

**Использование хромато-масс-  
спектрометрических исследований для  
достоверной идентификации химических  
соединений в биологических средах (кровь)  
в условиях многокомпонентной экспозиции  
на примере метил-трет-бутилового эфира  
для работ по оценке рисков**

**Заведующий отделом химико-аналитических методов исследования,  
доктор биологических наук Уланова Татьяна Сергеевна**

**Заведующий лабораторией методов газовой хроматографии, доктор  
биологических наук  
Нурисламова Татьяна Валентиновна**

# Краткое описание метода хромато-масс-спектрометрии

- Метод хромато-масс-спектрометрии (ХМС, ГХ-МС) основан на сочетании двух аналитических методов: **капиллярной газовой хроматографии** - метода наиболее селективного по возможности разделения веществ и метода **масс-спектрометрии** – метода наиболее селективного и чувствительного по детектированию и структурной идентификации компонентов.
- В мировой практике этот метод является **арбитражным** (подтверждающим) **при идентификации** следовых количеств определяемых веществ.
- Идентификация вещества в методе ГХ-МС проводится по двум аналитическим параметрам **времени удерживания и масс-спектру** (в газовой хроматографии только по времени удерживания).
- В отличие от других гибридных методов на основе хроматографии, этот метод получил наибольшее распространение в мире в качестве метода массового рутинного анализа.

# Хромато-масс-спектрометр Agilent Technologies 7890A (ГХ/МС (ЭИ)) с масс-селективным детектором MSD 5975C



Идентификация выполнена при использовании системы газовая хроматография – масс-спектрометрия (ГХ-МС). Хроматографическое разделение проводили **на газовом хроматографе Agilent 7890A с использованием масс-селективного детектора 5975C и применением капиллярной колонки HP-5MS 30 m•0,250mm•0,25µm**. Поиск характеристических ионов метил-трет-бутилового эфира выполняли с помощью банка библиотеки масс-спектральных данных **NIST 08.L(Национальный институт стандартов США)**.

# Актуальность исследований

- Метил-третбутиловый эфир (МТБЭ) используется как компонент автомобильных бензинов и служит в качестве кислородосодержащего, высокооктанового компонента при получении неэтилированных, экологически чистых бензинов;
- Исследованиями установлено, что при хроническом воздействии
- **метил-трет-бутиловый эфир** вызывает такие заболевания, как астма, головная боль, оказывает слабое токсическое действие, угнетающее центральную нервную систему, обусловленное наркотическим эффектом;
- **ведущей системой-мишенью при хроническом воздействии в условиях производства МТБЭ является репродуктивная система мужчин**

Особую актуальность в условиях комплексной, многокомпонентной нагрузки среды обитания, формируемой выбросами предприятий химической, нефтеперерабатывающей промышленности, автотранспорта при реализации биомониторинга приобретает надежная и достоверная идентификация химических соединений

**В качестве обязательных элементов современного химико-аналитического контроля являются высокоинформативные многоцелевые методы химического анализа, такие как, хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС)**

**Цель работы:** ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕИЗВЕСТНЫХ  
ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ (на фоне сложного состава  
матрицы биологической среды), ОСНОВАННАЯ НА  
ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ/МАСС-  
СПЕКТРОМЕТРИИ С ЭЛЕКТРОННОЙ ИОНИЗАЦИЕЙ (на примере  
**высокооктанового компонента МТБЭ и  
сопутствующих соединений в крови**)

Алгоритм идентификации включал следующие этапы:

1. Полное сканирование образца крови.
2. Установление химического состава, структуры, характеристических ионов и масс-спектров МТБЭ по стандартному образцу.
3. Идентификация масс-спектра МТБЭ стандартного образца и его сопоставление с масс-спектрами методом библиотечного поиска.
4. Расшифровка экспериментальных масс-спектров МТБЭ в образце крови и их сопоставление с масс-спектрами стандартного образца.

# Идентификация химических соединений образца крови

Полное сканирование образца крови по всему диапазону масс.

