

Analisi rapida dei pesticidi nel tabacco tramite LC/MS/MS e GC/MS/MS



Le pratiche agricole di coltivazione, produzione e stoccaggio del tabacco in genere prevedono l'applicazione di pesticidi per il controllo di parassiti, batteri e funghi. A causa dei diffusi timori riguardanti le ripercussioni su ambiente e salute derivanti dalla presenza di pesticidi nel tabacco, i metodi analitici di valutazione della sicurezza devono rispettare i livelli di riferimento per i residui (GRL) prescritti da CORESTA.¹

L'ampia varietà di ingredienti presenti nel tabacco, inclusi carboidrati, proteine, acidi grassi, cere, pigmenti, alcaloidi e nicotina, rendono questo prodotto una matrice complessa per l'estrazione multiresiduale dei pesticidi e la rimozione della matrice.

I metodi di preparazione del campione comunemente impiegati in genere prevedono l'estrazione QuEChERS o QuEChERS modificata, seguita dalla purificazione tramite SPE dispersiva. Le cartucce Agilent Captiva EMR con Carbon S utilizzano una metodologia di purificazione pass-through per la rimozione rapida ed efficiente della matrice del campione. Le cartucce Captiva EMR General Pigmented Dry (EMR-GPD) ed EMR Low Pigmented Dry (EMR-LPD) sono appositamente concepite per le matrici secche complesse. Entrambe le

cartucce contengono gli adsorbenti proprietari Agilent Carbon S e Captiva EMR-Lipid, miscelati con ammina primaria e secondaria (PSA) e C18 in una formulazione ottimizzata.

L'adsorbente Captiva EMR-Lipid assicura un'elevata selettività e un'efficiente rimozione dei lipidi, mentre l'adsorbente PSA rimuove efficientemente gli acidi grassi. L'adsorbente Carbon S è efficace nella rimozione dei pigmenti, mentre l'EC-C18 permette un'ulteriore purificazione della matrice idrofoba. La formulazione in miscela è stata accuratamente sviluppata e ottimizzata in modo da ottenere l'equilibrio ottimale tra la rimozione della matrice e il recupero dei target per matrici secche complesse con vari livelli di componenti pigmentati. Nel caso delle matrici secche pigmentate generali, solitamente è consigliato l'uso di Captiva EMR-GPD, mentre per le matrici secche vegetali complesse a bassa pigmentazione si preferisce Captiva EMR-LPD.

Il tabacco è considerato una matrice secca a lieve pigmentazione e, pertanto, per questa matrice è più indicata la cartuccia Captiva EMR-LPD. Dopo l'estrazione QuEChERS tradizionale sono state utilizzate cartucce Captiva EMR-LPD per la purificazione pass-through (Figura 1).²

