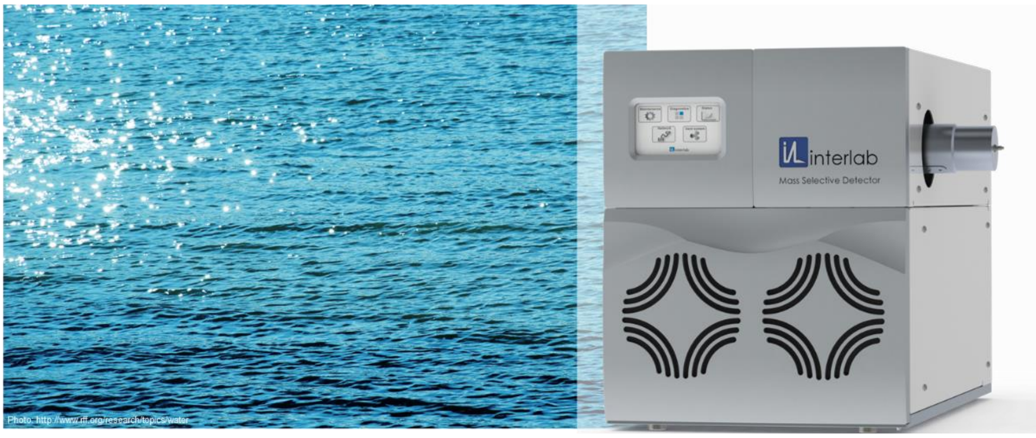
APP NOTE-3/2018GCMS



Определение остаточных количеств органических полулетучих соединений (SVOC) в образцах воды, с использованием квадрупольного масс-детектора «**Maestro-αMS**» и инновационного алгоритма построения SIM-эксперимента «**SIM Wizard®**»

Колунтаев Д. А. *к. б. н., научный сотрудник отдела исследований и разработок,*
ООО Интерлаб, *Россия, Москва*

Ключевые слова
Газовая хромато-масс-спектрометрия, органические полулетучие соединения, вода, iDwell® Time, SIM Wizard®.

Резюме

Продемонстрирована возможность определения остаточных количеств группы органических полулетучих соединений в образцах воды с помощью хромато-масс-спектрометрической системы Маэстро-αМС, с применением инновационного алгоритма построения SIM-эксперимента «SIM Wizard®».

Введение

Озабоченность общества состоянием окружающей среды и начало экологического мониторинга совпали с развитием методологии «газовая хроматография/масс-спектрометрия» (ГХ/МС) [1]. Сейчас же актуальность экологических проблем вышла далеко за границы чисто научных интересов. Антропогенные факторы в биогеохимическом круговороте многих токсичных для человека веществ стали сопоставимы с природными, а порой и превосходят их. Ухудшение экологического состояния объектов окружающей среды, нарастание потока техногенных загрязнителей сказываются на состоянии водоисточников и обостряют проблему чистой питьевой воды, особенно для регионов с повышенной техногенной нагрузкой на поверхностные водоёмы. Масштабы антропогенного воздействия, особенно химическими веществами, стали соизмеримы со способностью биосферы (гидросферы) к самовосстановлению [2].

В настоящее время, чрезвычайно важно своевременно и надёжно проводить контроль, идентификацию и количественное определение содержания максимального количества примесей в воде для моментального выявления и устранения источников её загрязнения.

Такой контроль становится возможным благодаря одновременному развитию и симбиозу масс-спектрометрического оборудования с высокоскоростными компьютерными алгоритмами обработки данных, что уже сейчас представляет собой идеальный инструмент для решения подобного рода задач.

Сегодня ГХ/МС является основной «рабочей лошадкой» в сегменте мониторинга состояния окружающей среды, в частности оценки качества воды. Эффективное разделение за счёт газовой хроматографии летучих и полулетучих соединений, а также воспроизводимая ионизация масс-спектрометрического источника в комплексе не имеет себе равных при контроле таких специфических компонентов, подлежащих постоянному мониторингу. Хромато-масс-спектрометрический метод является стандартизованным с учётом соответствующих документов, регулирующих содержание токсичных веществ в окружающей среде, и широко используется в настоящее время.

Экспериментальная часть

<u>Материалы и методы</u>

Все используемые в эксперименте реагенты имели классификацию, как особо чистые или HPLC grade. Стандарты 70 органических соединений были приобретены в компании Restek и представляли собой смесь с одинаковыми концентрациями (*Restek, Cat.# 31850*).

