VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALITICO PARA LA DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS EN VINOS BLANCOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Álvaro Santana Mayor

Doctorado en Química e Ingeniería Química

Tutores: Bárbara Socas Rodríguez, Mónica González González y Miguel Ángel Rodríguez Delgado

Unidad Departamental de Química Analítica, Departamento de Química

INTRODUCCIÓN

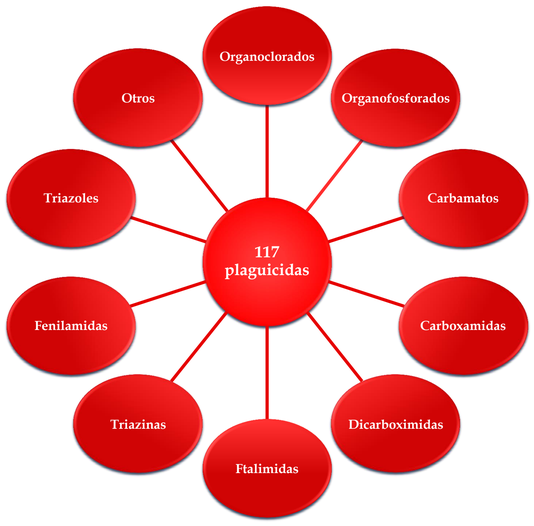
Los plaguicidas son familias de sustancias que se utilizan con distinta asiduidad e intensidad en función de las distintas regiones, para proteger los cultivos de plagas y enfermedades. Está ampliamente demostrado que la presencia de los mismos en los alimentos supone un riesgo potencial para la salud de los consumidores, por lo que todas las acciones que vayan encaminadas a asegurar la identificación y cuantificación de estas sustancias en los alimentos son bienvenidas. Es por ello que establecer o validar las metodologías ya existentes e implantadas en un laboratorio resulta crucial, siguiendo siempre la guía de referencia establecida en SANTE/11813/2017 [1].

Las técnicas analíticas más ampliamente utilizadas para la determinación de estos compuestos son tanto la cromatografía de gases como la cromatografía de líquidos acopladas ambas a detectores de espectrometría de masas. En lo que respecta a la etapa de preparación de muestra, tanto la extracción en fase sólida como el ampliamente conocido método QuEChERS, son las más utilizadas.

En el presente trabajo, se validó una metodología analítica basada en la utilización del QuEChERS como etapa de preparación de muestra y un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas para la determinación de un grupo de 117 plaguicidas, utilizando como estándar interno trifenilfosfato (TPP). Se obtuvieron recuperaciones entre el 70 y el 120 % y límites de cuantificación que oscilaron entre 0,010 y 0,025 mg/kg, para la mayoría de los analitos. Una vez validada, la metodología fue aplicada a muestras de vinos blancos. La mayoría de los analitos detectados se encontraron a concentraciones por debajo de los límites máximos de residuos (LMRs) establecidos por la legislación europea, excepto para los plaguicidas boscalida, iprodiona, metalaxil, miclobutanil, folpet, pirimetanil, tebuconazol y triadimenol en algunas de las muestras analizadas.

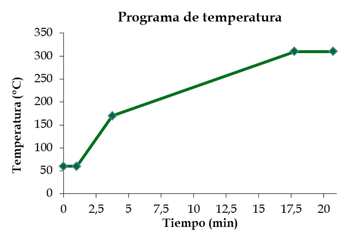
PARTE EXPERIMENTAL

PLAGUICIDAS SELECCIONADOS



CONDICIONES DE GC

PROGRAMA DE TEMPERATURA				
	Temperatura (ºC)	Velocidad (ºC/min)	Tiempo de estabilización (min)	Tiempo de análisis (min)
Inicial	60	-	1	1,00
Rampa 1	170	40	-	3,75
Rampa 2	310	10	3	20,75

