



# Masena spektrometrija- savremeni trendovi

Doktorske studije-  
Nove fizičkohemijske metode

Maj 2018

Ivana Holclajtner-Antunović

Uvod

Jonski izvor:

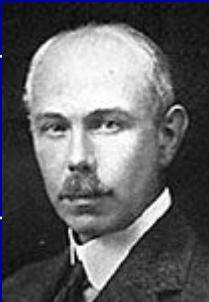
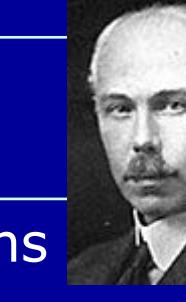
- SIMS-Masena spektrometrija sa sekundarnim jonima
- SALDI

Analizatori:

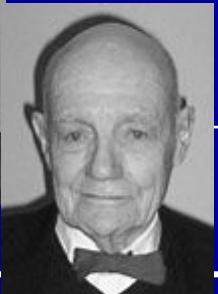
- Jonski trap-kvistor
- Jon ciklotron rezonancija - ICR i FT ICR

Tandem masena spektrometrija

Primena

Istraživač	Doprinos	Nobelova nagrada
<b>Thomson</b>	 1897 otkriće elektrona i 1912 prvi maseni spektar	1906 Fizika
Dempster	 1918 jinizacija elektronima i fokusiranje magnetom	
<b>Aston</b>	 1919 određivanje 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	
<b>Paul and Steinwedel</b>	 1953 Quadrupolni analizatori	1989 Fizika
Beynon	 1956 MS visoke rezolucije	

Istrživač	Doprinos	Nobelova nagrada
Munson i Field	1966 Hemijska jonizacija	
Dole	1968 <b>Elektrosprej (ESI)</b>	
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 <b>Bombardovanje brzim atomima (FAB)</b>	
Tanaka, Karas, i Hillenkamp	1983 <b>Desorpcija laserom iz matrice (MALDI)</b>	2002 Hemija
Fenn	1984 ESI za biomolekule	2002 Hemija

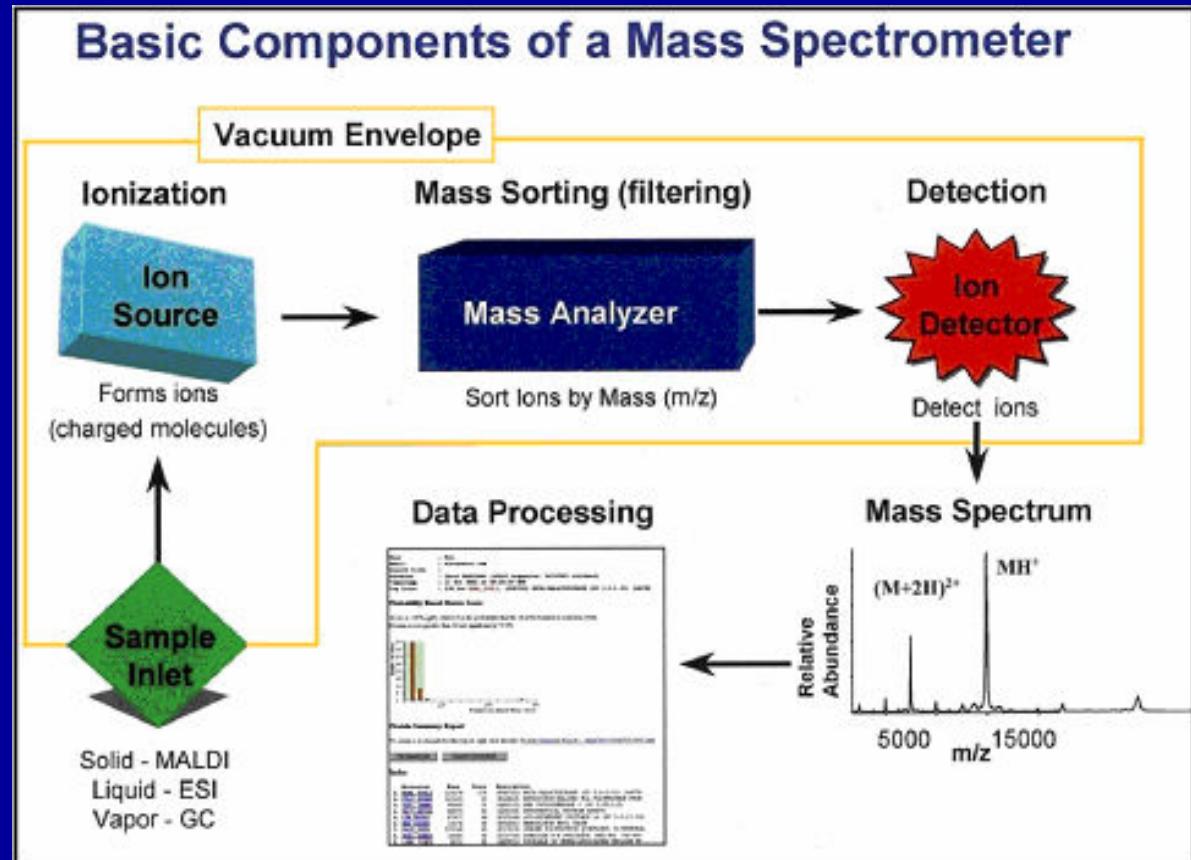


Nove “meke” tehnike jonizacije FAB, ESI i  
**MALDI** su omogućile ispitivanje:

- biomolekula (proteina, peptida, ugljenih hidrata, oligonukleida, metabolita i lekova kao i bioloških fluida)
- informacije o strukturi gigantskih molekula
- minimalna pripremom uzoraka
- granice detekcije od pikomola do femtomola
- preciznost određivanja molarne mase reda  $\pm 0,01\%$

# 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

# Jonizacione 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.

## Methode u gasnoj fazi

- Electronska jonizacija (EI)
- Hemijska jonizacija (CI)

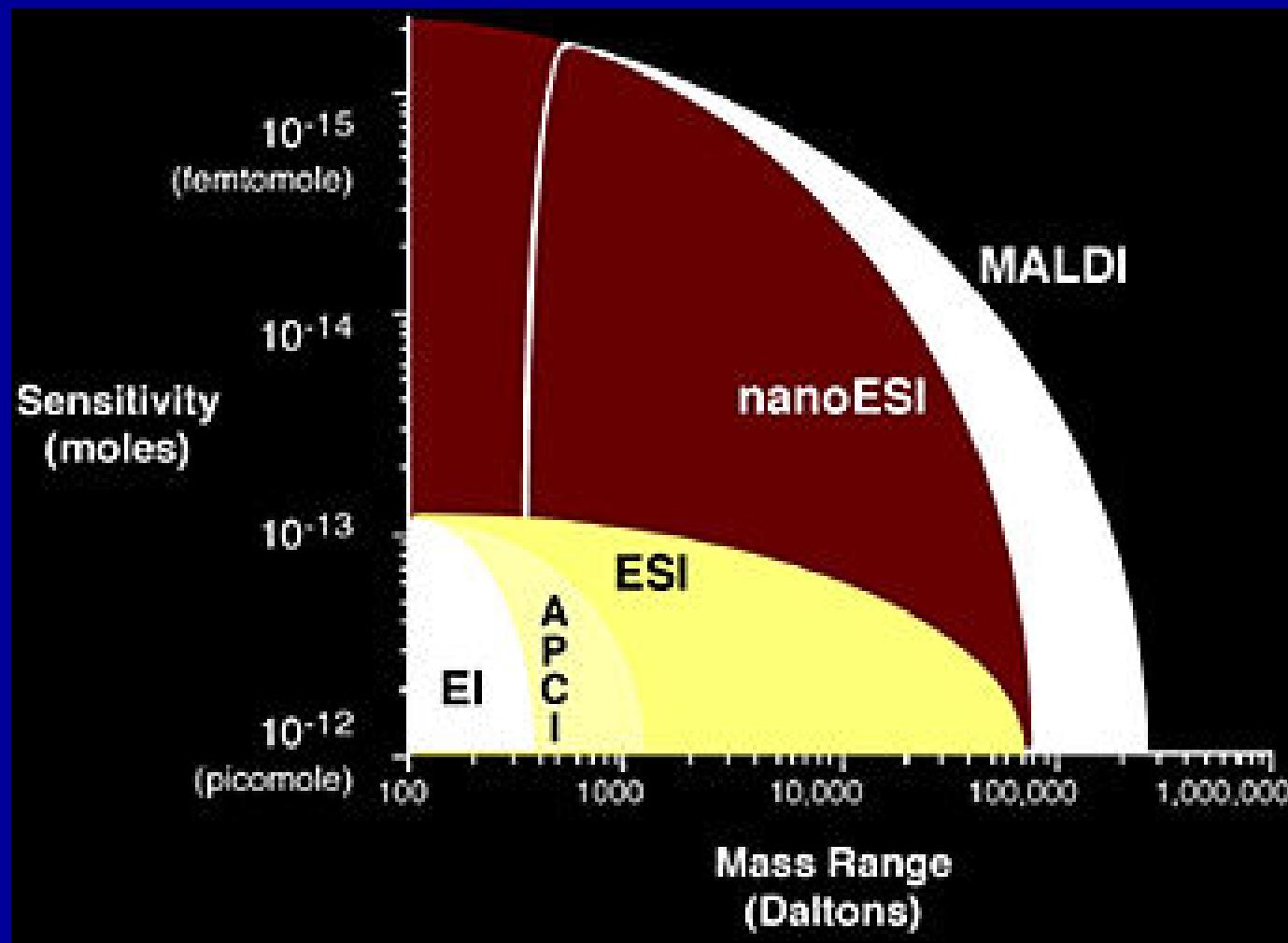
## Desorpcioni izvori

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

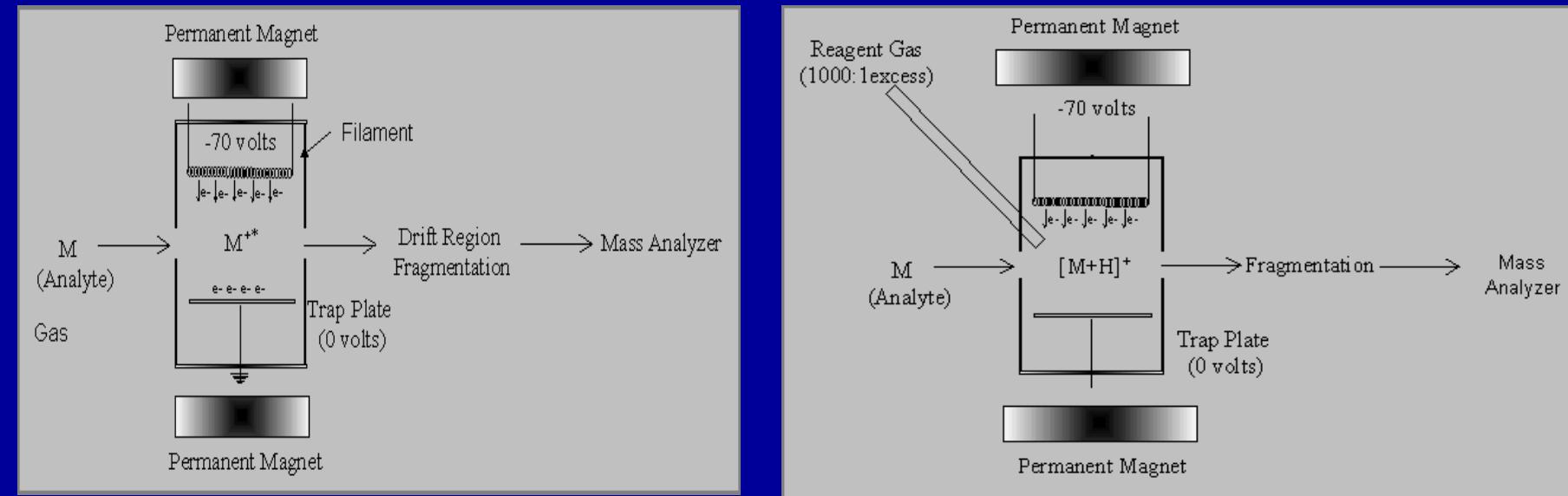
## Aerosol rastvora (Spray Methods)

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

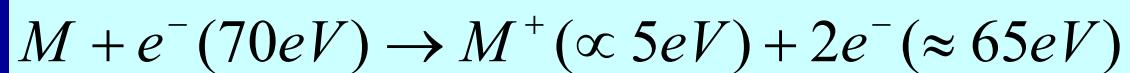
## Poređenje granica detekcije i oblasti masa koje se mogu postići različitim metodama jonizacije



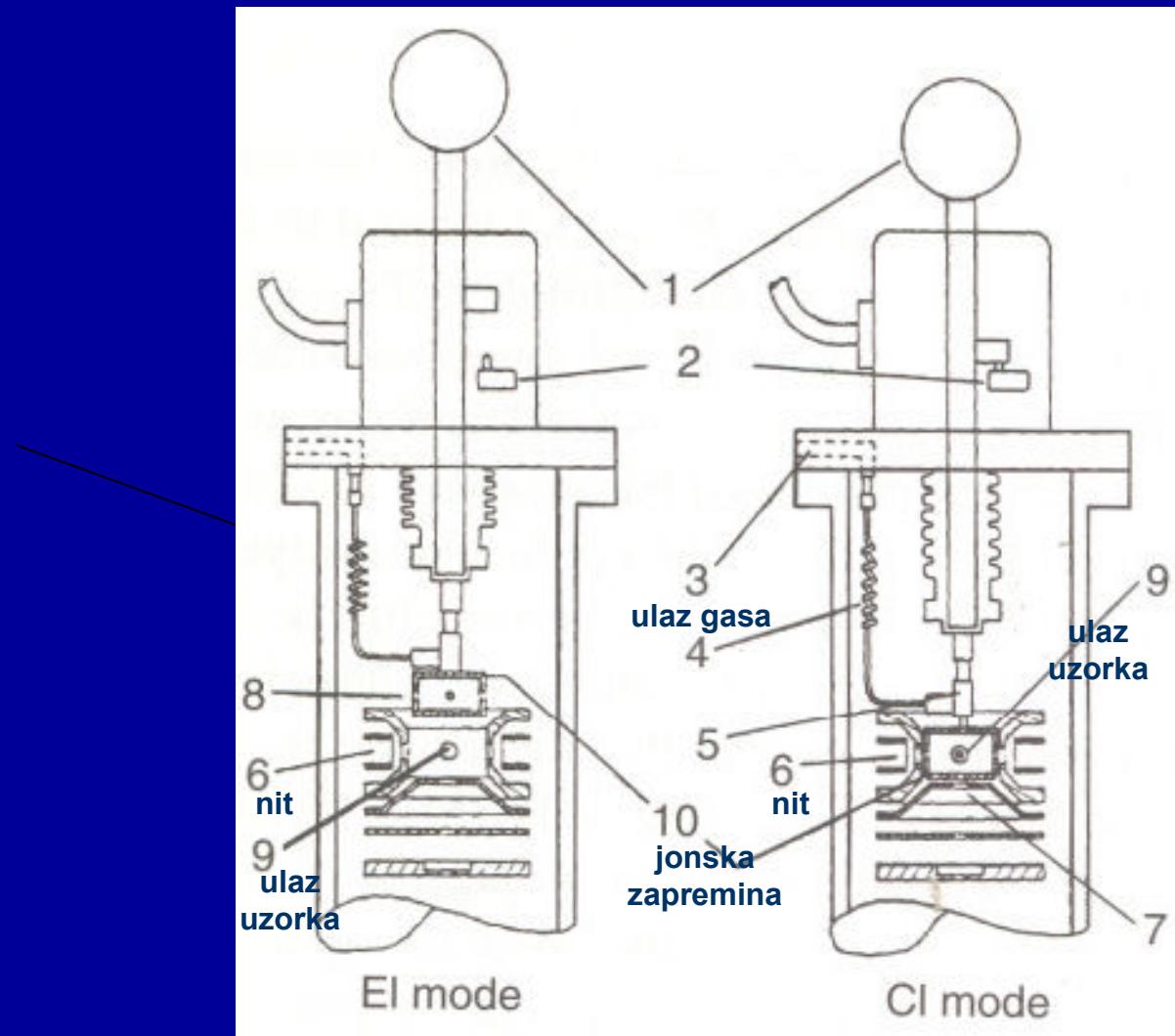
# Elektronska i hemijska jonizacija



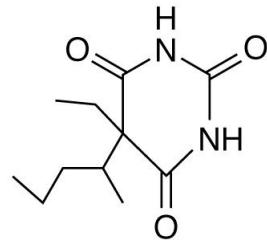
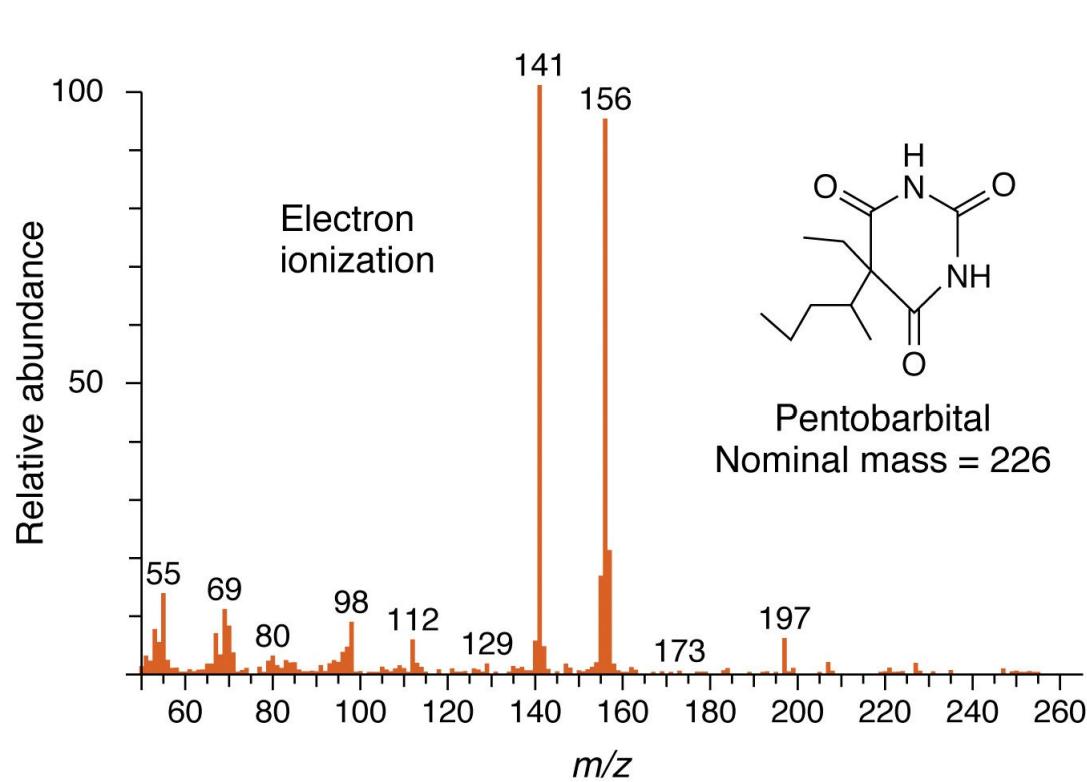
EI igra važnu ulogu u rutinskim analizama malih organskih molekula.



**Kod polarnih molekula nastaju aduktni joni**  $\text{M} + \text{CH}_3^+ \rightarrow (\text{M} + \text{CH}_3)^+$

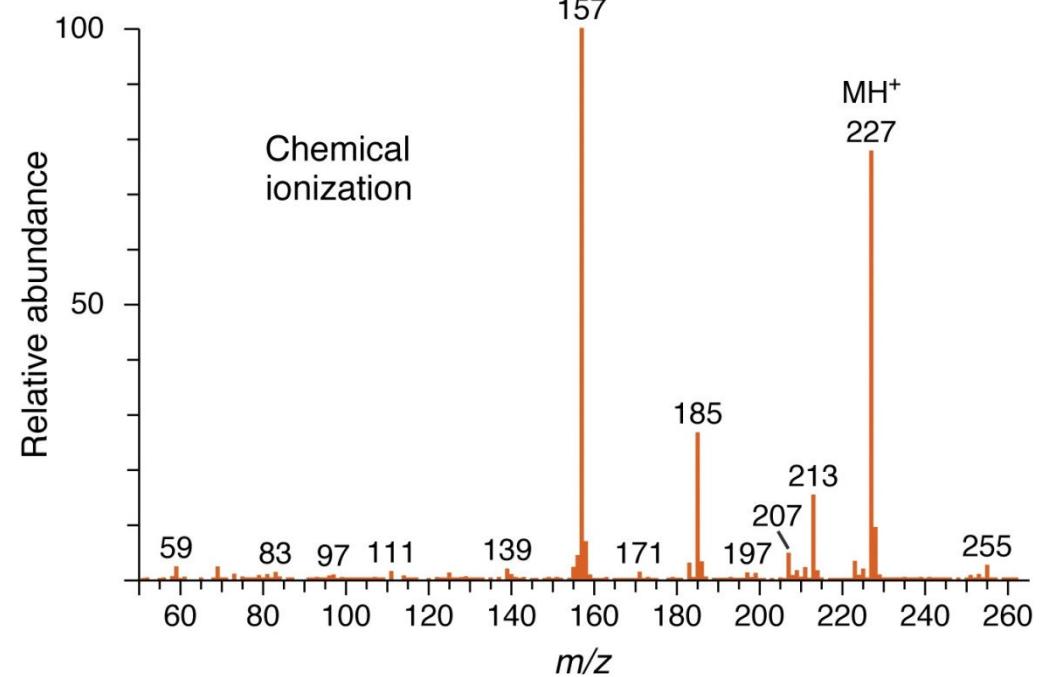


U kutiji se održava pritisak od 60 Pa,  
dok je okolo pritisak u izvoru oko  $10^{-3}$ Pa.



Pentobarbital  
Nominal mass = 226

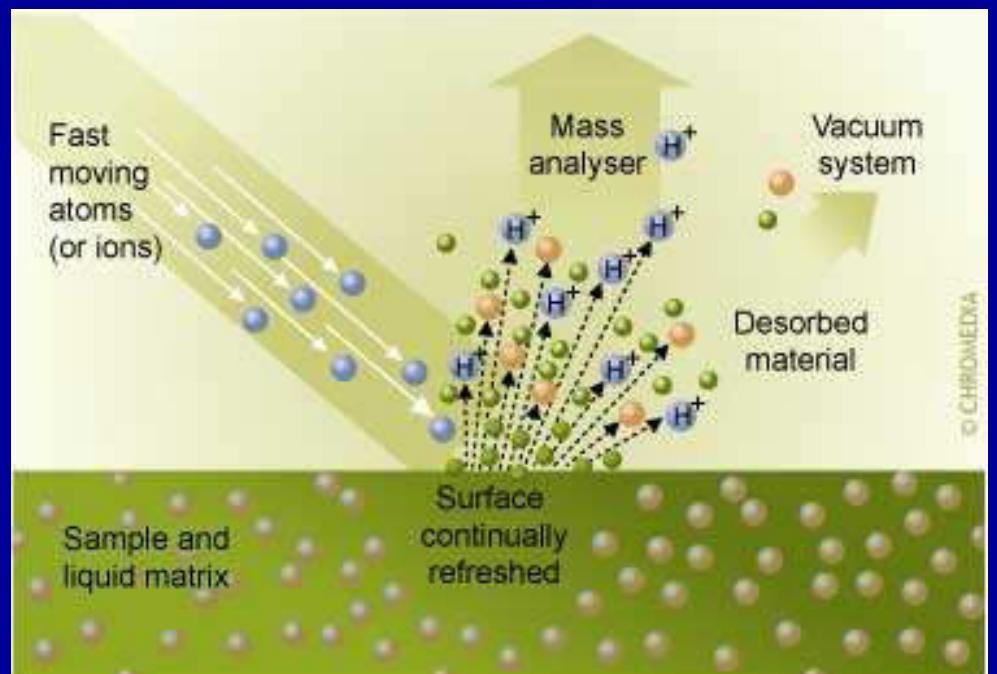
## Poređenje spektra dobijenog EI i CI



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

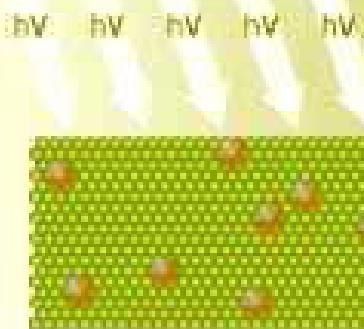
## Brzo atomsko/jonsko bombardovanje- FAB i FIB

FAB zahteva direktno unošenje probe u jonski izvor i korišćenje visokoenergetskih snopova **Xe atoma, jona Cs<sup>+</sup> ili masivnih glicerol-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> klastere (MCI)** da bi se raspršavali (spaterovali) uzorak i matriks sa površine probe (**m-nitrobenzil alkohol (NBA) i glicerol**).

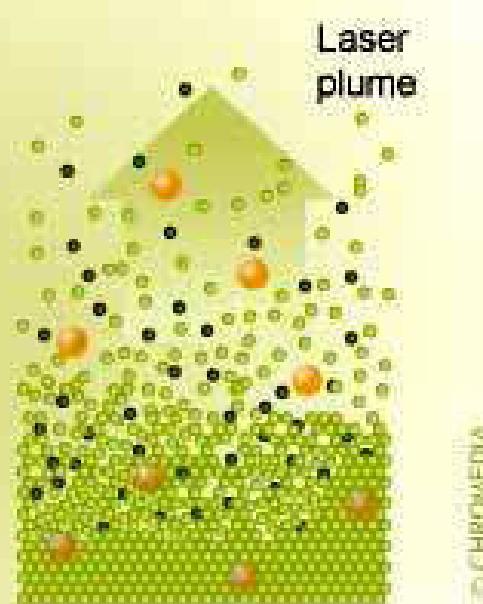


# MALDI-Laserska desorpcija/jonizacija potpomognuta matriksom

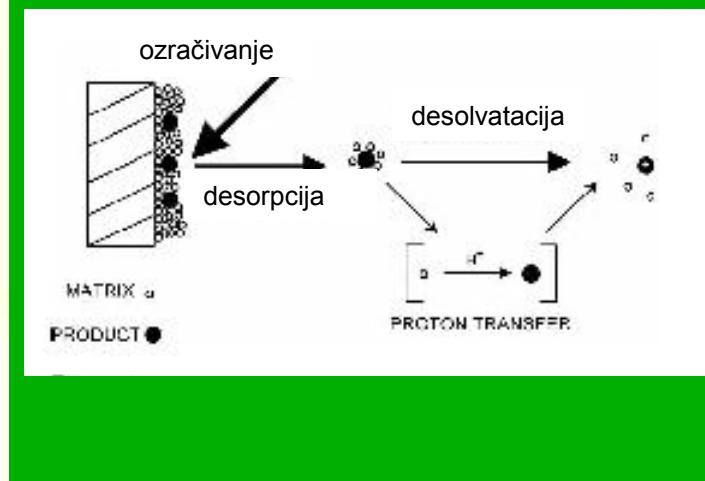
- Analyte molecule
- Matrix
- Excited matrix



