**Масс-спектрометрия с индуктивно ОФС**

**связанной плазмой Вводится впервые**

Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) представляет собой масс-спектрометрический метод, в котором в качестве источника ионизации атомов используется индуктивно-связанная плазма (ИСП).Данный метод основан на прямом измерении отношений массы к заряду (m/z) элементарных положительно заряженных ионов, полученных из испытуемого вещества в газовой фазе. Метод ИСП-МС предназначен для качественного и количественного элементного анализа лекарственных средств и их примесей. Чувствительность измерения содержания элементов в образце данным методом существенно ниже единиц ppb (менее 1 мкг/л).

**Принципы метода**

ИСП представляет собой сильно ионизированный инертный газ (обычно аргон) с равновесным количеством электронов и ионов, поддерживаемый радиочастотным (РЧ) полем.

Плазма формируется в горелке за счет поглощения аргоном высокочастотного электромагнитного излучения от индуктора, присоединенного к радиочастотному (РЧ) генератору. Горелка помещается соплом в индуктор. При подаче на индуктор напряжения высокой мощности (обычно 700-1600 Вт) в горелке образуется переменное электромагнитное поле с частотой, соответствующей частоте генератора (в большинстве случаев 27 или 40 МГц). В качестве первичного источника ионизации выступает искровой разряд между специальным электродом и индуктором, срывающий с атомов аргона электроны. Захватываемые и ускоряемые магнитным полем электроны вызывают дальнейшую ионизацию вновь поступающего газа в виде цепной реакции. Процесс увеличения энергии электронов под действием электромагнитного поля индуктора называется индуктивным связыванием. Ударная ионизация аргона превращает газ в плазму, состоящую из атомов аргона, электронов и ионов аргона. Плазма самоподдерживается внутри горелки за счет процесса индуктивного связывания. ИСП проявляется в виде очень яркого факела, имеющего в основании тороидную форму. Этот участок ИСП называют зоной индукции – областью, в которой происходит индуктивная передача РЧ энергии от индуктора к плазме.

Важной особенностью ИСП является ввод аэрозоля аналита сквозь зону индукции в центр плазмы, вследствие чего аналит последовательно десольватирует, превращается в пар, атомизируется и ионизируется. Окружение ионов аналита высокотемпературной плазмой сравнительно продолжительное время (приблизительно 2 мс) обуславливает малые помехи матрицы в ИСП относительно других методов ионизации.

Ионы транспортируются из плазмы, находящейся при атмосферном давлении, в вакуумную часть масс-спектрометра через интерфейс (набор конусов). За интерфейсом находится ионная оптика. Основными функциями ионной оптики являются: экстракция анализируемых ионов из плазменного потока и их осевое концентрирование; организация управляемого движения потока ионов от интерфейса до масс-анализатора; освобождение потока ионов от электронов, нейтральных частиц и фотонов; ослабление матричных помех и уменьшение количества двухзарядных и полиатомных ионов; защита ионного тракта от загрязнений.

Масс-анализатор, представляющий собой обычно квадрупольную, магнитную или времяпролётную систему, разделяет ионы аналита в зависимости от соотношения m/z. После разделения ионы с определенной величиной m/z направляются на детектор, где поток ионов преобразуется в электрические сигналы. Количество элемента определяют на основании числа ионов, генерирующих электрические импульсы в единицу времени.



**Прибор**

Прибор состоит из следующих основных компонентов:

– системы ввода проб для жидких или твердых образцов;

– генератора радиочастотных сигналов;

– плазменной горелки;

– интерфейса;

– ионной оптики, включающей в себя ионные линзы и реакционно-столкновительную ячейку;

– масс-спектрометра;

– детектора;

– блока обработки данных.

Основная характеристика прибора ИСП-МС – его разрешение, т.е. эффективность разделения двух близких масс. Магнитные секторные и время пролетные ИСП-масс-спектрометры характеризуются лучшим разрешением по сравнению с квадрупольными приборами.

**Интерференции**

Основными мешающими факторами, искажающими результаты измерения, являются матричные эффекты (неспектральные интерференции) и спектральные наложения (спектральные интерференции).

Матричные эффекты проявляются в случаях:

– сильного отличия вязкости испытуемого образца от вязкости градуировочных растворов, следствием которого является различие в эффективности распыления и составе аэрозоля по размеру капель для градуировочного и анализируемого образца;

– высокой общей концентрации ионов в аэрозоле, что снижает эффективность ионизации трудно ионизируемых элементов вследствие недостаточности энергии плазмы и увеличивает рассеивание ионного потока.

Матричные эффекты могут быть смягчены разбавлением образца, практикуется также экстракция матрицы. Для учета изменения чувствительности, связанного с матричными влияниями, широко применяют методы внутреннего стандарта и (или) стандартных добавок. Элемент, используемый в качестве внутреннего стандарта, выбирают в зависимости от анализируемого элемента.

К спектральным интерференциям относится изменение интенсивности сигналов определяемых ионов за счет наложения на них сигналов других ионов, обладающих той же величиной m/z. Спектральные интерференции подразделяются на:

– изобарные наложения, вызванные перекрыванием сигналов ионов изотопов различных элементов с близкой номинальной массой, например, 40Ar на 40Ca;

– наложения двухзарядных ионов, например 138Ва2+ на 69Ga+;

– полиатомные наложения, вызванные образованием в плазме ионов, содержащих более чем один атом элемента (оксиды, аргиды, гидриды, хлориды и т. д.), например, 75ArCl на 75As.

