

Анализ следовых количеств органических загрязняющих веществ в воде и соках методом ВЭЖХ с онлайн-ТФЭ

Методическая информация

Экологический контроль и анализ пищевых продуктов

Авторы

Е. Михаэль Трумен (E. Michael Thurman), Имма Феррер (Imma Ferrer)
Центр масс-спектрометрического анализа окружающей среды
Факультет природообустройства
Университет Колорадо
Боулдер, штат Колорадо
США

Джерри А. Цвейгенбаум
(Jerry A. Zweigenbaum)
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Уилмингтон, Делавэр 19808
США

Аннотация

Идентификация и количественное определение следовых количеств органических загрязняющих веществ (фармацевтических препаратов и пестицидов) в природных водах и соках методом внутривиточковой ТФЭ выполняется с помощью модуля Agilent Flex Cube с последующим анализом посредством трехквартупольного масс-спектрометра. Небольшой объем пробы (900 мкл) предварительно концентрировали на патронах с полимерным сорбентом. В настоящей публикации приводятся и обсуждаются следующие аналитические характеристики системы онлайн-ТФЭ: линейность, степень извлечения и пределы обнаружения, полученные для реальных проб. Степень извлечения составляла от 41 до 115%. Пределы обнаружения метода варьировались от 1 до 500 нг/л.



Agilent Technologies

Введение

Автоматизация метода ТФЭ создает множество преимуществ: например, позволяет сохранить здоровье и безопасность оператора, улучшить результаты анализа и снизить затраты. Автоматизация посредством внутривиточковой ТФЭ исключает длительный контакт оператора с пробами воды, содержащими опасные вещества, и органическими растворителями. Также исключается возможность возникновения ошибок из-за человеческого фактора. Более того, чтобы использовать время пробоподготовки с максимальной пользой, можно проводить анализ в автоматическом режиме в ночную смену. Главным преимуществом онлайн-ТФЭ является максимальное повышение степени извлечения аналитов, недостижимое при проведении ТФЭ и работе с растворителями вручную из-за потерь пробы.

Данная методическая информация демонстрирует автоматизацию методов ТФЭ для проб природных вод, содержащих пестициды и фармацевтические препараты, а также для проб соков, содержащих пестициды. О важности ТФЭ проб воды известно еще с начала 1980-х гг., поскольку требовалось снизить уровень обнаружения аналитов с помощью современных приборов ГХ-МС и ВЭЖХ-МС на несколько порядков: с мг/л до нг/л. Как правило, для этого применялись методы ручной ТФЭ с использованием вакуумного коллектора. При такой системе пробу воды вручную пропускают через кондиционированный патрон и затем элюируют в пробирку для последующего испарения в атмосфере азота. В конце концов экстракт переносят во флакон для анализа ВЭЖХ-МС. Проведение пробоподготовки в несколько стадий, даже с максимальной осторожностью, приводит к потере приблизительно 10% пробы. Кроме того, потери могут быть вызваны частичным элюированием из патрона для ТФЭ. Обе эти трудности удалось преодолеть благодаря онлайн-ТФЭ, поскольку проба готовится специально для систем ВЭЖХ-МС, при этом используется тот же растворитель, что и при хроматографировании. Это означает, что через патрон для ТФЭ проходят большие объемы пробы и элюирование происходит максимально эффективно. Автоматическая ТФЭ прекрасно обрабатывает малые объемы проб, например 1 мл, которые требуются для анализа соков и вызывают большие трудности при использовании ручных методов. Поэтому внутривиточковая ТФЭ идеально подходит для решения этих аналитических задач.

Экспериментальная часть

Стандарты и реактивы

Калибровочные стандарты максимальной степени чистоты были приобретены у компаний Cerilliant и AccuStandards. Растворы калибровочных стандартов готовили в диапазоне концентраций 1–1000 нг/л. Меченый суррогатный внутренний стандарт, карбамазепин-d10, был приобретен у компании Cambridge Isotopes. Все растворители имели наивысшую степень чистоты. Вода, метанол и ацетонитрил для анализа пестицидов были приобретены у компании Burdick & Jackson.

