

ANÁLISIS DE MULTIRRESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN FRUTAS DE PEPITA, BANANAS Y HORTALIZAS DE HOJA POR CROMATOGRFÍA LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE TRIPLE CUADRUPOLO. OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO

MULTI-RESIDUE PESTICIDE ANALYSIS IN POME FRUIT, BANANA AND LEAFY VEGETABLES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH TRIPLE QUADRUPOLE MASS SPECTROMETRY. OPTIMIZATION AND VALIDATION OF THE METHOD

Verónica Claudia Vanderhoeven, Viviana Beatriz Fioretti y Silvia Nora Puebla (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria)

Resumen

El análisis de residuos de plaguicidas en alimentos es un desafío debido al gran número de analitos que necesitan ser controlados y a las bajas concentraciones de estos. Además, el desarrollo del método es laborioso debido a los parámetros dependientes de cada plaguicida que deben ser optimizados.

El informe describe los parámetros analíticos y de validación de los 82 plaguicidas incluidos en el análisis. La presencia de los plaguicidas fue determinada por cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masa en tándem con ionización electrospra y (LC-ESI-MS/MS) operando en modo monitoreo dinámico de reacción múltiple ion positivo (DMRM).

La extracción y la limpieza de las muestras se realizaron utilizando el método QuEChERS (por sus siglas en inglés, que representan "Rápido, Fácil, Barato, Efectivo, Robusto y Seguro").

La mayor parte de las recuperaciones estuvieron entre un 70 y un 110 % con desviaciones estándar relativas menores que el 10 % en la mayoría de los plaguicidas. Los límites de cuantificación, para todos los plaguicidas, estuvieron por debajo de los límites máximos de residuos establecidos por las reglamentaciones nacionales y europeas más exigentes.

Palabras clave: optimización, validación, multirresiduos, plaguicidas, LC/MS/MS.

Abstract

The analysis of pesticide residues in food samples is a challenge, due to the large number of analytes that need to be monitored and their low concentrations. In addition, method development is laborious, because of the compound dependent parameters that need to be optimized.

The report describes analytical and validation parameters of the 82 pesticides included in the analysis.

The presence of the pesticides were determined by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) operating in positive ion Dynamic Multiple Reaction Monitoring (DMRM) mode.

The samples extraction and clean-up was performed by using QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) method.

Most recoveries ranged between 70% and 110% with relative standard deviations below 10% in most of the pesticides. The limits of quantification, for all of the pesticides, was below the maximum residue limits established by the more stringent national and European regulations.

Keywords: optimization, validation, multiresidues, pesticides, LC/MS/MS.

Introducción

En la actualidad se utilizan en la agricultura una creciente variedad de plaguicidas que son potencialmente peligrosos para el medio y también para los seres humanos, a través del consumo de los alimentos. Estos productos deben ser controlados para asegurar que los límites máximos de residuos (LMR) establecidos no sean violados.

Con los avances de la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masa en tándem con ionización

electrospray, la técnica fue ganando aceptación rápidamente para el análisis de residuos de plaguicidas, especialmente para aquellos difíciles de detectar por cromatografía gaseosa por ser plaguicidas polares o térmicamente inestables. La técnica permite el análisis simultáneo de múltiples plaguicidas.

Objetivo

El objetivo del trabajo fue optimizar y validar la técnica para el análisis simultáneo de 82 plaguicidas de interés en manzana, banana y acelga.

Materiales y métodos

Equipamiento

- Cromatógrafo de líquidos/masas de triple cuadrupolo Agilent 6490 (Agilent Technologies).
- Generador de nitrógeno Genius 3010 (Peakscientific) para desolvatación.
- Tubo de nitrógeno de calidad cromatográfica para celda de colisión.
- Balanza analítica.
- Centrífuga.
- Procesadora de alimentos.
- Columna cromatográfica ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 (2,1 x 100 mm, 1.8 µm (Agilent Technologies).
- Tubos de centrífuga de polipropileno de 50 y de 15 ml.
- Filtros de nylon de 0,2 µm de tamaño de poro para la fase móvil.
- Filtros de jeringa de nylon de 0,2 µm de tamaño de poro para las muestras.

Patrones y reactivos

- Patrones de plaguicidas certificados de alta pureza.
- Agua calidad LC-MS.
- Metanol calidad LC-MS.
- Formiato de amonio calidad LC.
- Ácido fórmico calidad LC.
- Acetonitrilo calidad LC.
- Acetona, tolueno y acetato de etilo calidad grado plaguicida.
- Ácido acético calidad p. a.
- Sulfato de magnesio anhidro calidad p. a.
- Acetato de sodio anhidro calidad p. a.
- Combinación de aminas primarias y secundarias (PSA).

