



Masena spektrometrija- savremeni trendovi

Doktorske studije-
Nove fizičko-hemijske metode

Maj 2016.

Ivanka Holclajtner-Antunović

Uvod

Jonski izvor:


- SIMS-Masena spektrometrija sa sekundarnim jonima
- Elektrosprej jonizacija
- MALDI i SALDI

Analizatori:

- Jonski trap-kvistor
- Orbitrap
- Jon ciklotron rezonancija - ICR i FT ICR

Tandem masena spektrometrija

Primena

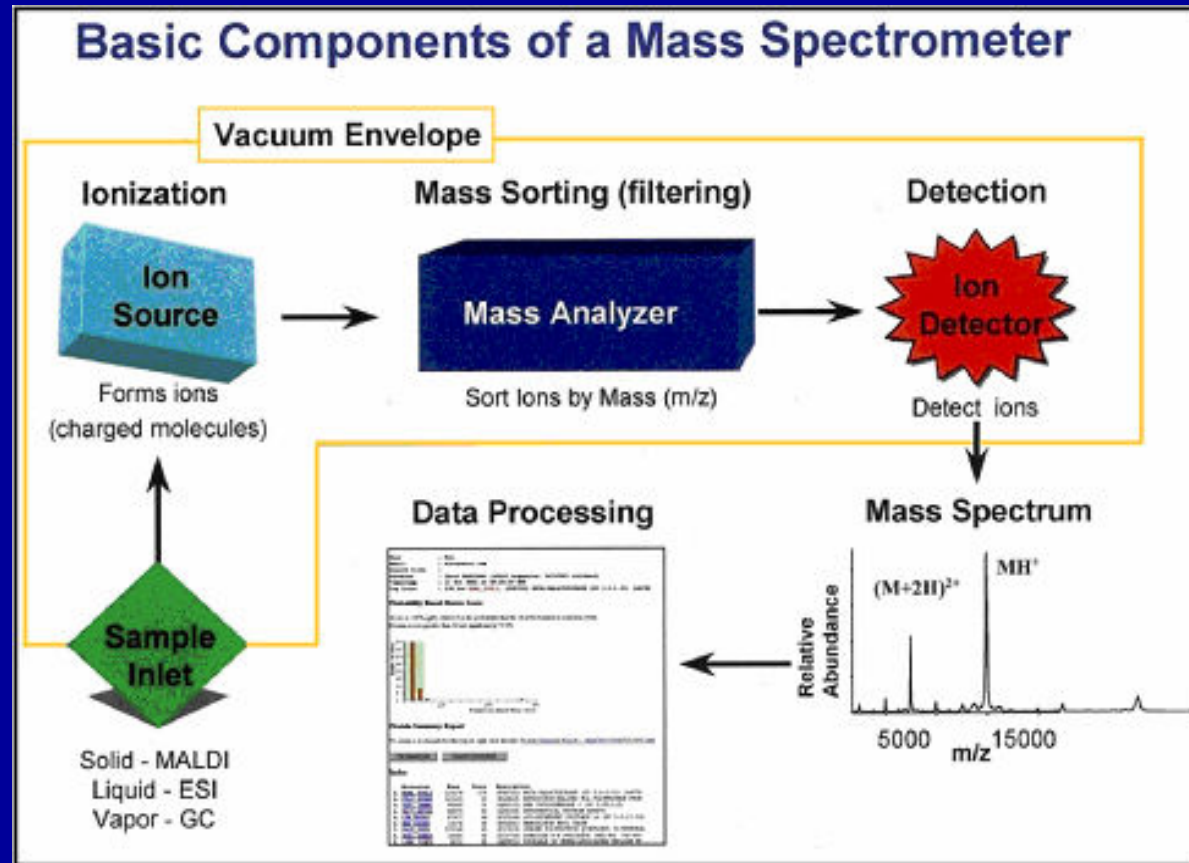
Istraživač	Doprinos	Nobelova nagrada
Thomson 	1897 otkriće elektrona i 1912 prvi maseni spektar	1906 Fizika
Dempster	1918 jinizacija elektronima i fokusiranje magnetom	
Aston 	1919 odredjivanje atomske mase i izotopskog sastava pomoću MS	1922 Hemija
Stephens	1946 TOF (Time-of-flight) MS	
Hipple, Sommer, i Thomas	1949 Jon-ciklotron rezonanca (ICR)	
Johnson i Nier	1953 Dvostruko fokusirajući MS	
Paul and Steinwedel 	1953 Quadrupolni analizatori	1989 Fizika
Beynon	1956 MS visoke rezolucije	

Istrživač	Doprinos	Nobelova nagrada
Munson i Field	1966 Hemijska jonizacija	
Dole	1968 Elektrosprej (ESI)	
Beckey	1969 Desorpcija poljem (FDI)	
MacFarlane i Torgerson	1974 Plazma desorpcija (PDI)	
Comisarow i Marshall	1974 FT-ICR MS	
Yost i Enke	1978 Triple quadrupole MS	
Barber	1981 Bombardovanje brzim atomima (FAB)	
Tanaka , Karas, i Hillenkamp	1983 Desorpcija laserom iz matrice (MALDI)	2002 Hemija
Fenn	1984 ESI za biomolekule	2002 Hemija



Maseni spektrometar

$$\lambda(cm) = \frac{0,66}{P(Pa)}$$



Svi instrumenti imaju:

1. Unošenje uzorka
2. Jonski izvor
3. Maseni analizator
4. Detektor
5. Sistem za obradu

Jonizacije metode

Neke od jonizacionih metoda su vrlo energične i pored jonizacije izazovaju znatnu fragmentaciju. Druge su mekše i proizvode jone molekulskih vrsta.

Izbor zavisi od vrste uzorka.

Metode u gasnoj fazi

- Elektronska jonizacija (EI)
- Hemijska jonizacija (CI)

Desorpcioni izvori

- **Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI) i SALDI**
- Fast Atom Bombardment (FAB)
- Desorpcija plazmom, poljem

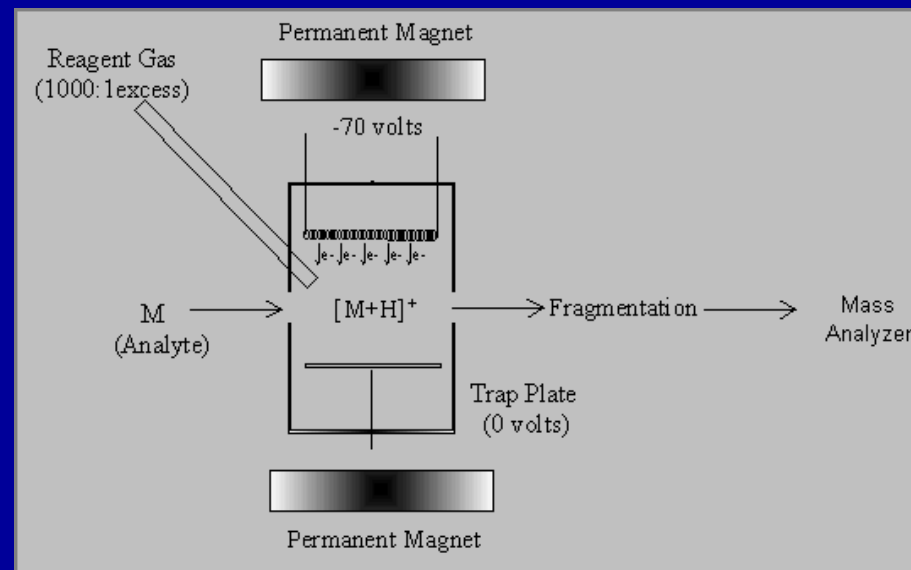
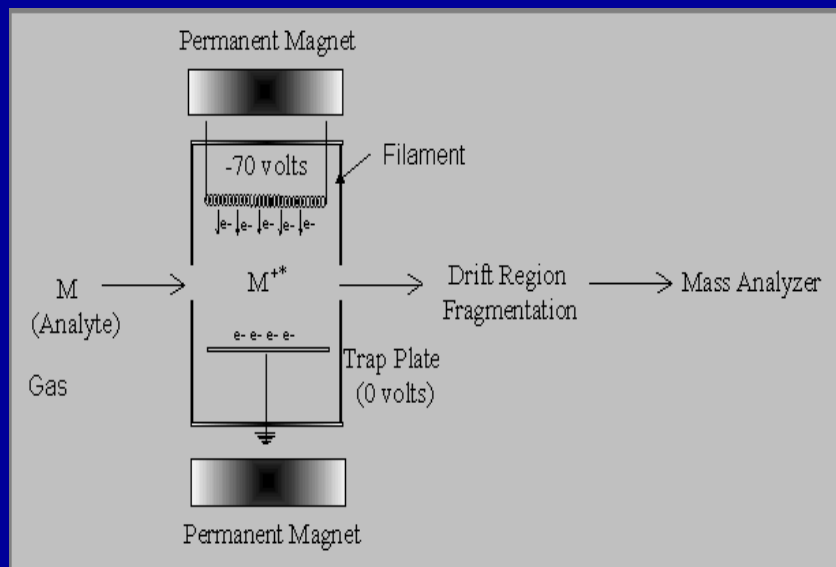
Aerosol rastvora (Spray Methods)

- **Electrosprej (ESI)**
- Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)
- Termosprej jonizacija

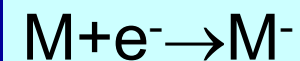
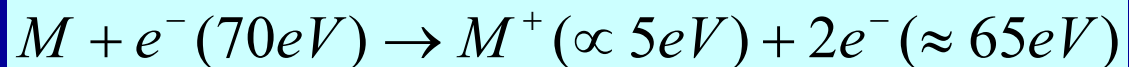
Metode jonizacije

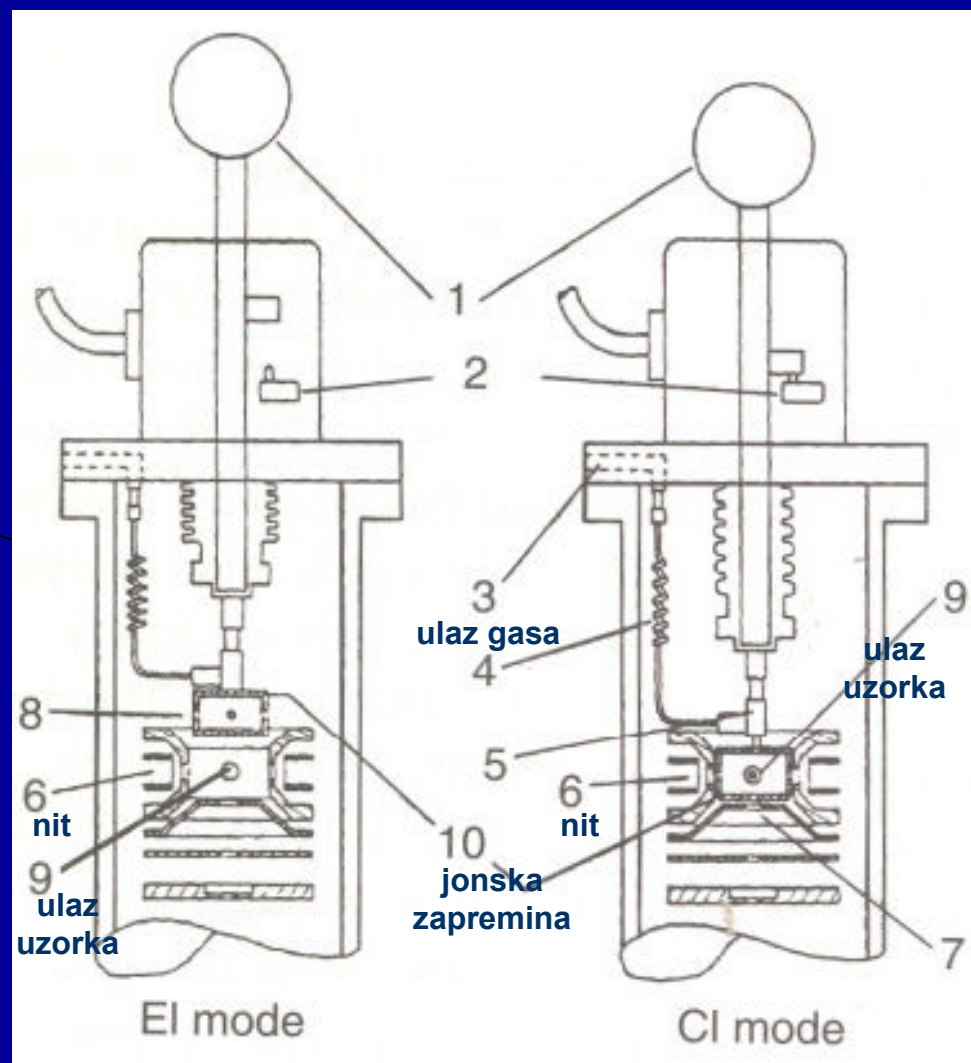
Jonizaciona metoda	Skraćenica	Način jonizacije
Elektronska jonizacija	EI	Elektronski snop/elektron transfer
Brzo atomsko/jonsko bombardivanje	FAB	Jon desorpcija/prenos protona
Laserska desorpcija /jonizacija sa matriksom	MALDI	Foton apsorpcija/proton transfer
Elektrosprej jonizacija (nanosprej jonizacija)	ESI	Isparavanje naelektrisanih kapljica
Desorpcija poljem	FD	Desorpcija i jonizacija u jakom električnom polju
Hemijska jonizacija	CI	Jonizacija sudarom sa određenim hemijskim vrstama
Hemijska jonizacija na atmosferskom pritisku	APCI	Korona pražnjenje i prenos protona

Elektronska i hemijska jonizacija

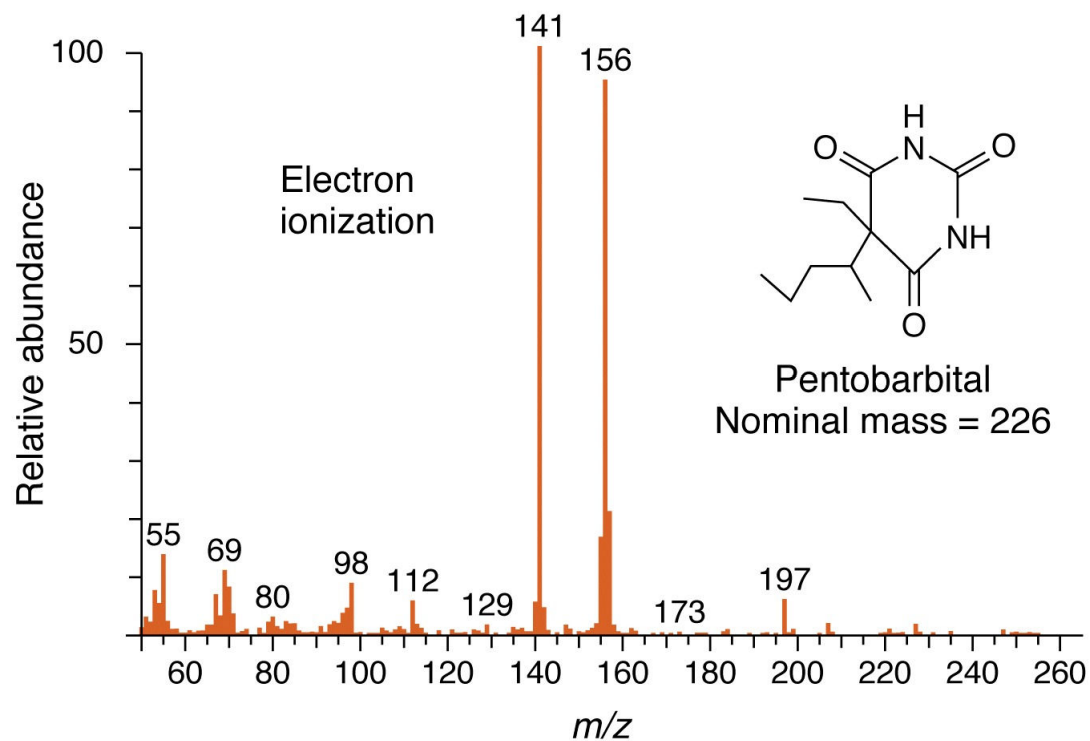


EI igra važnu ulogu u rutinskim analizama malih organskih molekula.

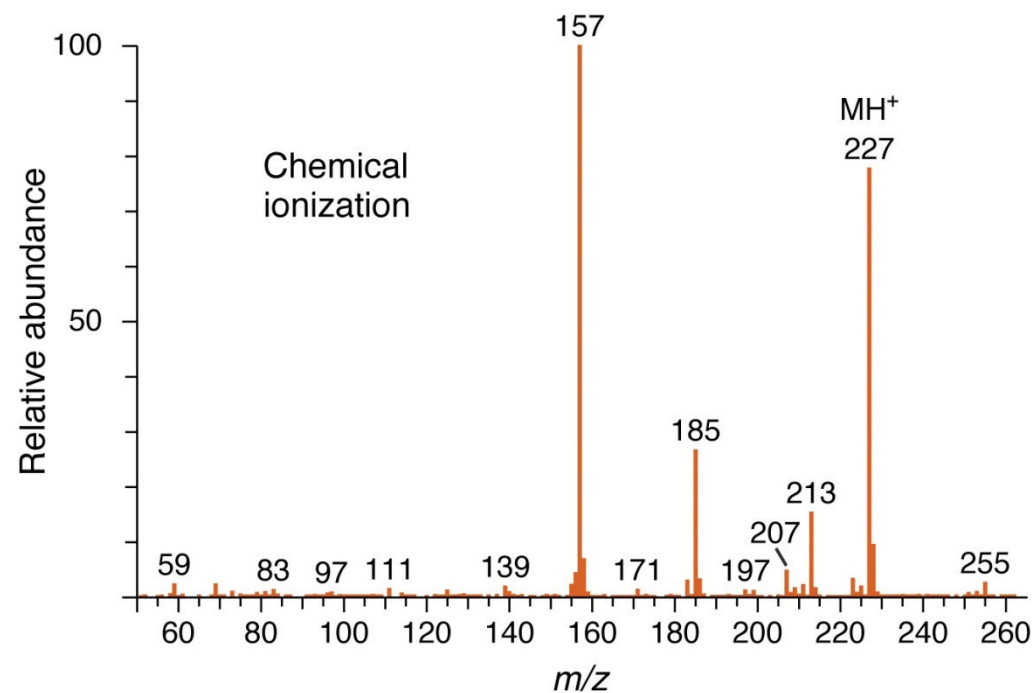




U kutiji se održava pritisak od 60 Pa,
dok je oko pritisak u izvoru oko 10^{-3} Pa.



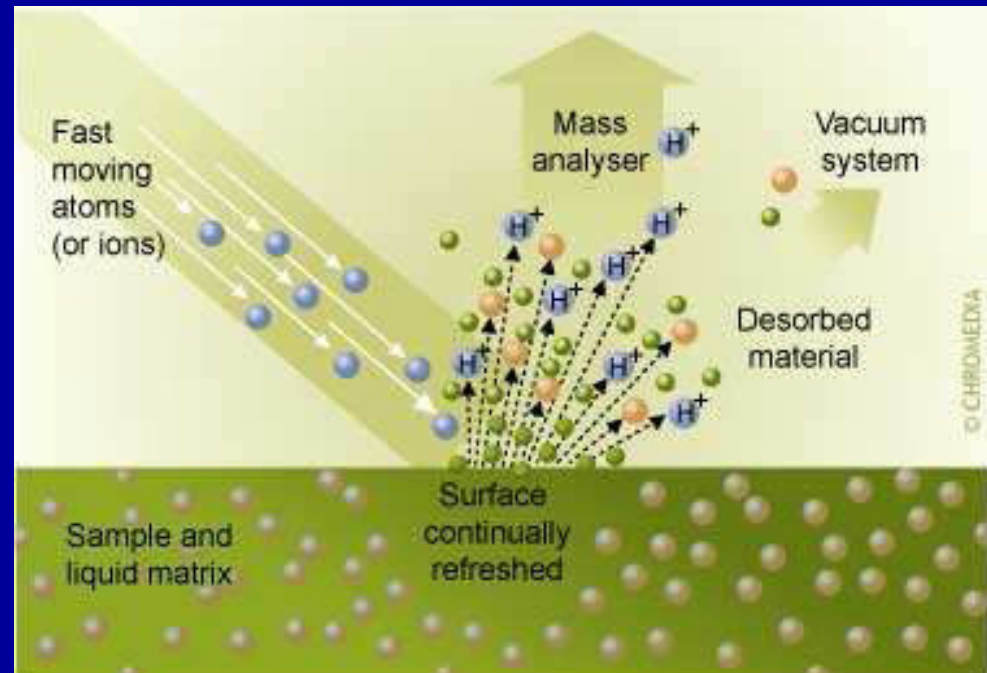
Poređenje spektra
dobijenog EI i CI



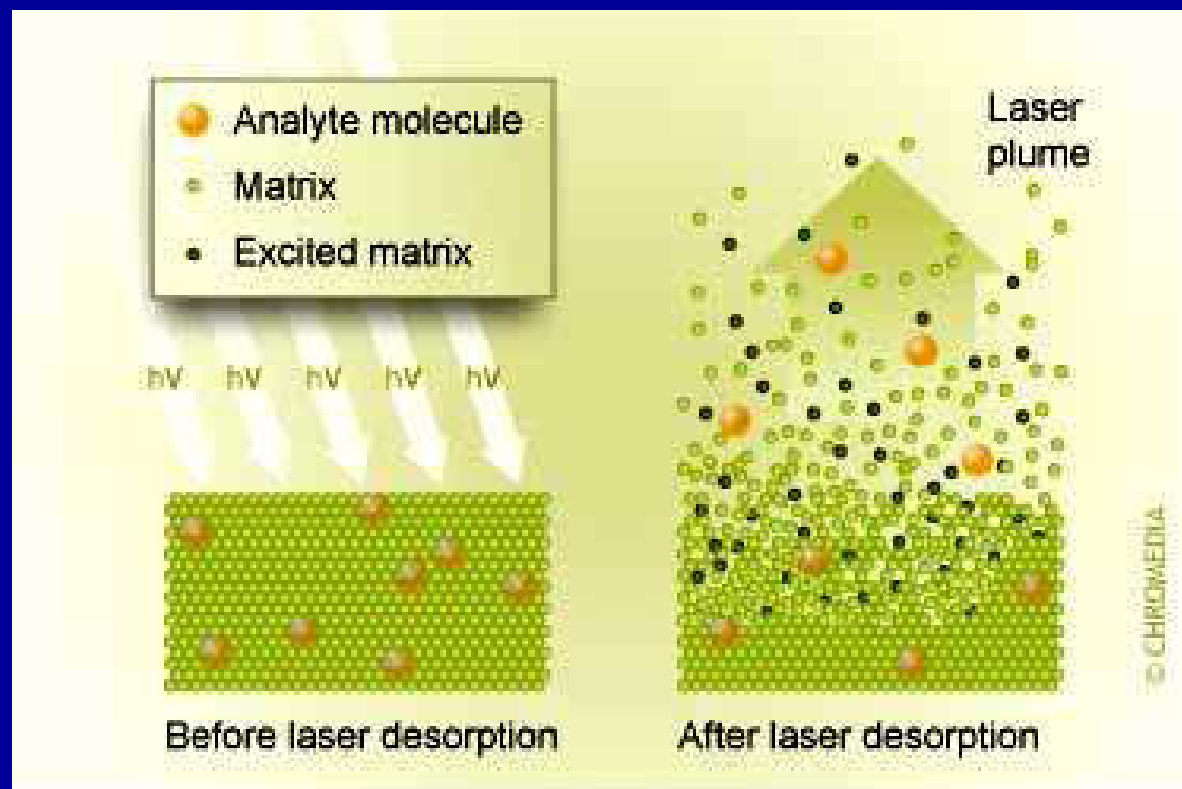
Desorpcione metode jonizacije su: termalna jonizacija-DCI, desorpcija poljem-FD, brzo atomsko/jonsko bombardovanje i MALDI

Brzo atomsko/jonsko bombardovanje- FAB i FIB

FAB zahteva direktno unošenje probe u jonski izvor i korišćenje visokoenergetskih snopova **Xe atoma, jona Cs^+ ili masivnih glicerol- NH_4^+ klastere** (MCI) da bi se raspršavali (spaterovali) uzorak i matriks sa površine probe (**m-nitrobenzil alkohol (NBA)** i **glicerol**).