Оборудование

Система Agilent серии 1290 Infinity, состоящая из следующих компонентов:

- бинарный насос Agilent 1290 Infinity со встроенным дегазатором, (G4220A);
- стандартный автосамплер Agilent 1260 Infinity с 900 мкл петлей (G1329B #020) и термостатом (G1330B);
- модуль Agilent 1290 Infinity Flexible Cube (G4227A) с двухпозиционным 10-портовым краном (G4232C);
- термостат колоночного отделения Agilent 1290 Infinity (G1316C).

Для обнаружения аналитов использовали систему трехкврупольного ВЭЖХ-МС Agilent 6460 с электрораспылителем Agilent Jet Stream.

На рис. 1 изображена схема различных модулей. Такая система предполагает использование двух патронов; в одну колонку помещают пробу, а вторая используется для элюирования, таким образом сокращается общее время анализа.



Рис. 1. Схема внутривиточного процесса

В табл. 1 представлены рабочие параметры модуля 1290 Infinity Flexible Cube и системы ВЭЖХ-МС.

Таблица 1. Параметры онлайн ТФЭ

Модуль Agilent 1290 Infinity Flexible Cube

Патроны для онлайн ТФЭ	PLRP-S, 4,6 × 12,5 мм (кат. № 5982-1270)
Температура	25 °С
Объем	900 мкл
Скорость отбора пробы	1 000 мкл/мин
Скорость ввода пробы	1 000 мкл/мин
Положение отбора	0,5 мм
Скорость потока	1 мл/мин
Растворители	A1) Вода A2) Метанол B2) Ацетонитрил
Кондиционирование патрона	2 мл метанола 4 мл воды
Промывка патрона	2 мл ацетонитрила

Параметры ВЭЖХ

Анализическая колонка	Agilent ZORBAX Eclipse XDB C8 150 × 4,6 мм, 3,5 мкм (кат. № 963967-906)	
Температура	25 °С	
Подвижная фаза	A) Вода (0,1% уксусной кислоты) B) Ацетонитрил	
Скорость потока	0,6 мл/мин	
Градиент элюирования из колонки для ТФЭ	Время (мин)	A B
	0	90% 10%
	2	90% 10%
	10	0% 100%
	12	0% 100%

Параметры масс-спектрометра

Параметры сбора данных	режим динамического MRM
Температура газа периферийного слоя	350 °С
Скорость потока газа периферийного слоя	11 л/мин
Температура осушающего газа	250 °С
Скорость потока осушающего газа	10 л/мин
Давление в распылителе	45 psig (3,1 бар)
Напряжение на сопле распылителя	0 В положительное; 1 500 В отрицательное
Напряжение наконечника	3 500 В
Напряжение умножителя	200 В положительное; 400 В отрицательное

На рис. 2 изображена серия снимков, иллюстрирующих положения и порядок работы крана для ТФЭ.

