

Новые технологии масс- спектрометрического анализа в оборудовании Shimadzu

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

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

LCMS-8060

1. Высочайшая чувствительность
2. Технологии Ultra Fast
3. Непревзойденная надежность

Повышение эффективности транспорта ионов

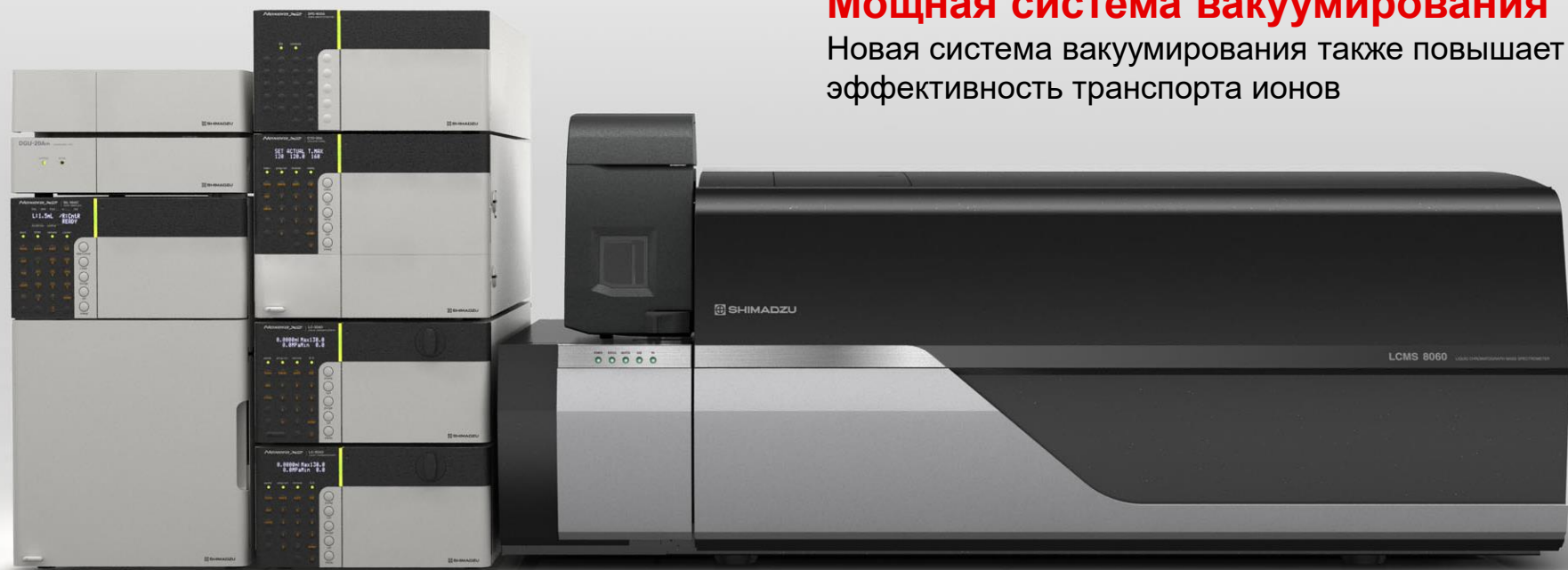
Новая линия десольватации увеличивает эффективность переноса ионов в три раза

Ионная оптика UF Qarray

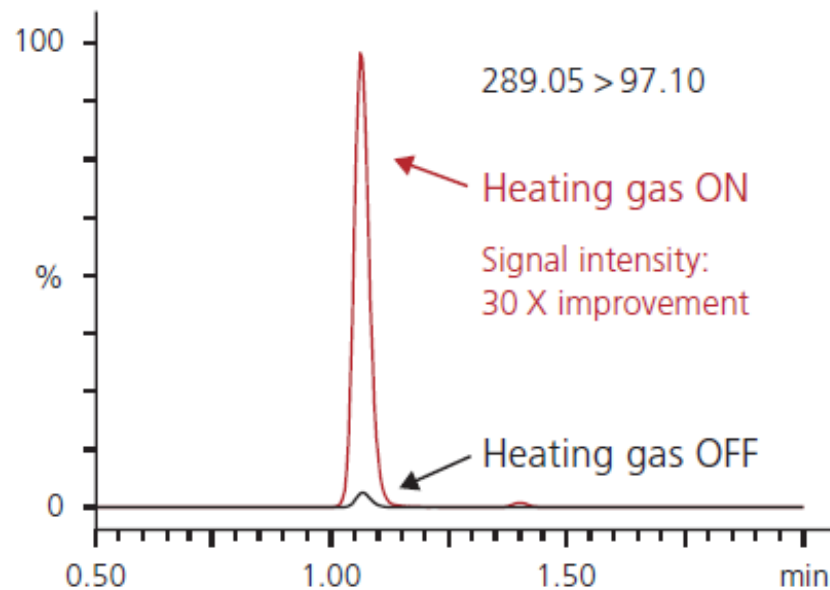
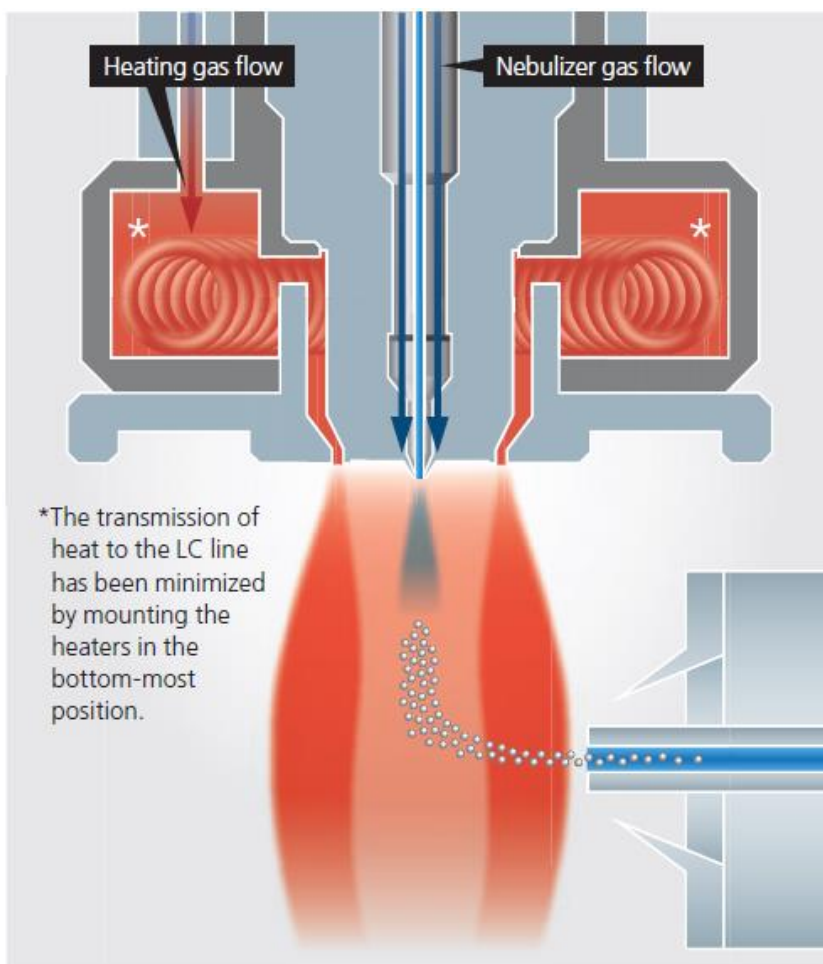
Усовершенствованная конструкция обеспечивает сфокусированный поток ионов без потерь

