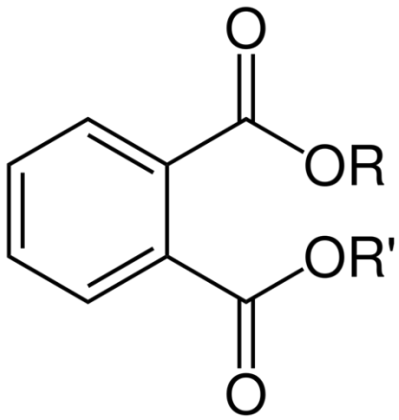
APP NOTE-7/2018GCMS





Определение концентраций фталатов в образцах грушевого сока с использованием квадрупольного масс-детектора **«Maestro-αMS»**

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

Ключевые слова
Газовая хромато-масс-спектрометрия, фталаты, сок, экология, iDwell® Time, SIM Wizard®.

Резюме

Продемонстрирована возможность определения следовых количеств фталатов в образцах сока с помощью метода GB/T 21911-2008 и детектирования целевых компонентов хромато-масс-спектрометрической системой Маэстро-αMC с применением инструментов «SIM Wizard®» и «iDwell®Time».

Введение

Фталаты представляют собой группу веществ, по химическому строению являющиеся эфирами фталевой кислоты (диалкиловые либо алкилариловые эфиры 1,2-бензолдикарбоновой кислоты). Благодаря своим свойствам и низкой стоимости, а также ряду полезных свойств фталаты повседневно используются в промышленности, в частности этот химический компонент входит в основной состав многих изделий из пластика. Это значит, что мы контактируем с фталатами ежедневно, а они представляют собой группу химических веществ, действие которых связывают с нанесением вреда организму человека. Фталаты, имитирующие структуру эстрогена, могут вызывать нарушения в эндокринной системе. Исследования, проводившиеся на животных и людях, доказывают, что фталаты способны ослаблять действие тестостерона — основного мужского гормона позвоночных и человека, стимулирующего функцию мужских половых органов и развитие вторичных половых признаков [1, 2, 3].

Газовая хроматография с масс-селективным детектором (ГХ/МС) является оптимальным инструментальным решением для анализа остаточных количеств фталатов. Газовый хроматограф разделяет аналиты, в то время как селективная способность масс-детектора позволяет получать сигнал, коррелирующий с количеством индивидуальных фталатов и максимально надёжно их идентифицировать на низких уровнях концентраций.

Важным условием является также использование капиллярной колонки длиной не менее 30 метров для хорошего хроматографического разделения пиков фталатов. В противном случае, структурное сходство между фталатами может сделать спектральную идентификацию и количественную оценку относительно сложной процедурой. В частности, многие фталаты имеют общий высокоинтенсивный ион с массой 149 а.е.м., что затрудняет идентификацию и количественную оценку всех компонентов смеси в случае неразделённых пиков фталатов на хроматограмме.

В настоящей статье продемонстрирована возможность применения метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии для анализа следовых количеств фталатов в грушевом соке, при хранении сока в различных типах упаковки.

Экспериментальная часть

Материалы и методы

Все используемые в эксперименте реагенты имели классификацию, как особо чистые или HPLC grade. Стандарты фталатов были приобретены в компании Restek и представляли собой смесь с одинаковыми концентрациями 1000 μg/mL каждого компонента (*Restek, Cat.# 33227*).

В качестве объекта исследования использовали образцы грушевого сока в различных типах упаковки, купленные в местном супермаркете и подготовленные согласно методическим рекомендациям GB/T 21911-2008 [4].

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 Time = 0.7 min, Purge Flow = 50ml/min
t° испарителя	250°C
Режим тока газ-носителя	Режим Constant flow
Градиент t° печи	60°C (1,0 мин); 20°C/мин до 220°C (1,0 мин); 5,0°C/мин до 280°C (4,0 мин)
Тип и скорость газа-носителя	(He) 1,0 мл/мин
t° интерфейса МС	280°C
Условия детектирования	
Источник ионизации	*ЭИ (EI)*
t° источника	240°C
Задержка растворителя	250 сек
Режимы сканирования	SIM (см. ниже) на основе инструмента SIM Wizard®
Параметр «Dwell Time»	Режим iDwell® Time, для 10 спектров/сек, кроме группы № 11, где использовали скорость сбора данных 8 спектров/сек (см. рисунок).

