



Преимущества инертного керамического источника электронной ионизации **«Маэстро-αМС»** на примере исследования экстракта мочи человека.

*Колунтаев Д. А. к. б. н., научный сотрудник
отдела исследований и разработок,
ООО «Интерлаб», Россия, Москва
Макуха Е.В., ведущий инженер по метрологии
ООО «Интерлаб», Россия, Москва*

Ключевые слова

Газовая хромато-масс-спектрометрия, пестициды, экстракты мочи, наркология, источник электронной ионизации (ЭИ), материал поверхности.

Резюме

Продemonстрированы преимущества и возможности хромато-масс-спектрометрической системы «Маэстро-αМС» с инертным керамическим источником электронной ионизации на примере анализа профилей экстракта мочи человека.

Надёжность масс-спектрометрического детектирования какого-либо из соединений напрямую зависит от чувствительности системы к данному соединению. Чувствительность, в свою очередь, является следствием интенсивности сигнала, который зависит от первоначального количества ионов данного соединения, сформировавшихся под действием ионизации в ионном источнике. Подобная цепочка фактов и условий формирует свойство специфичности масс-спектрометрического детектора к тем или иным группам органических соединений.

В литературе неоднократно упоминается, что различные органические соединения в зависимости от содержащихся в них атомов и функциональных групп будут иметь разную степень сечения ионизации [1]. Следовательно, в ходе ионизации каждое из соединений будет формировать различное, специфичное для себя количество ионов.

В газовой хромато-масс-спектрометрии наиболее часто используются источники электронной ионизации, так называемого «закрытого типа», которые дополнительно концентрируют ионы компонентов в ходе ионизационного процесса и тем самым формируют максимальный ионный выход для достижения чувствительности относительно фонового газа. Но не только физические характеристики веществ могут играть роль в чувствительности и специфичности аналитического метода. Во многом существенную роль также играет конструкция ионного источника, в частности, качество механической обработки деталей, магнитные свойства стали, её сорбционные свойства и химическая чистота поверхностей.

В данной статье представлен сравнительный анализ двух источников электронной ионизации: источник стандартного типа (выполненного из нержавеющей стали), а также инертный керамический ионный источник, разработанный специально для работы с биологическими образцами. Инертный керамический ионный источник используется в комплексе с хромато-масс-спектрометрическим детектором «Маэстро – αМС» и рекомендуется для работы в рутинных лабораториях.

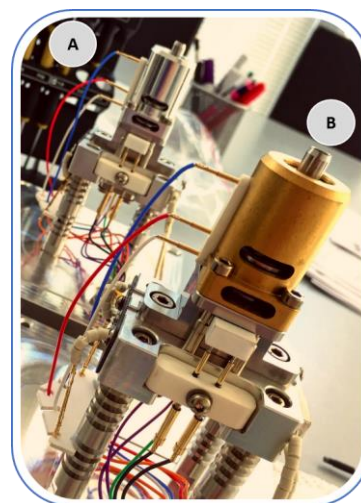


Рис. 1. Источники электронной ионизации: **А** – стандартный источник из нержавеющей стали; **В** – инертный керамический источник.

Экспериментальная часть

Материалы и методы

Экспериментальная часть исследования состояла из двух этапов. *На первом этапе* изучали и сопоставляли отклики сигналов стандартов действующих веществ пестицидов (75) в смеси с полувлетучими органическими соединениями (20 соединений). *На втором этапе* изучали работоспособность и возможные преимущества керамического источника при работе с биологическими объектами. В качестве объекта исследования были выбраны экстракты мочи человека, в которых ранее были получены положительные ответы на присутствие в них остаточных количеств наркотических соединений.

Экстракты мочи были подготовлены и предоставлены для сравнительного анализа специализированными государственными надзорными лабораториями. Стоит также отметить, что выбор объекта исследования был обусловлен тем, что подобные биологические объекты, такие как моча, кровь, ткани организма, содержат большое количество соэкстрактивных веществ, способных отрицательно влиять на воспроизводимость сигналов в ГХ-МС анализе и, следовательно, имеют потенциал к дополнительным эффектам в работе ионного источника.