Мощная система вакуумирования

Новая система вакуумирования также повышает эффективность транспорта ионов



Электроспрей с нагреваемым газом



MRM Chromatogram of Testosterone

Электроспрей с нагреваемым газом:

- увеличение эффективности десольватации
- увеличение эффективности ионизации
- увеличение чувствительности

«Method Packages»: наборы готовых методик

➤ **Контроль качества воды: 80 определяемых соединений**

➤ **Агрехимикаты: 167 определяемых соединений**

➤ **Ветеринария: 42 лекарственных средства**

➤ **Наркология и судебная медицина: 386 наркотических и токсичных соединений**

➤ **Токсикологический скрининг: 106 токсичных соединений**

➤ **Метаболомика: 55 первичных метаболитов**

➤ **Липидомика: 130 медиаторов липидов**

➤ **ПО для LCMS неонатального скрининга**

Drugs of Abuse Method Package

ГОТОВЫЙ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ МЕТОД, ВКЛЮЧАЮЩИЙ:

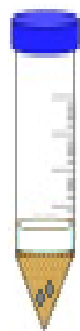
- Условия ВЭЖХ
- Параметры MRM
- Параметры сканирования дочерних ионов
- Библиотеку масс-спектров

#	Category	No.	Remarks
1	Hypnotics	70	68 benzodiazepines and 2 other hypnotics (zopiclone and zolpidem) and its metabolites
2	Illicit drugs	305	Narcotics and stimulants
3	Psychotropic	105	
4	Top 100 Digests	100	30: illicit drugs, 18: psychotropic, 37: hypnotics and 15: others

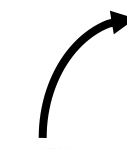
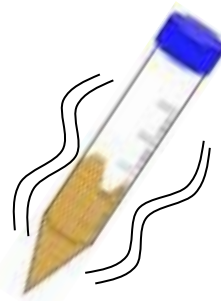
Rapid Tox Screening Package

MP включает процедуру пробоподготовки основанную на технологии QuEChERS и оптимизированную для использования в судебной медицине и токсикологии

Вода 0,5 мл
ACN 1,5 мл
Диазепан-d5 (IS) 100 нг
Гранулы из нержавеющей стали



Q-sep
QuEChERS
соль



Отбор супернатанта
Добавление 100 мкл
0,1% TFA

↓
Сушка

↓
Растворение в
200 мкл MeOH

↓
ЖХ-МС/МС анализ



Образец
0,5 мл

(MgSO₄, NaOAc)

[Встряхивание]

→ [Центрифугирование]

