

ANÁLISE DE PESTICIDAS E HERBICIDAS, USANDO VARREDURA SIMULTANEAMENTE DE ÍONS SELECIONADOS E VARREDURA TOTAL DE ÍONS (SIFI)*

RESUMO

Os laboratórios que monitoram pesticidas e herbicidas por cromatografia a gás / espectrometria de massas (GC / MS) usam freqüentemente técnicas de registro de íon selecionado (SIR, também chamado de modo SIM) para maximizar as sensibilidades analíticas para sua quantificação. Isso acontece a expensas de informação qualitativa, fornecendo uma combinação espectral de referência definida. Quando são analisadas amostras do mundo real, contaminantes com íons semelhantes podem interferir com a quantificação de compostos alvo individuais, o que requer corridas adicionais com um GC com dupla coluna. Além disso, altas concentrações de pesticidas e herbicidas podem exceder às curvas de calibração para métodos de coluna dupla ou de SIR.

Este Relatório de Aplicação em Campo (FAR – Field Application Report) descreve um método SIFI (Íon Selecionado / Íon Total) que permite a quantificação de pesticidas e herbicidas em níveis baixos usando o modo SIR com razões de íons para confirmação, enquanto executando quantificação de concentrações mais altas usando simultaneamente o modo de varredura completa (Full Scan). Isso aumentará a produtividade do laboratório pela eliminação da necessidade de correr análises confirmatórias em GC's de duplo canal e dará uma faixa dinâmica maior que cobrirá concentrações em nível de traços (baixos ppb) até níveis altos de ppm.

Palavras-chave: pesticidas, herbicidas, cromatografia a gás/detecção de massa, SIFI

SUMMARY

Laboratories monitoring pesticides and herbicides by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) frequently use selected ion recording (SIR, also called SIM) techniques to maximize analytical sensitivities for quantification. This comes at the expense of qualitative information, providing a definite reference spectral match. When realworld samples are analyzed, contaminants with similar ions can interfere with the quantification of individual target compounds, requiring additional runs with a dualcolumn GC. In addition, high concentrations of pesticides and herbicides may exceed calibration curves for dual-column or SIR methods. This Field Application Report (FAR) outlines a SIFI™ (Selected Ion Full Ion) method that allows for the quantification of low-level pesticides and herbicides using SIR mode with ion ratios for confirmation, while performing quantification of higher concentrations using full-scan mode simultaneously. This will increase the laboratory's productivity by eliminating the need to run confirmatory analysis on dual-channel GCs and provide a larger dynamic range that will cover trace (low ppb) level concentrations up to high ppm levels.

Keywords: pesticides, herbicides, gás chromatography/mass spectrometry, SIFI

Thomas Meaker, PhD

PerkinElmer Life and Analytical Sciences
710 Bridgeport Avenue
Shelton, CT 06484

E-mail para contato: vendas.analitica@perkinelmer.com

INTRODUÇÃO

Os laboratórios que monitoram pesticidas e herbicidas por cromatografia a gás / espectrometria de massas (GC / MS) usam frequentemente técnicas de registro de íon selecionado (SIR, também chamado de modo SIM) para maximizar as sensibilidades analíticas para sua quantificação. Isso acontece a expensas de informação qualitativa, fornecendo uma combinação espectral de referência definida. Quando são analisadas amostras do mundo real, contaminantes com íons semelhantes podem interferir com a quantificação de compostos alvo individuais, o que requer corridas adicionais com um GC com dupla coluna. Além disso, altas concentrações de pesticidas e herbicidas podem exceder às curvas de calibração para métodos de coluna dupla ou de SIR.

Este Relatório de Aplicação em Campo (FAR- Field Application Report) descreve um método SIFI (Íon Selecionado / Íon Total) que permite a quantificação de pesticidas e herbicidas em níveis baixos usando o modo SIR com razões de íons para confirmação, enquanto executando quantificação de concentrações mais altas usando simultaneamente o modo de varredura completa (Full Scan). Isso aumentará a produtividade do laboratório pela eliminação da necessidade de correr análises confirmatórias em GC's de duplo canal e dará uma faixa dinâmica maior que cobrirá concentrações em nível de traços (baixos ppb) até níveis altos de ppm.