Before laser desorption



After laser desorption



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

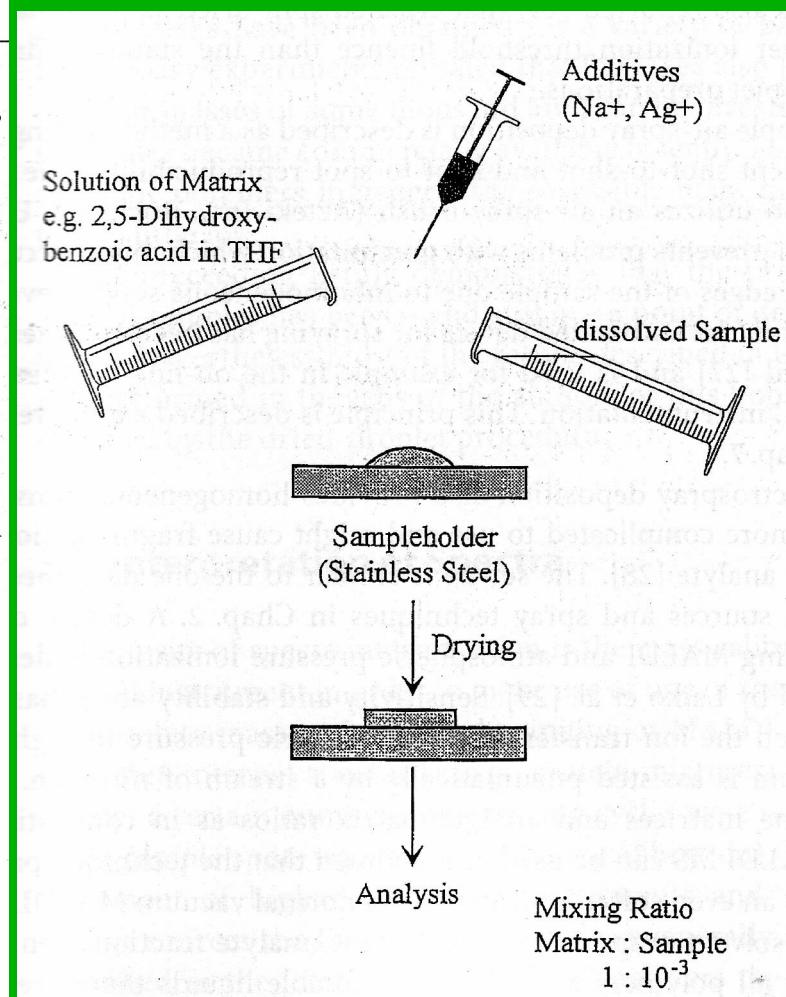
Type of laser	Wavelength (nm)	Pulse Width (nsec)	Photon Energy kcal/mol eV
Nitrogen	337	>1	85 3.68
Nd:YAG (4x)	266	5	107 4.66
Excimer (ArF)	193	15	148 6.42
CO <sub>2</sub>	10,600	100	2.7 0.12



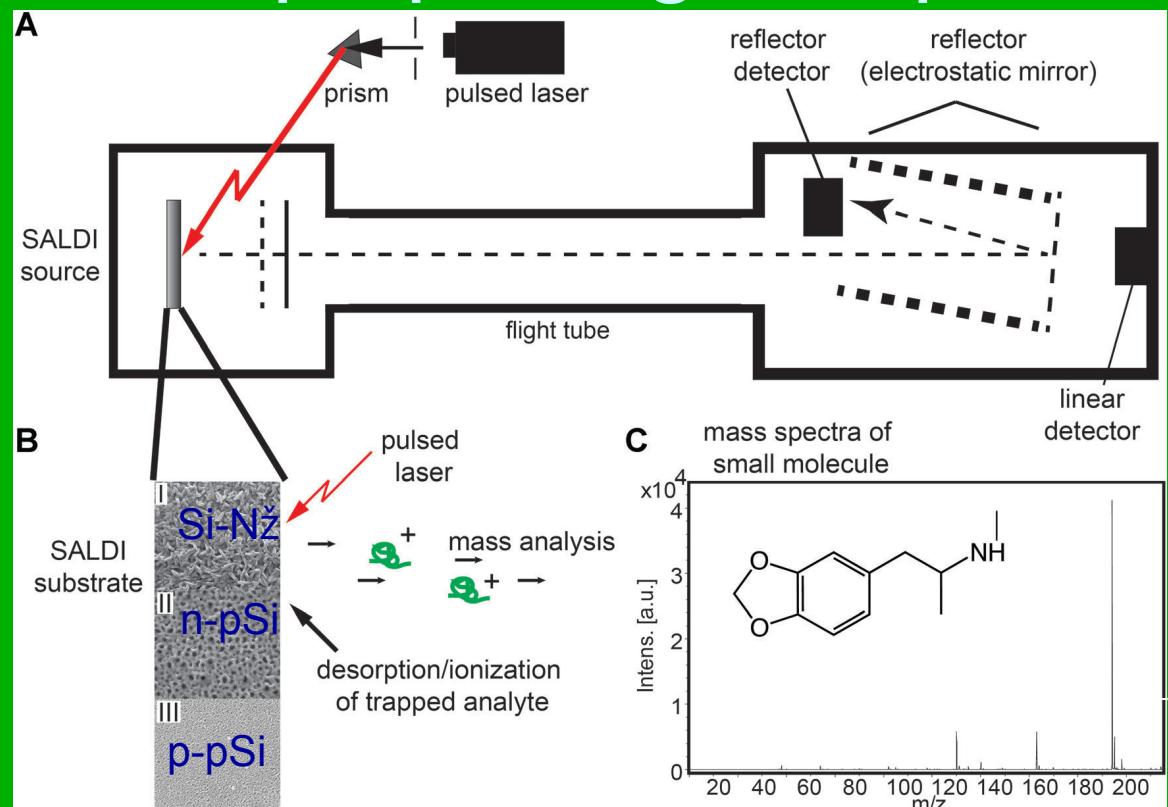
# Najčešće koričćeni matriksi

Matrix	MW	Name	Structure	Solubility
Dithranol	226.23	1,8,9-Trihydroxy-anthracene		+ : HFIP, THF, DMF, xylene, DMA, toluene, Cl-benzene, NMP, CHCl <sub>3</sub> , 0 : acetone, DMSO, hexane, EtOH - : ACN, H <sub>2</sub> O, HCOOH
HBM	170.05	4-Hydroxy-benzylidene malonitrile		+ : THF, DMA, EtOH, HFIP 0 : H <sub>2</sub> O
CCA	189.17	$\alpha$ -Cyano-4-hydroxy cinnamic acid		+ : THF, DMF, EtOH, DMA, acetone 0 : xylene, toluene - : H <sub>2</sub> O, HFIP, Cl-benzene
NA	223.23	9-Nitroanthracene		+ : toluene, THF, DMF, ACN, DMA, CHCl <sub>3</sub> , DMSO, NMP, Cl-benzene, 0 : hexane, HFIP, EtOH, MeOH - : H <sub>2</sub> O, HCOOH
HABA	242.23	2-(4-Hydroxy-phenylazo) benzoic acid		+ : THF, acetone, DMF, NaOH, NMP 0 : EtOH, HFIP - : CHCl <sub>3</sub> , toluene, hexane, H <sub>2</sub> O, ACN, HCOOH, xylene
DHB	154.13	2,5-Dihydroxy benzoic acid		+ : THF, acetone, DMF, EtOH, NaOH, NMP, H <sub>2</sub> O/ACN 1:1 0 : H <sub>2</sub> O, HFIP, toluene - : CHCl <sub>3</sub> , Cl-benzene