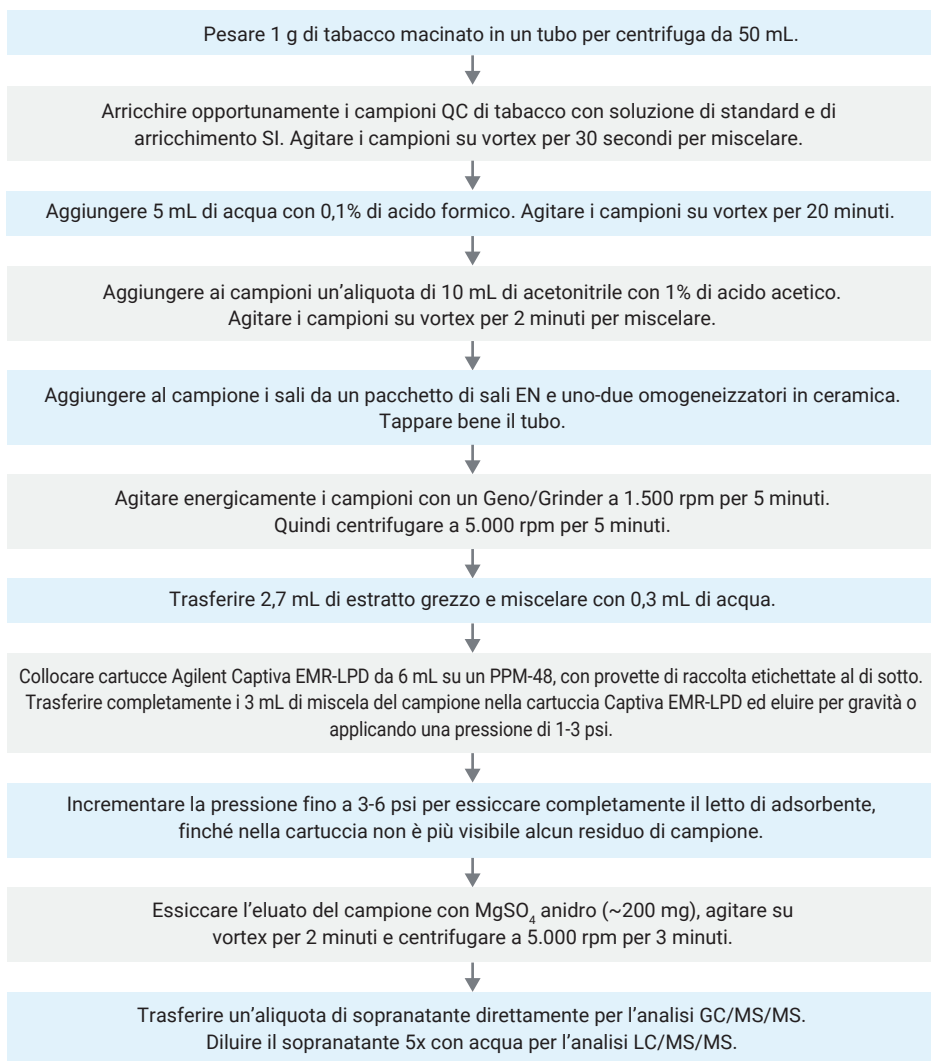


Figura 1. Procedura di preparazione di campioni di tabacco mediante estrazione con metodo AOAC Agilent Bond Elut QuEChERS, seguita dalla purificazione pass-through con Agilent Captiva EMR-LPD.

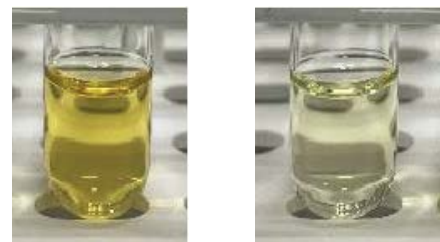


Figura 2. Estratto di tabacco: senza purificazione (a sinistra) e dopo la purificazione con Agilent Captiva EMR-LPD (a destra).

Tabella 1. Condizioni del metodo LC/MS/MS.

Condizioni LC			
Colonne	Colonna Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2,1 × 100 mm, 1,8 µm (codice 959758-902) Precolonna UHPLC per colonna Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2,1 × 5 mm, 1,8 µm (codice 821725-901)		
Velocità di flusso	0,3 mL/min		
Temperatura della colonna	40 °C		
Volume di iniezione	2 µL		
Fase mobile	A: formiato di ammonio 10 mM, fluoruro di ammonio 0,5 mM in acqua, acido formico (FA) 0,125% B: formiato di ammonio 10 mM, fluoruro di ammonio 0,5 mM in ACN:acqua 95:5, FA 0,125%		
Lavaggio dell'ago	ACN:MeOH:IPA:acqua 1:1:1:1, FA 0,2%		
Gradiente	Tempo (min)	%B	Flusso (mL/min)
	0,0	15	0,3
	6,0	95	0,3
	8,01	100	0,3
Tempo finale	10 min		
Tempo post-analisi	2,3 min		
Condizioni MS			
Modalità di ionizzazione	ionizzazione electrospray (ESI)		
Temperatura del gas	120 °C		
Flusso del gas	20 L/min		
Nebulizzatore	40 psi		
Riscaldatore dello sheath gas	225 °C		
Flusso dello sheath gas	11 L/min		
Tensione capillare	4.500 V (positivo e negativo)		
Tensione ugello	0 V (positivo e negativo)		
Parametri iFunnel	RF alta pressione: 150 V (positivo), 90 V (negativo) RF bassa pressione: 60 V (positivo), 60 V (negativo)		
Polarità	Positiva e negativa, fare riferimento alla Tabella 4 dal riferimento 1.		

Nota: nel caso della tecnica GC/MS/MS l'eluato del campione deve essere essiccato utilizzando MgSO₄ anidro in polvere. È possibile utilizzare il contenuto di una piccola spatola di MgSO₄ anidro in polvere (200-300 mg) dalla bustina di essiccazione Agilent Bond Elut QuEChERS EMR-Lipid.

Le condizioni LC/MS/MS sono riportate nella Tabella 1. Per ottenere i parametri del monitoraggio dinamico di reazioni multiple (dMRM o dynamic MRM) target consultare la nota applicativa di Zhao.³

Tabella 2. Condizioni del metodo GC/MS/MS.

