

# Análise de GC/MS/MS rápida e robusta de 203 pesticidas em espinafre em 10 minutos



## Autores

Anastasia A. Andrianova,  
Bruce D. Quimby,  
e Limian Zhao  
Agilent Technologies, Inc.

## Resumo

Esta nota de aplicação descreve duas abordagens para obter uma análise de pesticida e multirresíduo robusta em 10 minutos por GC/MS/MS, mantendo resolução cromatográfica suficiente para a análise de mais de 200 pesticidas no espinafre; uma matriz fresca desafiadora com alto teor de clorofila. A primeira foi uma configuração convencional de backflush entre colunas de 15 x 15 m (0,25 mm x 0,25  $\mu$ m), usada com uma rampa de forno acelerada, resultando em um tempo de análise de 10 minutos. A segunda foi uma configuração de backflush entre colunas de 10 x 10 m (0,18 mm x 0,18  $\mu$ m) de diâmetro reduzido, permitindo um tempo de análise rápido de 10 minutos. O último método foi dimensionado com precisão usando a técnica de tradução de métodos de GC Agilent. Foi demonstrado que o backflush entre colunas permitiu a robustez do método e estendeu os períodos de operação sem manutenção do sistema, minimizando cortes da coluna e limpeza da fonte. Os resultados demonstram que os sistemas GC/MS triplo quadrupolo Agilent 7000E e 7010C entregaram excelente linearidade em uma faixa de concentração de 0,1 a 1.000 partes por bilhão (ppb). A robustez do método foi demonstrada com 700 injeções consecutivas do extrato de espinafre, com adição de pesticidas a 20 ppb, que durou mais de 175 horas de corrida contínua no GC/TQ.

## Introdução

Há uma demanda crescente por métodos mais rápidos na identificação e quantificação de resíduos químicos na análise alimentar sem sacrificar a robustez do método e o desempenho cromatográfico. Os métodos convencionais para a análise de pesticida e multirresíduos normalmente levam pelo menos 20 minutos, resultando em tempos do ciclo de amostra mais longos. Como resultado, o tempo de análise de um lote de amostras por GC/MS pode facilmente se estender por vários dias. Isso causa uma quebra no fluxo da análise de amostras e limita a produtividade do laboratório. Portanto, reduzir o tempo de análise de GC/MS irá, sem dúvida, melhorar a produtividade da análise de amostras e, eventualmente, a produtividade do laboratório. No entanto, essa redução no tempo de análise pode comprometer a robustez ou o desempenho do método de GC. Esta nota de aplicação demonstra dois métodos rápidos de GC/MS/MS usando (a) o sistema de **GC Agilent 8890 e GC/MS 7000E triplo quadrupolo** e (b) o sistema de **GC Agilent 8890 e GC/MS 7010C triplo quadrupolo**. Os métodos apresentados fornecem tempo de corrida reduzido de 10 minutos, enquanto mantém um desempenho robusto do sistema para o desafiador extrato de espinafre, sem perda de sensibilidade ou desempenho do método.

Duas configurações de backflush entre colunas no sistema de GC/TQ descritas nesta nota de aplicação apresentam tempos de análise de 10 minutos, mantendo resolução cromatográfica e seletividade de MS suficientes para a análise de 203 compostos. O método convencional de GC/MS/MS de 20 minutos foi usado como referência para as análises rápidas e otimizadas, aplicando travamento do tempo de retenção com o banco de dados de MRM de pesticidas e contaminantes ambientais (banco de dados P&EP MRM) Agilent MassHunter.

A primeira foi uma configuração convencional de backflush entre colunas de 15 x 15 m (0,25 mm x 0,25 µm), usada com uma rampa de temperatura do forno acelerada, resultando em um tempo de análise de 10 minutos.

Essa configuração não exigiu nenhuma alteração de hardware. A segunda foi uma configuração de backflush entre colunas de 10 x 10 m (0,18 mm x 0,18 µm) de diâmetro reduzido, permitindo um tempo de análise de 10 minutos. Comparado à configuração convencional de 15 x 15 m, essa configuração exigiu um novo conjunto de colunas e uma inserção do forno de GC (almofada). No entanto, a segunda configuração permitiu uma previsão mais exata dos tempos de retenção e preservou a ordem de eluição para todos os compostos testados.

Com ambos os métodos rápidos, os tempos de retenção foram previstos com exatidão usando os tempos de retenção disponíveis no banco de dados P&EP MRM.<sup>1</sup> Ao usar a técnica de tradução de método de GC e manter a mesma razão de fase da coluna, foi possível prever os tempos de retenção com exatidão e manter a ordem de eluição para os 203 pesticidas analisados com a configuração da coluna de 10 x 10 m. Para atualizar os tempos de retenção para o método de 10 minutos com a configuração convencional de 15 x 15 m, foi utilizada uma combinação de pesticidas e n-alcanos.

O backflush entre colunas em ambas as configurações de coluna melhorou a robustez do método, reduzindo a frequência de manutenção regular, como corte de coluna e limpeza da fonte. Além disso, quando usado com um injetor multimodal (MMI) com temperatura programável, a troca do liner e outros procedimentos de manutenção do injetor podem ser realizados muito mais rapidamente sem necessidade de resfriamento da linha de transferência e da fonte de MS, em comparação com uma configuração convencional, onde uma coluna conecta o injetor diretamente ao espectrômetro de massas.

Os métodos desenvolvidos foram aplicáveis na análise de pesticidas para cobrir a grande variação de limites máximos de resíduos (MRLs) para diferentes pesticidas no espinafre e fornecer excelente desempenho de calibração em uma faixa dinâmica de 0,1 a 1.000 ppb.

Para avaliar a robustez do método, foi realizado um teste de 700 injeções contínuas do extrato de espinafre com adição de pesticidas de baixo nível. O desvio padrão relativo (DPR) para a resposta de muitos analitos desafiadores foi inferior a 15% em 700 injeções. Não houve necessidade de corte da coluna, limpeza da fonte ou tune do MS durante o teste. A manutenção se limitou à troca do liner e do septo a cada 100 injeções.

## Parte Experimental

### Análise de GC/TQ

As duas configurações de coluna usadas com as combinações de GC/TQ 8890/7000E e 8890/7010C são mostradas na Figura 1.

O GC foi configurado com o amostrador líquido automático (ALS) Agilent 7693A e bandeja de 150 posicionamentos; um MMI, operado no modo de injeção splitless com temperatura programável (splitless a frio); um recurso de backflush entre colunas fornecido pelo Agilent Purged Ultimate Union (PUU) instalado entre duas colunas idênticas de 15 ou 10 m; e o módulo de dispositivo pneumático de alternância (PSD) do GC 8890. Os parâmetros operacionais do instrumento são mostrados na Tabela 1.

Os dados foram adquiridos no modo MRM dinâmico (dMRM), que permite analisar grandes ensaios com diversos analitos e quantificar com precisão picos estreitos através de uma distribuição de dwell time automatizada e eficiente.

O recurso dMRM permitiu uma análise bem-sucedida para um grande painel de 203 pesticidas com 614 transições MRM totais. O número máximo de transições MRM simultâneas com a configuração convencional de 15 x 15 m e uma análise tradicional de 20 minutos foi de 52 transições. Para a análise de 10 minutos, o número máximo de transições MRM simultâneas com a configuração convencional de 15 x 15 m e a configuração de diâmetro reduzido de 10 x 10 m foram 127 e 83, respectivamente (Figura 2). Além disso, o dMRM permite que o analista adicione e remova analitos com facilidade. O uso do banco de dados

MRM de P&EP aumentou a facilidade e a velocidade de configuração de um método dMRM direcionado.

O Agilent MassHunter Workstation revisão 10.1 e 10.2, incluindo os pacotes de software MassHunter Acquisition 10.2 para sistemas GC/MS, software de análise qualitativa MassHunter 10.1 e software de análise quantitativa MassHunter 10, foram usados neste trabalho.

O desempenho da calibração foi avaliado usando uma série de padrões de calibração de matrizes combinadas variando de 0,1 a 1.000 ppb 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 250, 500, e 1.000 ppb (p/v). O kit de multirresíduos de pesticidas de GC contendo 203 compostos (Restek, Bellefonte, PA, EUA), regulamentado pelo FDA, USDA e outras agências governamentais globais, foi usado para preparar padrões de calibração de matrizes combinadas. O  $\alpha$ -BHC-d6, em uma concentração final de 20 ppb no vial, foi usado como padrão interno para quantificação dos pesticidas-alvo (kit

Agilent Bond Elut QuEChERS IS padrão número 6; part number PPS-610-1). Um fator de ponderação de 1/x foi aplicado a todas as curvas de calibração.

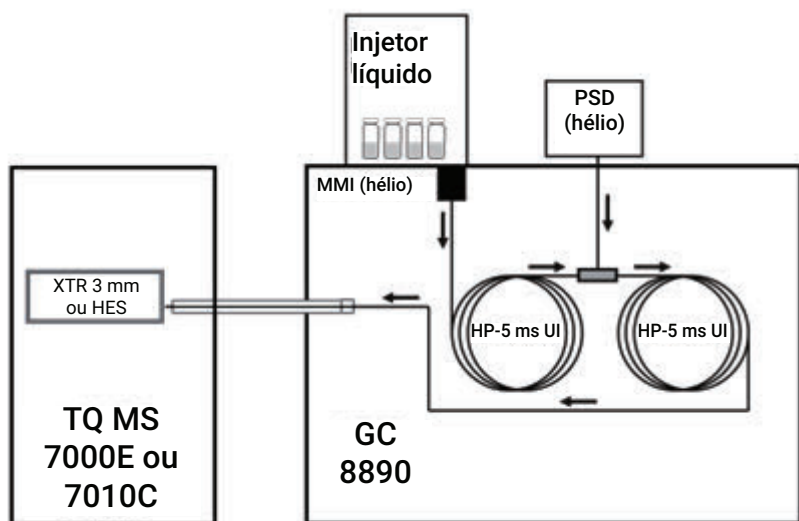
### Travamento do tempo de retenção para os métodos de 10 minutos

O travamento do tempo de retenção permite que uma nova coluna ou instrumento apresentem tempos de retenção que correspondam exatamente ao banco de dados MRM ou a um método existente, permitindo que os métodos sejam facilmente transferidos de um instrumento para outro e entre instrumentos globalmente. Isso simplifica a manutenção do método e a configuração do sistema. Os tempos de retenção para a análise convencional de pesticidas de 20 minutos são fornecidos pelo banco de dados MRM de P&EP. O mesmo fluxo de coluna para GC no qual a análise de 20 minutos foi travada com o banco de dados MRM de P&EP foi usado com o método de 10 minutos com a configuração convencional 15 x 15 m. Isso resultou no

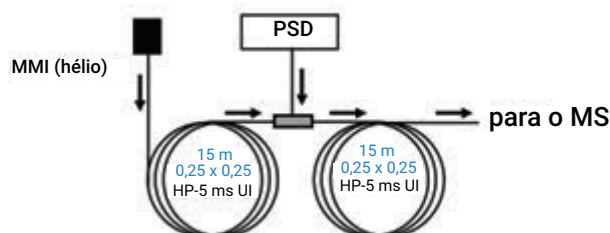
novo travamento do tempo de retenção para clorpirifós-metil em 5,520 minutos. Para atualizar os tempos de retenção para o restante dos analitos, uma combinação de pesticidas e n-alcenos foi usada para prever os tempos de retenção do novo método com base nos tempos de retenção para um método de 20 minutos do banco de dados MRM de P&EP.

A análise de 10 minutos usando a configuração 10 x 10 m com diâmetro reduzido foi dimensionada com precisão usando a ferramenta de tradução de métodos, proporcionando um ganho de velocidade de 2. O tune aprimorado do método permitiu uma melhor correspondência entre os tempos de retenção previstos e observados para toda a faixa de eluição dos 203 pesticidas, resultando em um deslocamento de 0,09 minutos. Novos tempos de retenção (RT) foram calculados usando a seguinte equação:

$$RT_{\text{novo}} = RT_{\text{antigo}} \div 2 + 0,09 \text{ minutos.}$$



Configuração do backflush entre colunas para 15 x 15 m convencional:



Configuração do backflush entre colunas para 10 x 10 m com diâmetro reduzido:

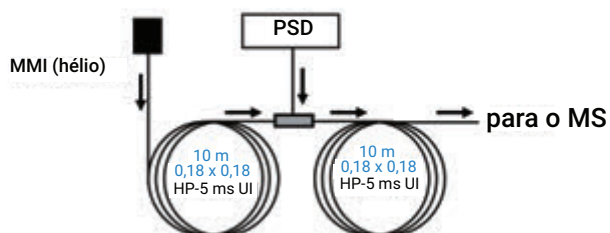


Figura 1. O sistema de GC/TQ Agilent com as duas configurações de backflush entre colunas utilizadas (direita).

**Tabela 1.** Condições do sistema GC Agilent 8890 e GC/TQ série 7000 e GC Agilent 8890 e GC/TQ 7010C que permitiram a análise de pesticidas em 10 minutos.

GC		
GC Agilent 8890 (forno de 220 V) com forno rápido, amostrador automático e bandeja		
Injetor	Injetor multimodal (MMI)	
Modo	Splitless a frio	
Fluxo de purga para split vent	60 mL/min em 0,75 min	
Fluxo de purga do septo	3 mL/min	
Modo de fluxo de purga do septo	Alternado	
Volume de injeção	1,0 µL	
Tipo de injeção	Padrão	
Airgap L1	0,2 µL	
Economia de gás	Ligado em 30 mL/min após 3 min	
Temperatura do injetor	60 °C para 0,1 min, então até 280 °C a 600 °C/min	
Temperatura do injetor pós-corrida	310 °C	
Fluxo total pós-corrida	25 mL/min	
Gás de arraste	Hélio	
Liner do injetor	Liner com fenda de 2 mm Agilent Ultra Inert	
Part number do liner do injetor	5190-2297	
Forno		
	Com 15 x 15 m	Com 10 x 10 m
Temperatura inicial do forno	60 °C	60 °C
Tempo de espera inicial do forno	1 min	0,5 min
Taxa de aumento 1	80 °C/min	80 °C/min
Temp final 1	170 °C	170 °C
Tempo de espera final 1	0 min	0 min
Taxa de aumento 2	35 °C/min	20 °C/min
Temp final 2	310 °C	310 °C
Tempo de espera final 2	3,625 min	1,125 min
Tempo de corrida total	10 min	10 min
Tempo pós-corrida	1,5 min	1,5 min
Tempo de equilíbrio	0,25 min	0,25 min
		Inserção do forno (almofada) de alta velocidade

Coluna 1		
	Com 15 x 15 m	Com 10 x 10 m
Tipo	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert
Part number Agilent	19091S-431UI-KEY	Coluna personalizada <sup>2</sup>
Comprimento	15 m	10 m
Diâmetro	0,25 mm	0,25 mm
Espessura do filme	0,25 µm	0,25 µm
Modo de controle	Fluxo constante	Fluxo constante
Fluxo	1,016 mL/min	1,3 mL/min
Conexão de entrada	Injetor multimodal (MMI)	Injetor multimodal (MMI)
Conexão de saída	PSD (PUU)	PSD (PUU)
Fluxo de purga do PSD	5 mL/min	5 mL/min
Fluxo pós-corrida (Backflush)	-7,873	-3,174
Coluna 2		
	Com 15 x 15 m	Com 10 x 10 m
Tipo	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert
Part number Agilent	19091S-431UI-KEY	Coluna personalizada <sup>2</sup>
Comprimento	15 m	10 m
Diâmetro	0,25 mm	0,25 mm
Espessura do filme	0,25 µm	0,25 µm
Modo de controle	Fluxo constante	Fluxo constante
Fluxo	1,216 mL/min	1,5 mL/min
Conexão de entrada	PSD (PUU)	PSD (PUU)
Conexão de saída	MSD	MSD
Fluxo pós-corrida (Backflush)	8,202	3,290