Для учета спектральных наложений используют системы подавления интерференций (реакционно-столкновительные ячейки), варьируют условия проведения эксперимента (режим холодной плазмы, охлаждение распылительной камеры, устранение вторичного разряда), применяют уравнения математической коррекции. Современное программное обеспечение ИСП-масс-спектрометров позволяет проводить математическую коррекцию интерференций непосредственно в процессе измерений, а уравнения для изобарных наложений включены в программы.

Самым точным методом анализа в ИСП-МС, свободным от неспектральных и спектральных интерференций, является метод изотопного разбавления. В рамках данного метода образец с неизвестным содержанием элементов смешивают с точным количеством добавки с известной концентрацией изотопов определяемого элемента. Измеряют изотопное отношение элемента в образце до и после введения добавки. Расчет изотопных отношений осуществляют по интенсивностям сигналов соответствующих изотопов, скорректированных на эффект дискриминации масс.

Метод изотопного разбавления реализован в программном обеспечении современных ИСП-масс-спектрометров.

**Методика**

*Подготовка и ведение проб*

Формы пробоподготовки включают в себя:

– прямое введение жидких образцов;

– растворение твердых образцов в подходящих растворителях;

– лазерная абляция нерастворимых твердых образцов.

Приготовление раствора может включать стадию минерализации пробы подходящим методом (например, в микроволновой печи в закрытых сосудах с использованием сильных окислителей). При минерализации пробы предпочтительно использовать азотную кислоту. В случае необходимости применяют соляную кислоту, однако наличие хлорид-ионов в растворе приводит к возникновению полиатомных спектральных наложений. Использование фосфорной и серной кислот увеличивает вязкость раствора и снижает эффективность распыления образца; присутствие серы и фосфора дополнительно повышает количество полиатомных ионов. Допускается добавление в пробу небольших количеств плавиковой кислоты для стабилизации растворов некоторых элементов при использовании кварцевых или стеклянных систем ввода образца. Использование высоких концентраций плавиковой кислоты возможно только в случае применения системы ввода образца и горелок, изготовленных из стойких к HF материалов. При использовании органических растворителей следует учесть необходимость дополнительного введения кислорода для обеспечения полного сгорания органической матрицы.

Жидкие образцы доводят до необходимой концентрации аналита в пределах рабочего диапазона прибора путем разведений или концентрирования образца. Введение пробы жидкого образца осуществляется перистальтическим насосом, направляющим раствор с постоянной скоростью потока через распылитель в распылительную камеру для образования жидкого аэрозоля.

При лазерной абляции поверхность исследуемого твёрдого образца подвергается воздействию лазерного импульса, при этом образуется аэрозоль из твёрдых частиц, который транспортируется потоком газа (обычно Ar или He) с постоянной скоростью непосредственно в ИСП.

*Выбор рабочих условий*

Эксплуатацию прибора осуществляют в строгом соответствии с инструкциями производителя. В зависимости от типа растворителя выбирают:

– материал распылителя, распылительной камеры, конусов, горелки и подводящих шлангов;

– тип распылителя и распылительной камеры;

– вспомогательный газ и скорость потоков газа-носителя и вспомогательного газа;

– РЧ мощность;

– скорость насоса подачи образца;

– температуру распылительной камеры;

– режим работы реакционно-столкновительной ячейки;

– изотопы анализируемого элемента.

*Выбор изотопов*

Выбор изотопов осуществляется по нескольким критериям:

– обеспечение максимальной селективности (выбирают наиболее широко распространенный изотоп для данного элемента);

– минимизация возможных интерференций. Информация по спектральным интерференциям обычно содержится в программном обеспечении к приборам, предоставляемом производителями.

**Контроль работы прибора**

*Пригодность системы*

В ходе проверки пригодности системы определяют чувствительность прибора, точность измерения масс, способность плазмы разлагать оксиды и не образовывать двухзарядные ионы, кратковременную и долговременную стабильность работы оборудования.

Точность измерения масс и чувствительность прибора проверяют с использованием настроечного раствора, содержащего несколько изотопов в широком диапазоне масс, например, 7Li 9Be, 59Co, 89Y, 115In, 140Ce, 205Tl и 209Bi, измеряя интенсивность сигналов в размерности скорости счета.

Способность плазмы разлагать оксиды определяют для оценки вклада полиатомных интерференций. Для этого используют настроечные растворы, измеряя соотношения CeO+/Ce+ и/или BaО+/Ba+ (уровень содержания оксидов не должен превышать 3 %).

Уровень образования двухзарядных ионов оценивают, измеряя соотношение Ce2+/Ce+ и/или Ba2+/Ba+ с использованием настроечных растворов этих элементов. Отношение сигнала для двухзарядных ионов к обозначенному элементу должно быть менее 2 %.

Кратковременную стабильность оценивают по величине относительного стандартного отклонения (RSD) результатов пяти измерений интенсивности сигналов определяемых изотопов одного анализируемого раствора. Критерий приемлемости кратковременной стабильности: RSD≤5% (для основного компонента), RSD≤10% (для примесей с концентрацией более 1 мг/кг), RSD≤20% (для примесей с концентрацией менее 1 мг/кг).

Долговременную стабильность проверяют проведением испытания для стандартного раствора в начале и конце последовательности измерений. Концентрацию стандартного раствора выбирают в пределах диапазона концентраций используемой калибровочной кривой. Измеренные концентрации не должны отличаться от фактических более чем на 10 % (моноэлементный стандартный раствор) и на 20 % (мультиэлементный стандартный раствор).

В ходе проверки пригодности системы необходимо оптимизировать параметры прибора (скорость подачи образца и потоков газов, энергию плазмы, напряжение на ионных линзах и т. д.) для получения наибольшей интенсивности сигнала.

*Валидация методики*

Все методики проведения испытаний методом ИСП-МС, приведенные в частных ФС, должны быть валидированы в соответствии с ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик».