

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
АЛКИЛФТОРФОСФОНАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СМЕСИ ОТНОСИТЕЛЬНЫХ
ЭТАЛОНОВ СРАВНЕНИЯ

С.В. Новиков кхн, доцент, Военная академия РХБ защиты

Рассмотрена возможность использования смеси О,О,О-триалкилфосфатов в качестве относительного эталона сравнения при количественном хромато-масс-спектрометрическом анализе токсичных О-алкил алкилфторфосфонатов.

В практике количественного хромато-масс-спектрометрического анализа наибольшее распространение при установлении градуировочных зависимостей сигнала детектора от количества вещества получили следующие четыре метода [1]: абсолютной градуировки, внутренней нормализации, изотопного разбавления и внутреннего стандарта. В анализе проб из объектов окружающей среды (ОС) метод внутренней нормализации мало применим в виду качественного и количественного многообразия состава проб. Методы абсолютной градуировки и изотопного разбавления предусматривают использование эталонных образцов контролируемых веществ или их изотопных аналогов, что в случае анализа на содержание высокотоксичных О-алкил алкилфторфосфонатов значительно повышает риск поражения аналитика. Кроме того метод абсолютной градуировки требует достаточно много времени для установления градуировочной зависимости отклика хромато-масс-спектрометра во всем исследуемом диапазоне концентраций. Метод внутреннего стандарта наиболее удобен и воспроизводим в лабораторных условиях, но применим лишь для небольшого диапазона концентраций. Для увеличения диапазона измеряемых концентраций можно использовать метод двойного внутреннего стандарта [2], обладающий меньшей зависимостью от экспериментальных факторов, в частности флуктуации режима работы хроматографа и масс-спектрометра. Если увеличить количество веществ - относительных эталонов сравнения, то достоверность получаемой градуировочной характеристики значительно возрастет. Вместе с тем ввести в аналитическую пробу относительные эталоны сравнения не всегда представляется возможным и целесообразно.

Видится перспективным способ получения градуировочной характеристики отклика хромато-масс-спектрометра от количества О-изопропилметилфторфосфоната и О-пинаколилметилфторфосфоната по результатам анализа смеси относительных эталонов сравнения, состоящей из нескольких веществ в концентрациях, охватывающих весь исследуемый диапазон.

Метод внутреннего стандарта реализуется с использованием одного из двух типов относительных эталонов сравнения [3]. Первый тип - вещества с аналогичным направлением фрагментации, но с другим временем удерживания. Второй тип - соединения, которые фрагментируются с образованием иных ионов, но обладают сходными хроматографическими характеристиками.

Применение в качестве относительных эталонов сравнения веществ, направления фрагментации которых аналогичны анализируемому веществу, но имеющих другое время удерживания, имеет то принципиально важное преимущество с практической точки зрения, что этот метод может быть реализован на любом хромато-масс-спектрометре. Естественно, что обоснование и определение относительных эталонов сравнения применительно к исследуемым веществам должны основываться на результатах специальных теоретических и экспериментальных исследований.

Анализ собственных теоретических и экспериментальных исследований позволил предположить перспективность использования в качестве компонентов смеси эталонов сравнения при количественном хромато-масс-спектрометрическом анализе О-алкил алкилфторфосфонатов соединения ряда О,О,О-триалкилфосфатов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

