



CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY

APPLICATIONS IN DIFFERENT MATRICIES

Христо Чанев

Факултет по химия и фармация, СУ „Св. Климент Охридски“

14.06.2017



Акценти

- ✓ Защо все повече използваме комбинираните методи?
- ✓ Какви възможности ни предоставят съвременните хроматографски и масспектрални методи?
- ✓ Кои са предимствата, на които разчитаме при системите за GC/MS и HPLC/MS?
- ✓ Приложения на GC/MS и HPLC/MS при решаване на конкретни аналитични задачи.

Защо все повече използваме комбинираните методи?



GC

MS

HPLC

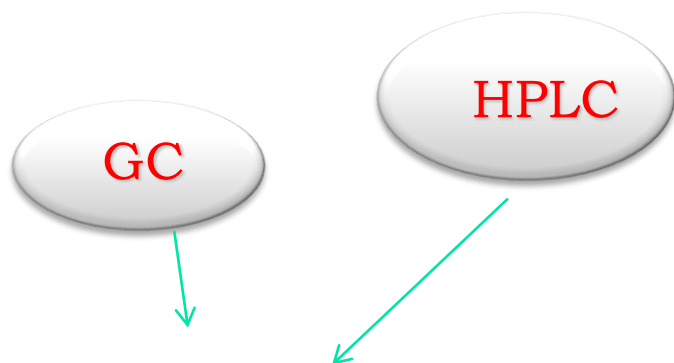




Какви възможности ни предоставят съвременните хроматографски и маспектрални методи?

MS

Масспектрометрията е
метод за
СТРУКТУРЕН АНАЛИЗ



Хроматографията, във всичките си варианти и техники на изпълнение, е метод за разделяне и едва след това е метод за количествен и качествен анализ

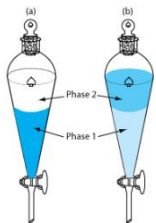


GC

HPLC

- ✓ Хроматографията, като метод за разделяне ни позволява да работим със сложни по състав смеси;
- ✓ Използването на конкретен хроматографски метод се определя от вида на пробата и свойствата на целевите анализи;
- ✓ Въпреки възможностите на хроматографията – методът изисква сериозна пробоподготовка.

✓ Въпреки възможностите на хроматографията – методът изисква сериозна пробоподготовка.

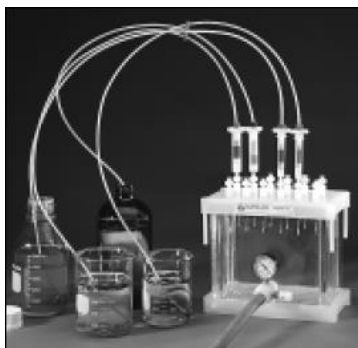


✓ Течно/течна екстракция

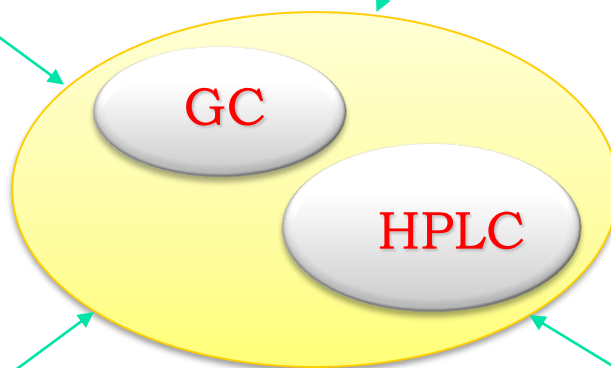
✓ Суперкритична – флуидна екстракция



✓ Сокслет екстракция



✓ Твърдофазна екстракция



✓ Екстракция с йонни течности



- ✓ Използването на конкретен хроматографски метод се определя от вида на пробата и свойствата на целевите анализи;



Анализ на летливи,
термичностабилни
вещества



Анализ на нелетливи,
йоногенни вещества

GC



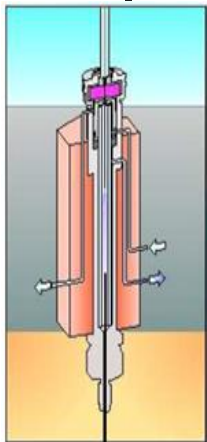
- ✓ Възможностите на хроматография са действително големи и добре известни. Зависят до голяма степен от конфигурацията на системата.
- ✓ С какво разполагаме на входа на системата?
- ✓ Какви са възможностите на колоната ни?
- ✓ Какви са възможностите ни за детекция?



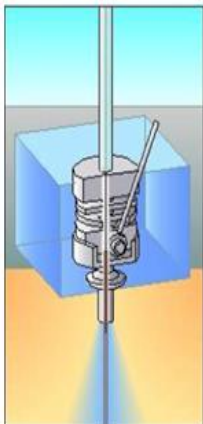
HPLC



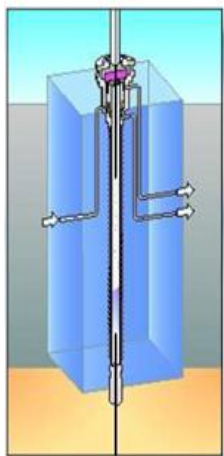
GC



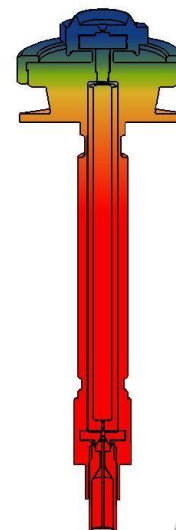
Split/Splitless
инжектор



Cool on-column
инжектор



PTV
инжектор





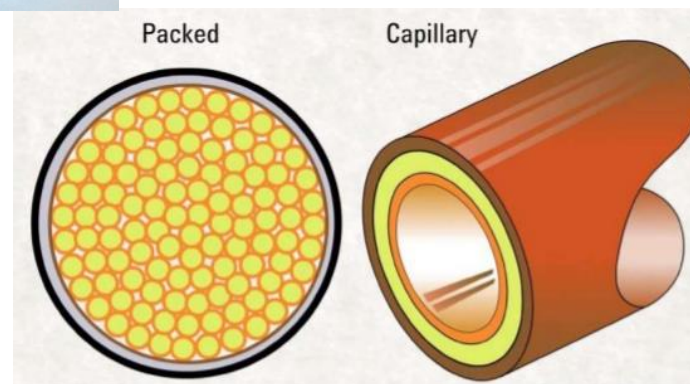
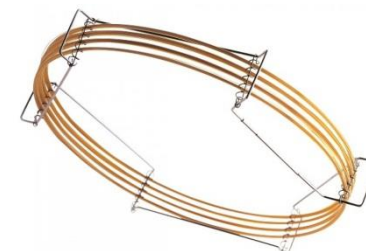
HPLC



Колони за HPLC

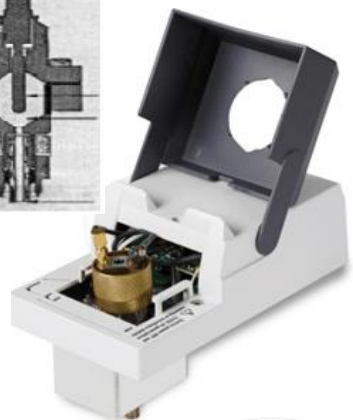
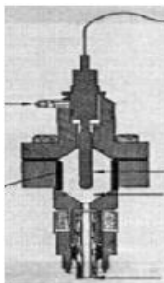


Колони за GC





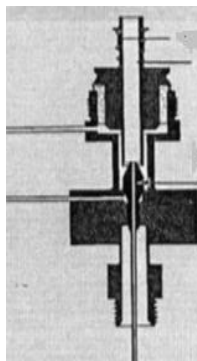
Детектори за газова хроматография



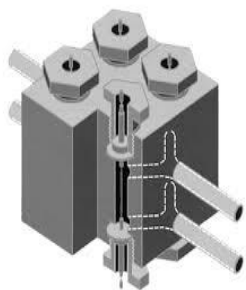
ECD



FID



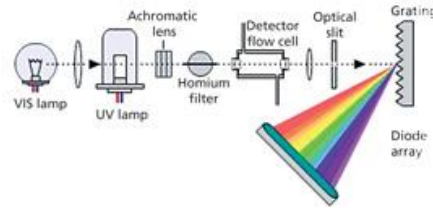
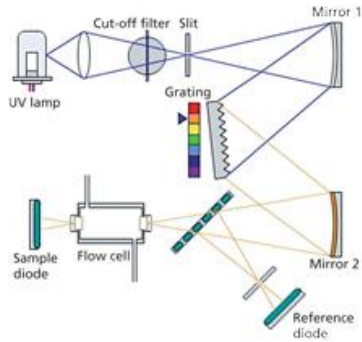
NPD



TCD



- ✓ Линеен обхват
- ✓ Специфичност
- ✓ Чувствителност
- ✓ Гранична чувствителност – LOD и LOQ
- ✓ Скорост на сканиране



