ДӘРІС №11

ДӘРІС ТАҚЫРЫБЫ

Масс-спектрометрия (MS). Иондану әдістері.



EI / CI

ESI / APCI / APPI

MALDI / ICP-MS

Дәріскер: PhD, Қауымдастырылған профессор Кудайбергенова Батес Маликовна

Дәріс жоспары

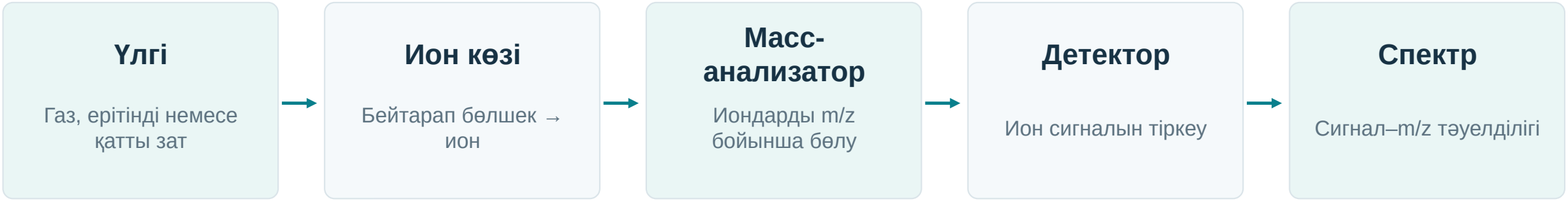
Мақсат: иондану көздерінің жұмыс принципін түсініп, талданатын затқа сәйкес әдісті таңдау.

01	**Масс-спектрометрияның негіздері**	m/z, спектр, молекулалық және фрагменттік иондар
02	**Ионданудың жіктелуі**	Қатты және жұмсақ иондану, үлгі агрегаттық күйі
03	**Негізгі иондану көздері**	EI, CI, ESI, APCI, APPI, MALDI, ICP
04	**Әдістерді салыстыру**	Полярлық, ұшқыштық, термотұрақтылық, қолданылуы
05	**Фармацевтикалық талдау**	LC–MS/MS, GC–MS, қоспалар, биологиялық үлгілер

Дәріскер: PhD, Қауымдастырылған профессор Кудайбергенова Батес Маликовна

Масс-спектрометрияның негізгі принципі

MS зат молекулаларын иондарға айналдырып, олардың масса/заряд қатынасын (m/z) өлшейді.



Қандай ақпарат алынады?

Молекулалық масса, ықтимал элементтік құрам, құрылымдық фрагменттер, изотоптық үлестірім және компонент мөлшері.

Неге иондану міндетті?

Бейтарап молекула электр және магнит өрістерінде m/z бойынша басқарылмайды. Сондықтан MS-те зарядталған бөлшектер тіркеледі.

Қосарланған талдау: GC–MS немесе LC–MS заттарды бөлу мен масс-спектрлік анықтауды біріктіреді.

Масс-спектрді оқу: негізгі ұғымдар

Горизонталь ось – m/z; вертикаль ось – салыстырмалы қарқындылық (%).

СХЕМАЛЫҚ СПЕКТР



m/z — Ион массасының заряд санына қатынасы

Молекулалық ион — Молекула құрамы туралы тікелей белгі (мыс., $M^{+\bullet}$)

Фрагменттік ион — Молекула ыдырауынан туған зарядталған бөлік

Изотоптық шың — Табиғи изотоптарға байланысты қосымша сигнал

Ажыратымдылық — Жақын орналасқан m/z шыңдарын бөлу қабілеті

Ион көзі және масс-анализатор: айырмашылығы

Ион көзі заряд түзеді, ал масс-анализатор түзілген иондарды m/z бойынша ажыратады.

Иондану көзі

EI, CI, ESI, APCI, APPI, MALDI – молекуланы ионға айналдыратын жүйелер.

Масс-анализатор

Квадруполь, TOF, ион тұзағы, Orbitrap және басқа құрылғылар.

