

I-1181 - AVALIAÇÃO COMPARATIVA ENTRE OS MODOS DE AQUISIÇÃO SIM E MS/MS POR DETECTOR ÍON TRAP PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

Denilson Gonçalves Queiroz⁽¹⁾

Técnico em Agroindústria pela Escola Profissionalizante Darcy Ribeiro. Tecnólogo em Gestão da Qualidade pela Universidade Leonardo da Vinci (Uniasselvi/SC). Colaborador do Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará.

Wagner de Andrade Carolino⁽²⁾

Graduado em Química pela Universidade Federal do Ceará

Mairlane Silva de Alencar⁽³⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal do Ceará

Cleidiane Gomes Lima⁽⁴⁾

Tecnóloga de Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará | Campus Limoeiro do Norte-CE

Cisiana de Andrade Nobre⁽⁵⁾

Mestre em Química Analítica pela Universidade Federal do Ceará

Endereço⁽¹⁾: Rua Professor Rômulo Proença, Pici, CEP 60440552, Fortaleza-CE, Brasil – Contato: (85) 9 8740-8113 / (85) 3101-2756, e-mail: denilson.queiroz@nutec.ce.gov.br

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo avaliar comparativamente os resultados no modo de aquisição no SIM (Monitoramento Seleccionado de Íons) e no modo SIM/MS/MS (segunda fragmentação) utilizando um cromatógrafo gasoso hifenado ao espectrômetro de massas utilizando um analisador do tipo “Ion Trap”. A técnica utilizada buscou identificar e quantificar 14 princípios ativos (agrotóxicos) em amostras de água, aplicando a Microextração em Fase Sólida (SPME) como técnica de extração. A avaliação comparativa manifesta que o analisador de massa íon trap confere maior seletividade e melhor resolução à análise cromatográfica, promovendo dados mais livres de interferentes. A amostra base foi submetida a análise por meio de fortificação com os 14 agrotóxicos. Destacou-se o modo de aquisição MS/MS com resultados com maior exatidão, bem como expressivo aumento da resolução dos picos e cromatogramas com menos ruídos.

PALAVRAS-CHAVE: Cromatografia gasosa, íon trap, agrotóxico.

INTRODUÇÃO

A análise na água é de suma importância para determinar riscos ao meio ambiente e qualidade de vida de uma população, dentre as diversas análises físico-químicas, podemos destacar a análise de contaminantes orgânicos (agrotóxicos), que podem causar danos ao meio ambiente e corpo humano (CAROLINO, 2018).

A contaminação com os agrotóxicos de alguma forma, podem impactar na perda de recursos naturais, como a água. Em razão disto a presença de pesticidas em todos estes corpos hídricos é que, após a aplicação em campos agrícolas, os pesticidas podem ser transportados por escoamento para águas superficiais, através do processo de lixiviação, onde esses constituintes químicos podem ser levados pela água através do solo para as águas subterrâneas. Além disso, os agrotóxicos podem ser carregados pelas águas fluviais por longas distâncias, causando contaminação na fauna e na flora (MARQUES et al., 2019; CASADO, SANTILLO e JOHNSTON, 2018).

O efeito tóxico dos pesticidas varia de acordo com o grupo químico. Os organoclorados, são apontados por causarem efeitos tais como o câncer, danos ao sangue, rim e fígado. Além disso, atuam sobre o sistema nervoso central, e estudos apontam evidências que demonstram a associação positiva entre a exposição de recém-nascidos a organoclorados e distúrbios do desenvolvimento neurológico, incluindo desenvolvimento

psicomotor prejudicado, perda de memória, ansiedade e autismo. (SARAVI e DEHPOUR, 2016; MOAWED e RADWAN, 2017).

Nessa avaliação foi abordado dois modos de detecção para determinação de agrotóxicos em água, através dos modos de aquisição SIM e MS/MS utilizando o analisador íon trap. Na etapa de preparo de amostra foi empregada a técnica de Microextração em Fase sólida (SPME) para a extração dos analitos na amostra. Para o comparativo e amostragem da análise de água por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

Os analisadores íon trap possuem design simples, custo equilibrado, possuem alta velocidade de varredura de razão m/z para as aplicações de CG/EM. Os espectros de massa gerados em espectrômetros equipados com analisador (íon trap) possuem frequentemente certas diferenças de perfil quando comparados aos obtidos com quadrupolo, tendo em vista que no íon trap os íons podem sofrer dissociações devido a colisões íon/molecular no interior do sistema (MCNAIR; MILLER, 1997).

OBJETIVOS GERAL

Realizar o comparativo modos de aquisição de dados SIM e MS/MS através de um detector íon trap para identificação de agrotóxicos em amostra de água utilizando Microextração em Fase Sólida (SPME).

METODOLOGIA UTILIZADA

As análises foram realizadas no Laboratório de Química Instrumental – LQI, localizado no NUTEC – Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará.

Para a extração dos analitos da amostra foi utilizado a técnica de Microextração em fase sólida (SPME), onde utiliza-se uma fibra que fica em contato direto com a amostra. A exposição da fibra na amostra, tende-se a estabelecer um equilíbrio dos analitos entre a matriz da amostra e a fibra exposta. Os analitos sorvidos na fibra são posteriormente dessorvidos termicamente no interior do sistema injetor de um cromatógrafo gasoso (SKOOG et. al, 2006). A fibra fica protegida no interior de uma agulha só sendo exposta pela movimentação do êmbolo, em um instrumento chamado holder. Os analitos a serem extraídos ficam confinados em um recipiente chamado vial (tubo de vidro rosqueado), cuja tampa possui um septo de silicone, onde é perfurado pela agulha do holder, expondo assim, a fibra de poliacrilato (PA). Os analitos são concentrados no revestimento polimérico da fibra (fase estacionaria) através de um equilíbrio de partição. Após um determinado tempo a fibra é retraída e a agulha retirada do vial. Em seguida, a agulha é inserida no injetor do cromatógrafo a gás e sua fibra é exposta novamente, onde os analitos serão dessorvidos em razão da alta temperatura sendo conduzidos pelo gás de arraste até a coluna cromatográfica a figura 1 a seguir ilustra o procedimento supracitado.

