

DIFERENTES TÉCNICAS DE VARREDURA DE ÍONS NO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS APLICADAS À ANÁLISE DE ORGANOCLORADOS VIA GC/MS

Priscila O. Amaral ¹, Justine P. R. Oliveira, José Oscar V. Bustillos

1- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP
prii.amaral@hotmail.com

RESUMO

Atualmente, a técnica híbrida cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) é um método de grande utilidade para a identificação e quantificação de compostos químicos. Esta técnica analisa compostos de diferentes níveis de concentração, de μg a pg . O objetivo do presente trabalho é explorar diferentes técnicas de varredura de íons no espectrômetro de massas aplicadas a análise de organoclorados via GC/MS. A metodologia de análises de organoclorados via GC/MS, leva em consideração os modos de varredura da espectrometria de massas denominados; varredura "Scan", Corrente de Íons Monitorados - *Monitoring Ion Current* (MIC) e Monitoramento do íon selecionado - *Select Ion Monitoring* (SIM). O modo Scan, analisa todos os íons presentes em uma amostra e o MIC que é uma ferramenta do software pode selecionar apenas os picos de interesse da análise feita com o Scan e fazer um novo cromatograma apenas com os íons de interesse. O modo SIM difere do Scan já que consegue detectar apenas os íons selecionados pelo operador. A união destes dois métodos é fundamental para facilitar a identificação dos compostos, porque a identificação se torna mais precisa e isso facilita sua detecção e quantificação. Cinco organoclorados foram estudados desta pesquisa e os mesmos são: B.H.C., Heptacloro, Heptacloro Epóxido cis/trans, Clordano cis/trans.

1. INTRODUÇÃO

A espectrometria de massas é um do método analítico utilizado na detecção de compostos desconhecidos. Ele é considerado um dos principais por ser mais preciso. O método é baseado na manipulação do caminho dos elétrons com o intuito de descobrir informações sobre: a composição elementar de amostras, a estrutura molecular, a composição qualitativa e quantitativa de misturas complexas, e a estrutura e a composição de superfícies sólidas e as proporções isotópicas de átomos em amostras. [1]

A história da espectrometria iniciou-se em 1910, com J.J. Thomson separando as moléculas de gás de acordo com as suas massas a partir de uma análise com raios positivos. Um de seus alunos, F.W. Aston aperfeiçoou o método criado por Thomson para alcançar uma maior separação de íons de diferentes massas, porém que possuíssem a mesma relação carga/massa. O método utilizado mostra um espectro de linhas, e foi chamado de espectrógrafo de massa, porque servia para a determinação de massas atômicas.

Alguns anos depois, Arthur Dempster construiu um instrumento mais apropriado para medidas quantitativas de isótopos, e apesar de não ser utilizado para medidas de massas atômicas, o aparelho foi chamado de *espectrômetro de massas*, uma vez que a corrente de íons era medida eletronicamente e não mais registrada em uma chapa fotográfica. Outro grande avanço na espectrometria de massa ocorreu apenas em 1953 quando W. Paul desenvolveu o instrumento de quadrupolo porque a transmissão do íon gasoso passou a ser por campos dinâmicos, ou campos de radiofrequência que variam com o tempo.

O quadrupolo entra em ação logo após a amostra sair da coluna cromatográfica com a identificação de alguns picos correspondentes aos compostos presentes. Estes compostos serão identificados quando a amostra sair da coluna entrando no filtro de massas triplo quadrupolo (ion trap) através da linha de transferência. Ele irá se chocar com os elétrons acelerados e assim perderá sua neutralidade e se fragmentará. Estes íons fragmentados são aprisionados em um campo eletromagnético quadrupolar e logo após isso os íons são ejetados em ordem crescente de sua relação massa/carga. Esse movimento gera uma corrente iônica que é multiplicada e produz um sinal proporcional ao número de íons da amostra.

