

УДК 543.51

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕТИЛ-ТРЕТ-БУТИЛОВОГО ЭФИРА В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Т.С. Уланова, Т.В. Нурисламова

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Россия, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

Рассматривается применение хромато-масс-спектрометрии для достоверной идентификации и изучения фрагментации ионизированных молекул метил-трет-бутилового эфира в крови человека. На основании регистрации масс-спектра ионов метил-трет-бутилового эфира определена структура, молекулярная масса, элементный состав молекулы метил-трет-бутилового эфира. Установлены характеристические ионы (основной и подтверждающие ионы) и определено хроматографическое время удерживания. В процессе выполнения идентификации метил-трет-бутилового эфира в образце крови на масс-спектрограмме установлен пик, который является результатом взаимного наложения нескольких индивидуальных соединений-изомеров с совпадающими временами удерживания: 2-метилпентан, метилтретбутиловый эфир и 3-метил-пентан. Для оптимального разделения идентифицированных изомеров в процессе исследований обосновано использование двух последовательно соединенных капиллярных колонок различной полярности.

Ключевые слова: метил-трет-бутиловый эфир, хромато-масс-спектрометрический метод, характеристические ионы, масс-спектр, масс-селективный детектор.

Для достоверной идентификации в работах по оценке риска неблагоприятного воздействия среды обитания на здоровье населения используются результаты исследования биологических сред населения, выполняемые в рамках систематического биомониторинга. Высокие требования к качеству выполняемых исследований создают необходимость подтверждения и надежной идентификации определяемых в биосредах контаминантов [3, 7]. В условиях комплексной, многокомпонентной нагрузки среды обитания, формируемой выбросами предприятий химической, нефтеперерабатывающей промышленности, автотранспорта и т.д., при реализации биомониторинга проблема надежной и достоверной идентификации определяемых химических соединений на фоне макроколичеств биологического материала сложного состава матрицы биологической среды имеет особую актуальность. Для достоверной иден-

тификации в современных аналитических физико-химических исследованиях используют метод хромато-масс-спектрометрии (ХМС) [6]. В практических исследованиях методом ХМС идентификация отдельных контаминантов биосред может проводиться с помощью компьютерного библиотечного поиска. Возможности идентификации при этом определяются в первую очередь используемым алгоритмом поиска и качеством и размером библиотек, которые, как правило, насчитывают несколько десятков тысяч масс-спектров [6]. В реальных условиях задача осложняется тем, что в результате матричного влияния биосред, мешающего влияния сопутствующих компонентов, факторов нестабильности колонного фона результаты масс-спектров искажаются и их надежная интерпретация представляется затруднительной [6].

Цель работы – разработать ХМС-идентификацию определения метил-трет-

© Уланова Т.С., Нурисламова Т.В., 2014

Уланова Татьяна Сергеевна – доктор биологических наук, заведующая отделом химико-аналитических исследований (e-mail: ulanova@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 233-10-37).

Нурисламова Татьяна Валентиновна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией газовой хроматографии (e-mail: Nurislamova@fcrisk.ru; тел.: 8-(342)-233-10-37).

бутилового эфира (МТБЭ) в крови методом библиотечного поиска и сравнения по стандартному соединению.

Материалы и методы. Исследования выполнялись специалистами химико-аналитического отдела ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». Объектами исследований являлись биологическая среда (кровь), стандартные растворы метил-трет-бутилового эфира, масс-хроматограммы, масс-спектры метил-трет-бутилового эфира.

Идентификация выполнена при использовании системы «газовая хроматография – масс-спектрометрия» (ГХ-МС). Хроматографическое разделение проводили на газовом хроматографе Agilent 7890А с использованием масс-селективного детектора 5975С и капиллярной колонки HP-5MS 30 m·0,250 mm·0,25 μ m. Ионизацию газовых молекул МТБЭ осуществляли методом электронного удара [2]. Поиск характеристических ионов метил-трет-бутилового эфира выполняли с помощью банка библиотеки масс-спектральных данных NIST 08.L.

Результаты и их обсуждение. Идентификацию осуществляли сравнением масс-спектра анализируемого соединения с масс-спектром стандартного образца МТБЭ с помощью соответствующих баз данных и компьютерного библиотечного поиска NIST.08L. Результаты идентификации стандартного образца МТБЭ по масс-

спектрам позволили установить: химический состав; основные и подтверждающие ионы МТБЭ; время удерживания МТБЭ; химическую структуру МТБЭ. Хроматограмма по полному ионному току стандартного образца МТБЭ представлена на рис. 1.

