

# DETERMINACIÓ DE SALS D'AMONI QUATERNARI (QUATs) EN ALIMENTS D'ORIGEN VEGETAL MITJANÇANT LC-MS/MS

A. Llorc<sup>1</sup>, I. Beguiristain<sup>2</sup>, A. Rubies<sup>2</sup>, F. Centrich<sup>2</sup>, M. Granados<sup>1</sup>  
 1. Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica, Universitat de Barcelona, Barcelona, Espanya  
 2. Laboratori de l'Agència de Salut Pública de Barcelona (LASPB), Barcelona, Espanya

## INTRODUCCIÓ

El Difenzoquat (1,2-Dimetil-3,5-difenil-1H-pirazol, DfQ), el Cloromequat (2-Cloroetiltrimetilamoni, CQ) i el Mepiquat (1,1-Dimetilpiperidini, MQ) són compostos utilitzats com a herbicides. Contenen en la seva estructura molecular nitrògens quaternaris i es classifiquen dins del grup dels QUATs. L'ús de QUATs com a plaguicides està regulat, ja que l'exposició dels éssers vius a aquests herbicides pot provocar diversos efectes tòxics. A la Unió Europea, per garantir la seguretat dels aliments i protegir els consumidors, s'han establert les concentracions límit permeses de CQ i MQ en aliments [1,2], i al Reglament (UE) 595/2015<sup>[3]</sup> s'indiquen les diferents matrius en què els laboratoris a càrrec del control oficial cal que analitzin QUATs.

La cromatografia de líquids de parell iònic, utilitzada habitualment per a la separació d'aquests compostos, és poc compatible amb una posterior detecció mitjançant espectrometria de masses (MS). La Cromatografia de Líquids d'Interacció Hidrofílica (HILIC) ha resultat ser una alternativa eficaç per a l'anàlisi de QUATs i permet la detecció mitjançant MS. L'objectiu d'aquest estudi ha sigut desenvolupar un mètode d'extracció fiable i robust, optimitzar les condicions cromatogràfiques per a una correcta separació dels anàlits i assolir una adequada detecció per espectrometria de masses, per disposar d'una metodologia que permeti garantir un control eficaç i viable de DfQ, CQ i MQ en aliments d'origen vegetal.

ANÀLITS	MATRIUS ANALITZADES
<ul style="list-style-type: none"> <li>Cloromequat (CQ)</li> <li>Difenzoquat (DfQ)</li> <li>Mepiquat (MQ)</li> </ul> <p>Patrons interns: Cloromequat-D4 (CQ-D4) Mepiquat-D3 (MQ-D3)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tomàquet</li> <li>Pastanaga</li> <li>Raïm</li> <li>Arròs</li> <li>Sègol</li> <li>Albergínia</li> <li>Pera</li> <li>Vi</li> <li>Blat</li> </ul>

### MÈTODE ESTÀNDARD DE LA UNIÓ EUROPEA

Mètode proposat pel Laboratori Europeu de Referència (EURL-SRM) per a l'extracció i determinació simultània dels QUATs<sup>[4]</sup>.

**Objectius:**  
Assolir millor sensibilitat  
Viabilitat en anàlisis de rutina

**Avantages:**  
ràpid  
senzill

**Inconvenients:**  
molt efecte matriu  
baixa sensibilitat  
no viable per anàlisi de rutina (contaminació de l'equip)

Imatge del con de la font de ionització després de l'anàlisi de 10 mostres de tomàquet extretes segons el mètode de EURL-SRM.

## TRACTAMENT DE MOSTRA

Per aconseguir disminuir l'efecte matriu i incrementar la sensibilitat del mètode proposat per l'EURL-SRM, es va optimitzar el tractament de mostra.

**Extracció:** 20 mL H<sub>2</sub>O, Bany d'ultrasons 5 min

**Centrifugació:** 5 min, 10°C, 5.000 rpm

**Clean-up:** Ajust del pH de l'extracte a 7±0,5  
SPE de bescanvi catiònic feble (cartutx Strata-X-WC): 500mg  
Reducció de l'efecte matriu

**Evaporació:** 65°C sota corrent de N<sub>2</sub>  
Preconcentració: millora dels límits de quantificació

**Filtració**

**LC-MS/MS**

Resposta instrumental obtinguda amb diferents tipus d'agitació a l'etapa d'extracció. Mostra de tomàquet enriquida amb DfQ, CQ i MQ (50 µg/Kg)

Efecte del volum de dissolvent sobre la recuperació de l'etapa d'extracció. Mostra de tomàquet enriquida amb DfQ, CQ i MQ (50 µg/Kg)

Efecte del pH sobre la recuperació. Mostra de tomàquet enriquida amb DfQ, CQ i MQ (50 µg/Kg)

Recuperacions de les etapes d'extracció i clean-up i del procés complet. Mostra: tomàquet enriquit amb DfQ, CQ i MQ (50 µg/Kg)

Recuperacions del procés complet de diferents matrius enriquides amb DfQ, CQ i MQ (5 µg/Kg)

