



Современные аспекты хроматографии

Лекция на тему: **Масс-спектрометрия:
аналитические возможности**

**Минажева Гүлшарат Салауатовна –
доктор педагогических наук, кандидат
химических наук, профессор кафедры
АКХиТРЭ**

Качественный анализ

- Наиболее представительные ионы и соответствующие им структуры используют при интерпретации масс-спектров.
- Кроме того сравнивают масс-спектры изучаемого соединения с каталогом спектров (до 150 000 спектров различных соединений).
- При идентификации исходят из того, что характер фрагментации неизвестного вещества и соединения с предполагаемой структурой одинаков, а спектры получены в близких экспериментальных условиях, что не всегда выполняется (например, спектры изомеров не различаются).
- В любом случае вероятность совпадения масс-спектров одного и того же вещества выше, чем масс-спектров разных веществ.

Библиотеки

Универсальная библиотека NIST 2017 г.

306 622 спектров

Универсальная библиотека Wiley 11th Edition 2016 г

более 775 500 спектров

Библиотека наркотических, лекарственных веществ и их метаболитов 2011 г

около 8 500 спектров

Библиотека дизайнерских наркотиков 2019 г.

28 032 спектров

Библиотека пестицидов 2016 г.

1300 спектров

Информационно-поисковая система АИПСИН АнтиНаркотики



Какие библиотеки спектров могут поставляться с масс-спектрометрическим детектором?

Как правило, с комплектом прибора поставляется библиотека (база данных) масс-спектров веществ, наиболее часто встречающихся в практике, **NIST'17**, которая является продуктом Национального института стандартов и технологий (**National Institute of Standards and Technology - NIST**).

Основная библиотека содержит спектры веществ, наиболее часто встречающихся в практике следующих организаций: **NIST** - National Institute of Standards and Technology - Национальный институт стандартов и технологий США; **EPA** - Environmental Protection Agency - Управление по охране окружающей среды; **NIH** - National Institutes of Health - Национальные институты здравоохранения.

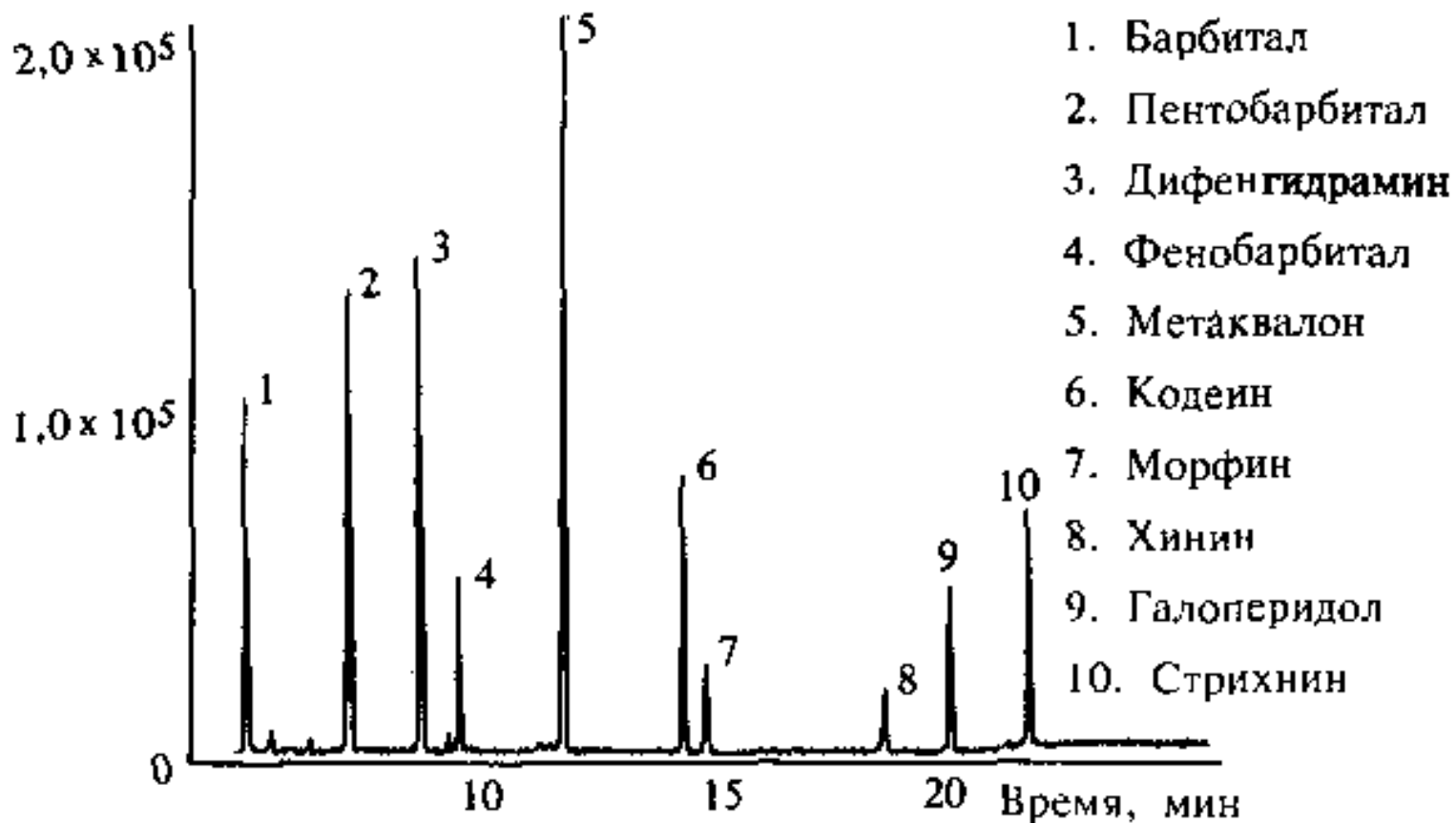
Какого-либо деления или структуризации веществ (спектров) в библиотеке не предусмотрено. Есть поиск по названию, молекулярной массе и т.д. Также реализован автоматический поиск по полученному в результате анализа спектру. Библиотека используется со всеми масс-спектрометрами от ведущих производителей в мире.