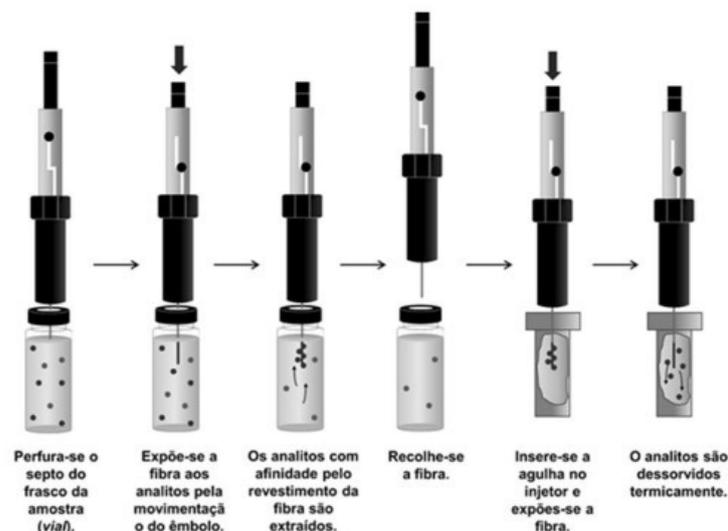


Figura 1: Etapas de extração (SPME).
(Fonte: NASCIMENTO, sd)

Como a SPME não utiliza solventes, há uma grande redução na geração de resíduos e materiais ocupacionais. É uma técnica simples, de fácil manuseio em relação a outras técnicas, e possui a vantagem da utilização de pequena quantidade de amostra, podendo ser aplicada a diversas áreas, tais como ambiental, farmacêutica, alimentícia, aromas, forense e toxicologia (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

Na tabela 1 estão dispostos os 14 agrotóxicos analisados, o valor máximo permitido (VMP) segundo a Portaria GM/MS nº e também seus respectivos grupos químicos.

Tabela 1: Agrotóxicos utilizados no estudo e características.

AGROTÓXICOS ESTUDADOS	VMP EM ÁGUA (µl/L)	GRUPO
ALDRIN + DIELDRIN	0,03	Organoclorado
ATRAZINA	2	Triazina
CLORDANO	0,2	Organoclorado
CLORPIRIFÓS	30	Organofosforado
DDD + DDE +DDT	1	Organoclorado
MOLINATO	6	Tiocarbamato
PARATIONA METÍLICA	-	Organofosforado
PENDIMENTALINA	-	Dinitroanilina
PERMETRINA	-	Piretróide
TERBUFÓS	-	Organofosforado
TRIFLURALINA		Dinitroanilina

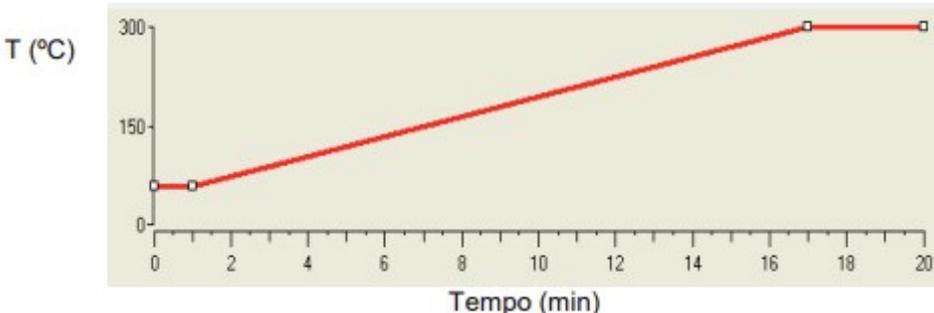
(Fonte: PORTARIA GM/MS Nº 888, 2021.)

Para toda e qualquer análise físico-química é necessária a procedência dos materiais, métodos e insumos adequados para garantir a eficácia e eficiência da amostra analisada. Foi utilizado na etapa de instrumentação: Sistema de purificação de água Milli-Q Direct UV3®, Millipore (EUA); para obtenção de água ultra pura, Coluna cromatográfica capilar OV-5 Bonded, 5%-fenil-95%-polidimetilsiloxano, com as dimensões de 30 m x 0,25 mm d.i. (diâmetro interno) e 0,25 µm de espessura de filme da fase estacionária; Cromatógrafo a Gás com detector Íon Trap, modelo ITQ 1100 - Thermo Fisher Scientific (EUA); Acetona e Metanol grau HPLC/UV-Vis (Vetec); Gás hélio (99,9999%) usado como gás de arraste; Micropipetador de 2-20µL, modelo Labmate (HTL); Micropipetador de 100-1000µL (EPPENDORF); Padrões de Agrotóxicos: trifluralina, atrazina, terbufós, parationa metílica, alacloro, aldrin, clorpirifós, metolacoloro, pendimentalina, clordano, DDE, dieldrin, DDD, DDT, cis-permetrina, trans-permetrina com pureza acima de 98% (Sigma ou Dr. Ehrenstorfer-GmbH); Vials de 40 mL com tampa de polipropileno e septo de PTFE/Silicone (Supelco); Vial de 2,0mL (Thermo); Fibra de Poliacrilato (PA); Chapa aquecedora com agitação.