ЖИІ ҚОЛДАНЫЛАТЫН МАСС-АНАЛИЗАТОРЛАР

Анализатор	Жұмыс істеу идеясы	Талдаудағы артықшылық
Квадруполь (Q)	Таңдалған m/z иондарын өткізеді	Сандық LC–MS/MS үшін ыңғайлы
TOF	Иондардың ұшу уақытын өлшейді	Жылдам тіркеу, кең масса ауқымы
Orbitrap	Ион тербелісінің жиілігін тіркейді	Жоғары ажыратымдылық және дәл масса
Ион тұзағы	Иондарды ұстап, ретімен шығарады	MS^n фрагментациясына мүмкіндік

MS/MS: бастапқы ион таңдалады → соқтығысу ұяшығында фрагменттеледі → өнім-иондар өлшенеді.

Иондану әдістерінің жіктелуі

Таңдаудың басты өлшемдері: үлгінің күйі, ұшқыштығы, полярлығы және молекула тұрақтылығы.

ИОНҒА ЭНЕРГИЯ БЕРУ СИПАТЫ

«Қатты» иондану

Энергиясы жоғары; фрагменттер көп. Молекула құрылымын ашуға пайдалы. Негізгі мысал: EI.

«Жұмсақ» иондану

Молекула тұтастығын көбірек сақтайды; $[M+H]^+$, $[M-H]^-$ тәрізді иондар көрінеді. CI, ESI, APCI, APPI, MALDI.

БАСТАПҚЫ ҮЛГІНІҢ КҮЙІНЕ ҚАРАЙ

Газ фазасы

EI · CI · APCI · APPI
Ұшқыш не буландырылған заттар

Сұйық ағын

ESI
Ерітінді, LC-элюат

Қатты нысан

MALDI
Матрицадағы кристалл, биомолекула

Ескерту: «жұмсақ» дегеніміз фрагментация мүлде болмайды деген сөз емес.

EI – электрондармен иондану

Electron Ionization: вакуумда газ фазасындағы молекуланы электрондармен соқтығыстыру.

«ҚАТТЫ» ИОНДАНУ

GC–MS

$$M + e^- \rightarrow M^{+\bullet} + 2e^-$$

ІСКЕ АСУ КЕЗЕҢДЕРІ

- Үлгі буланып, ион көзіне жеткізіледі.
- Электрон шоғы молекуладан электрон жұлып алады.
- Молекулалық радикал-катион және фрагменттер түзіледі.
- Иондар масс-анализаторға жіберіледі.

Типтік шарт

Электрон энергиясы көбіне 70 эВ. Спектрлердің қайталанғыштығы кітапханамен салыстыруға қолайлы.

Қолданылу шекарасы

Ұшқыш, термиялық тұрақты, салыстырмалы шағын органикалық молекулалар. Термолабильді ірі қосылыстарға жарамдылығы шектеулі.

Артықшылығы: құрылымдық фрагменттер және NIST тәрізді EI спектр кітапханалары.

CI – химиялық иондану

Chemical Ionization: реактив газ иондары аналитпен ион-молекулалық реакцияға түседі.

САЛЫСТЫРМАЛЫ «ЖҰМСАҚ» | GC–MS

Реактив газ

Метан / изобутан / аммиак

→

Бастапқы ион

Газ молекуласы иондалады

→

Протон алмасу

Реакция аналитке өтеді

→

Нәтиже

$[M+H]^+$ және өзге иондар

Мысал: $M + CH_5^+ \rightarrow [M+H]^+ + CH_4$

EI-мен салыстыру

Фрагменттер әдетте азырақ, молекулалық масса туралы ақпарат анығырақ көрінеді.

Маңызды шектеу

CI спектрлері реагент газына және реакция жағдайына тәуелді; барлық зат үшін $[M+H]^+$ міндетті түрде түзілмейді.

ESI – электрбүріккіш иондану

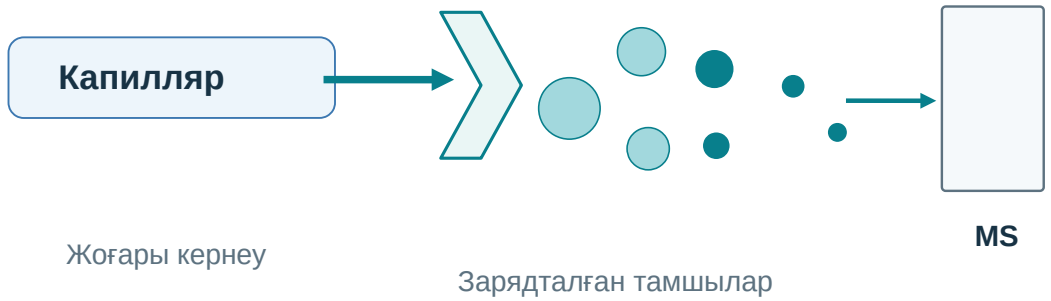
Electrospray Ionization: жоғары кернеудегі ерітінді ұсақ зарядталған тамшыларға бөлінеді.

