

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

XXXVI. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

26. - 28. 5.2003

Skalský Dvůr

**Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii České
společnosti chemické**

Odbor potravinářské techniky a technologie ČAZV

Odbor výživy obyvatelstva a jakosti potravin ČAZV

Výzkumný ústav potravinářský Praha

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha

**Ed. Holasová M., Fiedlerová V., Špicner J.
VÚPP, Praha 2003**

ISBN 80-902671-6-5

APLIKACE PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE S VYSOKOROZLIŠOVACÍM PRŮLETOVÝM HMOTNOSTNÍM SPEKTROMETREM (GC/HR-TOF-MS) VE STOPOVÉ ANALÝZE

Čajka T., Hajšlová J., Poustka J.

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6

1. CÍLE STUDIE

Cílem studie bylo ověření aplikačního potenciálu vysokorozlišovacího průletového hmotnostního spektrometru (*high-resolution time-of-flight mass spectrometer*, HR-TOF-MS) ve spojení s plynovým chromatografem při analýze pesticidů a polybromovaných difenyletherů (PBDE) používaných jako tzv. retardátory hoření.

Pozornost byla zaměřena především na následující pracovní charakteristiky systému:

- vliv šířky hmotnostního okna (*mass window*) na detekci analytů;
- opakovatelnost;
- lineární rozsah přístroje;
- vliv ionizačních technik EI vs. NCI na citlivost stanovení PBDE;
- detekční limity cílových analytů.

2. INSTRUMENTACE

Experimenty byly provedeny na plynovém chromatografu GC System 6890 Series (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) ve spojení s TOF hmotnostním spektrometrem GCT (Micromass, Manchester, Velká Británie).

Na rozdíl od tzv. „scanovacích“ hmotnostních spektrometrů (např. kvadrupól), kde je vyšší citlivosti dosaženo monitorováním pouze vybraných iontů (SIM, *selected ion monitoring*), a dochází tak ke ztrátě informace o spektru cílových analytů, dovoluje GCT snímání kompletních hmotnostních spekter při obdobné citlivosti, navíc s vysokým rozlišením (7 000 FWHM) a akviziční rychlostí 1–10 spekter. s^{-1} .

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Pesticidy

Výběr sledovaných pesticidů byl realizován tak, aby vybrané sloučeniny reprezentovaly různé skupiny dle: (i) těkavosti, (ii) kvality při GC separaci a (iii) teplotní stability.

Sledované pesticidy: acephate, captan, carbaryl, chlorpyrifos, deltamethrin, dichlorvos, dimethoate, endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfate, heptachlor, lindane, methamidophos, methiocarb, permethrin, phosalone, pirimiphos-methyl, procymidone, propargite a thiabendazole

Analýza těchto 20 reprezentativních pesticidů zahrnuje „extrémy“ z hlediska proveditelnosti.

Testování probíhalo za použití matričních standardů broskví o koncentracích: 1; 2,5; 10; 25; 50; 100; 250; 500; 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$

3.2 Polybromované difenylethery

Výběr kongenerů byl zvolen s ohledem na výskyt ve sledovaných maticích.

- triBDE: kongener 28
- tetraBDE: kongener 47, 49, 66
- pentaBDE: kongener 85, 99, 100
- hexaBDE: kongener 153, 154
- heptaBDE: kongener 183