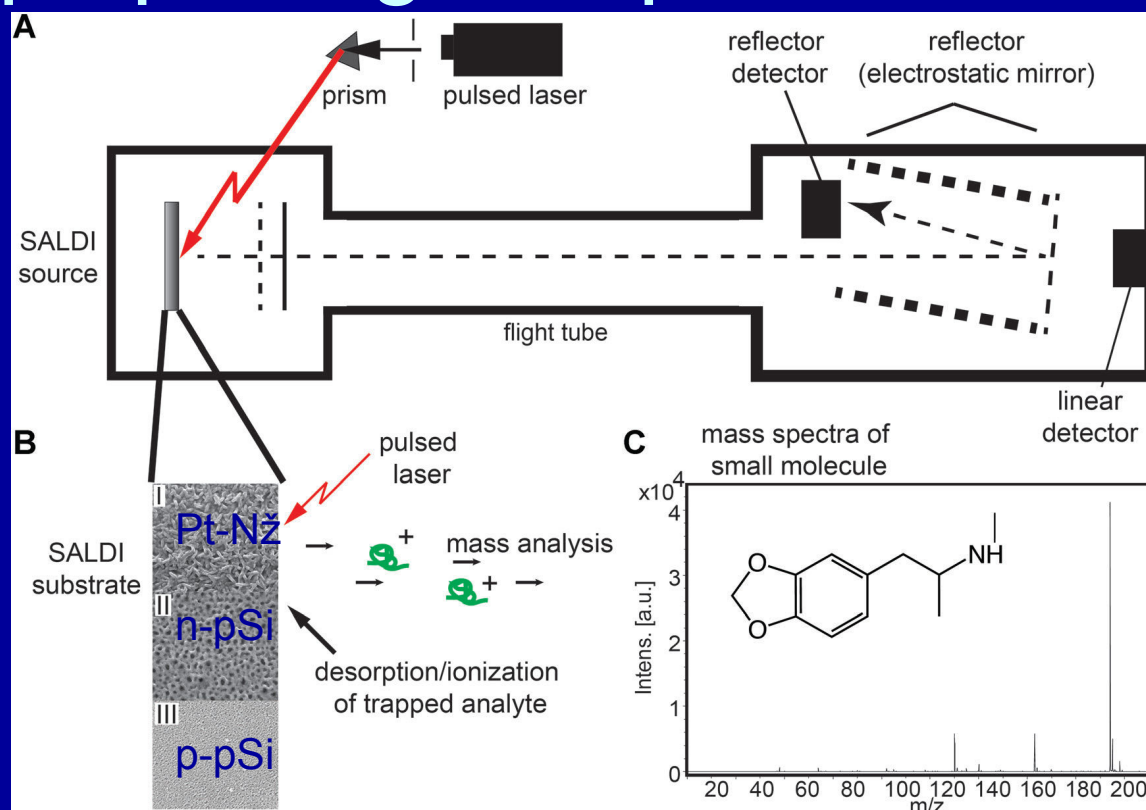
MALDI-Laserska desorpcija/ionizacija potpomognuta matriksom



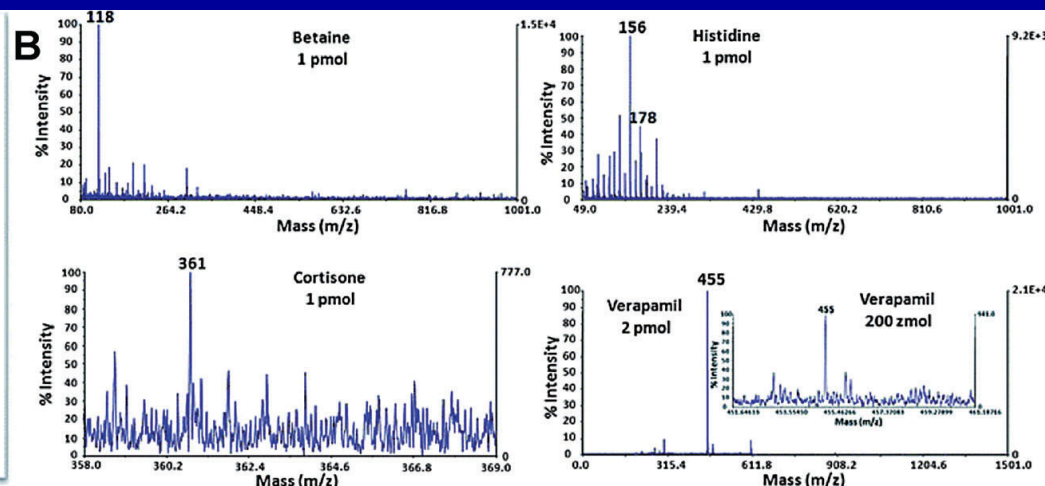
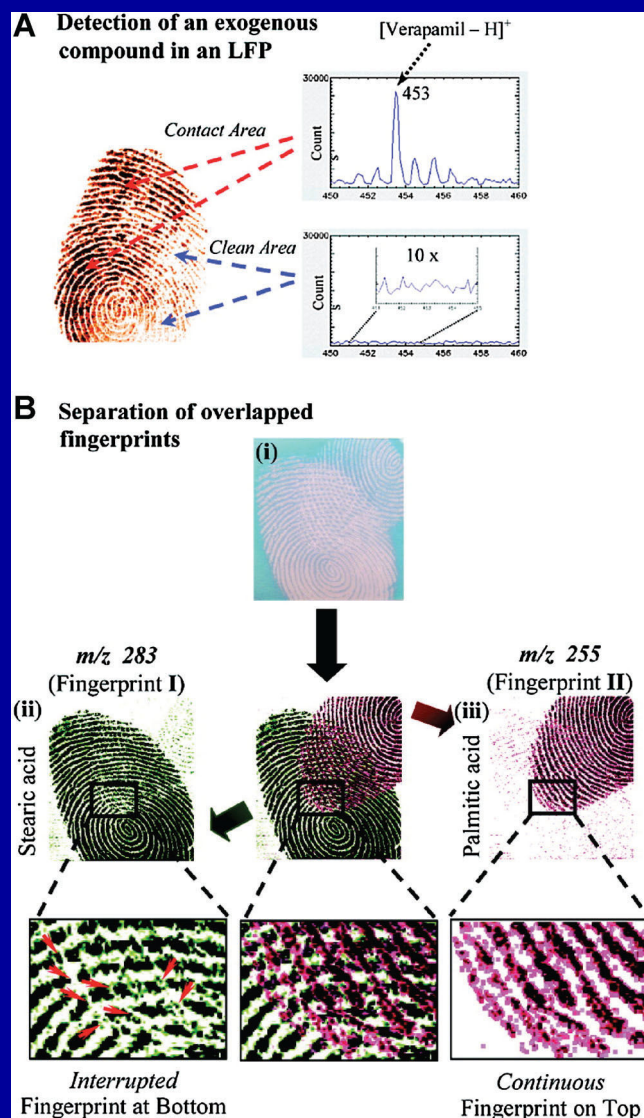
$h\nu \sim 10\text{-}50 \text{ MW/cm}^2$



SALDI-Laserska desorpcija/ionizacija potpomognuta površinom



Nano-strukturirani supstrati koji olakšavaju desorpciju i jonizaciju bez matriksa. Metoda pogodna za analizu malih organskih molekula (<700Da).
 Supstrati: Au NČ, TiO₂ NČ, Se NČ, CdTe KT, F₂O₃NČ, Pt nanosunđer i ugljenični nanomaterijali (MWCNT, HOPG, fularen, nanoporozni grafitni ugljrenik, nano dijamant)

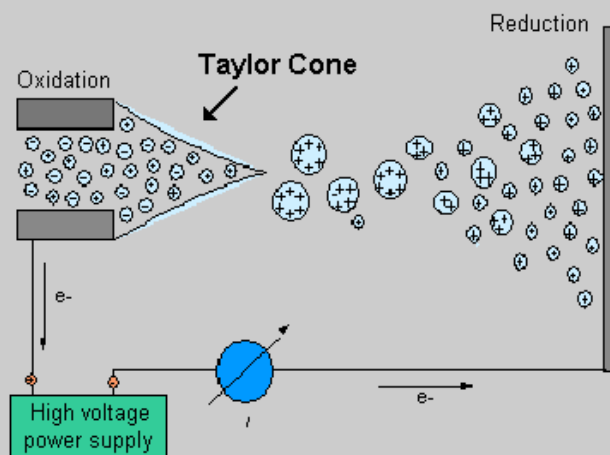


Supstrat-nano žice dobijene iz nano dijamanta dopiranog borom

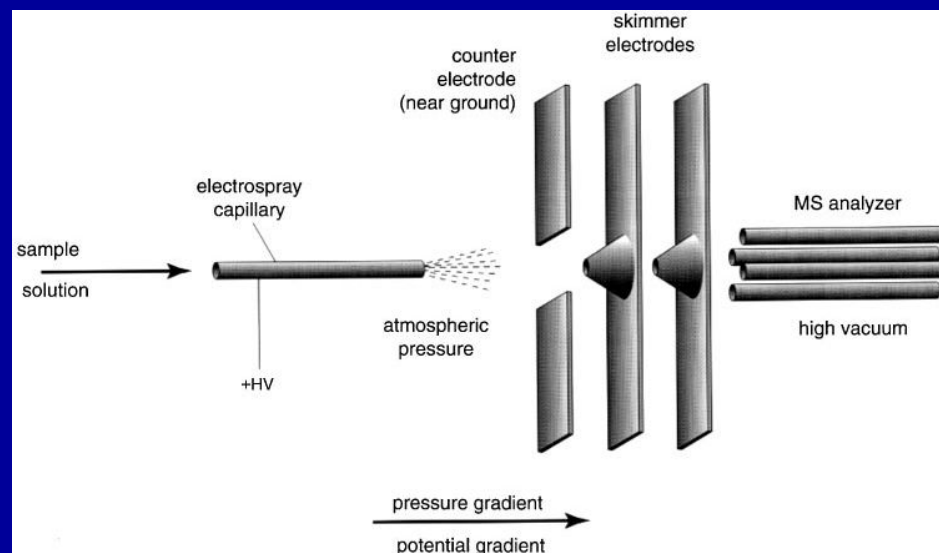
Imidžing masenom spektrometrijom koji je poslužio za identifikaciju dva otiska prsta na osnovu spektra stearisnske kiseline sa m/z na 283 i oleinske kiseline na 255. (Au NČ).

Elektrosprej jonizacija -ESI

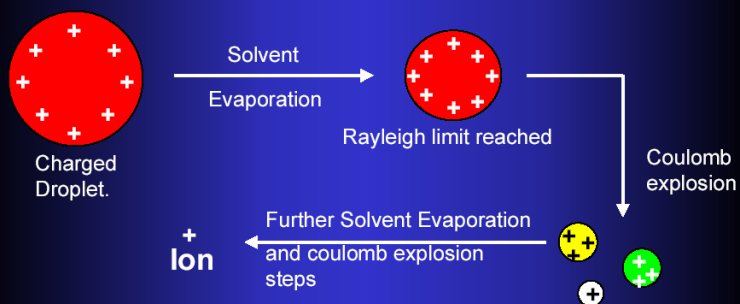
Ion Formation By ESI



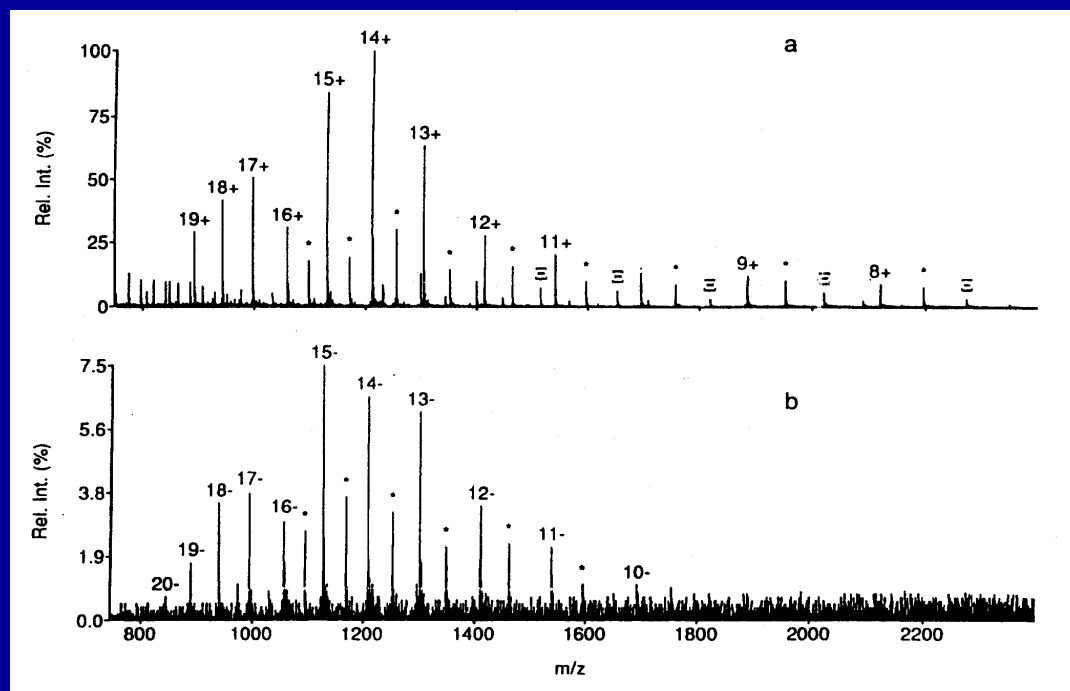
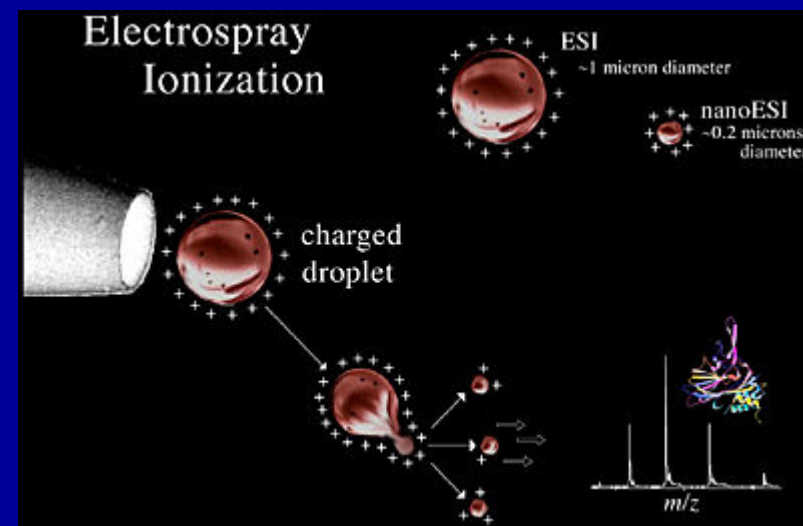
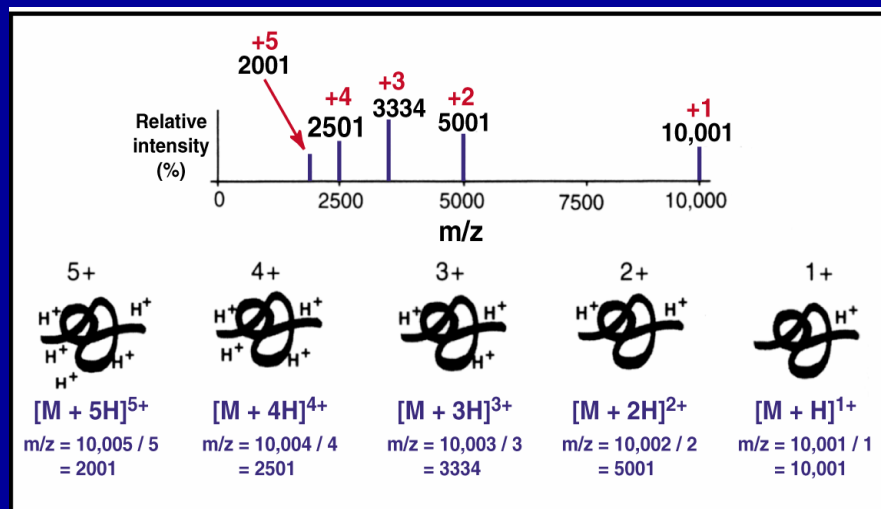
Adapted from Kebarle and Tang; Anal. Chem., 65, 2, 972A-985A (1993)



Mechanism



Nano elektrosprej jonizacija

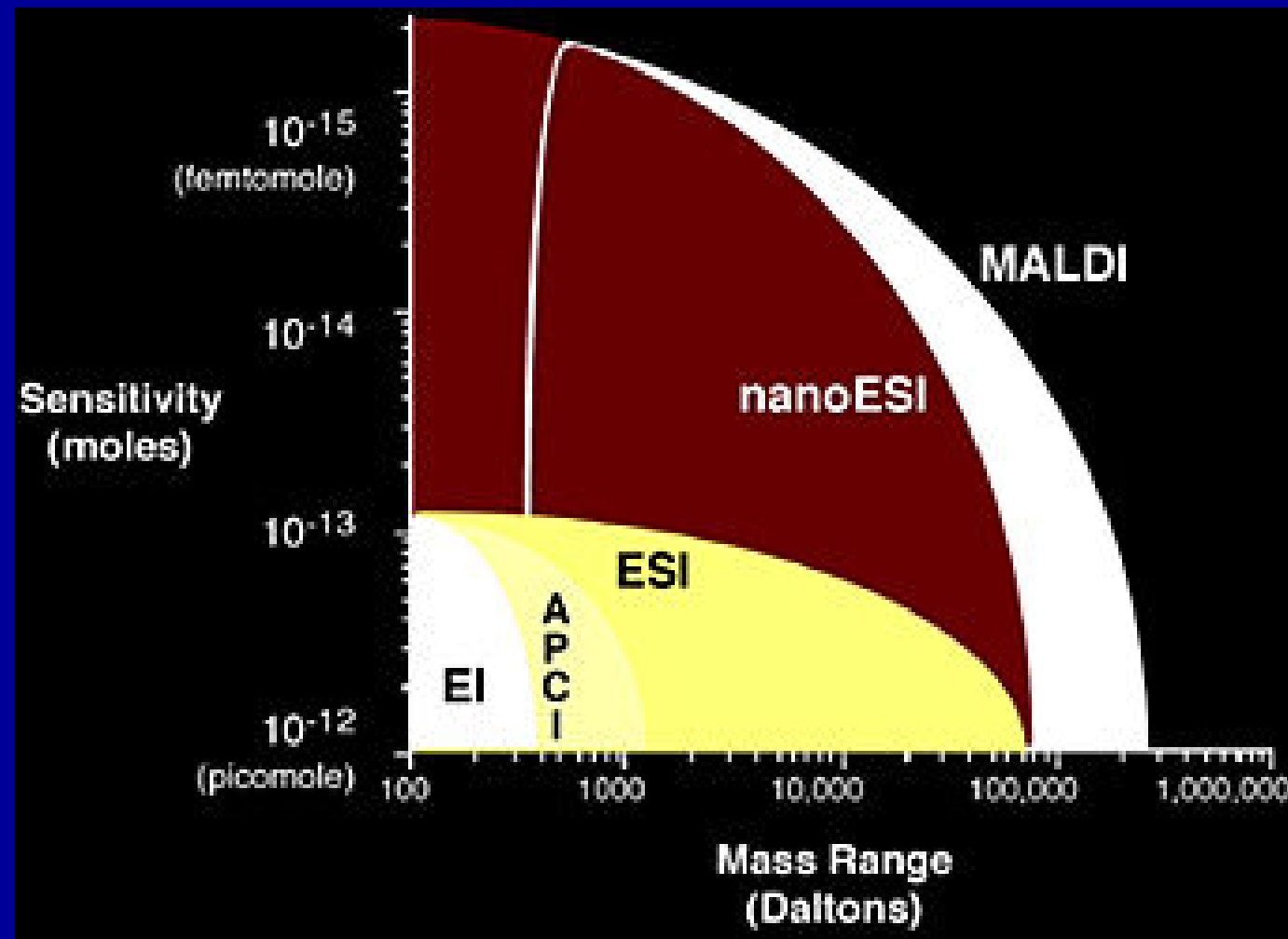


$$p = m / z$$

$$p_1 = (M_r + z_1) / z_1$$

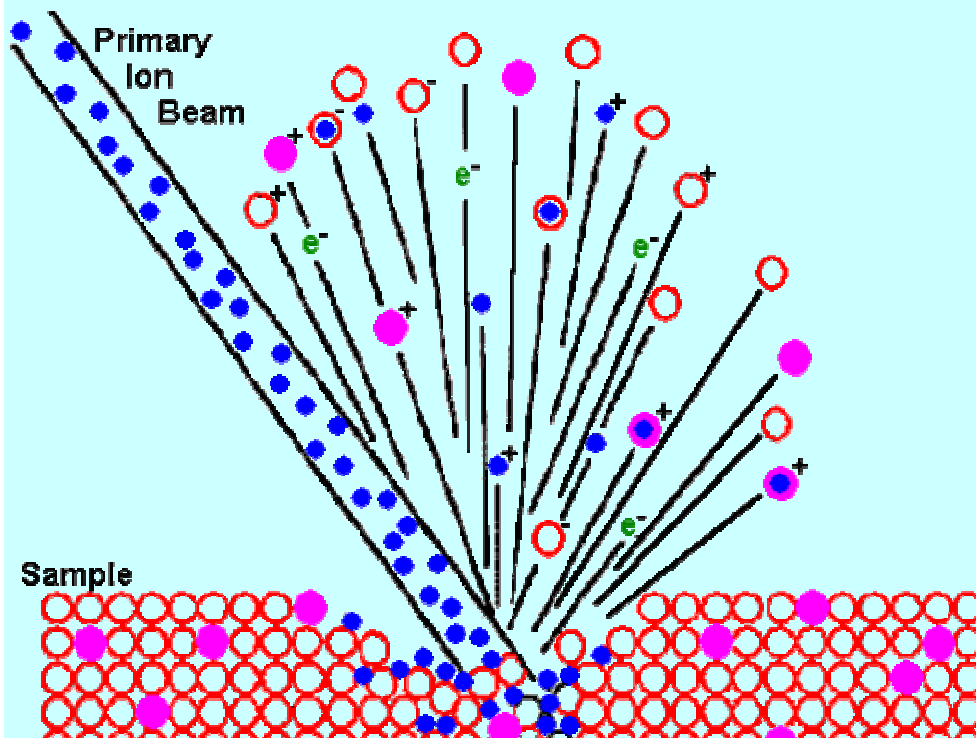
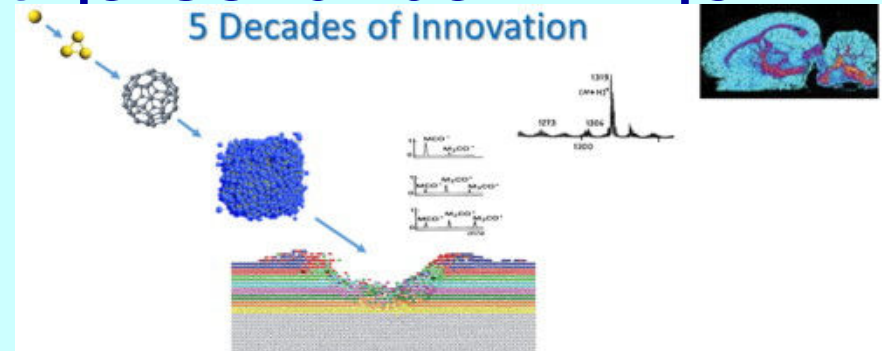
$$p_2 = \{M_r + (z_1 - 1)\}/(z_1 - 1)$$

Poređenje granica detekcije i oblasti masa koje se mogu postići različitim metodama jonizacije



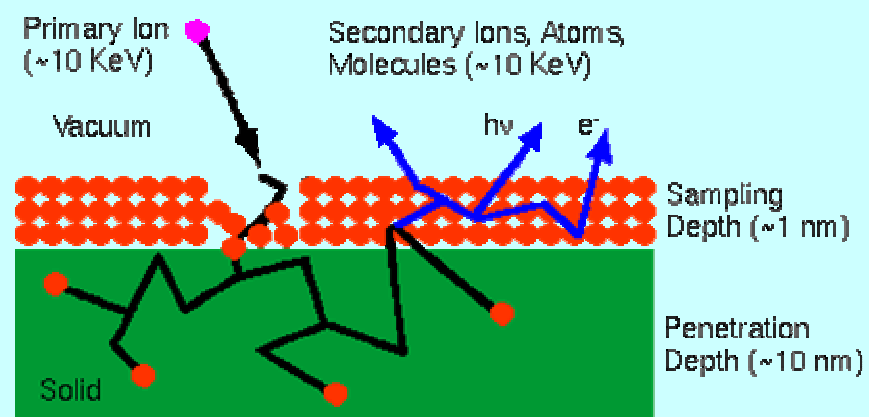
SIMS-Secundary Ion Mass Spectrometry

Masena spektrometrija sekundarnim ionima

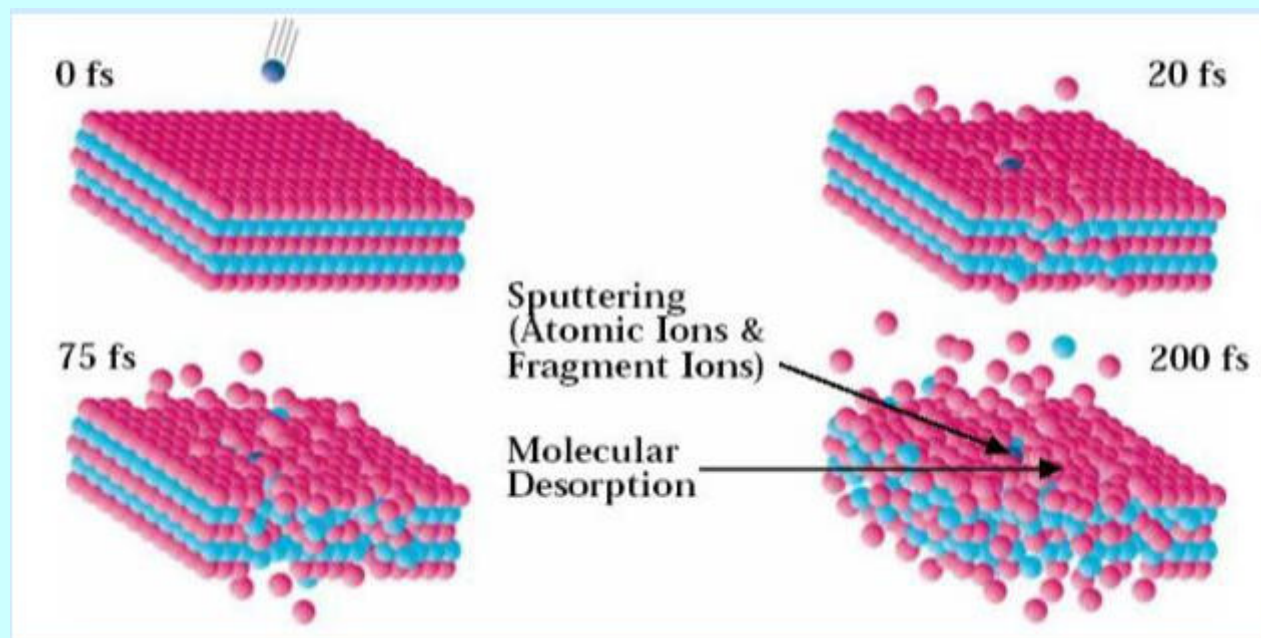
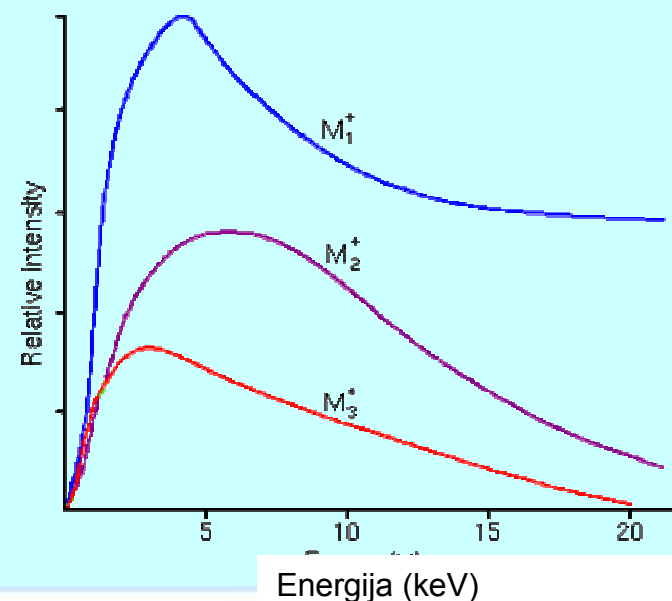


- Elementi od H to U mogu biti detektovani.
- Većina elemenata može da se detektuje do koncentracija od 1ppm do 1 ppb.
- Izotopski odnosi mogu da se mere sa preciznošću od 0.5 do 0.05%.
- Sastav i struktura može da se određuje u površinama do 1nm i tankim filmovima.
- Pošto su joni emitovani vrlo blizu udara primarnih jona to se može analizirati odabrana površina (lokalna analiza).
- Mogu da se dobiju 2D i 3D raspodele.

