



Определение остаточных количеств действующих веществ хлорорганических пестицидов в листьях зелёного чая, с использованием квадрупольного масс-детектора «**Maestro- α MS**»

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

Ключевые слова

Газовая хромато-масс-спектрометрия, пестициды, зелёный чай, iDwell® Time

Резюме

Продemonстрирована возможность хромато-масс-спектрометрической системы Маэстро- α МС на примере определения остаточных количеств группы действующих веществ хлорорганических пестицидов в листьях зелёного чая.

Введение

В современных условиях, когда в сфере обитания человека постоянно находится множество химических веществ антропогенного характера, потенциально опасных для здоровья и жизнедеятельности, обеспечение населения экологически безопасными продуктами питания становится одной из самых актуальных задач в аналитической химии. Чай тому не исключение. По разным данным, потребление чая на одного человека в год составляет от 2,5 кг (в Англии) до 0,3 кг (Америка). Россия занимает 8 место по числу потребления чая с показателем 0,6 кг чая в год на одного человека [1].

Безусловно, такой широко распространённый продукт обязан подвергаться строго регламентированному контролю прежде, чем попасть в чашку покупателю. Среди показателей подобного контроля основное место занимают химические показатели, среди которых уровень остаточных количеств пестицидов имеет приоритетное место.

Несмотря на то, что применение пестицидов строго регламентировано через систему государственной регистрации, национальные нормативы стран-экспортеров чая могут сильно отличаться по ряду показателей. Другими словами, технология использования пестицидов в различных районах выращивания чая может корректироваться производителями чая в зависимости, например, от различия в климатических особенностях произрастания культуры, и тем самым присутствием различных вредителей.

Для осуществления программ мониторинга и контроля остаточных количеств пестицидов в чае необходимы высокочувствительные аналитические системы, позволяющие детектировать и количественно оценивать уровни остаточных концентраций пестицидов, ниже официально установленных по требованиям безопасности. На сегодняшний момент создано достаточно большое разнообразие аналитических методов для мониторинга и проведения надёжных измерений их уровней концентраций в воде, воздухе и почве. Но, поскольку ассортимент пестицидов сегодня очень велик, наиболее эффективный подход их контроля связан с применением мультикомпонентных методов анализа, которые могут определять, как можно больше соединений одновременно.

В настоящей статье продемонстрированы возможности высокочувствительного масс-детектора Maestro- α MS для решения поставленных задач.

Экспериментальная часть

Материалы и методы

Все используемые в эксперимент реагенты имели классификацию, как особо чистые или HPLC grade. Стандарты действующих веществ хлорорганических пестицидов были использованы компании Sigma-Aldrich (EPA SS TCL Pesticides Mix).

В качестве объекта исследования был выбран модельный образец экстракта зелёного чая, купленный в местном супермаркете и подготовленный по методу пробоподготовки QuEChERS [2]. В экстракт заранее выполнили внесение смеси 16 действующих веществ пестицидов с концентрациями: 10; 50; 100 ppb.

Табл. 1. Параметры инструментального метода.

Инструментарий	
ГХ-МС система	Maestro- α MS
Испаритель	Split/Splitless (liner: Restek 4 mm x 6.3 x 78.5)
Хроматографическая колонка	Rtx-5MS (30m x 0.25mm; 250 μ m)

Экспериментальные настройки	
Объём пробы	1 мкл
Соотношение деления пробы	Splitless; Purge 40 мл/мин после 1,2 мин
t° испарителя	250°C
Режим тока газ-носителя	Режим Constant flow
Градиент t° печи	60°C в течение 1,25 мин; 20.0°C/мин до 180°C, удержание 0,0 мин; 5.0°C/мин до 230°C, удержание 0,0 мин; 25.0°C/мин до 290°C, удержание 2,0 мин; 30.0°C/мин до 310°C, удержание 2,0 мин.
Тип и скорость газа-носителя	(He) 1,0 мл/мин
t° интерфейса МС	280°C
Условия детектирования	
Источник ионизации	ЭИ (EI)
t° источника	230°C
Задержка растворителя	5 мин
Режимы сканирования	SIM (см. ниже)
Параметр «Dwell Time»	Режим iDwell® Time

В процессе подготовки аналитического метода был использован инновационный алгоритм автоматического расчёта оптимального времени сканирования ионов для каждого искомого соединения **iDwell® Time**.

