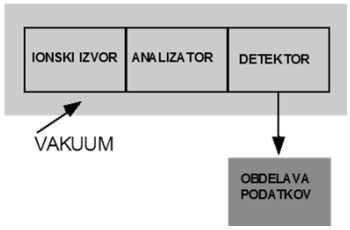
Masna spektrometrija

UČINKOVITA TEHNIKA ZA IDENTIFIKACIJO SNOVI

opredelitev ionov nastalih iz osnovne molekule

MASNI SPEKTROMETER



MASNA SPEKTROMETRIJA

- POTREBEN JE VISOK VAKUUM (10^{-2}-10^{-3} Pa)
- RAZLOG: VEČJA PROSTA POT DELCEV
- PROSTA POT: POVPREČNA RAZDALJA, KI JO PREPOTUJEJO DELCI (IONI, MOLEKULE), PREDEN ZADENEJO DRUGI DELEC

VAKUUMSKI SISTEM

- Dvostopenjski sistem črpalk
- rotacijska črpalka (predčrpalka) vakuum 1 – 10^{-2} Pa
- turbomolekularna ali difuzijska črpalka za končni vakuum – 10^{-3} Pa

IONIZACIJA MOLEKUL

- Elektronska ionizacija (EI) (Ionizacija na zajetje elektronov
- Kemijska ionizacija (CI)
- MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionization)
- Ionizacija s hitrimi atomi ali ioni ("Fast atom bombardement")
- ionizacija v električnem polju ("Field ionization")
- plazemska desorpcija ("Plasma desorption")

Ionizacija- zajetje elektronov

- Elektron z veliko energijo trči v nevtralno molekulo analita. Pri trku izbije elektron, pri čemer nastane molekularni ion z dodatno energijo.
- Dodatna energija povzroči cepitev - fragmentacijo molekule.

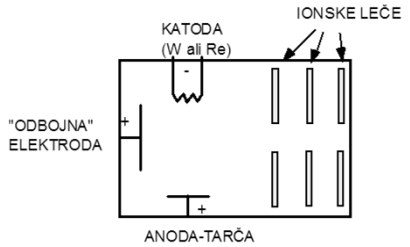
Ionizacija- zajetje elektronov

- Primerna energija elektronov za ionizacijo je okoli 70 eV (6,8 MJ/mol), tipična ionizacijska energija molekul analita je 0,6-1 MJ/mol
- Manjša energija povzroči neučinkovito ionizacijo, pri višjih energijah pa je fragmentacija prevelika, kar vpliva na kvaliteto informacij v masnem spektru

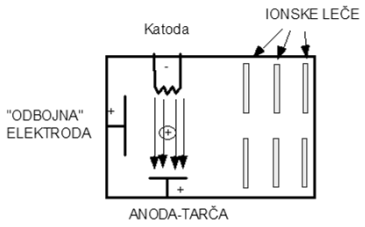
Ionizacija z zajetjem elektronov

- Katoda je žička iz Re ali W - izvor elektronov
- Tarča: anoda, ki v povezavi s katodo usmerja elektrone
- Odbojna elektroda- repeller "potiska" in usmerja ione analita iz izvora v masni analizator
- Ionske leče: serija negativnih elektrod z naraščajočim negativnim nabojem, ki pospešijo ione v masni spektrometer

