



Определение полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в образцах почвы методом пробоподготовки **QuEChERS**, с использованием квадрупольного масс-детектора «**Maestro- $\alpha$ MS**»

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

**Ключевые слова**

*Газовая хромато-масс-спектрометрия, полициклические ароматические углеводороды, почва, экология, QuEChERS, iDwell® Time, SIM Wizard®.*

**Резюме**

*Продемонстрирована возможность определения следовых количеств полициклических ароматических углеводородов в модельном образце почвы с помощью метода пробоподготовки мультикомпонентной экстракции QuEChERS и детектирования целевых компонентов хромато-масс-спектрометрической системой Маэстро- $\alpha$ МС, с применением инновационного алгоритма построения SIM-эксперимента «SIM Wizard®».*

Почва, является одним из наиболее сложных и комплексных объектов в аналитической химии. Это некий «резервуар», в который попадают, хранятся и накапливаются большое количество органических соединений из окружающей среды или в результате антропогенного воздействия. Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) являются одними из основных повсеместных загрязнителей почвы, которые попадают в окружающую среду из выхлопов автомобилей, в результате процессов сгорания и из промышленных отходов [1]. Благодаря повсеместному распространению процессов горения в современном мире, а также периодически происходящим разливам нефтепродуктов, существует опасность накопления ПАУ в объектах окружающей среды, поскольку они являются очень устойчивыми соединениями. При этом большинство из них являются сильными химическими канцерогенами. Таким образом, мониторинг ПАУ в объектах окружающей среды является крайне актуальной задачей, требующей эффективной и в то же время доступной комплексной методики качественного и количественного определения этих экотоксикантов [2].

При разработке алгоритма анализа почв одной из важнейших проблем является качество пробоподготовки. На сегодняшний момент создано достаточно большое разнообразие аналитических методов для мониторинга и проведения надёжных измерений уровней ПАУ в воде, воздухе и почве, но именно эта стадия вносит максимальную долю погрешности при количественном анализе компонентов, что требует, как можно большей её минимизации и исключения дополнительных шагов в протоколе процедуры. Наиболее надёжным решением представляется применение единой методики мульти-компонентной экстракции соединений из матрицы, с возможным максимальным избавлением от влияния матрицы.

В настоящей статье продемонстрирована апробация мультикомпонентного метода пробоподготовки почвы QuEChERS с использованием набора VetexQ (Интерлаб) с последующим определением ПАУ в почве методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии.

## Экспериментальная часть

### Материалы и методы

Все используемые в эксперименте реагенты имели классификацию, как особо чистые или HPLC grade. Стандарты 18 полициклических ароматических углеводородов были приобретены в компании Restek и представляли собой смесь с одинаковыми концентрациями 500 µg/mL каждого компонента (Restek, Cat.# 31874 ).

В качестве объекта исследования использовали модельный образец почвы, отобранной в парковой зоне. Далее почва была высушена, измельчена в керамической ступке и просеяна через сито. В подготовленную почву заранее выполнили внесение смеси 18 компонентов ПАУ с концентрацией 40 и 400 ppb, с учётом последующего введения извлечённых соединений на колонку в концентрациях 2 пг/мкл и 20 пг/мкл соответственно.