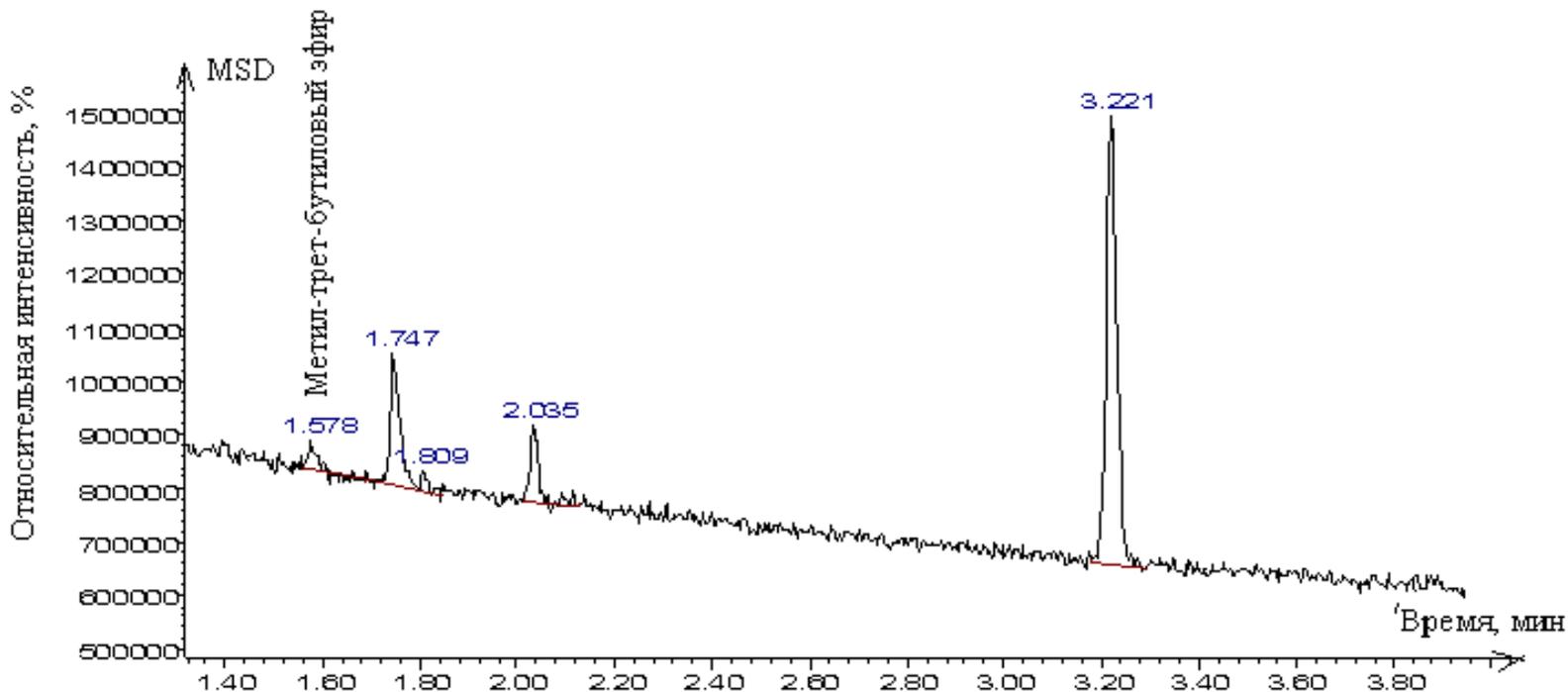


Рис. 1. Фрагмент хромато-масс-спектрограммы образца крови, содержащей МТБЭ (время удерживания 1,57 мин)

# Идентификация химических соединений образца крови

Сканирование исследуемого образца крови по всему диапазону масс позволило идентифицировать 10 масс-спектров органических соединений.

Ингредиент	Результат идентификации Вероятность совпадения, %
<b>1. Пропан, 2-метокси-2-метил (метил-трет-бутиловый эфир)</b>	<b>94</b>
2. Бензол	91
3. Тoluол	91
4. 1,3,5-циклогептарин	91
5. Бензальдегид	91
6. Фенол 2-метил	86
7. Бензиловый спирт	87
8. Бутил 2-метил-пропиловый эфир, 1,2-бензолдикарбоксициклопропановой кислоты	80
9. Дибутилфталат	93
10. Бутил 4-хлорфениловый эфир фталевой кислоты	80

# Индивидуальная идентификация МТБЭ образца крови

В режиме полного сканирования образца крови было установлено, что на масс-хроматограмме пик со временем удерживания в диапазоне 1,55-1,65 мин, является результатом взаимного наложения нескольких соединений-изомеров с совпадающими временами удерживания: **2-метилпентан** (время удерживания 1,567 мин), **МТБЭ** (время удерживания 1,575 мин) и **3-метилпентан** (время удерживания 1,615 мин).

