

Análise de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em alimentos

Usando GC/MS/MS triplo quadrupolo com gases de arraste hélio ou hidrogênio

Guia de seleção de aplicações de consumíveis



Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) tendem a se bioacumular em alimentos gordurosos, como peixe, carne, óleo e leite, e são extremamente tóxicos, mesmo em baixas concentrações.¹ A Food and Drug Administration (FDA) dos EUA requer a análise dos PAHs em níveis baixos de partes por bilhão em frutos do mar.² A União Europeia regulamenta uma série de PAHs encontrados em matrizes alimentares e fornece parâmetros específicos para alimentos processados à base de cereais e alimentos infantis destinados a lactentes e crianças pequenas.³

Isolando analitos da matriz alimentar

Um dos desafios da análise de PAHs em matrizes de alimentos gordurosos é a extração dos analitos dentre a enorme quantidade de lipídios encontrados na matriz desses alimentos. A limpeza de passagem de lipídios Agilent Captiva com remoção avançada de matriz (EMR) é a mais simples de implementar e a mais eficiente na remoção da matriz de amostra. A sua interação seletiva com as cadeias de hidrocarbonetos não ramificados de lipídios a torna ideal para análise multiclasses e multirresíduos em matrizes de alimentos gordurosos.^{4,6}

A GC/MS fornece seletividade e sensibilidade altas para níveis de traço de PAHs em matrizes complexas. Apesar de o hélio geralmente ser considerado o melhor gás de arraste para análises de GC/MS, a sua escassez recorrente aumentou a demanda pelo uso do hidrogênio como gás de arraste. O hidrogênio é um gás reativo e pode potencialmente causar reações químicas no injetor, na coluna e, às vezes, na fonte de EI de MS, o que pode alterar os resultados da análise. A fonte HydroInert Agilent é uma fonte extratora recentemente projetada para GC/MSD que trata desses problemas e melhora o desempenho com gás de arraste H₂ em GC/MS. Um método usando o gás de arraste H₂ no GC Agilent 8890 e no GC/MSD 5977 foi usado para determinar PAHs em baixas concentrações no leite infantil, atendendo às normas da UE para análise de PAH em alimentos.⁴

Fatores a serem considerados ao usar hidrogênio em vez de hélio como gás de arraste

Os PAHs são compostos relativamente duráveis e, portanto, podem ser analisados com gás de arraste de hidrogênio ao usar o método otimizado e seguir as recomendações descritas nestas notas de aplicação para evitar caudas no pico.⁷⁻⁹







Tabela 1. Fatores importantes a serem considerados ao usar hidrogênio como gás de arraste.

