

УДК: 541.49+547–386

МЭН ЦИНЬКАЙ, БРЮС КВИМБИ

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПЕСТИЦИДОВ
ПУТЕМ ОДНОВРЕМЕННОЙ РЕГИСТРАЦИИ
ХРОМАТОГРАММ ПО ПОЛНОМУ ИОННОМУ ТОКУ,
ВЫБРАННЫХ ИОНОВ,
А ТАКЖЕ СИГНАЛОВ МИКРОЭЛЕКТРОННОЗАХВАТНОГО
И ПЛАМЕННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ДЕТЕКТОРОВ
ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВВОДЕ ПРОБЫ**

У цій публікації описано газовий хромато-мас-спектрометр (ГХ-МС), що дозволяє одночасно отримувати до чотирьох сигналів при введенні однієї проби. Установлення на виході колонки триканального мікропотокового подільника дозволила отримати при одиничному введені проби не тільки мас-спектральні (МС) дані, але також сигнали двох ГХ-детекторів. Така багатоканальна конфігурація пристрію дозволяє реєструвати хроматограми у режимі сканування повного мас-спектра («Скан») для бібліотечного пошуку мас-спектрів, отримувати дані мас-фрагментографії (селективного іонного моніторингу – СІМ) для аналізу слідової кількості речовин, а також дані мікроелектронозахоплювального детектора (МДЕЗ) і полуменево-фотометричного детектора (ПФД), що забезпечує високі селективності та чутливість під час аналізу складних матриць. Можливість зіставляння даних елементоселективних детекторів, хроматограм, записаних у режимах СІМ/Скан, а також наявність програм виявлення індивідуальних мас-спектрів і складанні звітів (DRS) робить цей пристрій незамінним засобом для аналізу різноманітних об'єктів на вміст пестицидів. У цій публікації розглянуто приклади його застосування для кількісного визначення та підтвердження наявності пестицидів у слідових кількостях, а також для відділення проб невідомого складу.

In this application note, a gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) system capable of providing up to four signals from a single injection is described. When a three-way micro-fluidic splitter is added to the end of the column, two additional signals from GS detectors can be acquired together with the MS data from a single injection. This multi-signal configuration provides: full-scan data for library searching, selective ion monitoring (SIM) data for trace analysis, micro-electron capture detector and flame photometric detector data for excellent selectivity from complex matrices. A combination of element selective detectors,

SIM/Scan, and deconvolution reporting software makes a very powerful pesticide analysis system. Examples for trace-level compound quantitation/confirmation or for screening are discussed.

Введение

Во многих лабораториях мира для защиты здоровья людей выполняют анализ пищевых продуктов и образцов веществ из окружающей среды на содержание пестицидов в следовых количествах. Обычно при этом пробы гомогенизируют, экстрагируют пестициды, а затем, в зависимости от природы исследуемых веществ, применяют для анализа методы газовой хроматографии (ГХ) либо жидкостной хроматографии (ЖХ). Для детектирования веществ, поддающихся анализу посредством ГХ, традиционно используют азотно-фосфорный детектор (АФД), микрэлектроннозахватный детектор (МДЭЗ) и пламенно-фотометрический детектор (ПФД), отличающиеся высокими чувствительностью и селективностью. Однако эти ГХ-детекторы не позволяют достаточно точно идентифицировать анализируемые вещества, даже при использовании двухколоночных схем.

Для окончательного подтверждения наличия тех или иных веществ обычно используют выявленные масс-спектры, которые сравнивают с библиотечными. Однако данные, полученные в результате анализа хроматограмм по полному ионному току (ПИТ) с регистрацией полных масс-спектров, отличаются от высокоселективных ГХ-детекторов худшими (более высокими) значениями порога определения (ПО). Чтобы снизить ПО, зачастую используют масс-фрагментографию, позволяющую регистрировать хроматограммы в режиме так называемого «селективного ионного мониторинга» (СИМ). В режиме СИМ масс-спектрометр регистрирует сигналы только от нескольких характеристических ионов того или иного целевого вещества на отрезке времени, соответствующем времени удерживания (ВУ) этого вещества. Настройка масс-детектора на несколько характеристических ионов позволяет значительно повысить чувствительность метода и улучшить отношение сигнал–шум. Регистрацию групп таких ионов осуществляют, программируя прибор по времени в соответствии со временами удерживания целевых веществ. Анализ в режиме СИМ веществ с близкими значениями ВУ требует весьма точного согласования их времен удерживания с временами переключения групп ионов в СИМ. Чтобы устранить необходимость перенастройки временных «окон» СИМ после каждого технического обслуживания (ТО) хроматографа или замены колонки, используют программу «Фиксации времён удерживания» (Retention Time Locking – RTL).

В настоящей публикации описан газовый хромато-масс-спектрометр (ГХ-МС), позволяющий получать до четырёх сигналов при вводе одной пробы, что создает значительные преимущества такого многоканального детектирования:

- возможность получения информации в режиме регистрации хроматограммы по ПИТ для идентификации целевых веществ по библиотекам масс-спектров;
- достижение максимальной чувствительности СИМ, обеспечивающей возможность анализа следовых количеств веществ;
- превосходная селективность МДЭЗ и ПФД, позволяющая обнаруживать соединения с гетероатомами в сложных матрицах на уровне следовых количеств.

Экспериментальная часть

В недавно опубликованных методических рекомендациях «Одновременный анализ СИМ/Скан» описан способ регистрации масс-спектрального детектора (МСД) модели 5975 inert в одном опыте полного масс-спектра и ряда спектров отдельных ионов без потерь чувствительности [1]. Методику СИМ легко автоматизировать при помощи программы AutoSIM, входящей в состав ПО «ХимСтанция» [2]. Достаточно установить флагок в окне параметров настройки метода, чтобы прибор одновременно регистрировал как полный масс-спектр, так и данные в режиме СИМ. При этом частота регистрации масс-спектров несколько снижается, однако достигается безусловное преимущество, состоящее в одновременном получении взаимодополняющих сигналов Скан и СИМ. Правильный выбор параметров сбора данных, например, задание большей скорости сканирования, делает несущественным некоторое уменьшение количества циклов сканирования в единицу времени, так как при этом ни возможности количественной обработки пиков, ни качество результатов (например, отношение сигнал–шум) не снижаются.

На выходе аналитической колонки поток разделяется на три части при помощи капилляров (ограничителей) соответствующих длин и диаметров.

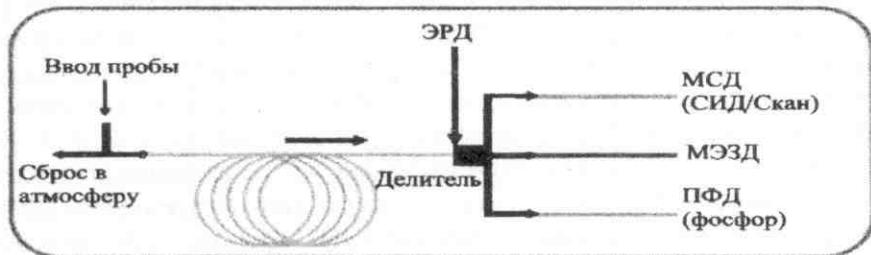
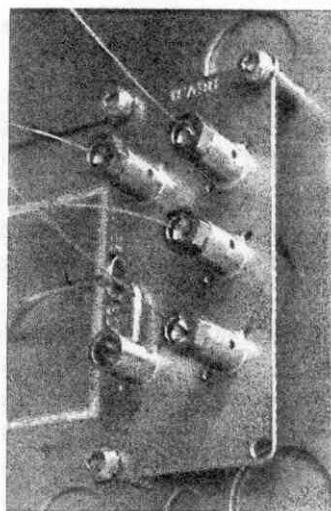


Рис. 1. Схема многоканальной конфигурации
Поток от ЭРД поступает на делитель совместно с потоком
с выхода колонки

Программный комплекс «ХимСтанция» позволяет, помимо данных СИМ/Скан, получать одновременно до двух сигналов с ГХ-детекторов. Это могут быть, например, сигналы ПФД (по фосфору или сере) и АФД (по азоту и фосфору) либо два сигнала (по фосфору или сере) с двухканального ПФД (ДПФД).



**Рис. 2. Микропотоковый делитель
в термостате ГХ модели 6890N**

Программный комплекс «ХимСтанция» позволяет, помимо данных СИМ/Скан, получать одновременно до двух сигналов с ГХ-детекторов. Это могут быть, например, сигналы ПФД (по фосфору или сере) и АФД (по азоту и фосфору) либо два сигнала (по фосфору или сере) с двухканального ПФД (ДПФД).

На рис. 1 представлена схема многоканального детектирования. На выходе колонки поток распределяется по детекторам при помощи микропотокового делителя [3]. Как видно из приведенной на рисунке 1 схемы, на вход делителя подаётся также газ – с выхода дополнительного электронного регулятора давления (доп-ЭРД), чтобы обеспечить давление, необходимое для достижения постоянства отношений расходов во всех каналах на протяжении опыта.

На рис. 2 показан (крупным планом) смонтированный в термостате ГХ микропотоковый делитель, размеры панели которого составляют: по ширине – 3,2 см, по высоте – 6,4 см. В конструкции делителя потоков устраниены традиционно присущие этому устройству недостатки – большая нагреваемая масса, избыточный мёртвый объём, течи в соединениях при циклическом изменении температуры в термостате и пр. Каналы прохождения потоков и точки их соединения в делителе выполнены в тонкой пластине из нержавеющей стали – с использованием техники фотолитографии и химического травления. Диффузно соединенные между собой две пластины образуют панель микропотокового делителя, с одной стороны которого имеются вводы для присоединения колонок. Поверхность устройства деактивирована.

Таким образом, микропотоковые делители (серийный выпуск которых наложен) содержат все конструктивно необходимые элементы. С целью обеспечения герметичности соединений и стойкости к температурным изменениям использованы металлические обжимные втулки (ферулы). Их до-

полнительным преимуществом, в особенности при анализе следовых количеств, является то, что они не абсорбируют ни растворители, ни компоненты матрицы пробы.

В качестве ограничителей потоков делитель соединен с каждым из детекторов деактивированными капиллярами, ограничивающими давление потока. Для определения величины давления в доп-ЭРД и размеров ограничителей, обеспечивающих необходимое соотношение значений расхода газа через детекторы, использовалась программа-калькулятор типа электронной таблицы. Если один из соединителей закрыть заглушкой, делитель из трехканального превращается в двухканальный.

Достоинствами предложенного делителя являются также возможность промывки колонки обратной продувкой [3] газа-носителя и ее быстрой замены. Поток доп-ЭРД можно запрограммировать таким образом, чтобы давление во время опыта на его выходе, т. е. на выходе колонки, было более высоким, а давление на входе в колонку при этом оставалось близким к атмосферному. При этом поток в колонке направляется в противоположную сторону, так что менее летучие вещества выбрасываются в атмосферу через систему сброса на входе. Наличие доп-ЭРД на делителе позволяет также заменять хроматографическую колонку и проводить техническое обслуживание (ТО) устройства ввода пробы (инжектора) без охлаждения и продувки МСД. Конструкции каналов делителя и точек их соединения таковы, что при снятии фитинга колонки он постоянно продувается гелием с доп-ЭРД, благодаря чему воздух не попадает в делитель и, соответственно, в МСД. Параметры и настройки хроматографической системы приведены в табл. 1.

Таблица 1

*Рабочие параметры газового хроматографа, масс-спектрометра
и трёхканального делителя*

Газовый хроматограф (ГХ)	Фирма «Аджилент Технолоджи», модель 6890N
Устройство ввода пробы (испаритель)	ЭРД (как с делением, так и без деления потока)
Режим ввода пробы	Без деления потока (7683 ALS)
Объём пробы, мкл	1
Температура испарителя, °C	280
Давление, кПа (dbf/in ²)	186 (27)
Фиксация времени удерживания (ВУ) по ВУ хлорпирифосметила, мин	16,596
Расход газа-носителя при продувке, мл/мин	50,0
Продолжительность продувки, мин	0,75
Суммарный расход газа, мл/мин	55,3
Режим работы устройства экономии газа-носителя	Возможность отключения
Газ-носитель	Гелий

Продолжение таблицы 1

Внутреннее покрытие устройства ввода пробы	Siltek Cyclosplitter (вн. диам. 4 мм), фирма «Рестек», кат. № 20706-214.1		
Режим термостатирования	Температурная программа		
	изменение температуры, °C/мин	конечное значение температуры, °C	выдержка, мин
Начальное значение	—	70	2,00
Подъем 1	25	150	0,00
Подъем 2	3	200	0,00
Подъем 3	8	280	15,00
Общая продолжительность опыта, мин	46,87		
в том числе время элюирования последнего эталонного вещества, мин	~ 35		
Время уравновешивания, мин	0,5		
Наибольшая температура в термостате, °C	325		
Колонка	«Аджилент Технолоджиз», HP 5-MS, кат. № 19091S-433		
Длина, м	30,0		
Диаметр, мм	0,25		
Толщина покрытия, мкм	0,25		
Подача давления	Постоянная		
Номинальный начальный поток, мл/мин	2,5		
Выходное отверстие	Не уточняется		
Давление на выходе (давление доп-ЭРД на входе делителя), кПа (dbf/in ²)	26,2 (3,8)		
Детектор № 1 (ПФД)			
Расход водорода, мл/мин, в режиме регистрации			
фосфора	75,0		
серы	50,0		
Поток воздуха, мл/мин, в режиме егистрации			
фосфора	100,0		
серы	60,0		
Температура, °C	250		
Газ-окислитель	Воздух		
Поток вспомогательного газа	Постоянный		
Вспомогательный газ	Азот		
Расход вспомогательного газа, мл/мин	60,0		
Частота сбора данных, Гц	5		

Продолжение таблицы 1

Детектор № 2 (МДЭЗ)	
Температура, °С	300
Поток вспомогательного газа	Постоянный
Вспомогательный газ	Азот
Расход вспомогательного газа, мл/мин	60,0
Частота сбора данных, Гц	5
Зона нагрева № 2	
Расположение зоны нагрева	ГХ/МСД (интерфейс)
Режим работы нагревателя	Автоматический
Начальная температура интерфейса, °С	280
Доп-ЭРД (зона № 5)	
Газ	Гелий
Начальное давление, кПа (dbf/in ²)	26,2 (3,8)
Начальный временной интервал (согласуется с продолжительностью подъёма температуры основного термостата), мин	0,00
Детектор № 3 (МСД)	Модель 5975 inert
Файл настройки МСД	Atune.U
Режим работы	Скан (регистрация полного масс-спектра)
Задержка для выхода растворителя, мин	3,00
Напряжение на умножителе	Задано настройками Atune.U
Атомная масса, а. е. м.	
минимальная	45
максимальная	555
Порог регистрации, ед.	100
Число квантования	2
Число квантований АЦП	4
Частота сканирования, с ⁻¹	2,89
Температура квадруполя, °С	150
Температура ионного источника, °С	230
Трёхканальный делитель	«Аджилент», модель 6890N, опция 890 (устанавливается при заводской сборке)
Коэффициент деления (соотношение потоков МСД : ПФД : МДЭЗ)	10:10:1
Размеры ограничителей (капилляров из дезактивированного плавленого кварца) в МСД	
длина, м	1,444
внутренний диаметр, мм	0,18

Окончание таблицы 1

<i>в ПФД</i>	
длина, м	0,532
внутренний диаметр, мм	0,18
<i>в МДЭЗ</i>	
длина, м	0,507
внутренний диаметр, мм	0,10
Расход газа (при 280 °С), мл/мин	
через МСД	1,53
через ПФД	1,53
через МДЭЗ	0,153
вспомогательного газа	1,38
Программное обеспечение	
ХимСтанция для ГХ-МС	G1701DA
Комплекс выявления индивидуальных спектров и составления отчётов (DRS)	G1716AA
Библиотеки масс-спектров	
NIST	G1033A
AMDIS	Поставляется на диске совместно с библиотекой масс-спектров NIST

Результаты и их обсуждение

Поскольку МДЭЗ отличается высокой чувствительностью, для трёх детекторов было установлено следующие соотношения потоков: МСД: ПФД: МДЭЗ = 10:10:1. При таком соотношении пробы объёмом 1 мкл с содержанием анализируемого вещества $1 \cdot 10^{-1}$ (1000 пкг/л), введенная без разделения потока, дает полученные при помощи соответствующих детекторов хроматограммы. На рисунке 3 показаны четыре хроматограммы (*а, б, в, г*), снятые параллельно при анализе одной пробы смеси пестицидов без разделения потока.

На рис. 4 приведены хроматограммы, полученные при 100-кратном разбавлении эталонного вещества в матрице одного из исследуемых продуктов. Хроматограмма, полученная по ПИГ в режиме Скан, не показана – в связи с недостаточной чувствительностью МСД в этом режиме. При помощи ПФД (в режиме фосфора) и МДЭЗ обнаружены все пестициды, введенные в анализируемую пробу.

Для анализа следовых количеств целевых веществ можно использовать сигнал СИМ для количественного определения, а сигналы ГХ-детекторов – для дополнительного подтверждения.