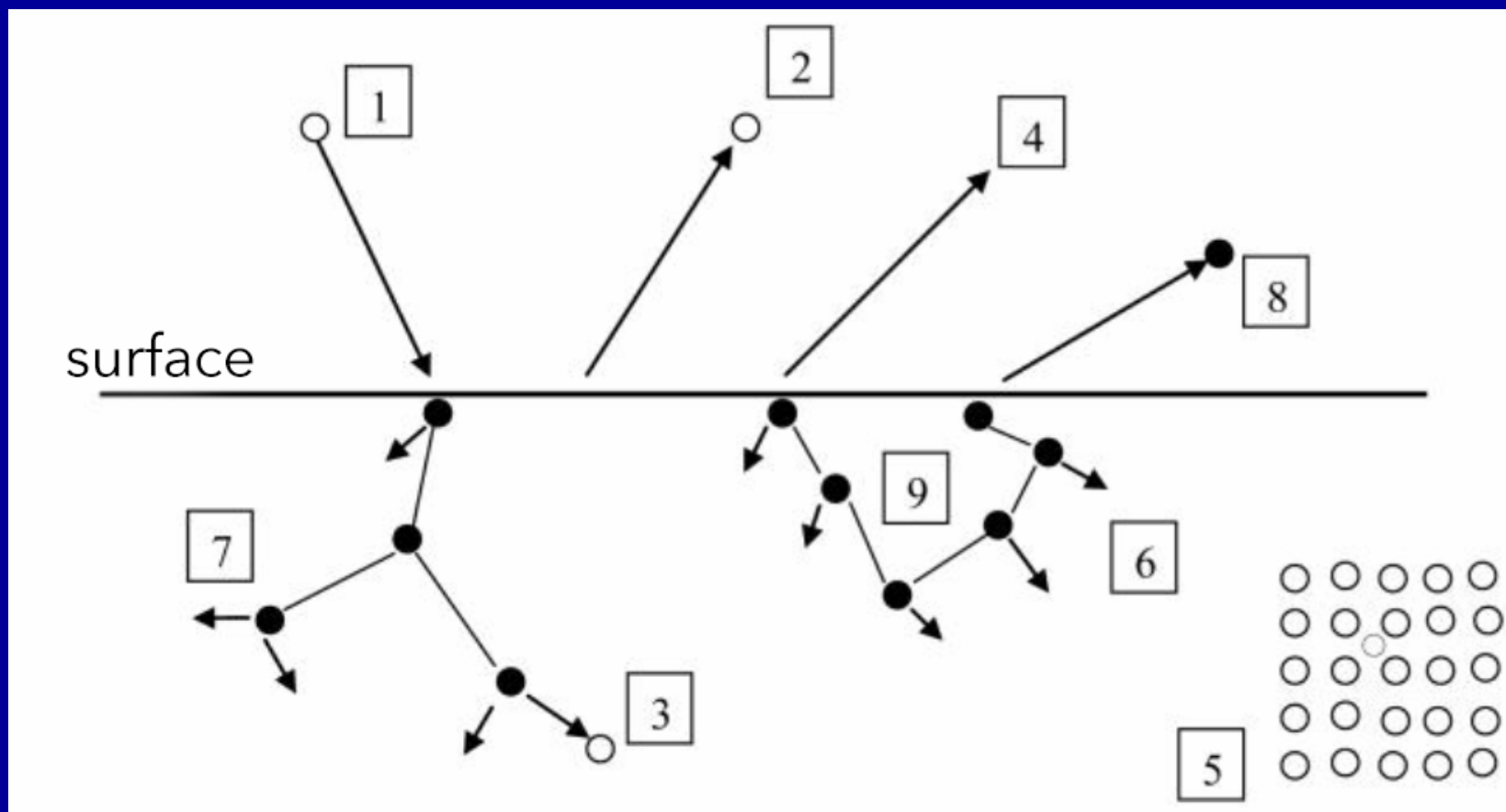
Spaterovanje-raspršivanje







Energetska raspodela sekundarnih jona



Tipične brzine
smaterovanja 0.5 do
5 nm/s
Tipični prinosi
od 5 do 15
Nema posebne
pripreme uzorka



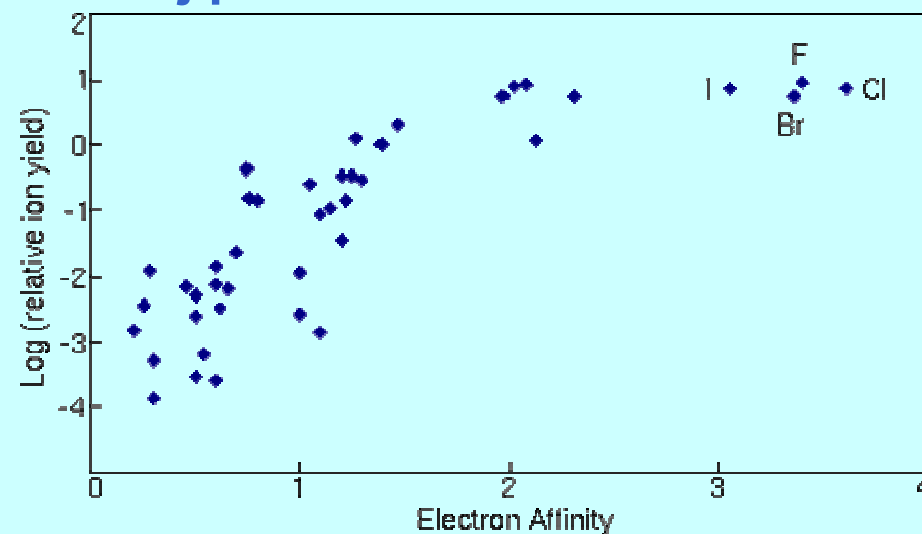
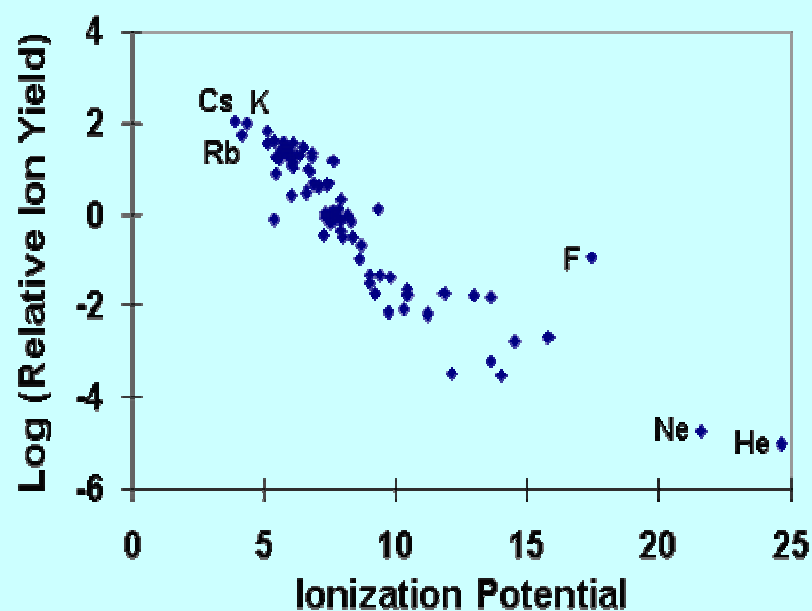
	Au^+	Au_2^+	Au_3^+	C_{60}^+
				
Removed # of H_2O Equivalents	100	575	1190	2510

$$Y = \frac{3\alpha}{4\pi^2} \frac{4M_1M_2E}{(M_1 + M_2)U_o}$$

Jonski prinos

Ar^+ , Cs^+ , Ga^+ , O_2^+ , O^- ,
 SF_5^+ , Au_n^+ , Bi_n^+ , Ar_{2500}^+ , C_{60}^+

Prinos sekundarnih jona-uticaj prirode elementa



Prinos sekundarnih jona-uticaj primarnog snopa

H	<div><div><div><div></div><div>O_2^+ Primary Positive Secondary</div></div><div><div></div><div>Cs^+ Primary Negative Secondary</div></div></div></div>																He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac															
		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
		Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

Faktori relativne osetljivosti u pozitivnom modu sa O⁻ primarnim jonijma (osnova Si)

<div>RSF Ranges (atom/cc)</div> <div><div><div><1.0 E21</div><div>1.0 E21- 1.0 E22</div><div>1.0 E22- 1.0 E23</div><div>1.0 E23- 1.0 E24</div><div>1.0 E24- 1.0 E26</div><div>>1.0 E26</div></div></div>																		He E27
H E24													B E22	C E24	N E25	O E25	F E23	Ne E27
Li E20	Be E22											Al E21	Si E22	P E24	S E24	Cl E24	Ar E26	
Na E20	Mg E21											Ga E21	Ge E23	As E24	Se E24	Br E24	Kr E25	
K E20	Ca E21	Sc E21	Ti E21	V E21	Cr E21	Mn E22	Fe E22	Co E22	Ni E22	Cu E22	Zn E24	In E21	Sn E22	Sb E23	Te E24	I E24	Xe E25	
Rb E20	Sr E21	Y E21	Zr E21	Nb E22	Mo E22	Tc	Ru E22	Rh E22	Pd E23	Ag E22	Cd E23	Tl E21	Pb E22	Bi E23	Po	At	Rn	
Cs E20	Ba E21	La E21	Hf E22	Ta E22	W E23	Re E24	Os E23	Ir E23	Pt E24	Au E24	Hg E24	Tl E21	Pb E22	Bi E23	Po	At	Rn	
Fr	Ra	Ac																
<div><div>Ce E21</div><div>Pr E21</div><div>Nd E21</div><div>Pm</div><div>Sm E21</div><div>Eu E21</div><div>Gd E21</div><div>Tb E21</div><div>Dy E21</div><div>Ho E21</div><div>Er E21</div><div>Tm E21</div><div>Yb E21</div><div>Lu E21</div></div> <div><div>Th E22</div><div>Pa</div><div>U E21</div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div></div>																		

$$C_E = RSF \frac{I_E}{I_M}$$

Faktori relativne osetljivosti u negativnom modu sa Cs⁺ primarnim jonijma (osnova Si)

<div> <div> <div>H</div> <div>E23</div> </div> <div> <div>Li</div> <div>E24</div> </div> <div> <div>Na</div> <div>E25</div> </div> <div> <div>K</div> <div>E25</div> </div> <div> <div>Rb</div> <div></div> </div> <div> <div>Cs</div> <div></div> </div> <div> <div>Fr</div> <div></div> </div> </div> <div> <div>Be</div> <div>E27</div> <div>Mg</div> <div></div> <div>Ba</div> <div>E26</div> <div>Ra</div> <div></div> </div> <div> <div>Sc</div> <div>E26</div> <div>La</div> <div>E26</div> <div>Ac</div> <div></div> </div> <div> <div>Ti</div> <div>E25</div> <div>Zr</div> <div>E25</div> <div>Hf</div> <div>E26</div> </div> <div> <div>V</div> <div>E25</div> <div>Nb</div> <div>E24</div> <div>Ta</div> <div>E26</div> </div> <div> <div>Cr</div> <div>E24</div> <div>Mo</div> <div>E25</div> <div>W</div> <div>6.5 E24</div> </div> <div> <div>Mn</div> <div></div> <div>Tc</div> <div></div> <div>Re</div> <div>E27</div> </div> <div> <div>Fe</div> <div>E25</div> <div>Ru</div> <div>E24</div> <div>Os</div> <div>E23</div> </div> <div> <div>Co</div> <div>E24</div> <div>Rh</div> <div>E24</div> <div>Ir</div> <div>E22</div> </div> <div> <div>Ni</div> <div>E23</div> <div>Pd</div> <div>E24</div> <div>Pt</div> <div>E22</div> </div> <div> <div>Cu</div> <div>E23</div> <div>Ag</div> <div>E23</div> <div>Au</div> <div>E22</div> </div> <div> <div>Zn</div> <div></div> <div>Cd</div> <div></div> <div>Hg</div> <div></div> </div>
--

B

E24

Al

E25

Ga

E26

In

E26

Tl

E26

C

E22

Si

E22

Ge

E23

Sn

E23

Pb

E25

N

P

E23

As

E23

Sb

E23

Bi

E23

O

E22

S

E21

Se

E21

Te

E21

Po

F

E21

Cl

E21

Br

E21

I

E21

At

Ne

Ar

Kr

Xe

Rn

Ce

E25

Th

E25

Pr

Pa

Nd

U

E25

Pm

Sm

Eu

E25

Gd

Tb

Dy

Ho

E27

Er

E26

Tm

Yb

E26

Lu

E26

1.0
E22-

1.0
E23

1.0
E23-

1.0
E24

1.0
E24-

1.0
E25

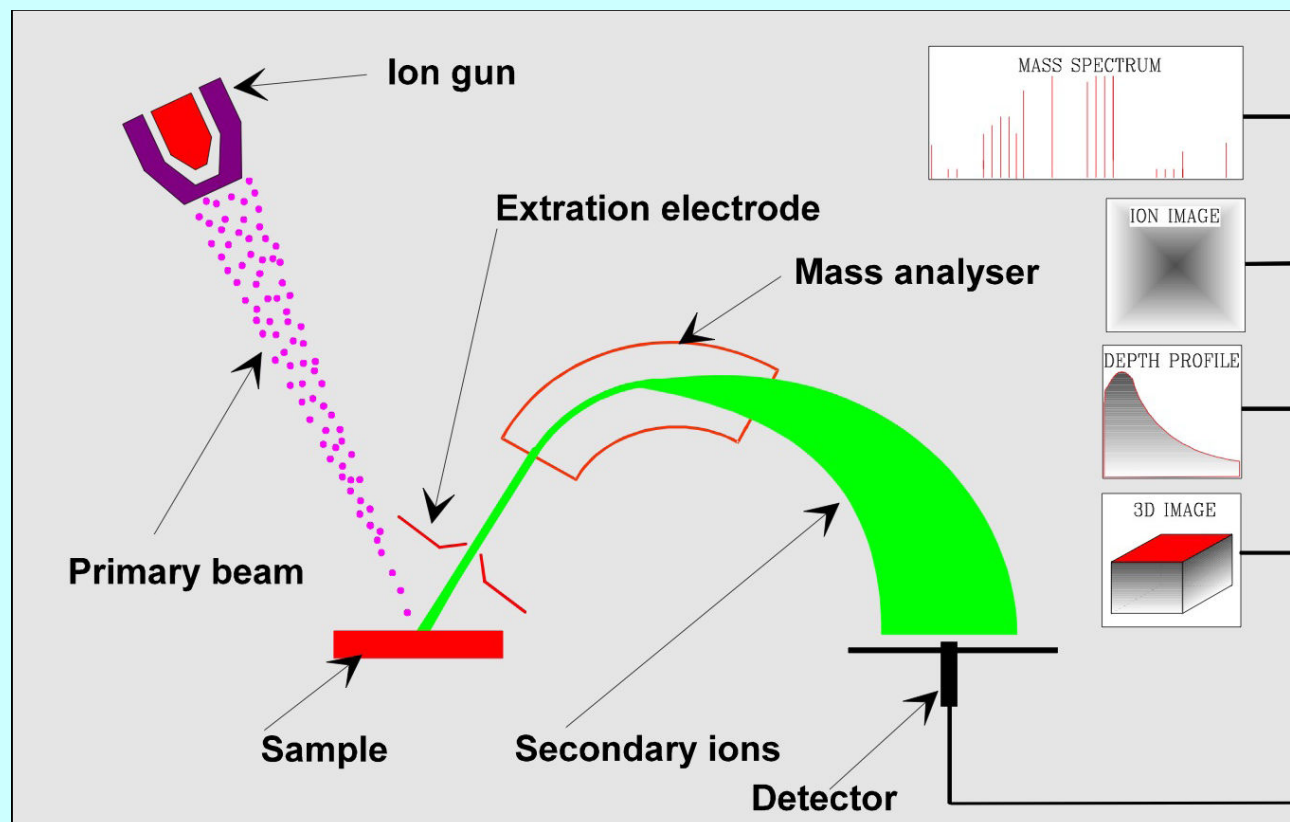
1.0
E25-

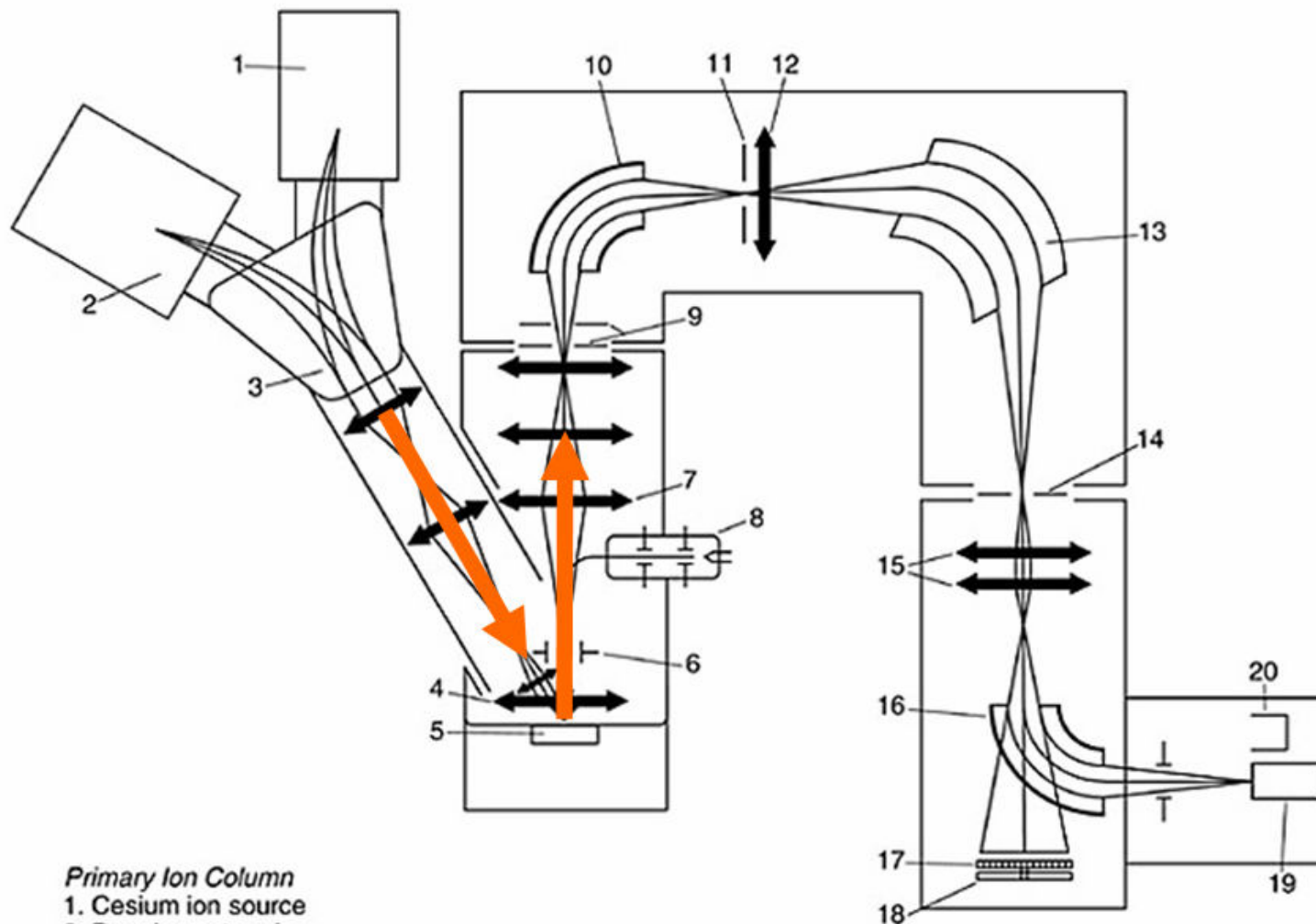
1.0
E26

<1.0
E22

>1.0
E26

Shematski prikaz glavnih komponenti SIMS tehnike





Primary Ion Column

- 1. Cesium ion source
- 2. Duoplasmatron ion source
- 3. Primary beam mass filter
- 4. Immersion lens

Secondary Ion Extraction System

- 5. Specimen
- 6. Dynamic transfer system
- 7. Transfer optical system
- 8. Electron flood gun

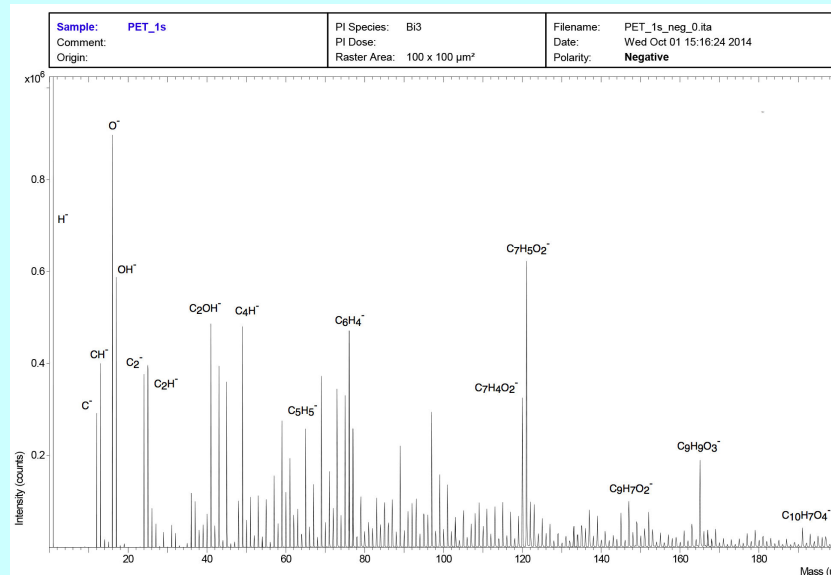
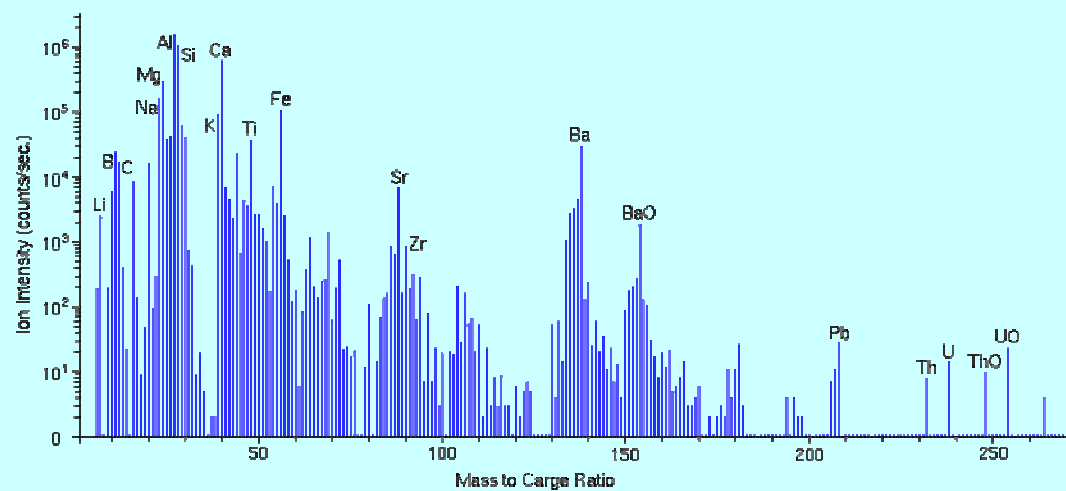
Mass Spectrometer

- 9. Entrance slit, Field aperture
- 10. Electrostatic analyzer
- 11. Energy slit
- 12. Spectrometer lens
- 13. Electromagnet
- 14. Exit slit

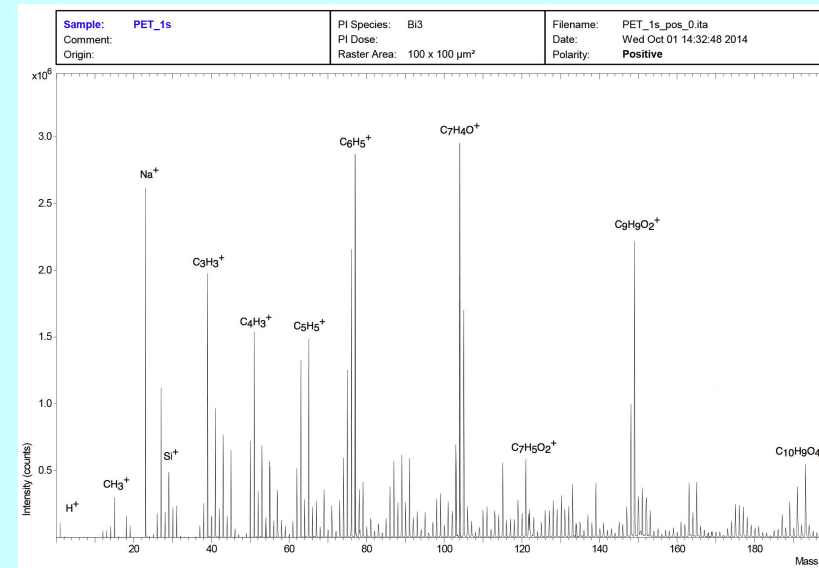
Detection System

- 15. Projection lenses
- 16. Electrostatic sector
- 17. Channel-plate
- 18. Flourescent screen
- 19. Electron multiplier
- 20. Faraday cup

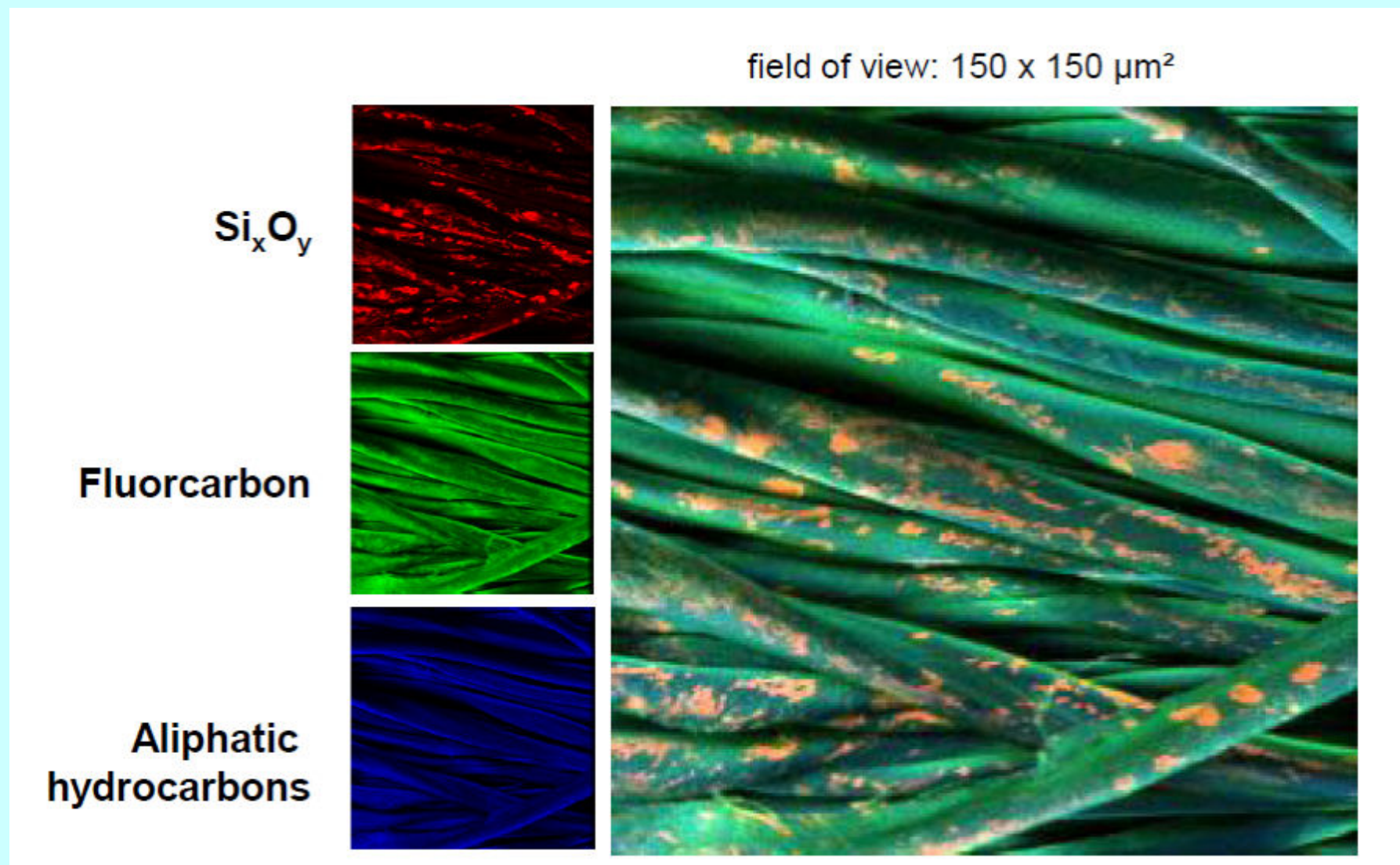
Maseni spektri



SIMS spektar PET ($(\text{C}_{10}\text{O}_4\text{H}_8)_n$)
u negativnom modu

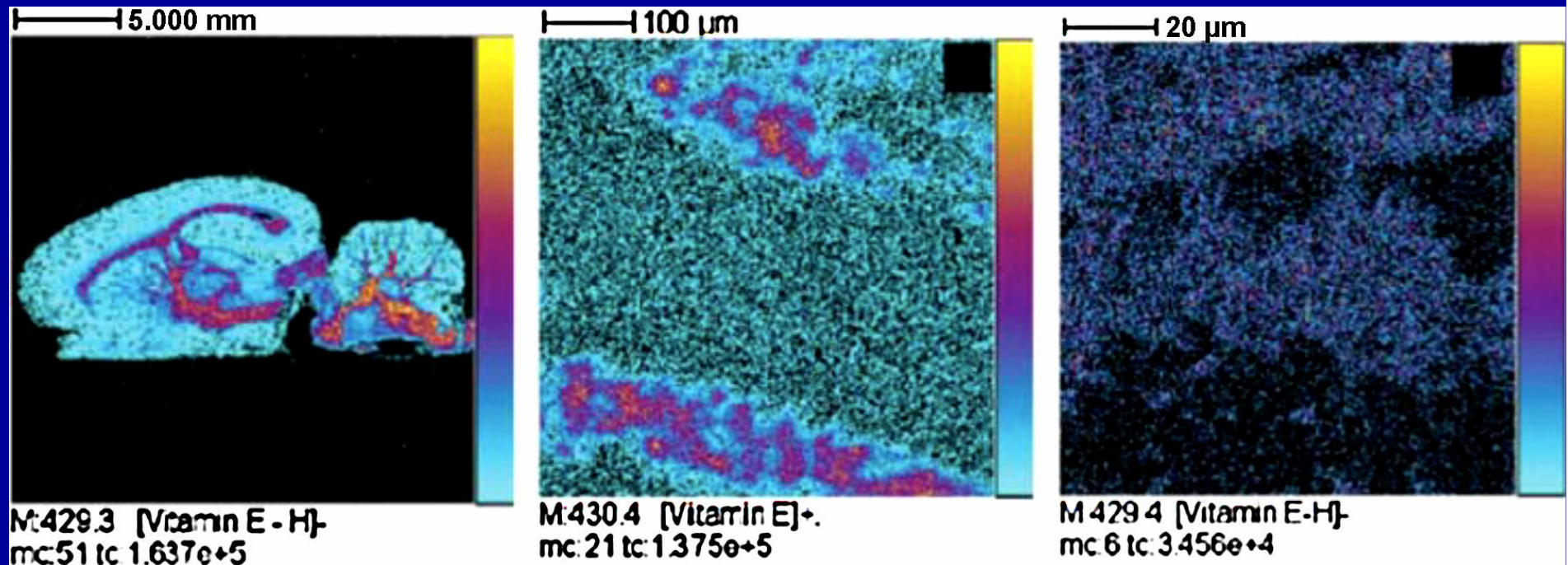


SIMS spektar PET u pozitivnom modu



TOF-SIMS dobijen sa pamučnih vlakana tretiranih fluoroalkilsilanom. 25 keV Bi^{3+}