Rapid Tox Screening Package



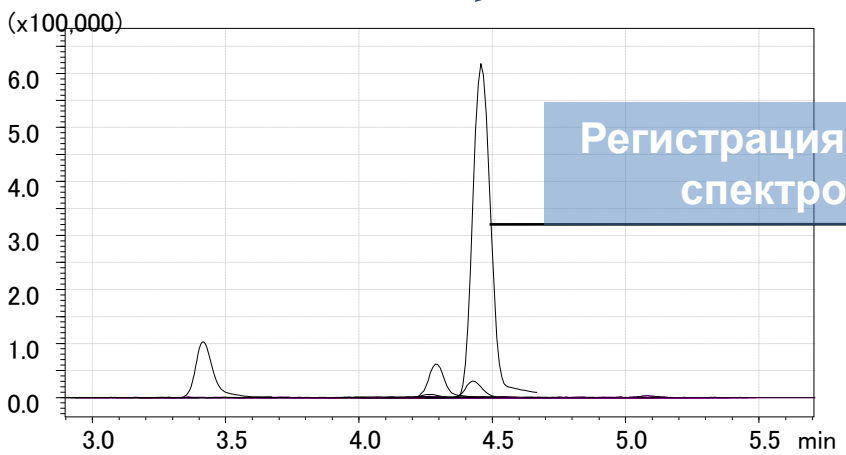
Ввод



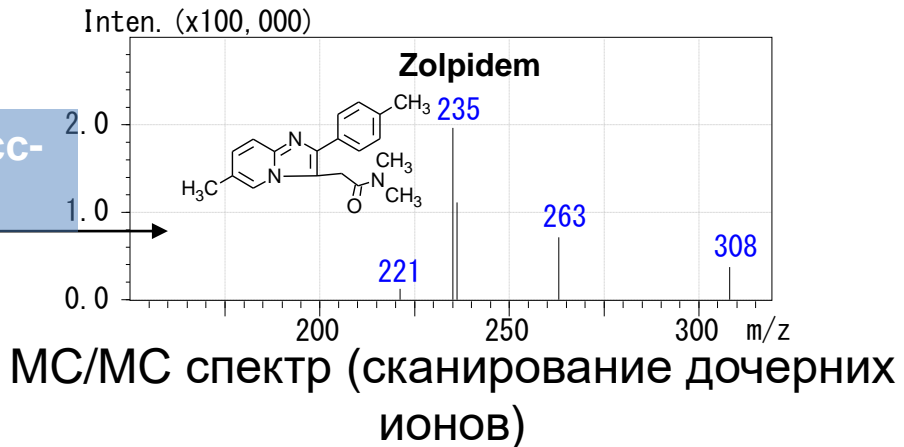
Кровь, плазма, моча
QuEChERS



Сбор данных



Регистрация масс-спектров



Поиск по библиотеке

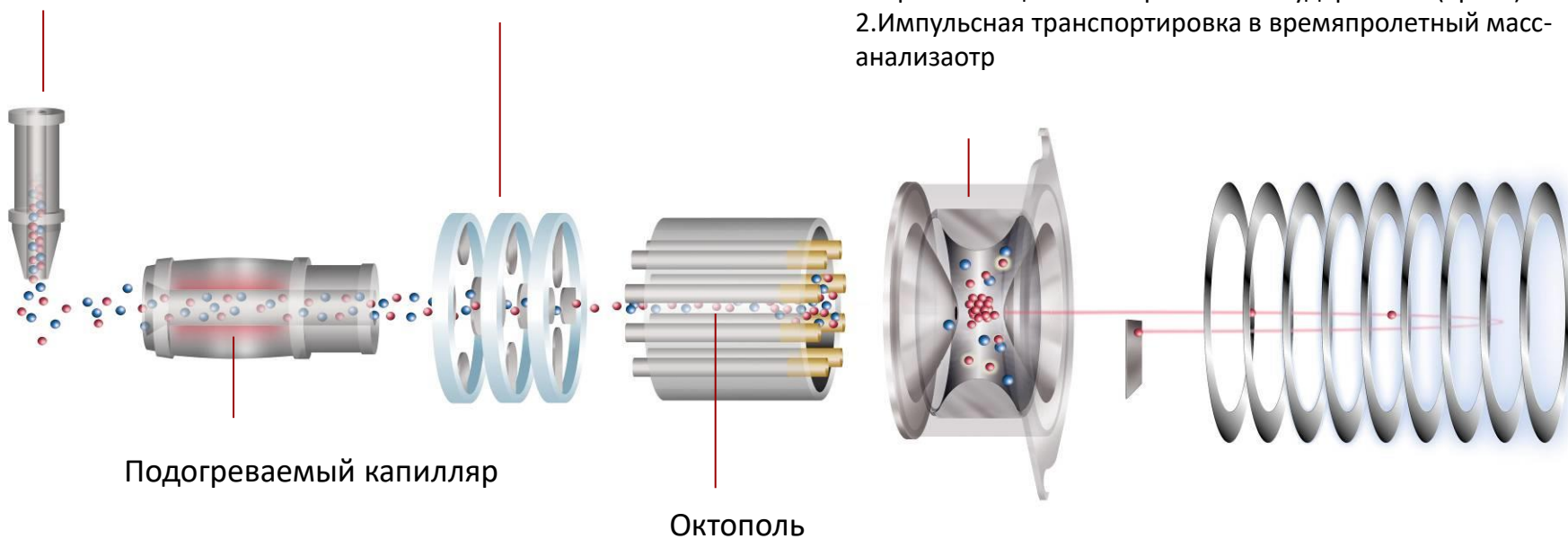


Источник ионизации при атмосферном давлении

Квадруполь для предварительной фокусировки

Ионная ловушка

1. Фрагментация активированная соударением (аргон)
2. Импульсная транспортировка в времяпролетный масс-анализатор



