

8092UY

Determinación de plaguicidas en aguas naturales

Extracción en Fase Sólida (SPE) y determinación
por Cromatografía Líquida acoplada a detector
de masas tándem (MS/MS)



Elaborado - R. Souza, V. Muñoz

Modificado - R. Souza

Revisado - A. Mangarelli, Jefe Departamento de Análisis Instrumental

Aprobado - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental

1. APLICACIÓN

1.1. Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de 80 plaguicidas en aguas naturales, efluentes industriales y otras matrices líquidas asimilables a las anteriores, establecidos en la Tabla 1. También se incluyen los rangos de trabajo y el límite de cuantificación (LOQ).

Tabla 1: Lista de plaguicidas incluidos en este procedimiento, incluyendo rango de trabajo y LOQ.

Name	Nombre	Nº CAS	Límite de cuantificación (µg/L)	Rango de trabajo (µg/L)
Acetamiprid	Acetamiprid	135410-20-7	0,0025	0,0025-0,050
Alachlor	Alacloro	15972-60-8	0,0025	0,0025-0,050
Ametryn	Ametrina	834-12-8	0,0025	0,0025-0,050
Atrazine	Atrazina	1912-24-9	0,0025	0,0025-0,050
Atrazine-desethyl	Atrazina desetil	6190-65-4	0,0025	0,0025-0,050
Atrazine-desisopropyl	Atrazina desisopropil	1007-28-9	0,0050	0,005-0,050
Azinphos-methyl	Azinfos metil	86-50-0	0,0025	0,0025-0,050
Azoxystrobin	Azoxiestrobina	131860-33-8	0,0025	0,0025-0,050
Bifenthrin	Bifentrina	82657-04-3	0,0025	0,0025-0,050
Carbaryl (NAC)	Carbaril	63-25-2	0,0025	0,0025-0,050
Carbendazim	Carbendazim	10605-21-7	0,0050	0,0050-0,050
Carbofuran	Carbofurano	1563-66-2	0,0025	0,0025-0,050
Chlorantraniliprole	Clorantraniprol	500008-45-7	0,0025	0,0025-0,050
Chlorpyrifos	Clorpirifos	2921-88-2	0,0050	0,0050-0,050
Chlorpyrifos-methyl	Clorpirifós Metil	5598-13-0	0,0025	0,0025-0,050
Clomazone	Clomazone	81777-89-1	0,0025	0,0025-0,025
Cyhalofop-butyl	Cihalofop-butil	122008-85-9	0,0050	0,0050-0,050
Cymoxanil	Cimoxanilo	57966-95-7	0,0050	0,0050-0,050
Cypermethrin	Cipermetrina	52315-07-8	0,0050	0,0050-0,050
Cyproconazole	Ciproconazol	94361-06-5	0,0025	0,0025-0,050
Deltamethrin	Deltametrina	52918-63-5	0,0025	0,0025-0,025
Diazinon	Diazinon	333-41-5	0,0025	0,0025-0,050
Diclosulam	Diclosulam	145701-21-9	0,0050	0,0050-0,050
Difenoconazole	Difenoconazol	119446-68-3	0,0025	0,0025-0,050
Diffubenzuron	Diffubenzuron	35367-38-5	0,0025	0,0025-0,050
Diuron (DCMU)	Diuron	330-54-1	0,0025	0,0025-0,050
Endosulfan-sulfate	Endosulfan sulfato	1031-07-8	0,0025	0,0025-0,050
Epoxiconazole	Epoxiconazol	135319-73-2	0,0025	0,0025-0,050
Ethion	Etión	563-12-2	0,0025	0,0025-0,025
Fenazaquin	Fenazaquin	120928-09-8	0,0025	0,0025-0,025
Fipronil	Fipronil	120068-37-3	0,0025	0,0025-0,050
Fluroxypyr-1-methylheptyl-ester	Fluroxipir 1-metilheptil ester	81406-37-3	0,0025	0,0025-0,050
Flumioxazin	Flumioxazin	103361-09-7	0,010	0,010-0,050
Flutriafol	Flutriafol	79983-71-4	0,0025	0,0025-0,050
Haloxypop-methyl	Haloxifop metil	69806-40-2	0,0050	0,0050-0,050
Hexaconazole	Hexaconazol	79983-71-4	0,0025	0,0025-0,050
Imazalil	Imazalil	35554-44-0	0,0025	0,0025-0,050
Imidacloprid	Imidacloprid	138261-41-3	0,0025	0,0025-0,050
Iprodione	Iprodione	36734-19-7	0,0025	0,0025-0,050
Isoxadifen-ethyl	Isoxadifen etil	163520-33-0	0,0025	0,0025-0,050
Kresoxim-methyl	Kresoxim metil	143390-89-0	0,0025	0,0025-0,050