2. MODOS DE VARREDURA

A varredura de massa é o resultado da aplicação de um único campo dipolar suplementar nos eletrodos-tampa (direção axial-z) do “Ion Trap”, e de um aumento linear da voltagem de radiofrequência. À medida que a voltagem aumenta, as frequências seculares dos íons aumentam e as trajetórias iônicas se tornam instáveis sucessivamente na ordem crescente de suas razões massa/carga. Os principais modos de varredura utilizados neste trabalho são o *Select Ion Monitoring* (SIM) e o Corrente de Íon Monitorados - *Monitoring Ion Current* (MIC). [2]

O método de corrente dos íons monitorados (MIC), não se trata de um isolamento dos íons durante a análise, mas sim de um procedimento off-line realizado com a ajuda de um software do sistema do EM para que se escolham quais íons do espectro total serão utilizados em uma reconstituição do cromatograma na qual analisamos apenas o que for importante para a pesquisa. Este método possibilita a seleção de um único íon, a soma de até três íons ou um intervalo iônico na reconstrução do cromatograma.

Quando se utiliza o modo de Monitoramento do íon selecionado (SIM), os íons são previamente selecionados pelo operador conforme seu tempo de retenção, a fim de analisar apenas o que lhe interessa e tornar a precisão da espectrometria ainda maior.

2.1. Materiais e Métodos

2.1.1. Materiais

Os materiais utilizados durante a experiência foram:

- GC-MS shimadzu modelo QP5000 com uma coluna capilar de 30 m x 0.25cm x 25µm.
- Injeção de 10 µL
- Padrões feitos pela Sigma Aldrich: Heptacloro - 96.8% de pureza; Trans Clordano - 98% de pureza; Cis clordano - 99% de pureza; Heptacloro epóxido cis - 98,5% de pureza; Heptacloro epóxido trans - 99% de pureza. (Todas essas soluções são feitas com 0,01% de soluto e o solvente usado em todas elas é o isoctano.)

2.1.2 Metodologia

A amostra padrão foi feita com uma solução mix de BHC, heptacloro, heptacloro epóxido cis/trans, clordano cis/trans e a concentração de cada um deles é de 1 µg/mL.

Inicialmente, a temperatura é de 80°C e assim permanece pelo primeiro minuto, após isso a temperatura é aumentada para 210°C e permanece assim por cinco minutos, e por fim a temperatura é aumentada para 270°C por mais um minuto até que acabe a corrida. A rampa de temperatura é de 25°C por minuto totalizando uma corrida de 15 minutos.

Quando a análise é feita pelo modo Scan, é possível se analisar todos os íons produzidos na solução e seu cromatograma geral fica de acordo com o da figura 1.

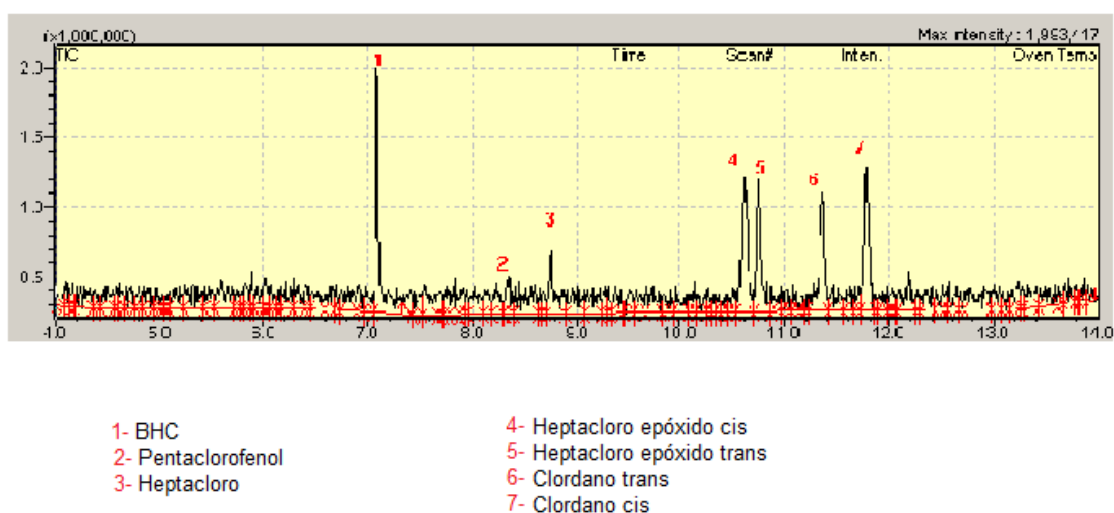


Figura 1. Cromatograma Geral pelo modo de varredura Scan.