Оценка подобия справочной и исследуемой спектрограмм показала идентичность масс-спектра стандарта МТБЭ (верхняя часть рис. 2) и его библиотечного спектра (нижняя часть рис. 2).

Для изучаемого компонента определяли интегральные молекулярные признаки, к которым относятся молекулярная масса, суммарный элементный состав, химическая структурная формула и масс-спектры.

Для определения молекулярной массы и элементного состава исследуемого соединения методом масс-спектрометрии устанавливали пик молекулярного иона и измеряли отношение массы к заряду. По результатам библиотечного поиска установлен элементный состав метил-трет-бутилового эфира (2-метил-2-метоксипропан), отвечающий формуле $C_5H_{12}O$.

Сравнение масс-спектров стандартного образца МТБЭ со спектрами, заложенными в банк библиотеки масс-спектральных данных NIST 08.L позволило установить его характеристические ионы (основной и подтверждающий). Основной (максимальный) пик в масс-спектре отвечает характеристическому иону с массой m/z 73,0, масса подтверждающих ионов равна m/z 57, 41.

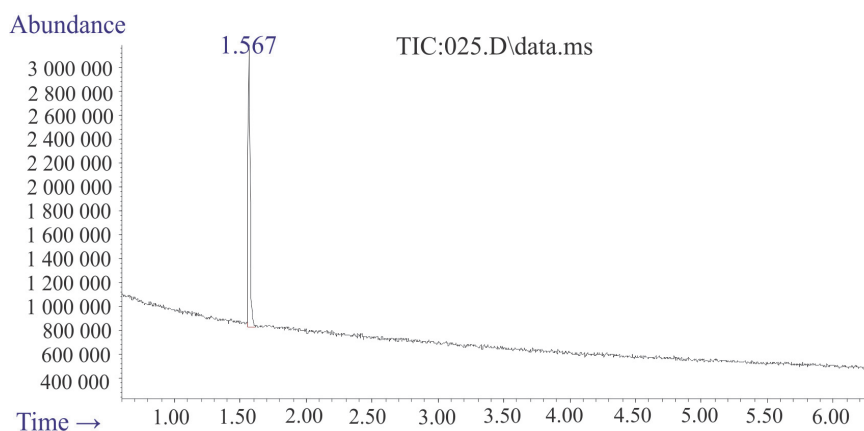


Рис. 1. Хроматограмма по полному ионному току стандартного образца МТБЭ (время удерживания 1,57 мин)

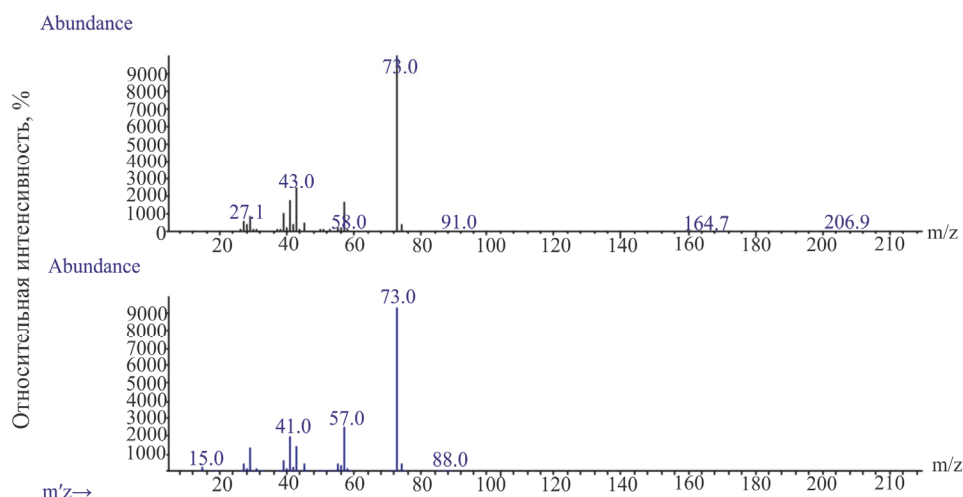


Рис. 2. Масс-спектрограмма сравнения масс-спектра стандарта МТБЭ с библиотечным спектром по характеристическим ионам (m/z 73, 57, 41)

Результаты вероятностного поиска по показателю качества совпадения при исследовании стандартных образцов МТБЭ позволили заключить, что его масс-спектры совпали с библиотечными масс-спектрами со значением коэффициента подобия более 90 % при совпадении времени удерживания.