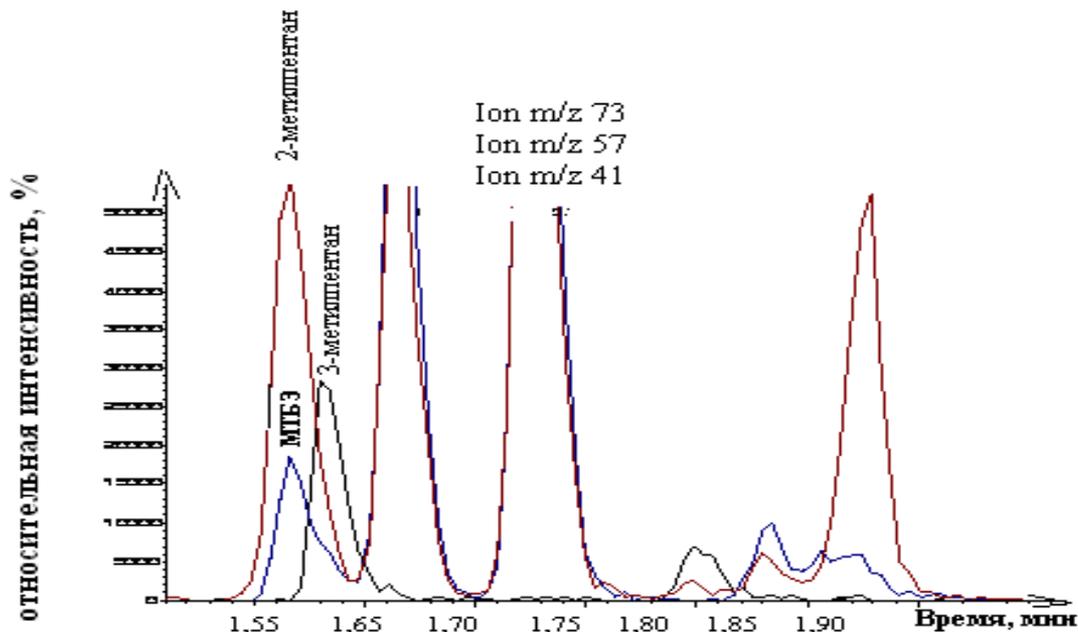


Рис. 2 Масс-хроматограмма образца крови, содержащей органические соединения: **2-метилпентан, метил-трет-бутиловый эфир и 3-метилпентан**

# Индивидуальная идентификация МТБЭ образца крови

Для улучшения и устранения недостаточного разрешения в исследованиях использовали специальные колонки, которые позволили разделить изомеры и **метил-трет-бутиловый эфир в образце крови.**

Применяли две последовательные капиллярные ГХ колонки: **неполярную** с рабочей жидкой фазой на основе полиметилсилоксана **DB-624 60м×0,32мм×1,8μm** и **полярную** на основе полиэтиленгликоля с высоким разрешением и низким пределом детектирования **HP-1 30м×0,32мм×0,25μm**.

В этих условиях достигнуто **оптимальное разделение изомеров** 2-метил пентана, 3-метил пентана и метил-трет-бутилового эфира.

Время удерживания метил-трет-бутилового эфира в этих условиях составляет 11,3 мин.