В процессе подготовки инструментального метода сканирования пробы использовали программный инструмент «SIM Wizard®» для автоматического определения наиболее информативных ионов в ходе построения программы SIM-эксперимента, на основе собранных ранее данных SCAN эксперимента. Также, обращали внимание на получение максимальной чувствительности системы, для этого использовали алгоритм iDwell®Time, который позволил распределить целевые соединения в отдельные сегменты с целью получения оптимальных временных показателей сканирования каждого иона. Такие вспомогательные инструменты в совокупности позволили получить максимально интенсивный сигнал всех искомых масс и асимметричность пиков, с достаточной статистикой данных даже на низких концентрациях.

Пробоподготовка

Грушевой сок из местного супермаркета был приготовлен согласно процедуре пробоподготовки метода GB/T 21911-2008.

Для выделения искомых веществ применяли экстракцию гексаном, в частности 5 мл сока переносили в отдельную стеклянную колбу объёмом 10 мл, после чего в сок вносили 2 мл гексана. Пробу встряхивали на шейкере (Vortex) в течение 1 минуты и дополнительно центрифугировали (3 минуты, 2000 rpm). Далее смесь оставляли на 10 мин и после отбирали 1 мл гексана в хроматографическую виалу для последующего анализа методом селектирования выделенных ионов (SIM).

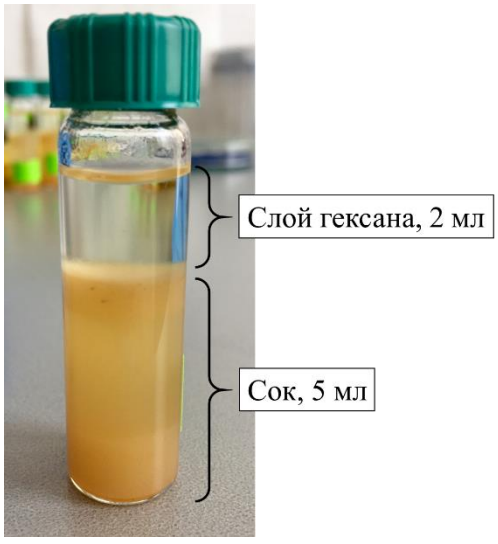


Рис. 2 *Экстракт фталатов из грушевого сока перед стадией хроматографического разделения, масс-спектрометрического детектирования.*

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	Dimethyl phthalate (DMP)	7.71	133.1	77.1	163
2	Diethyl phthalate (DEP)	8.57	150.1	177.1	149.1
3	Di-iso-butyl phthalate (DIBP)	10.25	150.1	149.1	223.2
4	Di-butyl phthalate (DBP)	10.97	150.1	149.1	223.2
5	*bis*(2-methoxy ethyl) phthalate (DMEP)	11.34	149.1	59	76.1
6	*bis*(4-methyl-2-pentyl) phthalate (BMPP)	12.01	167.1	149.1	251.2
7	*bis*(2-ethoxy ethyl) phthalate (DEEP)	12.37	72.1	149.1	176.1
8	*bis*(n-pentyl) phthalate (DPP)	12.72	149.1	237.1	150.1
9	Dihexyl phthalate (DHXP)	14.83	149.1	251.1	150.1
10	Benzyl Butyl phthalate (BBP)	15.015	149.1	91.1	206.1
11	*bis*(2-n-butoxyethyl) phthalate (DBEP)	16.4	101.2	149.1	176.1
12	Dicyclohexyl phthalate (DCHP)	17.12	149.1	167.1	150.1
13	*bis*(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	17.27	279.1	167.1	149.1
14	Diphenyl isophthalate	17.482	225.1	77.1	153.1
15	Di-n-octyl phthalate (DNP)	19.65	279.1	150.1	149.1