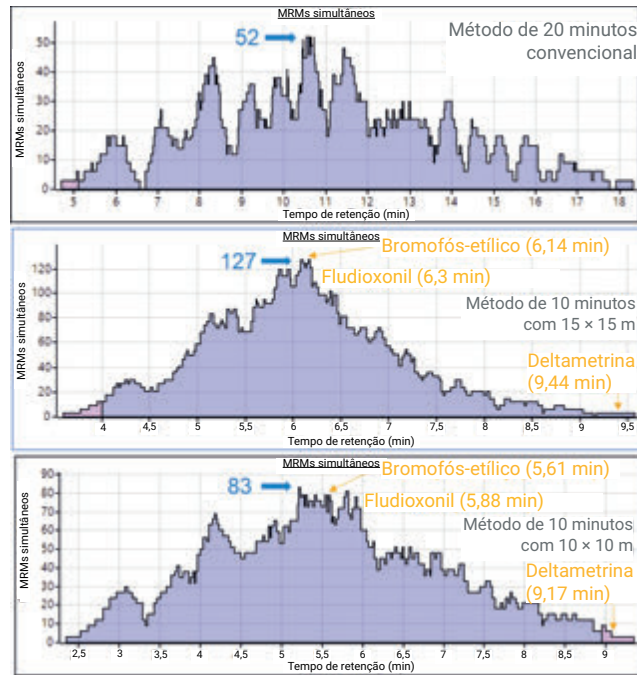
  

MSD		
Modelo	GC/MS Agilent série 7000 (7000D e 7000E) ou 7010C triplo quadrupolo	
Fonte	Fonte de extração inerte com lente de 3 mm ou HES	
Bomba de vácuo	Desempenho turbo	
Arquivo de tune	Atunes.eiex.jtune.xml ou Atunes.eihs.jtune.xml	
Delay de solvente	3 min	
Temperatura quad (MS1 e MS2)	150 °C	
Temperatura da fonte	280 °C	
Modo	dMRM	
Gás quench He	2,25 mL/min	
Gás de colisão N <sub>2</sub>	1,5 mL/min	
Estatísticas de MRM		
	Com 15 x 15 m	Com 10 x 10 m
Total de MRMs (modo dMRM)	614	614
Dwell time mínimo	2,33 ms	3,99 ms
Tempo de ciclo mínimo	167,86 ms	110,38 ms
Máximo de MRMs simultâneos	127	83
Modo de ganho de tensão EM	10	10

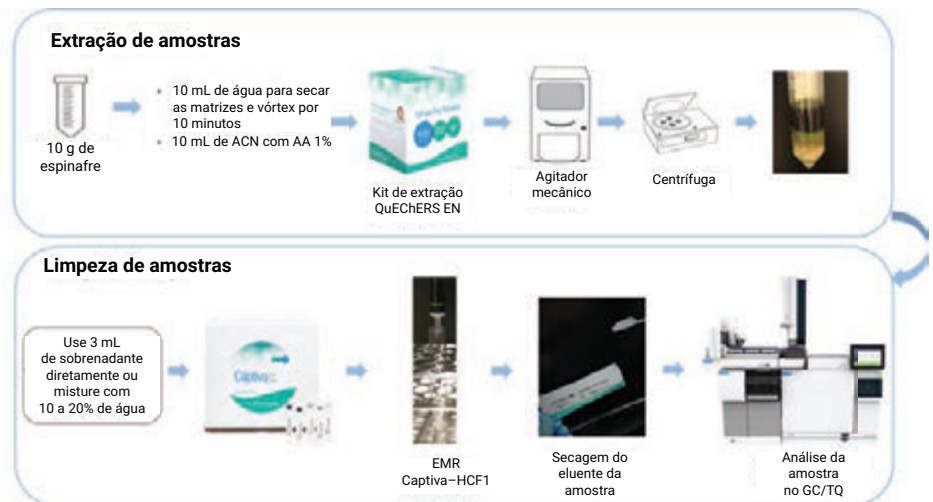
## Preparo de amostras

Um fluxo de trabalho de preparo de amostras é mostrado na Figura 3. O preparo de amostras incluiu duas etapas principais: extração de amostras pela extração AOAC tradicional, seguida pela limpeza por permeabilidade de remoção avançada de matriz (EMR) Captiva. O cartucho EMR Agilent Captiva para matriz fresca com alto teor de clorofila, com NH<sub>2</sub> (EMR Captiva-HCF1), foi usado para a matriz fresca com alto teor de clorofila (espinafre). O novo fluxo de trabalho de preparo de amostras demonstra um procedimento simplificado com melhoria na remoção de matriz de amostras e na qualidade de dados de quantificação de compostos de interesse.

Conforme mostrado na Figura 3, as amostras foram extraídas inicialmente usando o kit de extração tradicional Agilent Bond Elut QuEChERS EN (part number 5982-5650CH). Espinafre fresco homogeneizado (10 g) foi usado para extração. Foram adicionados então 10 mL de ACN com ácido acético 1%, seguidos de extração. Após a extração, 3 mL de extrato bruto foram transferidos para um cartucho EMR Captiva-HCF1 (part number 5610-2088) para limpeza por permeabilidade. O eluente da amostra foi coletado e seco usando MgSO<sub>4</sub> anidro, (part number 5982-0102). As amostras estavam então prontas para análise no GC/TQ. O manifold de pressão positiva com 48 processadores Agilent (PPM-48; part number 5191-4101) foi usado para o processamento de limpeza por permeabilidade do EMR Captiva.



**Figura 2.** A distribuição de 614 transições dMRM na análise de pesticida convencional de 20 minutos, na análise de 10 minutos com a configuração convencional de 15 x 15 m e no método de 10 minutos com a configuração de coluna 10 x 10 m de diâmetro reduzido.



**Figura 3.** Fluxograma de preparo de amostras, incluindo extração AOAC Agilent tradicional, seguida de limpeza por permeabilidade EMR Captiva Agilent.

## Resultados e discussão

### Mantendo a resolução cromatográfica na análise de 10 minutos de mais de 200 pesticidas

As configurações de backflush entre colunas de GC apresentadas, incluindo as configurações convencionais de 15 x 15 m e de diâmetro reduzido de 10 x 10 m, permitiram a análise em 10 minutos de 203 pesticidas com três transições MRM adquiridas para cada composto. A Figura 4 demonstra que a resolução cromatográfica com o método rápido de 10 minutos foi amplamente mantida com a configuração convencional de 15 x 15 m (Figura 4A) e completamente preservada com a configuração de diâmetro reduzido de 10 x 10 m (Figura 4B). A técnica de tradução de métodos de GC usada para transferir o método para a configuração 10 x 10 m permitiu preservar a ordem de eluição relativa dos compostos.

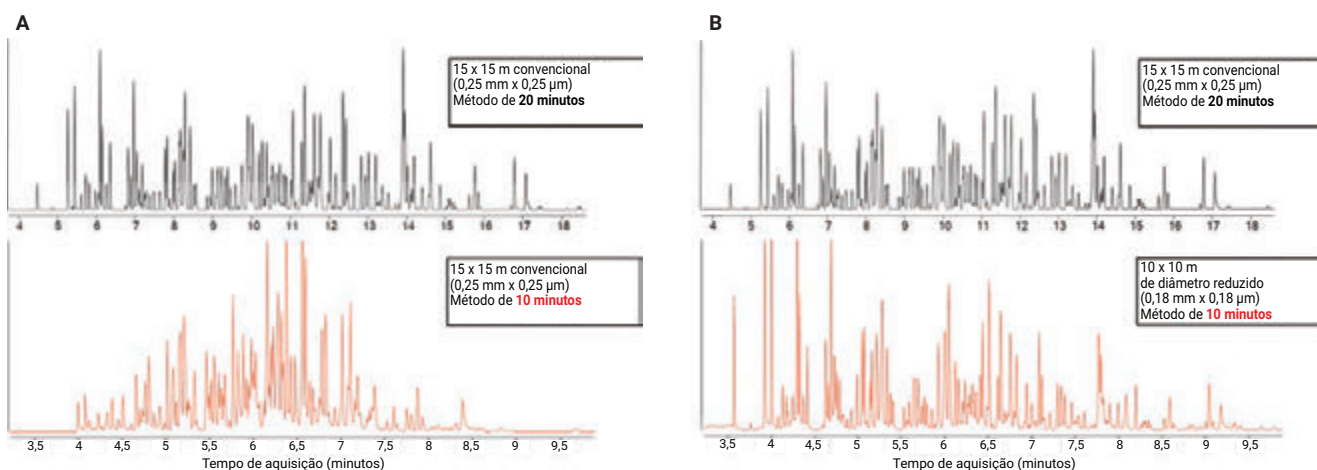
### Sensibilidade e desempenho da calibração em uma ampla faixa dinâmica nas separações de 10 minutos