Diseño de la validación

Se prepararon soluciones madres individuales de patrones para cada plaguicida de 1000 µg/ml (ppm) en metanol, acetona, tolueno, hexano y acetato de etilo, dependiendo de la solubilidad, a partir de las cuales, por sucesivas diluciones, se prepararon soluciones mezcla diluidas de los 82 plaguicidas a concentraciones de 0,005 – 0,01 – 0,05 y 0,1 µg/ml (ppm) para efectuar las curvas de calibración. Se realizó una curva de calibración en solvente y una en matriz para las diferentes matrices analizadas. Para la preparación de los blancos y de los blancos fortificados se partió de un macerado homogéneo de las frutas y hortalizas en estudio, previa verificación de la ausencia de los plaguicidas analizados (excepto en el caso de la manzana, que presentó residuos de Fludioxonil). Se pesaron porciones de 10,0 g en tubos de centrífuga de polipropileno, se fortificaron dos blancos a concentraciones de 0,1 y 0,01 µg/g (ppm). Se realizaron triplicados, tanto de los blancos como de los blancos fortificados.

Extracción y limpieza

La extracción de los blancos y de los blancos fortificados se realizó en un tubo de centrífuga de polipropileno de 50 ml con tapa, añadiendo 10 ml de acetonitrilo con 1 % de ácido acético, 4 g de sulfato de magnesio anhidro y 1 g de acetato de sodio anhidro. Se agitó vigorosamente durante un minuto, se centrifugó durante cinco minutos a 4000 rpm, se trasvasó la fase superior a un tubo de centrífuga de polipropileno de 15 ml con tapa con una mezcla de 500 mg de sulfato de magnesio y 150 mg de PSA. Se agitó vigorosamente durante un minuto, se centrifugó durante cinco minutos a 4000 rpm, se tomaron 2 ml de la muestra y se filtraron con filtros de jeringa, descartando las primeras gotas y se recolectaron en viales para su inyección en el cromatógrafo.

Parámetros cromatográficos

- Fase Móvil (gradiente).
 - Solvente A: H₂O, formiato de amonio 5 mM, ácido fórmico 0,012 %.
 - Solvente B: MeOH, formiato de amonio 5 mM, ácido fórmico 0,012 %.
- Rampa de trabajo:
 - De 0 a 0,5 min: solvente A 94 % y solvente B 6 %.
 - De 18 a 20 min: solvente A 5 % y solvente B 95 %.
 - De 21 a 25 min: solvente A 0 % y solvente B 100 %.

- Flujo: 0,4 ml/min.
- Volumen de inyección: 5 µl.
- Temperatura de columna: 40 °C.

Optimización de los parámetros específicos para cada plaguicida

Uno de los mayores desafíos en el desarrollo del modo monitoreo dinámico de reacción múltiple (DMRM) es crear la secuencia de tiempos de los eventos MS/MS y las condiciones del espectrómetro de masas necesarias para maximizar la sensibilidad y especificidad. Utilizando el software OPTIMIZER se buscó para cada plaguicida los iones padre más abundantes y luego las dos transiciones a iones hijos más abundantes (transición de cuantificación y transición de confirmación) y las condiciones voltaje y energía de colisión óptimas para maximizar cada una de estas transiciones. Ver tabla N.º 1.

Parámetros del espectrómetro de masa

- Fuente de iones: Electrospray (ESI).
- Polaridad: positiva.
- Temperatura del gas: 200 °C.
- Flujo del gas: 17 l/min.
- Nebulizador: 30 psi.
- Temperatura del gas envolvente: 250 °C.
- Flujo del gas envolvente: 11 l/min.
- Voltaje del capilar: 3000 V.
- Modo de escaneo: monitoreo de reacciones múltiples dinámico (DMRM).
- Voltaje de celda de aceleración: 5 V.
- Fragmentador: 380 V.