Все используемые для эксперимента реагенты имели классификацию, как особо чистые или HPLC grade. Стандарты действующих веществ пестицидов, а также смесь органических полувolatile соединений были с чистотой не менее 97%.

Табл. 1. Параметры используемых инструментальных методов.

Оборудование		
ГХ-МС система	Interlab «Маэстро-αМС»	
Испаритель	Split/Splitless (liner: Restek 4 mm x 6.3 x 78.5)	
Хроматографическая колонка	Rtx-5MS (30m x 0.25mm; 250um)	
Параметры хроматографического разделения		
	Стандартные соединения	Экстракты мочи
Объем пробы	1 мкл	1 мкл
Режим испарителя	Splitless; Purge 50 мл/мин после 0,7 мин	Splitless; Purge 20 мл/мин после 0,3 мин
Температура испарителя	250°C	270°C
Режим работы испарителя	Режим Constant flow	Режим Constant flow
Градиент t° печи	70°C в течение 0,7 мин; 30,0°C/мин до 180°C, 0,0 мин; 9,0°C/мин до 250°C, 3,0 мин; 30,0°C/мин до 305°C, 2,5 мин;	115°C в течение 3,0 мин; 15,0°C/мин до 280°C, 9,0 мин;
Поток газа-носителя	(He) 1,1 мл/мин	(He) 1,15 мл/мин
T° интерфейса МС	270°C	280°C
Параметры детектирования		
Источник ионизации	ЭИ (EI)	
T° источника	240°C	230°C
Задержка растворителя	4,0 мин (240 сек)	3,0 мин (180 сек)
Режимы сканирования	SCAN 50 – 450 Da	SCAN 44 – 550 Da
Скорость сканирования	2000 Да/сек	2000 Да/сек

Результаты и обсуждение

Первая часть эксперимента.

На рисунке 2 представлено послойное наложение хроматограмм четырёх экспериментов смеси стандартных веществ в программном обеспечении «Маэстро-Аналитик» (входит в пакет ПО «Маэстро-αМС»):

- 2 инъекции выполнены на стандартном источнике из нержавеющей стали;
- 2 инъекции выполнены на инертном керамическом источнике.

Ниже на рисунке 2.1 выполнено дополнительное панорамирование выделенных участков хроматограммы. Как можно заметить, в профиле полученных сигналов наблюдается различие в интенсивностях некоторых соединений. Далее использовали алгоритм «автоинтегрирования» исследуемых профилей, для автоматического определения наименования каждого пика.

Рис. 2. Наложение хроматограмм полного ионного тока четырёх экспериментов смеси стандартных веществ.

