

УДК 543.51.061:543.54.45:543.8

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ СЛЕДОВЫХ КОЛИЧЕСТВ КОМПОНЕНТОВ СЛОЖНЫХ СМЕСЕЙ НЕИЗВЕСТНОГО СОСТАВА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Э. Д. Вирус, И. А. Ревельский, И. Н. Глазков, А. А. Мартынов, Д. А. Чепелянский

(кафедра аналитической химии)

Предложен новый подход к идентификации следовых количеств компонентов сложных смесей неизвестного состава, основанный на использовании хромато-масс-спектрометрии в режиме МС–МС с ионизацией электронным ударом низкой энергии (30 эВ), выборе молекулярных ионов в качестве родительских, ранжировании дочерних ионов в соответствии с их относительной интенсивностью в масс-спектрах и библиотечного поиска по ранжированным масс-спектрам. На основании сопоставления данных идентификации компонентов сложных смесей неизвестного состава (экстракт из состава полимера после частичного сжигания) показано, что предложенный подход при идентификации одних и тех же (по времени удерживания) компонентов обеспечивает такую же достоверность идентификации, что и метод хромато-масс-спектрометрии с ионизацией электронным ударом (энергия электронов 70 эВ). Кроме того, этот подход обеспечивает возможность идентификации большего числа компонентов, чем стандартный метод ГХ–МС, благодаря снижению влияния фона и перекрытия масс-спектров, одновременно элюируемых из колонки. При этом показана необходимость в комплексном подходе, включающем в себя несколько способов выделения и концентрирования, к исследованию объектов неизвестного состава.

Сегодня хромато-масс-спектрометрия является признанным методом идентификации следовых количеств среднелетучих и летучих компонентов смесей органических соединений благодаря высокой чувствительности и большой библиотеки эталонных масс-спектров (около 150 тысяч), для сравнения с которыми применяют автоматизированные системы поиска. Однако в случае сложных многокомпонентных смесей, когда наблюдается частичное или полное перекрытие хроматографических пиков компонентов смеси и высокий уровень шума, повышается предел обнаружения идентифицируемых веществ. В таких случаях обнаружение следов органических соединений зависит от степени разделения компонентов и масс-спектров веществ.

В связи с этим возникла необходимость найти подход к обнаружению и идентификации ультрамалых количеств органических веществ в сложных смесях, не зависящий от уровня шума, степени разделения компонентов и масс-спектра вещества.

Сегодня лучшие алгоритмы извлечения «чистых» масс-спектров, основанные на статистической обработке сигнала [1–3], в случае сложных многокомпонентных смесей (из-за сложности учета фона при искажении им интенсивности массовых пиков) не позволяют идентифицировать ультрамалые количества органических веществ.

Было показано [4], что при столкновении родительского иона с молекулами гелия образуются ионы-продукты, связанные со структурой иона-предшественника так же, как в спектрах они связаны со структурой исходной молекулы.

Таким образом, логично проводить предварительную идентификацию, сравнивая МС–МС-спектры с эталонными масс-спектрами, полученными при ионизации

электронным ударом. Осуществляемая таким образом предварительная идентификация должна свести к минимуму количество веществ-кандидатов при сравнении библиотечных и экспериментальных масс-спектров, полученных при ионизации электронным ударом. Тем не менее при исследовании органических смесей неизвестного состава идея использования МС–МС-спектров в качестве «фильтра» при библиотечном поиске масс-спектров, полученных при ионизации электронным ударом, может столкнуться с проблемой неоднозначной идентификации ультрамалых количеств органических веществ. Дело в том, что с уменьшением концентрации идентифицируемых веществ, происходит резкое искажение интенсивности низкоинтенсивных массовых пиков при высоком уровне шума. В этом случае идентификация с применением библиотечного поиска может привести к неоднозначным результатам.

Поэтому для решения данной проблемы нами изучена возможность использования следующего подхода к хромато-масс-спектрометрической идентификации ультрамалых количеств органических веществ в смесях неизвестного состава, который основан на:

- 1) определении молекулярных ионов веществ ионизацией электронами низкой энергии (30 эВ);
- 2) определении фрагментов молекулярных ионов методом тандемной масс-спектрометрии;
- 3) ранжировании фрагментов по интенсивности;
- 4) сравнении ранга экспериментальных и библиотечных фрагментов.

