



«Масс-спектрометрия высокого разрешения - эффективный метод поиска неизвестных соединений в тяжелой биологической матрице»

Колунтаев Дмитрий Александрович



6 - 7 октября, Москва, АСТЕ

Введение

В настоящее время точность детектируемой массы является весомым аргументом в решении задачи не только установления элементного состава изучаемого соединения, но и достоверности присутствия целевых соединений в биологических объектах, в частности в таких как моча, кровь или ткани организма, особенно подвергшиеся гнилостному изменению.



Кровь



Моча



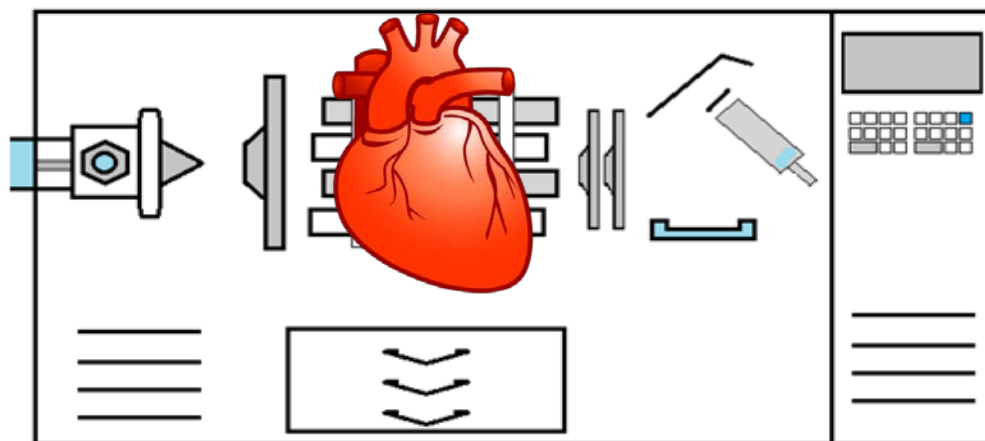
Ткани организма

Все эти объекты являются сложными органическими матрицами с большим количеством соединений и соэкстрактивных веществ, которые образуют **интенсивный матричный фон** на протяжении всего хромато-масс-спектрометрического процесса.

В настоящее время, для решения подобных проблем эксперты используют типичные квадрупольные масс-спектрометрические детектора, в комплексе с программой деконволюции данных.

«Разрешающая способность»

«Сердце» масс-спектрометра – это анализатор!



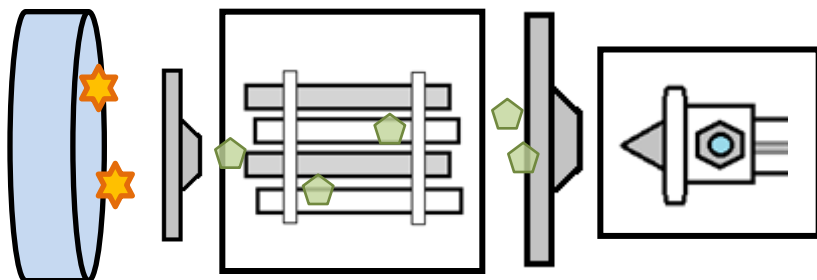
1. Точность измерения масс;

2. Разрешающая способность

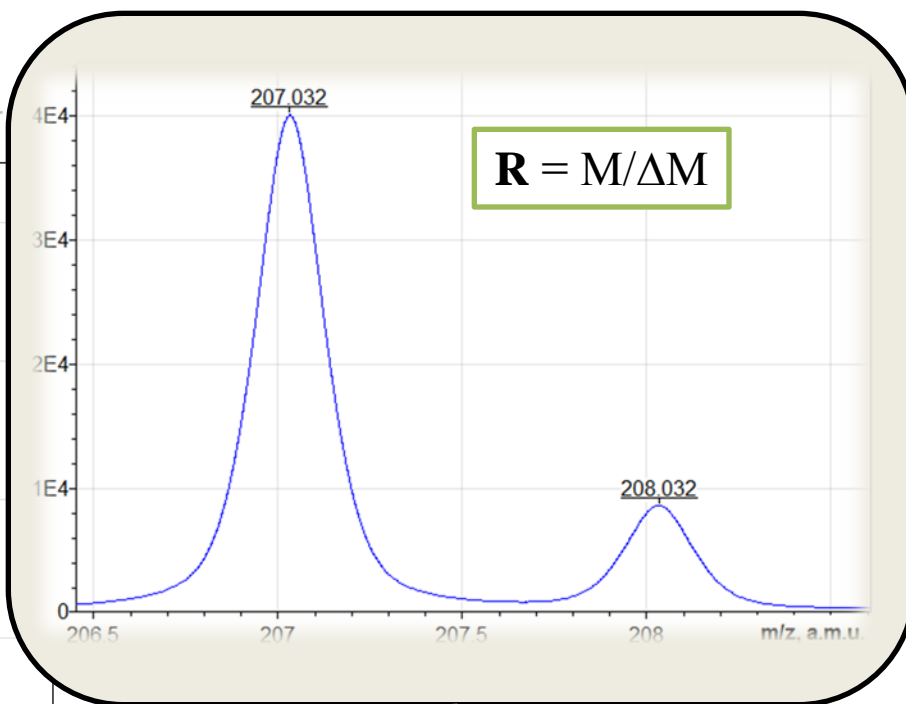
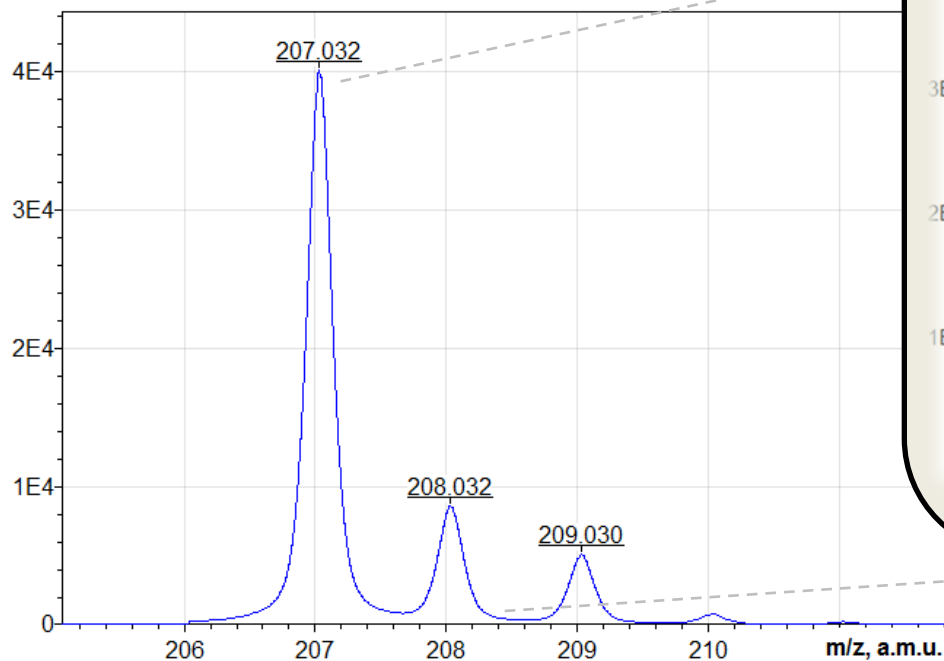
Разрешающая способность и точность измерения массы

Квадрупольные анализаторы – приборы с **низким разрешением**.

Quadrupole (Q & QQQ)



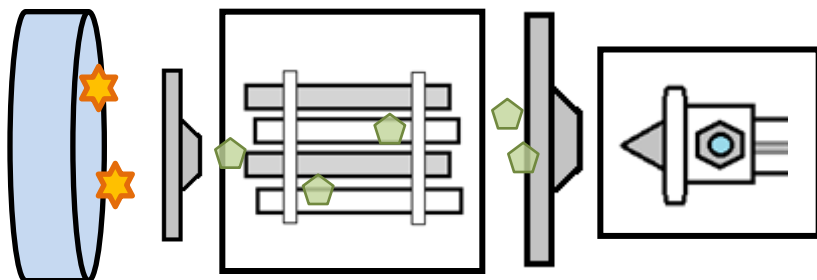
Разрешение по массе (R) означает способность масс-спектрометра разделять два соседних пика однозарядных ионов равной интенсивности в профиле масс-спектра.