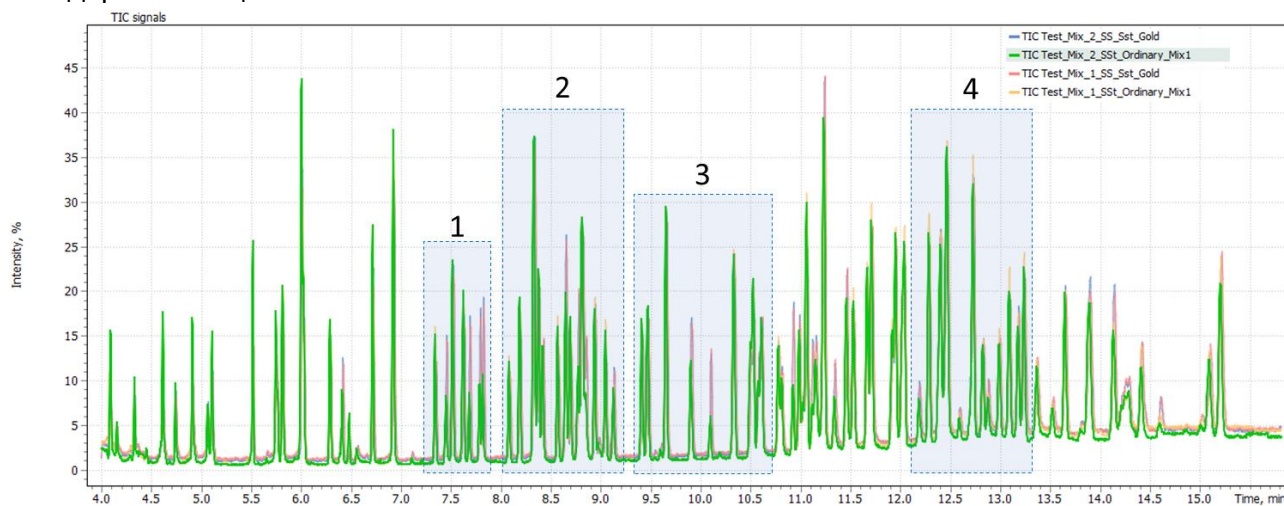
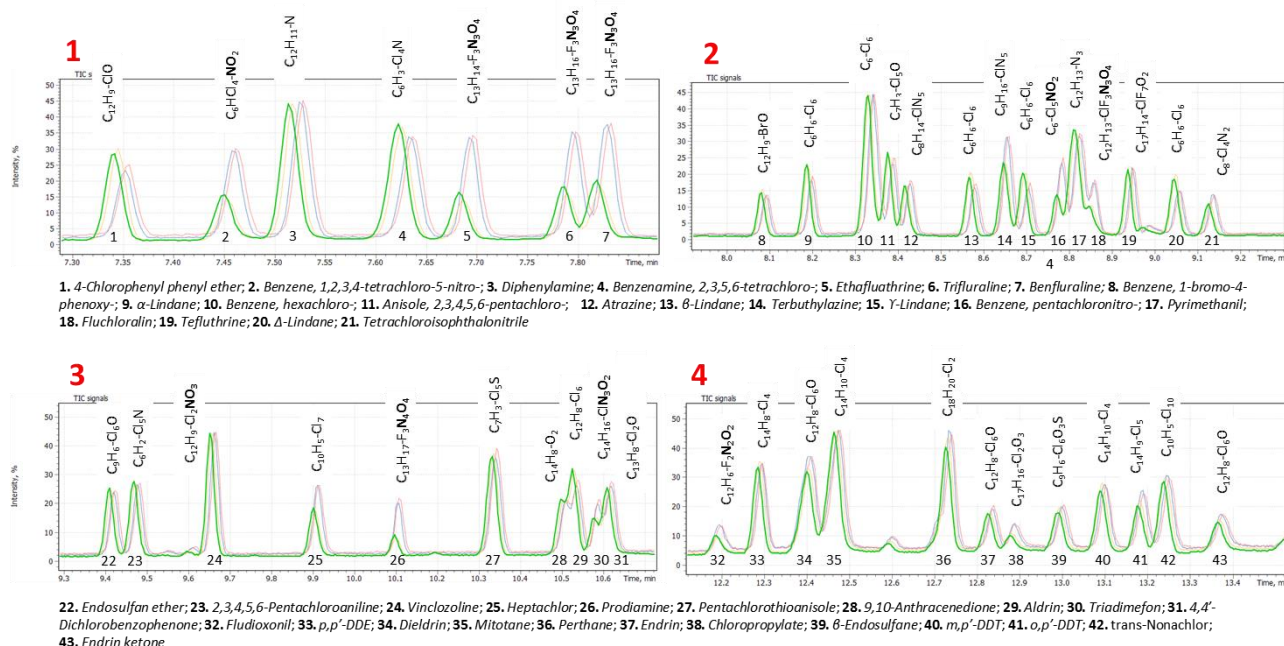


Рис. 2.1. Дополнительное панорамирование выделенных участков хроматограммы.

