



ThermoFisher
S C I E N T I F I C

Cómo enfrentarse al análisis de pesticidas GC-MS/MS de triple cuadrupolo

José Antonio Muñoz

Especialista de aplicaciones en GC, GC-MS

Sevilla, 29 de septiembre de 2015

- Legislación europea sobre residuos de pesticidas
- Requisitos generales para el análisis de multiresiduos
- ¿Por qué GC Triple Cuadrupolo MS/MS?
- Thermo Scientific TSQ8000 Evo Triple Cuadrupolo
- Soluciones para el análisis de pesticidas

Legislación sobre residuos de pesticidas

- Regulación (EC) No 396/2005 y enmiendas posteriores
 - El nivel de residuo máximo (MRL) es el mayor nivel de residuo de pesticida que se tolera legalmente en alimentos para consumo humano o piensos para alimentación animal.
 - Se han asignado MRLs a más de 300 productos frescos y sus derivados procesados.
 - Se cubren pesticidas utilizados tanto actualmente como antiguamente, tanto dentro como fuera de la EU. En total, más de 1000 materias activas:
 - Insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas, reguladores de crecimiento,...
 - Los MRLs dependen de la toxicidad del pesticida y el consumo estimado del alimento en cuestión.
 - El menor límite en la legislación EU es, por defecto, 0,01 mg/kg.
 - MRLs inferiores en algunos pesticidas de elevada toxicidad en alimentos destinados a alimentación infantil.

Legislación sobre residuos de pesticidas

- Regulación (EC) No 396/2005 y enmiendas posteriores
- Se pueden consultar los MLR en http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm

Pesticide residues and maximum residue levels (mg/kg)

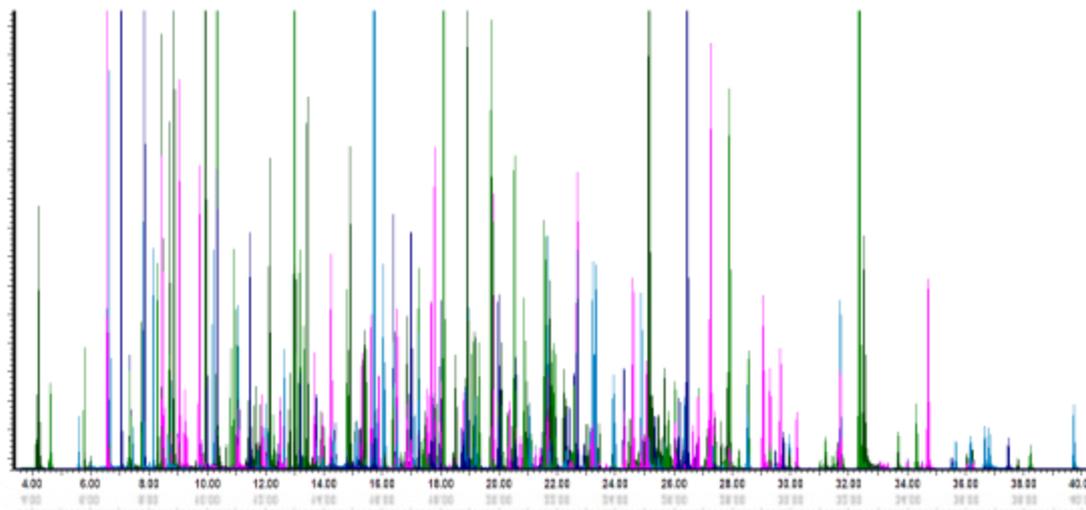
Code number	Products to which MRLs apply (Part A of Annex I to Reg. 396/2005)	Chlorpyrifos (F) Ⓢ	Dichlorvos Ⓢ	Folpet (R) Ⓢ	Procymidone (R) Ⓢ
0300000	☰ PULSES	0.05*	0.01*	0.02*	0.01*
0300010	■ Beans	0.05*	0.01*	0.02*	0.01*
0300020	■ Lentils	0.05*	0.01*	0.02*	0.01*
0300030	■ Peas	0.05*	0.01*	0.02*	0.01*
0300040	■ Lupins/lupini beans	0.05*	0.01*	0.02*	0.01*
0300990	■ Others	0.05*	0.01*	0.02*	0.01*
0400000	☰ OILSEEDS AND OIL FRUITS	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401000	■ Oilseeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401010	■ Linseeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401020	■ Peanuts/groundnuts	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401030	■ Poppy seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401040	■ Sesame seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401050	■ Sunflower seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401060	■ Rapeseeds/canola seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401070	■ Soyabeans	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401080	■ Mustard seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401090	■ Cotton seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401100	■ Pumpkin seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401110	■ Safflower seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401120	■ Borage seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401130	■ Gold of pleasure seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401140	■ Hemp seeds	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401150	■ Castor beans	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0401990	■ Others	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0402000	■ Oil fruits	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*
0402010	■ Olives for oil production	0.05*	0.01*	0.02*	0.02*

Requisitos generales para el análisis de multiresiduos

- Análisis de gran número de pesticidas de naturaleza muy diversa
- Elevada sensibilidad para garantizar LODs a niveles de 1/3 de MRLs
- Preparación de muestra multicomponente, genérica que garantice:
 - Recuperación adecuada (entre el 70 y el 120%).
 - Eliminación de interferencias y matriz poco volátil
 - Compatibilidad de los extractos con inyección en GC
- Elevada selectividad para garantizar LODs en presencia de importantes interferencias de matriz no eliminadas en la preparación de muestra
- Requisitos de validación de métodos y control de calidad para el análisis de residuos según SANCO/12571/2013: Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed

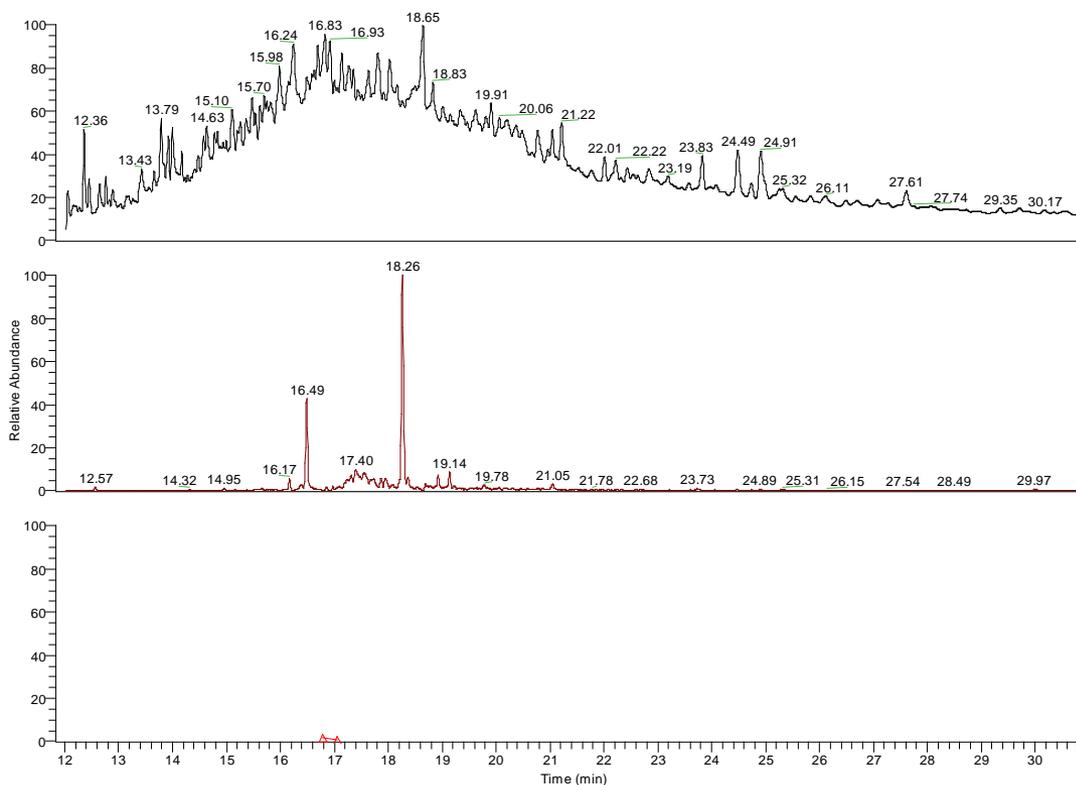
Requisitos generales para el análisis de multiresiduos

- Actualmente la técnica de elección es GC-MS/MS de triple cuadrupolo:
 - Análisis de trazas de múltiples compuestos en extractos complejos
 - Preparación de muestra simple, genérica, y económica – extractos complejos
 - GPC – ampliamente utilizado, muy laborioso, instrumentación adicional
 - Extracción L-L con clean up mediante SPE (C18, PSA...) – QuEChERS
 - Gran número de compuestos (100-300 compuestos)
 - Niveles de detección más bajos (MRL 10ppb, LOQ 1-3 ppb)
 - Requisitos exigentes de validación y control de calidad



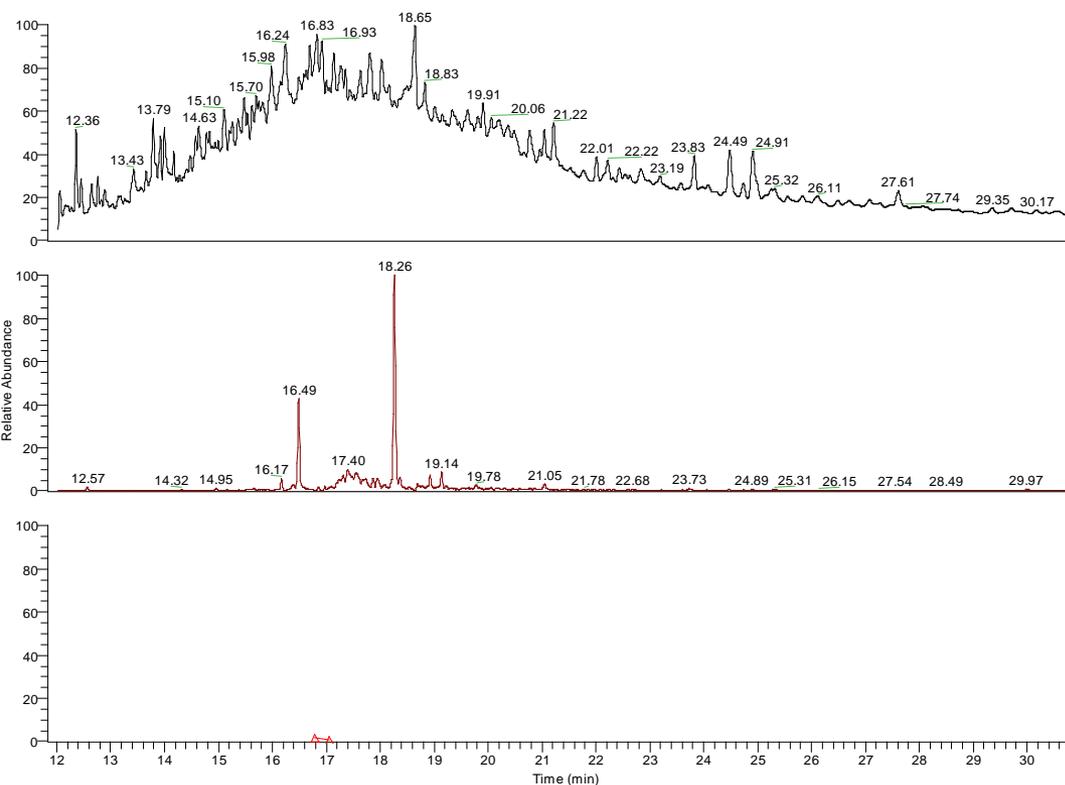
¿Por qué GC-MS/MS?