Linuron	Linuron	330-55-2	0,0025	0,0025-0,050
Malaoxon	Malaoxon	1634-78-2	0,0025	0,0025-0,050
Malathion	Malatión	121-75-5	0,0025	0,0025-0,050
Metalaxyl	Metalaxil	57837-19-1	0,0025	0,0025-0,050
Methodathion	Metidation	950-37-8	0,0025	0,0025-0,050
Methiocarb	Metiocarb	2032-65-7	0,0025	0,0025-0,050
Methoxyfenozide	Metoxifenocida	161050-58-4	0,0025	0,0025-0,050
Metolachlor	Metolacoloro	51218-45-2	0,0025	0,0025-0,050
Metribuzin	Metribuzina	21087-64-9	0,0025	0,0025-0,050
Permethrin	Permetrina	52645-53-1	0,0050	0,0050-0,050
Picoxystrobin	Picoxistrobin	117428-22-5	0,0025	0,0025-0,050
Pirimiphos-methyl	Pirimifos metil	29232-93-7	0,0025	0,0025-0,050
Prochloraz	Procloraz	67747-09-5	0,0025	0,0025-0,050
Profenofos	Profenofos	41198-08-7	0,0025	0,0025-0,050
Propanil	Propanil	709-98-8	0,0025	0,0025-0,050
Propaquizafop	Propaquizafop	111479-05-1	0,0025	0,0025-0,050
Propiconazole	Propiconazol	60207-90-1	0,0025	0,0025-0,050
Pyraclostrobin	Piraclostrobina	175013-18-0	0,0025	0,0025-0,025
Pyrazosulfuron-ethyl	Pirazosulfuron etil	93697-74-6	0,0025	0,0025-0,050
Pyrimethanil	Pirimetanil	53112-28-0	0,0025	0,0025-0,050
Simazine	Simazina	122-34-9	0,0025	0,0025-0,050
Tebuconazole	Tebuconazol	107534-96-3	0,0025	0,0025-0,050
Terbacil	Terbacil	5902-51-2	0,0025	0,0025-0,050
Thiabendazole	Tiabendazol	148-79-8	0,0025	0,0025-0,050
Thiamethoxam	Tiametoxam	153719-23-4	0,0025	0,0025-0,050
Tricyclazole	Triciclazol	41814-78-2	0,0025	0,0025-0,050
Trifloxystrobin	Trifloxiestrobina	141517-21-7	0,0025	0,0025-0,050
Triflumuron	Triflumuron	64628-44-0	0,0025	0,0025-0,050
Triticonazole	Triticonazol	131983-72-7	0,0025	0,0025-0,050

2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad - Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad - Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico - Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.4. Carpeta de mantenimiento y control de equipos – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.5. Instructivo de uso del Cromatógrafo Líquido con detector de masas tándem triple cuadrupolo Shimadzu 8050 UHPLC-MS/MS (INE 139).
- 2.6. Instructivo de uso de desionizador Millipore Elix Essentials (INE 121)
- 2.7. Instructivo de uso de balanzas (INE 07, INE93, INE 153)
- 2.8. Ruta de análisis de plaguicidas en aguas naturales por SPE/LC (RIN 56)
- 2.9. Ruta de preparación de soluciones madres estándares (RIN 35).
- 2.10. Ruta de de preparación de Mixes (RIN 45).
- 2.11. Registro de masa de SOLUCIONES MADRE Y MIXES (RIN 51).
- 2.12. Instructivo de uso de concentrador de muestras Labconco modelo RapidVap (INE 127).
- 2.13. Instructivo de uso de baño de agua con ultrasonido (INE 108)
- 2.14. Instructivo de uso de mufla (INE 27).
- 2.15. Instructivo de uso de estufa (INE 107, INE 101)
- 2.16. Instructivo de uso de la bomba de vacío Gast (INE 02).

- 2.17. Instructivo para el uso del destilador (INE 109).
- 2.18. Especificaciones mínimas de calidad para reactivos y agua utilizada en el Laboratorio Ambiental de DINAMA (ES 01)
- 2.19. Registro de patrones calibrados y equipos controlados (RGC 32).