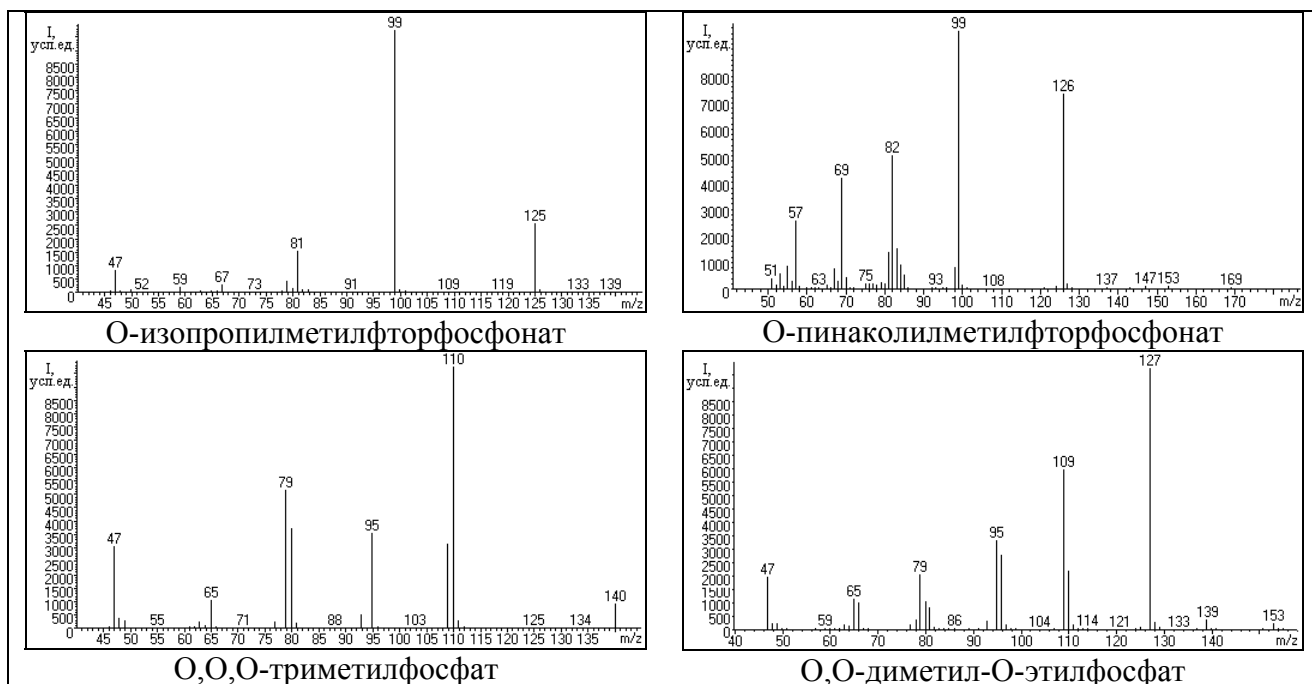
Аппаратура. Исследования проводились на хромато-масс-спектрометрах HP 5890 / HP 5972, HP 5890 / HP 5989 и Agilent 6890 / Agilent 5973. Использовались кварцевые капиллярные хроматографические колонки длиной 25 м с внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной слоя слабополярной неподвижной жидкой фазы (5%-фенил-95%-метилполисилоксан) 0,25 мкм HP-5MS, Rtx-5MS, DB-5MS. Газ-носитель - гелий марки А ТУ 51-940-80.

Условия исследования. Температура испарителя – 250°C, начальная температура термостата колонки – 50°C, скорость подъема температуры термостата колонки – 15°C/мин, температура интерфейса – 280°C, температура источника ионов 230°C, температура масс-фильтра – 150°C, способ ионизации – электронный.

Реактивы. О-изопропилметилфторфосфонат, О-пинаколилметилфторфосфонат, вещества ряда О-алкил(метил, этил, *n*-пропил, *i*-пропил, бутил)-О-алкил(метил, этил, *n*-пропил, *i*-пропил, бутил)-О-алкил(метил, этил, *n*-пропил, *i*-пропил, бутил)фосфат с известной долей основного вещества.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ экспериментально полученных масс-спектрометрических характеристик в режиме сканирования ионов в диапазоне от 40 *m/z* до 500 *m/z* О-изопропилметилфторфосфоната, О-пинаколилметилфторфосфоната и веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов, приведенных на рисунке 1, и известных закономерностей фрагментации веществ ряда О-алкил алкилфторфосфонатов [4,5] позволил сделать вывод, что фрагментация веществ обоих классов под действием электронной ионизации идет по аналогичным направлениям, как это схематически показано на рисунке 2. Данное свойство веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов удовлетворяет требованиям, предъявляемым к эталонным веществам по направлению фрагментации [3].