Кроме этой библиотеки, может быть поставлена библиотека спектров **Wiley Registry of Mass Spectral Data, 11th Edition**, также содержащая спектры веществ, наиболее часто встречающихся в практике. В ее состав также входят и спектры из библиотеки NIST. Какого-либо деления или структуризации веществ (спектров) в данной библиотеке также не предусмотрено. Более подробную информацию о поставляемых библиотеках ищите в разделе [Библиотеки масс-спектров](#).

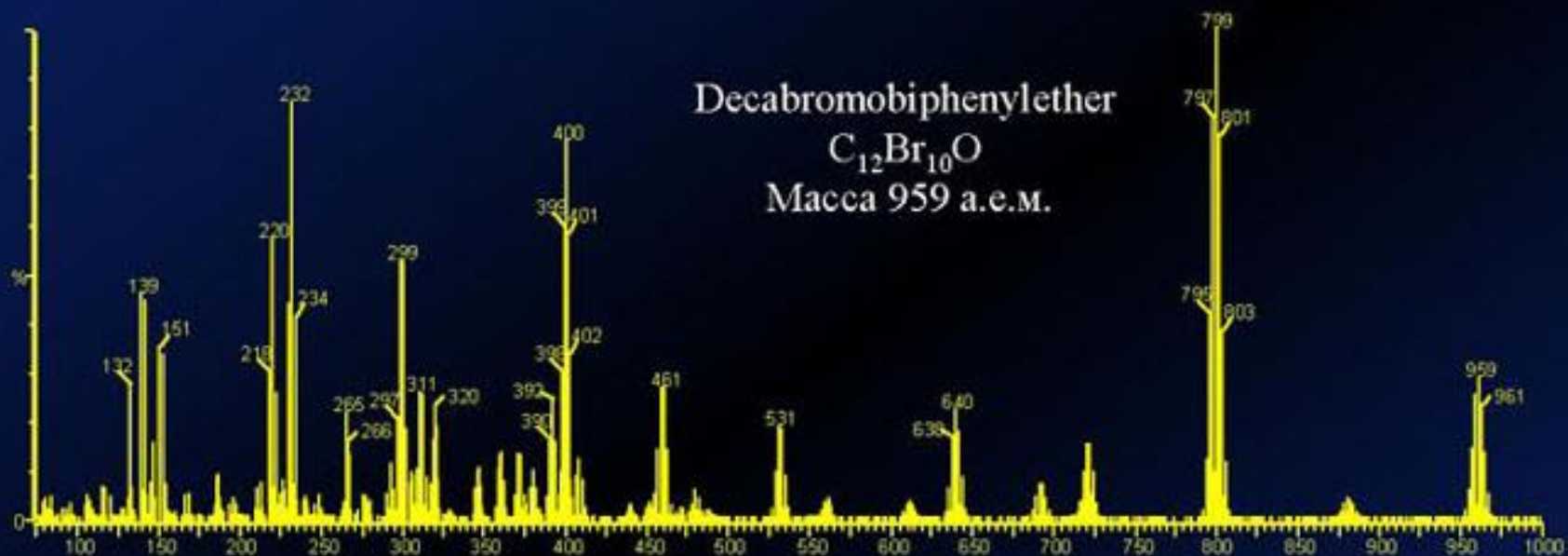
Количественный анализ

- Возможны *вещественный* и *элементный* анализ.
- Количественный анализ смесей органических соединений часто ограничен сложностью масс-спектра.
- Поэтому **метод МС сочетают** с различными видами хроматографии и капиллярного зонного электрофореза.
- 1) Для вещественного анализа используют ГХ
- В ходе хроматографирования регистрируют во времени интенсивность какого-либо пика с определенным массовым числом
- В результате получается зависимость сигнала детектора от времени , как в хроматографии

- Для построения масс-хроматограммы берут интенсивности пиков нескольких ионов из каждого записанного масс-спектра и строят график зависимости этих интенсивностей от номера масс-спектра, соответствующего времени удерживания



Масс-спектр на TRACE MS



Только на очень хорошем квадрупольном хромато-масс-спектрометре можно получить такой масс-спектр соединения, элюируемого из колонки при 350°C.

И такой хромато-масс-спектрометр есть. Это Finnigan TRACE MS

- 2) Сочетание метода разделения и МС-определения возможно в виде **тандемной МС**
- Один масс-спектрометр служит для выделения молекулярных пиков отдельных веществ из масс-спектра их смеси
- Второй – для фрагментации выделенных веществ и дальнейшей идентификации
- 3) непосредственный анализ по масс-спектру
Для этого измеряют интенсивность пика определяемого компонента и внутреннего стандарта – обычно это меченая изотопом разновидность определяемого вещества или его гомолог.

