

### EXTENDING THE IONIZATION COVERAGE OF LIQUID CHROMATOGRAPHY/ MASS SPECTROMETRY FOR PESTICIDE ANALYSIS THROUGH DIELECTRIC BARRIER DISCHARGE IONIZATION

Julio García-Martínez<sup>1</sup>, Bienvenida Gilbert-López<sup>1</sup>, Miriam Benito-Cambra<sup>1</sup>, Julio C. Benítez-Villalba<sup>2</sup>, Sebastian Brandt<sup>3</sup>, Joachim Franzke<sup>3</sup>, Juan F. García-Reyes<sup>1</sup>, Antonio Molina-Díaz<sup>1</sup>

Grupo de Investigación Química Analítica de la Universidad de Jaén (FQM-323), Campus las Lagunillas edif. B3, 23071, Jaén, España; <sup>2</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Campus Universitario, Paraguay; <sup>3</sup>Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften –ISAS– e.V., Dortmund,

#### 1. Introducción

La determinación de residuos de plaguicidas se realiza generalmente mediante el acoplamiento de técnicas separativas como cromatografía líquida (HPLC) o cromatografía de gases (GC) con espectrometría de masas (MS). La elección de uno u otro acoplamiento depende en gran medida de las características fisicoquímicas de los compuestos a analizar, como su polaridad y su volatilidad. Dos aspectos clave son: (i) la estabilidad térmica de los compuestos, para su análisis por GC-MS, y (ii) su capacidad para ser ionizados de manera eficiente por la fuente de electrospray (ESI), para su análisis por HPLC-MS [1].

Para aquellos compuestos que no son ionizados de manera eficiente por ESI, existe como alternativa para el acoplamiento HPLC-MS la fuente comercial de ionización química a presión atmosférica (APCI, por sus siglas en inglés). La principal diferencia entre ellas es que la ionización en ESI se produce en fase líquida, mientras que la ionización en APCI se produce en fase gas. Estas fuentes suelen actuar de manera complementaria, es decir, la fuente APCI no ioniza de forma eficiente los compuestos que ionizan bien mediante ESI, lo que se traduce a efectos prácticos en la necesidad de desarrollar dos métodos de análisis distintos: uno con ESI y otro con APCI. Consecuentemente, resulta muy interesante explorar nuevas fuentes de ionización con una capacidad de ionización más extensa que las fuentes comerciales actuales, a fin de poder analizar conjuntamente compuestos que necesitarían ser separados en dos métodos para su análisis con distintas fuentes de ionización comerciales.

En la última década, las fuentes de ionización basadas en microplasmas han generado mucha expectación, sobre todo por su aplicación al análisis mediante espectrometría de masas “en condiciones ambientales” (Ambient MS) [2]. De entre ellas, la fuente de ionización basada en descarga de barrera dieléctrica denominada DBDI (por sus siglas en inglés) ha generado cierta atracción en los últimos años como una ionización versátil que puede utilizarse tanto en MS en condiciones ambientales como en los acoplamientos GC-MS, LC-MS o CE-MS [3,4], siendo adecuada para muchas aplicaciones, como el análisis medioambiental, biológico y

farmacéutico, y la seguridad alimentaria. En esta fuente, la descarga de barrera dieléctrica se forma entre dos electrodos anulares situados en la parte externa de un capilar de vidrio, el cual actúa como barrera dieléctrica, separando los electrodos del plasma generado. La fuente DBDI presenta distintos mecanismos de ionización, que incluyen la captura de electrones y la transferencia de protones [4].

Nuestro grupo de investigación ha publicado una minuciosa evaluación de la fuente DBDI como interfase de ionización de LC-MS acoplada a distintos equipos comerciales para el análisis de residuos de pesticidas en alimentos [5,6]. Ésta presenta atractivas ventajas frente a ESI y APCI dada la versatilidad de su mecanismo de ionización. Para una selección de alrededor de 100 plaguicidas con un amplio rango de propiedades fisicoquímicas, la fuente DBDI mostró una mejor sensibilidad que APCI y un reducido efecto matriz, y aquellos compuestos que originaban aductos de sodio en ESI eran detectados en DBDI solo en forma de molécula protonada, lo que mejoraba su sensibilidad. Además, la fuente DBDI fue capaz de ionizar pesticidas organoclorados que típicamente son analizados mediante GC-MS [6].