3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. Los compuestos de la Tabla 1 son extraídos de la matriz agua utilizando columnas de extracción en fase sólida SPE (C18), previamente acondicionadas. Los plaguicidas retenidos son eluidos con acetato de etilo. El extracto es concentrado en un bloque calefactor a 30 °C bajo corriente de N₂. Finalmente, el concentrado obtenido es reconstituido con acetonitrilo.
- 3.2. Los análisis se determinan por cromatografía líquida acoplada a detector de masas tandem.
- 3.3. La cuantificación de cada plaguicida se realiza por interpolación del área de la señal de la transición de mayor intensidad para el analito en la muestra, en la curva de calibración correspondiente o por comparación con un punto de esta, siempre que la diferencia de áreas no sea mayor al 20 %.

4. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- 4.1. Usar túnica, guantes y lentes para la manipulación de la muestra.
- 4.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial para la salud, la exposición a los mismos debe ser minimizada.
- 4.3. Todos los solventes se deben manipular bajo campana de extracción de gases.

5. INTERFERENCIAS

- 5.1. En caso de presentarse una interferencia por parte de la matriz, que coincida con alguna de las transiciones características del compuesto (de cuantificación o confirmación) se deberá seleccionar una transición alternativa, que permita cumplir con los criterios de identificación y confirmación.
- 5.2. Las interferencias producto de la matriz que repercuten en la recuperación de algunos analitos, se ve compensadas por el uso de curva de calibración en matriz.
- 5.3. Restos de jabón (dodecil sulfato de sodio): genera un pH básico en la superficie del material de vidrio, el cual puede degradar parcialmente algunos analitos (especialmente compuestos organofosforados). Por lo cual, todo el material utilizado, deberá ser acondicionado adecuadamente.

6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar la muestra en botella de 1 L de vidrio ámbar, previamente enjuagada con hexano y acetona, con contratapa de teflón enjuagada con acetona (o papel aluminio).
- 6.2. Preservar las muestras a ≤6 °C (> 0 °C). El tiempo máximo de almacenamiento son 7 días para la extracción y 40 días para la determinación.

7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

- 7.1. Equipo UHPLC-MS/MS SHIMADZU 8050. En caso de utilizar otro cromatógrafo, el mismo deberá contar con características similares, que permita las prestaciones definidas en este documento. (IN647 – IN648).
- 7.2. Columna cromatografica: Shim pack Velox C18 1.8 μm, 2.1 x 100 mm o similar.
- 7.3. Generador de Nitrógeno, Peak Genius 10 Series-1051 o similar, Presión de salida 100psi, flujo mayor a 25L/min. (IN651)
- 7.4. Balanza de resolución 0,00001 g y 0,001 g.
- 7.5. Viales de vidrio de 2, 4 y 12 mL con precinto o tapa rosca, con septo de PTFE.
- 7.6. Jeringa de vidrio o descartable de plástico, de 1 a 5 mL.
- 7.7. Matraces aforados de 5,00 y 10,00 mL
- 7.8. Microjeringas de vidrio de 10, 50, 250 y 1000 μL.
- 7.9. Estufa de secado.

- 7.10. Mufla.
- 7.11. Equipo de extracción para columnas de SPE, Sep-Pak, marca Waters, cañerías y canillas de teflón. (IN364).
- 7.12. Vórtex.
- 7.13. Pipetas automáticas regulable de 10 a 100, 100 a 1000 μL y 1 a 10 mL.
- 7.14. Tips para pipetas automáticas 10 a 100, 100 a 1000 μL y 1 a 10 mL.
- 7.15. Filtro de cartucho de PVDF o PTFE con tamaño de poro 0,22 μm .
- 7.16. Botellas vidrio ámbar 500 mL.
- 7.17. Bomba de vacío marca Gast-Motor o similar.
- 7.18. Baño de agua con ultrasonido.
- 7.19. Concentrador de muestras por evaporación con arrastre de N_2 .
- 7.20. Tubos de vidrio con fondo cónico para concentrador de muestras por evaporación con arrastre de N_2 .
- 7.21. Desionizador de agua Millipore Elix Essentials o similar.