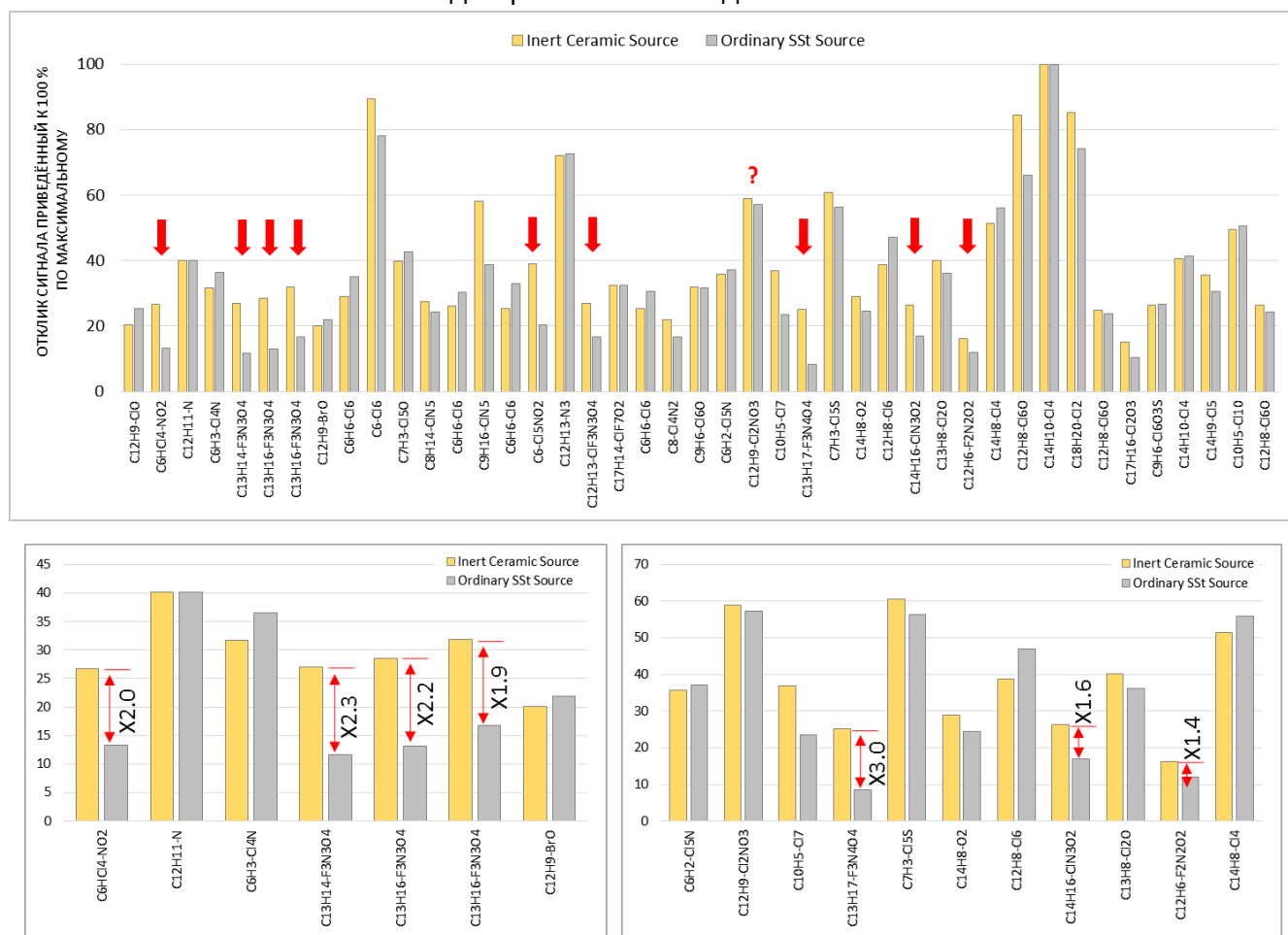


Алгоритм автоинтегрирования содержится в программном обеспечении «Маэстро-Аналитик» и производит обработку данных, полученных в режиме полного сканирования. В частности, процесс включает в себя автоматическое детектирование хроматографических пиков на хроматограммах выделенных ионов каждой из масс. Далее полученные пики

