

Estrategia quimiométrica y supramolecular para la cuantificación por HPLC de N-metilcarbamatos

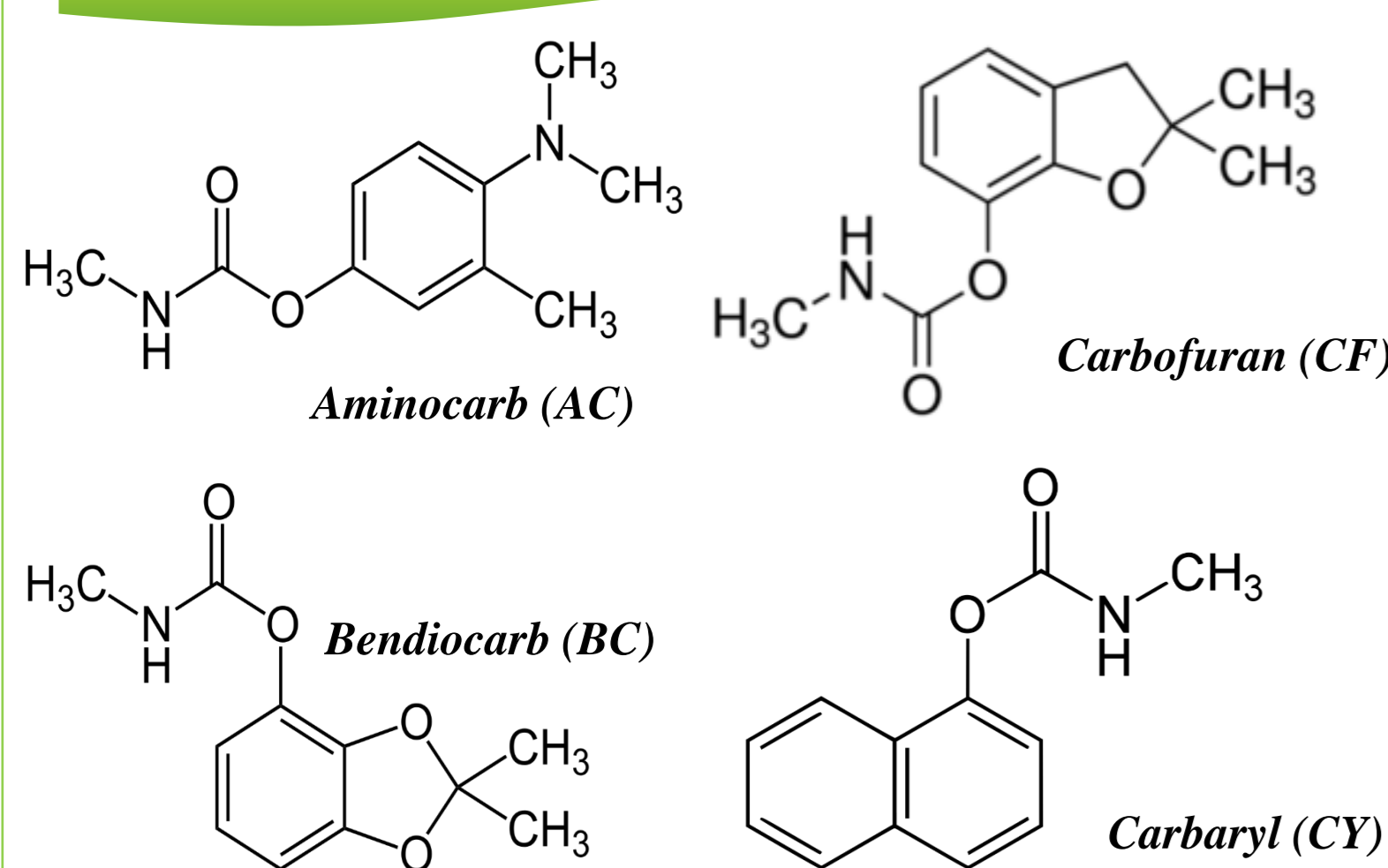
Johannes S. Ramírez Carvajal^{a,b}, Alicia V. Veglia^{a,b}

^a Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas – INFIQC, Córdoba, Argentina.