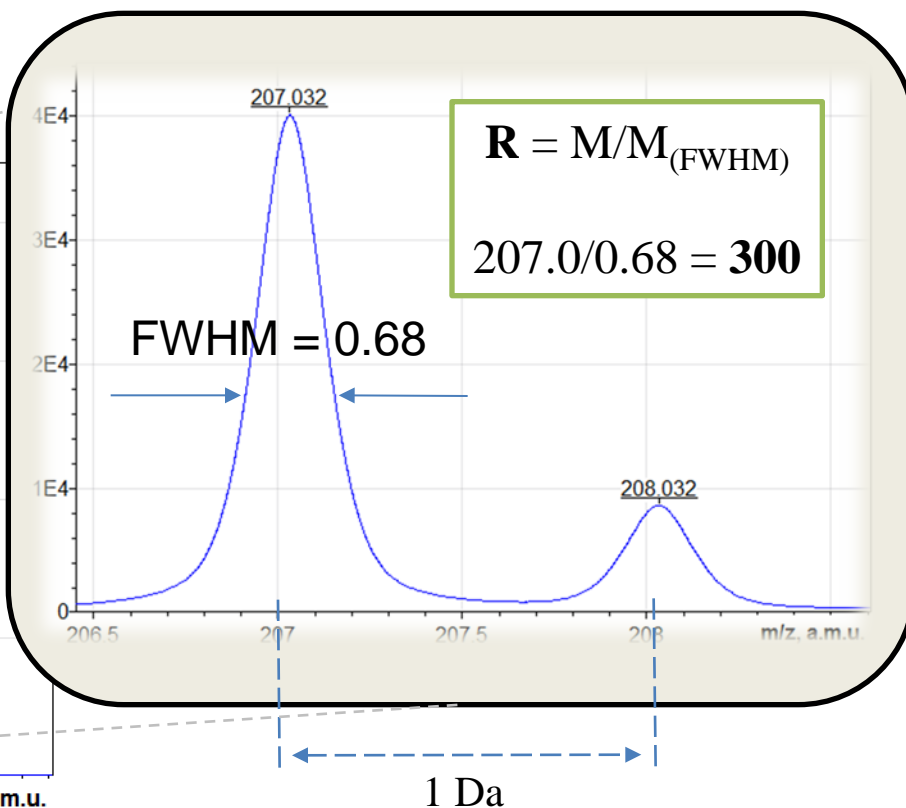
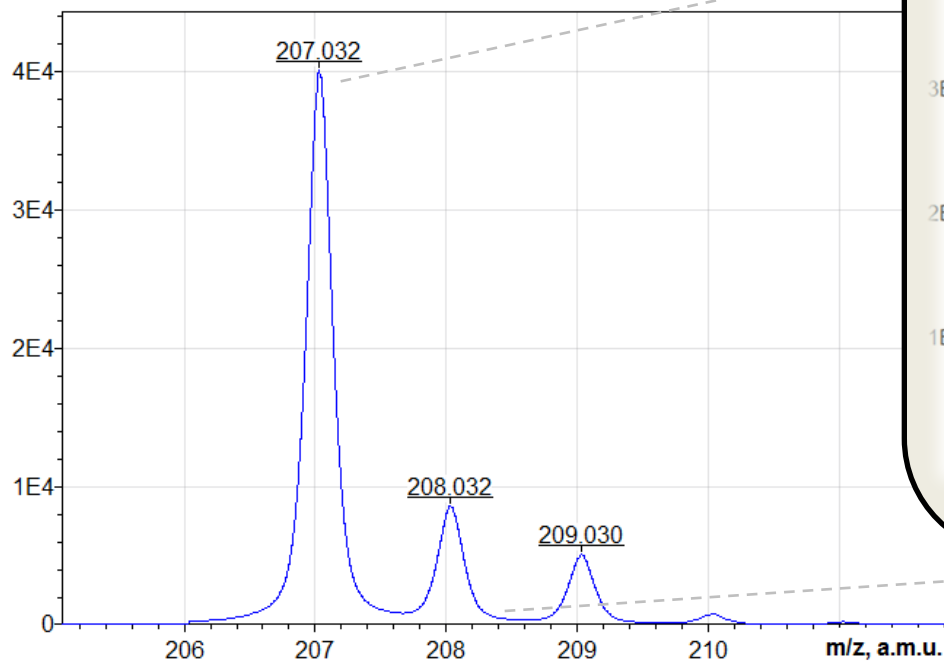
Разрешающая способность и точность измерения массы

Квадрупольные анализаторы – приборы с **низким разрешением**.

Quadrupole (Q & QQQ)



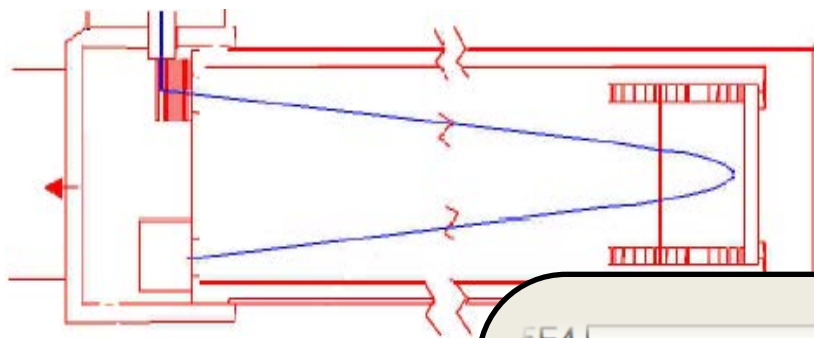
Разрешение по массе (R) означает способность масс-спектрометра разделять два соседних пика однозарядных ионов равной интенсивности в профиле масс-спектра.



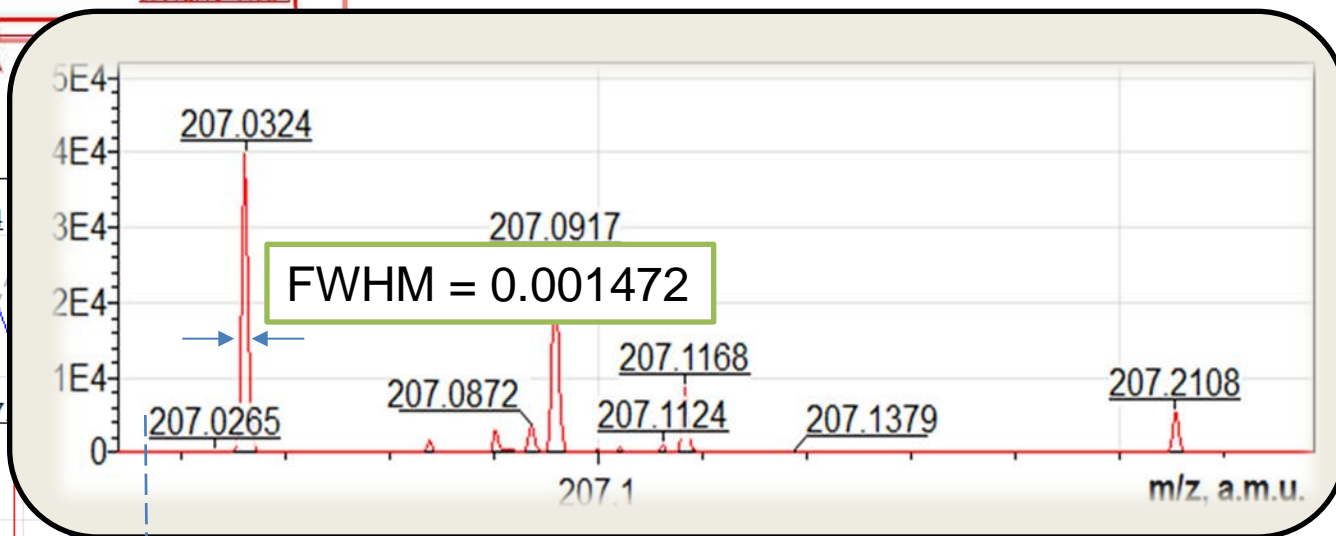
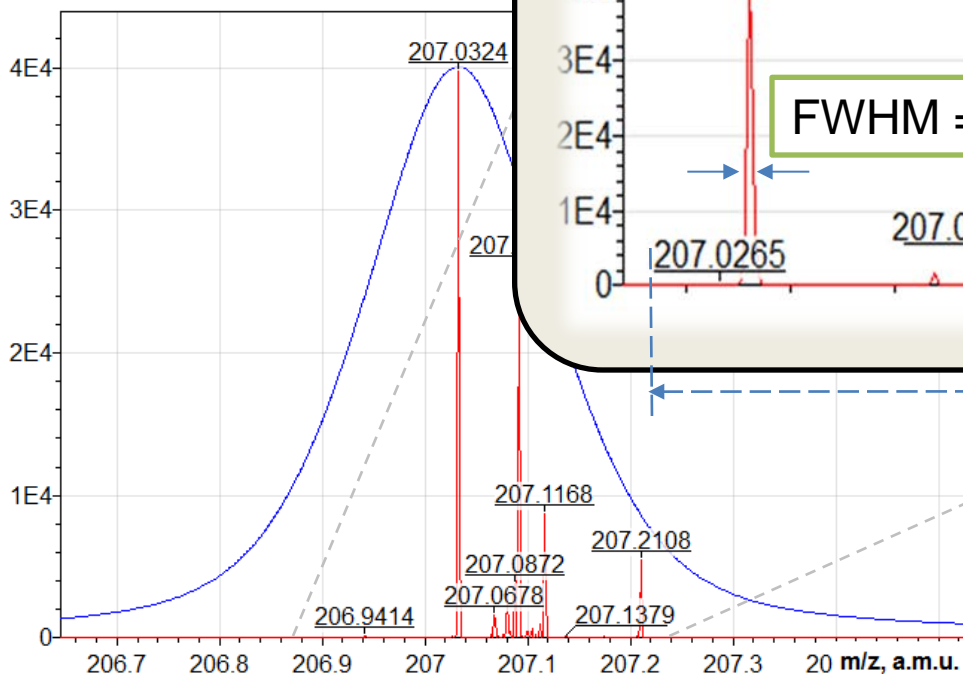
Разрешающая способность и точность измерения массы

Времяпролётные анализаторы – приборы с **высоким разрешением**.

Time of flight (TOF)



Разрешающая способность времяпролётных приборов достигает значений от 20,000 до 150,000 и выше.