8. REACTIVOS

- 8.1. Hexano libre de plaguicida $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ Nro. CAS 110-54-3 (marca Baker, Mallinckrodt o similar)
- 8.2. Acetona libre de plaguicida $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ Nro. CAS 67-64-1 (Baker, Mallinckrodt o similar)
- 8.3. Acetato de etilo grado plaguicida $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ Nro. CAS 141-78-6 (Baker, Mallinckrodt o similar)
- 8.4. Metanol para cromatografía (Baker, Mallinckrodt o similar)
- 8.5. Acetonitrilo calidad HPLC, CH_3CN Nro. CAS 75-05-8 (Baker, Mallinckrodt o similar)
- 8.6. Agua desionizada (grado 1, según ISO 3696 en su versión vigente)
- 8.7. Cloruro de sodio NaCl Nro. CAS 7647-14-5
- 8.8. Formiato de amonio HCO_2NH_4 Nro. CAS 540-69-2
- 8.9. Columnas de fase sólida (SPE) C18 (Supelco o similar)
- 8.10. Materiales de referencia certificados correspondientes a cada plaguicida listados en la Tabla 1 del presente documento.
- 8.11. Solución stock madre individual de cada plaguicida (concentración aproximada 1000 mg/L): se prepara según lo establecido en el punto 5.1 del PGC 22, a partir de los MRC 8.10.
- 8.12. Solución stock mix de plaguicidas (concentración aproximada de cada plaguicida 10 mg/L): se prepara según lo establecido en el punto 5.2 del PGC 22, a partir de 8.11.
- 8.13. Solución de fortificación de plaguicidas (concentración aproximada de cada plaguicida 10 $\mu\text{g/L}$), preparada a partir de 8.12.
- 8.14. Nitrógeno (pureza 99,9 %)
- 8.15. Argón alta pureza (99,998 o 4.8)
- 8.16. Detergente no alcalino para limpieza (Extran)
- 8.17. Sulfato de sodio anhidro Nro. CAS 7757-82-6

Nota 1: Salvo que se especifique, se debe emplear reactivos para análisis (PA), que son aquellos cuyo contenido en impurezas no rebasa el número mínimo de sustancias determinables por el método que se utilice. (ES01)

9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. Evitar contaminación cruzada de las muestras durante la manipulación.
- 9.2. Todo el material de vidrio que será utilizado, tanto para la toma de muestra, como para la etapa de extracción y purificación debe ser lavado con agua y Extran y enjuagarse previo a su uso con hexano y acetona libres de plaguicidas y de ser necesario muflar. Siempre que sea posible trabajar con material descartable.
- 9.3. Las soluciones de descarte contaminadas con plaguicidas deben disponerse en envases destinados para tal fin y debidamente rotulados.
- 9.4. Verificar que en la etapa de pasaje de la muestra por la columna SPE, la totalidad del sólido remanente sea trasvasado, enjuagando sucesivas veces con agua desionizada, las paredes y fondo del frasco contenedor de muestra.

- 9.5. El proceso de secado de las columnas SPE luego de la extracción es muy importante; esto se logra, dejando bajo vacío durante 1 hora, luego de verificar que está pasando aire por la columna.
- 9.6. En la etapa de concentración por evaporación con arrastre de N₂, es importante interrumpir el proceso de concentración, en el momento en que la muestra llegue a sequedad.
- 9.7. Control de peso de soluciones estándar: Para las soluciones mencionadas en los puntos 8.5 y 8.6, realizar control de peso antes de usar. Se admite una diferencia de peso máxima de 1% respecto al último valor registrado. En caso de superar este valor, se evaluará la posibilidad de reconstituir al volumen inicial o preparar nuevamente. Luego de utilizar la solución, se registra su nuevo peso en el RIN 51. Este valor es utilizado para la verificación de la solución antes del próximo uso.

10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. Tratar los puntos de la curva como muestras. Los mismos se realizan mediante la fortificación de 5 alícuotas de una matriz blanco, previo a iniciar el tratamiento de estas, con solución 8.12 o diluciones de esta. Se deberá realizar en cada batch de medida un blanco de esta matriz para verificar la ausencia de contaminantes en la misma. La vigencia de la curva realizada mediante este procedimiento es de 1 mes en freezer a – 20 °C.

11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

Acondicionamiento de las columnas SPE

- 11.1. En un soporte apropiado colocar las columnas SPE a acondicionar, junto con sus correspondientes canillas de teflón.
- 11.2. Agregar los siguientes solventes en orden sucesivo teniendo la precaución de no dejar secar la fase sólida entre agregados: hexano 6 mL, acetona 6 mL, metanol 12 mL y agua desionizada 12 mL. Luego de finalizado el acondicionamiento, es necesario dejar un remanente de aproximadamente 5 mL de agua desionizada en la columna. La columna queda pronta para proceder con la extracción.

