

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS DE IONIZAÇÃO POR IMPACTO DE ELÉTRONS E IONIZAÇÃO QUÍMICA NA ANÁLISE DO INSETICIDA PERMETRINA VIA GC/MS-IT

ANDRÉ SASSINE, SÉRGIO C. MOURA e JOSÉ OSCAR VEGA BUSTILLOS

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN / SP, Caixa Postal 11049. CEP: 05422-970, São Paulo, Brasil, e-mail: sassine@net.ipen.br

SYNOPSIS.- Sassine, A., Moura, S.C. & Bustillos, J.O.V. 2000. Comparison study between ionization techniques by impact of electrons and chemical ionization in the analysis of permethrin through CG/MS ion -trap. *An. Assoc. Bras. Quím.*, 49(4), 208-213.

ABSTRACT

Pyrethroids, including permethrin, are insecticides chemically similar to pyrethrins, modified with the addition of functional groups. They are used against a variety of pests and control ectoparasites, biting flies, and cockroaches. In this paper we used gas chromatography coupled to an ion trap mass spectrometer to compare two ionization techniques: Electron Impact Ionization and Chemical Ionization. The results show less ionic fragmentation on chemical ionization than on electron impact ionization. The possible chemical structures produced on the fragmentation process as well as physical chemistry parameters are discussed in this work. The detection limits were in ppm concentration range.

Keywords: Pyrethroid, GC/MS, Permethrin, Ion-Trap, Insecticides.

(Recebido em 09/11/00. Aceito para publicação em 22/11/00)

INTRODUÇÃO

Os piretróides, entre eles a permetrina, são substâncias quimicamente similares as piretrinas naturais que são pesticidas extraídos das espécies *Cyanthum Cinerariaefolium* e *C. Coccineum*. Estas substâncias naturais, quando modificadas com a adição de grupos funcionais formam a classe química denominada piretróides que por sua vez são inseticidas de contato bastante efetivos contra vários tipos de pragas e possuem uma ação menos tóxica que a das piretrinas naturais que lhe dão origem. Apesar da baixa toxicidade os piretróides, que tem vasta utilização como inseticidas domésticos, herbicidas e uso veterinário entre outros, provocam patologias em seres humanos, tais como reações alérgicas, ataques de asma, dermatites e interferência em funções do sistema nervoso [1]. Além disso, estes pesticidas combinados com organofosforados são utilizados com frequência em alguns países como inseticidas. Suicídios e acidentes devido a envenenamento com esta mistura de pesticidas são ocasionalmente encontrados na prática forense [2].

No Brasil os piretróides são largamente utilizados no rebanho de gado, para combater parasitas como carrapatos e moscas-de-chifre. Foi constatada a presença de resíduos no leite destes animais de tal forma

que nos primeiros 14 dias a quantidade de piretróides se manteve acima do índice de tolerância do corpo humano que é no máximo de 50 mg/L [3].

Vários métodos têm sido desenvolvidos e aplicados na monitoração e detecção de piretróides, entre eles: Monitoração de piretróides na urina humana usando extração por fase sólida seguida de espectrometria de massa "tandem" acoplada a cromatografia gasosa [4]; análise simultânea de piretróides via GC/MS na qual os pesticidas foram extraídos utilizando-se uma mistura de diclorometano, ciclohexano e acetona [5]; análise ambiental de cipermetrina e seus produtos de degradação após aplicações florestais por GC/MS com ionização por impacto de elétrons [6]; determinação de inseticidas piretróides por GC/MS/MS - ion trap, onde foram utilizados os métodos de ionização química pura e ionização química seguida de dissociação ativada por colisão [7], com o intuito de obter informações estruturais das moléculas. Foram também realizados estudos no sentido de identificar e quantificar multiresíduos piretróides em produtos agrícolas via GC/MS [8] além da utilização da espectrometria de massa de armadilha iônica na determinação de piretróides lipofílicos em carne bovina [9]. Outro estudo estabeleceu o método de detecção do piretróide deltametrina via GC/MS-IT no modo de ionização química [10].