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



LCMS-9030

LIQUID CHROMATOGRAPH MASS SPECTROMETER

Чувствительность LCMS-9030 Q-TOF



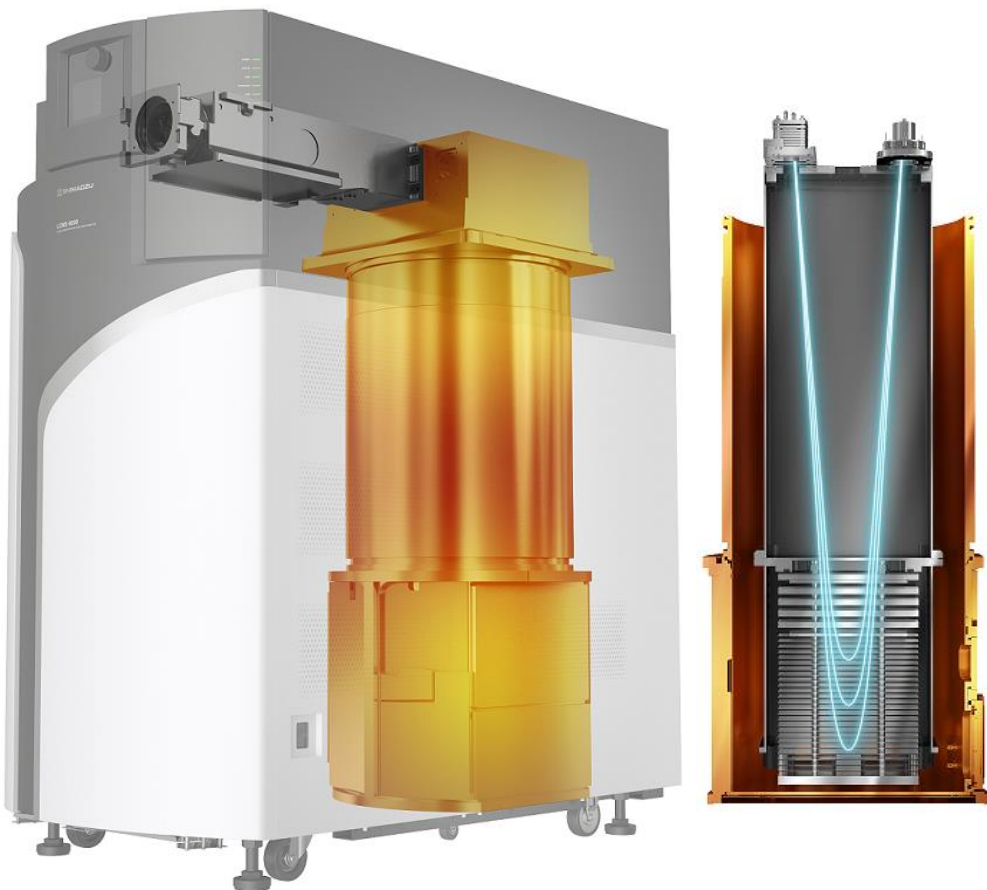
Объединение технологий сверхбыстрых квадруполей Shimadzu (Q) с времяпролетным анализатором масс высокого разрешения (TOF)

- ✓ Ионная оптика, быстродействующий квадруполюсный масс-анализатор и ячейка соударительной диссоциации, успешно зарекомендовавшие себя в тандемных квадруполюсных 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

LCMS-9030: улучшенная конструкция TOF



Увеличенная стабильность TOF

3 независимых контроллера для обеспечения стабильности температуры

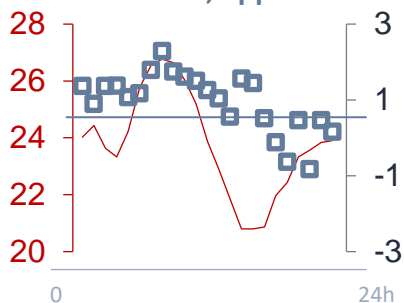
- ✓ Незначительная вариабельность температуры времяпролетной трубки может существенно влиять на стабильность определения масс и величину разрешения по массам
- ✓ Для увеличения стабильности и точности определения массы обычно требуется частая калибровка с использованием внутреннего стандарта массы
- ✓ 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

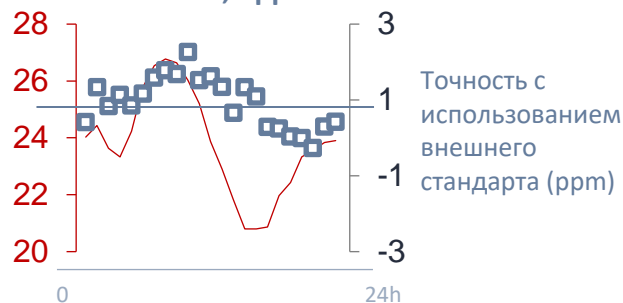
- ✓ Возможность точно контролировать температуру времяпролетной трубки обеспечивает выдающуюся стабильность определения масс
- ✓ Для точного контроля температуры используются 3 независимых нагревателя в камере времяпролетной трубки

LCMS-9030: reshaping TOF performance

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

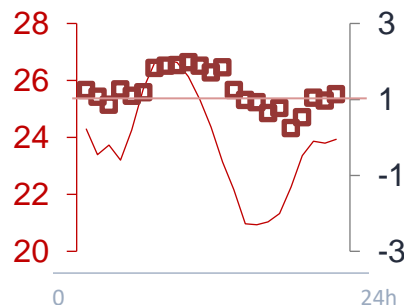


Гризеофульвин (+) m/z 353.0786
Точность $\pm 1,5$ ppm

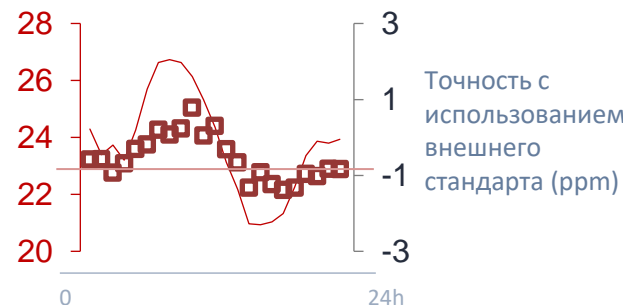


Точность с использованием внешнего стандарта (ppm)