UV/VIS

HPLC



RID

FLD

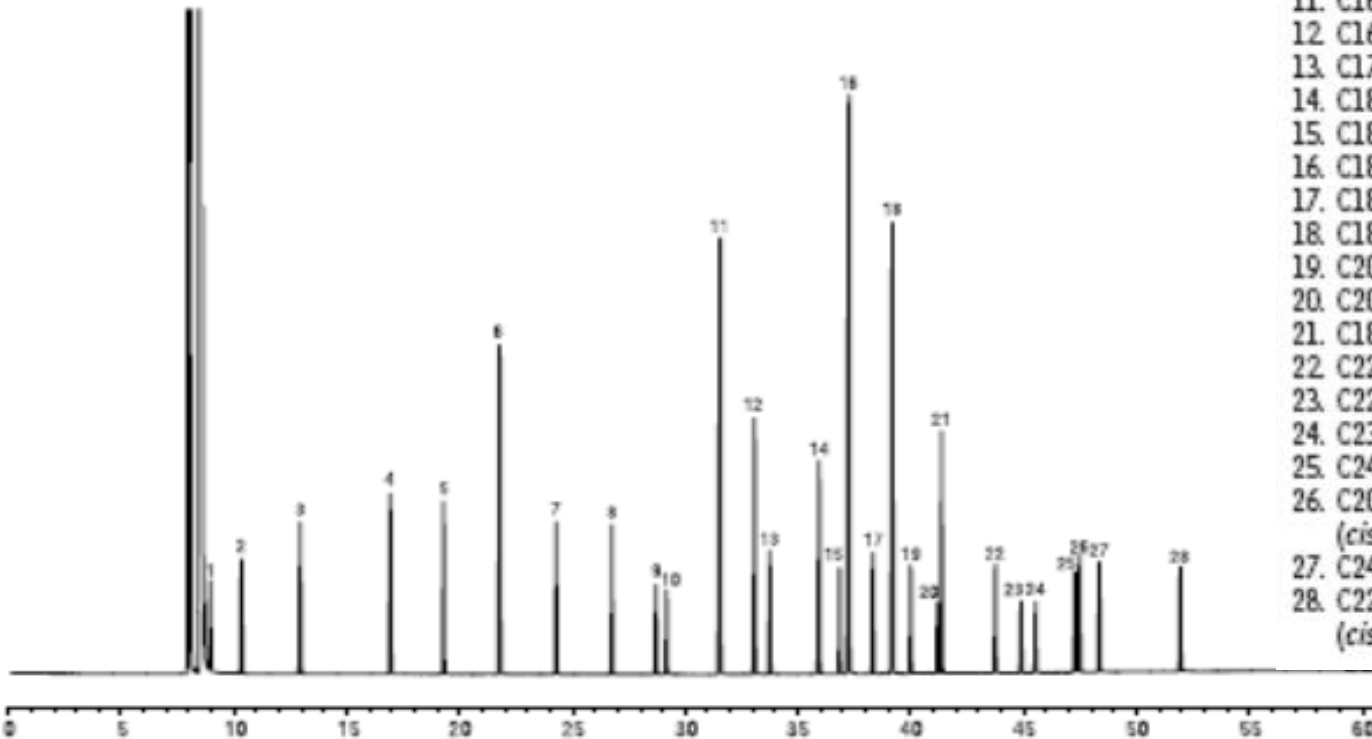
ELSD



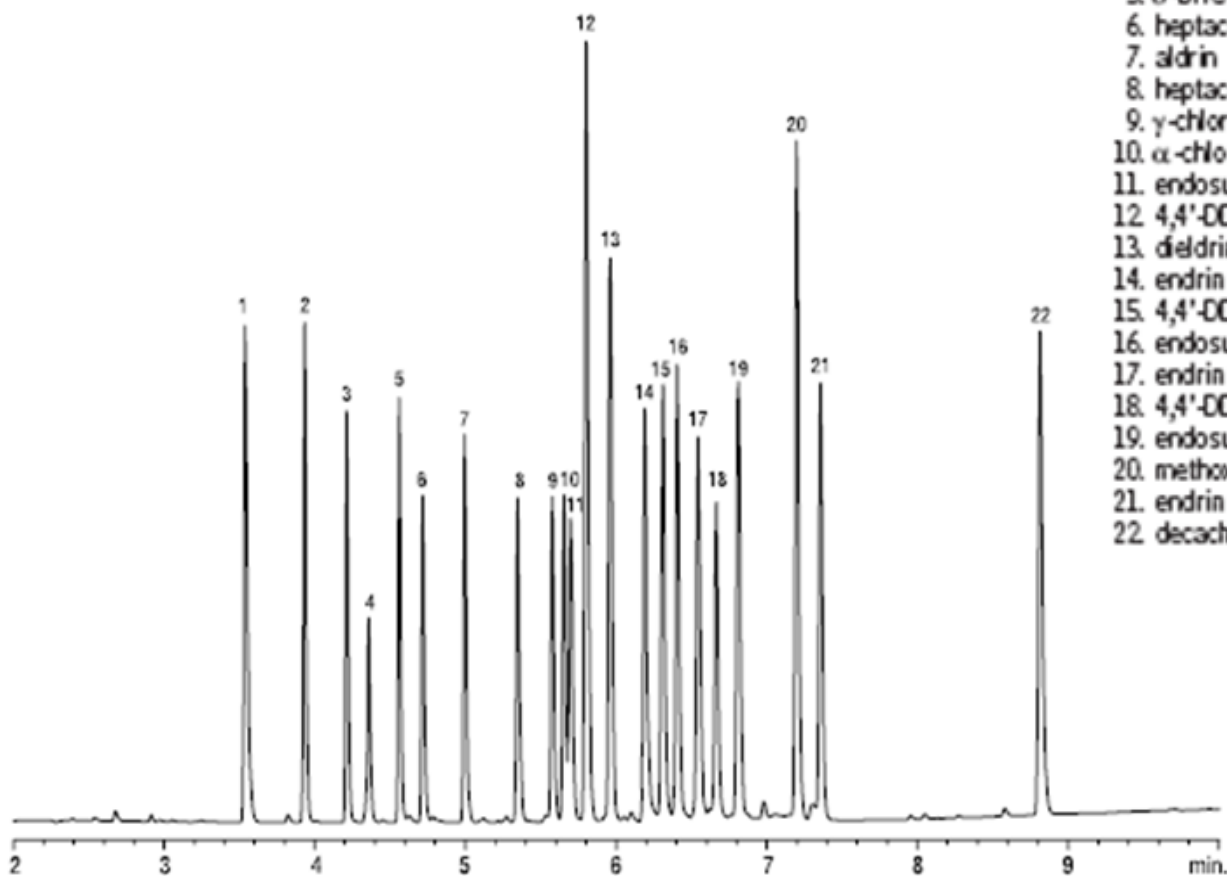


GC

1. C4:0 methyl butyrate
2. C6:0 methyl hexanoate
3. C8:0 methyl octanoate
4. C10:0 methyl decanoate
5. C11:0 methyl undecanoate
6. C12:0 methyl laurate
7. C13:0 methyl tridecanoate
8. C14:0 methyl myristate
9. C14:1 methyl myristoleate (*cis*-9)
10. C15:0 methyl pentadecanoate
11. C16:0 methyl palmitate
12. C16:1 methyl palmitoleate (*cis*-9)
13. C17:0 methyl heptadecanoate
14. C18:0 methyl stearate
15. C18:1 methyl elaidate (*trans*-9)
16. C18:1 methyl oleate (*cis*-9)
17. C18:2 methyl linoelaidate (*trans*-9,12)
18. C18:2 methyl linoleate (*cis*-9,12)
19. C20:0 methyl arachidate
20. C20:1 methyl eicosenoate (*cis*-11)
21. C18:3 methyl linolenate (*cis*-9,12,15)
22. C22:0 methyl behenate
23. C22:1 methyl erucate (*cis*-13)
24. C23:0 methyl tricosanoate
25. C24:0 methyl lignocerate
26. C20:5 methyl eicosapentaenoate (*cis*-5,8,11,14,17)
27. C24:1 methyl nervonate (*cis*-15)
28. C22:6 methyl docosahexaenoate (*cis*-4,7,10,13,16,19)