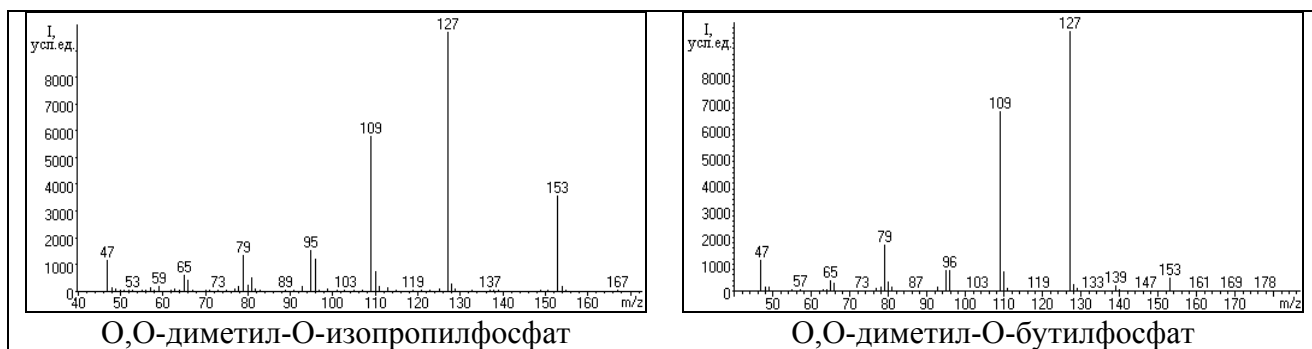


Рисунок 1 – Масс-спектры некоторых веществ ряда О-алкил алкилфторфосфонатов и ряда О,О,О-триалкилфосфатов полученные при электронной ионизации с детектированием в режиме сканирования ионов

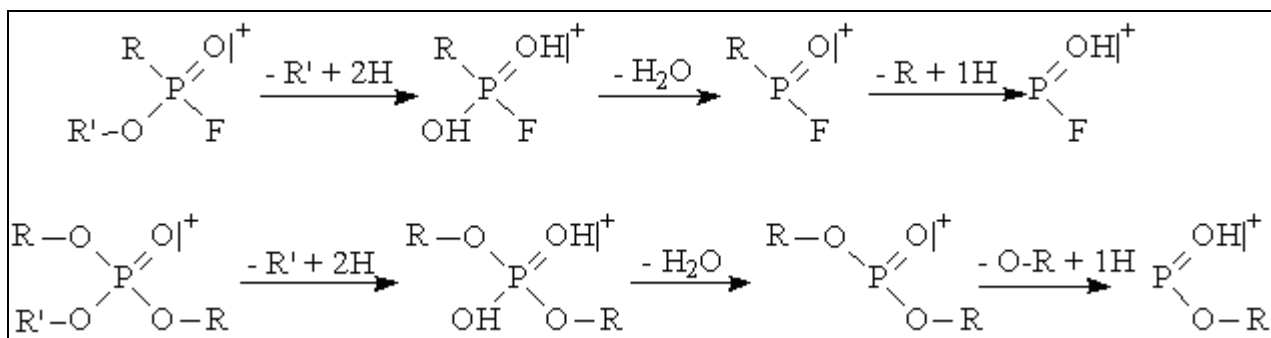


Рисунок 2 – Схема вероятных направлений фрагментации О-изопропилметилфторфосфоната, О-пинаколилметилфторфосфоната и веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов

На основе оценки соответствия полученных опытным путем характеристик сорбируемости веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов требованиям к веществам – эталонам сравнения, для проведения дальнейших исследований были выбраны О,О,О-триметилфосфат, О,О-диметил-О-этилфосфат, О,О-диметил-О-изопропилфосфат, О,О-диметил-О-бутилфосфат, О,О,О-триэтилфосфат. Выбор данных веществ обусловлен их сорбируемостью слабополярной силиконовой неподвижной жидкой фазой (НЖФ), наиболее близкой к сорбируемости О-изопропилметилфторфосфоната и О-пинаколилметилфторфосфоната, как это наглядно видно из данных таблицы 1. При оценке сорбируемости оценивались не только индекс хроматографического удерживания но и высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ), характеризующая энергию межмолекулярного взаимодействия сорбат – НЖФ. Использование в качестве относительных эталонов веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов с другими значениями ВЭТТ и более поздними временами удерживания приведет к искажению результатов анализа из за размывания хроматографических пиков и потребует увеличения продолжительности хроматографического анализа, а значит и времени, затрачиваемого на подготовку к анализу, что противоречит требованиям к веществам – эталонам сравнения и требованию по оперативности получения информации о результатах анализа О-алкил алкилфторфосфонатов.

