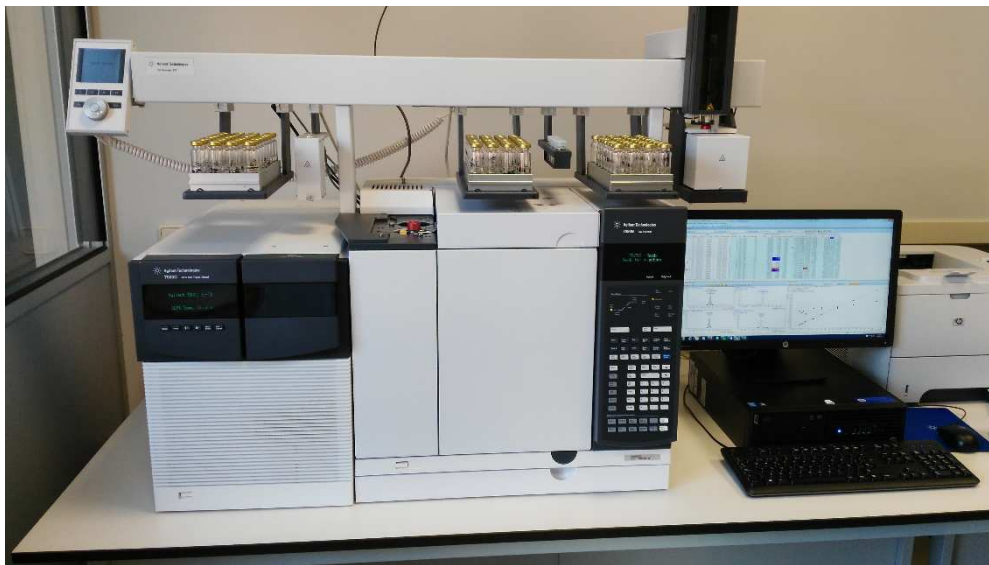




Controls de qualitat en taps de suro i detecció d'aromes en vins GC-MS/MS



Evolució dels anàlisis cromatogràfics

- Extracció Sòlid Líquid
(Mostra triturada)

- 1) Extracció amb un dissolvent
- 2) Pre-concentració: eliminant el dissolvent
- 3) Clean Up i secat
- 4) Injecció líquida al GC-MS



- Extracció SPME
(Mostra real)

- 1) Simulació de la matriu
- 2) Pre-concentració: a la fibra
- 3) Injecció amb fibra





Evolució dels anàlisis cromatogràfics

Comparació Mètode SPME vs Extracció LLE

- **Avantatges:**

- Més simple en les etapes de preparació → Menys errors d'operació
- Química verda (no s'utilitzen dissolvents)
- Límits de quantificació més baixos
- Resultats comparables amb límits sensorial (ng/L)
- Anàlisi de traces (de ppb a ppt)

- **Inconvenients:**

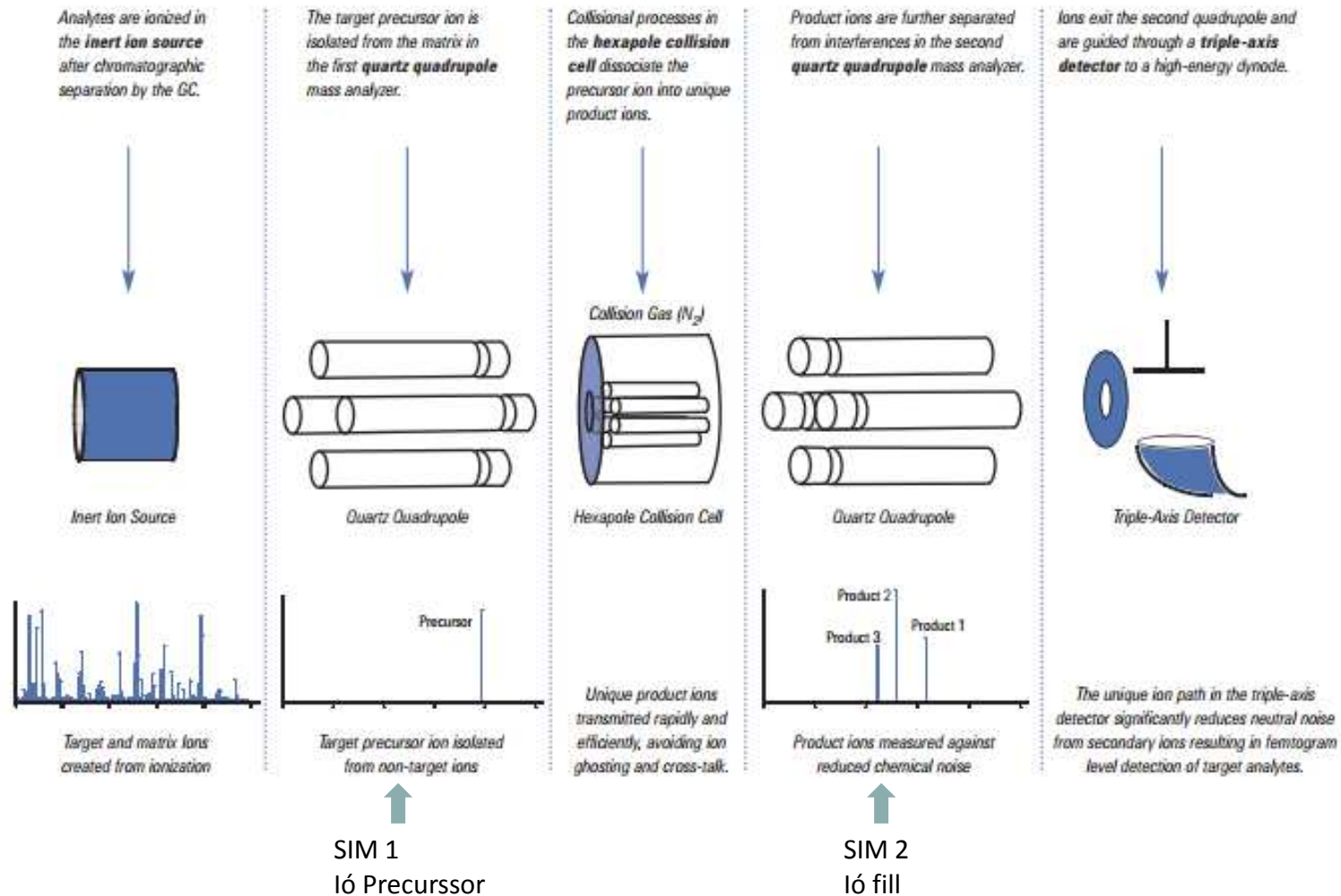
- Mostres acuoses o amb solució etanòlica fina al 20%
- Poc reproducible a concentracions petites (< 10 ng/L)
- Problemes de coel.lució per efectes matriu