# Način pripreme uzorka



# SALDI-Laserska desorpcija/jonizacija potpomognuta površinom



Koriste se i drugi akronimi za LDI metode kao DIOS, NIMS, NALDI

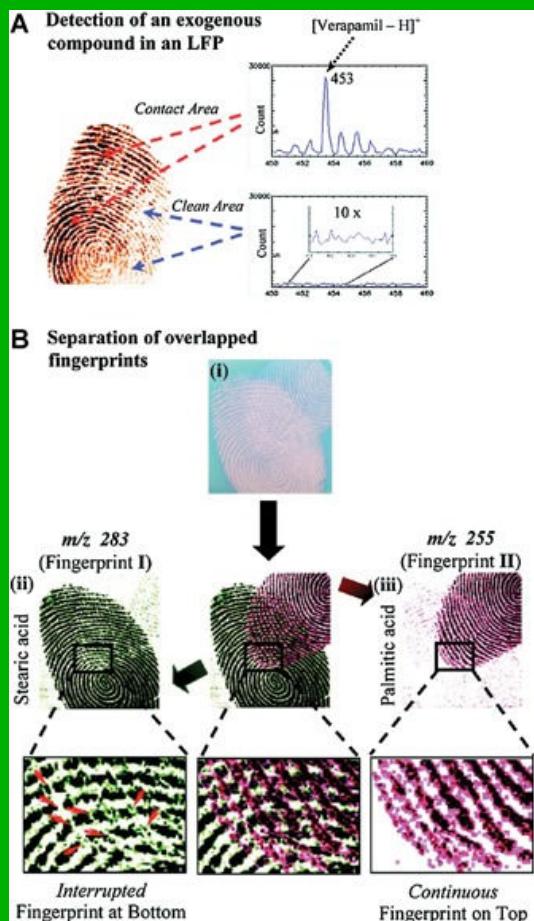
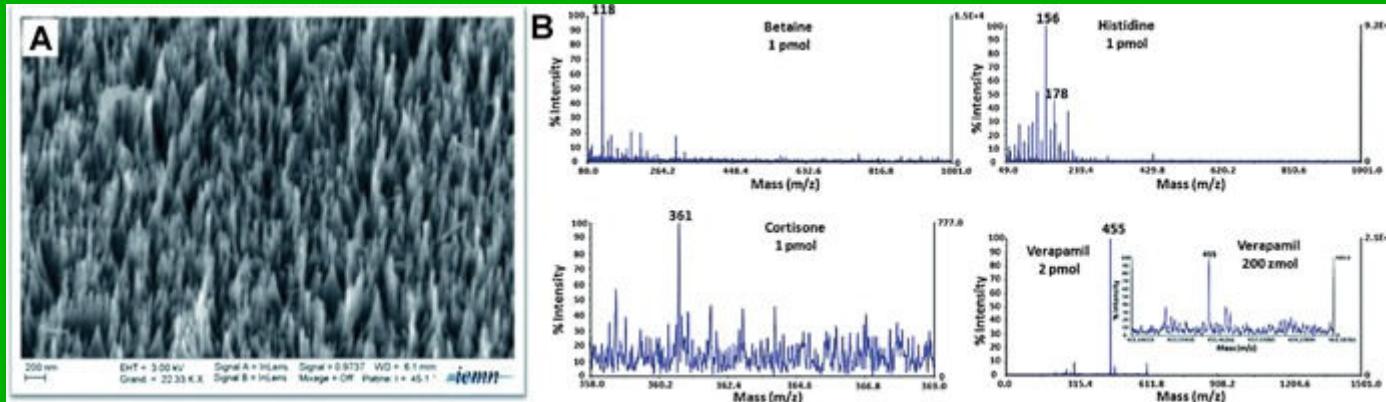
MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) poznat kao ekstazi

Nano-struktuirani supstrati koji olakšavaju desorpciju i jonizaciju bez matriksa.

Metoda pogodna za analizu malih organskih molekula (<700Da).

Supstrati: Nanočestični Au, Se,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{F}_2\text{O}_3$ , kvantne tačke CdTe, Pt nanosunderi i ugljenični nanomaterijali (fuleren, ugljenične nanocevi, HOPG, nanoporzni grafitni ugljerenik, grafen, nano dijamant)

## **Primena SALDI u forenzici**

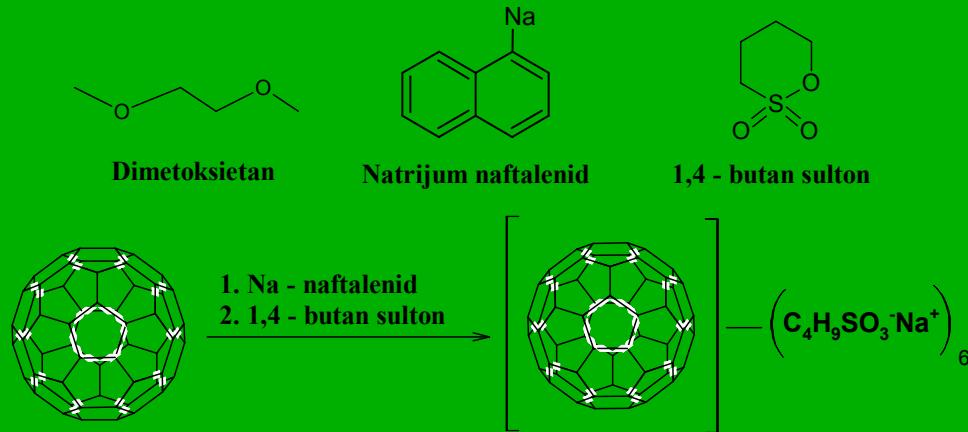


Nano žice dijamanta dopiranog borom kao supstrat za identifikaciju betaina, histidina, kortizona i verapamila

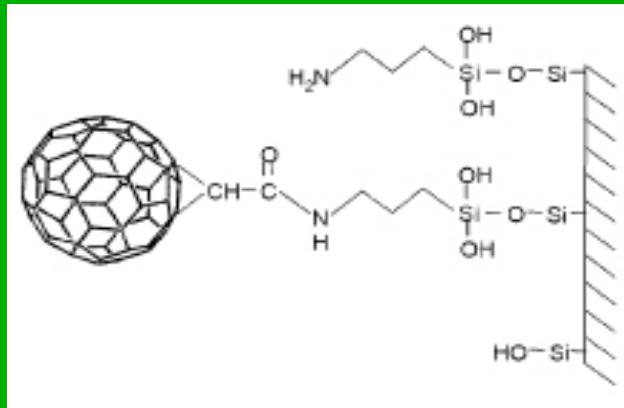
# Identifikacija verapamila u otisku prsta sa Au NČ kao supstratom

# Razlikovanje dva otiska prsta po signalima stearinske i palmitinske kiseline sa Au NČ kao supstratom

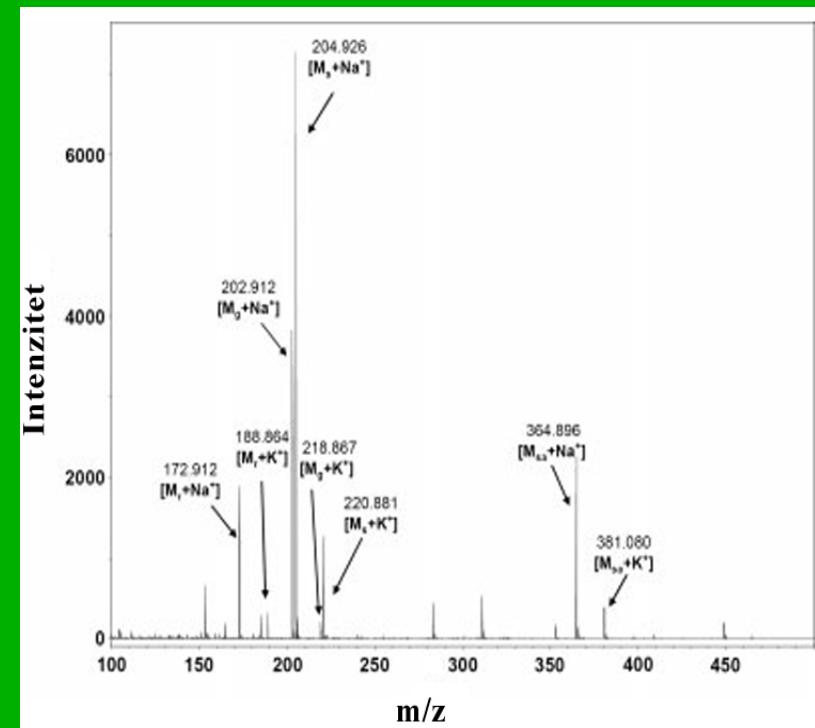
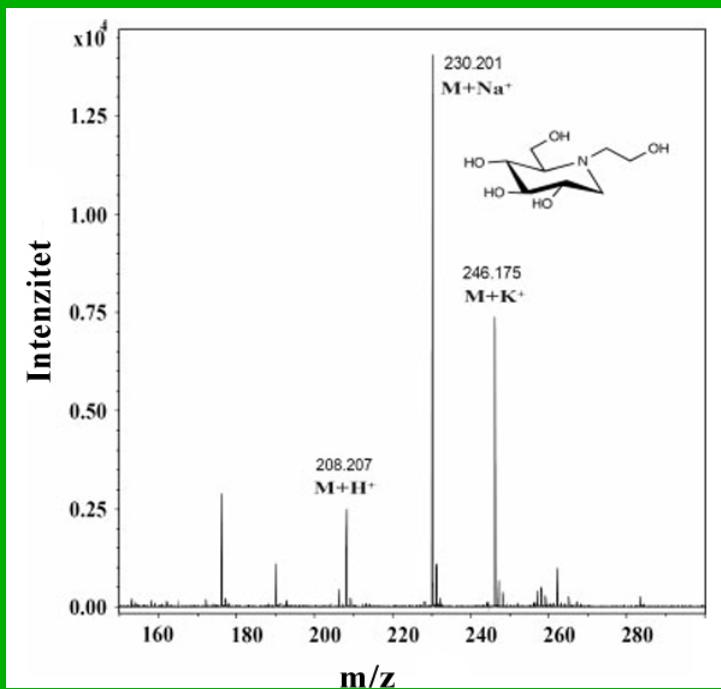
# Fuleren kao substrat



Pokazana je sposobnost Na- soli heksa(sulfobutil)fulerena - NaHSBF rastvornog u vodi, da vrši selektivno taloženje pozitivno naelektrisanih surfaktanata, pa čak i amino kiselina, peptida i proteina. Afinitet NaHSBF prema analitu zavisi od naelektrisanja, strukture i hidrofobnosti analita.