GC

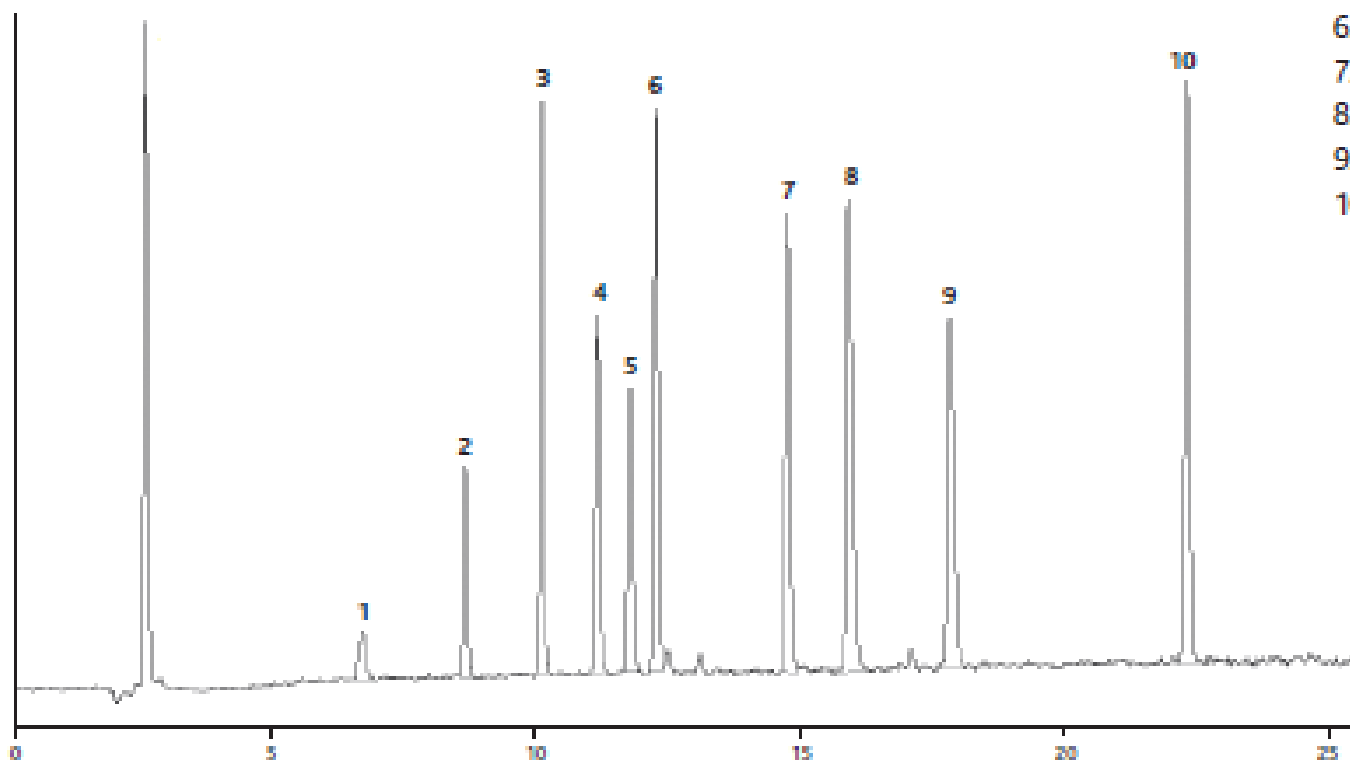


Compound	Conc. (ppb)	RT (min.)
1. 2,4,5,6-tetrachloro- <i>m</i> -xylene (ss)	80	3.538
2. α -BHC	80	3.931
3. γ -BHC	80	4.211
4. β -BHC	80	4.356
5. δ -BHC	80	4.560
6. heptachlor	80	4.715
7. aldrin	80	4.995
8. heptachlor epoxide	80	5.346
9. γ -chlordane	80	5.576
10. α -chlordane	80	5.653
11. endosulfan I	80	5.698
12. 4,4'-DDE	160	5.800
13. dieldrin	160	5.959
14. endrin	160	6.190
15. 4,4'-DDD	160	6.309
16. endosulfan II	160	6.404
17. endrin aldehyde	160	6.543
18. 4,4'-DDT	160	6.662
19. endosulfan sulfate	160	6.810
20. methoxychlor	800	7.198
21. endrin ketone	160	7.355
22. decachlorobiphenyl (ss)	160	8.813

HPLC

Compounds

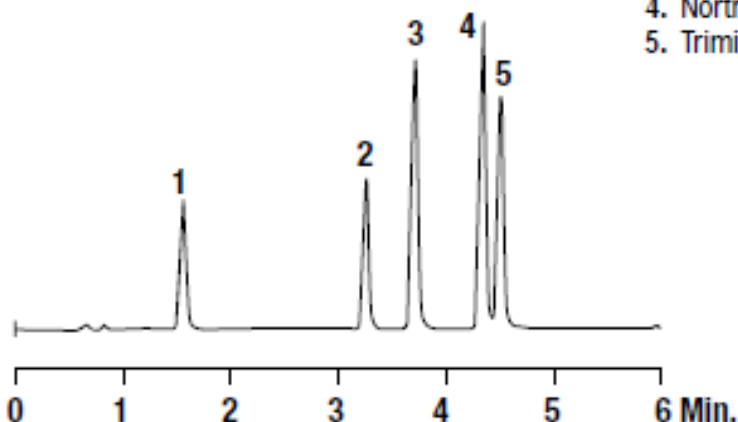
1. Acesulfame K
2. Theobromine
3. Theophylline
4. Cyclamate
5. Saccharin
6. Caffeine
7. Sucralose
8. Quinine sulphate
9. Aspartame
10. Neohesperidin dihydrochalcone





HPLC

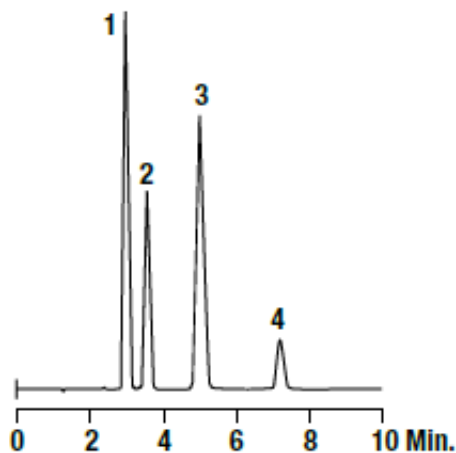
1. Theophylline
2. Acetylsalicylic Acid
3. Propranolol
4. Nortriptyline
5. Trimipramine



Column: Alltech® Alltima™ C18, 3µm, 53 x 7mm Rocket™ (Part No. 50605)
Mobile Phase: A: 0.1% Trifluoroacetic Acid in Water
 B: 0.1% Trifluoroacetic Acid in Acetonitrile
Gradient:

Time:	0	6
%B:	10	90

Flow Rate: 2.5mL/min
Detector: ELSD



1. Naproxen
2. Acemetacin
3. Indomethacin
4. p-Xylene

Column: Alltech® Platinum™ C18, 5µm, 150 x 4.6mm (Part No. 32043)
Mobile Phase: 0.02M KH₂PO₄:Methanol:Acetonitrile: pH4.5 (40:50:10)
Flow Rate: 1.0mL/min
Detector: UV at 254nm