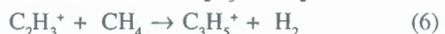
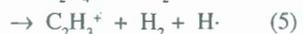
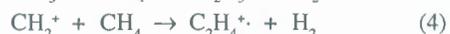
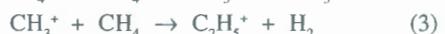
METODOLOGIA

O analisador utilizado foi o GC/MS-Ion-Trap marca Varian, Saturn-3 com coluna capilar DB-5 de 30 metros de comprimento e espectrômetro de massa do tipo "Ion-Trap Detector". Foi utilizado como gás de arraste o gás Hélio com fluxo de 30 mL/min. Os experimentos que utilizaram ionização por impacto de elétrons foram realizados de tal forma que os elétrons liberados pelo filamento de rênio, por efeito termoiônico, adquiriram energias da ordem de 70 eV. Estes elétrons foram colimados e, através de uma porta eletrônica, foi permitida a passagem dos mesmos por um determinado intervalo de tempo, usualmente 10 ms a 25 ms, intervalo no qual os mesmos foram acelerados por uma tensão de 150 Vdc. Durante a fase positiva da voltagem de radio-freqüência, (RF), os elétrons foram atraídos para a cavidade do "ion-trap". Dentro da cavidade as moléculas de interesse que foram eluídas através da coluna cromatográfica, são atingidas pelos elétrons anteriormente energizados de tal forma que nessa interação ocorre à ionização e fragmentação das mesmas. A corrente de íons, característica de cada molécula, formada será finalmente detectada por um multiplicador de elétrons.

Num segundo processo de aquisição de dados utilizamos o método de ionização química no qual um gás reagente (no caso metano) é admitido na cavidade do "ion-trap" e ionizado por impacto de elétrons. Posteriormente, os íons assim formados (BH⁺), caso possuam protoafinidade inferior a da molécula de interesse (M), protonarão as mesmas segundo a seguinte reação [11]:



No caso do metano, a maioria dos íons primários formados por impacto de elétrons são: CH₄⁺, CH₃⁺, CH₂⁺. Estes reagem conforme indicado abaixo para formar a maioria dos íons observados segundo as seguintes reações:



A pressões totais de 1 torr as abundancias relativas dos principais íons são: CH₅⁺ (48%), C₂H₅⁺ (41%) e C₃H₅⁺ (6%) [12]. Nas condições de ionização química, onde as pressões são consideravelmente menores, a produção de CH₅⁺ é bastante reduzida enquanto a de C₂H₅⁺ é correspondentemente aumentada [13]. Convém observar que se a energia de entalpia (ΔH^0) que corresponde à diferença de protoafinidade

entre o elemento reagente (B) e a molécula de interesse (M) for grande, a diferença de energia será utilizada na fragmentação da molécula de interesse.

Em ambos os processos de ionização a identificação do composto ocorrerá através da comparação do espectro formado com espectros padrões armazenados num banco de dados de um software específico.

A programação da coluna na qual obtivemos os melhores resultados em termos de ganho de intensidade, relativo ao fundo de escala, foi a seguinte: 1) Temperatura inicial 40 °C mantida por 2 min.; 2) Rampeamento até 270 °C numa razão de 22,2 °C/min.; 3) 270 °C mantidos por 18 min. As temperaturas do injetor, linha de transferência e detector foram respectivamente 270, 280 e 280 °C. O solvente utilizado foi o diclorometano. Além disso, no caso da permetrina (C₂₁H₂₀Cl₂O₃), deve-se realizar uma correção na programação do software de aquisição de dados no que diz respeito a um fator definido como defeito de massa (D_m), definido como:

$$D_m = \frac{M_{real} - M_{inteira} * 10^5 \text{ u.m.a.}}{M_{inteira}} \quad (7)$$

onde M_{real} é a massa real do composto em questão e $M_{inteira}$ é a massa inteira mais próxima do composto em questão. Sua importância cresce pelo fato de que os pesos moleculares relatados pelo software do Saturn-3 serem somente para o número inteiro mais próximo. O software deve decidir qual massa o mesmo deve associar a cada corrente iônica. Se a massa exata de um íon cai próximo à linha divisória entre massas inteira ou distante da massa inteira associada ao elemento, o programa pode associar um valor de massa errado. Isto é mais provável para moléculas de alto peso molecular pois os defeitos de massa para vários átomos podem se adicionar produzindo um defeito de massa grande. No caso da permetrina (Fig 1) calculamos um defeito de massa da ordem de 75 u.m.a / 100.