A sensibilidade do método observada nas diferentes configurações de coluna e nas separações de 10 minutos foi comparável à observada com o método convencional de 20 minutos. Ambos os métodos de 10 minutos com as configurações de coluna de 15 x 15 m e 10 x 10 m permitiram

detectar todos os pesticidas de interesse abaixo de seus MRLs regulamentados, até mesmo para os compostos mais desafiadores. Por exemplo, a deltametrina é um composto desafiador para GC/MS, mas demonstrou ser quantificada com precisão no espinafre até 0,1 ppb com o GC/TQ 7010C e de 1 a 5 ppb com o GC/TQ série 7000 (Figura 5A). Embora a deltametrina não tenha um MRL estabelecido no espinafre, ela é regulamentada em diversos outros produtos alimentares, incluindo os vegetais dos grupos 8 e 9 e subgrupos IB e IC, apresentando MRLs de 40 a 300 ppb.<sup>3</sup> As faixas de calibração observadas com o GC/TQ 7010 e o GC/TQ série 7000 permitem que os analistas atendam às suas necessidades analíticas para a análise de deltametrina em várias matrizes alimentares.

Embora a deltametrina seja conhecida por ser desafiadora para a análise por GC/MS, sua eluição ao final da análise de 10 minutos resulta em poucas transições MRM simultâneas. Devido a essas poucas transições MRM simultâneas, os MRMs monitorados para deltametrina têm mínimos de dwell time para MRM relativamente longos (acima de 50 ms), mesmo com os métodos rápidos de 10 minutos (Figura 2). Por outro lado, o fludioxonil, um fungicida com um MRL estabelecido de 10 ppb no espinafre<sup>4</sup>, elui durante um segmento populoso dos métodos MRM com 120 e 80 transições

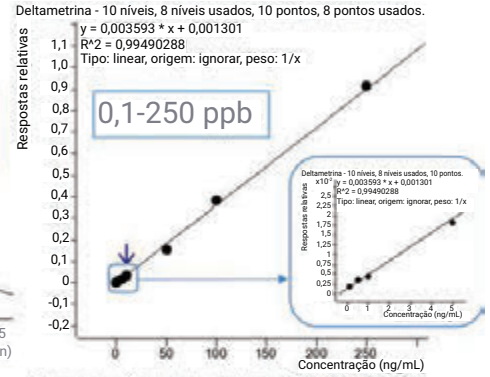
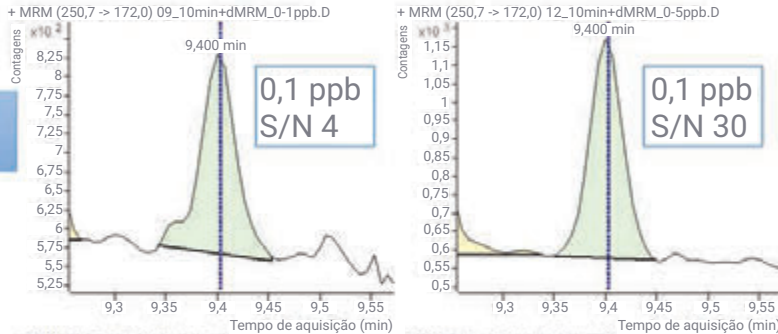
MRM simultâneas nas configurações de método 15 x 15 m e 10 x 10 m, respectivamente. Apesar dos mínimos de dwell time para MRM relativamente curtos de 3 e 4,9 ms com as duas configurações, o fludioxonil foi quantificado com precisão até 0,1 ppb com os sistemas GC/TQ 7010C e série 7000 com pelo menos dez pontos de dados no pico (Figura 5B). O GC/TQ 7010C equipado com a fonte de alta eficiência (HES) demonstrou sensibilidade superior comparado ao GC/TQ série 7000. Ela conferiu quantificações precisas abaixo de 0,1 ppb, embora isso não tenha sido exigido neste trabalho, já que os MRLs para pesticidas regulamentados na maioria dos produtos alimentares pela US EPA não exigem quantificação abaixo de 0,1 ppb. Da mesma forma, o bromofós-etílico eluiu em uma janela de tempo de retenção populosa com alto número de transições MRM simultâneas monitoradas, levando a um mínimo de dwell time para MRM curto de 2,7 e 4,7 ms com as configurações 15 x 15 m e 10 x 10 m, respectivamente. O bromofós-etílico apresenta tolerâncias recomendadas que variam de 20 a 2.000 ppb em vários produtos alimentares.<sup>5</sup> As Figuras 5B e 5C demonstram que fludioxonil e bromofós-etílico foram quantificados de forma precisa em uma ampla faixa de concentração de 0,1 a 1.000 ppb com excelente sensibilidade e linearidade na desafiadora matriz do espinafre e pelo menos nove pontos de dados no pico.



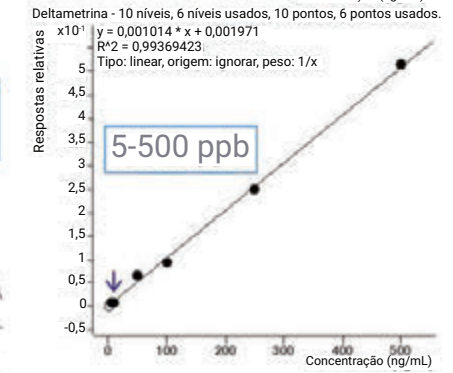
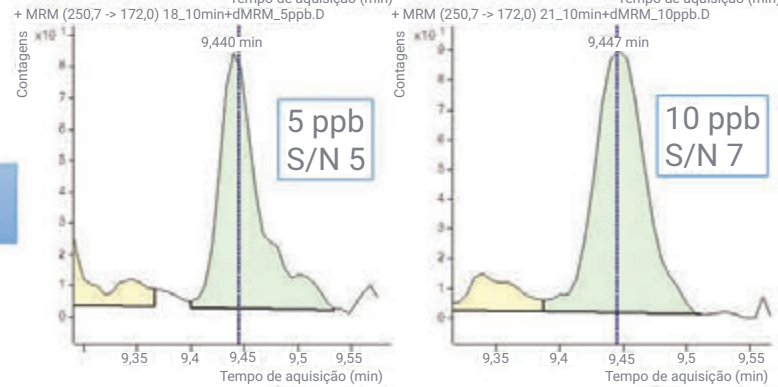
**Figura 4.** Cromatogramas de íons totais (TIC) do MRM para uma mistura de 203 pesticidas adquiridos com (A) a configuração convencional de 15 x 15 m e (B) com a configuração 10 x 10 m de diâmetro reduzido.

# A) Deltametrina

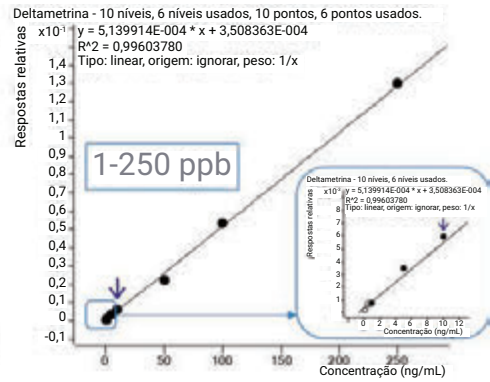
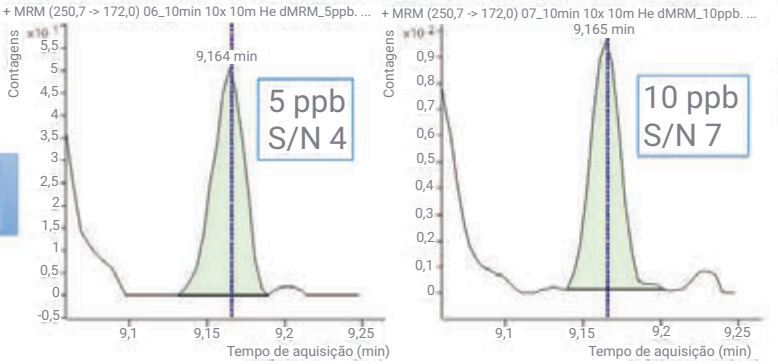
7010C  
15 x 15 m