Na Tabela 2 estão listadas as condições cromatográficas utilizadas no estudo para os modos de aquisição SIM e MS/MS.

Tabela 2: Condições cromatográficas

Temperatura do injetor	260°C
Modo de injeção	Splitless
Gás de arraste	hélio 5.0 (99,999%)
Tempo de purga	3 min
Fluxo de purga	50 mL/min
Temperatura da fonte de íons	260°C
Modo de controle de fluxo	Velocidade linear
Fluxo total	1,2 ml/min
Programação de temperatura	Temperatura inicial de 60°C permanecendo por 1,0 min, em seguida na rampa a temperatura sobe a uma taxa de 15°C/min até 300°C, permanecendo nesta temperatura por 3,0 min.



(Fonte: Carolino, 2018)

ANÁLISE POR SPME

Foram utilizados tubos de polipropileno com tampa rosqueada de capacidade de 40mL para preparar as soluções padrões do mix contendo 14 agrotóxicos. As extrações foram executadas utilizando uma fibra de Poliacrilato (PA), com espessura de filme: 85 µm; tempo de exposição da fibra à amostra: 20 min; sob agitação constante realizada por uma barra magnética e com a amostra mantida a temperatura de 65°C em chapa aquecedora.

ANÁLISE NA AMOSTRA REAL

Foi coletada uma amostra de água em um poço profundo situado em uma residência localizada no bairro Parque Rio Branco/Fortaleza-CE. Foram retiradas alíquotas de 35 mL da amostra e acondicionadas em vials. Adicionaram-se os padrões dos agrotóxicos em estudo às alíquotas, formando então, soluções fortificadas. Em seguida as soluções fortificadas foram submetidas a extrações por SPME e análises no CG-ITQ nos modos de aquisição SIM e MS/MS.

RESULTADOS OBTIDOS OU ESPERADOS

O modo MSn (íon trap), também conhecido como MS/MS, oferece vantagens sobre o modo SIM em relação a seletividade e detectabilidade. No modo MSn obtêm-se maior seletividade que o modo SIM, pois permanecem no trap apenas o fragmento (íon precursor) selecionado para refragmentação, seguindo para o detector apenas os íons produto. Dessa maneira, o modo MS/MS é uma ferramenta muito útil na análise de matrizes complexas, que podem possuir outras moléculas que eluem no mesmo tempo de retenção do analito, que no modo SIM chegariam juntamente com os analitos ao detector, podendo ocasionar erros na identificação e quantificação do analito.

Além disso, o modo íon trap muitas vezes apresenta ganhos em sensibilidade em relação ao modo SIM, devido a fatores como a obtenção de maior relação sinal/ruído e menor interferência de outros componentes da amostra.

Os espectros de massa referentes a cada analito foram analisados para verificação do íon de maior intensidade (íon base), que foi selecionado para ser refragmentado. No modo MS/MS de análise, os fragmentos (íons produto) originados a partir do íon precursor são formados a partir da colisão que induz a dissociação das moléculas (CID – collision induced dissociation). A distribuição de m/z dos íons resultantes do processo CID depende das características do íon precursor e da quantidade de energia cinética translacional que será convertida em energia vibracional interna. A energia cinética translacional do íon precursor pode ser aumentada utilizando-se dois modos de excitação: ressonante e não-ressonante. O modo não-ressonante (0 a 100V) é resultado da interação da espécie iônica com um campo elétrico que aumenta a energia potencial do íon, aumentando sua energia translacional.

Uma porção da energia cinética é convertida em energia translacional ao sofrer colisões no trap. No modo ressonante (0 a 1V) um campo elétrico oscilante aplicado é orientado ao longo do eixo axial do trap, dando origem a uma componente axial de movimento no íon que é ressonantemente excitada, causando aumento da energia interna do íon.

Na tabela 3, estão listados os fragmentos dos agrotóxicos utilizados para configuração do modo SIM, e na tabela 4 estão os parâmetros de configuração MS/MS para a análise dos agrotóxicos.

Tabela 3: Fragmentos dos agrotóxicos utilizados para configuração do modo SIM.

Agrotóxico	T_R	Fragmentos			
Molinato	10,24	126	55	187	83
Trifluralina	11,27	264	306		290
Atrazina	11,87	200	215		
Terbufós	12,10	231	233		
Parationa Metílica	12,94	263	125	109	
Clorpirifós	13,58	199	197	97	314
Aldrin	13,62	66	263	79	
Pendimentalina	14,02	252	191	162	281
Clordano I	14,45	373	375	371	
Clordano II	14,64	373	375	371	
DDE	14,83	246	318	248	
Dieldrin	14,95	263	81	277	
DDD	15,38	235	237	165	
DDT	15,86	235	237	165	
Permetrina cis	17,65	183	165	184	
Permetrina trans	17,65	183	165	184	

(Fonte: Carolino, 2018)

Tabela 4: Parâmetros de configuração MS/MS para a análise dos agrotóxicos.