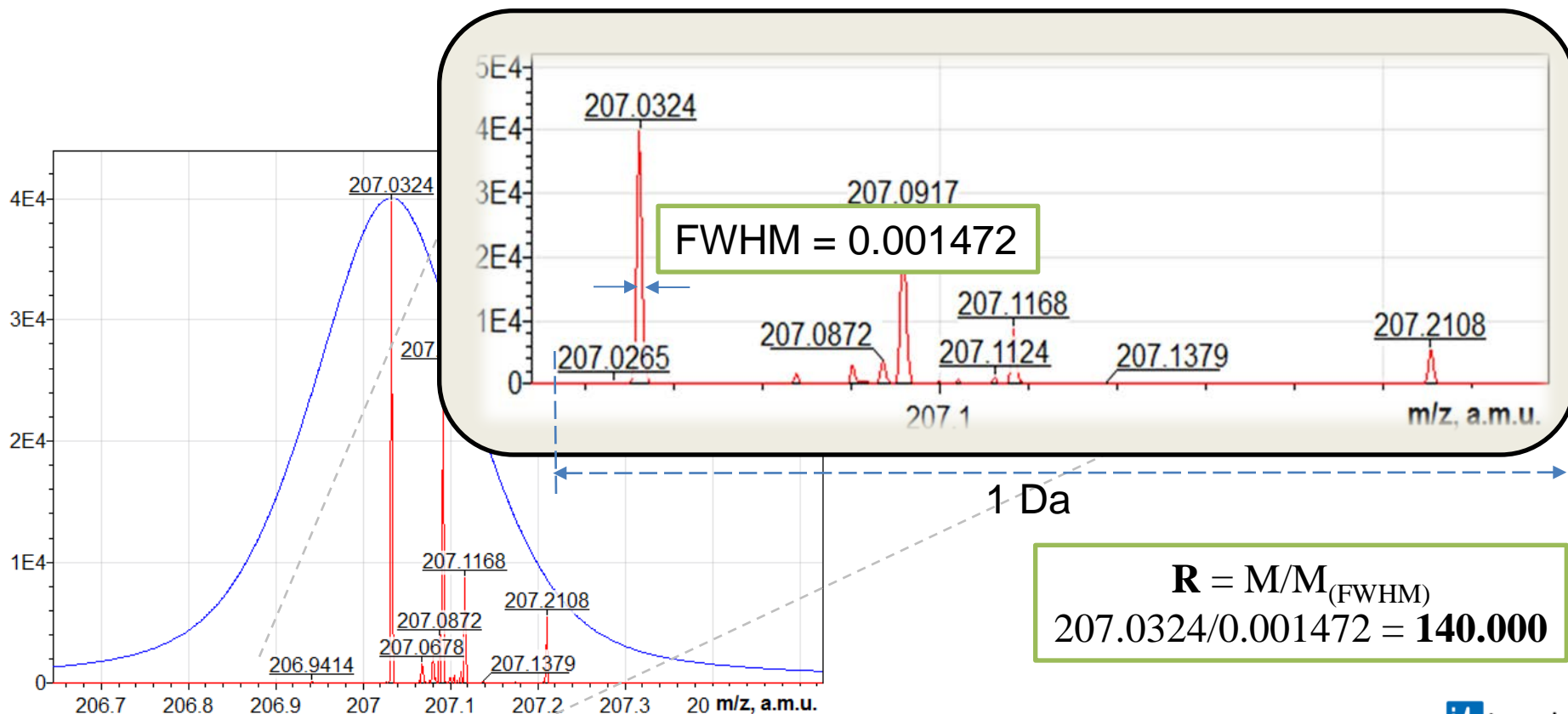


$$R = M/M_{(FWHM)}$$
$$207.0324/0.001472 = \mathbf{140.000}$$

Разрешающая способность и точность измерения массы

Гипотеза:

Высокое разрешение является ключевым моментом анализа сложных органических матриц. Только с помощью высокого разрешения можно детектировать, изучить и охарактеризовать все индивидуальные компоненты смеси. При этом, чем выше разрешение, тем существует возможность для анализа всё более и более сложных матриц.

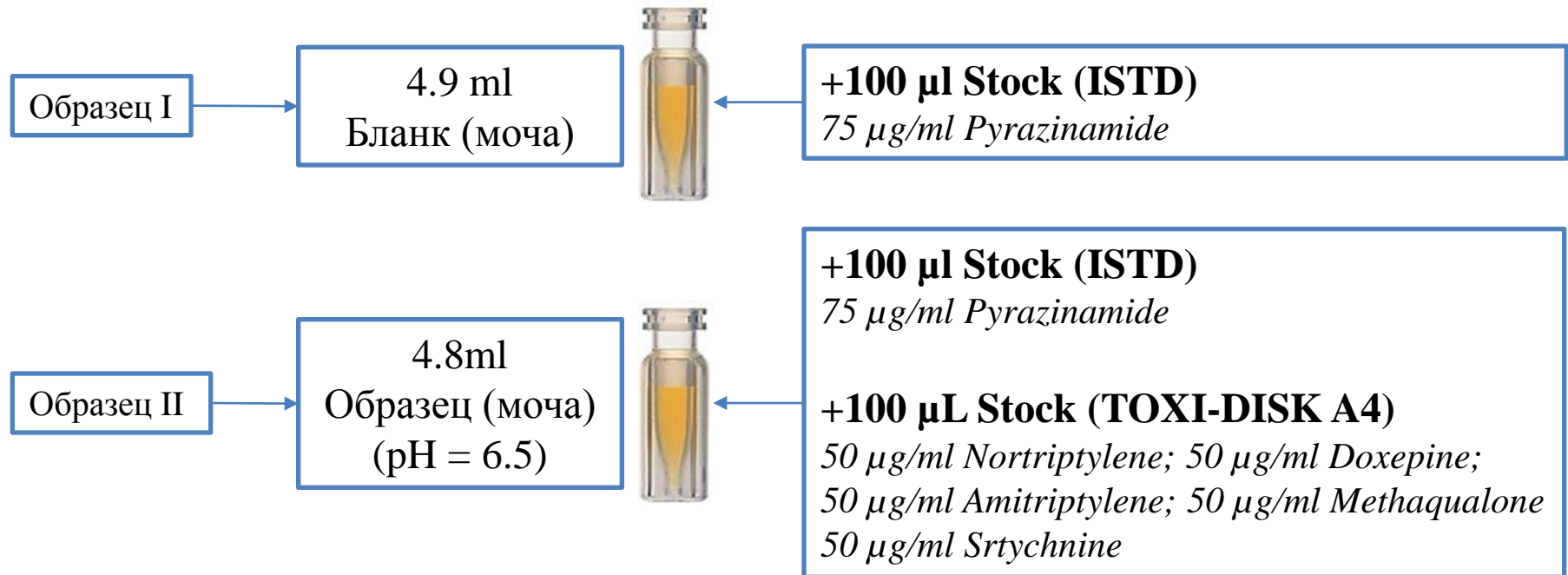


Цель эксперимента

Цель эксперимента:

Представление преимущества использования высокоразрешающего времяпролетного масс-спектрометра с газо-хроматографическим разделением для контроля за немедицинским применением сильнодействующих и наркотических средств.

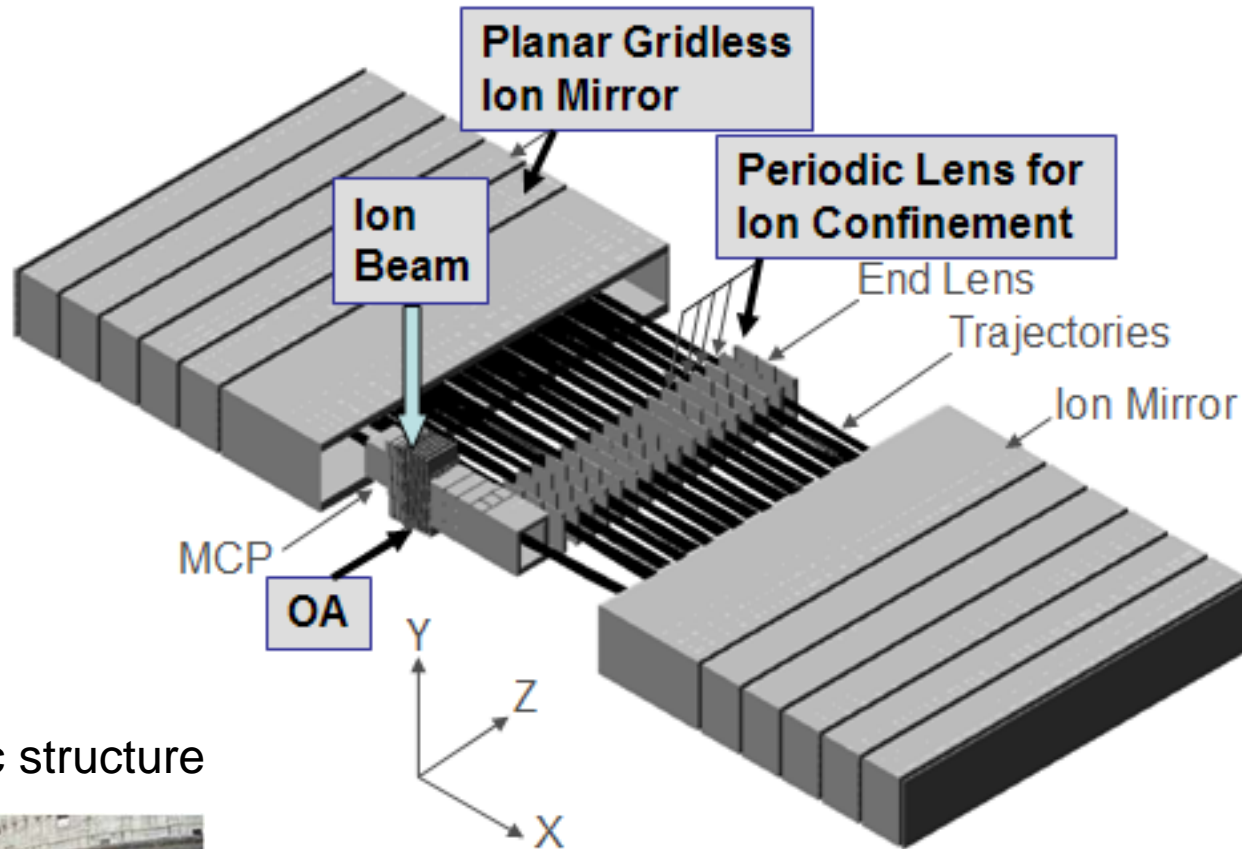
Схема эксперимента



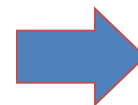
Экстрагирование искоемых компонентов из пробы мочи смесью растворителей:

Этилацетат:Изопропанол = 9:1

Multi-Reflecting TOF MS*

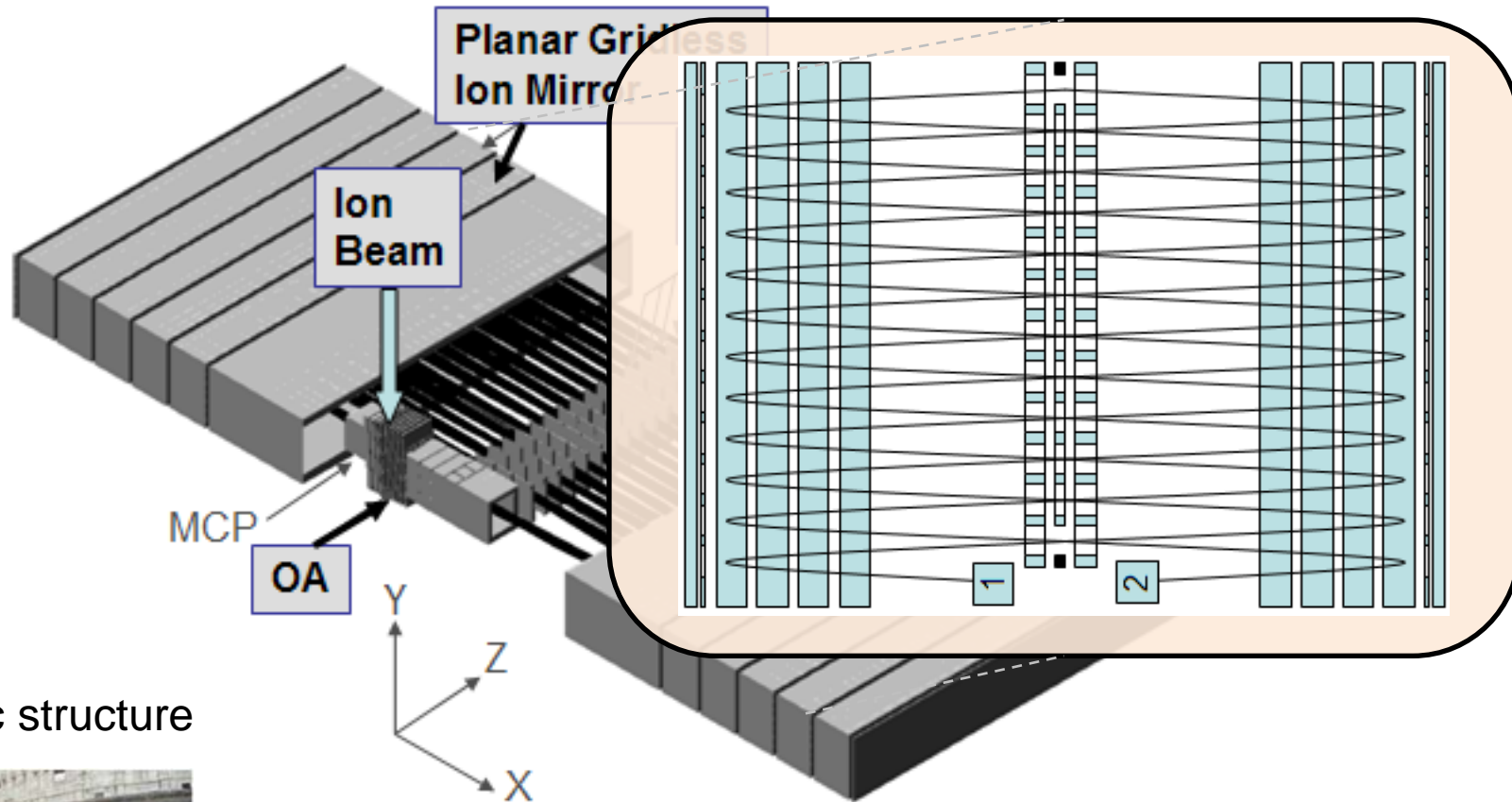


Periodic structure

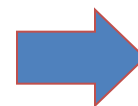


***Extended Folded Flight path
Full mass range
Ion Spatial Confinement***

Multi-Reflecting TOF MS*



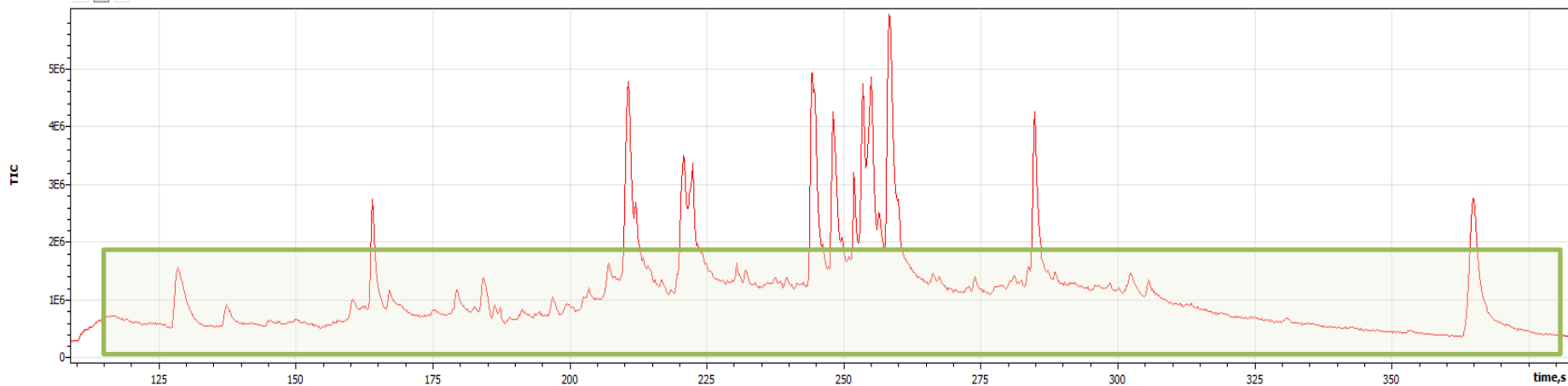
Periodic structure



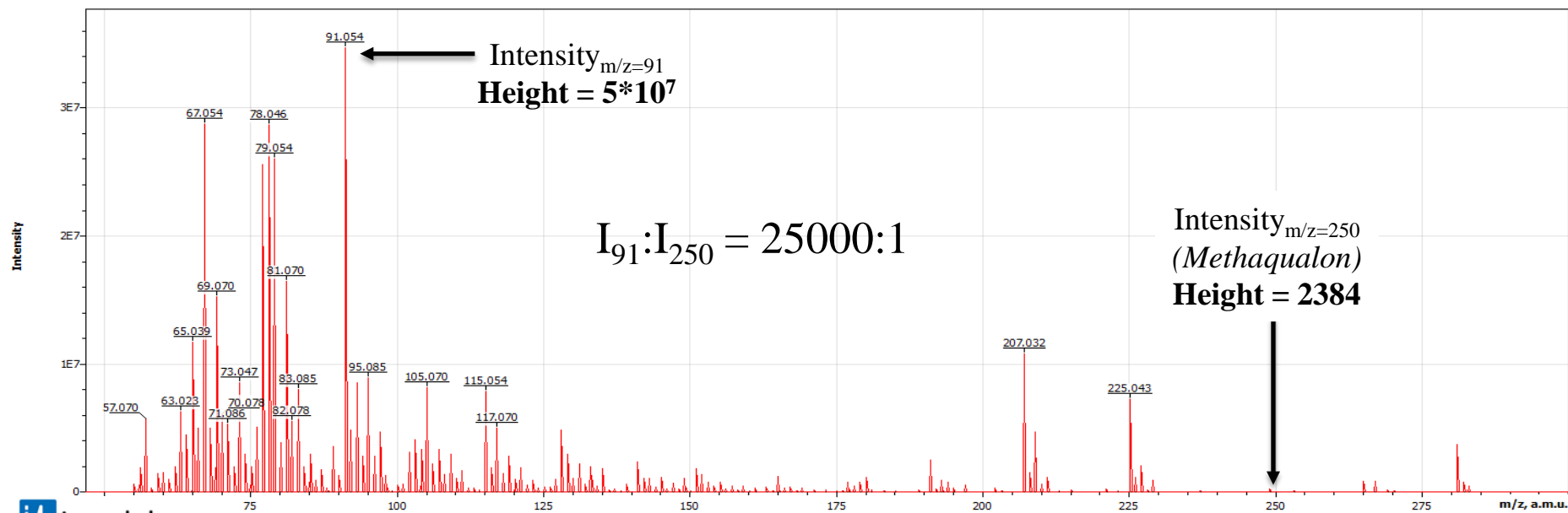
***Extended Folded Flight path
Full mass range
Ion Spatial Confinement***

GC-HRT анализ

Профиль полного ионного тока (TIC) модельного образца мочи с внесением 5 наркотических соединений