- **Alta sensibilidad en presencia de matriz de muestra**
 - Permite simplificar los costosos protocolos de preparación de muestra
 - Alta selectividad: “Clean-up” en GC-MS/MS
 - Menores LOQs
 - Elevada precisión
 - Simple procesamiento de datos

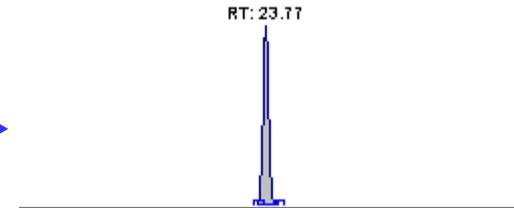
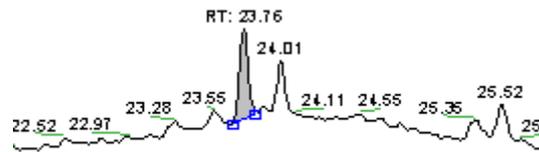


¿Por qué GC-MS/MS?

- **Alta sensibilidad en presencia de matriz de muestra**
 - Permite simplificar los costosos protocolos de preparación de muestra
 - Alta selectividad: “Clean-up” en GC-MS/MS
 - Menores LOQs
 - Elevada precisión
 - Simple procesamiento de datos
- **Elevada robustez**
 - Operación 24/7
 - Rendimiento constante
 - Mantenimiento reducido



Cuantificación de compuestos diana en matriz de muestra (análisis dirigido)



Seleccionar

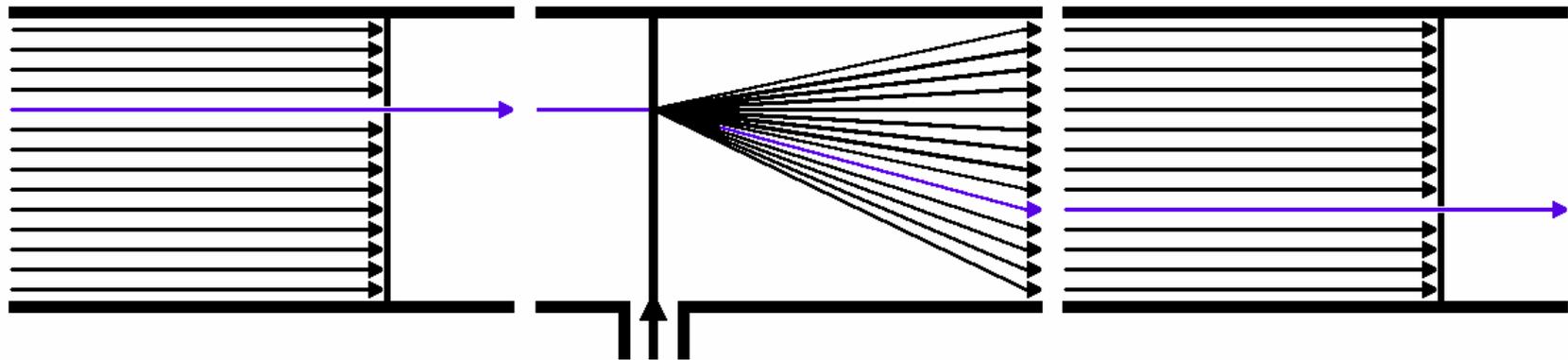
Q1

Fragmentar

Q2

Detectar

Q3

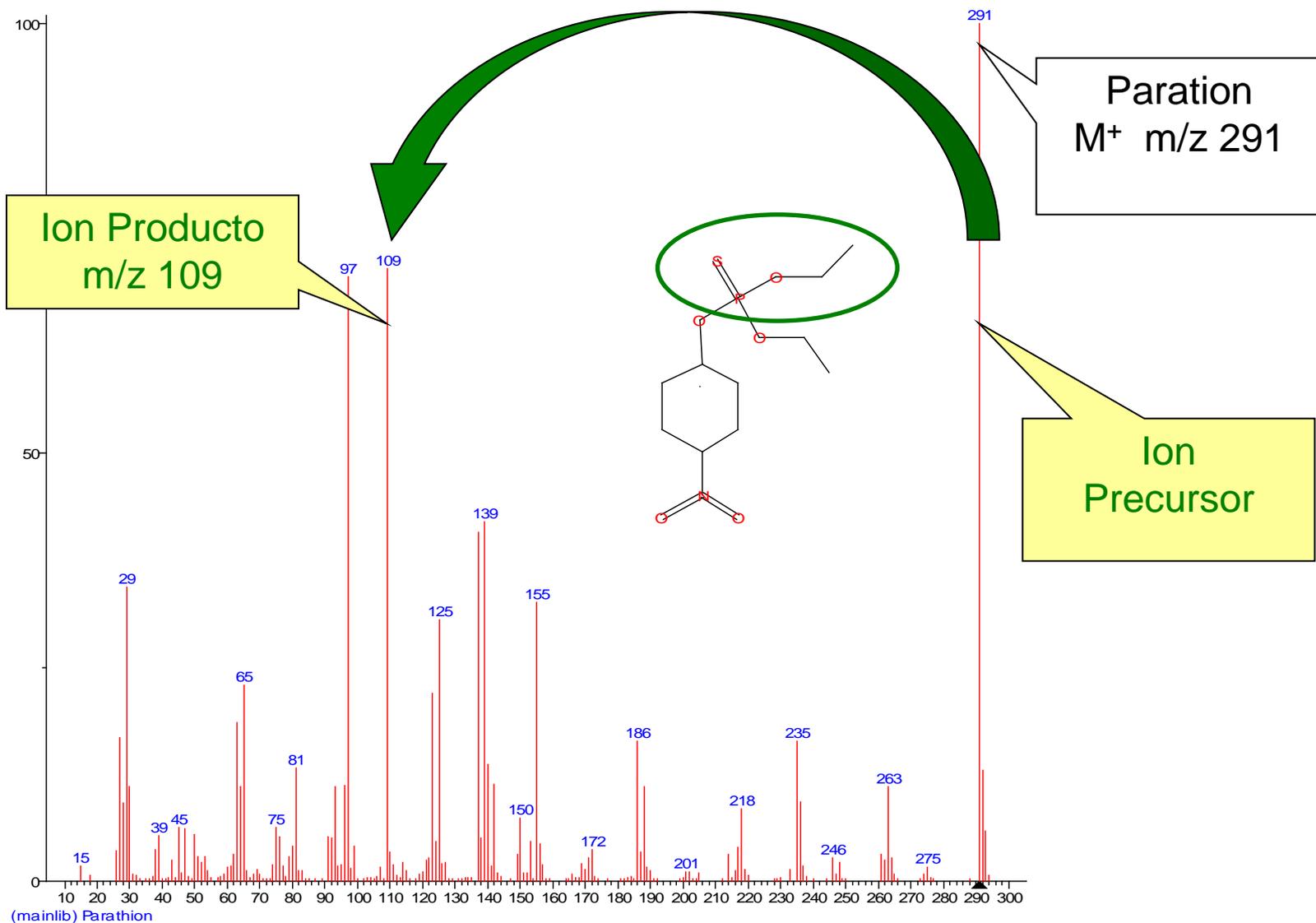


Q1 selecciona el *ion precursor*
291

Disociación Inducida por Colisión

Q3 selecciona el *ion producto*
fragmenta a 109

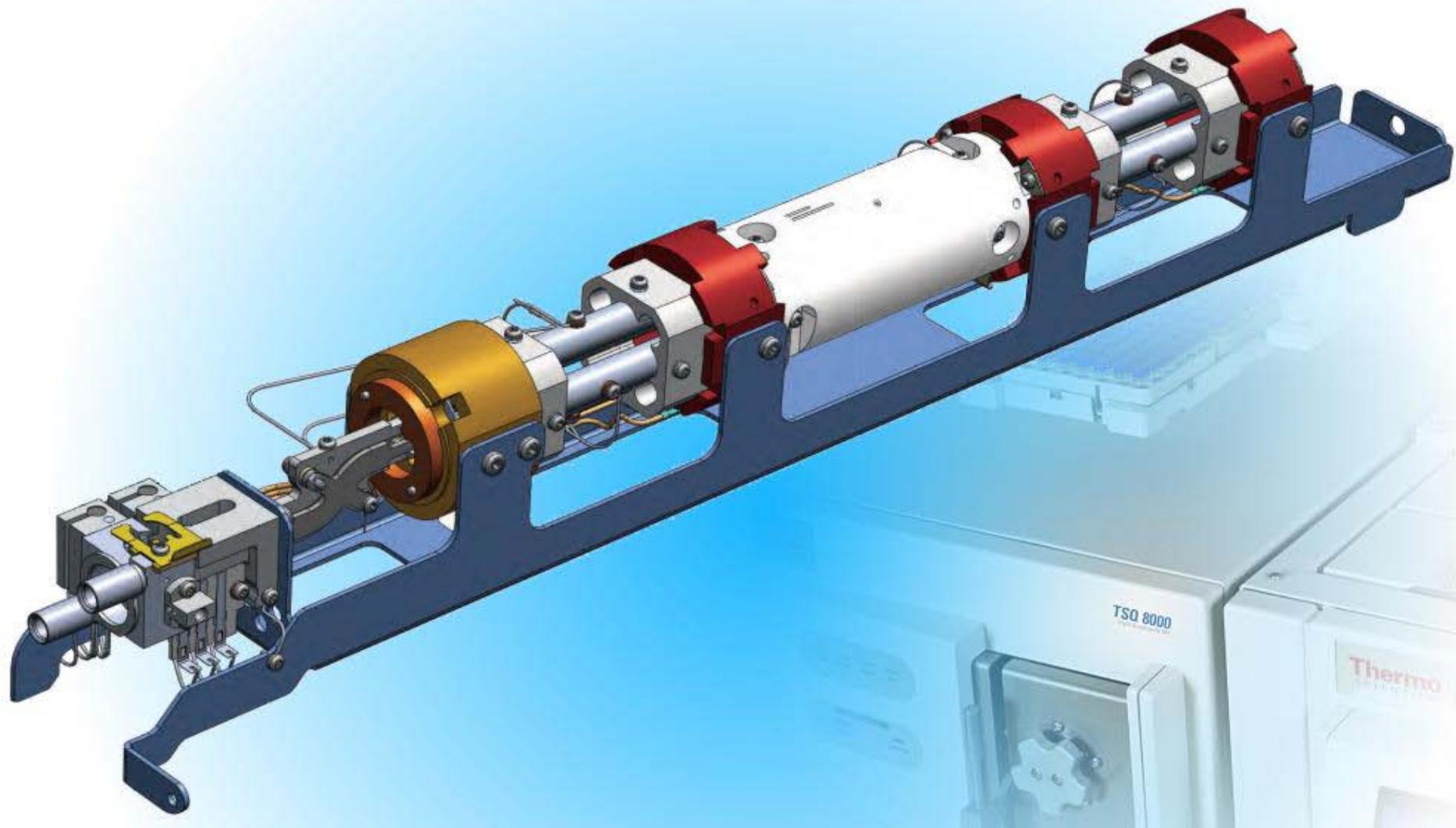
MS/MS: Selectividad ligada a la estructura química