LC–MS / LC–MS/MS

ЖҰМСАҚ • КӨП ЗАРЯДТЫ

НЕГІЗГІ САТЫЛАРЫ

- Ерітінді капилляр ұшына беріледі.
- Жоғары электр өрісі Тейлор конусын түзеді.
- Зарядталған тамшылардан еріткіш буланады.
- Тамшылар бөлініп, газ фазасындағы иондар түзіледі.



Ион түрлері

Оң режим: $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$. Теріс режим: $[M-H]^-$. Ақуыздарда $[M+zH]^{z+}$ тәрізді көп зарядты иондар кездеседі.

Қолданылуы: полярлы, термолабильді заттар; дәрілер, метаболиттер, пептидтер және ақуыздар.

APCI – атмосфералық қысымдағы химиялық иондану

Atmospheric Pressure Chemical Ionization: буланған аналит газ фазасындағы реагент иондармен әрекеттеседі.

LC–MS

КОРОНАЛЫҚ РАЗРЯД

1

Аэрозоль түзу

LC ағыны бүркіледі

2

Буландыру

Қыздырғыш еріткішті буландырады

3

Корона разряды

Газ/еріткіш реагент иондары түзіледі

4

Ион алмасу

Аналит протон немесе заряд алады

Қай үлгіге қолайлы?

Орташа полярлы, салыстырмалы шағын, булануға төзімді молекулалар.

ESI-ден айырмашылығы

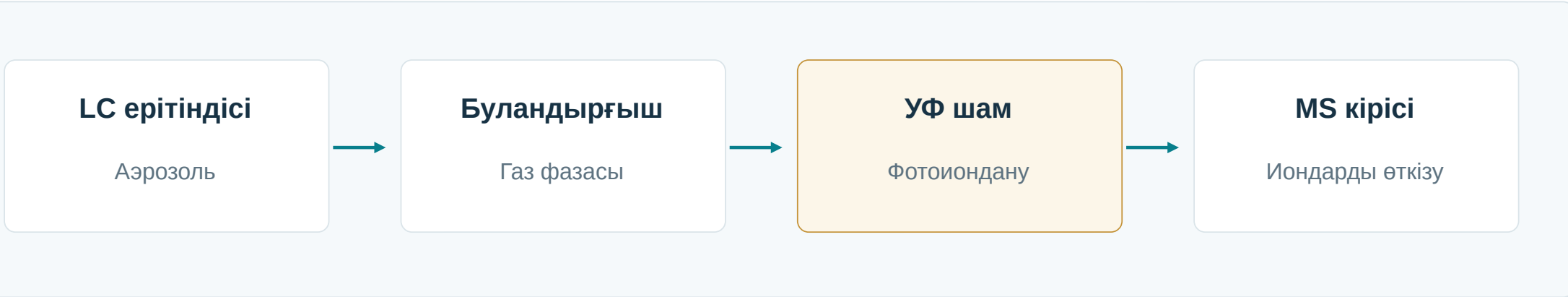
Иондану тамшы ішінде емес, негізінен газ фазасында өтеді.

APPI – атмосфералық қысымдағы фотоиондану

Atmospheric Pressure Photoionization: буланған үлгі УФ-фотондардың әсерімен иондалады.

LC–MS

УФ-СӘУЛЕЛЕНУ



Механизмі

Аналит тікелей фотон сіңіруі немесе допант арқылы заряд алмасуы нәтижесінде иондалуы мүмкін.

Артықшылығы мен шектеуі

ESI-де қиын иондалатын кейбір аз полярлы қосылыстарға тиімді; УФ сіңіруі, допант және еріткіш құрамы әсер етеді.

APPI молекулалардың барлығына әмбебап әдіс емес: иондану тиімділігі аналит құрылымына тәуелді.