As curvas de calibração para 40 pesticidas e herbicidas com um padrão interno foram obtidas correndo-se padrões preparados pela diluição em série, no Clarus 500 GC/MS no modo SIFI. Foram calculados MDLs (limites mínimos de detecção) para todos os compostos usando tanto o modo SIR como o modo de Full Scan. Foram, então, corridas amostras ambientais reais e comparadas para verificação da validade do método. As amostras ambientais foram corridas com e sem limpeza ('clean-up') de coluna, uma técnica empregada tipicamente para remover contaminantes que possam interferir com a análise e/ou quantificação.

METODOLOGIA

Foi utilizado para essa análise o Clarus 500 GC/MS da PerkinElmer, com injetor programável split/ splitless. Os parâmetros experimentais para o cromatógrafo estão mostrados na Tabela 1. Foram injetados volumes de amostras de 1,0 µL no injetor programável split/ splitless do Clarus 500 GC, utilizando um ('liner') Siltek de 1 mm de diâmetro interno. A temperatura do injetor foi ajustada a 275°C (isotérmica). A coluna capilar foi uma Elite-CLP para pesticidas, da PerkinElmer, com 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. (part no. N9316662). A temperatura do forno foi, inicialmente, ajustada a 80°C durante 0,75 min, então foi realizada uma rampa de

20°C /min até 145°C, depois até 240°C a 3°C/min e finalmente até 290°C a 35°C/min e mantida a 290°C por 2,9 min.

Os parâmetros do MS estão na Tabela 2. É importante notar que os modos de Full Scan e o modo SIR operam simultaneamente. O modo de varredura completa é contínuo durante toda a corrida cromatográfica, enquanto que os modos individuais SIR têm tempos de início e fim definidos. Os tempos reais de início e fim, para os modos SIR estão na Tabela 3 juntamente com os íons que foram varridos.

RESULTADOS

Vinte e cinco dos 40 pesticidas / herbicidas foram calibrados de 1 ppb (pg / µL) até 50 ppm (ng / µL) utilizando-se os modos SIR e Full Scan simultaneamente. Sete pesticidas foram calibrados a partir de 5 ppb, enquanto que outros cinco foram calibrados a partir de 10 ppb. Três dos pesticidas precisaram de padrões de 50 ppb para a calibração. Esses níveis variados e MDLs correspondentes são devidos ao grau de fragmentação que ocorre durante a ionização por impacto de elétrons (EI). As curvas de SIR foram usadas desde o padrão de mais baixo nível até 0,5 ppm. A calibração de Full Scan foi usada desde 0,1 ppm (para 33 dos 40 pesticidas / herbicidas – 0,5 ppm para os outros 7) até 50 ppm.

Tabela 1. Parâmetros do CG

Injetor	275°C isotérmico (liner) de 1 mm diam. int. Volume 1,0 µL Split desligado a -0,5 min., ligado a 0,5 min
Forno da Coluna	80°C durante 0,75 min 20°C/min até 145°C 3°C /min até 240°C 35°C /min até 290°C 290°C durante 2,9 minutos

Tabela 2. Parâmetros do MS (Espectrômetro de massas)

Temperaturas	Linha de transferência 275°C Fonte: 250°C
Modo de Full Scan	m/z 45 até m/z 400 Tempo de varredura: 0,20 seg Tempo entre varreduras: 0,01 seg
Modo SIR	3 a 7 íons por função SIR Dwell Time 0,04 seg Delay 0,01 seg

Os limites de detecção do método foram calculados como sendo três vezes o desvio padrão de sete replicatas. Usando os dados do SIR, os MDLs para os 25 pesticidas / herbicidas que foram detectados a 1 ppb foram calculados como sendo de 0,3 a 0,5 ppb. Os sete pesticidas calibrados a partir de 5 ppb mostraram MDLs de 2,0 a 2,4 ppb. Cinco pesticidas mostraram MDLs de 4,2 a 6,0 ppb e três pesticidas mostraram MDLs de 18 a 24 ppb. Usando-se os dados da Full Scan, os MDLs foram tipicamente de 30 a 60 ppb.

A Figura 1 mostra uma captura de tela dos resultados quantificados no ambiente interativo de revisão de dados do software do GC/MS Turbo Mass™. A janela superior esquerda mostra um sumário, por composto, dos padrões usados na calibração SIR. A janela superior direita mostra curva de calibração para o composto chloroneb. A janela inferior esquerda mostra um espectro bruto, com fundo subtraído, e um espectro de referência do composto. A janela inferior, do meio, mostra a integração do pico do analito e do padrão interno. Finalmente, a janela inferior direita mostra o ion-traço da quantificação e os íons qualificadores usados para

determinar se o pico satisfaz as razões de íons. Observe que as duas palavras 'Pass', na extrema direita, indicando que os íons qualificadores satisfazem as faixas necessárias.