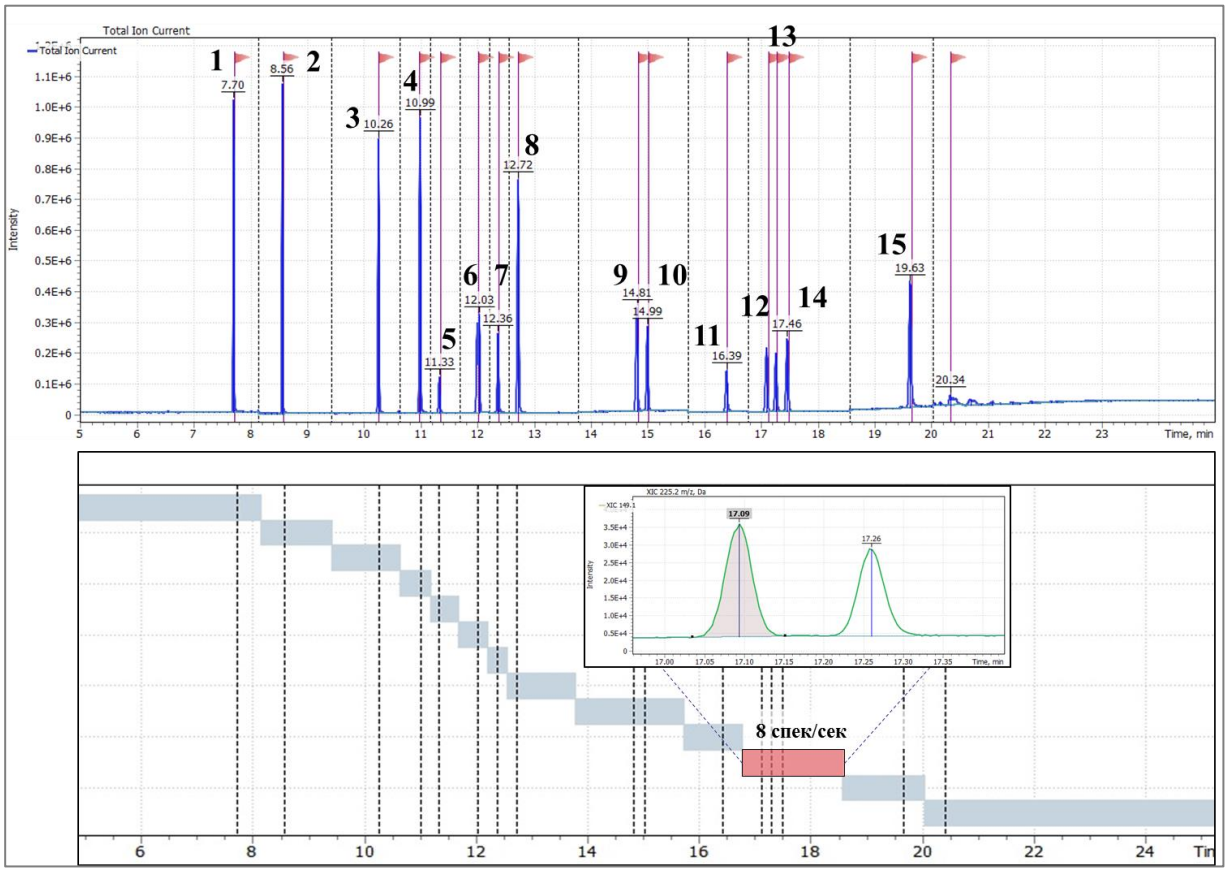
Результаты и обсуждение

Линейность

Количественное определение фталатов проводили методом абсолютной калибровки. Калибровочные кривые были построены по 7 точкам с концентрациями: 10 ppb – 20 ppb – 50 ppb – 100 ppb – 200 ppb –500 ppb – 1000 ppb соответственно. В процессе построения калибровочной кривой использовали *линейную кривую*, дополнительно проходящую через ноль, в целях вычисления значений площадей пиков, лежащих ниже первой калибровочной точки. Точки с низкими концентрациями инжектировали в трёх повторностях (10; 20; 50 ppb соответственно), остальные концентрации инжектировали в двух повторностях. Таким образом в расчёт принимали 17 калибровочных точек. Все искомые соединения имели линейные калибровочные коэффициенты с показателями достоверности аппроксимации $R^2 \geq 0.98 – 0.99$.