Таким образом, целью настоящей работы является разработка способа идентификации ультрамалых количеств органических веществ в сложных смесях неизвестного состава методами хромато-масс-спектрометрии и тандемной масс-спектрометрии.

### Экспериментальная часть

Исследование примесей и оценку их содержания проводили с использованием хромато-масс-спектрометров «4021» и «GCQ» (*Finnigan*). В качестве смесей модельных веществ были выбраны смеси неизвестного состава, выделенные экстракцией из остатков полимеров после их частичного сжигания. Исследованию состава этих примесей предшествовала пробоподготовка, основанная на выделении примесей из матрицы жидкостной экстракцией в ультразвуковом поле (УЗЭ) и термодесорбцией (ТЭ). В качестве экстрагента использовали дихлорметан. При определении среднелетучих примесей в хромато-масс-спектрометр вводили 1 мл полученного экстракта, упаренного до 200 мл. В случае термодесорбции в испаритель хроматографа помещали 0,03 г остатков полимера и нагревали при 80° в течение 5 мин при скорости потока гелия, равной 100 мл/мин. Термодесорбированные соединения сорбировали в специальном картридже длиной 6 см и внутренним диаметром 3 мм, заполненном кварцевой ватой, тенаксом (2,5 см) и хромосорбом W с 15% неподвижной фазы SE-30 (2,5 см). В случае сорбции термодесорбированных из полимера соединений поток газа-носителя поступал на слой хромосорба W, а затем – на слой тенакса. При термодесорбции из картриджа поток газа-носителя поступал в противоположном направлении – на слой тенакса. При переводе сконцентрированных веществ в хромато-масс-спектрометр патрон, соединенный инжектором иглой, обогревали потоком горячего воздуха, температура которого составляла 260°. Скорость гелия через патрон составляла 100 см<sup>3</sup>/мин. Термодесорбированные вещества фокусировали в начале капиллярной колонки при температуре 40°, а затем ее нагревали в соответствии с температурной программой.

Экстракцию в ультразвуковом поле проводили с помощью ультразвуковой ванны «Bransonic» (*Bender+Hobein*) при температуре не выше 40° в течение 30 мин. Масса пробы, взятой для экстракции, составляла около 1 г. Объем растворителя-экстрагента составлял 10 мл. В этом случае в хромато-масс-спектрометр вводили весь концентрат сорбированных примесей. В качестве внешнего стандарта использовали нафталин, содержание которого в растворе составляло 10<sup>-9</sup> г/мл. Пробу вводили микрошприцем фирмы «Hamilton».

Разделение органических примесей, присутствующих в экстрактах, проводили на капиллярной колонке RTX-5 (30 м×0,25 мм×1,0 мкм). Регистрацию компонентов осуществляли с помощью масс-спектрометров «4021» и «GCQ» в режиме регистрации суммарного ионного тока.

Условия хромато-масс-спектрометрического анализа были следующими: температура испарителя хроматографа 270°; температура линии, соединяющей хроматограф с масс-спектрометром, 270°; температура источника ионов 200°; начальная температура колонки 40° (в течение 4 мин); температурная программа 10 град/мин до 270°; конечная температура колонки 270° (в течение 20 мин); диапазон сканирования 50–500 а.е.м.; энергия электронов составляла от 30 до 70 эВ; время сканирования 1,0 с/скан; включение катода проводили через 4 мин после ввода пробы; объем пробы 1 мл.

МС–МС-эксперименты проводили на приборе «GCQ» в следующих условиях: время изоляции родительских ионов 15 мс; энергия столкновений 1,3 эВ; газ-мишень – гелий; давление в ловушке при столкновениях 60 мторр; режим возбуждения резонансный; скорость сканирования 1 с/скан.

Диапазон сканирования последовательно варьировали в ходе анализа в зависимости от массы молекулярного иона.

### Результаты и их обсуждение

Выбор остатков неизвестного полимера после его неполного сжигания в качестве модели для изучения проблемы хромато-масс-спектрометрической идентификации следов компонентов сложных органических смесей неизвестного состава был обусловлен следующими обстоятельствами:

сложностью и непредсказуемостью состава компонентов смесей;

большим числом компонентов, принадлежащих к различным классам органических соединений и присутствующих в смеси в широком диапазоне концентраций.