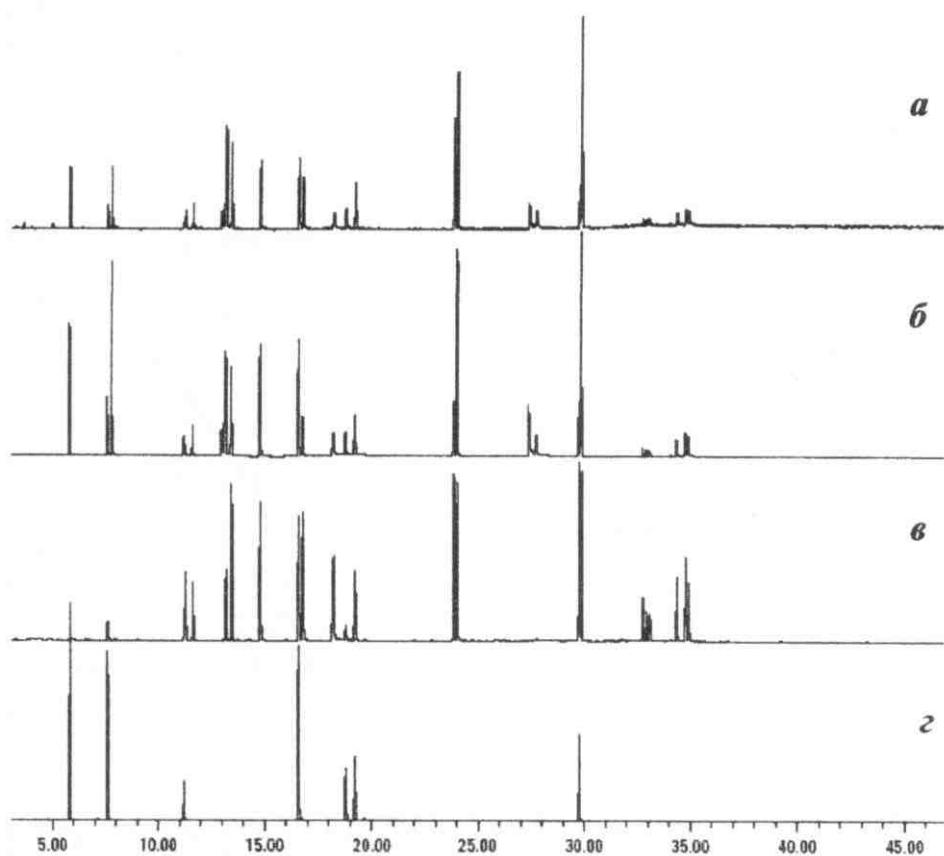


Рис. 3. Хроматограммы, полученные:
а – в режиме Скан;
б – при помощи детектора СИД;
в – при помощи детектора МЭЗД;
г – при помощи детектора ПФД (в режиме фосфора).

Содержание анализируемого вещества в хроматограммах:
а, б, г – 480 пг; в – 48 пг

Описанную многоканальную хроматографическую систему можно также использовать для целей отбора в пробах неизвестных веществ.

Ввиду отсутствия при скрининге перечня целевых веществ применение для этой цели режимов СИМ или МС-МС желаемых результатов не дает.

