

Gázkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometria alkalmazása mikroszennyezők meghatározására környezeti vizmintákban



Készítette : Helenkár András vegyész, Ph.D. III. évfolyam

Témavezető: Zsigrainé Dr. Vasanits Anikó
Perlné Dr. Molnár Ibolya



Mikroszennyezők útja a környezetben



???



Mintaelőkészítés

Minta
3 L víz

ivóvíz
Duna víz
szennyvíz

Szűrés
1,60 µm pórusátmérőjű üvegszűrő papíron

pH beállítás
pH 4

Szilárd fázisú extrakció (SPE)
Oasis HLB szorbens

2., Mintafelvitel

1., Kondicionálás

A	B	C	D
n-hexán (5 ml)	etil -acetát (5 ml)	metanol (10ml)	deszt.víz (10ml)

3., Elúció

A	B	C
n-hexán (5 ml)	etil -acetát (5 ml)	metanol (14ml)

Gázkromatográfiás mérés tömegspektrometriás detektálással

Minták szárazra párolása

Kétlépcsős származékká
alakítás

GC-MS

GC-MS-MS



A vizek pH értékének beállítása



Oszlopok előkészítése extrakcióra



Az extrakció



Az extraktumot tartalmazó oszlopok szárítása

GC-MS nyomanalitikai feladatok megoldásának lehetőségei

- **Mintaelőkészítés (1L → 3L)**
Dúsítási faktor: max. 3x
- **Mintabeviteli lépés (nagy térfogatú mintainjektálás)**
Analizálandó minta mennyisége: max. 10-100x
- **Detektálás (MS/MS alkalmazása)**
Kimutatási határ csökkentése: irodalom alapján 10x (??)

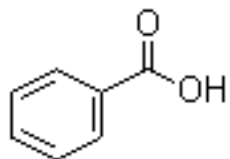
GC-MS-MS módszer optimalizálása:

- 1. Megfelelő szülő-ion kiválasztása**
- 2. CID (collision-induced dissociation) feszültség optimalizálása**
- 3. Egyéb paraméterek beállítása**

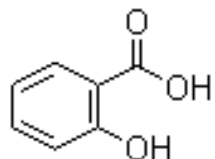
- AGC Target**
- Ion time**
- Prescan**
- Filament**
- Isolation window**
- Scan sebesség beállítása**
- Multiplier offset**

Célvegyületek, feltételezett szennyezők a Duna-vízben

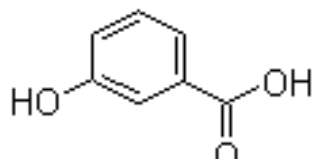
I. Benzoésav származékok



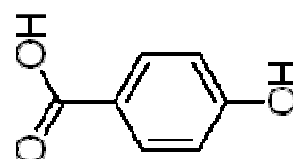
benzoic acid



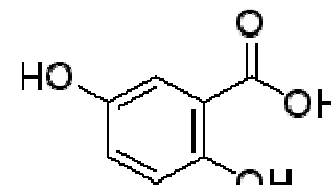
salicylic acid



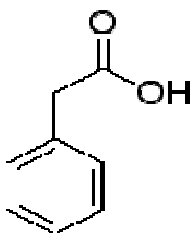
3-OH-benzoic acid



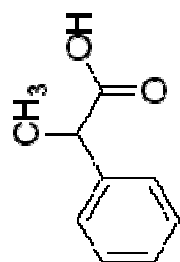
4-OH-benzoic acid



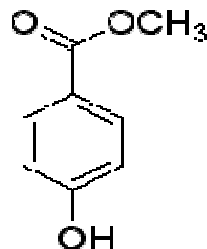
2,5-dihydroxybenzoic acid



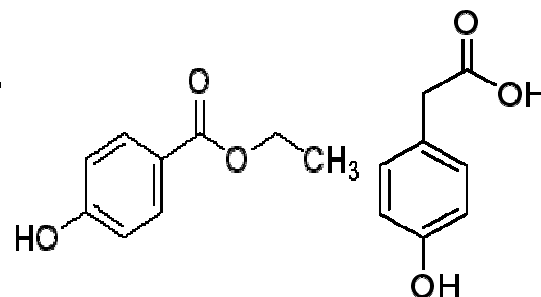
phenylacetic a.