Эксперименты по анализу экстракта и термодесорбата проводили при использовании хромато-масс-спектрометрии в режиме ионизации электронным ударом и энергии электронов, равной 70 эВ, на хромато-масс-спектрометре «*Finnigan-4021*». В этом случае идентификацию компонентов проводили на основании автоматического сопоставления экспериментальных масс-спектров с библиотечными при использовании программы «NIST 98». Кроме того, анализ жидкого экстракта проводили с использованием тандемной масс-спектрометрии на хромато-масс-спектрометре модели «GCQ» при энергии электронов, равной 30 эВ. В качестве родительских ионов в МС–МС-экспериментах были выбраны молекулярные ионы, определенные в ходе исследования масс-спектров, полученных при ионизации электронами низкой энергии (30 эВ).

Дочерние ионы и их ранг сравнивали с библиотечными с помощью компьютерной программы «NIST 98». Экспериментальные и библиотечные масс-спектры вещества считали идентичными только в том случае, если все зарегистрированные в тандемной масс-спектрометрии массовые пики имели идентичный с библиотечными ранг. Данные по составу идентифицированных органических веществ приведены в таблице.

Сопоставление соединений, идентифицированных в жидком экстракте при использовании только хромато-масс-спектрометрии с ионизацией электронным ударом при энергии электронов 70 эВ, и хромато-масс-спектрометрии в режиме МС–МС с ионизацией электронным ударом при энергии электронов 30 эВ, а также данных, приведенных в таблице, показывает, что во втором случае были идентифицированы те же самые соединения, что и в первом. Это свидетельствует о том, что предложенный подход позволяет проводить идентификацию одних и тех же компонентов с такой же достоверностью, что и при использовании только хромато-масс-спектрометрии с ионизацией электронным ударом (энергия электронов 70 эВ).

**Идентифицированные соединения и оценка их содержания в экстракте и термодесорбате из образца полимера после частичного сжигания методом хромато-масс-спектрометрии и тандемной масс-спектрометрии\***

Название соединения	ГХМС (70 эВ)		ГХМСМС (30 эВ)
	термодесорбат	экстракт	экстракт
1	2	3	4
Анилин	+	+	+
Фенол	+	+	+
Бензальдегид	+		
Этилбензол	+		
2,4-Диметилпиридин	+	+	+
3-Метилбензоламин	+	+	+
4-Этилпиридин	+		
2-Метилфенол	+	+	+
4-Метилфенол	+	+	+
2-Метокситиазол	+		
(Изоцианометил) бензол	+	+	+
2,3-Дигидро-1Н-индол	+	+	+
2-Этил-5-метилпиридин	+	+	+
2-Гидроксibenзальдегид	+		
3,5-Диметилфенол	+	+	+
2,4-Диметилфенол	+		+
3,4-Диметилфенол			+
3-Этилфенол	+		+
Бензойная кислота	+		+
(Метоксиметил)бензол	+	+	+
Нафталин	+	+	+
Хинокалин	+	+	+
Тетраметилтиомочевина	+	+	+
2,3-Дигидро-1Н-инден-1-он	+		+
1,2,3,4-Тетрагидрохинолин	+	+	+
2-(1-Метилэтил)-бензоламин	+	+	+
1,2,3,5-Тетраметилбензол	+		+
1,4-Бензолдикарбоксальдегид	+		+
N-Этил-3-метилбензоламин	+	+	+
4-(1-Метилэтил)фенол	+	+	+
2-(1-Метилэтил)фенол	+		+
2,3,6-Триметилфенол	+	+	+
1,2-Бензолдиметанол	+		
1-Метилнафталин	+		+
3- Метилхинолин	+	+	+
1,4-Диметил-1Н-индол	+	+	+
1-(3-Пиридинил)-1-бутанол	+	+	+
2,6-Диэтиланилин	+	+	+
m-Трет-бутилфенол	+	+	+
Метилвый эфир 2-метилбензойной кислоты	+		+