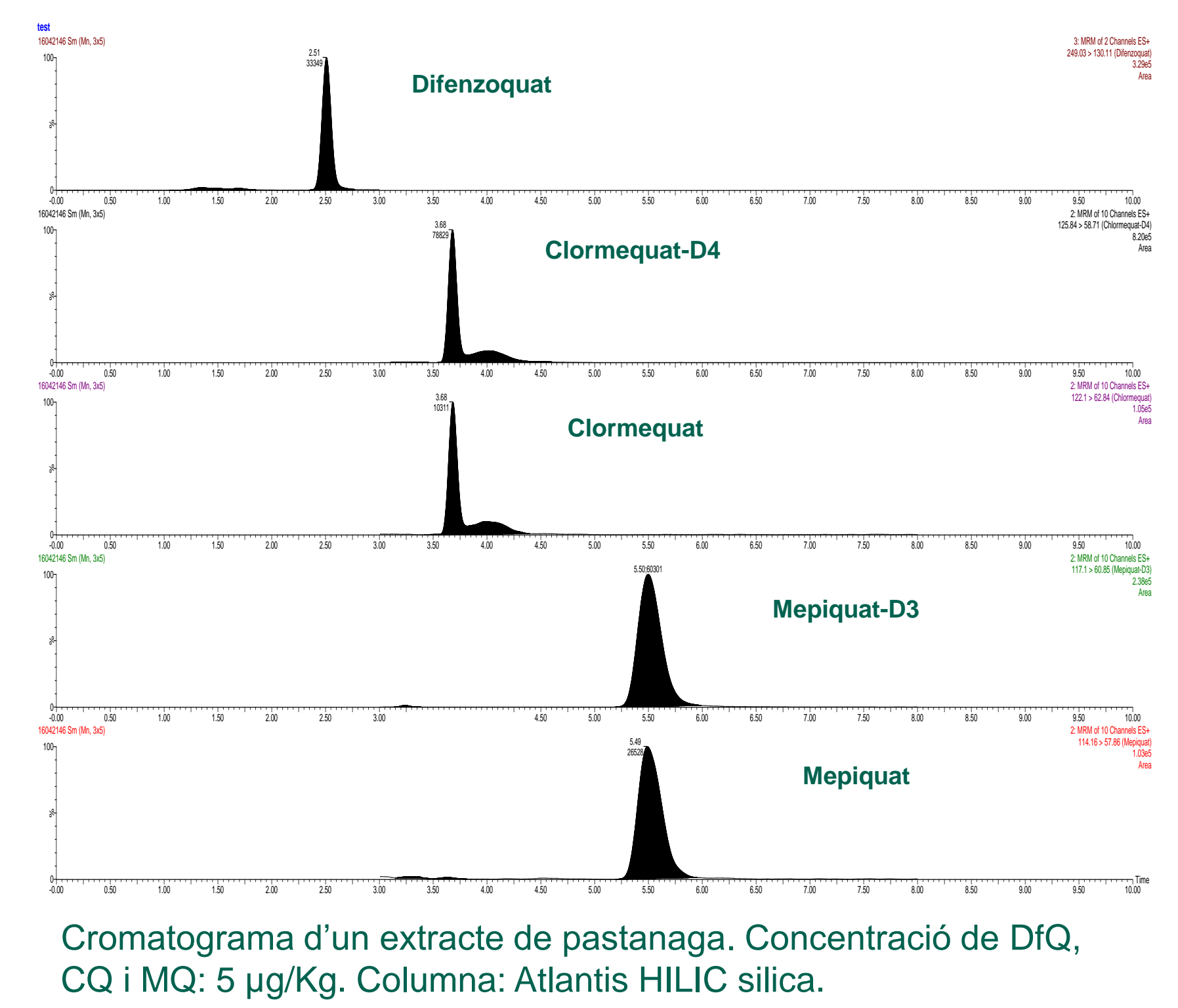
## CROMATOGRÀFIA DE LÍQUIDS

A causa de l'alta polaritat dels QUATs, la cromatografia HILIC permet una bona separació. Després d'avaluar cinc columnes (Obelisc R [recomenada EURL-SRM], ZIC-HILIC, Acquity BEH-HILIC, Cortecs HILIC i Atlantis HILIC) es va seleccionar la columna Atlantis per a la separació cromatogràfica de DfQ, CQ i MQ.

Equip: Acquity UHPLC H-Class (Waters)

Columna Atlantis HILIC silica (3 µm) 3x100mm  
Eluïció en mode gradient  
Fase mòbil A: ACN  
Fase mòbil B: H<sub>2</sub>O 10 mM formiat amònic a pH=3  
Cabal de fase mòbil: 0,4 ml min<sup>-1</sup>

Temps (min)	% Fase mòbil A	% Fase mòbil B
0	75	25
2	75	25
5	40	60
10	40	60



S'ha assolit una correcta separació cromatogràfica dels QUATs en la modalitat de cromatografia HILIC.

## DETECCIÓ MS/MS

Equip MS/MS: triple quadrupol XEVO TQ-s micro (Waters)  
 Ionització: ESI +  
 Mode d'adquisició: MRM (Multiple Reaction Monitoring).

Anàlit	Transició	
	Quantificació	Confirmació
Cloromequat	124 > 59	122 > 63
Difenzoquat	249 > 130	249 > 118
Mepiquat	114 > 58	114 > 112
Cloromequat-D4	126 > 59	-
Mepiquat-D3	117 > 61	-

S'ha aconseguit una detecció òptima mitjançant espectrometria de masses que permet assolir els límits màxims de residu (LMR) legistats.

## BIBLIOGRAFIA

[1] REGLAMENTO (UE) No 737/2014 DE LA COMISIÓ de 24 de junio de 2014.  
 [2] REGLAMENTO (UE) N o 36/2014 DE LA COMISIÓ de 16 de enero de 2014  
 [3] REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 595/2015 DE LA COMISIÓ de 15 abril de 2015.  
 [4] Single Residue Methods – EU Reference Laboratories for Residues of pesticides. (V 8.1).

S'ha desenvolupat un mètode robust i fiable per a l'extracció de DfQ, CQ i MQ de matrius d'origen vegetal