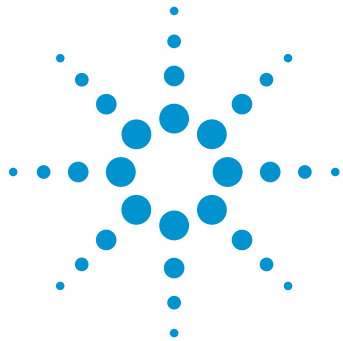




Aumento da produtividade na determinação de PPCPs em água usando tempos de ciclo de MS otimizados em um sistema UHPLC-triplo quadrupolo de alta sensibilidade

Nota de aplicação

Ambiental

Autores

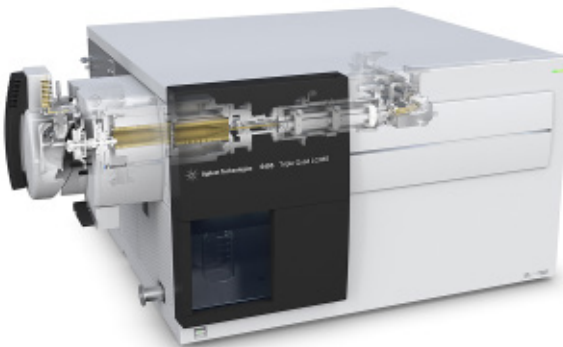
Behrooz Zekavat, Thomas Glauner,
Craig Marvin, André Santos,
Tarun Anumol e Jerry Zweigenbaum
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA

Introdução

Produtos farmacêuticos e para cuidados pessoais (PPCPs) são contaminantes da água de superfície. A presença de PPCPs na água de superfície causa efeitos adversos em animais selvagens. Baixas concentrações de PPCPs representam grandes desafios analíticos para a análise de alta produtividade desses compostos usando extração em fase sólida (SPE) demorada antes da cromatografia líquida/espectrometria de massas tandem (LC/MS/MS). Além disso, os PPCPs abrangem uma grande variedade de classes de compostos e propriedades químicas. Portanto, é necessário usar instrumentos de MS de alta sensibilidade com capacidade de ionização tanto positiva quanto negativa para fazer uma análise abrangente com alta produtividade.

Esta nota de aplicação avalia o software e o firmware modificados com tempos de atraso entre MRM otimizados em um espectrômetro de massas triplo quadrupolo equipado com um funil de íons para aumentar a produtividade da análise de PPCP e permitir a injeção direta de amostras de água sem SPE.

Nós também mostramos os resultados, com alta exatidão e precisão, do screening e da análise quantitativa de 32 PPCPs candidatos em amostras de água de superfície com concentrações abaixo de 0,5 ng/L.



Agilent Technologies

Parte experimental

Preparo de amostras

Padrões claros de PPCPs selecionados (32 compostos do método EPA 1694 e contaminantes de água relatados anteriormente) foram adquiridos da Sigma (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Os padrões de calibração foram preparados em água Milli-Q variando de 0,1 ng/L a 1.000 ng/L. Três amostras de fonte de água diferentes, incluindo água de superfície de dois rios diferentes (Amostras 2A e 3A) e uma amostra de efluente de uma estação de tratamento de águas residuais (Amostra 4A) na Alemanha foram analisadas de forma quantitativa para PPCPs. O preparo de amostras consistiu na filtragem de uma alíquota de cada amostra em filtros de 0,22 µm em um vial de amostra. Depois, 40 µL foram injetados diretamente no sistema LC/MS/MS para análise. Os PPCPs foram detectados usando MRM no modo de mudança de polaridade.

LC/MS/MS

As análises de UHPLC-MS/MS foram feitas em um sistema UHPLC Agilent 1290 Infinity II acoplado a um espectrômetro de massas Agilent 6495 triplo quadrupolo equipado com uma fonte de íons Agilent Jet Stream (AJS).

Resultados e discussão

Análise rápida por LC/MS/MS de PPCPs em amostras de água

Padrões de PPCP preparados foram usados para a otimização inicial do método UHPLC/MS/MS. A Figura 1 mostra os cromatogramas MRM sobrepostos dos 32 PPCPs selecionados em água a 20 ng/L. A maioria dos compostos pode ser detectada em concentrações de 0,5 ng/L sem enriquecimento da amostra.

Tabela 1. LC/MS Agilent 6495 triplo quadrupolo, equipado com uma fonte Agilent Jet Stream.