В качестве объекта исследования был выбран модельный образец экстракта детской воды, купленной в аптеке и подготовленный по принципу жидкостно-жидкостной экстракции. Предполагается, что такая вода максимально чистая от любых возможных органических примесей. Перед началом подготовки проб в воду выполнили внесение смеси 70 компонентов органических веществ с концентрацией 10 ppb (10 нг/мл).

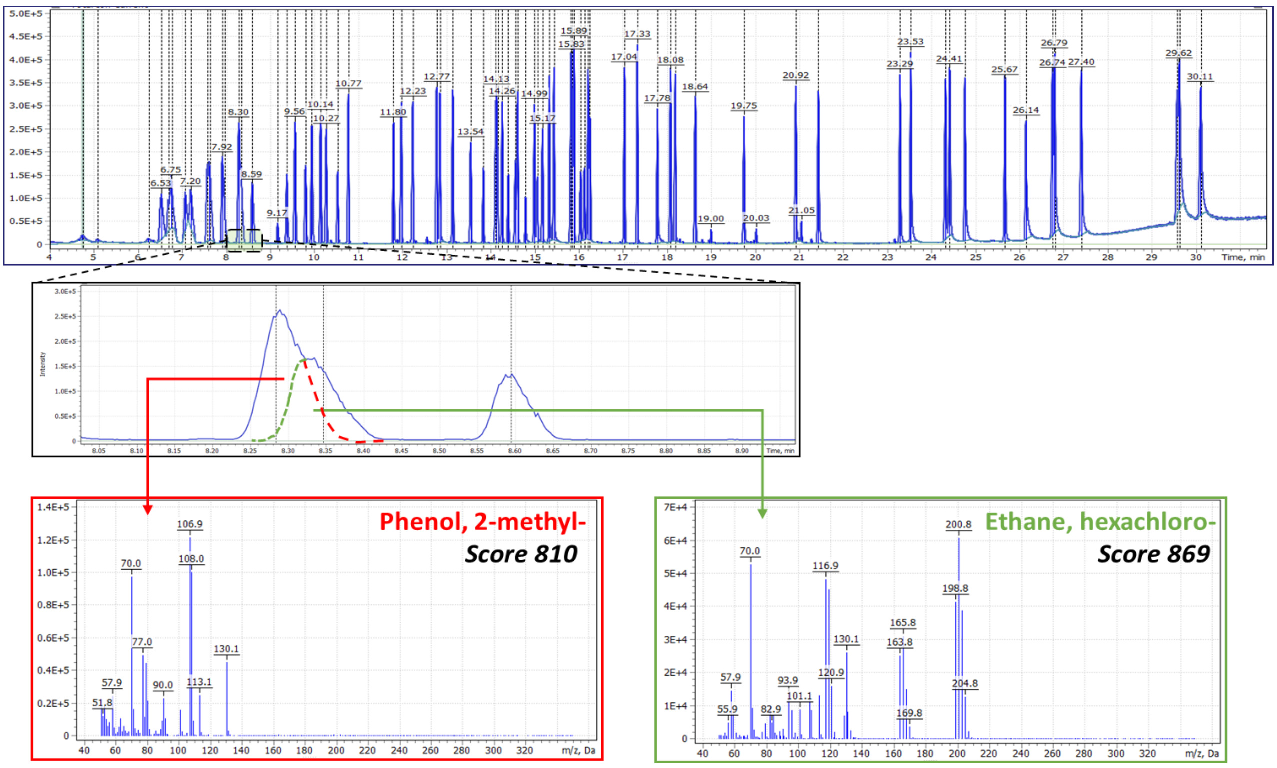
Табл. 1. Параметры инструментального метода.

Инструментарий «Maestro-αMS»	
Испаритель	Split/Splitless (liner: *Topaz 4.0 mm ID Straight Inlet Liner*)
Хроматографическая колонка	Rtx-5MS (30m x 0.25mm; 250um)
Экспериментальные настройки	
Объём пробы	1 мкл

Соотношение деления пробы	Splitless; Purge 50 мл/мин после 1,2 мин
t° испарителя	250°С
Режим тока газ-носителя	Режим Constant flow
Градиент t° печи	40°С (1,2 мин); 15°С/мин до 73°С (0,5 мин); 10°С/мин до 84°С (1,0 мин); 10°С/мин до 310°С (3,0 мин).
Тип и скорость газа-носителя	(He) 1,0 мл/мин
t° интерфейса МС	270°С
Условия детектирования	
Источник ионизации	*ЭИ (EI)*
t° источника	230°С
Задержка растворителя	4 мин
Режимы сканирования	SIM (см. ниже) на основе инструмента SIM Wizard®
Параметр «Dwell Time»	Режим iDwell® Time, для 10 спектров/сек