группируются по времени хроматографического выхода, в результате чего формируются выделенные, очищенные от химического фона спектры компонентов пробы. В финальной стадии алгоритма выполняется автоматический опрос используемых библиотек масс-спектров на наличие в них подобных спектров и наименование каждого пика согласно ответу библиотеки. Результаты автоинтегрирования представлены на рисунке 2.1.

Согласно полученным данным, различие в откликах сигналов наблюдается у соединений, которые содержат в своём составе совместно как атомы азота, так и атомы кислорода (далее «NO-соединения»). При этом на рисунке 3 можно детально оценить различия, которые представляют собой двукратный подъём интенсивности сигнала на инертном керамическом источнике по сравнению с сигналом подобных компонентов в стандартном источнике.

Рис. 3. Диаграмма отклика сигналов стандартных веществ относительно различных источников ионов. Увеличенные диаграммы «NO-соединений».



Для остальных групп органических соединений подобного эффекта не наблюдалось. Стоит также отметить, что исключением стал сигнал соединения винклозолин, который имел схожую интенсивность на обоих источниках. Детальный анализ нормированных сигналов к максимальному сигналу в профиле представлен в таблице 2.

Табл. 2. Детальный анализ сигналов стандартных веществ.

#	Компонент	Брутто формула	Нормированный сигнал к макс.		Отношение (ratio)
			источник из нерж. стали	инертный керам. источник	
1	4-Chlorophenyl phenyl ether	C ₁₂ H ₉ ClO	25.41	20.37	1 : 1
2	Benzene, 1,2,3,4-tetrachloro-5-nitro-	C ₆ HCl ₄ NO ₂	13.25	26.66	2 : 1
3	Diphenylamine	C ₁₂ H ₁₁ N	40.15	40.16	1 : 1
4	Benzenamine, 2,3,5,6-tetrachloro-	C ₆ H ₃ Cl ₄ N	36.45	31.65	1 : 1
5	Ethafluathrine	C ₁₃ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₄	11.62	27.03	2 : 1
6	Trifluraline	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	13.07	28.55	2 : 1
7	Benfluraline	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	16.70	31.89	2 : 1
8	Benzene, 1-bromo-4-phenoxy-	C ₁₂ H ₉ BrO	21.84	20.12	1 : 1
9	α-Lindane	C ₆ H ₆ Cl ₆	34.93	28.96	1 : 1
10	Benzene, hexachloro-	C ₆ Cl ₆	78.21	89.29	1 : 1
11	Anisole, 2,3,4,5,6-pentachloro-	C ₇ H ₃ Cl ₅ O	42.54	39.68	1 : 1
12	Atrazine	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	24.22	27.40	1 : 1
13	β-Lindane	C ₆ H ₆ Cl ₆	30.33	26.08	1 : 1
14	Terbutylazine	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	38.81	58.23	1.5 : 1
15	γ-Lindane	C ₆ H ₆ Cl ₆	32.96	25.31	1 : 1
16	Benzene, pentachloronitro-	C ₆ Cl ₅ NO ₂	20.23	38.90	2 : 1
17	Pyrimethanil	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	72.50	72.16	1 : 1
18	Fluchloralin	C ₁₂ H ₁₃ ClF ₃ N ₃ O ₄	16.55	26.97	1.5 : 1
19	Tefluthrine	C ₁₇ H ₁₄ ClF ₇ O ₂	32.42	32.30	1 : 1
20	Δ-Lindane	C ₆ H ₆ Cl ₆	30.56	25.40	1 : 1
21	Tetrachloroisophthalonitrile	C ₈ Cl ₄ N ₂	16.58	21.93	1 : 1
22	Endosulfan ether	C ₉ H ₆ Cl ₆ O	31.57	31.85	1 : 1
23	2,3,4,5,6-Pentachloroaniline	C ₆ H ₂ Cl ₅ N	37.12	35.72	1 : 1
24	Vinclozoline	C ₁₂ H ₉ Cl ₂ NO ₃	57.21	59.00	1 : 1
25	Heptachlor	C ₁₀ H ₅ Cl ₇	23.58	36.81	1.5 : 1
26	Prodiamine	C ₁₃ H ₁₇ F ₃ N ₄ O ₄	8.37	25.02	3 : 1
27	Pentachloroethioanisole	C ₇ H ₃ Cl ₅ S	56.28	60.67	1 : 1
28	9,10-Anthracenedione	C ₁₄ H ₈ O ₂	24.54	29.01	1 : 1
29	Aldrin	C ₁₂ H ₈ Cl ₆	47.01	38.71	1 : 1
30	Triadimefon	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O ₂	16.94	26.32	1.6 : 1
31	4,4'-Dichlorobenzophenone	C ₁₃ H ₈ Cl ₂ O	36.21	40.16	1 : 1
32	Fludioxonil	C ₁₂ H ₆ F ₂ N ₂ O ₂	11.89	16.26	1.4 : 1
33	p,p'-DDE	C ₁₄ H ₈ Cl ₄	55.94	51.36	1 : 1
34	Dieldrin	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	66.10	84.29	1 : 1
35	Mitotane	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	100.00	100.00	1 : 1
36	Perthane	C ₁₈ H ₂₀ Cl ₂	74.18	85.10	1 : 1
37	Endrin	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	23.87	24.71	1 : 1
38	Chloropropylate	C ₁₇ H ₁₆ Cl ₂ O ₃	10.25	15.22	1.5 : 1
39	β-Endosulfane	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	26.68	26.40	1 : 1
40	m,p'-DDT	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	41.46	40.48	1 : 1
41	o,p'-DDT	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	30.53	35.65	1 : 1
42	trans-Nonachlor	C ₁₀ H ₅ Cl ₁₀	50.61	49.42	1 : 1
43	Endrin ketone	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	24.20	26.51	1 : 1