Таблица 1 – Характеристики сорбируемости О-изопропилметилфторфосфоната, О-пинаколилметилфторфосфоната и выбранных веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов слабополярной силиконовой НЖФ (5%-фенил-95%-метилполисилоксан)

Наименование вещества	RI _{Ковача} , усл. ед.	ВЭТТ, мм
О-изопропилметилфторфосфонат	841	0,017

О,О,О-триметилфосфат	938	0,017
О,О-диметил-О-этилфосфат	1010	0,017
О,О-диметил-О-изопропилфосфат	1042	0,018
О-пинаколилметилфторфосфонат	1041/1045	0,018/0,018
О,О-диметил-О-бутилфосфат	1098	0,018
О,О,О-триэтилфосфат	1133	0,018

На основе анализа экспериментально полученных масс-спектров и вероятных направлений фрагментации определены основные характеристичные ионы со значениями m/z исследуемых соединений, которые в обобщенном виде приведены в таблице 2. Значения m/z этих ионов использовались для идентификации и количественной оценки соединений при селективном ионном детектировании.

Таблица 2 – Значения m/z и интенсивности характеристичных ионов О-изопропилметилфторфосфоната, О-пинаколилметилфторфосфоната и выбранных веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов при электронной ионизации

Наименование вещества	Характеристичные ионы вещества, m/z (%)
О-изопропилметилфторфосфонат	125,0 (34), 98,9 (100), 80,9 (11), 42,9 (7)
О-пинаколилметилфторфосфонат	126,0 (65), 98,9(100), 81,9 (51), 69,0 (37)
О,О,О-триметилфосфат	140,0 (12), 110,0 (100), 94,9 (41), 79,0 (53)
О,О-диметил-О-этилфосфат	127,0 (100), 109,0 (60), 94,9 (31), 78,9 (17)
О,О-диметил-О-изопропилфосфат	152,9 (42), 127,0 (100), 109,0 (63), 94,9 (23)
О,О-диметил-О-бутилфосфат	139,0 (7), 127,0 (100), 109,0 (66), 94,9 (13)
О,О,О-триэтилфосфат	154,9 (50), 127,0 (37), 109,0 (32), 98,9 (100)

Был проведен хромато-масс-спектрометрический анализ растворов О-изопропилметилфторфосфоната, О-пинаколилметилфторфосфоната и выбранных веществ ряда О,О,О-триалкифосфатов с содержанием каждого от 1×10^{-6} до 1×10^{-2} мг/см³ в режиме селективного ионного детектирования по характеристичным ионам для каждого соединения (таблица 2) на трех приборах. Результаты оценки значений отношений площадей хроматографических пиков по наиболее интенсивным характеристичным ионам выбранных веществ ряда О,О,О-триалкифосфатов к площадям хроматографических пиков О-изопропилметилфторфосфоната и О-пинаколилметилфторфосфоната при их одинаковых концентрациях, приведенные в таблице 3, показывают, что максимальное отклонение отношений площадей не превышает 7,6 % от среднего значения в случае О-изопропилметилфторфосфоната и 10,7 % – О-пинаколилметилфторфосфоната, полученных на одном приборе, и 7,9 % от среднего для трех приборов в случае О-изопропилметилфторфосфоната и 11,3 % – О-пинаколилметилфторфосфоната. Отклонения от среднего значения отношений площадей в ряду О,О,О-триалкилфосфатов к площади О-изопропилметилфторфосфоната возрастает в следующем порядке: О,О,О-триметилфосфат, О,О-диметил-О-изопропилфосфат, О,О-диметил-О-бутилфосфат, О,О-диметил-О-этилфосфат, О,О,О-триэтилфосфат, а к площади О-пинаколилметилфторфосфоната возрастает в порядке О,О-диметил-О-бутилфосфат, О,О,О-триэтилфосфат, О,О-диметил-О-изопропилфосфат, О,О-диметил-О-этилфосфат, О,О,О-триметилфосфат.

