

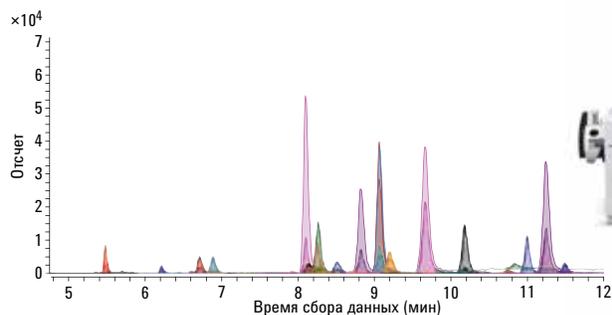
Анализ следовых количеств гербицидов в различных пробах воды с помощью системы онлайн-ТФЭ Agilent 1200 Infinity

Методическая информация

Экологический контроль

Автор

Беттина Шун (Bettina Schuhn)
Agilent Technologies, Inc.
Вальдброн, Германия



Аннотация

Данная методическая информация демонстрирует результаты анализов следовых количеств 25 гербицидов и метаболитов гербицидов в пробах воды (концентрация до 2 нг/л), взятых в различных средах, с помощью системы онлайн-ТФЭ Agilent 1200 Infinity в сочетании с системой ВЭЖХ Agilent с трехквadrupольным масс-спектрометрическим детектором. Использованный метод был разработан и валидирован в процессе ранее описанных межлабораторных исследований³ и применялся к пробам воды, отобранным из различных источников, продемонстрировав высокую воспроизводимость, степень извлечения и линейность. Все пробы измерялись автоматически и за короткий срок, что обеспечивало высокую экономическую эффективность. Отсутствие этапа пробоподготовки делает систему очень мощным аналитическим инструментом для мониторинга остаточных количеств веществ в воде.



Agilent Technologies

Введение

Из-за вероятности загрязнения воды гербицидами осуществляется мониторинг качества пищевой воды в соответствии с требованиями Директивы Европейского Союза о пищевой воде 98/83/ЕС¹. Директивы ЕС о качестве пищевой воды устанавливают лимит 0,5 мкг/л для суммарного количества пестицидов и 0,1 мкг/л для каждого отдельного соединения. Эти требования, например, поспособствовали разработке более чувствительных методов для анализа гербицидов в воде.

В целом анализ гербицидов в воде требует использования двух различных методов: метода пробоподготовки и метода обнаружения². Компания Agilent Technologies предлагает систему онлайн-ТФЭ серии 1200 Infinity для обогащения с обнаружением посредством хроматографии и масс-спектрометрии. Для анализа проб воды пробоподготовка не требуется.

Данная методическая информация описывает достоинства и чувствительность системы онлайн-ТФЭ Agilent 1200 Infinity при анализе трех проб воды, отобранных в различных источниках. Представлены данные по выполненному анализу проб воды: линейность, воспроизводимость площади и времени удерживания, а также предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО). В данном исследовании приведены данные по степени извлечения, воспроизводимости площади и эффекту переноса пробы.

Экспериментальная часть

Оборудование

Система онлайн-ТФЭ Agilent 1200 Infinity

Бинарный насос Agilent 1260 Infinity G1312B и LAN-карта G1369C

Стандартный автосамплер Agilent 1260 Infinity G1329B с головкой 900 мкл (G1313-60007) и термостат Agilent 1290 Infinity G1330B

Модуль Agilent 1290 Infinity Flexible Cube G4227A с двумя приводами крана

Набор для системы онлайн-ТФЭ Agilent 1200 Infinity G4742A, включая один 2-позиционный/10-портовый кран

Термостат колонного отделения Agilent 1290 Infinity G1316C

Трехквадрупольная система ЖХ-МС Agilent с технологией Agilent Jet Stream G6460A

Аналитическая колонка

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2,1 × 150 мм, 3,5 мкм (каталожный номер 959763-902)

Улавливающие колонки

Два набора соединения колонки с предколонкой (каталожный номер 820999-901)

Картриджи PLRP-S, 2,1 × 12,5 мм, 15-20 мкм (каталожный номер 5982-1271)

Флаконы с навинчивающейся крышкой 6 мл (стекло; каталожный номер 9301-1377), навинчивающиеся крышки (каталожный номер 9301-1379), надрезанная септа (каталожный номер 5188-2758)

Программное обеспечение

ПО для сбора данных для трехквадрупольного масс-спектрометра Agilent MassHunter, версия 06.00

