)<sup>4</sup>, al análisis por GC/MS de cuadrupolo simple con He como gas portador y al análisis por GC/MS/MS de triple cuadrupolo con H<sub>2</sub> como gas portador y la fuente Agilent HydroInert.

Compuesto	FR del mét. 8270E <sup>4</sup>	FR GC/MS + He	FR (GC/MS/MS + H <sub>2</sub> + HydroInert)
Acenafteno	0,9	1,3	0,2
Acenaftileno	0,9	1,9	0,1
Acetofenona	0,01	1,2	1,0
Antraceno	0,7	1,1	0,9
Benz(a)antraceno	0,8	1,4	1,0
Benzo(a)pireno	0,7	1,2	1,0
Benzo(b)fluoranteno	0,7	1,4	1,2
Benzo(g,h,i)perileno	0,5	1,1	1,3
Benzo(k)fluoranteno	0,7	1,2	1,3
bis(2-Cloroetoxi)metano	0,3	0,4	0,7
bis(2-Cloroetil) éter	0,7	0,8	0,5
bis(2-Etilhexil)ftalato	0,01	0,8	0,2
4-Bromofenil fenil éter	0,1	0,3	0,2
Butilbencilftalato	0,01	0,6	0,1
4-Cloroanilina	0,01	0,4	0,6
4-Cloro-3-metilfenol	0,2	0,3	0,4
2-Cloronaftaleno	0,8	2,4	0,7
2-Clorofenol	0,8	0,8	0,5
4-Clorofenil fenil éter	0,4	0,7	0,3
Criseno	0,7	1,2	0,4
Dibenz(a,h)antraceno	0,4	1,1	0,2
Dibenzofurano	0,8	1,7	1,4
Di- <i>n</i> -butilftalato	0,01	1,3	0,5
3,3'-Diclorobencidina	0,01	0,5	0,1
2,4-Diclorofenol	0,2	0,3	0,4
Dietilftalato	0,01	1,4	0,6
Dimetilftalato	0,01	1,4	0,8
2,4-Dimetilfenol	0,2	0,3	0,4
4,6-Dinitro-2-metilfenol	0,01	0,2	0,01
2,4-Dinitrofenol	0,01	0,2	0,01
2,4-Dinitrotolueno	0,2	0,4	0,02
2,6-Dinitrotolueno	0,2	0,3	0,03

Compuesto	FR del mét. 8270E <sup>4</sup>	FR GC/MS + He	FR (GC/MS/MS + H <sub>2</sub> + HydroInert)
Di- <i>n</i> -octilftalato	0,01	1,3	0,4
Fluoranteno	0,6	1,2	0,4
Fluoreno	0,9	1,3	1,4
Hexaclorobenceno	0,1	0,3	0,4
Hexaclorobutadieno	0,01	0,2	0,4
Hexaclorociclopentadieno	0,05	0,3	0,03
Hexacloroetano	0,3	0,2	0,1
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	0,5	1,2	1,1
Isoforona	0,4	0,6	0,3
2-Metilnaftaleno	0,4	0,7	1,7
2-Metilfenol	0,7	0,7	0,6
4-Metilfenol	0,6	1,0	0,7
Naftaleno	0,7	1,1	0,9
2-Nitroanilina	0,01	0,4	0,05
3-Nitroanilina	0,01	0,3	0,02
4-Nitroanilina	0,01	0,3	0,1
Nitrobenzeno	0,2	0,3	0,3
2-Nitrofenol	0,1	0,2	0,1
4-Nitrofenol	0,01	0,2	0,05
N-Nitroso-di- <i>n</i> -propilamina	0,5	0,4	0,03
N-Nitrosodifenilamina	0,01	2,1	2,9
2,2'-Oxibis-(1-cloropropano)	0,01	0,5	0,03
Pentaclorofenol	0,05	0,2	0,1
Fenantreno	0,7	1,2	1,1
Fenol	0,8	0,9	0,3
Pireno	0,6	1,3	0,3
1,2,4,5-Tetraclorobenceno	0,01	0,4	0,2
2,3,4,6-Tetraclorofenol	0,01	0,4	0,07
2,4,5-Triclorofenol	0,2	0,3	0,2
2,4,6-Triclorofenol	0,2	0,3	0,2

