

Nueva tecnología para el manejo de muestras contaminadas: cambio automático del liner de inyectores del CG

El cambiador automático del liner o revestimiento de Gerstel (ALEX: Automated Liner Exchange) permite un análisis rutinario por CG (Cromatografía de gases) de muestras que contienen grandes cantidades de matriz u otros residuos sólidos. Tras varias inyecciones, el material de la matriz se deposita en el inyector del CG (Cromatógrafo de gases), que adsorbe y conduce a pérdidas de los analitos activos, tales como pesticidas. ALEX reemplaza el liner de inyección del Gerstel CIS en intervalos definidos por el usuario, eliminando la necesidad de pasos de limpieza duraderos durante la preparación de la muestra.

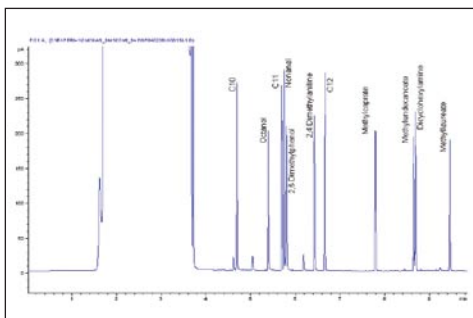


Figura 1: Cromatograma CG FID de una mezcla de ensayo Grob (1 μL no dividido) inyectada en un CIS 4 equipado con el sistema ALEX.

Los pasos de purificación y limpieza de las muestras, necesarios para muestras medioambientales y de alimentos en la determinación de pesticidas son duraderos y una fuente de posibles errores. En muchos casos, la simplificación o, directamente, eliminación de estos procedimientos es la motivación para desarrollar nuevos métodos analíticos y nuevos instrumentos. Desafortunadamente, los instrumentos analíticos no toleran la introducción de muestras “sucias”, ni aun de extractos “sucios”. Por ejemplo, los extractos conteniendo materias en suspensión o compuestos de alto peso molecu-

lar, contaminan el inyector del CG después de pocas inyecciones, causando un ensanchamiento del pico hasta una pérdida de compuestos sensibles. Si se reducen o eliminan los pasos de limpieza, los extractos pueden contaminarse y obligar a un mantenimiento diario –hasta cada hora– del sistema CG.

Diseño del sistema para un intercambio automático del liner

Un sistema simple y automático de cambio del liner puede superar la mayoría de los problemas causados por muestras “sucias” en el análisis por CG. La solución que se presenta aquí utiliza un vaporizador de temperatura programable (PTV: Programmable Temperature Vaporizer), que es un sistema de inyección en combinación con un cambiamuestras comercialmente disponible, y que cambia automáticamente el liner durante cualquier intervalo dentro de una secuencia analítica. Cada liner está equipado con un adaptador de transporte, el cual permite también la inyección de líquidos a través de un septo. Los adaptadores montados al liner son transportados por el cambiamuestras, que también realiza las inyecciones de líquidos. El sistema inyector se basa en el CIS 4 (Cooled Injection System: sistema refrigerado de inyecciones) y el MPS 2 (MultiPurpose Sampler: cambiamuestras multifuncional), ambos de Gerstel. En vez del cabezal sin septo, normalmente utilizado en el CIS 4 para inyecciones líquidas, se le ha montado un cabezal con un soporte especial. Este soporte sella herméticamente el adaptador de transporte, garantizando un flujo del gas portador sin interferencias a través del adaptador y el liner. El soporte y los adaptadores de transporte son fabricados de forma cónica para garantizar un cierre hermético. A cada adaptador de transporte se le montan dos anillos O-rings, entre los cuales se posiciona la entrada del gas portador. Este tipo de hermetización se ha comprobado a través de los años usándola en otros sistemas, donde tubos de vidrio se cambian automáticamente, tales como en el TDS (Thermal Desorption System: sistema de desorción térmica) de Gerstel.

Para poder sujetar y transportar al adaptador, se ha modificado el cambiamuestras ligeramente, acoplándole un manipulador. Se almacenan hasta 97 liners preparados en una bandeja especial; los adaptadores de transporte garantizan un sello hermético para un almacenaje libre de contaminaciones. Para las inyecciones líquidas, cada adaptador de transporte viene equipado con un septo de 5 x 3 mm, comercialmente disponible, que es utilizado, por ejemplo, en el inyector de Agilent “frío sobre columna”. La parte superior del inyector, y, en particular, el adaptador de transporte, permanecen fríos durante el análisis debido a un desacoplamiento térmico efectivo entre el cuerpo y la parte superior del PTV. Como resultado, no se observa ningún sangramiento ni del septo ni de los anillos O-ring.