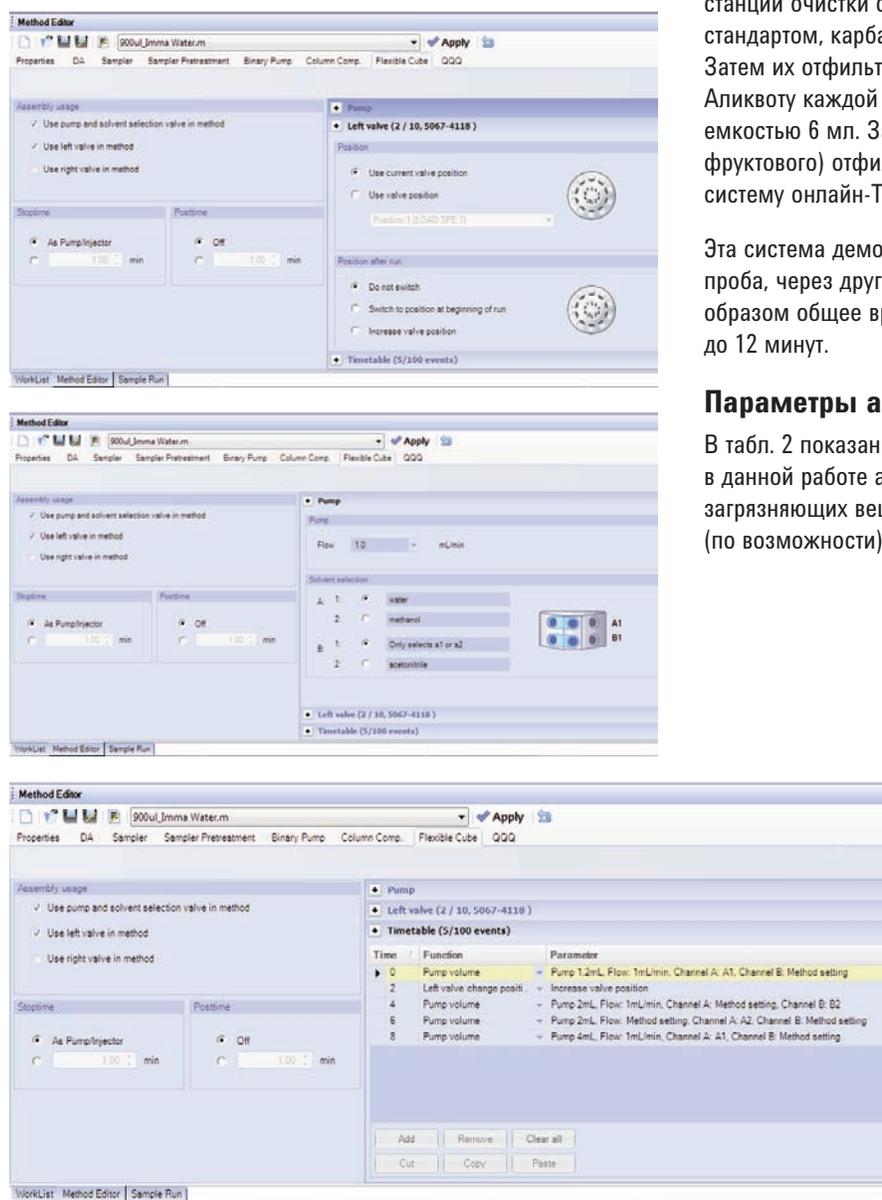


Рис. 2. Схемы, иллюстрирующие функционирование крана для ТФЭ

Пробоподготовка

Пробы поверхностных вод были взяты из выходного потока на станции очистки сточных вод. Пробы обогатили суррогатным стандартом, карбамазепином-d10, с концентрацией 80 нг/л. Затем их отфильтровали в шприцевом фильтре 0,2 мкм. Аликвоту каждой пробы объемом 6 мл поместили во флакон емкостью 6 мл. Затем 6 мл пробы сока (лимонного и фруктового) отфильтровали и проанализировали, используя систему онлайн-ТФЭ.

Эта система демонстрирует, что пока в одну колонку вводится проба, через другую проводится элюирование — таким образом общее время анализа каждой пробы сокращается до 12 минут.

Параметры анализа

В табл. 2 показаны MRM-переходы для всех исследуемых в данной работе аналитов. Для правильной идентификации загрязняющих веществ учитывали два перехода (по возможности) для каждого соединения.