Os coeficientes de correlação linear para todos os pesticidas / herbicidas para os dados do SIR ficaram entre 0,990 e 0,999. Para os dados da Full Scan, os coeficientes de correlação linear ficaram entre 0,997 e 0,999.

A fim de validar-se o método SIFI, foram corridas cinco amostras ambientais reais do ambiente e quantificadas usando-se as curvas de calibração construídas com a mistura de 40 analitos de pesticidas / herbicidas. Uma das amostras foi de gordura extraída. As outras quatro foram amostras de rações extraídas. Três das amostras de rações foram, além disso, submetidas a 'cleanup' para remoção de interferências, enquanto que as demais não sofreram 'cleanup'. Este processo das amostras de rações distribuiu os pesticidas em diferentes frações que precisam ser analisadas separadamente e somadas. Isso, por si só, cria três vezes mais trabalho analítico em comparação com a corrida da amostra que não é submetida a 'cleanup'. Observe a perda aparente de 'cypermethrin' usando os números do 'cleanup'. Além disso, a

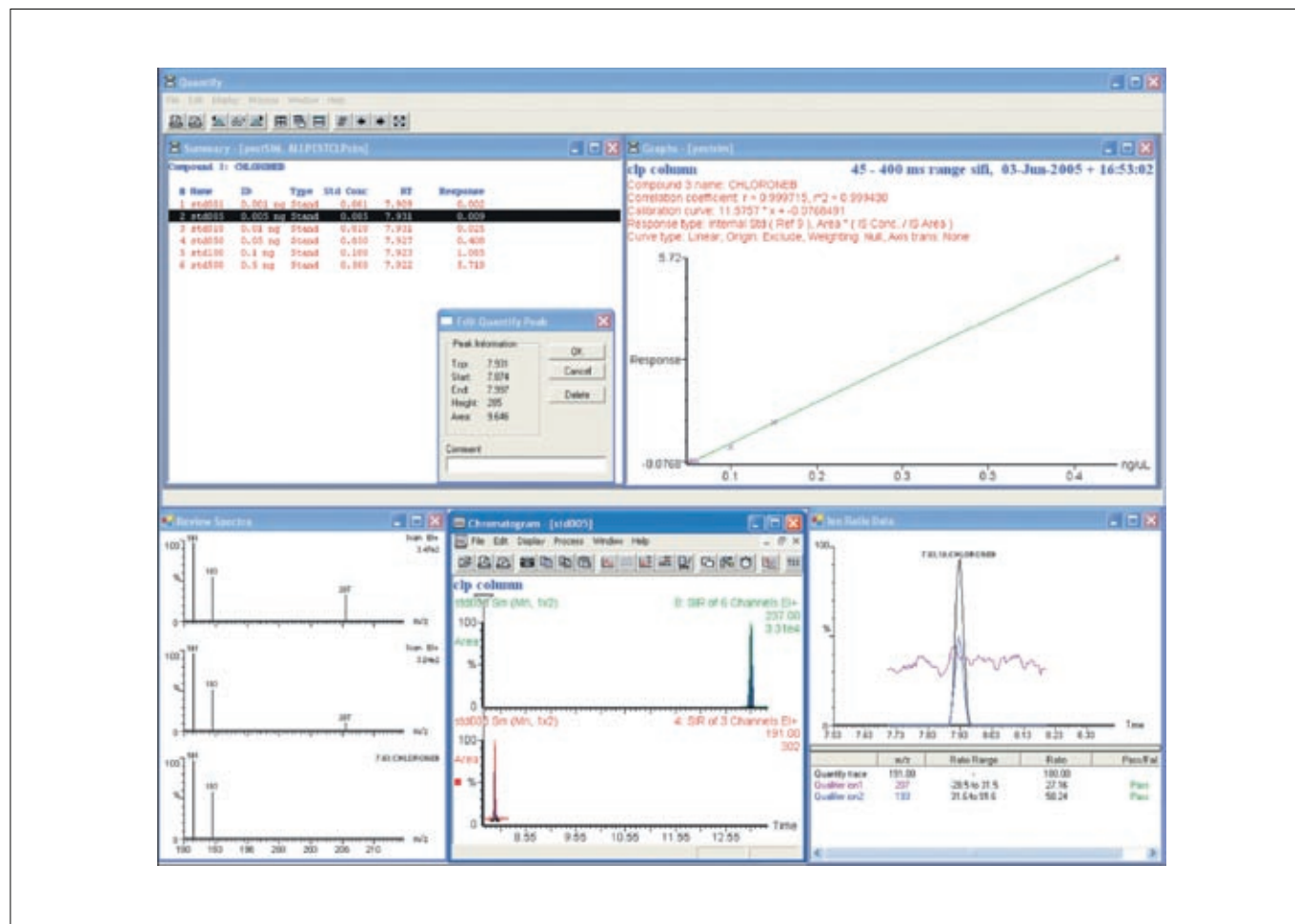


Figura 1. Exemplo de revisão de dados interativos com o software de operação TurboMass

Tabela 3. Condições no modo SIR

Número da função	Tempo inicial	Tempo final	Íons (Da)	Compostos
1	5.0	38.0	full scan (45-400)	full compound list
2	5.0	5.5	235, 237, 239	hexachlorocyclopentadiene
3	6.6	7.1	183, 185, 211	etridiazole
4	7.7	8.2	91, 193, 207	chloroneb