Ionizacija- zajetje elektronov shema



Ionizacija-zajetje elektronov



Ionizacija molekul

$M + e \dashrightarrow M^{*+} + 2e \quad t=10^{-16}$ s

$ABCD^{*+} \dashrightarrow ABC^{+} + D^{*}$

$AB^{+} + CD^{*}$

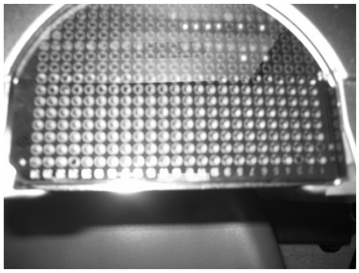
$AB^{*} + CD^{+}$

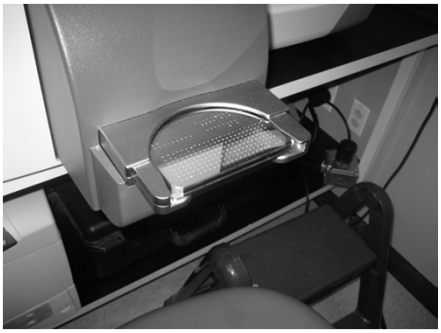
Kemijska ionizacija

- Ioni nastanejo zaradi trkov (kolizije) z ioni reagenčnega plina
- pozitivni ioni
- negativni ioni pri spojinah, ki vsebujejo elektronegativne atome
- Primerni reagenčni plini: CH_4, CH_4^+, CH_3^+, CH_2^+

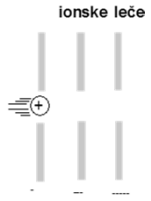
MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionization)

- Vzorcu dodamo ustrezno matrično raztopino (npr. 2,5-dihidroksi benzojska kislina). Po sušenju vzorec iskristalizira. Nato ga s pomočjo fotonov (izberemo valovno dolžino, ki jo absorbira matrična snov) ioniziramo.
- Primerna ionizacijska tehnika za ionizacijo biomolekul z masami do 300 kDa. Za ločitev ionov najpogosteje uporabimo "Time of flight" masni spektrometer





Pospeševanje ionov



Masni analizator

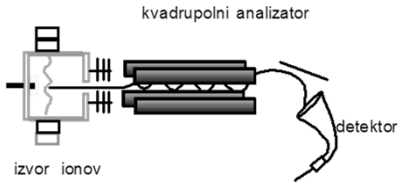
Ločuje posamezne ione gleda na razmerje masa: naboj (m/Z)

Vrste masnih analizatorjev:

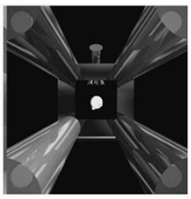
- elektrostatsko-magnetni
- Kvadrupolni analizatorji
- analizatorji z ionsko pastjo (“Ion trap”)
- Analizator na osnovi časa preleta (“Time of flight”),

Najpogosteje uporabljamo kvadrupolni masni analizator

MASNI SPEKTROMETER



Kvadrupol



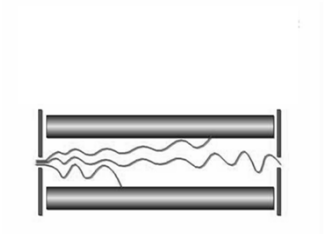
•ioni iz izvora potujejo med štirimi elektrodami v obliki palic

•Potencial med elektrodami spreminjamo, tako da doseže detektor le pasamezni ion z ustreznim razmerjem M/Z

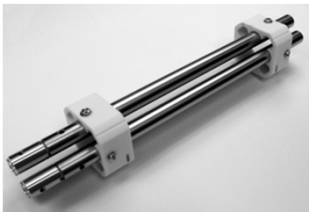
Kvadrupol

- DC potencial na elektrodah linearno povečujemo, pri čemer je RF/DC razmerje konstantno
- območje mas: 10-1000 M/Z (tipično 10-800 M/Z). Celoten spekter posnamemo v zelo kratkem času (1 sekunda!)

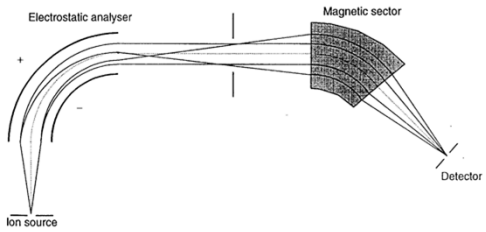
Kvadrupol



Kvadrupol



Sektorski masni spektrometer

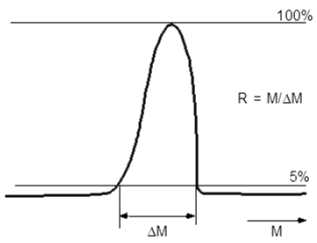


Ionska past (“ion trap”)

- PRINCIP IN DELOVANJE (animacije)

