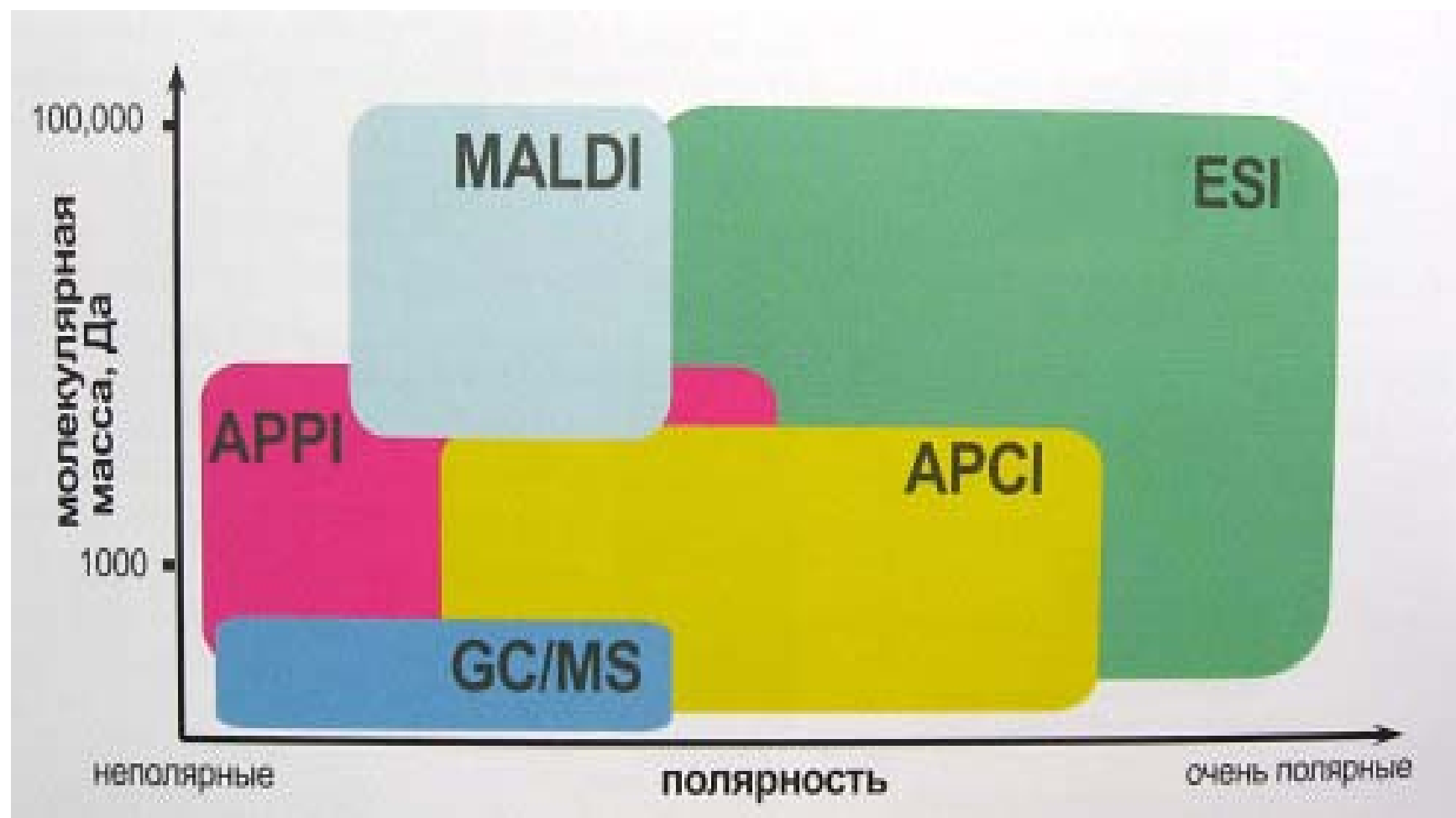


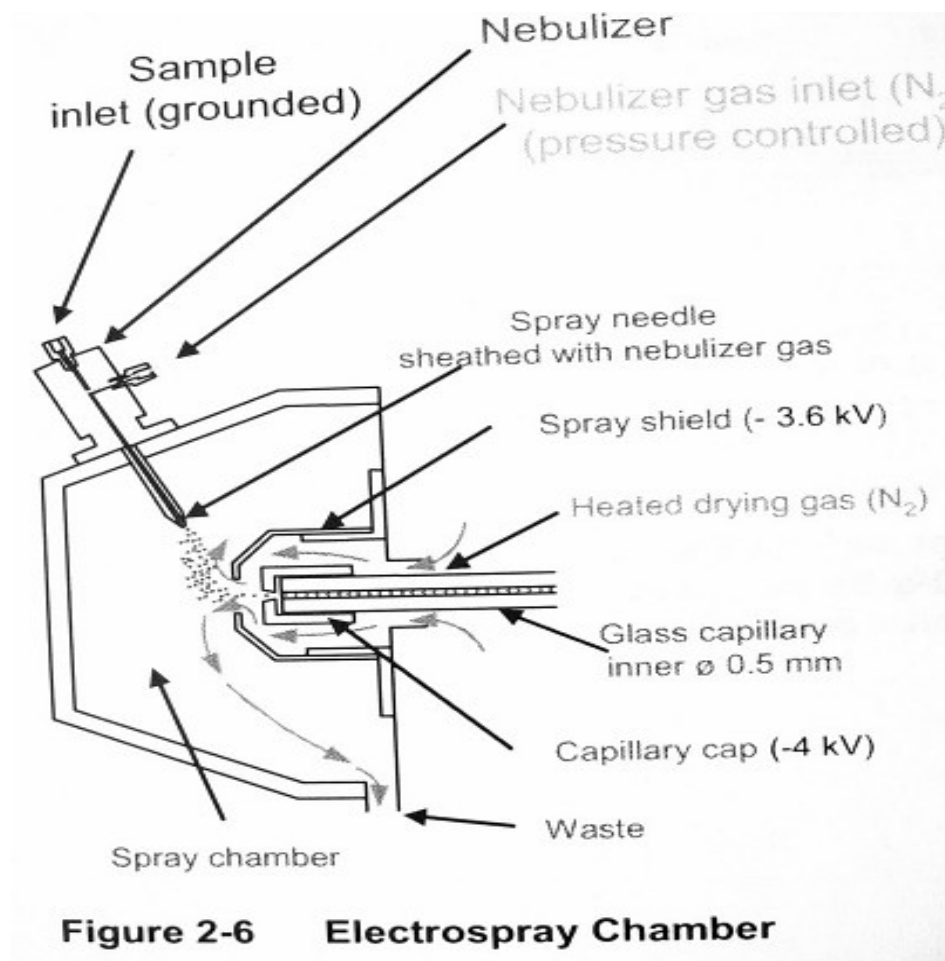
Специфика ВЭЖХ-МС анализа

- пригоден для многих термолабильных и малолетучих веществ
- не даёт стандартных масс-спектров
- слабое разделение на колонках
- проблема растворимости образца
(лучше в ACN, MeOH, i-PrOH, H₂O)