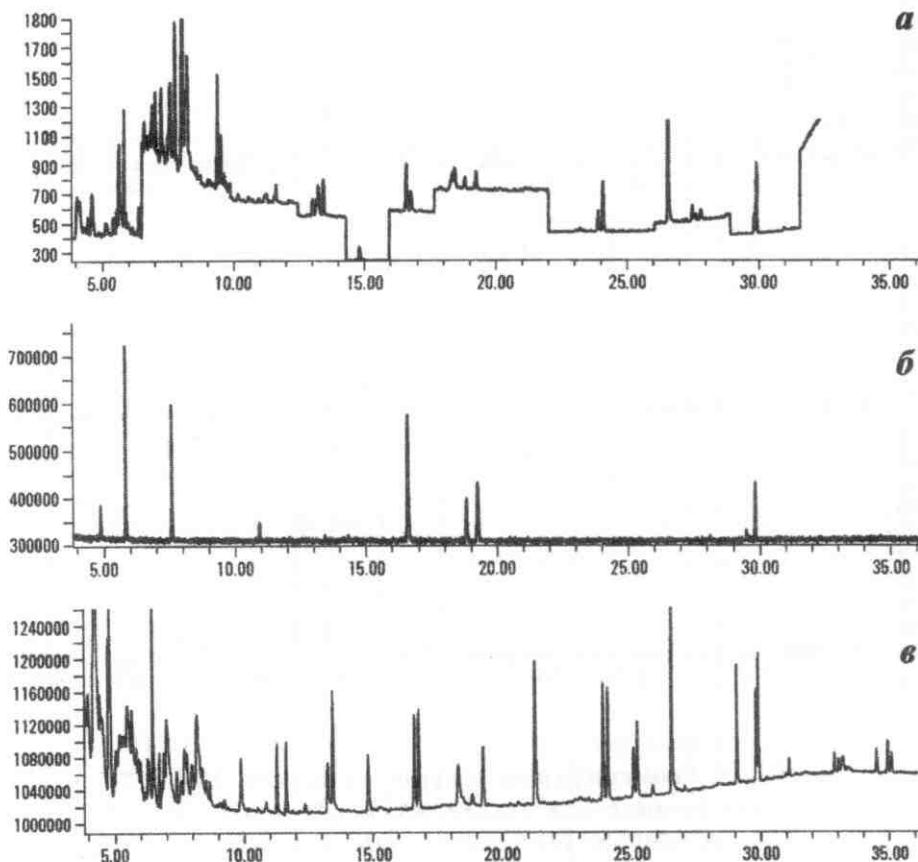


Рис. 4. Хроматограммы экстракта продукта 2688 с искусственно введенными целевыми добавками на уровне 1.10^{-8} , полученные при помощи детекторов:
а – СИД; б – ПФД (в режиме фосфора); в – МДЭЗ

На рис. 5 показаны три хроматограммы экстракта продукта (без СИМ).

При помощи программы выявления индивидуальных спектров и со-
ставления отчётов (Deconvolution Reporting Software – DRS) [3, 4] удалось
обнаружить некоторые пестициды при анализе сигнала по ПИГ (рис. 6).

Возможно, в пробе присутствуют бензофенон, хлорпирифосметил и
тиабендазол. Наличие пропоксуре и метамитрона не подтверждено ни про-
граммой AMDIS, ни библиотекой масс-спектров NIST, поэтому относитель-
но наличия этих веществ, скорее всего, получены ложноположительные ре-
зультаты.

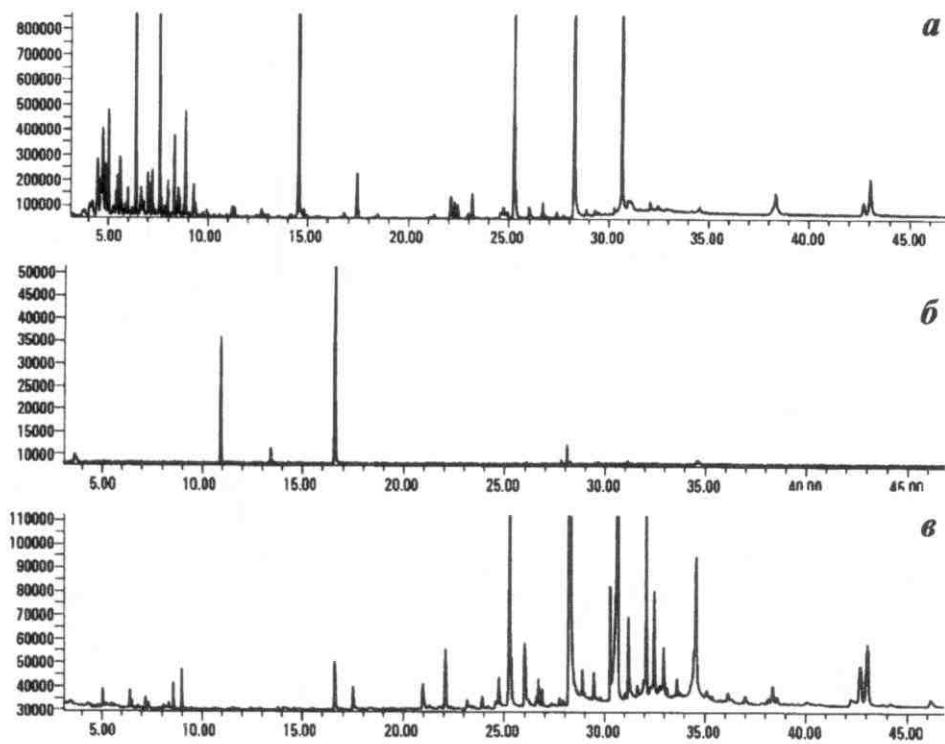


Рис. 5. Хроматограммы экстракта продукта 13-10927:
 а – масс-спектр в режиме СКАН;
 б – данные ПФД (в режиме фосфора);
 в – данные МДЭЗ

Иногда из-за сложности матрицы или иных мешающих факторов трудно добиться высокого коэффициента совпадения с библиотечными данными масс-спектров, выделенных из хроматограммы по ПИТ – даже при вычитании фонового сигнала. В связи с этим элементоселективные детекторы оказываются весьма полезными как источники дополнительной информации для подтверждения идентичности вещества.