Quando a análise é feita pelo modo de varredura SIM, é possível identificar íons específicos conforme o tempo. Para isso ser feito, é necessário dizermos quais íons serão considerados, e em qual período da análise. O período escolhido é sempre baseado no tempo de retenção do composto, com uma margem de erro para mais e para menos. A configuração do espectrômetro de massas pode ser vista na tabela 1 e um cromatograma utilizando o método SIM pode ser visto na figura 2.

Tabela 1. Tempo de programação da análise pelo modo SIM.

Composto químico	T inicial (min.)	T final (min.)	Íons Procurados
B.H. C	4.00	7.50	109, 181, 183, 217 e 219
Heptacloro	7.50	9.00	65, 100, 270.272 e

			274
Heptacloro epóxido cis/trans	9.00	11.05	81, 351, 353, 355 e 357
Clordano trans/cis	11.05	14.00	237, 371, 373, 375 e 377

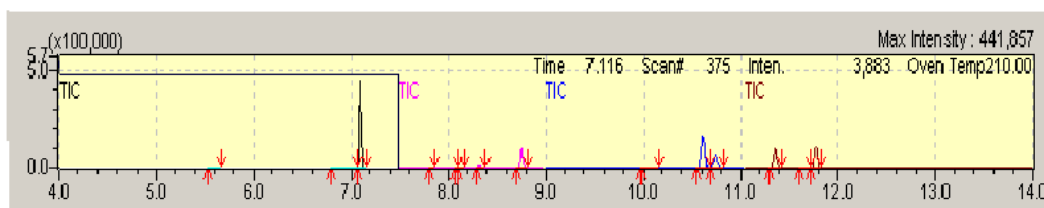


Figura 2. Cromatograma geral usando o modo de varredura SIM.

2.2 Resultados e Discussão.

A partir de um cromatograma é possível identificar os organoclorados do mix e avaliar a precisão do método a partir do cálculo da razão entre sinal e ruído. A razão entre sinal e ruído (da sigla em inglês S/N, signal to noise, ou SNR, signal to noise ratio) é um índice de desempenho usado em equipamentos eletrônicos, para verificar sua sensibilidade e desempenho. Quanto maior o valor do S/N melhor é o equipamento. [3] De acordo com Inmetro existem algumas regras para a detecção ou a quantificação serem válidas. Para uma detecção no cromatografo ser valida, o valor de S/N deve ser maior que 3, e para uma quantificação ser aceita o valor de S/N deve ser maior que 9.

O primeiro grupo a ser identificado foi o hexaclorociclo-hexano, ou BHC. O BHC tem fórmula atômica de $C_6H_6Cl_6$ e é um inseticida extremamente forte e de longa persistência no ambiente. [2] O cálculo de sinal ruído para o BHC no modo Scan foi de 4.53 e no modo SIM foi de 46.9. Seu cromatograma e seu espectro de massas pelos métodos SIM e Scan podem ser verificados nas figuras 3 e 4.