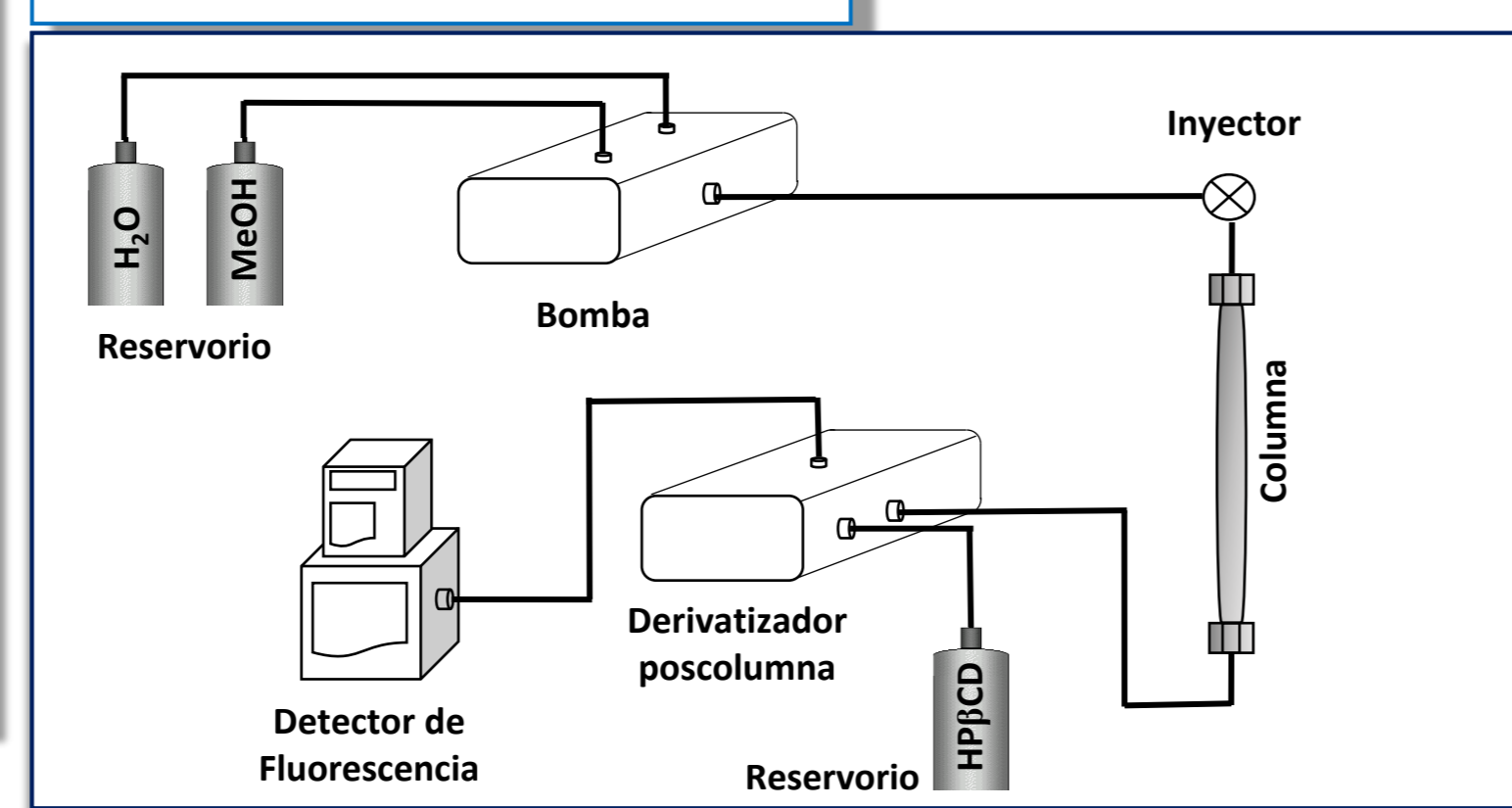
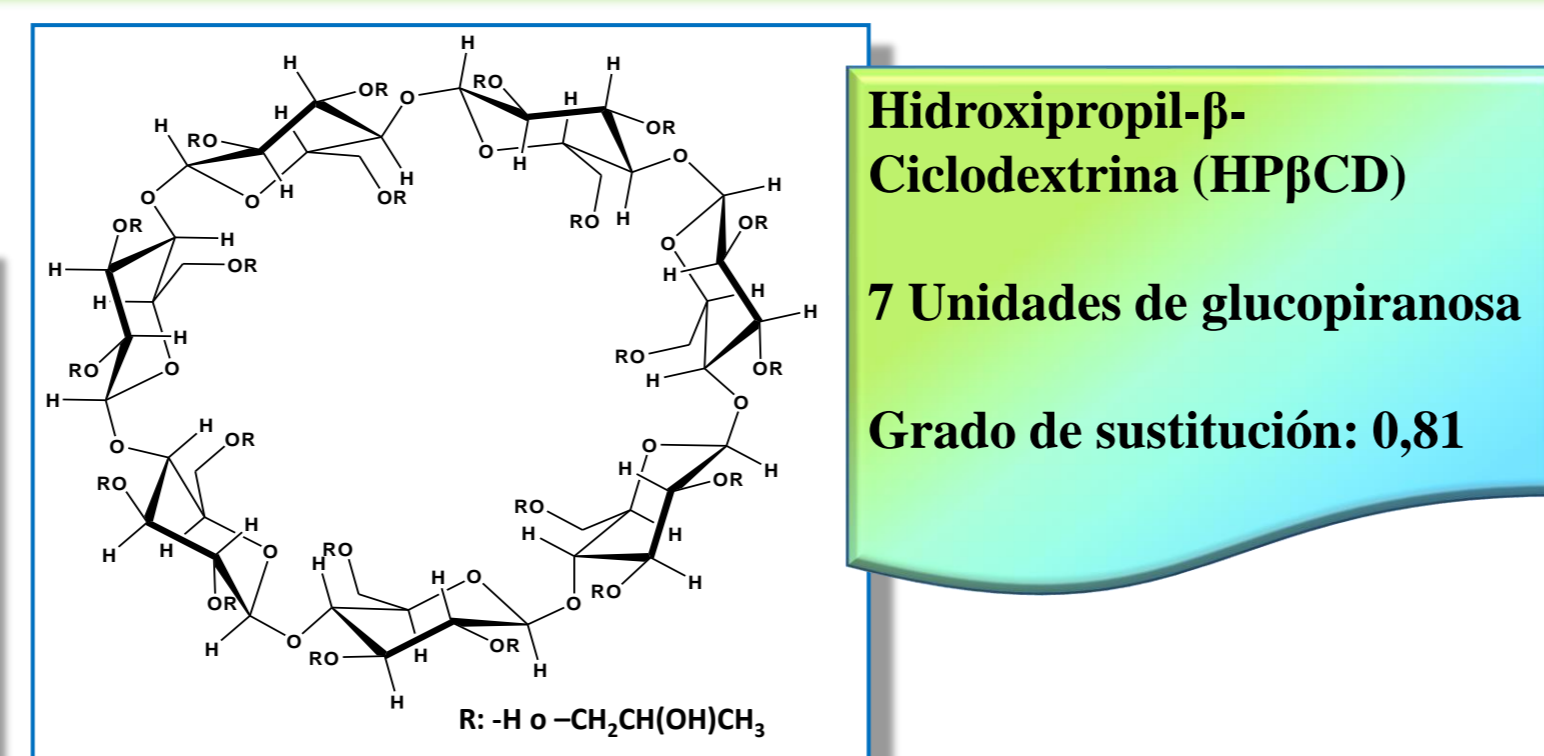
^b Universidad Nacional de Córdoba, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Córdoba-Capital, Córdoba, Argentina. X5000HUA.