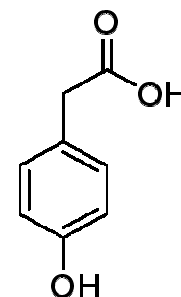
2- phenylpropionic a.



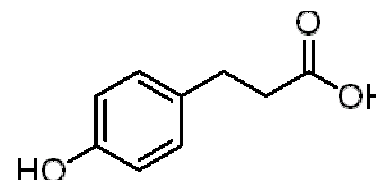
methylparaben



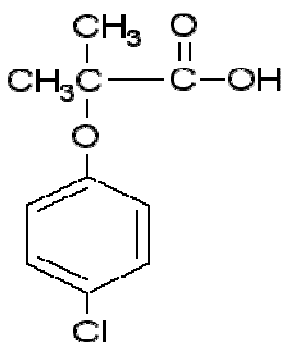
ethylparaben



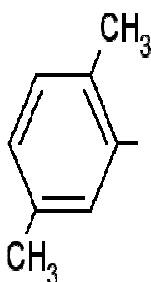
4-OH-phenylacetic a.



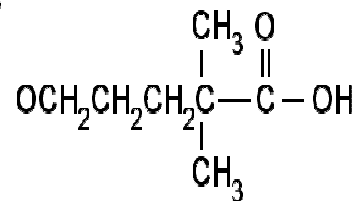
3-(4-OH-phenyl)prop. a



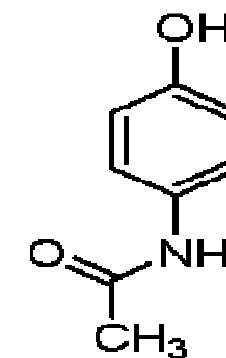
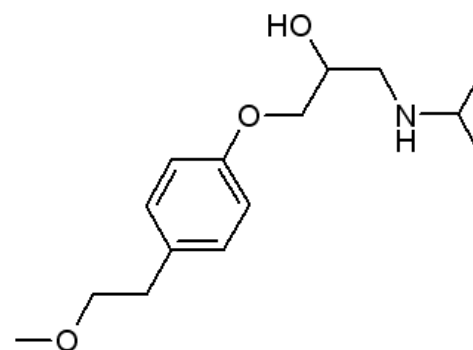
clofibric acid



gemfibrozil



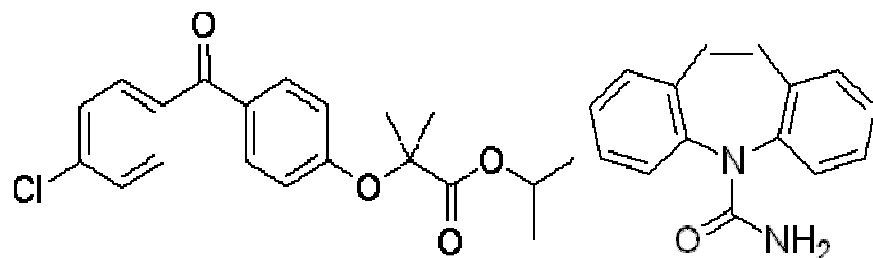
metoprolol



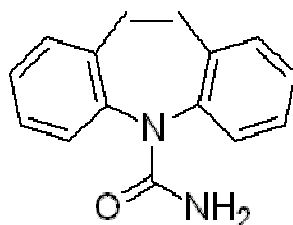
paracetamol

Célvegyületek, feltételezett szennyezők a Duna-vízben

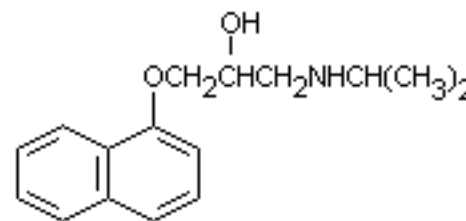
II. Egyéb gyógyszerek, műanyagipari lágyítók, hormonok