Agrotóxico	T _R	Íon Precursor (m/z)	Margem	Energia de colisão (volts)	Energia Max. De excitação (q)	Faixa (m/z)	Íon produto (m/z)	Íon quantificação
Molinato	10,24	126	2	3,00	0,3	45-136	98	83,108,70
Trifluralina	11,27	264	2	1,13	0,225	150-274	206	188,160,171
Atrazina	11,87	200	6	4,00	0,225	84-210	122	94,105,104
Terbufos	12,10	231	6	1,07	0,225	133-209	175	203,185,157
Parationa metílica	12,94	263	4	1,13	0,225	131-300	246	153,216
Aldrin	13,62	66	1	1,13	0,225	217-273	193	191,228,227,225
Clorpirifós	13,58	199	1	1,13	0,225	99-200	171	136,134
Pendimentalina	14,02	252	3	1,12	0,225	100-262	162	180,206
Clordano I	14,45	375	4	1,22	0,225	254-383	264	266,301,299
Clordano II	14,64	162	4	1,22	0,225	256-385	264	266,301,299
DDE	14,83	246	1	1,11	0,225	123-250	176	210,211,177
Dieldrin	14,95	277	1	1,11	0,225	197-287	193	191,228,227
DDD	15,38	235	1	1,13	0,225	117-250	165	199,200
DDT	15,86	235	2	1,23	0,225	156-245	165	199,200,166
Permetrina cis	17,65	183	3	1,06	0,225	143-193	168	165,153,155
Permetrina trans	17,65	183	3	1,06	0,225	143-193	168	165,153,152

(Fonte: Carolino, 2018)

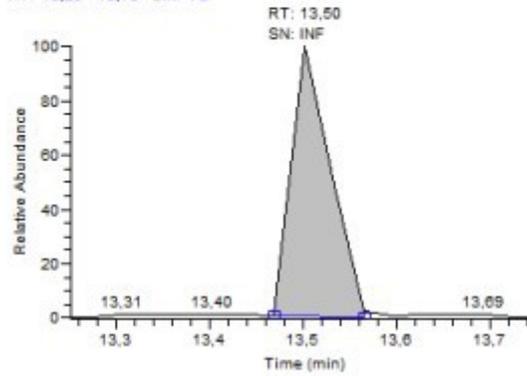
De acordo com a Figura 2 foi possível visualizar que o modo de aquisição de dados MSn apresenta ganhos significativos de resolução e diminuição do ruído em relação ao modo SIM. É perceptível picos mais estreitos que identificam melhor os agrotóxicos em estudo, pois os diferenciam de possíveis interferentes ou outros analitos que eluem com tempos de retenção semelhante. Portanto, através desses parâmetros otimizados foi possível obter um cromatograma mais “limpo” e uma análise qualitativa mais eficiente.