Condizioni GC	
Colonne	Colonna per GC Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert, 15 m x 0,25 mm, spessore del film 0,25 µm (due) (codice 19091S-431UI-KEY)
Carrier gas	Elio
Flusso colonna 1	1,016 mL/min
Flusso colonna 2	1,216 mL/min
Volume di iniezione	1 µL in splitless a freddo
Liner dell'iniettore	Liner svasato Ultra Inert Agilent da 2 mm (codice 5190-2297)
Programma di temperatura MMI	60 °C per 0,1 min, 600 °C/min fino a 280 °C e mantenimento
Programma di temperatura del forno	60 °C per 1 min 40 °C/min fino a 170 °C 10 °C/min fino a 310 °C Mantenimento per 2,25 min
Tempo di corsa	20 min
Condizioni di backflush	1,5 min post-corsa Temperatura del forno 310 °C Flusso totale post-corsa 25 mL/min
Temperatura transfer line	280 °C
Sorgente	Sorgente Extractor inerte Agilent con lente da 3 mm, 280 °C
Pompa per vuoto	Turbo performance
Temperatura del quadrupolo	150 °C
Temperatura della sorgente	280 °C
Monitoraggio dei dati	Modalità dynamic MRM (dMRM)
Fattore di guadagno tensione EM	10
Solvent delay	3 min

Le condizioni GC/MS/MS sono riportate nella Tabella 2. Per ottenere i parametri dMRM target consultare il database MRM per pesticidi e inquinanti ambientali (P&EP 4) Agilent MassHunter (codice [G9250AA](#)).

Bibliografia

1. CORESTA GUIDE No. 1, Agrochemical Guidance Residue Levels, 2021
2. Determination of Over 300 Pesticides in Tobacco Using Agilent Captiva EMR-LPD Passthrough Cleanup and LC/MS/MS and GC/MS/MS Detection [5994-5777EN](#)
3. Determination of Multiclass, Multiresidue Pesticides in Spring Leaf Mix Using Captiva EMR-HCF Passthrough Cleanup and LC/MS/MS [5994-4765EN](#)

Informazioni per scegliere e ordinare facilmente

Per ordinare su Agilent Online Store gli articoli in elenco è sufficiente fare clic sui collegamenti con l'intestazione Il mio elenco. Inserire quindi le quantità dei prodotti richieste, aggiungere gli articoli al carrello e procedere al pagamento. L'elenco rimarrà tra i Prodotti preferiti in modo che sia possibile disporre per gli ordini futuri. Questa funzione è disponibile soltanto nelle regioni in cui è abilitato l'e-commerce.

Se è la prima volta che utilizzi la funzionalità Prodotti preferiti, ti verrà richiesto di inserire il tuo indirizzo e-mail per la verifica dell'account. Se sei titolare di un account Agilent esistente, potrai eseguire l'accesso. Tuttavia, se ancora non disponi di un account Agilent registrato, dovrai registrarne uno. Tutti gli articoli possono essere ordinati anche tramite i normali canali di vendita e distribuzione.

Il mio elenco 1: prodotti di consumo per la preparazione del campione per l'analisi di pesticidi nel tabacco

Descrizione	Codice
Estrazione	
Kit di estrazione Agilent Bond Elut QuEChERS, AOAC 2007.01, senza omogeneizzatori in ceramica	5982-5755
Omogeneizzatori in ceramica, tubi da 50 mL, 100/conf.*	5982-9313
Kit di estrazione Agilent Bond Elut QuEChERS, AOAC 2007.01, con omogeneizzatori in ceramica	5982-5755CH
Purificazione	
Cartuccia Agilent Captiva EMR-LPD, 6 mL, 30/conf.	5610-2092
Bustina di essiccamento Agilent Bond Elut QuEChERS EMR-Lipid, 3,5 g di MgSO ₄ anidro	5982-0102
Altri prodotti di consumo essenziali per la preparazione del campione	
Processore per collettore a pressione positiva 48 Agilent**	5191-4101
Tubo per centrifuga e tappo, polipropilene, 50 mL, 25/conf.	5610-2049
Rack cartucce SPE da 6 mL per PPM-48**	5191-4104
Rack cartucce SPE da 3 mL per PPM-48**	5191-4103
Rack di raccolta per provette da 16 x 100 mm**	5191-4108

*Necessari esclusivamente se si utilizzano kit di estrazione senza omogeneizzatori in ceramica.

**Acquisto una tantum.

Il mio elenco 2: colonne e prodotti di consumo LC/MS/MS per l'analisi di pesticidi in spezie essiccate e tabacco

Descrizione	Codice
Standard*	
Miscela di 254 composti standard pronta all'uso, 8 x 1 mL, 100 µg/mL ciascuno	5190-0551
Colonne per HPLC	
Colonna Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 95 Å, 2,1 x 100 mm, 1,8 µm, limite di pressione 1200 bar	959758-902
Precolonna UHPLC per colonna Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2,1 x 5 mm, 1,8 µm	821725-901
Prodotti di consumo per HPLC	
Filtro in linea Agilent 1290 Infinity da 0,3 µm	5067-6189
Gruppo InfinityLab Quick Connect, 0,12 x 105 mm, per collegamento dell'ingresso colonna su UHPLC	5067-5957
Gruppo InfinityLab Quick Connect, 0,17 x 105 mm, per collegamento dell'ingresso colonna su HPLC	5067-6166
Raccordo Quick Turn InfinityLab, per uscita colonna	5067-5966