Triple Quadrupole MS/MS: Selected Reaction Monitoring

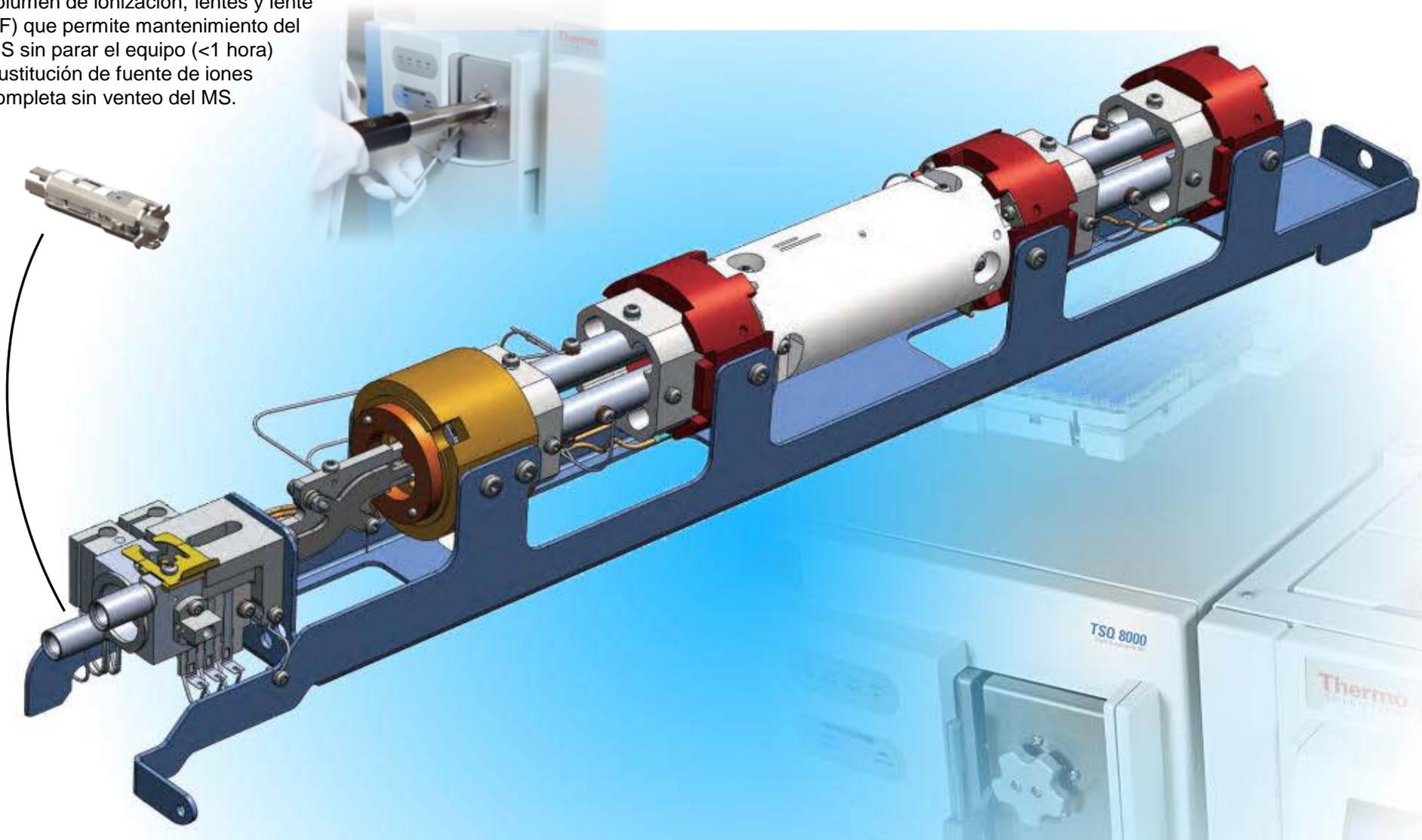


Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS



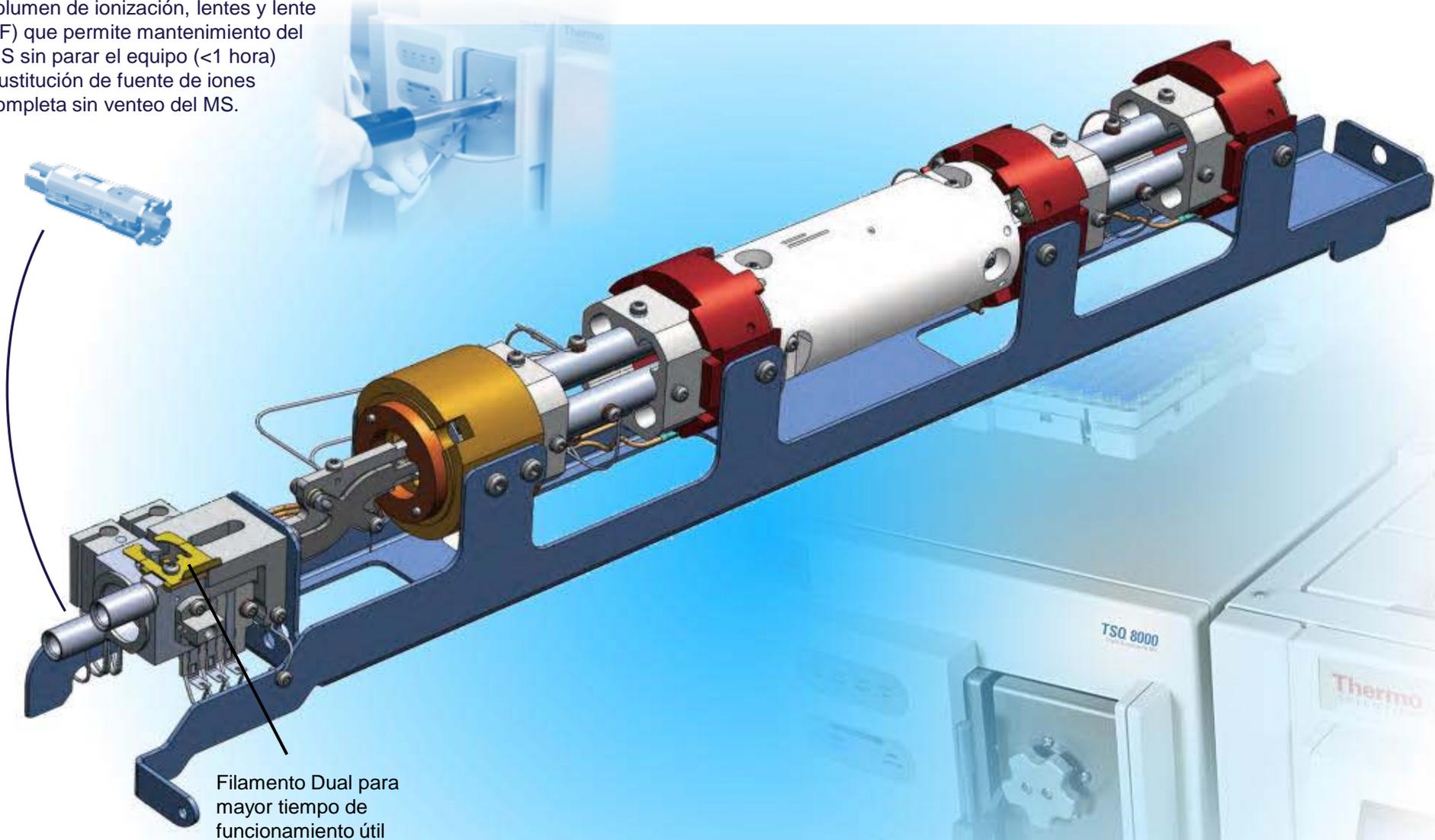
Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.



Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.



Filamento Dual para mayor tiempo de funcionamiento útil

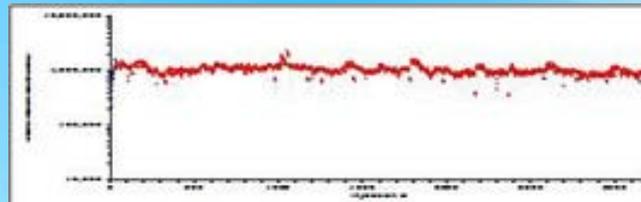
Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.



Doble zona de calefacción independiente para mayor robustez al reducir la condensación de matriz en el volumen de ionización, lentes y lente RF

Filamento Dual para mayor tiempo de funcionamiento útil



Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.



Doble zona de calefacción independiente para mayor robustez al reducir la condensación de matriz en el volumen de ionización, lentes y lente RF

Guía de iones curvada que permite una óptica fuera de eje para eliminar eficazmente el ruido debido a neutros, disminuyendo el ruido de fondo y mejorando LODs

Filamento Dual para mayor tiempo de funcionamiento útil

Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.



Doble zona de calefacción independiente para mayor robustez al reducir la condensación de matriz en el volumen de ionización, lentes y lente RF

Guía de iones calefaccionada protege los cuadrupolos principales para que nunca deban ser limpiados o reemplazados.

Guía de iones curvada que permite una óptica fuera de eje para eliminar eficazmente el ruido debido a neutros, disminuyendo el ruido de fondo y mejorando LODs

Filamento Dual para mayor tiempo de funcionamiento útil

Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.



Doble zona de calefacción independiente para mayor robustez al reducir la condensación de matriz en el volumen de ionización, lentes y lente RF

Nitrógeno o argón como gas de colisión. No requiere de He



Guía de iones calefaccionada protege los cuadrupolos principales para que nunca deban ser limpiados o reemplazados.

Guía de iones curvada que permite una óptica fuera de eje para eliminar eficazmente el ruido debido a neutros, disminuyendo el ruido de fondo y mejorando LODs

Filamento Dual para mayor tiempo de funcionamiento útil

Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.



Doble zona de calefacción independiente para mayor robustez al reducir la condensación de matriz en el volumen de ionización, lentes y lente RF

Nitrógeno o argón como gas de colisión. No requiere de He

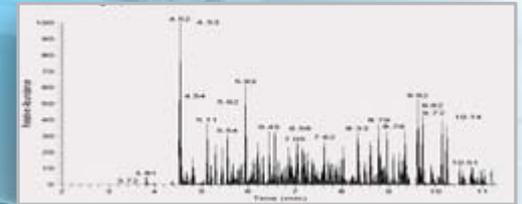


Guía de iones calefaccionada protege los cuadrupolos principales para que nunca deban ser limpiados o reemplazados.

Guía de iones curvada que permite una óptica fuera de eje para eliminar eficazmente el ruido debido a neutros, disminuyendo el ruido de fondo y mejorando LODs

Filamento Dual para mayor tiempo de funcionamiento útil

EvoCell. Compatibilidad con cromatografía rápida gracias a la expulsión dinámica de iones de la celda de colisión y modo de adquisición timed-SRM que permite cientos de transiciones SRM por segundo sin sacrificio de sensibilidad



Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.

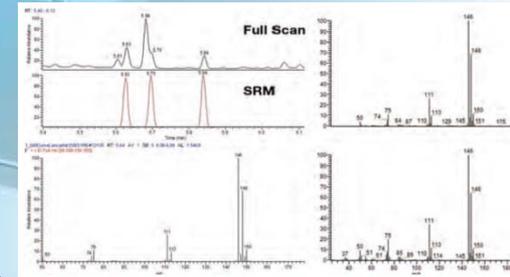


Doble zona de calefacción independiente para mayor robustez al reducir la condensación de matriz en el volumen de ionización, lentes y lente RF

Nitrógeno o argón como gas de colisión. No requiere de He



Analizadores de alta velocidad para el cambio entre Full Scan, SIM y MRM en milisegundos.



Guía de iones calefaccionada protege los cuadrupolos principales para que nunca deban ser limpiados o reemplazados.

Guía de iones curvada que permite una óptica fuera de eje para eliminar eficazmente el ruido debido a neutros, disminuyendo el ruido de fondo y mejorando LODs

Filamento Dual para mayor tiempo de funcionamiento útil

Compatibilidad con cromatografía rápida gracias a la expulsión dinámica de iones de la celda de colisión y modo de adquisición timed-SRM que permite cientos de transiciones SRM por segundo sin sacrificio de sensibilidad

Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS

Fuente de iones sin cables (repeler, volumen de ionización, lentes y lente RF) que permite mantenimiento del MS sin parar el equipo (<1 hora)
Sustitución de fuente de iones completa sin venteo del MS.

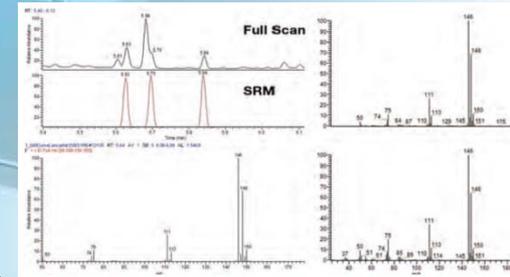


Doble zona de calefacción independiente para mayor robustez al reducir la condensación de matriz en el volumen de ionización, lentes y lente RF

Nitrógeno o argón como gas de colisión. No requiere de He



Analizadores de alta velocidad para el cambio entre Full Scan, SIM y MRM en milisegundos.



Guía de iones calefaccionada protege los cuadrupolos principales para que nunca deban ser limpiados o reemplazados.

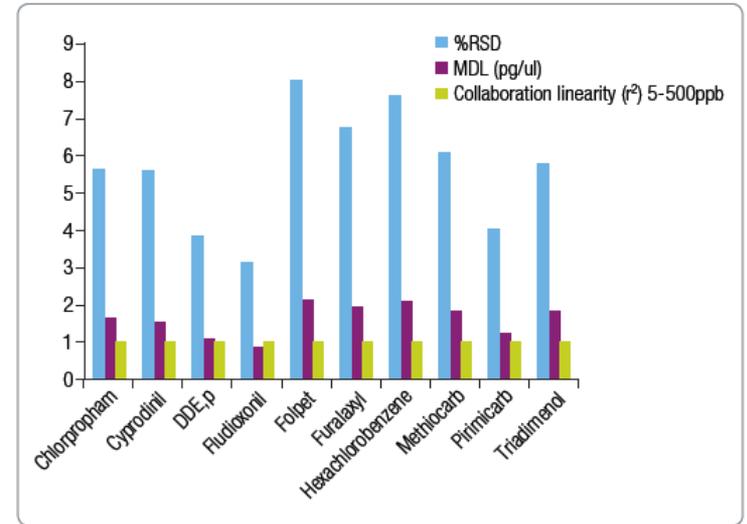
Guía de iones curvada que permite una óptica fuera de eje para eliminar eficazmente el ruido debido a neutros, disminuyendo el ruido de fondo y mejorando LODs

Compatibilidad con cromatografía rápida gracias a la expulsión dinámica de iones de la celda de colisión y modo de adquisición timed-SRM que permite cientos de transiciones SRM por segundo sin sacrificio de sensibilidad

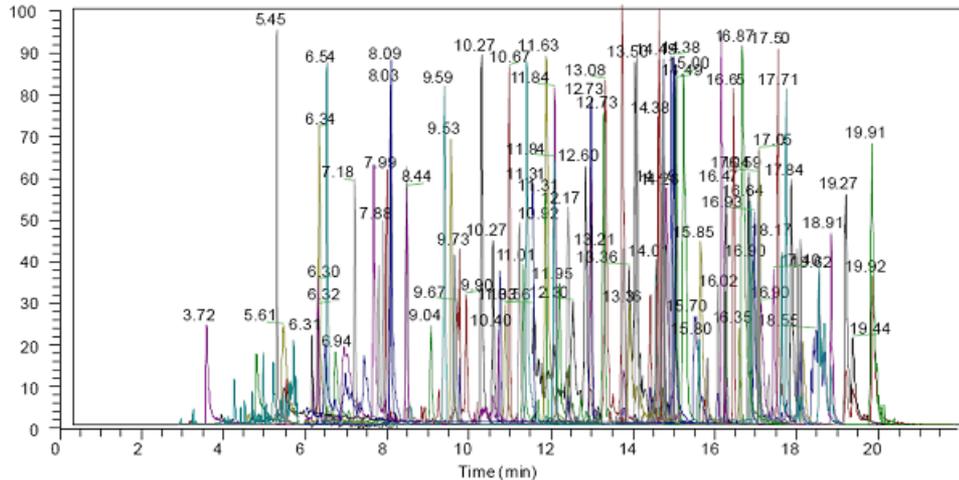
Filamento Dual para mayor tiempo de funcionamiento útil

Ventajas – Mayor velocidad de análisis / Mayor n° compuestos

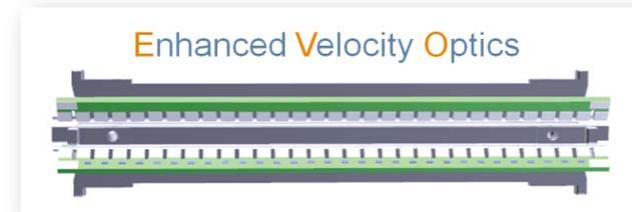
- Nueva celda de colisión: EvoCell
 - Mayor velocidad SRM (500 us dwell time)
 - Mejor transmisión – mayor sensibilidad
- Capacidad de métodos incrementada
 - Más compuestos
 - Más transiciones SRM
 - Análisis más rápidos sin sacrificio de LOQs



▲ Analysis of pesticides in rice (10 µg/kg) with the EvoCell collision cell at 500 µs dwell time, acquiring 800 transitions per second

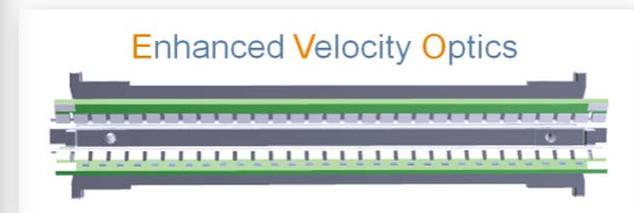
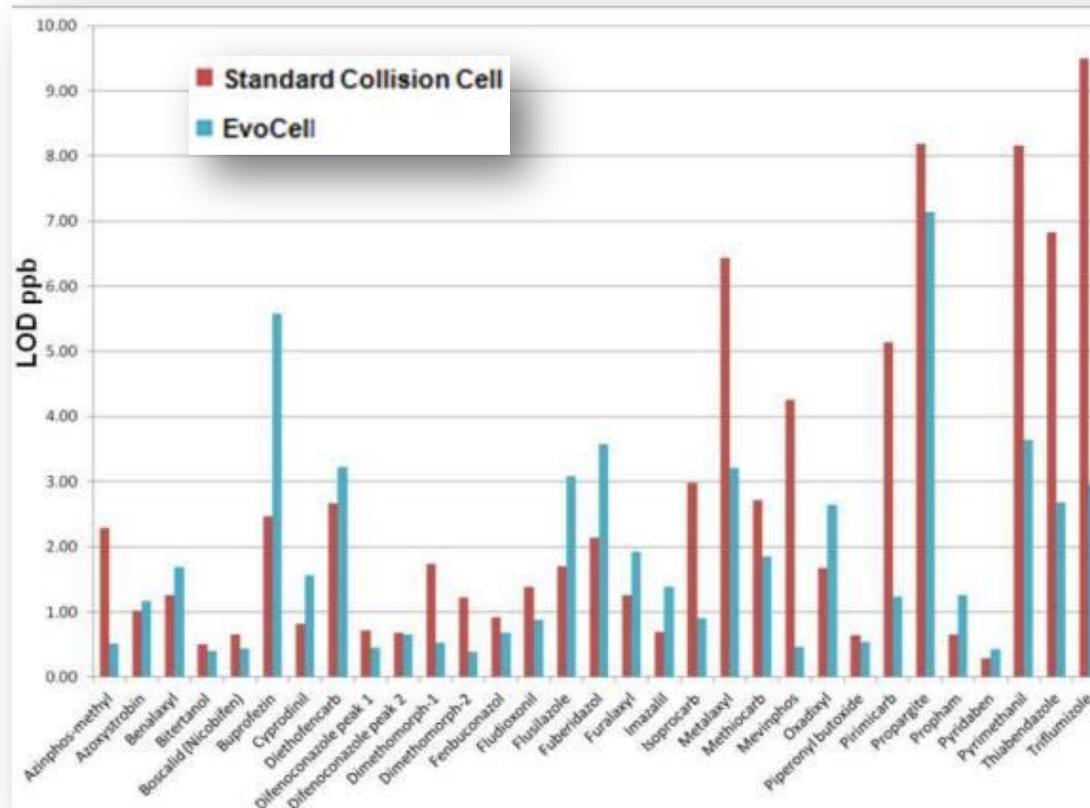