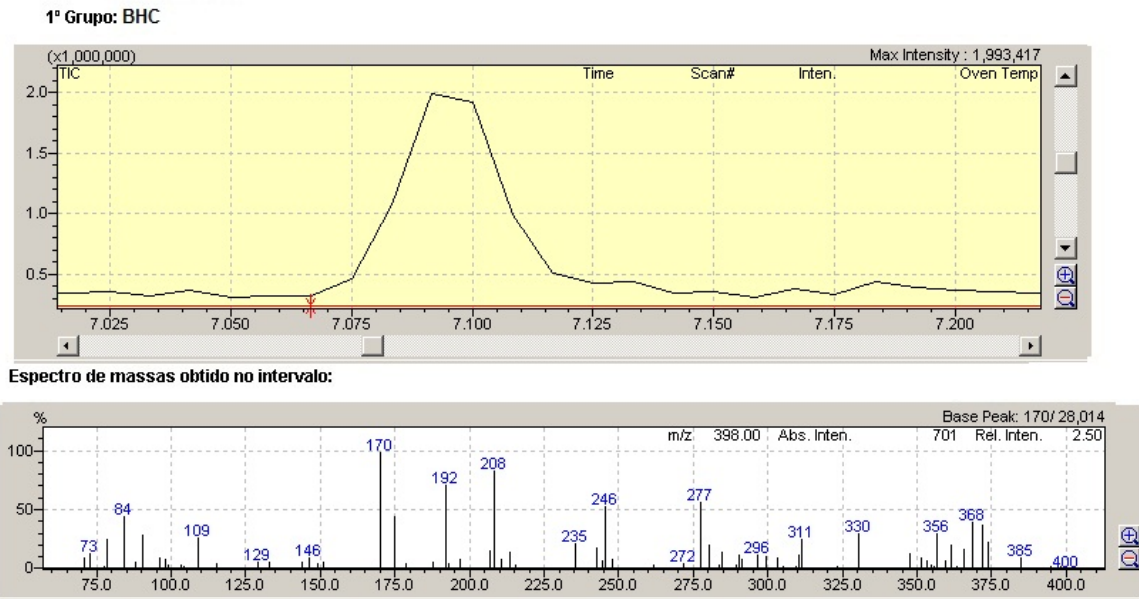


Figura 3. Cromatograma e espectro do BHC pelo modo de varredura Scan

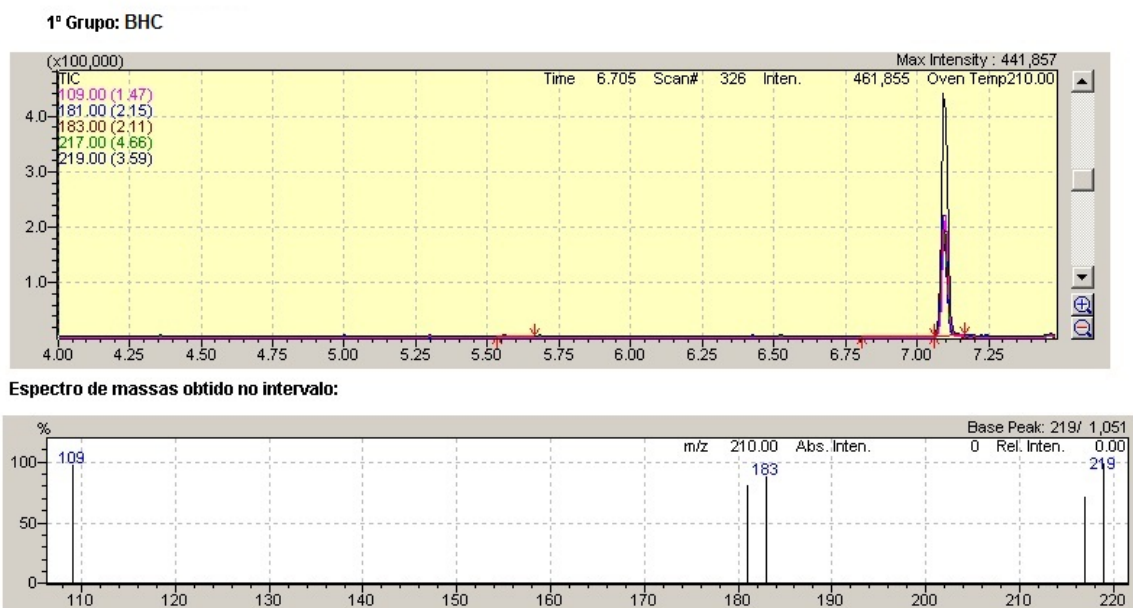
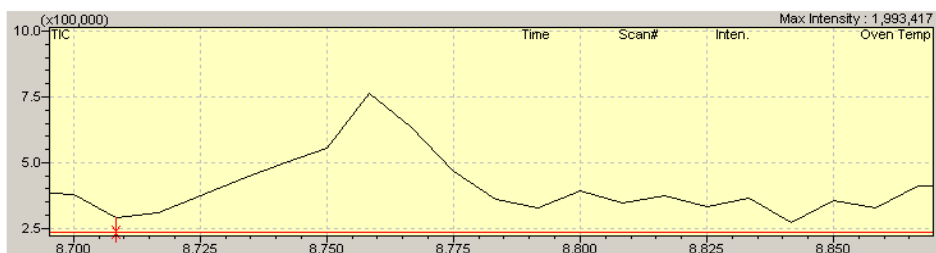


Figura 4. Cromatograma e espectro do BHC pelo modo de varredura SIM

O Segundo grupo a ser identificado no cromatograma é o heptacloro. O Heptacloro é conhecido pela fórmula molecular $C_{10}H_5Cl_7$ e geralmente é usado como um pesticida de uso restrito no tratamento de algumas sementes. É considerado um poluente perigoso, porque uma vez liberado no meio ambiente ele demora para se degradar e atrapalha a cadeia alimentar.[3] Seu razão de sinal ruído para o modo scan foi 1,75 e para o modo SIM foi de 11,1. Seu pico e seu espectro de massas pelos métodos SIM e Scan podem ser verificados nas figuras 5 e 6