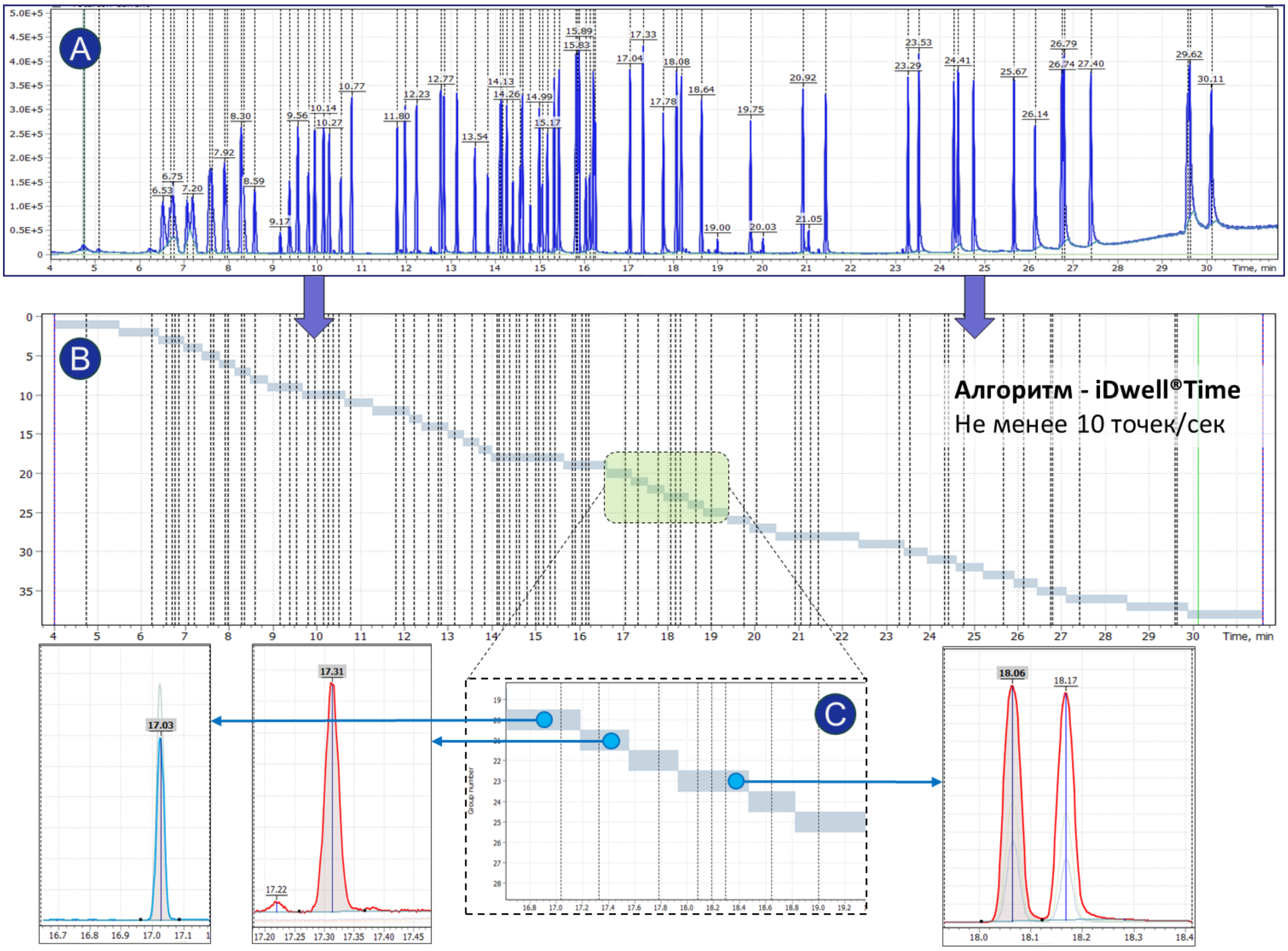
В процессе подготовки инструментального метода был использован инновационный программный инструмент «SIM Wizard®», что представляет собой автоматизированное построение программы SIM-эксперимента, на основе собранных данных ранее проведённого SCAN эксперимента, для смеси стандартов. Инструмент включает в себя процедуру автоматического интегрирования профиля SCAN-эксперимента, с последующим выделением присутствующих целевых компонентов в профиле и формировании таблицы спектров всех выделенных компонентов. На рисунке 1 представлен алгоритм работы автоматического интегратора в хроматографическом профиле полного ионного тока смеси 70 стандартов органических компонентов, с последующим извлечением спектров веществ с учётом вычитания фона.

Рис. 1. Работа автоматического интегратора с последующей детекцией интересующих пиков в профиле хроматограммы полного ионного тока. Алгоритм выделения чистых спектров.