**Табл. 1. Параметры инструментального метода.**

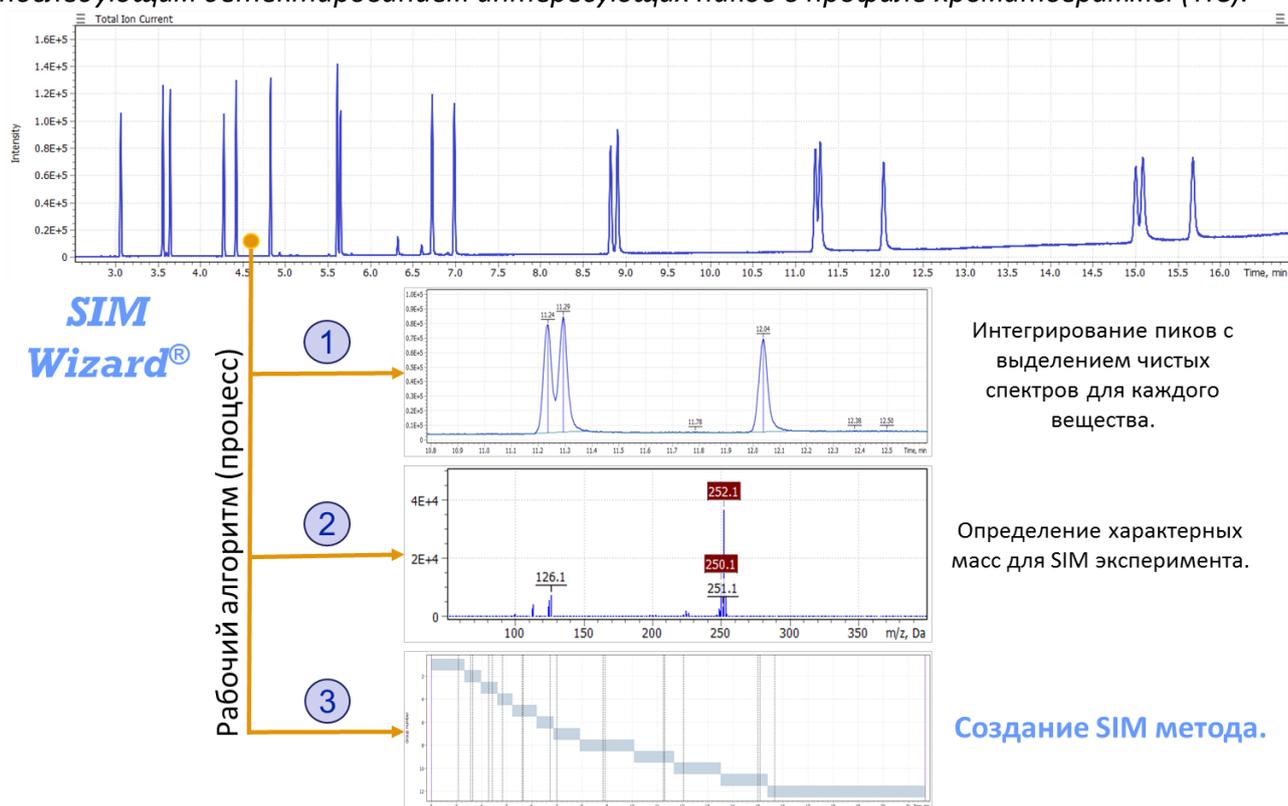
<b>Инструментарий «Maestro-αMS»</b>	
Испаритель	Split/Splitless (liner: Topaz 4.0 mm ID Straight Inlet Liner)
Хроматографическая колонка	Rtx-5MS (30m x 0.25mm; 250µm)
<b>Экспериментальные настройки</b>	

<i>Объём пробы</i>	1 мкл
<i>Соотношение деления пробы</i>	Split; 20:1
<i>t° испарителя</i>	250°C
<i>Режим тока газ-носителя</i>	Режим Constant flow
<i>Градиент t° печи</i>	80°C (0,0 мин); 30°C/мин до 250°C (0,0 мин); 5,0°C/мин до 310°C (4,0 мин)
<i>Тип и скорость газа-носителя</i>	(He) 1,2 мл/мин
<i>t° интерфейса МС</i>	300°C
<b>Условия детектирования</b>	
<i>Источник ионизации</i>	ЭИ (EI)
<i>t° источника</i>	250°C
<i>Задержка растворителя</i>	2,0 мин
<i>Режимы сканирования</i>	SIM (см. ниже) на основе инструмента SIM Wizard®
<i>Параметр «Dwell Time»</i>	Режим iDwell® Time, для 10 спектров/сек