Вторая часть эксперимента.

Для подтверждения или опровержения первичных результатов во второй части эксперимента был выполнен анализ интенсивностей NO-соединений в моче. С точки зрения анализа остаточных количеств наркотических соединений NO-соединения в подобном анализе встречаются достаточно часто. Таблица 3 содержит некоторые лекарственные и наркотические препараты с подобным атомным составом.

Табл. 3. Перечень некоторых лекарственных и наркотических препаратов NO-соединений.

Наименование	Брутто-формула	Наименование	Брутто-формула
Героин	$C_{21}H_{23}NO_5$	Бромазепам	$C_{14}H_{10}BrN_3O$
Метадон	$C_{21}H_{27}NO$	Барбитал	$C_8H_{12}N_2O_3$
Кодеин	$C_{18}H_{21}NO_3$	Бутабарбитал	$C_{10}H_{16}N_2O_3$
Лидокаин	$C_{14}H_{22}N_2O$	Метилфенилбарбитал	$C_{11}H_{10}N_2O_3$
Диазепам	$C_{16}H_{13}ClN_2O$	Метилфенобарбитал	$C_{13}H_{14}N_2O_3$
Кетамин	$C_{13}H_{16}ClNO$	Секобарбитал	$C_{12}H_{18}N_2O_3$
Нордазепам	$C_{15}H_{11}ClN_2O$	Талбутал	$C_{11}H_{16}N_2O_3$
α -PVP	$C_{15}H_{23}NO$	Темазепам	$C_{16}H_{13}ClN_2O_2$
Нитрендипин	$C_{18}H_{20}N_2O_6$	Фенитоин	$C_{15}H_{12}N_2O_2$
Верапамил	$C_{27}H_{38}N_2O_4$	Фенобарбитал	$C_{12}H_{12}N_2O_3$

Сопоставление сигналов целевых соединений рассчитывались относительно других присутствующих соединений в профиле мочи, но отличающихся по атомному составу. Результаты исследований трёх различных экстрактов мочи представлены на рисунках 4а – 4с.