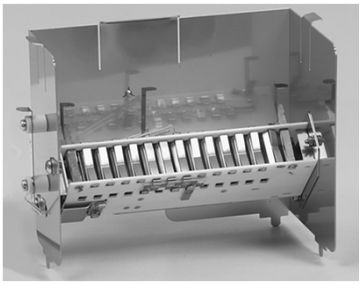
“TOF” masni spektrometer

MS- Ločljivost



DETEKTOR - elektronska pomnoževalka

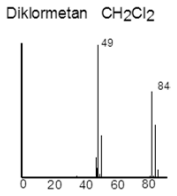
Ionska pomnoževalka



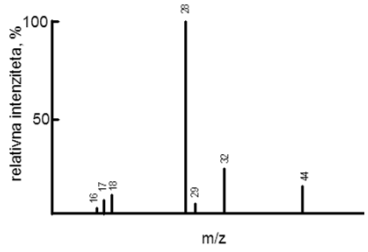
Interpretacija masnega spektra

- splošno ovrednotenje spektra (razmerja posameznih signalov)
- določitev molekulskega vrha
- določitev elementne sestave
- identifikacija posameznih fragmentov
- določitev strukture molekule

Primer masnega spektra

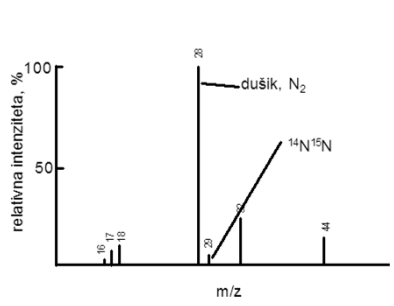


MASNI SPEKTER



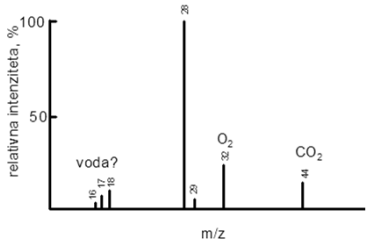
m/z 28: masa delca 28 z nabojem 1+
ali masa delca 56 z nabojem 2+

MASNI SPEKTER



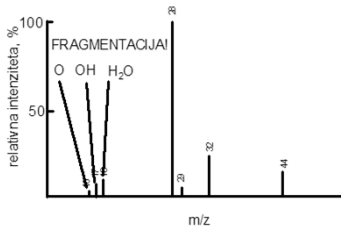
MASNI SPEKTER

MASNI SPEKTER (zrak)

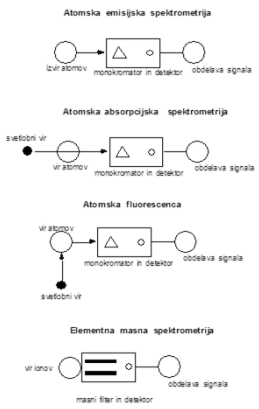


MASNI SPEKTER

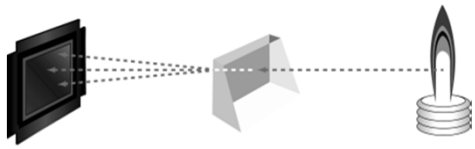
MASNI SPEKTER (zrak)



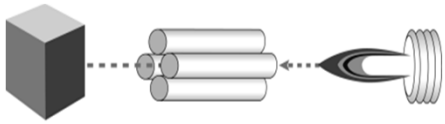
Metode atomske/elementne masne/ spektrometrije



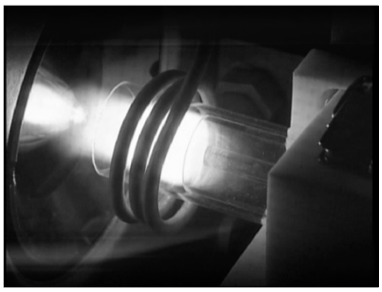
Atomska emisijska spektrometrija



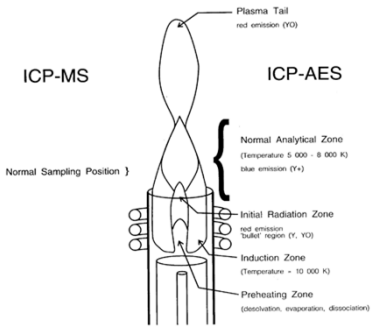
ICP-masna spektrometrija



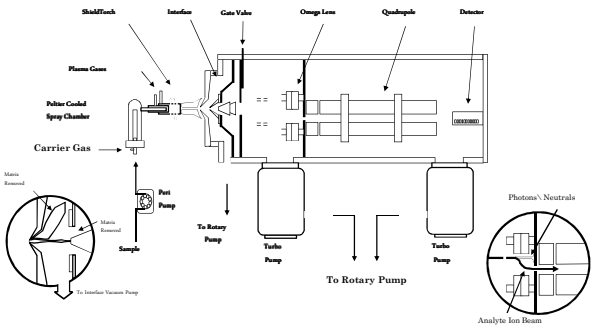
Plazma



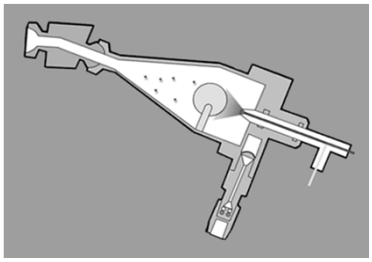
ICP-OES/ICP-MS



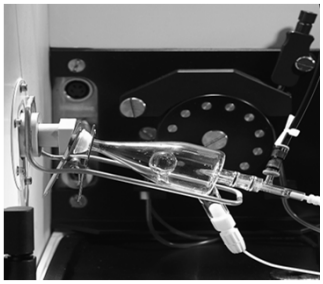
Shema masnega spektrometra



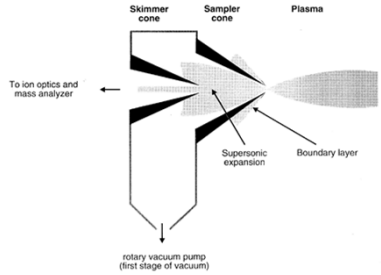
ICP-MS vnos vzorcev



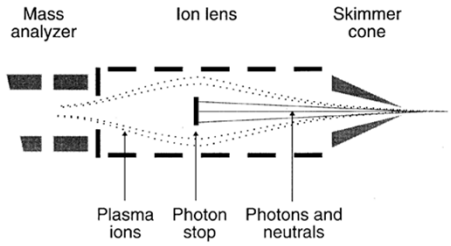
ICP-MS vnos vzorcev



Vnos ionov v masni spektrometer



Usmerjanje ionov v masnem spektrometru

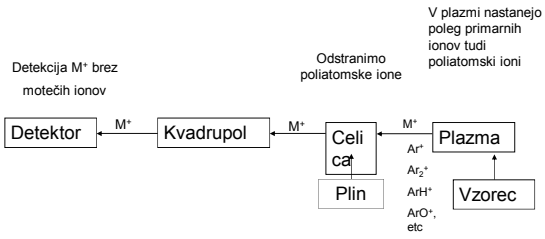


ICP-MS "SPEKTRALNE" MOTNJE

Spektralne motnje:
Zvrsti s podobno maso kot analit

- (i) izobarne npr.: ^{58}Ni moti ^{58}Fe
  ^{40}Ar moti ^{40}Ca
- (ii) poliatomske: ^{40}Ar-Ar moti ^{80}Se
  $^{35}Cl^{40}Ar$ moti ^{74}Se
  $^{35}Cl^{16}O$ moti ^{51}V
- (III) dvojno nabiti ioni: $^{138}Ba^{++}$ moti $^{69}Ga^{+}$
  $^{208}Pb^{++}$ moti $^{104}Ru+$