SIM

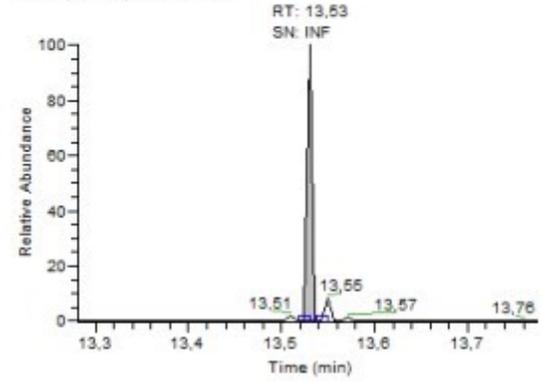
MS/MS

Aldrin

RT: 13,25 - 13,75 SM: 1G

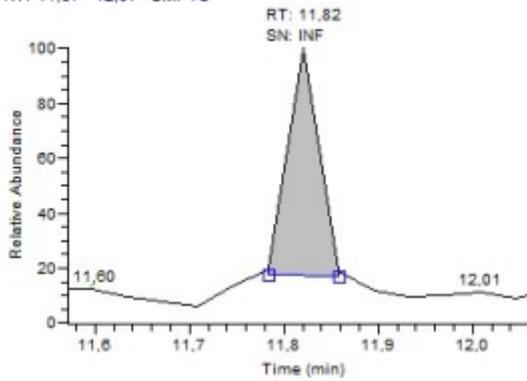


RT: 13,28 - 13,78 SM: 1G

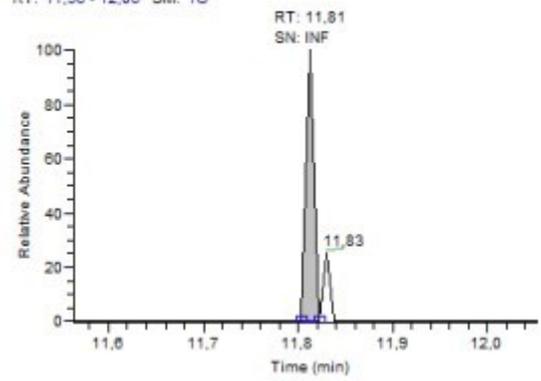


Atrazina

RT: 11,57 - 12,07 SM: 1G

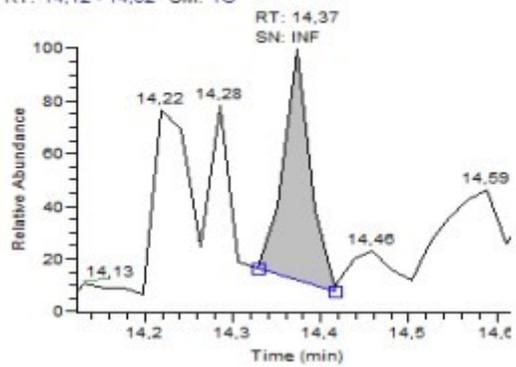


RT: 11,56 - 12,06 SM: 1G

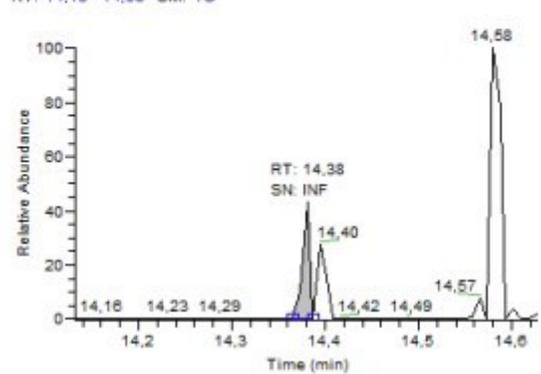


Clordano

RT: 14,12 - 14,62 SM: 1G

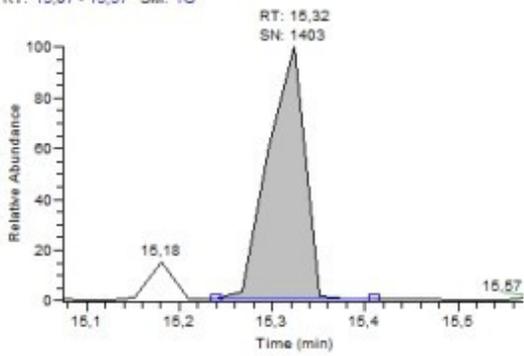


RT: 14,13 - 14,63 SM: 1G

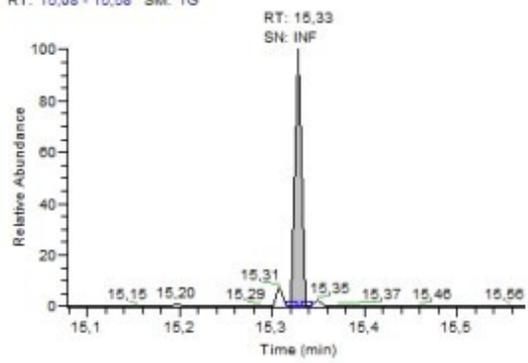


DDD

RT: 15,07 - 15,57 SM: 1G

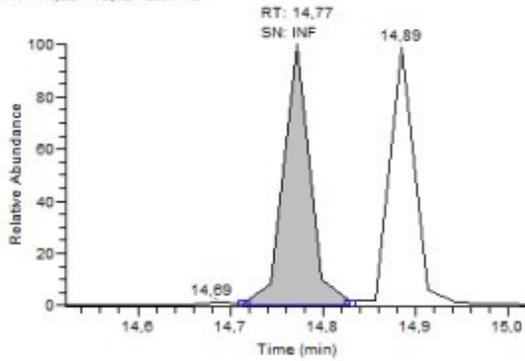


RT: 15,08 - 15,58 SM: 1G

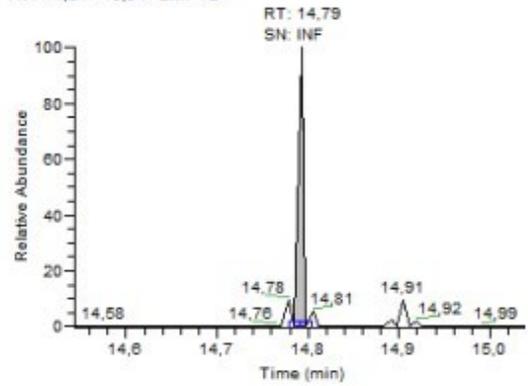


DDE

RT: 14,52 - 15,02 SM: 1G