aveglia@fcq.unc.edu.ar

INTRODUCCIÓN

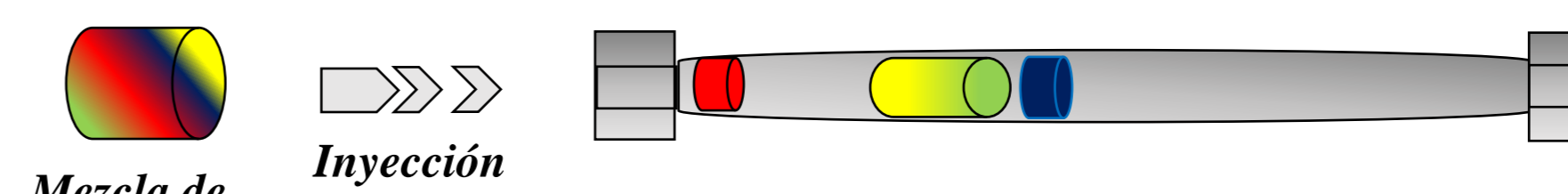


- Pesticidas carbamatos de amplio uso en variedad de cultivos.
- Inhibidores de la acetil-colinesterasa.
- Toxicidad aguda

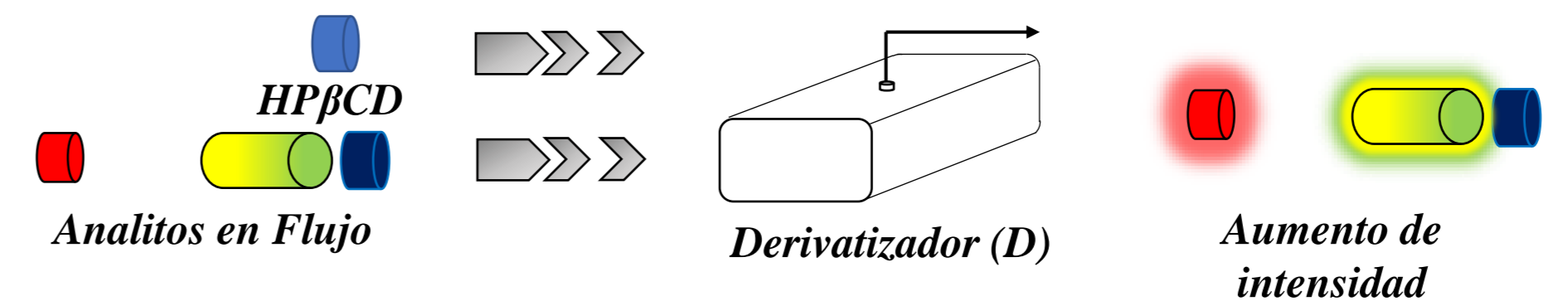
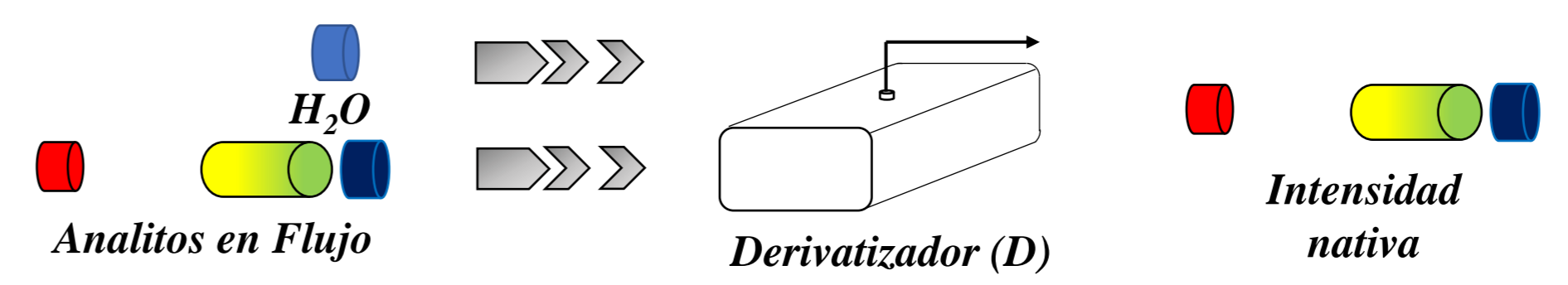


OBJETIVOS

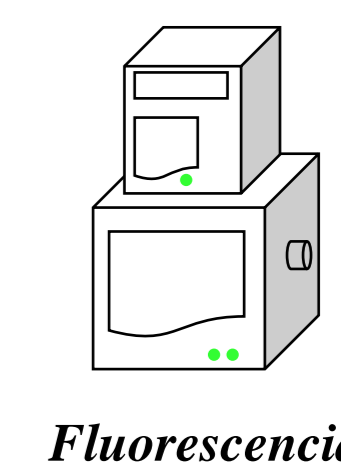
- Separación y cuantificación de la mezcla de analitos mediante HPLC