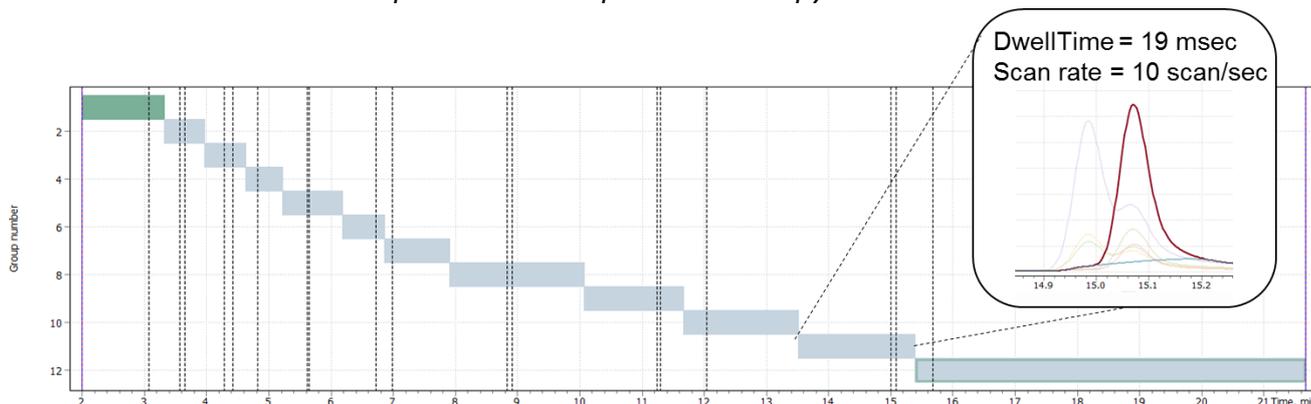
В процессе подготовки инструментального метода был использован инновационный программный инструмент «SIM Wizard®», что представляет собой автоматизированное построение программы SIM-эксперимента, на основе собранных данных ранее проведённого SCAN эксперимента, для смеси стандартов.

Инструмент включает в себя процедуру автоматического интегрирования профиля SCAN-эксперимента, с последующим выделением присутствующих целевых компонентов и формирование таблицы спектров всех выделенных компонентов. На рисунке 1 представлен пошаговый алгоритм работы инструмента. В частности, на первом шаге интегратор автоматически «просматривает» ионные токи каждой массы заявленного диапазона сканирования, после чего делает вывод о наличии или отсутствии компонента в профиле. Подобная логика очень схожа с алгоритмами деконволюции, поэтому интегратор справляется даже с близкостоящими пиками, соотнося их к разным компонентам смеси. На втором шаге инструмент обрабатывает каждый спектр с целью вычитания фоновых компонентов и автоматически предлагает характерные SIM-массы для каждого компонента на основе интеллектуального анализа масс-спектра. Третьим шагом работы инструмента «SIM Wizard®» является разделение хроматографического профиля на сегменты, в которых располагаются целевые компоненты, по принципу их минимального количества в каждом сегменте. Результат процесса работы инструмента «SIM Wizard®» представлен на рисунке 2. Необходимо также отметить, что логика выбора масс является «открытой» и при необходимости позволяет самостоятельно их редактировать.

**Рис. 1.** Пошаговый алгоритм автоматической работы интегратора «SIM Wizard®» с последующим детектированием интересных пиков в профиле хроматограммы (TIC).



**Рис. 2.** Методика SIM эксперимента построенная инструментом «SIM Wizard®».



Стоит также отметить, что благодаря дополнительному инструменту **iDwell®Time** каждый целевой ион используемый в SIM-эксперименте имеет оптимальные временные показатели сканирования, что позволяет получить максимально целостный пик правильной формы, даже на концентрациях близким к уровню следовых количеств (рис. 2, 7).

### Пробоподготовка

Как уже было отмечено ранее, для выделения полициклических ароматических углеводородов в роли метода пробоподготовки почвы предложено использовать методику QuEChERS [3], которая основана на извлечении растворителем ПАУ из гомогенизированной смеси образца почвы с одновременной очисткой экстракта смесью солей и последующей идентификацией, а также количественным определением с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии.

Для выделения искоемых веществ применяли экстракцию ацетонитрилом в соотношении 5,0 г пробы к 10,0 мл растворителя. Для дополнительного смачивания почвы использовали 5,0 мл деионизированной воды.



Очистку экстракта осуществляли согласно методики ионообменным сорбентом Bondesil PSA, после чего полученные аликвоты переносили в вialу автосамплера и исследовали методом селективного выделения выделенных ионов (SIM).

**Рис. 3.** Экстракт ПАУ из почвы перед стадией очистки первично-вторичным аминсорбентом по методу QuEChERS с использованием специального набора для экстракции VetexQ (ООО «Интерлаб»).

**Рис. 4.** Схема пробоподготовки QuEChERS.

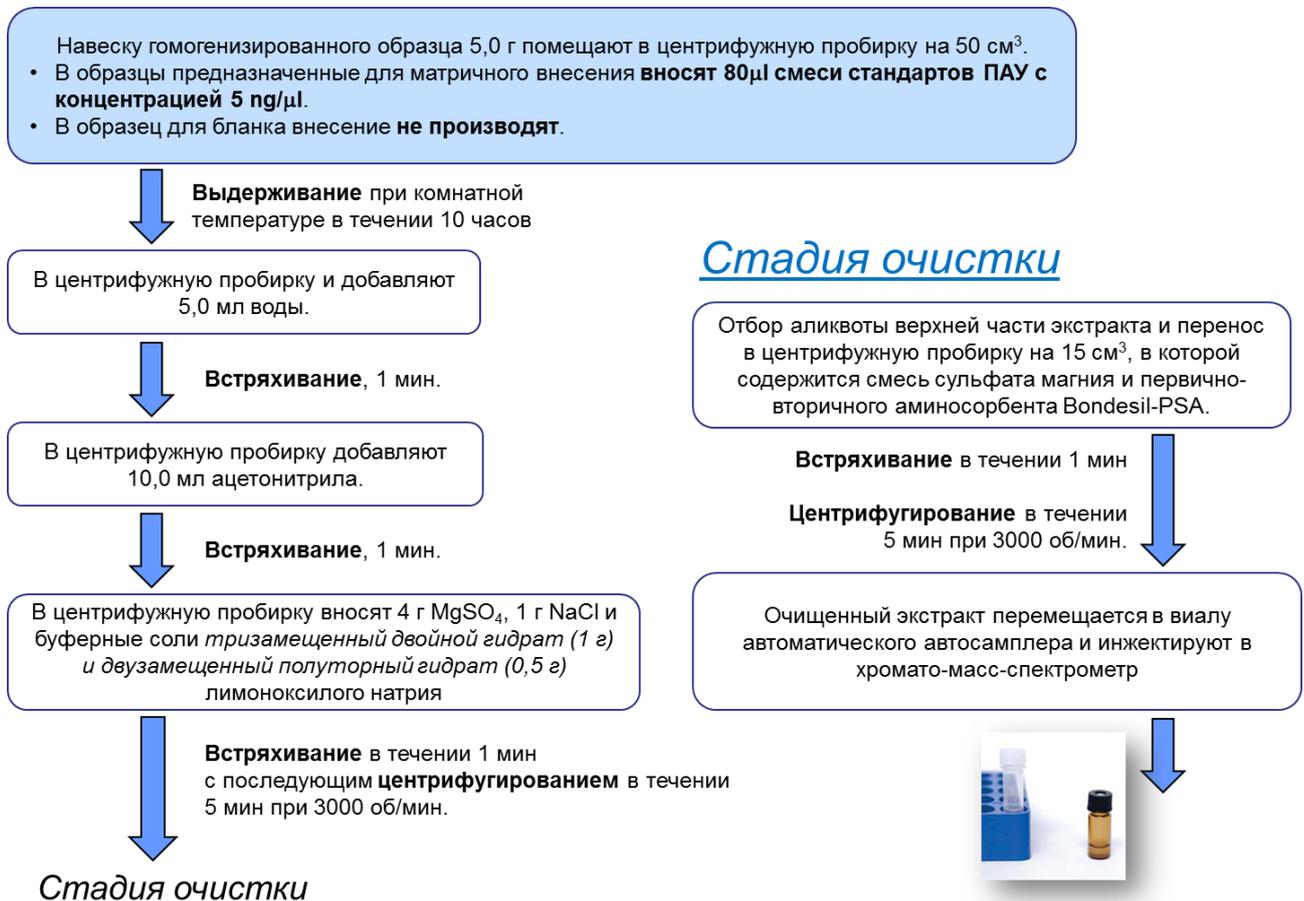


Таблица целевых ионов, соответствующих искомым соединениям, представлена в таблице 2.

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

№	Соединение	RT, мин	Quantifier Ion	Qualifier Ion 1	Qualifier Ion 2
1	<i>Naphthalene</i>	3.06	128	127	102
2	<i>2-Methylnaphthalene</i>	3.56	141	115	142
3	<i>1-Methylnaphthalene</i>	3.64	141	115	142
4	<i>Acenaphthylene</i>	4.27	152	151	126
5	<i>Acenaphthene</i>	4.42	154	153	152
6	<i>Fluorene</i>	4.82	165	166	139
7	<i>Phenanthrene</i>	5.61	178	176	152
8	<i>Anthracene</i>	5.64	178	176	152
9	<i>Fluoranthene</i>	6.72	202	101	200
10	<i>Pyrene</i>	6.99	202	101	200
11	<i>Benz[a]anthracene</i>	8.83	228.1	114	226.1
12	<i>Chrysene</i>	8.91	228.1	226.1	113
13	<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	11.24	250.1	126.1	252.1
14	<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	11.29	250.1	126.1	252.1
15	<i>Benzo[a]pyrene</i>	12.03	250.1	126.1	252.1
16	<i>Indeno[1,2,3-cd]pyrene</i>	15.00	276.1	138	274.1
17	<i>Dibenz[a,h]anthracene</i>	15.09	278.1	139.1	279.1
18	<i>Benzo[ghi]perylene</i>	15.68	276.1	138	274.1

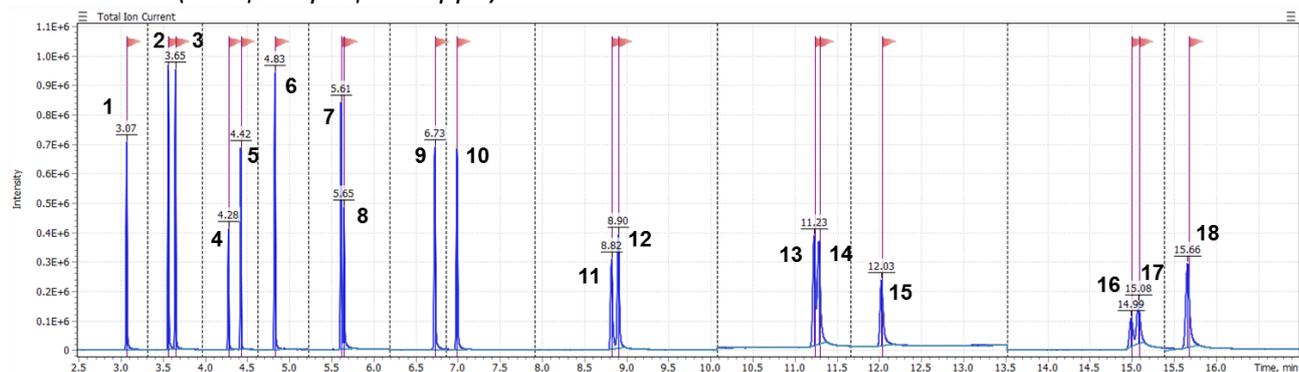
## **Результаты и обсуждение**

### **Линейность**

Количественное определение ПАУ проводили методом абсолютной калибровки. Калибровочные кривые были построены по 7 точкам с концентрациями: 1 ppb – 2 ppb – 5 ppb – 10 ppb – 20 ppb – 50 ppb – 100 ppb соответственно. Каждую точку инжескировали в трёх повторностях, таким образом в расчёт принимали 27 калибровочных точек. Все искомые соединения имели линейные калибровочные коэффициенты с показателями достоверности аппроксимации  $R^2 \geq 0.98 - 0.99$ .

На рисунке 5 представлена масс-хроматограмма стандартной смеси соединений с концентрацией 20 ppb. На рисунке 6 представлены линейные зависимости некоторых ПАУ.

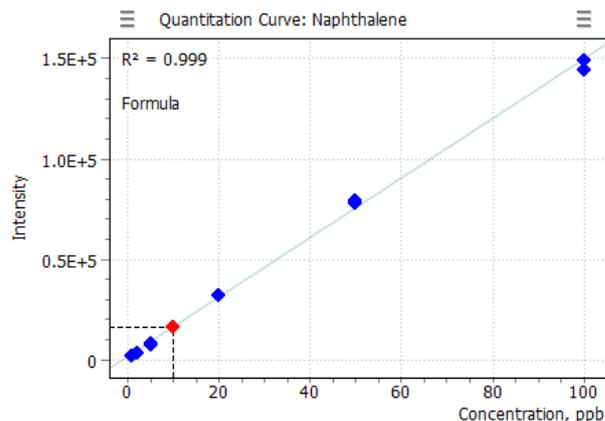
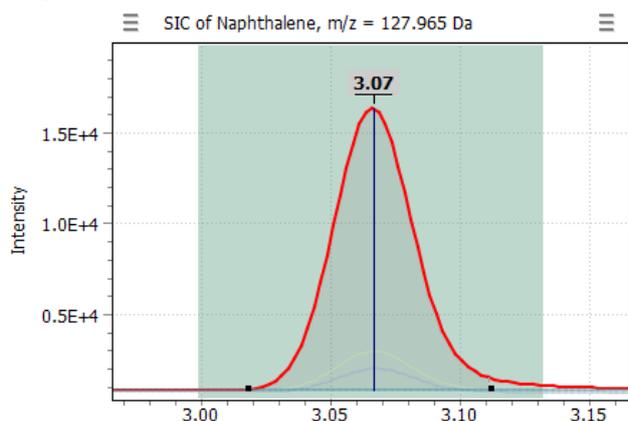
**Рис. 5.** Масс-хроматограмма стандартной смеси полициклических ароматических соединений (концентрация 10 ppb).



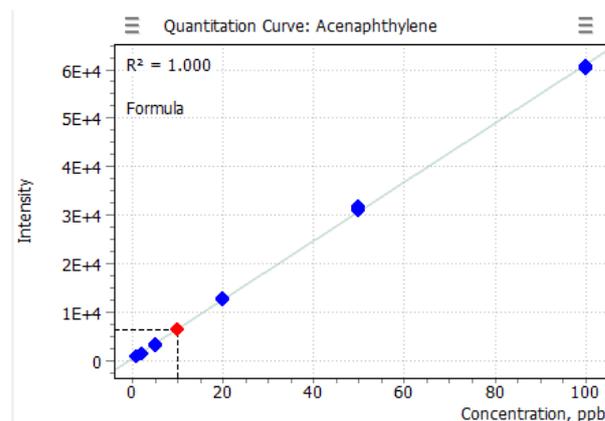
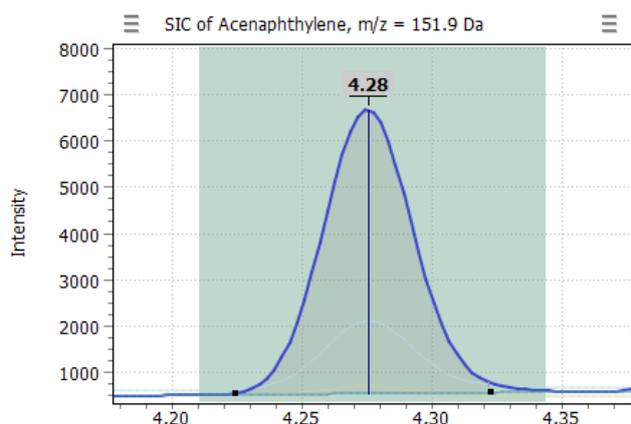
**1** – Naphthalene; **2** – 2-Methylnaphthalene; **3** – 1-Methylnaphthalene; **4** – Acenaphthylene; **5** – Acenaphthene; **6** – Fluorene; **7** – Phenanthrene; **8** – Anthracene; **9** – Fluoranthene; **10** – Pyrene; **11** – Benz[a]anthracene; **12** – Chrysene; **13** – Benzo[b]fluoranthene; **14** – Benzo[k]fluoranthene; **15** – Benzo[a]pyrene; **16** – Indeno[1,2,3-cd]pyrene; **17** – Dibenzo[a,h]anthracene; **18** – Benzo[ghi]perylene.

**Рис. 6.** Линейные зависимости некоторых ПАУ и масс-хроматограммы целевых ионов участвующих в количественном расчёте.

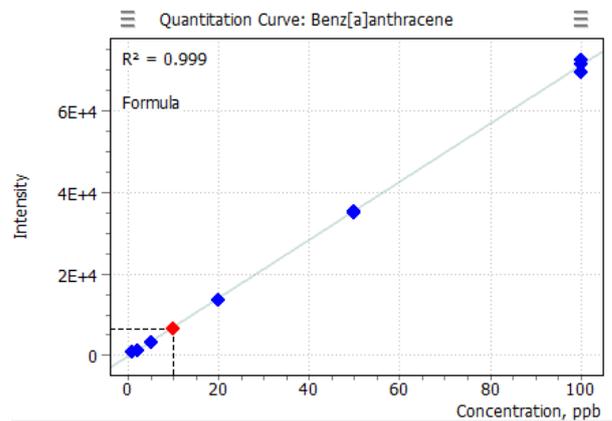
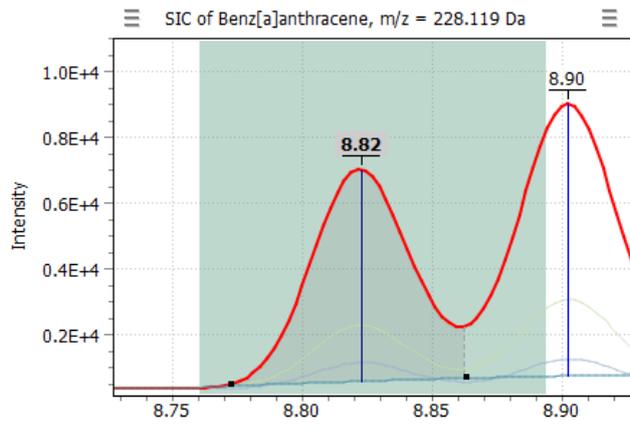
### Naphthalene