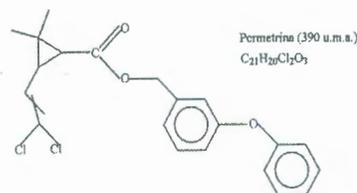


FIG.1 - Fórmula estrutural do composto permetrina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cromatograma obtido através do GC/MS por ionização por impacto de elétrons para a permetrina (amostra comercial) com 450 ppm, é mostrado na Fig. 2.

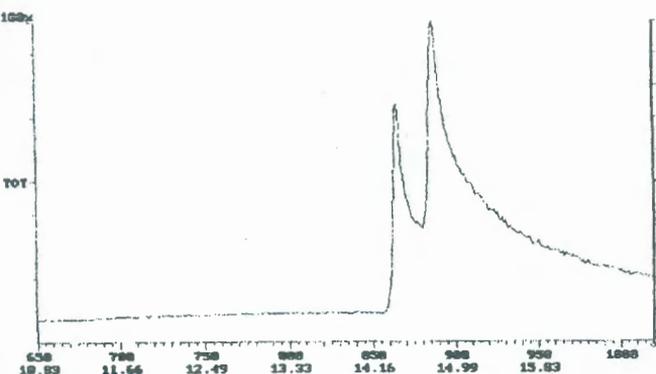


FIG. 2 - Cromatograma da permetrina obtido no modo por impacto de elétrons (IE). Observamos as existências de isômeros denominados *cis* e *trans*.

A existência de dois picos corresponde a moléculas isômeras do tipo *cis* e *trans* que eluem pela coluna cromatográfica com tempos de retenção distintos, respectivamente 14,40 min. e 14,76 min. Com respeito à intensidade relativa dos dois isômeros observamos uma proporção de aproximadamente 3:4. Os picos cromatográficos observados na Fig. 2 correspondem a um espectro de massa onde se observam linhas características correlacionadas com os fragmentos iônicos do composto molecular em questão (Fig. 3).

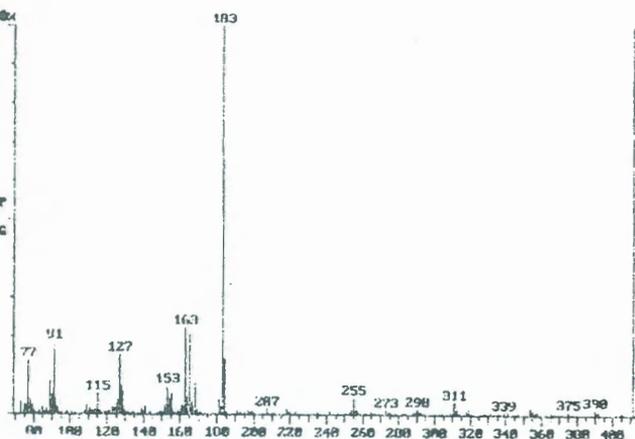


FIG. 3 - Espectro de fragmentação da permetrina no modo de ionização por impacto de elétrons (IE).

A fragmentação preferencial ocorre na ligação do éster, processo no qual ocorre a formação dos íons 183^+ e 207^+ . O íon 207^+ por sua vez, pode se fragmentar de duas maneiras: 1) Dá origem aos íons 163^+ e 44^+ (o íon 44^+ não é observado no espectro pois o limite inferior da varredura de massa utilizado está acima deste valor). 2) Pode dar origem ao íon 127^+ através do processo de fragmentação e recombinação

no qual ocorre a perda de Cl_2C e recombinação do carbono com três hidrogênios formando um substituinte CH_3 . O íon 183^+ também se fragmenta nos íons 106^+ e 77^+ . O íon 106^+ perde seu átomo de oxigênio que por sua vez é substituído por um átomo de hidrogênio dando origem ao íon 91^+ . Todos estes processos são representados na Fig. 4.