MALDI – матрица қатысында лазерлік десорбция/иондану

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization: талданатын зат матрицамен араласып, лазер импульсі арқылы ұшады.

ЖҰМСАҚ ИОНДАНУ | MALDI–TOF

1. Үлгі дайындау

Аналит пен органикалық матрица араластырылып, нысанада кристалданады.

2. Лазер әсері

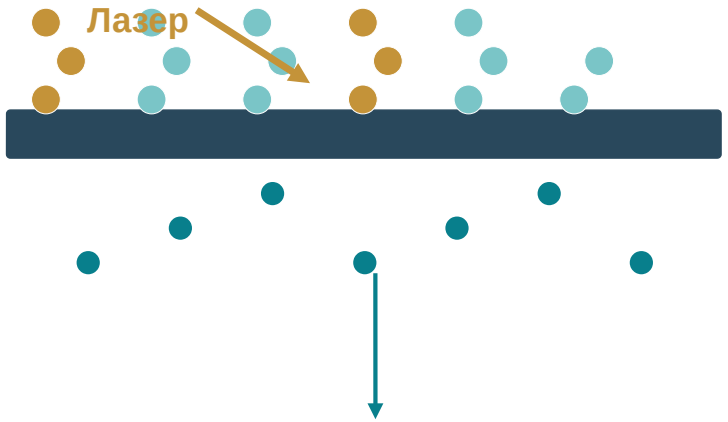
Матрица энергияны сіңіріп, десорбция процесін бастайды.

3. Ион түзілуі

Десорбция бұлтында заряд тасымалданады; көбіне z = 1.

4. Өлшеу

Түзілген иондар әдетте TOF-анализаторға жіберіледі.



Иондар бұлты

Қолданылуы

Пептидтер, ақуыздар, полимерлер, биомолекулалар.

Өзге иондану тәсілдері және арнайы қолданылуы

Кейбір міндеттерде органикалық молекулалық MS-тен бөлек ион көздері пайдаланылады.

ICP–MS	**Индуктивті байланысқан плазма**	Плазма атомдарды иондайды; элементтерді, соның ішінде іздік металл қоспаларын өлшеу.	Элементтік құрам
DESI	**Десорбциялық электрбүріккіш**	Зарядталған тамшылар бетке бағытталып, молекулалар сол бетінен иондалады.	Беттік талдау
DART	**Тікелей талдау, нақты уақыт**	Қозған газ бөлшектері арқылы атмосферада жылдам иондану іске асады.	Жедел скрининг

Назар аударыңыз: ICP–MS көбіне элементтік талдауға арналған, ал EI/ESI/MALDI — молекулалық құрамды зерттеуде кең қолданылады.

Негізгі иондану әдістерін салыстыру

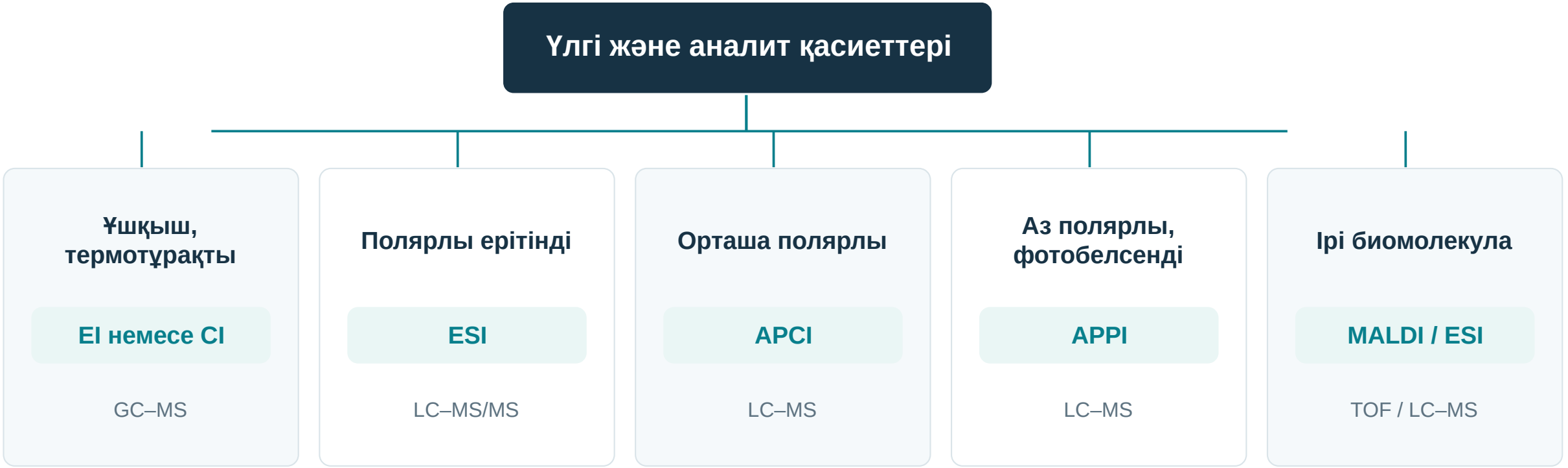
Кесте зерттеу нысанына сәйкес бастапқы әдісті таңдауға көмектеседі.