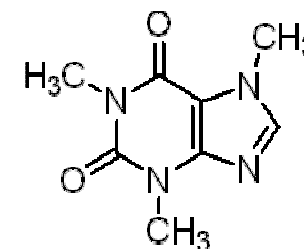
fenofibrate



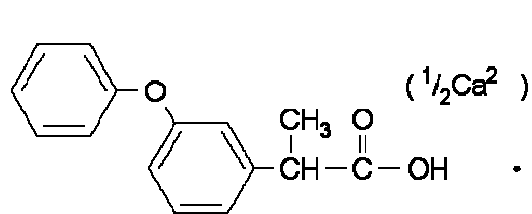
carbamezapine



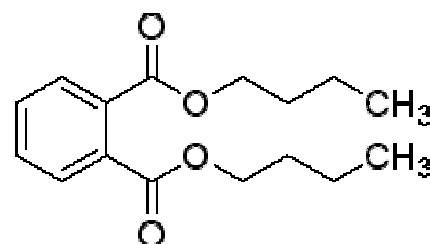
propranolol



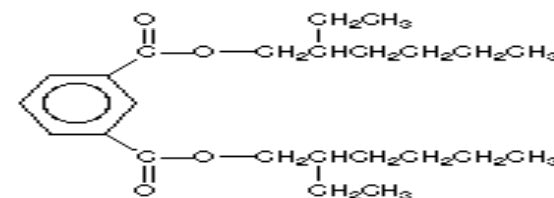
coffein



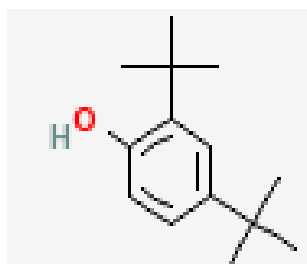
fenoprofen



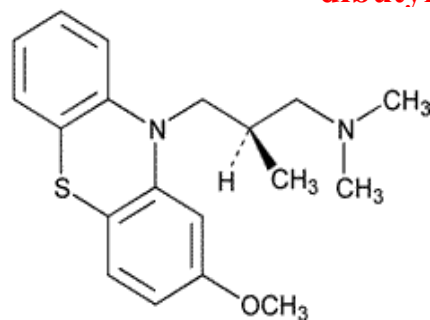
dibutyl phthalate



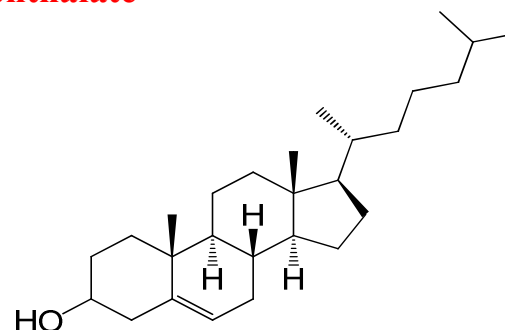
diethylhexyl phthalate



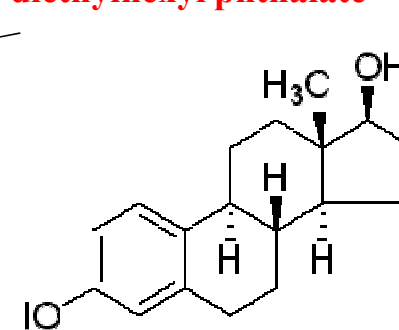
2,4-ditert.-butylphenol



methotrimeprazine



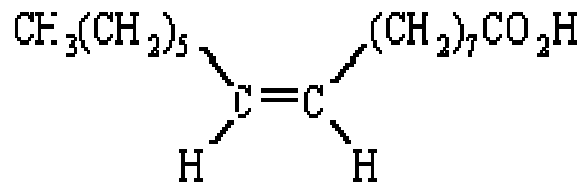
cholesterol



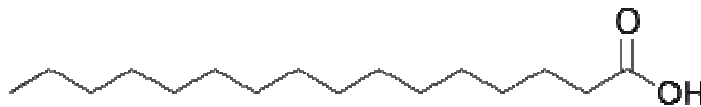
B-estradiol

Célvegyületek, feltételezett szennyezők Duna-vízben

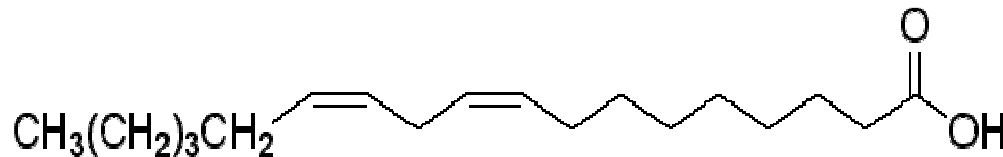
III. C₁₆ és C₁₈ zsírsavak



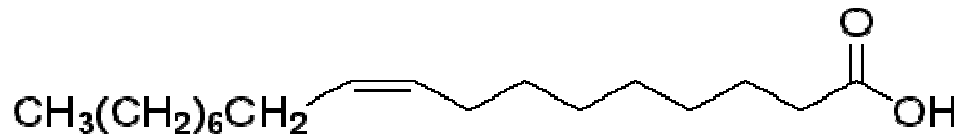