ПО Agilent MassHunter Optimizer, версия 06.00

ПО Agilent MassHunter Source и система iFunnel Optimizer, версия 06.00

ПО для качественного анализа Agilent MassHunter, версия 06.00

ПО для количественного анализа Agilent MassHunter, версия 05.02

Метод ВЭЖХ

Бинарный насос Agilent 1260 Infinity

Растворитель А Вода, 5 мМ, формиат аммония + 0,1% муравьиная кислота

Растворитель В Ацетонитрил + 5% вода, 5 мМ, формиат аммония + 0,1% муравьиная кислота

Скорость потока 0,4 мл/мин

Градиент

Время (мин)	% В
0	2
2	2
2,5	25
12	100
22	100
22,1	2

Время элюирования 22,1 мин

Время промывки колонки после анализа 10 мин

Термостат колонного отделения Agilent 1290 Infinity

Температура 30 °С

Flexible Cube Agilent 1290 Infinity

Кран Головка 2-позиционного/10-портового крана

Кран-переключатель для растворителя Растворитель А1: Вода

Растворитель В1: Ацетонитрил

Конфигурация системы и принцип работы

В данной методической информации описывается система онлайн-ТФЭ Agilent 1200 Infinity, реализуемая на базе модуля 1290 Infinity Flexible Cube. Универсальный куб имеет двухпозиционный 10-портовый кран для альтернативного использования двух улавливающих патронов, что обеспечивает увеличение пропускной способности по пробам. Для очистки и загрузки картриджей ТФЭ (фаза PLRP-S), являющихся многоразовыми (> 200 вводов пробы), может быть использовано до трех растворителей. Полная функциональность системы онлайн-ТФЭ достигается за счет использования всего лишь одного бинарного насоса ВЭЖХ. Дополнительная информация о принципе работы и конфигурации двухпозиционного 10-портового крана представлена в методических указаниях 5991-2405EN³.

Система была объединена с системой трехквadrупольного ЖХ-МС Agilent 6460 для обнаружения следовых количеств гербицидов.

Метод трехквadrупольной МС с мониторингом множественных реакций (MRM) был разработан с применением оптимизационного ПО MassHunter. Использовался прямой ввод проб (10 нг/мкл) для каждого отдельного стандарта пестицида. Для каждого соединения были оптимизированы два MRM-перехода с учетом напряжения фрагментационной ячейки и энергии соударений. В табл. 2 представлен набор из 25 пестицидов с индивидуальными оптимумами напряжений фрагментарной ячейки и энергий соударений для дочерних ионов (ионы-квантификаторы и квалификаторы). Метод MRM был разработан для измерения времени удерживания, необходимого для настройки метода динамического MRM (DMRM).

Стандартный автосамплер Agilent 1260 Infinity

Объем ввода	900 мкл
Промывка иглы во флаконе (ацетонитрил)	
Скорость извлечения и ввода пробы	1 000 мкл/мин
Температура пробы	5 °С
Внутрипоточный фильтр Agilent 1290 Infinity (0,3 мкм) (каталожный номер 5067-4638)	

Таблица 1. График работы плунжерного насоса системе онлайн-ТФЭ в модуле Flexible Cube

Время	Функция	Параметр
0	Закачка в течение времени	Закачка 60 с, расход: 1 мл/мин Канал А1
2	Смена положения правого крана	Увеличение положения крана (переключение крана)
2,1	Закачка в течение времени	Закачка 180 с, расход: 1,5 мл/мин Канал В1
6	Закачка в течение времени	Закачка 300 с, расход: 1,5 мл/мин Канал А1

Метод МС

Исходные параметры для технологии Agilent Jet Stream были оптимизированы посредством ПО MassHunter Source и системы iFunnel Optimizer.

Трехквadrупольная система ЖХ-МС Agilent 6460 с технологией положительной ионизации электроспреем Agilent Jet Stream

Температура газа	260 °С
Расход газа	9 л/мин
Распылитель	3,1 бар
Температура газа поддува	300 °С
Расход газа поддува	12 л/мин
Капилляры	+3 500 В
Сопло	+500 В
Напряжение умножителя (Delta EMV)	+400 В

Таблица 2. Методы MRM и DMRM. Все 25 пестицидов представлены с их предшественниками, дочерними ионами, оптимальными энергиями соударений и значениями напряжений на фрагментационной ячейке.

Соединение	Ион-предшественник	Ион-предшественник (M+H) ⁺	Дочерний ион 1	Энергия диссоциации (В)	Дочерний ион 2	Энергия диссоциации (В)	Фрагментационная ячейка (В)
2,6-дихлорбензамид	190,0	191,0	109,0	40	172,9	16	100
Атразин	215,71	216,1	174,0	16	104,0	28	105
Атразин-дезэтил	187,63	188,1	104,0	28	68,1	36	105
Атразин-дезизопропил	173,6	174,1	104,2	24	68,1	32	95
Боскалид	342,2	343,0	307,0	16	271,0	32	130
Бромацил	260,1	261,0	205,0	8	188	28	105
Карбамазепин	236,3	237,1	194,1	16	192	20	135
Хлорфенвинфос	358,6	359,0	155,0	8	99,0	28	70
Хлоридазон	221,6	222,0	92,2	24	104,2	20	125
Хлоридазон-метилдезфенил	159,57	160,0	130,1	24	88	36	120
Хлорпирифос	350,6	350,0	97,0	32	198,0	16	95
Хлортолурун	212,7	213,1/215	72,1	20	72,1	20	100
Диурон	233,1	233,1/235	72,0	16	72,0	16	100
Изопротурон	206,3	207,1	72,1	20	165,0	8	85
Ленацил	234,3	235,1	153,1	12	136,1	36	70
Металаксил	279,3	280,2	220,0	8	192,1	16	70
Метамитрон	202,2	203,1	175,1	12	104,1	24	105
Метазахлор	277,8	278,1	210,1	4	134,1	20	85
Метолахлор	283,8	284,1	252,1	12	176,1	24	90
Метрибузин	214,3	215,1	187,2	25	84,0	29	105
Пендиметалин	281,3	282,2	212,2	4	194	16	125
Квиноксифен	307,1	308,0	196,9	36	262,0	52	150
Симазин	201,7	202,1	104	24	124,0	16	120
Тербутилазин	229,7	230,1	174,0	12	104,0	32	105
Тербутилазин-дезэтил	201,66	202,1	146,0	12	104,0	28	80

Химические реактивы

Все использовавшиеся растворители были предназначены для ЖХ-МС. Ацетонитрил был приобретен у компании Merck, Германия. Свежая вода высшей степени очистки была получена с применением системы Milli-Q, оборудованной фильтром тонкой очистки LC-Pak и мембранным картриджем с размером пор 0,22 мкм (Millipak). Муравьиная кислота была получена от Agilent (каталожный номер G2453-85060), так же, как и формиат аммония (каталожный номер G1946-85021).

Все стандарты гербицидов с концентрацией 100 мг/л в ацетонитриле были закуплены в компании Dr. Ehrenstorfer GmbH, Германия.

Пробы

Три различные пробы воды были отобраны в районе Карлсруэ, Германия.

- Проба 1: грунтовая вода
- Проба 2: речная вода
- Проба 3: проточная вода

Для защиты колонки и системы от мелких частиц проб в автосамплер был установлен внутривиточный фильтр между портом для ввода проб и краном переключения потоков.

Пробы воды центрифугировали в течение 5 минут со скоростью 15 000 оборотов в минуту. Семь калибровочных стандартов смешанных гербицидов в диапазоне от 2 до 500 нг/л каждый (2, 10, 20, 50, 100, 200 и 500 нг/л) были подготовлены в водопроводной воде разведением в соответствующей пропорции базового раствора (2,8 мк/л).

Результаты и обсуждение

Анализ проб воды из трех различных сред проводился с помощью системы онлайн-ТФЭ серии 1200 Infinity.

Для семиуровневой калибровочной кривой были выполнены разведения в водопроводной воде между 2 и 500 нг/л. Калибровочные стандарты и пробы были проанализированы с помощью системы онлайн-ТФЭ Agilent 1200 Infinity и метода DMRM. Калибровочные стандарты анализировались дважды, а пробы воды — 10 раз. Стандарты контроля качества находились в диапазоне концентраций между 10 и 50 нг/л и измерялись между пробами. Все стандарты контроля качества продемонстрировали хорошую степень извлечения.

На рис. 1 представлена калибровочная кривая атразина дезизопропила (время удерживания = 6,21). Кривая содержит два повтора каждого стандарта, а также восемь стандартов контроля качества. Надбавка составляет $1/CO^2$, и кривая не стремится к изначальной.

В табл. 3 показан полный набор из 25 гербицидов в трех пробах воды из различных сред со средней концентрацией гербицидов, относительное стандартное отклонение (ОСО) площади, линейный коэффициент и время удерживания (ВУ). Линейные коэффициенты были высокими для всех соединений, составляя, как правило, не менее 0,997. ОСО площадей пиков, как правило, составляло < 5%. Некоторые соединения, которые, как оказалось, присутствуют в небольших концентрациях, продемонстрировали ОСО площади > 10%.