270 SRM
270 pesticides en 20 minutos



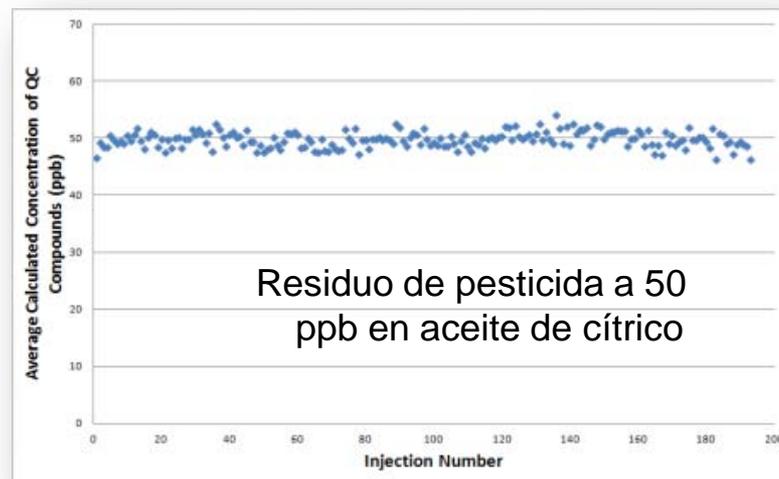
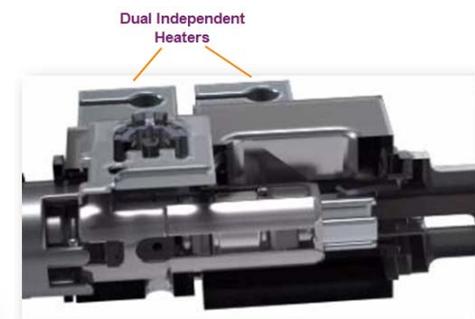
Ventajas – Mayor velocidad de análisis / Mayor n° compuestos

- Nueva celda de colisión: EvoCell
 - Condiciones de adquisición extremas: 666 compuestos (5496 SRMs) en arroz
 - LOD promedio 1.83 ppb (de los 262 pesticidas cuantificados)
 - Celda de colisión estándar (sólo 1300 SRMs): LOD promedio 2.63 ppb



Ventajas – Mayor robustez

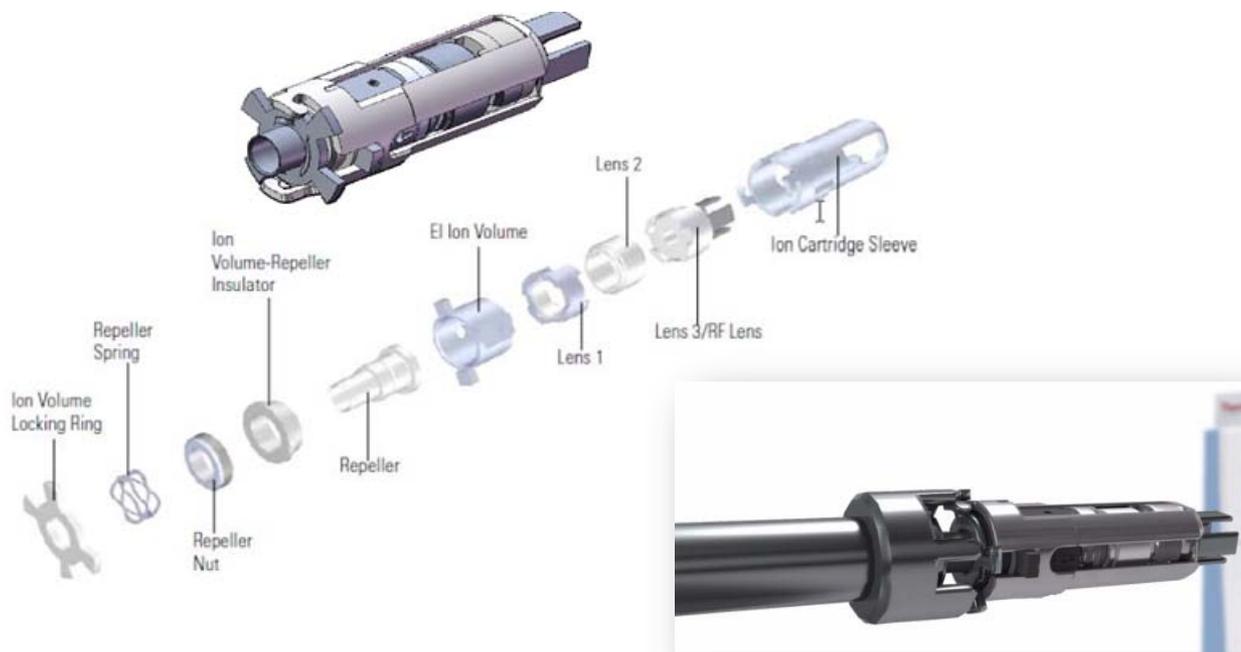
- Fuente de iones ExtractaBrite
 - Repeler para minimizar los efectos de ensuciamiento de la fuente
 - Lente RF patentada que protege la guía de iones y cuadrupolos
 - Opcional: fuente completa extraíble sin venteo del MS
- Calefacción de todas las superficies susceptibles de ensuciamiento
 - Volumen iónico
 - Conjunto de lentes
 - Guía de iones
- Excelente robustez en matrices sucias



Ventajas – Mayor tiempo de funcionamiento útil

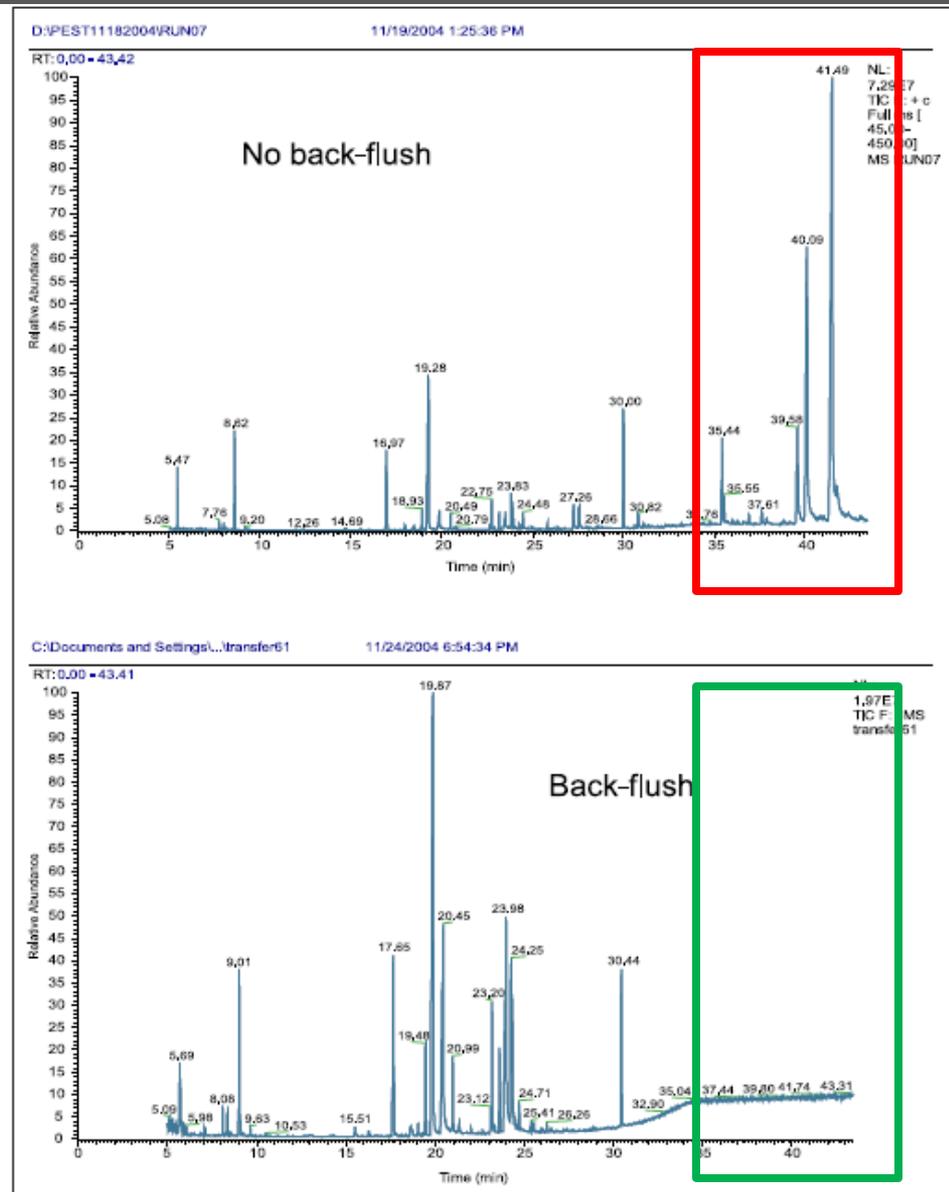
- Fuente de iones ExtractaBrite

- Opcional: fuente completa extraíble sin venteo del MS
- Fuente *wireless*, sin cables
- Intercambio de fuente de iones rápido, en minutos
- Limpieza de la fuente sencilla, sin necesidad de herramientas para desmontar el cartucho
- Importante en entornos de alta productividad y trabajo con matrices sucias



Mayor versatilidad en la inyección - backflush

- No Backflush
 - Ultimo pesticida $t_R \approx 30$ min

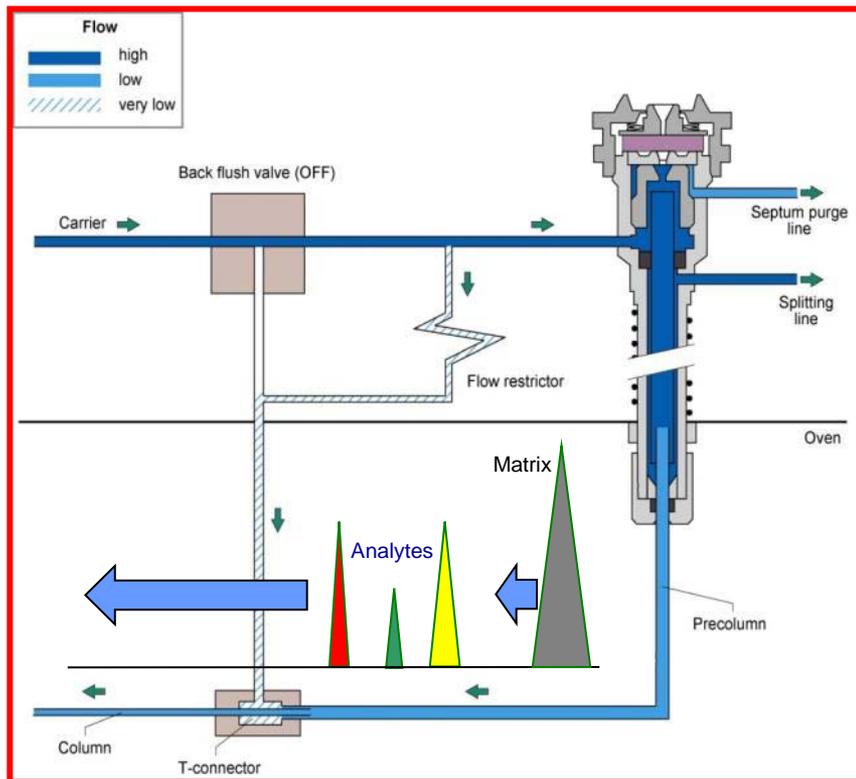


- Backflush en inyector
 - Trigliceridos eliminados

Mayor versatilidad en la inyección - backflush

Inyección

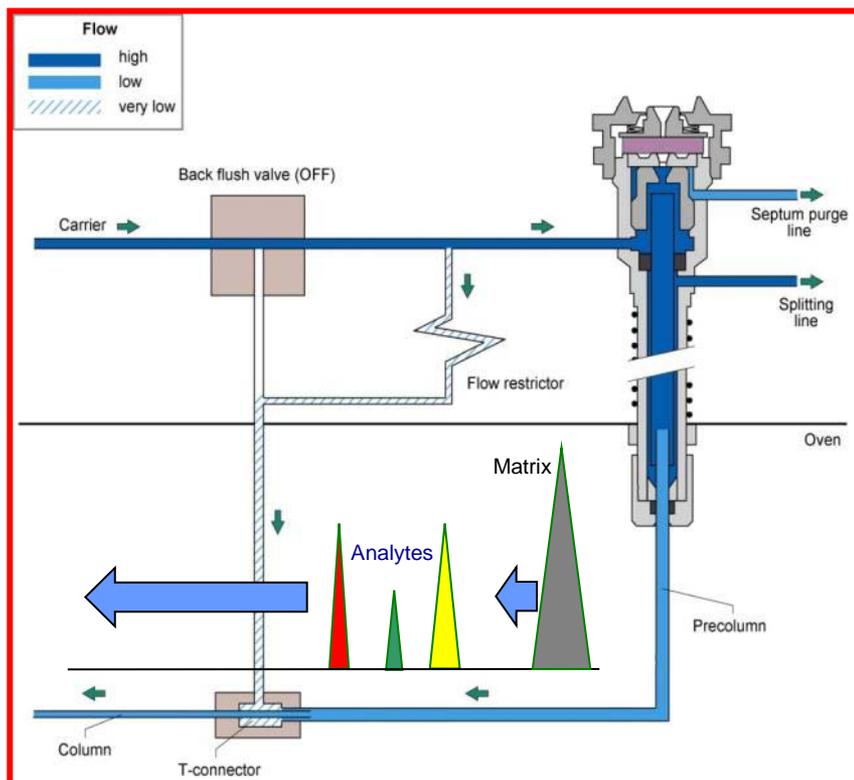
Transferencia a la pre-columna y a la columna analítica



Mayor versatilidad en la inyección - backflush

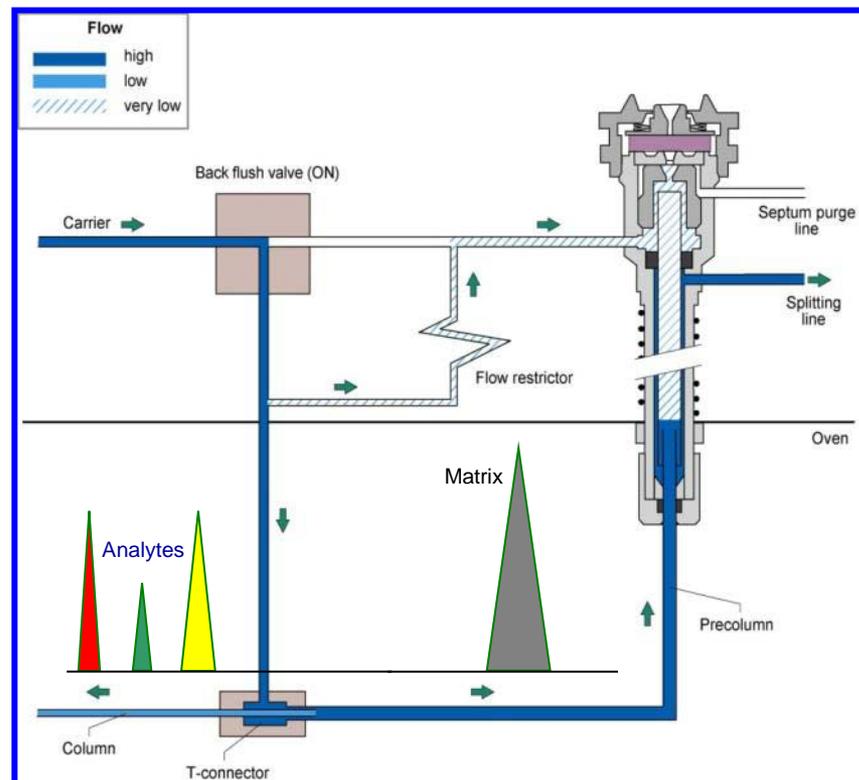
Inyección

Transferencia a la pre-columna y a la columna analítica



Backflush

Limpieza de pre-columna e inyector durante el tiempo de análisis

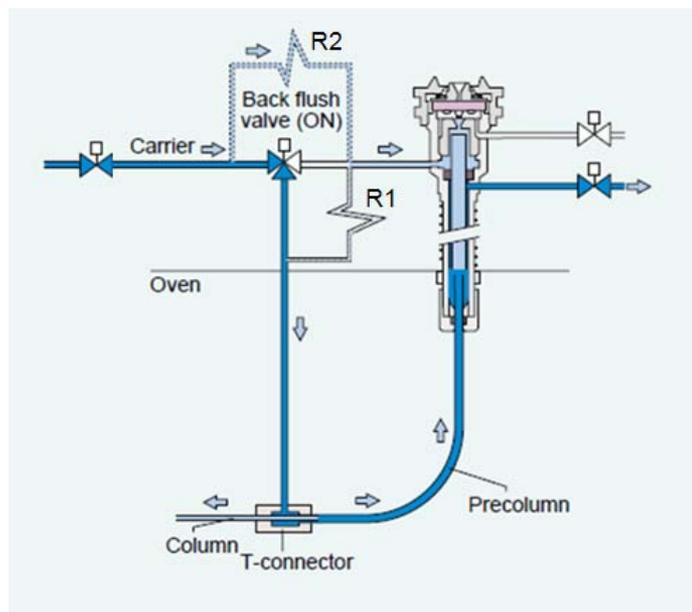


• Ventajas:

- permite acortar el tiempo de análisis – mayor productividad
- permite mantener la columna y el detector más limpios – menor mantenimiento

Mayor versatilidad en la inyección - backflush

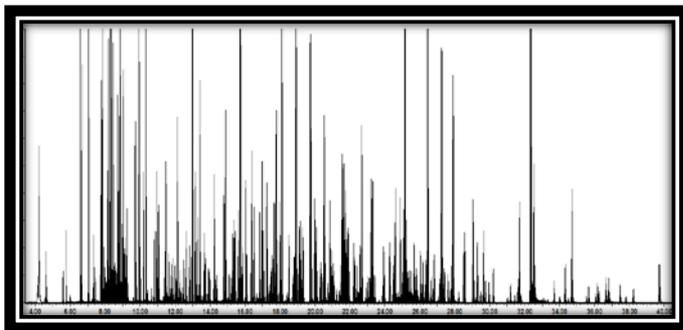
- Thermo Scientific™ GC™ Trace 1300:
 - Tecnología modular de conexión instantánea
 - Módulos de inyección ic-PTV y ic-SSL con backflush integrado



- El circuito neumático está completamente integrado en el módulo de inyector
- Únicamente requiere conexión de columna y pre-columna, minimizando riesgo de fugas

¿Cómo manejar métodos multi-residuo? ¿es complicado?

- Análisis de 100-300 compuestos en un sólo proceso
- Optimización de transiciones
- Manejo y mantenimiento de métodos complejos en rutina
- Revisión y generación de informes de una gran cantidad de datos, sometidos a una regulación estricta



Thermo Scientific™ TSQ™ 8000 Evo GC-MS/MS Pesticide Analyzer

- Método pre-configurado para el análisis de pesticidas
 - Base de datos de compuestos con transiciones SRM optimizadas
 - +700 compuestos, +1600 SRM optimizadas (precursor, producto, EC)
 - Permite generar de manera rápida métodos personalizados plenamente optimizados

Compound Database - TSQ8000 Pesticides, Env Contaminants, PCBs

Search (all)

Compound	Formula
3-Nitroaniline	SRM
4-Bromophenyl phenyl ether	SRM
4-Chloro-3-methylphenol	SRM
4-Chloroaniline	SRM
4-Chlorophenyl phenyl ether	SRM
4-methylphenol (p-cresol)	SRM
4-Nitroaniline	SRM
4-Nitrophenol	SRM
Acenaphthalene	SRM
Acenaphthene	SRM
Acenaphthene-d10	SRM
Acephate	SRM
Acetamidrid	SRM
Acetochlor	SRM
Acibenzolar-S-methyl	SRM
Aclonifen	SRM
Acrinathrin	SRM
Akton	SRM
Alachlor	SRM
Aldrin	SRM
Allethrin (Bioallethrin)	SRM
Allidochlor	SRM
Ametryne	SRM
Aminocarb	SRM
Amitraz	SRM
Ancymidol	SRM
Anilazine	SRM
Aniline	SRM
Anilofos	SRM
Anthracene	SRM
Anthraquinone	SRM
Aramite peak 1	SRM
Aramite peak 2	SRM
Aspon	SRM
Atrazine	SRM
Atrazine D5	SRM
Azaconazole	SRM
...	...

Total Compounds: 933

Compound Detail

Compound: Aldrin

Experiment: SRM Category: CAS: 309-00-2 Formula:

Ionization: EI Response Threshold: 5000 Neutral Mass: 0

Compound Type: Target Compound

Internal Standard

Target Peaks

Peak 1

Precursor Mass: 330.000 [Confirming Peaks \(Quan Only\)](#)

Product Mass:	Precursor	Product Mass	Collision Energy:
298.900	262.700	191.000	30.00
	262.700	192.900	32.00

Polarity: Positive

Adduct: None

Charge State: 1

Window (sec): 60.00

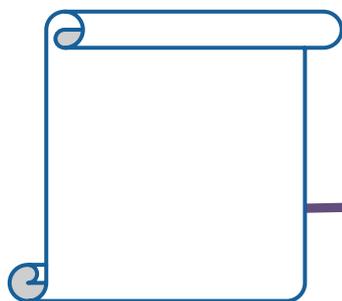
RT (min): 14.86

Collision Energy: 10.00

Lens: 0.0

Energy Ramp: 0.00

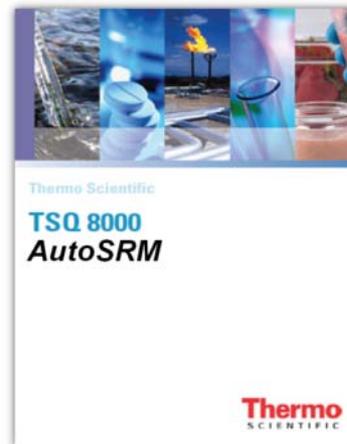
Creación y manejo de métodos simplificada



Desarrollo de SRM de nuevos compuestos



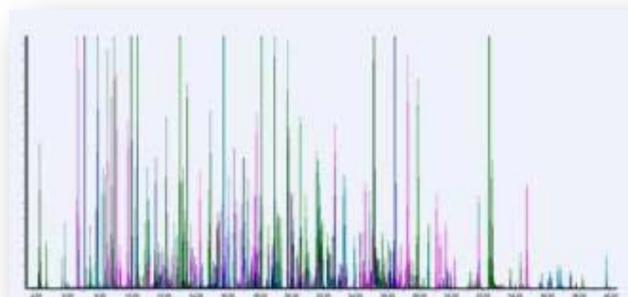
Añadir a la base de datos



Creación automática de método SRM

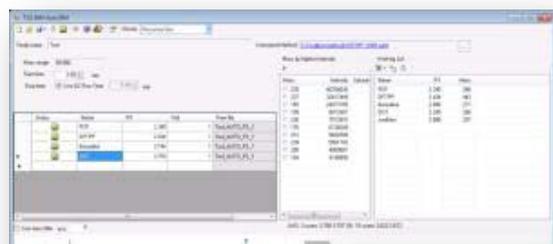


Actualización de RT

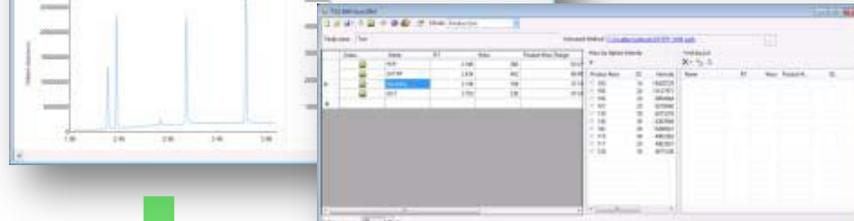


Creación y manejo de métodos simplificada

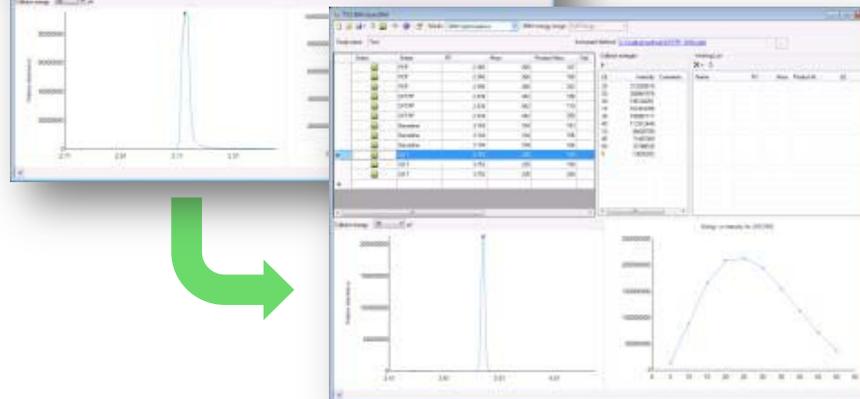
- AutoSRM: optimización automática de transiciones SRM



1) Selección de ion precursor



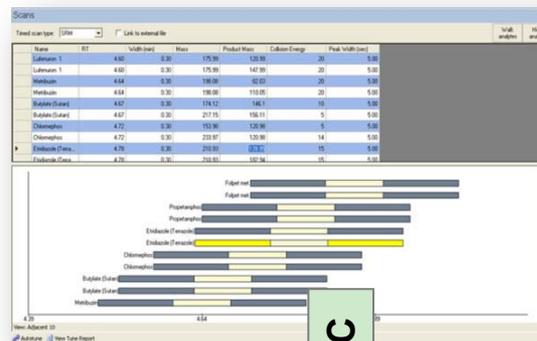
2) Selección de ion producto



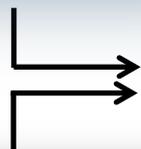
3) Optimización de energía de colisión

Creación y manejo de métodos simplificada

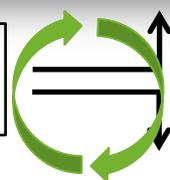
- Generación directa de método instrumental y procesado + sincronización



**Método instrumental
Timed-SRM**

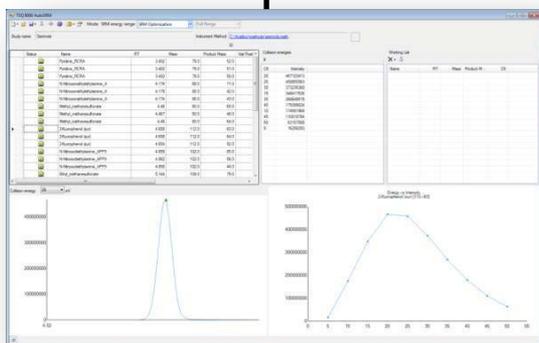


**Base de datos de
compuestos, RT y SRM**

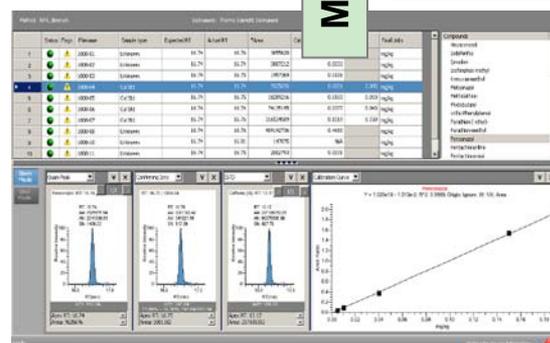


METHOD SYNC

Sincronización automática
de métodos instrumental y
procesado (compuesto,
RT, SRM..)

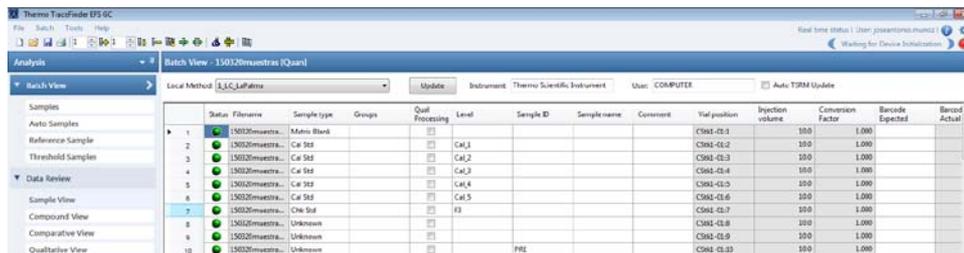


AutoSRM

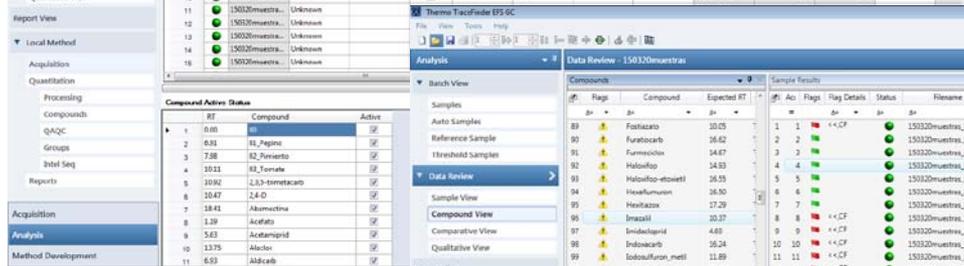


**Método de
procesado**

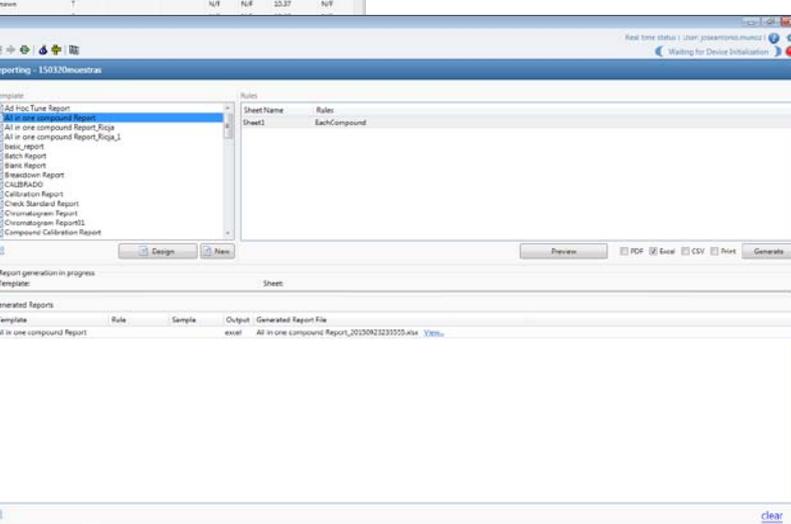
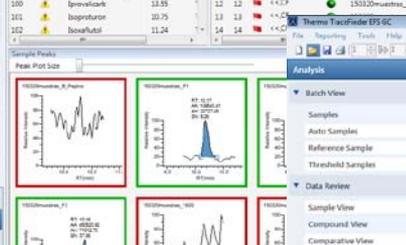
Thermo Scientific™ TraceFinder™: software para máxima productividad



Creación de Secuencias
Adquisición de datos



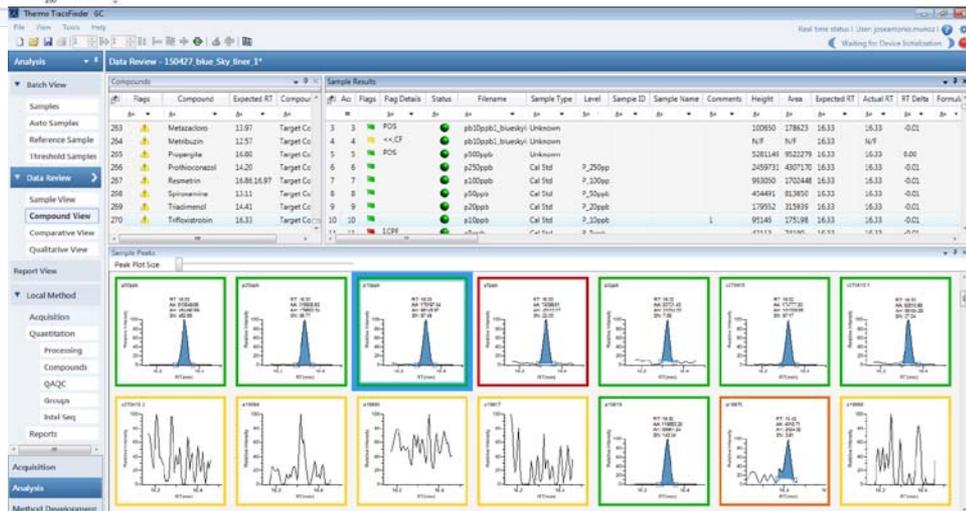
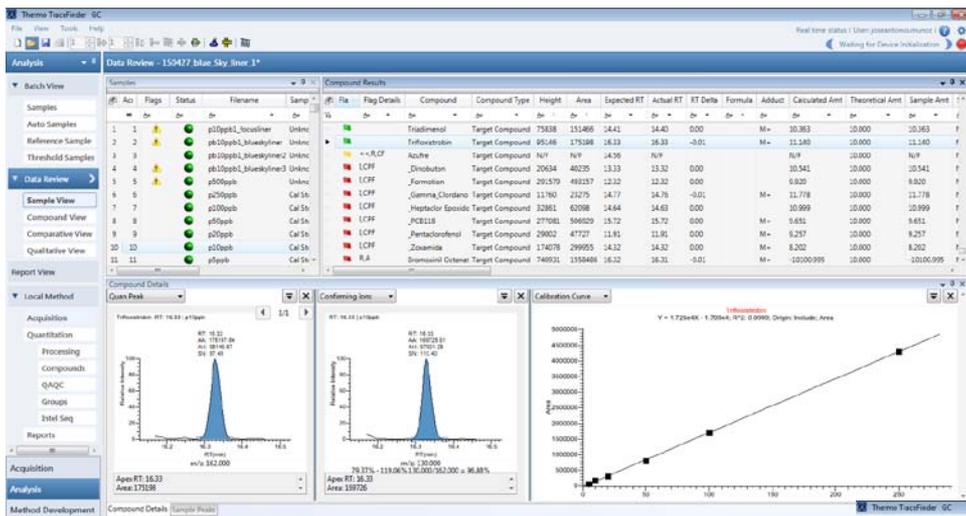
Revisión de
datos