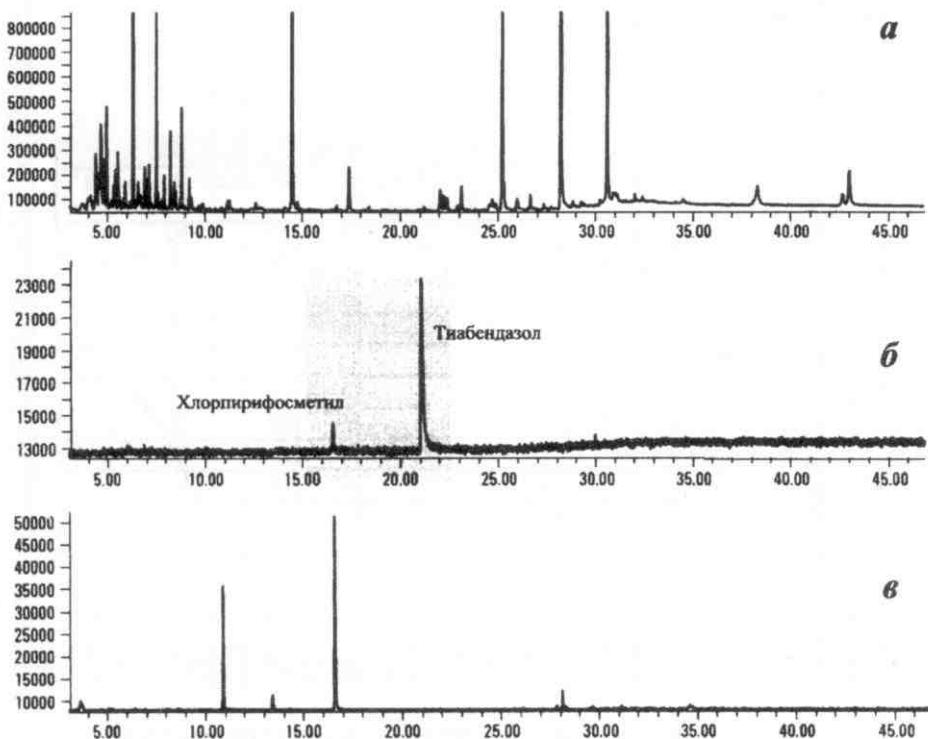
Применение программы фиксации времен удерживания (RTL) при регистрации сигналов всех трех детекторов позволило надежно идентифицировать присутствие хлорпириофосметила ($C_7H_7Cl_3NO_3PS$) в пробе, исходя из совпадения значений времен удерживания пиков на хроматограммах, полученных при помощи МСД, ПФД (в режиме фосфора) и МДЭЗ. Обычно для отключения фотозелектронного умножителя (ФЭУ) ПФД, замены фильтра с полосой пропускания, регистрации фосфора на фильтре, регистрации

MSD Deconvolution Report							
Sample Name: 13-10927							
Data File: C:\MSDCHEM\1\DATA\051905-spike-4sig\13-10927.2^2-40ms.Q.D							
Date/Time: 09:06:39 AM Wednesday, May 25 2005							
The NIST library was searched for the components that were found in the AMDIS target library.							
R.T.	Cas #	Compound Name	ChemStation Amount (ng)	Agilent Match	AMDIS R.T. Diff sec.	NIST Reverse Match	NIST Hit Num.
8.7747	93437	c-Phenylphenol		81	-0.1	84	2
9.962	94662	Diethyl phthalate	0.09	85	0.9	82	1
10.3407	114261	Propoxur		80	-0.7		
10.3407	6280962	Phenol, 2-propoxy-				88	1
10.6840	119619	Benzophenone		61	1.0	64	2
16.6138	5598130	Chlorpyrifos Methyl		71	0.3	70	2
18.4548	84742	Di-n-butylphthalate		88	1.6	92	1
21.0934	148798	Thiabendazole		79	8.8	80	2
24.6063	41394052	Metamitron		62	9.5		
24.6063	2009247	7H-Furo[3,2-g]1benzopyran-7-one, 9-hydroxy-				86	1