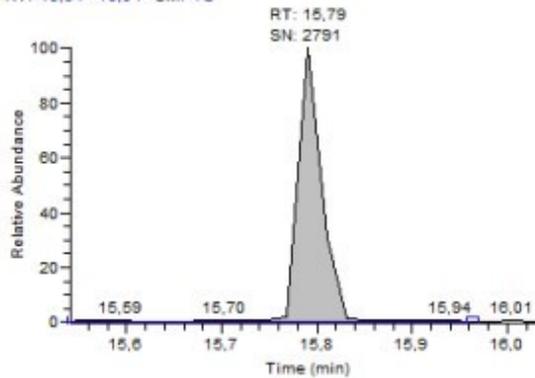


RT: 14,54 - 15,04 SM: 1G

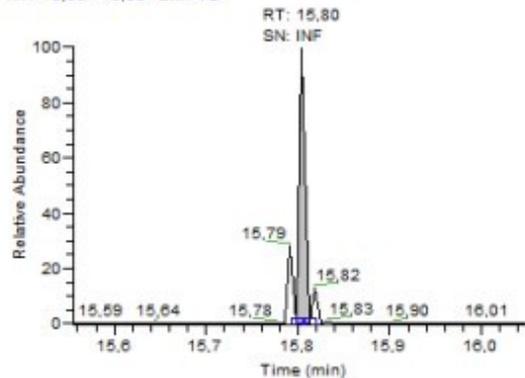


DDT

RT: 15,54 - 16,04 SM: 1G

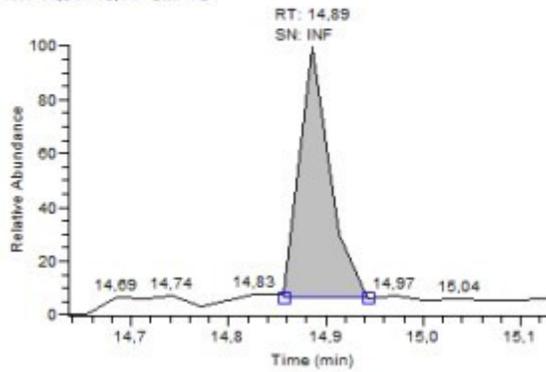


RT: 15,55 - 16,05 SM: 1G

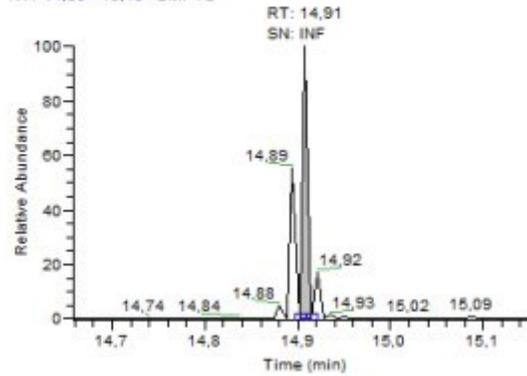


Dieldrin

RT: 14,64 - 15,14 SM: 1G

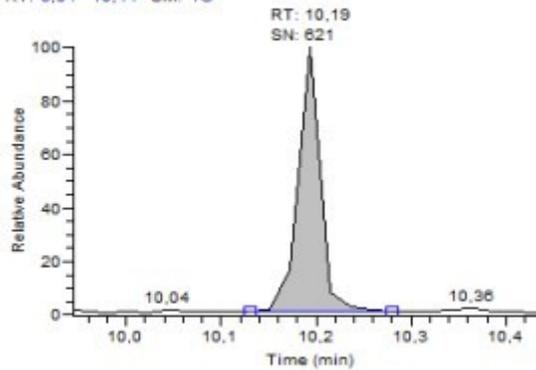


RT: 14,66 - 15,16 SM: 1G

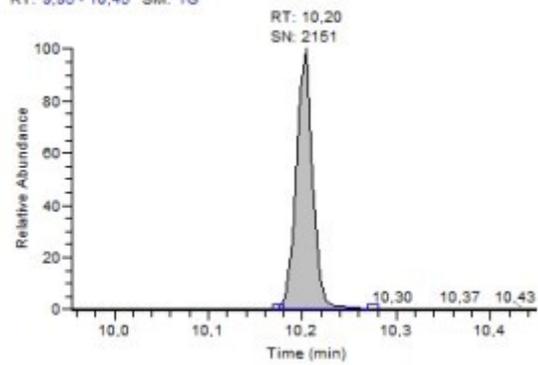


Molinate

RT: 9,94 - 10,44 SM: 1G

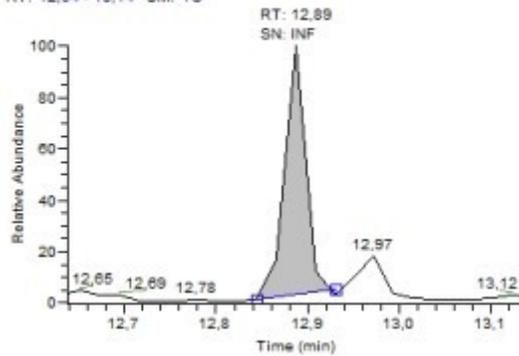


RT: 9,95 - 10,45 SM: 1G

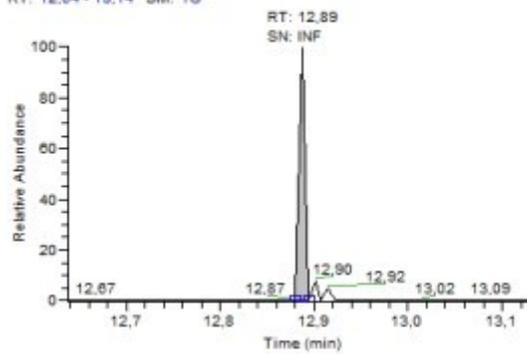


Parationa-metilica

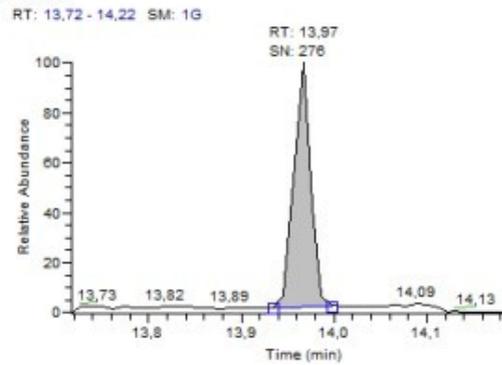
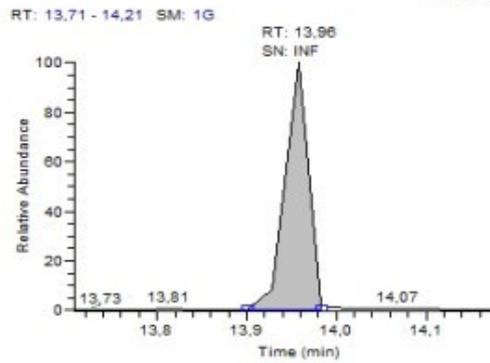
RT: 12,64 - 13,14 SM: 1G