El cuerpo del inyector es idéntico al del inyector CIS 4, y se pueden usar todos los tipos de liners comercialmente disponibles (liners vacíos, o liners rellenos con fibra de vidrio o adsorbentes). El cambiador automático del liner no afecta el rendimiento analítico del inyector CIS 4. Como ejemplo se

Tabla 1: Los pasos necesarios del método QuEChERS.

- Pese 10 g de la muestra
→ Añade 10 mL de acetonitrilo (AcN)
- Agite vigorosamente durante 1 min
→ Añade 4 g de MgSO₄ y 1 g de NaCl
- Agite vigorosamente durante 1 min
→ Añade la solución estándar interna
- Agite durante 30 segundos y centrifúgalo
- Tome una alícuota del sobrenadante
→ Añade MgSO₄ y absorbente
- Agite durante 30 segundos y centrifúgalo
- CG-MS y CL-MS

Tabla 2: Desviaciones estándar (SD) para diferentes pesticidas obtenidos bajo condiciones de inyección optimizadas (vea tabla 3) para 10 inyecciones con un liner. Aun con solamente 10 inyecciones con cada liner, las desviaciones estándar de algunos pesticidas son altas. Además de la química específica de algunos pesticidas, esto se debe al hecho de que se inyectan 5 μL de extracto de acetonitrilo a un liner vacío. Se sabe que acetonitrilo no es un solvente apto para la CG. Normalmente para este tipo de solución y este volumen de inyección se debería utilizar un liner relleno con fibra de vidrio. Desafortunadamente algunas sustancias son muy sensibles y muestran una discriminación sobre fibra de vidrio. Por otro lado, es necesario inyectar un volumen de 5 μL para poder alcanzar el límite de detección de 0,01 mg/Kg.

Compuesto	SD	Compuesto	SD	Compuesto	SD
1 cialotrina	9,5%	Ciprodinil	7,7%	procimidona	4,7%
2 cialotrina	6,7%	diclorvos	12,0%	Tebuconazol	6,8%
atrizina	9,0%	sulfato de endossulfan	12,7%	tiabendazol	6,8%
azoxiostrobrina	5,9%	ethion	8,0%	Tolilfluánida	8,2%
bifentrina	6,8%	imazalil	7,2%	Trifluralina	6,9%
Carbaril	12,9%	metilcresoxima	6,7%	Tritano	3,5%
metilclorpirifos	6,9%	metamidofos	6,5%	o-fenilfenol	6,8%
etilclorpirifos	8,5%	permetrina	7,0%	p,p'-DDD	6,1%
clortalonil	29,3%	permetrina 2	6,8%		



Figura 2: Frasco de 2 mL con el extracto de pimentón producido por el método QuEChERS y un liner relleno con fibra de vidrio al cual fueron inyectados 5 μL del extracto.

Tabla 3: Condiciones de inyección para el análisis de pesticidas según el método de preparación de muestras QuEChERS, GERSTEL MP2 con el sistema ALEX, GERSTEL CIS 4, Agilent 6890 GC, columna Varian FactorFour XMS (30 m, 0,25 ID, 0,25 μm film), Leco Pegasus 3 TOF-MS, Liner: vacío con deflector desactivado.

Liner	vacío con deflector (desactivado)
Volumen inyectado	5 μL (solución de AcN)
Velocidad de inyección	10 μL/s
Modo de inyección	apertura para solvente durante 15 s (50 mL/min; 8,2 psi), transferencia de la muestra sin división, flujo de purga 50 mL/min a 150 s
Prog. de temp. CIS 4	50°C (0,25 min) - 12°C/sec - 280°C (30 min)

muestra en la figura 1 un cromatograma de una mezcla ensayo según Grob, con la resolución de los picos y sus contornos perfectos.

Los ensayos con mezclas de n-alkanos demostraron que la recuperación de sustancias con alto punto de ebullición es comparable a la recuperación con un sistema normal tipo CIS 4. Se puede ver claramente que este nuevo cambiador del liner automático ALEX no influye en el rendimiento del CIS 4. Los métodos desarrollados para el CIS 4 pueden ser transferidos al sistema ALEX, sin ninguna modificación. El software de control permite al usuario cambiar los liners en cualquier fase de la secuencia analítica. El software puede ser operado de forma aislada o integrado al software ChemStation de Agilent para CG o MS. Esto implica que para operar el sistema es necesario establecer solamente una lista de secuencias para el sistema completo.

El análisis de pesticidas en alimentos no grasos con una preparación de muestras reducida

Se ha presentado recientemente un método analítico de pesticidas en frutas y legumbres descrito como QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe: Rápido Fácil Barato Efectivo Robusto Seguro) [1]. Comparado con otros métodos de preparación de muestras para determinar pesticidas, el método QuEChERS permite preparar las muestras rápidamente de tal forma que, pueden ser preparadas 8 muestras en menos de 30 minutos. La tabla 1 resume todos los pasos necesarios del método QuEChERS).