## Reproducibilidad en una matriz

La mezcla con un gran número de compuestos para el método 8270 de la EPA también se diluyó hasta una concentración de 0,4 µg/ml para usarla como patrón de verificación de la calibración, ya que ese valor de 0,4 µg/ml no era un punto específico de la calibración. Para estudiar la repetibilidad de la fuente Hydrolnert en un sistema de GC/MS/MS con H<sub>2</sub> como gas portador, el patrón se inyectó en sándwich con 1 µl de una matriz compuesta de suelo para simular una muestra de matriz fortificada. Esta inyección se repitió diez veces para determinar la robustez del método y estudiar la intensificación/supresión de la señal por la matriz, o la posible contaminación provocada por la matriz de suelo. La Tabla 7 incluye los siguientes datos para cada compuesto: concentración calculada a partir del patrón de verificación de la calibración de 0,4 µg/ml en disolvente; concentración promedio de las diez inyecciones repetidas del patrón de verificación de la calibración de 0,4 µg/ml en la matriz de suelo; RSD porcentual para las 10 inyecciones repetidas de la matriz de suelo; y recuperación porcentual mediante la comparación de las concentraciones en la matriz de suelo y en el disolvente.

Los compuestos cuyos intervalos de calibración no incluían valores iguales o inferiores a 0,2 µg/ml no se incluyeron en la tabla. Para el patrón de 0,4 µg/ml en disolvente, únicamente cinco compuestos estaban fuera del margen del ±20 % de la verificación de la calibración: sulfotep, dimetoato, dialato I, aramita I y 7,12-dimetilbenz[a]antraceno. Para los tres primeros compuestos, la calibración se realizó mediante ajustes por regresión cuadrática y la concentración de verificación es baja, lo que podría ser la causa de esos valores tan elevados. Por lo general, el patrón de verificación de la calibración suele estar más próximo al punto intermedio de la curva de calibración; sin embargo, en este estudio estaba más desplazado hacia el límite inferior, con una concentración de 0,02 µg/ml en la columna. La aramita I supera por poco

el límite del 20 %, con un valor de 0,481 µg/ml, mientras que el valor obtenido para el 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (0,22 µg/ml) es aproximadamente la mitad de la concentración prevista. El resto de los compuestos próximos al 7,12-benz[a]antraceno están dentro del margen del 20 %, por lo que no existe una causa evidente que justifique este resultado tan bajo. Para las inyecciones repetidas de la matriz de suelo, todos los compuestos menos dos tienen un valor de RSD porcentual inferior al 10 %, lo que indica que el método es robusto, incluso cuando se analizan muestras en una matriz.

En lo que respecta a las concentraciones promedio en la matriz, 17 compuestos están fuera del margen del ±20 %; para 5 de esos compuestos, los valores son solo ligeramente superiores a 0,48 µg/ml (es decir, inferiores a 0,49 µg/ml), lo que podría deberse a una leve intensificación de la señal causada por la matriz. Diez de estos compuestos tienen un valor no superior al 140 % de la concentración prevista de 0,4 µg/ml; además, al calcular la recuperación porcentual comparando las concentraciones en el suelo y el disolvente, únicamente seis compuestos están fuera del margen del ±20 % asociado al intervalo de recuperación, lo que apunta una vez más a una intensificación de la señal. La concentración promedio determinada para el bis(2-etilhexil)ftalato es de 0,89 µg/ml, lo que indica que ya había bis(2-etilhexil)ftalato en la matriz de suelo. Por otra parte, parece que la matriz provoca la supresión de la señal del famfur, ya que la concentración promedio en la matriz fue de 0,272 µg/ml, mientras que en el disolvente fue de 0,402 µg/ml. En resumen, en los análisis de la matriz de suelo se puede detectar con facilidad el patrón de verificación de la calibración de 0,4 µg/ml de manera uniforme en la matriz, y más de un 85 % de los compuestos están dentro del margen del ±20 % del intervalo de calibración. Por lo general, la verificación de la calibración se lleva a cabo usando disolvente; en ese caso, más del 95 % de los compuestos están dentro del margen del ±20 % para el intervalo de calibración.