PLAGUICIDA	TR	TRANSICIÓN CUANTIFICACIÓN	TRANSICIÓN CONFIRMACIÓN
Acefato	2,35	184,00→143,00	184,00→95,00
Acetamiprid	6,90	223,10→126,00	223,10→90,00
Acetoclor	13,93	270,10→224,10	270,10→148,00
Aldicarb	8,25	116,00 →89,00	116,00→70,00
Ametrina	12,43	228,10→186,10	228,10→96,40
Azoxistrobina	12,90	404,10→372,20	404,10→344,20
Benalaxil	15,00	326,20→148,10	326,20→294,00
Bifentrín	18,61	440,20→181,10	440,10→166,10
Bromacil	9,60	261,03→204,90	261,03→187,90
Carbaril	10,34	202,09→145,00	202,90→127,10
Carbendazim	6,19	192,10→160,10	192,10→132,10
Carbofurán	9,73	222,10→123,00	222,10→165,10
Ciproconazole	13,45	292,12→70,00	292,12 →125,00
Clodinafop-propagil-éster	14,68	350,10→266,00	350,10→91,10
Clofentezine	15,25	303,00→138,10	303,00→102,10
Clomazone	12,28	240,08→125,00	240,08→89,00
Cloquintocet-1-metil-etil-éster	16,60	336,10→238,10	336,10→192,00
Clorantraniliprole	12,44	481,98→284,00	481,98→451,00
Clorfenvinfos	15,08	359,00→155,10	359,00→99,00
Clorpirifós	16,79	349,90→97,00	349,90→197,90
Cymoxanil	7,30	199,09→127,90	199,09→111,00
Cyprodinil	14,65	226,10→93,10	226,10 → 108,20
Diazinón	15,03	305,10→169,10	305,10→153,10
Difenoconazole	15,64	408,20→251,10	408,20→253,10

PLAGUICIDA	TR	TRANSICIÓN CUANTIFICACIÓN	TRANSICIÓN CONFIRMACIÓN
Diflubenzurón	14,34	311,00→158,10	311,00→141,10
Diflufenicán	15,84	395,10→266,10	395,10→246,10
Dimetoato	6,60	230,00→125,00	230,00→199,00
Diurón	11,64	233,00→71,90	233,00→160,00
Epoxiconazole	14,12	330,10→121,10	330,10→123,00
Etil azinfos	13,90	346,00→97,00	346,00→77,00
Etión	16,68	385,00→199,00	385,00→171,00
Etoprofós	13,98	243,10→97,00	243,10→131,00
Fenarimol	13,91	331,00→268,00	331,00→81,00
Fenazaquín	17,70	307,20→57,00	307,20→161,00
Fenbuconazole	14,28	337,10→70,10	337,10→125,00
Fenoxaprop-p-etilo	16,17	362,10→287,90	362,10→91,00
Fentión	14,77	279,00→169,00	279,00→104,90
Fentoato	14,60	321,00→135,00	321,00→107,00
Fludioxonil	12,95	266,10→229,10	266,10→158,00
Fluroxipir-metil	17,03	367,10→254,90	367,10→208,80
Flusilazole	14,41	316,10→246,90	316,10→165,00
Flutriafol	11,45	302,10→70,10	302,10→123,00
Fosfamidón	9,22	300,10→127,00	300,10→174,10
Fosmet	12,34	318,00→160,00	318,00→76,90
Haloxifop-p-etilo	15,69	376,10→91,10	376,10→288,00
Hexazinona	9,81	253,20→171,10	253,20→71,10
Imazalil	11,87	297,10→159,00	297,10→201,00
Imazaquín	9,21	312,10→198,90	312,10→86,00
Imidacloprid	6,02	256,10→209,00	256,10→175,10
Kresoxim-metil	14,66	314,10→222,00	314,10→267,00
Lenacil	11,42	235,10→153,10	235,10→136,10
Linurón	12,51	249,00→160,00	249,00→182,00
Lufenurón	16,69	511,00→158,10	511,00→141,00
Metalaxil	11,72	280,20→220,20	280,20→192,20
Metamidofós	1,67	142,00→94,10	142,00→125,00
Metidatión	11,93	303,00→145,10	303,00→85,10
Metil azinfós	12,22	318,00→132,00	318,00→261,00
Metil clorpirifós	15,51	321,90→125,10	321,90→79,10
Metil tiofanato	9,81	343,10→151,00	343,10→311,00
Metiocarb	12,76	226,10→169,10	226,10→121,10
Metolacloro	14,16	284,10→251,90	284,10→176,00
Metomil	4,41	163,10→88,00	163,10→106,00
Metoxifenocida	13,50	369,20→149,10	369,20→91,00