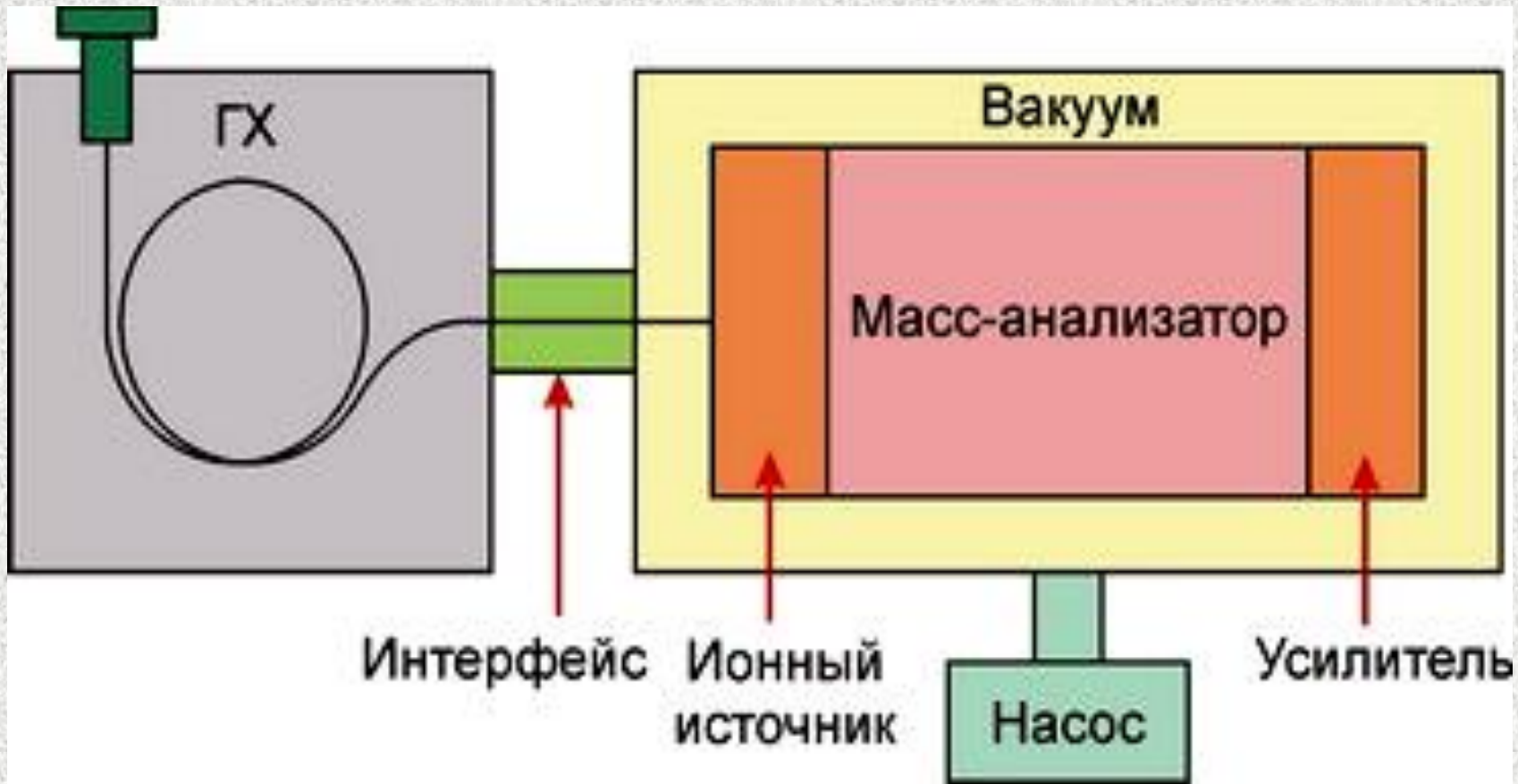
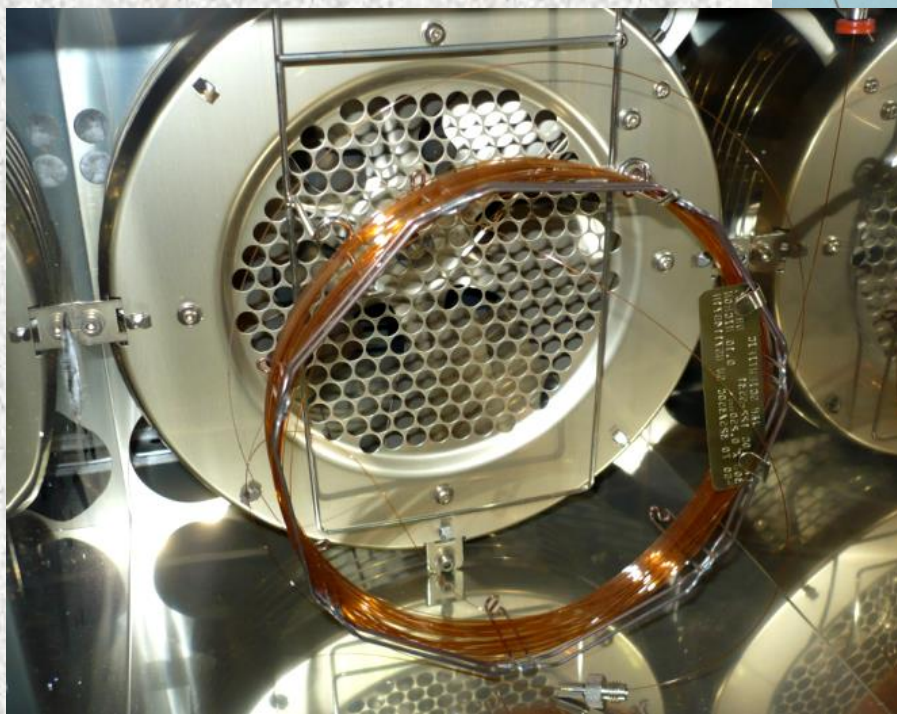
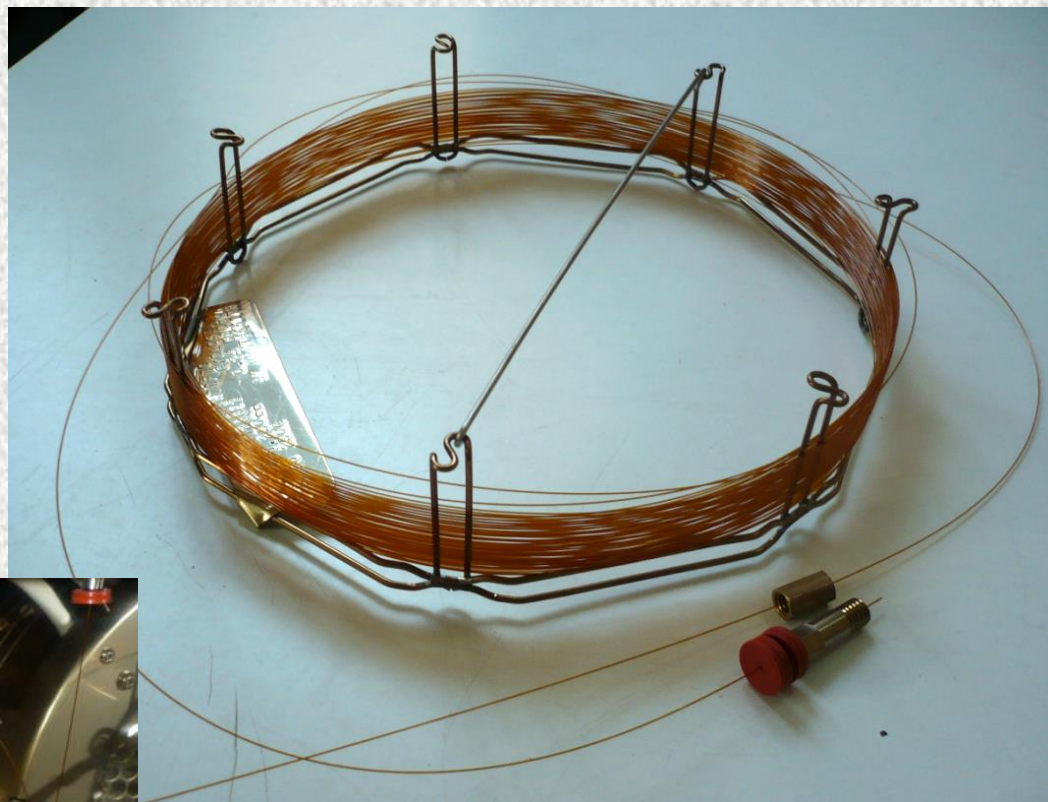