**Tabla 7.** Comparación de la concentración calculada para el patrón de verificación de la calibración de 0,4 µg/ml en disolvente, la concentración promedio (10 inyecciones repetidas) del patrón de 0,4 µg/ml en la matriz de suelo, RSD porcentual de las 10 inyecciones repetidas y la recuperación porcentual del patrón de 0,4 µg/ml en la matriz en comparación con el patrón en disolvente.

N.º	Nombre	Concentración calculada (0,4 µg/ml en disolvente)	Concentración promedio en la matriz fortificada con 0,4 µg/ml	RSD porcentual de 10 inyecciones repetidas	Recuperación en la matriz
1	NDMA	0,45	0,47	1,95 %	104 %
2	Piridina	0,46	0,45	2,68 %	97 %
3	2-Picolina	0,45	0,45	2,54 %	100 %
4	N-Nitroso-N-metiletilamina	0,44	0,46	1,75 %	106 %
5	Metanosulfonato de metilo	0,47	0,46	0,31 %	99 %
6	2-Fluorofenol	0,46	0,45	0,94 %	99 %
7	N-Nitroso-N-dietilamina	0,46	0,46	1,37 %	100 %
8	Metanosulfonato de etilo	0,45	0,45	0,68 %	99 %
9	Fenol-d <sub>6</sub>	0,46	0,45	0,67 %	99 %
10	Fenol	0,46	0,44	1,73 %	96 %
11	Anilina	0,46	0,46	1,51 %	100 %
12	bis(2-Cloroetil) éter	0,46	0,45	0,87 %	99 %
13	2-Clorofenol	0,44	0,45	1,28 %	101 %

N.º	Nombre	Concentración calculada (0,4 µg/ml en disolvente)	Concentración promedio en la matriz fortificada con 0,4 µg/ml	RSD porcentual de 10 inyecciones repetidas	Recuperación en la matriz
14	1,3-Diclorobenceno	0,46	0,46	0,56 %	100 %
15	1,4-Diclorobenceno	0,47	0,46	0,57 %	98 %
16	Alcohol bencílico	0,42	0,45	2,08 %	108 %
17	1,2-Diclorobenceno	0,47	0,46	0,87 %	99 %
18	2-Metilfenol ( <i>o</i> -cresol)	0,44	0,44	1,50 %	99 %
19	bis(2-Cloro-1-metiletil) éter	0,47	0,46	4,86 %	97 %
20	N-Nitrosopirrolidina	0,45	0,47	3,45 %	103 %
21	4-Metilfenol ( <i>p</i> -cresol)	0,40	0,42	1,65 %	104 %
22	Acetofenona	0,45	0,45	1,71 %	100 %
23	N-Nitrosodi- <i>n</i> -propilamina	0,42	0,43	5,84 %	103 %
24	4-Nitrosomorfolina	0,42	0,45	3,11 %	107 %
25	<i>o</i> -Toluidina	0,47	0,47	1,44 %	99 %
26	Hexacloroetano	0,44	0,48	2,32 %	109 %
27	Nitrobenceno-d <sub>5</sub>	0,43	0,49	2,66 %	112 %
28	Nitrobenceno	0,43	0,48	3,02 %	110 %
29	N-Nitrosopiperidina	0,42	0,43	2,72 %	104 %
30	Isoforona	0,43	0,44	1,53 %	103 %
31	2-Nitrofenol	0,46	0,49	2,06 %	106 %
32	2,4-Dimetilfenol	0,43	0,43	1,30 %	100 %
33	bis(2-Cloroetoxi)metano	0,44	0,44	0,54 %	101 %
34	2,4-Diclorofenol	0,40	0,43	0,92 %	106 %
35	1,2,4-Triclorobenceno	0,46	0,46	0,56 %	100 %
37	Naftaleno	0,47	0,46	0,66 %	98 %
38	4-Cloroanilina	0,45	0,46	1,13 %	102 %
39	2,6-Diclorofenol	0,41	0,44	1,32 %	106 %
40	Hexaclorobutadieno	0,46	0,46	0,52 %	100 %
41	<i>p</i> -Fenilendiamina	0,45	0,44	3,75 %	97 %
42	N-Nitrosodi- <i>n</i> -butilamina	0,42	0,44	1,67 %	104 %
43	4-Cloro-3-metilfenol	0,43	0,43	1,45 %	101 %
44	2-Metilnaftaleno	0,47	0,47	0,60 %	99 %
45	Hexaclorociclopentadieno	0,41	0,40	3,72 %	96 %
46	1,2,4,5-Tetraclorobenceno	0,47	0,47	1,39 %	99 %
47	2,4,6-Triclorofenol	0,42	0,43	1,47 %	103 %
48	2,4,5-Triclorofenol	0,41	0,39	4,58 %	97 %
49	2-Fluorobifenilo	0,47	0,46	0,74 %	99 %
50	1-Clornaftaleno	0,47	0,46	0,78 %	98 %
51	2-Clornaftaleno	0,47	0,46	1,55 %	98 %
52	2-Nitroanilina	0,44	0,53	0,90 %	120 %
53	Dimetilftalato	0,42	0,44	0,92 %	106 %
54	2,6-Dinitrotolueno	0,44	0,47	2,90 %	106 %
55	Acenaftileno	0,44	0,43	2,28 %	99 %
56	<i>m</i> -Nitroanilina	0,39	0,43	4,35 %	112 %
57	Acenafteno	0,48	0,46	1,14 %	95 %
59	Pentaclorobenceno	0,46	0,45	1,85 %	98 %
60	4-Nitrofenol	0,37	0,44	3,35 %	120 %

N.º	Nombre	Concentración calculada (0,4 µg/ml en disolvente)	Concentración promedio en la matriz fortificada con 0,4 µg/ml	RSD porcentual de 10 inyecciones repetidas	Recuperación en la matriz
61	Dibenzofurano	0,47	0,46	0,58 %	99 %
62	2,4-Dinitrotolueno	0,42	0,44	3,98 %	105 %
63	1-Naftilamina	0,37	0,47	1,19 %	126 %
64	2,3,4,6-Tetraclorofenol	0,40	0,42	1,79 %	106 %
65	2-Naftilamina	0,40	0,44	1,66 %	110 %
66	Dietilftalato	0,41	0,45	1,02 %	111 %
67	Fluoreno	0,47	0,47	0,82 %	101 %
68	Tionazina	0,42	0,46	2,38 %	109 %
69	5-Nitro- <i>o</i> -toluidina	0,40	0,45	8,22 %	114 %
70	4-Clorofenil fenil éter	0,48	0,46	1,00 %	96 %
71	4-Nitroanilina	0,43	0,38	7,92 %	88 %
72	2-Metil-4,6-dinitrofenol (DNOC)	0,46	0,52	5,22 %	112 %
73	N-Nitrosodifenilamina	0,46	0,46	0,97 %	101 %
74	Difenilamina	0,45	0,47	0,94 %	104 %
75	Azobenceno	0,47	0,50	2,62 %	107 %
76	2,4,6-Tribromofenol	0,42	0,43	3,11 %	104 %
77	Sulfotep	0,53	0,52	4,03 %	97 %
78	Dimetoato	0,64	0,52	12,70 %	81 %
79	Dialato I	2,70	0,53	2,91 %	102 %
80	Forato	0,47	0,53	2,47 %	111 %
81	Fenacetina	0,42	0,44	1,40 %	105 %
82	4-Bromofenil fenil éter	0,45	0,44	2,94 %	98 %
83	Hexaclorobenceno	0,46	0,46	1,43 %	100 %
85	Pentacloronitrobenzeno	0,41	0,46	3,62 %	111 %
86	4-Aminobifenilo	0,44	0,45	1,56 %	103 %
87	Propizamida	0,40	0,43	1,92 %	107 %
88	Fenantreno	0,48	0,48	0,67 %	101 %
89	Dinoseb	0,42	0,43	3,59 %	103 %
90	Disulfotón	0,43	0,48	2,15 %	111 %
91	Antraceno	0,44	0,46	1,26 %	104 %
92	Metil paratión	0,42	0,40	1,25 %	94 %
93	Di- <i>n</i> -butilftalato	0,38	0,41	1,25 %	106 %
94	4-Nitroquinolina-1-óxido	0,42	0,41	11,49 %	97 %
95	Paratión	0,41	0,45	2,50 %	112 %
96	Fluoranteno	0,47	0,47	0,79 %	100 %
97	Bencidina	0,42	0,45	7,96 %	105 %
98	Pireno	0,47	0,48	0,38 %	101 %
99	<i>p</i> -Terfenilo- $d_{14}$	0,46	0,46	0,82 %	101 %
100	Aramita I	0,48	0,51	2,28 %	106 %
101	Aramita II	0,48	0,50	2,85 %	105 %
102	<i>p</i> -Dimetilaminoazobenceno	0,47	0,51	2,10 %	108 %
103	Clorobencilato	0,41	0,45	1,07 %	108 %
104	Famfur	0,40	0,27	3,75 %	68 %
105	3,3'-Dimetilbencidina	0,46	0,47	2,96 %	101 %
106	Butilbencilftalato	0,40	0,43	1,32 %	109 %

N.º	Nombre	Concentración calculada (0,4 µg/ml en disolvente)	Concentración promedio en la matriz fortificada con 0,4 µg/ml	RSD porcentual de 10 inyecciones repetidas	Recuperación en la matriz
107	Benz[a]antraceno	0,44	0,45	0,31 %	101 %
108	3,3'-Diclorobencidina	0,41	0,43	2,23 %	105 %
109	Criseno	0,47	0,47	0,62 %	99 %
110	bis(2-Etilhexil)ftalato	0,44	0,89	1,80 %	205 %
111	Di-n-octilftalato	0,43	0,45	1,37 %	104 %
112	Benzo[b]fluoranteno	0,44	0,46	1,25 %	105 %
113	7,12-Dimetilbenz[a]antraceno	0,22	0,40	1,83 %	182 %
114	Benzo[k]fluoranteno	0,46	0,43	2,74 %	94 %
115	Benzo[a]pireno	0,41	0,42	2,09 %	103 %
116	3-Metilcolantreno	0,40	0,41	1,34 %	104 %
117	Dibenz[a,j]acridina	0,44	0,46	1,56 %	104 %
118	Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,41	0,42	1,01 %	104 %
119	Dibenz[a,h]antraceno	0,43	0,44	3,11 %	103 %
120	Benzo[g,h,i]perileno	0,43	0,44	1,87 %	104 %

## Conclusión

Gracias a la alta sensibilidad asociada al uso del modo de MRM y al carácter inerte de la fuente Agilent HydroInert con H<sub>2</sub> como gas portador, el 92,5 % de los 120 compuestos analizados se detectaron y calibraron en el intervalo normal de calibración del método 8270E de la EPA (de 0,1 a 100 µg/ml), y 77 compuestos alcanzaron el intervalo ampliado de calibración (de 0,02 a 100 µg/ml). Asimismo, únicamente hubo que ajustar las curvas de 16 compuestos para que cumplieran los criterios de calibración del método 8270E de la EPA. Los criterios del método 8270E de la EPA se cumplieron para la calibración inicial en un intervalo analítico de 0,02 a 100 µg/ml en un análisis único de 12 minutos de duración en el que se usaron H<sub>2</sub> como gas portador y la fuente HydroInert; además, se mantuvieron la fidelidad de los espectros de masas y las transiciones en MRM existentes para los compuestos susceptibles a reaccionar con el H<sub>2</sub>.

## Referencias

1. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270D. *United States Environmental Protection Agency*, Revisión 4, febrero de **2007**.
2. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270E. *United States Environmental Protection Agency*, Revisión 4, junio de **2018**.
3. Churley, M.; Quimby, B.; Andrianova, A. A Fast Method for EPA 8270 in MRM Mode Using the 7000 Series Triple Quadrupole GC/MS, *nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5994-0691EN, **2019**.

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

DE73549906

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2022  
Impreso en EE. UU., 27 de mayo de 2022  
5994-4891ES