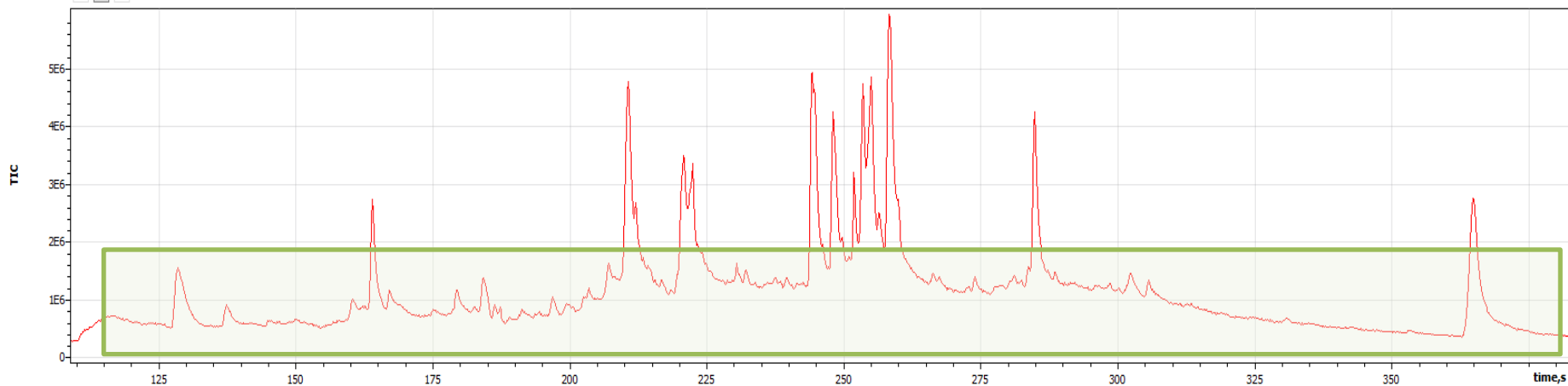


Суммированный масс-спектр профиля модельного образца мочи

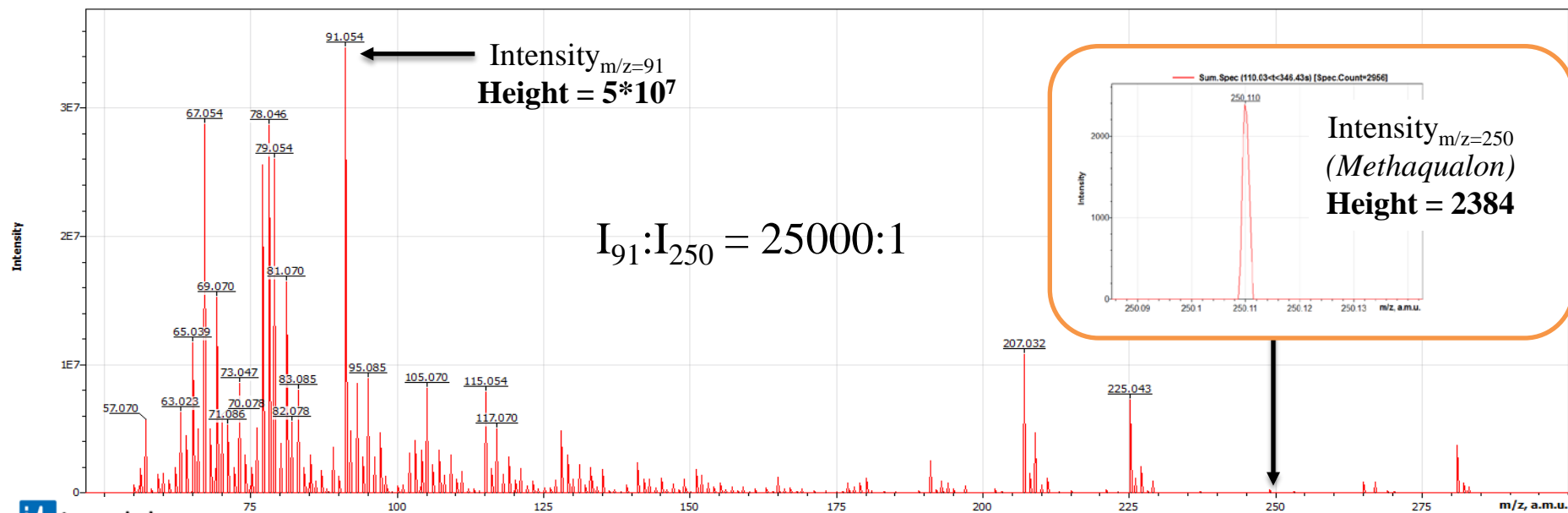


GC-HRT анализ

Профиль полного ионного тока (TIC) модельного образца мочи с внесением 5 наркотических соединений