Из полученных результатов можно сделать предположение, что сигналы нитро-соединений («NO-соединений») увеличиваются при использовании керамического источника электронной ионизации по сравнению с источником из чистой нержавеющей стали. Стоит отметить, что практическое применение данного источника может быть востребовано не только в рутинных исследованиях наркотических веществ в биологических жидкостях, но также и для анализа класса большинства взрывчатых веществ, таких как 2,4-динитротолуол ($C_7H_6N_2O_4$), тринитротолуол ($C_7H_5N_3O_6$), октоген ($C_4H_8N_8O_8$), гексоген ($C_3H_6N_6O_6$), тринитробензол ($C_6H_3N_3O_6$). Подобные соединения характеризуются в своём составе атомами азота и кислорода, что предполагает повышенную чувствительность и надёжность их масс-спектрометрического детектирования.

Рис. 4а. Результат исследования мочи человека, сопоставления сигналов компонента α -PVP ($C_{15}H_{23}NO$) и сигнала амитриптилина ($C_{20}H_{23}N$), детектированного также в профиле.

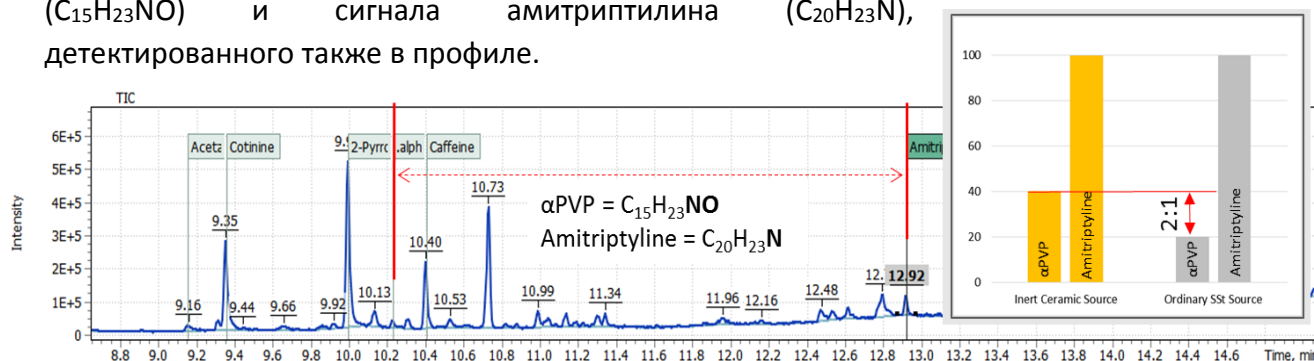


Рис. 4б. Результат исследования мочи человека, сопоставления сигналов компонента α -PVP ($C_{15}H_{23}NO$) и сигнала фенирамина ($C_{16}H_{20}N$), присутствующего в профиле мочи.