Алгоритм **iDwell® Time** автоматически разбивает хроматограмму на оптимальные временные сегменты сканирования индивидуальных пиков (рис. 2), что позволяет оператору всегда иметь оптимальное количество точек данных для каждой целевой массы в режиме селекции выделенных ионов (SIM). Как представлено на рисунке 1, подобный подход позволяет получить максимально целостный пик правильной формы и с оптимальной интенсивностью [6].

Другими словами, алгоритм **iDwell® Time** помогает исключить возможные потери ионов в ходе эксперимента и тем самым добиться максимальной чувствительности метода, его стабильности, а также корректного алгоритма интегрирования данных.

Алгоритм интегрирован в программное обеспечение Maestro-Operator.

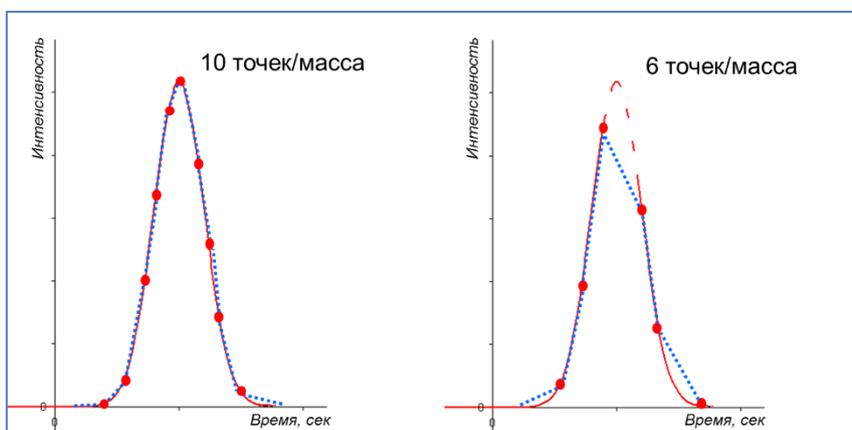


Рис. 1. Принцип работы алгоритма iDwell® Time.

Пробоподготовка

Метод скрининга остаточных количеств пестицидов QuEChERS основан на извлечении растворителем действующих веществ пестицидов из гомогенизированной смеси образца листьев зелёного чая с одновременной очисткой экстракта смесью солей и последующей идентификацией, а также количественным определением с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии.

Для выделения искомым веществ применяли экстракцию ацетонитрилом в соотношении 2,0 г пробы к 10,0 мл растворителя. Очистку экстракта осуществляли согласно методики ионообменным сорбентом Bondesil PSA, после чего полученные аликвоты переносили в вials автоанализатора и исследовали методом селективного выделения ионов (SIM). Таблица целевых ионов, соответствующих искомым соединениям, представлена в таблице 2.