Схема газового хромато-масс-спектрометра



ГАЗОВЫЕ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРЫ

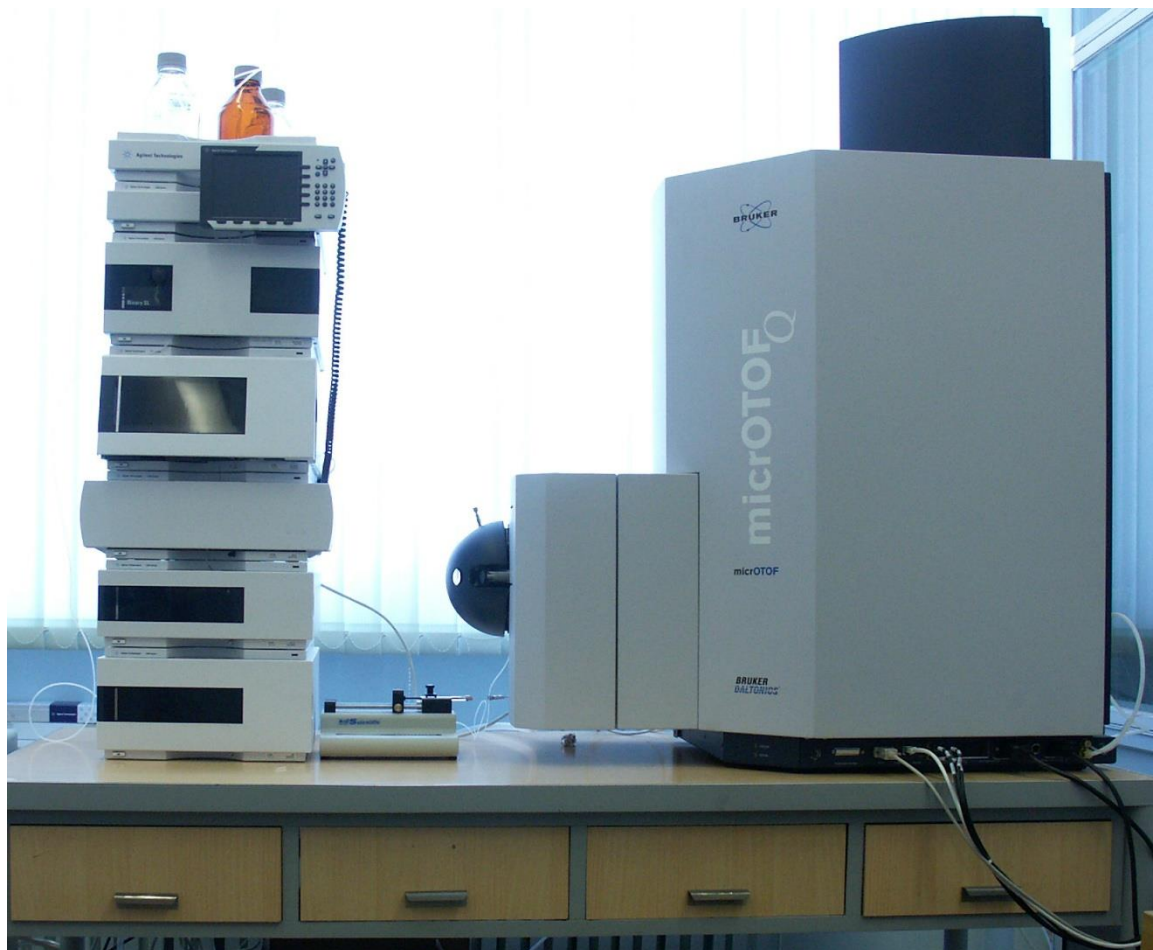
Капиллярная газовая хроматографическая колонка HP-5MS общего назначения, длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, внешний диаметр 0.30 мм