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

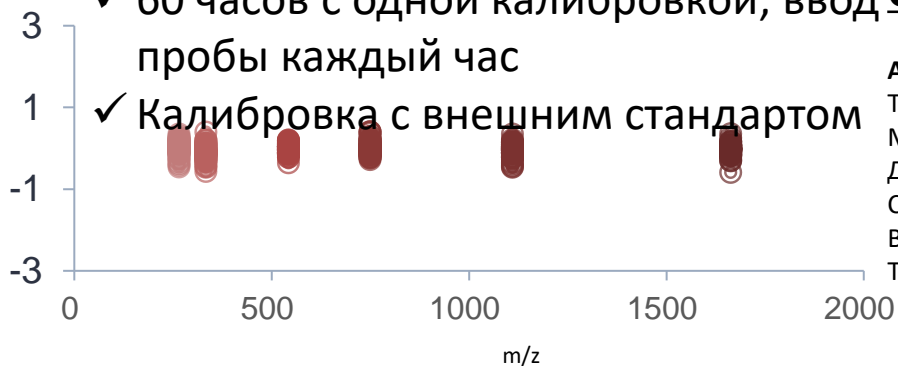
Высокая стабильность определения масс в ходе 60-часового непрерывного анализа с переключением полярности ионизации

- ✓ 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

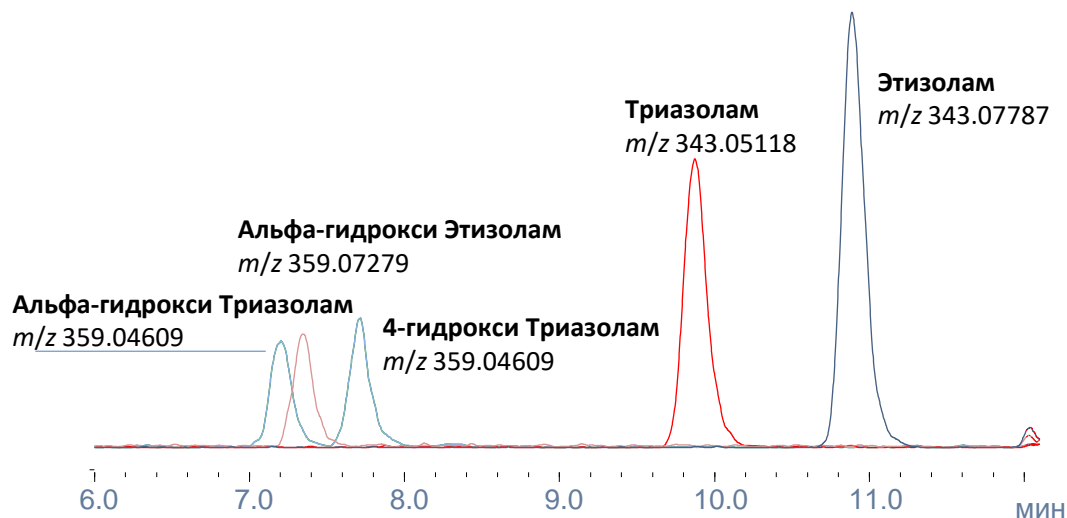
Аналит	100 ppb	50 ppb	10 ppb	5 ppb	1 ppb	10 ppb ц. кровь	10 ppb плазма
Этизолам	-0.215	0.186	0.256	0.443	0.690	0.789	0.903
Альфа-гидрокси Этизолам	-0.228	-0.253	-0.637	0.932	0.281	0.985	-0.314
Триазолам	0.475	0.897	0.174	0.413	0.679	-0.787	0.005
Альфа-гидрокси Триазолам	0.612	-0.807	-0.284	-0.403	-0.103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

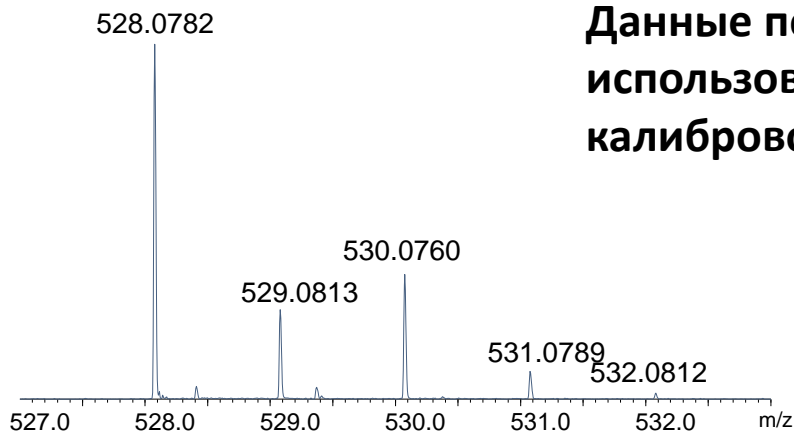
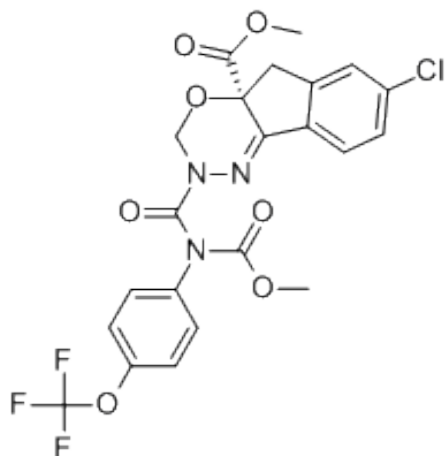
Точность определения масс < 1 ppm

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)
C₂₂H₁₇ClF₃N₃O₇

Применение LCMS-9030 для контроля качества пищевой продукции

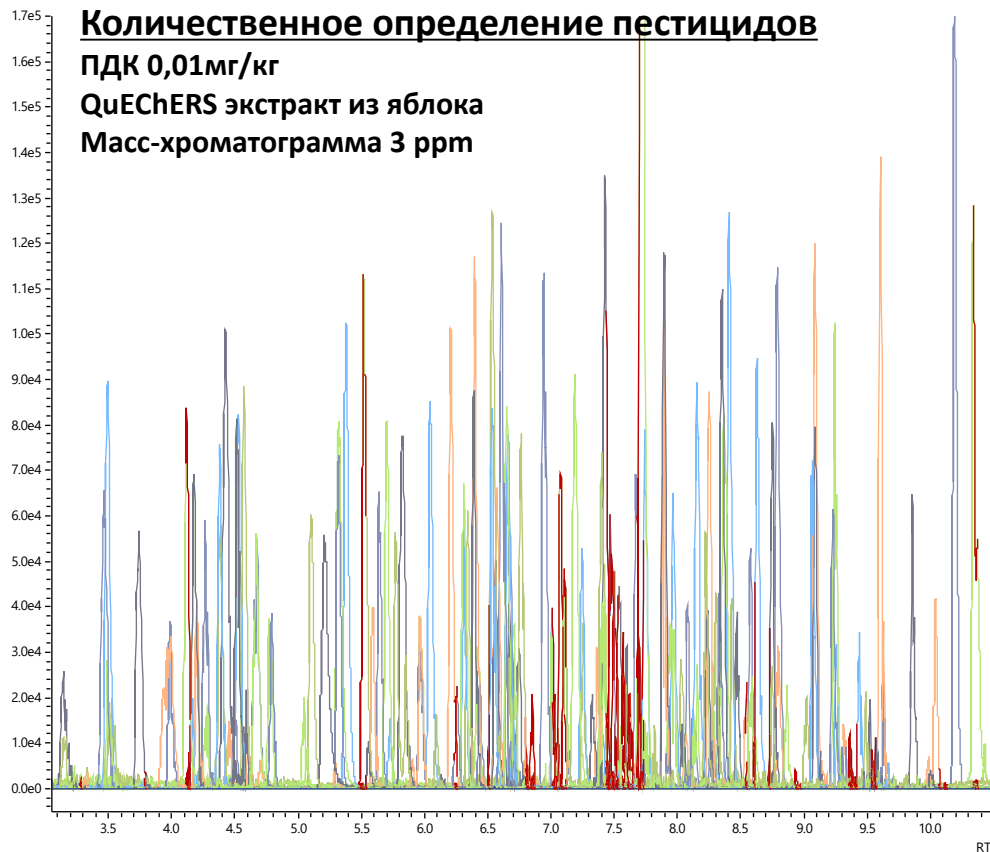
1:142.0086+/-3.0ppm(+) (id:1)

Количественное определение пестицидов

ПДК 0,01мг/кг

QiEChERS экстракт из яблока

Масс-хроматограмма 3 ppm



1.24e3

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

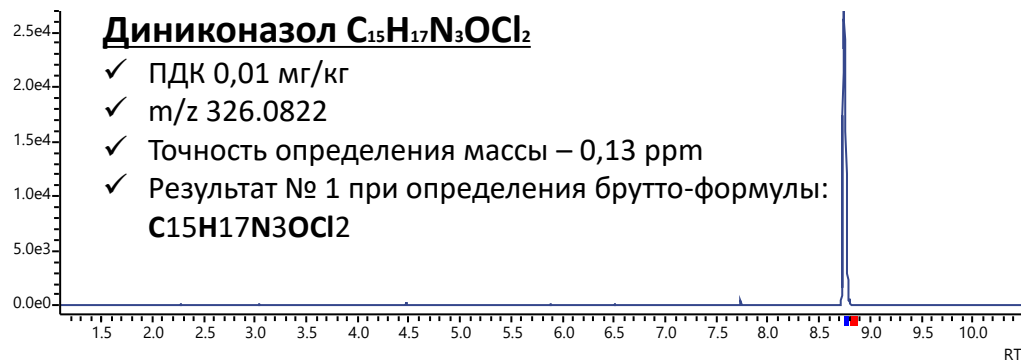
- ✓ Регистрация MRM-переходов для каждого пестицида со скоростью 50 спектров в секунду
- ✓ Регистрация иона для количественного определения в режиме высокой точности по массе

Данные получены с использованием внешнего калибровочного стандарта

Определение пестицидов в QuEChERS экстракте

1:326.0822+/-5.0ppm(+)