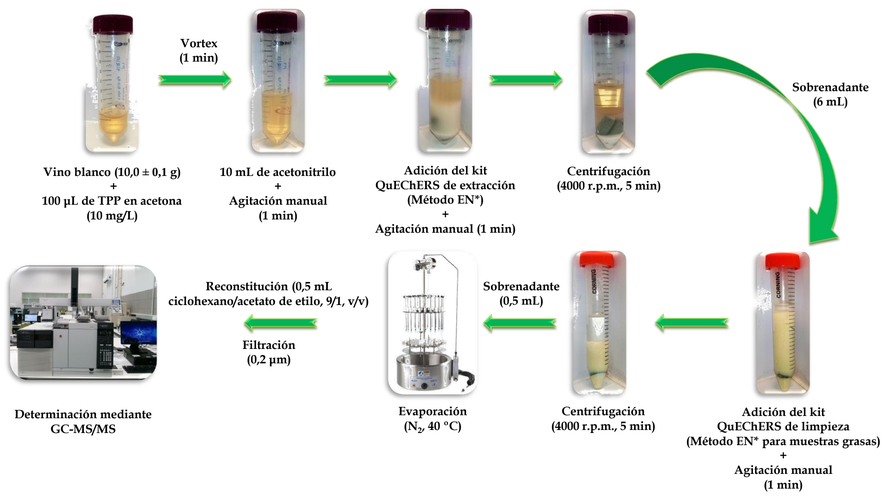


- **Volumen de inyección:** 2 µL
- **Modo de inyección:** splitless
- **Temperatura del inyector:** 280 ºC
- **Columnas:** dos columnas capilares idénticas de sílice fundida con un recubrimiento (5%-fenil)-metilpolisiloxano (HP-5ms Ultra Inert; 15 m x 0,25 mm, 0,25 µm de grosor del recubrimiento).
- **Flujo del gas portador (He):** 1,0/1,2 mL/min (sistema *backflush*).

CONDICIONES DE MS

- **Modo de ionización:** impacto electrónico (EI)
- **Analizador de masas:** triple cuadrupolo (QqQ)
- **Energía electrónica de ionización:** -70 eV
- **Temperatura de la línea de transferencia:** 280 ºC
- **Temperatura de la fuente de ionización:** 280 ºC
- **Temperaturas de los cuadrupolos:** 180 ºC

PROCEDIMIENTO QuEChERS-GC-MS/MS



*Método QuEChERS considerado por el Comité Europeo de Normalización (CEN) como método normalizado. Norma EN 15662 [2].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CALIBRADO EN LA MATRIZ

Plaguicida	Rango lineal estudiado (µg/L)	Recta de calibrado (n = 7)			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			$b \pm S_b \cdot t_{(0,05;\,5)}$	$a \pm S_a \cdot t_{(0,05;\,5)}$	R^2
Benalaxil	10-200	$8{,}59 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}26 \cdot 10^{-4}$	$-1{,}76 \cdot 10^{-2} \pm 1{,}36 \cdot 10^{-2}$	0.9998	Metalaxil	10-200	$4{,}74 \cdot 10^{-3} \pm 8{,}07 \cdot 10^{-5}$	$7{,}51 \cdot 10^{-4} \pm 8{,}99 \cdot 10^{-3}$	0.9998
Boscalida	10-200	$1{,}92 \cdot 10^{-2} \pm 5{,}07 \cdot 10^{-4}$	$-1{,}02 \cdot 10^{-1} \pm 5{,}65 \cdot 10^{-2}$	0,9995	Miclobutanil	10-200	$1{,}51 \cdot 10^{-2} \pm 1{,}94 \cdot 10^{-4}$	$-4{,}49 \cdot 10^{-2} \pm 2{,}09 \cdot 10^{-2}$	0,9999
Clorpirifós	10-200	$1{,}34 \cdot 10^{-2} \pm 1{,}39 \cdot 10^{-4}$	$-2{,}73 \cdot 10^{-2} \pm 1{,}55 \cdot 10^{-2}$	0,9999	Penconazol	10-200	$2{,}20 \cdot 10^{-2} \pm 3{,}07 \cdot 10^{-4}$	$-6{,}48 \cdot 10^{-2} \pm 3{,}42 \cdot 10^{-2}$	0,9999
Ciprodinil	10-200	$6{,}06 \cdot 10^{-3} \pm 9{,}57 \cdot 10^{-4}$	$-9{,}86 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}03 \cdot 10^{-2}$	0,9998	Propoxur	10-200	$6{,}77 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}94 \cdot 10^{-4}$	$-1{,}29 \cdot 10^{-2} \pm 2{,}00 \cdot 10^{-2}$	0,9994
Fludioxonil	10-200	$2{,}78 \cdot 10^{-2} \pm 3{,}30 \cdot 10^{-4}$	$-1{,}18 \cdot 10^{-1} \pm 3{,}68 \cdot 10^{-2}$	0,9999	Pirimetanil	10-200	$1{,}25 \cdot 10^{-2} \pm 1{,}61 \cdot 10^{-4}$	$5{,}03 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}84 \cdot 10^{-2}$	0,9999
Folpet	10-200	$4{,}67 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}90 \cdot 10^{-4}$	$-1{,}68 \cdot 10^{-3} \pm 2{,}11 \cdot 10^{-2}$	0,9988	Simazina	10-200	$6{,}21 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}33 \cdot 10^{-4}$	$-1{,}62 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}52 \cdot 10^{-2}$	0,9997
Iprodiona	10-200	$2{,}80 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}08 \cdot 10^{-4}$	$-1{,}71 \cdot 10^{-2} \pm 1{,}24 \cdot 10^{-2}$	0,9989	Tebuconazol	10-200	$9{,}81 \cdot 10^{-3} \pm 1{,}24 \cdot 10^{-4}$	$-4{,}43 \cdot 10^{-2} \pm 1{,}38 \cdot 10^{-2}$	0,9999
Lindano	10-200	$1{,}38 \cdot 10^{-2} \pm 4{,}74 \cdot 10^{-4}$	$-1{,}85 \cdot 10^{-2} \pm 5{,}42 \cdot 10^{-2}$	0,9991	Triadimenol	10-200	$2{,}27 \cdot 10^{-2} \pm 2{,}55 \cdot 10^{-4}$	$-8{,}00 \cdot 10^{-2} \pm 2{,}75 \cdot 10^{-2}$	0,9999