2º Grupo: Heptacloro



Espectro de massas do Heptacloro

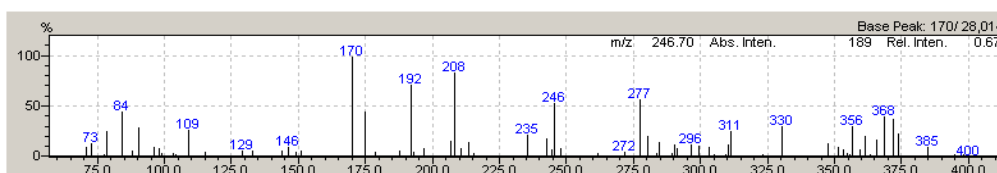
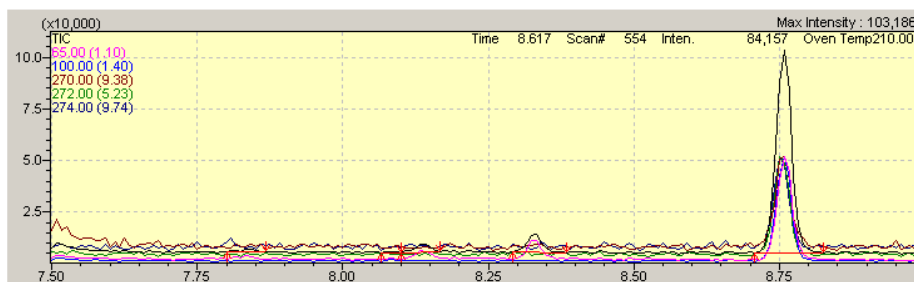


Figura 5. Cromatograma e espectro do heptacloro pelo modo de varredura Scan.

2º Grupo: Heptacloro



Espectro de massas do Heptacloro

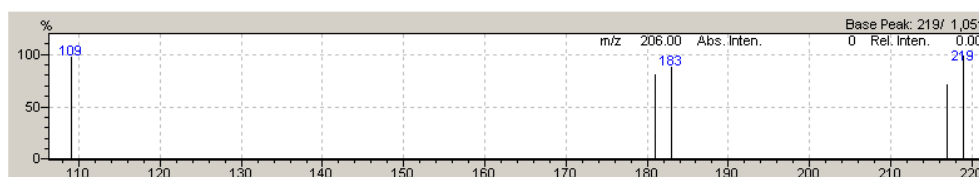


Figura 6. Cromatograma e espectro do heptacloro pelo modo de varredura SIM.

O terceiro grupo identificado é o heptacloro epóxido cis/trans. O Heptacloro epóxido é produto da oxidação do heptacloro que é formado por plantas e animais após a exposição ao heptacloro. [4] Para identificar qual dos isômeros apareceria antes no cromatograma foi passada uma amostra de Heptacloro epóxido cis, e foi anotado seu tempo de retenção. Após passar eles juntos foi possível concluir que o heptacloro epóxido cis tem um tempo de retenção ligeiramente menor que seu isômero o Heptacloro epóxido trans. Seus cálculos de sinal ruído foram de 2,75 para o heptacloro cis e de 2,75 para o heptacloro trans no modo Scan e de 18,3 para o cis e de 8,45 para o trans no modo SIM. Seu cromatograma e seu espectro de massa podem ser vistos nas figuras 7 e 8.