Consideração	Descrição
Gás hidrogênio	O hidrogênio interno, com especificação de pureza de 99,9999% e baixos níveis de especificações individuais em água e oxigênio, é recomendado como gás de arraste. É essencial usar uma fonte confiável de gás hidrogênio limpo. Para o uso a longo prazo, são recomendados os geradores com uma especificação >99,9999% e baixas especificações individuais na água e no oxigênio. Os filtros de umidade são recomendados para uso com geradores de hidrogênio. Para o uso a curto prazo, são aceitáveis os cilindros com hidrogênio cromatográfico ou de nível de pesquisa.
Injeção splitless pulsada	Usado para maximizar a transferência dos PAHs, especialmente os pesados, do injetor de GC para a coluna.
Liner do injetor	Foi relatado que o liner do injetor de frit média Ultra Inert universal Agilent oferece um bom formato do pico, inércia e longevidade. A frit transfere calor para os PAHs e bloqueia o acesso direto para a base do injetor. Caso os PAHs se condensem na base do injetor, ficam difíceis de vaporizar e varrer de volta para a coluna.
Dimensões de coluna	Duas colunas Agilent J&W DB-EUPAH (20 m × 0,18 mm de diâmetro interno, 0,14 µm) são recomendadas para manter o fluxo de gás ideal e a pressão de entrada na configuração de backflush.
Módulo PSD 8890 e backflush entre colunas	O módulo pneumático GC Agilent 8890 é um dispositivo pneumático de alternância (PSD), otimizado para aplicações de backflush e fornece injeções pulsadas contínuas. A capacidade de reversão do fluxo é fornecida pelo Agilent Purged Ultimate Union (PUU). O PUU é um T posicionado, neste caso, entre duas colunas idênticas de 20 m. Durante a análise, um pequeno fluxo makeup de gás de arraste do módulo PSD 8890 é necessário para limpar a conexão. Durante o backflush, o fluxo makeup do PSD precisa ser aumentado para um valor muito maior, para varrer os contaminantes de alto ponto de ebulição para trás da primeira coluna e para frente da segunda.
Fonte de EI HydroInert	A fonte Agilent HydroInert é um substituto para a fonte extratora quando o transportador de hidrogênio é usado. É construída com materiais que reduzem consideravelmente as reações indesejáveis na fonte para manter a fidelidade espectral quando usada com hidrogênio. Como se sabe, os PAHs apresentam desafios únicos em relação à fonte de EI de MS, mesmo com hélio como gás de arraste. ¹⁰ Com o gás de arraste hidrogênio, o desempenho dos PAHs é melhorado, especialmente com a fonte HydroInert. A lente extratora de 9 mm é o padrão incluído com a fonte HydroInert e a melhor escolha para análise de PAH ^{11,12} , pois fornece a melhor linearidade de calibração, exatidão de resposta e formato do pico.
Gás de colisão	Somente o nitrogênio deve ser usado como gás de colisão em GC/TQ quando o hidrogênio for o gás de arraste. A conexão do injetor de hélio da cela de colisão deve ser tampada. O fluxo ideal de gás nitrogênio é de 1,5 mL/min. Esse fluxo também se mostrou ideal em trabalhos anteriores sobre PAHs com o gás de arraste hidrogênio. ⁹
MS/MS	A seletividade adicionada do modo MRM em GC/TQ simplifica a revisão de dados de matriz com alto teor de sólidos totais dissolvidos em relação ao GC/MS, reduzindo ou eliminando respostas interferentes da matriz. As respostas interferentes geralmente exigem integração manual de íons quantificadores ou qualificadores.

Separando isômeros de PAH

Um dos desafios da análise de PAHs é separar os isômeros de PAH por cromatografia, pois eles possuem a mesma estrutura química. Os espectrômetros de massas não conseguem distinguir facilmente esses isômeros devido ao seu peso molecular idêntico. Tanto o regulamento relativo a PAH4 quanto o relativo a PAH mais amplo (15+1) da UE incluem pares críticos que coeluem e são difíceis de resolver por GC com espectrômetros de massa. A seleção da coluna para GC adequada para PAHs depende do objetivo da análise. A Tabela 2 mostra como as colunas recomendadas podem resolver impurezas comuns e PAHs alimentares considerados críticos.

Tabela 2. PAHs considerados críticos: SCF (PAH15+1), JECFA (PAH13), CONTAM (PAH8).

Lista de analitos	DB-EUPAH ^{*,13-15}	Select PAH ^{*,16-17}	DB-5ms UI ^{*,16}
Benzo[a]antraceno	x	x	x
Ciclopenta[c,d]pireno	x	x	x
Trifenileno (impureza)		x	
Criseno	Coeluição	x	Coeluição
Benzo[b]fluoranteno	x	x	
Benzo[j]fluoranteno	x	x	Coeluição
Benzo[k]fluoranteno	x	x	x
Benzo[a]pireno	x	x	x
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	x	x	x
Dibenzo[a,h]antraceno	x	x	x
Benzo[g,h,i]perileno	x	x	x
Dibenzo[a,e]pireno	x	x	x
Coroneno (impureza)	x	x	x
Dibenzo[a,h]pireno	x	x	x
Dibenzo[a,i]pireno	x	x	x
Dibenzo[a,l]pireno	x	x	x
5-metilcriseno	x	x	x
Benzo(c)fluoreno	x	x	x
Tempo total de análise	<28 min¹⁶	<45 min¹⁷	<22 min¹⁶
Temperatura operacional máxima	320 a 340°C	325 a 350°C	325 a 350°C
Resultados na atividade	Maior especificidade de PAH 	Maior especificidade de PAH 	Versatilidade 
	Economia 	Produtividade 	Produtividade 
Critério de seleção	<ul style="list-style-type: none"> – Melhor escolha ao resolver trifenileno: criseno não é crítico 	<ul style="list-style-type: none"> – Quantificação precisa de todos os 16 PAHs da EPA – Seletividade única resolve todos os isômeros – Apenas a coluna que separa o criseno do trifenileno, se presente 	<ul style="list-style-type: none"> – Opção econômica – Excelente para a maioria dos métodos da EPA em que menos isômeros de PAH precisam ser reportados

*x = separação na linha de base completa

Discriminação de peso molecular

A discriminação de peso molecular é outro desafio que pode ocorrer se:

- a temperatura da porta de injeção estiver muito baixa (<300 °C) e houver vaporização incompleta da amostra no injetor, ou
- o tempo de espera da injeção splitless não estiver otimizado para transferir eficazmente toda a amostra para a cabeça da coluna analítica, ou
- for escolhido o liner do injetor incorreto. Em termos cromatográficos, isso será observado como uma resposta mais baixa dos PAHs de maior peso molecular.

Recomendações para evitar a discriminação de peso molecular e outras melhores práticas para otimizar a análise de PAH por GC/MS ou GC/MS/MS:^{10,18}

- Volume de injeção: 1 a 2 µL
- Injetor, temperatura da linha de transferência e da fonte de MS: 320 °C. Temperaturas abaixo de 300 °C resultarão em caudas do PAH. Mantenha as zonas aquecidas bem isoladas e quentes para reduzir o potencial de pontos frios do sistema e perda de sinal resultante.
- Tempo de ativação de purga: splitless de 45 a 90 segundos
- Liner splitless de 4 mm com frit média ou lã de vidro. A frit e a lã dentro do liner transferem calor para os PAHs e bloqueia a linha de visão para a base do injetor. Caso os PAHs se condensem na base do injetor, ficam difíceis de vaporizar e varrer de volta para a coluna. Os liners com frit de vidro são alternativas superiores à lã de vidro, pois eliminam o risco de quebra da lã ou movimento do liner.
- Injeção splitless pulsada entre 20 a 50 psi por 0,9 min para transferir os PAHs de alto ponto de ebulição para a coluna. A "armadilha fria" na fase líquida é frequentemente aplicada para analitos de ponto de ebulição e peso molecular mais elevados, como PAHs para injeções de tipo splitless/PTV/MMI. Uma temperatura inicial do forno de 75 °C geralmente fornece formatos do pico de boa qualidade para muitos solventes de amostra.

- Use um diâmetro interno de 0,15/0,18 mm. Colunas para GC de alta eficiência para tempos de análise menores sem perda de resolução.
- Reduza o mínimo de dwell time para MRM do injetor (e do sistema) operando em fluxos de coluna mais altos sem comprometer a sensibilidade do detector seletivo de massas. Execute a análise em modo de fluxo constante.
0,15 mm: 1,2 mL/min He
0,18 e 0,25 mm: 1,2 a 1,4 mL/min He
Nota: Embora as colunas para GC de diâmetro interno de 0,18 mm e 0,25 mm possam lidar com vazões mais altas, haverá diminuição da sensibilidade da MS. Exceder 1,5 mL/min não é recomendado para a fonte HES.
- Use colunas de retenção e/ou backflush para eliminar carryover da amostra, reduzir a manutenção e reduzir os tempos de ciclo de análise.
- Use a Fonte de íons autolimpante JetClean Agilent para reduzir substancialmente a necessidade de limpeza manual da fonte, especialmente com matriz com alto teor de sólidos totais dissolvidos. A limpeza contínua da fonte com hidrogênio (0,33 mL/min) demonstrou melhoraria significativa na linearidade de calibração e na exatidão da resposta ao longo do tempo na análise de PAHs.
- Uma lente extratora de 9 mm minimiza as superfícies disponíveis para deposição dos PAHs e é a lente padrão incluída na fonte HydroInert, otimizada para uso com hidrogênio. Essa é a melhor escolha para análise de PAH, porque proporciona a melhor linearidade de calibração, exatidão de resposta e formato do pico.
- Deixe os padrões de PAH atingirem a temperatura ambiente antes de diluir ou preparar as misturas de calibração, uma vez que os PAHs de maior peso molecular podem "cair" da solução durante o armazenamento refrigerado.

Referências

1. Honda, M., Suzuki, N., Toxicities of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for Aquatic Animals, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, 17(4), 1363
2. U.S. Food and Drug Administration, 2010, accessed July 2020, [Protocol for Interpretation and Use of Sensory Testing and Analytical Chemistry Results for Re-opening Oil-Impacted Areas closed to Seafood Harvesting due to the Deepwater Horizon Oil Spill](#).
3. The European Commission, Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 Amending Regulation (EC) No 1881/2006 as Regards Maximum Levels for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foodstuffs, *Official Journal of the European Union*, L 215/4, rev 08.2011.
4. Extraction and Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Infant Formula Using Agilent Captiva Emr-Lipid Cartridges by GC/MS with Hydrogen Carrier Gas, [5994-5560EN](#)
5. Determination of 19 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds in Salmon & Beef Using Captiva EMR-Lipid Cleanup by GC/MS/MS, [5994-0553EN](#)
6. Determination of 14 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds in Edible Oil, [5994-1483EN](#)
7. Analysis of PAHs Using GC/MS with Hydrogen Carrier Gas and the Agilent HydroInert Source, [5994-5711EN](#)
8. GC/MS/MS Analysis of PAHs with Hydrogen Carrier Gas Using the Agilent HydroInert Source in a Challenging Soil Matrix, [5994-5776EN](#)
9. Optimized PAH Analysis Using Triple Quadrupole GC/MS with Hydrogen Carrier, [5994-2192EN](#)
10. Optimized GC/MS/MS Analysis for PAHs in Challenging Matrices Using the Agilent 8890/7000D Triple Quadrupole GC/MS with Jet Clean and Midcolumn Backflush, [5994-0498EN](#)
11. Anderson, K. A. *et al.* Modified Ion Source Triple Quadrupole Mass Spectrometer Gas Chromatograph for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Chromatog. A* **2015**, 1419, 89–98. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.09.054
12. Quimby, B. D. *et al.* In-Situ Conditioning in Mass Spectrometer Systems. *US* 8,378,293, **2013**.
13. Increased Reproducibility in the Analysis of EU and EPA PAHs with the Agilent J&W Select PAH GC Column and Agilent Intuvo 9000 GC System, [5994-0877EN](#)
14. GC/MS Analysis of European Union (EU) Priority Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Using an Agilent J&W DB-EUPAH GC Column with a Column Performance Comparison, [5990-4883EN](#)
15. Analysis of European Union Polyaromatic Hydrocarbons (EUPAH) with Agilent 8890GC, [5994-0485EN](#)
16. PAH Analysis with High Efficiency GC Columns: Column Selection and Best Practices, [5990-5872EN](#)
17. Separation of 54 PAHs on an Agilent J&W Select PAH GC Column, [SI-02232](#)
18. Optimized GC/MS Analysis for PAHs in Challenging Matrices Using the 5977 Series GC/MSD with JetClean and Midcolumn Backflush, [5994-0499EN](#)

Fácil seleção e informações para pedidos

Para adquirir os itens listados nas tabelas abaixo na Agilent Online Store, adicione itens à sua lista de Produtos favoritos clicando nos links do cabeçalho MyList #. Em seguida, insira as quantidades de produtos que precisa, adicione-os em "Adicionar ao carrinho" e prossiga para a finalização. A sua lista permanecerá em Produtos favoritos para uso em pedidos futuros.

Caso seja a sua primeira vez usando Produtos favoritos, será solicitado que você digite o seu endereço de e-mail para verificar a sua conta. Se você tiver uma conta Agilent existente, poderá fazer login. No entanto, se não tiver uma conta Agilent registrada, é necessário se registrar para obter uma. Esse recurso é válido apenas nas regiões onde o e-commerce está habilitado. Todos os itens também podem ser solicitados através dos canais regulares de vendas e distribuidores.