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

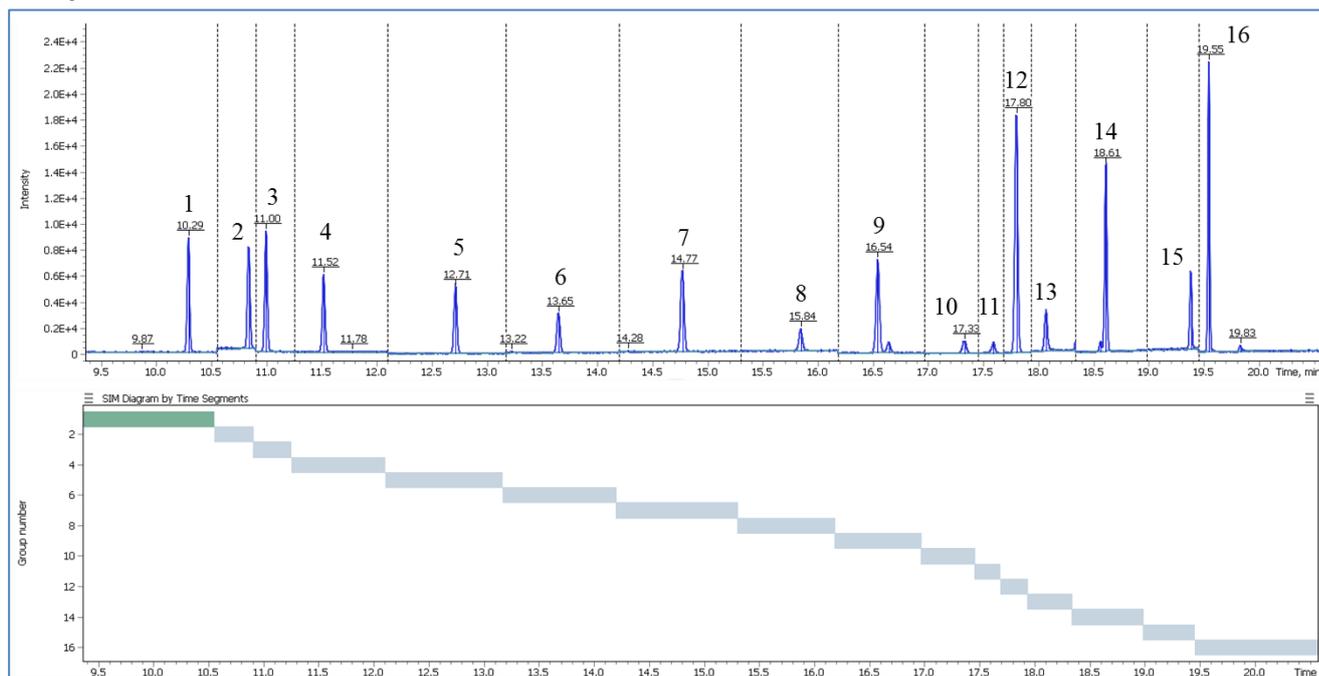
№	Действующее вещество	RT, min	Quantifier Ion	Qualifier Ion 1	Qualifier Ion 2
1	Aldrin	13.65	262.91	262.87	328.83
2	α -BHC (α -HCH)	10.29	218.9	184.91	182.91
3	β -BHC (β -HCH)	10.84	182.9	218.88	108.97
4	Lindane	10.995	182.91	180.94	n/a
5	δ -BHC (δ -HCH)	11.52	218.88	180.91	182.90
6	4,4-DDD	17.80	235.02	237.03	n/a
7	4,4'-DDE	16.545	246.06	317.95	315.93
8	4,4'-DDT	18.610	237.04	235.0	n/a
9	Dieldrin	16.645	276.93	262.91	379.92
10	α -Endosulfan	15.840	240.95	194.97	n/a
11	β -Endosulfan	17.590	240.93	338.81	306.90
12	Endrin	17.330	262.9	244.99	n/a
13	Endrin ketone	19.380	344.86	249.82	n/a
14	Heptachlor	12.715	271.81	269.81	273.77
15	Heptachlor exo-epoxide	14.775	352.79	354.80	262.89
16	Methoxychlor	19.545	227.14	228.15	n/a

Результаты и обсуждение

Линейность

Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки. Калибровочная кривая была построена в диапазоне от 10 до 1000 нг/мл (ppb). Избирательность используемого метода масс-спектрометрии основана на том, что детектирование действующих веществ пестицидов специфично для каждого искомого вещества, что обосновывается различной степенью разделения на хроматографической колонке, а также характерной фрагментацией ионов действующих веществ.

Рис. 2. Масс-хроматограмма стандартной смеси действующих веществ пестицидов и процесс автоматического разбиения хроматограммы на сегменты с помощью алгоритма iDwell® Time.



1. α -HCH; 2. β -HCH; 3. Lindane; 4. δ -HCH; 5. Heptachlor; 6. Aldrin; 7. Heptachlor exo-epoxide; 8. α -Endosulfan; 9. 4,4'-DDE; 10. Dieldrin; 11. Endrin; 12. β -Endosulfan; 13. 4,4-DDD; 14. 4,4'-DDT; 15. Endrin ketone; 16. Methoxychlor

Все 15 соединений из 16 имели калибровочный коэффициент ≥ 0.998 (табл. 4), только соединение 4,4'-DDT показало калибровочный коэффициент равный 0,996.

Табл. 3. Калибровочный коэффициент (R^2) для смеси хлорорганических пестицидов

Действующее вещество	R^2	Действующее вещество	R^2
Aldrin	0.999	Dieldrin	0.999
α -BHC (α -HCH)	0.999	α -Endosulfan	0.999
β -BHC (β -HCH)	0.999	β -Endosulfan	0.999
Lindane	0.999	Endrin	0.999
δ -BHC (δ -HCH)	0.998	Endrin ketone	0.998
4,4-DDD	0.998	Heptachlor	0.998
4,4'-DDE	0.999	Heptachlor exo-epoxide	0.999
4,4'-DDT	0.996	Methoxychlor	0.998

Обсуждение результатов

Определение остаточных количеств пестицидов в различных типах чая сопряжено с определенными проблемами экстракции, очистки и последующим ГХ-МС анализом из-за сложности матрицы. Наличие фенольных соединений, а также кофеина проявляется в виде многочисленных интерференций с искомыми компонентами, что выражается в виде усиления или подавления искомым хроматографическим пикам в профиле, а это соответственно проявляется в неоднозначности идентификации.