# Индивидуальная идентификация МТБЭ образца крови

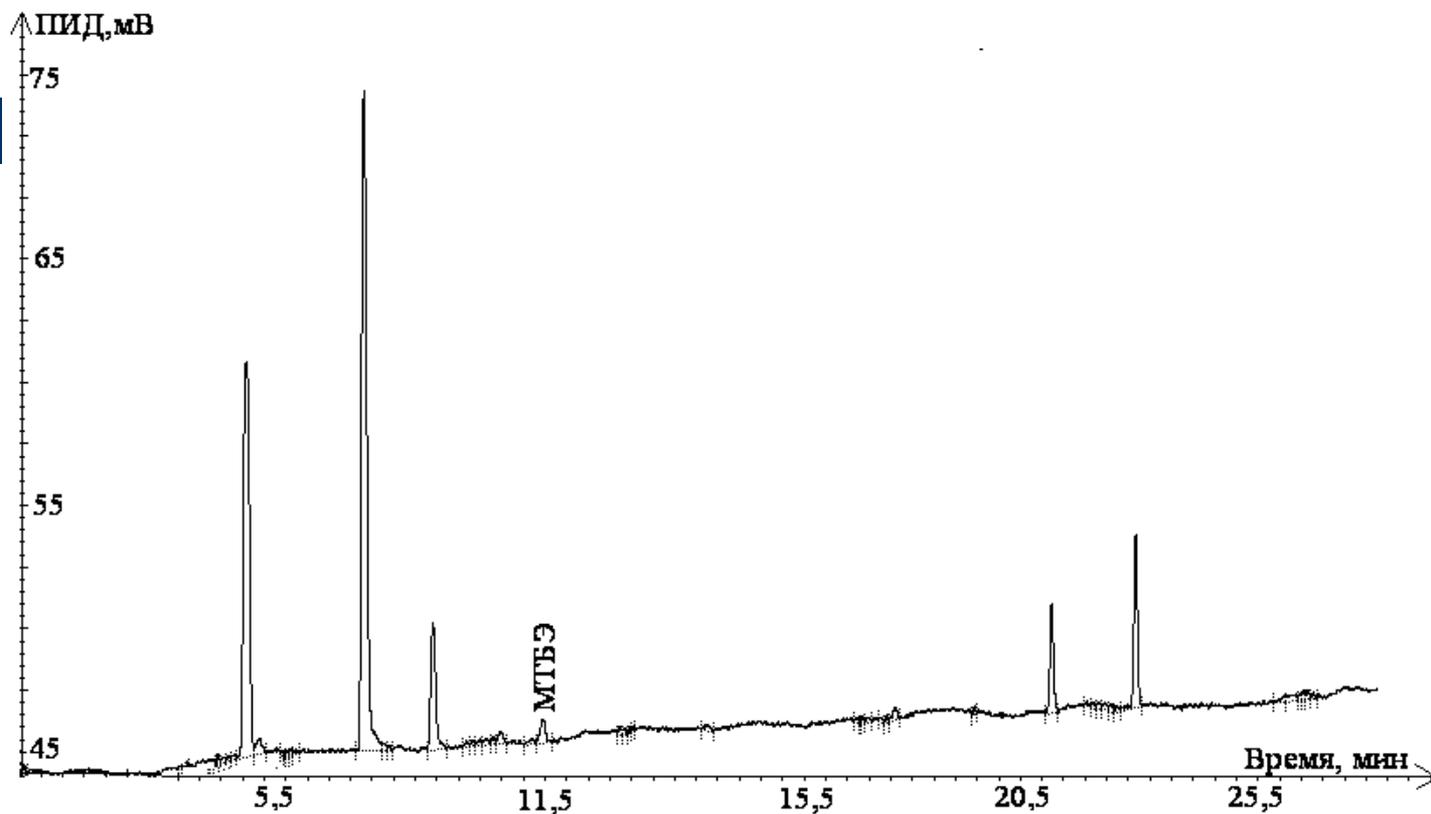


Рис. 3. Хроматограмма образца крови, содержащей МТБЭ и другие органические соединения при оптимизированных хроматографических параметрах (составная колонка с неполярной жидкой фазой DB-624 60м×0,32мм×1,8μм и полярной жидкой фазой HP-1 30м×0,32мм×0,25μм)

# Идентификация стандартного образца МТБЭ

Результаты идентификации стандартного образца МТБЭ позволили установить:

- **химический состав** метил-трет-бутилового эфира (2-метил-2-метоксипропан) отвечает формуле  $C_5H_{12}O$ ;
- **химическую структурную формулу** МТБЭ:  $CH_3-O-C(CH_3)_3$