Области применения ЖХ-МС интерфейсов



Электростатическое распыление (API-ESI)



Положительные ионы:

$M+H^+$; $M+Na^+$; $M+K^+$
 $2M+H^+$; $2M+Na^+$
 $M-e$

Отрицательные ионы:

$M-H^+$; $M+e$
 $M+Cl^-$; $M+HCOO^-$

Химическая ионизация и фото-ионизация при атмосферном давлении (APCI, APPI)

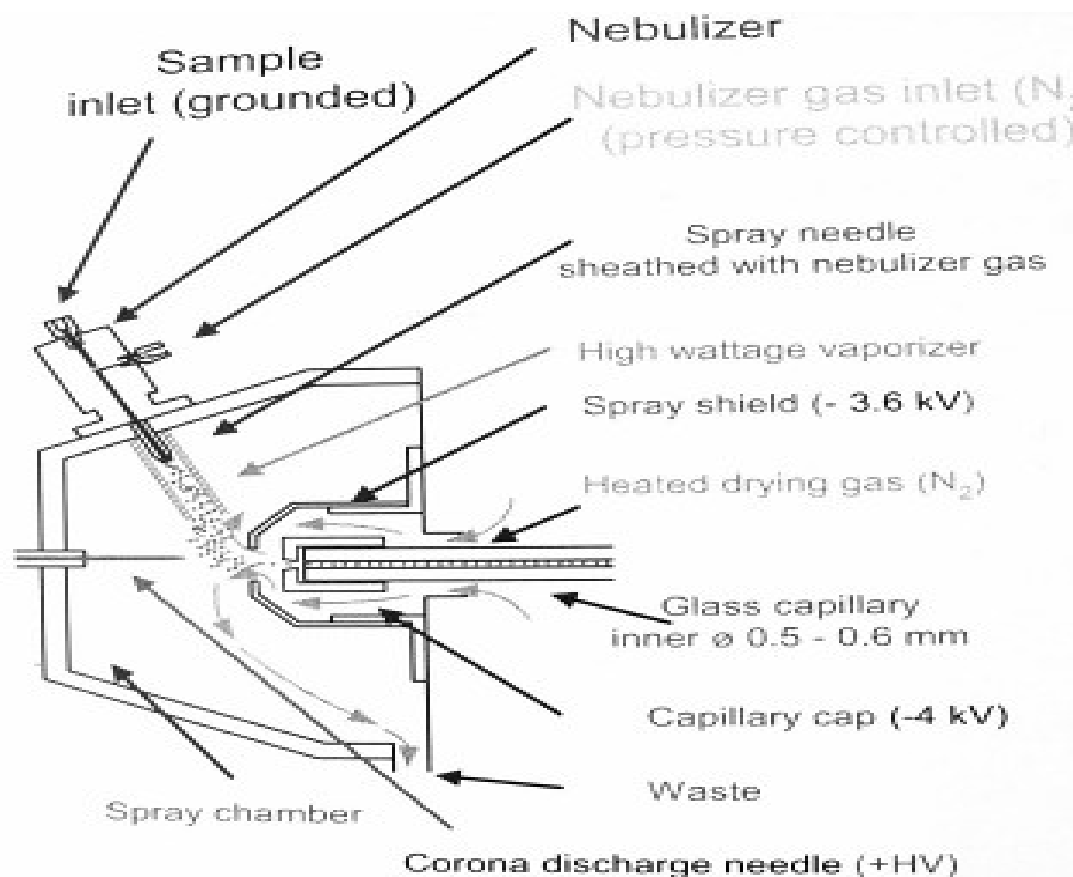


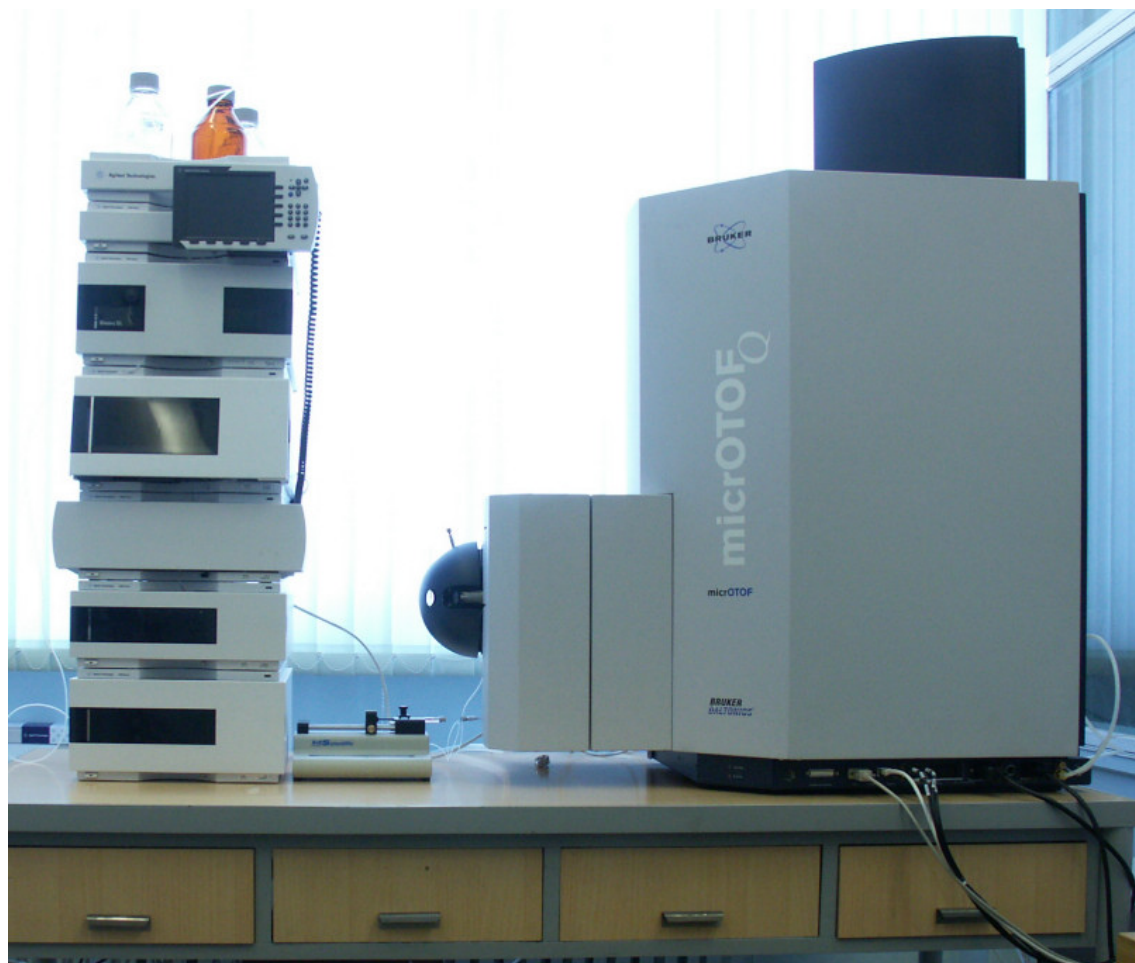
Figure 2-21 Schematic of an APCI-interface

Протонирование-депротонирование, перенос электрона происходит в зоне коронного разряда

после испарения
вещества

Agilent 1100

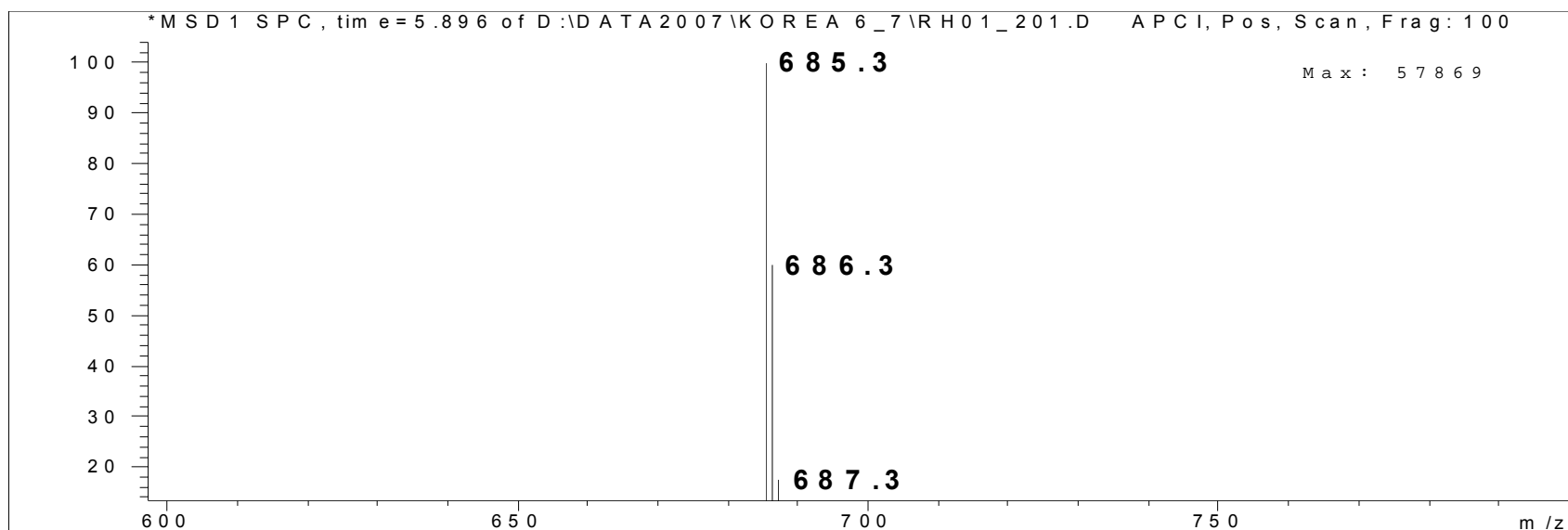
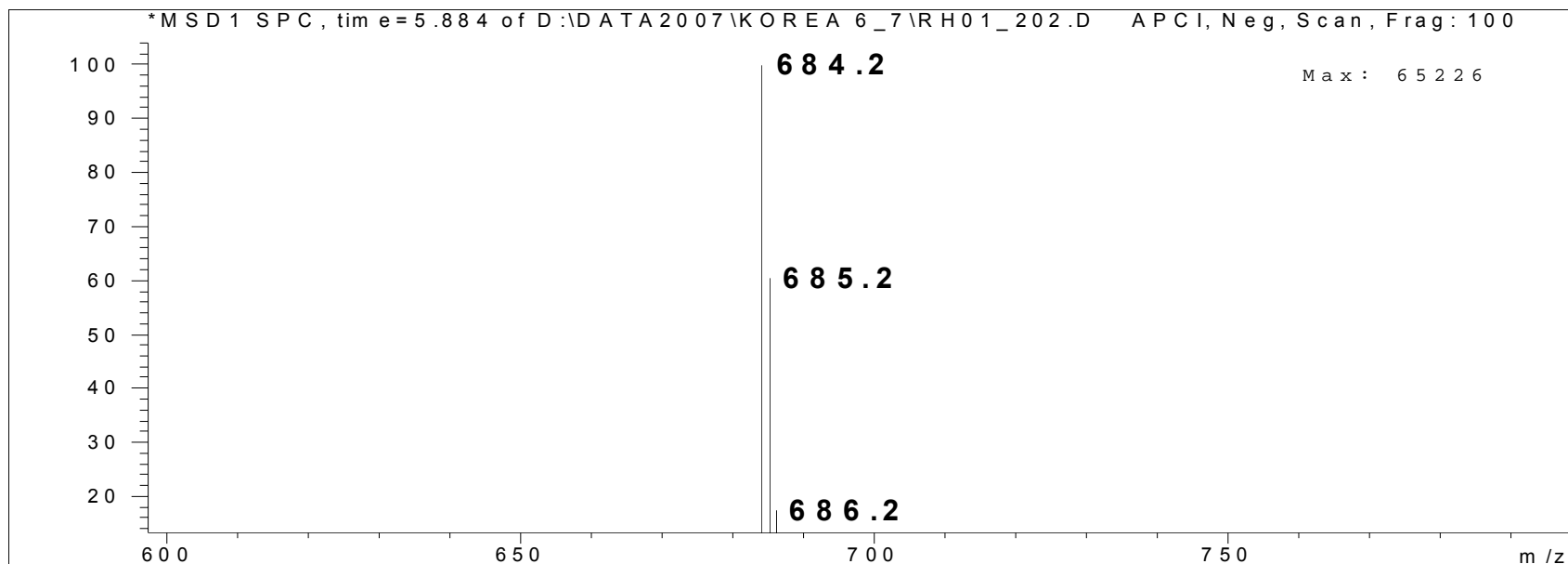
micrOTOF-Q (Bruker)



Agilent 1100 Series LC/MSD

- наличие DAD дает UV-Vis спектры (190-950 нм) в придачу к масс-спектральной информации
- доступный диапазон m/z : 100-1500
- точность: 0.1 а.е.
- возможность Flow Injection Analysis (FIA)
- минимальная фрагментация (для ESI)