Sagitalni isek mozga pacova pri razlicitim prostornim rezolucijama na $m/z=430$, 4-vitamin E



Određivanje m/e odnosa

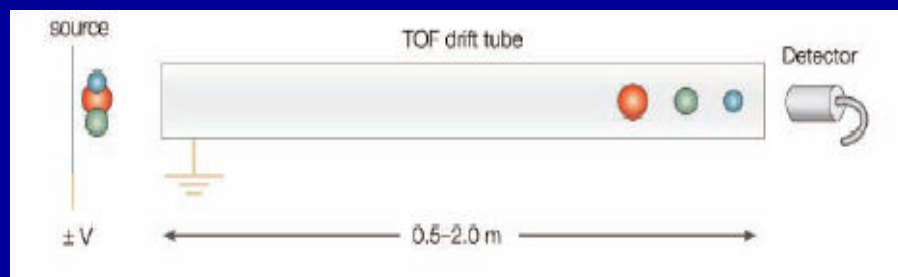
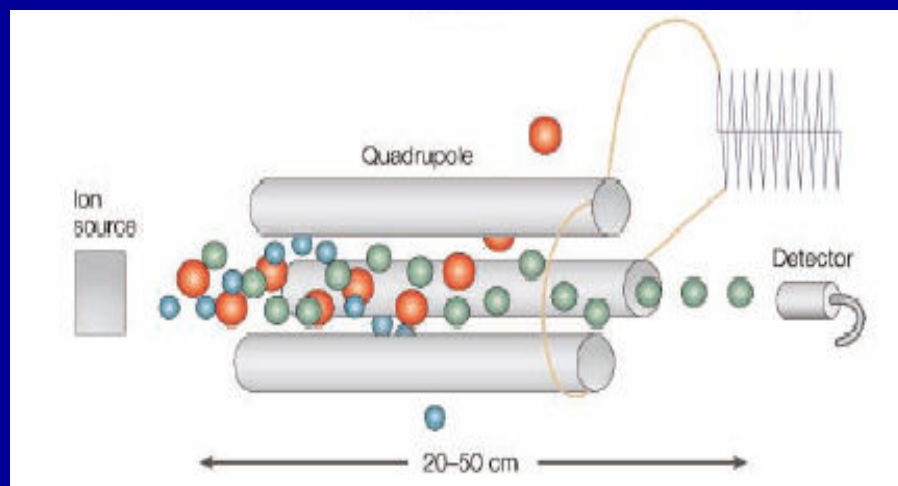
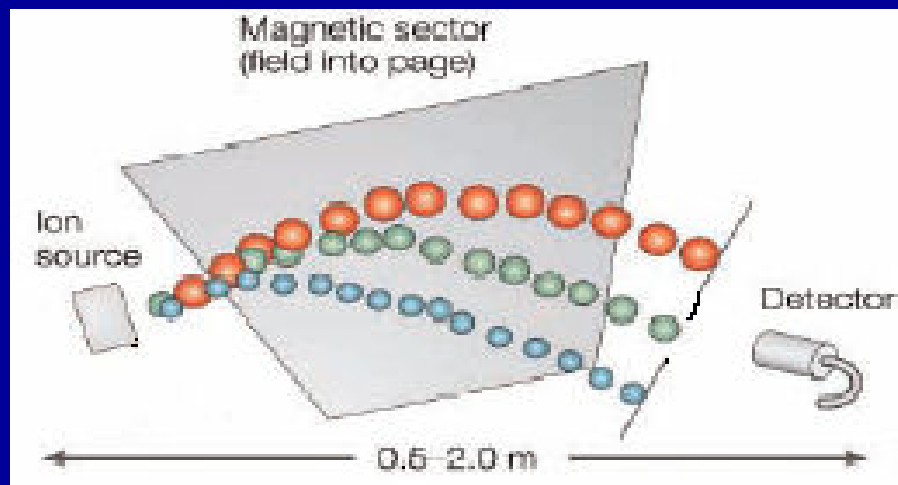
Merenjem:

- Momenta u magnetnim sektorima
- Kinetičke energije u elektrostatičkim sektorima
- Putanje stabilnosti u linearnim kvadrupolima
- Kružne frekvencije u jon ciklotronskoj rezonanciji i jonskom trapu
- Brzine u analizatorima na bazi vremena preleta (TOF)

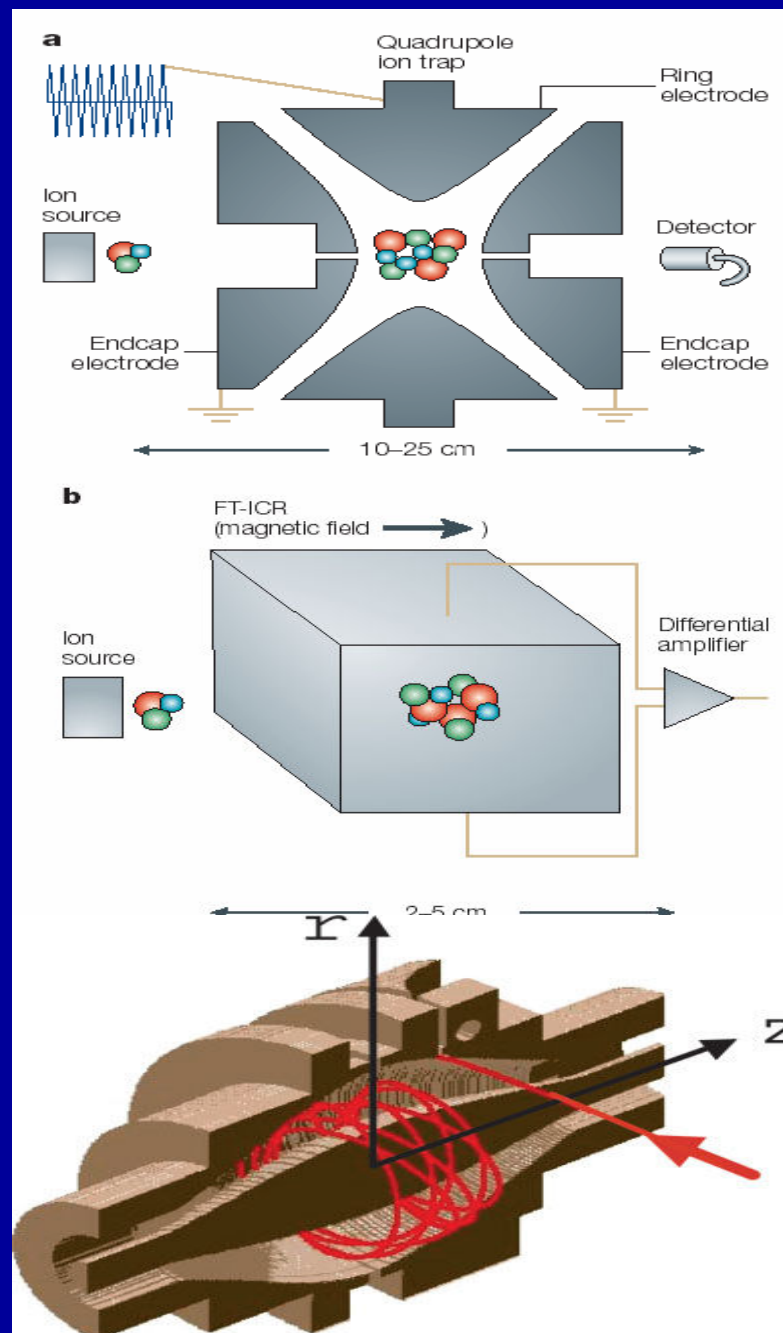
Maseni analizatori

- Magnetski sektor i dvostruko fokusirajući analizator
- Kvadrupolni analizatori
- Linearni Time-of-Flight (TOF)
- Reflektronski TOF
- Kvadrupolni jonski trap
- **Forije Transform Jon Ciklotron Rezonanca (FT-ICR-MS)**
- **Orbitrap**

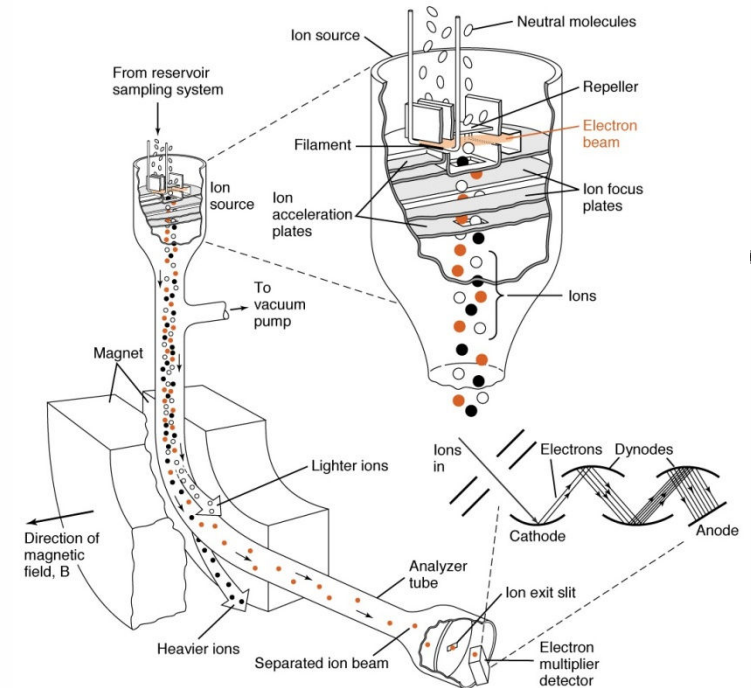
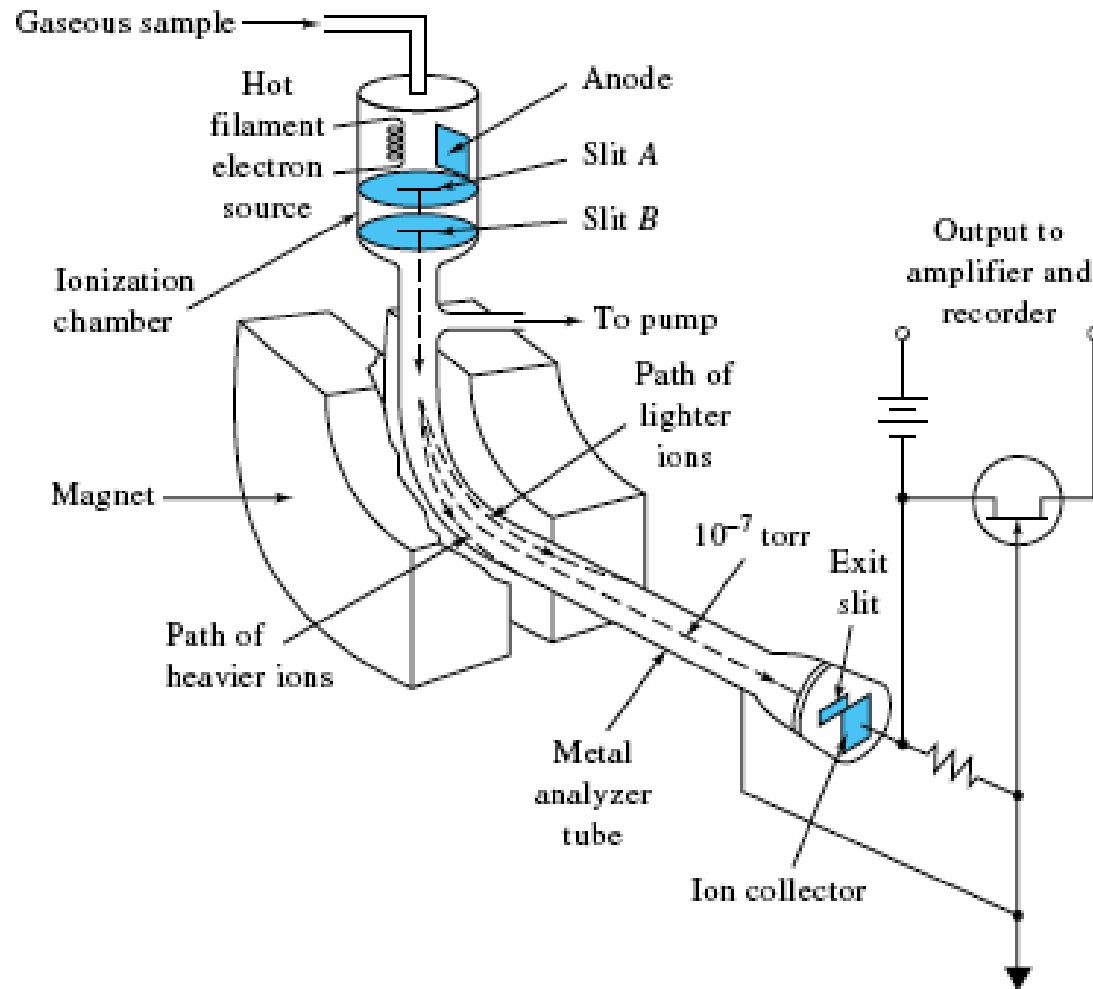
Instrumenti sa snopom



Trap instrumenti



Magnetni sektor



$$Bzev = \frac{mv^2}{r} \Rightarrow v = \frac{Bzer}{m}$$

$$E_k = zeV = \frac{1}{2}mv^2 = \frac{1}{2}m\left(\frac{Bzer}{m}\right)^2 \Rightarrow \frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2 e}{2V}$$

Dvostruko fokusirajući analizator

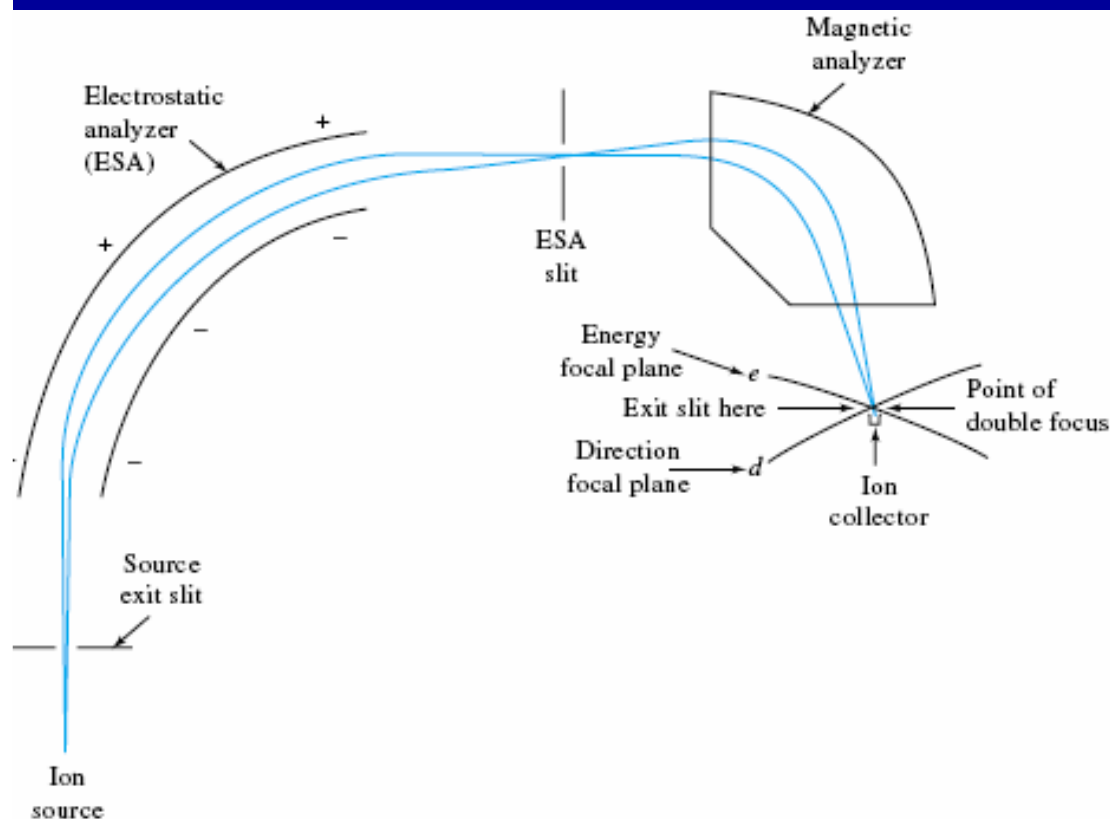


FIGURE 20-14 Nier-Johnson design of a double-focusing mass spectrometer.

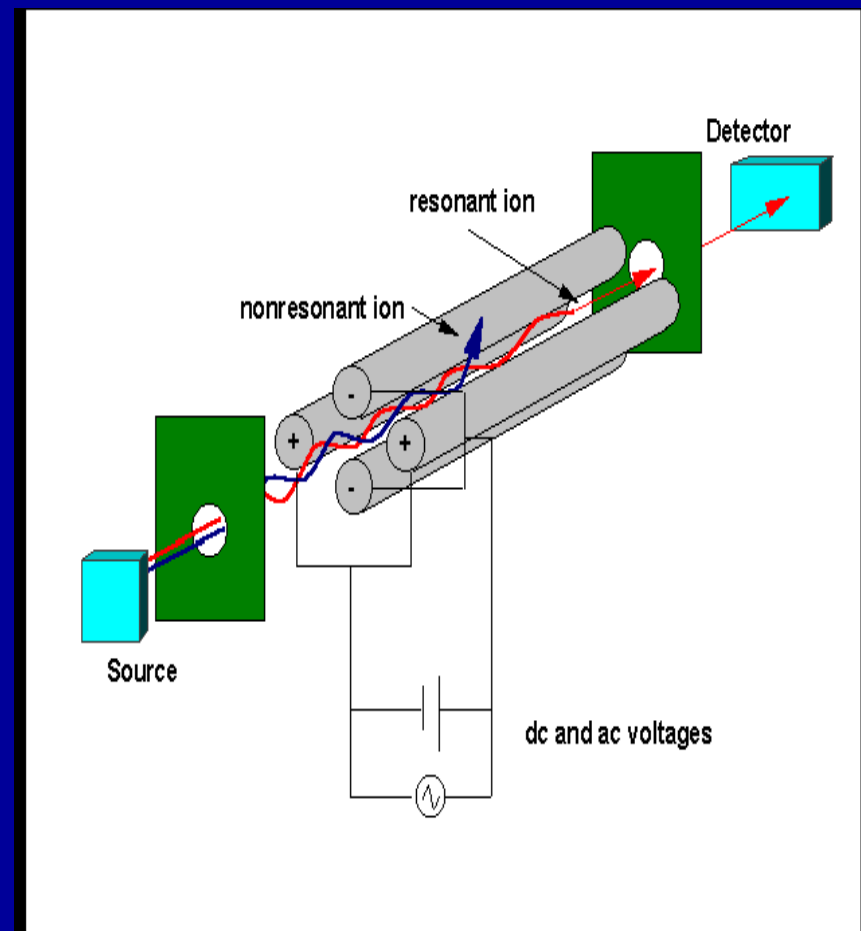
- Visoka rezolucija (10^5)
- velika preciznost
- oblast masa 10000
- skup
- ne povezuje se sa ESI

Kvadrupolni maseni analizator

- koristi se od 1950-tih
- danas najčešće korišćen
- naziva se i “maseni filter” jer propušta samo jone jednog odnosa m/z
- izdvaja jone na osnovu oscilacija u električnom polju (kvadrupolno polje) korišćenjem AC i DC potencijala

Kvadrupolni maseni analizator

- sastoji se od 4 paralelne metalne šipke ili elektrode
- suprotne elektrode imaju potencijal istog znaka
- set suprotnih elektroda ima potencijal $[U+V\cos(\omega t)]$
- drugi set ima potencijal $- [U+V\cos\omega t]$
- U = DC napon (500-2000V),
 V =AC napon (0 do 3000V),
 ω = ugaona brzina naizmeničnog napona

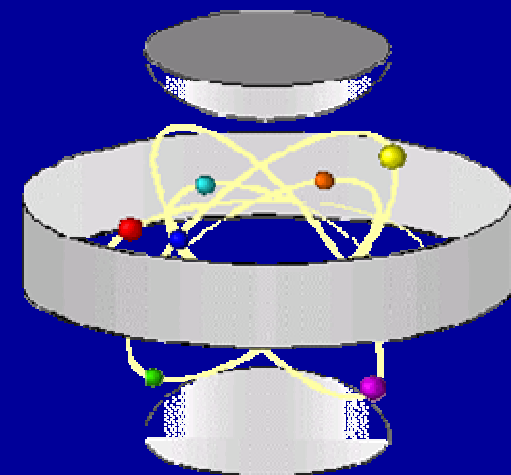
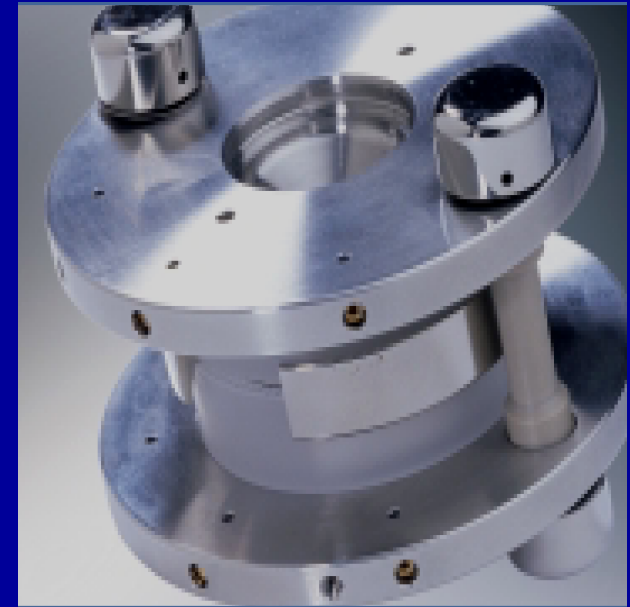
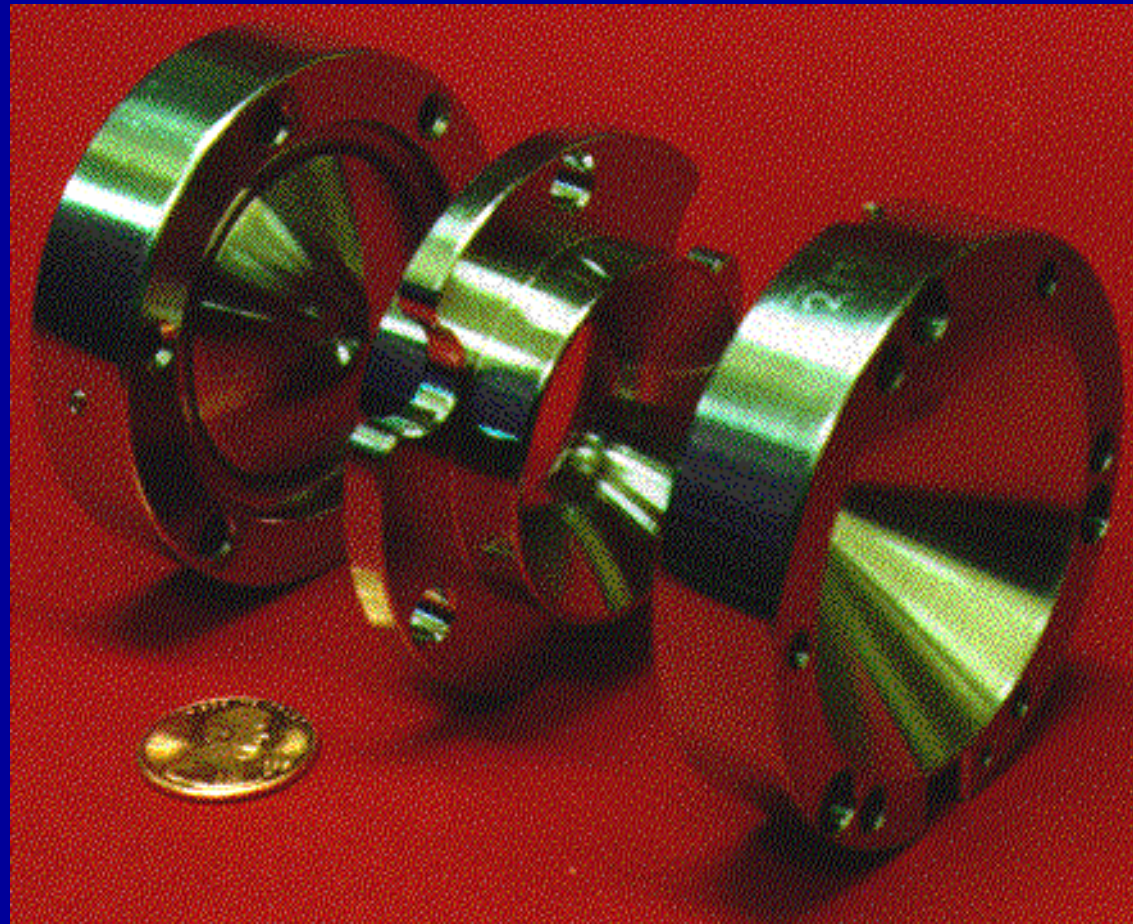


