

# **Новые технологии ВЭЖХ-МС/МС анализа в оборудовании Shimadzu**

***Родин И.А.  
МГУ имени М.В. Ломоносова  
Варзиев Г.Б.  
ГК «Интераналит»***

# LCMS-9030 QTOF



## LCMS-9030

Передовая технология Q-TOF

Программное обеспечение для решения широкого круга задач

## Особенности

### **Высокая чувствительность**

- ✓ Апробированные в конструкции тандемных квадрупольных масс-спектрометрах решения
- ✓ Совмещение передовых возможностей и простоты использования

### **Высокая скорость получения данных**

- ✓ Возможность качественного и количественного определения с высокой точностью большого количества целевых соединений в ходе одного анализа
- ✓ Максимальная скорость получения данных – 100 спектров в секунду в режимах MS и MS/MS

### **Инновационные технологии для обеспечения долговременной стабильности**

- ✓ Уникальная конструкция времяпролетного масс-анализатора обеспечивает высокую точность и стабильность определения масс
- ✓ Минимальная потребность в калибровке

## LCMS-9030

### Технические характеристики

#### Чувствительность ESI (MS/MS)

- 1 пг резерпин S/N > 3'000 (RMS) положительная ионизация
- 1 пг хлорамфеникол S/N > 3'000 (RMS) отрицательная ионизация
- Разрешение > 30,000 FWHM для m/z 1,972
- Точность определения массы < 1 ppm
- Максимальная скорость получения данных (MS и MS/MS) 100 спектров в секунду
- Минимальное время переключения полярности ионизации 1 с
- Диапазон определяемых масс: m/z = от 10 до 40,000

 SHIMADZU

LCMS-9030

LIQUID CHROMATOGRAPH MASS SPECTROMETER

## Режимы работы QTOF

### Сканирование полного диапазона масс (TOF MS)

- ✓ Высокая точность и стабильность определения масс при максимальной скорости сканирования 100 спектров в секунду в режимах MS и MS/MS
- ✓ Точность определения массы < 1 ppm при использовании внешнего калибровочного стандарта

### Сканирование фрагментных ионов MS/MS

- ✓ Идентификация неизвестных соединений
- ✓ Высокая скорость регистрации MRM-переходов позволяет в ходе одного анализа определять большее число целевых соединений по сравнению с другими масс-спектрометрами TOF

### Комбинированные и триггерные режимы измерения

- ✓ Высокое качество данных MS/MS

### Идентификация неизвестных соединений

- ✓ Программное обеспечение для вычисления брутто-формул



LCMS-9030  
LIQUID CHROMATOGRAPH MASS SPECTROMETER

# Чувствительность LCMS-9030 Q-TOF



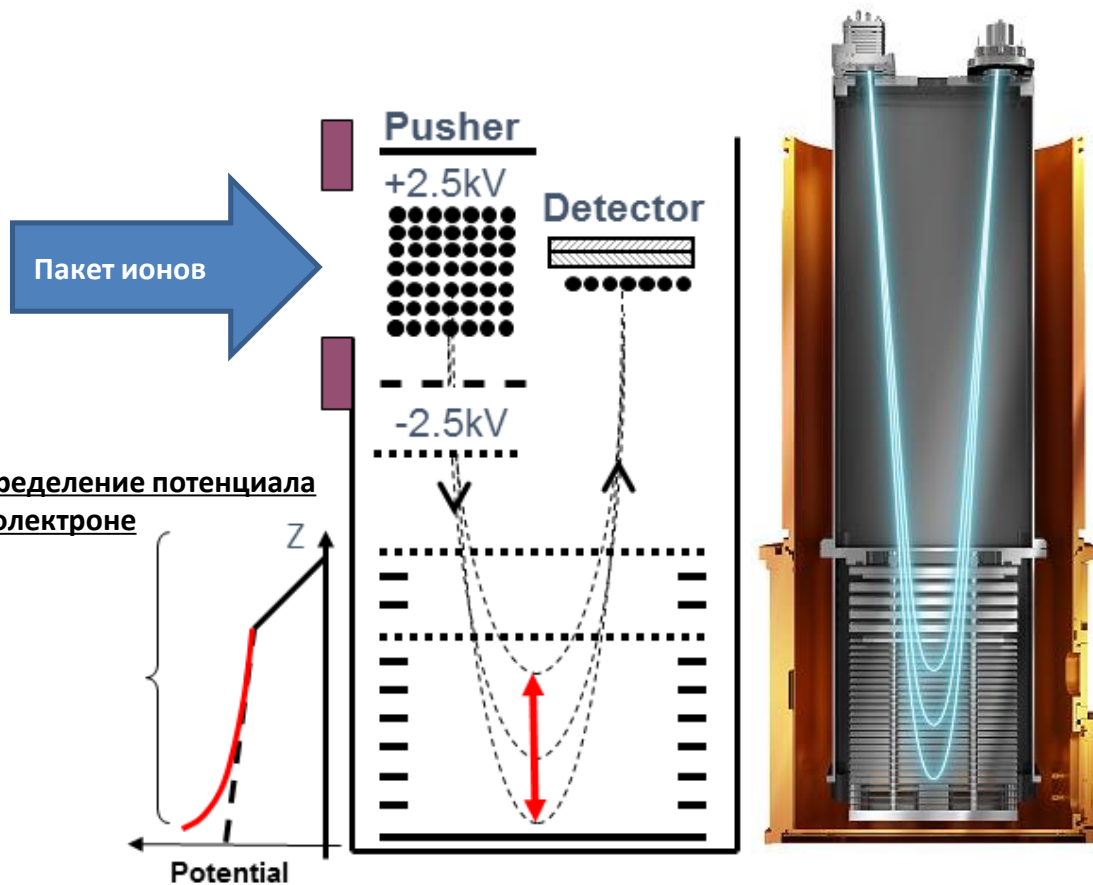
## Объединение технологий сверхбыстрых квадруполь Shimadzu (Q) с времяпролетным анализатором масс высокого разрешения (TOF)

- ✓ Ионная оптика, быстродействующий квадрупольный масс-анализатор и ячейка соударительной диссоциации, успешно зарекомендовавшие себя в tandemных квадрупольных масс-спектрометрах Shimadzu, используются в конструкции LCMS-8030 и обеспечивают высокий уровень чувствительности при высочайшем быстродействии.

