

# Környezeti vizek szerves szennyezőinek azonosítása és meghatározása, trimetilszilil (oxim) éter/észter származékokként, a gázkromatográfia tömegspektrometria felhasználásával

PERLNÉ MOLNÁR Ibolya,<sup>a,\*</sup> ZSIGRAINÉ VASANITS Anikó,<sup>a</sup> SEBŐK Ágnes,<sup>a,b</sup> HELENKÁR András,<sup>a,b</sup> ANDRÁSI Nóra,<sup>a</sup> FALUDI Tamás,<sup>a</sup> MOLNÁR Borbála<sup>a</sup> és ZÁRAY Gyula<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>ELTE Kémiai Intézet, Környezatkémiai és Bioanalitikai Laboratórium; <sup>b</sup>ELTE Környezettudományi Kooperációs Kutató Központ, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A.

## 1. Bevezetés

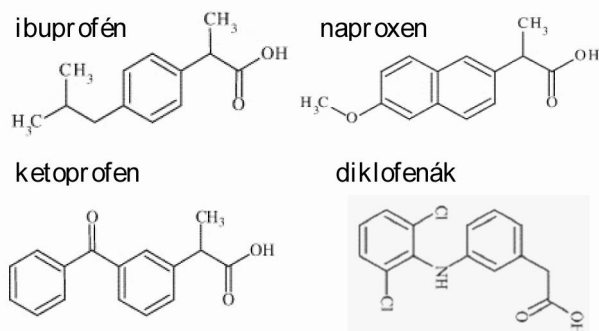
A kutatás előzményei. A természetes mátrixok szerves összetevőinek gázkromatográfias elemzése, az ELTE Analitikai Kémiai Tanszékén több évtizede, 1993 óta tömegszelektív detektálással folyó, nemzetközileg elismert vizsgálatok<sup>1-6</sup> voltak. E kutatások során, mindannyiszor, azonos munkastratégiát követtünk. A lehetőség szerint, a legkülönbözőbb homológ sorok összetevőit egy oldatból, egyetlen felvételtől azonosítottuk és mértük: egyrészt trimetilszilil (oxim) éter/észterekként, másrészt eredeti formáikban, származék-készítés nélkül. A legkülönbözőbb mátrixok vizsgálata során széleskörű tapasztalatot szereztünk az idézett vegyületek optimális származék-képzése, a származékok szelektív fragmentum ionjainak keletkezése, s a mind több összetevő (zsírsavak, mono-, di- és polikarbonsavak, aminosavak, szacharidok, és flavonoidok) optimális azonosítása és koncentráció arányos meghatározása tekintetében.

## 2 A környezeti vizek szerves szennyezőinek elemzése

A szennyvizekben fellelhető gyógyszer és kozmetikai maradványok és ezekkel együtt, a 21-ik század életviteléből adódó, az élő szervezetből és szintetikumokból eredő szerves vegyületek elemzése, testhezálló feladat volt.

### 2.1 A nem szteroid típusú gyulladásgátlók {non steroidal anti-inflammatory drug(s) = NSAIDs} elemzése.

Bevezető vizsgálataink<sup>7</sup> a négy leggyakoribb NSAID (1. ábra), az ibuprofén, a naproxen, a ketoprofen és a diklofenák származék-készítésére és szelektív tömeg fragmentációjára (1. táblázat), az ionizációtól függő válaszjelek elemzésére (2. ábra),



1. Ábra. A nem szteroid gyulladásgátlók szerkezete.

\*Tel.: 372 26 16; Fax: 372 25 92; e-mail: perlne@chem.elte.hu

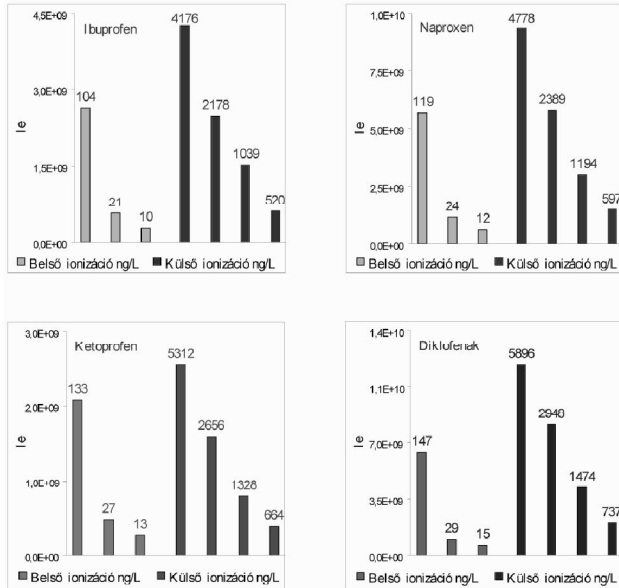
valamint az Észak-pesti szennyvíztisztító be és kifolyó vizeiben mért mennyiségekre (3. táblázat) vonatkoztak. Kiegészítő kutatások<sup>8</sup> a szelektivitás s az érzékenység növelése, az eljárásnak a Duna és ivóvízben mérhető ng/L mennyiségekre kiterjesztés érdekében, az adatgyűjtési módszerek jelentőségét bizonyították.

1. Táblázat. A nem szteroid gyulladásgátlók származék-készítési tanulmánya; válaszjel értékek modelloldatokból, a szelektív fragmentum ionok (SFI(k) összegével számítva, a szililező reagens (HMDS + TFE, BSTFA, MSTFA), s a reakcióidő függvényében.

70 °C		Integrator egység/1' pg modell vegyület, a szelektív fragmentum ionok (SFI) összege alapján számítva			
Reagens	A reakció ideje, perc	ibuprofén	naproxen	ketoprofen	diklofenák
		Inj. pg: 222 m/z=161±1 m/z=234±1 m/z=263±1 m/z=278±1	Inj. pg: 255 m/z=185±1 m/z=243±1 m/z=287±1 m/z=302±1	Inj. pg: 283 m/z=267±1 m/z=282±1 m/z=311±1 m/z=326±1	Inj. pg: 314 m/z=214±1 m/z=242±1 m/z=277±1 m/z=368±1
HMDS	30	2608 (3,13)	4823 (2,53)	756 (5,33)	2703 (9,3)
	60	2851 (1,49)	4944 (3,53)	807 (2,41)	4171 (5,1)
	90	2828 (1,67)	5098 (4,34)	781 (3,67)	3853 (5,9)
	120	2802 (2,25)	4823 (4,62)	781 (5,0)	3980 (6,8)
BSTFA	30	2608 (2,12)	5020 (1,85)	770 (1,50)	4045 (0,41)
	60	2758 (1,24)	4823 (1,13)	816 (2,73)	4012 (2,62)
	90	2909 (1,44)	4862 (3,84)	795 (7,62)	3821 (4,37)
	120	2829 (1,93)	4902 (0,82)	812 (1,80)	3566 (5,3)
MSTFA	30	2873 (0,77)	4352 (11)	922 (2,70)	4713 (1,40)
	60	2779 (1,92)	5294 (1,58)	830 (4,11)	4426 (0,55)
	90	2909 (2,39)	5176 (0,68)	798 (1,23)	4333 (1,68)
	120	2838 (2,43)	4823 (5,1)	765 (4,94)	3566 (12)
Átlag		2837 (1,78)	4963 (3,30)	798 (2,54)	4080 (5,3)

Jelölések: Inj. pg=injektált pg; SFI(k)=3 párhuzamos származék-készítés átlagából számítva; Zárójelben: RSD%; a dőlt betűs értékek az átlagból kihagyva; további részletek az eredeti közleményben;<sup>7</sup> HMDS+ TFA = hexametil-diszilazán + trifluor-ecetsav; BSTFA = bisz-(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid; MSTFA = N-metil-N-(trimetilszilil) trifluor-acetamid.

Az összes ionáram mérésén alapuló bevezető vizsgálataink,<sup>7</sup> szerint, (i) a nem szteroid gyulladásgátlók, valamennyi, karboxilcsoportú vegyület (1. ábra), mindhárom szililező



2. Ábra. A nem szteroid gyulladásgátlók válaszele az ionizáció módjának függvényében.

2. Táblázat. Az ibuprofén, a naproxen, a ketoprofen és a diklofenák visszanyerési hatásfokának összevetése, a vegyületek különböző koncentrációi esetén: (SPE: Oasis HLB 200mg/6mL, pH 4, 1 L minta)

Koncentráció tartomány	Visszanyerések, %			
	Ibuprofén	Naproxen	Ketoprofen	Diklofenák
4-6 µg/L	98	101	106	103
2-3 µg/L	104	84	101	93
1-1,5 µg/L <sup>-1</sup>	98	105	93	103
0,46-0,61 µg/L	72	100	109	98
Átlag (RSD%)	100 (5,7)	98 (9,5)	102 (6,8)	99 (4,8)

Jelölések: mint az 1. Táblázatban; SPE = solid phase extraction, = szilárd fázisú extrakció

szerral reagálnak, s trimetil-szilil (TMS) (oxim) észter származékai, a 0-120 °C hőfoktartományban mennyiségileg képződnek (1. Táblázat). (ii) a belső ionizáció 15-20-szor nagyobb válaszelet ad a külső ionizációhoz képest (2. ábra); (iii) A szilárd fázisú extrakciókból (SPE) kapott

3. Táblázat. Az ibuprofén, naproxen, ketoprofen és a diklofenákTMS (oxim) észter származékaink reprodukálhatósága modelloldatok (A) és befolyó szennyvizek (B) eltérő mennyiségeiből mérve(SFIk az 1. Táblázatban).

Összetevők ↓ (m/z értékek)	A Válaszelek modelloldatokból Integrator egység/pg;(RSD% <sup>a</sup> )						B Válaszelek az eltérő térfogatú szennyvizek származékainak 1µL-ében, pg;(RSD% <sup>a</sup> )					
	6,93-9,83	13,85-19,65	27,70-39,30	55,40-78,60	Átlag érték*	RSD % <sup>b</sup>	szennyvíz, L			Átlag <sup>c</sup>	RSD % <sup>d</sup>	Megfelel µg/L
Injektált pg/1 µL törzsoldatban ⇒							0,25	0,50	1,0			
Ibuprofén (161+263+234+278)	7873 (2,38)	8311 (1,53)	8017 (2,80)	8133 (0,10)	8084	2,29	49,2 (3,70)	114 (5,2)	231 (0,74)	4,11	8,9	4,11
Naproxen (185+243+287+302)	14266 (1,35)	14284 (5,2)	14393 (2,48)	14795 (3,23)	14435	1,71	46,5 (3,08)	84,5 (2,62)	170 (3,48)	3,29	5,4	3,29
Ketoprofen (oxim) (207+398+413)	18150 (10)	18361 (0,99)	18164 (0,71)	17514 (0,06)	18047	2,04	-					
Diklofenák (214+242+277+368)	15402 (3,63)	15369 (1,62)	15140 (1,89)	15140 (1,28)	15263	0,93	41,41 (1,99)	81,24 (1,85)	155,3 (4,15)	3,03	3,1	3,03

Jelölések: mint az 1-2 Táblázatokban, valamint, RSD%<sup>a</sup>= azonos extrakciókból számítva; RSD%<sup>b</sup>= párhuzamos extrakciókból; Átlagérték<sup>c</sup>= 1 µL mintára számítva (a 0,25 L, a 0,50 L és az 1,0 L extraktumaiból készült származékok); RSD%<sup>d</sup>=a három eltérő mennyiségű mintából (0,25 L, 0,5 L and 1 L) nyert átlagértékek; - = mérési határ alatt.

visszanyerések, az 1- 6 µg/L hozzáadott mennyiségek esetén, rendre 100% (ibuprofén), 96,7% (naproxen), 100% (ketoprofen) és 99,7% (diklofenák) voltak, s az eltérő mennyiségek reprodukálhatósága 3,5% és 11% (RSD%) között változott (2. táblázat). (iv) A modelloldatok 6,93 – 78,6 pg, a befolyó szennyvizek 49,2 – 170 pg injektált mennyiségei esetén, a mérések reprodukálhatósága, rendre 0,93 -2,29 RSD% (modell-oldatok) és 3,1 – 8,9 RSD% (befolyó szennyvizek) voltak (3. táblázat). Mindezek alapján, kutatásainkat a módszer szelektivitásának és érzékenységének kiterjesztése érdekében, mind a szelektíven választott ionok (SIM, selective ion monitoring), mind az ütközéssel indukált disszociációban keletkezett ionok

(MS/MS) adatgyűjtési technikájának tanulmányozásával folytattuk.<sup>8</sup>

## 2.2. Az adatgyűjtési eljárás szerepe a szelektivitásra

A három adatgyűjtési technika összehasonlítását, a választott gyulladásgátlók, gyógyszermaradványkénti, reális szennyező koncentrációjának meghatározása céljából, TMS (oxim) észterekként elsőként irtuk le. Az automatikus optimálási feltételek (AMD, automated method development) közül a gerjesztési szintet, s az ütközéssel indukált disszociáció feszültségeit (CID) változtattuk (4. táblázat). A választott szülő és leány ionok MS/MS feltételeinek optimálását az 5. táblázat mutatja.

A SIM és MS/MS adatgyűjtési eljárásokkal nyert felvételek közötti, jelentős különbséget egy Duna víz minta ketoprofen elúciós profiljával (3. ábra), a mért koncentráció értékek realitásában mutatkozó különbségeket, egy-egy, 2008 januári és 2008 szeptemberi Duna víz mintákban mért nem szteroid gyulladásgátlók mennyiségeivel jellemeztük: a 3. ábra, s az 5. táblázat adataiból kitűnik, hogy reális koncentrációk csak az MS/MS adatgyűjtéssel várhatók. Mint ismert, a gyógyszermaradványok környezeti vizekben elemzésére, mindeztideig, szabvány nem áll rendelkezésre, A javasolt, határérték adatok<sup>9</sup> ismeretében a diklofenák mennyisége a 2008 januári Duna víz mintában a határérték több mint kétszerese volt: rendre 235-, 212- és 224 ng/L értékek a javasolt 100 ng/L helyett,

**4. Táblázat.** A nem szteroid gyulladásgátlók TMS (oxim) észter vegyületeinek optimált MS/MS feltételei.

Vegyület	t <sub>R</sub> , perc	Szülő ion, m/z	CID, V	Leány ionok*, m/z (relatív százalék, %)
Ibuprofén	6,51	161 [M-TMSCOO] <sup>+</sup>	1,05	145 (100) [PI-CH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> ; 131 (17) [PI-C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>+</sup>
Naproxen	9,09	185 [M-TMSCOO] <sup>+</sup>	0,40	170 (100) [PI-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> ; 153 (26) [PI-CH <sub>3</sub> -OH] <sup>+</sup>
Ketoprofen-1/2	9,42/ 9,45	324 [M-TMSO] <sup>+</sup>	1,20	250 (100); 206 (50) [PI-TMSCOOH] <sup>+</sup> ; 207 (50) [PI-TMSCOO] <sup>+</sup> ; 308 (47) [PI-CH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
Diklofenák	10,09	242 [M-TMSOH-Cl] <sup>+</sup>	1,60	178 (100) [PI-CO-HCl] <sup>+</sup> ; 214 (81) [PI-CO] <sup>+</sup> ; 206 (65) [PI-HCl] <sup>+</sup>

Jelölések: t<sub>R</sub> = retenciós idő, CID = ütközéssel indukált disszociáció; M = molekulaion, PI = parent ion, szülő ion; \*A félkövérrel jelzett ionokat a mennyiségi analízisekhez használtuk.