Jonski trap-kvistor

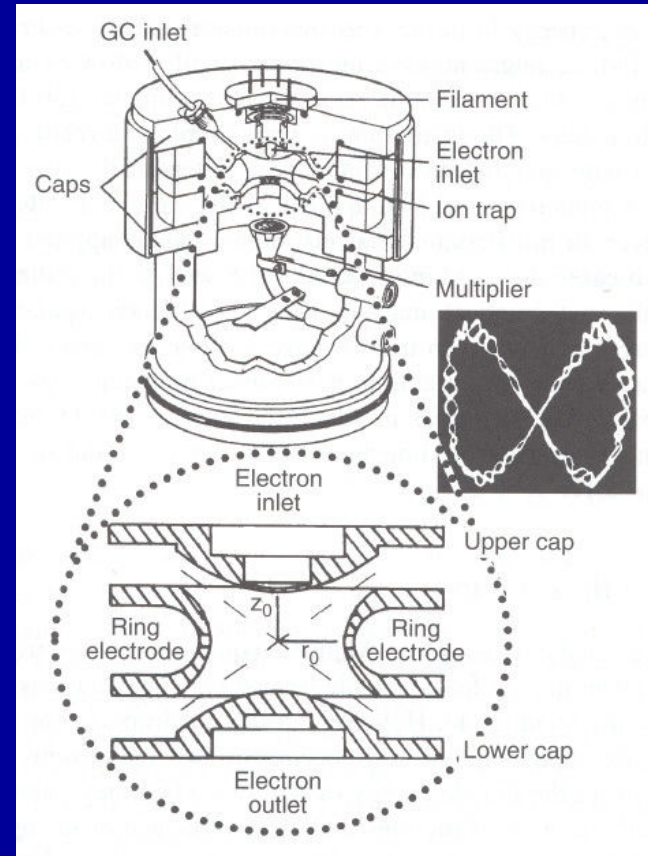
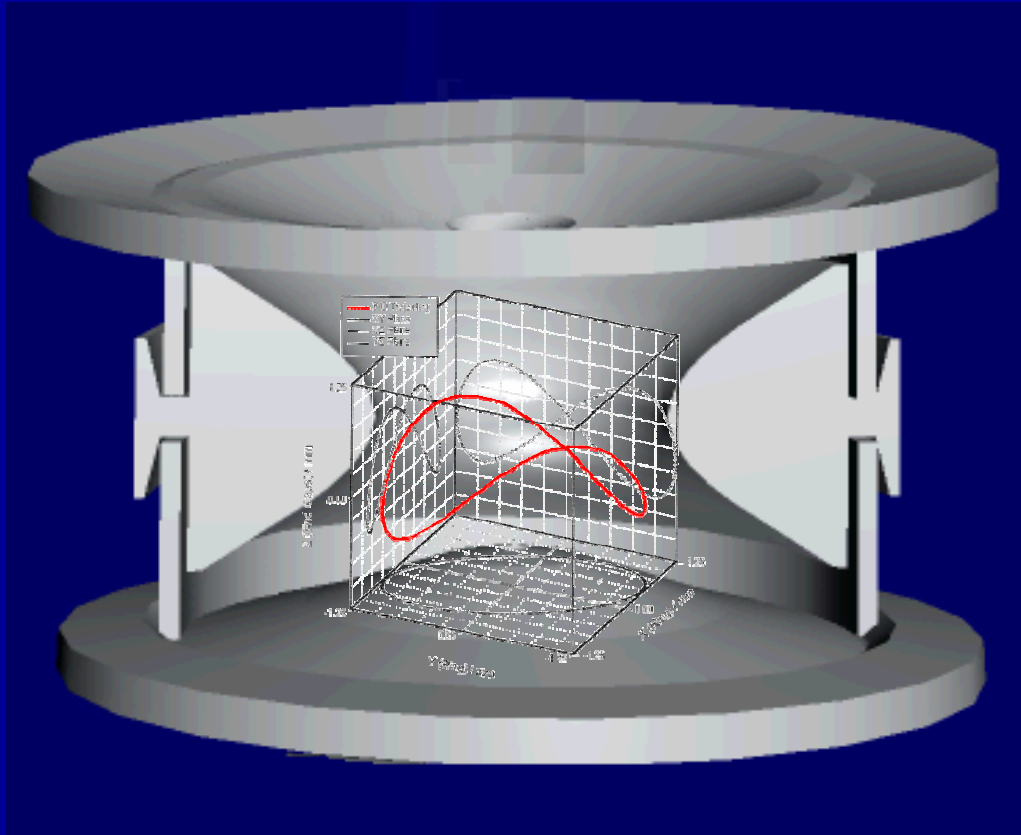
- Jonski trap je uređaj u kome, pomoću trodimenziomalnog kvadrupolnog polja, mogu da se čuvaju i analiziraju joni
- Jonski trap je maseni spektrometar:
 - Pokriva veliki opseg masa jona,
 - Ima dobru rezoluciju i
 - Mogućnost MS/MS i MSⁿ analize.
- Komercijalni uređaji se najčešće koriste u GC-MS ili LC-ESI-MS kombinaciji.

JONSKI TRAP

- prstenasta elektroda
- dve kupaste elektrode-poklopci

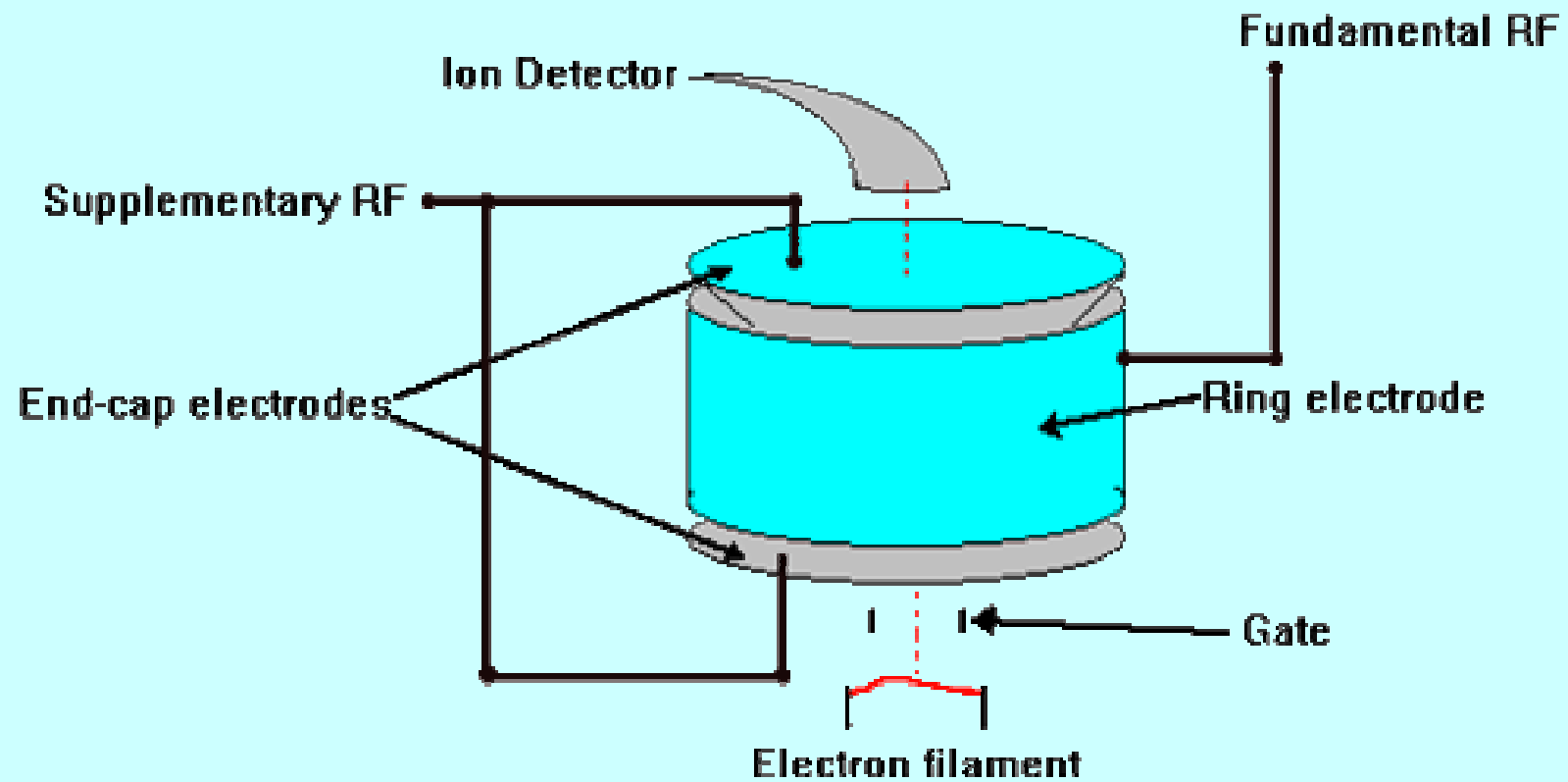


Jonska putanja u trapu



He se dodaje kao puferski
gas (10^{-3} torr)

Jonski trap-kvistor

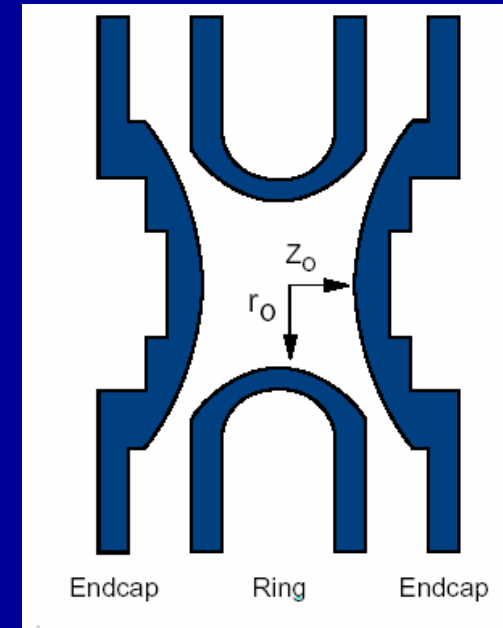


Teorija

Kretanje jona u kvadrupolnom polju može da se opiše Metjuovom jednačinom (**Mathieu** 1869).

$$a_z = \frac{-16zeU}{m(r_0 + 2z_0)\omega^2}$$

$$q_z = \frac{8zeV}{m(r_0^2 + 2z_0^2)\omega^2}$$



a_z i q_z – Metjuove koordinate

U – primenjen **dc** potencijal

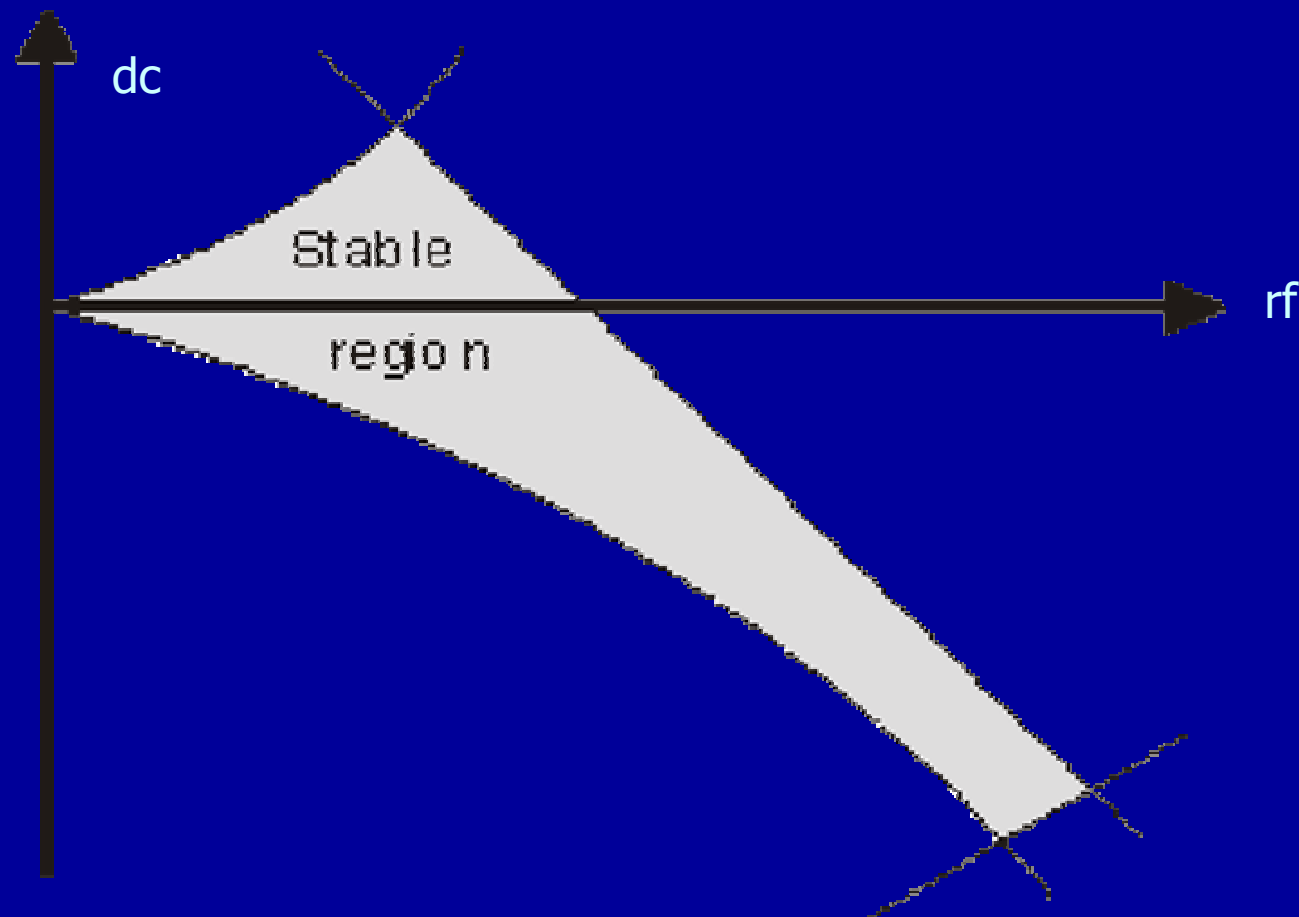
V – primenjen **rf** potencijal

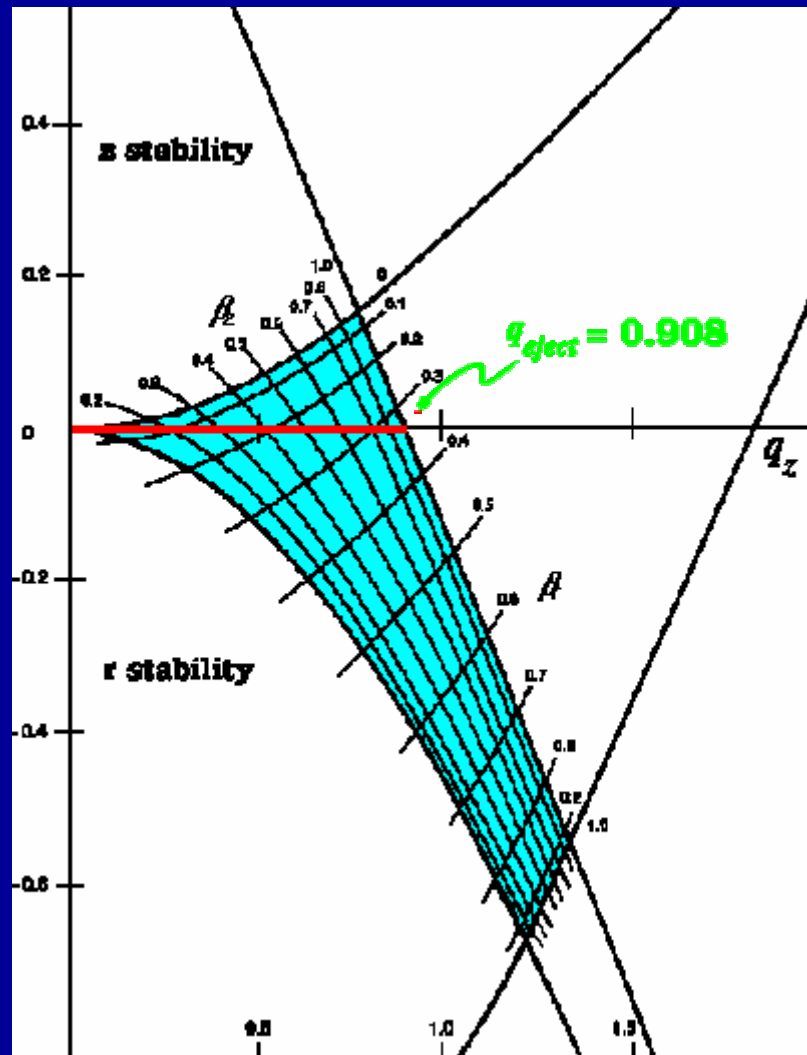
ω – ugaona frkfenca **rf**

r_0 i z_0 – dimenzije jonskog trapa

Dijagram stabilnosti jona

povezuje primenjen **dc** napon (U) i primenjen **rf** napon (V) i **rf** frekvencu (ω) sa stabilnim i nestabilnim putanjama jona





MSIS

"Mass Selective Instability Scan"

$$a_z = \frac{-16zeU}{m(r_0 + 2z_0)\omega^2} = 0$$

$$q_z = \frac{8zeV}{m(r_0^2 + 2z_0^2)\omega^2}$$

$$\frac{m}{z} = \frac{8eV}{(r_0^2 + 2z_0^2)\omega^2 q_z}$$

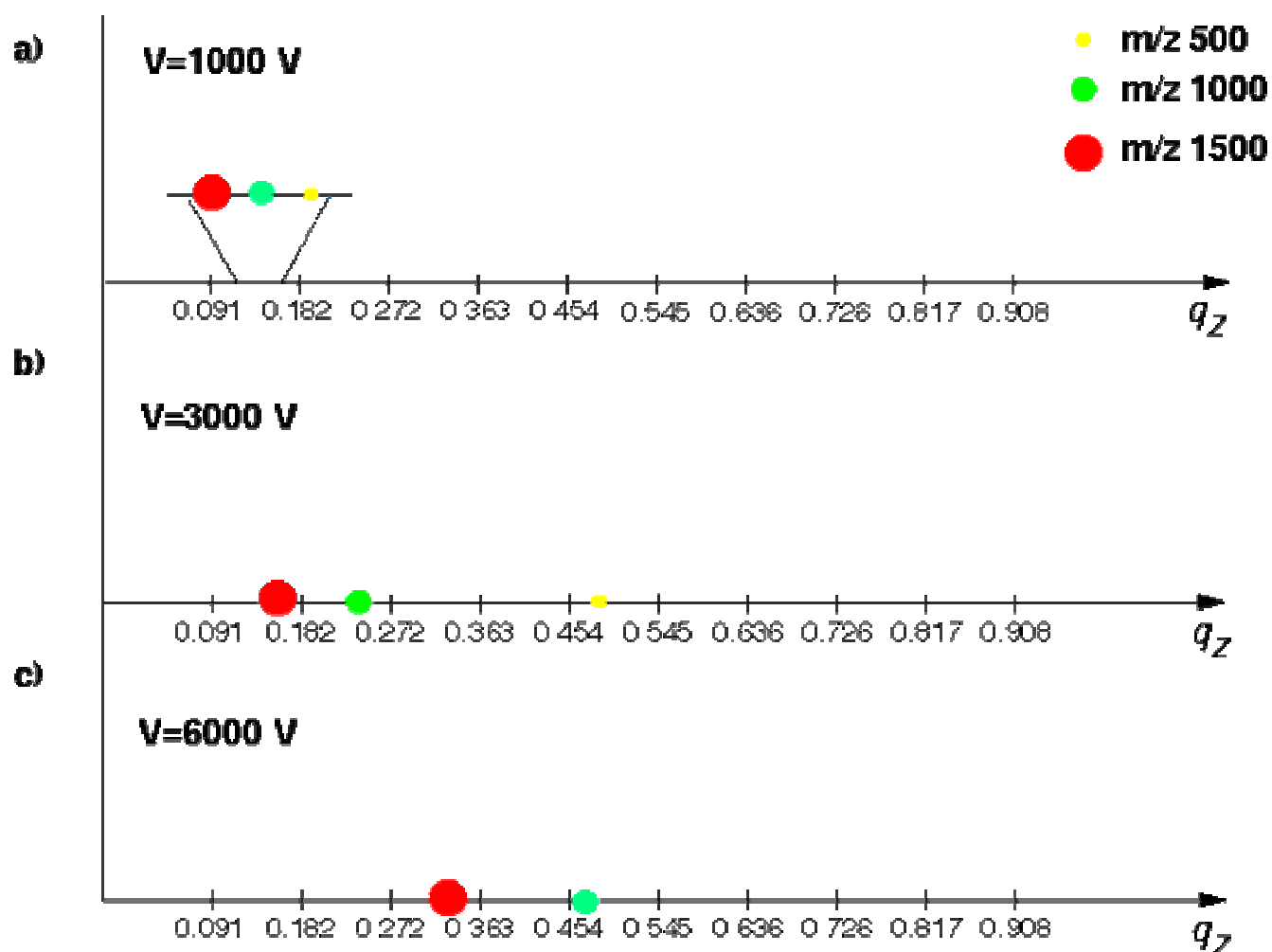
Povećanje opsega m/z

$$m/z = \frac{4 \cdot V}{r_0^2 \cdot \omega^2 \cdot q_z}$$

- Rad na višem ***rf*** naponu ($V_{\max}=15$ keV)
- Primena niže ***ω*** ($\omega=1.1$ MHz)
- Korišćenje manjih trapova ($r_0=1$ cm)
- Nestabilnost jona na nižim ***q_z*** ($q_z=0.908$)

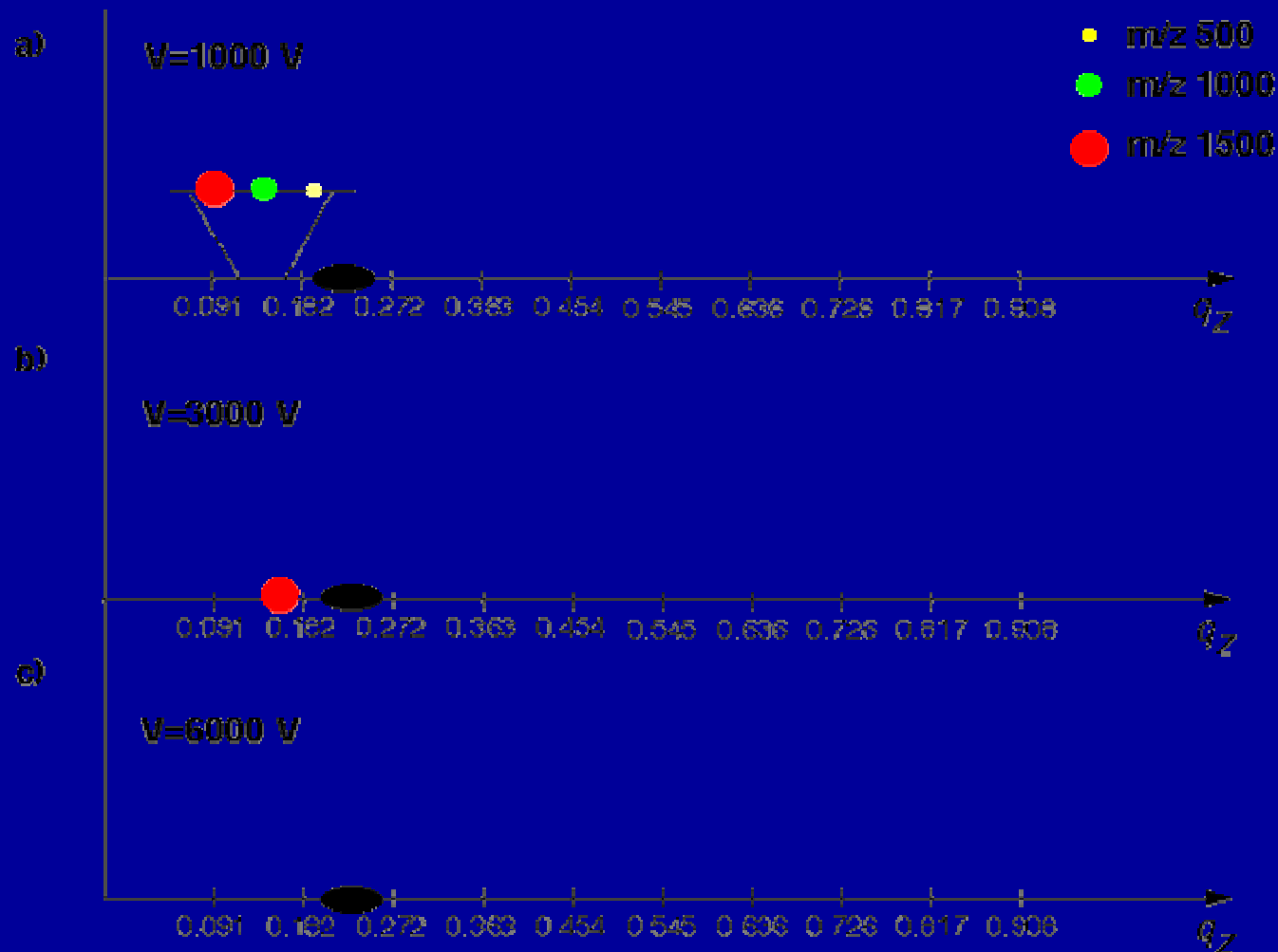
Pozicija tri jona sa različitim m/z na $a_z = 0$.