## Новый дизайн времяпролетного масс-анализатора (TOF)

- ✓ Уникальная конструкция выталкивающего и вытягивающего электродов времяпролетного масс-анализатора позволяет эффективно фокусировать большие пакеты ионов
- ✓ За счет этого достигается высокая чувствительность анализа без ущерба точности и стабильности определения масс

# iRefTOF: новая технология времяпролетного масс-анализатора с рефлектроном



**Увеличенные пакеты ионов с помощью новой конструкции вытягивающего электрода**

- ✓ Возможность использования высокого ускоряющего напряжения за счет использования запатентованной технологии UFgrating

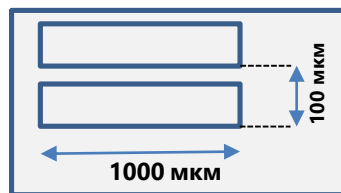
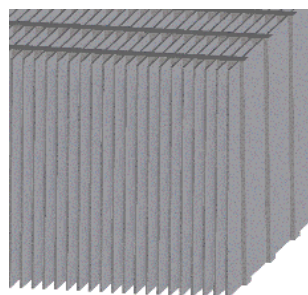
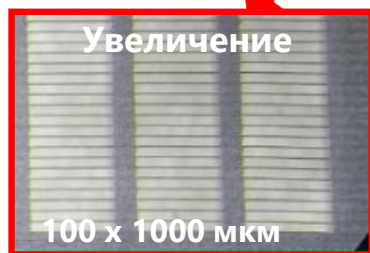
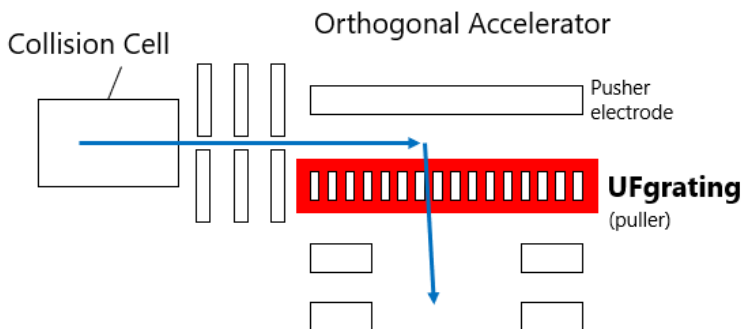
**Уменьшение пространственного разброса ионов**

- ✓ Существенное уменьшение разброса ионов в пространстве за счет оптимизированного профиля отражающего поля в рефлектроне

**Конструкция TOF**

- ✓ Компенсирует разброс ионов по энергии

# Технология UFgrating™



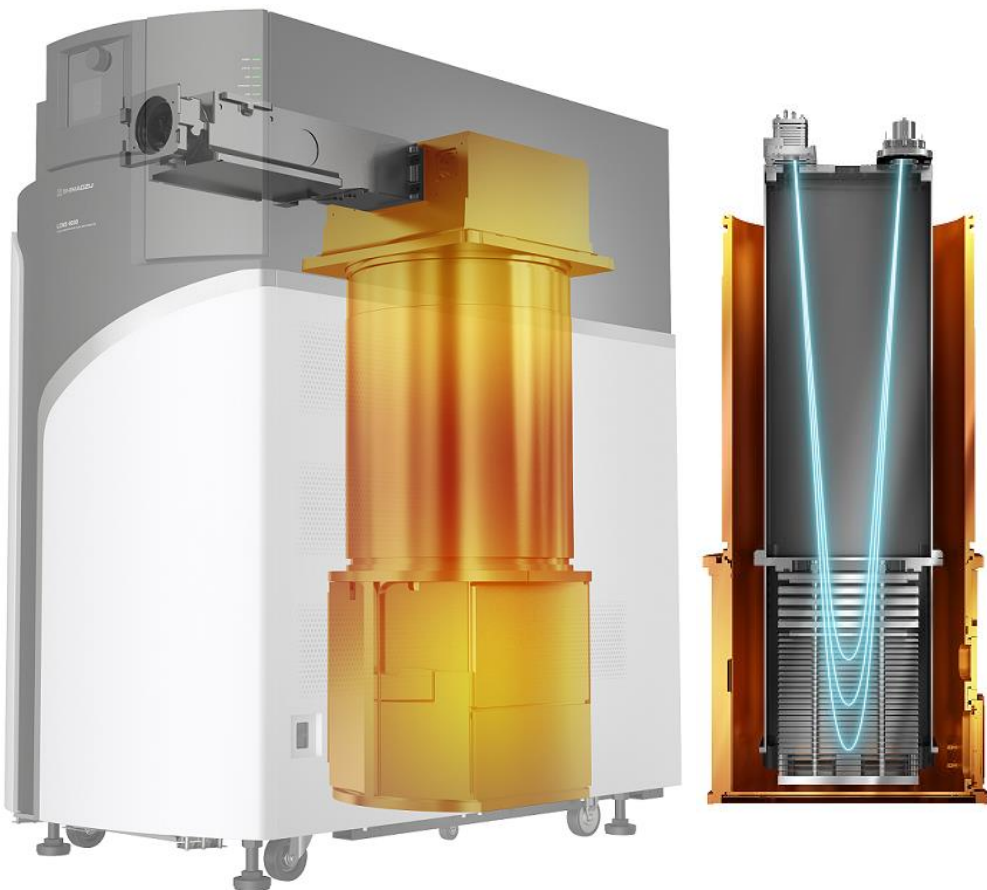
## Увеличенные пакеты ионов с помощью новой конструкции вытягивающего сетчатого электрода

- ✓ Уменьшение разброса ионов во время пролета в масс-анализаторе
- ✓ Высокое ускоряющее напряжение
- ✓ Возможность использования больших пакетов ионов
- ✓ Увеличение разрешения по массам

## Механическая прочность сетчатого электрода

- ✓ Улучшенная форма пика
- ✓ Отсутствует электростатическое влияние на сетчатый электрод

# LCMS-9030: улучшенная конструкция TOF



## Увеличенная стабильность TOF

### **3 независимых контроллера для обеспечения стабильности температуры**

- ✓ Незначительная вариабельность температуры времяпролетной трубки может существенно влиять на стабильность определения масс и величину разрешения по массам
- ✓ Для увеличения стабильности и точности определения массы обычно требуется частая калибровка с использованием внутреннего стандарта массы
- ✓ В конструкции LCMS-9030 особое внимание было уделено точному контролю температуры времяпролетной трубки
- ✓ За счет этого снижается потребность в частой калибровке по массам и существенно повышается точность и стабильность определения массы

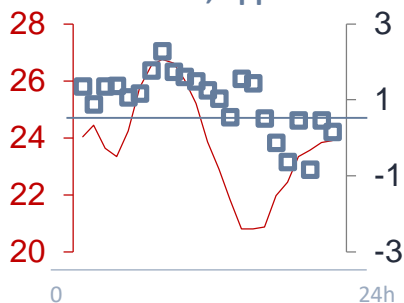
## **Увеличенная стабильность TOF**

- ✓ Возможность точно контролировать температуру времяпролетной трубки обеспечивает выдающуюся стабильность определения масс
- ✓ Для точного контроля температуры используются 3 независимых нагревателя в камере времяпролетной трубки



# LCMS-9030: reshaping TOF performance

Анизомицин (+)  $m/z$  266.1387  
Точность  $\pm 1,5$  ppm

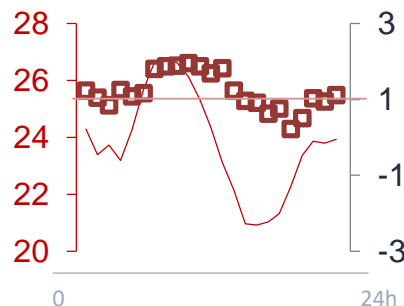


Гризеофульвин (+)  $m/z$  353.0786  
Точность  $\pm 1,5$  ppm

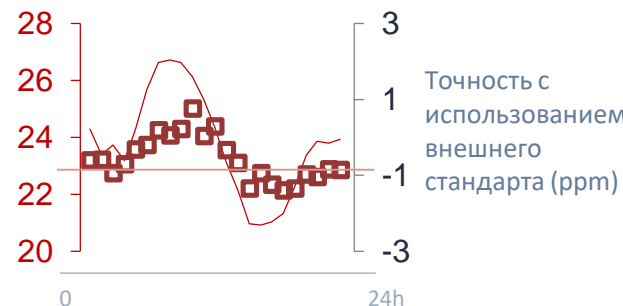


Точность с использованием внешнего стандарта (ppm)