2.70e4



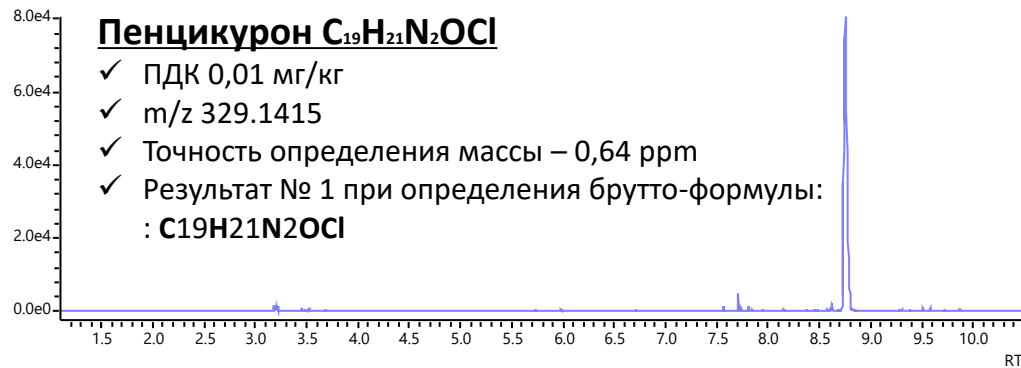
Определение брутто-формул

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

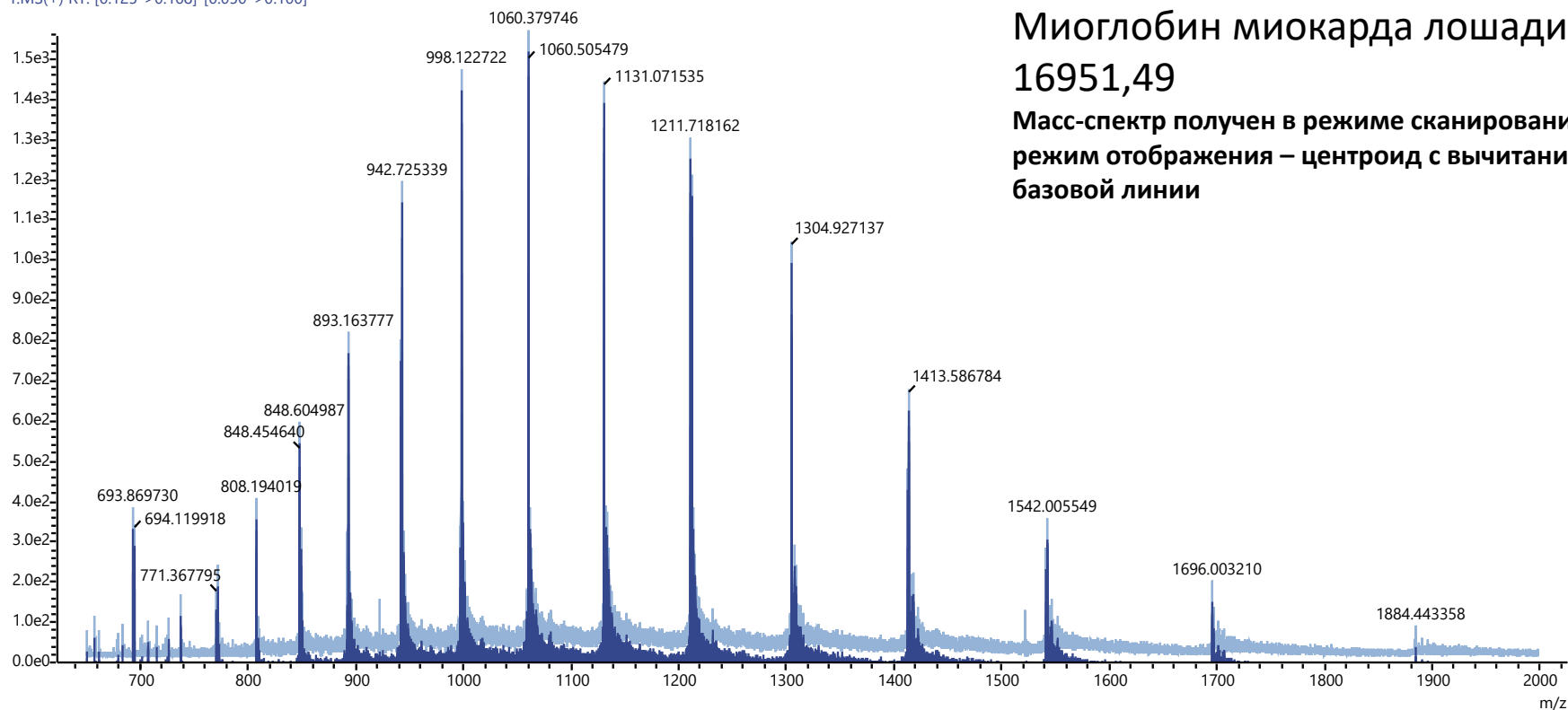


Данные получены с использованием внешнего калибровочного стандарта

Pred. m/z	Meas. m/z	Diff. (mDa)	Formula (M)	Diff. (ppm)
329.141517	329.141728	0.211	$C_{19}H_{21}N_2OCl$	0.6397
329.141538	329.141728	0.190	$C_8H_{20}N_6O_8$	0.5770
329.141721	329.141728	0.007	$C_{16}H_{24}O_5S$	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