Informes

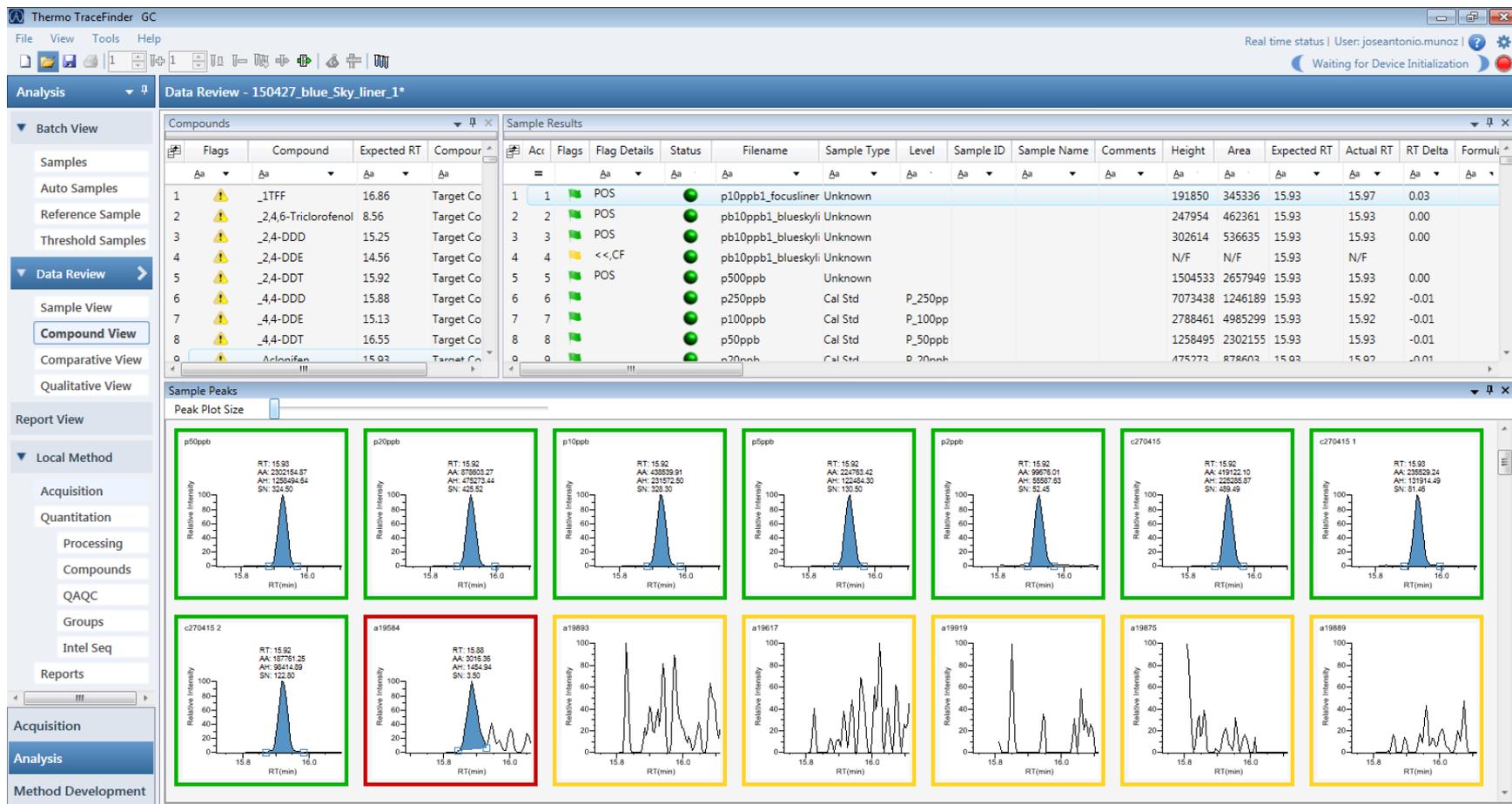
TraceFinder: revisión de resultados simplificada

- Diseño flexible y personalizable



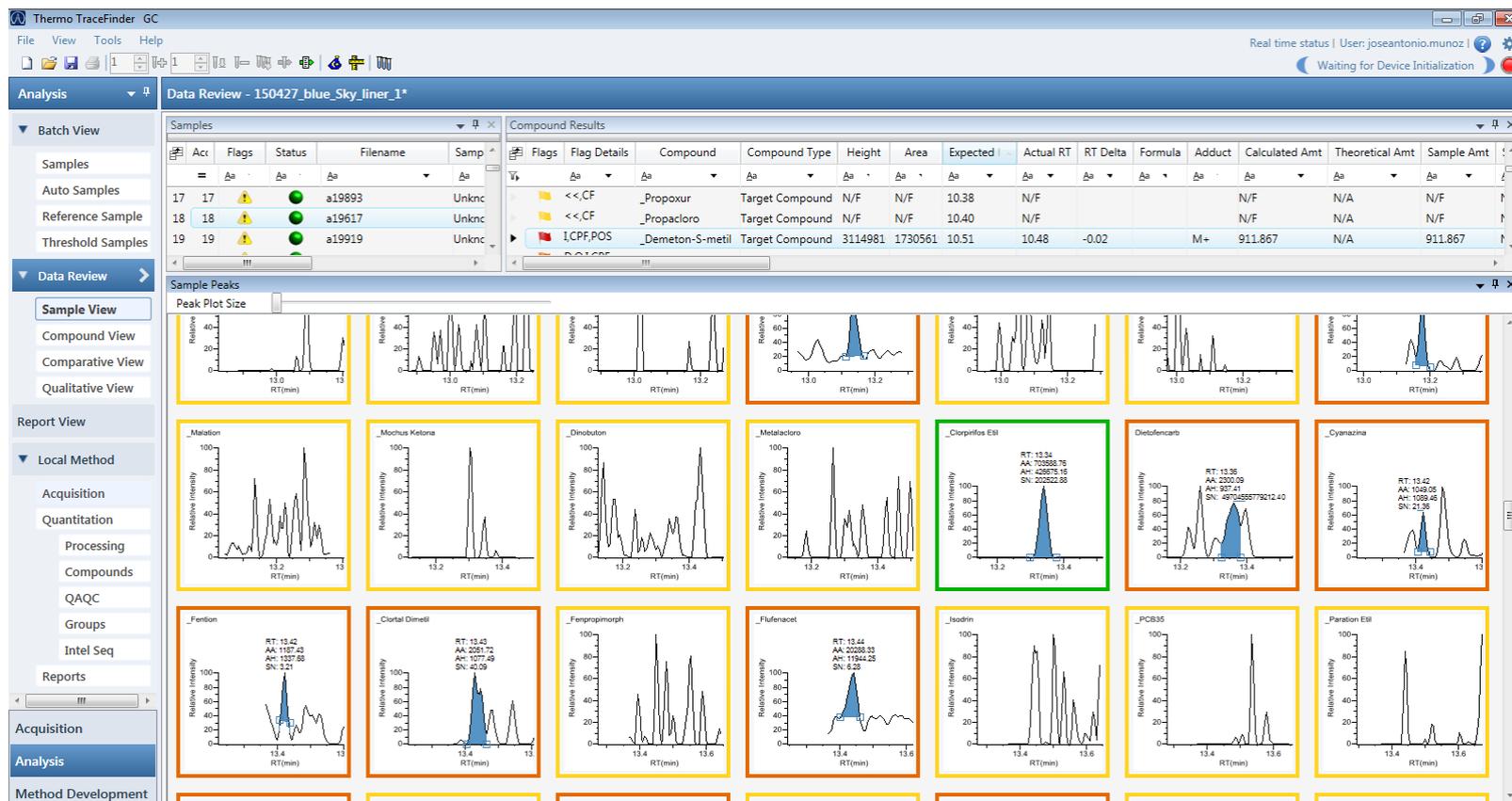
TraceFinder: revisión de resultados simplificada

- Reprocesado rápido
- Revisión de resultados por muestra o por compuesto



TraceFinder: revisión de resultados simplificada

- Revisión rápida de todos los compuestos (vista Sample Peaks)
- Alertas visuales para valores de QA/QC que superan los valores límite establecidos en el método (LOD, linealidad, recuperación de QC, confirmación por relaciones de iones...) – cumple requisitos SANCO



TraceFinder: revisión de resultados simplificada

- Diferentes opciones de informes:
 - Totalmente personalizables, por muestra o por compuesto
 - exportable a Excel, PDF...

The screenshot displays the Thermo TraceFinder Report Designer interface. The main window shows a chromatogram with several peaks labeled with retention times (RT) and compound names. Below the chromatogram is a table with columns for RT, Quan Peak, Response, Curve Type, and Average NF/Response Ratio. An 'Edit Table - Peak Results' dialog box is open, showing a list of custom fields and a formula for filtering results.

Table Data:

RT	Quan Peak	Response	Curve Type	Average NF/Response Ratio
7.49	225 000 m/z	271019	Linear	0.000
7.72	93 000 m/z	518142	Linear	0.000
8.52	100 000 m/z	1744343	Linear	0.000
8.62	97 000 m/z	967726	Linear	0.000
8.69	117 000 m/z	2419177	Linear	0.000
8.76	135 000 m/z	55333	Linear	0.000

Table Filter: and(quantresults.compoundType="eTargetCompound", peakresult.peakType = "Quan", quantresults.above5

Field Details:

Formula: `iff(peakresult.peakfound = false, "N/F", iff(sample.issolventsample, "", "quan`

Preview: 7.945

Header: Injected Conc

Description: Custom Field

Conclusiones

- Thermo Scientific TSQ 8000 Evo proporciona:
 - Un alto nivel de sensibilidad y selectividad para el screening, cuantificación y confirmación de multiresiduos de pesticidas en matrices complejas
 - Una mayor productividad – más muestras con menos recursos
 - Elevada robustez gracias al diseño de fuente ExtractaBrite
 - Mantenimiento opcional del MS sin necesidad de romper vacío en el MS
 - Una mayor simplicidad en el manejo de métodos y en la evaluación de datos
 - Soluciones completas desde la preparación de muestra a la evaluación de resultados (bases de datos con condiciones de ensayo optimizadas)



¡Gracias por su atención!

TSQ 8000 EVO

Triple Quadrupole Mass Spectrometer

Mayor
Productividad