Салиномицин (-)  $m/z$  749.4845  
Точность  $\pm 0,9$  ppm



Митомицин С (-)  $m/z$  333.1204  
Точность  $\pm 1,1$  ppm



Точность с использованием внешнего стандарта (ppm)

**Высокая стабильность определения масс в ходе 24-часового анализа с использованием положительной и отрицательной ионизации**

- ✓ В ходе 24-анализа окружающая температура менялась в диапазоне  $21^{\circ}\text{C} - 27^{\circ}\text{C}$
- ✓ Для тестирования стабильности определения масс использовалась смесь лекарственных препаратов

**Стабильность определения масс в режиме положительной ионизации**

- ✓ Точность определения массы анизомицина и гризеофульвина варьировалась в пределах  $\pm 1,5$  ppm

**Стабильность определения масс в режиме отрицательной ионизации**

- ✓ Точность определения массы салиномицина и митомицина С варьировалась в пределах  $\pm 1,1$  ppm

# LCMS-9030: стабильность определения массы

## Положительная ионизация

✓ 60 часов с одной калибровкой; ввод пробы каждый час

✓ Калибровка с внешним стандартом



## Образец

Аналиты	m/z
Ацетаминофен	151
Анизомицин	265
Прогестерон	314
Митомицин С	334
Гризеофульвин	352
Доксорубицин	543
Рифампицин	823
Валиномицин	1111

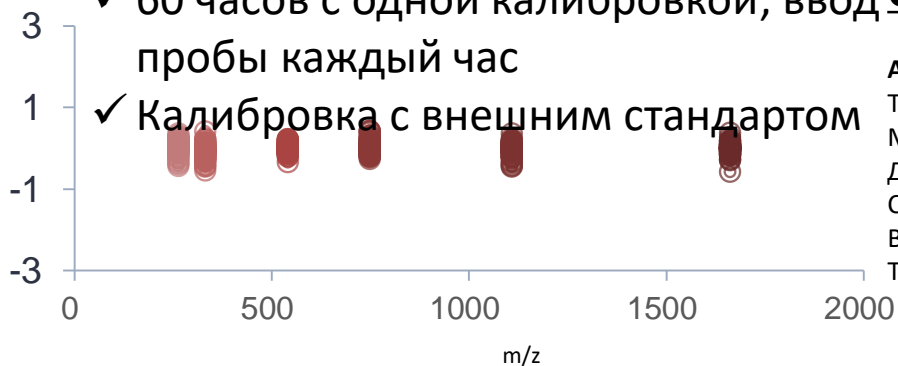
**Высокая стабильность определения масс в ходе 60-часового непрерывного анализа с переключением полярности ионизации**

- ✓ Тестирование в течение 60 часов стабильности определения масс с использованием образца, содержащего широкий спектр лекарственных препаратов (антибиотики, стероидные гормоны и др.)
- ✓ Точность определения масс в ходе анализа составила +/- 1 ppm

## Отрицательная ионизация

✓ 60 часов с одной калибровкой; ввод пробы каждый час

✓ Калибровка с внешним стандартом



## Образец

Аналиты	m/z
Туберцидин	266
Митомицин С	334
Доксорубицин	543
Салиномицин	751
Валиномицин	1111
Тиострептон	1664

**Данные получены с использованием внешнего калибровочного стандарта**

- ✓ Единичная калибровка с использованием внешнего стандарта массы использовалась в ходе 60-часового анализа

# Высокая точность определения масс в объектах со сложной матрицей

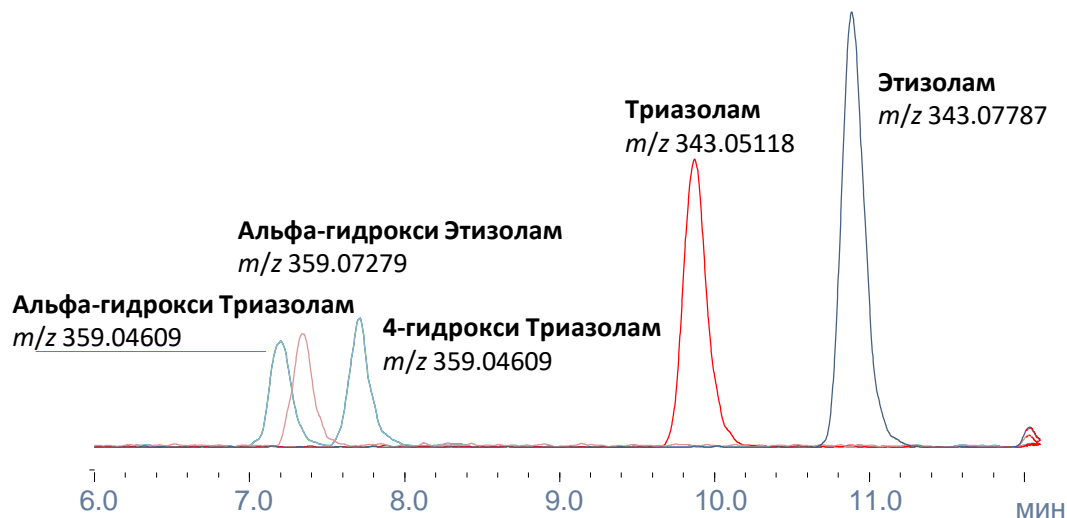
Аналит	100 ppb	50 ppb	10 ppb	5 ppb	1 ppb	10 ppb ц. кровь	10 ppb плазма
Этизолам	-0.215	0.186	0.256	0.443	0.690	0.789	0.903
Альфа-гидрокси Этизолам	-0.228	-0.253	-0.637	0.932	0.281	0.985	-0.314
Триазолам	0.475	0.897	0.174	0.413	0.679	-0.787	0.005
Альфа-гидрокси Триазолам	0.612	-0.807	-0.284	-0.403	-0.103	0.874	0.133
4-гидрокси Триазолам	0.217	0.543	0.189	0.540	-0.437	0.378	0.534

**Точность определения молекулярной массы 5 соединений при анализе экстрактов цельной крови и плазмы**

**Для всех соединений точность < 1 ppm**

**Диапазон концентраций 1 ppb-100 ppb**  
Даже при анализе таких сложных образцов, как экстракты цельной крови и плазмы точность определения молекулярных масс была меньше 1 ppm