En el presente trabajo se investiga la capacidad de la fuente DBDI para ionizar compuestos “problemáticos”, que no son ionizados de manera eficiente por ESI, y además, su análisis por GC-MS también resulta complicado, por su elevada polaridad o por ser termolábiles. Entre estos compuestos problemáticos encontramos pesticidas como captan, bromofos-etil, dazomet, dinocap y *o*-fenilfenol, entre otros [7].

#### 2. Experimental

##### 2.1. Materiales y reactivos

Todos los disolventes empleados fueron de grado HPLC; agua, metanol (MeOH) y acetonitrilo (ACN) fueron adquiridos en Sigma Aldrich (Madrid, España). Los estándares analíticos de los pesticidas estudiados fueron suministrados por Sigma-Aldrich calidad Pestanal (Madrid, España) y Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburgo, Alemania). Se prepararon disoluciones individuales de cada pesticida en

acetonitrilo (500 mg/L) y se almacenaron a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Se prepararon sucesivas diluciones frescas con mezclas de MeOH y agua antes de su análisis por HPLC-MS.

## 2.2. Sistema UHPLC-TOFMS

Se empleó un sistema de cromatografía de líquidos UHPLC (Agilent Series 1290 Infinity, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU) que consta de un desgasificador, un muestreador automático y una bomba binaria. El estudio de la ionización se realizó mediante la inyección sin columna de  $5\text{ }\mu\text{L}$  de las disoluciones estándar de los analitos en un flujo  $0.2\text{ mL/min}$  de una fase móvil compuesta por un 20% de agua y un 80% de metanol (MeOH). La separación cromatográfica de los analitos se está optimizando en una columna analítica de fase reversa  $\text{C}_{18}$  de dimensiones  $100\text{ mm} \times 4.6\text{ mm d.i.}$ , y  $1.8\text{ }\mu\text{m}$  de tamaño de partícula (Zorbax Rapid Resolution High Throughput (RRHT) Eclipse-Plus  $\text{C}_{18}$ , Agilent Technologies).

El sistema UHPLC está acoplado a un espectrómetro de masas con analizador de tiempo de vuelo Agilent 6220 TOF (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU) equipado con fuentes de ionización de electrospray (ESI), de ionización química a presión atmosférica (APCI) y de descarga de barrera dieléctrica (DBDI). Se trabajó tanto en modo negativo como positivo con dichas fuentes, siendo fijados los siguientes parámetros: flujo del gas de secado,  $9.0\text{ L/min}$  (ESI),  $3.4\text{ L/min}$  (APCI, DBDI); presión del nebulizador, 30 psig; corriente de corona:  $4\text{ }\mu\text{A}$  (APCI); temperatura del vaporizador,  $275\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; temperatura del gas de secado,  $325\text{ }^{\circ}\text{C}$  (ESI),  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$  (APCI, DBDI); voltaje del capilar,  $3500\text{ V (+)}$ ,  $2500\text{ V (-)}$ ; voltaje de fragmentación,  $175\text{ V}$ ; voltaje de skimmer,  $65\text{ V}$ ; octopole RF,  $250\text{ V}$ . El espectro de masas se fijó en el rango  $m/z$  50-1100, trabajando en adquisición *full-scan*.

## 2.3. Acoplamiento de la fuente DBDI al sistema UHPLC-TOFMS

La fuente DBDI está recubierta de una protección de teflón que facilita su manejo, impidiendo que se rompa el capilar de vidrio por el que fluye el gas de descarga (en este caso, He). Esta sonda fue insertada en la fuente comercial APCI de un espectrómetro de masas Agilent 6220 TOFMS (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU), reemplazando a la aguja de corona, como se muestra en la Figura 1. El electrodo trasero se conectó a tierra y al electrodo delantero se le aplicó un voltaje de onda cuadrada de  $2.5\text{ kV}$  ( $20\text{ kHz}$ ) para generar el plasma de helio que servirá de fuente de ionización. Un flujo de He ( $5.0$ ) fue suministrado a  $150\text{ mL/min}$  como gas de descarga.