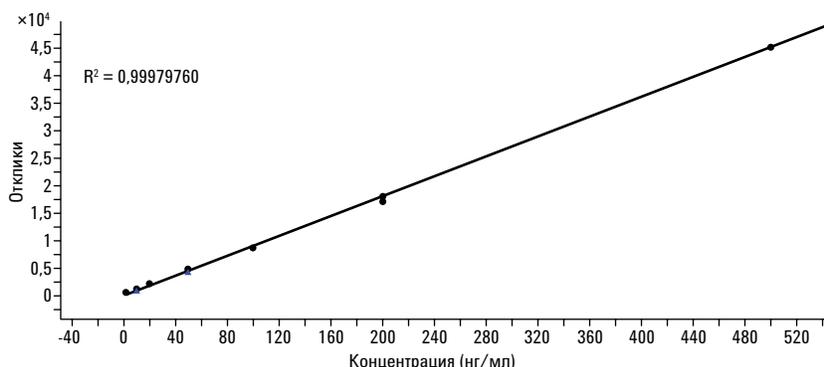


Рис. 1. Семиуровневая калибровочная кривая атразина дезизопропила (2–500 нг/л). Треугольник обозначает стандарт контроля качества при концентрации 10 и 50 нг/л. Коэффициент корреляции составляет 0,9997.

Таблица 3. Средние концентрации гербицидов (n = 10) из трех образцов из окружающей среды приведены со своими средними концентрациями, ОСО площадей, коэффициентами корреляции и ВУ

Соединение	Грунтовая вода		Речная вода		Проточная вода		R ²	Время удерживания (RT) (мин)
	Средняя концентрация (n = 10) (нг/л)	ОСО площади (%)	Средняя концентрация (n = 10) (нг/л)	ОСО площади (%)	Средняя концентрация (n = 10) (нг/л)	ОСО площади (%)		
Хлоридазон-метилдезфенил			30,99	6,3	90,67	5,6	0,9966	5,49
Атразин дезизопропил	5,57	19,0	10,38	19,8			0,9999	6,24
2,6-дихлорбензамид					34,29	12,1	0,9934	6,61
Метамитрон							0,9981	6,67
Атразин дезэтил	49,79	6,1	26,10	10,2	7,54	17,1	0,9989	6,89
Хлоридазон					2,41	11,5	0,9991	6,92
Бромацил					20,35	13,6	0,9997	7,94
Карбамазепин	61,63	1,4	193,48	2,1	185,84	2,1	0,9993	8,21
Симазин	7,63	11,2	7,80	21,5			0,9993	8,16
Тербутилазин-дезэтил			12,76	6,5			0,9975	8,28
Ленацил							0,9923	8,36
Метрибузин							0,9967	8,57
Хлортолурун			21,69	1,8			0,9959	8,82
Метаксалил			3,85	4,4	2,70	4,5	0,999	9,00
Атразин	29,19	4,5	18,04	4,1	6,06	9,4	0,9971	9,09
Изопротурон			22,63	1,5	23,75	1,8	0,9983	9,10
Диурон	66,35	3,3	35,59	3,2	19,53	7,1	0,9981	9,24
Метазаклор			2,51	4,8	11,28	1,1	0,999	9,69
Тербутилазин			14,94	3,1	4,68	4,8	0,9967	10,13
Боскалид					37,76	8,4	0,9999	10,67
Метолахлор			35,67	1,2	2,02	13,1	0,9986	11,27
Хлорфенвинфос							0,9978	11,67
Квиноксифен							0,9893	13,17
Хлорпирифос							0,9974	13,58
Пендиметалин							0,9924	13,54

В пробах грунтовой, речной и проточной воды были найдены различные гербициды в существенных концентрациях, которые, однако, не превышали 100 нг/л. Это предельное значение для питьевой воды в Европейском Союзе¹. Карбамазепин был единственным соединением с концентрацией 185 нг/л в проточной воде и 193 нг/л в речной воде. Содержание всех остальных гербицидов было ниже максимального значения для питьевой воды.

Рассчитанные для стандартов и проб ОСО и ВУ имели отличные значения, < 0,1% для 10 повторов и двух сменных картриджей ТФЭ. Значение соотношения «сигнал — шум» (S/N), равное 3, было использовано для определения предела обнаружения (ПО), а значение соотношения «сигнал — шум» (S/N) = 10 — для определения предела количественного определения (ПКО). Как правило, ПО составлял 2 нг/л, а ПКО — 10 нг/л для большинства соединений. Эти результаты соответствуют данным, полученным Дженссоном и Крюгером².