Toma de muestra y extracción

- 11.3. Homogeneizar la muestra.
- 11.4. Realizar una toma de aproximadamente 200 mL registrando el peso en el RIN 56; esta toma debe realizarse en un recipiente de vidrio 500mL utilizando una balanza de resolución 0,001 g.
- 11.5. Añadir 5 g de cloruro de sodio.
- 11.6. Colocar las columnas SPE previamente acondicionadas en el equipo de extracción, manteniendo las canillas de teflón cerradas.
- 11.7. Conectar la bomba de vacío al equipo de extracción, intercalando en la cañería una trampa de seguridad para evitar el ingreso de muestra a la bomba.
- 11.8. Conectar las cañerías de teflón a las columnas SPE teniendo la precaución de que estas contengan agua suficiente de manera que al comenzar el proceso de succión no se seque la fase sólida. El extremo libre se coloca en el frasco que contiene la muestra; esta cañería debe quedar tocando el fondo del recipiente.
- 11.9. Encender la bomba de vacío y posteriormente abrir las canillas de las columnas, de manera de lograr un goteo continuo de aproximadamente 3 mL por minuto. Verificar la hermeticidad de las columnas, marcando el nivel de muestra en la columna y controlando que este no varía con el tiempo.
- 11.10. Agitar el contenido de cada frasco en forma periódica, a fin de suspender los sólidos contenidos en la muestra y evitar que se depositen en el fondo del frasco, bloqueando la entrada de la cañería de teflón.
- 11.11. Finalizado el pasaje de toda la muestra, es necesario enjuagar tres veces el recipiente contenedor, asegurándose que todo el sedimento contenido en la muestra ingrese a la columna SPE.
- 11.12. En este punto se inicia el proceso de secado de las columnas. Con la misma configuración del equipo se deja aproximadamente 1 hora en vacío, verificando el pasaje de aire a través de las columnas.
- 11.13. Los puntos 11.11 y 11.12 son pasos fundamentales para lograr una buena reproducibilidad de la medida y exactitud en la determinación.
- 11.14. Una vez secas, se adicionan 5 mL de acetato de etilo a cada columna de SPE y se procede a colocarlas en el baño de ultrasonido, dentro de un vaso de Bohemia vacío, durante 15 minutos.
- 11.15. A continuación, colocar las columnas SPE en un soporte apropiado para su elusión.
Realizar sucesivos agregados de acetato de etilo a la columna hasta recoger aproximadamente 22 mL de

eluato en tubos de vidrio con fondo cónico para concentrador de muestras. En caso de que se dificulte la elusión por gravedad, se podrá facilitar la misma ejerciendo presión sobre la columna.

- 11.16. Secar el extracto obtenido, utilizando para ello una columna de vidrio preparada con aproximadamente 2g de sulfato de sodio anhidro.
- 11.17. Concentrar el extracto en un bloque calefactor a 30 °C bajo corriente de N₂ hasta sequedad.
- 11.18. Agregar 500 µL de acetonitrilo con pipeta automática al tubo cónico de cada muestra y colocar en baño de ultrasonido durante un minuto.
- 11.19. Filtrar por filtro 7.15.
- 11.20. Recoger el filtrado en un vial de vidrio ámbar de 2 mL. La muestra queda pronta para su análisis cromatográfico.

Análisis cromatográfico

- 11.21. Prender el cromatógrafo SHIMADZU 8050 UHPLC-MS/MS. Seleccionar el método Plaguicidas2024 y verificar que las condiciones de este sean las descritas a continuación:

*Fase móvil:	Flujo: 0,4 mL /min Sistema desgasificador.		
(Verificar las posiciones en los canales de cada fase a utilizar)	Canal A: Agua (5mM Formiato de amonio) Canal B: Metanol (5mM Formiato de amonio)		
Condiciones de gradiente	Tiempo (min)	A (%)	B (%)
	0	98	2
Tiempo de corrida: 17 minutos	0.5	50	50
	2.5	45	55
	5.5	25	75
	7.5	15	85
	8.3	0	100
	13	0	100
	13.3	98	2
	17	98	2

* Inyección:	Volumen inyección del método: 1.5 µL (según el modo de inyección programado, determina un volumen final de 6 µL de muestra)
* Columna:	Shim pack Velox C18 1.8 µm, 2.1 x 100 mm. Temperatura: 40 °C.
Detector MS/MS:	Condiciones de ionización: Interface: ESI Voltaje de la Interface :4000 V Nebulizing Gas Flow: 2 L/min Heating Gas Flow: 10 L/min Interface Temperature: 200 °C. Desolvation Temperature: 355 °C. DL Temperature: 250 °C.