Таблица 2. Параметры анализа MRM с ионизацией электроспреем для всех исследуемых аналитов

Название химического соединения	Родительский ион (прекурсор)	Дочерний ион	Время удерживания (мин)	Фрагментор	Энергия соударений	Полярность
2,4-D	219	161	10,22	70	10	Отрицательная
2,4-D	219	125		70	25	Отрицательная
Атенопол	267	190	5,47	110	15	Положительная
Атенопол	267	145		110	20	Положительная
Атразин	216	174	9,57	120	15	Положительная
Атразин	216	146		120	20	Положительная
Кофеин	195	138	6,33	110	15	Положительная
Кофеин	195	110		110	25	Положительная
Карбамазепин	237	194	8,56	120	15	Положительная
Карбамазепин	237	179		120	35	Положительная
Карбамазепин-d10	247	204	8,5	120	15	Положительная
Карбендазим	192	160	6,3	80	15	Положительная
Карбендазим	192	132		80	20	Положительная
Кларитромицин	748,5	590	7,22	110	15	Положительная
Кларитромицин	748,5	158		110	25	Положительная
Котинин	177	98	5,41	90	25	Положительная
Котинин	177	80		90	25	Положительная
DEET	192	119	9,62	110	15	Положительная
DEET	192	91		110	30	Положительная
Диазинон	305	169	11,72	90	15	Положительная
Диазинон	305	153		90	20	Положительная
Дилтиазем	415	178	7,02	130	25	Положительная
Дилтиазем	415	150		130	25	Положительная
Дифенгидрамин	256	167	7,01	70	15	Положительная
Дифенгидрамин	256	152		70	35	Положительная
Диурон	235	72	9,53	90	20	Положительная
Диурон	233	72		90	20	Положительная
Флуридон	330	310	9,98	110	30	Положительная
Флуридон	330	294		110	50	Положительная
Гемфиброзил	249	121	11,19	70	5	Отрицательная
Имазалил	297	159	7,4	120	20	Положительная
Имазалил	297	255		120	20	Положительная
Имидаклоприд	256	209	7,7	80	10	Положительная
Имидаклоприд	256	175		80	10	Положительная
Ламотриджин	258	213	6,34	120	25	Положительная
Ламотриджин	256	211		120	25	Положительная
Метропол	268	116	6,31	110	15	Положительная
Метропол	268	56		110	30	Положительная
Пропранолол	260	116	6,83	110	15	Положительная
Пропранолол	260	56		110	30	Положительная
Сукралоза	419	239	6,59	110	15	Положительная
Сукралоза	419	221		110	15	Положительная
Сульфаметоксазол	254	156	8,02	80	10	Положительная
Сульфаметоксазол	254	92		80	30	Положительная
Тиабендазол	202	175	6,5	120	30	Положительная
Тиабендазол	202	131		120	30	Положительная
Триклопир	256	198	10,19	50	5	Отрицательная
Триклопир	254	196		50	5	Отрицательная
Триметоприм	291	261	5,98	110	25	Положительная
Триметоприм	291	230		110	20	Положительная

Результаты и обсуждение

Показатели работы онлайн-ТФЗ

В табл. 3 указана степень извлечения для каждого из исследуемых аналитов в пробах поверхностных вод. Для большинства аналитов была получена хорошая степень извлечения, за исключением гемфиброзила и сукралозы. Гемфиброзил является довольно гидрофобным соединением и не может полностью элюироваться из полимерного сорбента. И наоборот, сукралоза имеет полярную природу и, вероятно, проходит через сорбент. Для этих двух соединений, возможно, лучше подойдут другие виды сорбентов, такие как C-18 или ионные. Для всех остальных соединений была получена высокая степень извлечения, поэтому данный метод подходит для анализа поверхностных вод, контактировавших со сточными водами.

Таблица 3. Степени извлечения, полученные после предварительного концентрирования 900 мкл пробы на патронах PLRP-S

Соединение	Извлечение, %	ПО (нг/л)
2,4-D	88	10
Атенолол	102	5
Атразин	98	5
Кофеин	102	5
Карбамазепин	88	5
Кларитромицин	107	5
Котинин	114	5
ДЕЕТ	82	10
Диазинон	96	1
Дилтиазем	115	5
Дифенгидрамин	114	2
Диурон	79	10
Флуридон	96	5
Гемфиброзил	35	50
Ламотриджин	96	10
Метопролол	110	5
Пропранолол	109	5
Сукралоза	41	500
Сульфаметоксазол	83	10
Триклопир	79	10
Триметоприм	104	5

В табл. 3 указаны пределы обнаружения (ПО) для каждого из исследуемых соединений в пробах поверхностных вод. При расчете пределов обнаружения также принимали во внимание подтверждающий переход. Полученные ПО варьировались в зависимости от соединения. Для некоторых аналитов чувствительность составила 1 нг/л. Большинство соединений удалось обнаружить на уровне менее 10 нг/л.

Калибровочные кривые, построенные для концентраций от 1 до 1 000 нг/л, продемонстрировали хорошую линейность. На рис. 3 приведен пример карбамазепина — одного из наиболее часто обнаруживаемых в воде фармацевтических препаратов. На рис. 3 также показаны пики обоих переходов при концентрации 5 нг/л.

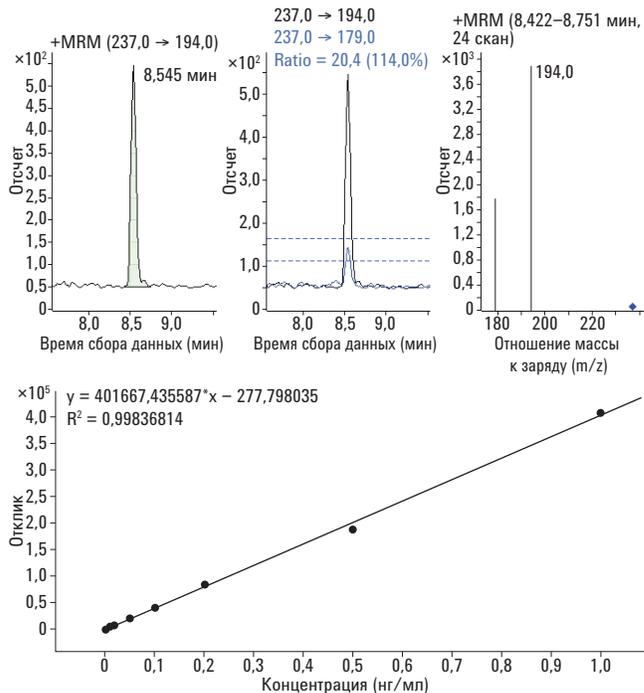


Рис. 3. Количественное определение и линейная кривая карбамазепина в пробах поверхностных вод

Анализ проб

На рис. 4 изображена хроматограмма пробы поверхностной воды с примесью сточных вод. В данной пробе были обнаружены 12 аналитов на низких уровнях концентрации.

Также с помощью этой методики были проанализированы две пробы соков (лимонный сок и фруктовый пунш). Обнаружение карбендазима и имазапила в пробе лимонного сока дало положительные результаты, как показано на рис. 5. Это позволяет использовать метод быстрого обнаружения пестицидов в напитках с минимальной пробоподготовкой. Однако такая матрица может загрязнять патрон для онлайн-ТФЭ, поэтому для рутинных анализов может понадобиться разбавление проб. Оптимизация анализа фруктовых соков не являлась целью данного исследования.