Капиллярная газовая хроматографическая колонка HP-5MS, установленная в хроматограф

Возможности газовых хромато-масс-спектрометров

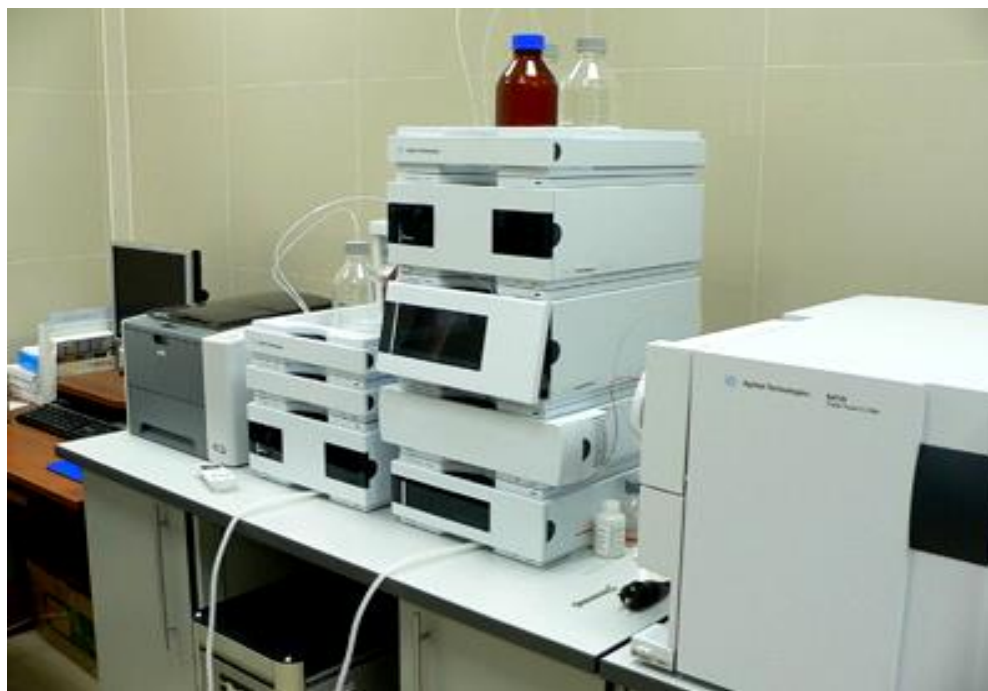
1. Автоматический ввод образца/серии образцов.
2. Диапазон измеряемых масс от 10 до 850 а. е. м.
3. Программируемое изменение температуры хроматографической колонки от -50 до 400°C.
4. Анализ содержания вещества в растворе.
5. Возможность анализа легкокипящих образцов (температура кипения которых меньше температуры кипения растворителя).
6. Возможность подбора хроматографической колонки под узкоспециализированные задачи: анализ нефтепродуктов, лекарственных препаратов, оптических изомеров и т.д.
7. Возможность подключения других модулей (например, термоаналитической приставки).



- Времяпролетный масс-спектрометр высокого разрешения Bruker microTOF_Q с жидкостным хроматографом Agilent 1100

ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ

Другой вариант хромато-масс-спектрометрии - сочетание высоко-эффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Метод предназначен для анализа смесей труднолетучих, полярных веществ, не поддающихся анализу методом газожидкостной хроматографии. В этом случае часть жидкого потока пропускают через капилляр диаметром в несколько микрон, в результате чего образуются капли, которые далее попадают в обогреваемую зону, где большая часть растворителя испаряется, а оставшаяся вместе с веществом попадает в ионный источник и ионизируется



Возможности жидкостных хромато-масс-спектрометров

1. Автоматический и ручной ввод образца/
Серии образцов.