Рис. 6. Отчёт программы DRS по составу экстракта 13-10927

соединений серы и включения ФЭУ уходит менее 3 мин. Кроме того, после переключения необходимо отрегулировать поток газа через детектор, чтобы оптимизировать отклик в режиме определения фосфора или серы. Далее в ПФД (в режиме детектирования серы) необходимо ввести ещё одну пробу того же экстракта. Результирующий сигнал ПФД (в режиме серы) совместно с ранее зарегистрированными сигналами показан на рис. 7б. На хроматограмме заметны два основных пика. Значения времен удерживания этих пиков подтверждают наличие в пробе хлорпирофосметила и тиабендазола ($C_{10}H_7N_3S$).

Заметим, что на хроматограмме по ПИТ пики обоих соединений практически не видны, то есть при традиционном подходе к анализу их невозможно идентифицировать. В режиме детектирования серы ПФД отличается высокой селективностью, но меньшей чувствительностью, чем режим ПФД в режиме регистрации фосфора. Столь высокой селективностью, как ПФД, не обладает даже МЭЗД, несмотря на его чувствительность. Сочетание элементоселективных детекторов, МСД в режимах СИМ/Скан и программы DRS делает данный прибор мощным средством однозначной идентификации содержания пестицидов при анализе.



*Рис. 7. Хроматограммы по ПИТ для экстракта 13-10927
а – полный масс-спектр; б – ПФД (в режиме серы);
в – ПФД (в режиме фосфора)*

Заключение

Одновременная запись хроматограмм в режимах СИМ и Скан позволяет в одном опыте регистрировать как полный масс-спектр, пригодный для сравнения с библиотечными масс-спектрами, так и данные СИМ, пригодные для обнаружения следовых количеств веществ. Установка на выходе колонки трёхканального микропотокового делителя позволила получить при одном вводе пробы не только данные МС, но и ещё два сигнала элементоселективных ГХ-детекторов. Применение такой хроматографической системы весьма перспективно для целей анализа следовых количеств пестицидов в пищевых продуктах и веществах, отобранных из окружающей среды.

Многоканальная конфигурация хроматографа обеспечивает одновременное получение многих взаимодополняющих данных: полных масс-спектров веществ для поиска в библиотеке; данных СИМ для анализа следовых количеств; хроматограмм с использованием МДЭЗ и ПФД, обеспечивающих высокий уровень селективности и чувствительности при анализе

сложных матриц. Об этом свидетельствуют приведенные в настоящей публикации примеры сигналов МДЭЗ и ПФД (в режимах детектирования фосфора или серы), полученные параллельно с данными СИМ/Скан при анализе одной пробы. Результаты могут использоваться как для количественного определения и подтверждения идентичности веществ в следовых количествах, так и для обнаружения неизвестных соединений в пробах.

Литература

1. *Chin-Kai Meng*. Improving Productivity with Synchronous SIM // Agilent Technologies, publication 5989-3108. – www.agilent.com/chem.
2. *Prest Harry* and *Peterson David W.* New Approaches to the Development of GC/MS Selected Ion Monitoring Acquisition and Quantitation Methods // Agilent Technologies, publication 5988-4188. – www.agilent.com/chem.
3. *Szelewski Michael J.* and *Quimby Bruce*. New Tools for Rapid Pesticide Analysis in High Matrix Samples // Agilent Technologies, publication 5989-1716. – www.agilent.com/chem.
4. *Wylie Philip L., Szelewski Michael J., Chin-Kai Meng* and *Sandy Christopher P.* Comprehensive Pesticide Screening by GC/MSD Using Deconvolution Reporting Software // Agilent Technologies, publication 5989-1157EN. – www.agilent.com/chem.

Статья предоставлена официальным дистрибутором
фирмы «Аджилент Технолоджиз» в Украине – “АЛСИ”
Тел./факс: (044) 245-3224, 246-1017, 246-1040
e-mail: instruments@alsi.kiev.ua www.alsi.ua

Фирма «Аджилент Технолоджиз, инк.»
США, 2850, Виллингтон, DE 19808-1610

Поступила в редакцию 12.12.2005