PLAGUICIDA	TR	TRANSICIÓN CUANTIFICACIÓN	TRANSICIÓN CONFIRMACIÓN
Metribuzín	9,43	215,10→187,20	215,10→84,10
Metsulfuron-metil	9,47	382,10→167,10	382,10→198,90
Miclobutanil	13,50	289,10→70,10	289,10→125,00
Nicosulfurón	9,63	411,10→181,90	411,10→212,90
Novalurón	16,1	493,00→158,10	493,00→141,00
Pendimetalin	16,86	282,20→211,90	282,20→193,90
Picoxistrobín	14,49	368,10→205,10	368,10→145,10
Pirimicarb	10,71	239,20→72,10	239,20→182,20
Pirimifos-metil	15,33	306,10→108,10	306,10→164,10
Procloraz	15,21	376,00→308,10	376,00→70,00
Prometrina	13,66	242,20→158,10	242,20→200,10
Propamocarb	3,06	189,20→102,10	189,20→144,10
Propiconazole	14,95	342,10→159,00	342,10→69,10
Pyrimetanil	12,51	200,10→106,90	200,10→81,90
Quinalfós	14,55	299,10→163,10	299,10→147,10
Spiroclifofen	17,47	411,10→71,00	411,10→313,00
Sulfotep	14,76	323,00→96,90	323,00→114,90
Tebuconazole	14,81	308,20→70,00	308,20→151,00
Tiabendazol	7,45	202,00→175,00	202,00→131,10

Tabla N.º 1: Plaguicidas incluidos, sus correspondientes tiempos de retención (TR) y transiciones.

En la Figura N.º 1 podemos ver un cromatograma de una mezcla de los 82 plaguicidas de concentración 0,1 ppm donde se observan superpuestos en distintos colores los cromatogramas individuales de cada transición de los distintos plaguicidas.

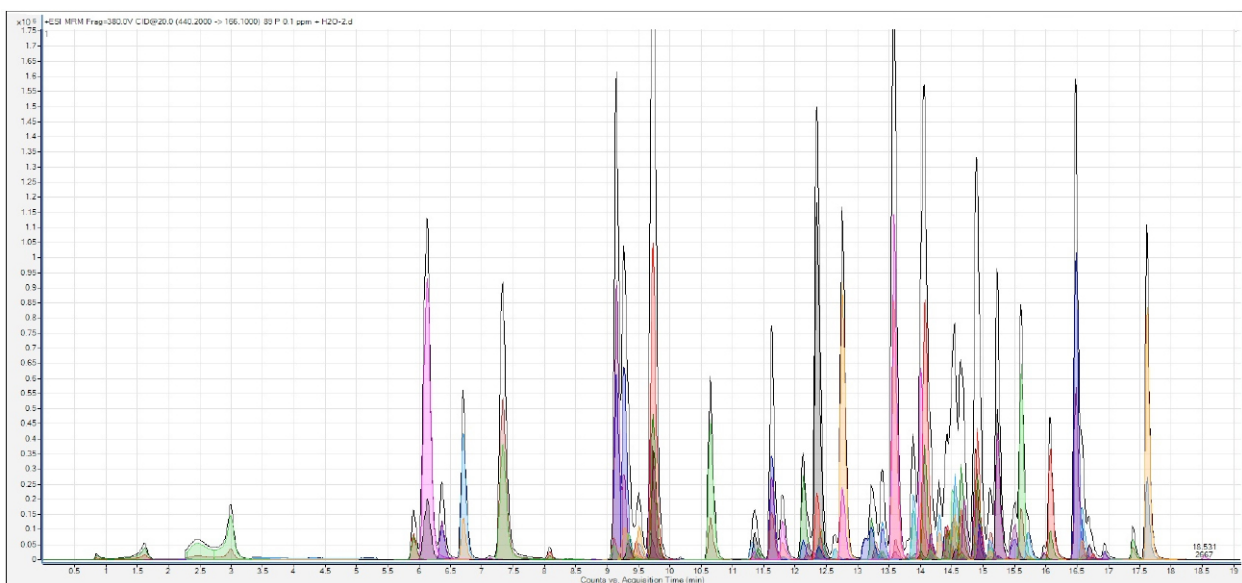


Figura N.º 1: Cromatograma de la mezcla de los 82 plaguicidas.