Uticaj promene amplitude ***rf*** signala



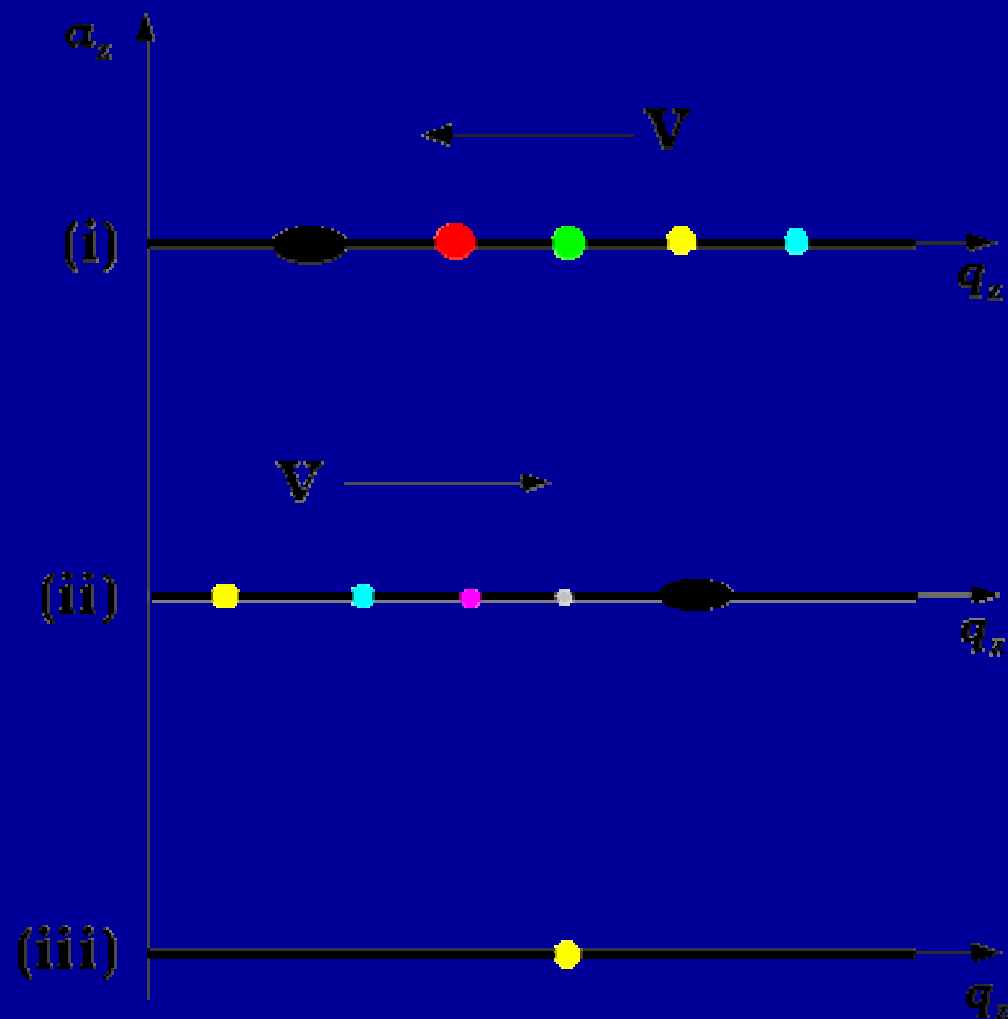
Rezonančno izbacivanje jona “Resonant ejection”

Formira se područje nestabilnosti jona ($q_z = 0.227$) što omogućava izbacivanje jona pri nižem naponu (opseg masa 4X veći)



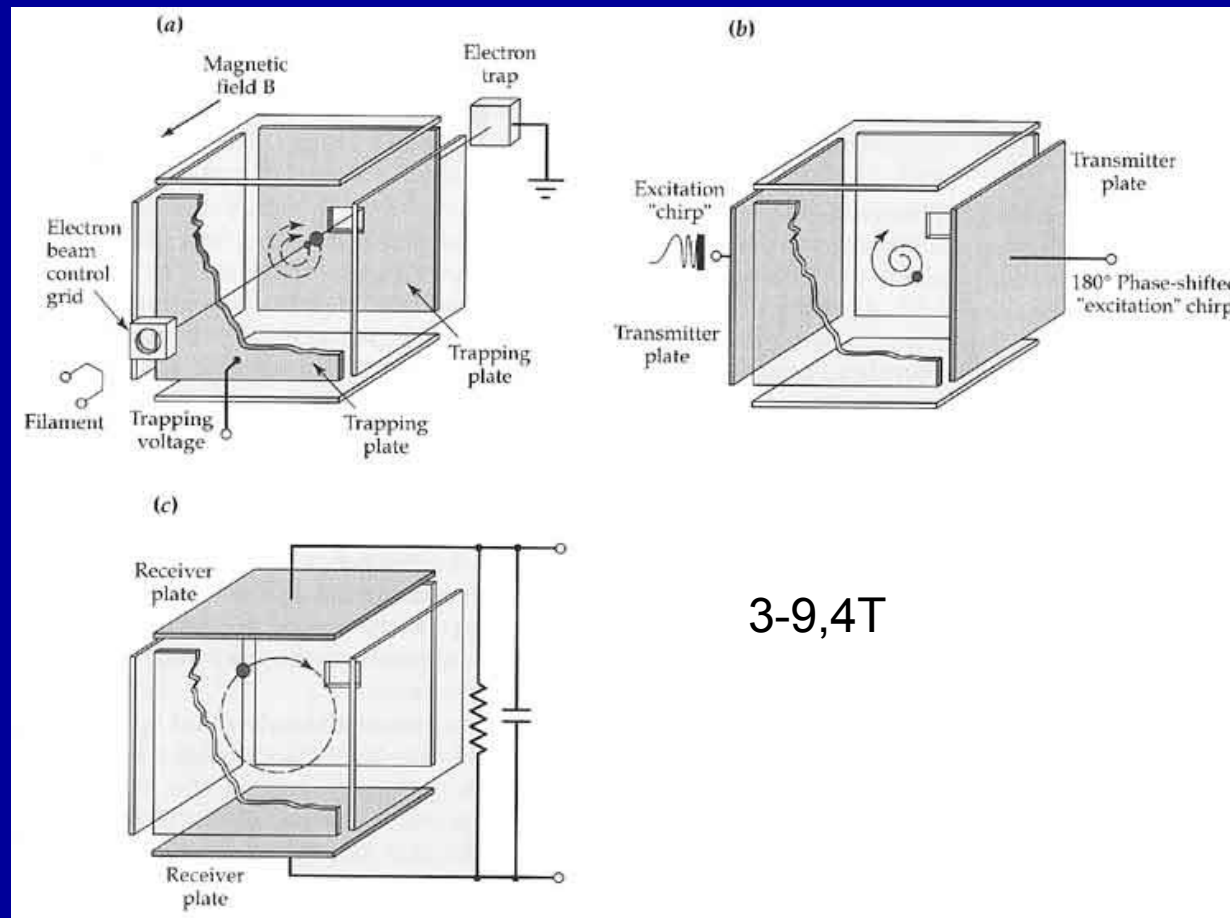
Čuvanje odabranih jona

- (i) Smanjenjem napona izbacuju se joni visoke m/z .
- (ii) Povećanjem napona izbacuju se joni niske mase m/z .
- (iii) Rezultat je izolacija jona određene mase m/z .





FT-jon rezonantna ciklotronska masena spektrometrija FT-ICR-MS



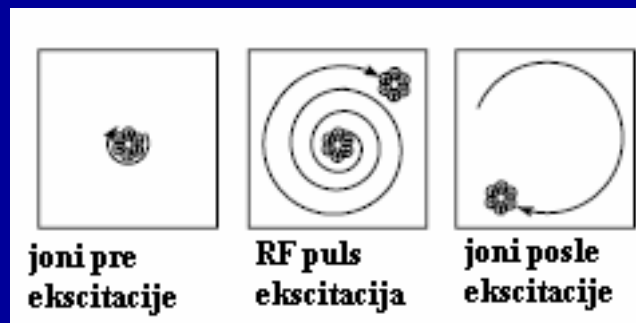
3-9,4T

Dve strane kocke služe za pobuđivanje, dve za zarobljavanje jona i treći par za prikupljanje jona.

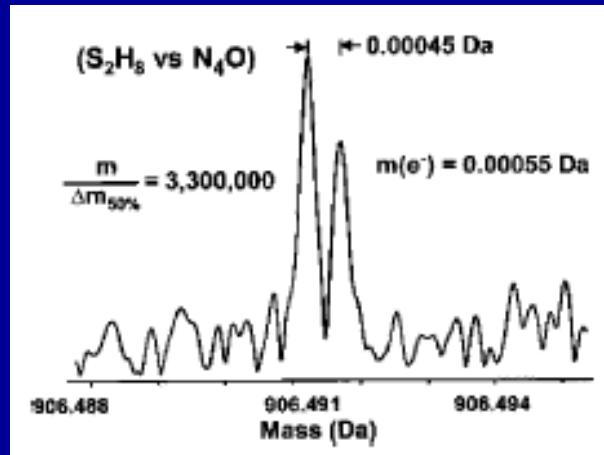
Bez spoljašnjeg električnog polja, joni male energije putuju malim kružnim putanjama (oko 0,1 mm dijametra) zbog sila magnetskog polja (3-9,4 T).

$$\omega = \frac{v}{r} = \frac{zB}{m}$$

Kada se primeni odgovarajući napon na elektrode za pobuđivanje (ploče sa strane), joni će se naći pod dejstvom oscilujućeg, prostorno usaglašenog (koherentnog) električnog polja.



FT-ICR-MS-ogromna rezolucija



Razdvajanje peptida nom. mase 906, razlika od 0,00045 Da

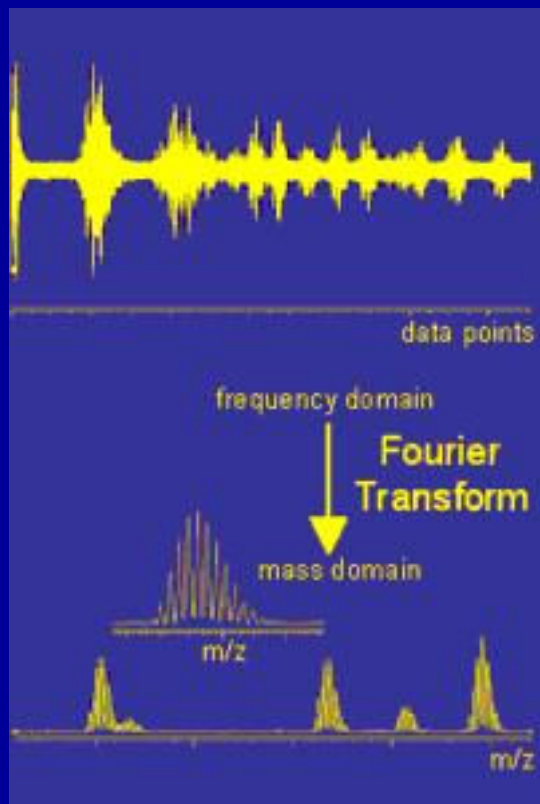
Prednost

- Ekstremno visoka rezolucija
- Veoma dobra preciznost (<1 ppm)
- MS/MS

Nedostaci

- Skupa
- Potrebni superprovodni magneti
- Spora MS/MS

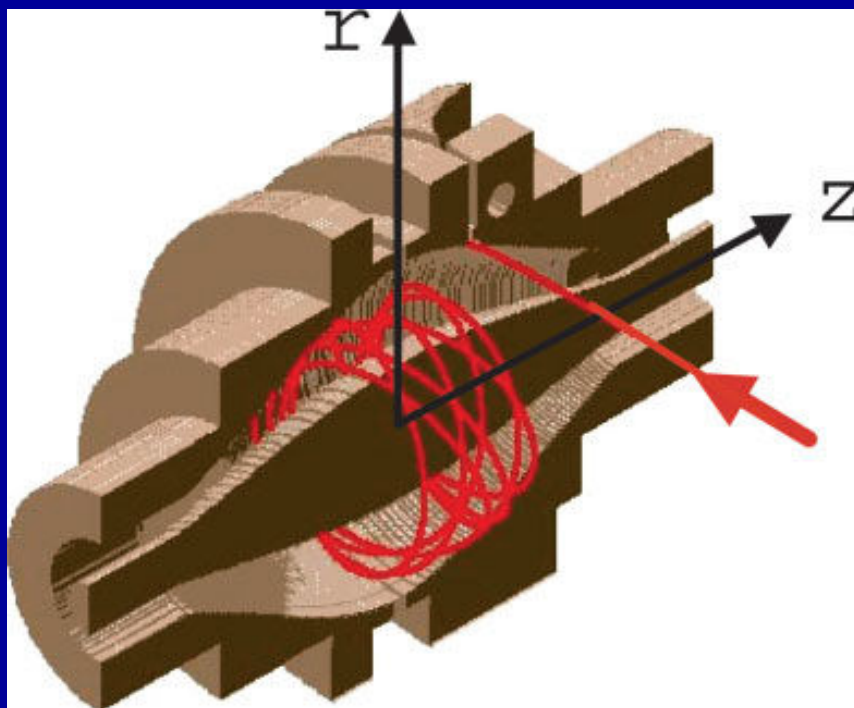
FT-jon ciklotron analizator



Orbitrap maseni analizator

Kingdon 1923

Makarov 1999



Aksijalno simetrične
elektrode orbitrapa
formiraju kombinovani
kvadro-logaritamski
elektrostatički potencijal:

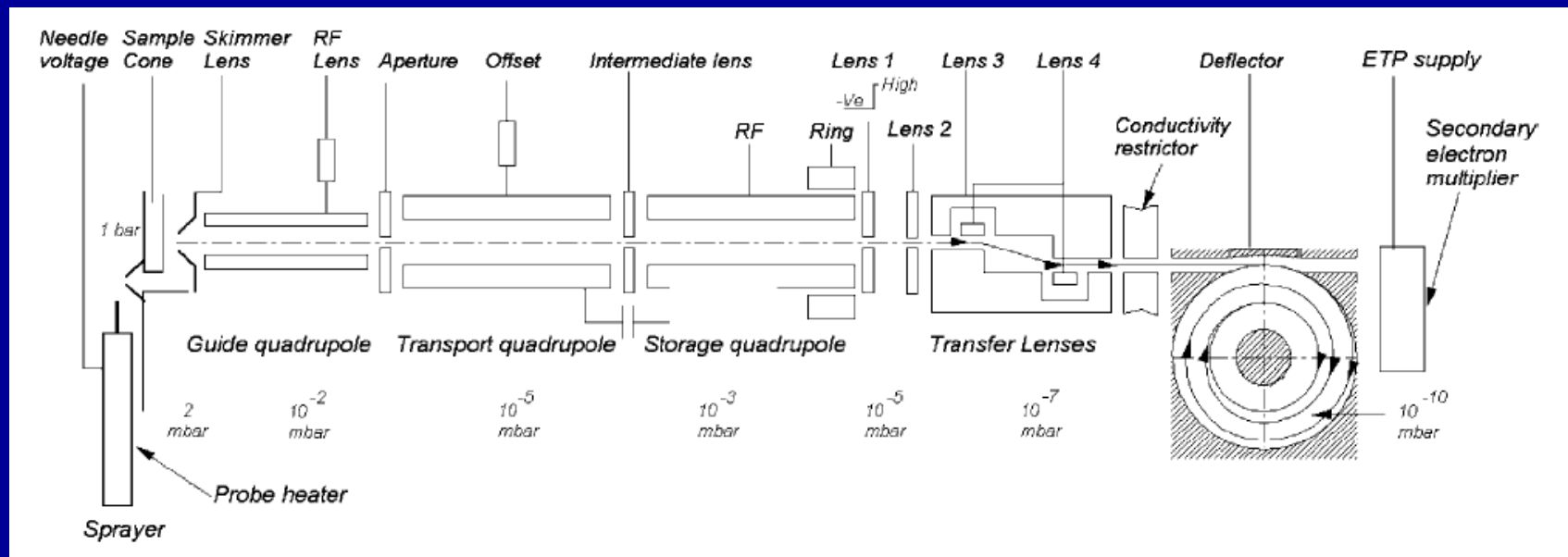
$$U(r, z) = \frac{k}{2} \left\{ z^2 - \frac{r^2}{2} + R_m^2 \ln \left(\frac{r}{R_m} \right) \right\} + C$$

Stabilne trajektorije jona uključuju i orbitalno kretanje *oko* centralne elektrode (r , φ -kretanje) i *simultane* oscilacije u z -pravcu.

Kretanje jona duž z -ose može da se opiše harmonijskim oscilacijama i potpuno je nezavisno od r i φ . Odnos m/z zavisi samo od frekvencije oscilacija jona duž z ose.

$$\omega = \sqrt{\frac{k}{m/z}}$$

Primenom Furijeove transformacije iz individualnih frekvencija jona se dobijaju njihovi m/z odnosi.



Masena rezolucija 150 000

Visoka tačnost (2-5ppm)

Povećan kapacitet jona većih masa

Odnos m/z bar 6000

Dinamička oblast veća od 10^3

Relativno mala cena

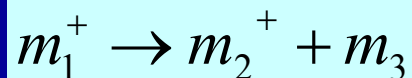
Detektori jona u MS

- Faradejev kavez
- Elektronski multiplikatori
- Mikrokanalsne ploče
- Scintilacioni brojači
- Visoko pojačanje
- Brz odgovor
- Nizak šum
- Visoka efikasnost prikupljanja
- Niska cena
- Mala širina signala (odgovora)
- Isti odgovori za sve mase
- Velika dinamička oblast
- Duga stabilnost i vek trajanja
- Mogućnost smeštanja van vakuuma

Tandem Masena Spektrometrija (MS/MS ili MSⁿ)

- Meke jonizacije metode kao npr. ESI daju samo roditeljske jone iz kojih se ne mogu dobiti strukturne informacije
- Tvrdе metode daju mnoge fragmente ali obično nema roditeljskog jona
- Potrebno je izolovati i roditeljski jon i fragmente

Metastabilni joni

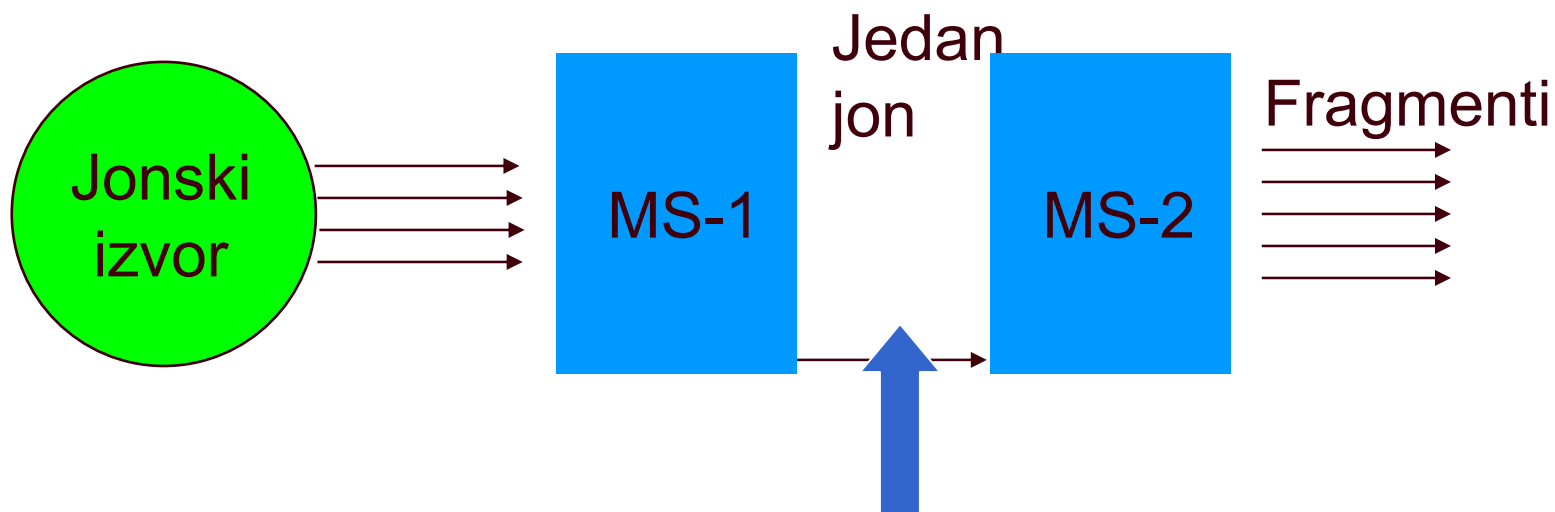


$$\text{metastabilna fragmentacija: } m^* = \frac{m_2^2}{m_1}$$

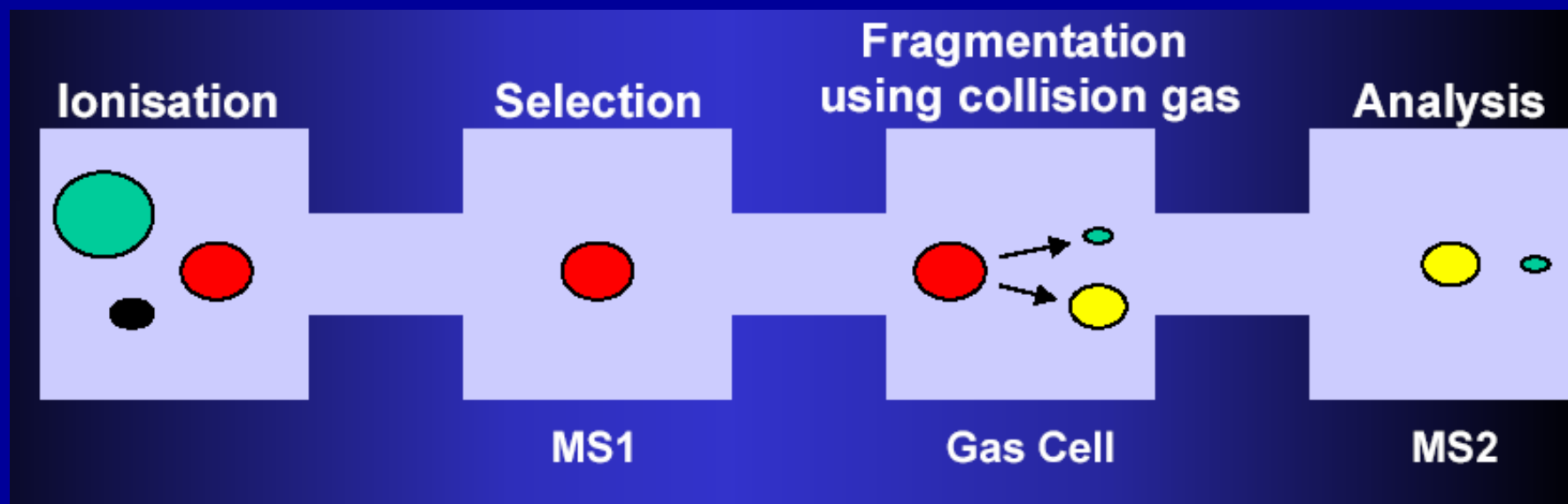
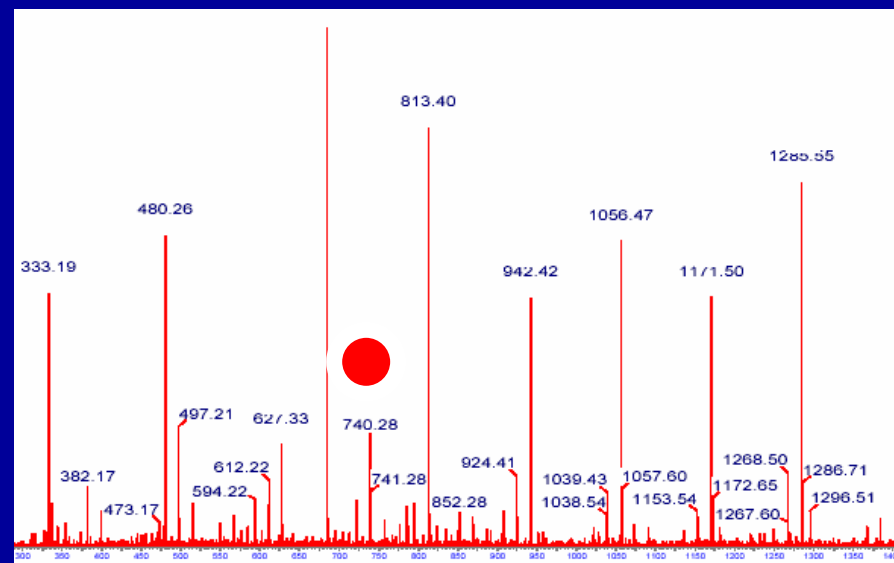
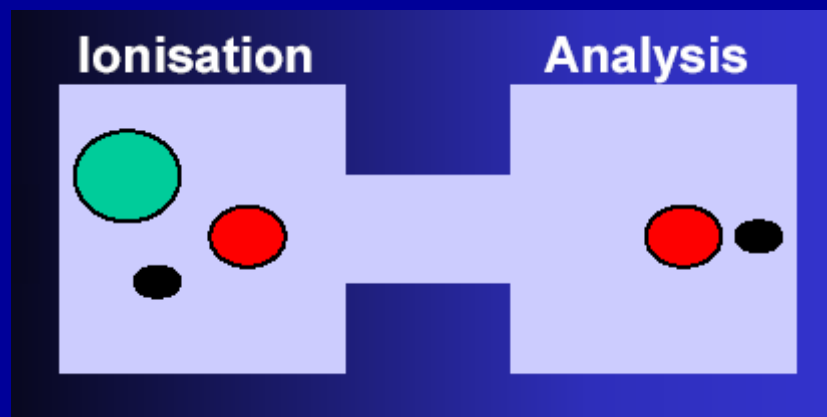
Šta je MS/MS-tandem maseni spektrometar?

MS/MS znači korišćenje dva masena analizatora (kombinovana u jednom instrumentu) da bi se izdvojio jedan analit (jon) iz smeše, onda se stvaraju fragmenti odakle se dobijaju informacije o strukturi.