Окончание таблицы

1	2	3	4
Бифенил	+		+
2,6-Диметилнафталин	+		+
1,2-Диметилнафталин	+		+
2-Этилнафталин	+		+
2-Метил-1Н-изоиндол-1,3(2Н)-дион	+	+	+
1,2,4-Триэтилциклогексан	+		+
4-Циклопентилфенол	+		+
Флуорен	+	+	+
2-Меркаптобензотиазол	+		+
1,4,5-Триметилнафталин			+
2,3,6-Триметилнафталин		+	+
1,4,6-Триметилнафталин		+	+
1,3,6-Триметилнафталин	+		+
1,6,7-Триметилнафталин	+		+
Антрацен	+		+
N-Этил-2-бензотиазоламин	+	+	+
Фенантрен	+		+
9-Метилфлуорен			+
2-(Метилтио)-бензотиазол	+	+	+
3-Метил-2(3Н)-бензотиазолтион	+	+	+
2-Метил-1-пропил-нафталин	+	+	+
1-Бутилизохинолин			+
4- Метилфенантрен		+	+
2-Метилфенантрен	+	+	+
9-Метилакридин			+
Диметилфталат			+
4-[(Фенилимино)метил]-фенол	+		+
4-(1-Метил-1-фенилэтил)фенол			+
N-Фенил-1,2-нафталинамин	+	+	+
2,6-бис(1,1-Диметилэтил)-2,5-циклогексадиен-1,4-дион	+		+
Бутилированный гидрокситолуол		+	+
Диэтилфталат	+		+
o-Анилинофениловый эфир тиоциановой кислоты	+	+	+
3-(1,1-Диметилэтокси)-1,1'бифенил	+		+
N-(1-Метилэтил)-N'-фенил-1,4-диаминобензол	+	+	+
Трифенилен	+	+	+
2[1-(4-Гидроксифенил)-1-метилэтил]-фенол	+		+
Бензо[А]акридин	+	+	+
2-(1,1-Диметилэтил)антрацен	+		+
2,6-бис(1,1-Диметилэтил)-4-этилфенол			+
2,6-бис(1,1-Диметилэтил)-нафталин			+
2-Метилбензо[с]фенантрен	+	+	+
5-Метилбенз(с)акридин	+	+	+
2-Этил-3-фенилхиноксалин-1-оксид		+	+
1,3-Дифенилизобензофуран			+
2,2'-Дитиобисбензотиазол	+	+	+

\* Оценка содержания идентифицированных примесей в случае термодесорбата составляла от 0,0003 до 3,1 мг/кг, в случае жидкостного экстракта и при использовании стандартного метода ГХ-МС – от 0,008 до 1,6 мг/кг, а при использовании предлагаемого метода – от 0,0007 до 1,6 мг/кг.

Необходимо отметить, что при использовании предлагаемого подхода в экстракте был идентифицирован ряд соединений, не идентифицированных при использовании только одной хромато-масс-спектрометрии с ионизацией электронным ударом при энергии электронов 70 эВ. Как видно из таблицы, эти соединения были идентифицированы в составе смеси веществ, термодесорбированных из остатков полимера при использовании хромато-масс-спектрометрии с ионизацией электронным ударом (энергия электронов 70 эВ), что свидетельствует о достоверности их идентификации.

Полученные данные по идентификации примесей в экстракте свидетельствуют о том, что предлагаемый подход позволяет с большей достоверностью идентифицировать

примеси следовых количеств компонентов при высоком уровне фона и одновременном элюировании компонентов из колонки. Большое число примесей, идентифицированных в случае термодесорбции, связано с анализом всего концентрата примесей, а не малой его части, как в случае жидкостной экстракции.

Как видно из данных, приведенных в таблице, общее число идентифицированных соединений несколько превосходит соответствующее число, полученное при использовании только одного метода извлечения примесей из матрицы. Это свидетельствует о необходимости использования комплексного подхода к исследованию объектов неизвестного состава, включающего несколько методов извлечения и концентрирования примесей.

#### СПИСОК ЛИТЕАТУРЫ

1. *Herron N.R., Donnelly J.R., Sovocool G.W.* // J. Amer. Soc. Mas. Spectrom. 1996. № 7. P. 598.
2. *Sun X.Y., Singh H., Millier B., Warren C.H., Aue W.A.* // J. Chromatogr. A. 1994. **687**. P. 259.
3. *Lee T.A., Headley L.M., Hardy J.K.* // Anal. Chem. 1991. **63**. P. 357.
4. *Mclafferty F.W.* // J. Am. Soc. Mas. Spectr. 1990. **1**. P. 1.

Поступила в редакцию 02.10.01