palmitoleic acid



palmitic acid



linoleic acid



oleic acid



stearic acid

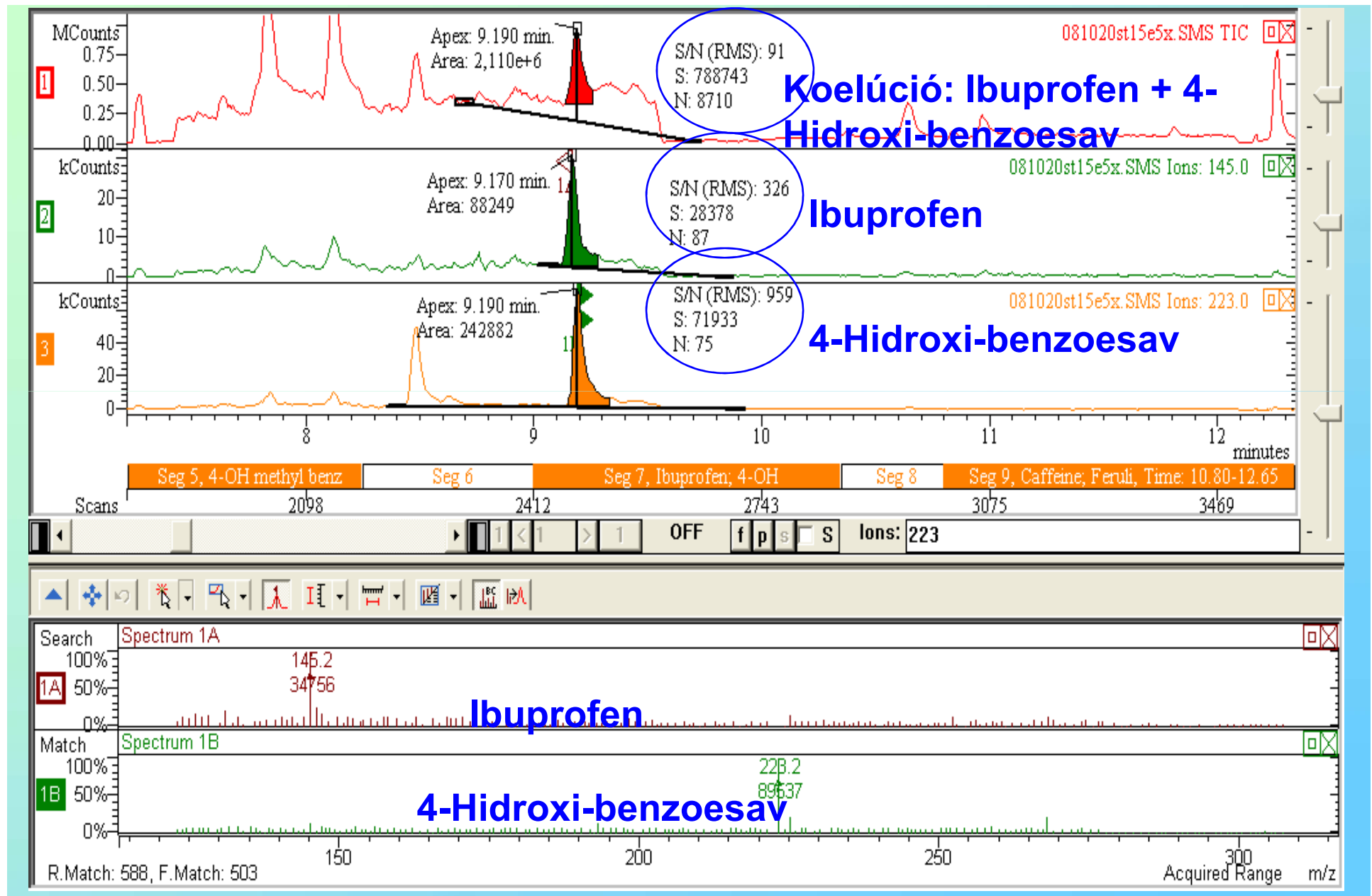
Optimált paraméterek

	Komponens	Ret. idő (perc)	CID frekv. (V)	Szülő-ion (m/z)	Leány-ion (m/z)
1.	Benzoésav	4,80	0,50	180	135
2.	Fenil-ecetsav	5,53	1,45	194	137+165
3.	2- Fenil-propionsav	5,58	0,50	106	79+103
4.	Kaprinsav	7,22	0,60	130	85
5.	Szalicilsav	7,83	0,85	268	249
6.	4-Hidroxi-metil-benzoát	7,85	0,35	225	209
7.	2,4-Diterc-butyl-fenol	8,13	0,75	264	207+235
8.	3-Hidroxi-benzoésav	8,49	1,39	268	223
9.	4-Hidroxi-etil-benzoát	8,63	0,75	239	210 (223)
10.	Klofibrinsav	8,71	0,65	170	141
11.	Ibuprofen	9,17	1,05	161	145
12.	4-Hidroxi-benzoésav	9,19	0,65	267	223
13.	4-Hidroxi-fenil-ecetsav	9,32	0,50	297	252
14.	Laurinsav	9,43	0,60	130	85
15.	3-(4-OH-fenil)-propionsav	10,64	1,05	193	177

16.	Paracetamol 1 (2)	10,64 (10,66)	0,82 (1,00)	296 (224)	179 (181)
17.	Azelainsav	10,96	1,35	150	133
18.	Mirisztinsav	11,49	0,75	130	85
19.	Szebacinsav	11,94	1,35	150	133
20.	Koffein	12,21	1,75	195	149+178
21.	Gemfibrozil	12,40	1,75	195	179
22.	Dibutil-ftalát	12,85	2,85	150	121
23.	Ferulasav 1 (2)	12,26 (13,93)	2,00 (0,35)	325 (339)	279+308 (323)
24.	Fenoprofen	13,19	0,45	271	255
25.	Palmitolajsav	13,23	0,60	130	85
26.	Palmitinsav	13,40	0,60	130	85
27.	Karbamazepin	15,38	1,90	194	165+191
28.	Metoprolol	13,81	1,61	325	207+239
29.	Naproxen	14,04	0,50	185	170
30.	Propanolol	14,80	1,18	231	185+213
31.	Olajsav	14,95	0,60	130	85
32.	Ketoprofen	15,02	1,20	325	207+250+324
33.	Sztearinsav	15,16	0,60	130	85

34.	Diklofenak	15,90	1,80	242	179+207+214
35.	Arachidiksav	16,80	0,60	130	85
36.	Dioktil-ftalát	17,70	1,50	150	121
		17,96			
37.	Fenofibrát 1 (2)	(18,15)	1,70 (0,98)	305 (233)	230 (197)
38.	Metotrimeprazin	18,24	0,65	328	229+283
39.	Ösztron	18,70	0,89	218	201+203
40.	β - Ösztradiol	18,80	0,80	416	285+326
41.	Koleszterin	21,98	0,65	369	339+353
42.	Kólsav	22,95	0,70	428	253

Ibuprofen és 4-Hidroxi-benzoésav elválasztása (66 és 45 pg injektált mennyiség esetén, standard oldatban)



Analitikai teljesítmény-jellemzők:

Visszanyerés : 90-110% (RSD% 10% alatt)

kivétel: zsírsavak, 2,4 diterc butil fenol...

LOQ: 0,06 ng/L -től – 26 ng/L –ig

(TIC-hez képest 8-20-szoros alacsonyabb kimutatási határ)

Linearitás: (1 ng/L -től – 15 μ g/L -ig) R^2 :0,9914-0,9997

		08 Szeptember	09 November	09 Április	09 Május MSMS	09 Május TIC
1.	2- Fenil-propionsav	803,5	1072,1	8,3	10,06	<LOQ
2.	2,4-Diterc-butyl-fenol	1612,1	780,2	36,0	36,23	6,79
3.	3-(4-OH-fenil)- propionsav	17,0	15,3	16,9	6,18	11,93
4.	3-Hidroxi-benzoészav	6,6	35,4	3,9	3,50	<LOQ
5.	4-Hidroxi-benzoészav	47,3	110,4	178,6	49,34	32,47
6.	4-Hidroxi-etyl- benzoát	4,7	2,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ
7.	4-Hidroxi-fenil- ecetsav	<LOQ	25,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ
8.	4-Hidroxi-metyl- benzoát	19,4	32,1	11,7	5,85	17,21
9.	Arachidiksav	-	<LOQ	57,3	236,15	243,50
10.	Azelainsav	446,7	887,5	274,3	799,33	475,23
11.	b- Ösztradiol	<LOQ	0,5	<LOQ	1,78	<LOQ
12.	Benzoészav	1071,6	3640,0	317,4	275,01	227,95

13.	Dibutil-ftalát	95,6	65,7	127,3	80,10	70,09
14.	Diklofenak	23,9	81,8	931,4	48,93	46,11
15.	Dioktil-ftalát	720,0	511,8	53,7	353,70	288,88
16.	Fenil-ecetsav	460,2	1132,7	10,0	18,88	<LOQ
17.	Fenofibrát 1 (2)	<LOQ	3,6	<LOQ	<LOQ	<LOQ
18.	Fenoprofen	4,5	<LOQ	<LOQ	2,49	<LOQ
19.	Ferulasav 1 (2)	111,6	39,7	103,6	55,26	35,43
20.	Gemfibrozil	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
21.	Ibuprofen	4,4	25,0	6,4	3,69	<LOQ
22.	Kaprinsav	96,4	173,1	211,9	236,81	153,27
23.	Karbamazepin 1 (2)	<LOQ	660,0	4,6	<LOQ	<LOQ
24.	Ketoprofen	<LOQ	11,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ
25.	Klofibrinsav	9,2	8,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ
26.	Koffein	93,1	99,6	21,6	<LOQ	<LOQ
27.	Koleszterin	11,8	174,4	195,4	116,55	98,61
28.	Kólsav	22,9	209,3	199,9	38,70	30,20

29.	Laurinsav	109,3	264,5	43,7	130,87	129,36
30.	Metoprolol	<LOQ	445,1	<LOQ	80,21	482,57
31.	Metotrimeprazin	<LOQ	45,0	<LOQ	<LOQ	<LOQ
32.	Mirisztinsav	116,9	194,2	270,6	530,45	456,70
33.	Naproxen	14,1	27,5	8,7	5,70	<LOQ
34.	Olajsav	152,4	1025,5	672,5	1081,14	938,37
35.	Ösztron	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
36.	Palmitinsav	71,8	487,7	745,2	1331,33	1133,40
37.	Palmitolajsav	108,6	358,8	421,0	689,83	636,82
38.	Paracetamol	92,0	32,4	22,2	2,58	<LOQ
39.	Propanolol	<LOQ	<LOQ	4,3	<LOQ	<LOQ
40.	Szalicilsav	58,9	163,5	16,5	20,38	18,38
41.	Szebacinsav	65,8	84,5	72,9	270,25	559,37
42.	Sztearinsav	11,3	340,8	384,8	802,10	617,15
Mikroszennyezők összkoncentrációja		6489,3	13266,5	5576,5	7323,4	6709,8
		08 Szeptember	09 November	09 Április	09 Május MSMS	09 Május TIC
		32 vegyület	37 vegyület	32 vegyület	31 vegyület	23 vegyület

Összefoglalás

- **Analitikai módszert fejlesztettünk ki, amely alkalmas a potenciálisan, a környezeti vizekben jelenlévő 42 vegyület egyidejű minőségi és mennyiségi elemzésére.**
- **4 havi Duna víz minta elemzését végeztük el, 31-37 mikroszennyezőt azonosítottunk és mértünk.**
- **Fő szennyezők a zsírsavak, ftalátok és a benzoésav típusú vegyületek (~ 90%).**

Cikkek:

1. Nem- szteroid típusú fájdalomcsillapítók meghatározása tandem tömeg-spektrometriával kapcsolt gázkromatográfiás elemzéssel a Duna folyóból és ivóvízből

Helenkár András, Zsigrainé Vasanits Anikó , Perlné Molnár Ibolya, Záray Gyula
IV. Kárpát-medencei Környezettudományi Konferencia, Debrecen,
2008. márc. 28-29. Abstract book, 28-29 March 2008, Debrecen,

2. Gas chromatography-mass spectrometry of the trimethylsilyl (oxime) ether/ester derivatives of cholic acids: Their presence in the aquatic environment

Á. Sebők, K. Sezer, A. Vasanits-Zsigrai, A. Helenkár, Gy. Záray, I. Molnár-Perl,
J. Chromatogr.A, Volume: 1211(2008) Issue: 1-2 Pages: 104-112

3. Multiresidue analysis of pollutants present in the aquatic environment

Á. Sebők, A. Helenkár, A. Vasanits, K. Sezer, Gy. Záray, I. Molnár-Perl,
J. Chromatogr.A, 1216 (2009) 2288-2301

4. Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs by gas-chromatography-tandem mass spectrometry in Danube river

A. Helenkár, A. Vasanits-Zsigrai, Gy. Záray, I. Molnár-Perl,
J. Chromatogr.A, előkészületben

Előadások:

1. Gyógyszermaradványok elemzése szennyvizekben trimetilszilil-származékokként, GC-MS eljárással

Perlné Molnár Ibolya, Zsigrainé Vasánits Anikó, Sebők Ágnes, Helenkár András, Záray Gyula