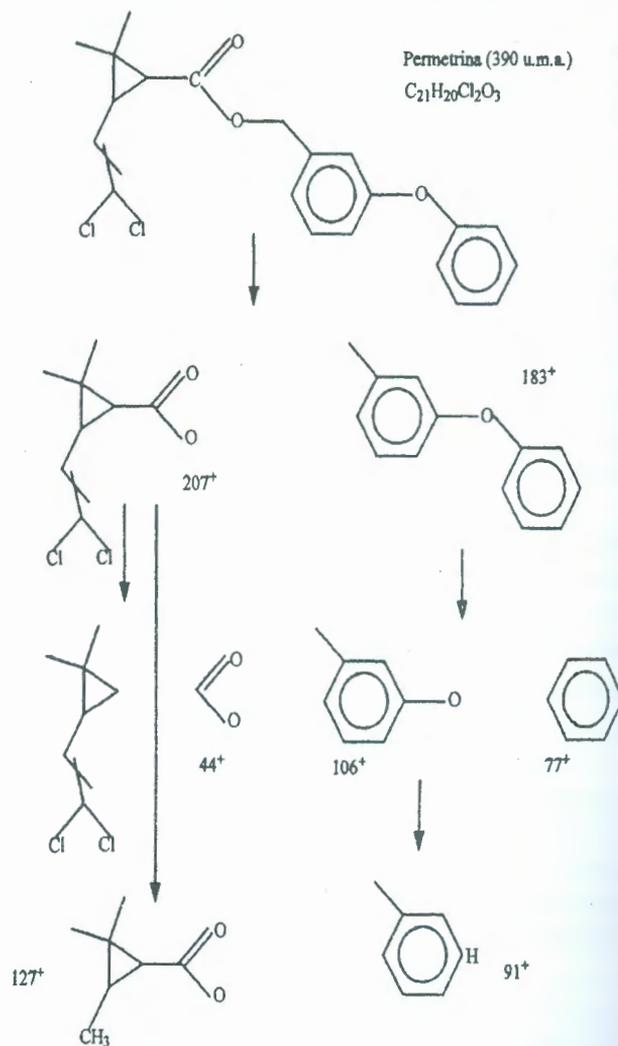


FIG. 4 - Sugestão para o espectro de fragmentação da permetrina no modo de ionização por impacto de elétrons (IE). A molécula de permetrina corresponde a 390 u.m.a.

Num segundo processo, obtivemos os picos cromatográficos no modo de ionização química (Fig. 5) no qual ocorre o processo a que denominamos de "ionização suave" pois as energias envolvidas no processo de ionização e transferência protônica são da ordem de 1 a 7 eV.

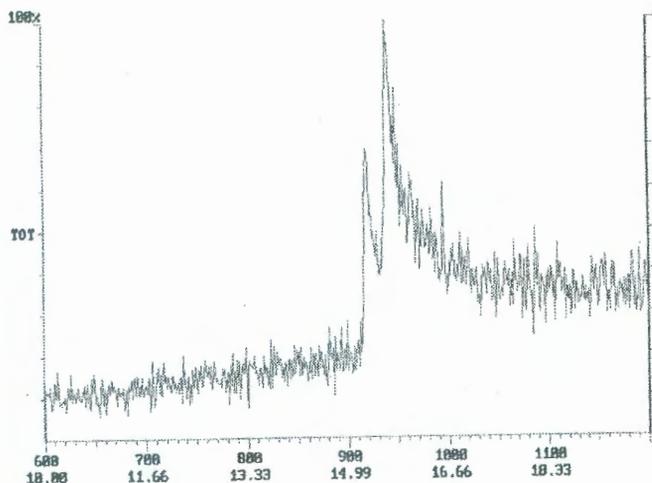


FIG. 5 - Picos cromatográficos da permetrina no modo de ionização química (IQ) onde se observa os picos isômeros *cis* e *trans*.

O espectro de fragmentação da permetrina no modo de ionização química pode ser observado na Fig. 6.

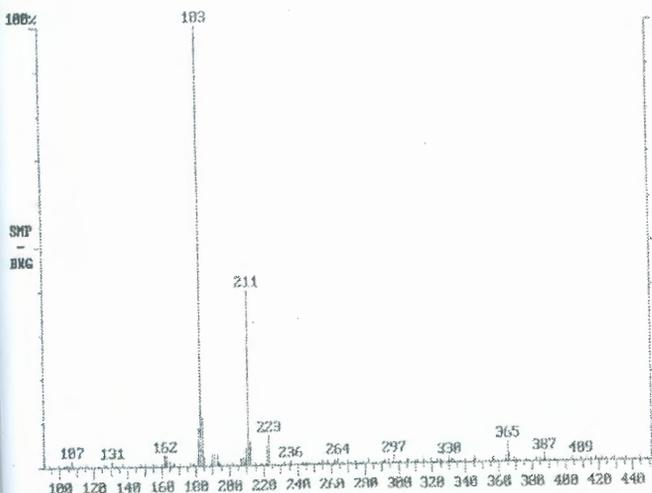


FIG. 6 - Espectro de fragmentação da permetrina no modo de ionização química utilizando como gás reagente o Metano.

Observamos que neste processo a fragmentação básica ocorre também na ligação do éster na qual são produzidos os íons 183⁺ e 207⁺. No entanto o íon 207⁺ recebe 3 hidrogênios nas ligações dos oxigênios e do carbono. A massa 210 assim formada é protonada por um H de tal forma a produzir um íon 211⁺ bastante intenso. O processo de formação do espectro é apresentado na Fig. 7.

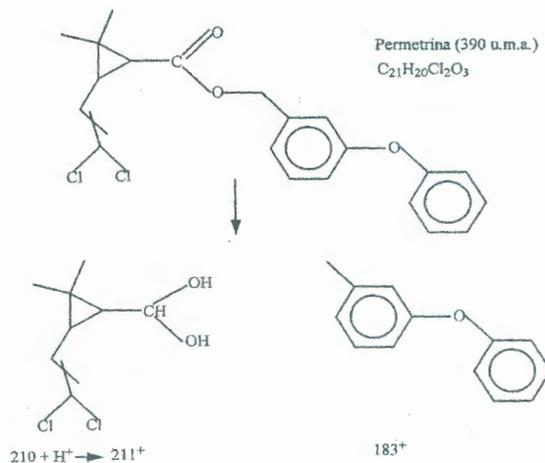


FIG. 7 - Sugestão para o processo de fragmentação da permetrina no modo de ionização química (IQ). A molécula de permetrina corresponde a 390 u.m.a.

Verificamos um aumento de intensidade medida em RIC (Relative Ion Current) para a Ionização Química relativamente à ionização por Impacto de Elétrons. No íon 183⁺, que corresponde ao pico de maior intensidade em ambos os espectros, observamos um aumento de intensidade na proporção 10:1. No pico base (390 u.m.a.) observamos um aumento de um fator 26:1 no qual as intensidades foram respectivamente $I_{IQ} = 11321$ RIC e $I_{IE} = 440$ RIC (tabela 1).

TABELA 1

Comparação entre íons mais intensos para dois espectros em modos de aquisição diferentes (IE e IQ)

massa	intensidade Iie (ric) impacto de elétrons	Intensidade Iiq (ric) ionização química	Iiq/Iie
183	32504	348827	10,73
163	7319	-0-	-0-
165	6748	-0-	-0-
91	6518	-0-	-0-
127	5133	-0-	-0-
77	5061	-0-	-0-
184	4943	44576	9,02
128	2665	-0-	-0-
153	2580	-0-	-0-
168	2580	6368	2,47
211	79	162031	2051,02

TABELA 1

Comparação entre íons mais intensos para dois espectros em modos de aquisição diferentes (IE e IQ). Cont. ...

massa	intensidade Iie (ric) impacto de elétrons	Intensidade Iiq (ric) ionização química	Iiq/Iie
223	249	31840	127,87
182	-o-	27595	-o-
181	1431	16274	11,37
543	-o-	16981	-o-
365	164	14151	86,29
209	466	18397	39,48
210	105	16981	161,72

Foram estudados vários parâmetros tais como programação da coluna cromatográfica, temperatura de injetor, temperatura do detector, modo de ionização entre outros. De maneira geral observa-se grandes variações de intensidade em função da programação de temperatura cromatográfica e modo de ionização, sendo que o modo de Ionização Química fornece picos mais intensos relativamente ao modo por Impacto de Elétrons. No entanto a relação sinal/ruído é muito mais favorável no que diz respeito à Impacto de Elétrons em relação à Ionização Química como se pode observar pela Tabela 2.