**5. Táblázat.** Duna vízmintákban mért nem szteroid gyulladásgátló vegyületek TMS (oxim) észtereinek koncentrációja (2 hónap eredményei), az alkalmazott adatgyűjtési (FS, SIM, MS/MS) módszer függvényében

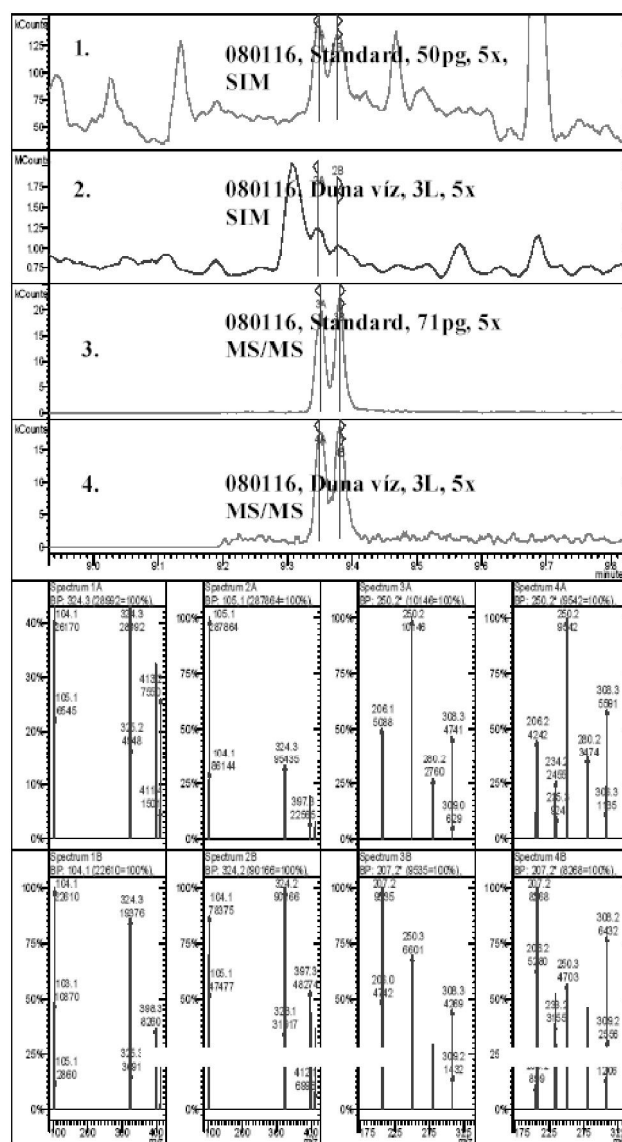
Vegyület ↓	A Duna víz mintákban mért nem szteroid gyulladásgátlók, ng/L (RSD%)*						Limit: ng/L**
	2008, január			2008, szeptember			
Minta ⇒							
Adatgyűjtési mód ⇒	FS	SIM	MS/MS	FS	SIM	MS/MS	
Ibuprofén	109 (8,1)	96 (9,6)	50 (5,4)	13 (13)	9,3 (9,3)	4,4 (9,2)	200
Naproxen	74 (1,15)	67 (11)	62 (3,83)	13 (13)	9,7 (6,2)	8,4 (11)	100
Ketoprofen	<LOQ	305 (5,3)	77 (6,7)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	100
Diklofenák	235 (3,72)	212 (5,8)	224 (4,21)	21 (26)	20 (7,2)	24 (6,8)	100

Jelölések: \*(RSD%) = 3 különböző szilárd fázisú extraktum (SPE) 3 párhuzamos injektálásának eredményeiből számolva; \*\*Limit = javasolt határértékek felszíni víz esetén [9]; A félkövérrel szedett értékek meghaladták az ajánlott határértékeket

### 2.3. A környezeti vizek szerves szennyezőinek elemzése: a sok-összetevőjű analízis rendszer

A nagyszámú, eltérő funkciós csoportú, s különböző forrású szennyező vegyület egyidejű azonosítása (egy oldatból, egy

felvételtől) korábbi<sup>1-6</sup> és a legutóbbi<sup>7,8,10-13</sup> alap kutatásokra épült. A célvegyületek molekulatömege (Mt), retenciós idői (t<sub>R</sub>) – (a 34 perces optimált gradiens alapján) – és szelektív fragmentum ionjai a 6. táblázatban található. Munkastratégiánk szerint, valamennyi, 12 mintából álló sorozatméréshez, reagens vak mérést (reagens vak), valamint, a szennyezések dúsítása céljából készült szilárd fázisú extrakciókhoz nélkülözhetetlen, SPE vak mérést készítettünk. A minták reális mennyiségeinek megítélése tekintetében a vak mérésekből származó termékek csúcs-területeit figyelembe vettük (7. táblázat). Mint az összeállításból kitűnik, az alkalmazott SPE oszloptól függetlenül, az alkil-ftalátok, a 2,4 *diterc*-,butil fenol, s a C<sub>16</sub> – C<sub>18</sub> zsírsavak, az SPE vak mérésekben kitüntetett, míg a reagens vakban, jelentősen kisebb mennyiségűek. Figyelembe vételük, különös tekintettel az egy csúcsban érkezés esetén (ketoprofen + C<sub>18</sub> zsírsavak: 5. táblázat, 3. ábra), kötelező. A célvegyületek közül, egyesek esetében (hidroxi-benzoésavak: 4. ábra) sem a reagens-, sem az SPE vak nem tartalmaz szennyező csúcsokat, míg mások (a reagens vak és az SPE vakokban)



**3. Ábra.** A ketoprofen 1,2 TMS oxim észterek (anti és szin oximok) elúciós profilja: SIM (1,2 kromatogramok, a 1A, 1B és 2A, 2B spektrumok) és MS/MS (3, 4 kromatogramok, 3A, 3B és 4A és 4B spektrumok) adatgyűjtésű üzemmódban felvéve.

**6. Táblázat.** A sok összetevőt elemző rendszer alkotóinak retenció ideje ( $t_R$ ) és szelektív fragmentum ionjai (SFI).

Vegyületek	$t_R$ , perc	Mt	SFI, (m/z)	
			[M]	[M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>
1. Benzoésav	5,52	122,1	194	179
2. Fenilecetsav	6,12	136,2	208	193
3. 2-Fenil-propionsav	7,63	150,2	222	207
4. Dimetil-ftalát	7,81	194,2	194*	-
5. Kaprinsav	7,95	172,3	244	229
6. 4-Hidroxi-metil-benzoát	8,59	152,2	224	209
7. Szalicilsav	8,61	138,1	282	267
8. Fahéjsav	8,78	148,0	220	205
9. 2,4-Di- <i>terc</i> -butil-fenol	8,93	206,3	278	263
10. 3-Hidroxi-benzoésav	9,29	138,1	282	267
11. 4-Hidroxi-etil-benzoát	9,48	166,2	238	223
12. Klofibrinsav	9,59	214,7	287	272
13. Dietil-ftalát	9,85	222,1	222*	-
14. Ibuprofén	9,99	206,3	278	263
15. 4-Hidroxi-benzoésav	10,02	138,1	282	267
16. 4-Hidroxi-fenil-ecetsav	10,14	152,2	296	281
17. Laurinsav	10,26	200,3	272	257
18. Ftálsav	10,31	166,1	310	295
19. 2-Hidroxi-fenil-propionsav	10,60	150,1	310	295
20. Paracetamol	10,65	151,2	223	208
21. 3-(3-Hidroxi-fenil)-propionsav	11,14	166,1	310	295
22. Tereftálsav	11,38	166,1	310	295
23. 2,5-Dihidroxi-benzoésav	11,49	154,1	370	355
24. 3-(4-Hidroxi-fenil)propionsav	11,52	166,1	310	295
25. Vaníliásav	11,53	168,2	312	297
26. Homovaníliásav	11,59	182,2	326	311
27. Azelainsav	11,82	188,2	332	317
28. Mirisztinsav	12,38	228,4	300	285
29. Szebacinsav	12,78	202,1	346	331
30. 3-Met-,4-OH-benzol-prop,sav	12,89	196,0	340	325
31. Koffein	12,98	194,2	194*	-
32. Gemfibrozil	13,31	250,3	322	307
33. Indolecetsav	13,44/13,65	175,2	247	232
34. Dibutil-ftalát	13,76	278,3	278*	-
35. Fenoprofen	13,99	242,0	314	299
36. Palmitolajsav	14,16	254,4	326	311
37. Palmitinsav	14,33	256,4	328	313
38. 5-Klór-2-metil-indolecetsav	14,60	295,0	367	352
39. Metopropol	14,73	267,4	339	324
40. Ferulasav	14,86	194,0	338	323
41. Naproxen	14,96	230,3	302	287
42. Kávésav	15,04/15,13	180,2	396	381
43. Propranolol	15,77	259,3	331	316
44. Linolénsav	15,86	280,4	352	337
45. Olajsav	15,91	282,4	354	339
46. Ketoprofen	15,94/16,00	254,3	413	398
47. Sztearinsav	16,08	284,4	356	341
48. Diklofenák	16,86	295,0	367	352
49. Karbamazepin	17,83	236,3	308	293
50. Arachinsav	18,63	312,5	384	369
51. Dioktil-ftalát	18,67	390,5	390*	-
52. Fenofibrát	19,02/19,24	360,8	447	432
53. Metotrimetoprazin	19,28	328,4	328*	-
54. $\beta$ -Ösztradiol	19,84	272,4	416	401
55. Ösztron	20,54	270,4	429	414
56. Kolesztén	22,59	370,6	370*	-
57. Koleszterol	23,66	386,6	458	443
58. Kólsav	24,87	408,6	696	681
59. Litokólsav	24,91	376,6	520	505

60. Kenodezoxikólsav	25,28	392,6	608	593
61. Urzodezoxikólsav	25,81	392,6	608	593
62. 3-Hidroxi-7-ketokolánsav	26,28	390,6	621	606
63. Dehidrokólsav	27,64/27,95	402,5	735	720

Jelölések: \* = alapállapotban mérhető vegyület (nem képez származékot)

**7. Táblázat.** Néhány választott szennyező mennyiségi meghatározása reagens vak és különböző SPE vak mintájában, GC-MS módszerrel mérve és a szelektív fragmentum ionjaik alapján értékelve.

Víz minták ↓	Szennyező anyagok, $\mu\text{g/L}$		
	2,4-Di- <i>terc</i> -butil-fenol	Dibutil-ftalát	C <sub>16</sub> -C <sub>18</sub> Zsírsavak*
Befolyó szennyvíz*	37,7	3,42	604,5
Duna víz*	0,045	0,38	1,58
Vak (RSD%)			
Műveleti vak	0,59 (4,42)	0,09 (4,77)	6,54 (7,8)
SPE műveleti vakok**			
DSC-18, 500 mg	2,78 (3,58)	0,19 (7,6)	8,21 (4,07)
ENVI ChromP, 200 mg	7,21 (5,9)	0,22 (8,8)	10,6 (7,1)
OASIS HLB, 200 mg	4,78 (4,99)	0,15 (5,1)	8,82 (2,21)
OASIS HLB, 500 mg	2,95 (0,98)	0,14 (9,1)	9,11 (9,9)
OASIS MAX, 60 mg	3,67 (2,15)	0,12 (9,1)	8,21 (6,8)
OASIS MCX, 60 mg	4,78 (0,68)	0,14 (3,15)	7,40 (6,1)
Strata-X, 200 mg	2,91 (7,6)	0,22 (5,4)	9,30 (7,9)
Átlag (RSD%)	3,65 (3,65)	0,17 (24)	8,77 (14)

növekvő mértékben, szennyezettek (dibutil-ftalát, *diterc*-butil fenol: 5. ábra).

A 7. táblázat, valamint a 4. és 5. ábrák tanúsága szerint, a reális és ismételt meghatározások érdekében, különös tekintettel, a kis mennyiségű szennyezések esetén (Duna víz, ivóvíz), az SPE vak értékek a mintákban talált mennyiségekkel összemérhetőek, s spektrumaik is azonosak (5. ábra, a, b felvételek, 2A, 3A spektrumok) voltak

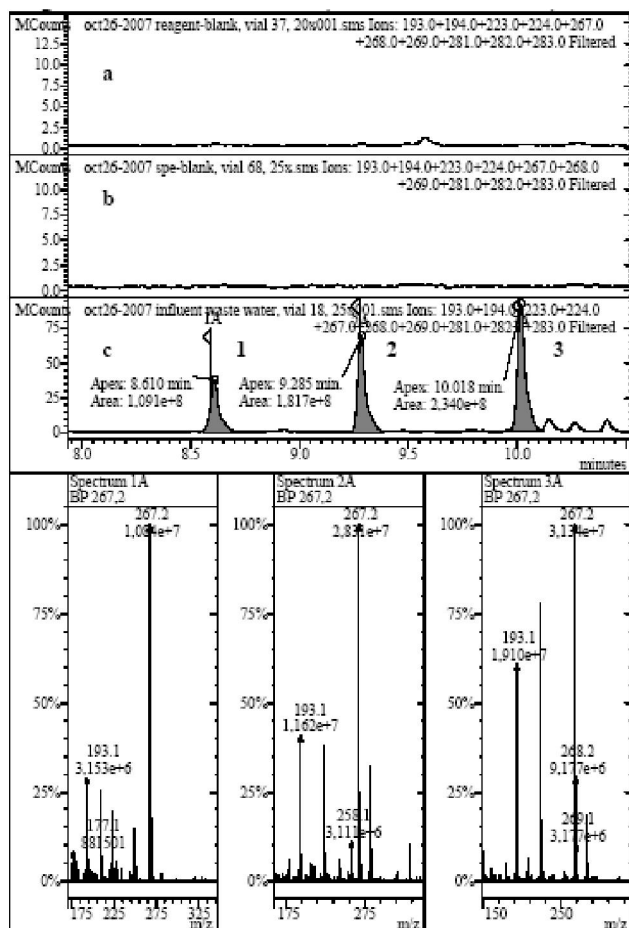
A 34 perces, optimált gradiens utolsó harmadában érkező kólsavak származék-készítési és fragmentum analitikai tanulmánya, majd az eredmények felhasználásával nyert szennyvíz és Duna víz minták elemzése szerint, a kólsavak jelenlétével számolni kell.<sup>10</sup> Szennyvizekben és Duna vízben egyaránt, kólsavat, litokólsavat és kenodezoxikólsavat találtunk. A befolyó és kifolyó szennyvizek, valamint a Duna víz szennyezőinek mennyiségeit a 8. táblázat mutatja, (a legkisebb mérhető mennyiségek, az LOQ = limit of quantitation értékek) az angol cikkekben részletezve.<sup>7,8,10-13</sup>

## 2.4. A sokösszetevőjű elemző rendszer kiterjesztése: a szintetikus és természetes szteroidok analízise

### 2.4.1. Származék-készítési és fragmentum analitikai tanulmányok<sup>12</sup>

A szteroidok elemzőrendszerünkbe, a 34 perces gradiens utolsó harmadába, a kólsavak<sup>7</sup> közé iktatása, jelentős, megoldható kihívás volt:<sup>12,13</sup> elsősorban a keto csoportot tartalmazók oximmá alakítása. Bebizonyosodott, hogy TMS-

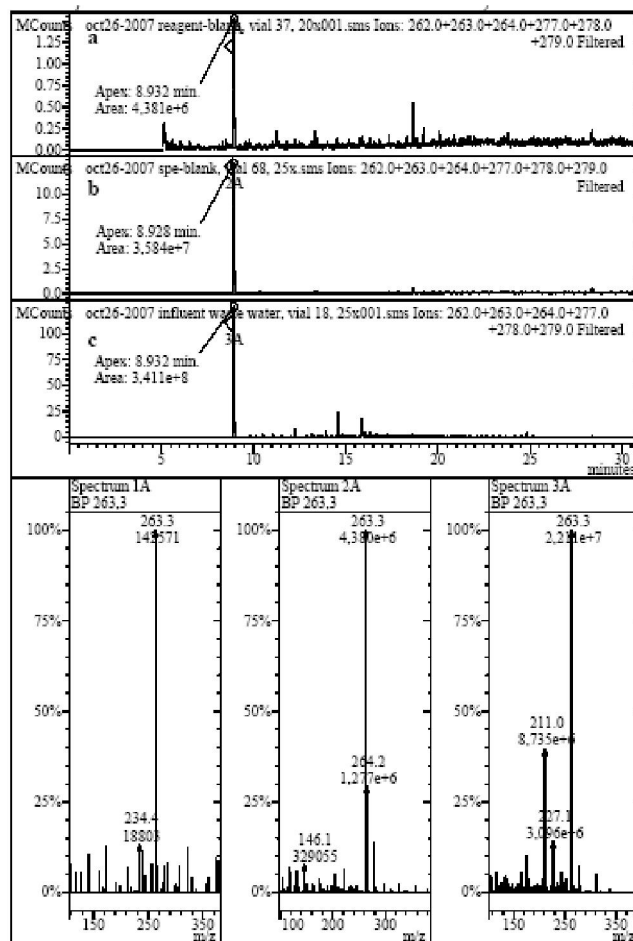
szin és anti oximjaik, kitűnő, a  $\beta$ -ösztradiollal összevethető válaszjelűek, s az MTBSTFA kivételével, valamennyi TMS csoportú szililezőszerrel mennyiségi meghatározásra alkalmasak (9. táblázat, 6. ábra).



4. Ábra. A szalicilsav (1), a 3-hidroxi- (2) és a 4-hidroxi-benzoésavak (3) elúciós tartománya (8 – 11 perc): a reagens vak (a), az SPE vak (b) és a TMS (oxim) éter/észter származékok kromatogramjaival, és a származékok spektrumaival (1A, 2A, 3A).

Az optimált és validált, két lépésbeni (1. oximálás, 2. szililezés), az összes ionáram (FS) mérésén alapuló módszert hazai szennyvizek szteroid tartalmának meghatározására hasznosítottuk (10. táblázat). Eljárásunkat a szelektivitás, s a kis mennyiségek mérhetősége érdekében, különös tekintettel a fogamzásgátló szteroidokra, a multiple ion monitoring (MIM) és a multiple reaction monitoring (MRM) adatgyűjtésű technikákkal egészítettük ki<sup>13</sup> (11. Táblázat). Mint kitűnik, a módszer jellemzők (LOQ, ILQ, S/N értékek), az FS, a MIM és az MRM sorrendben, számottevően jobbak, s ennek eredményeként a fogamzásgátlók közül a  $\beta$ -ösztradiolt, s az etinilösztradiolt is azonosítottuk és mértük (7. ábra, 12. táblázat). Az eltérő adatgyűjtési technikákkal nyert kromatogramokat és spektrumokat elemezve egyértelmű, hogy a ng/L koncentráció tartományban, az S/N >>10, s a spektrumok m/z értékeinek együttes megfelelése, elengedhetetlen követelmény (7. ábra): míg a tranzandroszteron esetében (5,74  $\mu$ g/L) még az FS módszer is valós eredményt ad, addig az etinilösztadiol - a MIM adta elégséges S/N (>>10) érték mellett is – mint a spektrum tömegarányai is mutatják (0,133  $\mu$ g/L) jelentősen túlbecsültek; reális érték csak az

MRM technikával (0,016  $\mu$ g/L) kapható. A Telki befolyó szennyvíz szteroid és kólsav összetételét, közvetlenül



5. Ábra. A 2,4-diterc-butyl fenol elúciója: a reagens vak (a), az SPE vak (b) és a TMS éter/származék kromatogrammjával (c), valamint a szennyezések (1A, 2A) és a célvegyület spektrumaival (3A).

a származék-készítés után, és 6 nap elteltével, 250 mL és 500 mL mennyiségekből mértük. Az eljárás reprodukálhatóságát az egybehangzó eredmények relatív szórásokkal (RSD%) jellemeztük.

### 3. Összefoglalás

a) Az ibuprofén, naproxen, ketoprofen és diklofenak azonosítását és mennyiségi meghatározását, környezeti vizekből, trimetil-szilil (oxim) észterekként, származék-készítési, fragmentum analitikai és adatgyűjtési technikák változtatása alapján optimáltuk, (1. – 4. táblázatok, 1-3. ábrák).

b) Korábbi tapasztalatok felhasználásával, a sokösszetevőjű analízis rendszer keretében, nagyszámú gyógyszer-maradvány, kozmetikai- és ipari szennyező, összesen 63 vegyület egyidejű elemzését, trimetil-szilil oxim észter/éter származékaikként, egy oldatból, egy felvételtől, 34 perc elúció idővel azonosítottuk és mértük (5. – 8. táblázatok, 4., 5. ábrák).

c) A sokösszetevőjű elemzőrendszert kiterjesztettük: a természetes és mesterséges szteroidok származék-készítését,

**8. Táblázat.** Be- és kifolyó szennyvizek, s a Duna víz minták szennyezői, TMS (oxim) éter/észterekként, szelektív fragmentum ionjaik, SFI(k) alapján értékelve.