MyList (Minha lista) de produtos de preparo de amostras

Descrição	Part No.
Salmão, carne bovina, fórmula infantil	
Pacotes de sais de extração AOAC, método original (amostras de 10 g), sem tubos de centrifuga, 50/pacote	5982-6550
Captiva EMR-Lipid, cartuchos de 3 mL, com 300 mg de massa de sorvente, 100/pacote	5190-1003
Óleos de oliva, semente de uva, abacate e amêndoa	
Captiva EMR-Lipid, cartuchos de 6 mL, com 600 mg de massa de sorvente, 100/pacote	5190-1004
Bond Elut Jr PSA, 500 mg	12162042B
Consumíveis de preparo de amostras	
Homogeneizadores cerâmicos, tubos de 15 mL, 100/pacote	5982-9312
Tubo e tampa de centrifuga, polipropileno, 15 mL, 25/pacote	5610-2039
Tubo e tampa de centrifuga, polipropileno, 50 mL, 25/pacote	5610-2049
Manifold de pressão positiva Agilent com 48 processadores (PPM-48)*	5191-4101
Rack de coleta, tubos de 16 x 100 mm, para PPM-48*	5191-4108
Rack de coleta, vials de amostrador automático de 12 x 32 mm, para PPM-48*	5191-4109
Rack de cartuchos SPE, 3 mL para PPM-48*	5191-4103
Rack de cartuchos SPE, 6 mL para PPM-48*	5191-4104

*Compra única.

MyList (Minha lista) de Padrões**

Descrição	Part No.
Kit de amostras de calibração do analisador de PAH da Agilent	G3440-85009
Mistura de padrões internos de PAH deuterados, padrões internos	5191-4509

**Acesse www.agilent.com/chem/standards para obter padrões personalizados.



MyList (Minha lista) de colunas para GC

Descrição	Part No.
Coluna Agilent J&W DB-EUPAH, 20 m x 0,18 mm x 0,14 µm (Quant.: 2, recomendado ao usar hidrogênio como gás de arraste)	121-9627
Coluna Agilent J&W Select PAH, 30 m x 0,25 mm, 0,15 µm	CP7462
Coluna Agilent J&W Select PAH, 15 m x 0,15 mm, 0,10 µm	CP7461
Coluna Agilent J&W DB-5ms UI 20 m x 0,18 mm, 0,18 µm	121-552UI
Tubulação de sílica fundida inerte, 5 m, 0,15 mm	160-7625-5



MyList (Minha lista) de fonte HydroInert na transição para o gás de arraste H₂

Descrição	Part No.
Conjunto completo da fonte HydroInert para 5977	G7078-67930
Conjunto completo da fonte HydroInert para TQ 7000	G7006-67930
Atualização da fonte HydroInert para GC/MSD, contém peças necessárias para atualizar uma fonte 5977A/B/C Inert Plus já existente	5505-0083
Atualização da fonte HydroInert para GC/TQ, contém peças necessárias para atualizar uma fonte 7000C/D/E Inert Plus já existente	5505-0084
Kit de instalação para GCs, aço inoxidável, contém tubulação em aço inoxidável de 1/8", conexões, trap universal grande com conexões de aço inoxidável e kit de ferramentas	19199S



MyList (Minha lista) de consumíveis para GC

Descrição	Part No.
Liner do injetor Agilent, Ultra Inert, split, queda de pressão baixa, lâ de vidro (recomendado para gás hidrogênio)	5190-2295
Liner do injetor Agilent, Ultra Inert, splitless, cone único, lâ de vidro	5190-2293
Septo Advanced Green, antiaderente, 11 mm, 50/pacote	5183-4759
Selo do injetor do GC, revestido em ouro com arruela, Ultra Inert, 1/pacote	5190-6144
Conjunto Purged Ultimate Union	G3186-80580
Anilha de metal flexível CFT Ferrule Flex Gold, revestida em ouro, diâmetro interno de 0,4 mm, para tubulação de sílica fundida de 0,1 a 0,25 mm de diâmetro interno	G2855-28501
Seringa ALS, Blue Line, 10 µL, agulha fixa, 23-26/42/cone, êmbolo com ponteira de PTFE	G4513-80203
Anilha, diâmetro interno de 0,4 mm, 15% grafite/85% Vespel, coluna de 0,1 a 0,25 mm, 10/pacote	5181-3323
Porca para coluna com ajuste automático, com colar, injetor	G3440-81011
Porca para coluna com ajuste automático, com colar, MSD	G3440-81013