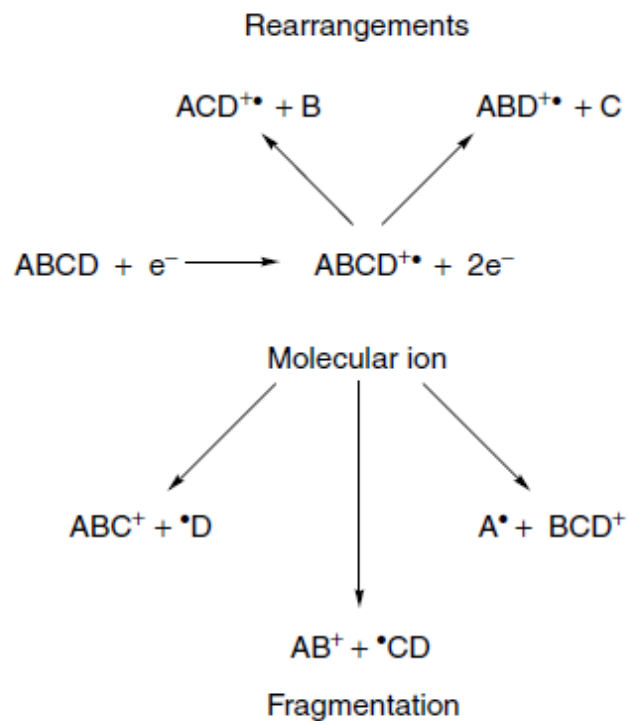
Възможности на съвременните масспектрални методи

Масспектрометрията е метод за структурен анализ, който
ни позволява:

- ✓ да измерваме масата на анализирани съединения със съответната точност;
- ✓ дава ценна информация относно химичната структура на изследваните съединения;
- ✓ служи за идентификация, потвърждаване и количествено определяне на синтетични и природни ОС, метаболити, моно-, олиго- и полизахариди, лекарствени препарати, природни или синтетични полимери.



В маспектронетрията наблюдаваме йони получени от молекулата на анализа, вследствие външна въздействие.





Всеки МС има своите
основни модули.



- ✓ ВХОД КЪМ СИСТЕМАТА;
- ✓ йонен източник (ЙК);
- ✓ мас анализатор;
- ✓ детектор;
- ✓ двустепенна вакуумна система;
- ✓ Система за обработка на сигнала.