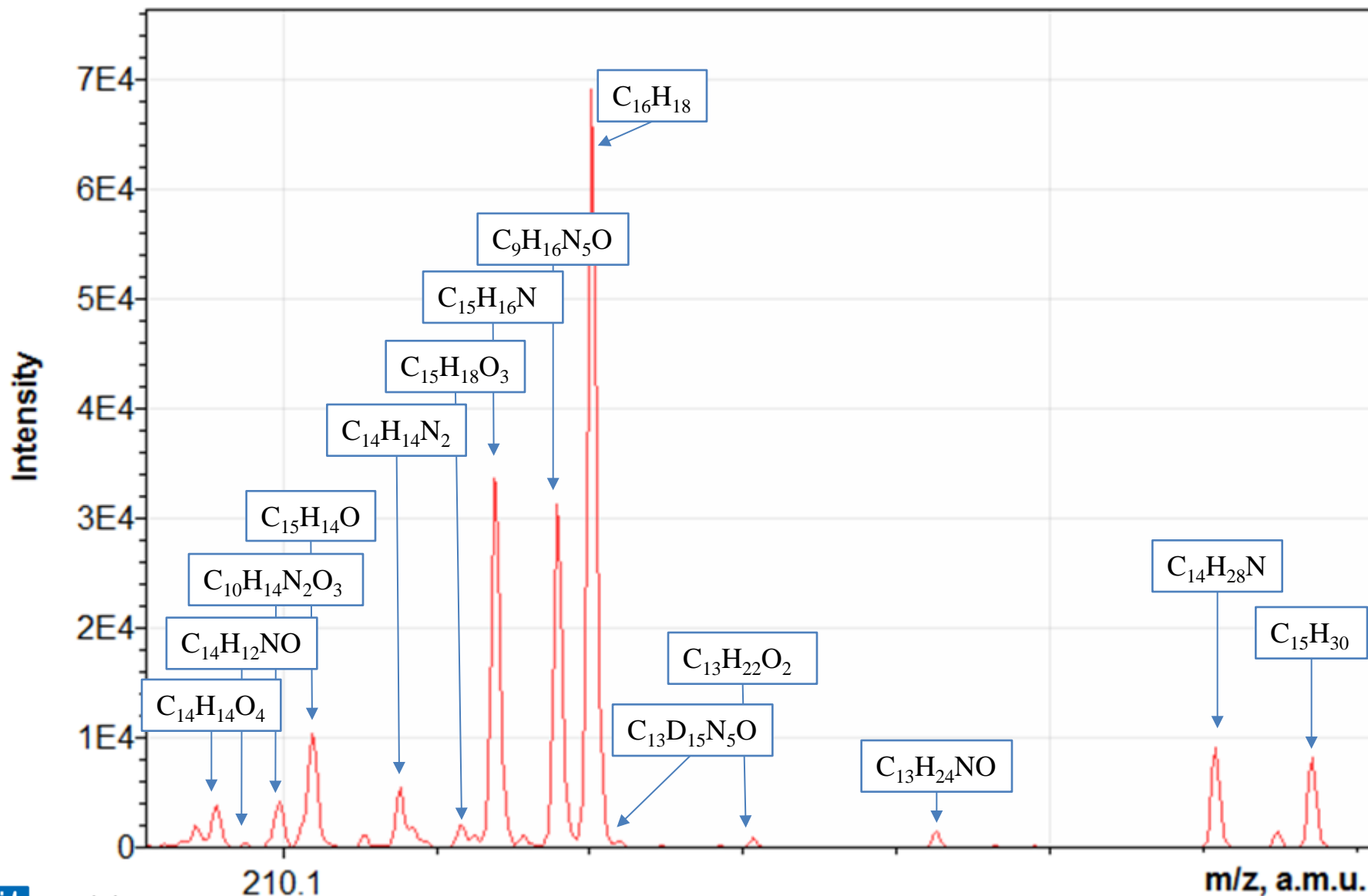


Суммированный масс-спектр профиля модельного образца мочи

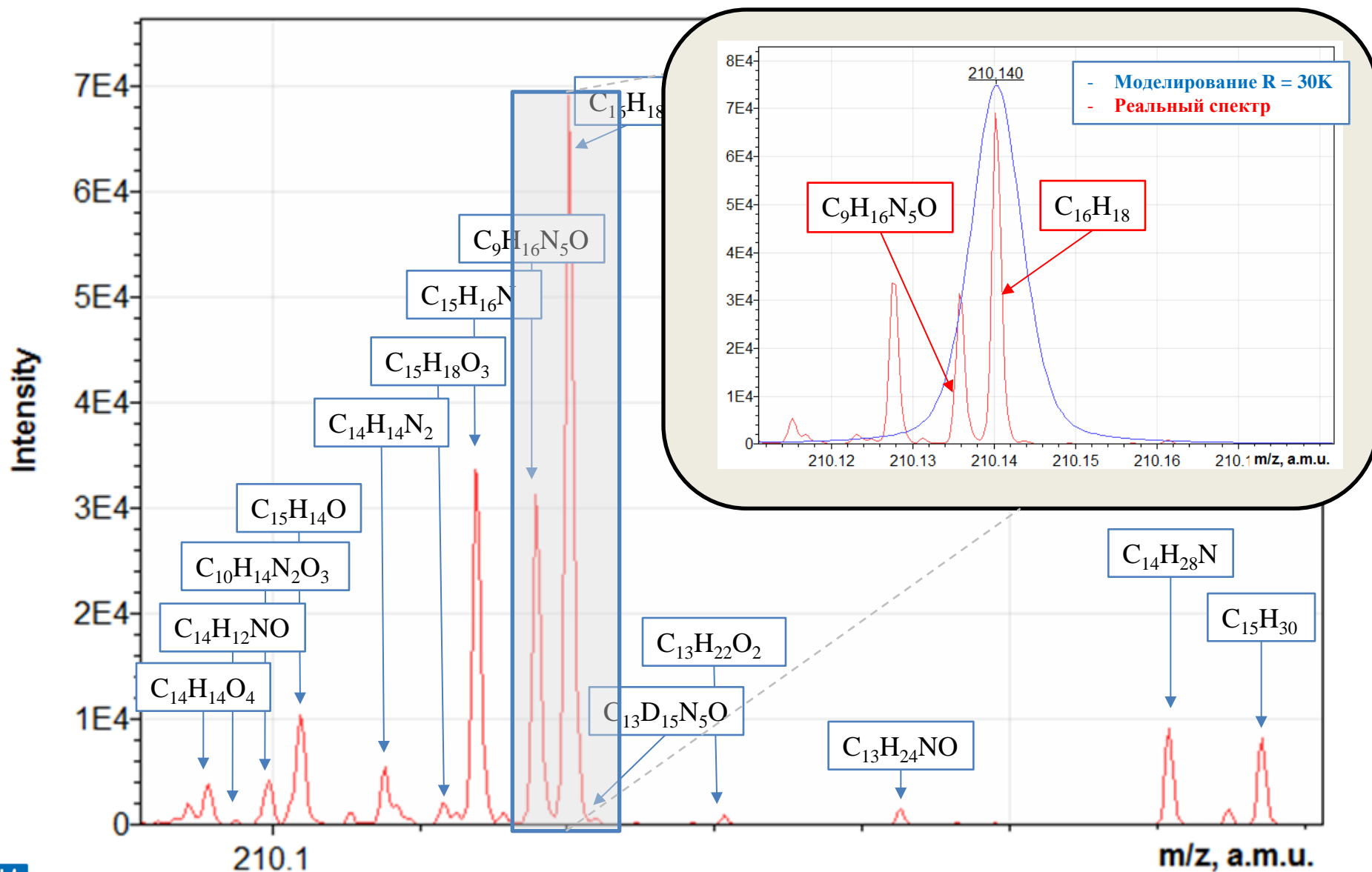


$R > 150,000$ позволяет разрешать все изобары в профиле

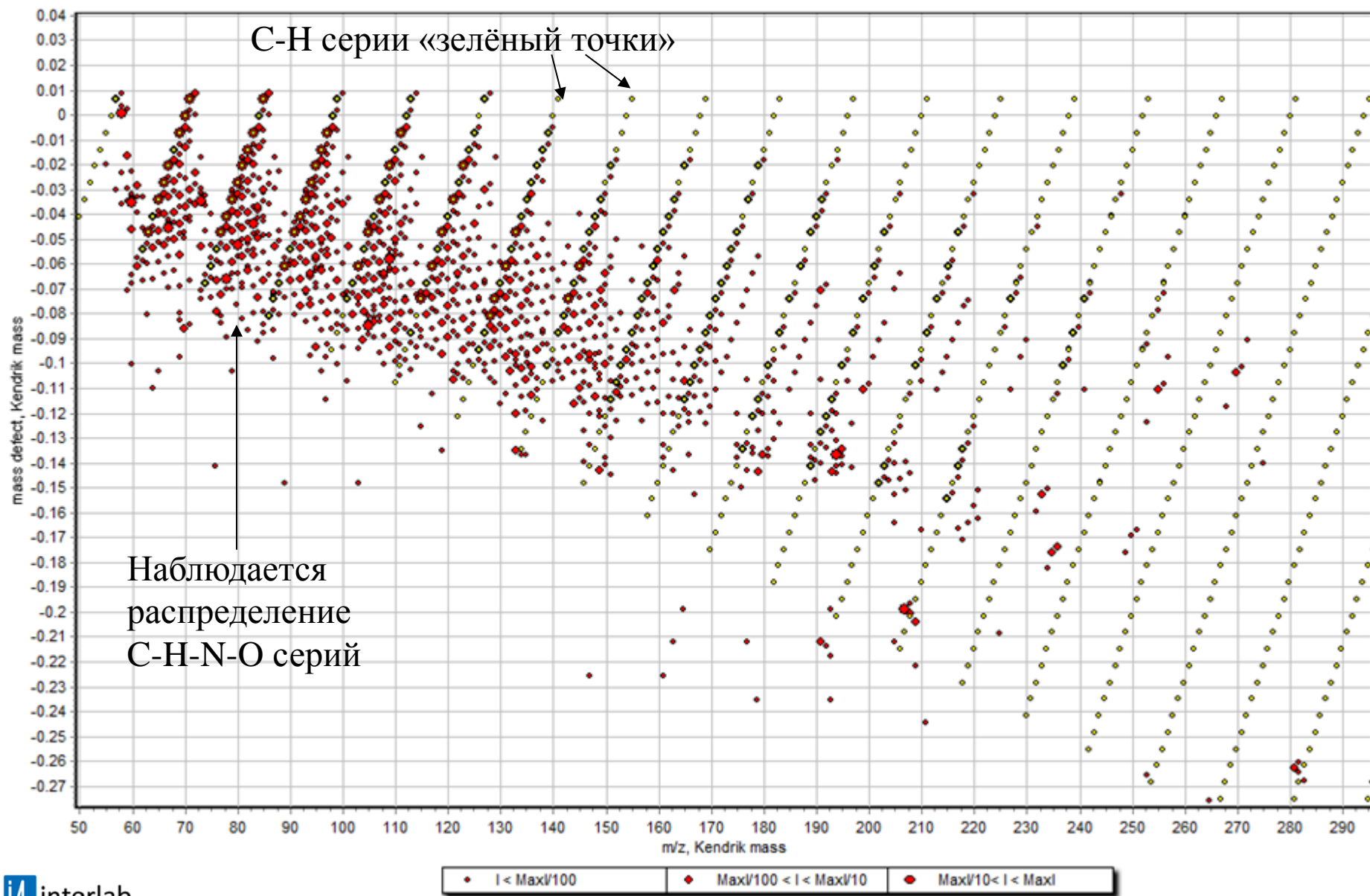
дифференцировать пики искоемых образцов от углеводородной и гетероатомной матрицы



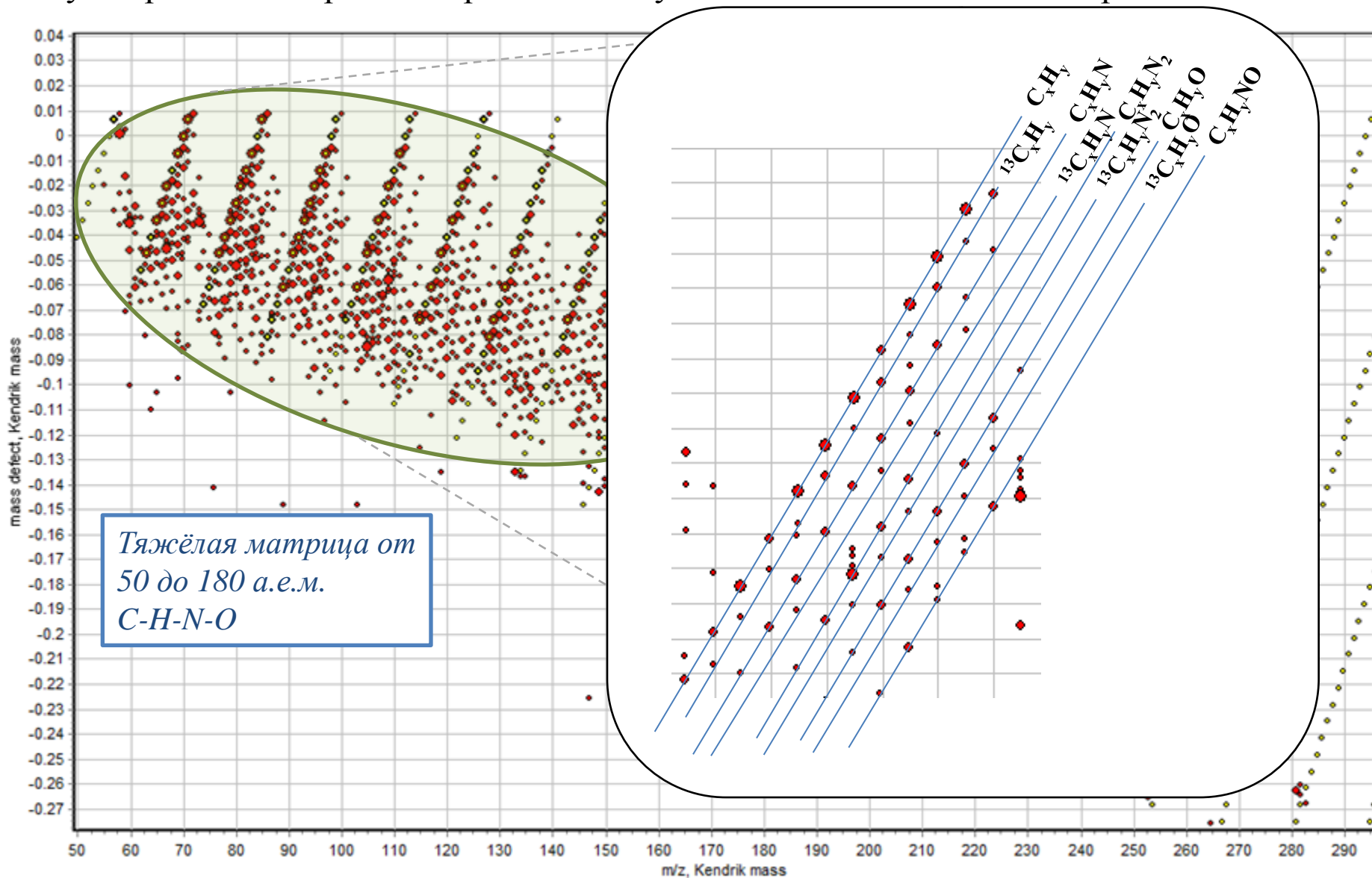
Моделирование пика масс-спектра на фоне реального образца при $R=30K$, показывает, не достаточное значение разрешающей способности для разделения пиков.



M-dM диаграмма, обеспечивает быстрый обзор элементной композиции профиля суммарного спектра и отображает всех участников гомологического ряда соединений.