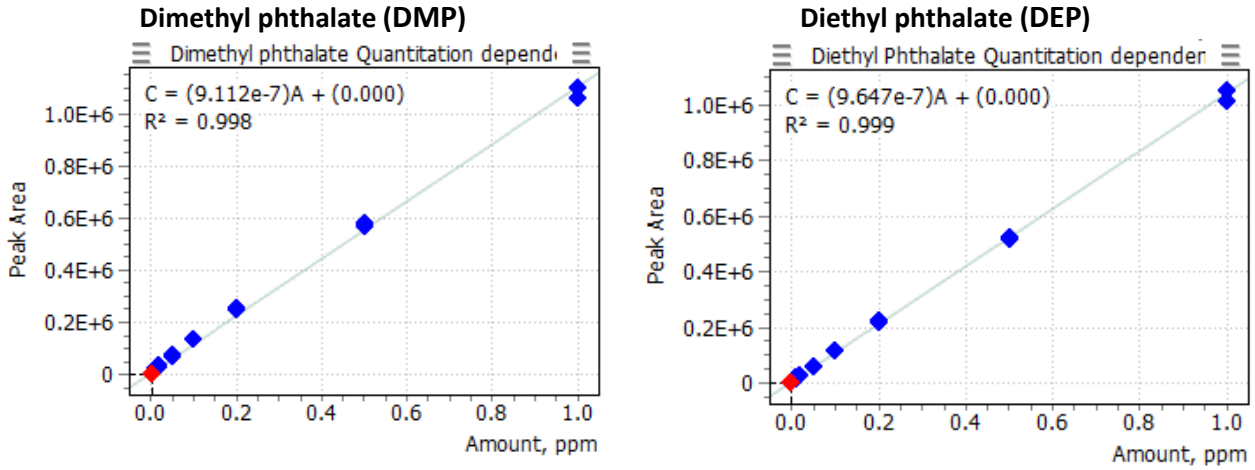
На рисунке 4 представлена калибровочные зависимости для нескольких компонентов стандартной смеси.

Рис. 3. *Масс-хроматограмма стандартной смеси фталатов (концентрация 1000 ppb).*

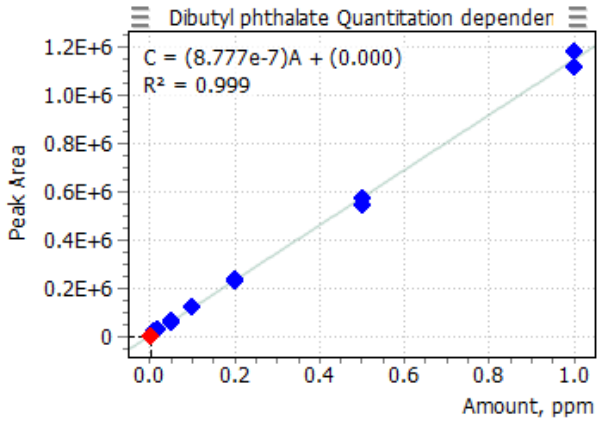


1 - DMP; **2**- DEP; **3** – DIBP; **4** - DBP; **5** – DMEP; **6** – BMPP; **7** - DEEP; **8** - DPP; **9** - DHXP; **10** – BBP; **11** – DBEP; **12** - DCHP; **13** - DEHP; **14** – Diphenyl isophthalate; **15** - DNP.

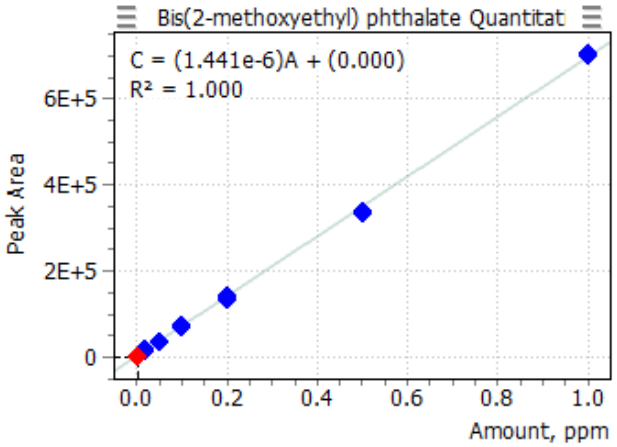
Рис. 4. *Линейные зависимости некоторых фталатов.*



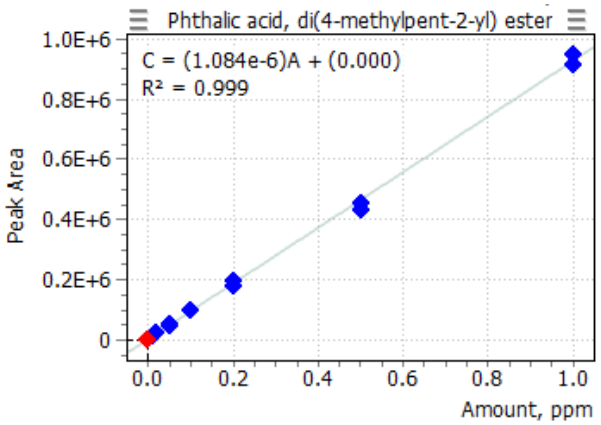
Di-butyl phthalate (DBP)



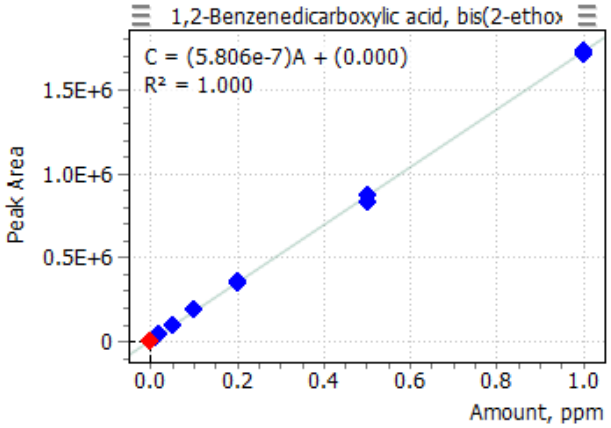
***bis*(2-methoxy ethyl) phthalate (DMEP)**



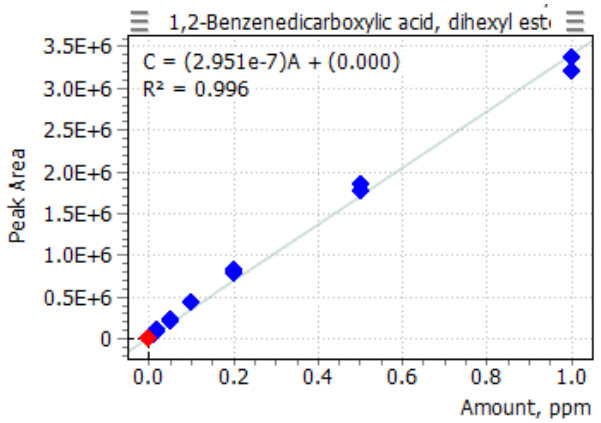
***bis*(4-methyl-2-pentyl) phthalate (BMPP)**



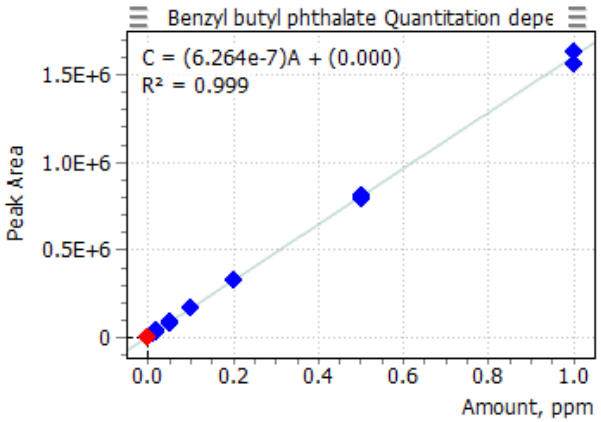
***bis*(2-ethoxy ethyl) phthalate (DEEP)**