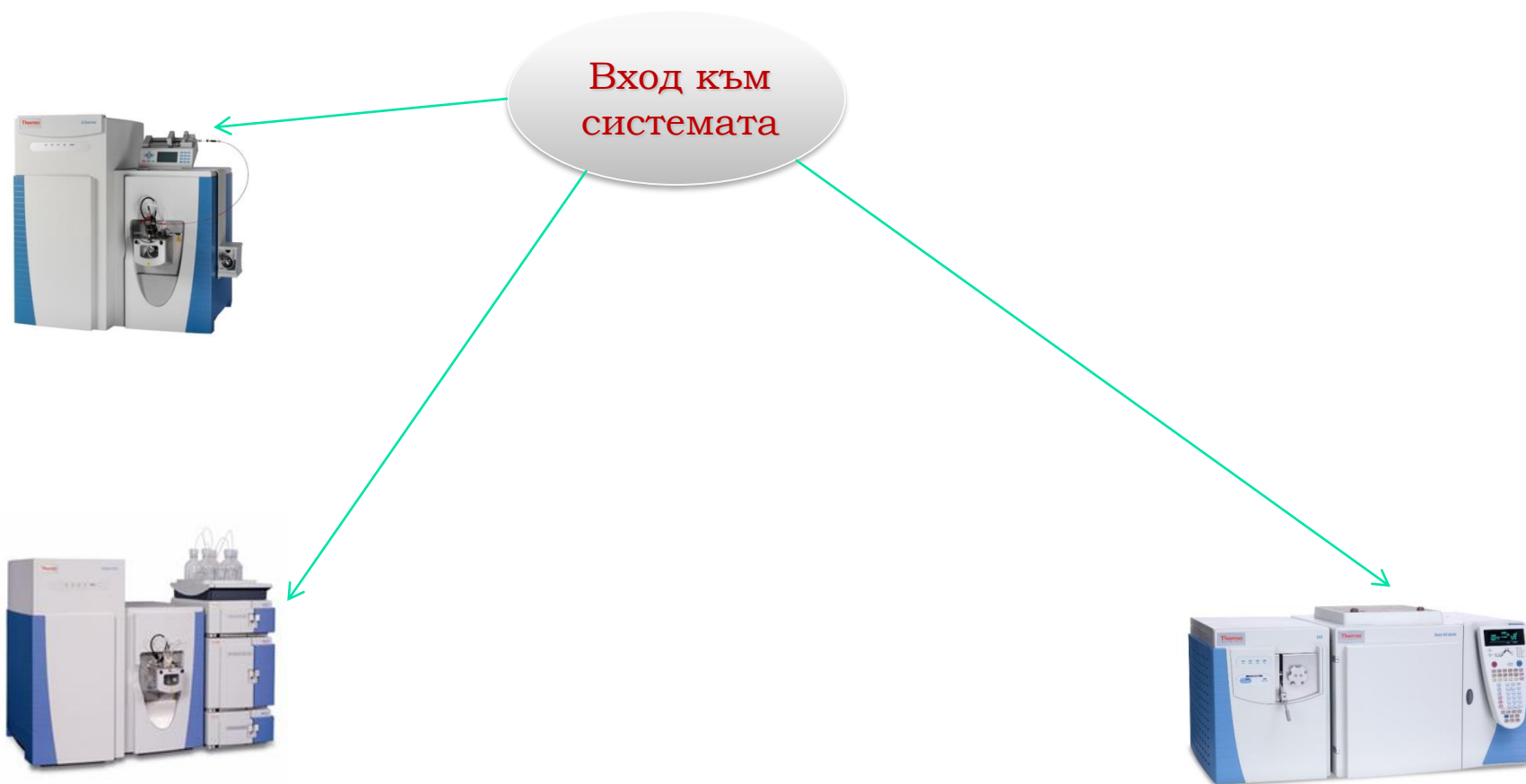




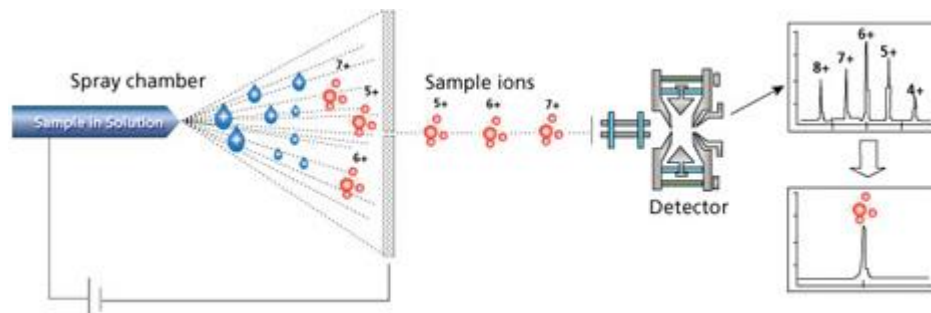
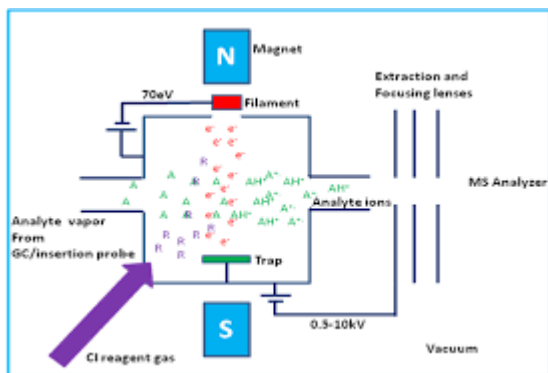
- ✓ Изборът на вход към системата, се определя от свойствата на обекта на анализ.
- ✓ Избраният вход към системата, предполага наличие на съответен йонен източник.
- ✓ Массанализаторът определя възможностите ни за наблюдаване на получените йони, като качество и количество.



- ✓ Изборът на вход към системата, се определя от свойствата на обекта на анализ.



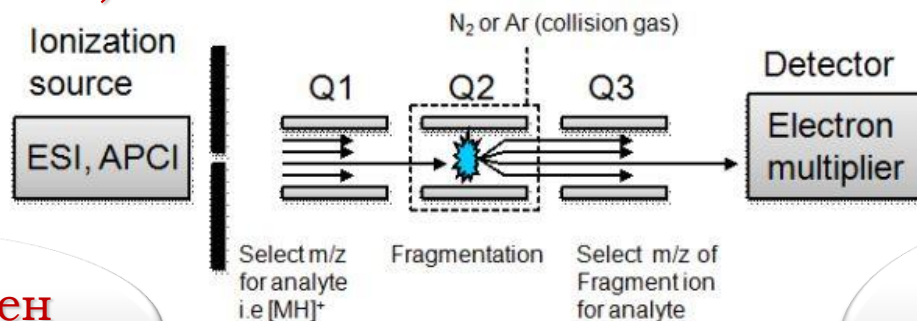
Избраният вход към системата, предполага наличие на съответен йонен източник.