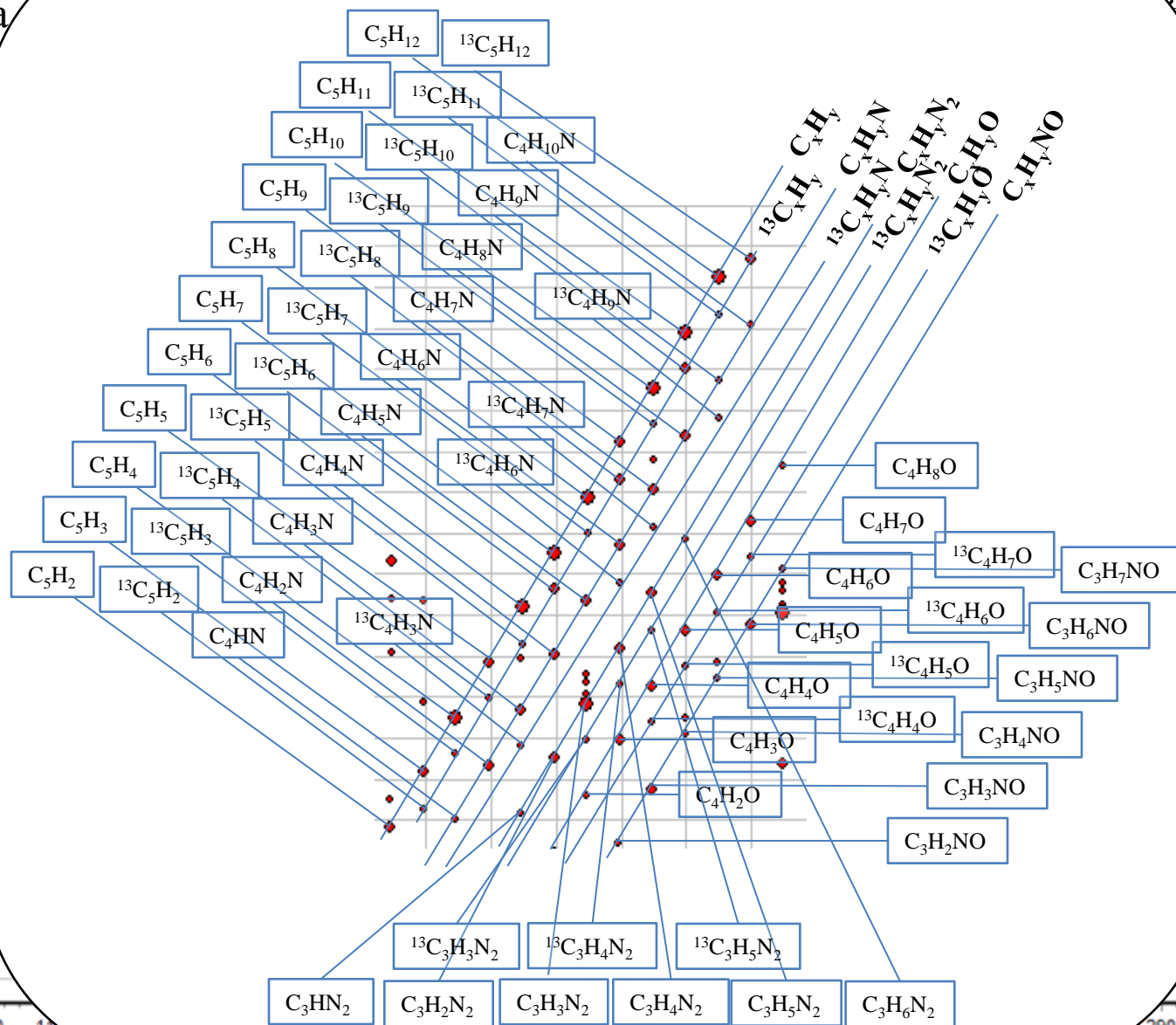
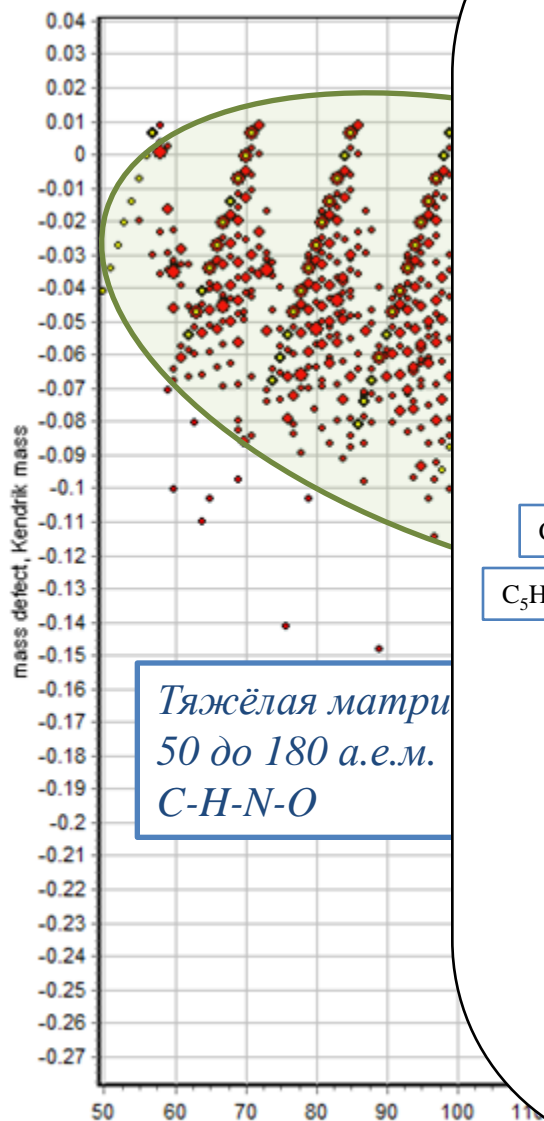


M-dM диаграмма, обеспечивает быстрый обзор элементной композиции профиля суммарного спектра и отображает всех участников гомологического ряда соединений.



M-dM диаграмма, об суммарного спектра

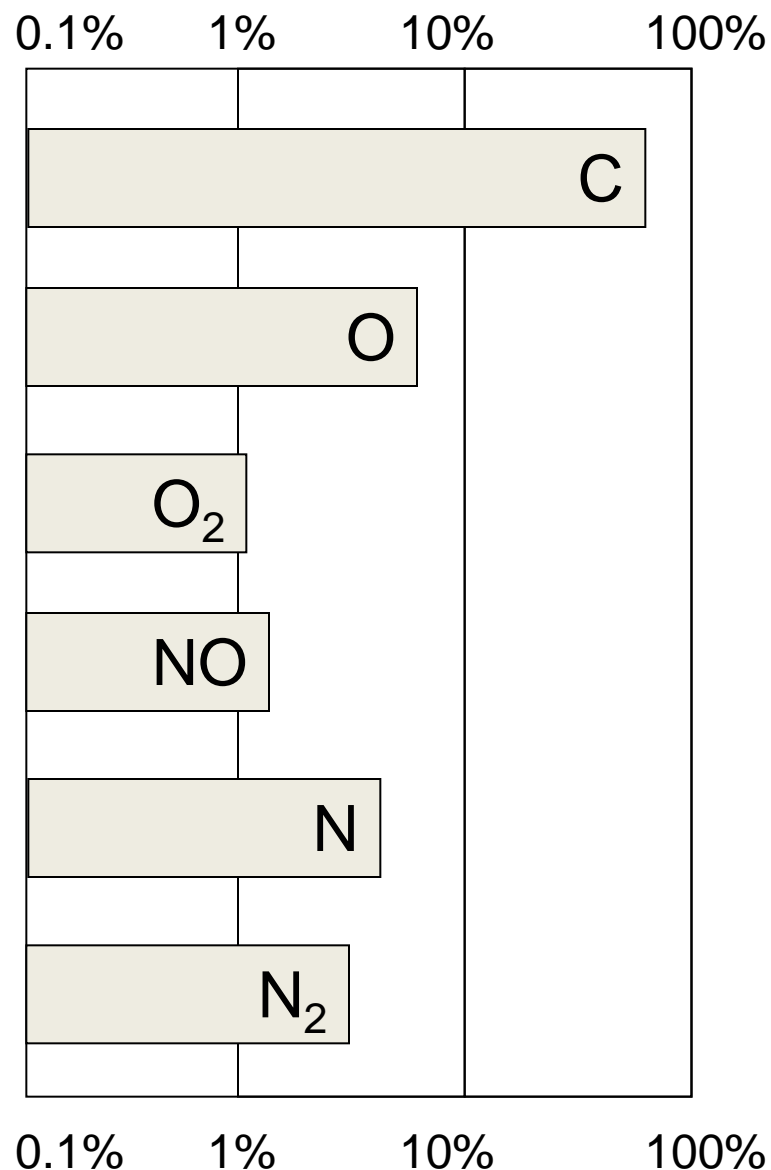
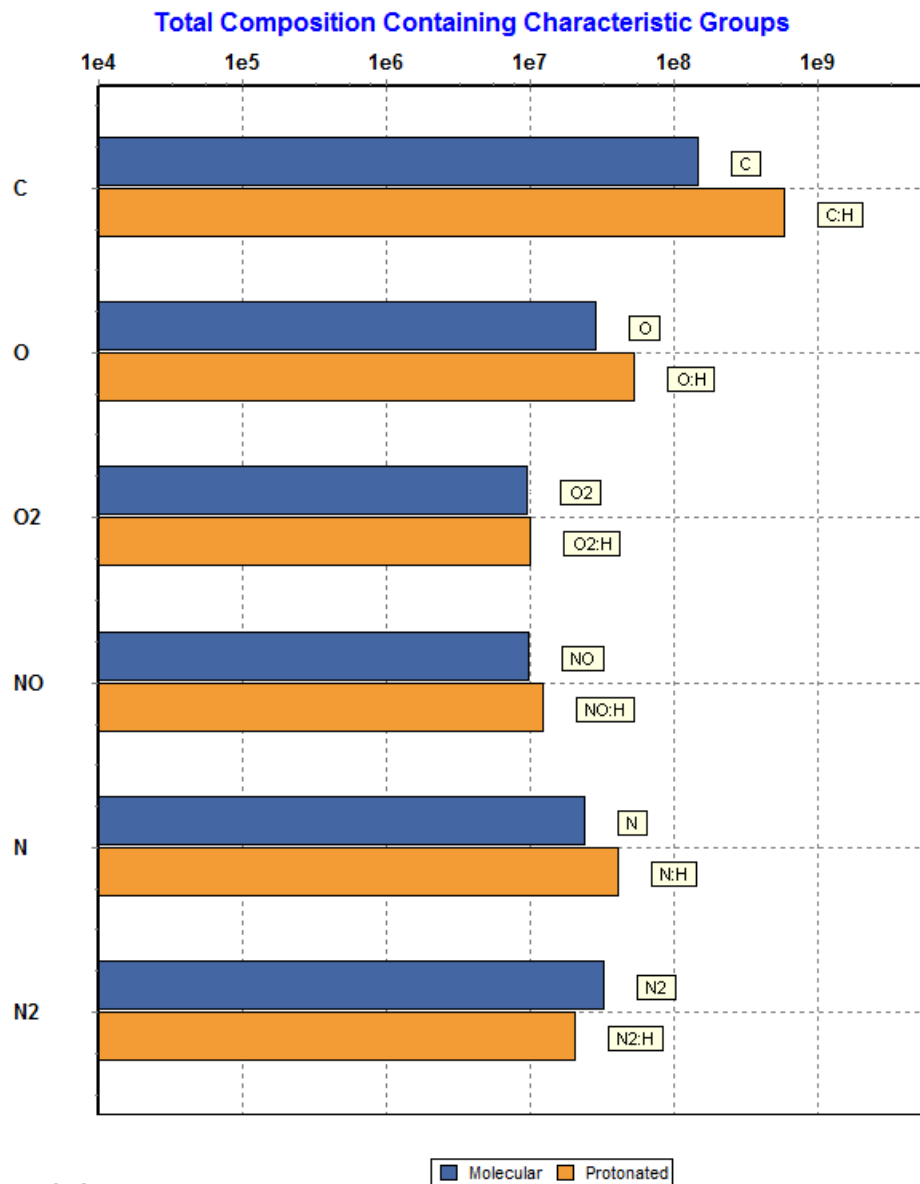
ИЛИЯ