**Данные получены с использованием внешнего калибровочного стандарта**



# Неискаженное изотопное расщепление

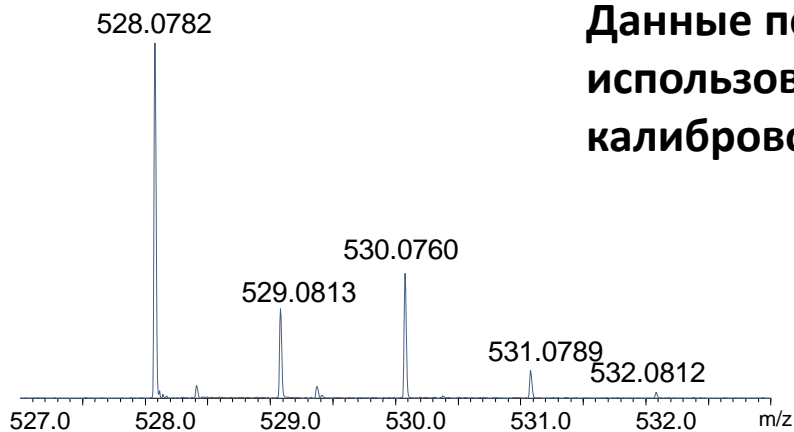
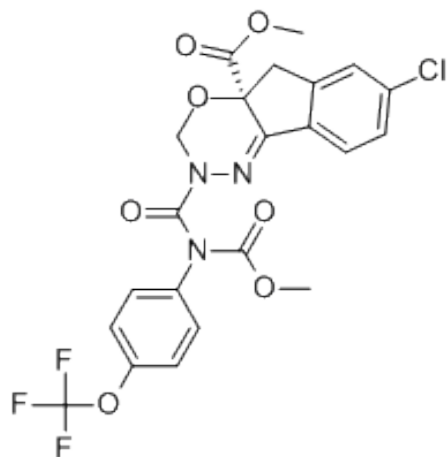
**Точность определения масс < 1 ppm**

Измеренное относительное содержание	Теоретическое относительное содержание	Погрешность (%)	Измеренное m/z	Теоретическое m/z	Точность (ppm)
100.00	100.00	0.00	528.0782	528.0780	0.38
24.99	25.36	-0.37	529.0813	529.0811	0.38
36.38	36.49	-0.11	530.0760	530.0761	-0.19
8.60	8.71	-0.11	531.0789	531.0787	0.38
1.69	1.51	0.18	532.0812	532.0810	0.38

## Индоксакарб

- ✓ Точность определения масс < 1 ppm
- ✓ Измеренное изотопное распределение практически полностью совпадает с теоретическим распределением (погрешность определения < 0,5%)

**Данные получены с использованием внешнего калибровочного стандарта**



## Индоксакарб

(Пестицид)  
C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>

# Применение LCMS-9030 для контроля качества пищевой продукции

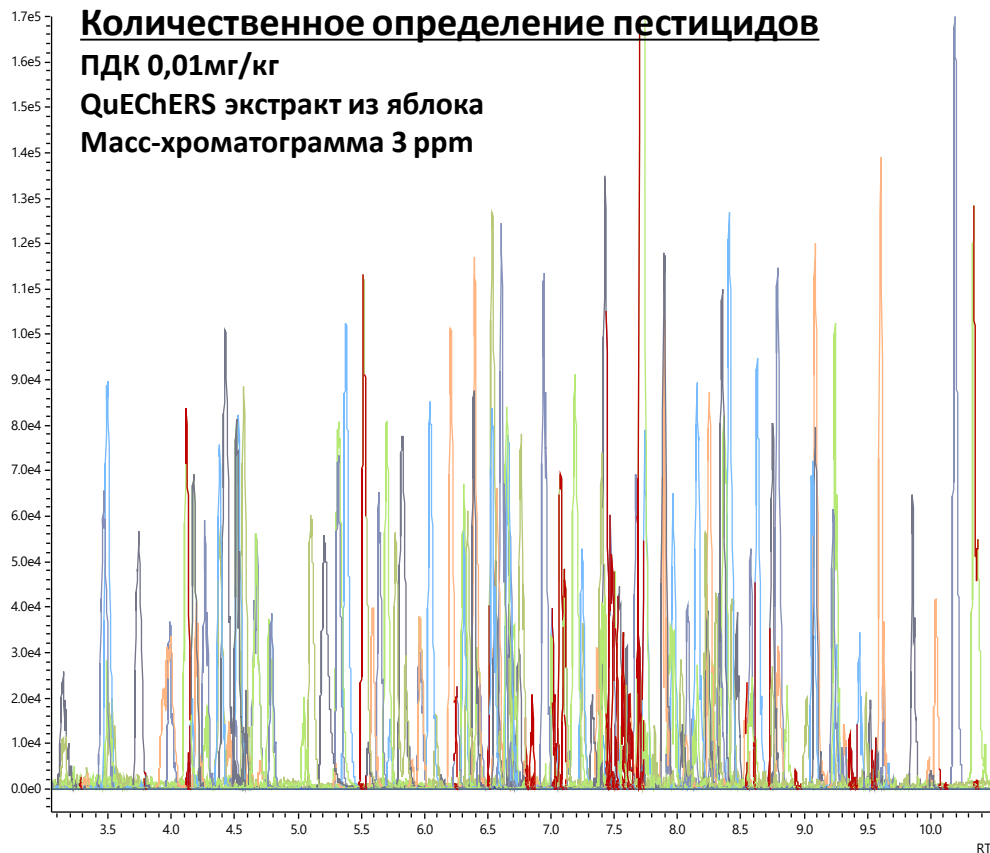
1:142.0086+/-3.0ppm(+) (id:1)

## Количественное определение пестицидов

ПДК 0,01мг/кг

QuEChERS экстракт из яблока

Масс-хроматограмма 3 ppm



## Режим количественного анализа

Сканирование полного диапазона масс и регистрация MRM-переходов в ходе одного измерения

- ✓ Сканирование со скоростью 100 спектров в секунду
- ✓ Диапазон масс 100 – 1000 а.е.м.

## Идентификация с высокой точностью

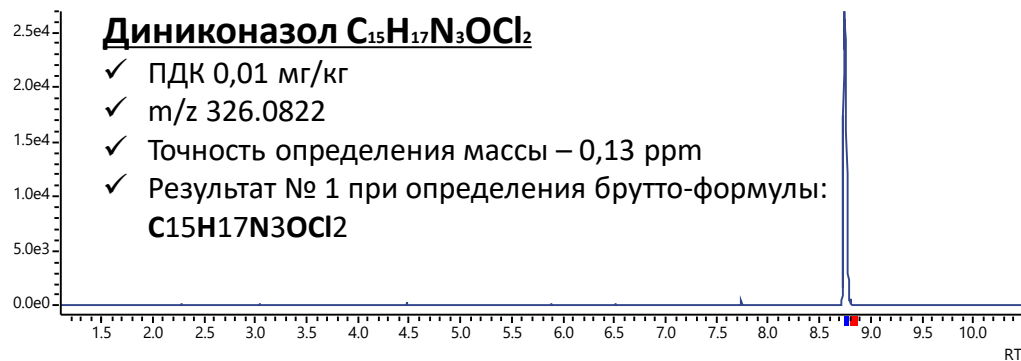
- ✓ Регистрация MRM-переходов для каждого пестицида со скоростью 50 спектров в секунду
- ✓ Регистрация иона для количественного определения в режиме высокой точности по массе