Идентификация МТБЭ в образце крови. В процессе исследований из биологической матрицы (кровь) выделяли метил-трет-бутиловый эфир методом создания равновесной паровой фазы в замкнутом

объеме и выполняли газохроматографический анализ [1]. При анализе равновесной паровой фазы МТБЭ с помощью ГХ-МС образец вводили в капиллярную колонку длиной 30 м газового хроматографа Agilent 7890А с масс-селективным детектором 5975С. Для получения воспроизводимости масс-спектров ионизацию молекул МТБЭ проводили в газовой фазе методом электронного удара [4]. Фрагмент хроматограммы по полному ионному току образца крови представлен на рис. 4.

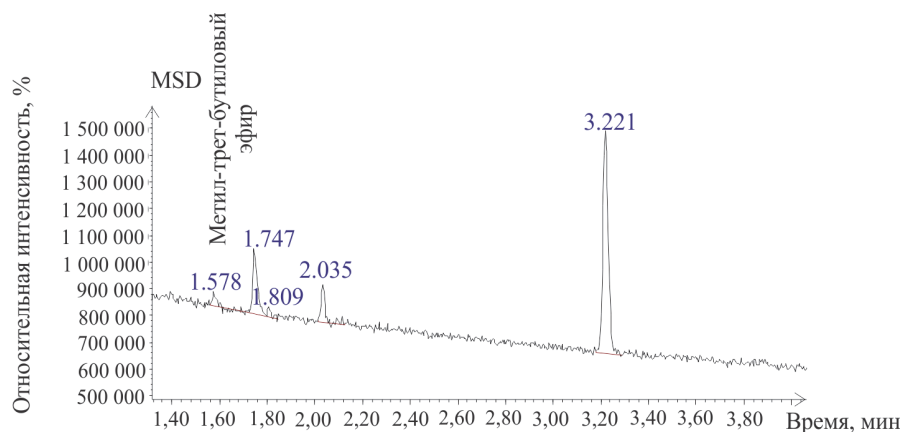


Рис. 3. Фрагмент хроматограммы образца крови, содержащей МТБЭ (время удерживания 1,57 мин), по полному ионному току

Масс-хроматограмму строили по полному ионному току и по характеристическим ионам МТБЭ (m/z 73,1; 57; 41). Применение капиллярной газожидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектро-

метром (ГХ-МС) позволило провести регистрацию хроматограммы образца крови, которая затем была реконструирована по характеристическим ионам. Сканирование исследуемого образца крови по всему диа-

пазону масс позволило идентифицировать 10 масс-спектров органических соединений: пропан, 2-метокси-2-метил (метил-трет-бутиловый эфир), бензол, толуол, 1,3,5-цикло-гептарин, бензальдегид, фенол 2-метил, бензиловый спирт, бутил 2-метил-пропиловый эфир, 1,2-бензолдикарбоксилициловой кислоты, дибутилфталат, бутил 4-хлор-фениловый эфир фталевой кислоты с вероятностью совпадения 78–94 %.

На следующем этапе исследований выполняли индивидуальную идентификацию МТБЭ по параметрам удерживания (определено по градуировочным раство-

рам) и путем сравнения характеристических ионов масс-спектров с библиотечными спектрами. Для построения масс-хроматограммы использовали интенсивности пиков нескольких ионов из записанного масс-спектра и строили график. Реконструированная масс-хроматограмма по характеристическим ионам МТБЭ представлена на рис. 5. Согласно данным по времени удерживания МТБЭ максимумы на масс-хроматограммах для всех характеристических ионов (m/z 73, 57 и 41) в спектре интенсивных пиков соответствуют этому соединению, подтверждая присутствие МТБЭ в крови.