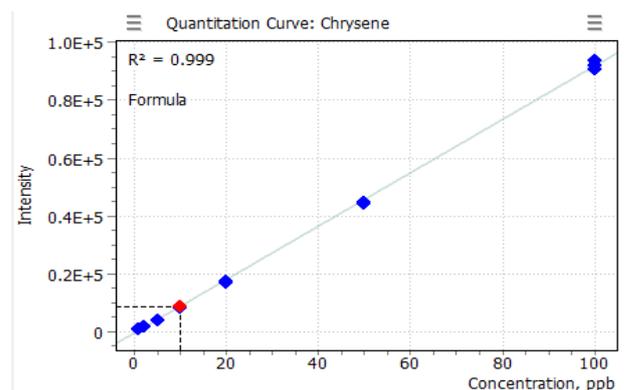
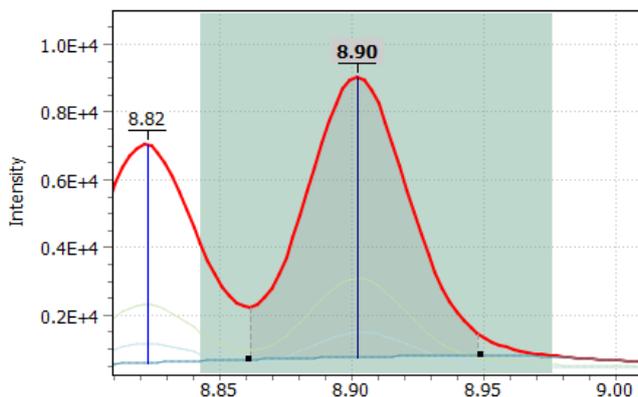
### Acenaphthylene



## Benz[a]anthracene



## Crysene



### Обсуждение результатов

Результаты эксперимента показали, что ПАУ в почве могут быть детектированы на уровне ниже или равным 2 ppb, при этом степень извлечения компонентов в ходе эксперимента составила от 70 до 120%. Более подробно результаты извлечения искомым компонентов из матрицы представлены в таблице 3.

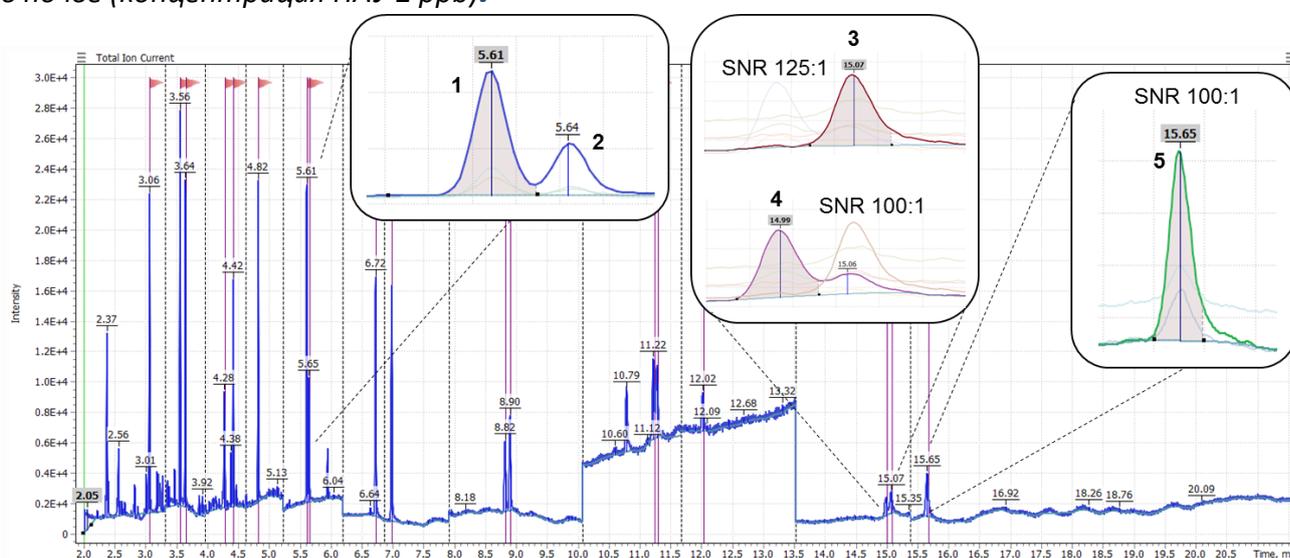
Выполненные исследования показывают, что масс-спектрометрическая система Маэстро-αМС позволяет получать надёжные результаты и проводить быстрый, качественный, а также количественный анализ для определения полициклических ароматических углеводородов при их одновременном присутствии в образцах почвы. Методика QuEChERS позволяет проводить оперативный экспрессный контроль анализируемых объектов с высокой чувствительностью и точностью.