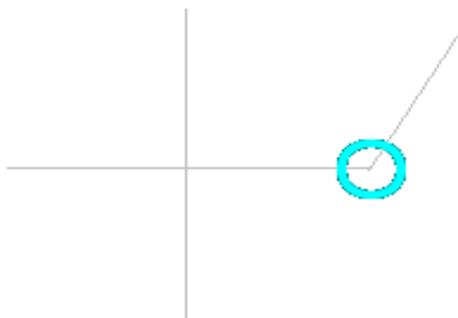


Рис. 3. Химическая структурная формула МТБЭ

- основные и подтверждающие ионы МТБЭ:  $m/z$  73, 57, 41
- масс-спектры

# Идентификация стандартного образца МТВЭ

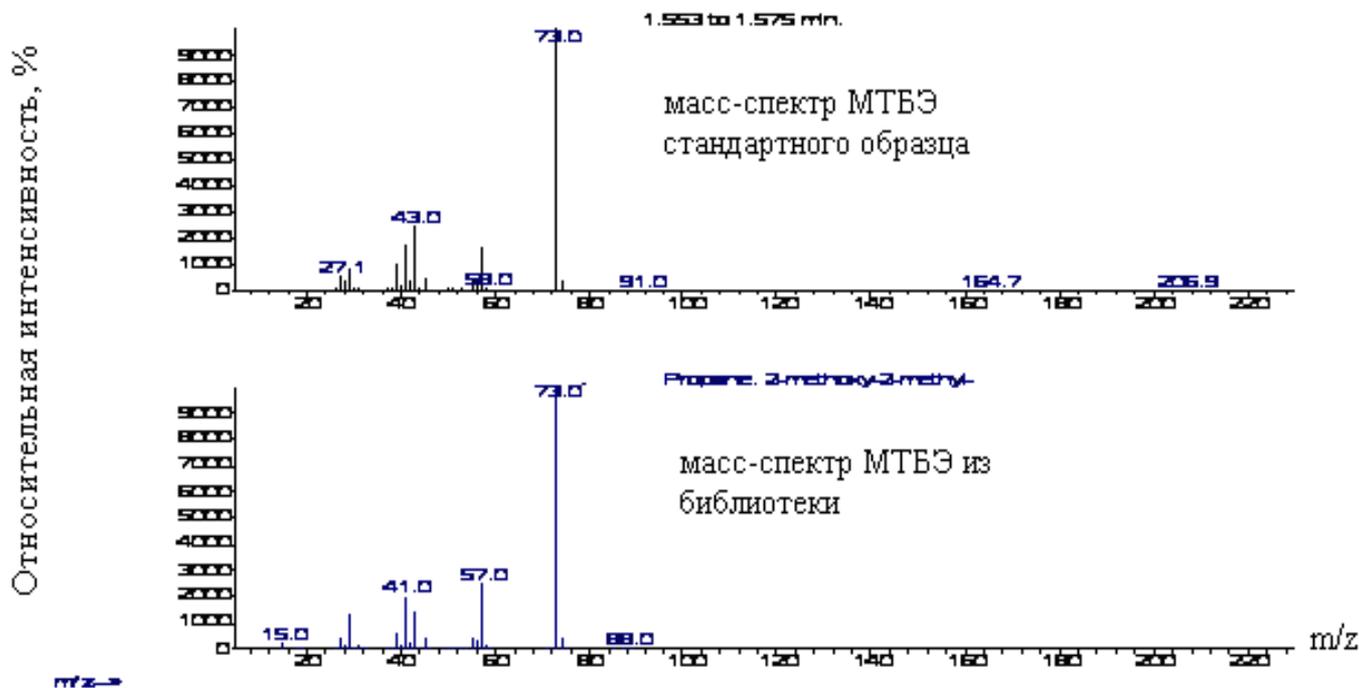


Рис.4 Масс-хроматограммы сопоставления **масс-спектра стандартного образца МТВЭ** с его библиотечным спектром по характеристическим ионам (**m/z 73, 57, 41**)

# Индивидуальная идентификация МТБЭ образца крови

Наличие на масс-хроматограмме пика с точно заданной массой (73) и временем удерживания (11,3 мин) для изучаемого соединения (МТБЭ) являются весомым доказательством его присутствия в образце крови