III. Szennyvízágazati Konferencia, Budapest, 2006 nov. 30-dec. 1.

2. Nem- szteroid típusú fájdalomcsillapítók meghatározása tandem tömeg-spektrometriával kapcsolt gázkromatográfiás elemzéssel a Duna folyóból és ivóvízből

Helenkár András, Zsigrainé Vasánits Anikó , Perlné Molnár Ibolya, Záray Gyula

IV. Kárpát-medencei Környezettudományi Konferencia,
Debrecen, 2008. márc. 28-29.

3. Environmental occurrence of micropollutants in wastewater-impacted surface waters

Zsigrai-Vasanits Anikó, Helenkár András, Sebők Ágnes, Perl-Molnár Ibolya, Záray Gyula

4th Environmental Conference, 2009. máj. 26-29, Athén

Poszter:

1, Determination of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs as Their Trimethylsilyl-oxime Derivatives, by Gas Chromatography Mass Spectrometry in Wastewater

Ágnes Sebők, Anikó Vasánits-Zsigrai, András Helenkár, Gyula Záray, Ibolya Molnár-Perl
III. Conference for Wastewater Treatment, 30 Nov. -1 Dec. 2006, Budapest (poster)

2-4, Determination of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs by GC-MS/MS in Danube River

András Helenkár, Anikó Vasánits-Zsigrai, Ibolya Molnár-Perl, Gyula Záray
7. Balaton Symposium, Siófok, 5-7 Sept. 2007 (poster)
Abstract book, 5-7 September 2007, Siófok, Eds.: Imre Klebovich, Mária Gazdag, page 108.
Researcher's Day, 9 Nov. 2007, L. Eötvös University, Budapest (poster)
IV. Conference for Wastewater Treatment, 29-30 Nov. 2007, Budapest (poster)

5, Microbial Degradation of Ibuprofen and Diclofenac

Anita Mohr, András Helenkár
IV. Conference for Wastewater Treatment, 29-30 Nov. 2007, Budapest (poster)
Abstract book: CD-ROM

6, Determination of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs by Gas-Chromatography-Tandem Mass Spectrometry in Danube River

András Helenkár, Anikó Vasánits-Zsigrai, Ibolya Molnár-Perl, Gyula Záray
XIII. Italian-Hungarian Symposium on spectrochemistry: environmental contamination and food safety, Bologna, 20-24 April 2008 (poster)
Abstract book, 20-24 April 2008, Bologna, Eds.: P. Bottoni, S. Caroli, page 90.

7, Advances in the gas chromatographic-mass spectrometric analysis of pharmaceuticals present in the aquatic environment

Ágnes Sebők, András Helenkár , Anikó Vasánits-Zsigrai, Gyula Záray, Ibolya Molnár-Perl

XIII. Italian-Hungarian Symposium on spectrochemistry: environmental contamination and food safety,

Bologna, 20-24 April 2008 (poster), Abstract book, 20-24 April 2008, Bologna, Eds.: P. Bottoni, S. Caroli, page 81.

8, Mikroszennyezők meghatározása tandem tömegspektrometriával kapcsolt gázkromatográfiás elemzéssel a Duna folyóból

Helenkár András, Zsigrainé Vasánits Anikó, Perlné Molnár Ibolya, Záray Gyula

Elválasztástudományi Vándorgyűlés, Sárvár, 2008. nov.5-7.

Konferenciakiadvány, 89. oldal, 2008. November 5-7., Sárvár, Szerk.: Klebovich Imre, Gazdag Mária, Babják Mónika



Q. Schiermeier, *Nature* 2003, 424, 5. „Studies assess risks of drugs in water cycle“.

*Köszönöm megtisztelő
figyelmüket!*



Köszönetnyilvánítás

**Dr. Záray Gyula
Perlné Dr. Molnár Ibolya
Zsigrainé Dr. Vasanits Anikó
Sebők Ágnes**