На извлечённых спектрах далее проводится автоматический библиотечный поиск согласно используемым коммерческим или персональным базам дынных спектров. Результатом библиотечного поиска является присвоение химического идентификационного номера (CAS) каждому из выделенных спектров. После чего алгоритм SIM Wizard® автоматически предлагает характерные SIM-массы для каждого компонента на основе интеллектуального анализа масс-спектра. Результат процесса работы алгоритма представлен на рисунке 2. Необходимо отметить, что алгоритм является «открытым» для самостоятельного редактирования экспертом набора SIM-масс.

Рис. 2. Алгоритм автоматизированного построения программы SIM-эксперимента.
Рисунок А – интегрирование профиля полного ионного тока SCAN данных (концентрация 5 ppm), *Рисунок В* – автоматические разбиение хроматограммы на оптимальные временные сегменты. *Рисунок С* – результат работы алгоритма iDwell®Time (максимально информативные и целостные пики «правильной» формой).



В дальнейшем алгоритм **iDwell®Time** использует сформированный список компонентов и их SIM-массы для автоматического разбиения хроматограммы на оптимальные временные сегменты сканирования индивидуальных пиков (рис. 3) с подбором оптимальных значений времени сканирования каждого иона.

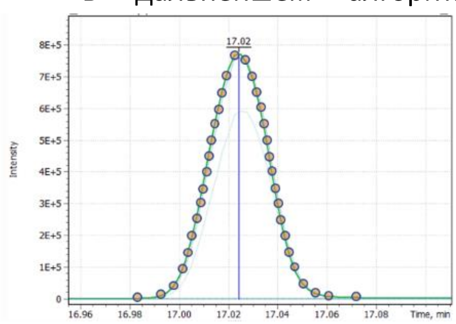


Рис. 3. Принцип работы алгоритма iDwell®Time.

Подобный подход позволяет получить максимально целостный пик правильной формы, удаётся исключить возможные потери ионов в ходе эксперимента и тем самым добиться максимальной чувствительности метода, его стабильности, а также корректного алгоритма интегрирования данных.

Пробоподготовка

Метод пробоподготовки основан на жидкостно-жидкостной экстракции дихлорметаном органических соединений. В ходе экстракции из воды экстрагировали не только нейтральные соединения, но и способствовали экстракции кислых соединений за счёт подкисления воды серной кислотой. Аликвоты дихлорметана объединяли и осушали с помощью безводного сульфата натрия, после чего концентрировали в 5 раз. Полученные высушенные экстракты снова растворяли в дихлорметане и переносили в виалу автосамплера. Пробы исследовали методом селектирования выделенных ионов (SIM). Таблица целевых ионов, соответствующих искомым соединениям, представлена в таблице 2.

Табл. 2. Времена элюирования искомых пиков и параметры их сканирования

№	Соединение	*RT, мин*	Quantifier Ion	Qualifier Ion 1	Qualifier Ion 2
1	Aniline	*6.52*	*93.9*	*66.0*	*65.0*
2	Bis(2-chloroethyl)ether	*6.69*	*92.9*	*142.0*	*62.9*
3	Phenol, 2-chloro-	*6.76*	*127.9*	*64.0*	*130.0*
4	Benzene, 1,3-dichloro-	*7.07*	*145.9*	*111.0*	*147.9*
5	Benzene, 1,4-dichloro-	*7.20*	*145.9*	*111.0*	*147.9*
6	Benzyl alcohol	*7.58*	*108.0*	*79.0*	*77.0*
7	Benzene, 1,2-dichloro-	*7.63*	*145.9*	*111.0*	*147.9*
8	Phenol, 2-methyl-	*7.92*	*107.0*	*79.0*	*108.0*
9	Bis(2-chloroisopropyl) ether	*7.96*	*107.0*	*121.0*	*77.0*
10	Phenol, 3-methyl-	*8.28*	*107.0*	*79.0*	*108.0*
11	Ethane, hexachloro-	*8.34*	*200.8*	*198.8*	*116.9*
12	Benzene, nitro-	*8.59*	*123.0*	*77.0*	*65.0*
13	Isophorone	*9.17*	*82.0*	*138.1*	*95.0*
14	Phenol, 2-nitro-	*9.37*	*139.0*	*65.0*	*109.0*
15	Phenol, 2,4-dimethyl-	*9.56*	*122.0*	*107.0*	*121.0*
16	Methane, bis(2-chloroethoxy)-	*9.80*	*93.0*	*95.0*	*123.0*
17	Phenol, 2,4-dichloro-	*9.94*	*161.8*	*163.8*	*97.9*
18	1,2,4-Trichlorobenzene	*10.14*	*179.8*	*144.9*	*181.8*
19	Naphthalene	*10.26*	*128.0*	*129.0*	*127.0*
20	4-Chloroaniline	*10.52*	*126.9*	*65.0*	*92.0*
21	Hexachloro-1,3-butadiene	*10.77*	*224.8*	*222.8*	*226.8*
22	4-chloro-3-methyl-phenol	*11.79*	*107.0*	*141.9*	*144.0*
23	Naphthalene, 2-methyl-	*11.97*	*141.0*	*115.0*	*142.0*
24	Naphthalene, 1-methyl-	*12.23*	*141.0*	*115.0*	*142.0*
25	Phenol, 2,4,6-trichloro-	*12.77*	*195.9*	*197.9*	*199.9*