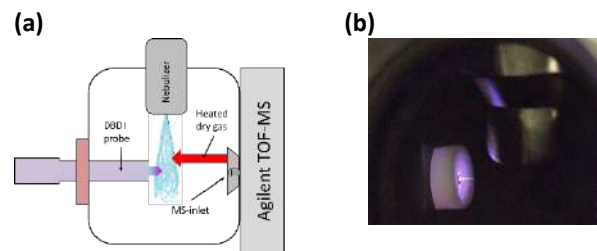


Figura 1. (a) Esquema del montaje de la fuente de ionización; (b) Fotografía del plasma.

## 3. Resultados y discusión

El estudio se inició con una selección de compuestos “problemáticos” que ionizan preferentemente en modo negativo, a excepción del pesticida dazomet, que ioniza en modo positivo. Este compuesto es un ejemplo claro de la ventaja que supone el uso de DBDI para el análisis de compuestos que forman aductos de sodio en ESI. Tal y como puede verse en la Figura 2, la sensibilidad aumenta aprox. 2 órdenes de magnitud cuando se emplea DBDI en lugar de ESI debido a que se elimina la formación de aductos. Deben mencionarse también que, cuando se usa APCI o DBDI, se debe mantener bajo el voltaje de fragmentación en la región de transporte de iones a presión reducida del espectrómetro de masas, porque de lo contrario se fragmentaría la molécula protonada de dazomet.

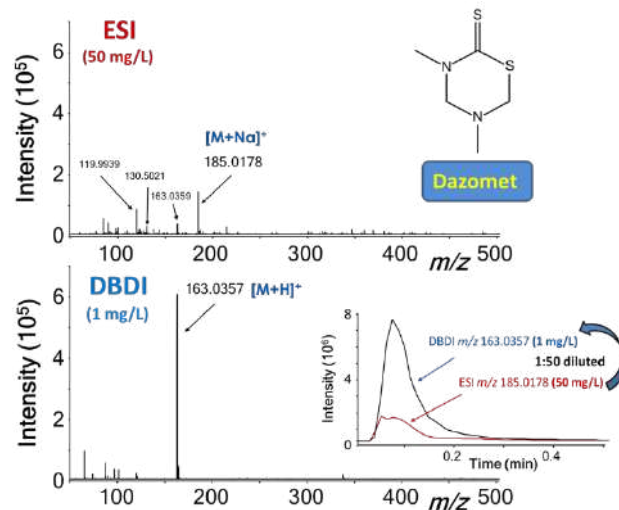


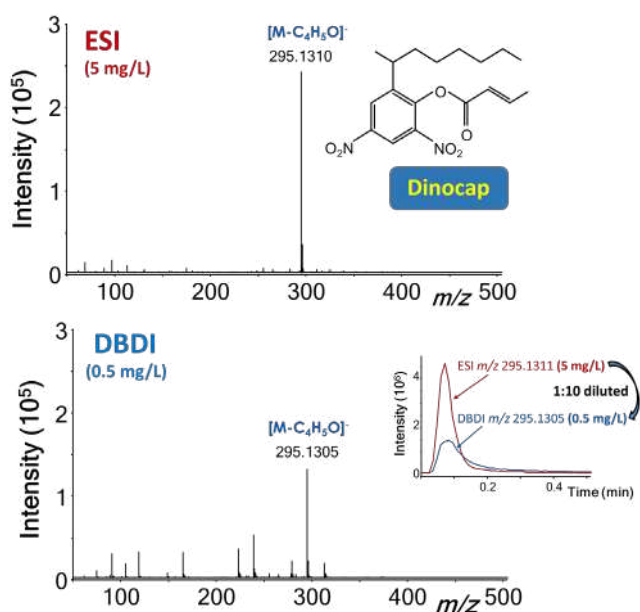
Figura 2. Espectros de masas del pesticida dazomet obtenidos mediante ESI y DBDI, en modo de ionización positivo.

Por otra parte, casi todos los pesticidas “problemáticos” estudiados que ionizan en modo negativo muestran como ion principal un fragmento, a excepción del 2-fenilfenol, cuyo ion mayoritario se corresponde con la molécula desprotonada. Captán se ioniza tanto en modo positivo como en modo negativo, siendo más sensible en modo negativo. A continuación se muestran en la Tabla 1 los compuestos estudiados y los iones principales detectados para cada uno de ellos.