7000E  
15 x 15 m

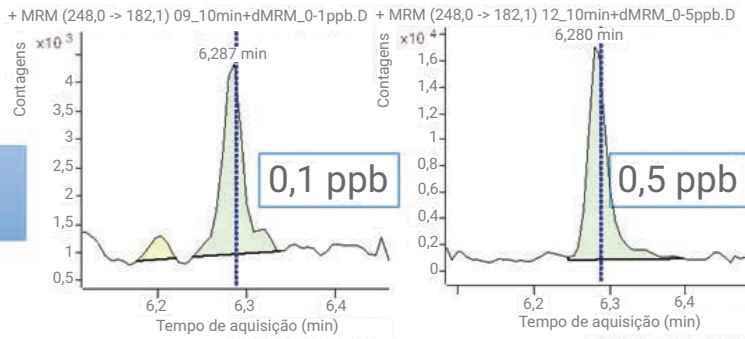


Série 7000  
10 x 10 m

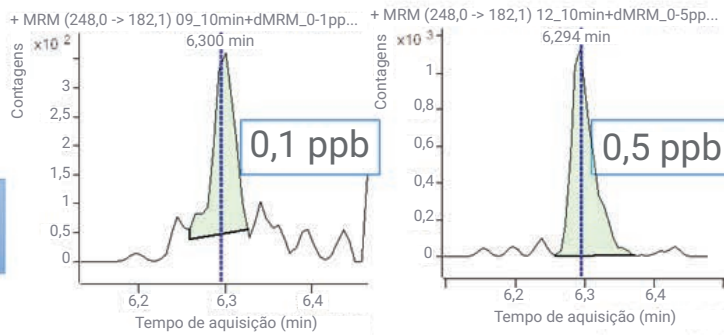


## B) Fludioxonil

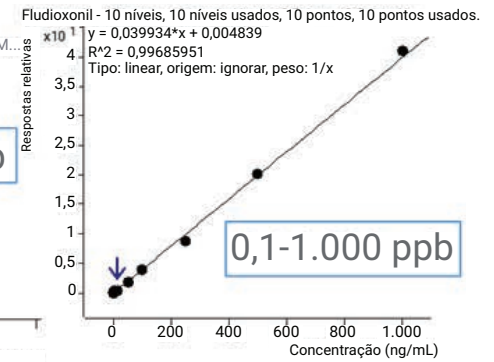
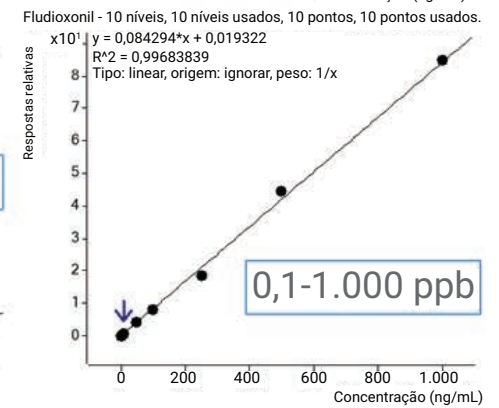
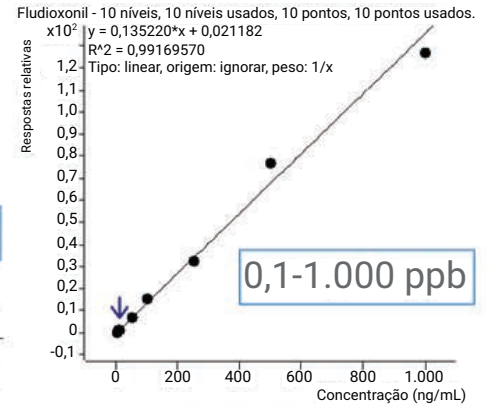
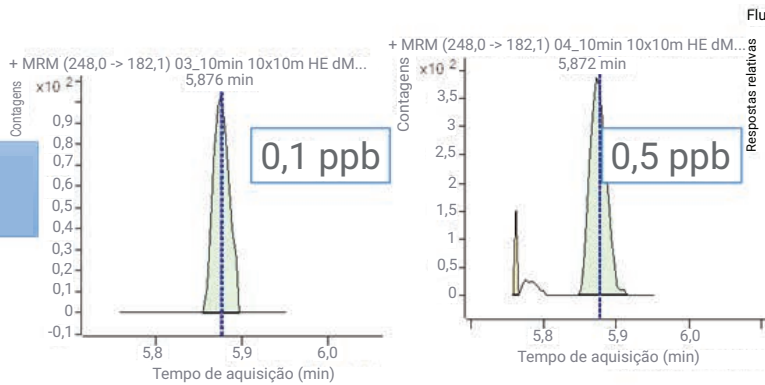
7010C  
15 x 15 m



7000E  
15 x 15 m

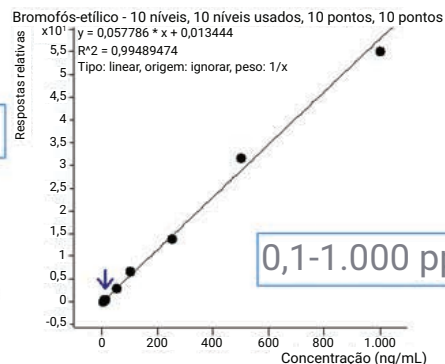
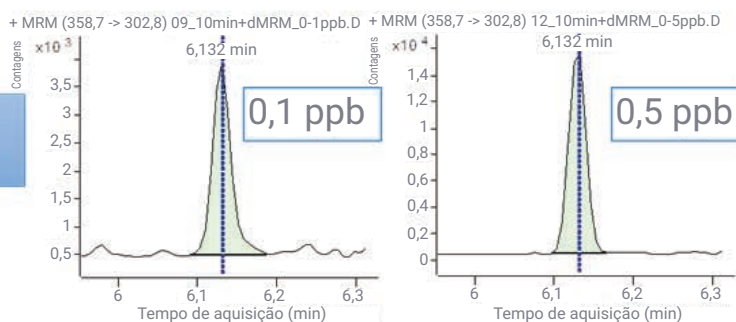


Série 7000  
10 x 10 m

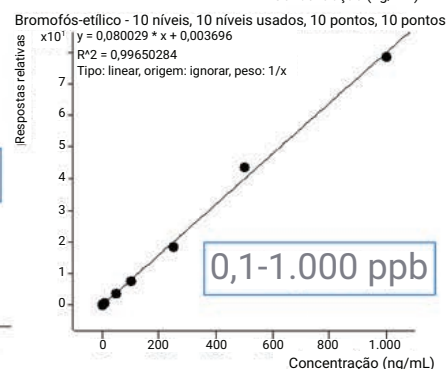
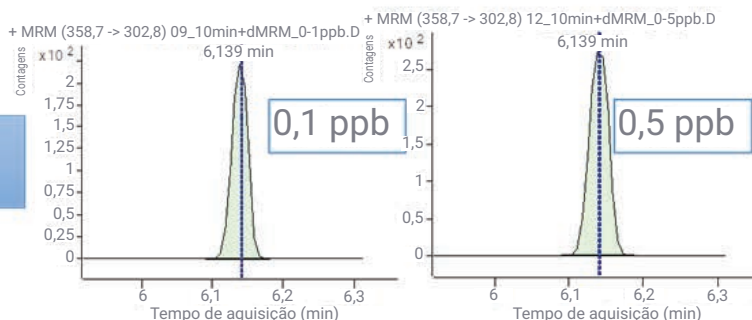


### C) Bromofós-etílico

7010C  
15 x 15 m



7000E  
15 x 15 m



Série 7000  
10 x 10 m

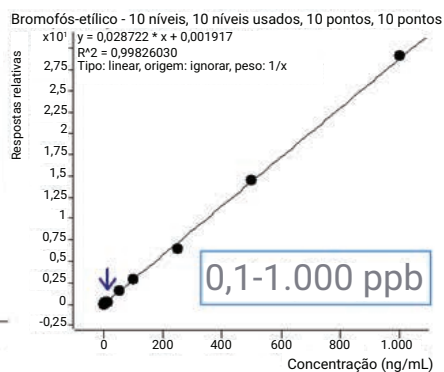
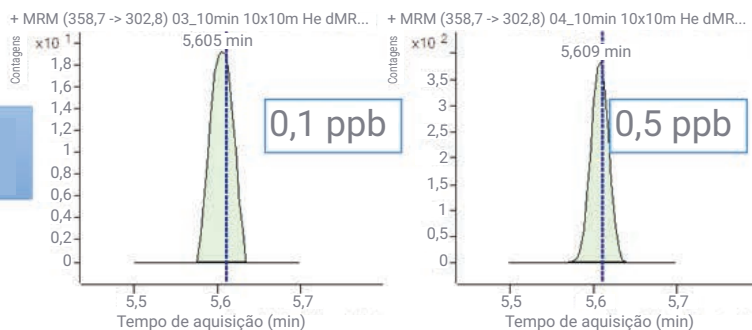


Figura 5. Cromatogramas MRM e curvas de calibração de matrizes combinadas do espinafre para (A) deltametrina, (B) fludioxonil e (C) bromofós-etílico observados com diferentes configurações de coluna e separações de 10 minutos usando o sistema GC/MS Agilent 7010C e série 7000 triplo quadrupolo.