- Derivatización poscolumna



- Detección de analitos

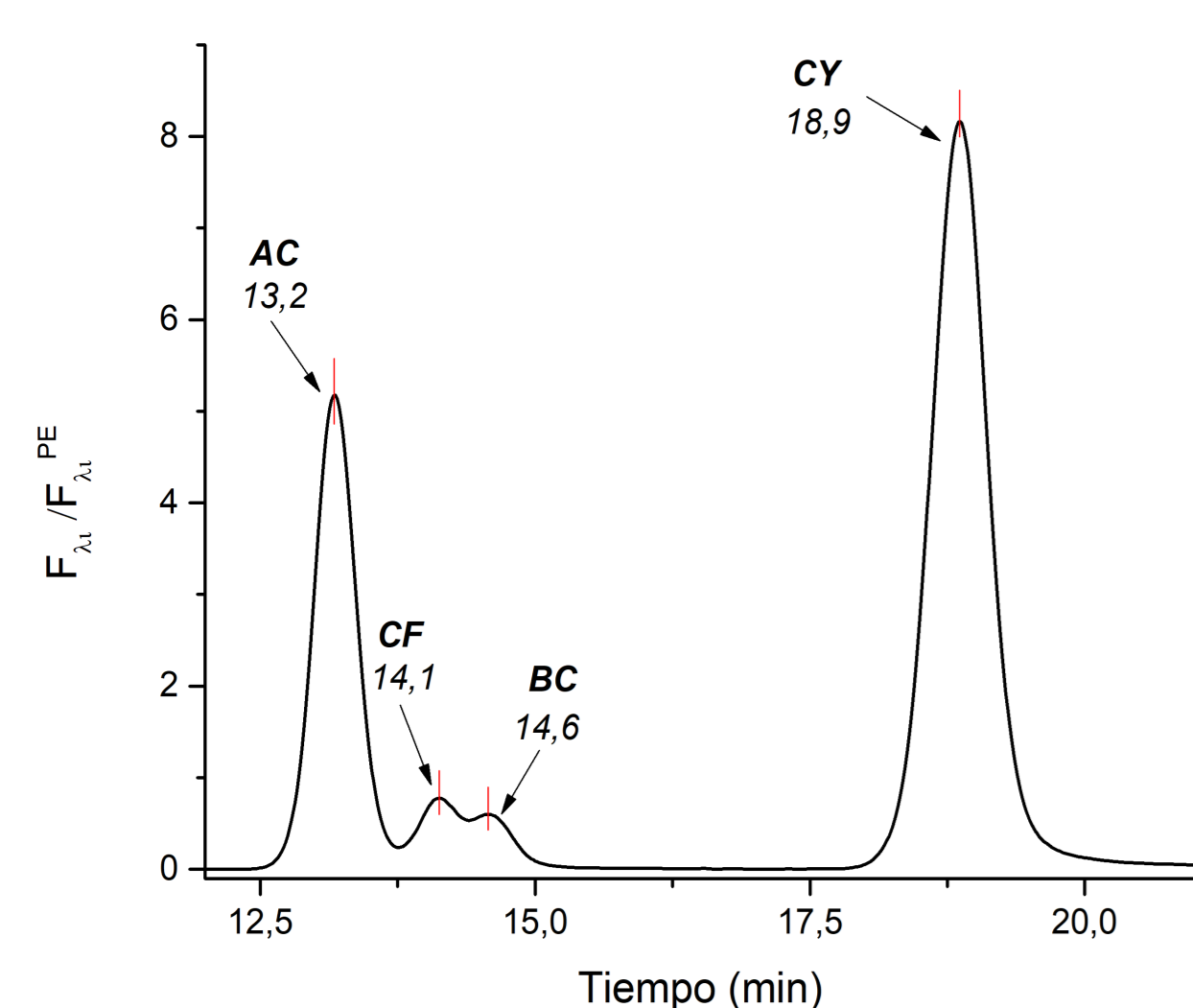


Resultados

Condiciones cromatográficas

Flujo (mL/min)	% H ₂ O	% MeOH	Temp. Columna °C	Flujo Derivatizador (mL/min)	Temp. Derivatizador °C
0,7	65	35	31,5	0,6	25,0