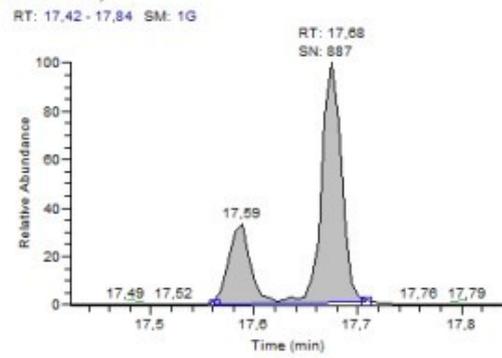
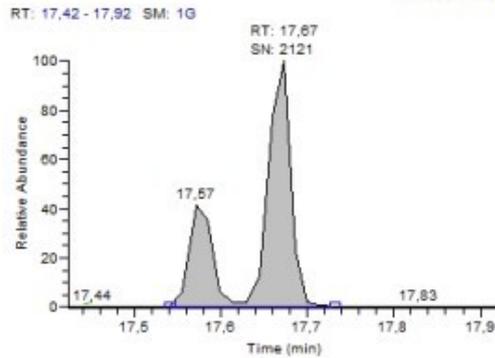
RT: 12,64 - 13,14 SM: 1G



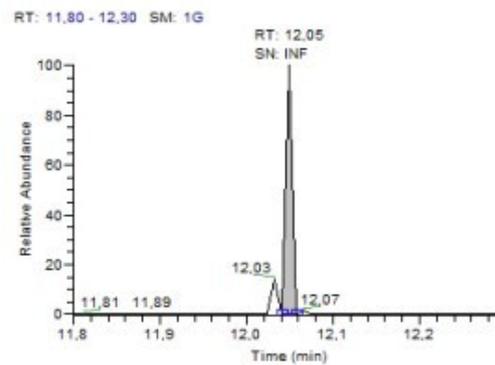
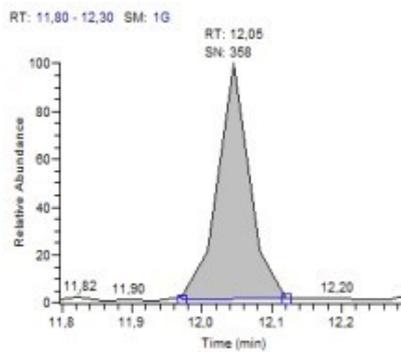
Pendimentalina



Permetrina (cis+trans)



Terbufós



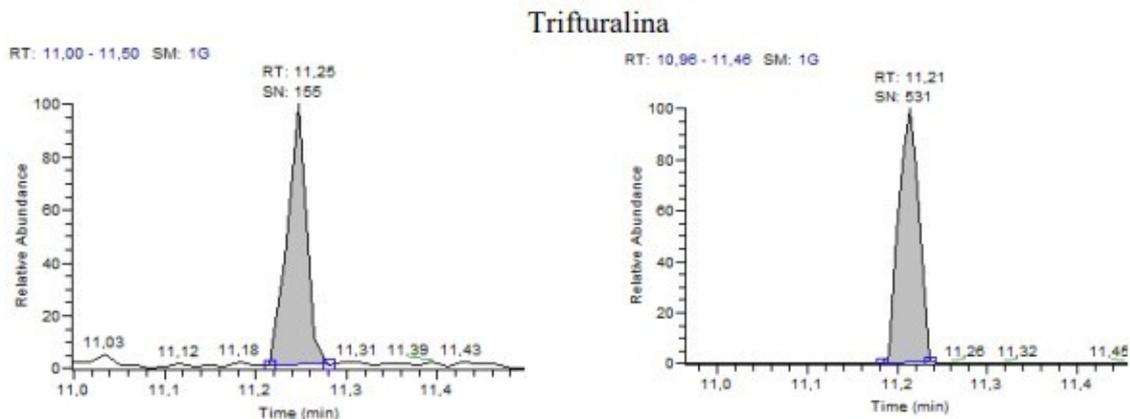


Figura 2: Cromatogramas no modo SIM e MS/MS para os 14 agrotóxicos utilizados neste estudo. (Fonte: Carolino, 2018)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 3 estão as curvas de calibração obtidas para os agrotóxicos em água ultra nos modos de aquisição SIM e MS/MS. Ao fazer o estudo comparativo entre os modos de aquisição de dados SIM e MS-MS observou-se que somente os agrotóxicos Terbufós e Trifluralina apresentaram ganho de sensibilidade no modo MS considerando como critério a inclinação da reta (coeficiente angular). Porém, a maior sensibilidade do modo MS-MS é evidenciada em todos os outros agrotóxicos em estudo quando considerado picos com melhor relação sinal/ruído e cromatogramas mais livre de interferentes.