MyList (Minha lista) de consumíveis para MS

Descrição	Part No.
Filamento para EI (para 7000A/B/C/D, 5977B Inert Plus, extrator 5977A, inerte ou aço inoxidável e sistemas 5975)	G7005-60061
Filamento de HES para GC/MS 7010 triplo quadrupolo	G7002-60001
Placa de descarga, 9 mm, inerte	G3440-20022
Placa de descarga, 9 mm, fonte extratora* (para gás de arraste hélio)	G3870-20449



*G3870-20449 inclui uma placa de descarga de 3 mm. Para aplicações PAH, substitua pela placa de descarga de 9 mm P/N G3440-20022.

MyList (Minha lista) de filtros para limpeza da linha de gases

Descrição	Part No.
Kit de gases de arraste para limpeza da linha de gases para 8890 e 8860	CP179880
Cartucho de reposição para purificador de gases de arraste para limpeza da linha de gases	CP17973
Kits de filtro para limpeza da linha de gases para Intuvo	CP17995



MyList (Minha lista) de armazenamento de amostras

Descrição	Part No.
Vial rosqueável A-Line, 2 mL, âmbar, área para identificação, 100/pacote Tamanho do vial: 12 x 32 mm (tampa de 12 mm)	5190-9590
Tampa, rosqueável, azul, septo de PTFE/silicone vermelho, 100/pacote Tamanho da tampa: 12 mm	5182-0717



MyList (Minha lista) de colunas para GC Intuvo

Descrição	Part No.
Coluna Agilent J&W DB-EUPAH Intuvo, 20 m x 0,18 mm, 0,14 µm	121-9627-INT
Coluna Agilent DB-UI8270D Intuvo, 30 m x 0,25 mm, 0,25 µm	122-9732-INT
Coluna Agilent DB-UI8270D Intuvo, 20 m x 0,18 mm, 0,36 µm	121-9723-INT
Coluna Agilent J&W Select PAH Intuvo, 30 m x 0,25 mm, 0,15 µm	CP7462-INT
Coluna Agilent J&W Select PAH Intuvo, 15 m x 0,15 mm, 0,10 µm	CP7461-INT
Coluna Agilent J&W DB-5ms UI Intuvo, 20 m x 0,18 mm, 0,18 µm	121-5522UI-INT



MyList (Minha lista) de consumíveis para GC Intuvo

Descrição	Part No.
Guard Chip, Split/Splitless Intuvo	G4587-60565
Chip para injetor Intuvo	G4581-60031
Chip de fluxo, Intuvo, D2-MS	G4581-60033
Chip de fluxo, Intuvo, extremidade terminal prensada para HES de MS	G4590-60109
Vedação de poliimida para injetor/MSD (Intuvo)	5190-9072



A Agilent também possui padrões para PAH da EPA de 500 µg/mL e para PAH da UE (15+1) de 250 µg/mL e todos os consumíveis para GC necessários para analisar PAHs na matriz alimentar de forma confiável e reprodutível, mesmo a nível de rastreamento.

Agilent CrossLab: visão real, resultados reais

O CrossLab vai além da instrumentação para trazer serviços, consumíveis e gerenciamento de recursos em todo o seu laboratório. Assim, seu laboratório pode melhorar a eficiência, otimizar as operações, aumentar o tempo de atividade dos instrumentos, desenvolver as habilidades dos usuários e muito mais.

Saiba mais sobre o Agilent CrossLab e veja exemplos de ideias para obtenção de ótimos resultados, no site www.agilent.com/crosslab

Saiba mais nas guias de seleção de aplicações de consumíveis Agilent:
www.agilent.com/chem/ordering-guides

Brasil

0800 7281405

chem_vendas@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Ásia e Pacífico

inquiry_lsca@agilent.com

DE.4042824074

Essas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2023
Publicado nos EUA, 8 de junho de 2023
5994-2016PTBR