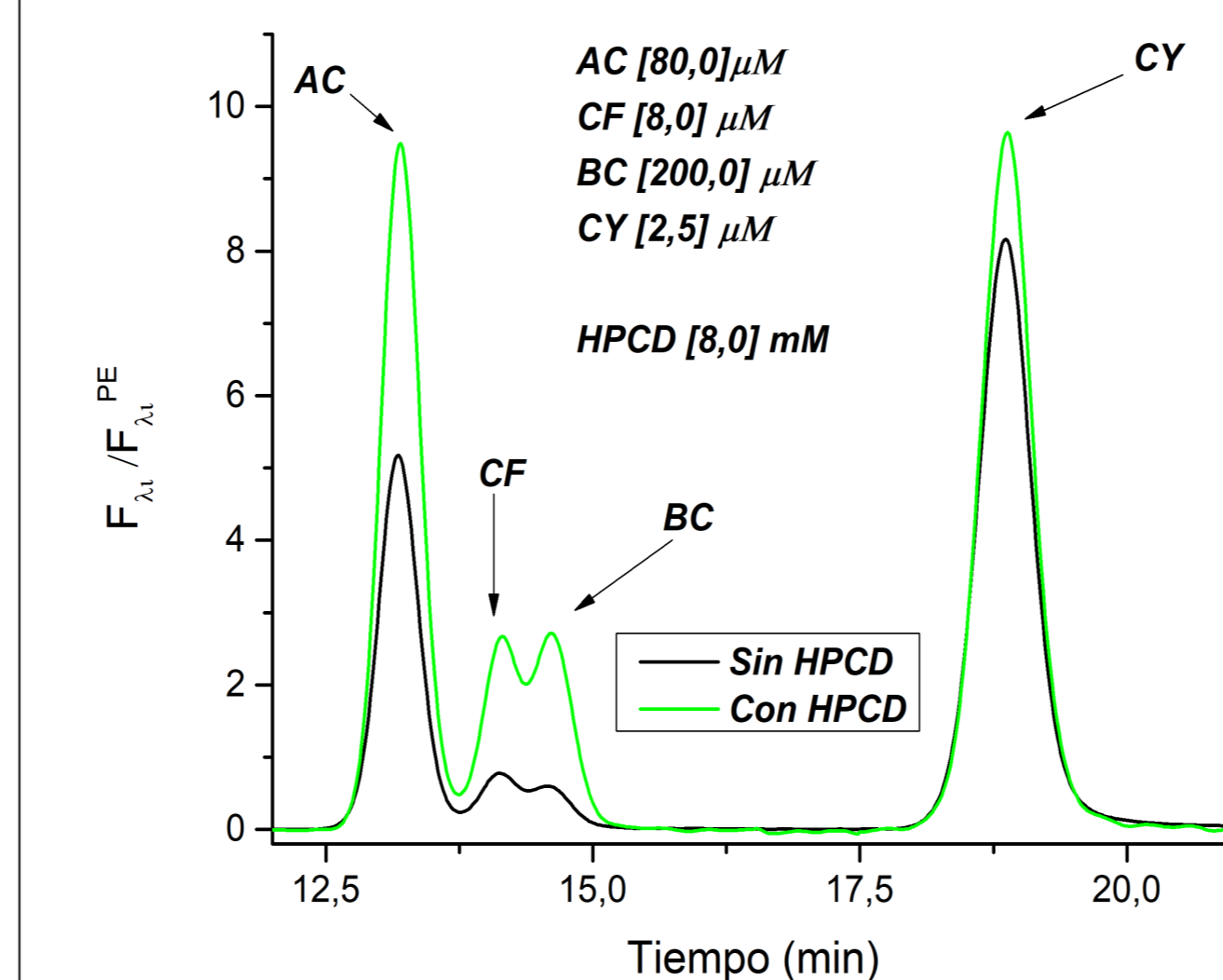
Cromatograma de la mezcla



Altos % de MeOH en la fase móvil disminuyen las constantes de asociación entre los analitos y la HPβCD