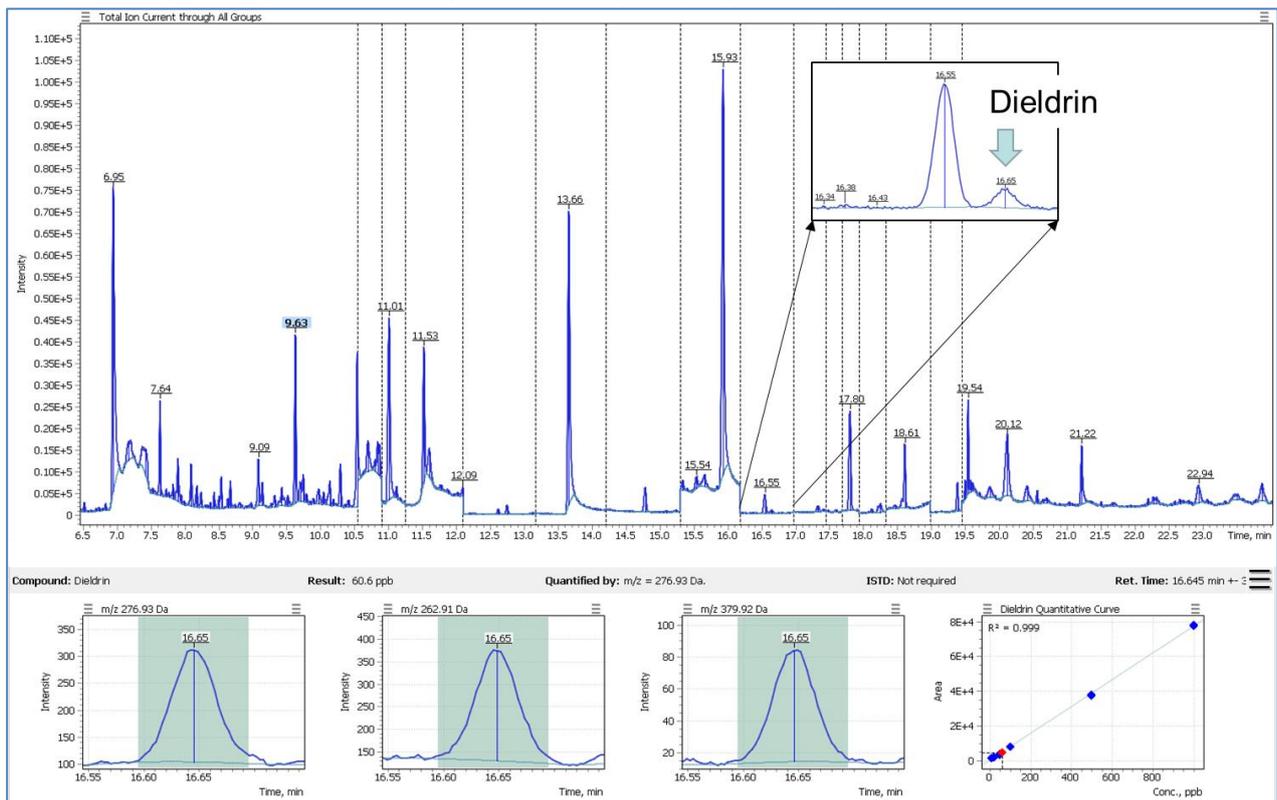
Фенольные соединения составляют 25-35% содержания сухого вещества в молодых свежих чайных листьях. Они отвечают за цвет чая, 80% из которых составляют флавонольные

соединения, остальные 20% составляют проантоцианидины, фенольные кислоты, флавонолы и флавоны. Наличие последних обуславливает зеленоватый или желтоватый цвет зеленого чая. Стоит также отметить, что чайные листья содержат также пигменты хлорофилл и каротиноиды.

Результаты эксперимента показали, что 11 из 16 хлорорганических соединений могут быть детектированы на уровне ниже или равным 10 ppb, при этом степень извлечения действующих веществ пестицидов методом пробоподготовки QuEChERS составила от 70 до 110%. Учитывая высокий фон матрицы зелёного чая, некоторые соединения удалось детектировать (с учётом высокой степени извлечения) только на уровне 50 ppb. В частности, на рисунке 3 представлено детектирование соединения Dieldrin на фоне интенсивных матричных пиков, с надёжным детектированием подтверждающих ионов.