Curvas de calibración/cuantificación

Utilizando el software QUANTITATIVE se confeccionaron las curvas de calibración en solvente y en matriz para cada uno de los plaguicidas. Los patrones de plaguicidas de las concentraciones mencionadas anteriormente fueron inyectados al comienzo y al final de la tanda; en el medio se inyectaron por duplicado cada uno de los triplicados de los blancos y de los blancos fortificados a 0,1 y 0,01 µg/g (ppm). A modo de ejemplo, en la Figura N.º 2 vemos los cromatogramas y el espectro y, en la Figura N.º 3, la curva de calibración en matriz para Benalaxil.

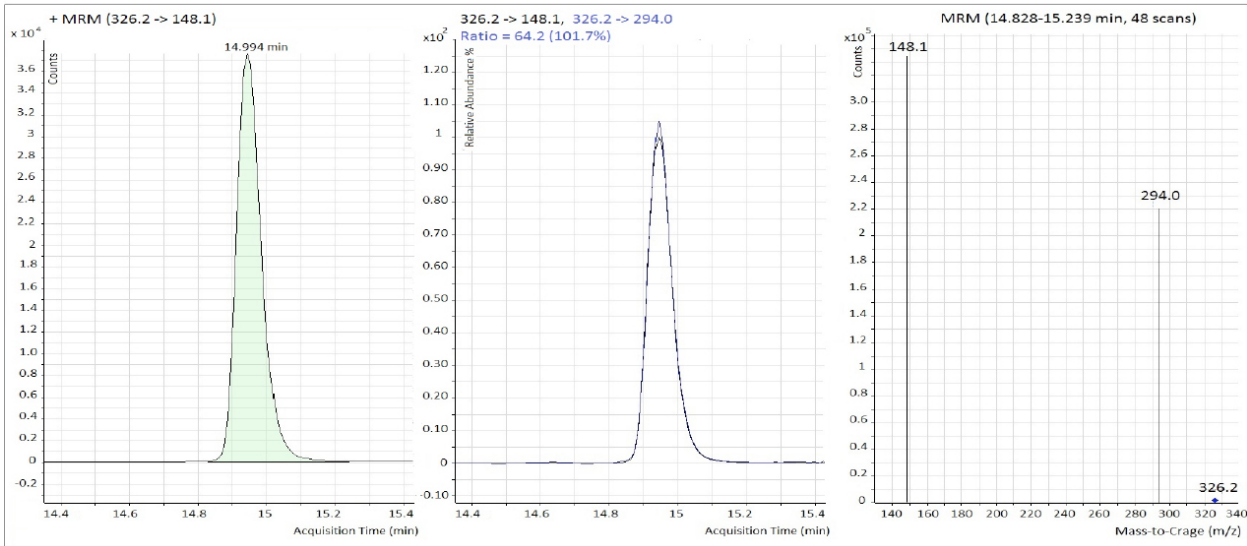


Figura 2: cromatogramas de las transiciones de cuantificación (326,2à148,1) y de confirmación (326,2à294,0) junto al espectro del Benalaxil.

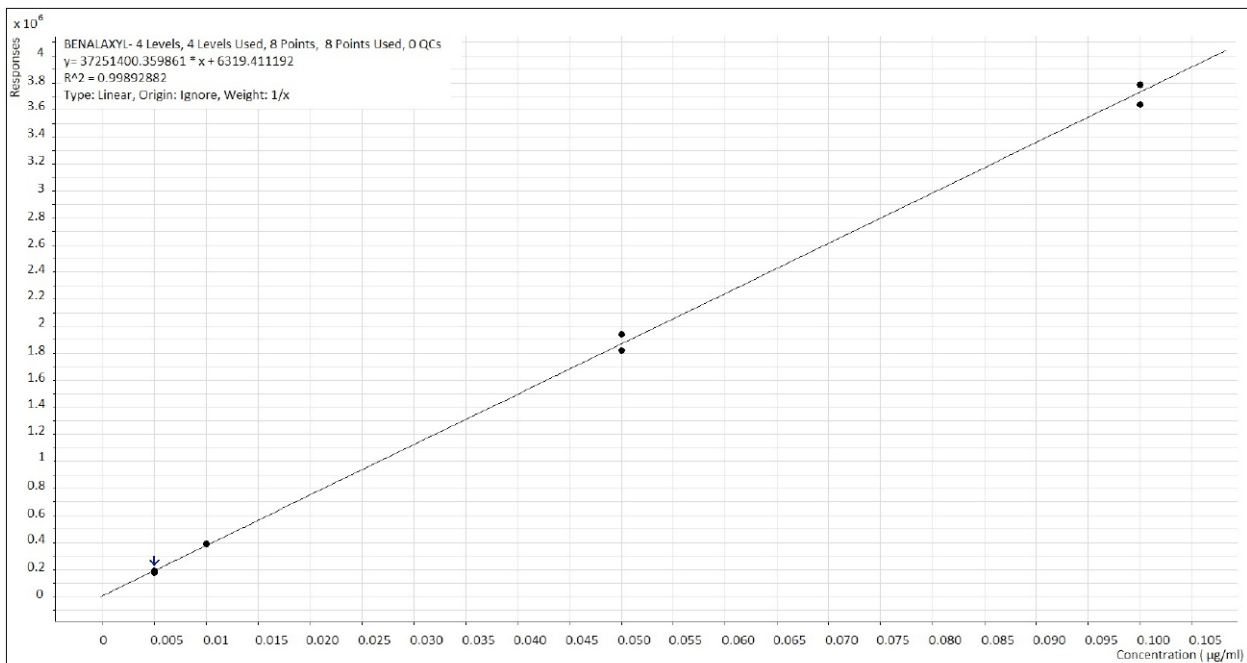


Figura N.º 3: Curva de calibración del Benalaxil en matriz.

Resultados

Para los blancos fortificados se determinaron la recuperación porcentual (R %) promedio y la desviación estándar relativa porcentual (DSR %) promedio de los plaguicidas en las matrices analizadas, datos que figuran en la Tabla N.º 2.

PLAGUICIDA	ACELGA		BANANA		MANZANA	
	R%	DSR%	R%	DSR%	R%	DSR%
Acefato	93,6	2,3	88,8	4,4	88,4	3,7
Acetamiprid	96,3	3,0	94,1	2,8	91,1	1,7
Acetoclor	96,0	2,2	98,7	2,4	93,0	6,1
Aldicarb	96,4	5,5	96,2	2,4	88,1	2,4
Ametrina	94,8	3,6	93,3	3,6	88,3	1,3
Azoxistrobina	95,8	2,1	97,8	3,9	88,3	2,6
Benalaxil	96,0	3,1	99,1	4,4	92,9	3,0
Bifentrín	65,5	16,4	84,7	5,3	86,3	3,6
Bromacil	96,2	8,5	88,2	3,9	84,8	2,0
Carbaril	71,9	5,9	96,7	3,9	89,3	2,0
Carbendazim	95,5	4,7	91,9	2,6	68,6	25,8
Carbofuran	76,5	21,4	113,5	34,0	91,2	2,3
Ciproconazole	94,2	4,1	93,1	3,0	85,7	2,7
Clodinafop-propagil-éster	93,4	2,1	97,9	3,3	88,2	3,7
Clofentezine	94,1	2,2	95,3	3,0	85,9	2,6
Clomazone	96,8	2,5	97,6	2,9	90,9	2,0
Cloquintocet-1-metil-etil-éster	92,9	3,1	95,0	2,3	89,1	2,9
Clorantraniliprole	96,5	2,4	97,1	4,0	91,1	2,7
Clorfenvinfós	98,4	2,2	101,0	3,7	90,0	1,9
Clorpirifós	90,1	5,4	96,3	4,4	97,0	6,7
Cymoxanil	94,9	5,1	94,7	3,3	93,9	2,4
Cyprodinil	92,9	2,6	97,2	4,2	90,2	2,7
Diazinon	95,3	2,4	98,4	2,2	86,2	4,1
Difenoconazole	93,6	4,0	90,5	2,3	83,4	1,9
Diflubenzurón	94,9	1,9	97,3	3,1	89,8	2,1
Diflufenicán	92,4	2,3	98,5	3,4	71,2	6,1
Dimetoato	96,3	4,0	94,4	3,2	91,4	2,3
Diurón	95,0	1,3	94,6	2,8	90,0	2,4
Epoxiconazole	94,9	4,1	98,3	5,1	84,9	2,5
Etil azinfos	97,0	2,8	99,8	5,6	92,0	1,9
Etión	93,8	2,1	86,7	3,3	88,6	1,8
Etoprofos	94,8	2,5	98,8	2,5	89,8	3,4
Fenarimol	91,2	4,6	93,1	4,7	85,1	2,1
Fenazaquín	85,4	6,5	93,4	5,0	80,5	6,5
Fenbuconazole	93,4	3,0	98,2	3,8	98,2	2,6