↓

GC-MSMS

SPME-GC-MS-MS

The Agilent 7000A Triple Quadrupole GC/MS: How it works





SPME-GC-MS-MS

Què millorem?

- Més especificitat i selectiu (Matrius complexes: matèries vegetals, aliments, begudes alcohòliques)
- Redueix el soroll de fons
- Límits de quantificació més baixos (especialment avantatjós per aromes)
- Més sensibilitat → Més Reproduïbilitat
- Augment de la fiabilitat dels resultats

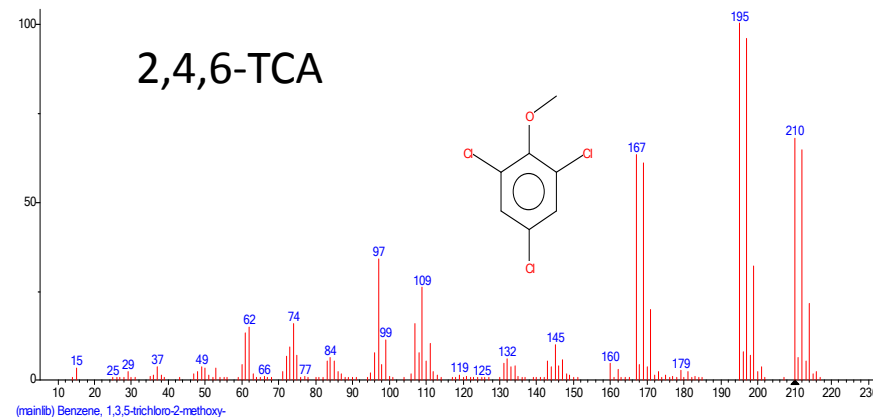


Anàlisi Anisols GC-MS/MS

Desenvolupament del mètode

- 1) Escollir els ions m/z més selectiu i abundant (SIM de GC-MS)
- 2) Analitzar el Product Ion de cada fragment amb diferents energies de col·lisió
- 3) Escollir la transició més favorable per la quantificació i dues altres transicions per la identificació

Compost	m/z Quant	m/z Quali 1	m/z Quali 2
2,4,6- TCA	212	210	195
2,3,4,6-TECA	246	244	230
PCA	280	265	267
2,4,6-TBA	346	344	329

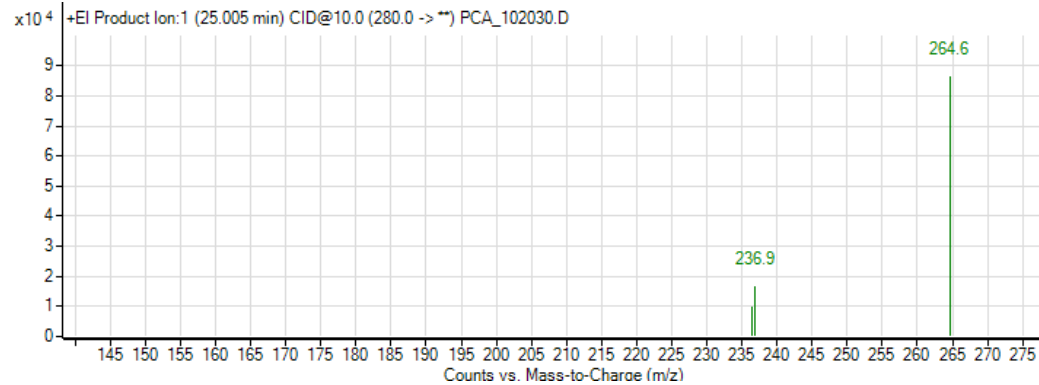




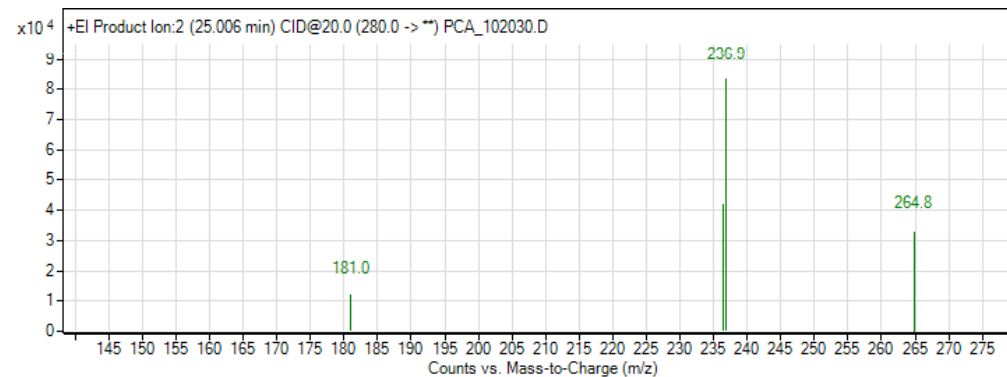
Anàlisi Anisols SPME-GC-MS-MS Desenvolupament del mètode