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



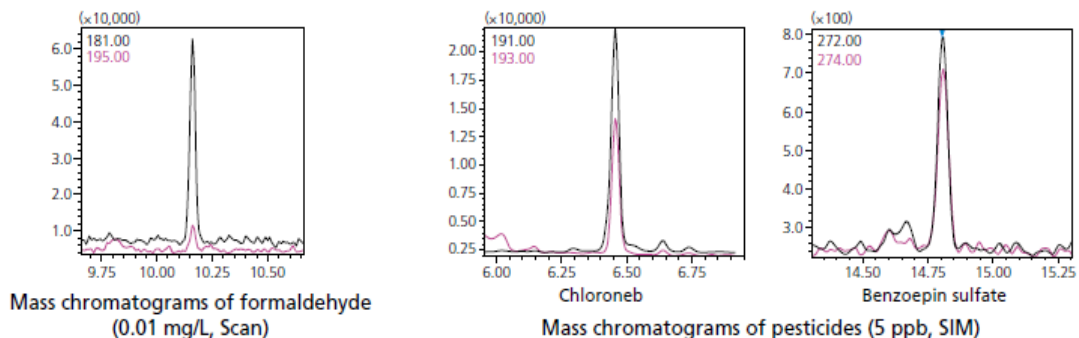
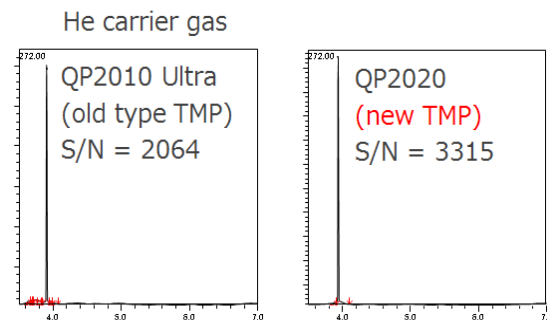
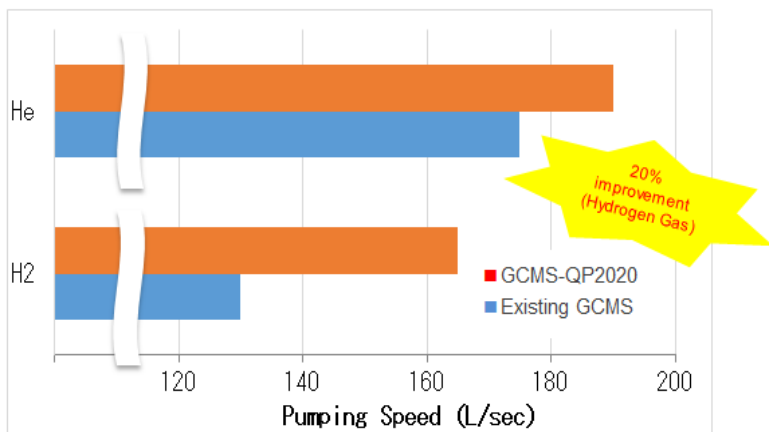
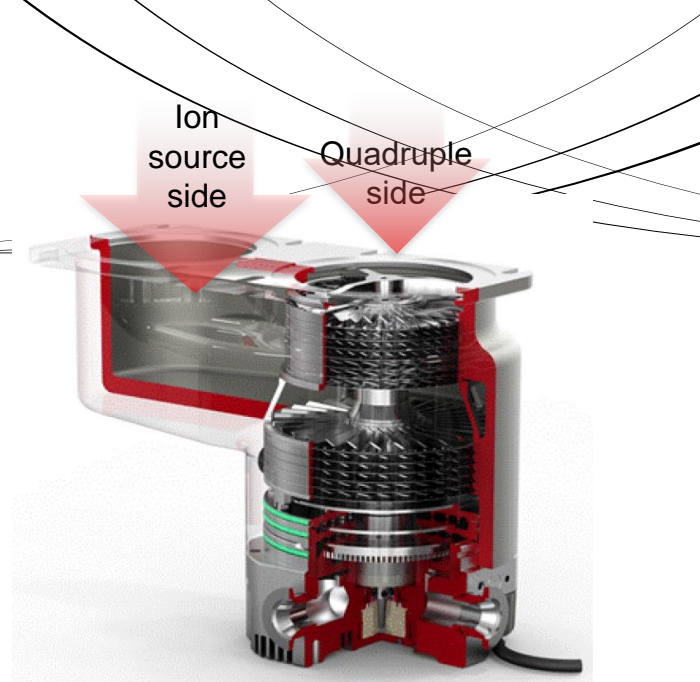
QP-2010SE –инструмент для рутинного анализа с ионизацией электронным ударом, поддерживает только тонкие капиллярные колонки



На всех приборах возможна установка дополнительных ГХ детекторов.

ГХ-МС на азоте в качестве газа носителя

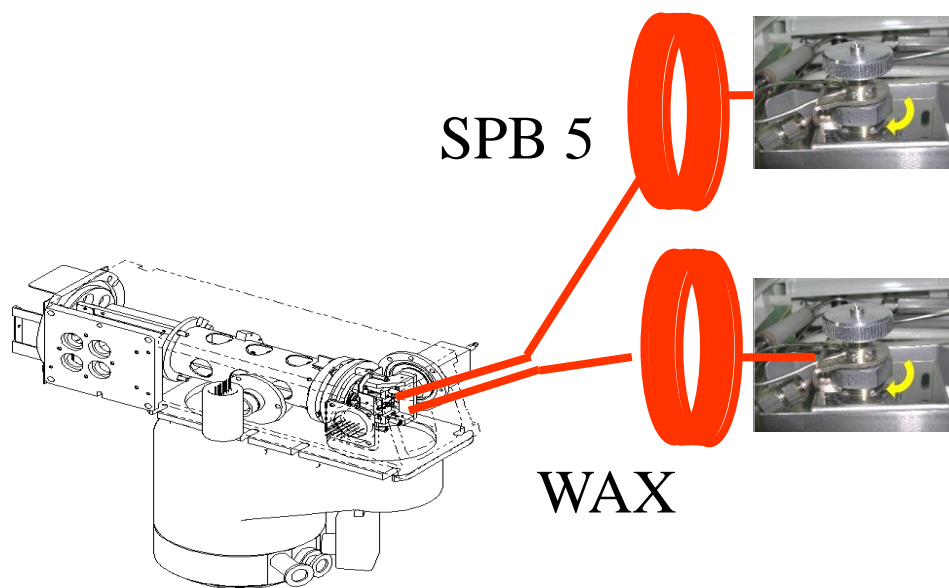
- Новый турбомолекулярный насос
 - Возможно использование азота
 - Улучшение сигнала на гелие и водороде



Analysis Result with Hydrogen Carrier Gas

Два ГХ канала в один масс-спектрометр По настоящему

- Одновременная установка двух разных колонок в один детектор
 - GCMS-QP2020:
 - поток газа носителя до 15 мл/мин
 - работа с двумя колонками
 - Переключение между каналами без замены колонки



Twin Line MS System



Устройства ввода пробы



AOC-6000



GCxGCMS



HS-20



TD-20



Py-3030D



Optic-4



DI-2010

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

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

ВЭЖХ

ГХ-МС

ВЭЖХ-МС



Задачи

- Демонстрация
- Обучение
- Разработка методик
- Научные исследования





Спасибо за внимание!