5	10.3	10.8	142, 284, 286	hexachlorobenzene
6	11.1	11.8	77, 120, 176, 181, 183, 219	alpha-lindane, propachlor
7	12.5	13.1	68, 173, 181, 183, 201, 219	gamma-lindane, simazine
8	12.9	13.4	58, 142, 173, 200, 237, 249	pentachloronitrobenzene (IS), atrazine
9	13.1	13.6	109, 181, 183	Beta-lindane
10	13.3	14.0	137, 153, 179,	199 diazinon
11	13.5	14.1	248, 264, 306	trifluralin
11	13.5	14.1	248, 264, 306	trifluralin
12	13.9	14.4	181, 183, 219	delta-lindane
13	14.8	15.5	57, 74, 100, 198, 272, 274	heptachlor, metribuzin
14	16.3	16.8	66, 101, 263	aldrin
15	16.7	17.2	264, 266, 268	chlorothalonil
16	17.2	17.7	76, 152, 312	dibromophenyl
17	17.7	18.2	45, 160, 188	alachlor
18	18.5	19.1	109, 125, 263	methyl parathion
19	19.5	20.2	81, 162, 163, 238, 353, 355	heptachlor epoxide, metalochlor
20	19.8	20.3	299, 301, 303	DCPA
21	20.2	21.4	373, 375, 377	gamma-chlordane, alpha-chlordane
22	21.4	22.1	68, 170, 207, 212, 225, 241	endosulfan I, cyanazine
23	21.8	22.3	246, 248, 318	p,p-DDE
24	22.8	23.3	79, 108, 263	dieldrin
25	23.9	24.4	67, 81, 263	endrin
26	25.0	25.6	162, 195, 207, 235, 237, 241	p,p-DDD, endosulfan II
27	25.3	25.8	111, 139, 251	chlorobenzilate
28	26.5	27.0	165, 235, 237	p,p-DDT
29	27.5	28	67, 250, 345	endrin aldehyde
30	29.6	30.3	212, 227, 228, 272, 274, 387	methoxychlor, endosulfan sulfate
31	34.8	36.1	163, 165, 183	cis-permethrin, trans-permethrin
32	37.4	38.0	163, 165, 181	cypermethrin