Exemple PCA m/z 280 : Product Ion \neq Energies de Col.lisió

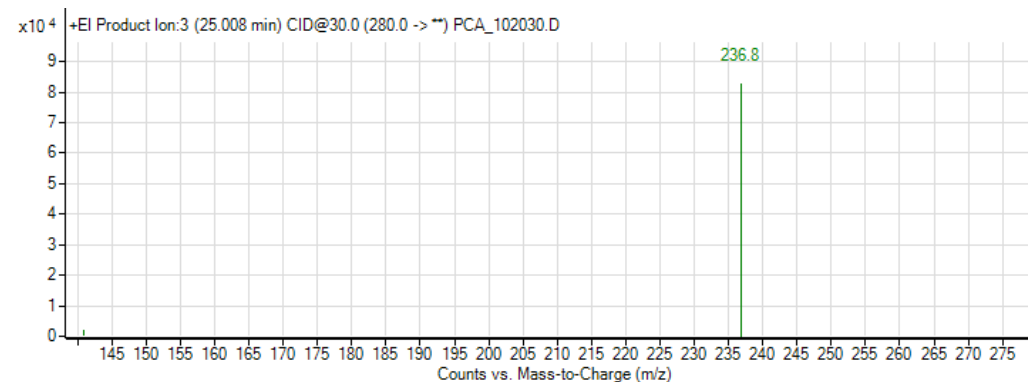
EC = 10



EC = 20



EC = 30





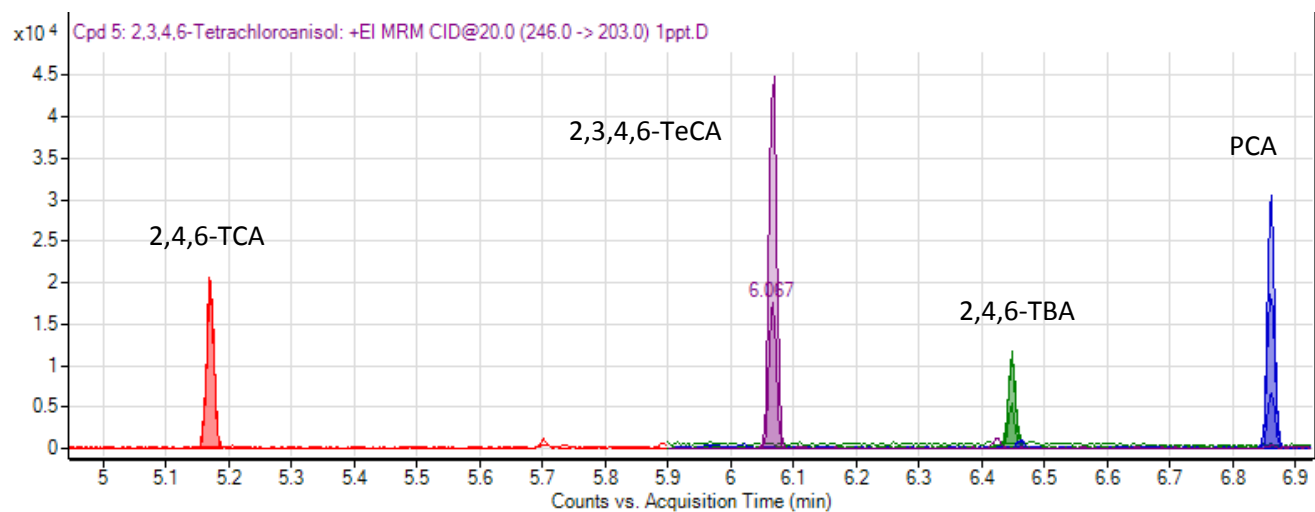
Anàlisi anisols SPME-GC-MS-MS Mètode MRM

Condicions cromatogràfiques

Columna	30 m x 0.25mm x 0.25 µm HP-5MS UI
Injecció	Splitless 3 min
Rampa	55 °C 280 °C (30°C/min) 3 min Total: 7 min
Flux columna:	Heli 1.2 ml/min
MS	EI MRM Transfer line: 280°C Source: 300 Quadropole:150°C
Cel·la col·lisió	N ₂ a 1.5 ml/min

Condicions SPME

Mostra	10 ml + patró intern + NaCl
T ^a extracció	35°C
Fibra	100 µm PDMS
Temps extracció	30 minuts a 500 rpm

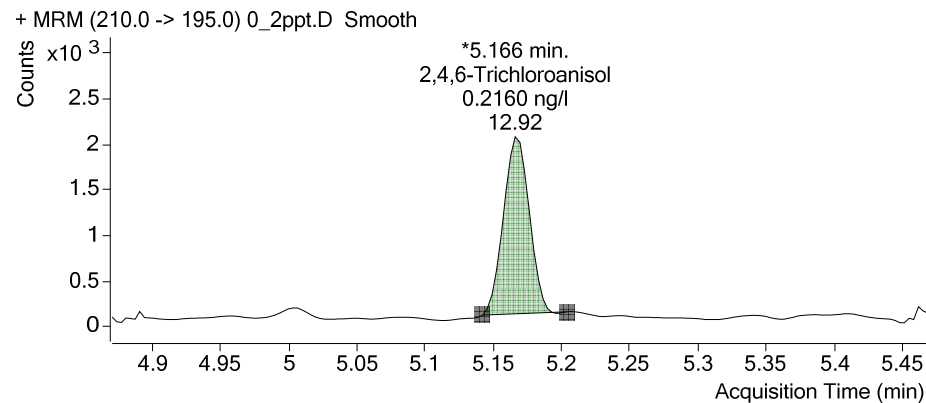




Anàlisi anisols SPME-GC-MS-MS

Límit de detecció

- La relació senyal / soroll (SN) utilitzada en altres mètodes cromatogràfics , no s'utilitza en GC-MS-MS