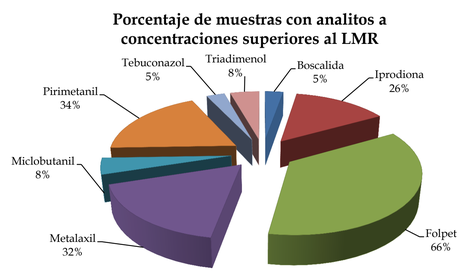
Tabla 1.- R^2: coeficiente de determinación; b: pendiente; S_b: desviación estándar de la pendiente; a: ordenada; S_a: desviación estándar de la ordenada.

ESTUDIO DE RECUPERACIONES

Plaguicida	Recuperaciones relativas (%)[a]	$LOQ_{método}$[b] (mg/kg)	Plaguicida	Recuperaciones relativas (%)[a]	$LOQ_{método}$[b] (mg/kg)
Benalaxil	79 (9)	0.013	Metalaxil	74 (6)	0.014
Boscalida	120 (7)	0.008	Miclobutanil	84 (10)	0.011
Clorpirifós	69 (10)	0.014	Penconazol	80 (11)	0.012
Ciprodinil	75 (8)	0.013	Propoxur	91 (8)	0.010
Fludioxonil	106 (10)	0.009	Pirimetanil	75 (6)	0.013
Folpet	71 (12)	0.014	Simazina	76 (8)	0.010
Iprodiona	115 (6)	0.009	Tebuconazol	108 (16)	0.009
Lindano	65 (3)	0.015	Triadimenol	79 (10)	0.012

Tabla 2.- a) Promedio de los resultados obtenidos del estudio de recuperaciones (n = 5) para los analitos seleccionados en las muestras de vino blanco a dos niveles de concentración: 0,025 mg/kg y 0,100 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 el factor de dilución y las recuperaciones.

- **Total de muestras analizadas:** 38
- **Procedencia de las muestras:** Canarias (23) y Península (15)
- **Muestras que presentan plaguicidas a concentraciones superiores al LMR:** 28 (74 %)
- **Muestras con plaguicidas a concentraciones inferiores al LMR**: 5 (13 %)
- **Muestras en las que no se detectan residuos:** 5 (13 %)



ANÁLISIS DE MUESTRAS

Plaguicida	Número de muestras[a]	Rango de concentraciones (mg/kg)
Boscalida	2	0,017 - 0,020
Iprodiona	10	0,025 - 0,438
Folpet	25	0,022 - 1,133
Metalaxil	12	0,017 - 0,746
Miclobutanil	3	0,014 - 0,016
Pirimetanil	13	0,028 - 1,463
Tebuconazol	2	0,014
Triadimenol	3	0,013 - 0,022

Tabla 3.- Resumen de los resultados obtenidos del análisis de diferentes vinos blancos (n = 2) mediante el método QuEChERS-GC-MS/MS. a) Número de muestras que contienen los analitos presentes en la tabla a concentraciones superiores al sus respectivos LMRs.

CONCLUSIONES

- En el presente trabajo se ha validado el método QuEChERS combinado con GC-MS/MS para la determinación de 117 plaguicidas en muestras de vinos blancos (38 muestras en total).
- 24 muestras (74 %) presentan uno o más residuos de plaguicidas, mientras que 8 (21 %) de ellas contienen 4 o más analitos a concentraciones superiores al límite máximo de residuo correspondiente.
- Folpet, iprodiona, metalaxil y pirimetanil fueron los plaguicidas que se encontraron con más frecuencia en las muestras de vinos analizados en este estudio.
- Se encontraron un total de setenta violaciones de los LMRs establecidos.
- Pirimetanil fue encontrado a concentraciones 140 veces el LMR, folpet 110 veces, metalaxil 75 veces e iprodiona 44 veces el LMR.
- Los analitos seleccionados en el presente póster corresponden a representantes de las familias de plaguicidas más importantes analizados en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado en un 85 % por el 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] Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. SANTE/11813/2017. [2] Norma EN 15662:2008. Food of plant origin-Determination of pesticide residues using GC–MS and/or LC–MS/MS following ACN extraction/partitioning and clean-up by dSPE-QuEChERS Method 2008 (www.cen.eu).