26	2,4,5-Trichlorophenol	*12.85*	*195.9*	*197.9*	*199.9*
27	Naphthalene, 2-chloro-	*13.14*	*161.9*	*127.0*	*163.9*
28	o-Nitroaniline	*13.54*	*137.9*	*92.0*	*108.0*
29	Benzene, 1,4-dinitro-	*13.83*	*167.9*	*75.0*	*122.0*
30	Dimethyl phthalate	*14.12*	*163.0*	*164.0*	*194.0*
31	Acenaphthylene	*14.17*	*152.0*	*151.0*	*153.0*
32	Benzene, 2-methyl-1,3-dinitro-	*14.21*	*164.8*	*89.0*	*148.0*
33	Benzene, 1,2-dinitro-	*14.39*	*168.0*	*169.0*	*76.0*
34	m-Nitroaniline	*14.56*	*137.9*	*92.0*	*80.1*
35	Acenaphthene	*14.61*	*154.0*	*153.0*	*152.0*
36	2,4-Dinitrophenol	*14.79*	*154.0*	*184.0*	*93.0*
37	Dibenzofuran	*14.99*	*167.9*	*138.9*	*113.0*
38	Phenol, 4-nitro-	*15.05*	*139.0*	*65.0*	*109.0*
39	Benzene, 1-methyl-2,4-dinitro-	*15.17*	*164.9*	*89.0*	*182.0*
40	Phenol, 2,3,4,6-tetrachloro-	*15.32*	*229.8*	*231.8*	*130.9*
41	Phenol, 2,3,5,6-tetrachloro-	*15.43*	*231.8*	*130.9*	*229.8*
42	Fluorene	*15.82*	*166.0*	*165.0*	*139.0*
43	Diethyl Phthalate	*15.84*	*222.1*	*149.0*	*177.0*
44	Benzene, 1-chloro-4-phenoxy-	*15.88*	*203.9*	*141.0*	*77.0*
45	p-Nitroaniline	*16.04*	*108.0*	*138.0*	*92.0*
46	Phenol, 2-methyl-3,5-dinitro-	*16.12*	*198.0*	*121.0*	*199.0*
47	Diphenylamine	*16.21*	*168.0*	*167.0*	*169.0*
48	Azobenzene	*16.25*	*182.0*	*152.0*	*105.0*
49	Benzene, 1-bromo-4-phenoxy-	*17.03*	*247.9*	*141.0*	*249.9*
50	Benzene, hexachloro-	*17.32*	*164.9*	*265.8*	*263.8*
51	Phenol, pentachloro-	*17.78*	*164.9*	*265.8*	*263.8*
52	Phenanthrene	*18.08*	*178.0*	*152.0*	*176.0*
53	Anthracene	*18.18*	*178.0*	*152.0*	*176.0*
54	Carbazole	*18.64*	*166.9*	*139.0*	*165.9*
55	Dibutyl phthalate	*19.74*	*149.0*	*150.0*	*223.1*
56	Fluoranthene	*20.92*	*202.0*	*101.0*	*203.0*
57	Pyrene	*21.44*	*202.0*	*101.0*	*203.0*
58	Benzyl butyl phthalate	*23.29*	*149.0*	*206.0*	*132.0*
59	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	*23.53*	*129.0*	*259.0*	*241.1*
60	Benz[a]anthracene	*24.32*	*228.0*	*229.0*	*226.0*
61	Chrysene	*24.41*	*228.0*	*229.0*	*226.0*
62	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	*24.76*	*149.0*	*166.9*	*279.1*
63	1,1'-Biphenyl, 2,2'-dichloro-	*25.67*	*152.0*	*187.0*	*317.0*
64	Di-n-octyl phthalate	*26.15*	*279.1*	*149.0*	*167.0*
65	Benzo[b]fluoranthene	*26.75*	*252.0*	*250.0*	*125.0*
66	Benzo[k]fluoranthene	*26.79*	*252.0*	*250.0*	*125.0*