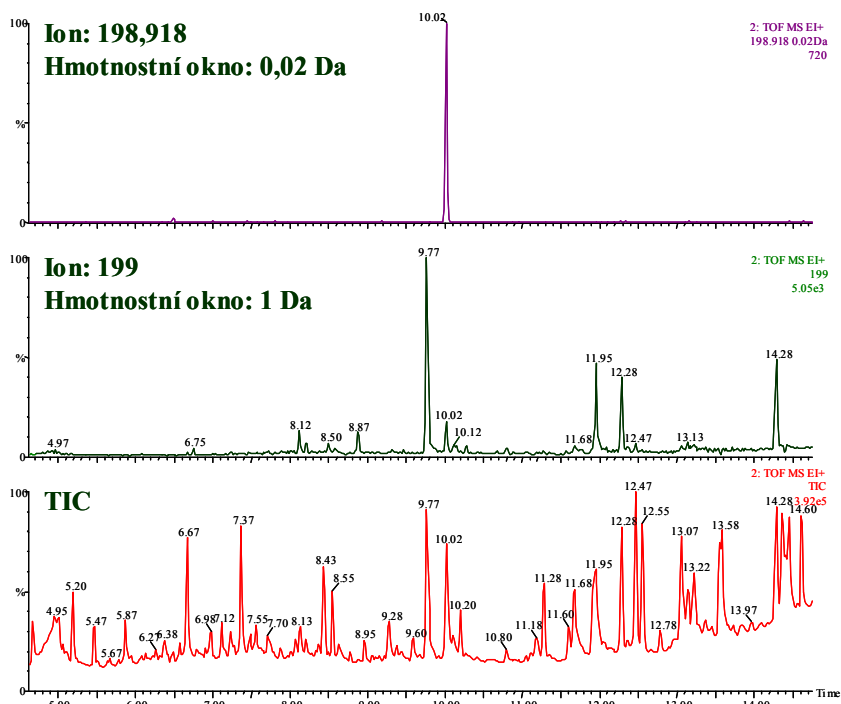
Testování probíhalo za použití isooktanových standardů o koncentracích: 0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100 ng.mL⁻¹

4. KRITICKÉ ZHODNOCENÍ VLIVU NASTAVENÝCH PARAMETRŮ

4.1 Vliv hmotnostního okna na detekci analytů

Detekce analytů na stopových hladinách je při použití techniky GC/MS limitována zejména přítomností chemických interferencí (iontů), které jsou blízké hmotě cílového analytu. Chemické pozadí pochází z řady zdrojů (kontaminace ze zdroje, „bleed“ kolony, matrice vzorku) a příspěvek z tohoto pozadí může vést k nepříznivému poměru signálu k šumu (*S/N*). Zmenšením šířky hmotnostního okna (např. z 1 Da na 0,02 Da) specifikovaného pro získaný iontový chromatogram dojde k významnému odstranění pozadových interferentů z chromatogramu, což vede ke zvýšení poměru signálu k šumu a potažmo ke zlepšení detekovatelnosti analytů.

Obr. 1 ilustruje vliv šířky hmotnostního okna na detekci chlorpyrifosu na hladině 0,01 mg.kg⁻¹ (10 pg v nástríku). Zúžení hmotnostního okna vede jednoznačně k lepší identifikaci cílového analytu a k odstranění pozadových interferentů.



- kolona: DB-5 MS, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm
- objem nástríku: 1 μL
- teplota nástríku: 250 °C
- typ nástríku: pulsní splitless (1 min, 3 mL.min⁻¹)
- teplotní program: 60 °C (1 min), 25 °C.min⁻¹ do 200 °C, 5 °C.min⁻¹ do 230 °C, 20 °C.min⁻¹ do 280 °C (9,90 min)
- průtok nosného plynu: 1 mL.min⁻¹
- rychlost sběru dat: 1 spektrum.s⁻¹
- počet primárních spekter: 30 000 s⁻¹
- doba analýzy: 25 minut

Obr. 1. Vliv šířky hmotnostního okna na detekci analytů

Další předností TOF hmotnostního spektrometru je možnost získání kompletních hmotnostních spekter v průběhu celé analýzy. Tato funkce umožňuje provádět identifikaci cílových analytů pomocí většího počtu iontů, než je tomu v případě použití např. kvadrupolového hmotnostního analyzátoru pracujícího v režimu monitorování vybraných iontů (SIM) a dále plně využívat databázi (knihovnu) spekter.

I přesto však nemusí získaná hmotnostní spektra obsahují jen ionty cílových analytů, ale rovněž i všechny přítomné interferenty (matrice, „bleed“ kolony, apod.). Dalšího zlepšení v separaci je možno dosáhnout díky technice zvané „spektrální dekonvoluce“, která umožňuje u částečně koeluovaných píků provést jejich separaci na základě konstantních poměrů iontů.

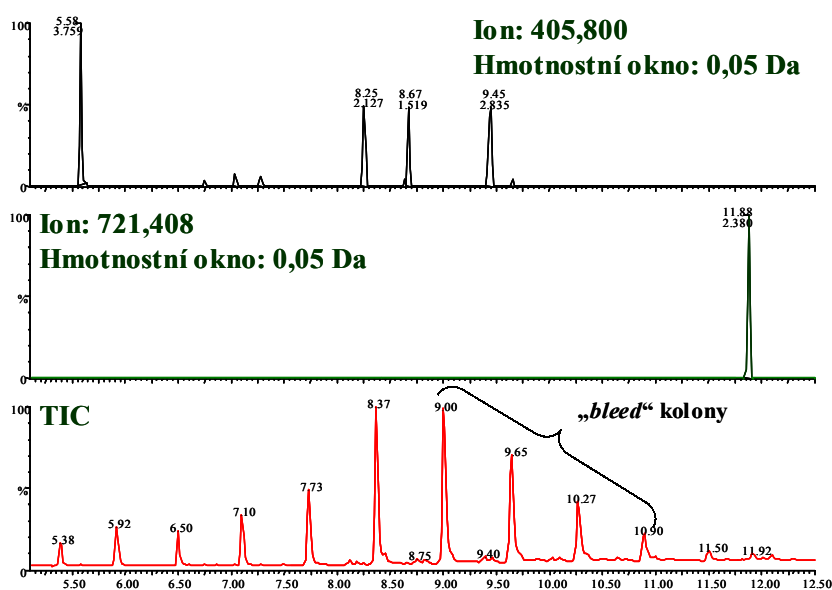
4.2 Vliv ionizačních technik při stanovení PBDE

Porovnáván byl vliv dvou ionizačních technik na citlivost stanovení PBDE:

- ionizace nárazem elektronů (EI);
- negativní chemická ionizace (NCI) za použití methanu jako pomocného plynu.

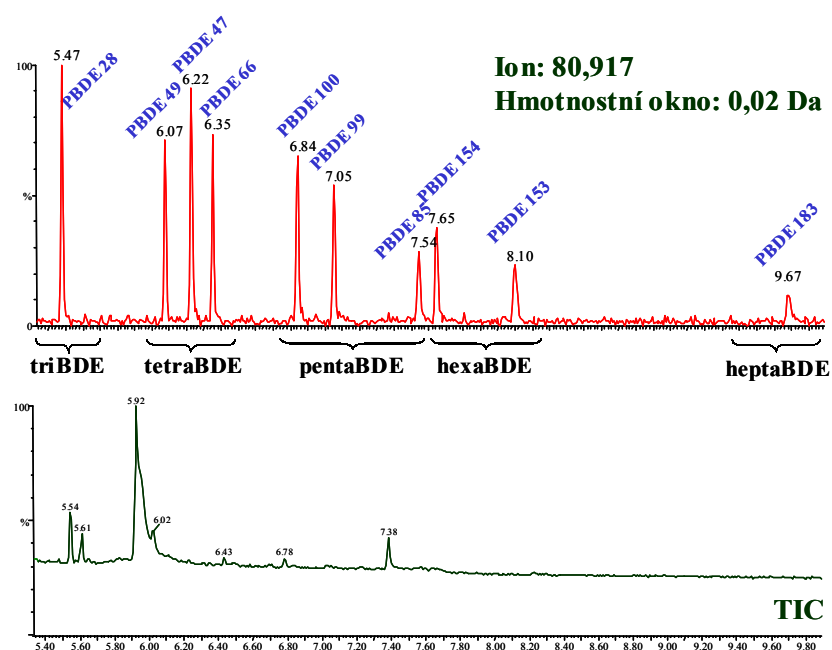
Vynikajících detekčních charakteristik bylo dosaženo v případě negativní chemické ionizace (**Obr. 3**), kdy došlo ke zlepšení detekce o více než dva řády oproti EI. Další nevýhodou techniky EI je viditelný intenzivní „bleed“ kolony (**Obr. 2**), který v případě koeluce s cílovým analytem způsobuje přesycení TDC (*time-to-digital converter*), což je zařízení registrující přilet iontů, a znemožňuje tak kvantifikaci sledované látky.

Technika NCI se tak jeví pro stanovení těchto látek jako mnohem vhodnější, zvláště pokud se obsah daných environmentálních kontaminantů pohybuje na velmi nízkých hladinách.



Obr. 2. Chromatogram PBDE (25 pg), mód EI

- kolona: DB-XLB, 30 m × 0.25 mm × 0.10 μm
- objem nástřiku: 1 μL
- teplota nástřiku: 275 °C
- typ nástřiku: pulsní splitless (1 min, 4 mL.min⁻¹)
- teplotní program: 110 °C (1 min), 45 °C.min⁻¹ do 250 °C, 10 °C.min⁻¹ do 300 °C (5 min)
- průtok nosného plynu: 1 mL.min⁻¹
- rychlost sběru dat: 1 spektrum.s⁻¹
- počet primárních spekter: 25 000 s⁻¹
- doba analýzy: 14,11 minut



Obr. 3. Chromatogram PBDE (0,1 pg), mód NCI

- kolona: DB-XLB, 30 m × 0.25 mm × 0.10 μm
- objem nástřiku: 1 μL
- teplota nástřiku: 275 °C
- typ nástřiku: pulsní splitless (1 min, 4 mL.min⁻¹)
- teplotní program: 110 °C (1 min), 45 °C.min⁻¹ do 250 °C, 20 °C.min⁻¹ do 300 °C (5 min)
- průtok nosného plynu: 1 mL.min⁻¹
- rychlost sběru dat: 1 spektrum.s⁻¹
- počet primárních spekter: 25 000 s⁻¹
- doba analýzy: 11,61 minut

4.3 Linearita, opakovatelnost, mez stanovitelnosti (LOQ)

Linearita pozorovaná u většiny sledovaných analytů byla v rozmezí dvou řádů.

Opakovatelnost (vyjádřená jako relativní směrodatná odchylka) se pohybovala v případě pesticidů od 2,1–11,4 %, v případě PBDE od 4,9–8,2 % (mód NCI).

Mez stanovitelnosti (LOQ), resp. nejnižší bod kalibrační křivky (LCL), se v případě pesticidů pohyboval od 1–25 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, v případě PBDE od 0,01–0,05 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (mód NCI).

5. ZÁVĚR

System vysokorozlišovacího průletového hmotnostního spektrometru ve spojení s plynovou chromatografií (GC/HR-TOF-MS) poskytl u sledovaných analytů dobré detekční charakteristiky a činí jej tak vhodným např. pro screening obsahu sledovaných kontaminantů.

Omezením testovaného systému je relativně omezený lineární rozsah v důsledku přesycení TDC, které je způsobeno především přítomností koextrahovaných matričních komponent. Z tohoto důvodu je v rámci dalších experimentů předpokládáno testování techniky „*difficult matrix introduction*“ (DMI), která umožňuje nástřik „surových“ extraktů. V případě použití této techniky zůstává při nástřiku většina matričních koextraktů ve speciálním mikroinsertu a na analytickou kolonu přechází převážně jen cílové analyty.

Tato studie byla realizována v rámci projektu FRVŠ G4-1583 „Hmotnostní spektrometrie v analýze organických environmentálních kontaminantů“ financovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.