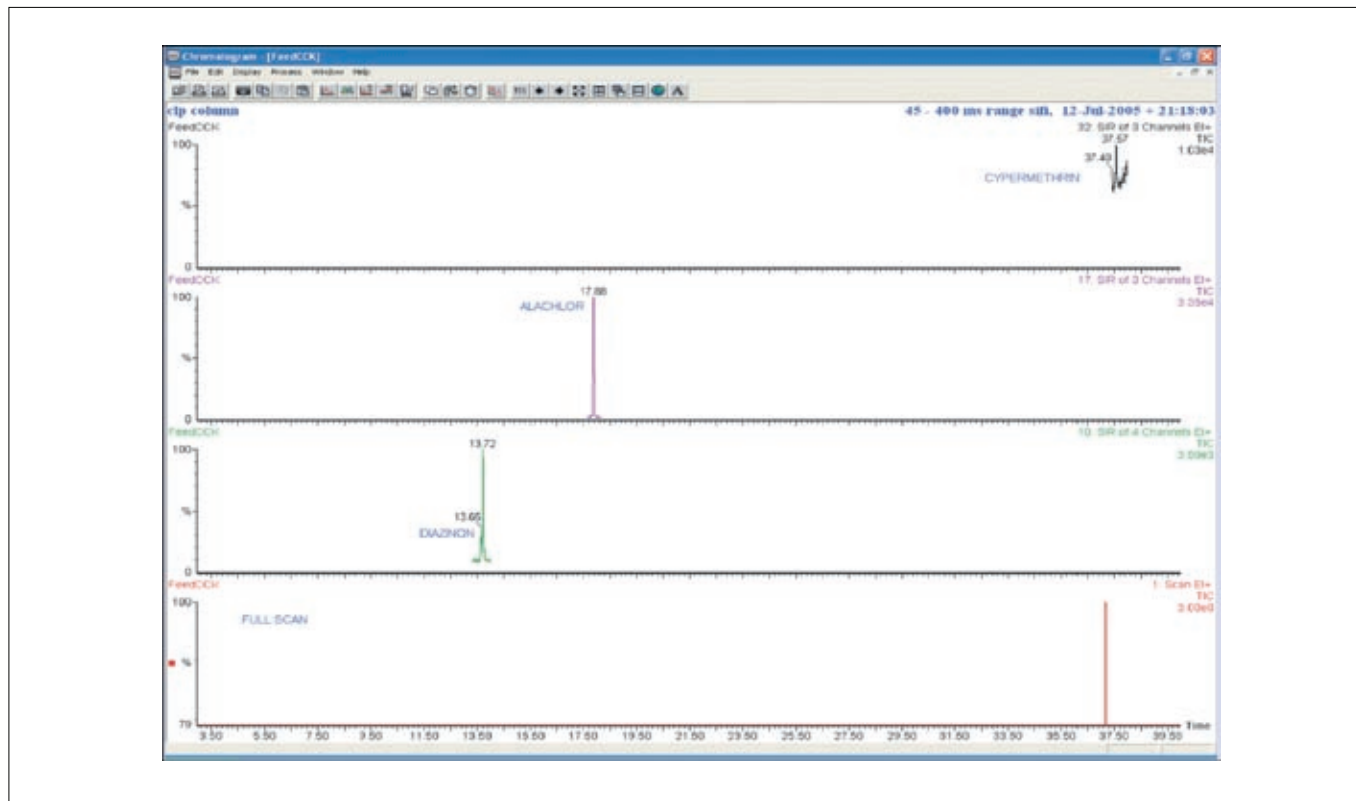


Figura 2. Cromatogramas no modo SIR, mostrando picos de diazinon, alachlor e cypermethrin de uma amostra após 'cleanup'