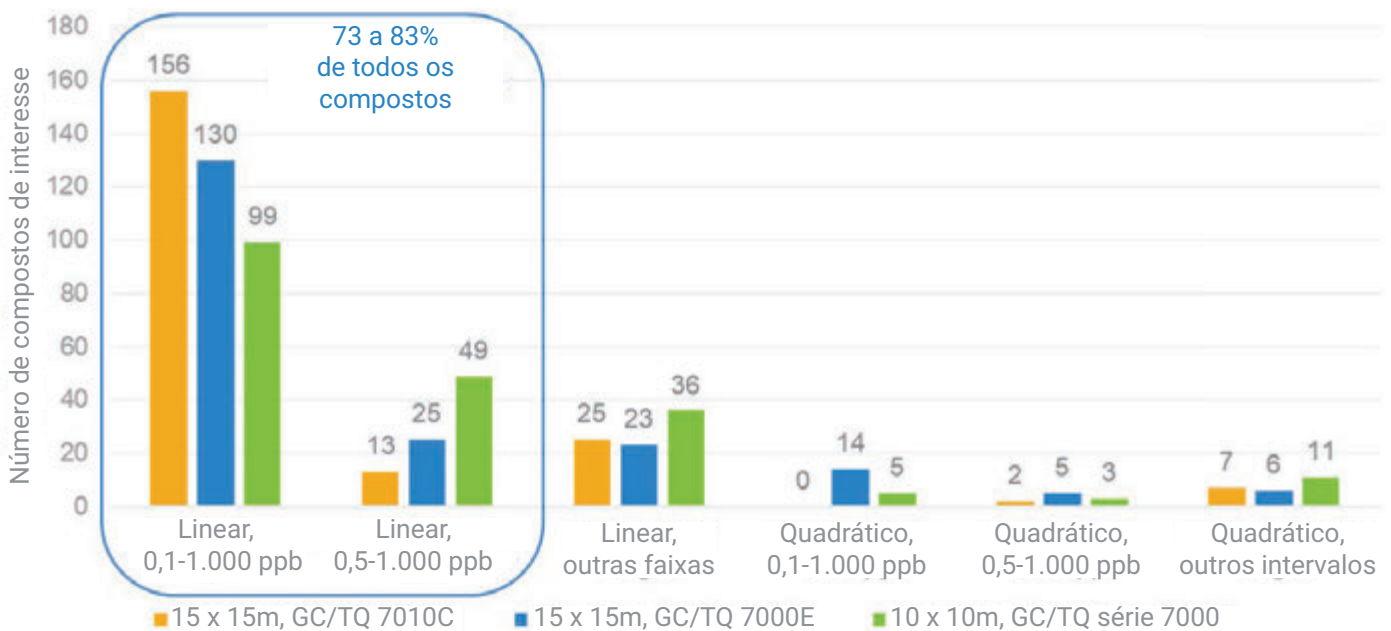
O maior desafio com a análise de pesticida e multirresíduos é que os MRLs estabelecidos para os pesticidas variam significativamente entre diferentes produtos alimentares. Isso pode exigir uma reanálise não desejada de amostras caso os intervalos de calibração do método não incluam todos os MRLs para os compostos de interesse. É desejável que haja uma ampla faixa de calibração dinâmica para que o método de quantificação mais genérico possa ser usado para analisar diferentes pesticidas em vários produtos

e alimentos e para simplificar o pré-tratamento da amostra antes da detecção do instrumento, como a necessidade de diluição adicional. A Figura 6 resume o desempenho de calibração para os 203 pesticidas que foram analisados no espinafre com as separações de 10 minutos usando a configuração convencional de 15 x 15 m com o GC/TQ 7010C e 7000E, e a configuração de 10 x 10 m com diâmetro reduzido com o GC/TQ série 7000. O gráfico mostra o

número de compostos com o coeficiente de correlação de calibração  $R^2 > 0,99$ , usando diferentes ajustes de regressão (linear ou quadrático), nas diferentes faixas de calibração.

A maioria dos compostos-alvo apresentaram curvas de calibração lineares em uma ampla faixa de 0,1 a 1.000 ppb ou de 0,5 a 1.000 ppb, permitindo quantificação confiável nos vários MRLs estabelecidos para diferentes compostos.

### Número de compostos com $R^2 > 0,99$ e suas faixas de calibração com o GC/TQ série 7000 e 7010C usando duas configurações de coluna com separações de 10 minutos



**Figura 6.** Desempenho de calibração para os 203 pesticidas no espinafre com o método de 10 minutos usando a configuração convencional de 15 x 15 m com os sistemas de GC/MS Agilent 7010C e 7000E triplo quadrupolo e a configuração de diâmetro reduzido de 10 x 10 m com o GC/MS Agilent série 7000 triplo quadrupolo. O gráfico mostra o número de compostos e seus intervalos de calibração.

### Robustez do método com 700 injeções de extrato de espinafre

A robustez da análise de 10 minutos foi demonstrada analisando um extrato de espinafre desafiador e altamente pigmentado, com adição de pesticidas em 20 ppb. A área dos analitos foi monitorada ao longo de 700 injeções consecutivas.

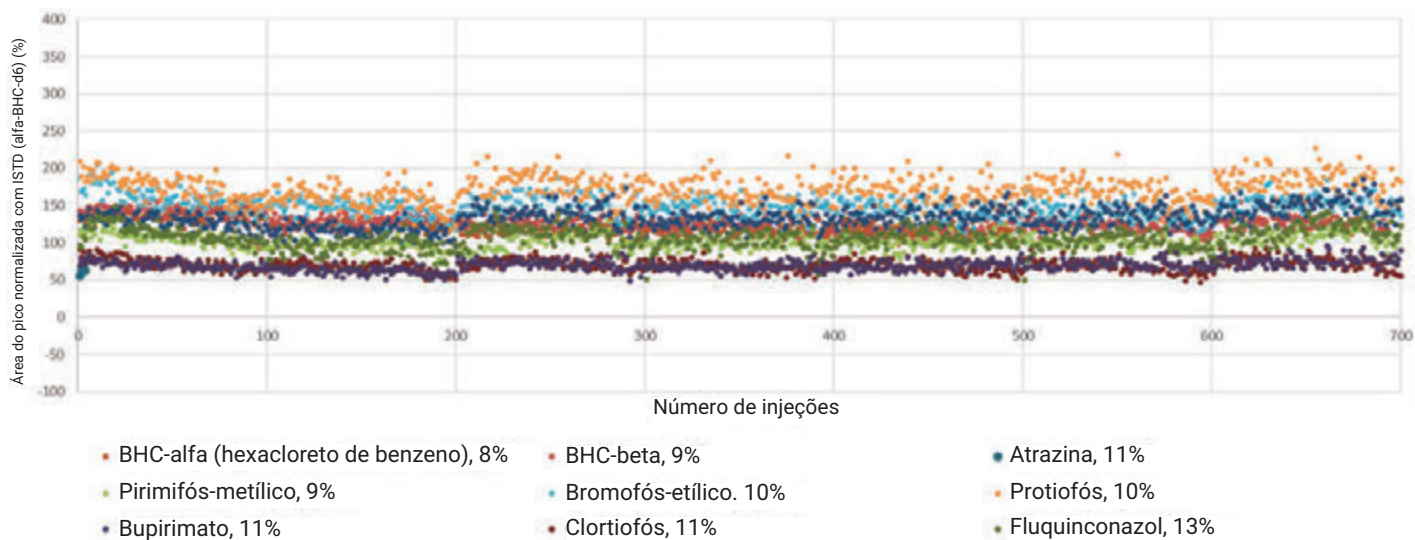
A resposta do analito, normalizada pelos padrões internos (ISTD), permaneceu consistente durante mais de 700 injeções ao longo de mais de 175 horas de corrida contínua com o método de 10 minutos, usando a configuração de coluna convencional de 15 x 15 m acoplada ao GC/TQ 7000E. O único procedimento de manutenção realizado durante o teste de robustez envolveu a substituição do septo e do liner a cada 100 injeções.