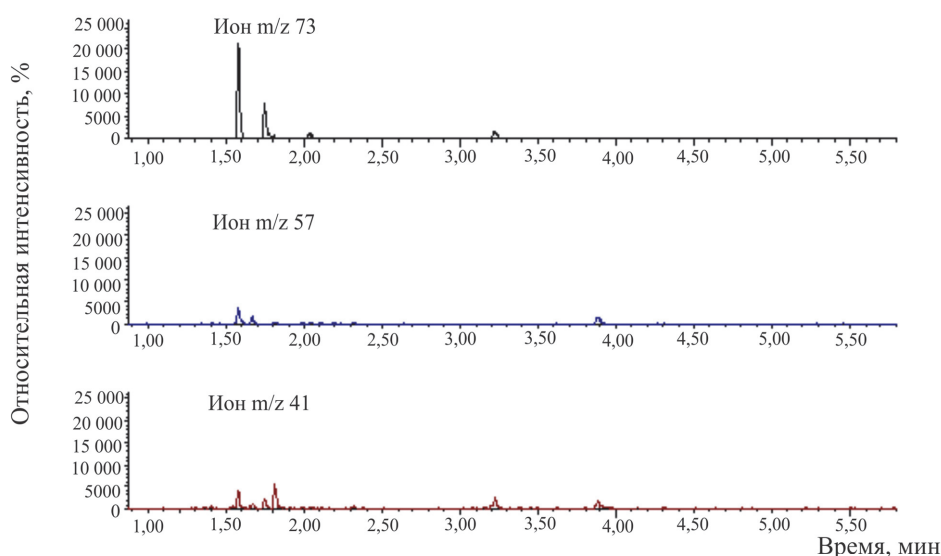


Рис. 4. Масс-хроматограмма, соответствующая хроматографическому пику МТБЭ (характеристические ионы m/z 73, 57 и 41, время удерживания 1,57 мин)

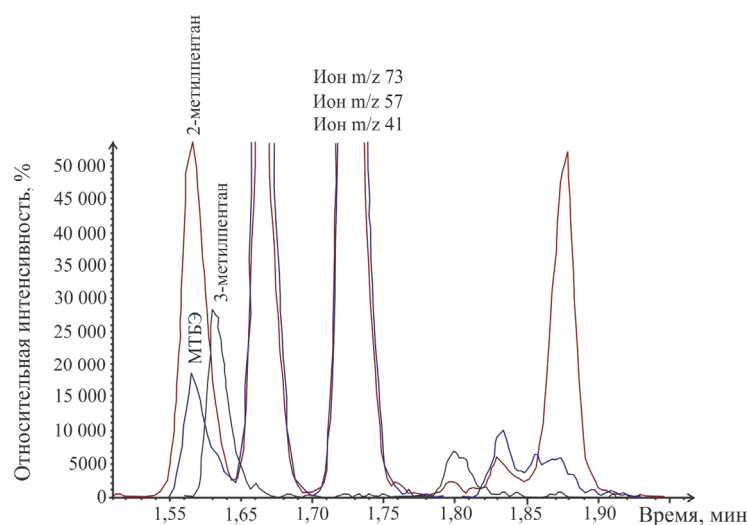


Рис. 5. Масс-хроматограмма образца крови, содержащей органические соединения: 2-метилпентан, метил-трет-бутиловый эфир и 3-метил-пентан

Наличие на масс-хроматограмме пика с точно заданной массой m/z 73 и временем удерживания 1,57 мин для изучаемого соединения являются весомым доказательством его присутствия в образце крови.

В процессе идентификации на масс-хроматограмме (рис. 6) было установлено наложение пиков ионов, соответствующих органическим соединениям: 2-метилпентан, метил-трет-бутиловый эфир и 3-метилпентан.

Наличие на масс-хроматограмме (рис. 6) неразделенных пиков является одной из проблем, возникающих при проведении идентификации и количественного анализа реальных образцов крови [5]. Вопрос о чистоте пика и установлении его однородности представляется особенно актуальным при определении низких содержаний органических соединений в образцах сложного состава, поскольку наложение пиков определяемого аналита и других соединений детектируется как единичный компонент и это приводит к неверным результатам ана-

лиза. Исследуя временную зависимость интенсивности тока по отдельным ионам в пределах анализируемого искаженного пика, установили, что времена, соответствующие максимумам ионного тока ионов 2-метилпентан (время удерживания 1,567 мин), метил-трет-бутиловый эфир (время удерживания 1,575 мин) и 3-метилпентан (время удерживания 1,615 мин) не совпадают. Это является подтверждением того, что обсуждаемый пик образован более чем одним компонентом.

Поскольку времена удерживания трех компонентов, образующих пик, не совпадают, масс-спектры в передней (1,567 мин), средней (1,575) и задней (1,615) частях пика дают чистые масс-спектры каждого из компонентов – 2-метилпентана, метил-трет-бутилового эфира и 3-метилпентана.

Расшифровку масс-спектра метил-трет-бутилового эфира образца крови выполняли по параметрам удерживания и путем сравнения характеристических ионов масс-спектров с библиотечными спектрами (рис. 7).