**Tabla 1.** Ion principal detectado para los compuestos estudiados con las diferentes fuentes de ionización.

Pesticida	Composición Elemental	m/z experimental	Fuente de ionización
Bromofos-etil	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> BrCl <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	80.9174	DBDI
		169.0099	ESI
Captan	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>2</sub> S	150.0555	DBDI
		248.0160	ESI
Dazomet	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	163.0357	DBDI
		185.0179	ESI
Dinocap	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	295.1310	DBDI & ESI
<i>o</i> -fenilfenol	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O	169.0666	DBDI & ESI

Como puede observarse en la tabla 1, el espectro obtenido mediante DBDI es distinto del obtenido mediante ESI para más de la mitad de los compuestos estudiados. Para todos ellos se observa una mayor sensibilidad cuando se utiliza la fuente DBDI que cuando la ionización se produce mediante ESI. Esta mejora en la sensibilidad es de alrededor de un orden de magnitud, como se puede observar en la Figura 3 para dinocap.



**Figura 3.** Espectros de masas del pesticida dinocap obtenidos mediante ESI y DBDI, en modo de ionización negativo.

### Conclusiones

En este trabajo, se ha demostrado la versatilidad de la fuente de ionización DBDI para el análisis mediante HPLC-MS de compuestos, cuya ionización mediante los métodos convencionales (impacto electrónico (en GC-MS), APCI y ESI (en LC-MS) es poco eficaz y no permite la sensibilidad requerida en este tipo de aplicaciones. Se ha encontrado que la mayoría de los compuestos estudiados funcionan con

DBDI en modo negativo, a excepción de dazomet, que lo hace en modo positivo, y de captan, que se ioniza en ambas polaridades. En la mayoría de los casos, se encuentran diferencias entre las especies detectadas mediante DBDI y en ESI, debido al distinto mecanismo de ionización. En el caso de dazomet, el uso de DBDI supone una ventaja frente a ESI debido a que se forma mayoritariamente la molécula protonada, en lugar del aducto de sodio, lo que se traduce en una mayor sensibilidad. También se observa una mayor sensibilidad en DBDI que en ESI para la mayoría de los compuestos estudiados.

### Trabajo futuro

Se ampliará el estudio a otros pesticidas “problemáticos” y a los productos de degradación o metabolitos de los compuestos ya analizados. Se está trabajando también en la elucidación de los mecanismos de ionización.

### Agradecimientos

Los autores agradecen los fondos recibidos del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) (Ref. CTQ-2015-713121-P). J.G.M. agradece a la Junta de Andalucía y la Unión Europea el contrato de investigación Garantía Juvenil (SNGJ-JINV-P-010). B.G.L. agradece los fondos de la Universidad de Jaén a través de Programa de Investigación (“Acción 6”, ref. R06/08/2018). J.C.B.V. agradece a la Fundación Carolina y a la Universidad Nacional de Asunción la corta estancia Postdoctoral en la Universidad de Jaén.

### Referencias

- [1] Alder, L.; Greulich, K.; Kempe, G.; Vieth, B. *Mass Spectrom. Rev.* **2006**, *25*, 838-865.
- [2] Chen, J.; Tang, F.; Guo, C.; Zhang, S.; Zhang, X. *Anal. Methods* **2017**, *9*, 4908-4923.
- [3] Na, N.; Zhao, M.; Zhang, S.; Yang, C.; Zhang, X. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2007**, *18*, 1859-1862.
- [4] Hayen, H.; Michels, A.; Franzke, J. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 10239-11024.
- [5] Gilbert-López, B.; Geltenpoth, H.; Meyer, C.; Michels, A.; Hayen, H.; Molina-Díaz, A.; García-Reyes, J. F.; Franzke, J. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2013**, *27*, 419-429.
- [6] Lara-Ortega, F. J.; Robles-Molina, J.; Brandt, S.; Schütz, A.; Gilbert-López, B.; Molina-Díaz, A.; García-Reyes, J. F.; Franzke, J. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1020*, 76-85.
- [7] Uclés, S.; Hakme, E.; Ferrer, C.; Fernández-Alba, A. R. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, *410*, 6861-6871.