**Данные получены с использованием внешнего калибровочного стандарта**

# Определение пестицидов в QuEChERS экстракте

1:326.0822+/-5.0ppm(+)

2.70e4



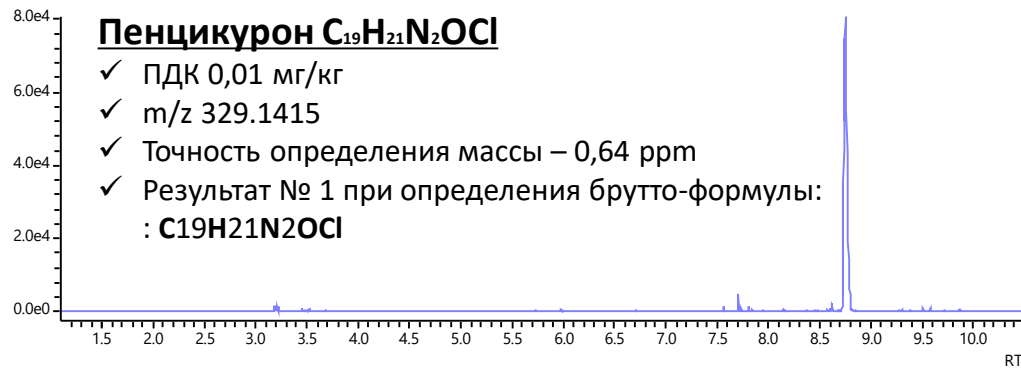
## Определение брутто-формул

### Сравнение измеренного изотопного распределения с теоретическим

- ✓ В случае совпадения времен удерживания и/или масс-спектров нескольких компонентов их идентификацию осуществляют при помощи программного обеспечения для вычисления брутто-формул

1:329.1415+/-5.0ppm(+)

8.06e4

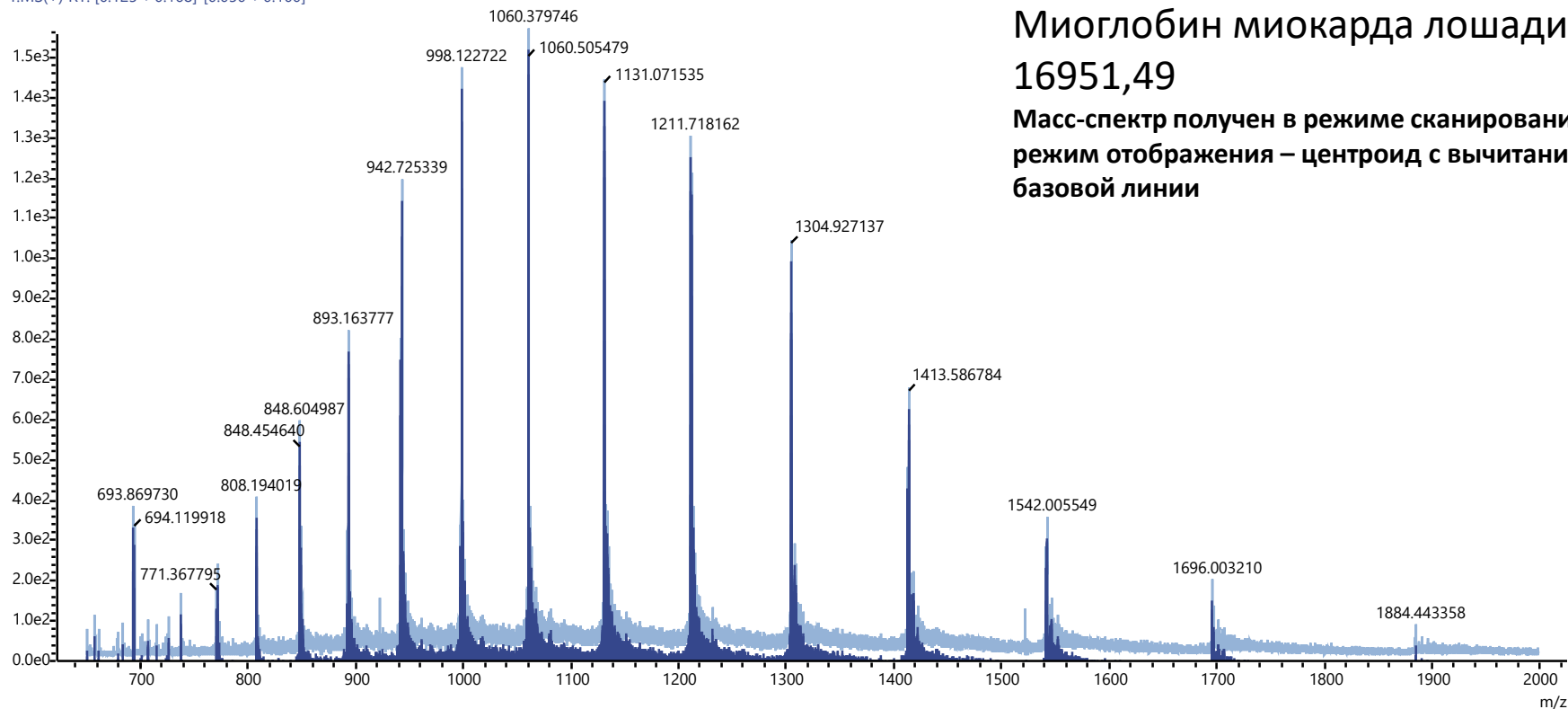


## Данные получены с использованием внешнего калибровочного стандарта

Pred. m/z	Meas. m/z	Diff. (mDa)	Formula (M)	Diff. (ppm)
329.141517	329.141728	0.211	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O Cl	0.6397
329.141538	329.141728	0.190	C <sub>8</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	0.5770
329.141721	329.141728	0.007	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub> S	0.0198

# Миоглобин миокарда лошади |

1:MS(+) RT: [0.125->0.168]-[0.050->0.100]



## LCMS-9030 QTOF Миоглобин

Миоглобин миокарда лошади  
16951,49

Масс-спектр получен в режиме сканирования;  
режим отображения – центроид с вычитанием  
базовой линии

# Линейка жидкостных масс-спектрометров Shimadzu

**UAFMS**  
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY



**LCMS-2020**



**LCMS 8060**



**LCMS-8050**



**LCMS-8045**



**LCMS-8040**



**LCMS-IT-TOF**  
Тандемный гибридный



# Газовые хроматомасс-спектрометры Shimadzu

**QP-2020** – высочайшая чувствительность (**S/N > 2000:1, 1 пг ОФН**) и быстродействие (**20'000 а.е.м./сек**) в классе квадрупольных приборов. Три системы ионизации



**TQ-8050/8050** – самые быстродействующие (**>800 MRM/сек, 20'000 а.е.м./сек**) и чувствительные (**S/N > 1500:1, 1 пг ОФН, Scan; >8000/40000:1, 100 фг ОФН, MRM**) тройные квадрупольные газовые масс-спектрометры. Три системы ионизации



**QP-2010SE** –инструмент для рутинного анализа с ионизацией электронным ударом, поддерживает только тонкие капиллярные колонки