Електронен удар (EI) или химична йонизация (CI) за летливи съединения

Йонизация при атмосферно налягане (API) (ESI), (APCI), (FAB) или (MALDI) за нелетливи йоногенни съединения

Массанализаторът определя възможностите ни да наблюдаваме получените йони, като качество и количество.



Квадруполен
(Q)

Йонтрап (IT)
МА

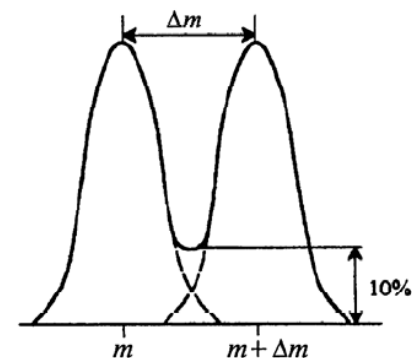
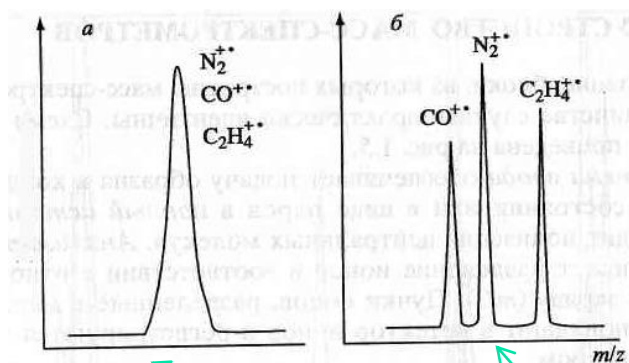
Време за прелитане
(TOF)

Троен квадрупол
(3Q)

Орбитрап (IT)
(точна маса)

Двойно фокусикаци
анализатори
(точна маса)

Массанализаторът определя възможностите ни за наблюдаване на получените йони, като качество и количество.



