MONITORIZACIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN VINOS BLANCOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ULTRA-ALTA EFICACIA Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS UTILIZANDO UN ANALIZADOR DE CUADRUPOLO-TIEMPO DE VUELO

***Ruth Rodríguez-Ramos*, Álvaro Santana-Mayor**

Bárbara Socas-Rodríguez, Miguel Ángel Rodríguez-Delgado

Unidad Departamental de Química Analítica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de La Laguna (ULL).

Avda. Astrofísico Fco. Sánchez, s/nº. 38206 San Cristóbal de La Laguna, Tenerife, España.

INTRODUCCIÓN

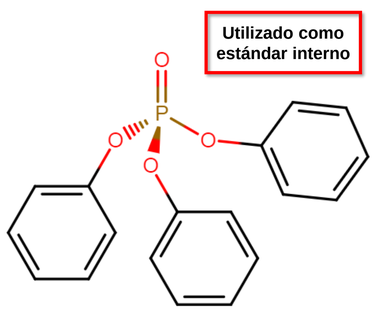
El vino constituye una de las bebidas alcohólicas más consumidas a nivel mundial, formando parte de nuestra cultura desde hace más de 6000 años. La producción de vino representa una de las actividades más importantes dentro del sector agroalimentario de la Macaronesia, alcanzando cifras en torno a los nueve millones de litros de vino en el año 2017 en las Islas Canarias[1]. Por estas razones, el control y la monitorización de los residuos de plaguicidas presentes en los caldos es de suma importancia para garantizar la seguridad de su consumo, especialmente en aquellos que no siguen protocolos adecuados en la producción.

Las técnicas analíticas más empleadas para la determinación de residuos de plaguicidas incluyen tanto la cromatografía de gases como la cromatografía de líquidos acopladas a sistemas de detección de espectrometría de masas (MS) y combinadas con diferentes procedimientos de extracción. Entre ellas, la extracción en fase sólida y el método QuEChERS (*Quick*, *Easy*, *Cheap*, *Effective*, *Rugged*, *Safe*) han sido las técnicas más utilizadas, siguiendo las directrices de buenas prácticas indicadas en la guía SANTE/11813/2017[2].

En el presente trabajo, se ha desarrollado un método basado en el procedimiento de preparación de muestras QuEChERS y el uso de un cromatógrafo de líquidos de ultra-alta eficacia (UHPLC) acoplado a la MS con un analizador de cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-ToF) para la separación y determinación de un grupo de 61 plaguicidas en muestras de vino blanco. Se ha validado correctamente la metodología obteniendo recuperaciones en el rango 70-120 % para la mayoría de los analitos (con desviaciones estándar relativas inferiores al 20 % en todos los casos) y límites de cuantificación (LOQs) entre 0,01 mg/kg y 0,03 mg/kg. Finalmente, la metodología se ha aplicado para el análisis de muestras de vino blanco de distinta procedencia.

EXPERIMENTAL

PLAGUICIDAS SELECCIONADOS



Trifenil fosfato (TPP)

Condiciones LC

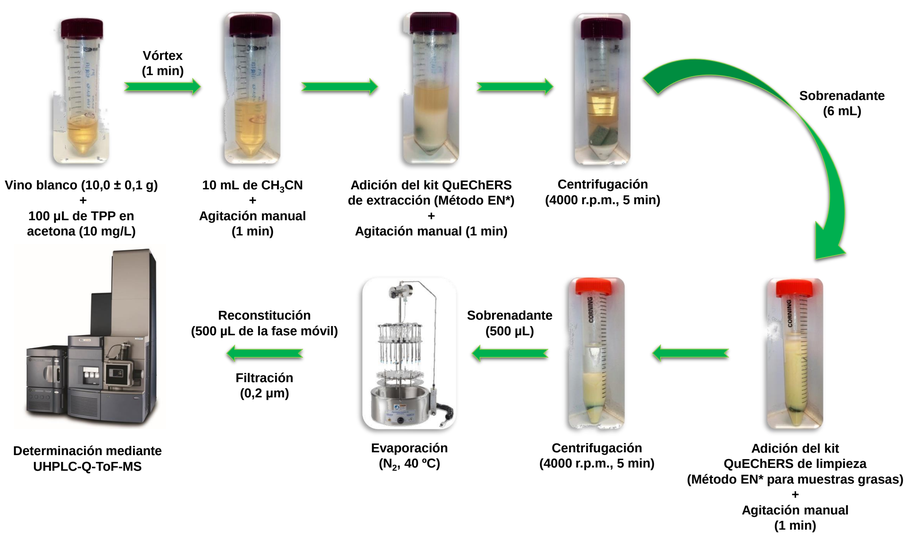
Tiempo (min)	% A	% B
Inicial	2	98
12,25	99	1
14,00	99	1
14,50	2	98
17,00	2	98

A: MeOH 10 mM NH_4Ac.
B: H_2O 10 mM NH_4Ac.
Flujo de la fase móvil: 0,45 mL/min.

Condiciones MS

Parámetro	Valor
Voltaje del capilar	1,00 kV
Temperatura de la fuente	120 ºC
Temperatura de desolvatación	500 ºC
Flujo del gas del cono (N_2)	20 L/h
Flujo del gas de desolvatación (N_2)	1000 L/h

PROCEDIMIENTO QuEChERS-UHPLC-Q-ToF-MS



*Método QuEChERS considerado por el Comité Europeo de Normalización (CEN) como método normalizado. Norma EN 15662 [3].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CALIBRADO EN LA MATRIZ

Tabla 1.- Resultados del calibrado en la matriz para los plaguicidas cuantificados. R^2: coeficiente de determinación; b: pendiente; S_b: desviación estándar de la pendiente; a: ordenada; S_a: desviación estándar de la ordenada.

Plaguicida	Rango lineal estudiado (µg/L)	Recta de calibrado (n = 7)		
		$b \pm S_b \cdot t_{(0,05;\,5)}$	$a \pm S_a \cdot t_{(0,05;\,5)}$	R^2
Azoxistrobín	5-150	$7{,}63\cdot10^{-3} \pm 2{,}65\cdot10^{-4}$	$-2{,}96\cdot10^{-2} \pm 1{,}79\cdot10^{-2}$	0,9928
Carbendazím	5-150	$3{,}93\cdot10^{-3} \pm 8{,}46\cdot10^{-5}$	$-3{,}00\cdot10^{-4} \pm 5{,}73\cdot10^{-3}$	0,9972
Dimetomorf	5-150	$1{,}48\cdot10^{-3} \pm 5{,}35\cdot10^{-5}$	$-7{,}01\cdot10^{-3} \pm 3{,}30\cdot10^{-3}$	0,9936
Fenexamida	15-150	$1{,}49\cdot10^{-3} \pm 2{,}86\cdot10^{-5}$	$4{,}25\cdot10^{-3} \pm 2{,}08\cdot10^{-3}$	0,9989
Imidacloprid	10-150	$6{,}67\cdot10^{-4} \pm 1{,}08\cdot10^{-5}$	$-9{,}22\cdot10^{-4} \pm 7{,}79\cdot10^{-4}$	0,9987
Iprovalicarb	5-150	$2{,}71\cdot10^{-3} \pm 1{,}15\cdot10^{-4}$	$7{,}27\cdot10^{-3} \pm 7{,}09\cdot10^{-3}$	0,9911
Metil-tiofanato	5-150	$2{,}42\cdot10^{-3} \pm 4{,}99\cdot10^{-5}$	$-1{,}56\cdot10^{-2} \pm 3{,}38\cdot10^{-3}$	0,9975

SEPARACIÓN MEDIANTE UHPLC-Q-ToF-MS

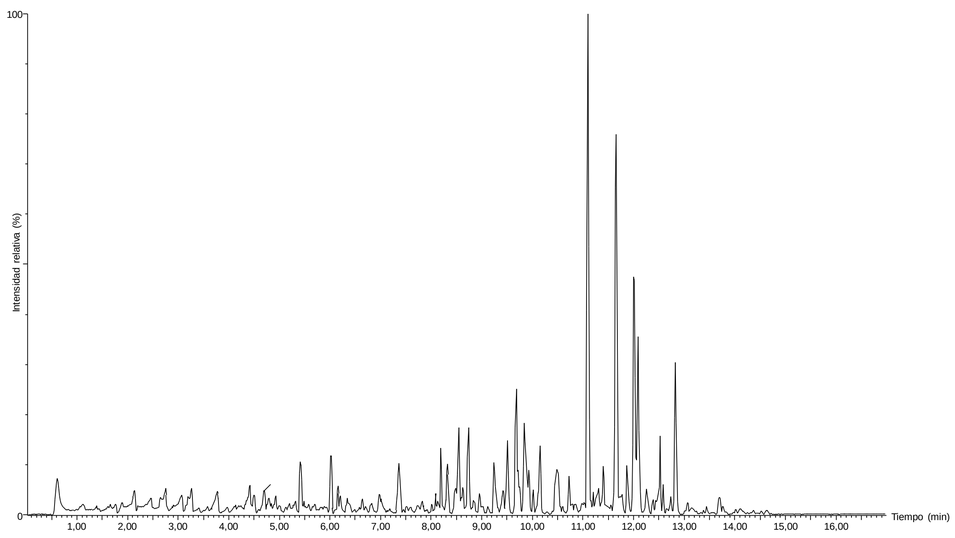


Figura 1.- Separación obtenida tras aplicar la metodología QuEChERS-UHPLC-Q-ToF-MS a una muestra de vino blanco enriquecida con los analitos de interés y el estándar interno a una concentración de 0,075 mg/kg. Volumen de inyección: 10 µL. Temperatura de la columna 45 ºC.

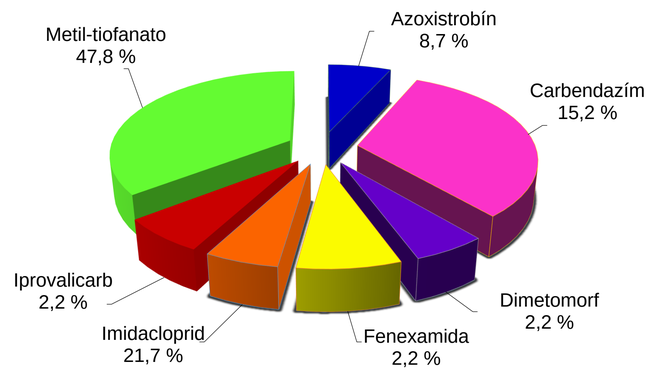
ESTUDIO DE RECUPERACIONES

Tabla 2.- Resultados de las recuperaciones y LOQs del método para los plaguicidas cuantificados. a) Promedio de los resultados obtenidos del estudio de recuperaciones (n = 5) para los analitos cuantificados en las muestras de vino blanco a un nivel de concentración de 0,075 mg/kg. b) Definido como la concentración del calibrado en la matriz más baja que proporciona una relación señal-ruido superior a 10 para la transición de cuantificación y superior a 3 para la transición de confirmación, teniendo en cuenta las recuperaciones.

Plaguicida	Recuperaciones relativas (%)[a]	$LOQ_{método}$[b] (mg/kg)	Plaguicida	Recuperaciones relativas (%)[a]	$LOQ_{método}$[b] (mg/kg)
Azoxistrobín	86 (9)	0,01	**Imidacloprid**	95 (5)	0,02
Carbendazím	83 (5)	0,01	**Iprovalicarb**	108 (10)	0,01
Dimetomorf	70 (12)	0,01	**Metil-tiofanato**	79 (6)	0,01
Fenexamida	113 (5)	0,02			

ANÁLISIS DE MUESTRAS

Porcentaje de muestras* con analitos a concentraciones superiores al $LOQ_{método}$



*Total de muestras analizadas: 76

Tabla 3.- Resumen de los resultados obtenidos del análisis de muestras de vino blanco mediante el método QuEChERS-UHPLC-Q-ToF-MS. a) Número de muestras que contienen los analitos presentes en la tabla a concentraciones superiores a sus respectivos LOQs del método.

Plaguicida	Número de muestras[a]	Concentración (mg/kg)
Azoxistrobín	6	<LOQ – 0,06
Carbendazím	29	<LOQ – 1,49
Dimetomorf	5	0,01 – 0,11
Fenexamida	7	0,02 – 0,58
Imidacloprid	5	0,01 – 0,06
Iprovalicarb	6	0,01 – 0,14
Metil-tiofanato	32	<LOQ – 2,09

CONCLUSIONES

- ► En el presente trabajo se ha validado el método QuEChERS combinado con UHPLC-Q-ToF-MS para la determinación de 61 plaguicidas en muestras de vino blanco.
- ► El 61 % de las muestras presentan uno o más residuos de plaguicidas, mientras que el 39 % no contienen ningún plaguicida.
- ► Metil-tiofanato y carbendazím fueron los plaguicidas que se encontraron con más frecuencia en las muestras de vino blanco analizadas en este estudio.
- ► Se ha encontrado una muestra que supera el límite máximo de residuo establecido para el fungicida carbendazím (0,5 mg/kg).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con un 85 % del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), articulado a través Programa de Cooperación Territorial INTERREG V A España-Portugal MAC 2014-2020. Los autores agradecen la colaboración del Servicio General de Apoyo a la Investigación (SEGAI) de la Universidad de La Laguna (ULL).

1. Datos estadísticos de los vinos en Canarias. Instituto Canario de Calidad Agroalimentaria. Gobierno de Canarias (https://www.gobiernodecanarias.org/agricultura/icca/temas_calidad/vinos/estadisticas/)
2. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. SANTE/11813/2017.41
3. Método QuEChERS considerado por el Comité Europeo de Normalización (CEN) como método normalizado. Norma EN 15662.

XXIII Semana Científica

“Antonio González”