- En GC-MS-MS s'utilitza Minimum Detection Limit (MDL) o Instrument Detection Limit (IDL)

$$\text{IDL} = \text{RSD} (\%) * T \text{ student} * \text{Amount}$$

RSD = desv/mitja de 10 replicats

T student= Valor tabulat per n-1 i $\alpha= 99\%$

Amount= Concentració mitja de les 10 rèpliques en ng/L



Anàlisi anisols SPME-GC-MS-MS

Límit de detecció i quantificació

Disseny: 10 repliques de mostres fortificades

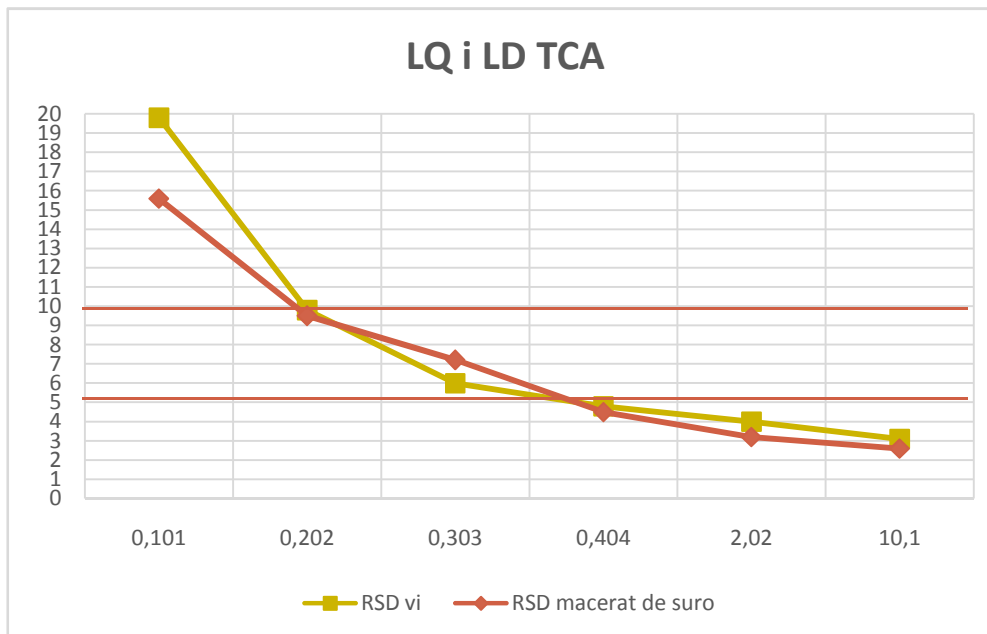
- en 2 matrius: macerat de suro i vi negre
- 6 concentracions (0.1 ppt, 0.2 ppt, 0.3 ppt, 0.4 ppt, 2 ppt i 10 ppt)
- 3 dies diferents

30 Resultats per cada matriu i concentració d'on es calcula la RSD (%)

Representem concentració vs RSD

Límit de detecció (concentració amb RSD inferior a 10%)

Límit de quantificació (concentració amb RSD Inferior al 5%)