Әдіс	Үлгі сипаттамасы	Басым иондар	Күшті жағы	Әдеттегі жүйе
EI	Ұшқыш, термотұрақты	$M^{+\bullet}$, фрагменттер	Кітапхана, құрылым	GC–MS
CI	Ұшқыш, термотұрақты	$[M+H]^+$ және т.б.	Масса туралы белгі	GC–MS
ESI	Полярлы, термолабильді	$[M\pm H]\pm$, көп заряд	Ерітінді және биомолекула	LC–MS/MS
APCI	Орташа полярлы, буланатын	$[M+H]^+$ / $[M-H]^-$	Газфазалық иондану	LC–MS
APPI	Аз/орта полярлы, фотобелсенді	$M^{+\bullet}$, $[M+H]^+$ және т.б.	ESI-ге балама	LC–MS
MALDI	Матрицадағы қатты үлгі	Көбіне бір зарядты	Ірі молекулалар	MALDI–TOF

Бұл – жалпы бағдар: нақты сәйкестік молекуланың құрылымына, матрицаға және аспап режиміне тәуелді.

Зерттеу нысанына қарай әдіс таңдау алгоритмі

Бір ғана «ең жақсы» иондану жоқ: үлгі қасиеттері мен талдау мақсаты шешуші рөл атқарады.