Parâmetro(s)	Ajuste
Temp. e fluxo do gás de secagem	250 °C e 16 L/min
Pressão do nebulizador	40 psi
Temp. e fluxo do gás de impulsão	400 °C e 12 L/min
Voltagem do capilar	3 kV (pos)/3 kV (neg)

Tabela 2. Condições do UHPLC Agilent 1290 Infinity

Parâmetro	Ajuste
Coluna	Agilent ZORBAX Eclipse Plus RRHD C18, 2,1 × 50 mm
Temperatura da coluna	60 °C
Volume de injeção	40 µL
Temperatura do amostrador automático	4 °C
Lavagem da agulha	15 segundos (80% MeOH/20% água)
Fase móvel	A) Água (0,03% ácido fórmico) B) Acetonitrila
Vazão	0,5 mL/min
Gradiente do solvente (Pós-corrida = 1 minuto)	Tempo (min) %B
	0,0 15
	0,5 15
	6,0 60
	6,1 100
	6,4 100
	6,5 15

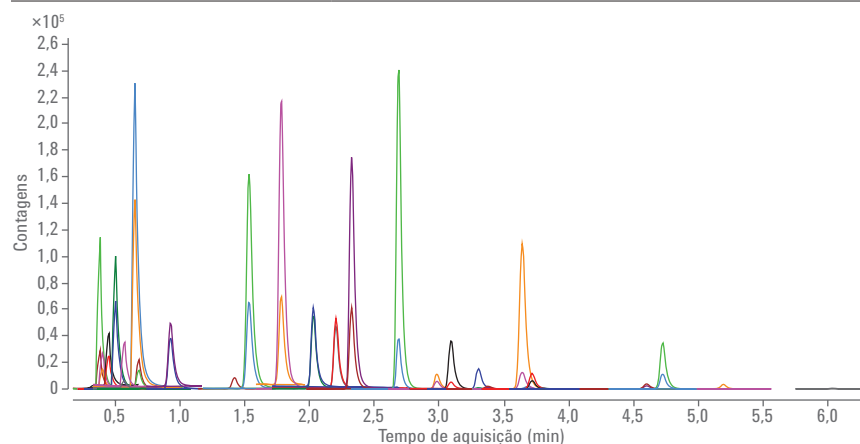


Figura 1. Cromatogramas MRM sobrepostos dos PPCPs selecionados de injeção de 40 µL de uma mistura de 20 ng/L analisada em um LC/MS Agilent 6495 triplo quadrupolo. O tempo de corrida foi de 6 minutos.

A maioria das transições MRM do PPCP monitoradas foram detectadas em um tempo de espera de 0,5 ms com uma perda de sinal mínima relativa a um tempo de espera de 5 ms. A Figura 2 mostra os cromatogramas MRM sobrepostos de venlafaxina e carbamazepina em tempos de espera de 0,5 ms e 5,0 ms, coletados usando atrasos entre MRM otimizados. Os dados da Figura 2 mostram a importância de usar tempos de atraso entre MRM adequados para manter o sinal de íons em tempos de atraso curtos.

Exatidão e precisão da análise de PPCPs em água

A exatidão e a precisão de PPCPs foram avaliadas na faixa de concentração de 0,5 ng/L a 1.000 ng/L.

A Figura 3 mostra os gráficos de calibração do diclofenaco (modo negativo) e da venlafaxina (modo positivo) avaliados em até 11 concentrações padrão variando do limite mais baixo de quantificação (LLOQ), a 0,5 ng/L, ao limite de quantificação superior (ULOQ), a 1 µg/L. A exatidão e a precisão foram calculadas de 10 replicatas de injeção em cada nível. Precisão do ensaio excelente (RSD% < 10 % no LLOQ) e exatidão média (85–112 %) foram obtidas.