PLAGUICIDA	ACELGA		BANANA		MANZANA	
	R%	DSR%	R%	DSR%	R%	DSR%
Fenoxaprop-p-etilo	94,9	2,5	96,7	4,7	85,3	3,6
Fentión	95,2	4,2	94,4	4,3	91,7	4,5
Fentoato	96,6	2,4	96,3	5,6	94,3	4,5
Fludioxonil	92,8	3,9	96,2	4,5	*	*
Fluroxipir-metil	89,5	7,4	93,2	3,1	75,1	6,0
Flusilazole	93,6	4,3	95,0	4,2	83,8	1,8
Flutriafol	92,0	6,1	94,2	1,6	83,9	1,1
Fosfamidón	95,8	2,6	96,0	3,0	87,2	2,2
Fosmet	96,3	2,5	97,5	4,0	93,1	2,2
Haloxifop-p-etilo	95,6	2,4	97,4	4,0	88,3	3,9
Hexazinona	78,6	14,4	103,3	28,2	89,0	2,1
Imazalil	83,9	7,5	96,5	2,5	87,9	6,6
Imazaquín	66,6	6,7	53,4	7,6	69,2	2,2
Imidacloprid	93,3	2,4	96,2	2,7	101,2	2,3
Kresoxim-metil	93,6	5,5	96,1	4,6	89,5	4,1
Lenacil	93,0	3,3	93,4	1,7	90,6	1,6
Linurón	94,6	3,3	95,2	2,9	91,9	1,9
Lufenurón	94,3	2,0	91,5	9,8	88,0	3,1
Metalaxil	96,2	2,1	97,5	2,4	85,8	3,1
Metamidofós	84,7	1,7	84,9	2,8	82,6	1,6
Metidatión	95,0	3,1	96,2	3,0	87,6	3,1
Metil azinfos	95,0	3,2	99,9	4,4	96,2	2,6
Metil clorpirifós	96,7	2,7	97,0	5,2	92,3	2,2
Metil tiofanato	75,9	11,9	99,3	27,2	112,5	30,0
Metiocarb	96,4	3,1	98,8	2,4	90,1	2,5
Metolacoloro	96,4	2,8	97,6	4,1	88,1	3,0
Metomil	107,1	8,1	95,7	4,4	91,1	4,2
Metoxifenocida	98,4	2,9	97,8	3,2	93,9	3,6
Metribuzín	92,0	7,1	93,4	4,3	90,8	12,9
Metsulfurón-metil	86,7	1,3	76,4	7,8	93,3	3,6
Miclobutanil	96,9	2,7	98,2	2,8	92,1	2,1
Nicosulfurón	81,0	4,6	58,4	12,0	80,1	2,9
Novalurón	96,2	0,9	108,8	4,3	95,2	4,6
Pendimetalín	97,2	3,0	95,8	5,4	90,6	3,1
Picoxistrobín	98,3	3,2	97,4	3,2	86,9	3,3
Pirimicarb	91,2	3,2	96,1	2,4	84,6	1,5
Pirimifos-metil	93,7	4,4	98,1	1,7	84,6	3,0
Procloraz	87,1	4,3	94,7	2,7	88,1	2,4
Prometrina	94,3	3,9	98,6	1,8	86,1	3,4

PLAGUICIDA	ACELGA		BANANA		MANZANA	
	R%	DSR%	R%	DSR%	R%	DSR%
Propamocarb	99,3	1,3	86,9	3,9	83,8	1,7
Propiconazole	92,9	4,4	91,7	3,7	86,6	4,3
Pyrimetanil	96,1	3,0	93,8	2,8	85,7	2,8
Quinalfós	98,1	2,6	99,1	4,0	89,0	1,6
Spirodiclofen	95,4	2,3	93,3	3,3	98,3	7,1
Sulfotep	99,2	2,1	94,8	2,6	91,7	4,5
Tebuconazole	94,6	5,3	96,1	4,8	89,8	2,3
Tiabendazol	91,8	6,3	86,9	3,4	99,1	15,6

Tabla N.º 2: R % promedio y DSR % promedio para los distintos plaguicidas en las matrices analizadas* No se pudo determinar Fludioxonil en manzana por la presencia de dicho plaguicida en el blanco.