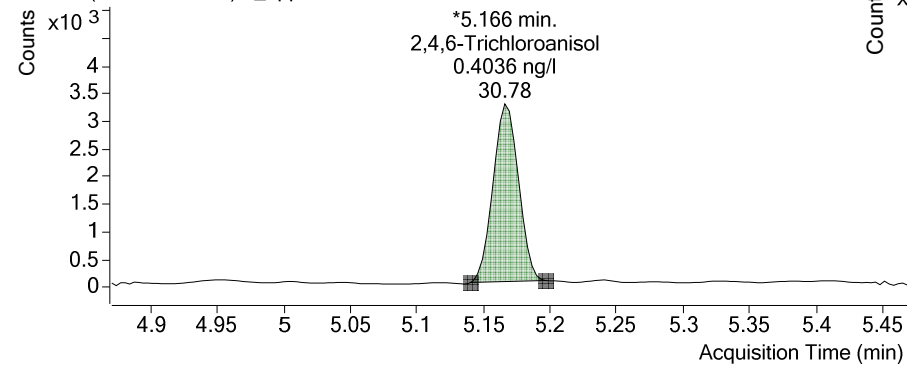


LD TCA < 0.2 ng/L
LQ TCA < 0.4 ng/L

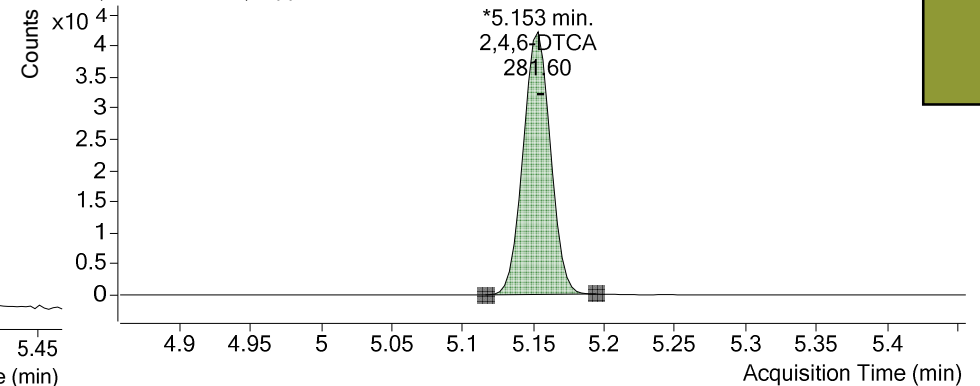


Anàlisi anisols SPME-GC-MS-MS

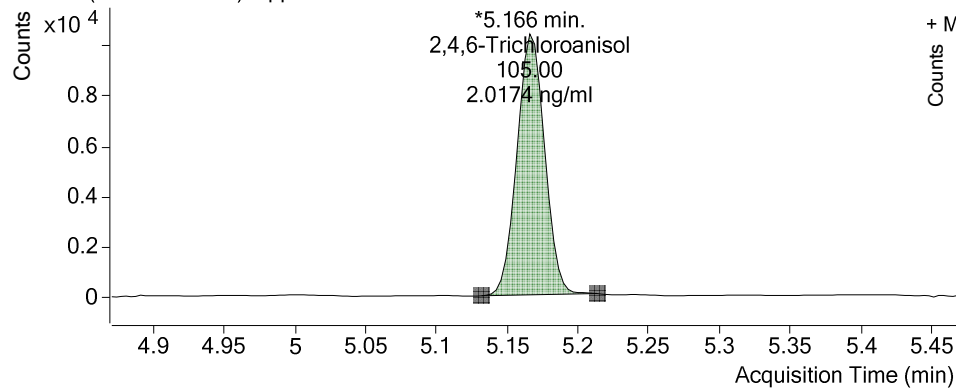
+ MRM (210.0 -> 195.0) 0_4ppt.D Smooth



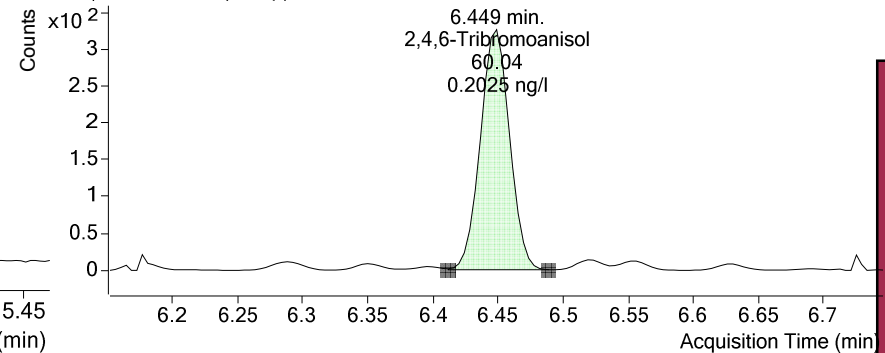
+ MRM (217.0 -> 199.0) 2 ppt.D Smooth



+ MRM (210.0 -> 195.0) 2 ppt.D Smooth



+ MRM (346.0 -> 303.0) 0_2ppt.D Smooth





Anàlisi anisols SPME-GC-MS-MS

Estabilitat del Pendent

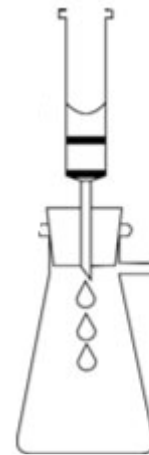
- Estabilitat del Pendent durant un any:

Dia	Pendent TCA
10-feb-15	1,25560
24-mar-15	1,12770
28-abr-15	1,10030
18-may-15	1,09654
9-jun-15	1,18062
21-jul-15	1,13558
20-ago-15	1,17458
10-sep-15	1,12515
6-oct-15	1,20656
10-nov-15	1,10030
Promig	1,15029
desvest	0,05272
RSD	4,6

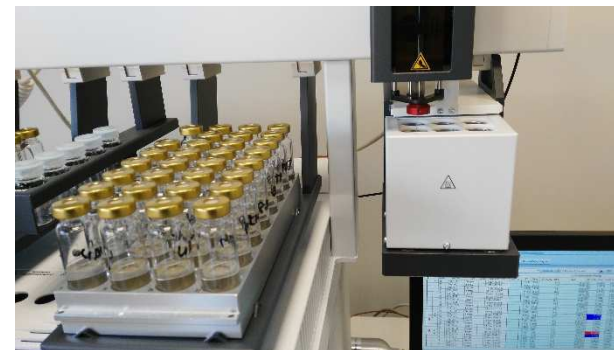
RSD < 5%

Anàlisi fenols SPME-GC-MS-MS

- Mètode en SPE-GC-MS:
 - Maceració amb solució hidroalcohòlica
 - Extracció de 250 ml cartutx HLB.
 - Elució amb Metanol
 - Derivatització en fase orgànica
 - Injecció líquida 1 ul



- Mètode SPME *in situ*:
 - Maceració amb solució hidroalcohòlica
 - Mostra + reactiu derivatitzant en medi bàsic
 - Derivatització *on fiber*
 - Injecció amb fibra