• $I < MaxV100$ ♦ $MaxV100 < I < MaxV10$ ● $MaxV10 < I < MaxI$

290

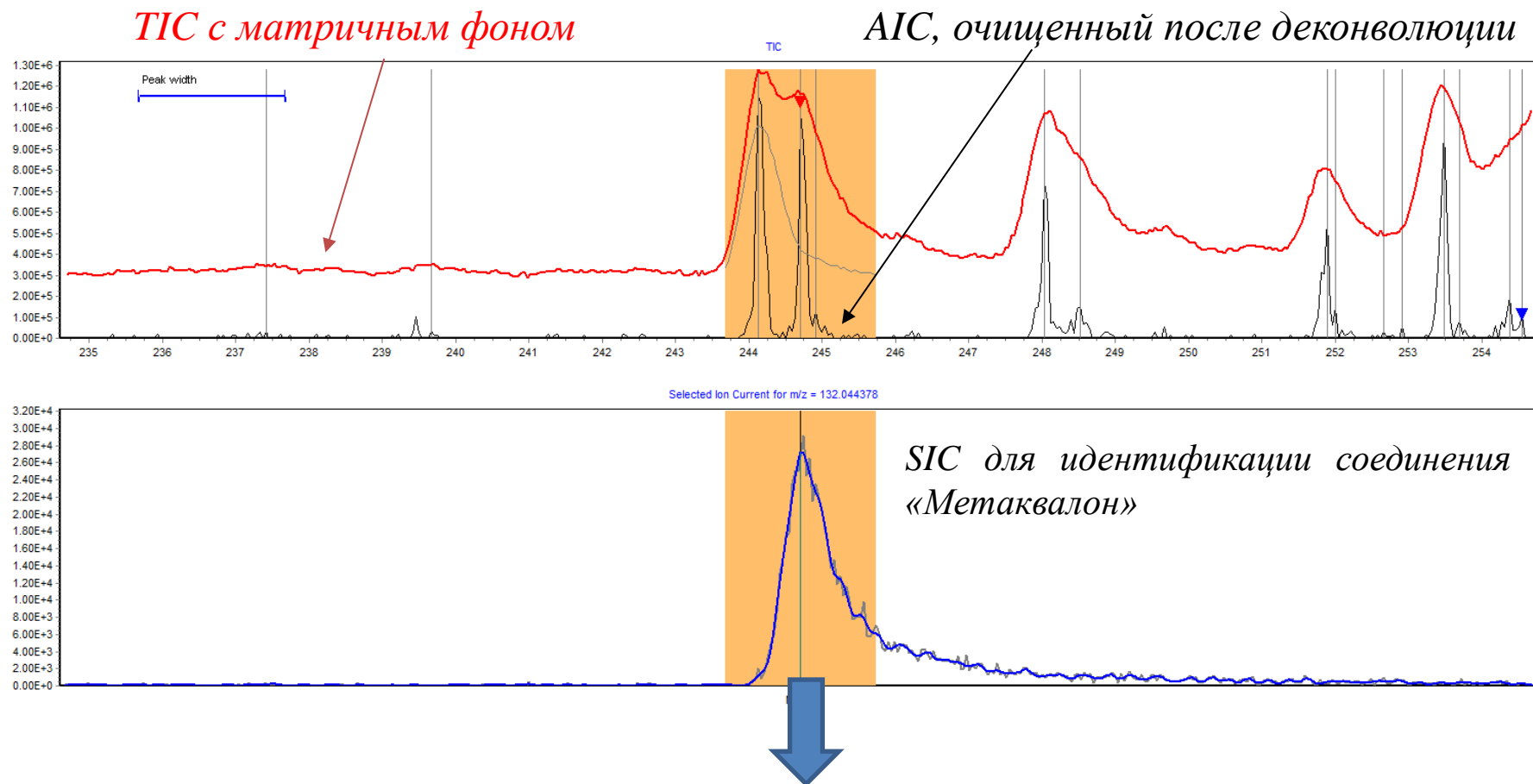
Суммирование интенсивностей всех пиков в гомологических сериях



Промежуточные выводы:

1. Основной фон матрицы, представлен лёгкими соединениями и их фрагментами, в диапазоне от 50 до 180 массы.
2. Матрица, представляет собой высокую населённость углеводородными и гетероатомными соединениями, при этом распространённость последних всего лишь в 10 раз ниже.
3. При фракционирование матричных пиков на группы, было выделено высокое обилие азотсодержащих соединений, которые возможно корректно разрешить в спектре только при использовании времяпролётного анализатора с разрешением выше 30,000.
4. Локализация искомых соединений или их фрагментов в профиле масс-спектра высокого разрешения, позволяет с очень высокой долей вероятности характеризовать пик и соотнести его к той или иной группе исследуемых соединений
5. За счёт детальной интерпретации профиля масс-спектра алгоритмы деконволюционного инструмента более корректно интерпретируют базовую линию профиля и выделяют все существующие компоненты в профиле образца, исключая влияние при этом матричных соединений

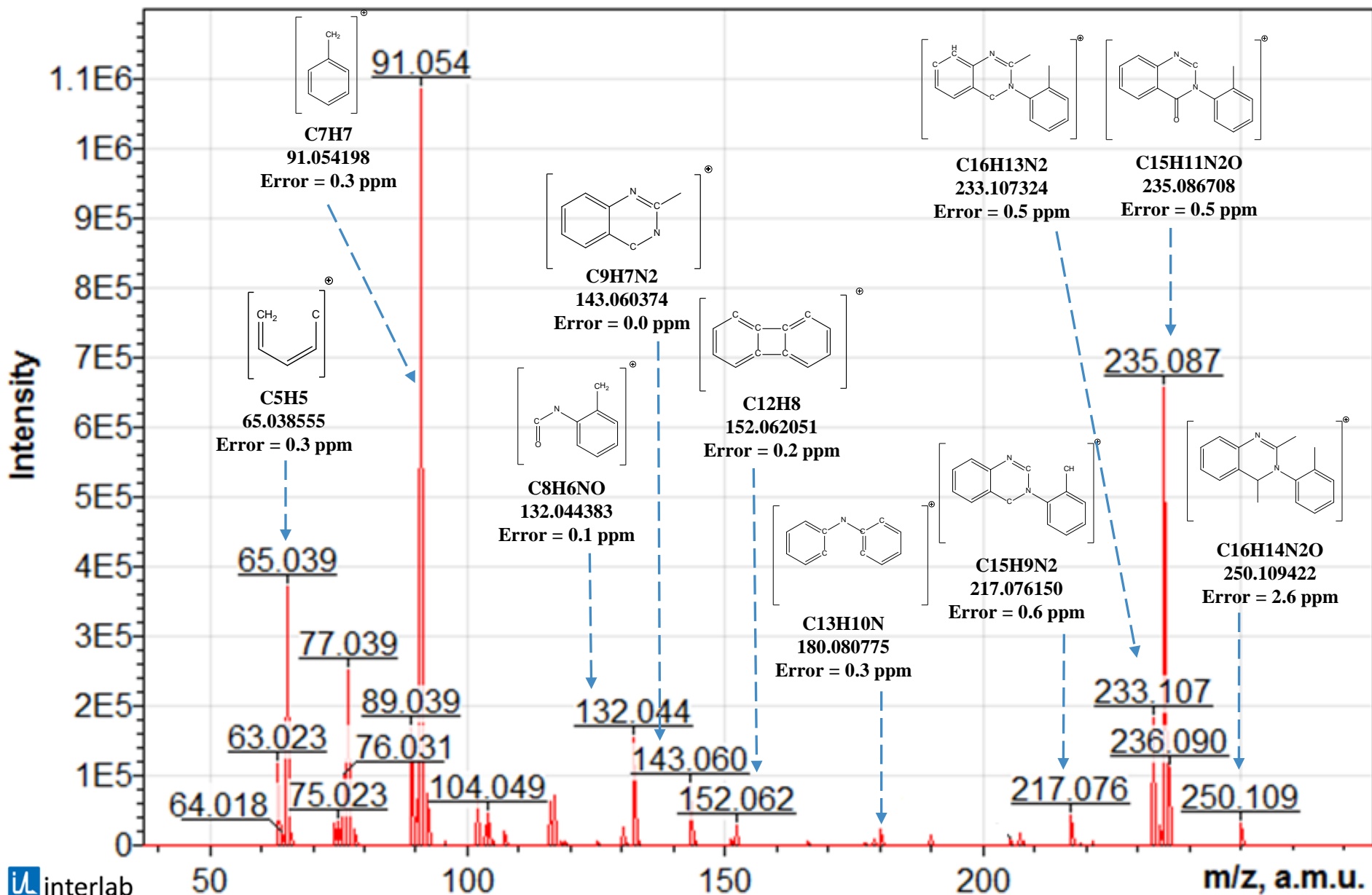
Результаты применения деконволюции по профилю полного ионного тока, полученном на системе с высоким разрешением: Каждый целевой компонент хорошо отделён от тяжёлой и комплексной гетероатомной матрицы



Результат: чистый спектр с точными значениями масс для каждого пика,
→превосходный результат при сличении спектра в NIST
→возможность подтверждения структуры неизвестного соединения

Результаты деконволюции:

Идентификация и интерпретация каждого пика в масс-спектре «Метаквалон».



Заключение

- ✓ Масс-спектрометрия высокого разрешения - эффективный метод поиска неизвестных соединений в тяжелой биологической матрице
- ✓ Использование системы высокого разрешения, является наиболее практичным решением задач установления элементного состава неизвестного соединения и детектирования целевых компонентов на низком уровне концентрации относительно высокоинтенсивного фона матрицы.
- ✓ Масса молекулы – это уникальная характеристика, которая характеризует молекулу с высокой точностью.



Благодарю Вас за внимание!

P.S. Джордж Берджесс Маграт:

*«Когда закон требует выступить в качестве
свидетеля, всегда будьте представителем науки»
Бостон, 1906*



Докладчик:

Колунтаев Д.А. – специалист по разработкам методик исследований, **ООО «Интерлаб».**