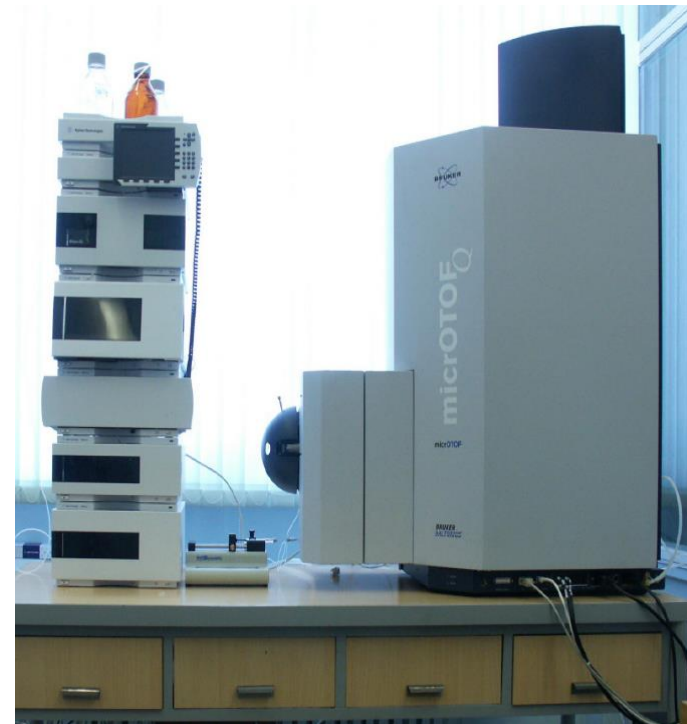
2. Диапазон измеряемых масс от 20 до
20000 а.е.м. и выше.

3. Программируемое изменение температуры
хроматографической колонки до
температуры кипения растворителя
(обычно 25 - 100 °С).

4. Анализ жидких проб – веществ в растворе.

5. Возможность анализа полимеров, олигомеров, биологических объектов, полярных соединений, веществ, содержащих много ОН- и других ионогенных групп и т. д., т. е. тех веществ, которые не проходят через хроматографическую колонку газового хроматографа.

6. Возможность подбора хроматографической колонки под узкоспециализированные задачи: анализ нефтепродуктов, ароматических соединений, полярных веществ, лекарственных препаратов и т. д.



• **Элементный анализ**

- Для ионизации образцов используют электрическую искру, индуктивно связанную плазму (ИСП), тлеющий разряд.
- Искровую ионизацию применяют для твердых проб, используют масс-анализатор с двойной фокусировкой.
- Абсолютный предел обнаружения 10^{-12} г, одновременно можно определять до 60 -70 элементов.
- При использовании ИСП или тлеющего разряда применяют квадрупольные масс-анализаторы.
- МС с ИСП – очень важный метод анализа растворов, позволяющий определять любые элементы (с m/z начиная от 3) и пределом обнаружения 0,1-10 частей на миллион ($10^{-5} - 10^{-3}\%$)

Аналитические возможности метода

- Позволяет определять массы ядер и атомов и оценивать распространенность изотопов в природе.
- По соотношению масс изотопов материнского и дочернего излучений определяют возраст горных пород, археологических и др. объектов.
- МС применяют:
 - для элементного анализа твердых неорганических веществ и материалов;
 - для идентификации и установления структуры органических соединений, включая определение молярной массы;
 - для исследования состава и структуры поверхностей твердых тел (локальный, послойный и фазовый анализ).

- Для МС характерны
- Использование небольших навесок (1 мг и меньше).
- Высокая чувствительность
 - все элементы периодической системы определяют с чувствительностью 10^{-12} г
 - при использовании лазерных источников ионизации достигается чувствительность 10^{-19} г .
- Универсальность – возможность анализа широкого круга объектов от элементов до сложных белковых молекул.
- Высокая специфичность и селективность.
- Недостаток масс-спектрометрии: это деструктивный метод анализа, и используемый образец нельзя восстановить для дальнейшего анализа или синтеза.

Области применения МС

- Ядерная энергетика
- Археология
- Нефтехимия
- Геохимия (изотопная геохронология)
- Агрохимия
- Химическая промышленность
- Анализ полупроводниковых материалов, особо чистых металлов, тонких пленок и порошков (например, оксидов U и РЗЭ)
- Фармацевтика - для контроля качества производимых лекарств и выявления фальсификатов
- Медицинская диагностика
- Биохимия – идентификация белков, исследование метаболизма лекарственных средств

Аналитический контроль в ядерной энергетике

- Основные применения изотопной и элементной масс-спектрометрии в различных аспектах ядерной энергетике:
 - **1. Разработка и производство ядерного топлива** – определение примесей посторонних элементов и изотопного состава расщепляющихся материалов, в частности для анализа изотопных отношений гексафторида урана
 - **2. Переработка вторичного ядерного топлива для повторного использования** - никакими другими методами, кроме МС невозможно установить степень регенерации топлива.
- Разбавление ураном с природной распространенностью или обедненным ураном требует контроля изотопного состава, как и в случае производства нового топлива. Однако, требуется проводить дополнительный тщательный контроль на предельно низком уровне содержания изотопов ^{232}U , ^{233}U , ^{234}U , ^{236}U и ряда техногенных элементов, например, технеция (Tc), плутония (Pu), к появлению которых приводит нахождение материалов в реакторе

- **3. Хранение отходов ядерных материалов** - во время хранения, помимо дозиметрии, должен проводиться контроль и по изотопному / элементному составу, для чего МС незаменима.
- **4. Установление источников происхождения расщепляющихся материалов**
- Если мажорные компоненты материалов (например, уран или плутоний), как правило, не несут информации об источнике происхождения, то минорные компоненты на уровне микропримесей являются отпечатками технологических процессов или месторождений.
- Информативными характеристиками является как микрокомпонентный примесный состав, так и соотношение изотопов в этих компонентах.

• 5. Контроль окружающей среды

- Влияние на окружающую среду - это попадание радионуклидов и токсичных элементов в воздух, почву, воду, растения.
- Методы масс-спектрометрии позволяют определять содержание этих элементов в объектах окружающей среды на предельно низком уровне, определение изотопных отношений элементов в объектах окружающей среды позволяет получить информацию об источнике загрязнения и времени их попадания.
- *Один показательный пример.* Производимые с 1986 г. измерения ^{90}Sr в годовых кольцах деревьев Англии (*изотоп стронция-90 является радиоактивным и образуется в результате ядерных взрывов и аварий на атомных электростанциях*) позволяют проводить оценку диссипации окружающей средой выброса радионуклидов в момент Чернобыльской аварии.