Smeša jona

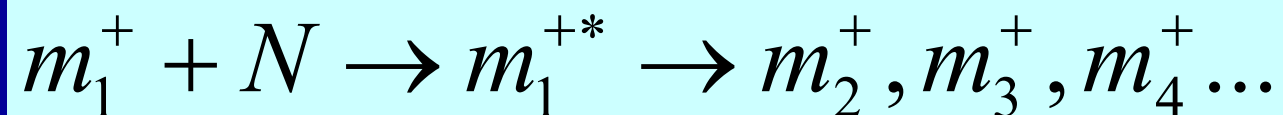
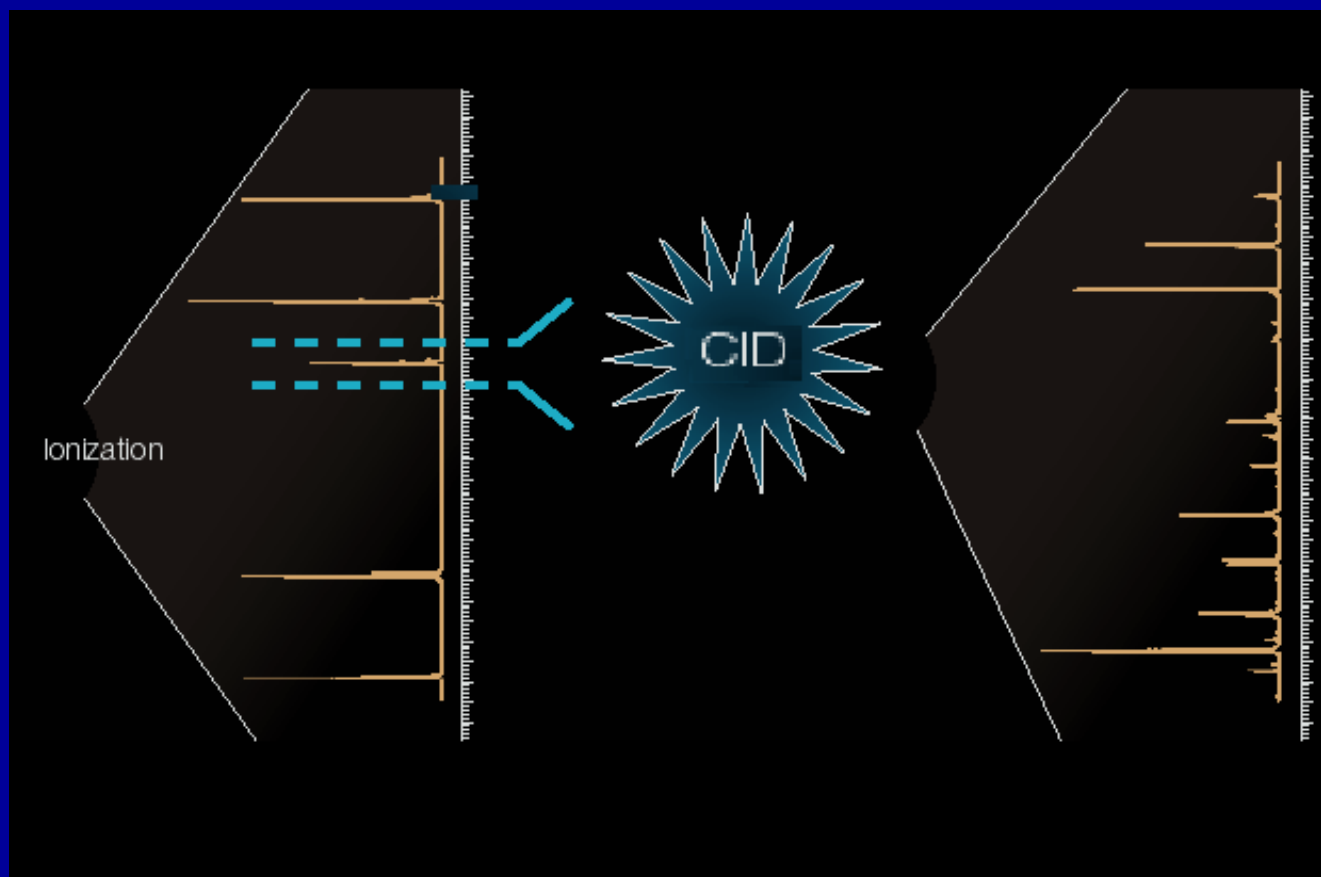


MS

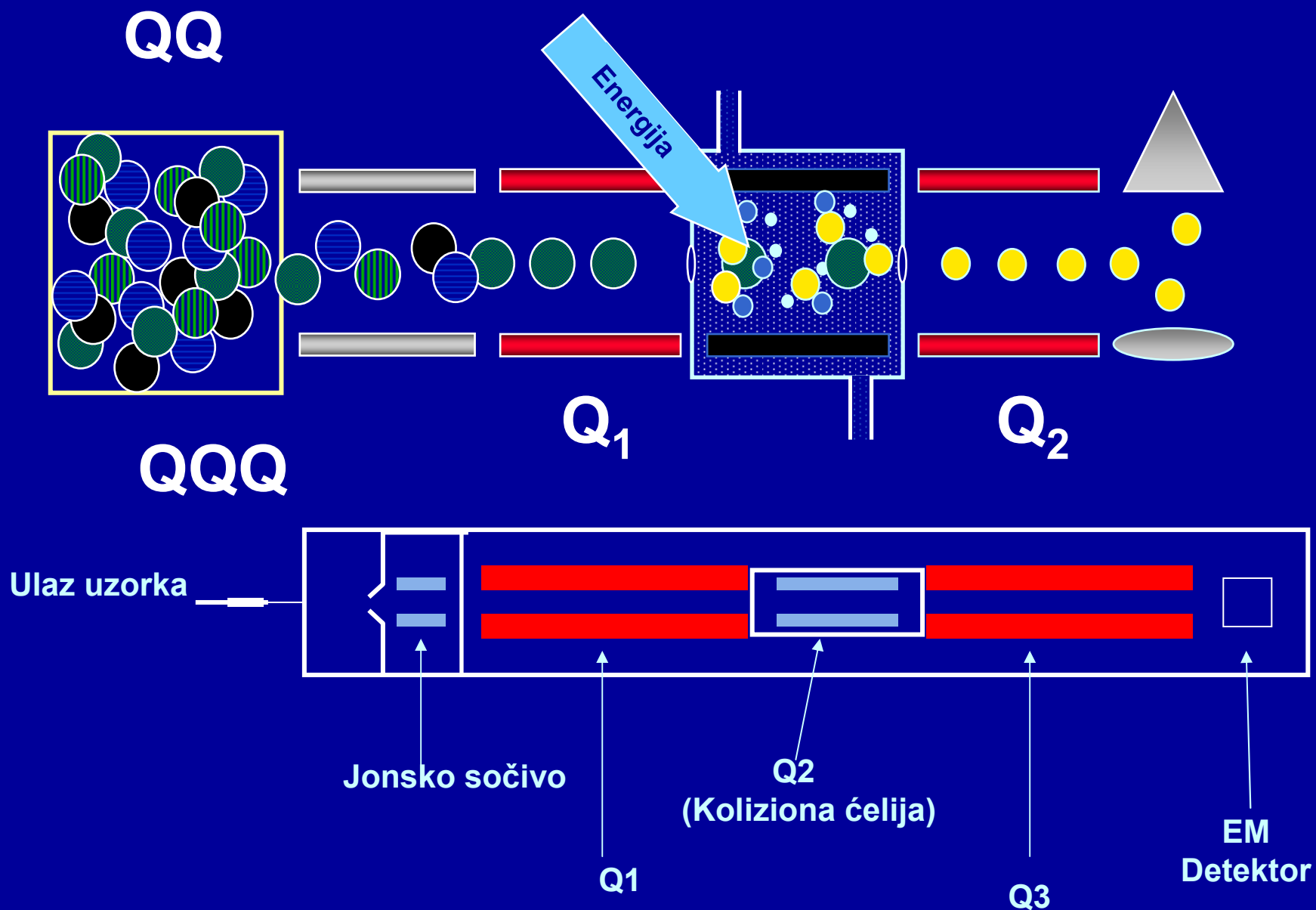


MS/MS-CID

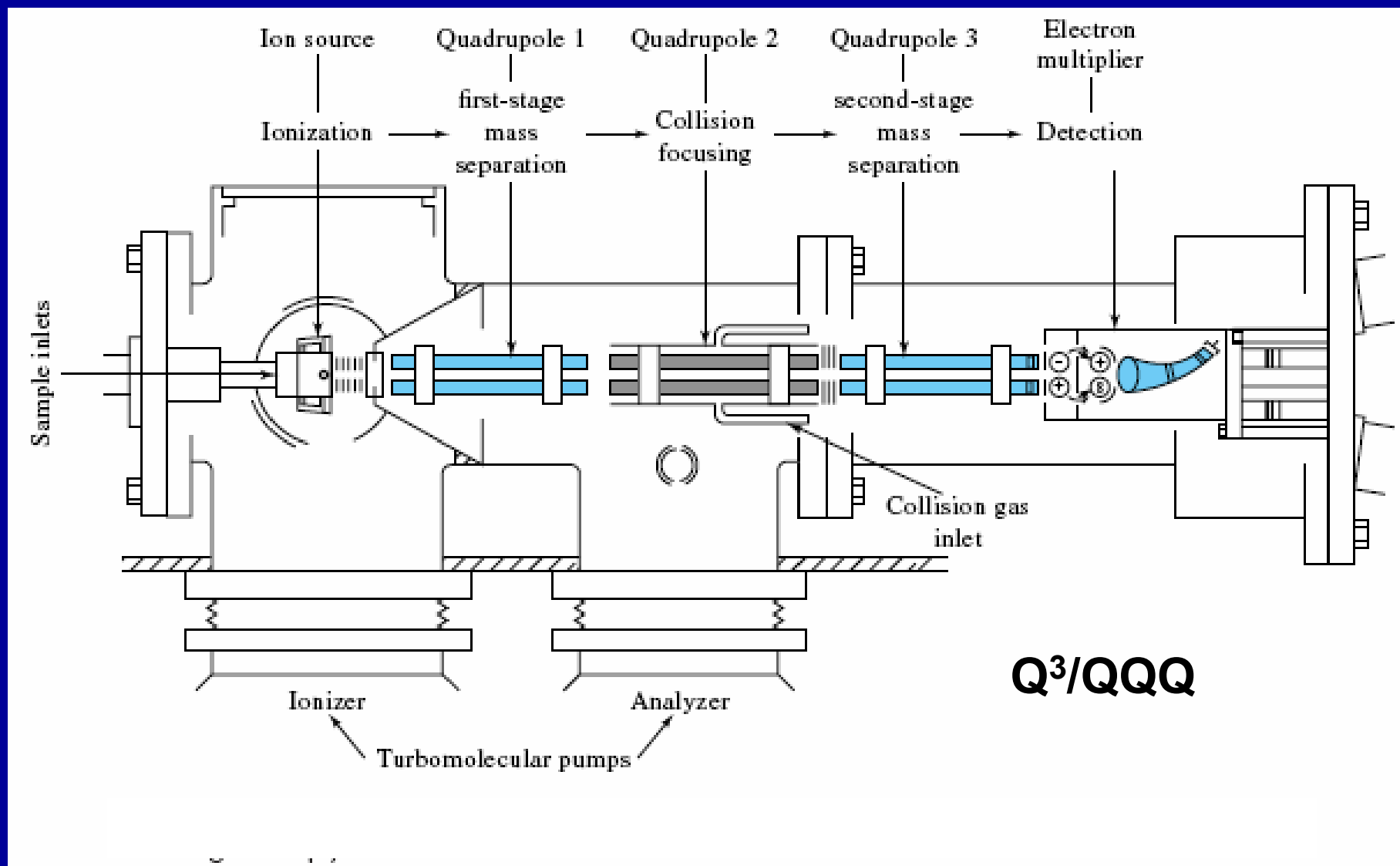
(Collision Induced Dissociation)



KVADRUPOLNI MS/MS (u prostoru):

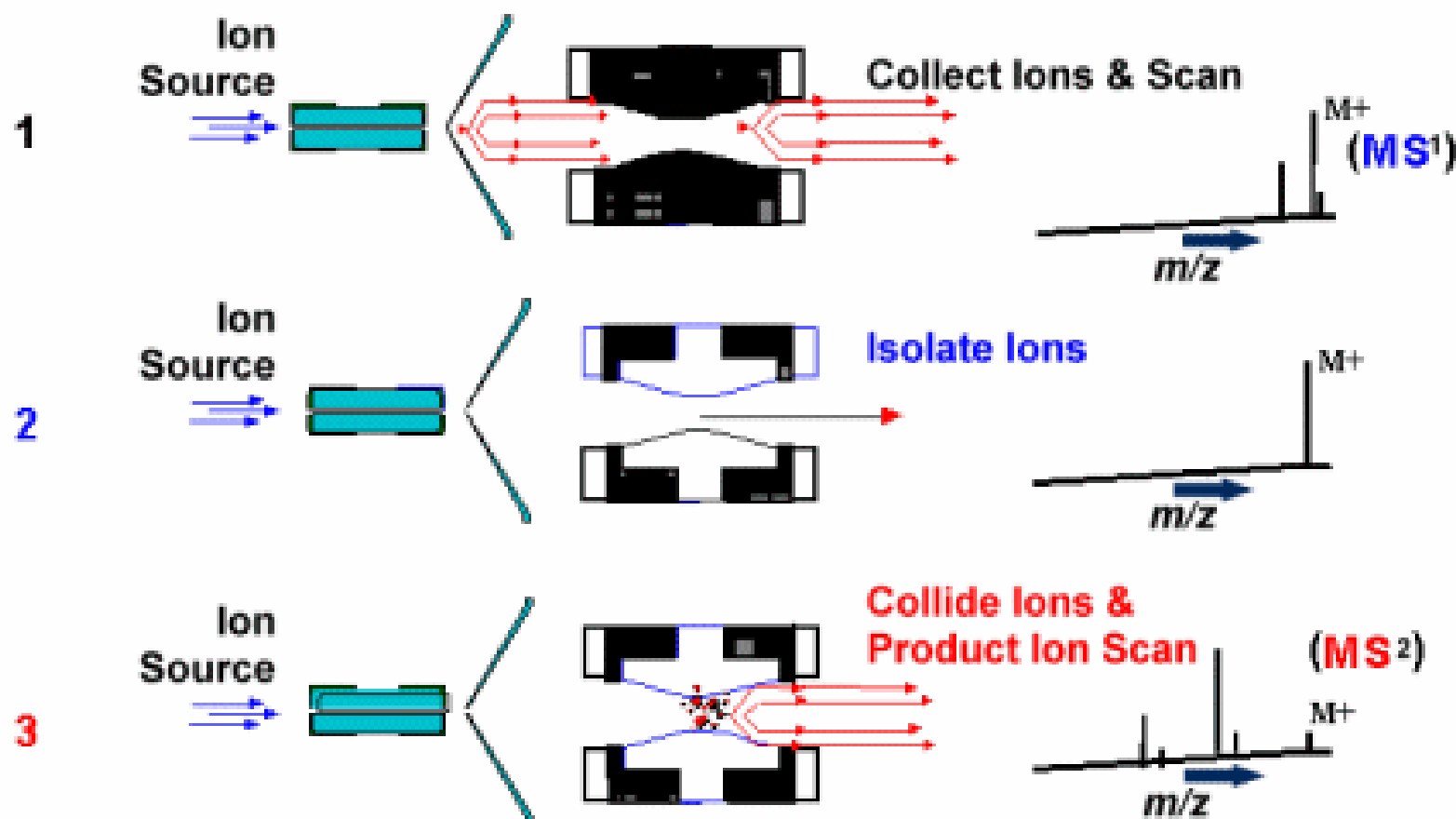


Tandem MS/MS u prostoru najčešće koriste magnetne(B), elektrostatičke(E) ili kvadрупolne (Q) analizatore



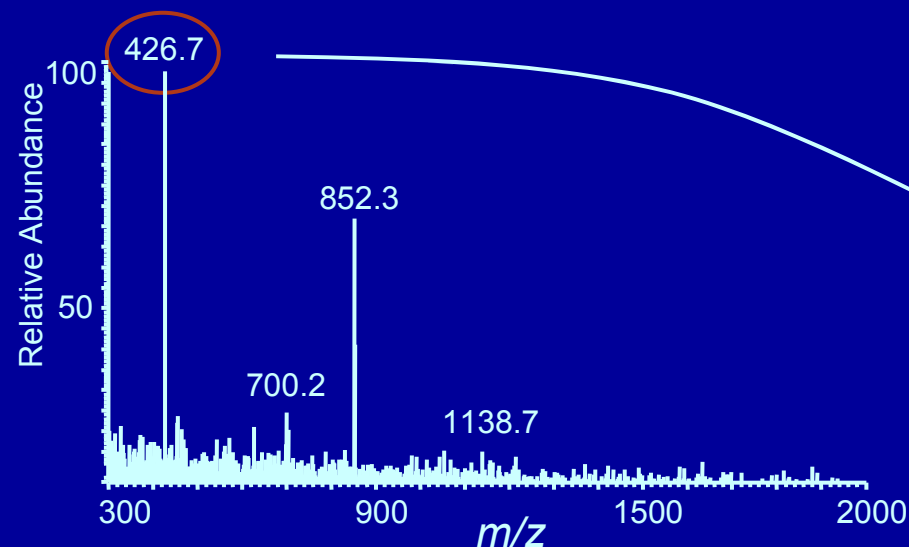
Tandem MS/MS u vremenu

Ion Trap MS



Tandem Masena spektrometrija sa jonskim trapom

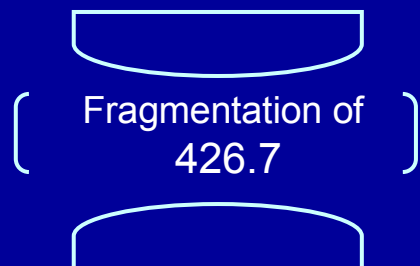
1) Meri se čitav spektar



2) Izoluje se roditeljski jon:
tj., prekursor m/z 426.7 ± 1.5

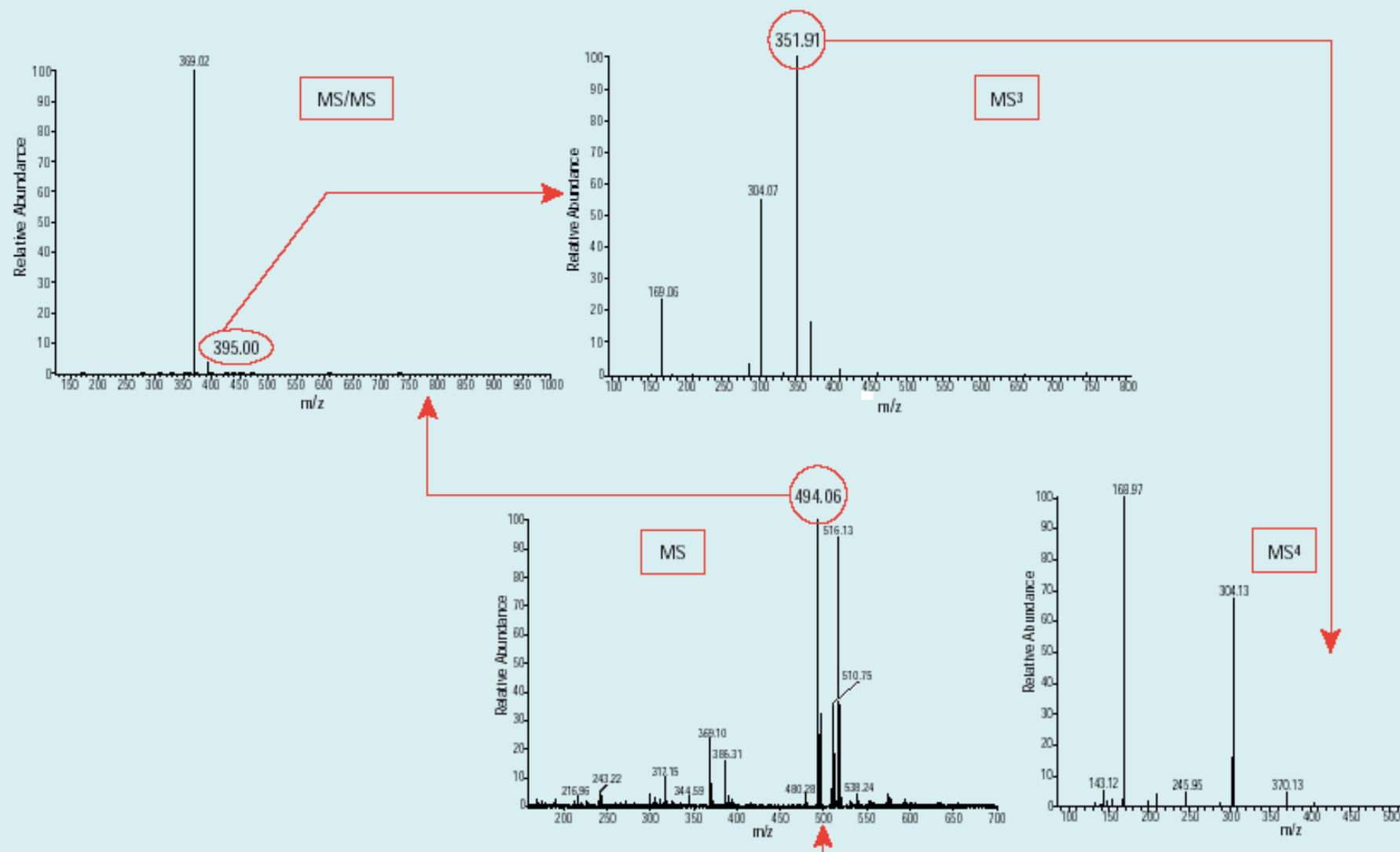


3) Dodaje mu se energija u sudarima



4) Meri se m/z of fragmentnih jona
[za peptide SLNVALR]

SLNVAL	R
SLNVA	LR
SLNV	ALR
SLN	VALR
SL	NVALR
S	LNVALR

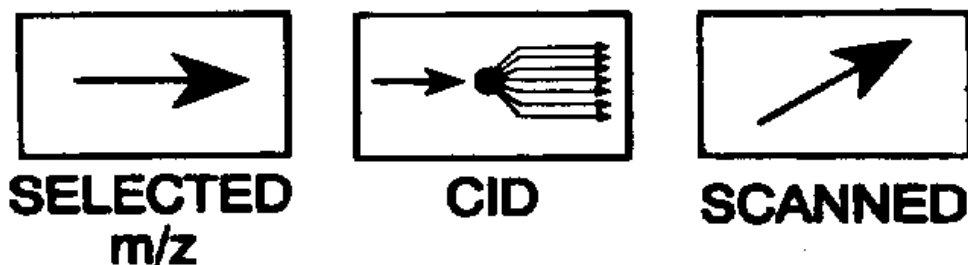


Načini aktivacije jona

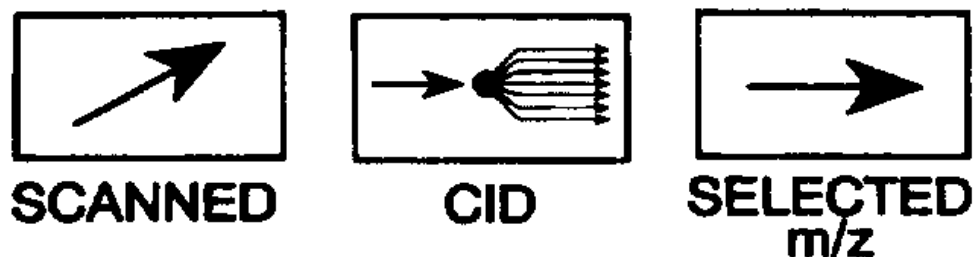
- **Disocijacija izazvana sudarima (CID/CAD)**
- Disocijacija izazvana sudarima sa površinom (SID)
- Disocijacija izazvana zahvatom elektrona (ECD, $<0,2\text{eV}$)
- Infracrvena multifotonska disocijacija (IRMPD)
- Disocijacija izazvana IR zračenjem crnog tela (BIRD)
- Disocijacija prenosom elektrona (ETD)



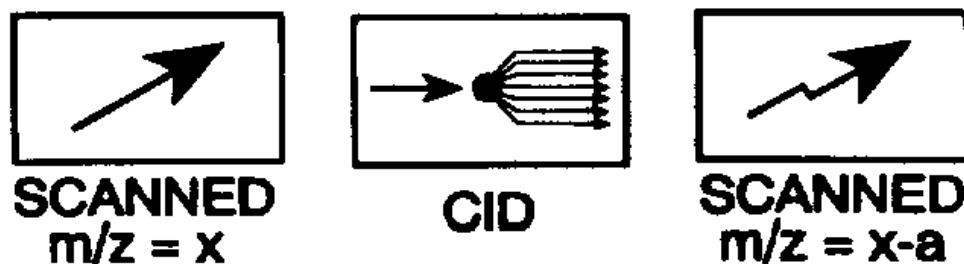
PRODUCT ION SCAN



PRECURSOR ION SCAN

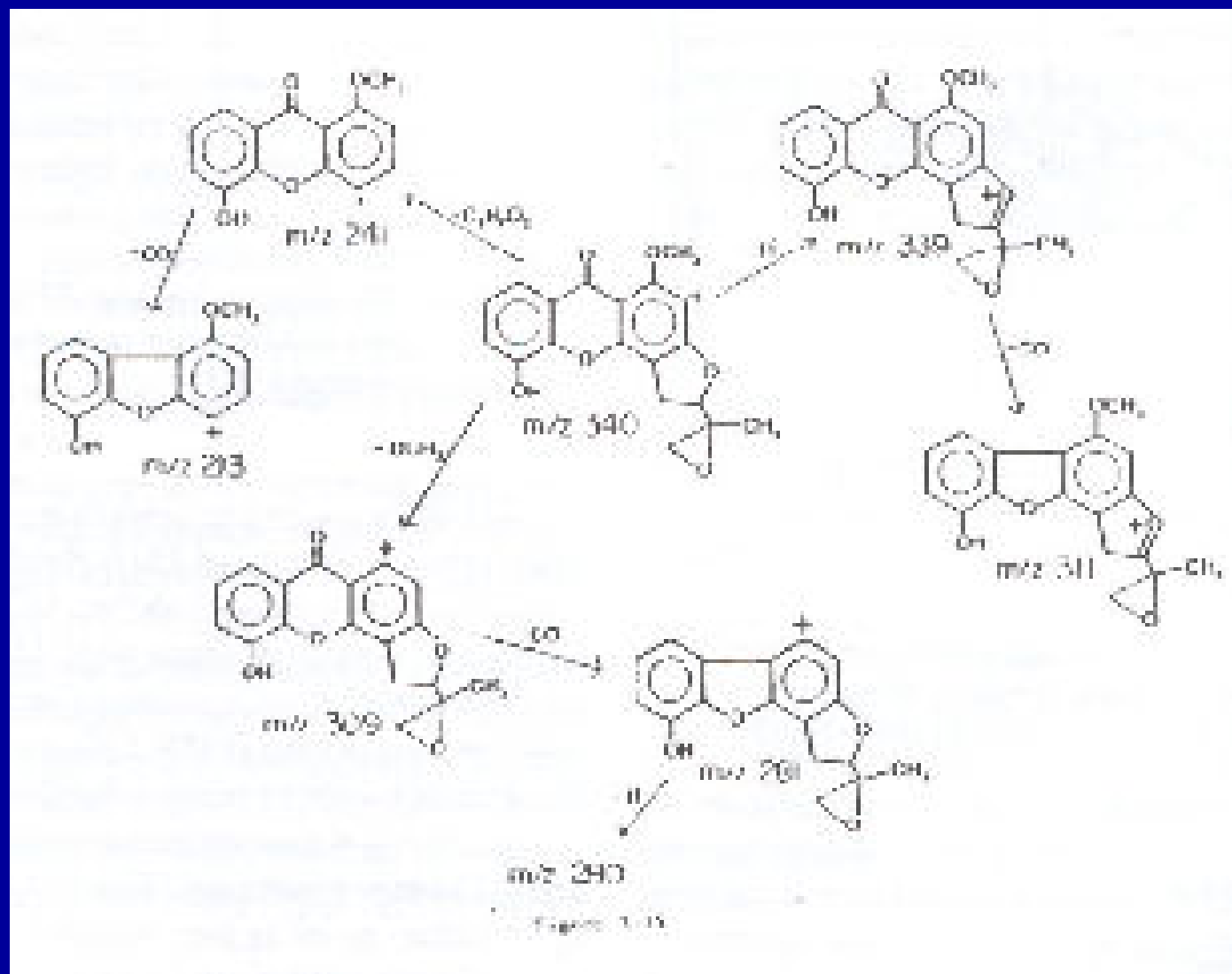


NEUTRAL LOSS SCAN

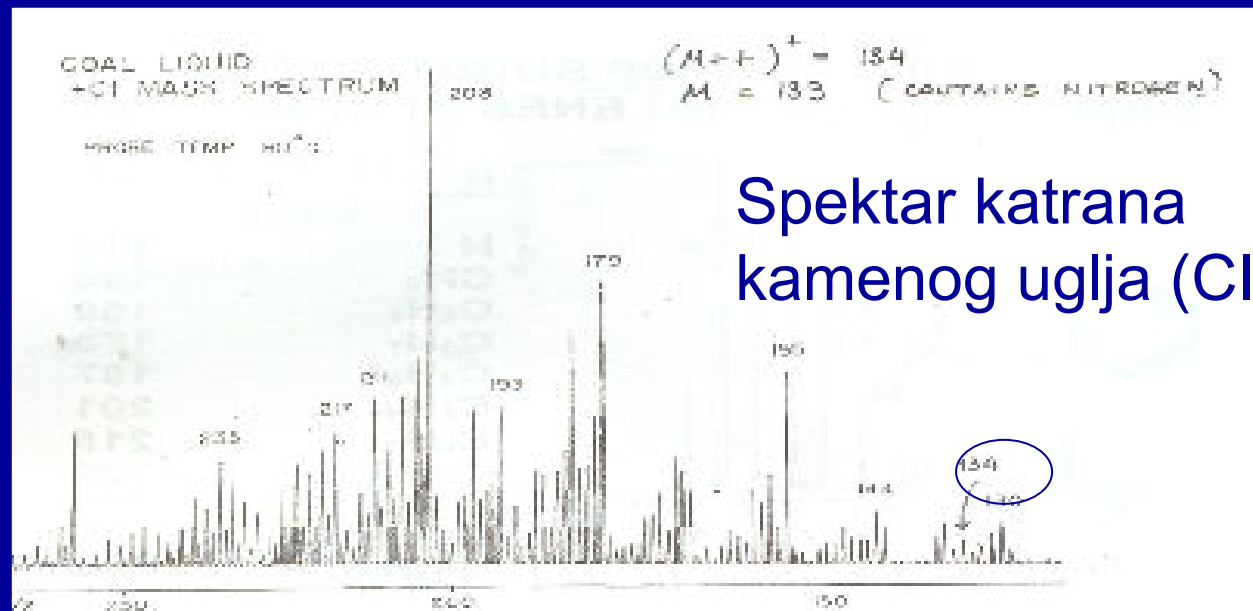


**Načini rada
u tandem MS
Uključuje
fiksiranje ili
skeniranje
Jednog ili
oba analizatora**

Product ion scan-analiza fragmenata odabranog jona

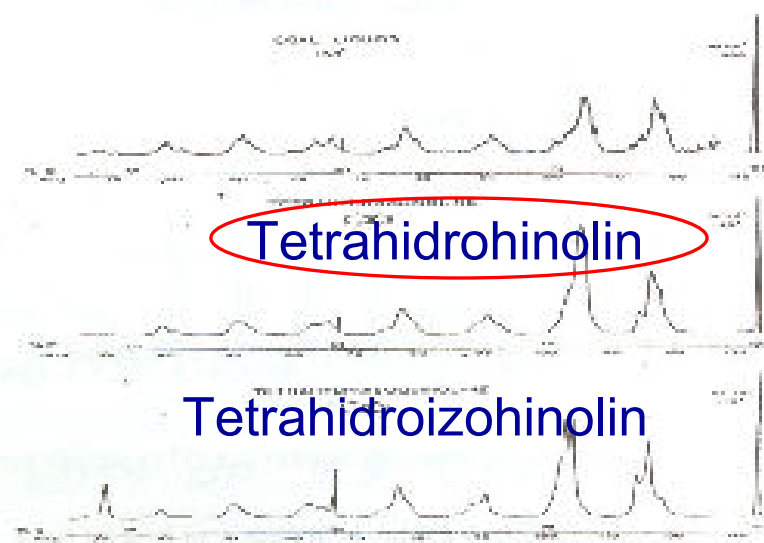


Shema fragmentacije jona psorospermina, m/z 340 je
Razjašnjena na osnovu spektra fragmentnih jona

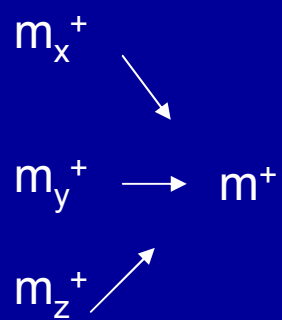


Analiza složenih smeša

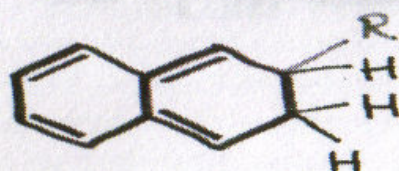
Uzorak se jonizuje nekom od mekih metoda i
Podešavanjem napona na M1 odabira željena komponenta koja se
dalje fragmentira i analizira u M2.
Identifikacija poređenjem sa spektrima iz biblioteke



Spektar matičnih (prekursorskih) jona se dobija fiksiranjem mase jona m^+ koju propušta M2, a skenira se analizator M1 tako da spektar prikazuje matične jone nastale fragmentacijom jona m^+



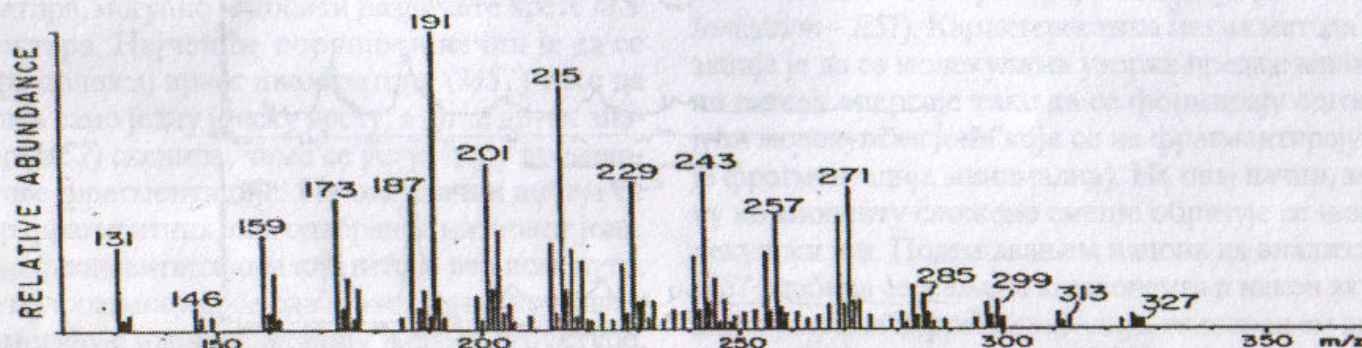
DETECTION OF SUBSTITUTED DIHYDRONAPHTHALENES IN COAL LIQUID



Protonisani dihidronaftalin, $C_{10}H_{10}^+$

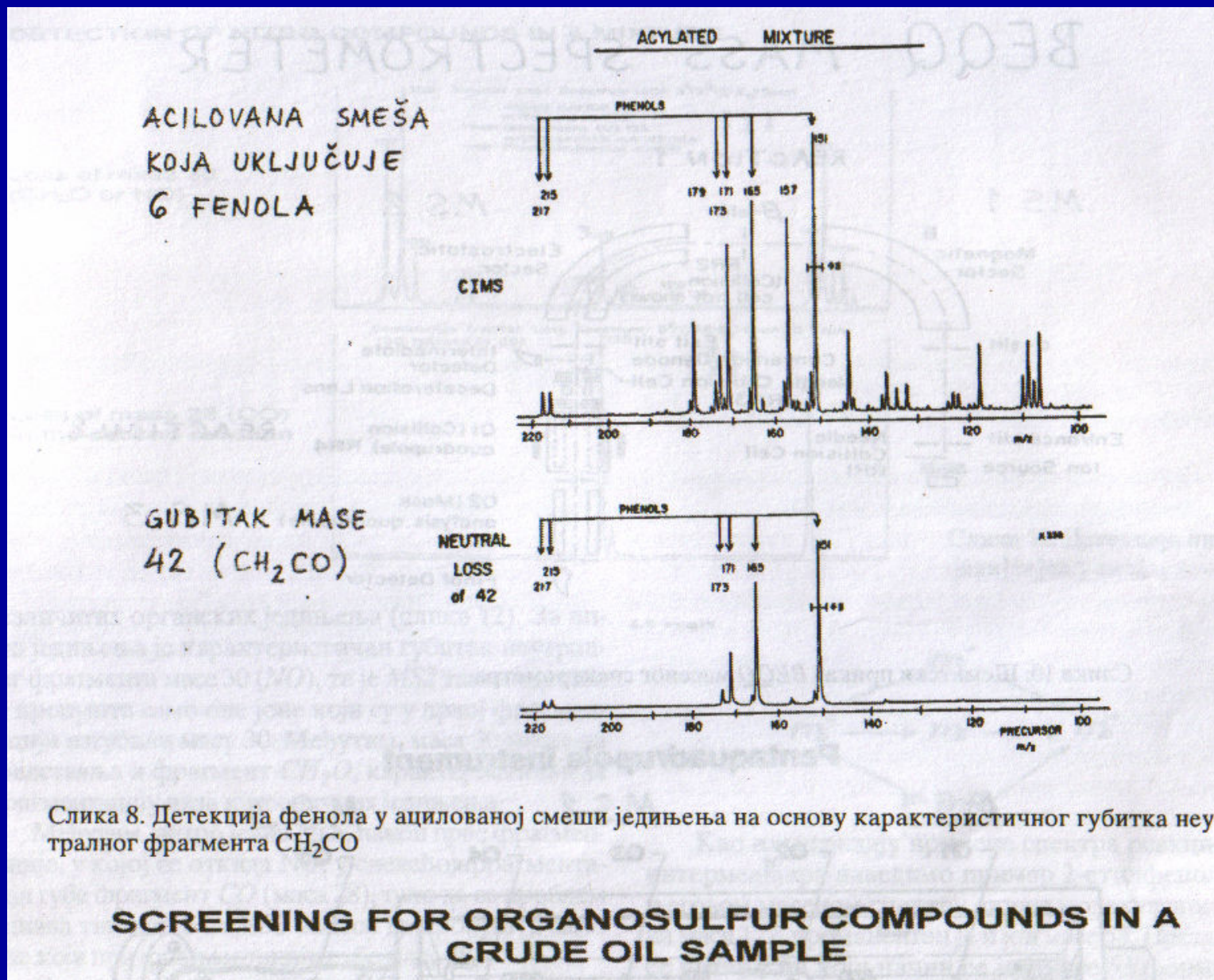
<u>R</u>	<u>m/z</u>
H	131
CH ₃	145
C ₂ H ₅	159
C ₃ H ₇	173
C ₄ H ₉	187
C ₅ H ₁₁	201
C ₆ H ₁₃	215
C ₇ H ₁₅	229
C ₈ H ₁₇	243
<hr/>	
C ₁₄ H ₂₉	327

PARENT SPECTRUM OF M/Z 131 COAL SAMPLE



Слика 7. Спектар матичних јона дихидронафталина (m/z 131) у узорку катрана каменог угља

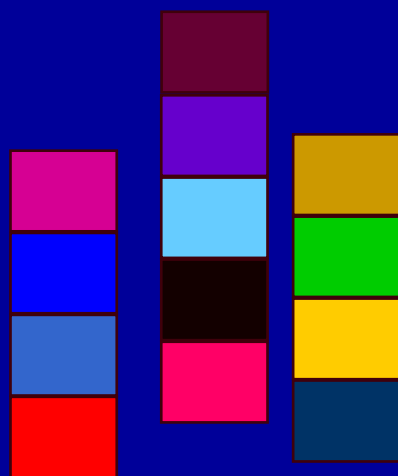
Skeniranjem oba analizatora ali tako da prvi propušta masu m_x^+ a drugi masu m_y^+ pri čemu je razlika između njih konstantna, može se izvršiti skrining na O, N ili sumpor u komponentama smeše.



Слика 8. Детекција фенола у ацилованој смеши једињења на основу карактеристичног губитка неутралног фрагмента CH_2CO

Šta je MS/MS?

Smeša peptida

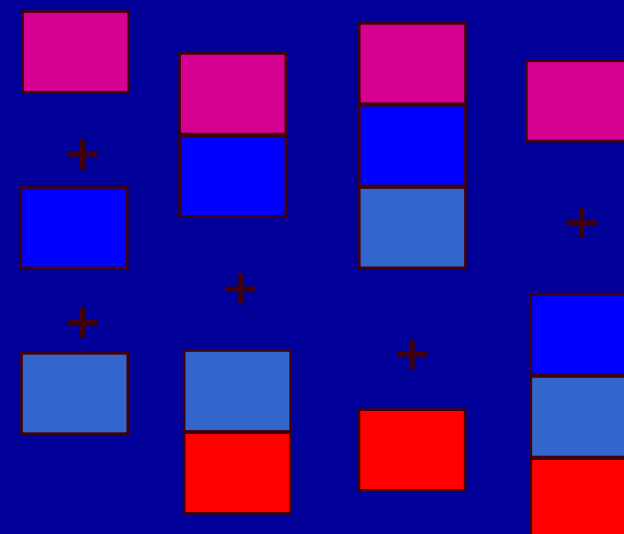


Imamo samo mase
za početak

1 peptide
izdvojen za
MS/MS



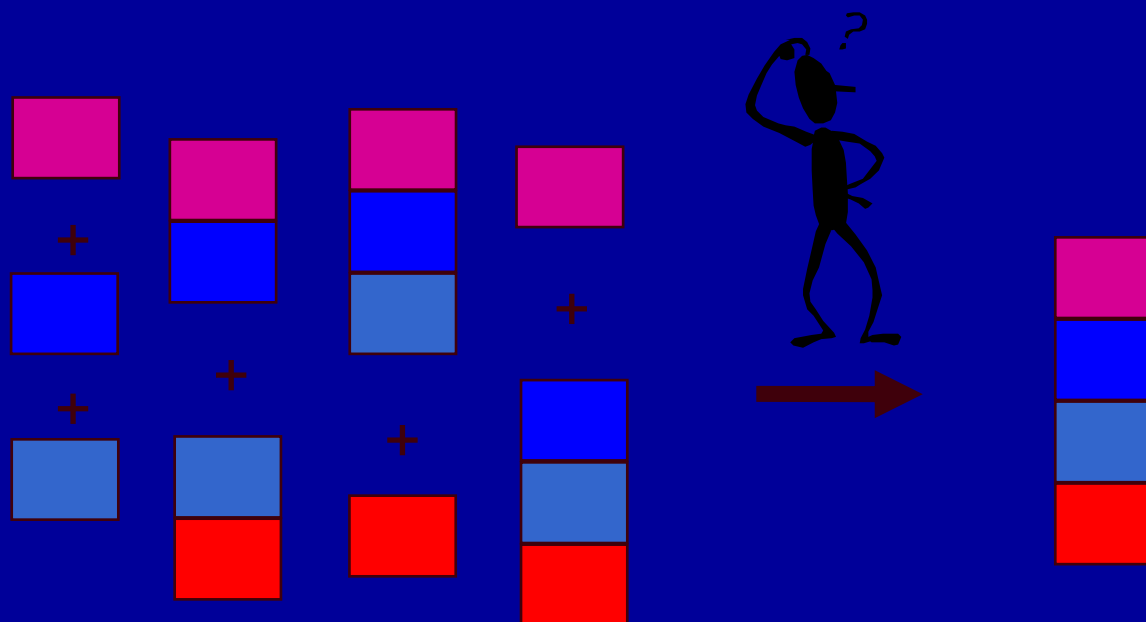
MS/MS



Mase svih
fragmenata daju
jedan MS/MS
spektar

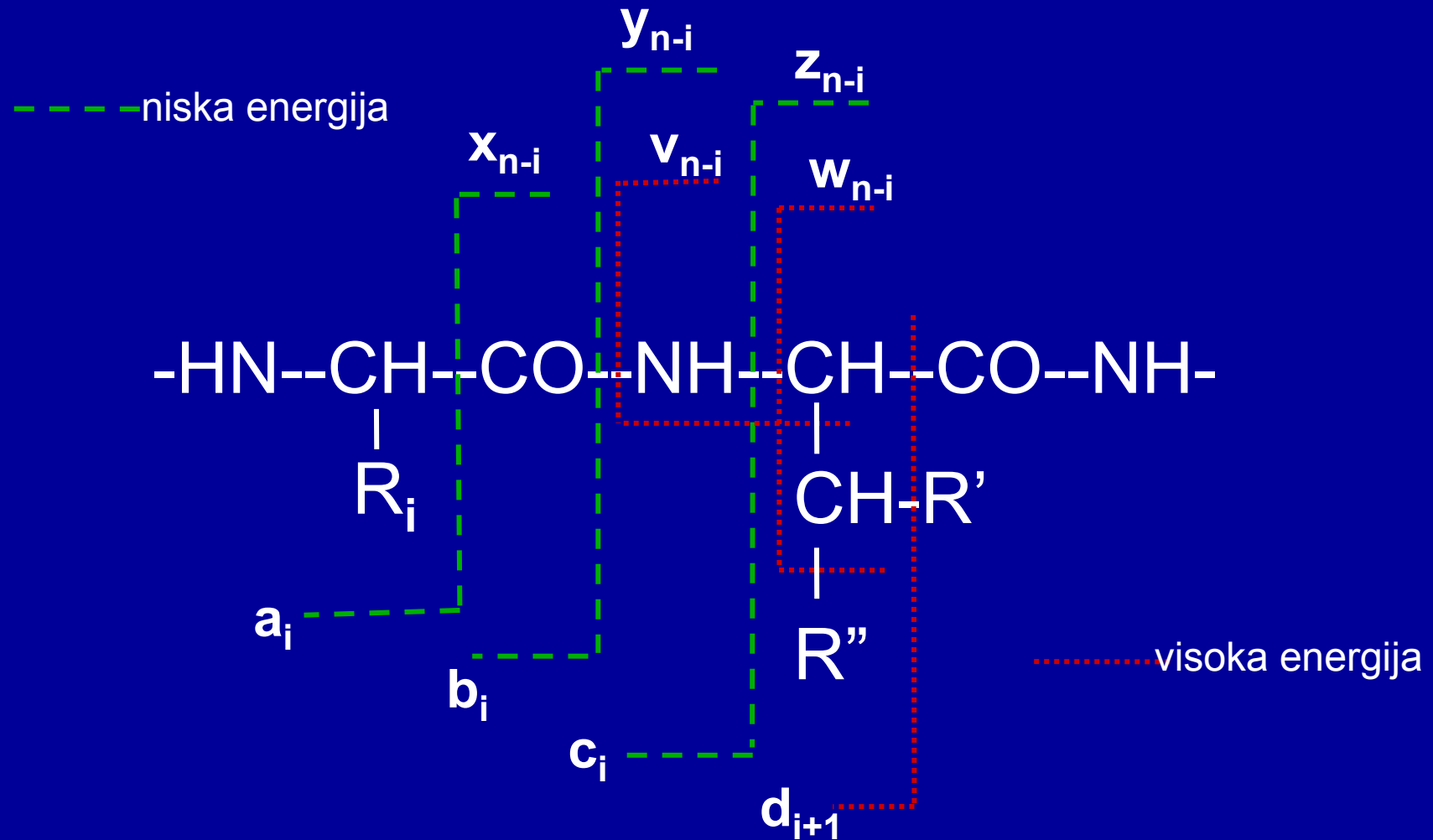
Interpretacija jednog MS/MS spektra

Dobijanje informacije o strukturi je analogno rešavanju pazla

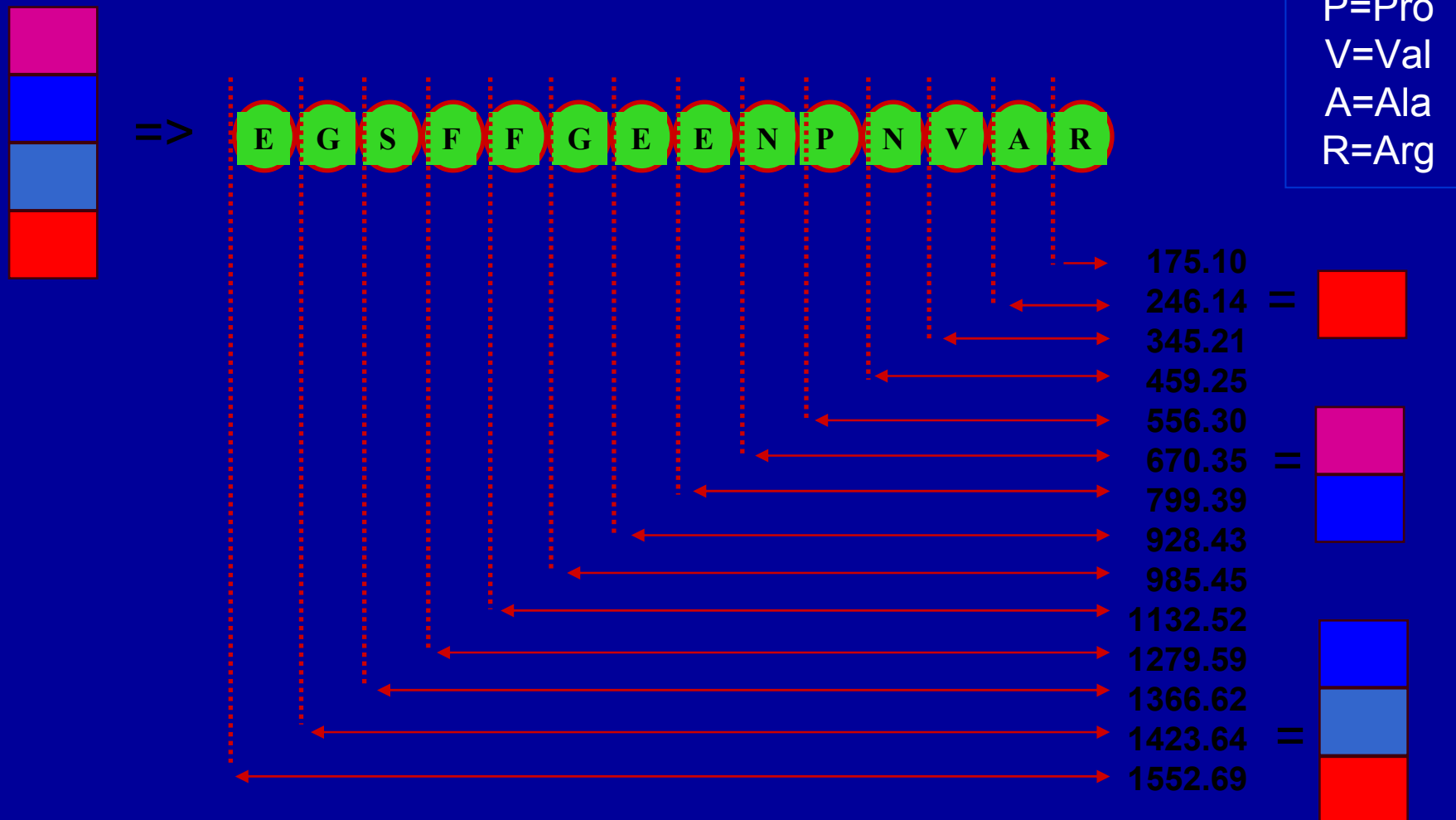


Koriste se mase fragmentnih jona kao delovi slagalice da bi se ponovo dobio roditeljski jon

Cepanje peptida u MS/MS



Fragmentacija peptida



Bioworks, Excalibur, SEQUEST, Mascot, In-house

Primena MS/MS

- Odredjivanje strukture molekulskog i fragmentnih jona
- Proučavanje mehanizma fragmentacije jona
- Direktna analiza smeša
- Skrining kompleksnih smeša na specifične sastojke
- Određivanje redosleda amino kiselina u peptidima

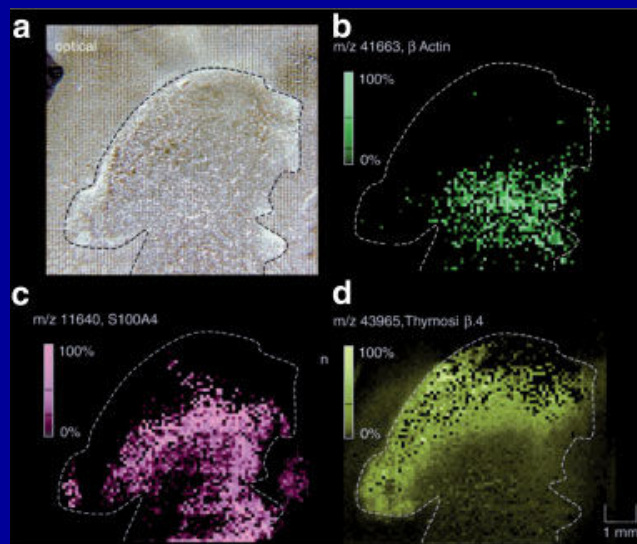
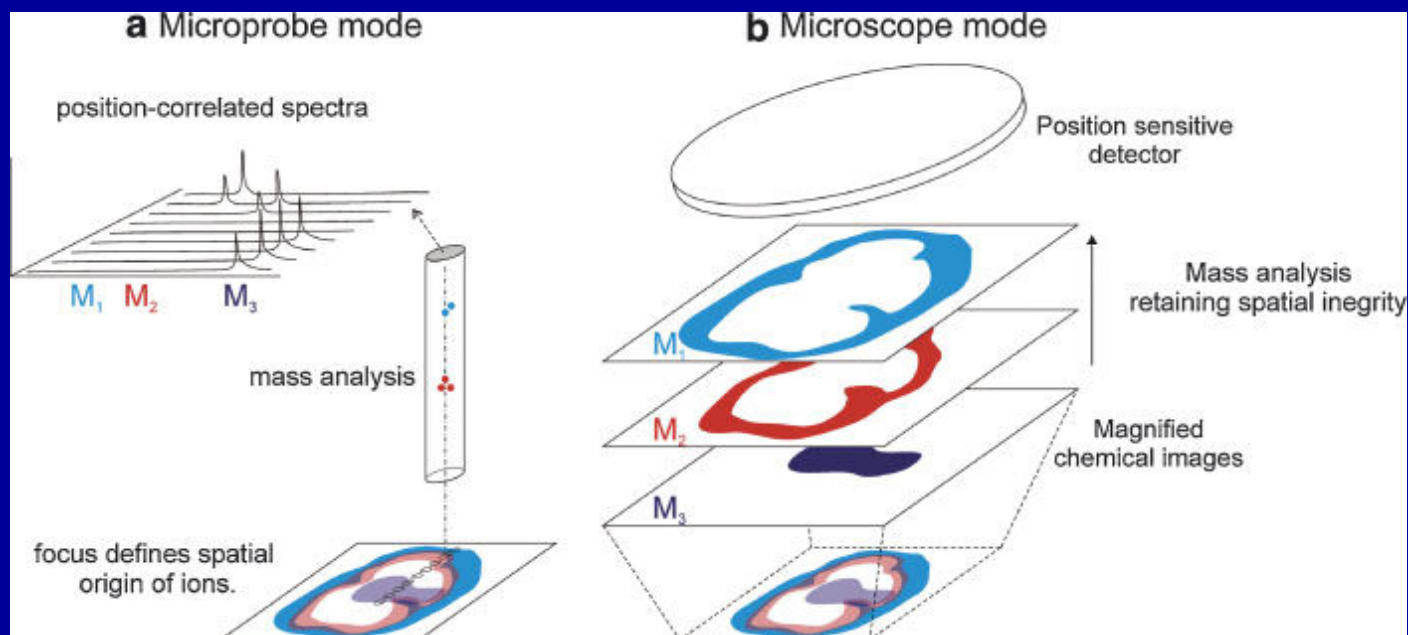
Primene masene spektrometrije

- Analiza u organskoj, neorganskoj i bioorganskoj hemiji
- Analiza geoloških uzoraka
- Kontrola u naftnoj, hemijskoj i farmaceutskoj industriji
- Analiza površina
- Zaštita okoline
 - Pesticidi u hrani
 - Zagađenje zemljišta, vazduha i voda
- Forenzička analiza/klinička
- Nauka o materijalima
- Analiza u farmaciji
 - Ispitivanje biološke aktivnosti
 - Metabolizam lekova, farmakokinetika
 - Karakterizacija potencijalnih lekova
 - Analiza produkata degradacije lekova
 - Praćenje kandidata za lekove
 - Identifikacija mesta i mehanizma delovanja lekova
- Biomolekulska karakteritacija
 - Proteini i peptidi
 - Oligonukleotidi

Omiks tehnologija i MS-rana dijagnostika kancera

- Veliki broj „**omiks**“ tehnika je razvijen imajući u vidu jedna cilj: otkrivanje biomarkera i rana dijagnostika kancera.
- **Proteomiks** tehnologija je identifikacija proteina ili proteinski fragment produkovanih od strane ćelije kancera ili njenog mikrookruženja koji mogu difundovati u cirkulaciju, a njihove koncentracije su merljive sa MS
- **Peptidomiks** se može definisati kao vizualizacija i identifikacija svih peptida ćelije ili tkiva
- **Metabolomiks** predstavlja krajnje stanje svih molekulskih doganaja u određenom tkivu: varijacija gena (genomiks), ekspresija i modifikacija proteina (proteomiks) i međusobne interakcije.

Mapiranje pomoću MS



Slika proteina u glioblastomu