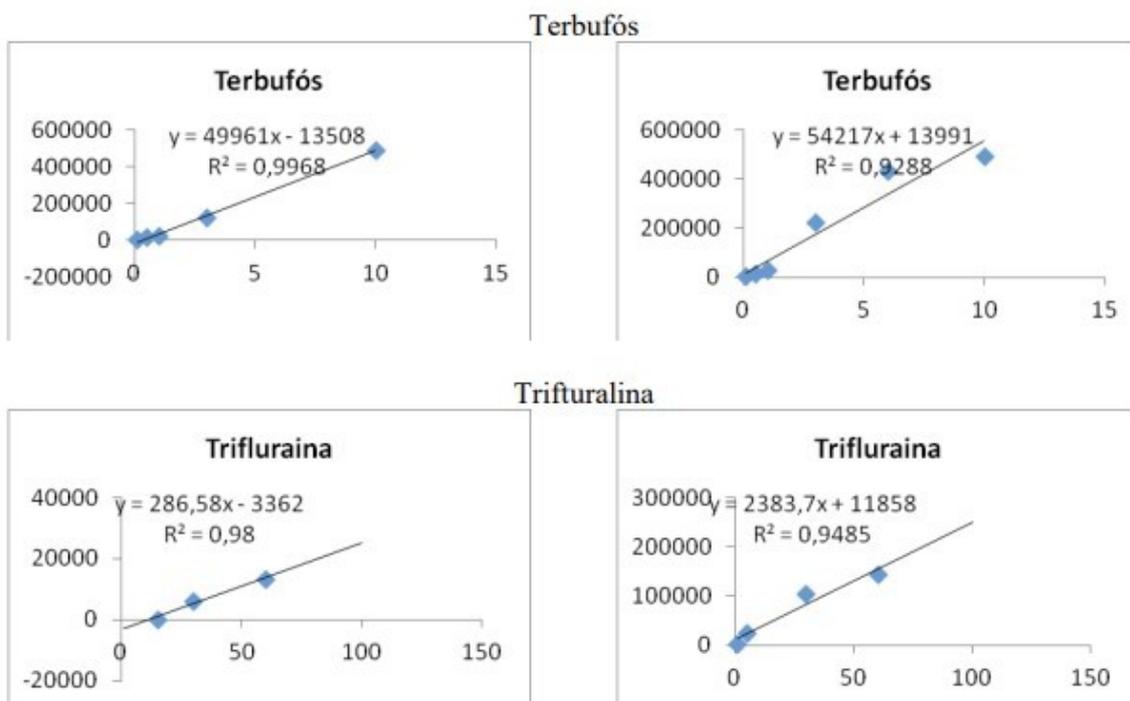


FIGURA 3: Modos de aquisição (lado esquerdo representa o modo SIM e o lado direito dos gráficos representa o modo MS/MS para Terbufós e Trifluralina. (Fonte: Carolino, 2018)

CONCLUSÃO

Os cromatogramas adquiridos pelo modo MS/MS apresentaram melhor relação sinal/ruído em comparação ao modo SIM, além de melhor resolução.

A amostra de água do poço fortificada com soluções padrão de agrotóxicos apresentou uma análise quantitativa e qualitativa mais eficiente usando o modo MS-MS, evidenciando um cromatograma com melhor seletividade e com menor interferência (ruídos) para este detector em relação ao modo SIM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR ISO/IEC 17025. Rio de Janeiro, 2005a. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/eventos-cgcre/13-14-15Workshop/00-DOQ-CGCRE-087_rev_00_-_Orientacoes_gerais_sobre_os_requisitos_da_ABNT_NBR_ISO_IEC_17025_2017.pdf Acesso: 05 de março de 2023.
2. CAROLINO, Wagner de Andrade. **Estudo comparativo entre modos de aquisição SIM e MS/MS por detector ion trap para determinação de agrotóxicos em água.** . 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Bacharelado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/39114> Acesso: 05 de Março de 2023.
3. CASADO, D.; SANTILLO, J.; JOHNSTON, P. Multi-residue analysis of pesticides in surface water by liquid chromatography quadrupole-Orbitrap high resolution tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, United Kingdom, v. 1024, p. 1-17, set. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29776535/> Acesso: 05 de Março de 2023.
4. MARQUES, J.G.C.; LYRA, M.R.C.C.; CARVALHO, R.M.C.M.O.; NASCIMENTO, R.M.; SILVA, J.A.A.; MONTENEGRO, S.M.G.L. **Comparação entre índices de potencial de lixiviação para agrotóxicos utilizados na Sub-Bacia do Natuba, Vitória de Santo Antão Pernambuco.** *Águas Subterrâneas*, v. 33, n.1, p. 58-67, 2019. Disponível em: <https://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2020/VIII-008.pdf> Acesso: 07 de Março de 2023
5. MCNAIR, H. M.; MILLER, J. M. *Basic gas chromatography*, New York: John Wiley & Sons, 1998. Disponível em: <http://old.scielo.br/scielo> Acesso: 06 de Março de 2023.
6. MOAWED, E.A.; RADWAN, A.M. **Application of acid modified polyurethane foam surface for detection and removing of organochlorine pesticides from wastewater.** *Journal of Chromatography B*, Egypt, v. 1044-1045, p. 95-102, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28088046/> Acesso: 06 de Março de 2023
7. NASCIMENTO, R. F.; LIMA, A. C. A.; BARBOSA, P. G. A., SILVA, V. P. A.; **Cromatografia Gasosa: aspectos teóricos e práticos.** Fortaleza: Imprensa Universitária. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/39260> Acesso: 10 de Março de 2023.
8. PORTARIA GM/MS Nº 888, DE 4 DE MAIO DE 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562> Acesso: 06 de Março de 2023.
9. RIBANI, M. et al. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** *Química Nova*. v.27, p.771-780, n.5, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/bq5SjVnnKptZkf8NnK6kqRc/?lang=pt> Acesso: 06 de março de 2023.
10. SARAVI, S.S.S.; DEHPOUR, A.R. Potential role of organochlorine pesticides in the pathogenesis of neurodevelopmental, neurodegenerative, and neurobehavioral disorders- A review. *Life Sciences*, Iran, v. 145, p. 255-264, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26549647/> Acesso: 06 de Março de 2023.
11. SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, *Fundamentos de Química Analítica*, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006. Disponível em: https://www.inesul.edu.br/site/documentos/QUIMICA_ANALITICA_SKOOG.pdf Acesso: 07 de Março
12. VALENTE, A. L. P.; A., F. *Microextração em fases sólida.* *Química Nova*, São Paulo, v. 23, n.4, p. 523-530, 2000. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/RMwM7kMXGtcvdrMPjcvTR4q/?format=pdf&lang=pt> Acesso: 15 de Março de 2023.