Szennyezők	µg/L						ng/L		RSD%
	ÉP-2007 Május		ÉP-2007 Június		ÉP-2007-November		Dunavíz- 2008		
	befolyó	kifolyó	befolyó	kifolyó	influent	effluent	Január	Június	
1. Benzoésav	53,5 (1,22)	4,54 (3,91)	92,2 (5,7)	0,85 (5,5)	176 (4,79)	1,09 (8,5)	<LOQ	118 (4,6)	5,6
2. Fenilecetsav	139 (3,37)	<LOQ	430 (6,8)	13,1(4,77)	273 (6,3)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,8
3. 2-Fenil-propionsav	63,4 (2,35)	<LOQ	547 (5,4)	<LOQ	191 (4,17)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,10
5. Kaprinsav	11,6 (9,8)	0,060 (11)	98,6 (3,1)	0,99 (5,2)	44,7 (3,25)	0,46 (6,4)	215 (0,82)	229 (3,1)	3,59
6. 4-Hidroxi-metil-benzoát	0,40 (7,4)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,88 (4,86)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,1
7. Szalicilsav	7,4 (2,95)	<LOQ	7,4 (6,9)	<LOQ	23,6 (4,57)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,64
9. 2,4-Di- <i>terc</i> ,-butil-fenol	107 (5,1)	63,8 (4,43)	68,7 (3,6)	37,3 (6,6)	6,5 (5,1)	1,95 (6,5)	1385 (3,53)	44,7 (9,9)	5,4
10. 3-Hidroxi-benzoésav	2,60 (0,83)	<LOQ	3,85 (4,7)	<LOQ	24,5 (3,55)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,72
11. 4-Hidroxi-etil-benzoát	2,46 (3,38)	<LOQ	5,6 (2,69)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,99
12. Klofibrinsav	2,67 (2,56)	<LOQ	2,26 (7,4)	0,60 (8,5)	3,84 (5,8)	<LOQ	109 (8,1)	13,4 (14)	6,9
13. Dietil-ftalát	5,5 (5,4)	0,50 (7,4)	10,0 (5,6)	<LOQ	23,6 (3,52)	<LOQ	<LOQ	109 (5,2)	5,2
14. Ibuprofén	6,6 (6,5)	<LOQ	25,1 (4,61)	<LOQ	55,7 (3,92)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,6
15. 4-Hidroxi-benzoésav	24,7 (9,8)	<LOQ	170 (4,39)	1,65 (7,1)	81,4 (4,95)	1,47 (3,95)	1116 (2,44)	154 (8,4)	5,9
16. 4-Hidroxi-fenil-ecetsav	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	8,6 (4,67)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,67
17. Laurinsav	1,82 (7,6)	<LOQ	4,89 (5,9)	<LOQ	1,88 (7,3)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6,1
18. Ftálsav	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	22,9 (3,86)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,88
21. 3-(3-Hidroxi-fenil)-prop,,s	0,32 (12)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,9 (2,77)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,7
22. Tereftálsav	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	9,3 (2,55)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,55
24. 3-(4-Hidroxi-fenil)prop,,v	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	14,0 (3,00)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,0
25. Vaníliásav	0,76 (7,8)	0,32 (9,1)	7,5 (5,9)	13,5 (2,27)	20,2 (3,32)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,7
26. Homovaníliásav	0,11 (5,0)	<LOQ	0,75 (5,4)	0,72 (6,5)	4,69 (3,06)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,13
27. Azelainsav	4,76 (6,2)	1,43 (8,6)	71,4 (6,1)	4,60 (8,3)	22,7 (7,6)	3,34 (8,3)	<LOQ	1963 (2,2)	6,6
28. Mirisztinsav	12,4 (3,30)	<LOQ	24,7 (5,7)	0,29 (5,1)	30,4 (4,53)	1,03 (6,2)	1298 (0,027)	145 (8,1)	4,70
29. Szebacinsav	<LOQ	<LOQ	6,4 (6,8)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	174 (6,5)	4,72
30. 3-Met,-4-OH-benzol-prop,,s	1,65 (6,8)	<LOQ	5,9 (7,0)	<LOQ	2,43 (3,08)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,1
31. Koffein	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	57,7 (3,81)	1,55 (4,85)	440 (0,93)	101 (9,9)	5,5
33. 3-Indolecetsav	53,6 (9,4)	<LOQ	147 (6,2)	<LOQ	23,4 (7,4)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6,3
34. Dibutyl phthalate	4,35 (8,8)	1,89 (4,12)	<LOQ	<LOQ	7,9 (6,7)	3,21 (4,76)	498 (4,07)	381 (5,7)	5,9
36. Palmitolajsav	2,78 (3,38)	<LOQ	51,5 (3,02)	3,52 (12)	102 (5,7)	<LOQ	1225 (4,06)	305 (9,6)	5,9
37. Palmitinsav	7,1 (6,1)	<LOQ	67,0 (1,66)	1,25 (5,9)	114 (1,59)	10,8 (7,1)	3143 (7,6)	231 (11)	6,6
38. 5-Klór-2-metil-indolecetsav	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,86
39. Metopropol	25,2 (8,3)	1,53 (8,4)	29,5 (4,33)	5,6 (8,7)	62,5 (8,2)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6,9
40. Ferulasav	6,8 (8,4)	<LOQ	39,4 (3,67)	3,20 (8,1)	9,40 (6,3)	<LOQ	<LOQ	37,6 (9,2)	7,3
41. Naproxen	2,54 (5,8)	0,28 (7,2)	1,71 (8,7)	0,46 (7,7)	2,21 (4,83)	0,86 (6,4)	74,1 (1,10)	1,9 (24)	5,5
42. Kávésav	1,25 (7,7)	<LOQ	1,04 (2,42)	0,25 (10)	3,59 (6,9)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6,0
44. Linolénsav	14,5 (7,7)	<LOQ	14,5 (7,7)	0,45 (9,4)	38,3 (8,5)	<LOQ	1959 (13)	<LOQ	8,3
45. Olajsav	46,4 (9,3)	<LOQ	58,4 (8,1)	2,67 (5,1)	391 (3,53)	1,39 (5,4)	4934 (0,20)	731 (7,8)	5,7
46. Ketoprofen	<LOQ	1,39 (5,1)	1,26 (7,7)	1,11 (5,5)	1,75 (4,01)	1,00 (5,6)	<LOQ	<LOQ	5,7
47. Sztearinsav	23,3 (4,72)	<LOQ	21,3 (7,9)	0,92 (8,7)	73,0 (4,56)	0,63 (3,27)	1613 (9,1)	310 (7,4)	6,7
48. Diklofenák	4,19 (3,00)	3,38 (3,11)	2,16 (7,4)	2,63 (4,05)	2,45 (8,6)	3,65 (6,8)	141 (0,58)	(18,8 (19)	5,0
50. Arachinsav	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	27,2 (5,7)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,7
52. Metotrimetoprazin	<LOQ	1,01 (6,9)	2,97 (8,6)	2,16 (5,3)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,5
53. Dioctil ftalát	1,06 (9,9)	<LOQ	3,53 (8,9)	0,42 (8,4)	6,22 (3,39)	2,43 (3,12)	877 (1,39)	300 (6,6)	6,4
54. β-Estradiol	0,62 (5,0)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	-
56. Koleszten	26,9 (2,54)	<LOQ	9,8 (8,5)	<LOQ	48,3 (5,7)	<LOQ	169 (0,44)	289 (2,1)	5,6
57. Koleszterol	83,2 (2,85)	9,3 (8,2)	36,2 (8,9)	4,9 (9,6)	414 (4,75)	<LOQ	4010 (0,40)	2830 (6,7)	6,3
58. Kólsav	35,4 (7,3)	<LOQ	99,1 (8,4)	<LOQ	79,0 (2,50)	<LOQ	1940 (8,8)	249 (2,10)	6,2
59. Litokósav	10,7 (9,6)	<LOQ	92,9 (8,1)	<LOQ	79,4 (4,30)	<LOQ	1728 (1,99)	715 (11)	6,8
60. Kenodezoxikólsav	5,9 (7,7)	<LOQ	4,17 (8,8)	<LOQ	28,7 (5,4)	<LOQ	440 (12)	168 (1,46)	6,9
61. Urzodezoxikólsav	6,2 (8,9)	<LOQ	25,9 (8,8)	<LOQ	9,4 (7,7)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,3
62. 3-Hidoxi-7-ketokolánsav	3,03 (9,1)	<LOQ	6,1 (8,7)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,9
<b>Talált összesen: */µg/L (ÉP); ng/L (Duna)</b>	<b>41/813,7</b>	<b>13/89,4</b>	<b>40/2298</b>	<b>24/103,1</b>	<b>45/2622</b>	<b>15/34,9</b>	<b>20/27 314</b>	<b>24/9620</b>	
<b>eltávolítva,%</b>	<b>89</b>		<b>96</b>		<b>99</b>		<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

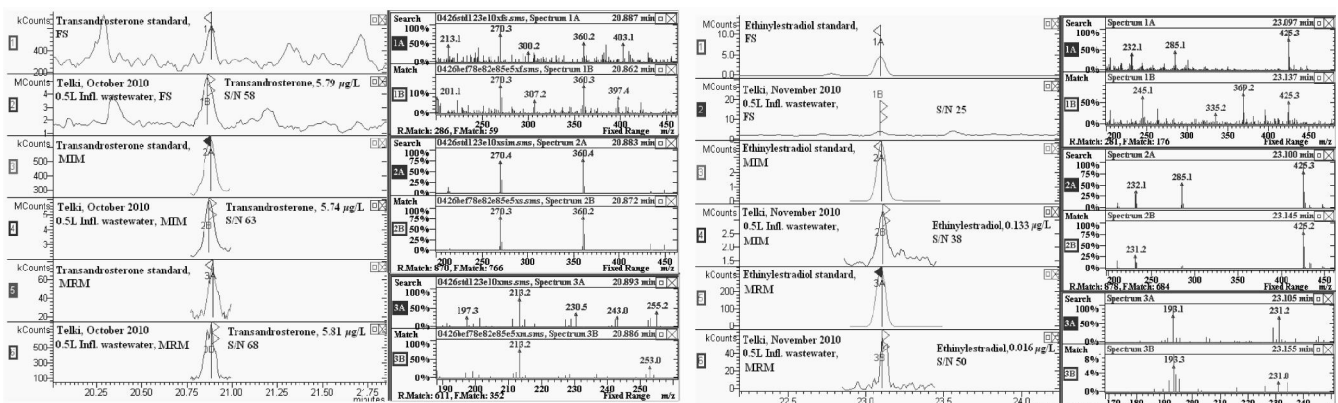
Jelölések: mint az 1.-7. Táblázatokban, valamint, ()= zárójelben (RSD%), három származék-készítés, egyenként 3 injektálás átlagértékei; \* = mért szennyezők száma/koncentrációja



11. Táblázat. FS, MIM, MRM adatgyűjtési technikák analitikai jellemzői: szteroidok és kólsavak meghatározása modelloldatokból, TMS (oxim) éter/észter származékként, GC-MS eljárással.