Não houve necessidade de realizar limpeza do injetor, cortes da coluna para GC, limpeza da fonte do MS, ou tune do MS durante todo o estudo que envolveu mais de 1.000 injeções (700 injeções para o teste de robustez e análises adicionais realizadas para avaliação e calibração do sistema).

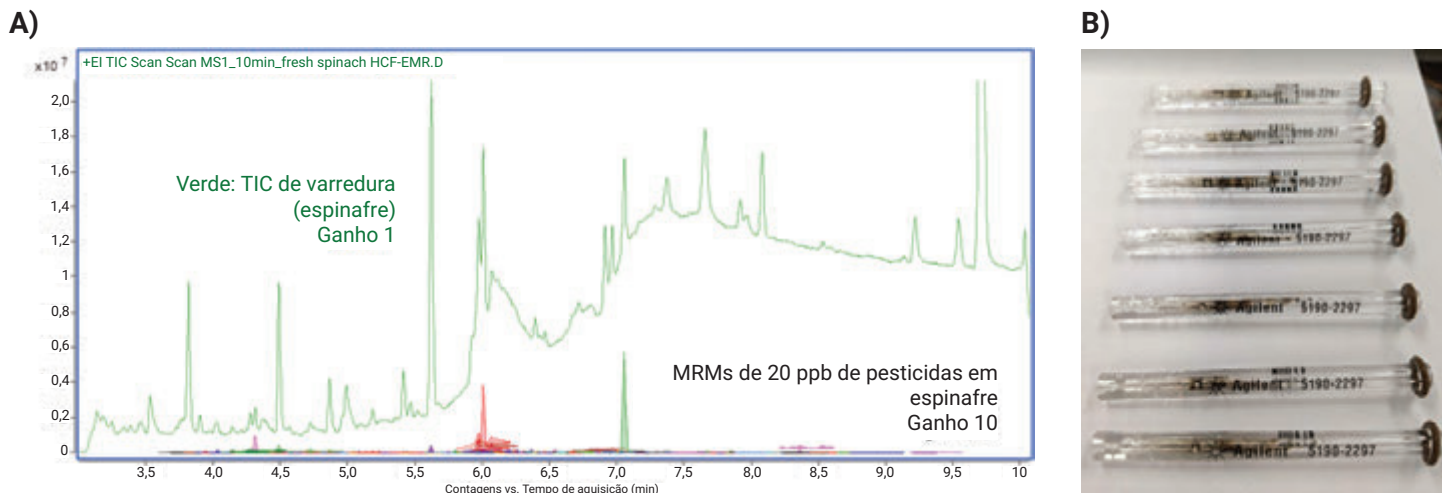
Os princípios importantes para uma análise de pesticidas bem-sucedida e robusta com desempenho estável de GC/TQ para mais de 700 injeções estão descritas na nota de aplicação 5994-4965PTBR.<sup>6</sup> As práticas recomendadas usadas neste trabalho incluem:

- Preparo de amostras simplificado e aprimorado alcançado com a nova e aprimorada limpeza por permeabilidade EMR Captiva após a extração AOAC tradicional.

- Avaliação do carregamento de matriz na fonte no modo de aquisição de dados de varredura completa.
- Backflush pós-corrida habilitado com backflush entre colunas para as configurações convencional de 15 x 15 m e de diâmetro reduzido de 10 x 10 m.
- Sistema de GC/TQ sem vazamentos garantido pelas porcas da coluna com autoajuste e colar e pelas anilhas de metal flexível revestidas em ouro CFT.
- Uso do MMI com temperatura programável e liner Ultra Inert com fenda de 2 mm (sem lã de vidro).



**Figura 7.** Estabilidade da área do pico com adição de pesticidas em 20 ppb no extrato de espinafre, normalizado pelo ISTD, para mais de 700 injeções consecutivas. Análise de 10 minutos usando a configuração de coluna convencional de 15 x 15 m acoplada ao GC/MS Agilent 7000E triplo quadrupolo.



**Figura 8.** (A) TIC de um cromatograma de varredura completa adquirido para extrato de espinafre e o TIC do MRM para pesticidas em 20 ppb. (B) Liners do injetor de GC substituídos após 100 injeções na análise do extrato de espinafre durante a avaliação de robustez.

O extrato de espinafre altamente pigmentado selecionado para o teste de robustez apresentou sinal de fundo (background) relativamente alto no modo de aquisição de dados de varredura completa, conforme mostrado na Figura 8A, em comparação com a abundância do sinal MRM para pesticidas em 20 ppb. Os liners substituídos após 100 injeções, com sete substituições durante o estudo de robustez, são mostrados na Figura 8B. Isso indica que o extrato de espinafre realmente representa um desafio para a análise de GC/MS e, portanto, foi uma matriz adequada para avaliação de desempenho de robustez.

## Conclusão

Esta nota de aplicação descreveu duas configurações do sistema de GC/TQ com backflush entre colunas que permitiram a análise robusta de pesticidas em 10 minutos, mantendo resolução cromatográfica suficiente para os 203 compostos. As configurações de backflush entre colunas convencional de 15 x 15 m (0,25 mm x 0,25 µm)

e de diâmetro reduzido de 10 x 10 m (0,18 mm x 0,18 µm) foram usadas para atingir um tempo de análise de 10 minutos. Os resultados demonstram que foi alcançada uma excelente linearidade em uma faixa dinâmica de calibração de 0,1 a 1.000 ppb ou 0,5 a 1.000 ppb com os sistemas GC/MS Agilent 7010C e série 7000 triplo quadrupolo. A robustez do método foi comprovada com 700 injeções consecutivas de extrato de espinafre com adição de pesticidas em 20 ppb.

## Referências

1. O banco de dados de MRM de pesticidas e contaminantes ambientais Agilent MassHunter (P&EP 4.0). G9250AA. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms/gc-ms-application-solutions/gc-ms-ms-pesticides-analyzer>
2. As colunas de GC personalizadas Agilent estão disponíveis para pedidos em <https://explore.agilent.com/individual-column>
3. 40 CFR § 180.435 - Deltamethrin; tolerances for residues. [https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.435#:~:text=\(2\)%20A%20tolerance%20of%200.05,establishments%20or%20as%20a%20wide](https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.435#:~:text=(2)%20A%20tolerance%20of%200.05,establishments%20or%20as%20a%20wide). Acessado em 22 de abril de 2022.
4. Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity), US EPA. 12 de dezembro de 2012. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-01/documents/tolerances-commodity.pdf>. Acessado em 28 de abril de 2022.
5. IPCS INCHEM. <https://incchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v072pr04.htm>. Acessado em 28 de abril de 2022.
6. Andrianova, A; Zhao, L. Cinco práticas para alcançar o desempenho máximo na análise de mais de 200 pesticidas em matrizes alimentares desafiadoras por GC/MS/MS, *Nota de aplicação da Agilent Technologies*, número de publicação 5994-4965PTBR, **2022**.

## Apêndice 1

Compostos analisados neste trabalho e seus tempos de retenção observados com configurações de duas colunas e separações de 10 minutos.

Nome	Tempo de retenção (min)		Nome	Tempo de retenção (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Alidocloro	3,773	2,542	BHC-gama (Lindano, HCH gama)	5,201	4,174
Diclorobenzonitrila, 2,6-	3,972	2,720	Pirimetanil	5,222	4,246
Bifenil	4,055	2,812	Teflutrina	5,223	4,310
Mevinfós, E-	4,110	2,901	Fonofós	5,225	4,223
3,4-Dicloroanilina	4,193	2,954	Pentacloronitrobenzeno	5,227	4,210
Pebulato	4,223	3,006	Pentaclorobenzonitrila	5,247	4,228
Etridiazole	4,246	3,016	Disulfotom	5,273	4,312
N-(2,4-dimetilfenil)formamida	4,305	3,091	Isazofos	5,285	4,361
cis-1,2,3,6-Tetra-hidroftalimida	4,312	3,090	Terbacil	5,285	4,323
Metacrifós	4,321	3,129	Trialato	5,322	4,379
Chloroneb	4,375	3,171	BHC-delta	5,330	4,351
2-Fenilfenol	4,444	3,228	Clorotalonil	5,350	4,392
Pentaclorobenzeno	4,495	3,276	Propanil	5,463	4,570
Propacloro	4,702	3,546	Éter endosulfan	5,466	4,523
Tecnazeno	4,712	3,547	Transflutrina	5,476	4,658
Difenilamina	4,734	3,582	Dimetacloro	5,477	4,596
Cicloato	4,757	3,626	Pentacloroanilina	5,482	4,552
Clorprofame	4,769	3,656	Acetocloro	5,502	4,641
2,3,5,6-Tetracloroanilina	4,793	3,633	Vinclozolina	5,503	4,654
Trifluralina	4,798	3,724	Parationa metilica	5,526	4,668
Benfluralina	4,811	3,740	Clorpirifós-metil	5,526	4,668
Etalfluralina	4,812	3,670	Tolclofós-metil	5,559	4,710
Sulfotep	4,869	3,789	Alaclor	5,564	4,725
Dialato I	4,928	3,846	Propisocloro	5,579	4,765
Forato	4,932	3,852	Metalaxil	5,583	4,763
BHC-beta	5,010	4,115	Ronnel	5,614	4,791
BHC-alfa (hexacloreto de benzeno)	5,011	3,918	Prodiamina	5,622	4,871
Hexaclorobenzeno	5,069	3,987	Heptacloro	5,630	4,763
Atrazina	5,072	4,048	Pirimifós-metilico	5,650	4,892
Dicloran	5,072	3,998	Fenitrotiona	5,676	4,891
Pentacloroanisol	5,083	4,013	Malation	5,696	4,962
Clomazone	5,122	4,092	Linurom	5,708	4,927
Profluralina	5,123	4,156	Diclofluanida	5,745	4,980
Terbutilazina	5,155	4,163	Pentaclorotioanisol	5,767	4,972
Terbufós	5,173	4,178	Aldrina	5,768	5,061
Propizamida	5,175	4,188	Fentiona	5,779	5,057
Diazinon	5,191	4,244	Metolacloro	5,783	5,046
Flucloralina	5,199	4,261	Clorpirifós	5,790	5,075

Nome	Tempo de retenção (min)		Nome	Tempo de retenção (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Paration	5,793	5,081	Clorfenson	6,275	5,784
Triadimefon	5,811	5,100	Nonacloro, trans-	6,279	5,787
DCPA (Dacthal, Clortal-dimetil)	5,829	5,124	Dieldrina	6,279	5,955
Antraquinona	5,831	5,053	Fludioxonil	6,294	5,876
Diclorobenzofenona, 4,4'-	5,840	5,110	Protiofós	6,300	5,844
Pirimifós-etílico	5,869	5,241	Oxadiazona	6,303	5,920
MGK-264	5,881	5,315	Pretilacloro	6,303	5,895
Isopropalina	5,898	5,267	Iodofenós	6,304	5,828
Fenson	5,902	5,194	Profenofós	6,312	5,877
Difenamida	5,908	5,235	Oxifluorfenó	6,314	5,960
Bromofós	5,918	5,237	DDE-p,p'	6,342	5,906
Ciprodinil	5,941	5,314	Bupirimato	6,361	6,014
Pendimetalina	5,975	5,356	Miclobutanil	6,364	5,970
Clozolinato	5,976	5,378	Clorfenapir	6,365	6,122
Aletrina	5,979	5,393	Flusilazol	6,370	5,995
Triflumizol	5,979	5,473	Fluazifop-p-butil	6,388	6,090
Fipronil	5,993	5,431	DDD-o,p'	6,404	5,990
Penconazol	5,998	5,375	Triciclazol	6,412	5,932
Metazaclor	5,999	5,358	Endrin	6,423	6,153
Clorfenvinfós	6,016	5,436	Etilan	6,453	6,121
Heptacloro exo-epóxido	6,016	5,402	Nitrofenó	6,477	6,101
Isodrin	6,018	5,319	Clorbenzilato	6,506	6,189
Captano	6,020	5,472	Etiona	6,571	6,315
Tolilfluanida	6,026	5,413	DDD-p,p'	6,582	6,280
Bromfenvinfos-metílico	6,036	5,436	DDT-o,p'	6,582	6,318
Quinalfós	6,047	5,463	Clortiofós	6,587	6,338
Triadimenol	6,053	5,476	Endosulfan I (isômero beta)	6,603	6,235
Procimidona	6,090	5,515	Triazofós	6,644	6,428
Folpeto	6,127	5,513	Sulprofós	6,659	6,420
Paclobutrazol	6,137	5,653	Nonacloro, cis-	6,667	6,341
Chlorbenseide	6,137	5,549	Carfentrazona-etílica	6,668	6,509
Bromofós-etílico	6,139	5,609	Metoxiclorolefina	6,702	6,519
DDE-o,p'	6,176	5,631	Endrin aldeído	6,709	6,402
Tetraclorvinfos	6,181	5,680	Carbofenotion	6,726	6,513
Clordano-trans	6,187	5,610	Norflurazon	6,754	6,576
Clordano-cis	6,196	5,744	Edifenfós	6,786	6,566
Fenamifós	6,227	5,797	Lenacil	6,787	6,588
Flutolanil	6,233	5,801	DDT-p,p'	6,805	6,615
Bromfenvinfós	6,252	5,800	Iprodiona	6,826	6,947
Flutriafol	6,255	5,764	Metoxicloro, o,p'-	6,846	6,703
Endosulfan I (isômero alfa)	6,274	5,724	Sulfato de endosulfan	6,852	6,610

Nome	Tempo de retenção (min)		Nome	Tempo de retenção (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Butóxido de piperonila	6,854	6,788	Acrinatrina	7,415	7,607
Propargita	6,856	6,760	Leptofós	7,417	7,413
Resmetrina	6,857	6,756	Pirazofós	7,556	7,660
Hexazinona	6,861	6,708	Fenarimol	7,631	7,641
Tebuconazol	6,886	6,739	Mirex	7,636	7,533
Captafol	6,890	6,805	Piraclofós	7,645	7,728
Nitralin	6,913	6,862	Azinfos-etílico	7,675	7,700
Bifentrina	7,044	7,057	Permetrina, (1R)-cis-	7,785	7,901
Piridafentiona	7,048	7,004	Permetrina, (1R)-trans-	7,842	7,962
Tetrametrina I	7,052	6,999	Piridabeno	7,916	7,980
Fenpropratrina	7,106	7,121	Cumafós	7,964	8,028
Bromopropilato	7,109	7,061	Floquinconazol	7,964	8,023
EPN	7,112	7,061	Procloraz	7,988	8,058
Tebuftenpirada	7,130	7,152	Ciflutrina I	8,157	8,184
Metoxicloro, p,p'-	7,131	7,111	Cipermetrina I	8,250	8,339
Fosmete	7,135	7,054	Flucitrinato I	8,359	8,444
Endrin cetona	7,189	7,033	Acequinocil	8,409	8,534
Fenotrina I	7,230	7,243	Etofenproxi	8,431	8,485
Azinfos-metílico	7,330	7,405	Fluridone	8,708	8,662
Tetradifona	7,330	7,305	Fenvalerato I	8,881	8,799
Cialotrina (lambda)	7,334	7,438	Fluvalinato-tau I	8,970	8,894
Piriproxifeno	7,358	7,406	Deltametrina	9,444	9,166
Fosalona	7,389	7,387			

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE13474802

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2022  
 Impresso nos EUA, 29 de setembro de 2022  
 5994-4967PTBR