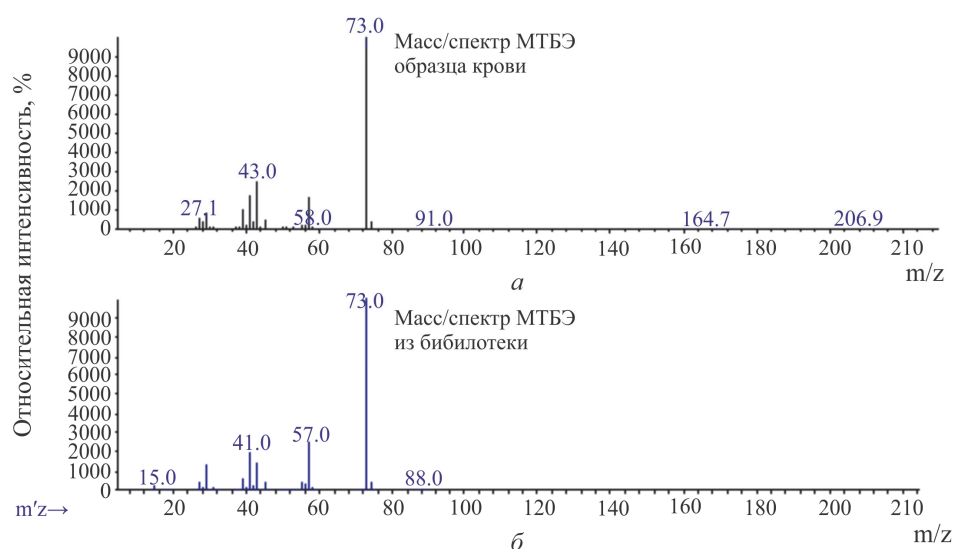


Рис. 6. Масс-спектр МТБЭ (а) и его сравнение с библиотечным масс-спектром (б) по характеристическим ионам (m/z основной 73, подтверждающие m/z 57, 41)

Анализ справочной и исследуемой спектрограмм показывает идентичность масс-спектра компонента метил-трет-бутилового эфира образца крови (верхняя часть рис. 7) и его библиотечного спектра (нижняя часть рис. 7).

На масс-хроматограмме (см. рис. 6) анализируемого образца крови пик со временем удерживания в диапазоне 1,567–1,615 мин является результатом взаимного наложения нескольких индивидуальных пиков соединений-изомеров с совпадающими времена-

ми удерживания, поэтому для разделения изомеров предельных углеводородов (2-метилпентан, 3-метилпентан) и метил-трет-бутилового эфира необходимо подобрать новые условия хроматографического разделения. Для этого в процессе исследований обосновано применение последовательно соединенных неполярной колонки с рабочей жидкой фазой на основе полиметилсилоксана DB-624 60 м×0,32 мм×1,8 μm и полярной на основе полиэтиленгликоля с высоким разрешением и низким пределом детектирования HP-1 30 м×0,32 мм×0,25 μm. При этих условиях на хроматограмме отсутствует пик, соответствующий изомерам 2-ме-

тил пентан и 3-метил пентан, и время удерживания метил-трет-бутилового эфира составляет 11,3 мин. Применение различных колонок дает возможность по изменению индексов удерживания одних и тех же веществ в анализе определиться с точной идентификацией соединений, присутствующих в анализируемом биологическом образце.

Выполненные исследования использованы при разработке метода определения метил-трет-бутилового эфира в крови для оценки воздействия этого соединения на здоровье населения, оценки рисков и проведения исследований в рамках социально-гигиенического мониторинга.

Список литературы

1. Виттенберг А.Г. Парофазный газохроматографический анализ // Памяти Б.В.Иоффе. – СПб., НИИ Химии СПбГУ, 1998. – С. 7–69.
2. Вульфсон Н.С., Заикин В.Г., Микая А.И. Масс-спектрометрия органических соединений. – М.: Химия, 1986. – 312 с.
3. Зайцева Н.В., Май И.В., Клейн С.В. К вопросу установления и доказательства вреда здоровью населения при выявлении неприемлемого риска, обусловленного факторами среды обитания // Анализ риска здоровью. – 2013. – № 2. – С. 14–25.
4. Клюев Н.А., Бродский Е.С. Современные методы масс-спектрометрического анализа органических соединений // Российский химический журнал (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI, № 4. – С. 57–63.
5. Количественная газовая хроматография с жидкокристаллическим сорбентом под действием электрического поля / Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, А.И. Жосан, Е.В. Дмитриева, С.В. Александрова // Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. – 2009. – № 6 (72). – С. 149–158.
6. Малышева А.Г., Рахманин Ю.А. Физико-химические исследования и методы контроля веществ в гигиене окружающей среды. – СПб.: НПО «Профессионал», 2012. – 720 с.
7. Онищенко Г.Г. Актуальные проблемы методологии оценки риска и ее роль в совершенствовании системы социально-гигиенического мониторинга // Гигиена и санитария. – 2006. – № 5. – С. 3–7.