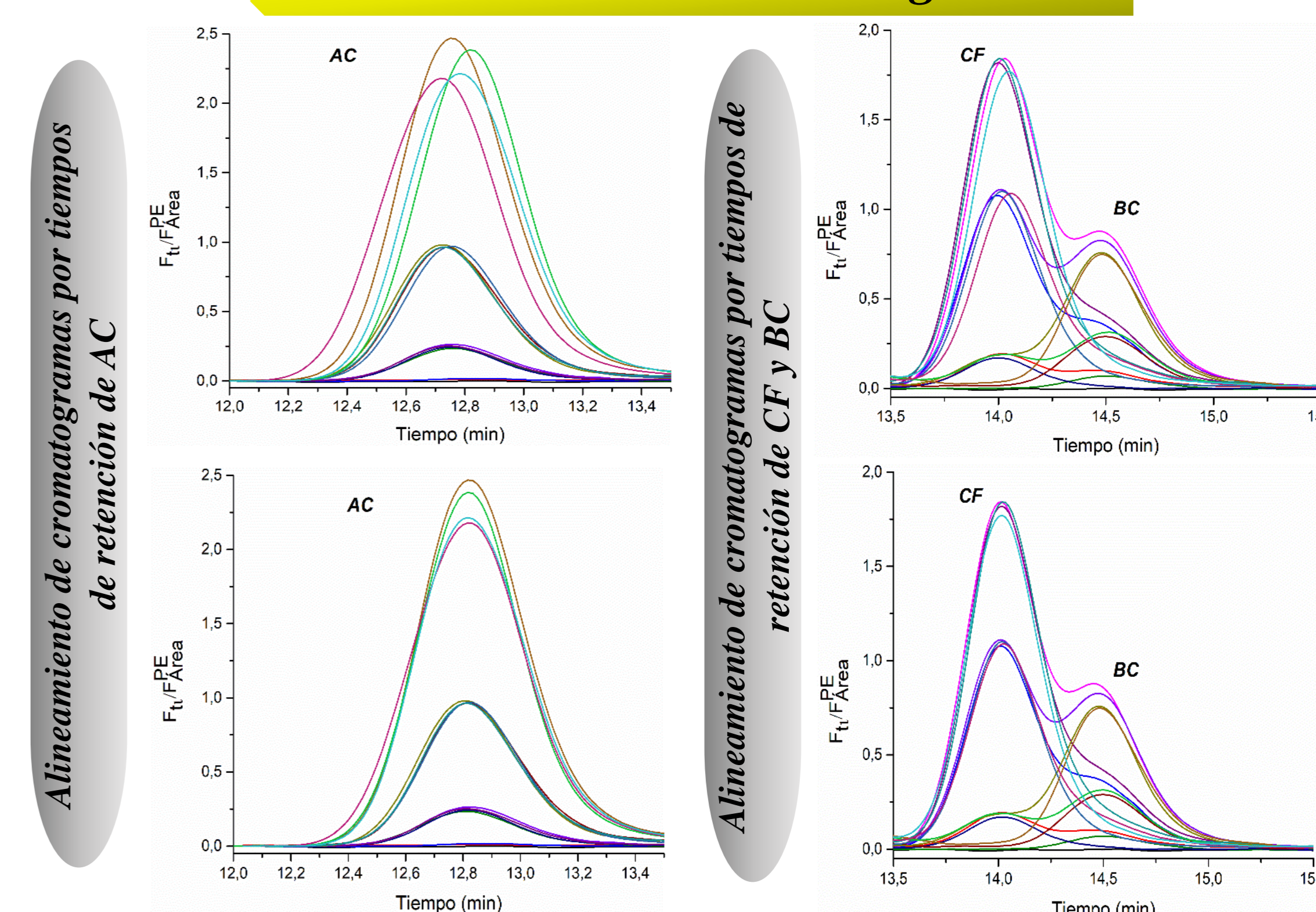
- Resolución parcial de las señales de AC, CF y BC
- Implementación de metodología de calibrado multivariado.
- CY procesado por cuadrado mínimo clásico.