Таблица 3 – Значения отношений площади хроматографических пиков веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов к площади О-алкил алкилфторфосфонатов по характеристичному иону

Наименование вещества	Значение отношения площади хроматографического пика О,О,О-триалкилфосфата к площади О-алкил алкилфторфосфонатов							
	HP 5890 / HP 5972		HP 5890 / HP 5989		Agilent 6890 / Agilent 5973		среднее для трех приборов	
	среднее значение	максимальное отклонение (%)	среднее значение	максимальное отклонение (%)	среднее значение	максимальное отклонение (%)	среднее значение	максимальное отклонение (%)
О-изопропилметилфторфосфонат								
О,О,О-триметилфосфат	1.075	2.1	1.078	2.0	1.071	2.1	1.077	2.3
О,О-диметил-О-этилфосфат	1.111	5.5	1.114	4.3	1.107	6.6	1.11	6.8
О,О-диметил-О-изопропилфосфат	1.087	3.8	1.09	3.4	1.083	4.5	1.087	4.8
О,О-диметил-О-бутилфосфат	1.143	4.6	1.146	4.1	1.14	4.9	1.143	5.2
О,О,О-триэтилфосфат	0.856	6.5	0.858	5.4	0.853	7.6	0.856	7.9
О-пинаколилметилфторфосфонат								
О,О,О-триметилфосфат	0.987	10.5	0.99	10.7	0.983	10.1	0.987	11.3
О,О-диметил-О-этилфосфат	1.019	7.0	1.022	7.5	1.016	6.6	1.019	7.8
О,О-диметил-О-изопропилфосфат	0.997	4.8	1.0	5.3	0.994	4.4	0.997	5.6
О,О-диметил-О-бутилфосфат	1.049	3.9	1.052	4.4	1.046	3.6	1.049	4.7
О,О,О-триэтилфосфат	0.785	4.2	0.788	4.6	0.783	3.8	0.785	4.9

Известно, что наибольшая ошибка измерений наблюдается в области низких концентраций, поэтому в градуировочной смеси содержание относительных эталонов следовало бы создавать в той же последовательности - от минимальной. Однако, времена удерживания двух пар веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов, таких как О,О-диметил-О-

этилфосфат и О,О-диметил-О-изопропилфосфат, О,О-диметил-О-бутилфосфат и О,О,О-триэтилфосфат, близки и возможно перекрывание их хроматографических пиков. При детектирование в режиме сканирования ионов это обстоятельство не вызывает проблем, но, как известно [3], при селективном ионном детектировании увеличение количества одновременно регистрируемых ионов приводит к снижению чувствительности. Учитывая данное обстоятельство, при создании градуировочной смеси содержание относительных эталонов увеличивалось в следующей последовательности: О,О-диметил-О-бутилфосфат; О,О-диметил-О-этилфосфат; О,О-диметил-О-изопропилфосфат; О,О,О-триметилфосфат; О,О,О-триэтилфосфат. Это позволило предположить, что использование выбранных веществ ряда О,О,О-алкилфосфатов в качестве внешних относительных эталонов сравнения при количественном хромато-масс-спектрометрическом анализе О-изопропилметилфторфосфоната и О-пинаколилметилфторфосфоната приведет к увеличению ошибки анализа в целом менее чем на 15 %.

На основе обобщения полученных результатов исследований были приготовлены градуировочные смеси относительных эталонов сравнения - выбранных веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов, содержание которых и пересчетные коэффициенты для получения градуировочных зависимостей по О-изопропилметилфторфосфонату и О-пинаколилметилфторфосфонату приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Содержание в градуировочной смеси эталонов сравнения веществ ряда О,О,О-триалкилфосфатов и пересчетные коэффициенты для О-изопропилметилфторфосфоната и О-пинаколилметилфторфосфоната

Наименование вещества – эталона сравнения	Содержание эталона сравнения в градуировочном растворе, мг/см ³	Характеристичный ион эталона, m/z	Пересчетный коэффициент для О-изопропилметилфторфосфоната	Пересчетный коэффициент для О-пинаколилметилфторфосфоната
О,О-диметил-О-бутилфосфат	$1,0 \times 10^{-6}$	127,0	1,14	1,05
О,О-диметил-О-этилфосфат	$1,0 \times 10^{-5}$	127,0	1,11	1,02
О,О-диметил-О-изопропилфосфат	$1,0 \times 10^{-4}$	127,0	1,09	1,0
О,О,О-триметилфосфат	$1,0 \times 10^{-3}$	110,0	1,08	0,99
О,О,О-триэтилфосфат	$1,0 \times 10^{-2}$	127,0	0,86	0,79