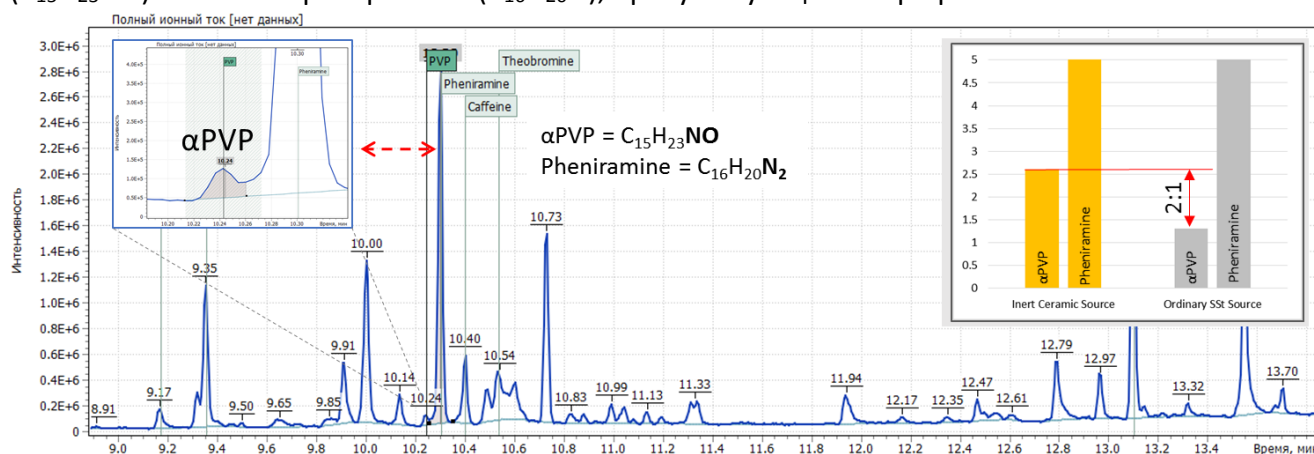
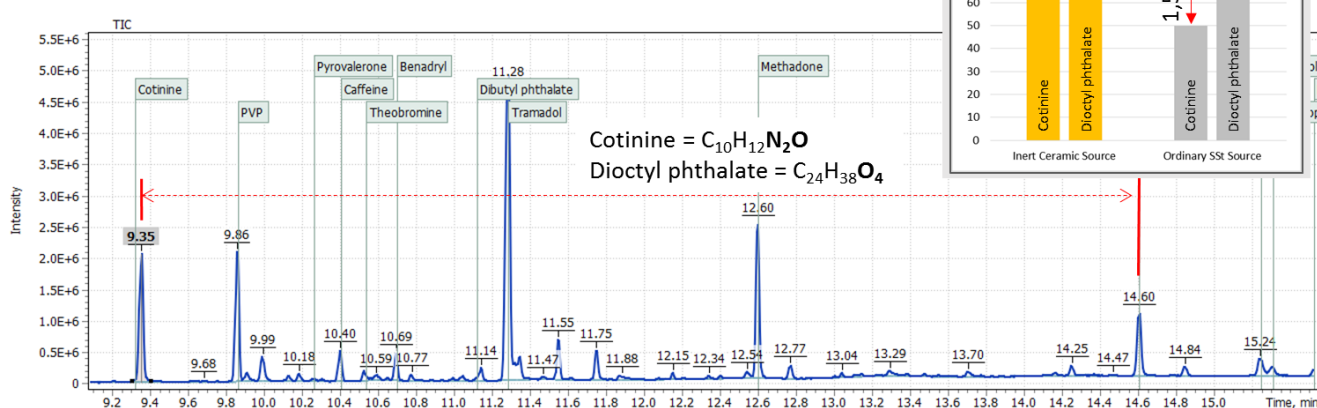


Рис. 4с. Результат исследования мочи человека, сопоставления сигналов компонента котинин ($C_{10}H_{12}N_2O$) и диоктилфталат ($C_{24}H_{38}O_4$), также присутствующего в профиле.



Выводы.

1. Использование инертного керамического источника электронной ионизации позволяет увеличить чувствительности аналитического метода при обнаружении азотсодержащих соединений.
2. Практическое применение керамического источника охватывает широкий круг целевых азотсодержащих соединений в лабораторной практике, в частности фармацевтические препараты и наркотические соединения, целевые вещества в области экологии (пестициды), а также большинство соединений из класса взрывчатых веществ.

Литература

1. Karl K. Irikura, *Partial Ionization Cross Sections of Organic Molecules*, Journal of research of the National Institute of Standards and Technology, Volume 122, Article No. 28 (2017)