3º Grupo: Heptacloro Epóxido cis e trans

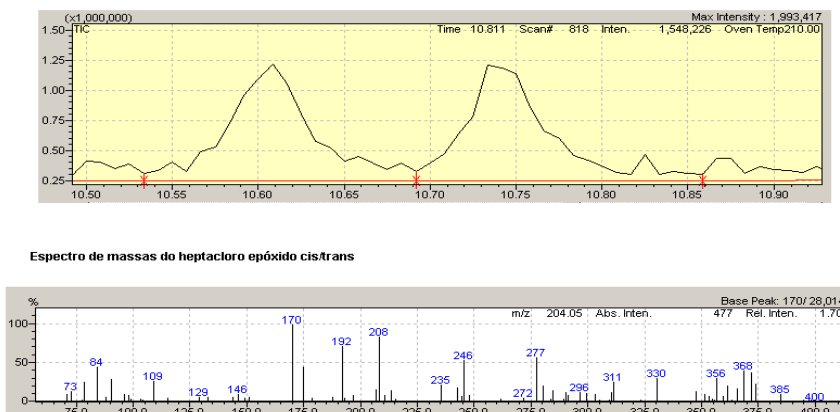


Figura 7. Cromatograma e espectro do heptacloro epóxido cis/trans pelo modo Scan

3º Grupo: Heptacloro Epóxido cis e trans

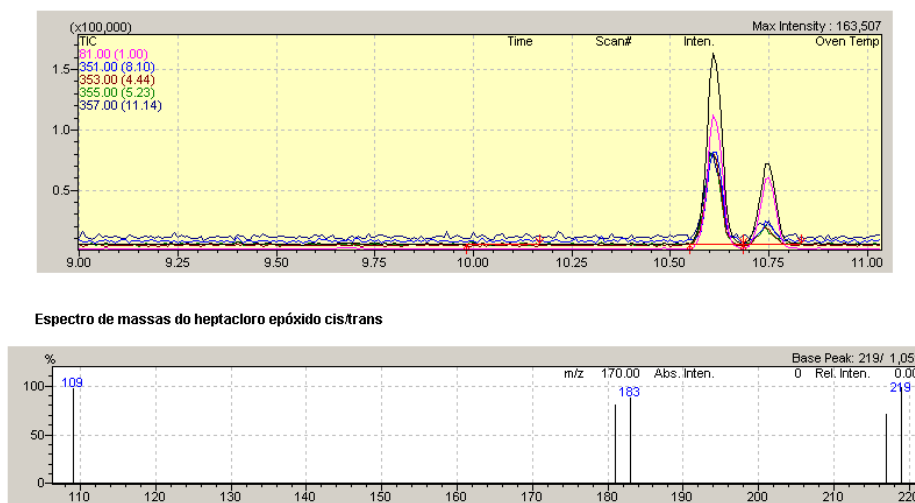


Figura 8. Cromatograma e espectro do heptacloro epóxido cis/trans pelo modo SIM

O quarto grupo a ser identificado é o Clordano Trans/ Cis. O Clordano é conhecido pela fórmula molecular $C_{10}H_6Cl_8$. Ele é um pesticida muito conhecido por seus efeitos tóxicos e pela capacidade de persistir e se acumular em peixes, aves e mamíferos, além de permanecer no solo durante décadas. [5] Para identificarmos qual dos isômeros aparece primeiro no cromatograma, foi necessário passar uma amostra de clordano cis e anotar seu tempo de retenção. Após passar eles juntos foi possível concluir que o clordano trans tem um tempo de retenção ligeiramente menor do que o seu isômero, o clordano cis. Seu cálculo de sinal ruído foi de 2,52 para o clordano trans e de 2,91 para o clordano cis no modo Scan e de 10,1 para o clordano trans e de 11,1 para o cis no modo SIM. Seu Cromatograma e o espectro de massas podem ser vistos nas figuras 9 e 10.