Anàlisi fenols SPME-GC-MS-MS

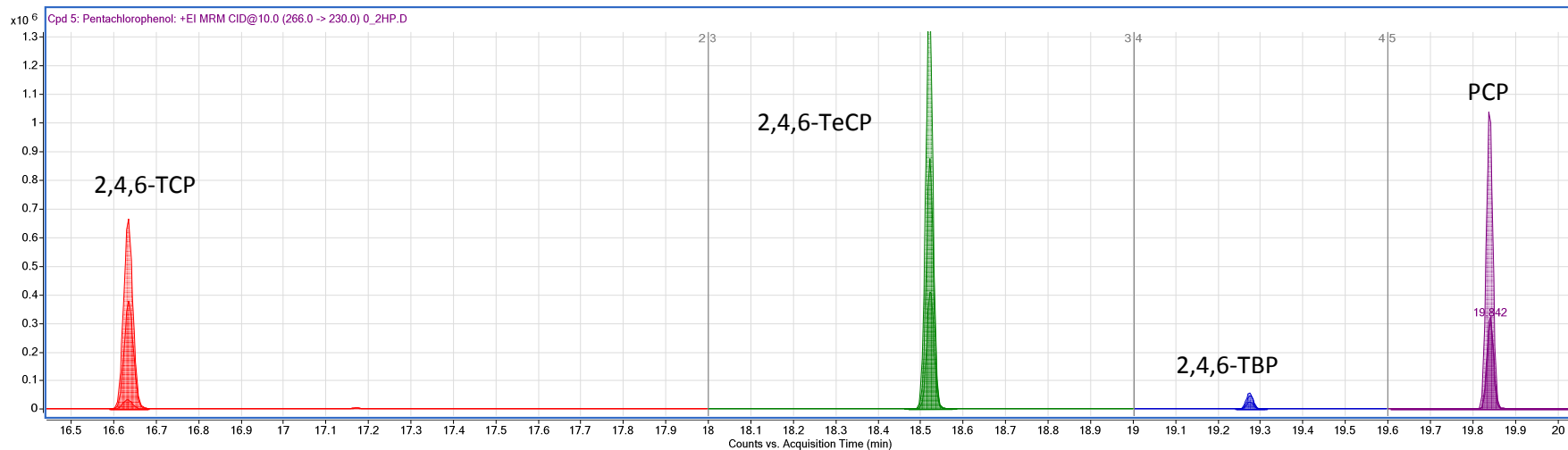
Fenols (TCP, TeCP, PCP i TBP)

Condicions cromatogràfiques

Columna	30 m x 0.25mm x 0.25 µm HP-5MS UI
Injecció	Splitless 3 min a 250°C
Rampa	50 °C (4 min) 150°C (9°C/min) (0.5 min) 260°C (20°C/min) (5 min) 3 min Total: 20 min
Flux columna:	Heli 1.2 ml/min
MS	EI MRM Transfer line: 280°C Source: 300 Quadropole:150°C
Cel.la colisió	N ₂ a 1.5 ml/min collision gas

Condicions SPME

Mostra	Mostra+ medi bàsic+ reactiu derivatitzant + patró intern +NaCl
T ^a extracció	50 °C
Fibra	100 µm PDMS
Temps extracció	30 minuts a 500 rpm





Anàlisi fenols SPME-GC-MS-MS

Fenols (TCP, TeCP, PCP i TBP)

Resultats Experimentals

	Fenols							
	Macerat de suro				Vi negre			
	2,4,6-TCP 2 ppt	2,3,4,6-TeCP 2 ppt	PCP 2 ppt	2,4,6-TBP 5 ppt	2,4,6-TCP	2,3,4,6-TeCP	PCP	2,4,6-TBP
Rèplica 1	2,0541	2,0236	1,9845	5,2147	2,1023	1,9854	2,0637	5,2542
Rèplica 2	1,9547	2,0879	1,9634	5,0978	2,1698	1,9634	2,0417	5,2745
Rèplica 3	2,0673	2,0579	2,0552	5,0453	2,2078	2,0326	1,944	5,0325
Rèplica 4	2,0524	2,1478	2,0697	4,9578	1,997	2,1455	1,9234	4,8578
Rèplica 5	1,9658	2,0934	2,1256	4,899	1,8975	2,0475	2,0347	4,899
Rèplica 6	1,9354	2,251	2,0567	4,9457	1,9634	2,0637	1,7563	4,9356
Rèplica 7	2,0456	2,1213	1,8569	5,0051	2,1478	2,1563	2,202	4,6895
Rèplica 8	2,1547	2,1171	1,9758	5,1023	2,0397	1,9634	1,9752	5,1023
Rèplica 9	2,1391	1,9647	2,1664	5,0175	2,0038	1,9547	1,9631	5,2173
Rèplica 10	2,0894	1,9637	2,0975	5,2639	2,1357	2,0008	1,9785	4,9865
Mitjana	2,0459	2,0828	2,0352	5,0549	2,0665	2,0313	2,5470	5,0249
Desviació	0,07	0,087	0,091	0,117	0,101	0,073	0,114	0,190
RSD %	3,6	4,2	4,5	2,3	4,9	3,6	4,5	3,8
LD	1 PPT	1 PPT	1 PPT	2 PPT	1 PPT	1 PPT	1 PPT	2 PPT
LQ	2 PPT	2 PPT	2 PPT	5 PPT	2 PPT	2 PPT	2 PPT	5 PPT