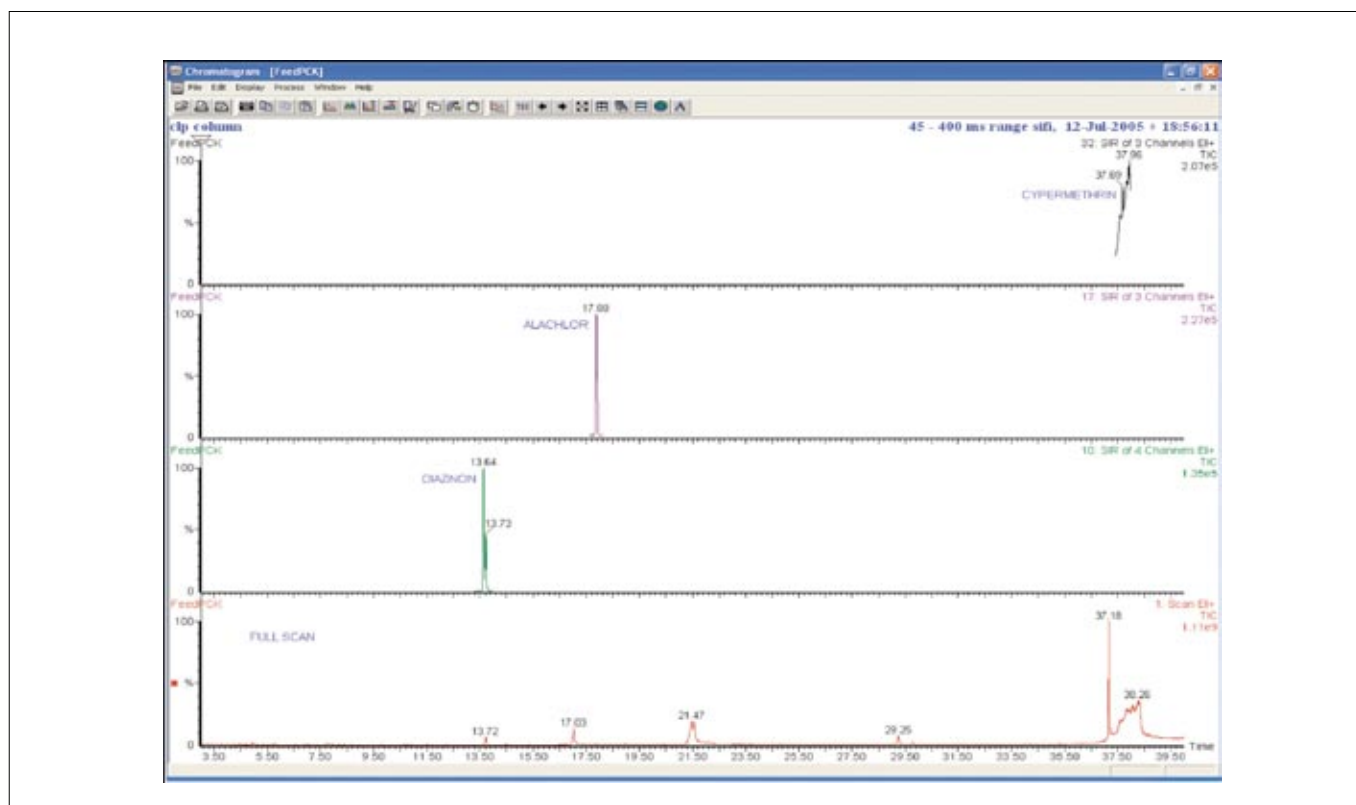


Figura 3. Cromatogramas no modo SIR mostrando picos de diazinon, alachlor e cypermethrin de uma amostra sem 'cleanup'

comparação de uma amostra com cleanup e outra sem cleanup (Figuras 2 e 3, respectivamente) mostra uma grande diferença quanto ao pico do diazinon. A amostra que sofreu o 'cleanup' mostra uma interferência dominante adjacente ao pico do diazinon (e que tem os mesmos íons que o SIR para o diazinon). Isso poderia ter influenciado grandemente os resultados caso a resolução cromatográfica tivesse sido menor. Sem o 'cleanup', o pico do diazinon torna-se dominante. Não se pode ignorar o potencial para resultados errôneos por causa do 'cleanup' (que é executado para diretamente minimizar esse fenômeno).

CONCLUSÕES

Demonstra-se um método de aquisição de dados, que permite ao usuário quantificar de 1 ppb a 50 ppm num único conjunto de 40 padrões de pesticidas e herbicidas numa só corrida. Usa-se o método SIFI TurboMass de aquisição de dados simultâneo de SIR e de Full Scan. Os coeficientes de correlação linear ficaram acima de 0,990 para o trecho SIR da curva de calibração e acima de 0,997 para o trecho correspondente ao Full Scan da curva de calibração. Verificou-se que os MDLs foram uma função do grau de fragmentação de

cada composto. Para pesticidas com fragmentação limitada, os MDLs mostraram valores tão baixos quanto 0,3 ppb no modo SIR e 30 ppb no modo de Full Scan. Cinco amostras ambientais reais para teste foram corridas com essa curva de calibração para avaliação da qualidade dos dados. Os resultados ficaram geralmente dentro de 10% dos valores esperados.

AGRADECIMENTOS

À Sherry Garris do Departamento de Agricultura da Carolina do Sul (SCDA) por lhe ter fornecido amostras ambientais reais de gordura e rações, para o presente estudo. O SCDA efetuou o 'cleanup' e extração necessários das amostras antes das análises por GC /MS.

Nota: Os dados apresentados nesse Relatório de Aplicação no Campo não são garantidos. O desempenho e resultados reais dependem da metodologia exata usada e das condições de laboratório. Os dados só devem ser usados para demonstrar a aplicabilidade de um instrumento para uma dada análise e não pretendem servir como garantia de desempenho.

*Relatório de aplicação em campo cromatografia a gás / espectrometria de massas**