Evaluación de los parámetros de validación

- Selectividad y especificidad: La identidad de cada plaguicida viene determinada por el tiempo de retención, por las dos transiciones y por la abundancia relativa de estas, por lo que la técnica es altamente selectiva y específica.
- Recuperación: Los resultados que figuran en la Tabla N.º 2 muestran que la mayoría de las recuperaciones medias están en el rango de 70 a 110 %.
- Linealidad: Se evalúa haciendo un estudio de los residuales de cada punto de la curva de calibración, los que no superaron 20 %; además, los coeficientes de correlación r^2 fueron para todos los plaguicidas superiores a 0,98.
- Precisión: Se calcula como la DSR % de repetitividad promedio de ambas concentraciones para cada plaguicida en las distintas matrices. Las DSR % fueron en la gran mayoría de los casos menores a 10 %.
- Límite de Cuantificación: Se calcula como el menor nivel de fortificación para el cual se obtienen datos de recuperación y precisión aceptables para ser considerado un dato cuantitativo de acuerdo con la *Guía de buenas prácticas de laboratorio para el análisis de residuos de plaguicidas (Guideline on Good Laboratory Practice in Pesticide Residue Analysis)*, del CODEX ALIMENTARIUS. Para todos los plaguicidas, los límites de cuantificación son menores o iguales a 0,01 mg/kg.
- Efecto matriz: Este efecto se evalúa comparando las recuperaciones promedio obtenidas para cada nivel de fortificación (0,1 y 0,01 ppm) utilizando en un caso la curva de calibración en solvente y, en otro, la curva de calibración en matriz. De la comparación de estas recuperaciones obtenidas para

cada plaguicida en cada una de las matrices ensayadas se concluye que, para la gran mayoría de los casos, esta diferencia no supera ± 20 % y en algún caso llega al 50 %. Además, se observa que tanto las curvas de calibración en solvente como las curvas de calibración en matriz son lineales en el rango de concentraciones cubierto (0,005 – 0,01 – 0,05 y 0,1 ppm), lo que demuestra que el efecto matriz es constante dentro de este ámbito ensayado.

Conclusiones

- Los parámetros de validación determinados cumplen con los lineamientos guía establecidos por organizaciones reconocidas internacionalmente como SANCO y CODEX que brindan referencias técnicas para validación de métodos de análisis de residuos de plaguicidas.
- Para todos los plaguicidas, tanto los valores de los tiempos de retención como los de las abundancias relativas entre las dos transiciones de los blancos fortificados a ambas concentraciones coinciden con los valores obtenidos para los patrones, por lo que queda probada la selectividad y especificidad del método.
- Como los plaguicidas analizados pueden ser determinados con límites de cuantificación de 0,01 mg/kg (valor correspondiente a los LMR más exigentes de las reglamentaciones nacionales y europeas) o aún más bajos, consideramos este valor de 0,01 mg/kg como nuestro Límite de Reporte (LR).
- Las recuperaciones medias obtenidas están todas en el rango esperado con bajas desviaciones estándar relativas, de lo que se desprende que la extracción y la limpieza del método QuEChERS son apropiadas para el análisis de residuos de plaguicidas en las matrices ensayadas.

- Si bien el efecto matriz para la mayoría de los plaguicidas en las matrices analizadas no superó el 20 % y solo en algún caso llegó al 50 %, se decide, en todos los casos, compensar estos efectos realizando inyecciones de patrones en matriz con cada tanda de muestras.

Se concluye que la técnica es apropiada para la determinación cuantitativa de estos plaguicidas en estas matrices y se prevé validarla en el futuro para otro tipo de matrices con distinto contenido de agua, acidez, grasas o pigmentos que podrían necesitar modificaciones, fundamentalmente en la extracción y limpieza de la muestra

Bibliografía

European Comission (2013), *Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed* SANCO/12571/2013 [en línea]. Dirección URL: <http://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727&LabID=100&Lang=EN> [Consulta: 12-3-2014].

CODEX ALIMENTARIUS (2010), *Guideline on Good Laboratory Practice in Pesticide Residue Analysis* [en línea]. Dirección URL: <http://www.codexalimentarius.org/input/download/.../cxg_040e.pdf> [Consulta: 14-3-2014].

Pozo, O. J.; Barreda, M.; Sancho, J. V.; Hernandez, F.; Lliberia, J.; Cortés, M. A. y B. Bagó (2007), “Multiresidue pesticide analysis of fruits by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 389, n.º 6, pp. 1765-71.

Thurman, M. e I. Ferrer (2008). “Multiresidue Analysis of 301 Pesticides in Food Samples by LC/triple Quadrupole Mass Spectrometry”, *Agilent Technologies Inc.*, USA, Application Notes (19).