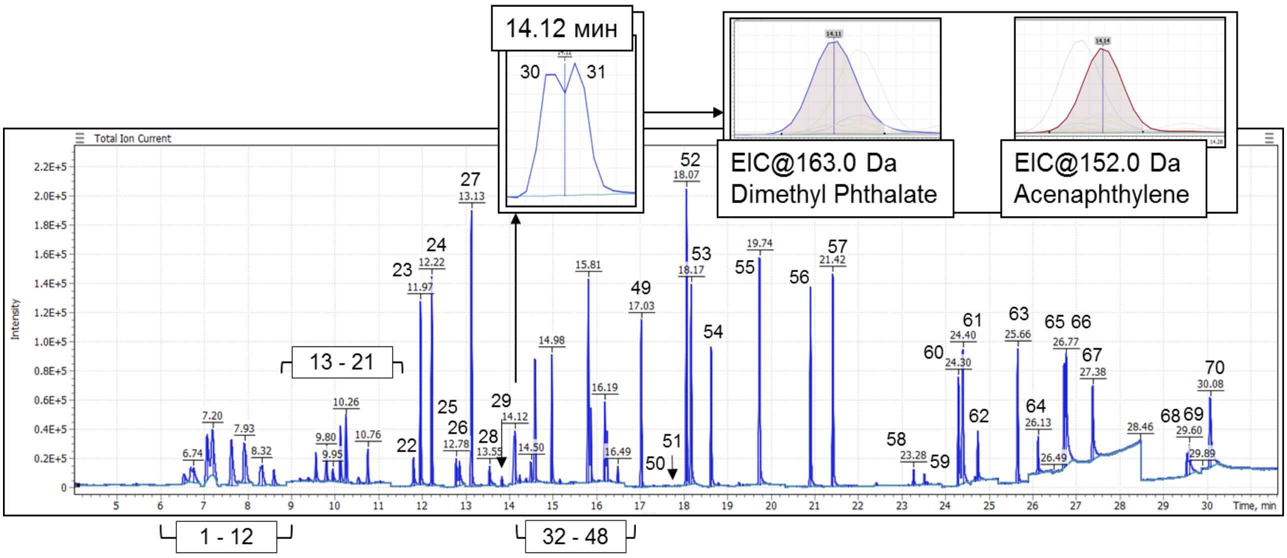
67	Benz[e]acephenanthrylene	*27.39*	*252.0*	*250.0*	*125.0*
68	Indeno[1,2,3-cd]fluoranthene	*29.57*	*276.0*	*137.0*	*277.0*
69	Dibenz[a,h]anthracene	*29.62*	*278.0*	*139.0*	*279.0*
70	Benzo[ghi]perylene	*30.11*	*276.0*	*137.0*	*277.0*

Результаты и обсуждение

Линейность

Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки. Калибровочные кривые были построены в диапазоне концентраций от 1 до 1000 нг/мл (ppb). На рисунке 4 представлена масс-хроматограмма стандартной смеси соединений с концентрацией 50 ppb.

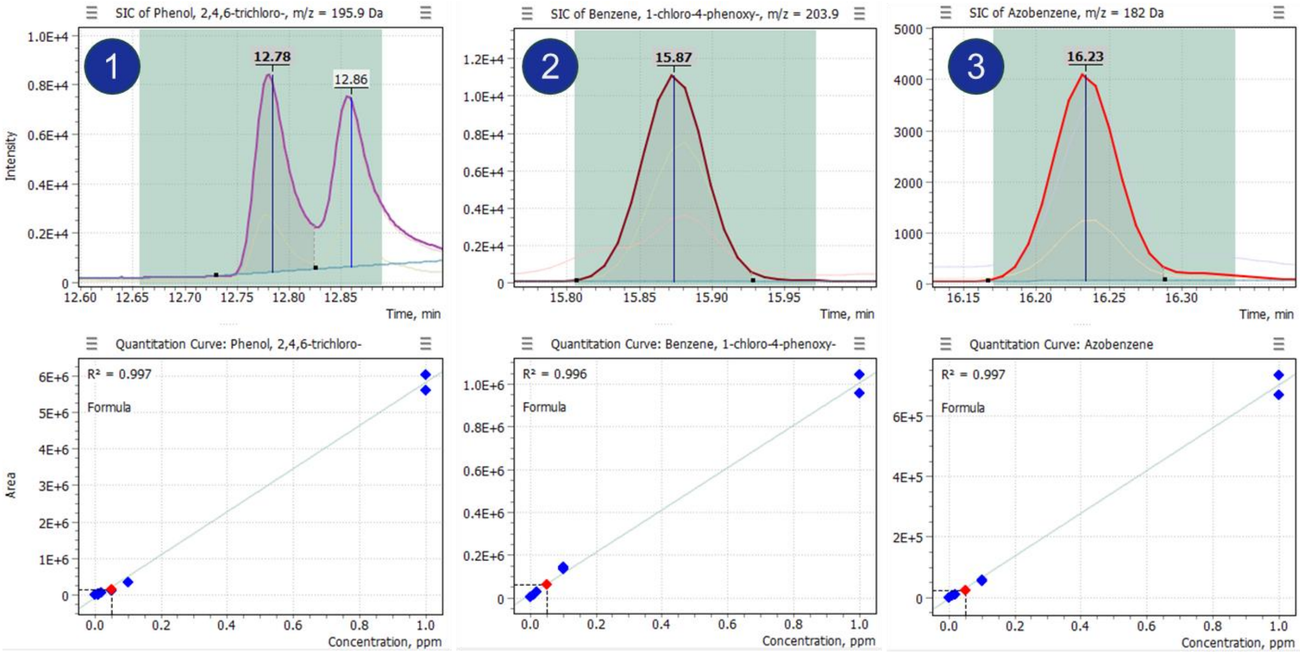
Рис. 4. *Масс-хроматограмма стандартной смеси соединений (концентрация 50 ppb).*