A1

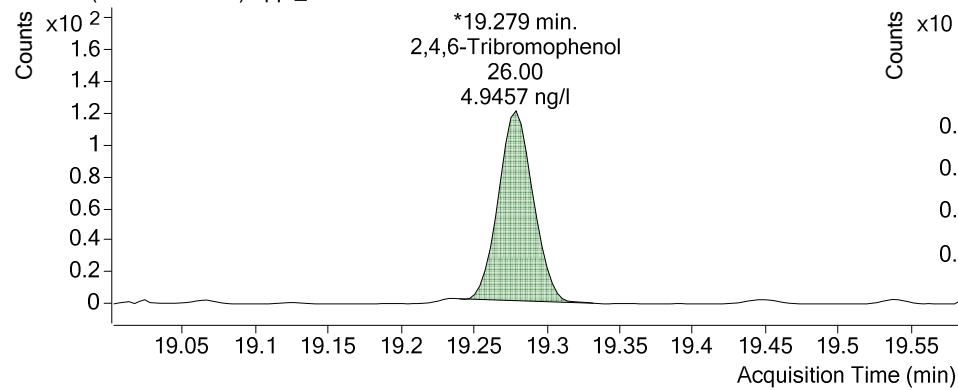


Anàlisi fenols SPME-GC-MS-MS

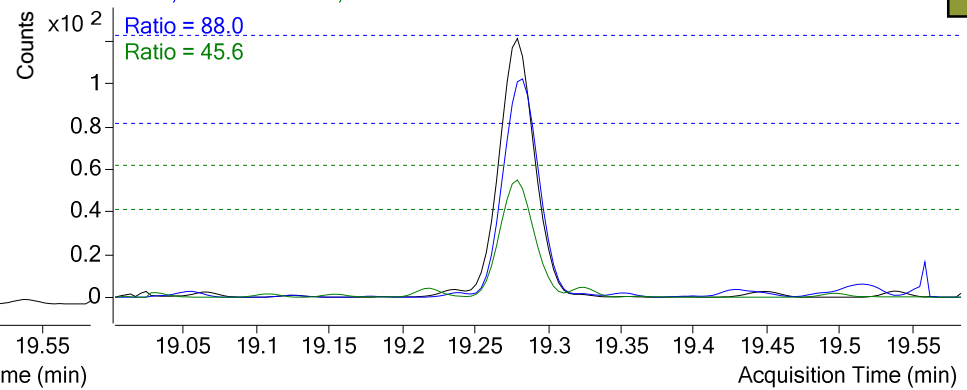
Fenols (TCP, TeCP, PCP i TBP)

- La importància del ions qualificadors

+ MRM (330.0 -> 222.0) 5ppt_1.D Smooth



330.0 -> 222.0 , 330.0 -> 250.0 , 330.0 -> 248.0



La relació entre les transicions és molt important que es mantingui dins els criteris d'acceptació marcats:

Uncertainty +/- 20%

A1



SPME-GC-MS-MS Geosmina i MIB

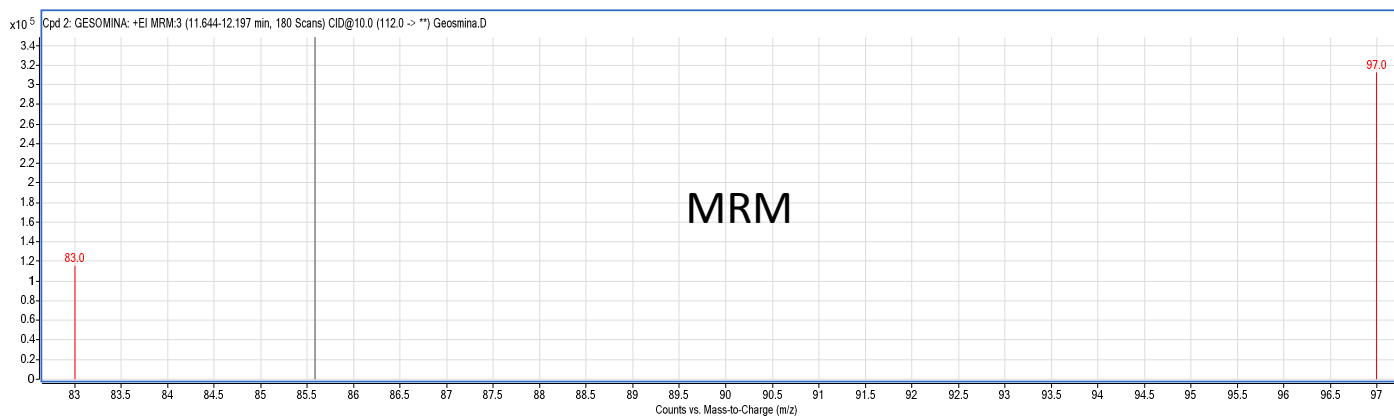
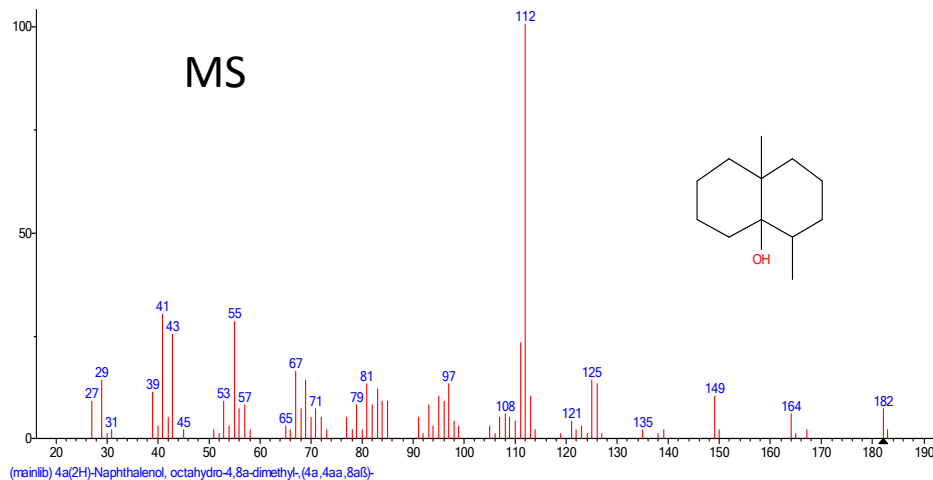
Geosmina

Límit percepció:

En aigua 10 ng/L

En vi 25 ng/L

(Font: AWRI)