**Табл. 3. Результаты извлечения ПАУ из матрицы, с ожидаемой концентрацией 2 пг/мкл.**

№	Соединение	Степень извлечения соединений из матрицы (концентрация вещества 2 ppb на колонку)			Среднее отклонение, %
		1 образец	2 образец	3 образец	
1	<i>Naphthalene</i>	111.5	112.5	121.5	4.2
2	<i>2-Methylnaphthalene</i>	105.6	118.6	131.6	8.7
3	<i>1-Methylnaphthalene</i>	97.8	116.3	116.3	8.2
4	<i>Acenaphthylene</i>	98.4	104.9	114.9	5.9
5	<i>Acenaphthene</i>	101.6	104.1	113.1	4.6
6	<i>Fluorene</i>	114.8	120.8	142.8	11.1

7	Phenanthrene	102.7	108.7	115.7	4.4
8	Anthracene	100.8	104.8	113.3	4.7
9	Fluoranthene	88.5	94.0	101.5	4.6
10	Pyrene	81.5	88.0	91.5	3.7
11	Benz[a]anthracene	70.3	74.8	84.3	5.2
12	Chrysene	67.1	72.6	78.6	3.9
13	Benzo[b]fluoranthene	113.7	107.6	101.4	4.1
14	Benzo[k]fluoranthene	112.4	104.0	99.2	4.8
15	Benzo[a]pyrene	107.1	106.4	96.8	4.4
16	Indeno[1,2,3-cd]pyrene	70.4	86.1	90.0	7.9
17	Dibenz[a,h]anthracene	109.3	124.2	124.2	6.6
18	Benzo[ghi]perylene	57.4	75.8	71.9	7.3

**Рис. 7.** Масс-хроматограмма модельной смеси полициклических ароматических соединений в почве (концентрация ПАУ 2 ppb).



1 – Phenanthrene; 2 – Anthracene; 4 – Indeno[1,2,3-cd]pyrene; 5 – Dibenz[a,h]anthracene; 6 – Benzo[ghi]perylene.

## Выводы

1. Методика пробоподготовки QuEChERS предоставляет быстрый и простой подход для извлечения и анализа 18 ПАУ из образца почвы, при этом поддерживаются высокие уровни извлечения искоемых соединений из пробы.
2. В ходе работы представлен интеллектуальный автоматизированный алгоритм построения программы SIM-эксперимента, который помогает надёжно получать максимальные значения чувствительности инструментального метода, вносит дополнительные удобства в методическую работу и максимально сокращает время, затрачиваемое на разработку инструментального метода.
3. Эксперимент показал, что хромато-масс-спектрометрическая система Маэстро-αМС отвечает самым современным требованиям приборного парка для выполнения комплексного анализа полициклических ароматических углеводородов в почве. 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. В.Д. Филимонов, Г.Б. Слепченко, М.Л. Беянин, А.С. Нартов Определение полициклических ароматических углеводородов в почвах с использованием газовой хроматографии – масс-спектрометрии. Аналитика и контроль. 2015. Т. 19, № 4. С. 310-315
3. Anastassiades M., Lehotay S.J, Stajnbaher D, and F.J. Schenck //The Journal of AOAC International V. 86. P. 412–431(2003).