Analitikai jellemzők→ Vegyület ↓	R <sup>2</sup>			RSD%			LOQ*, ng/L			ILQ**, pg			S/N értékek aránya***	
	FS	MIM	MRM	FS	MIM	MRM	FS	MIM	MRM	FS	MIM	MRM	MIM/FS	MRM/MIM
1. Androszteron	0,9995	0,9858	0,9795	6,8	11,5	13,2	3,79	3,79	1,91	10,1	10,1	5,1	1,36	2,41
2. β-Ösztradiol	0,9997	0,9987	0,9986	5,2	5,4	6,6	0,56	0,283	0,203	1,61	0,753	0,541	1,51	2,07
3. Transz-dehidroandroszteron	0,9983	0,9924	0,9966	6,5	8,9	9,9	21,8	18,0	9,0	58	48,0	23,9	6,8	2,62
4. Transz-androszteron	0,9987	0,9896	0,9829	10,8	12,3	13,2	18,0	9,0	9,0	24,0	24,0	24,0	10,4	2,08
5. Mesztranol	0,9997	0,9996	0,9998	5,9	5,0	7,3	1,725	0,521	0,173	4,62	1,39	0,462	10,7	3,07
6. Dihidrotesztoszteron	0,9997	0,9966	0,9935	4,85	3,84	6,7	19,9	9,9	1,99	53	26,3	5,3	4,42	2,05
7. Etinilösztadiol	0,9999	0,9991	0,9994	6,1	4,88	8,3	1,17	0,589	0,195	3,13	1,57	0,523	9,9	8,64
8. Tesztoszteron	0,9993	0,9978	0,9980	12,0	9,0	9,0	18,1	3,64	1,09	48,3	9,7	2,90	10,1	6,8
9. Noretiszteron	0,9996	0,9960	0,9849	10,7	7,8	8,2	3,75	3,75	1,88	10,0	10,0	5,0	1,66	3,54
10. Ösztriol	0,9994	0,9991	0,9995	5,3	6,6	7,3	1,15	0,573	0,191	3,07	1,53	0,513	2,01	1,33
11. Androsztendion			kalibrációs görbe				20,6	20,6	20,6	55	55	55	7,65	2,94
12. Gesztoden	0,9995	0,9952	0,9945	6,2	7,0	11,9	19,5	9,75	9,75	52	25,8	25,8	4,90	1,62
13. Levonorgesztrél			kalibrációs görbe				17,7	17,7	8,8	47,1	47,1	23,5	6,6	1,08
14. Etonogesztrél			kalibrációs görbe				19,1	9,5	9,5	51	25,3	25,3	3,27	1,08
15. Koprosztranol	0,9966	0,9990	0,9979	6,8	4,41	5,3	18,6	9,3	1,86	49,5	24,7	4,95	7,5	2,95
16. Progeszteron			kalibrációs görbe				88	88	88	234	234	234	4,53	1,17
17. Koleszterol	0,9996	0,9954	0,9985	5,8	7,6	4,8	18,5	9,3	3,38	49,4	24,7	9,0	2,80	3,44
18. Medroxi-progeszteron-acetát			kalibrációs görbe				43,9	43,9	43,9	117	117	117	2,84	2,55
19. Litokólsav	0,9979	0,9994	0,9941	5,2	5,6	8,4	32,3	19,5	19,5	86	52	52	1,24	2,01
20. Stigmaszterol	0,9974	0,9983	0,9998	10,3	4,05	8,0	21,8	10,9	4,50	58	29,0	12,1	1,15	1,98
21. Kólsav	0,9999	0,9950	0,9927	5,4	10,0	11,6	3,23	3,75	3,75	8,6	10,0	10,0	1,19	2,15
22. Kenodezoxikólsav	0,9998	0,9979	0,9947	4,9	9,6	11,5	31,5	19,9	19,9	84	53	53	3,76	5,03
23. β-Szitoszterol	0,9915	0,9973	0,9919	10,6	6,2	6,0	22,1	11,0	1,32	59	29,3	3,51	6,6	1,38
24. Urzodezoxikólsav			kalibrációs görbe				34,5	34,5	30,8	92	92	82	4,0	3,09
25. 3-Hidroxi- 7-ketokólsav			kalibrációs görbe				300	73,5	55	800	196	147	8,33	1,54
26. Dehidrokólsav			kalibrációs görbe				600	380	380	1600	1014	1014	4,29	1,55

Jelölések: R<sup>2</sup> = a kalibrációs görbe lineáris tartománya alapján (0,188 ng/L - 2,81 ng/L); \*LOQ = S/N ≥ 10; \*\*ILQ = injektált pg/μL, a származékok 375 μL törzsoldatából (LOQ ng/L = injektált pg × 375); \*\*\* S/N: jel/zaj viszony, adatgyűjtési módszerként hat injektálás átlagértéke.



7. Ábra. A transandroszteron (a), az etinilösztadiol (b) FS (a 1,2 - b 1,2), MIM (a 3,4 - b 3,4) és MRM (a 5,6 - b 5,6) adatgyűjtési kromatogramjai és tömeg spektrumai.

fragmentum analitikai elemzését és adatgyűjtési optimalizálását, a ng/L tartományokra alkalmas eljárásként validáltuk (9. – 12. táblázatok, 6., 7. ábrák).

**12. Táblázat.** A Telki befolyó szennyvíz különböző térfogataiból, a szteroidok és kólsavak meghatározására, extrakció és származékkészítés után közvetlenül, majd, hat nappal később: TMS (oxim) éter/észter származékaikként, eltérő adatgyűjtési technikákkal (FS, MIM, MRM).

Vegyület	Telki, November, Befolyó szennyvíz, µg/L (RSD%)			
	mL	FS	MIM	MRM
Androszteron	250	0,782(1,73)	0,642 (2,15)	0,669 (3,46)
	500	0,760 (3,19)	0,727 (0,78)	0,708 (1,35)
	+6 nap	0,824 (1,62)	0,860 (0,72)	0,806 (5,6)
β-Ösztradiol	250	<LOQ	0,089 (6,0)	0,017 (8,4)
	500	<LOQ	0,077 (3,57)	0,018 (1,54)
	+6 nap	<LOQ	0,076 (5,80)	0,011 (14)
Transz-androszteron	250	0,691 (15)	0,512 (0,68)	0,694 (1,43)
	500	0,689 (13)	0,666 (8,4)	0,636 (9,3)
	+6 nap	0,725 (5,1)	0,702 (2,10)	0,612 (6,8)
Etinil-ösztradiol	250	<LOQ	0,143 (0,41)	0,017 (22)
	500	<LOQ	0,133 (1,54)	0,016 (6,8)
	+6 nap	<LOQ	0,135 (14)	0,017 (1,44)
Ösztriol	250	<LOQ	0,186 (6,1)	0,128 (10,0)
	500	<LOQ	0,141 (11,3)	0,127 (0,076)
	+6 nap	<LOQ	0,178 (2,23)	0,148 (5,2)
Koprosz-tanol	250	50,6 (0,17)	48,8 (2,21)	43,7 (3,03)
	500	45,1 (2,90)	42,2 (0,82)	39,4 (3,29)
	+6 nap	47,5 (0,91)	48,8 (0,15)	43,6 (4,27)
Koleszterol	250	33,8 (0,68)	47,2 (0,46)	42,8 (7,16)
	500	29,6 (0,72)	28,8 (1,31)	27,6 (1,07)
	+6 nap	32,0 (1,23)	38,9 (1,43)	34,0 (1,44)
Litokólsav	250	34,3 (1,32)	30,0 (1,24)	33,8 (0,052)
	500	29,8 (0,73)	24,2 (2,68)	30,4 (0,91)
	+6 nap	30,6 (1,33)	20,7 (6,8)	28,0 (7,8)
Stigma-szterol	250	4,67 (4,02)	5,26 (4,32)	3,92 (11,7)
	500	4,46 (0,14)	4,31 (0,26)	3,92 (0,13)
	+6 nap	4,71 (5,4)	4,00 (0,100)	4,14 (6,2)
Kólsav	250	18,2 (0,090)	20,0 (1,00)	21,6 (0,77)
	500	18,8 (3,83)	20,4 (1,94)	19,8 (1,95)
	+6 nap	19,5 (4,42)	22,5 (4,42)	21,4 (0,187)
Kenodeoxi-kólsav	250	6,9 (6,1)	7,5 (0,18)	6,5 (0,078)
	500	6,9 (7,6)	7,3 (0,021)	6,8 (2,83)
	+6 nap	7,0 (1,81)	8,4 (1,32)	7,8 (2,78)
β-Szitoszterol	250	34,1 (2,27)	3,35 (0,25)	3,40 (1,45)
	500	24,7 (3,98)	2,85 (9,6)	2,62 (3,34)
	+6 nap	23,4 (0,28)	2,72 (1,71)	2,75 (0,15)
Ursodeoxi-kólsav	250	4,60 (8,8)	4,88 (6,2)	4,59 (5,4)
	500	5,0 (7,2)	5,3 (2,53)	4,99 (2,59)
	+6 nap	4,82 (3,39)	4,67 (1,20)	3,79 (1,42)
3-Hidroxi-7-ketokólsav	250	4,8 (0,17)	3,50 (11,4)	2,89 (0,020)
	500	3,64 (0,62)	3,93 (0,11)	3,11 (1,14)
	+6 nap	2,97 (3,53)	4,51 (9,7)	4,37 (13,6)

