

УДК 543.51/.544.32:547.584'26

ЭКСТРАКЦИЯ И ПОСЛЕДУЮЩЕЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИАЛКИЛФТАЛАТОВ В ПОЧВЕ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В СОЧЕТАНИИ С ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЕЙ

А.В. Пирогов, Н.Г. Толмачева, О.А. Шпигун

(кафедра аналитической химии; e-mail: tolmatcheva-natali@mail.ru)

Представлен способ экстракции и последующего количественного определения диалкилфталатов (ДАФ) в почве методом газовой хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией. Методика характеризуется низкими пределами обнаружения, высокой чувствительностью и селективностью. Подобраны оптимальные условия экстракции ДАФ из почв, также проведена оценка возможного вторичного загрязнения проб ДАФ при использовании лабораторной посуды и химических реактивов и распространения ДАФ в почве.

Ключевые слова: диалкилфталаты, газовая хроматография, масс спектрометрия.

Диалкилфталаты (ДАФ) – это класс соединений, которые широко применяют в качестве пластификаторов при изготовлении бытовой химической и медицинской продукции, строительных материалов, одежды, пищевых упаковочных материалов. Они являются продуктами промышленного производства в огромных масштабах. Например, годовой объем производства ди(2-этилгексил)фталата, составляющий 50% от общего производства ДАФ, достигает 1,5 млн т. [1].

Всего лишь восемь соединений ДАФ представляют коммерческую ценность: диметилфталат (ДМФ), диэтилфталат (ДЭФ), ди-*изо*-бутилфталат (ДиБФ), дибутилфталат (ДБФ), бензилбутилфталат (ББФ), ди(2-этилгексил)фталат (ДЭГФ), ди-*изо*-нонилфталат (ДиНФ) и ди-*изо*-децилфталат (ДиДФ). Два последних вещества представляют из себя смесь изомеров с числом атомов углерода в алкильных заместителях 9 или 10.

ДАФ могут легко попадать в окружающую среду при производстве, использовании и сжигании полимерных материалов, из мест захоронения промышленных отходов и даже при использовании лабораторной посуды и химических реактивов в ходе анализа. Некоторые ДАФ, а также продукты их распада могут влиять на эндокринную систему и репродуктивную функцию млекопитающих. Из-за их токсичности и негативного влияния на здоровье человека и млекопитающих были установлены нор-

мативы по ДАФ в природных образцах, в частности, в почве. Низкие допустимые концентрации требуют создания чувствительных и высокоселективных методов определения ДАФ в природных объектах. Данная работа посвящена поиску подходящего растворителя при экстракции ДАФ из почв, их селективному и высокочувствительному определению методом ГХ–МС/МС, оценке возможного вторичного загрязнения проб ДАФ при использовании лабораторной посуды и химических реактивов, а также распространение ДАФ в почве московского региона.

Для некоторых ДАФ были установлены* следующие пределы допустимых концентраций в почве, мкг/кг: 20 (ДМФ), 70 (ДЭФ), 1130 (ББФ), 80 (ДБФ), 4350 (ДЭГФ) и 1200 (ДОФ) [2].

Капиллярная газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием является, вероятно, наиболее целесообразным методом определения ДАФ. При проведении анализа используют разные капиллярные колонки, системы ввода и детекторы. Обычно применяют колонки, покрытые неполярной неподвижной фазой (полидиметилсилоксаны или полиметилфенилсилоксаны) за счет чего улучшается разделение [3, 4]. При работе в условиях высокой температуры и маленькой скорости потока используют полярные неподвижные фазы, такие как полиэтиленгликоль [5]. Примеры использования метода ГХ–МС в почве представлены в табл. 1.

*Департамент по защите окружающей среды, Нью-Йорк, США, 1994 г.

Т а б л и ц а 1

**Примеры использования газовой хроматографии при анализе ДАФ
в почве**

Условия проведения хроматографического анализа	Предел обнаружения, мкг/кг	Литература
Колонка DB-5MS (30 м×0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм), газ-носитель – гелий, скорость подвижной фазы 0,8 мл/мин, градиентное элюирование, режим без деления потока	1–1630	[2]
Колонка DB-5MS (30 м×0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм), газ-носитель – гелий, скорость подвижной фазы 1,2 мл/мин, градиентное элюирование, режим без деления потока	68–135	[3]
Колонка HP5-MS (30 м×0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм), газ-носитель – гелий, скорость подвижной фазы 1 мл/мин, градиентное элюирование, режим без деления потока	190–1130	[5]
Колонка HP5-MS (30 м×0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм), газ-носитель – гелий, скорость подвижной фазы 1 мл/мин, режим без деления потока	100–1000	[6]

Квадрупольный масс-анализатор обеспечивает достаточную чувствительность при регистрации масс-спектра по выделенным ионам, при ионизации электронным ударом самая лучшая чувствительность, полученная для ДАФ, составляет 1–10 пг в пробе. В связи с наличием в смеси ДАФ изомеров (ДиГФ, ДиНФ и ДиДФ) чувствительность, как правило, на порядок ниже (10–50 пг). Основным ион ($m/z = 149$) образуется при отщеплении алкильной группы и образовании фуранового кольца. Вторым наиболее важным ион с $m/z = 279$ образуется при отщеплении одной алкильной группы. Этот ион для каждого ДАФ разный, и этот фактор можно использовать для качественного обнаружения исследуемых соединений.

Одним из недостатков метода ГХ–МС является искажение спектра вещества за счет примесей, присутствующих в образце. Возникают лишние пики, порой весьма интенсивные, особенно если летучесть примеси больше, чем летучесть основного компонента. Мягкие методы ионизации (ХИ, ПИ, электрораспыление) характеризуются интенсивными пиками молекулярных ионов, однако отсутствие фрагментации затрудняет установление структуры соединений. Одним из вариантов решения этих проблем может стать использование метода тандемной масс-спектрометрии (ГХ–МС/МС), обладающего хорошей чувствительностью. Этот метод достаточно

новый, и для определения ДАФ его начали применять совсем недавно. В литературе отсутствуют сведения по определению этим методом ДАФ в различных природных образцах, в частности в почвах.

Экспериментальная часть

В ходе работы использовали следующие реактивы: ДМФ, ДЭФ, ДиБФ, ДБФ, ББФ, ДЭГФ. Для всех соединений содержание основного компонента > 98%, производство TCI Europe nv, Бельгия).

Эксперименты проводили на газовом хроматографе «Agilent 7890A», снабженном автоматическим устройством ввода пробы «AgilentGCSampler 80» и тандемным масс-спектрометром «Agilent 7000 GC/MS TripleQuad» («Agilent Technologies», США). Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения MassHunter («Agilent Technologies», США). Использовали колонку HP-5MS (30 м×250 мкм×0,25 мкм), подвижная фаза – гелий, скорость потока элюента 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 1 мкл. Температурный градиент: с 40 до 130°C со скоростью 30°C/мин, с 130 до 250°C со скоростью 5°C/мин, с 250 до 300°C со скоростью 10°C/мин.

Для отбора аликвот использовали автоматические дозаторы с диапазонами установки отбираемого объема в интервалах 10–100 мкл, 20–200, 100–1000,

1000–5000 мкл соответственно (предел допустимой относительной погрешности измерения не более $\pm 5\%$, «Labmate», Польша).

Взвешивание точных навесок проводили на весах «ExplorerPro» («OhausCorporation», США), точность которых составляла 0,0001 г. Для центрифугирования образцов использовали центрифугу «СМ-50» («Elmi», Латвия). Центрифугирование проводили при 16 000 об/мин. Для осуществления ультразвуковой жидкостной экстракции применяли ультразвуковую ванну «УЗВ» (ПКФ «Сапфир», Россия). Измерение pH растворов проводили на pH-метре «РВ-11» («SartoriusAG», Германия).

Для извлечения ДАФ из почв точную навеску почвы помещали в коническую плоскодонную колбу объемом 150 мл. Добавляли необходимое количество растворителя и оставляли на 30 мин. Помещали колбу на ультразвуковую баню и оставляли перемешиваться в течение 30 мин. Отбирали необходимое количество раствора в пробирку и центрифугировали 3 мин. Затем осторожно переносили чистый раствор в чистую пробирку и еще раз центрифугировали 3 мин.

Результаты и их обсуждение

Выбор растворителя для определения ДАФ в почве

Главные сложности, которые возникают на стадии пробоподготовки почв заключаются в следующем:

неполнота извлечения, поступление в пробу мешающих компонентов из матриц, разрушение и потеря вещества при пробоподготовке. Очевидно, что выбор условий проведения экстракции ДАФ из почв является важным этапом анализа. Оптимальный экстрагент должен обладать способностью извлекать определяемые ДАФ из образцов, не мешать хроматографическому разделению, а также должен быть чистым и не содержать примесей ДАФ.

В данной работе проведен сравнительный анализ таких экстрагентов, как ацетонитрил, метанол и этанол. В качестве образцов исследования использовали три различных типа почв: песок, торф и глину. Отбирали по 2 г образца и к каждому добавляли по 250 мкл ДМФ, ББФ и ДЭГФ. После чего добавляли растворитель так, чтобы конечная концентрация введенных ДАФ в почве составила 5 мкг/г. Экстракцию проводили на ультразвуковой бане в течение 10 мин. Для каждого образца почвы и растворителя было проведено по три параллельных опыта.

На рис. 1 представлены диаграммы сравнения различных растворителей при экстракции ДАФ из песка (для глины и торфа зависимости аналогичны). Сделан вывод, что ацетонитрил является наиболее подходящим растворителем. Для всех ДАФ коэффициент экстракции превышает 90%.

Экстракцию ДАФ из почв ацетонитрилом проводили в ультразвуковой ванне в течение 5, 10,

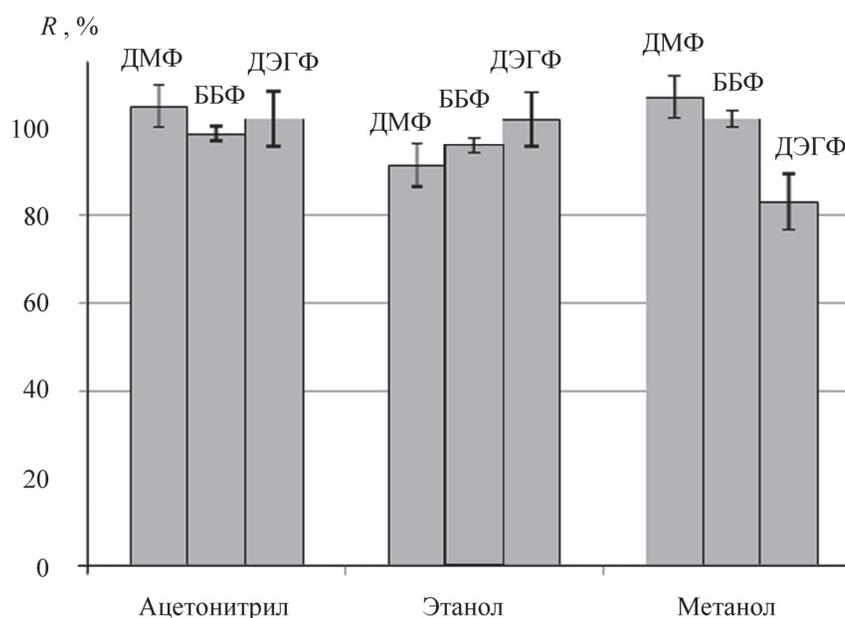


Рис. 1. Зависимость степени извлечения экстракции ДАФ ацетонитрилом, этанолом и метанолом из песчаной почвы

15, 30, 45 и 60 мин. Последующий анализ проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Результаты представлены на рис. 2. Используя полученные данные, мы выбрали оптимальное время экстракции, которое составило 30 мин. Увеличение времени экстракции не имеет смысла, так как при этом не увеличивается ее эффективность. Мы также определили зависимость эффективности экстракции ДАФ из почвы от объема растворителя. На основе полученных результатов сделан вывод, что 30 мл растворителя – объем, достаточный для полной экстракции ДАФ из 2 г почвы. Дальнейшее увеличение объема растворителя не имеет смысла, так как при этом количество экстрагируемых ДАФ не увеличивается, а происходит только разбавление пробы.

Анализ ГХ–МС/МС

Для определения характеристик предложенного подхода (предел обнаружения, диапазон определяемых концентраций и т.д.) готовили серию растворов

ДАФ с разными концентрациями и анализировали методом ГХ–МС/МС. Регистрацию ДАФ проводили по ионным парам (табл. 2).

На основании полученных данных, приведенных в табл. 3 и на рис. 3, можно сделать вывод о том, что метод ГХ–МС/МС позволяет достигать в 2–3 раза более низкие пределы обнаружения по сравнению с методом ГХ–МС. Отмечены лучшая селективность и полное отсутствие мешающего влияния других компонентов матрицы. Воспроизводимость методов примерно одинакова.

Результаты анализа почв Московской обл. представлены на рис. 4, где показано содержание ДАФ в 11 образцах. Как видно из диаграммы, в четырех образцах (П00099, П00103, П00105, П00106) содержание ДБФ превышает установленные нормы. Это связано с тем, что ДБФ широко используется в промышленности как пластификатор, а на территории отбора проб находится лакокрасочный завод и завод по производству продуктов из резины, а также свалка бытовых отходов.

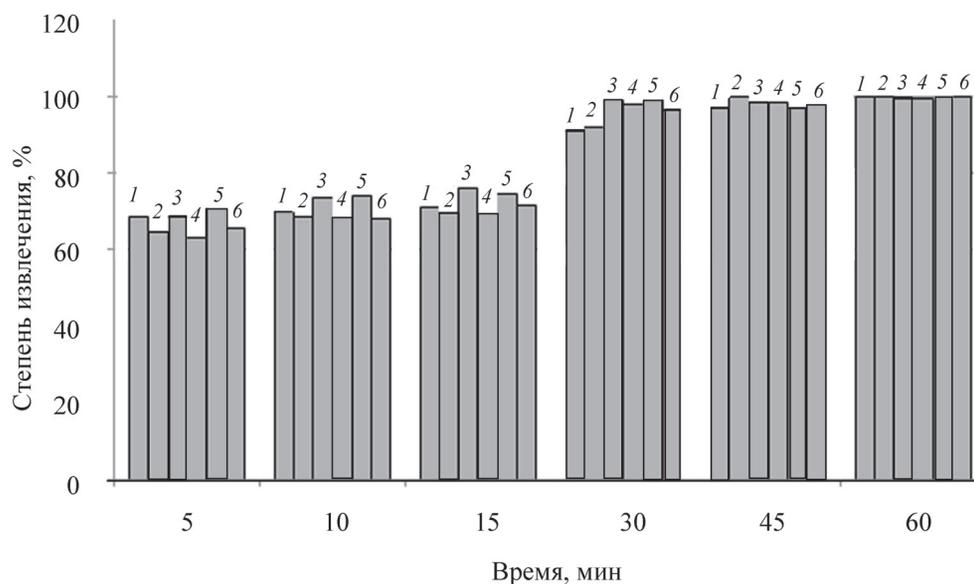


Рис. 2. Зависимость степени извлечения ДАФ ацетонитрилом из почв от времени экстракции.
1 – ДМФ, 2 – ДЭФ, 3 – ДиБФ, 4 – ДБФ, 5 – ББФ, 6 – ДЭГФ

Т а б л и ц а 2

Регистрация ДАФ по ионным парам

ДАФ	ДМФ		ДЭФ		ДиБФ		ДБФ		ББФ		ДЭГФ	
<i>m/z</i>	169/77	149/93	149/93	149/121	149/65	149/93	149/65	149/93	149/65	149/93	149/65	149/93

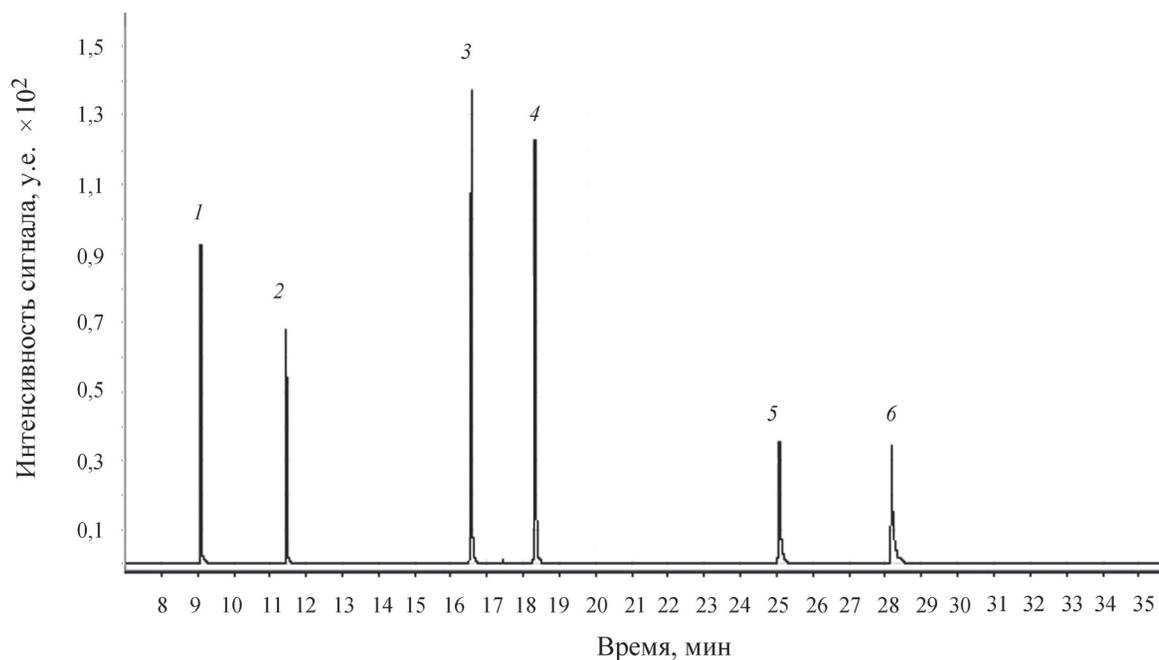


Рис. 3. Хроматограмма экстракта ДАФ из почвы, полученная методом ГХ–МС/МС. Колонка HP-5MS (30 м × 250 мкм × 0,25 мкм). Подвижная фаза – гелий, скорость подвижной фазы 1 мл/мин. Температурный градиент: 40°C → 30°C/мин → 130°C → 5°C/мин → 250°C → 10°C/мин → 300°C. Пики: 1 – ДМФ, 2 – ДЭФ, 3 – ДиБФ, 4 – ДБФ, 5 – ББФ, 6 – ДЭГФ

Т а б л и ц а 3

Метрологические характеристики определения ДАФ в почве методами ГХ–МС и ГХ–МС/МС ($n = 3, P = 0,95$)

Соединение	ГХ-МС			ГХ-МС/МС		
	r	предел обнаружения, мкг/кг	s_r	r	предел обнаружения, мкг/кг	s_r
ДМФ	0,9991	90	0,05	0,9991	60	0,05
ДЭФ	0,9993	105	0,05	0,9991	45	0,05
ДиБФ	0,9987	120	0,05	0,9983	30	0,03
ДБФ	0,998	135	0,06	0,9979	30	0,04
ББФ	0,9972	480	0,07	0,9976	165	0,04
ДЭГФ	0,9972	150	0,05	0,9977	60	0,03

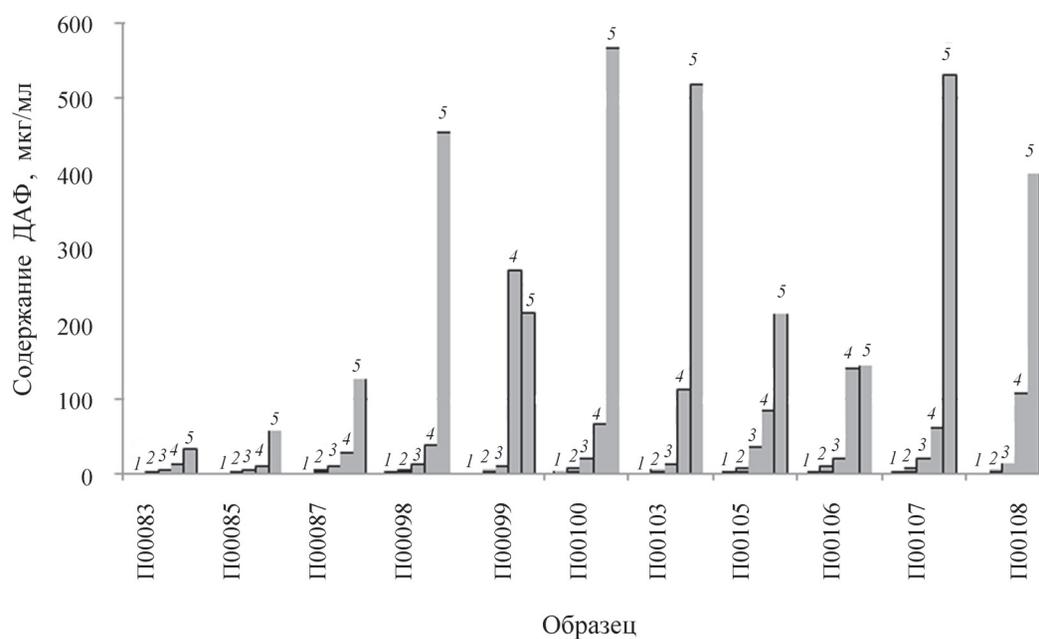


Рис. 4. Выборочная оценка распространения ДАФ в почве московского региона: 1 – ДМФ, 2 – ДЭФ, 3 – ДиБФ, 4 – ДБФ, 5 – ББФ, 6 – ДЭГФ

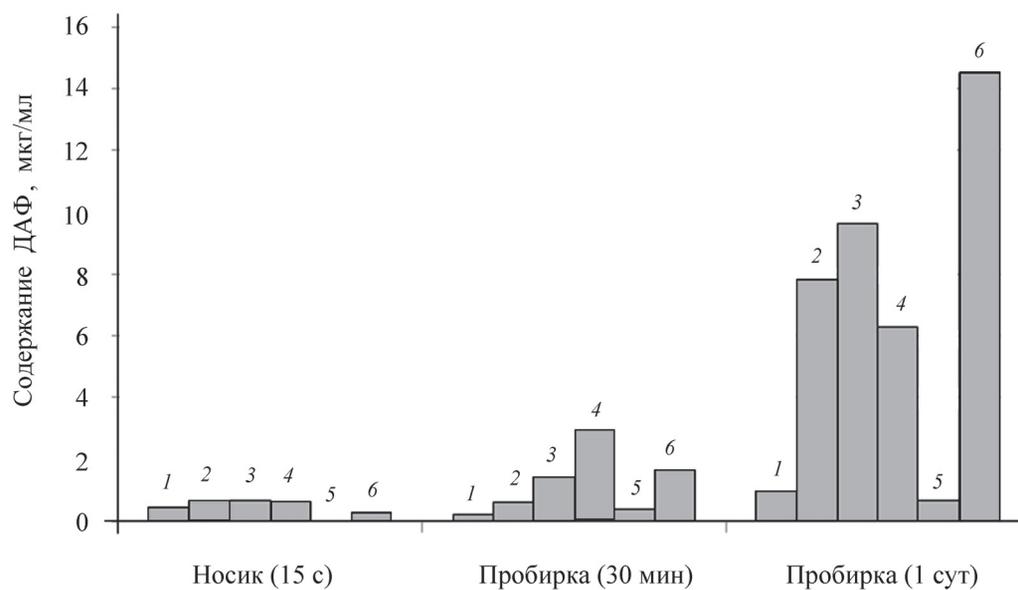


Рис. 5. Количество экстрагируемых ацетонитрилом ДАФ из носика дозаторов (на 100–1000 мкл) и пластиковой пробирки типа «Errendorf» на 2 мл: 1 – ДМФ, 2 – ДЭФ, 3 – ДиБФ, 4 – ДБФ, 5 – ББФ, 6 – ДЭГФ

Оценка возможности вторичного загрязнения ДАФ образца при использовании лабораторного оборудования² и реактивов

Важной проблемой при анализе ДАФ является загрязнение ими образца в процессе пробоподготовки и хроматографического анализа. Из-за широкого распространения ДАФ в промышленности и других областях они присутствуют не только в воздухе, воде и почве, но и в различных растворителях и других химических реактивах, а также в материалах, из которых изготовлена лабораторная посуда.

В работе исследовали возможность попадания ДАФ из пластиковой лабораторной посуды при использовании следующих растворителей: ацетонитрил, метанол, этанол и этилацетат. В эксперименте использовали пластиковую пробирку типа «Eppendorf» (2 мл), в которую добавляли один из растворителей и оставляли на некоторое время (15 мин и 1 сут), после чего проводили хроматографический анализ растворителя. Аналогично проводили анализ носиков дозаторов (100–1000 мкл), в которые отбирали растворитель в течение 15 с, затем проводили хроматографический анализ растворителя.

На рис. 5 показаны концентрации ДАФ, попадающих в исследуемый образец при использовании пластиковой лабораторной посуды и ацетонитрила в качестве растворителя. Как видно из диаграммы, при использовании ацетонитрила в качестве растворителя из пластикового носика дозатора и пробирок в течение небольшого промежутка времени лишь незначительное количество ДАФ (не превышает 3% от ПДК) переходит в растворитель и загрязняет исследуемый образец. При использовании пластиковой посуды в течение более долгого времени (1 сут) уровень попадающих из пластика в растворитель ДАФ увеличивается в несколько раз. Такую же картину можно наблюдать при использовании в качестве растворителя метанола и этанола. Этилацетат при соприкосновении с пластиком экстрагирует из него ДиБФ и ДБФ в большом количестве, что превышает уровень ПДК в 1,2 и 6,5 раз соответственно, т.е. нецелесообразно использовать этот растворитель при определении ДАФ.

Желательно избегать использования лабораторной посуды из любого пластика и заменять ее на стеклянную, а также уменьшать число стадий во время пробоподготовки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Peijnenburg W.J.G.M., Struijs J. // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2006. **63**. P. 204.
2. Zeng F., Cui K., Xie Z., Wu L., Liu M., Sun G., Lin Y., Luo D., Zeng Z. // *Environmental Pollution*. 2008. **156**. P. 425.
3. Ma T., Luo Y., Christie P., Teng Y., Liu W. // *Eur. J. Soil Biol.* 2012. **50**. P. 76.
4. Aragon M., Marce R.M., Borrull F. // *Talanta*. 2012. **101**. P. 473.
5. Kong S., Ji Y., Chen L., Zhao X., Wang J., Bai Z., Sun Z. // *Environmental Pollution*. 2012. **170**. P. 161.
6. Gibson R., Wang M. J., Padgett E., Beck A.J. // *Chemosphere*. 2005. **61**. P. 1336.

Поступила в редакцию 20.11.13

EXTRACTION AND SUBSEQUENT CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF DIALKYLPHTHALATES IN SOILS BY GC-MS/MS

A.V. Pirogov, N.G. Tolmacheva, O.A. Shpigun

(Division of Analytical Chemistry)

A technique of extraction and the subsequent quantitative determination of dialkylphthalates in soils is presented by a method of a gas chromatography - tandem mass spectrometry. The method is characterized by low detection limits of the detection, high efficiency and sensitivity. Optimal conditions for the extraction DAP from soils was found. An estimation of the possible secondary pollution of DAP – containing samples from the laboratory ware, chemical reagents was done.

Key words: dialkylphthalates, gas chromatography, mass spectrometry.

Сведения об авторах: Пирогов Андрей Владимирович – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (pirogov@analyt.chem.msu.ru); Толмачева Наталья Геннадьевна – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета МГУ (tolmacheva-natali@mail.ru); Шпигун Олег Алексеевич – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук, чл.-корр. РАН (shpigun@analyt.chem.msu.ru).