References

1. Vittenberg A.G. Parofaznyj gazohromatograficheskij analiz [Head space gas-chromatographic analysis]. *V sb. «Pamjati B.V.Ioffe»*, St. Petersburg: NII Himii SPbGU, 1998, pp. 7–69.
2. Vul'fson N.S., Zaikin V.G., Mikaja A.I. Mass-spektrometrija organicheskikh soedinenij [Mass spectrometry of organic compounds]. Moscow: Himija. 1986, 312 p.
3. Zajceva N.V., Maj I.V., Klejn S.V. K voprosu ustanovlenija i dokazatel'stva vreda zdorov'ju naselenija pri vyjavenii nepriemlegogo riska, obuslovlennogo faktorami sredy obitanija [On the issue of establishing and evidence of harm to public health in identifying unacceptable risk due to environmental factors]. *Analiz riska zdorov'ju*, 2013, no. 2, pp. 14–25.
4. Kljuev N.A., Brodskij E.S. Sovremennye metody mass-spektrometricheskogo analiza organicheskikh soedinenij. Rossijskij Himicheskij Zhurnal [Modern methods of mass spectrometry analysis of organic compounds]. *Zhurnal Rossijskogo Himicheskogo Obshhestva im. D.I. Mendeleeva*, 2002, vol. XLVI, no. 4, pp. 57–63.
5. Onuchak L.A., Arutjunov Ju.I., Zhosan A.I., Dmitrieva E.V., Aleksandrova S.V. Kolichestvennaja gazovaja hromatografija s zhidkokristallicheskimi sorbentami pod dejstviem jelektricheskogo polja [Quantitative gas chromatography with a liquid crystal sorbent under the influence of an electric field]. *Vestnik SamGU–Estestvennonauchnaja serija*, 2009, no. 6 (72). pp. 149–158.
6. Malysheva A.G., Rahmanin Ju.A. Fiziko-himicheskie issledovanija i metody kontrolja veshhestv v gigiene okruzhajushhej sredy [Physical and chemical studies and methods of control of substances in environmental hygiene]. SPb.: NPO «Professional», 2012. 720 p.

7. Onishhenko G.G. Aktual'nye problemy metodologii ocenki riska i ee rol' v sovershenstvovanii sistemy social'no-gigienicheskogo monitoringa [Actual problems of risk assessment methodology and its role in improving public health monitoring]. *Gigiena i sanitariya*, 2006, no. 5, pp. 3–7.

IDENTIFICATION OF METHYL TERT-BUTYL ETHER IN HUMAN BLOOD WITH CHROMATOGRAPHY-MASS-SPECTROMETRIC METHOD

T.S. Ulanova, T.V. Nurislamova

Federal Budget Scientific Institution "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies", Russian Federation, Perm, 82 Monastyrskaya st., 614045

This article details the applying of GC-MS for accurate identification and study the fragmentation of ionized molecules of methyl tert-butyl ether in human blood. Basing on the reception of mass spectrum of ions of methyl tert-butyl ether the structure, molecular weight, elemental composition of a molecule of methyl tert-butyl ether are defined. The characteristic ions (primary and confirming ions) of methyl tert-butyl ether are detected and the chromatographic retention time is determined.

In the process of performing of identification of methyl tert-butyl ether in a blood sample on the mass spectrogram the peak is set which is the result of overlap of several individual peaks of the compounds-isomers with the identical retention times: 2- methylpentane, methyl tert-butyl ether and 3-methyl pentane. To eliminate low resolution in the studies two consecutive capillary columns were used.

Key words: methyl tert-butyl ether, chromatographic-mass-spectrometric method, characteristic ions, mass-spectrum, mass-selective detector.

© Ulanova T.S., Nurislamova T.V., 2014

Ulanova Tatyana Sergeevna – DSc, Head of Analytical Chemistry Department (e-mail: ula-nova@fcrisk.ru; тел.: 8-(342)-233-10-37).

Nurislamova Tatyana Valentinovna – DSc, Head of Gas Chromatography Laboratory (e-mail: Nuris-lamova@fcrisk.ru; тел.: 8-(342)-236-32-64).