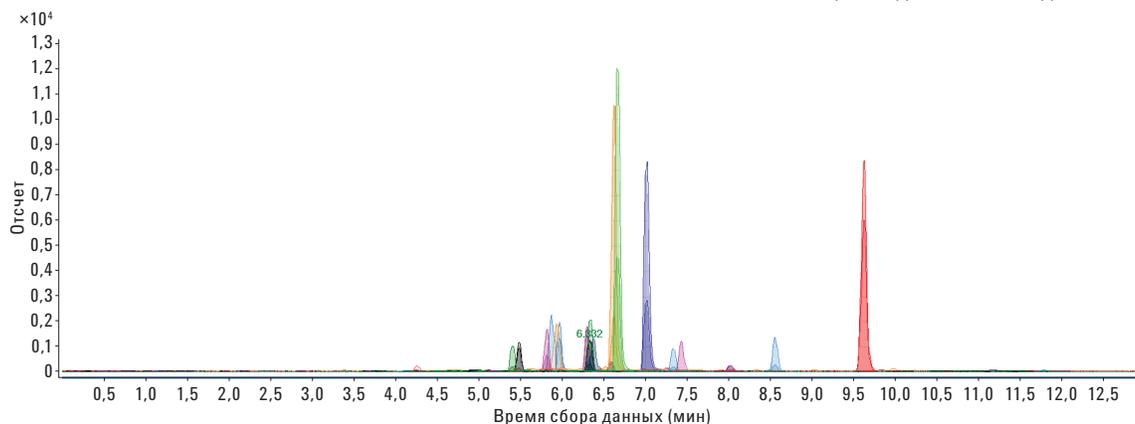


Рис. 4. Анализ ВЭЖХ-МС-МС пробы поверхностной воды из Колорадо

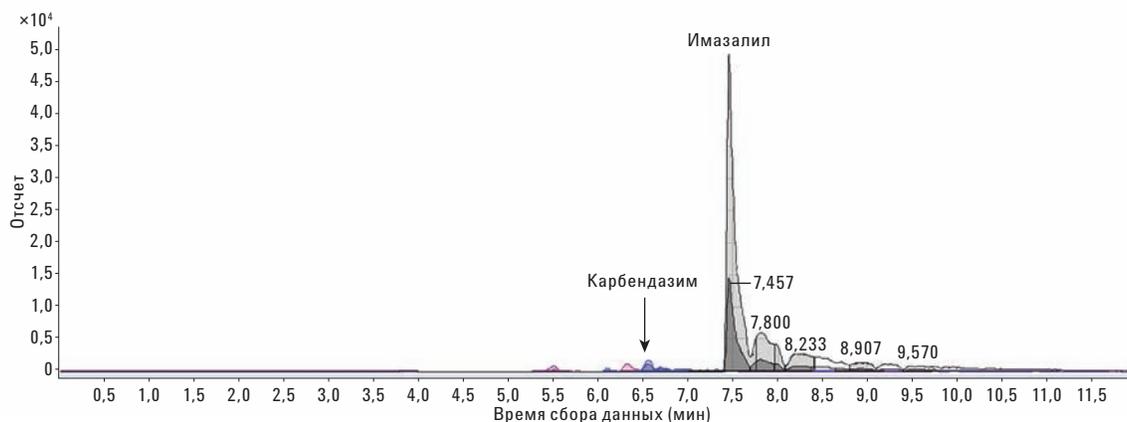


Рис. 5. Хроматограмма ВЭЖХ-МС-МС пробы лимонного сока

Выводы

Данная методическая информация демонстрирует важность автоматизированной онлайн-ТФЭ для выявления следовых количеств пестицидов и фармацевтических препаратов в пробах природных вод. С помощью системы ВЭЖХ-МС с онлайн-ТФЭ можно с легкостью проанализировать несколько проб соков объемом менее 1 мл. Однако для рутинного анализа фруктовых соков потребуется дополнительное кондиционирование проб. Сочетание модуля Agilent 1290 Infinity Flexible Cube со стандартным автосамплером 1260 Infinity позволяет оператору проводить онлайн-ТФЭ и хроматографический анализ, в то время как второй патрон заполняется пробой. Соответственно, экономится время на пробоподготовку. Методики правильной очистки и элюирования позволяют использовать один патрон несколько раз.

Дополнительная информация

Представленные данные являются стандартными значениями. Для получения дополнительной информации о наших продуктах и услугах посетите наш веб-сайт по адресу: www.agilent.com/chem.

www.agilent.com/chem

Компания Agilent не несет ответственности за возможные ошибки в настоящем документе, а также за убытки, связанные или являющиеся следствием получения настоящего документа, ознакомления с ним и его использования.

Информация, описания и технические характеристики в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2014
Напечатано в США
9 июня 2014 г.
5991-4562RU



Agilent Technologies