El mayor beneficio de este método de preparación de muestras es el reducido tiempo de análisis; al mismo tiempo, es menos propenso a errores. Desafortunadamente, los extractos obtenidos contienen, en muchos casos, una gran cantidad de la matriz, que causa problemas cromatográficos durante el análisis, debido a la acumulación de residuos en el liner.

La figura 2 muestra la imagen de un vial de 2 mL conteniendo el extracto de un pimentón, y un liner relleno con fibra de vidrio al cual han sido inyectados 5 µL de este extracto. La acumulación de residuos en el liner del CG rápidamente afecta los resultados analíticos de varios pesticidas, como puede observarse en la figura 3. Se ha inyectado 20 veces una solución estándar de 5µL añadida al extracto de pimentón a un liner desactivado y con deflectores. En el gráfico se presentan las tendencias del área del pico para tres pesticidas diferentes. Las áreas del sulfato de endosulfano y clorotalonil decrecen a través del curso de 20 inyecciones. Esto puede explicarse con el crecimiento de la contaminación con residuos de la matriz sobre el liner, conduciendo a la pérdida del analito. Para los dicloros, la situación es diferente: el área del pico incrementa. Este efecto se describe en la literatura como "agrandamiento de la respuesta cromatográfica inducida por la matriz" [2]. Esto quiere decir que compuestos de la matriz cubren sitios activos restantes en el sistema cromatográfico, generando una respuesta más alta para los analitos sensibles. La figura 3 muestra claramente que cuando se ana-

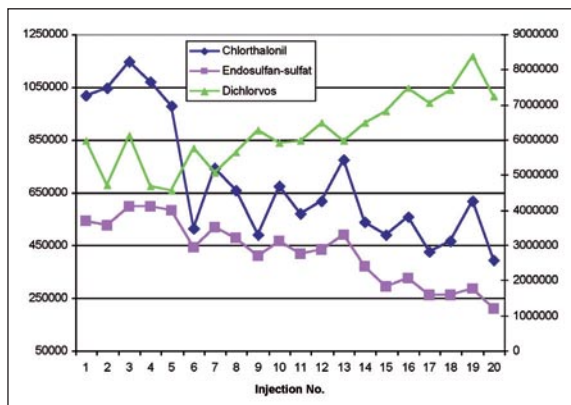


Figura 3: Tendencia del área de pico (CG/TOF-MS) para inyecciones de 5 µL de una solución patrón en matriz de pimentón en un liner con deflector desactivado y vacío.

lizan extractos obtenidos por el método QuEChERS, un cambio del liner es imprescindible después de 10 ó al menos 15 muestras, en el caso de legumbres, como el pimentón. Para implementar el método QuEChERS en el laboratorio y para realizar un análisis rutinario y automatizado, es absolutamente necesario poder cambiar los liners automáticamente, como se ofrece con el sistema nuevo de Gerstel, el ALEX.

Aquí se muestra un ejemplo de una secuencia de análisis rutinario:

- 1 cambio del liner
- 2 inyecciones de los patrones para la recalibración (3 o 5 niveles de concentración)
- 3 inyección de las muestras (7 a 10 muestras)
- 4 cambio del liner
- 5 se repiten pasos 2 – 4

Conclusiones

El sistema descrito para cambiar automáticamente el liners del inyector PTV permite un análisis automatizado por CG de muestras o extractos con un alto contenido de sustancias de alto punto de ebullición o materia en suspensión.

Esta aplicación seleccionada—determinar pesticidas en frutas y legumbres con el método de preparación QuEChERS— revela que la reducción de pasos de preparación de muestras en combinación con un sistema de CG que tolera inyecciones de soluciones con un alto contenido de matriz es una solución eficaz. El tiempo de trabajo en el laboratorio para la preparación de la muestra se reduce considerablemente y, al mismo tiempo, se logra la capacidad para un gran número de muestras para el instrumento analítico.

Referencias

- [1] M. Anastassiades, S. Lehotay, D. Stajnbaher and F. Schenck: Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J AOAC Int* 86(2) (2003) 412-31.
- [2] M. Anastassiades, K. Mastovska, S.J. Lehotay: Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *J. Chromatogr. A* 1015 (2003) 163-184

Gerstel, Alemania
Anote el 309-104



Automatización Inteligente para GC/MS and LC/MS

Pregúntenos cómo la tecnología GERSTEL puede darle beneficio



Agilent Technologies
Premier Solution Partner

GERSTEL

www.gerstel.com