## Köszönetnyilvánítás

A kutatások anyagi támogatásáért köszönet illeti a Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatalt. (OM-00371/2008), valamint a TÉT intézményét (OMFB-01676/2009.).

## Hivatkozások

- Molnár-Perl, I.; Horváth, K.; *Chromatographia*, **1997**, *45*, 321-327.
- Molnár-Perl, I.; Bartha, R.; Horváth, K.; *Chromatographia*, **1998**, *48*, 101-118.
- Molnár-Perl, I.; Vasanits, A.; Horváth, K.; *Chromatographia*, **1998**, *48*, 111-119.
- Molnár-Perl, I.; Katona, Zs.F.; *Chromatographia*, **2000**, *51*, 227-236.
- Füzfai, Zs.; Katona, Zs.F.; Kovács, E.; Molnár-Perl, I.; *J. Agr. Food Chem.* **2004**, *52*, 7444-7452.
- Molnár-Perl, I.; Füzfai, Zs.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1073*, 201-227.
- Sebők, Á.; Vasanits-Zsigrai, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; *Talanta* **2008**, *76*, 642-650.
- Helenkár, A.; Sebők, Á.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; Vasanits-Zsigrai, A.; *Talanta* **2010**, *82*, 600-607.
- Loos, R.; Gawlik, B.M.; Locoro, G.; Rimaviciute, E.; Contini, S.; Bidoglio, G.; *Environ. Poll.* **2009**, *157*, 561-568.
- Sebők, Á.; Sezer, K.; Vasanits-Zsigrai, A.; Helenkár, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; *J. Chromatogr. A* **2008**, *1211*, 104-108.
- Sebők, Á.; Vasanits-Zsigrai, A.; Helenkár, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 2288-2301.
- Andrási, N.; Helenkár, A.; Vasanits-Zsigrai, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 1878-1890.
- Andrási, N.; Helenkár, A.; Vasanits-Zsigrai, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 8264-8272.

## Identification and quantification of organic pollutants in environmental water samples as their trimethylsilyl (oxime) ether/ester derivatives, by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS)

**a)** Reliable, reproducible fast and cost-effective gas chromatographic mass spectrometric method has been developed for the identification and quantification of ibuprofen, naproxen, ketoprofen and diclofenak, as their trimethylsilyl (oxime) ester derivatives. Comparing the acquisition protocols, it was confirmed that out of the FS, SIM and MS/MS techniques, in order to get reliable and reproducible results MS/MS acquisition technique is the method to be selected (Tables 1. - 4, Figures. 1.- 3.).

**b)** The gas chromatographic mass spectrometric identification and quantification conditions of six cholic acids, such as cholic-, lithocholic-, chenodeoxycholic-, ursodeoxycholic-, 3-hydroxy-, 7-ketocholic- and dehydrocholic acids have been optimized.

**c)** The two-step derivatizations, consisting of oximation and subsequent silylation, performed as a function of the time and the temperature of both steps, resulted in fully derivatized products, suitable for identification and quantification purposes, equally. This process proved to be in particular advantageous for the keto group containing cholic acids ensuring both the stability of these derivatives and their acceptable, reproducible responses.

**d)** Fragmentation patterns of all six model acids provided the expected masses of molecular ions, the molecular ions less by one methyl radical, less by one TMSO, TMSOH, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub> and further characteristic fragment ions.

**e)** As the practical utility of the method, in the frame of a new group of waste water pollutants have been introduced.

In the influent waste water five different cholic acids, in the Danube river three species have been identified and measured. The total cholic acid contents of waste water samples were extremely high, close to 300 µg/L, while in the Danube river 4 µg/L cholic acids were found.

**f)** On the basis of earlier experiences a multiresidue system was elaborated suitable for the analysis of pharmaceutical remedies, personal- and industrial pollutants, in total of 63 compounds from one solution by a single injection by GC-MS (Tables 5. -8., Figures 4., 5.).

**g)** The practical utility of the multiresidue proposal was shown by the identification and quantification of the pollutants, present in the influent and effluent wastewaters of a Hungarian wastewater treatment plant (under six months period of time) and in the Danube River (for two months). As to the efficiency of the Hungarian Wastewater Treatment Plant, it is worth of mention that the average removal of the total of pollutants, under the 6 months period of time, proved to be 96% (RSD%=3.40)

**h)** The multiresidue approach was extended to the analysis of natural and synthetic steroids: derivatization, mass fragmentation and acquisition protocols were given in order to identify and quantify steroids in the low ng/L levels (Tables 9. - 12., Figures 6., 7.).

**i)** To improve the selectivity of the quantification of the most common natural and synthetic steroids along with cholic acids, in total 26 pollutants, in addition to the 63), for the first time, as their TMS (oxime) ether/ester derivatives, a tandem mass spectrometric acquisition protocol was optimized.

**j)** In the frame of these studies, as novelty to the field, the full-scan, the multiple ion monitoring and the currently optimized, tandem mass spectrometric, multiple reaction monitoring type acquisition methods, all three at once, have been compared, on the same basis (derivatization/instrumental conditions) and characterized with the same, comparable analytical performance parameters.

**k)** Data obtained revealed that, in particular in cases of hydroxysteroids, they can be quantified with reliability and reproducibility, upon the tandem mass spectrometric acquisition method, exclusively.

**l)** The practical utility of the currently compared acquisition protocols, including the optimized MRM technique was confirmed with the analysis of five influent/effluent wastewater samples, taken in 2010.

**m)** The estrogen contents of samples, in order of listing, varied between 2.5 - 27 ng/L (β-estradiol), 16 - 152 ng/L (ethinylestradiol) and 85 - 449 ng/L (estriol), respectively.

**n)** The overwhelming part of androgens, consists of 0.708 - 8.2 µg/L androsterone and 0.636 - 5.81 µg/L transandrosterone, found in the influent samples, only.

**o)** Coprostanol and cholesterol were present both in influent and effluent wastewaters: influent wastewaters contain 19.3 - 50 µg/L coprostanol and 6.70 - 43.0 µg/L cholesterol, while effluent samples comprise 0.653 - 6.40 µg/L coprostanol and 0.678 - 2.88 µg/L cholesterol.

**p)** Phytosterols, like stigmasterol and β-sitosterol, constituents mainly of influent samples were determined between 1.10 - 7.50 µg/L, and 0.567 - 41.9 µg/L: all accepted data were obtained by the MRM technique.