**На всех приборах возможна установка дополнительных ГХ детекторов.**

# MALDI-8020



1.92 m



1.06 m



Approximate scaling

# MALDI-8020: Спецификация

- Работа с положительно-заряженными ионами
- 355 nm **твердотельный лазер** (200 Hz) с фиксированным фокусом
- **Безмаслянная вакуумная система** (один ТМН и диафрагменный насос)
- Диапазон  $m/z$  : 1 – 500,000
- Разрешение >5000 (АСТН 18-39;  $m/z$  2465.2)
- Точность измерения  $m/z$  <20 ppm (внутренняя калибровка)  
<150 ppm (внешняя калибровка)
- Чувствительность 250 fmol (BSA;  $m/z$  66430)  
250 amol (Glufib;  $m/z$  1570.7)

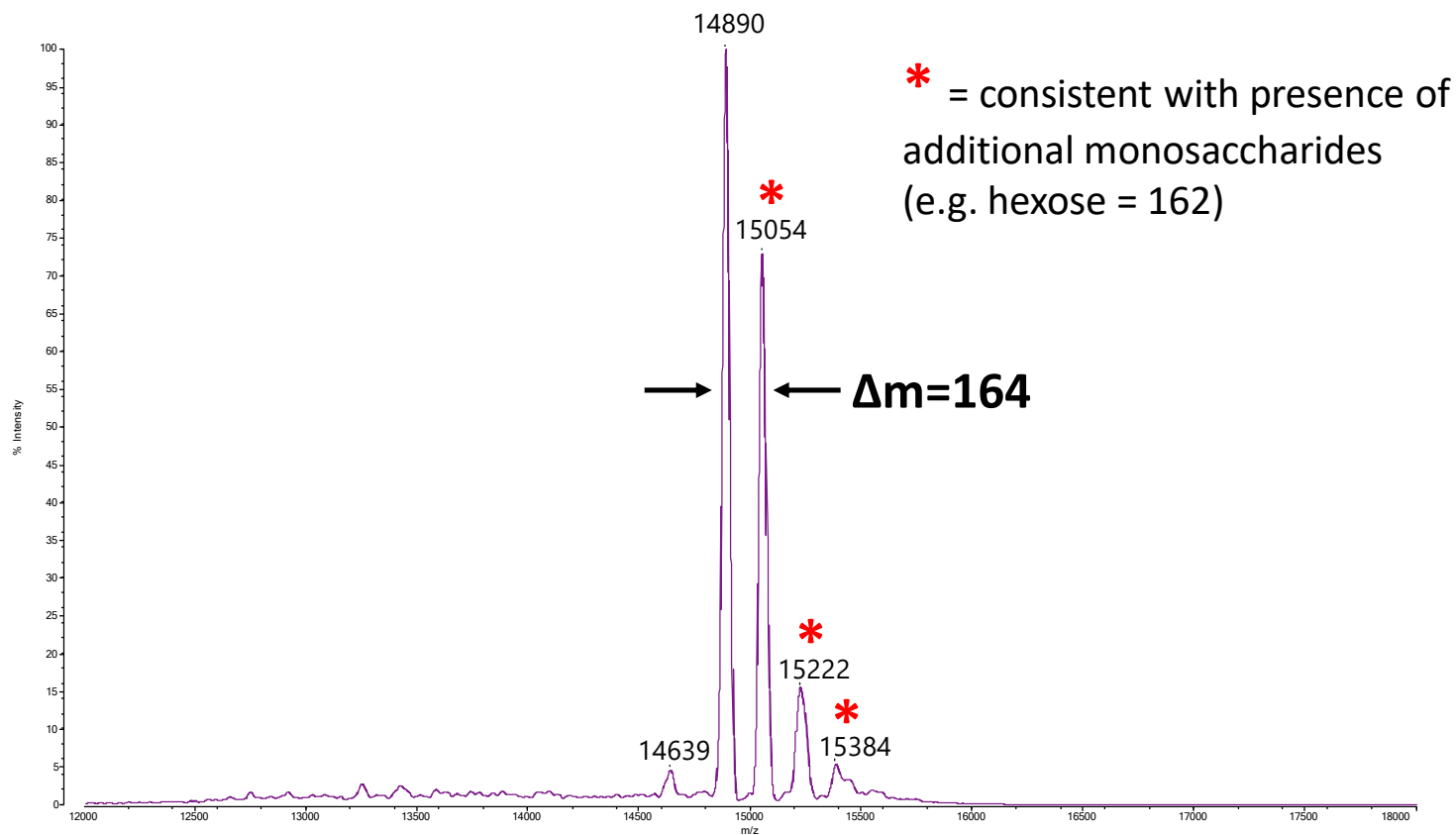
# MALDI-8020: Область применения

---

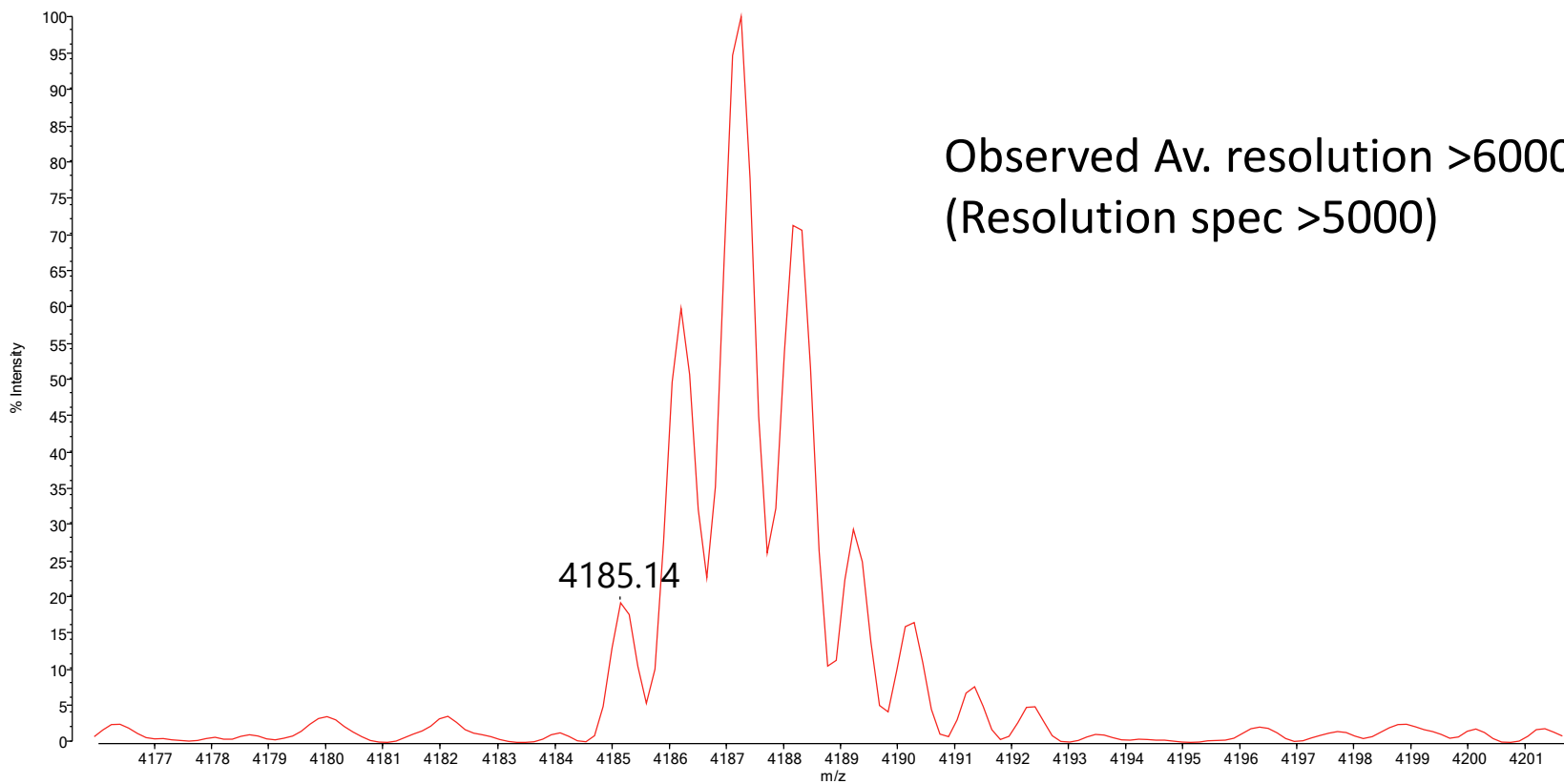
- Целевой анализ (белки, пептиды, олигонуклеотиды)
- Простые задачи идентификации (белки, пептиды)
- In-source decay (ISD) секвенирование пептидов
- Анализ полимеров
- Малые молекулы