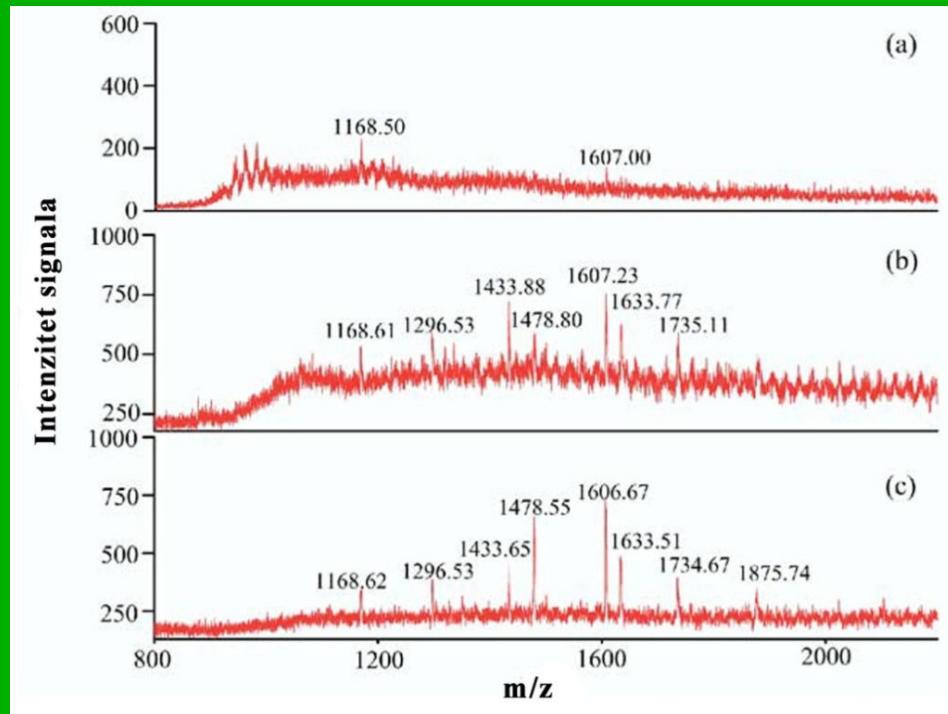
Fuleren-silika



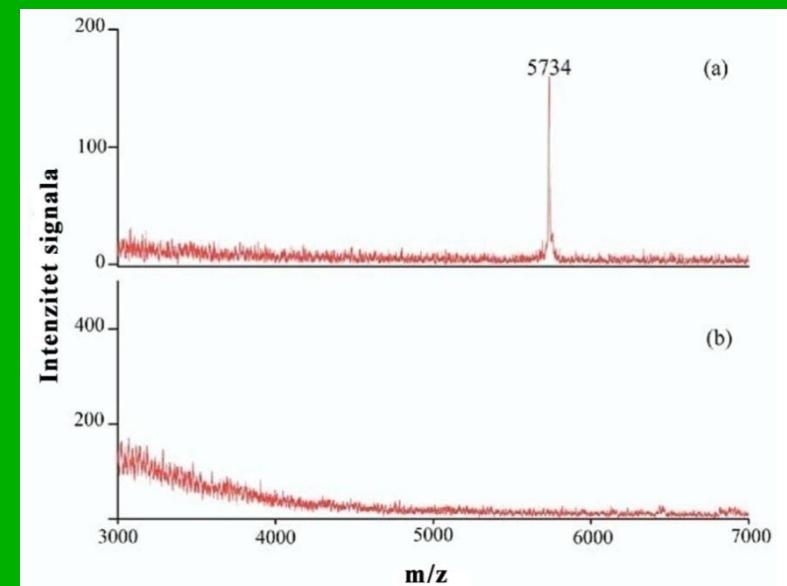
MS D-glukoze, D-sorbitola,  
D-riboze i saharoze

MS Miglitol  
(molekulska masa 207,22 Da)

# Ugljenične nanotube

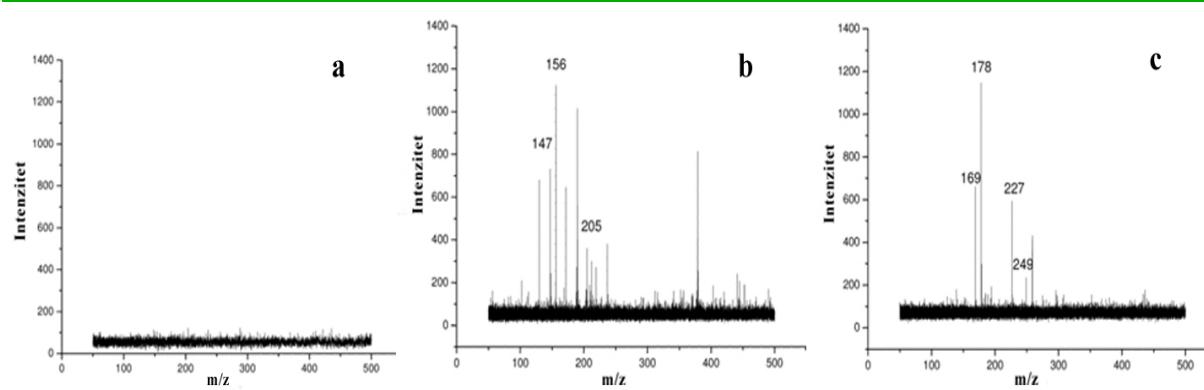


MS proizvoda digestije citohroma C tripsinom bez matrtiksa, sa CNT na pH 7 i 9 (b) i na pH 4 (limunska kiselina)