Descrizione	Codice
Capillare Quick Turn da 0,12 x 280 mm, per collegamento da colonna a rivelatore	5500-1191
Kit di tappo di scarico Stay Safe GL45 con 4 aperture e contenitore di scarico da 6 L	5043-1221
Filtro al carbone con striscia time strip per contenitore di scarico	5043-1193
Filtro solvente in ingresso in acciaio inossidabile, dimensione pori 10 µm	01018-60025
Solventi e reagenti	
Acetonitrile per LC/MS InfinityLab Ultrapure	5191-4496
Metanolo per LC/MS InfinityLab Ultrapure	5191-4497
Acqua per LC/MS InfinityLab Ultrapure	5191-4498
Soluzione per MS, acido formico, purezza 99,5%, 10 mL**	US-700002341
Soluzione di formiato di ammonio 5 M	G1946-85021
Gruppo di filtrazione del solvente***	
Gruppo di filtrazione del solvente InfinityLab, include imbuto in vetro, 250 mL, base in vetro del supporto della membrana, matraccio in vetro da 1 L e morsetto in alluminio	5191-6776
Membrana del filtro in cellulosa rigenerata, 47 mm, 0,20 µm 100/conf.	5191-4340
Vial e tappi	
Vial A-Line Agilent certificati ambrati (chiusura a vite), 100/conf.	5190-9590
Inseri disattivati per vial Agilent, 400 µL, 500 conf.	5183-2086
Tappi a vite Agilent, setti in PTFE/silicone/PTFE, dimensioni del tappo: 12 mm, 100/conf.	5190-7024

*Rivolgersi ad Agilent per standard di pesticidi premiscelati personalizzati.

**Non acquistabile online. Contattare il rappresentante locale Agilent per ottenere informazioni su come ordinare.

***Consigliato se si utilizzano solventi diversi da quelli elencati in questa tabella.

Il mio elenco 3: colonne e prodotti di consumo GC/MS/MS per l'analisi di pesticidi in spezie essiccate e tabacco

Descrizione	Codice
Colonne per GC	
Agilent HP-5ms UI, 15 m x 0,25 mm, spessore del film 0,25 µm (due)	19091S-431 UI-KEY
Prodotti di consumo per GC	
Liner svasato Ultra Inert Agilent da 2 mm	5190-2297
Siringa conica e pistone con punta in PTFE Agilent Blue Line da 10 µL	G4513-80203
Setto Agilent Advanced Green, antiaderente da 11 mm	5183-4759
Dado per colonna, con collare, autoserrante, iniettore/ rivelatore	G3440-81011
Dado per colonna, con collare, autoserrante, MSD	G3440-81013
Ferrula metallica flessibile, dorata, d.i. 0,4 mm, per tubi in silice fusa con d.i. tra 0,1 e 0,25 mm, 10/conf.	G2855-28501
Prodotti di consumo per MS	
Filamento HES per sistema GC/MS a triplo quadrupolo Agilent 7010	G7002-60001
Lente di estrazione, 3 mm	G7000-20444
Vial e tappi	
Vial A-Line Agilent certificati ambrati (chiusura a vite), 100/conf.	5190-9590
Inseri disattivati per vial Agilent, 250 µL, 100 conf.	5181-8872
Tappi a vite Agilent, setti in PTFE/silicone/PTFE, dimensioni del tappo: 12 mm, 100/conf.	5190-7024

Nota: il database MRM per pesticidi e inquinanti ambientali include oltre 1.100 pesticidi e inquinanti ambientali rappresentativi di più classi di composti per una configurazione rapida e semplice dell'analisi GC/MS/MS. Rivolgersi al rappresentante locale richiedendo il codice G9250AA.

Agilent CrossLab: competenza reale, risultati concreti

CrossLab non si limita alla strumentazione ma offre servizi, prodotti di consumo e gestione delle risorse dell'intero laboratorio. Il tuo laboratorio può così migliorare l'efficienza, ottimizzare le operazioni, aumentare il tempo di operatività degli strumenti, sviluppare le competenze degli utilizzatori e molto altro ancora.

Maggiori informazioni su Agilent CrossLab, oltre ad esempi pratici che si traducono in ottimi risultati, sono disponibili all'indirizzo

www.agilent.com/crosslab

Per ottenere maggiori informazioni o altre guide per ordinare, visitare il sito: www.agilent.com/chem/ordering-guides

Per trovare un centro assistenza clienti Agilent nel proprio Paese:

www.agilent.com/chem/contactus

Italia

Numero verde 800 012 575

customercare_italy@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Asia Pacifico

inquiry_lsca@agilent.com