В таблице 4 представлены результаты эксперимента, в соответствии с требуемыми нормативами различных стран. Данные показывают, что масс-спектрометрическая система Маэстро- α МС в комплексе с мультикомпонентным методом подготовки QuEChERS позволяет получать надёжные результаты и проводить быстрый, а также качественный анализ широкого спектра действующих веществ класса хлорорганических пестицидов, при их одновременном присутствии в образцах чая.

Рис. 3. Профиль масс-хроматограммы модельного образца зелёного чая, с внесением действующих веществ пестицидов в концентрации 50 ppb.



Подобные эксперименты являются крайне важными для быстрого реагирования в секторе продовольственной безопасности, а также в сельском хозяйстве для мониторинга правильного и безопасного применения средств защиты растений на выращиваемых культурах, почвах и в получаемых продуктах питания.

Табл. 4. Пределы обнаружения и степени извлечения соединения в эксперименте.

№	Действующее вещество	Детектируемые концентрации, ppb	Степень извлечения, %	Максимально допустимые уровни, ppb		
				ЕС**	Китай*	Япония***
1	Aldrin	≤ 10 ppb	97%	20 ppb	n/a	n/a
2	α-ВНС (α-НСН)	≤ 10 ppb	75.2 %	10 ppb**	200 ppb*	n/a
3	β-ВНС (β-НСН)	≤ 10 ppb	74%	10 ppb**	200 ppb*	50 ppb***
4	Lindane	≤ 10 ppb	82%	10 ppb**	n/a	n/a
5	δ-ВНС (δ-НСН)	≤ 10 ppb	64%	10 ppb**	200 ppb*	n/a
6	4,4-DDD	≤ 10 ppb	90.5%	ND	200 ppb*	n/a
7	4,4'-DDE	≤ 10 ppb	84.5%	ND	200 ppb*	n/a
8	4,4'-DDT	≤ 10 ppb	86%	ND	200 ppb*	n/a
9	Dieldrin	≤ 50 ppb	120%	n/a	n/a	n/a
10	α-Endosulfan	≤ 50ppb	112.4%	10000 ppb*	10000 ppb*	30000 ppb*
11	β-Endosulfan	≤ 100 ppb	93.05%	10000 ppb*	10000 ppb*	30000 ppb*
12	Endrin	≤ 10 ppb	112%	n/a	n/a	n/a
13	Endrin ketone	≤ 100ppb	107.5%	n/a	n/a	n/a
14	Heptachlor	≤ 50 ppb	54.4%	n/a	n/a	n/a
15	Heptachlor exo-epoxide	≤ 10 ppb	99.8%	n/a	n/a	n/a
16	Methoxychlor	≤ 10ppb	60.0%	n/a	n/a	n/a

* - Report of the working group on maximum residue levels (MRLS) and MRLS in the brew [3]

** - Commission regulation (EU) 2017/978 of 9 June 2017 [4]

*** - Japanese Food Chemical Research Foundation [5]

Выводы

1. Выполненный эксперимент показал, что хромато-масс-спектрометрическая система Маэстро-αМС отвечает самым современным требованиям приборного парка для выполнения комплексного анализа остаточных количеств действующих веществ пестицидов в продукции. Полученные данные демонстрируют высокую чувствительность и селективность системы.

2. В ходе работы представлен инновационный алгоритм автоматической оптимизации параметров сканирования ионов **iDwell® Time**, который повышает чувствительность, производительность системы, а также вносит дополнительные удобства в методическую работу, снижая тем самым квалификационные барьеры и требования к оператору ГХ-МС в рутинных лабораториях.

Литература

1. Похлёбкин В.В. Чай: Его история, свойства и употребление. — М.: Центрполиграф, 2004. — 121 с.
2. Anastassiades M., Lehotay S.J, Stajnbaher D, and F.J. Schenck //The Journal of AOAC International V. 86. P. 412–431(2003).

3. *Report of the working group on maximum residue levels (MRLS) and MRLS in the brew (based on feedback from India, UK, US, China and Canada)// CCP: TE 16/CRS15*
4. *COMMISSION REGULATION (EU) 2017/978 of 9 June 2017*
5. *Japanese Food Chemical Research Foundation*
6. *Poole, C.F., The Essence of Chromatography, Elsevier, Amsterdam, 2003, pp. 66-67.*



За дополнительной информацией обращайтесь в компанию Интерлаб

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