*Parámetros del detector MS/MS para cada plaguicida a ser determinado. Ver tabla 2

Nombre	Polaridad	Ión precursor (m/z)	Ión producto 1 (m/z)	Ión producto 2 (m/z)	Ión producto 3 (m/z)	Transición 1 Q1 Pre Bias	Transición 1 CE	Tarnsición 1 Q3 Pre Bias	Transición 2 Q1 Pre Bias	Transición 2 CE	Tarnsición 2 Q3 Pre Bias	Transición 3 Q1 Pre Bias	Transición 3 CE	Tarnsición 3 Q3 Pre Bias
Acefato	+	184	143	49,15		-20	-10	-27	-20	-22	-19			
Imazapir	+	262,3	217,2	69,1		-20	-20,3	-20	-20	-28,1	-24			
Imazetapir	+	290,35	245,15	177,1		-22	-21,1	-23	-22	-27,3	-33			
Propamocarb	+	189,2	102,15	144,2		-18	-8	-19	-18	-14	-15			
Metsulfuron Metil	+	382,1	167,15	199		-14,8	-17,4	-14,8	-28,7	-22,2	-18,6			
Tiametoxam	+	292	181,1	211,1		-15	-22	-18	-15	-13	-22			
Desisopropil-Atrazina	+	174,1	68,15	104		-20	-29	-26	-20	-23	-20			
Flumetsulam	+	326,1	129,1	109		-17	-27	-25	-17	-40	-18			
Imidacloprid	+	256,15	209,15	175,2		-13	-16	-21	-13	-21	-17			
Acetamiprid	+	223,1	126,1	55,95		-26	-11	-24	-26	-16	-22			
Cimoxanilo	+	199,1	111,15	128,15		-23	-19	-18	-23	-9	-23			
Desetil-Atrazina	+	188,1	146,1	104,05		-22	-18	-30	-22	-24	-19			
Carbendazim	+	192,1	160,2	132,2		-22	-19	-30	-22	-30	-25			
Pirazosulfuron Etil	+	415,1	182	139,05		-12	-10	-19	-12	-42	-27			
Diclosulam	+	406,1	161	378		-12	-27	-28	-12	-15	-26			
Triciclozol	+	190,1	136	109		-22	-24	-24	-22	-36	-21			
N-(2,4-Dimethylphenyl)formamide	+	150,1	107,1	106,1		-16	-21	-19	-16	-30	-19			
Tiabendazol	+	202	175	131,15		-22	-15	-18	-22	-27	-24			
Metribuzina	+	215,1	187,1	49,1		-23	-18	-19	-23	-26	-19			
Carbofurano	+	222,1	165	77,15		-25	-6	-17	-25	-44	-30			
Malaoxon	+	315,1	98,9	127,15		-16	-14	-18	-16	-7	-23			
Simazina	+	202,1	104	68,05		-23	-25	-19	-23	-32	-27			
Carbaril	+	202,1	145,1	117		-22	-12	-28	-22	-25	-22			
Bispiribac Na	+	453,1	297,2	179,05		-17	-19	-19	-17	-23	-17			
Fomesafen	+	456	344	223,05	300	-14	-15	-24	-14	-30	-15	-14	-26	-21
Atrazina	+	216,1	174,1	104,05		-24	-13	-18	-24	-30	-20			
Flutriafol	+	302,1	70,1	123		-15	-22	-28	-15	-26	-22			
Diuron	+	233	72,1	46,15		-26	-8	-27	-26	-17	-18			
Metaxyl	+	280,1	220	192,05		-14	-6	-22	-14	-13	-20			