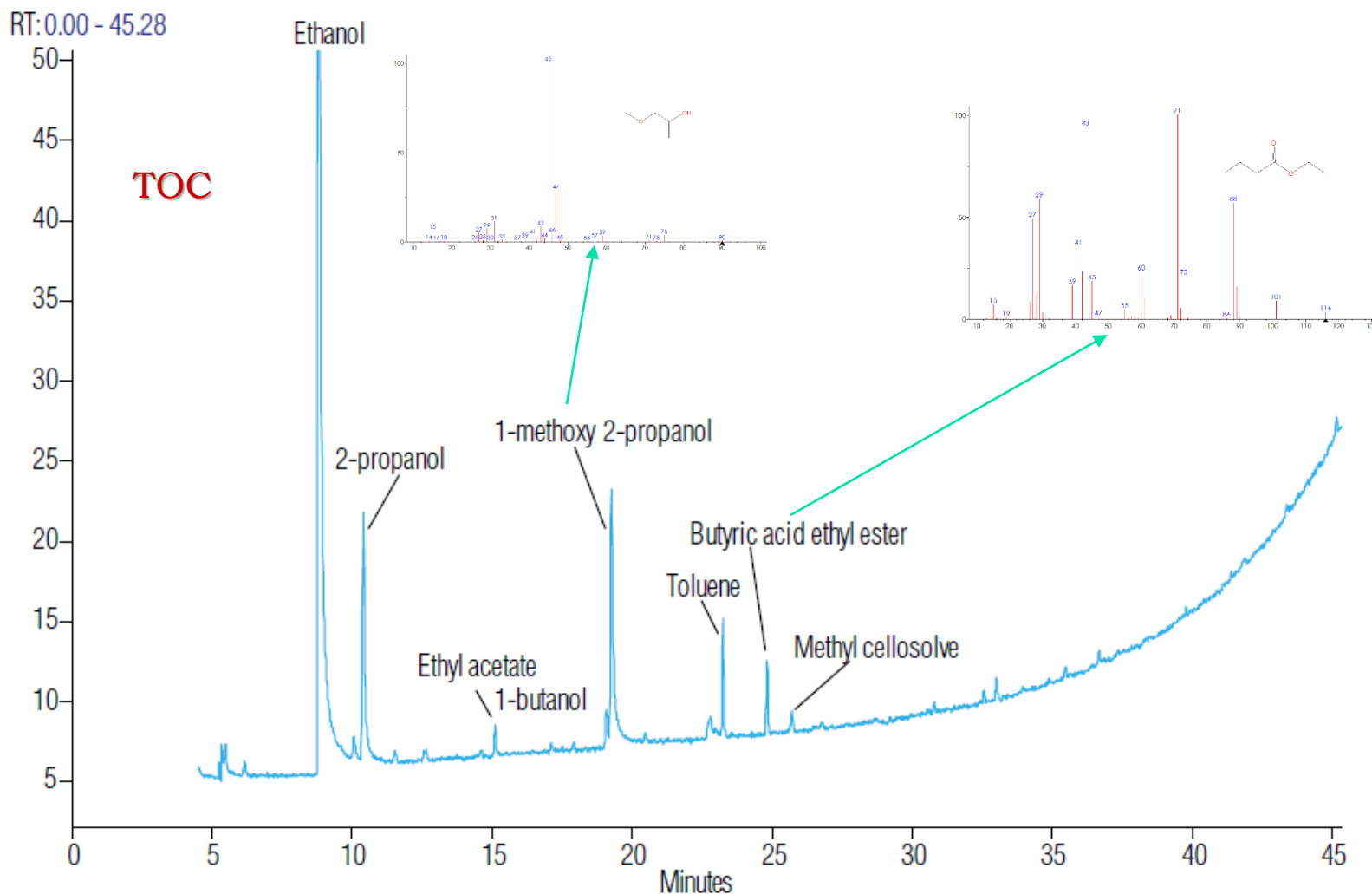
$$R = \frac{m_2}{m_2 - m_1} = \frac{m_2}{\Delta m}$$

Ниска

Висока

Разделителна
способност

Приложение – HS GC/MS, анализ на ЛОС в опаковки за храни





Заклучение

- ✓ Комбинираните методи ни дават значително по добри възможности при качествен и количествен анализ.
- ✓ GC/MS и HPLC/MS – ни позволяват едновременно разделяне и идентификация на сложни смеси.
- ✓ GC/MS и HPLC/MS намират широко приложение при решаване на конкретни аналитични задачи в редица области на практиката и научните изследвания.



БЛАГОДАРЯ ЗА ВНИМАНИЕТО!

Въпроси
Въпроси