Reakcijska celica- odstranitev poliatomskih zvrsti



Reakcijska celica

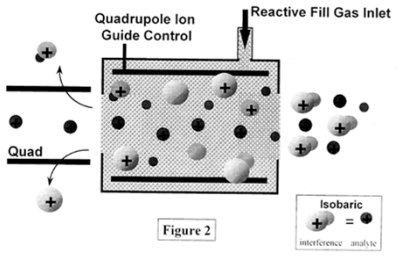
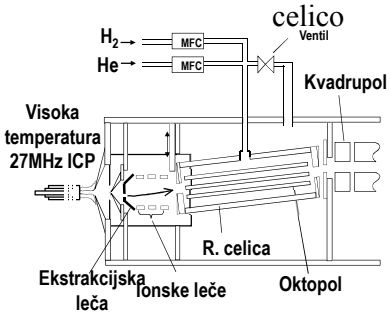


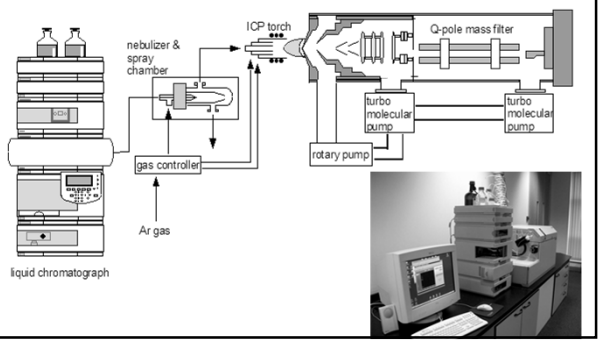
Figure 2

Kvadrupolni spektrometer z reakcijsko celico

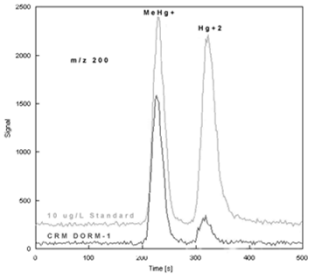


Sistem ionskih leč

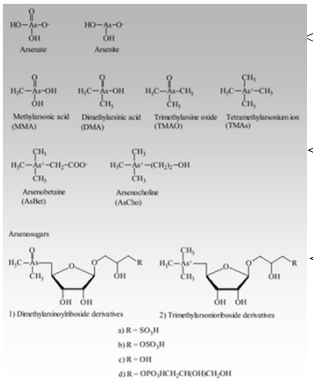
SKLOPITEV LC-ICP-MS



ICP-MS speciacijska analiza: Ločitev metil in elementarnega Hg



Primer speciacije As zvrsti z LC-ICP-MS



Toksične!

Netoksične

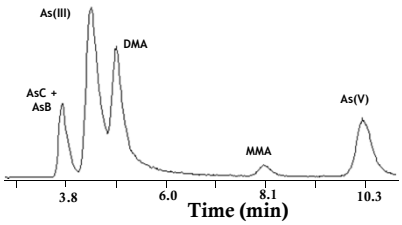
?

As zvrsti:

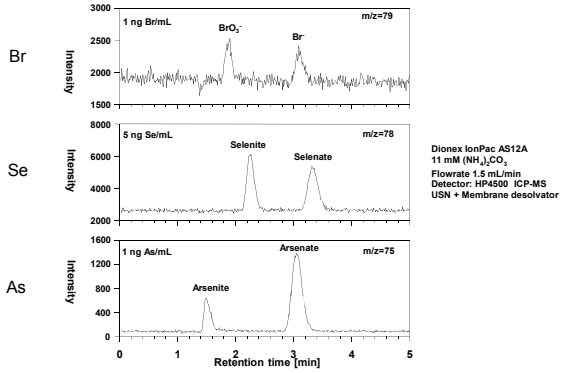
Anorganske zvrsti As so večinoma toksične, organske zvrsti pa so človeku neškodljive.

Potencialna toksičnost arseno-sladkorjev še ni dokazana.

ICP-MS speciacijska analiza: Ločitev As zvrsti (sklopitev LC -ICP-MS)



IC-ICP-MS: ločitev P, Se in As zvrsti zvrsti



Dionex IonPac AS12A
11 mM $(NH_4)_2CO_3$
Flowrate 1.5 mL/min
Detector: HP4500 ICP-MS
USN + Membrane desolvator

Courtesy Dr Walter Goessler, U. Graz, Austria