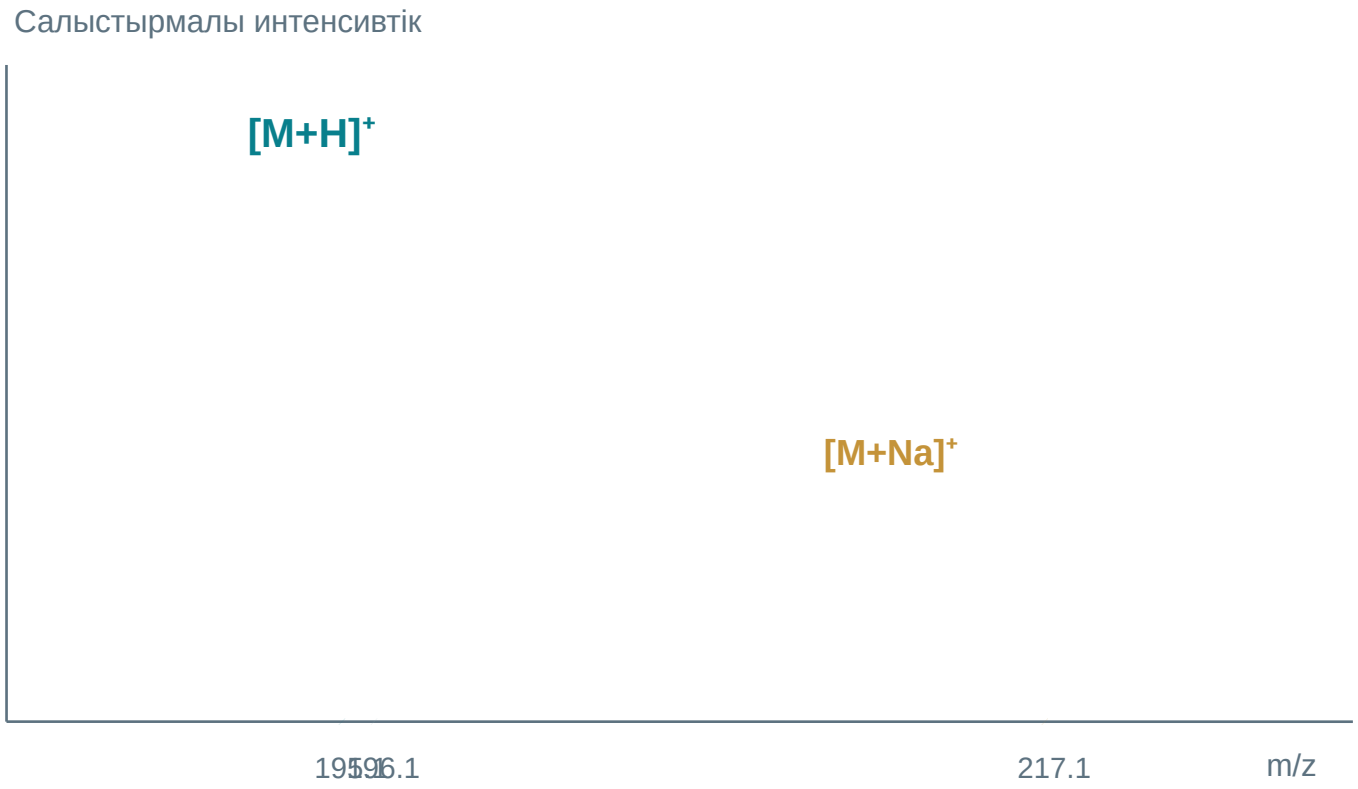
Тексеру кезеңі

Ион сигналын, сезімталдықты, матрицалық әсерді, тасымал фазасының сәйкестігін және фрагментацияны бағалау.

ESI спектрін түсіндіру: кофеин мысалы

Мысал: кофеиннің элементтік құрамы $C_8H_{10}N_4O_2$; есептелген моноизотоптық бейтарап масса ≈194,0804 Da.

ОҢ ИОН РЕЖИМІ • ESI(+)



Протондалған ион

$[M+H]^+ \approx 195{,}0877$ m/z

Натрий аддуктісі

$[M+Na]^+ \approx 217{,}0696$ m/z

Изотоптық белгі

M+1 шағын шыңы элементтік құрамға тәуелді.

Ескерту: спектр схемалық, шыңдардың салыстырмалы қарқындылықтары шартты түрде берілген.

Фармацевтикалық талдаудағы қолданылуы

MS дәрілік заттың сәйкестігін, қоспаларын, биотрансформациясын және элементтік құрамын бағалауға көмектеседі.

GC–EI–MS	Қалдық еріткіштер және ұшқыш органикалық қоспалар
LC–ESI–MS/MS	Белсенді зат, метаболиттер, биоаналитикалық мөлшерлеу
LC–APCI/APPI–MS	ESI-де әлсіз иондалатын кейбір шағын молекулалар
MALDI–TOF	Пептидтер, ақуыздар және биополимерлер профилі
ICP–MS	Дәрідегі элементтік қоспалар: As, Cd, Pb, Hg және т.б.

Сапаны бағалау: сәйкестік, селективтілік, өлшеу ауқымы, қайталанғыштық, матрицалық әсер және әдіс валидациясы.

Талдау сапасы, шектеулер және қорытынды

Иондану көзі дұрыс таңдалса да, үлгіні дайындау мен аспапты баптау нәтижеге тікелей әсер етеді.

ЖИІ КЕЗДЕСЕТІН ӘСЕРЛЕР

Матрицалық әсер
ESI-де иондардың басылуы/күшеюі

Аддуктілер
Na^+, NH_4^+ және басқа қосымша иондар

In-source фрагментация
Көз ішіндегі ыдырау жалған интерпретация тудыруы мүмкін

Контаминация
Фондық сигнал және carry-over

Негізгі қорытынды

EI – фрагментацияға; ESI – полярлы ерітінділерге; APCI/APPI – балама LC–MS көздеріне; MALDI – ірі молекулаларға қолайлы.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН НЕГІЗГІ ДЕРЕККӨЗДЕР

IUPAC Gold Book • Shimadzu LCMS Basics • Scripps Research MS Guide • Thermo Fisher MS Overview • NIST MS Libraries