Пример масс-спектральной информации Agilent 1100



Q-TOF масс-спектрометр

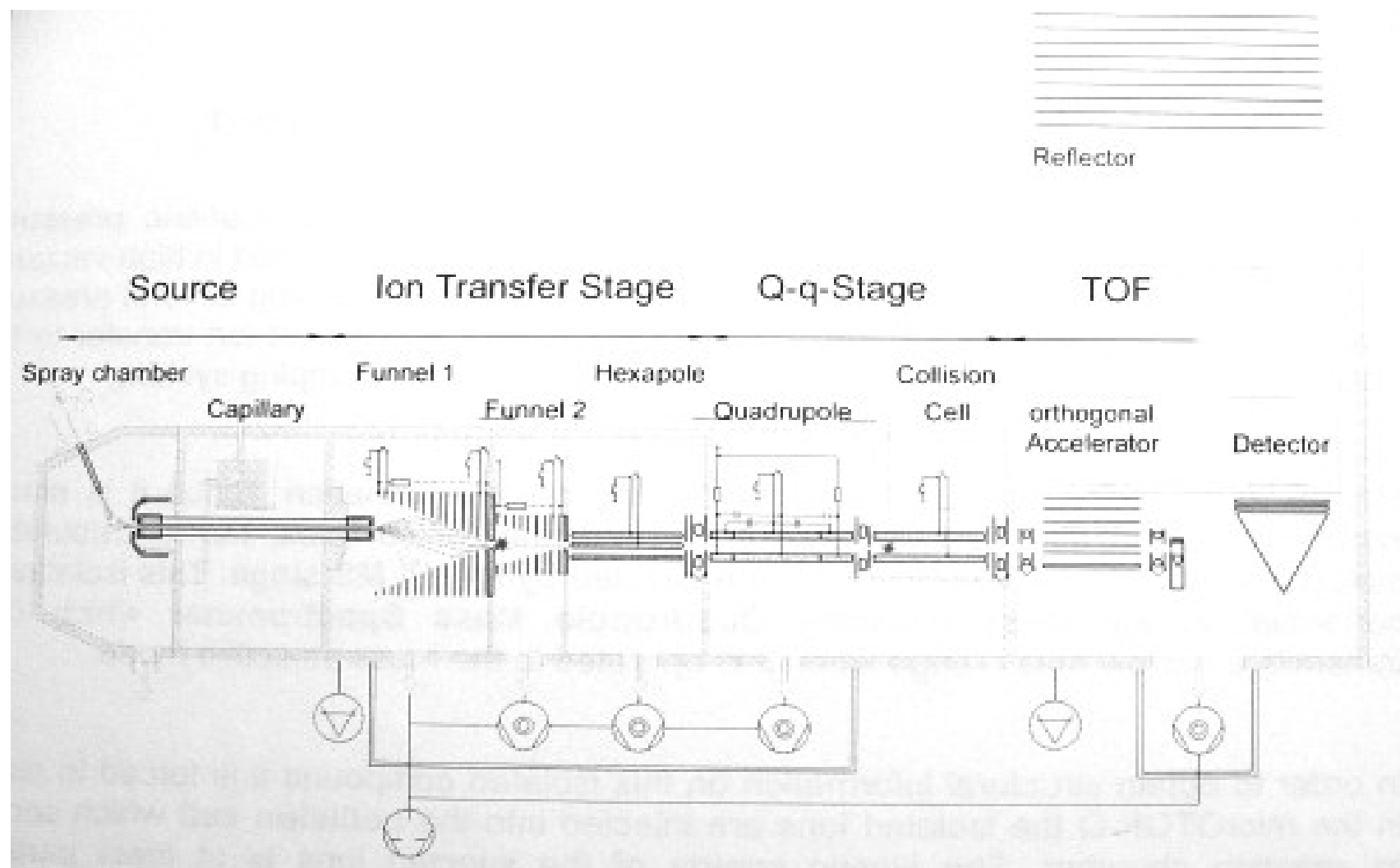
Недостатки:

- неполная интеграция LC-MS
- динамический диапазон 3 порядка
- прибор дорогой и нежный
- сильная зависимость спектра от настроек прибора

Преимущества:

- высокое разрешение (около 0.005 а.е.)
- диапазон m/z : 80-20000
- чувствительность выше в 30 раз (при сканировании)
- возможна тандемная масс-спектрометрия (MS/MS)

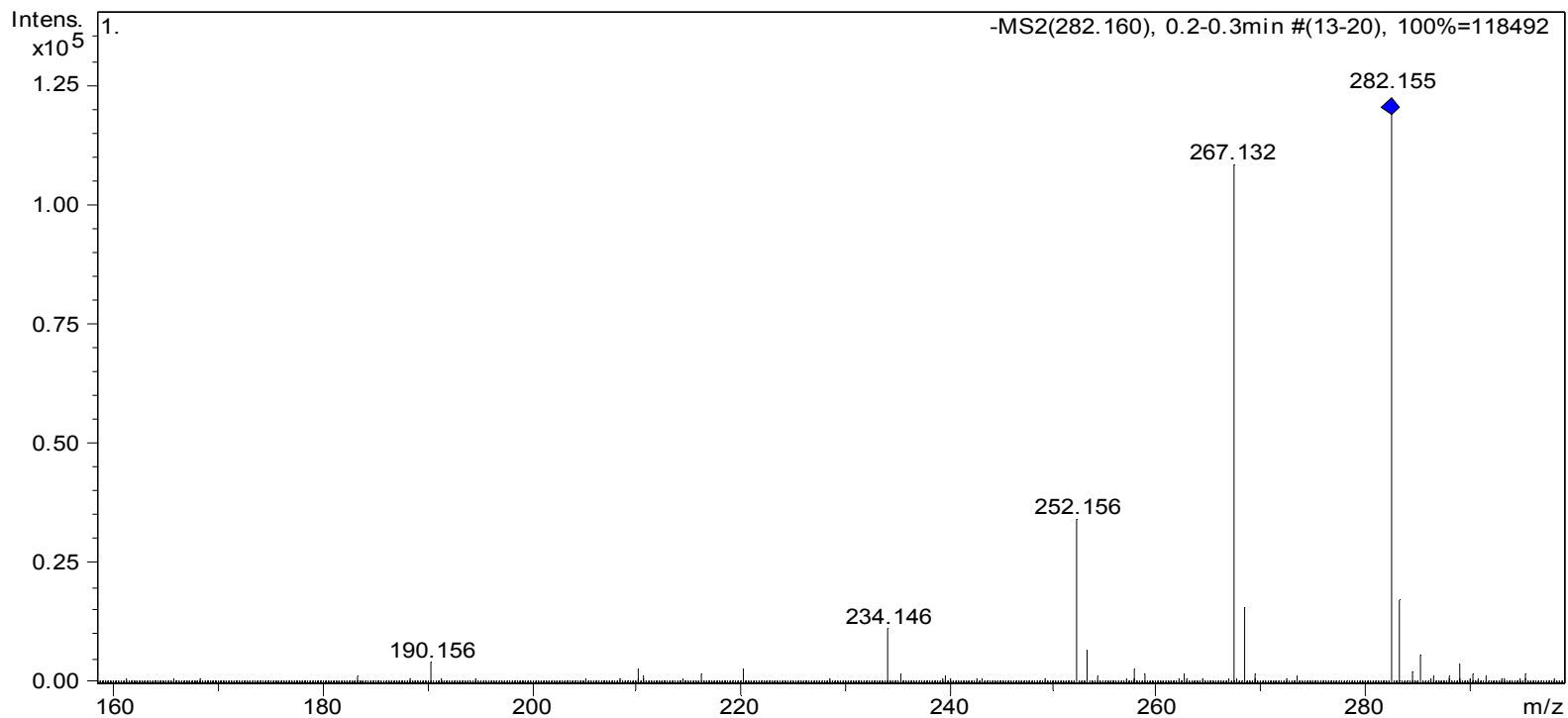
Схема прибора micrOTOF-Q (Bruker)