1-Aniline; **2**-Bis(2-cjloroethyl)ether; **3**-Phenol, 2-chloro-; **4**-Benzene, 1,3-dichloro-; **5**-Benzene, 1,4-dichloro-; **6**-Benzyl alcohol; **7**-Benzene, 1,2-dichloro-; **8**-Phenol, 2-methyl-; **9**-Bis(2-chloroisopropyl) ether; **10**-Phenol, 3-methyl-; **11**-Ethane, hexachloro-; **12**-Benzene, nitro-; **13**-Isophorone; **14**-Phenol, 2-nitro-; **15**-Phenol, 2,4-dimethyl-; **16**-Methane, bis(2-chloroethoxy)-; **17**-Phenol, 2,4-dichloro-; **18**-1,2,4-Trichlorobenzene; **19**-Naphthalene; **20**-4-Chloroaniline; **21**-Hexachloro-1,3-butadiene; **22**-4-chloro-3-methyl-phenol; **23**-Naphthalene, 2-methyl-; **24**-Naphthalene, 1-methyl-; **25**-Phenol, 2,4,6-trichloro-; **26**-2,4,5-Trichlorophenol; **27**-Naphthalene, 2-chloro-; **28**-o-Nitroaniline; **29**-Benzene, 1,4-dinitro-; **30**-Dimethyl phthalate; **31**-Acenaphthylene; **32**-Benzene, 2-methyl-1,3-dinitro-; **33**-Benzene, 1,2-dinitro-; **34**-m-Nitroaniline; **35**-Acenaphthene; **36**-2,4-Dinitrophenol; **37**-Dibenzofuran; **38**-Phenol, 4-nitro-; **39**-Benzene, 1-methyl-2,4-dinitro-; **40**-Phenol, 2,3,4,6-tetrachloro-; **41**-Phenol, 2,3,5,6-tetrachloro-; **42**-Fluorene; **43**-Diethyl Phthalate; **44**-Benzene, 1-chloro-4-phenoxy-; **45**-p-Nitroaniline; **46**-Phenol, 2-methyl-3,5-dinitro-; **47**-Diphenylamine; **48**-Azobenzene; **49**-Benzene, 1-bromo-4-phenoxy-; **50**-Benzene, hexachloro-; **51**-Phenol, pentachloro-; **52**-Phenanthrene; **53**-Anthracene; **54**-Carbazole; **55**-Dibutyl phthalate; **56**-Fluoranthene; **57**-Pyrene; **58**-Benzyl butyl phthalate; **59**-Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester; **60**-Benz[a]anthracene; **61**-Chrysene; **62**-Bis(2-ethylhexyl) phthalate; **63**-1,1'-Biphenyl, 2,2'-dichloro-; **64**-Di-n-octyl phthalate; **65**-Benzo[b]fluoranthene; **66**-Benzo[k]fluoranthene; **67**-Benz[e]acephenanthrylene; **68**-Indeno[1,2,3-cd]fluoranthene; **69**-Dibenz[a,h]anthracene; **70**-Benzo[ghi]perylene

Все искомые соединения имели линейный калибровочный коэффициент с показателем достоверности аппроксимации $R^2 \geq 0.99$ (табл. 4), кроме соединения Diethyl Phthalate, которое показало $R^2 = 0{,}96$.