Диссипация – это измерение того, какое количество энергии или тепла рассеивается или поглощается в окружающей среде в результате какого-либо процесса или явления.

- **6. Контроль воздействия расщепляющихся материалов на живые организмы**
- Выявление присутствия расщепляющихся материалов в живых организмах требует очень высокой чувствительности, кроме того анализ надо проводить в присутствии сложнейших биологических матриц.
- Анализ элементного и изотопного состава позволяет определить источник попадания радионуклидов или техногенных элементов в организм человека, животных или продукты питания, выяснить механизм воздействия на живые организмы

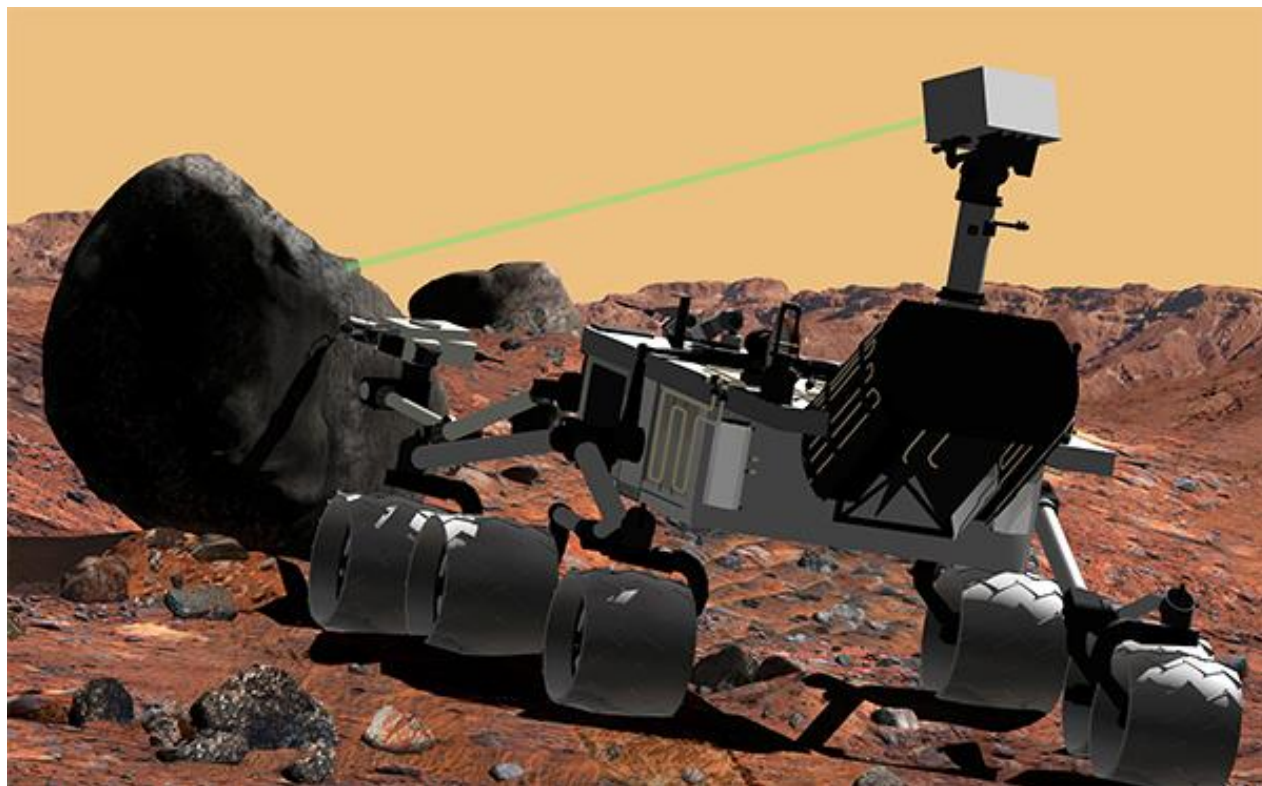
- МС изучает окаменевшие останки

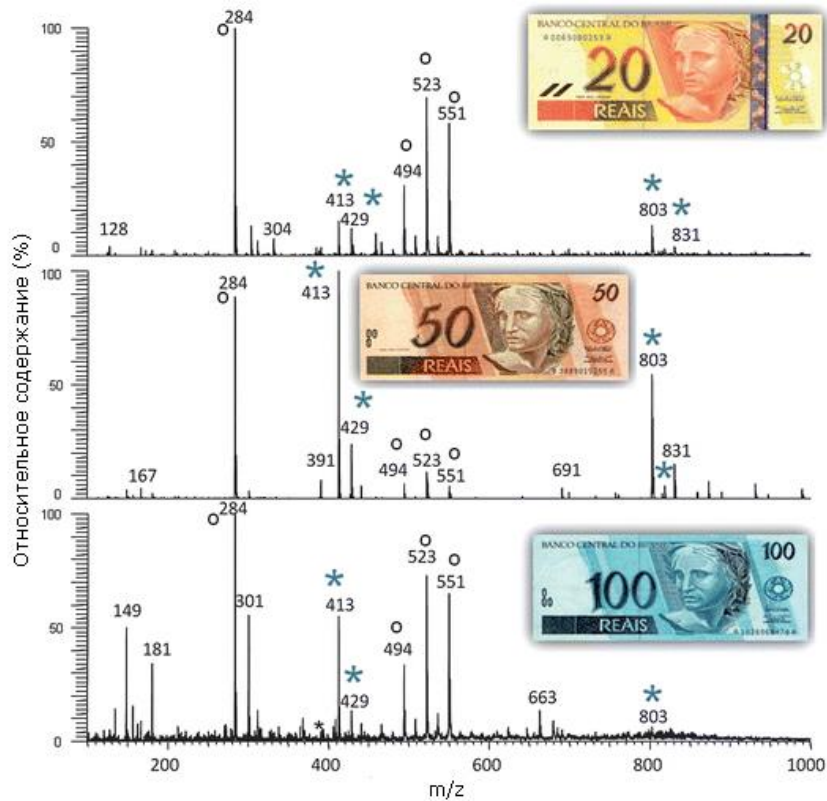


- МС поможет изучить наноалмазы