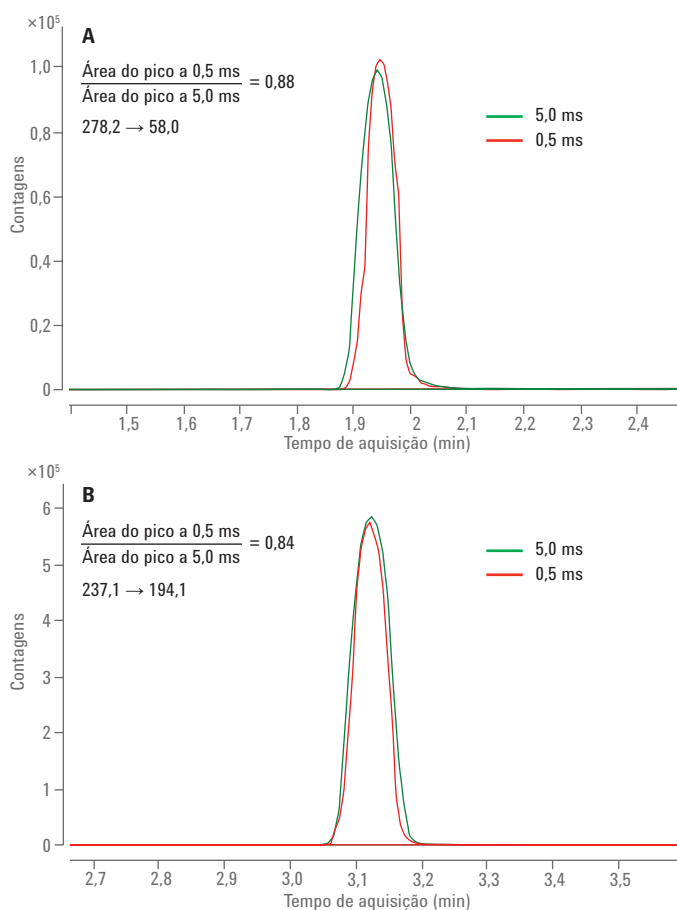


Figura 2. Cromatogramas MRM sobrepostos de venlafaxina (A) e carbamazepina (B) (100 ng/L) em tempos de espera de 0,5 ms e 5,0 ms usando tempos de atraso entre MRM otimizados.

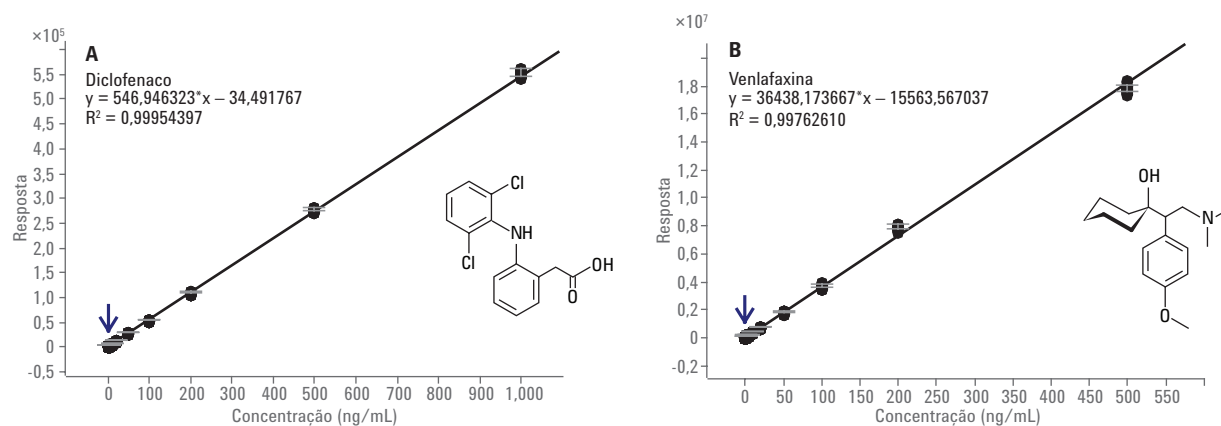


Figura 3. Gráficos de calibração do diclofenaco (modo negativo) e venlafaxina (modo positivo) em água avaliados em relação à precisão da quantificação e ao RSD da área do pico.

A figura 4 mostra os cromatogramas MRM sobrepostos de dois exemplos de PPCPs avaliados nesse estudo a 0,5 ng/L. As respostas reproduzíveis (RSD% <10 %) foram observadas para ambos os íons quantificador e qualificador de atrazina (4A) e diltiazem (4B) em concentrações de analitos sub-ng/L.