Эффект переноса пробы определялся посредством ввода бланка водопроводной воды после самого высокого стандарта гербицидов (500 нг/л). Эффект переноса пробы наблюдался только для двух гербицидов: хлоридазона и метолахлора. На рис. 3 показан эффект памяти для метолахлора и, для сравнения, стандарт 2 нг/л. Стандарт 2 нг/л имеет соотношение S/N = 30 по сравнению с наблюдаемым эффектом памяти с соотношением S/N = 5, которое ниже ПКО. Было определено, что ввод бланка составлял 0,17% стандарта 500 нг/л.

Эффект памяти от ввода пробы хлоридазона 500 нг/л для следующего ввода бланка составлял 0,47% с соотношением S/N = 1,3. Остальные соединения не демонстрировали эффекта переноса.

Пробы воды из окружающей среды не продемонстрировали эффекта переноса ни для одного соединения.

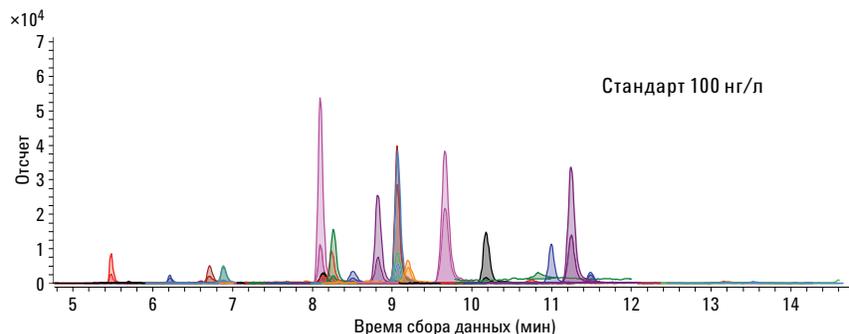


Рис. 2. Хроматограмма стандарта гербицидов в водопроводной воде при 100 нг/л

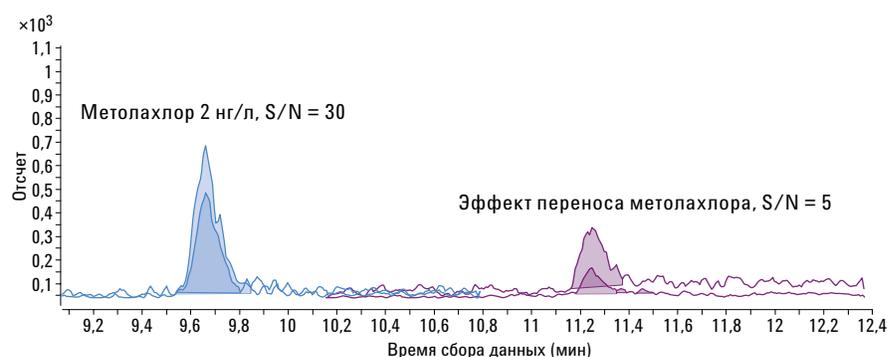


Рис. 3. Пик 2 нг/л по сравнению с эффектом переноса пробы от стандарта 500 нг/л метолахлора для следующего ввода бланка

Выводы

В данной методической информации обобщаются результаты анализов трех различных проб воды с помощью системы онлайн-ТФЭ серии Agilent 1200 Infinity. Продемонстрировано, что для всех проанализированных проб воды из окружающей среды концентрация гербицидов была ниже 0,1 мкл/л. Для семиуровневой калибровочной кривой линейные коэффициенты имели высокие значения для всех соединений ($> 0,997$). Воспроизводимость площади для проб воды составляла $< 5\%$ (ОСО) для большинства соединений. При анализе проб воды не наблюдалось эффекта переноса.

В данной методической информации используется метод, разработанный в процессе валидационных межлабораторных испытаний³ проб воды и демонстрирующий отличные показания по чувствительности, степени извлечения и воспроизводимости.

Литература

1. EU Council, Directive on the Quality of Water Intended for Human Consumption, 98/83/EC, **1998**.
2. C. Jansson and J. Kreuger. Multiresidue Analysis of 95 Pesticides at Low Nanogram/Liter Levels in Surface Waters Using Online Preconcentration and High Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of AOAC International*, Volume 93, No.6, **2010**.
3. Bettina Schuhn, "Detection of Trace-Level Herbicides in Drinking, Surface and Ground Water Using the Agilent Online SPE Solution", Agilent Technologies Application Note, **2013**, Publication Number 5991-2405EN

www.agilent.com/chem/QQQ

Информация может быть изменена без
предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2013
Напечатано в США 1 августа 2013 г.
5991-2773RU