SPME-GC-MS-MS

Geosmina i MIB

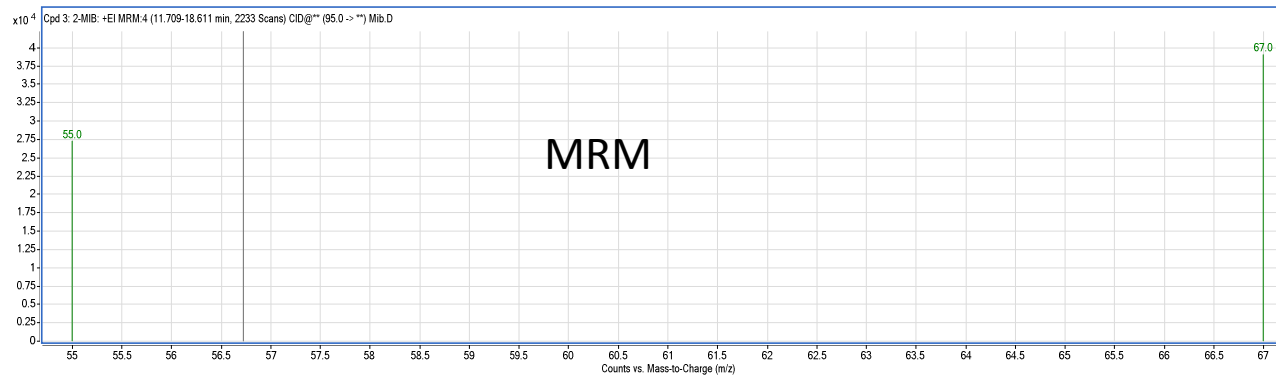
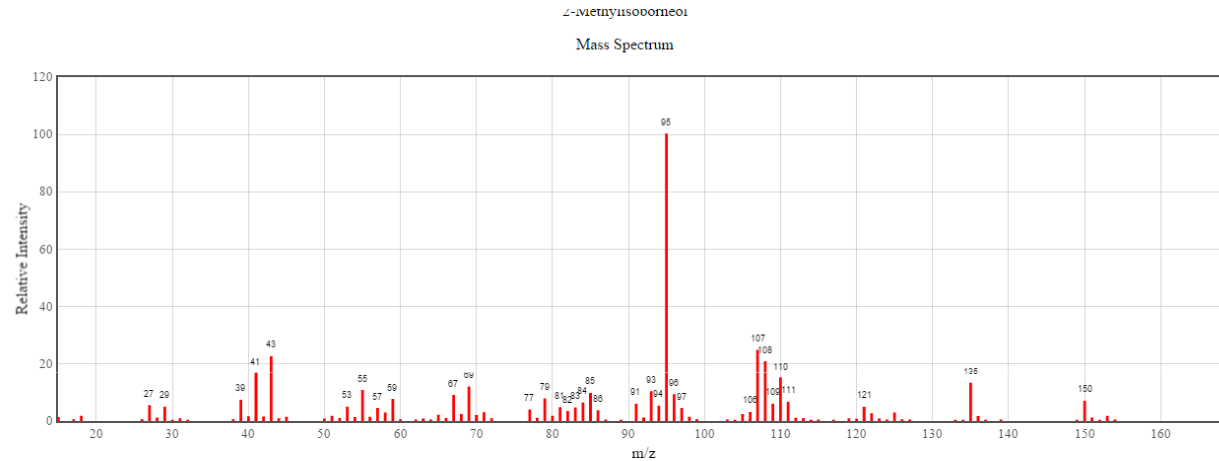
2-Metilisoborenol

Límit percepció:

En aigua 15 ng/L

En vi 30 ng/L

(Font: AWRI)





Condicions cromatogràfiques

Columna	30 m x 0.25mm x 0.25 µm HP-5MS UI
Injecció	Splitless 3 min a 250°C
Rampa	50 °C (1 min) 200°C (10°C/min) (1 min) 220°C (20°C/min) (1 min) Total: 19 min
Flux columna:	Heli 1.2 ml/min
MS	EI MRM Transfer line: 250°C Source: 300 Quadrupole:150°C
Cel.la colisió	N ₂ a 1.5 ml/min collision gas

SPME-GC-MS-MS

Geosmina i MIB

Condicions SPME

Mostra	Mostra + sal
T ^a extracció	80 °C
Fibra	DVB/Carboxen 50/30 µm (grisa)
Temps extracció	30 minuts a 500 rpm

Recta lineal de 0.5 a 40 ppt

LD 2 PPT
LQ 5 PPT

	Macerat de suro	
	Geosmina	2-MIB
Rèplica 1	5,2145	4,8001
Rèplica 2	5,1203	4,9233
Rèplica 3	5,4789	5,0147
Rèplica 4	5,123	5,0032
Rèplica 5	5,3691	5,3378
Rèplica 6	4,9678	5,0251
Rèplica 7	5,3247	5,5478
Rèplica 8	5,3671	5,637
Rèplica 9	4,8222	5,2223
Rèplica 10	4,9678	5,3937
Mitjana	5,1755	5,1905
Desviació	0,21	0,28
RSD %	4,1	5,4
LD	2 PPT	2 PPT
LQ	5 PPT	5 PPT



GC-MS-MS

Conclusió

La cromatografia de gasos masses-masses (o anàlisi target) ens permet detectar qualsevol compost volàtil o semivolàtil a nivells de quantificació més baixos, amb més seguretat i selectivitat.

Aplicacions:

- Detecció compostos aromàtics a nivell de traces
- Seguretat alimentària en mostres de matrius complexes (aliments, vins o begudes)
- Augment de la precisió i reproduïbilitat en els anàlisis realitzats mitjançant SPME



GRÀCIES PER LA VOSTRA ATENCIÓ

I si teniu qualsevol dubte
aoliveras@icsuro.com