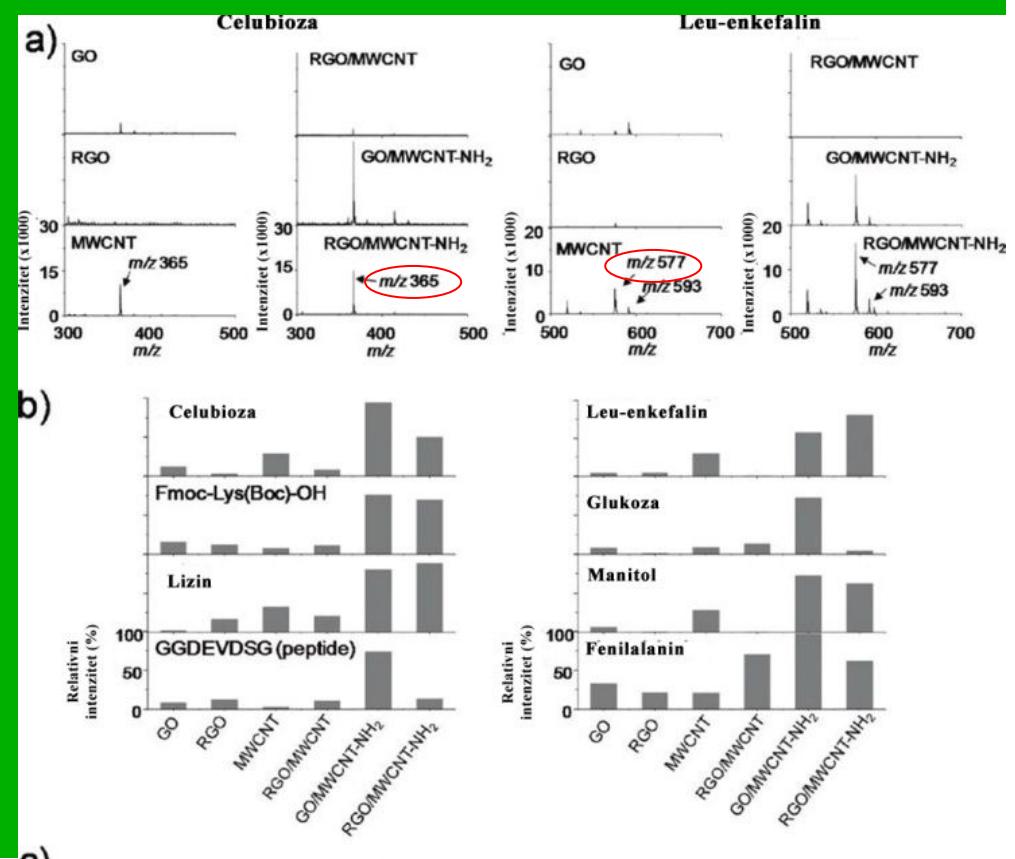


MS insulina sa CNT na pH 4 (a) i na pH 10

# Grafen

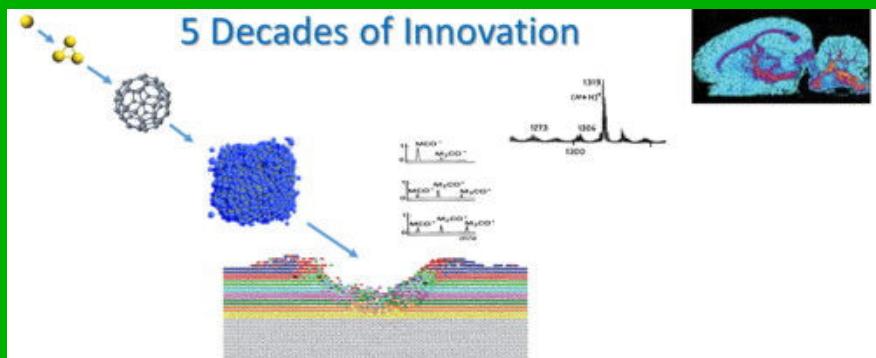
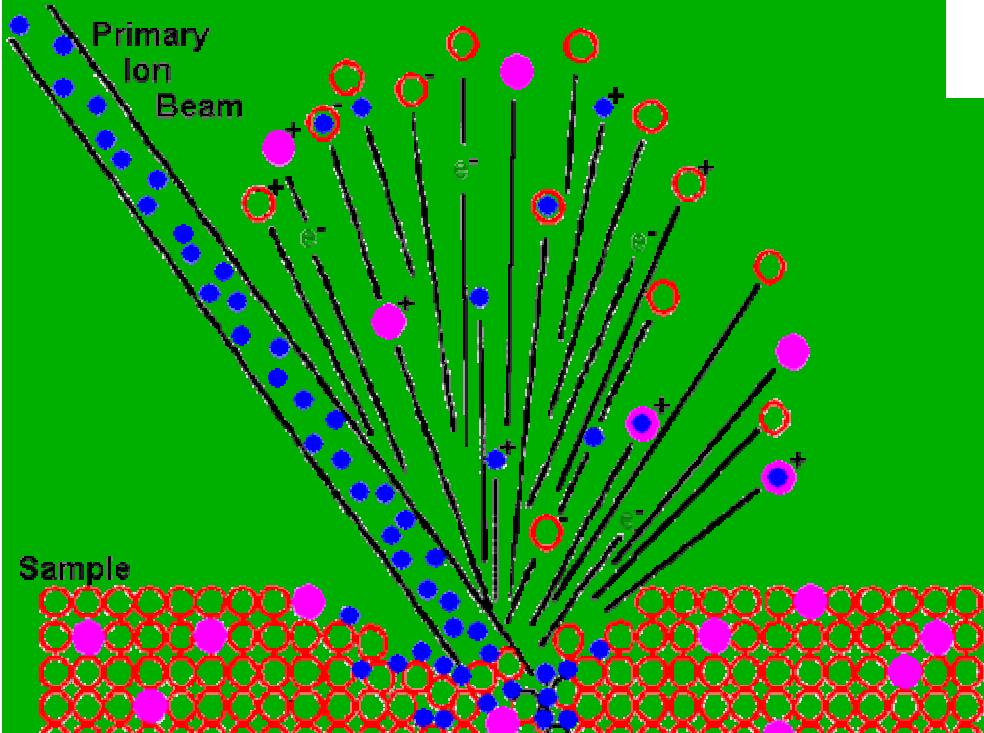


(a)MS celubioze i leu-  
(b)enkefalina na različitim LDI  
supstratima (b) poređenje  
intenziteta signala molekula  
na različitim dvoslojnim  
supstratima



# SIMS-Secundary Ion Mass Spectrometry

## Masena spektrometrija sekundarnim jonima



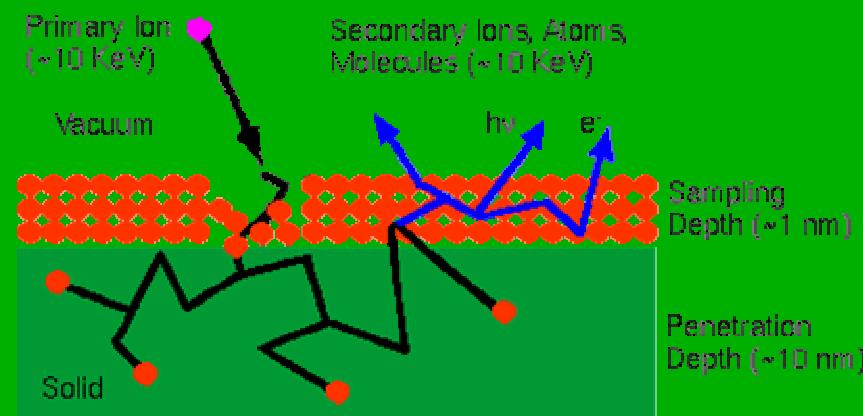
# Mogućnosti SIMS metode

- Čvrste površine i tanki slojevi
- Kvalitativni i kvantitativni elementarni (od H do U) izotopski (preciznost 0,5-0,05%) molekulski sastav (dopanti u poluprovodnicima)
- dvodimenzione slike, mikroanaliza
- male zapremine ( $100\text{-}1000\mu\text{m}^3$ -dinamički mod)
- nekoliko monoslojeva-1nm (statički mod)
- dubinski profil i trodimenziona slika
- skoro bez pripreme

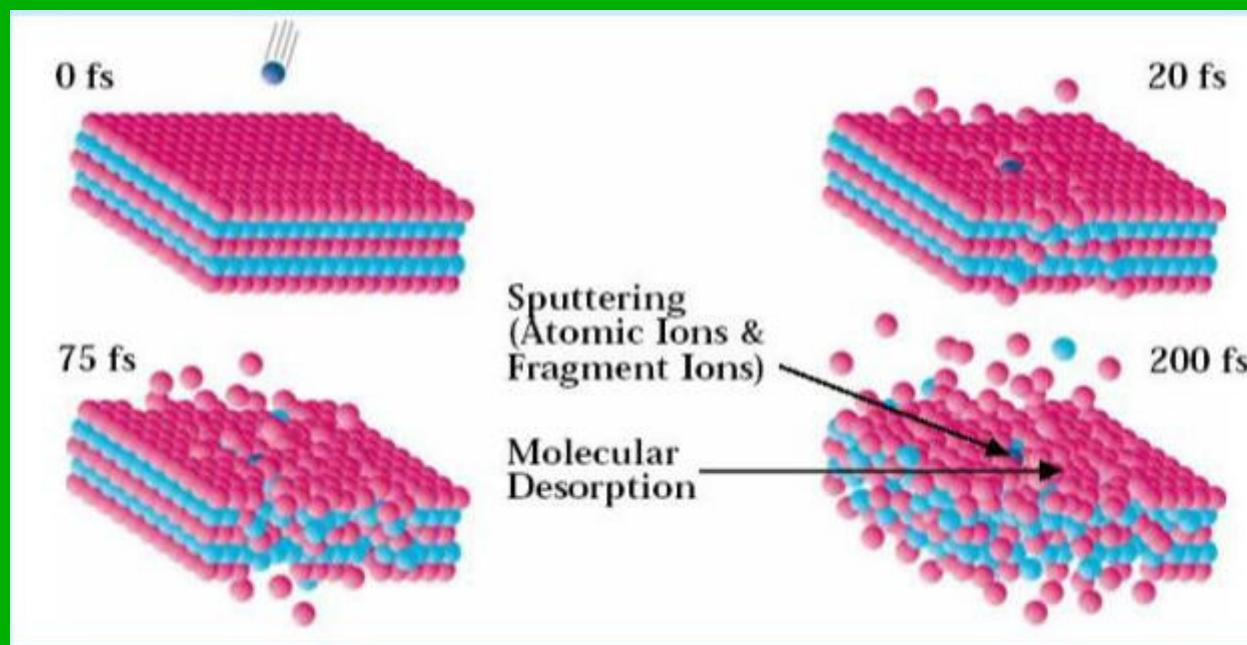
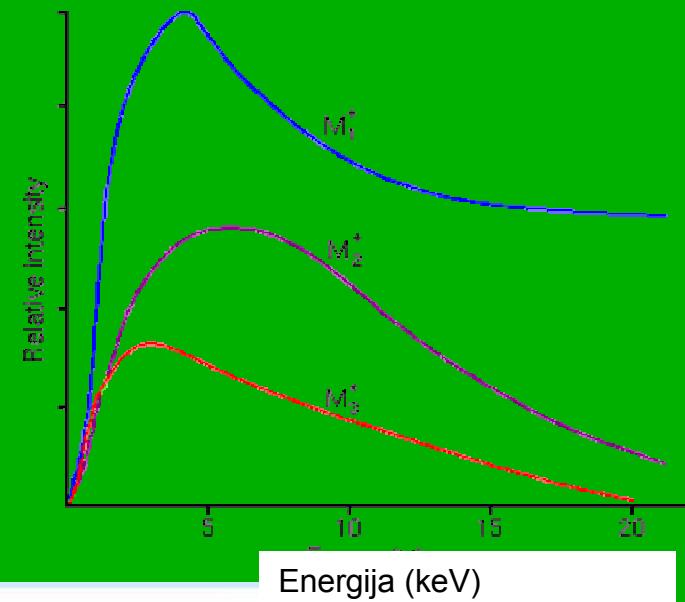
# Ograničenja SIMS-a

- Spaterovani materijal površine uzorka ne sadrži samo monoatomske jone već i molekulske vrste koje mogu dominirati spektrom i stvariti teškoće u interpretaciji
- Proces spaterovanja nije do danas egzaktno objašnjen. Nema kvantitativnog modela koji bi opisivao proces spaterovanja i ionizacije.
- Za kvantitativnu analizu treba imati pogodne standarde i koriste se empirijske korelacije
- Osetljivost određivanja (granica detekcije) elementa veoma zavisi od sastava matriksa i tipa primarnog snopa. Standardi, kao u svakoj kvantitativnoj analizi treba da su što sličniji uzorku, posebno kod izotopskih analiza.
- Uzorak mora biti kompatabilan sa ultra visokim vakuumom.