# MS анализ - белки

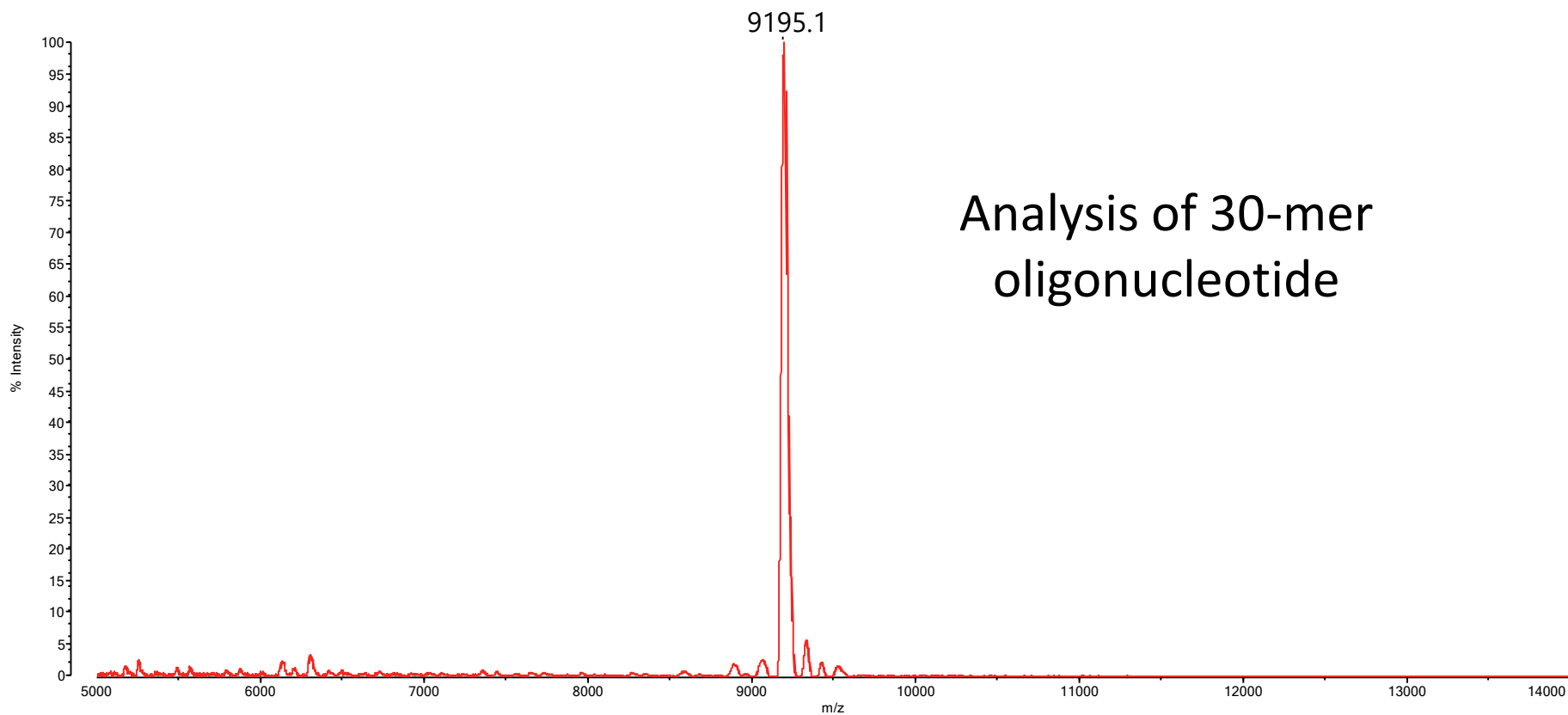
## Ribonuclease B (glycoprotein)