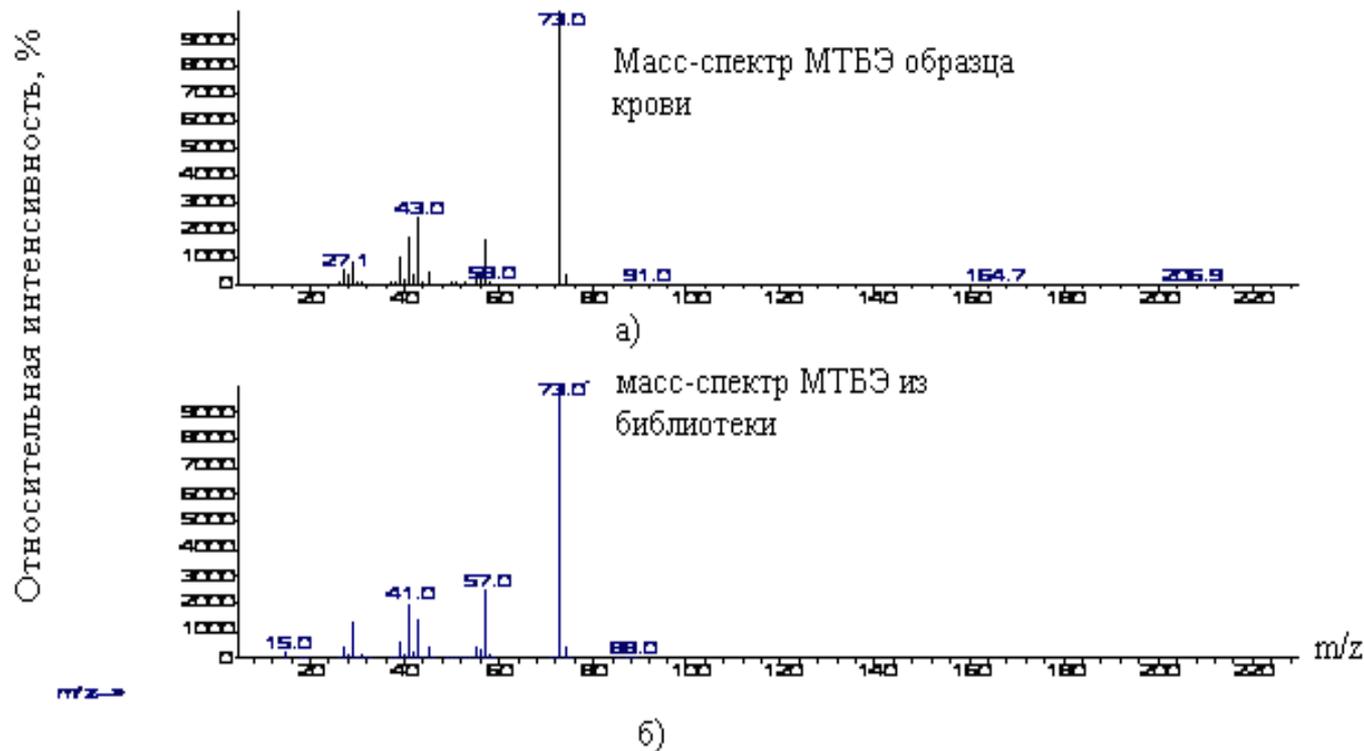


Рис. 5. Масс-спектр МТБЭ образца крови (а) и его масс-спектр (б) из библиотеки

# Индивидуальная идентификация МТБЭ образца крови

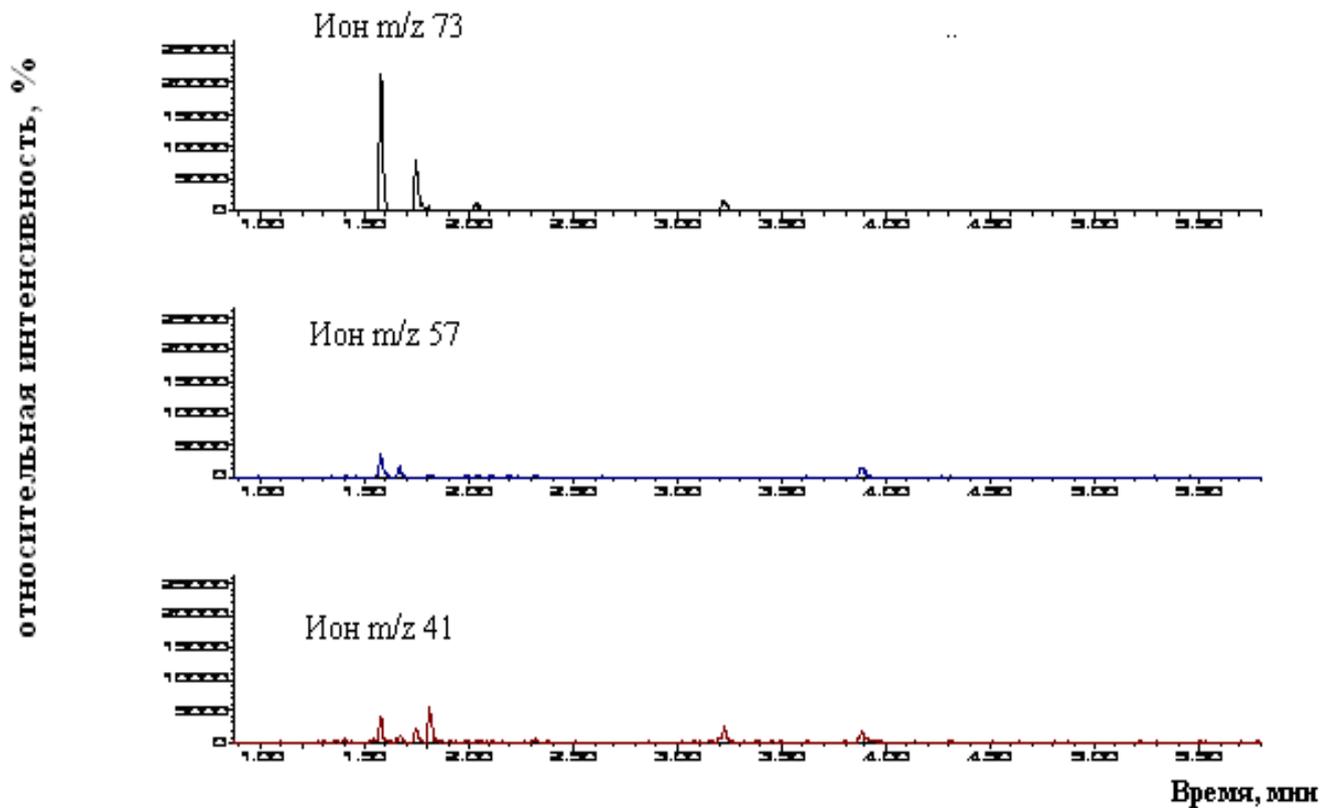


Рис. 6. Экстракционная хроматограмма по характеристическим ионам  $m/z$  73, 57 и 41

# ВЫВОДЫ

1. При анализе многокомпонентных биологических сред в рамках биомониторинга для надежной и достоверной идентификации определяемых контаминантов необходимо выполнять **хромато-масс-спектрметрические исследования по подтверждению состава определяемого соединения.**

2. В процессе эксперимента установлены оптимальные условия хромато-масс-спектрометрической идентификации метил-трет-бутилового эфира: масс-спектры, молекулярный и характеристические ионы ( $m/z=73, 57; 41$ ), время удерживания МТБЭ (11,3 мин).

3. Выполнение хромато-масс-спектрометрических исследований по подтверждению идентификации МТБЭ в образце крови проведено **по полному масс-спектру**, который характеризует **молекулярную массу и массу основных структурных фрагментов (молекулярный ион и подтверждающие ионы)** на основании которых был установлен химический состав и структура изучаемого соединения.

4. Для полноты разделения изомеров и МТБЭ при анализе образца крови использовали две последовательные капиллярные колонки: **неполярную на основе полиметилсилоксана DB-624 60м×0,32мм×1,8μм и полярную на основе полиэтиленгликоля HP-1 30м×0,32мм×0,25μм.**

Выполненные исследования использованы при разработке метода определения метил-трет-бутилового эфира в крови для оценки воздействия этого соединения на здоровье населения.



**БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!**