- МС применялась для анализа марсианского грунта ещё в семидесятых годах прошлого века, во времена программы "Викинг"





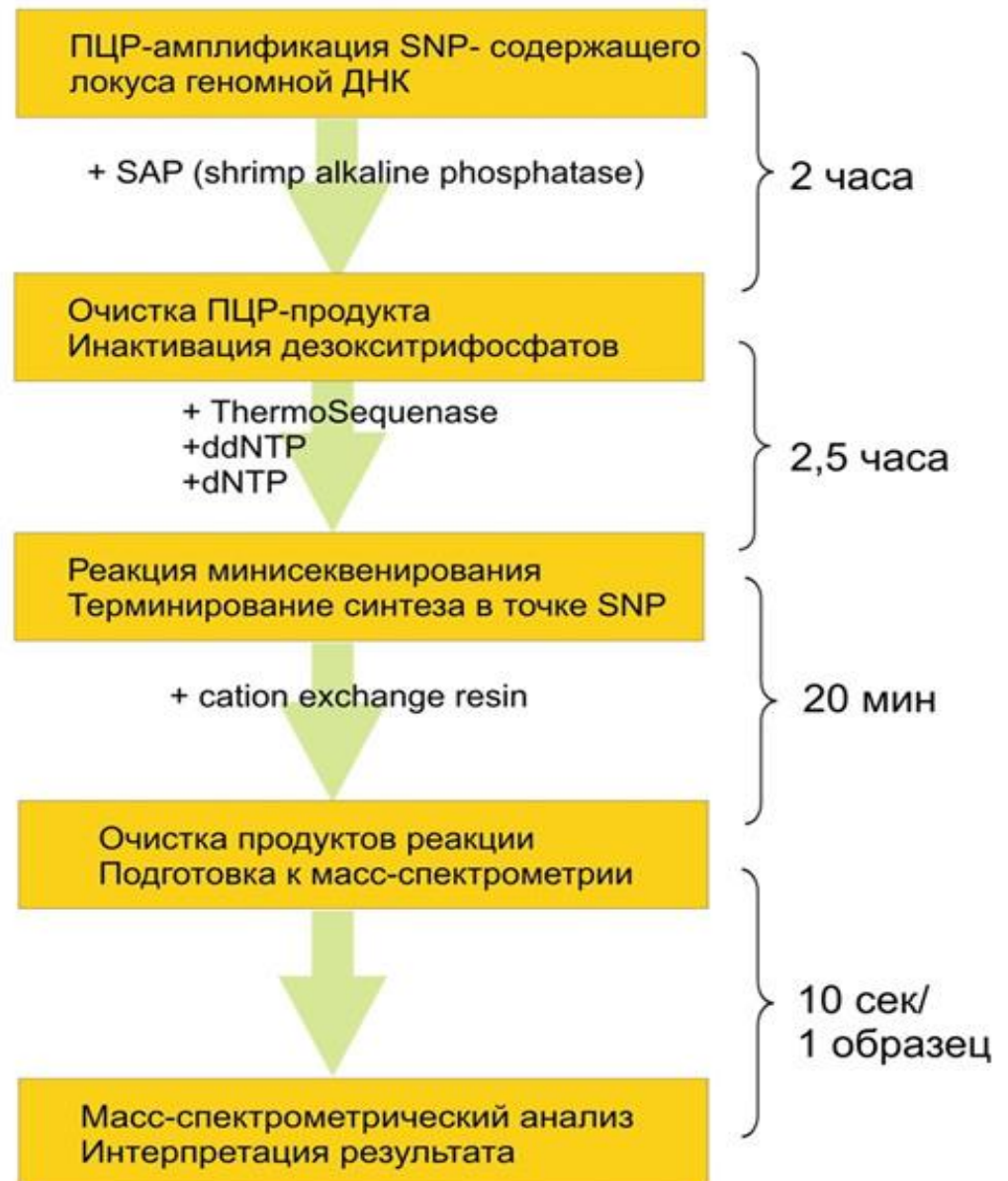
- **Метод масс-спектрометрии** позволяет выявить контрафактные ценные бумаги

- МС – экспрессный метод анализа респираторных газов



- Диагностика сахарного диабета на основе МС- регистрации $^{13}\text{CO}_2$ в выдыхаемом воздухе после приема тестовой мочевины, содержащей повышенное количество стабильного ^{13}C изотопа по сравнению с его природной распространенностью

- Гемаскрин ДНК новорожденных - диагностика наследственных особенностей (генетического полиморфизма)



- Хромато–МС - метод мониторинга изменений в определенных белках (гистонах), которые могут служить биомаркером у пациентов с хронической лейкемией





ВОПРОСЫ ???