TABELA 2

Dados obtidos para concentrações de 100 ppm de permetrina dissolvida em diclorometano

Arquivo	Modo de Ionização	Volume injetado (mL)	Altura pico 1 (ric)	Altura pico 2 (ric)	Relação Sinal /Ruído para o pico 2
pci0905b	química	1	1466397	2028573	1,80
pci0905c	química	1	2338045	2773635	1,60
pci0905d	química	1	2744944	3073345	1,56
pci0905e	química	1	4018954	4885215	1,66
pci0905a	química	1	636340	919115	2,74
pi1105b	impacto elétrons	1	110796	145887	5,31
pi1105c	impacto elétrons	1	84574	113126	4,96
pi1105d	impacto elétrons	1	23795	27677	2,19

CONCLUSÕES

Ambas as técnicas (Ionização Química e Impacto por Elétrons) são viáveis na análise de piretróides via GC/MS. Em ambas as técnicas de ionização observa-se preferencialmente a quebra de ligação no éster. Na ionização química existe uma possibilidade maior de se observar o pico base. No entanto, no caso da permetrina houve grande fragmentação do pico base, fato este que denota a grande diferença de protoafinidade entre os principais íons reagentes ($\text{CH}_5^+ = 131,6$ kcal/mol e $\text{C}_2\text{H}_5^+ = 162,6$ kcal/mol) e a molécula de permetrina na qual a diferença de entalpia se dissipa como energia de fragmentação. Cabe salientar que na medida em que se utilizarem gases reagentes com protoafinidades maiores que a do gás metano, a diferença de protoafinidade entre a molécula de interesse e o gás reagente diminuirá, aumentando-se a probabilidade de se observar o íon molecular, em função da diminuição da fragmentação molecular.

Outro fator importante quanto à sensibilidade do método se constitui na temperatura de injeção da amostra que deve ser maior que o ponto de ebulição da molécula de interesse (ponto de ebulição da permetrina = 200 °C) de tal forma a garantir que toda a amostra seja vaporizada no momento da introdução da mesma no GC/MS.

Dados preliminares indicam que o solvente mais adequado para uso com piretróides é o n-hexano o qual proporciona uma relação sinal/ruído mais favorável que outros solventes.

Concluimos que a análise via GC/MS, tanto por ionização por impacto de elétrons como por ionização química, se constitui num método adequado para identificar piretróides, bem como quantificar suas concentrações, além de fornecer informações estruturais a respeito destes compostos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. He F. 1994. Synthetic pyrethroids. Toxicology, 91, 43.
2. Liu J., Suzuki O. 1999. Forensic Science International, 99, 159.
3. Bissacot D. Z., Vassilieff I. 1997. Vet. Hum. Toxicol, 39(1), 6.
4. Arrebola F. J., Martínez-Vidal, J. L. 1999. Fernández-Gutiérrez A. and Akhtar M. H., Analytica Chimica Acta, 401, 45.
5. Okihashi M., Obana H., Hori, S., Nishimune T. 1994. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 35(3), 258.
6. Gordon Breach Sci Publ Ltd, Reading. 1992. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 49(4), 189.
7. Bauerle, G. F. Jr., Ray, K. L., Brodbelt, J. S. 1992. Analytica Chimica Acta, 317, 137.

8. Gou-Fang Pang et al. 2000. *Journal of Chromatography A.*, 882, 231.
9. Argauer, R. J., Lehotay S. J., Brown, R. T. 1998. *Agricultural Reserch Service, United States Department of Agriculture.*
10. Oide E. E., Sobral A. C., Vega Bustillos J. O. 1999. XXXIX Congresso Brasileiro de Química; Goiânia, GO.
11. Harrison A. G. 1992. *Chemical ionization mass spectrometry*, CRC Press. Boca Raton, Florida.
12. Field F. H., and Munson M. S. B. 1965. *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 3289.
13. Brodbelt J., Louris J. N., and Cooks R. G. 1987. *Anal. Chem.*, 59, 1278.