# Анализ пептидов– 4.2 kDa



# Анализ олигонуклеотидов

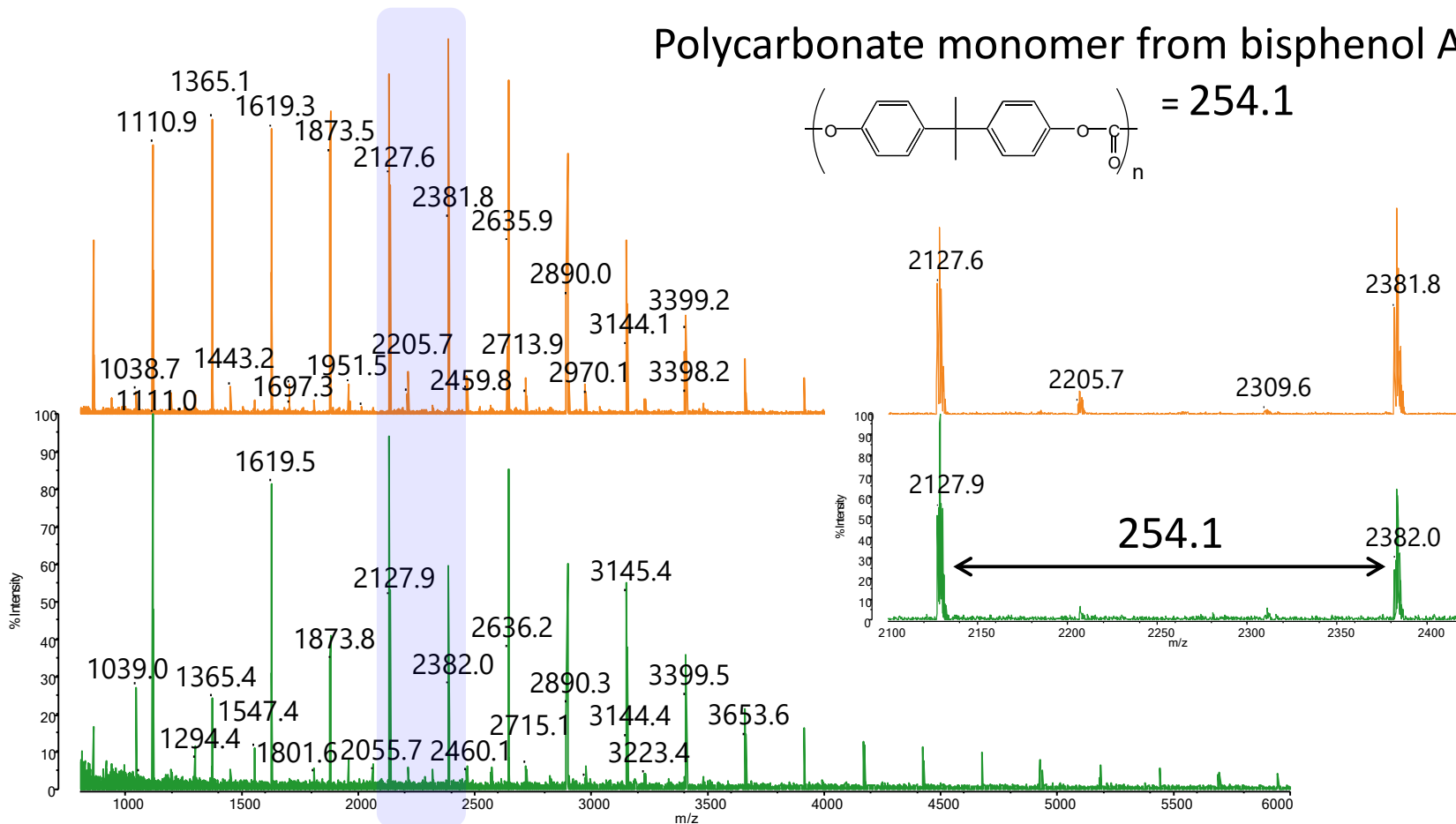
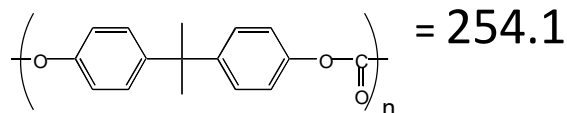


Analysis of 30-mer  
oligonucleotide



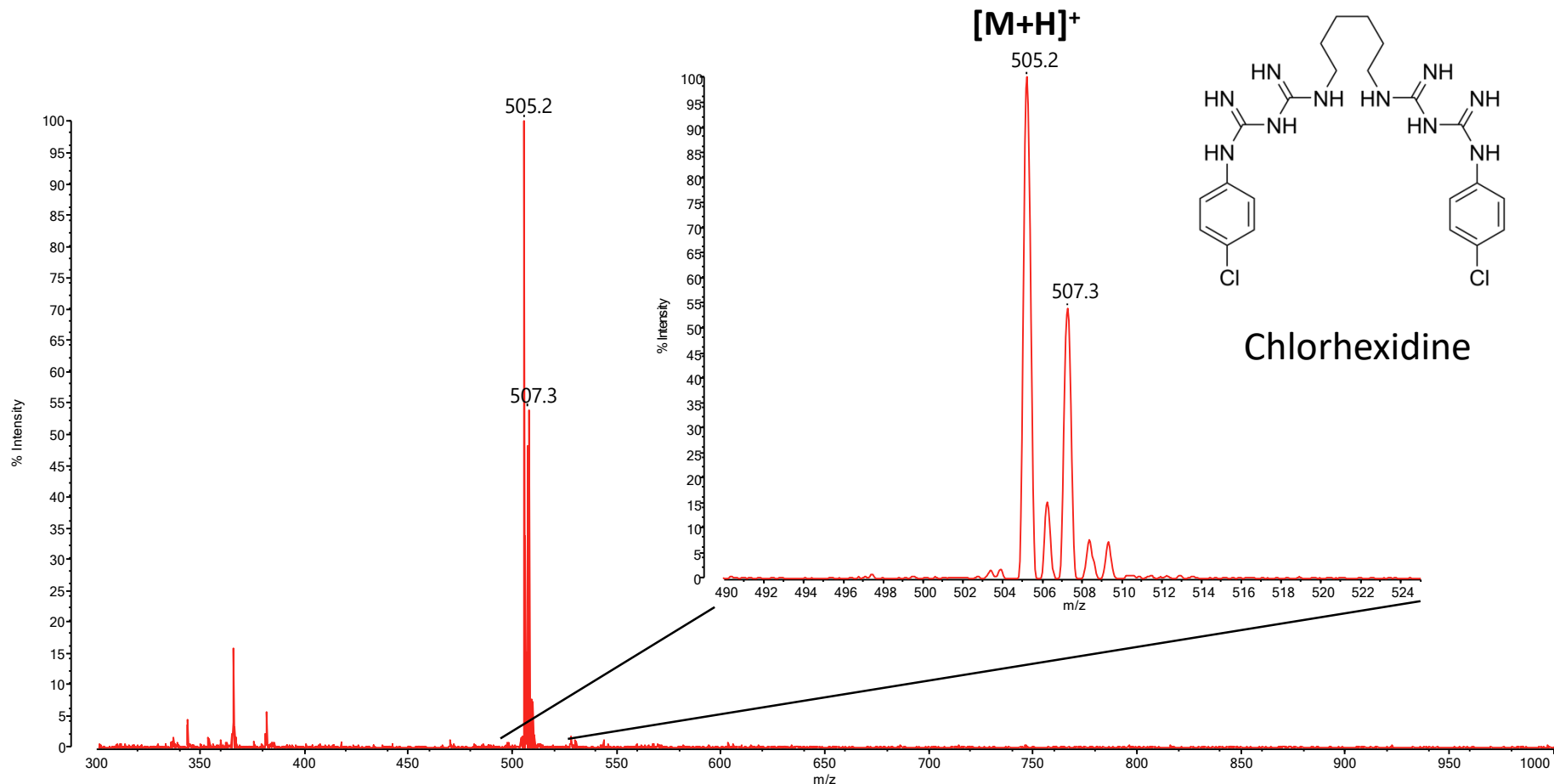
# Анализ полимеров - Поликарбонат

Polycarbonate monomer from bisphenol A:



Orange spectrum: polycarbonate standard  
 Green spectrum: polycarbonate from a CD

# Малые молекулы - Хлоргексидин



- Chlorhexidine gluconate is used as an antiseptic in some mouthwashes (e.g. Corsodyl<sup>®</sup>, Peridex<sup>™</sup>) to treat oral and gum problems and to reduce plaque and bacteria. However it can cause irritation or allergic reaction.
- 0.5 uL of neat mouthwash liquid applied to target + DHB

# Совместная лаборатория химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова и ГК «Интераналит»



С июня 2018 г.





# Совместная лаборатория химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и ГК «Интераналит»



## Методы

ГХ  
ГХ-МС

ВЭЖХ  
ВЭЖХ-МС



## Задачи

- Демонстрация
- Обучение
- Разработка методик
- Научные исследования





**Спасибо за внимание!**