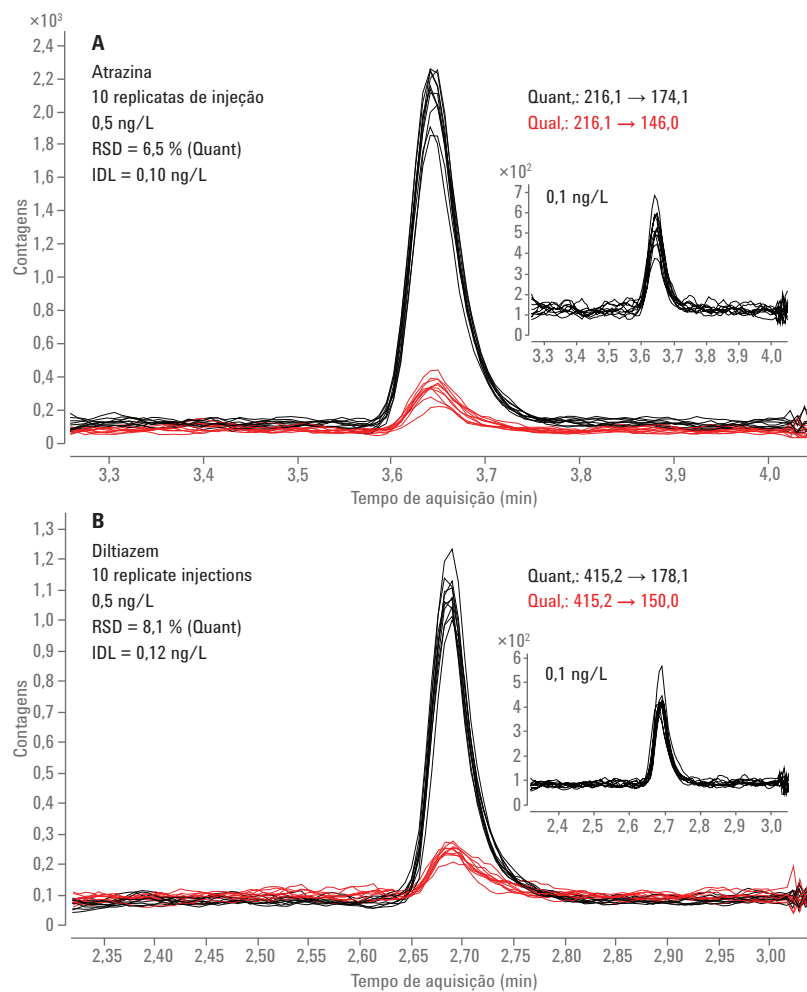


Figura 4. Cromatogramas MRM sobrepostos de atrazina (A) e diltiazem (B) de 10 replicatas de injeção a 0,5 ng/L.

Screening de PPCPs em amostras de água de superfície

A figura 5 mostra os resultados do screening de PPCP da análise de três amostras de água de superfície usando o método UHPLC/MS/MS apresentado nesse trabalho. Os dados da Figura 5

mostram claramente perfis de PPCP diferentes para as três amostras de água analisadas. Esses dados podem ser usados para identificar a fonte original da contaminação na água de superfície ou monitorar a eficiência das estações de tratamento de água.

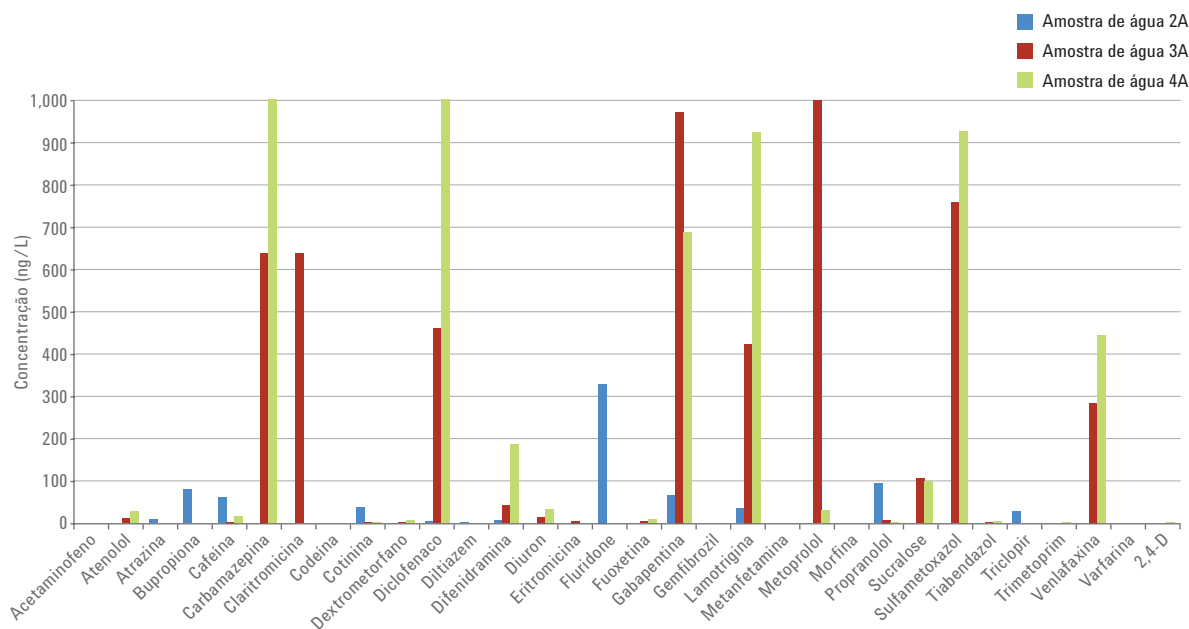


Figura 5. Resumo dos resultados do screening de PPCP de três amostras de água de superfície.

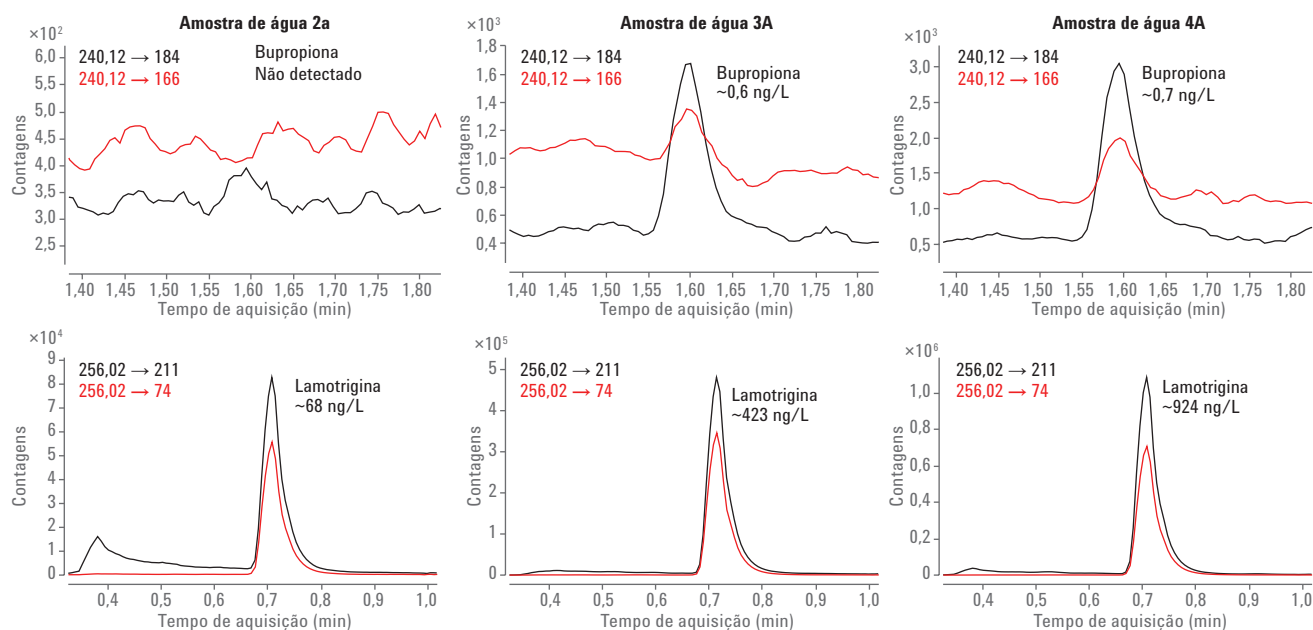


Figura 6. Exemplos de cromatogramas MRM de dois PPCPs detectados nas amostras de água de superfície analisadas.

Conclusões

Os tempos de atraso entre MRM otimizados permitiram o uso de tempos de espera curtos de 0,5 ms, com um mínimo de perda de sinal de analito.

A combinação de injetor de grande volume (LVI), UHPLC e tempos de espera MRM curtos permitiram a análise de alta produtividade de todos os 32 PPCPs em 6 minutos, com baixos limites de quantificação; uma importante consideração para a análise de água de superfície.

O método UHPLC/MS/MS de mudança de polaridade relatado nesse trabalho permite o screening rápido dos PPCPs candidatos ionizando no modo ESI positivo/negativo com alta precisão e exatidão quantitativa em amostras de água, sem a necessidade de utilizar a demorada pré-concentração de analitos SPE.

www.agilent.com/chem

Essas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc., 2016
Publicado nos EUA, 23 de dezembro de 2016
5991-7299PTBR



Agilent Technologies