Dihexyl phthalate (DHXP)



Benzyl Butyl phthalate (BBP)



Обсуждение результатов

Результаты эксперимента показали, что методика позволяет экстрагировать фталаты, а масс-спектрометрическая системы детектировать фталаты, даже на уровне следовых концентраций. Коэффициенты корреляции калибровочных кривых позволяют выполнять эксперименты в большом концентрационном диапазоне.

Содержания фталатов в зависимости от типа упаковки представлены в таблице 3. Наибольшее количество фталатов было детектировано в соке, который хранился в стекле. Можно сделать предположение, что такое повышенное содержание вызвано предварительными стадиями подготовки пробы до разлива в стеклянную тару. Ещё одним вариантом может быть использование материалов поверхности крышки, которая также может быть изготовлена из материала содержащая фталаты.

Табл. 3. Результаты извлечения фталатов в образцах сока груши, пг/мкл (ppb).

Соединение				
	Стекло	**Пластик**	**Картон**	**Фольга**
DMP	13.67	0.40	10.63	0.00
DEP	1.46	0.53	0.73	0.55
DIBP	1.44	2.92	0.53	0.56
DBP	4.26	1.05	0.63	0.36
DMEP	0.00	0.00	0.00	0.00
BMPP	0.00	0.00	0.00	0.00
DEEP	0.00	0.00	0.00	0.00
DPP	1.38	0.23	0.33	0.00
DHXP	0.43	0.00	0.00	0.00
BBP	0.00	0.00	0.00	0.00
DBEP	0.00	0.00	0.00	0.00
DCHP	0.00	0.00	0.00	0.00
DEHP	7.56	1.83	1.60	1.27
Diphenyl isophthalate	0.00	0.00	0.00	0.00
DNP	0.00	0.00	0.00	0.00

Выводы

Выполненные исследования показывают, что масс-спектрометрическая система Маэстро-αMC позволяет получать надёжные результаты и проводить быстрый, качественный, а также количественный анализ для определения фталатов в образцах готовой продукции. Возможность использования масс-спектрометрической системы в режиме селекции выделенных ионов позволяет свести к минимуму стадии очистки пробы и проводить оперативный экспрессный контроль анализируемых объектов с высокой чувствительностью и точностью.

1. Swan S.H., Main K.M., Liu F., Stewart S.L., Kruse R.L., Calafat A.M., Mao C.S., Redmon J.B., Ternand C.L., Sullivan S., Teague J.L. (August 2005). «Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure». *Environ. Health Perspect.* **113** (8): 1056–61. DOI:10.1289/ehp.8100. PMID 16079079.
2. Fisher J.S. (March 2004). «Environmental anti-androgens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome». *Reproduction* **127** (3): 305–15. DOI:10.1530/rep.1.00025. PMID 15016950.
3. Barrett, J.R. (2005). «Phthalates and Baby Boys: Potential Disruption of Human Genital Development». *Environmental Health Perspective* **113** (8): 542–542. DOI:10.1289/ehp.113-a542a.
4. GB/T 21911-2008 Determination of phthalate esters in foods.

За дополнительной информацией обращайтесь в компанию Интерлаб

interlab

127055, Москва, Тихвинский пер., д.11 стр.2
т. (495) 788-09-83, ф. (495) 755-77-61
www.interlab.ru
e-mail: interlab@interlab.ru

Екатеринбург:
т. (343) 379-57-33,
ф. (343) 379-57-34
e-mail: ural@interlab.ru

Новосибирск:
т. (383) 330-56-91
ф.(383) 330-56-03
e-mail: nsk@interlab.ru

Санкт Петербург:
т/ф. (812)643-14-23
e-mail: spb@interlab.ru