Экспериментальная оценка характеристик погрешности измерений массовых концентраций О-изопропилметилфторфосфоната и О-пинаколилметилфторфосфоната с использованием предложенного способа проводилась по контрольным пробам, представляющим собой растворы О-алкил алкилфторфосфонатов в техническом хлористом метиле в диапазоне концентраций от 1×10^{-6} до 1×10^{-2} мг/см³. Готовилось по 10 контрольных проб каждой концентрации О-изопропилметилфторфосфоната и О-пинаколилметилфторфосфоната.

Обработка результатов инструментального анализа контрольных проб проводилась с использованием градуировочных зависимостей, полученных по смесям внешних эталонов сравнения и градуировочным растворам самих О-алкил алкилфторфосфонатов (метод абсолютной градуировки). Статистическая оценка данных количественного химического анализа проводилась в соответствии с рекомендациями [6-8].

Анализ результатов статистической оценки данных КХА контрольных проб, приведенных в таблице 5, показывает, что пределы повторяемости (d) и прецизионности

(воспроизводимости) (D) при использовании градуировочных зависимостей, полученных по смесям внешних относительных эталонов сравнения и методом абсолютной градуировки, имеют достаточно близкие значения при измерении концентрации О-изопропилметилфторфосфоната. Отклонение в большую сторону этих показателей при анализе О-пинаколилметилфторфосфоната, в отличие от О-изопропилметилфторфосфоната, связано с тем, что данное вещество, обладая стереоизомерной структурой, хроматографически регистрируется в виде двойного неразделенного пика.

Таблица 5 - Характеристики погрешности и ее составляющих результатов КХА контрольных проб с использованием градуировочных зависимостей, полученных по смесям внешних эталонов сравнения, и методом абсолютной градуировки

Наименование вещества	Содержание, мг/см ³	Предел повторяемости для двух результатов параллельных определений (d), %	Предел прецизионности для двух результатов анализа (D), %	Показатель точности (K), %
с использованием градуировочной зависимости по смеси внешних эталонов сравнения				
О-изопропил-метилфторфосфонат	$1,0 \times 10^{-6} \div 1,0 \times 10^{-2}$	17	13	32
О-пинаколил-метилфторфосфонат	$1,0 \times 10^{-6} \div 1,0 \times 10^{-2}$	19	23	38
с использованием метода абсолютной градуировки				
О-изопропил-метилфторфосфонат	$1,0 \times 10^{-6} \div 1,0 \times 10^{-2}$	16	13	30
О-пинаколил-метилфторфосфонат	$1,0 \times 10^{-6} \div 1,0 \times 10^{-2}$	18	23	35

Показатель точности измерений, в случае использования метода абсолютной градуировки, имеет меньшее значение, чем при использовании смесей внешних эталонов сравнения для количественной оценки, но не превышает 3%. Это подтверждает предположение о том, что использование выбранных веществ ряда О,О,О-алкилфосфатов в качестве внешних относительных эталонов сравнения при количественном хромато-масс-спектрометрическом анализе О-алкил алкилфторфосфонатов приведет к увеличению ошибки анализа в целом менее чем на 10 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. – М.: «Бином». Лаборатория знаний, 2003. – 493 с.
- 2 Виндергауз М.С., Краузе И.М. // Журн. физ. химии. 1993. Т.67. № 4. С. 837-838.
- 3 Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С. Хромато-масс-спектрометрия (методы аналитической химии). - М.: Химия, 1982. – 218 с.
- 4 Киреев А.Ф., Рыбальченко И.В., Суворкин В.Н. и др. // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57. № 6. С. 637-644.
- 5 Киреев А.Ф., Рыбальченко И.В., Суворкин В.Н. и др. // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57. № 8. С. 842-851.
- 6 ГСИ. МИ 2336-95. Характеристики погрешности результатов количественного химического анализа. Алгоритм оценивания. - Екатеринбург: НИИМС, 1995. – 48 с.
- 7 ГСИ МИ 2335-95. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа. - Екатеринбург: НИИМС, 1995. - 48с.
- 8 Организация внутрिलाбораторного оперативного контроля. - Томск: ТПУ, 1997.- 28 с.