Рис 5. Линейность калибровочных кривых для соединений: (**1**) Phenol, 2,4,6-trichloro-; (**2**) Benzene, 1-chloro-4-phenoxy-; (**3**) Azobenzene



Обсуждение результатов

Результаты эксперимента показали, что органические полулетучие компоненты в воде могут быть детектированы на уровне ниже или равным 1 ppb, при этом степень извлечения компонентов в ходе эксперимента составила от 60 до 125%.

В таблице 3 представлены результаты для некоторых выборочных компонентов. Данные показывают, что масс-спектрометрическая система Маэстро-αМС позволяет получать надёжные результаты и проводить быстрый, а также качественный анализ широкого спектра органических полулетучих компонентов при их одновременном присутствии в образцах воды. Показатель отношения сигнал-шум для соединений с концентрацией 50 ppb составляет от 500 до 10000 единиц, что говорит о наличии надёжного запаса системы в отношении показателя чувствительности и непосредственной возможности снижения предела количественного определения полулетучих соединений до уровня ниже 1 ppb.

Табл. 3. Степени извлечения и линейность калибровочного коэффициента для ряда искомых соединений модельного образца воды (концентрация внесения 50 ppb).

№	Соединение	Детект. конц., ppb	Степень извлечения, %	Лин. калибр. коэф., R^2	Показатель SNR для Quant иона (P-to-P)
1	4-chloro-3-methyl-phenol	51.19	102.3%	0.998	1264:1
2	Phenol, 2,4,6-trichloro-	48.74	97.5%	0.997	1745:1
3	2,4,5-Trichlorophenol	51.36	102.7%	0.997	2220:1
4	Naphthalene, 2-chloro-	38.80	77.6%	0.995	1287:1
5	o-Nitroaniline	40.34	80.7%	0.999	1516:1
6	Benzene, 1,4-dinitro-	45.88	91.8%	0.999	477:1
7	Dimethyl phthalate	59.83	119.6%	0.997	10000:1
8	Acenaphthylene	60.33	120.7%	0.997	3665:1

9	Benzene, 2-methyl-1,3-dinitro-	41.20	82.4%	0.997	1466:1
10	Benzene, 1,2-dinitro-	48.80	97.6%	0.998	708:1
11	m-Nitroaniline	28.54	57.08%	0.997	433:1
12	Acenaphthene	45.92	91.8%	0.996	4495:1
13	Dibenzofuran	44.03	88.1%	0.988	9925:1
14	Benzene, 1-methyl-2,4-dinitro-	42.98	85.9%	0.997	1400:1
15	Phenol, 2,3,4,6-tetrachloro-	56.80	113.6%	0.999	4462:1
16	Phenol, 2,3,5,6-tetrachloro-	52.60	105.2%	0.998	4444:1
17	Fluorene	57.06	114.1%	0.994	6155:1
18	Diethyl Phthalate	57.59	115.2%	0.963	657:1
19	Benzene, 1-chloro-4-phenoxy-	50.00	100.0%	0.996	8412:1
20	p-Nitroaniline	33.34	66.7%	0.996	167:1
21	Azobenzene	61.40	122.8%	0.997	5469:1
22	Phenanthrene	57.68	115.4%	0.993	3644:1
23	Anthracene	61.86	123.7%	0.997	5544:1
24	Carbazole	61.62	123.2%	0.999	5145:1
25	Benzo[b]fluoranthene	58.96	117.9%	0.998	1960:1
26	Indeno[1,2,3-cd]fluoranthene	62.12	124.2%	0.999	4111:1

Выводы

1. В ходе работы представлен интеллектуальный автоматизированный алгоритм построения программы SIM-эксперимента, который помогает надёжно получать максимальные значения чувствительности инструментального метода и, что не мало важно, вносит дополнительные удобства в методическую работу, снижая тем самым квалификационные барьеры и требования к оператору ГХ-МС в рутинных лабораториях.

2. Эксперимент показал, что хромато-масс-спектрометрическая система Маэстро-αМС отвечает самым современным требованиям приборного парка для выполнения комплексного анализа органических полулетучих соединений в воде. Полученные данные демонстрируют высокую чувствительность и селективность системы.

Литература

1. Лебедев. А.Т. Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды Москва: Техносфера, 2013. – 632с., ISBN 978-5-94836-363-9

2. Научная библиотека диссертаций и авторефератов «Disser Cat»: http://www.dissercat.com/content/sostav-i-kharakter-raspredeleniya-organicheskikh-zagryaznitelei-v-pitevoi-vode-i-vode-vodois#ixzz5B8PHIkd9