Procloraz	+	376	307,95	70		-11	-8	-21	-11	-26	-29			
Difenoconazol	+	406,1	250,9	111		-12	-25	-17	-12	-55	-21			
Cialofop Butil	+	375,2	120	256		-18	-32	-21	-18	-16	-18			
Trifloxistrobina	+	409,1	186,1	145,1	205,9	-20	-6	-19	-20	-29	-29	-10	-21	
Haloxifop Metil	+	376,1	316	91,05	271,95	-11	-8	-22	-11	-27	-16	-11	-36	-28
Profenofos	+	375	304,7	346,75		-11	-19	-21	-11	-13	-24			
Propaquizafop	+	444,1	70,2	100,2		-21	-22	-20	-21	-42	-28			
Emamectina Benzoato B1b	+	872,2	158,2	82,05		-26	-37	-16	-26	-55	-13			
Etion	+	385	143	198,9		-20	-25	-28	-20	-10	-20			
Clorpirifos	+	350,05	197,95	97,1		-17,4	-23,4	-18,6	-26,2	-28,8	-37,5			
Fluroxypyr-1-methyl-heptylester	+	367,1	254,95	209		-11	-12	-26	-11	-24	-21			
Emamectina Benzoato B1a	+	886,4	158,2	82,05		-26	-31	-30	-26	-55	-16			
Lambda Cialotrina	+	467,1	225,1	450	141,05	-13	-18	-24	-13	-11	-16	-13	-45	-29
Cipermetrina	+	432,9	191	416		-22	-15	-19	-22	-9	-30			
Deltametrina	+	523	281	505,9		-26	-17	-29	-26	-11	-36			
Fenazaquin	+	307,2	57	161,1		-16	-13	-23	-16	-12	-16			
Permetrina	+	408,1	183,1	355,05		-12	-21	-19	-12	-10	-26			
Bifentrina	+	440,2	181,15	165,1		-13	-17	-19	-13	-55	-30			
Dicamba	-	218,65	175,1	177,2		27	8	38	24	7,5	20			
2,4-D	-	219,2	161	125,1		15	14	15	15	27	24			
Terbacil	-	215,1	159,1	42,15		15	16	30	15	27	15			
Fipronil	-	435	330	250,05		16	16	24	16	27	27			
Endosulfan sulfato	-	418,8	97,05	97		30	22	20	16	35	19			

11.22. La secuencia de análisis a ser utilizada debe estar diseñada de la siguiente manera: inicialmente se incluyen los blancos de reactivo y matriz, luego la curva de calibración, muestras, duplicados y fortificados. Se incluyen un control continuo de calibración cada 10 inyecciones y al finalizar la secuencia se repite la curva de calibración inicial y como mínimo un nivel de concentración en solvente.

12. ANÁLISIS DE DATOS

Cuantificación analítica

- 12.1. A partir de las distintas concentraciones de soluciones estándares inyectadas, se grafica para cada plaguicida, el área del pico correspondiente a la transición de cuantificación en función de la concentración de fortificación del estándar preparado. Para el rango lineal definido, la curva de mejor ajuste corresponde a una recta de la forma $y = ax + b$, donde "y" es el área del plaguicida y "x" la concentración de dicho plaguicida en la solución estándar, en $\mu\text{g/L}$.
- 12.2. Se evalúa la linealidad de la curva de calibración de cada plaguicida, a partir del cálculo de residuales. Se considera un ajuste adecuado, si se obtienen valores de residuales menores al 20 %.
- 12.3. Se comparan las señales de la muestra y de los estándares, para identificar los compuestos analizados. Los tiempos de retención para los analitos en las muestras extraídas, deben coincidir con los tiempos en los estándares de calibración, dentro de una tolerancia de ± 0.1 minutos. Se deberán de seleccionar como mínimo dos iones productos a partir de un ion precursor y establecer la relación entre las intensidades de estos iones, expresada como razón relativa al ion más intenso. Para las muestras extraídas, esta relación entre iones debe ser $\pm 30\%$ de la calculada como promedio de las relaciones de las intensidades de los iones productos, en los estándares de calibración utilizados.
- 12.4. La concentración de cada plaguicida en el extracto se calcula interpolando su área, en la curva de calibración correspondiente

$$C_{\text{plaguicida } i, \text{ extracto}} (\mu\text{g/L}) = \frac{(\text{Área plaguicida } i, \text{ extracto}) - b}{A}$$

- 12.5. Es posible realizar una cuantificación utilizando un solo nivel de calibración siempre y cuando el área del analito en la muestra y en el estándar sean similares (dentro de $\pm 30\%$).
- 12.6. La concentración de cada plaguicida en la muestra, en $\mu\text{g/L}$, se calcula según (ajuste por el paso de dilución en la preparación):

$$C_{\text{plaguicida } i, \text{ muestra}} (\mu\text{g/L}) = \frac{C_{\text{plaguicida } i, \text{ extracto}} \times 0.5}{\text{Toma muestra en mL}}$$