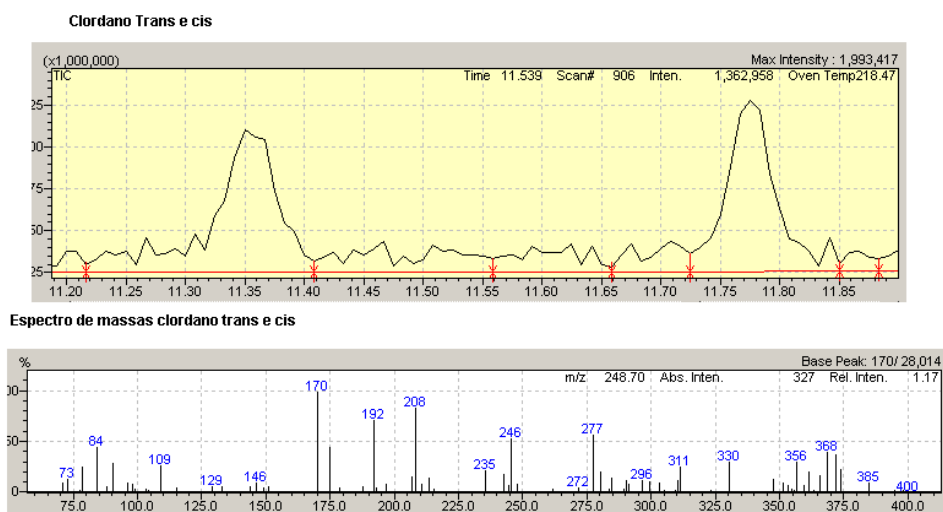


Figura 9. Cromatograma e espectro do clordano trans/cis pelo modo Scan

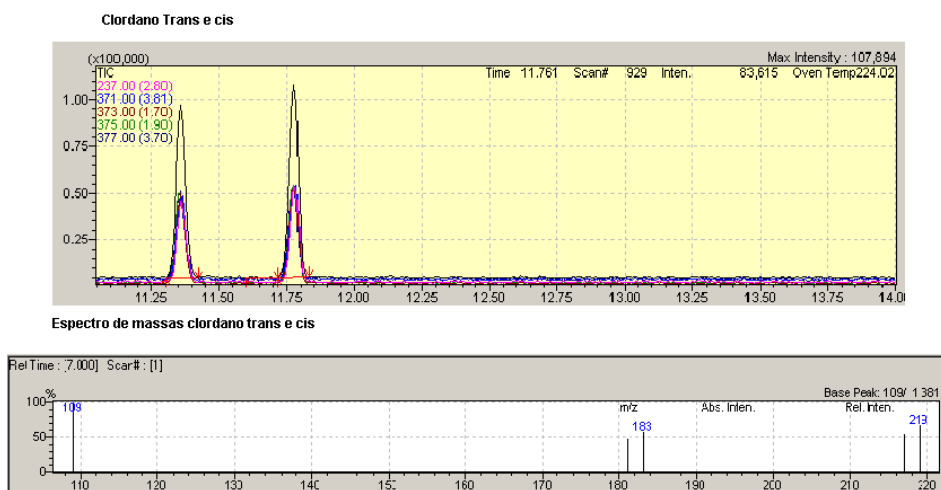


Figura 10. Cromatograma e espectro do Clordano trans/cis pelo modo SIM.

3- CONCLUSÃO

Após a análise dos cromatogramas e de seus ruídos é possível verificar que o modo de varredura SIM é mais preciso do que o modo de varredura Scan. A comprovação disso veio por meio do cálculo de sinal/ruído no qual é possível perceber que o pico no cromatograma do modo SIM sai maior e que o ruído é muito inferior ao visto no método scan. Isso ocorre porque o modo de varredura SIM focaliza apenas os íons de interesse, tornando o detector mais sensível a estes íons e melhorando a precisão da análise.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao IPEN e ao CNPq pela a oportunidade de realizar este trabalho, e ao PIBIC pelo incentivo a pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. “Estudo da Emissão de Íons Estáveis e Metaestáveis $(\text{LiF})_n\text{Li}^+$ Induzida por Fragmentos de Fissão do ^{252}Cf ,” http://www2.dbd.pucrio.br/pergamum/tesesabertas/0124802_03_cap_02.pdf (2003).
2. Bustillos O.; Sassine A.; March, A. *A espectrometria de massas quadrupolar*, São Paulo, Brasil (2003).
3. “Relação sinal-ruído (S/N ratio) em FTIR,” http://www.shimadzu.com.br/analitica/aplicacoes/espectrofotometros/ftir/NT001_Shimadzu_Brasil_Relacao_SN_FTIR.pdf (2010)
4. “B.H.C. (B-04)” <http://www.pragas.com.br/produtos/monografias/bhc.php> (2010)
5. “Heptacloro e Heptacloro epóxido,” <http://saocamilolab.com.br/exames/?indice=H&id=2424> (2010)
6. “Heptacloro Epóxido,” tradução livre do original. <http://www.academicoo.com/search?q=heptacloro%20epoxido&sort=date&filter=> (1989)
7. “Clordano,” http://www.labcella.com.br/exalvaro/exames_mostra.php?id=CLORDANO (2010)
8. “Espectrometria de massas: principios e aplicações,” <http://www.espectrometriademassas.com.br/capitulos/assuntos/assunto.asp?codcapitulo=8&codassunto=63&numero=9> (2009)