Efecto de la derivatización poscolumna de HPβCD sobre la fluorescencia de los analitos



- La HPCD aumenta la intensidad fluorescente de los analitos
- Rendimientos cuánticos
 $\phi_{AC@HP\beta CD} / \phi_{AC}$ 1,79
 $\phi_{CF+BC@HP\beta CD} / \phi_{CF+BC}$ 5,87
 $\phi_{CY@HP\beta CD} / \phi_{CY}$ 1,15

Procesamiento de cromatogramas



Calibración multivariada de primer orden por cuadrado mínimo parciales (PLS) para AC, CF y BC

Parámetros estadísticos por PLS

Derivatizador	Analitos	LV	RMSEP	REP(%)	r ²	Anal. SEN μM
H ₂ O	AC	2	1,17	4,26	0,99	34,43
	CF	1	0,58	2,41	0,99	21,64
	BC	2	3,78	3,67	0,99	1,19
	CY	1	0,009	2,33	0,99	3,15E3
HPCD	AC	2	0,88	3,60	0,99	66,33
	CF	2	1,19	4,89	0,99	52,17
	BC	2	7,02	6,15	0,99	2,96
	CY	1	0,008	2,05	0,99	3,59E3

LV: Variables latentes; RMSEP: Error cuadrático medio de predicción; REP(%): Porcentaje de recuperación; r²: Coeficiente de correlación; Anal. SEN: Sensibilidad analítica.

Cifras de mérito

ANALITO	LOD [ng/mL]					
	H ₂ O		Anal. SEN μM		HPβCD	
	LOD _{min}	LOD _{max}	LOD _{min}	LOD _{max}	LOD _{min}	LOD _{max}
AC	21,35	24,04	34,43	11,29	12,83	66,33
CF	37,98	38,98	21,64	19,58	28,34	52,17
BC	0,66*	0,77*	1,19	0,27*	0,31*	2,96
CY	2,35	2,41	3,15E3	2,35	2,37	3,59E3

Comparación de límites

ANALITO	LOD [μg/ml]				
	HPLC-PC-F		Fluorescencia *		Otros métodos *
	D-H ₂ O	D-HPβCD	Buffer ^a	Buffer HPβCD ^a	
AC	0,955	0,470	-	-	0,569 ^b
CF	0,212	0,204	0,048	0,017	> 0,030 ^c
BC	2,479	2,368	2,230	0,570	0,010 ^d
CY	0,009	0,009	0,0025	0,0030	> 0,030 ^c

* Cuantificación individual.
^a Anal. Chem. 488 (2003) 193 / 583 (2007) 63.
^b Sistema supramolecular con C-butilresorcin[4]areno y determinación indirecta por quenching de fluorescencia. (Tesis Dr Santiago Salas)
^c Cromatografía electrocinética micelar. Anal. Chem. 72 (2000) 1441
^d HPLC-MS. Analyst 121 (1996) - 1327

Estudio de recuperación de N-metilcarbamatos en muestra de agua de red

En negro los valores para el sistema sin adición de la HPCD
 En rojo los valores para el sistema con la adición de la HPCD

Muestra	Agua de Red											
Analito	AC			CF			BC			CY		
Adición μM	0,49	29,64	48,61	0,83	21,60	51,21	20,88	95,63	191,26	0,041	0,52	1,10
	0,29	32,64	43,61	0,51	25,60	51,21	9,96	95,63	150,26	0,041	0,52	1,10
Recuperación (μM) ^a	0,49	28,0	45,70	0,84	21,0	47	22,2	94	189,9	0,037	0,52	1,07
	0,30	29,5	43	0,51	24,4	49,8	10,2	96	148,5	0,041	0,52	1,10
%R ^b (SD) ^c	100(5)	95(1)	94,0(0,1)	102(10)	97(1)	91(5)	106(3)	98(3)	99,0(0,1)	91(7)	100(5)	97(3)
	101(4)	90(1)	99(3)	100(2)	96(1)	97(1)	103(1)	101(2)	99(0)	100(10)	100(3)	(97(1))

^a Promedio del triplicado; ^b Porcentaje de recuperación; ^c Desviación estándar

Conclusiones

- ✓ El uso de la HPβCD aumenta la sensibilidad de todos los analitos con respecto al análisis sin HPβCD, y disminuye los LOD de AC, CF y BC.
- ✓ Se desarrolló un método analítico para la cuantificación simultánea de AC, CF, BC y CY.
- ✓ El método desarrollado es exacto basado en el análisis de la región elíptica de confianza.
- ✓ Los %R en muestra real fueron del 95% al 106%