Пример определения брутто-формулы для небольшой молекулы

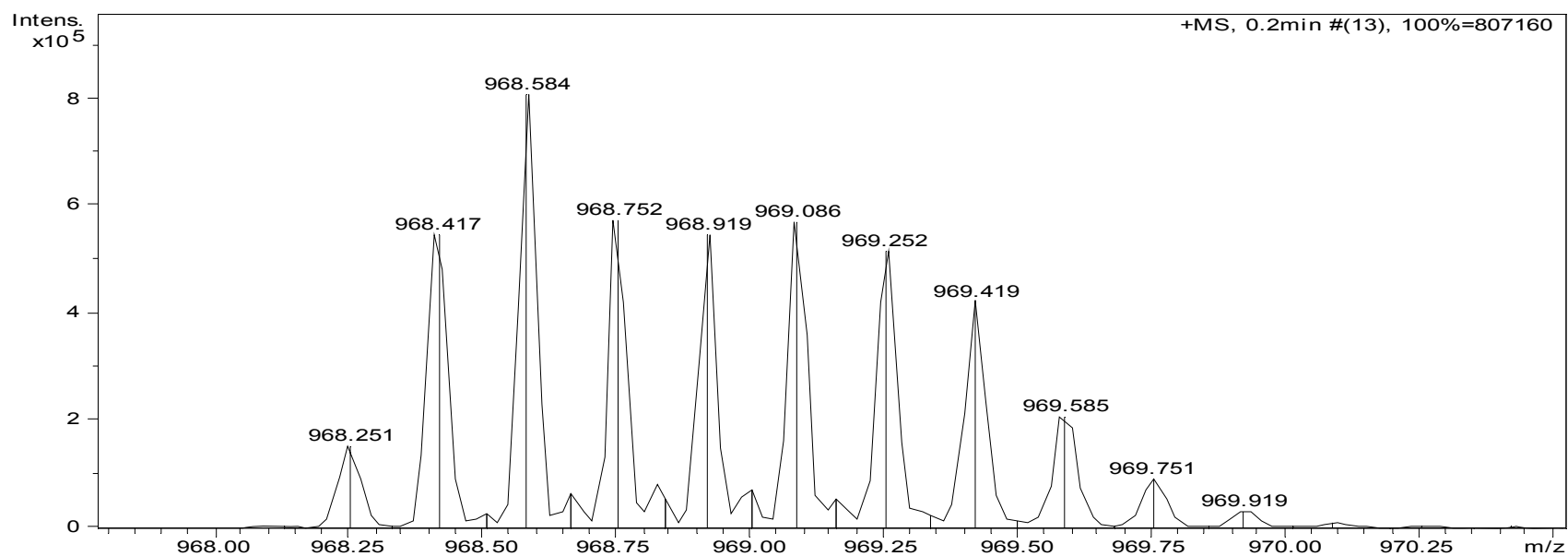
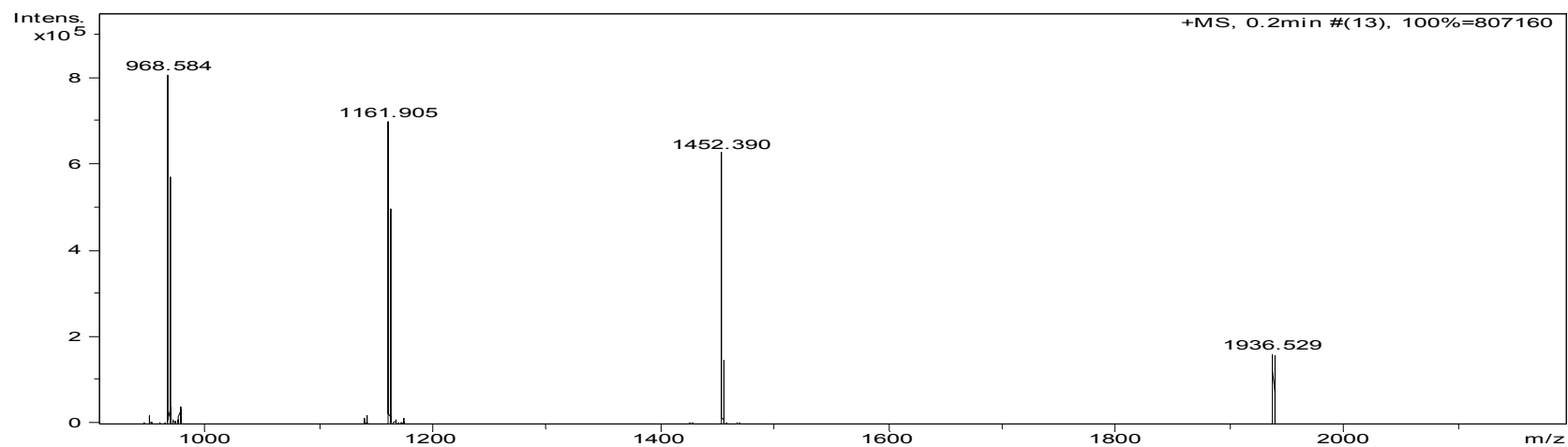
- Анализируемое вещество дало
negative ion $m/z=282.159$,
positive ion $m/z=306.156$.
- Видимо первый ион соответствует депротонированной форме этого соединения, а второй — аддукту с катионом Na.
- Поиск соответствующих брутто-формул с учетом точности измерения m/z в 5 м.д. дает два варианта для исходной молекулы:
- C₁₄H₂₃N₂O₄
- C₁₅H₁₉N₆

Анализ масс-спектра полученного с помощью
тандемной масс-спектрометрии позволяет исключить
второй вариант:

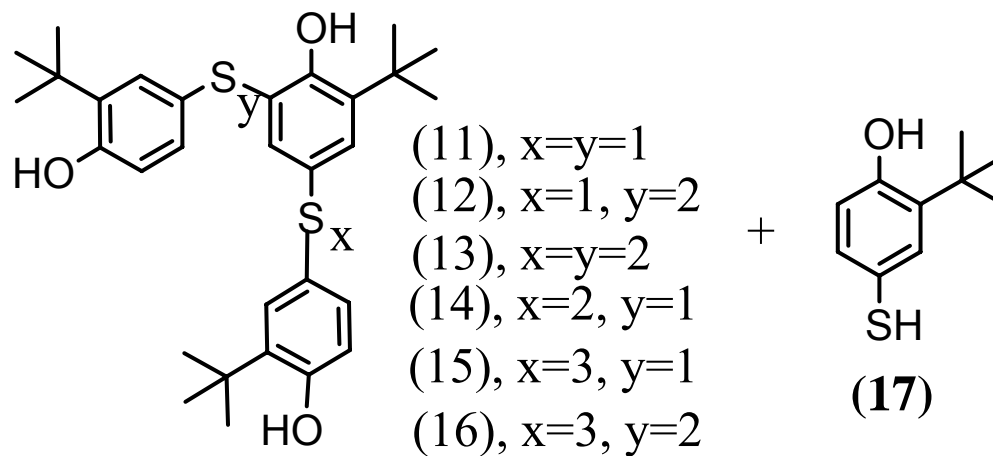
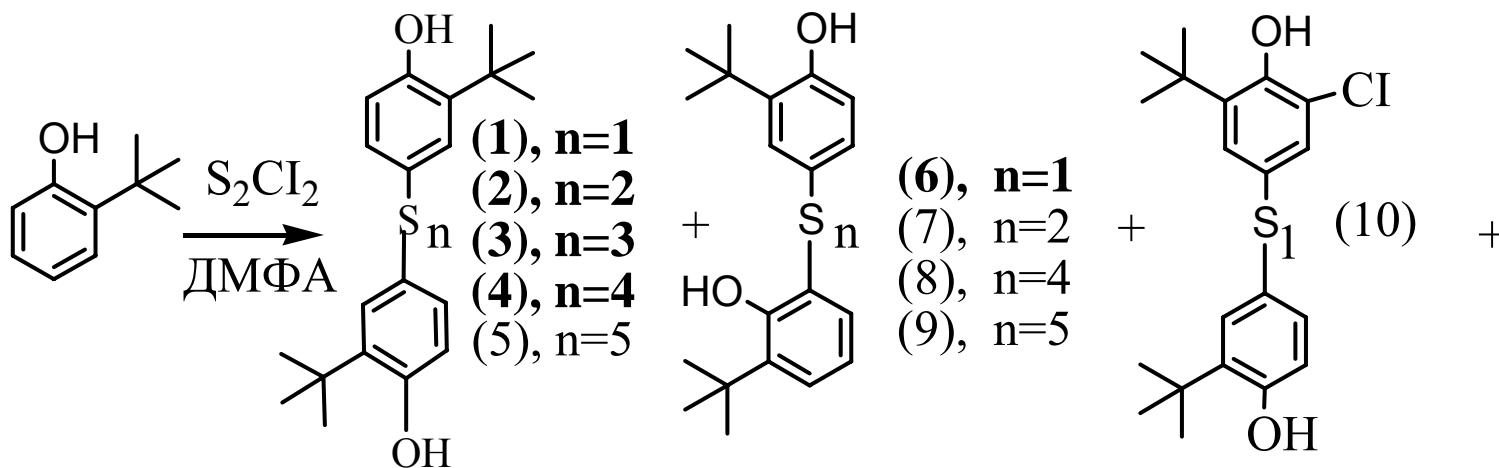


- Второй осколочный ион может соответствовать только потере NO-группы (М.в.=29.998)