12.7. Se asume que la densidad de las muestras es siempre 1 g/mL.

13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

- 13.1. **Control de blancos:** En cada corrida, se analiza un blanco de matriz, extraído en las mismas condiciones que las muestras analizadas. Verificar que los cromatogramas no contengan señales que interfieran con los compuestos de interés. Además, se verificará que el solvente utilizado para la reconstitución final de las muestras no presente contaminantes que interfieran en la determinación.
- 13.2. **Control de recuperación de fortificaciones:** Se evalúa la recuperación de todos los analitos de interés, realizando el análisis de un fortificado cada 10 muestras y como mínimo 1 por batch. Para ello, fortificar una muestra con la solución 8.13 de tal forma que la concentración final corresponda a aproximadamente el límite de cuantificación. La recuperación de la adición debe estar dentro del rango 60-140 % del valor adicionado, o de existir gráficos de control, los rangos serán fijados a partir de éstos. En caso de no cumplimiento, evaluar la posibilidad de informar utilizando límites de reporte.

$$\% \text{ de recuperación}_{\text{plaguicida } i} = 100 \times \frac{((C_{\text{plaguicida } i, \text{ muestra fortificada}} \mu\text{g/L} \cdot \text{Vol final muestra fortificada mL}) - (C_{\text{plaguicida } i, \text{ muestra}} \mu\text{g/L} \cdot \text{Vol muestra mL}))}{(C_{\text{plaguicida } i, \text{ estándar de fortificación}} \mu\text{g/L} \cdot \text{Vol estándar mL})}$$

donde:

$C_{\text{plaguicida } i, \text{ muestra fortificada}}$: Concentración de la plaguicida i calculada según 12.6, en la muestra fortificada.

$C_{\text{plaguicida } i, \text{ muestra}}$: Concentración de la plaguicida i en la muestra sin fortificar, calculada según 12.6.

$C_{\text{plaguicida } i, \text{ estándar fortificación}}$: Concentración del estándar utilizado para la fortificación.

Vol final muestra fortificada: Volumen final de muestra fortificada.

Vol muestra: Volumen de muestra sin fortificar utilizado en la fortificación.

Vol estándar: Volumen de estándar agregado a la muestra fortificada.

13.3. Control de veracidad de la determinación: En caso de ser posible, evaluar la veracidad de la determinación (verificación inicial de la calibración del instrumento), utilizando un material de referencia certificado. Dicho control se prepara en forma análoga a los puntos de curva en matriz y a una concentración incluida dentro del rango de calibración. Se incluye como mínimo un control de veracidad por batch de análisis. De ser posible, el material de referencia deberá incluir la totalidad de los plaguicidas a analizar. En los casos en que esto no sea posible, se evaluará la posibilidad de complementar el control de veracidad, con material de referencia de distinto origen al empleado en la curva de calibración.

La concentración obtenida para cada plaguicida debe estar en el rango 60-140 % o de existir los gráficos de control correspondientes, el rango será fijado a partir de éstos.

Cuando el resultado no se encuentre dentro de los límites permitidos, se debe revisar el procedimiento analítico y evaluar la repetición del análisis del batch.

13.4. Control continuo de calibración del equipo: El control de calibración es utilizado para poder identificar posibles cambios de sensibilidad durante la determinación analítica. Para ello se incluye un punto de curva de concentración intermedia cada 10 inyecciones y al final de la secuencia como mínimo 3 puntos de curva. Se acepta hasta un 30 % de variación de la sensibilidad. Si se obtiene una diferencia de señal mayor al 30 % respecto a la primera inyección del estándar (durante el análisis la curva en matriz), evaluar la repetición parcial o total del análisis cromatográfico.

13.5. Control de precisión: Se debe realizar el análisis de un duplicado cada 10 muestras y como mínimo 1 por batch de muestras. Los límites de aceptación de los duplicados surgen a partir de los gráficos de control correspondientes. En caso de no contar con éstos, se aceptan dispersiones entre los duplicados (como rangos normalizados) menores al 20 %, para cada plaguicida.

14. BIBLIOGRAFÍA

14.1. EPA Method 8321 B, Revision 2, February 2007

14.2. EPA Method 3535A Solid-Phase Extraction (SPE), Revision 1, February 2007.

14.3. EPA Chapter 4 Organic Analytes, Revision 6, December 2018.

14.4. European commission directorate-general for health and food safety. "Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed" (SANTE 11312/2021).