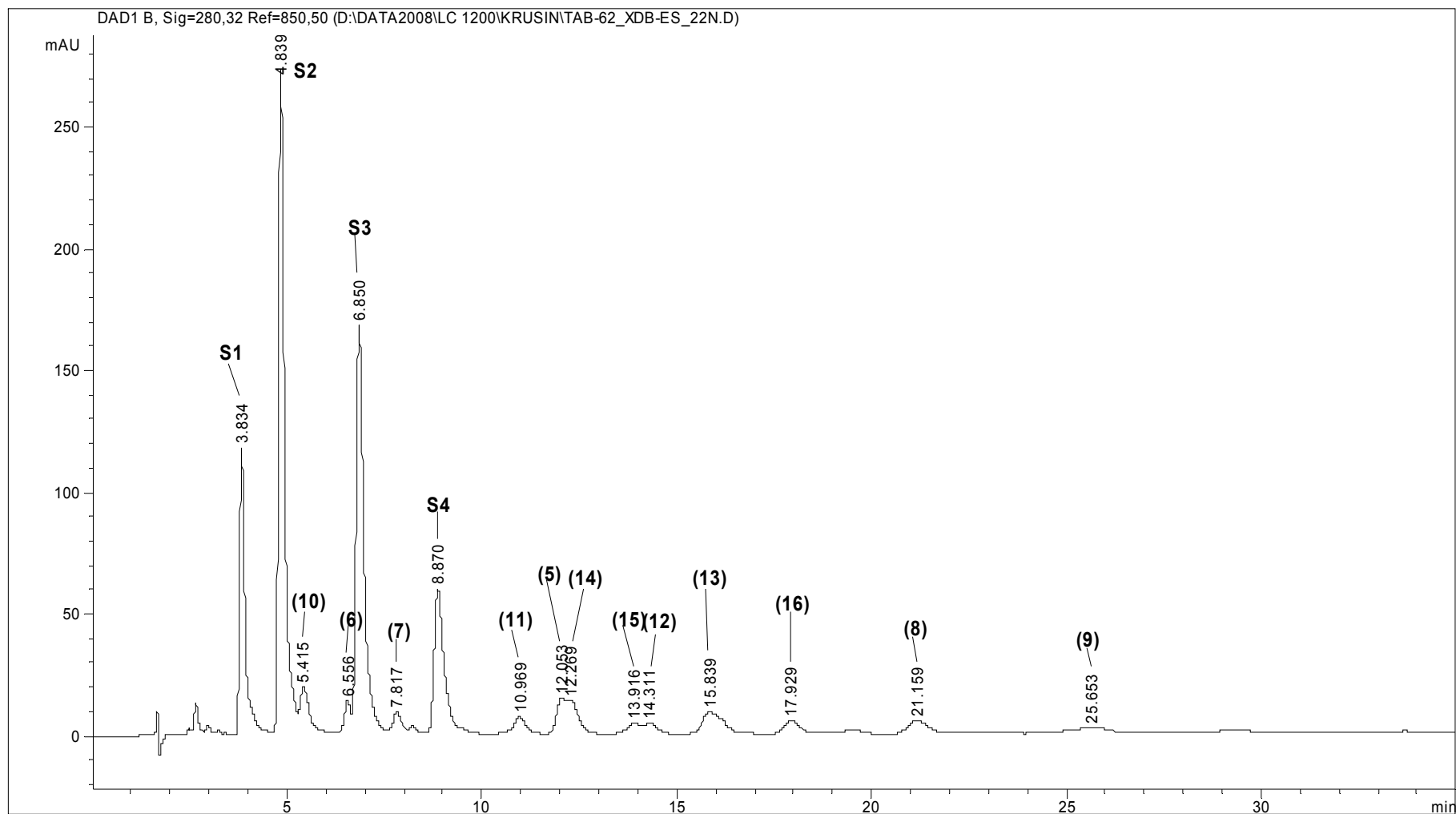
Пример анализа тяжелых молекул



Пример анализа сложной смеси термолабильных веществ



УФ-хроматограмма ТАБ (ВЭЖХ-МС анализ)

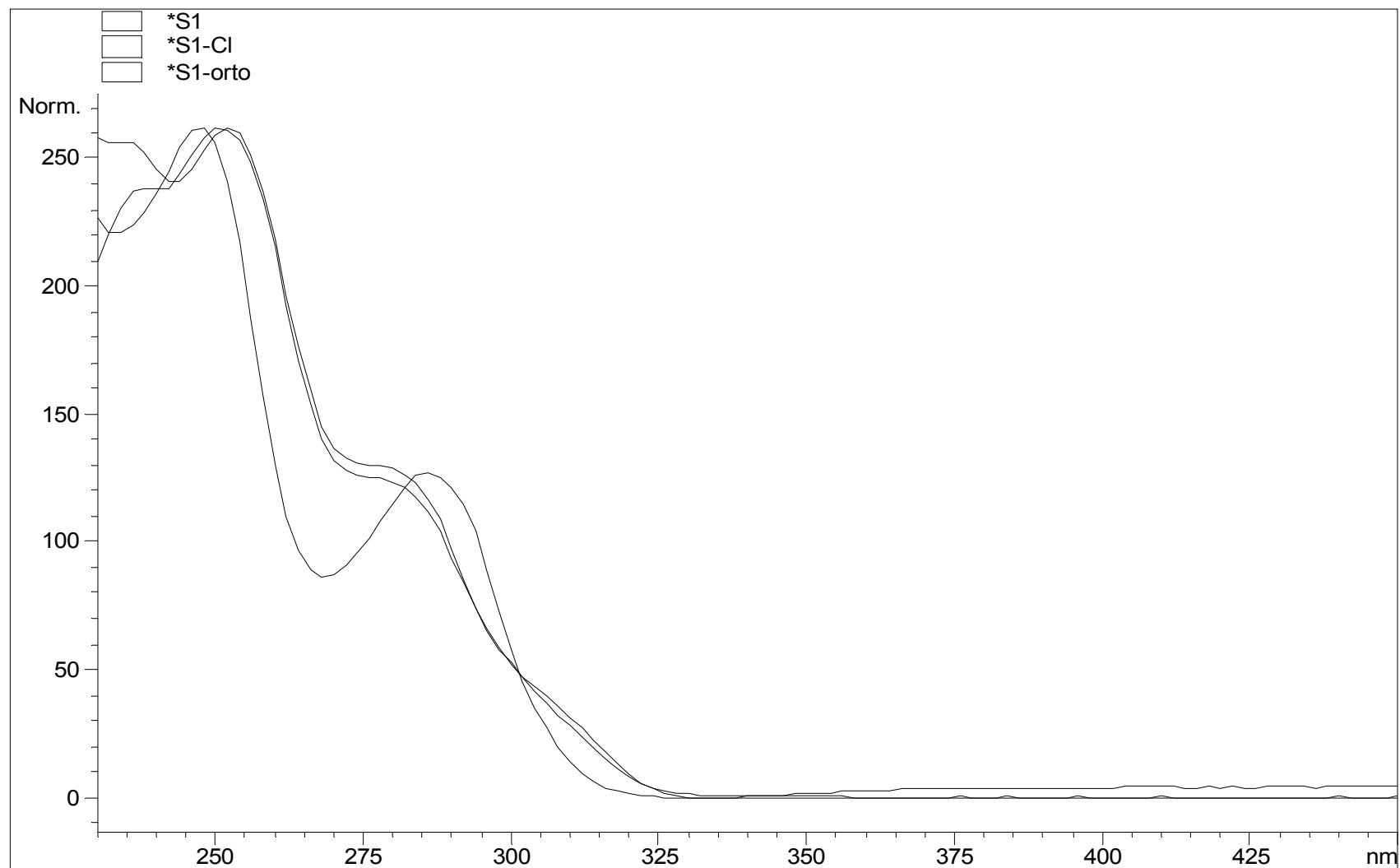


Время выхода (мин.)	Площадь пика (%)	Фенолят-анион (M-H ⁺), m/z	Осколочные ионы (m/z) и их интенсивность (%)	Максимумы спектра (нм)	УФ-	Соединение, его брутто-формула
3.83	11.9	329.16	180.06(7%),	250 ,(278)		(1) C ₂₀ H ₂₆ O ₂ S
4.84	30.5	361.13	180.06(56%), 213.05(13%)	(245) , 278		(2) C ₂₀ H ₂₆ O ₂ S ₂
5.41	3.2	363.12, 365.12(44%)	180.06(30%)	252 , 278 , (305)		(10) C ₂₀ H ₂₅ O ₂ SCl
6.56	1.4	329.16	180.06(37%), 149.10(28%)	247 , 286		(6) C ₂₀ H ₂₆ O ₂ S
6.85	24.0	393.10	180.06(65%) 212.04(2%) 213.05(3%)	230 , 272 ,(326)		(3) C ₂₀ H ₂₆ O ₂ S ₃

7.82	1.4	361.13(25%)	180.06(22%) 181.07(100%) 213.05(8%)	292	(7) $C_{20}H_{26}O_2S_2$
8.87	10.7	425.07	180.06(14%) 181.07(7%) 212.04(99%) 245.02(6%)	(270) , (325)	(4) $C_{20}H_{26}O_2S_4$
11.0	1.6	509.22		248 , (280) , (320)	(11) $C_{30}H_{38}O_3S_2$
12.05	2.5	457.04	180.06(32%) 181.07(11%) 212.04(75%) 276.99(50%) 393.10(14%)	(275) , (320)	(5) $C_{20}H_{26}O_2S_5$
12.27	2.8	541.19(37%)	361.13(100%) 181.07(13%)	(278) , (325)	(14) $C_{30}H_{38}O_3S_3$
13.92	1.0	573.16(50%)	361.13(100%) 393.10(96%)	234 , (280) , 330	(15) $C_{30}H_{38}O_3S_4$

14.31	1.0	541.19	?211.03(18%)	245 , (280)	(12) $C_{30}H_{38}O_3S_3$
15.84	3.3	573.16(24%)	393.10(100%) ?213.05(7%)	(275) , (325)	(13) $C_{30}H_{38}O_3S_4$
17.93	1.6	605.13(28%)	361.13(35%) 393.10(23%) 425.07(100%)	232 , (282) , (335)	(16) $C_{30}H_{38}O_3S_5$
21.16	1.9	425.07	212.04(18%)	230 , (280) , (325)	(8) $C_{20}H_{26}O_2S_4$
25.65	1.1	457.04	425.07(35%)	238 , (285) , (335)	(9) $C_{20}H_{26}O_2S_5$

УФ-спектры соединений (1) , (6) и (10).

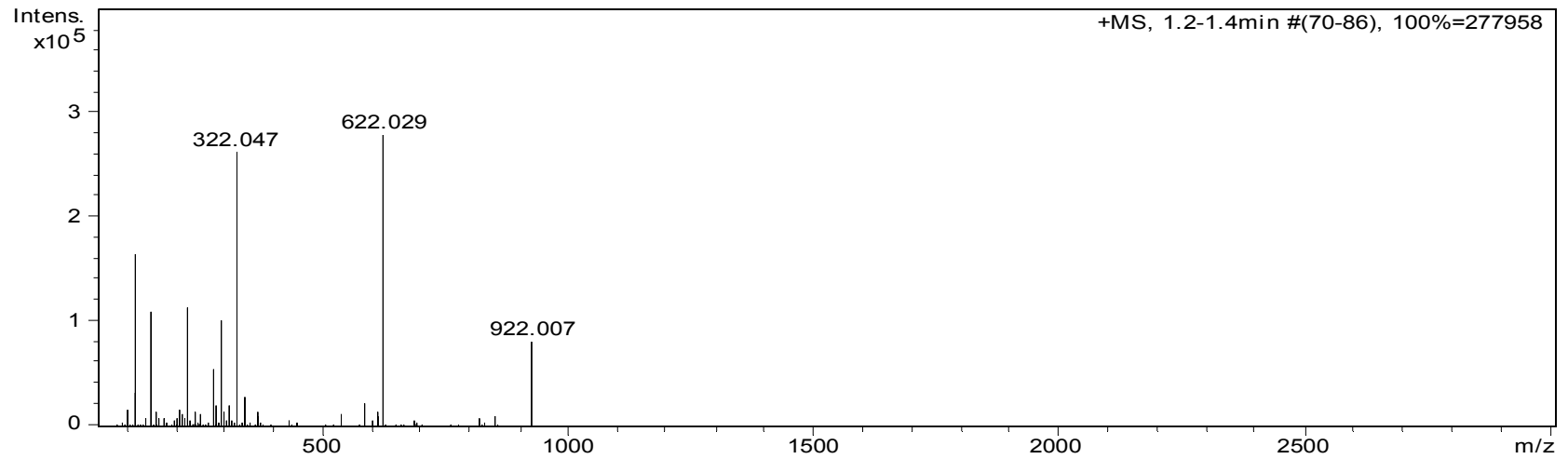
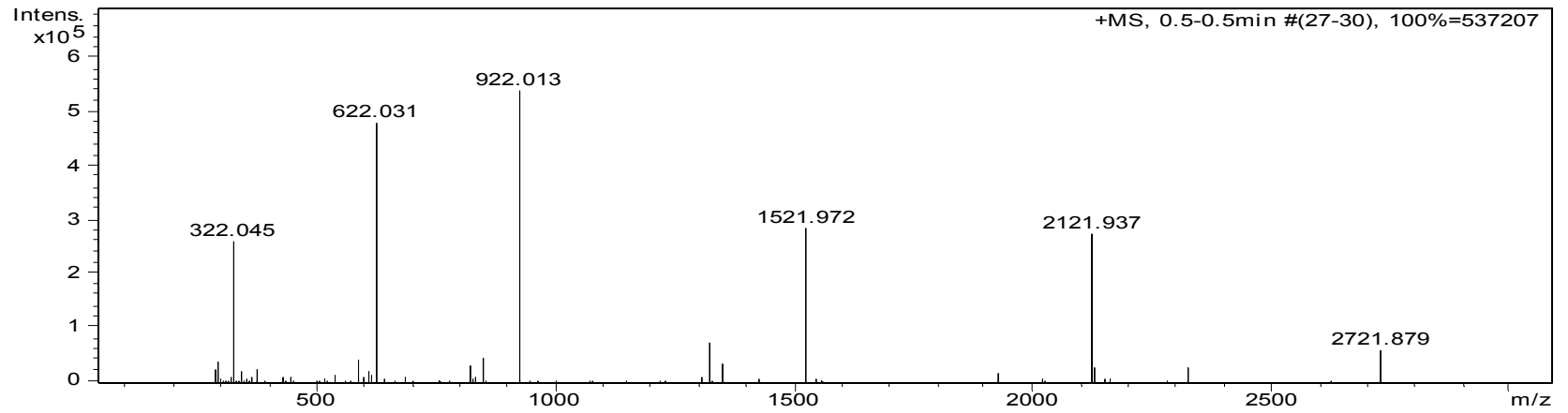




2-й пример определения брутто-формулы

- Для аддукта с Cl $m/z=849.41$:
- Compounds found: 10
- C₄₂H₅₂ClN₁₅O₃ MW=849,4065872 dm=-4,0 ppm
- C₄₃H₅₈ClN₈O₈ MW=849,4065918 dm=-4,0 ppm
- C₄₄H₆₄ClNO₁₃ MW=849,4065964 dm=-4,0 ppm
- C₄₄H₅₄ClN₁₂O₄ MW=849,4079294 dm=-2,4 ppm
- C₄₅H₆₀ClN₅O₉ MW=849,407934 dm=-2,4 ppm
- C₄₅H₅₀ClN₁₆ MW=849,409267 dm=-0,9 ppm
- C₄₆H₅₆ClN₉O₅ MW=849,4092716 dm=-0,9 ppm
- **C₄₇H₆₂ClN₂O₁₀** MW=849,4092762 dm=-0,9 ppm
- C₄₇H₅₂ClN₁₃O MW=849,4106092 dm=0,7 ppm
- C₄₈H₅₈ClN₆O₆ MW=849,4106138 dm=0,7 ppm

ES tune mix



Предпосылки к использованию ВЭЖХ-МС анализа

- Проблемы с идентификацией не решаемые другими физметодами
- Надежда на наличие в молекуле ионогенных групп
- Предварительный подбор условий ВЭЖХ-анализа (для смесей)
- Заметная растворимость образца в неагрессивных растворителях