## Spaterovanje-raspršivanje

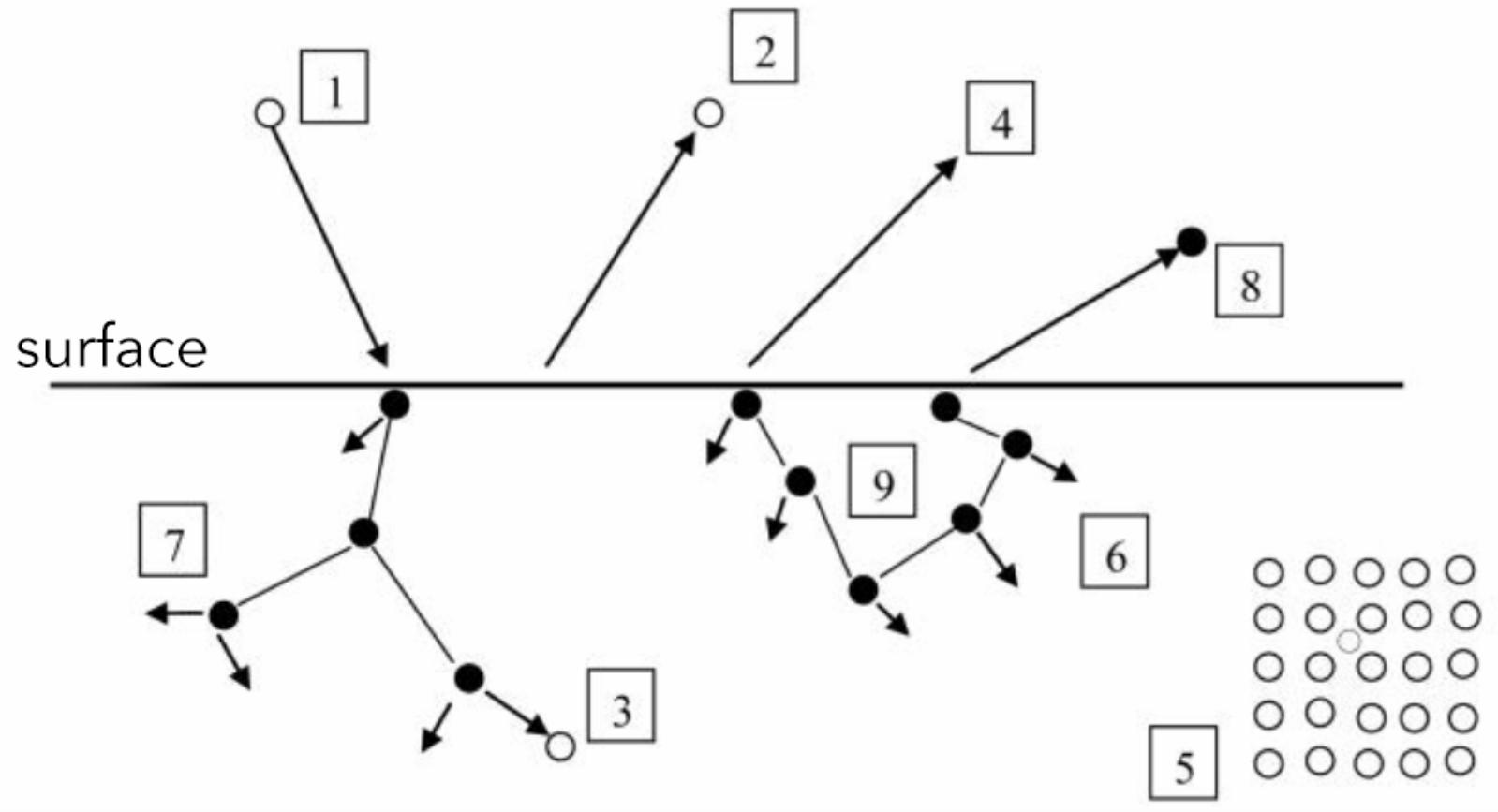


## Energetska raspodela sekundarnih jona



**Tipične brzine  
spaterovanja 0.5 do  
5 nm/s**

**Svega oko 1%  
raspršenih čestica  
je jonizovano**



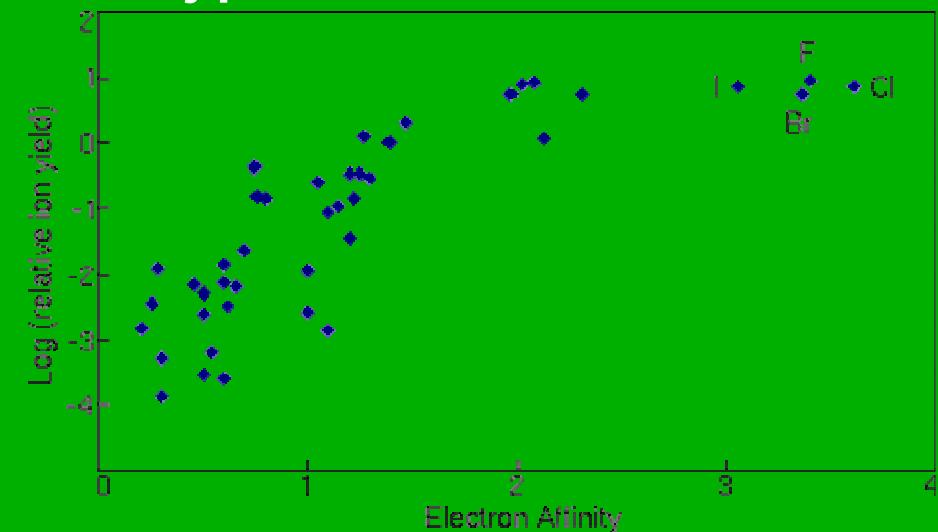
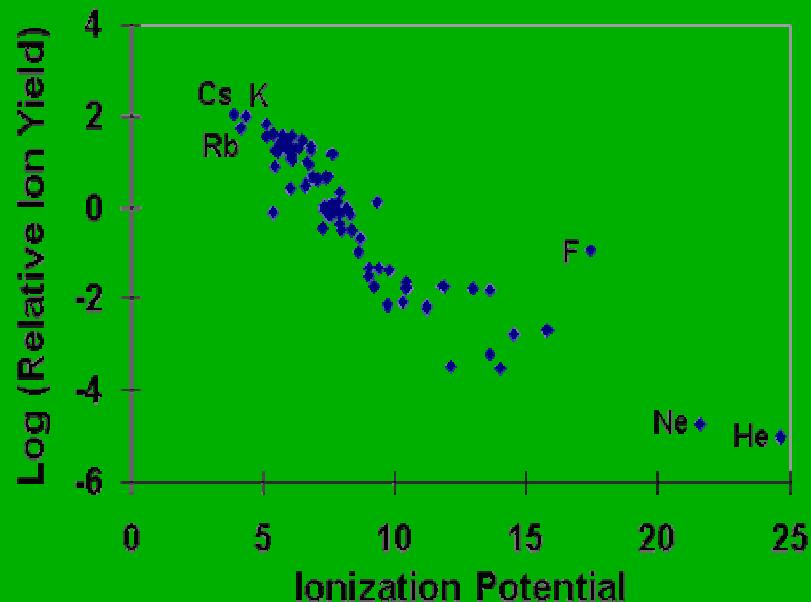
	$\text{Au}^+$	$\text{Au}_2^+$	$\text{Au}_3^+$	$\text{C}_{60}^+$
Removed # of $\text{H}_2\text{O}$	100	575	1190	2510
Equivalents				

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

Prinos saterovanja

$\text{Ar}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Ga}^+$ ,  $\text{O}_2^+$ ,  $\text{O}^-$ ,  
 $\text{SF}_5^+$ ,  $\text{Au}_n^+$ ,  $\text{Bi}_n^+$ ,  $\text{Ar}_{2500}^+$ ,  $\text{C}_{60}^+$

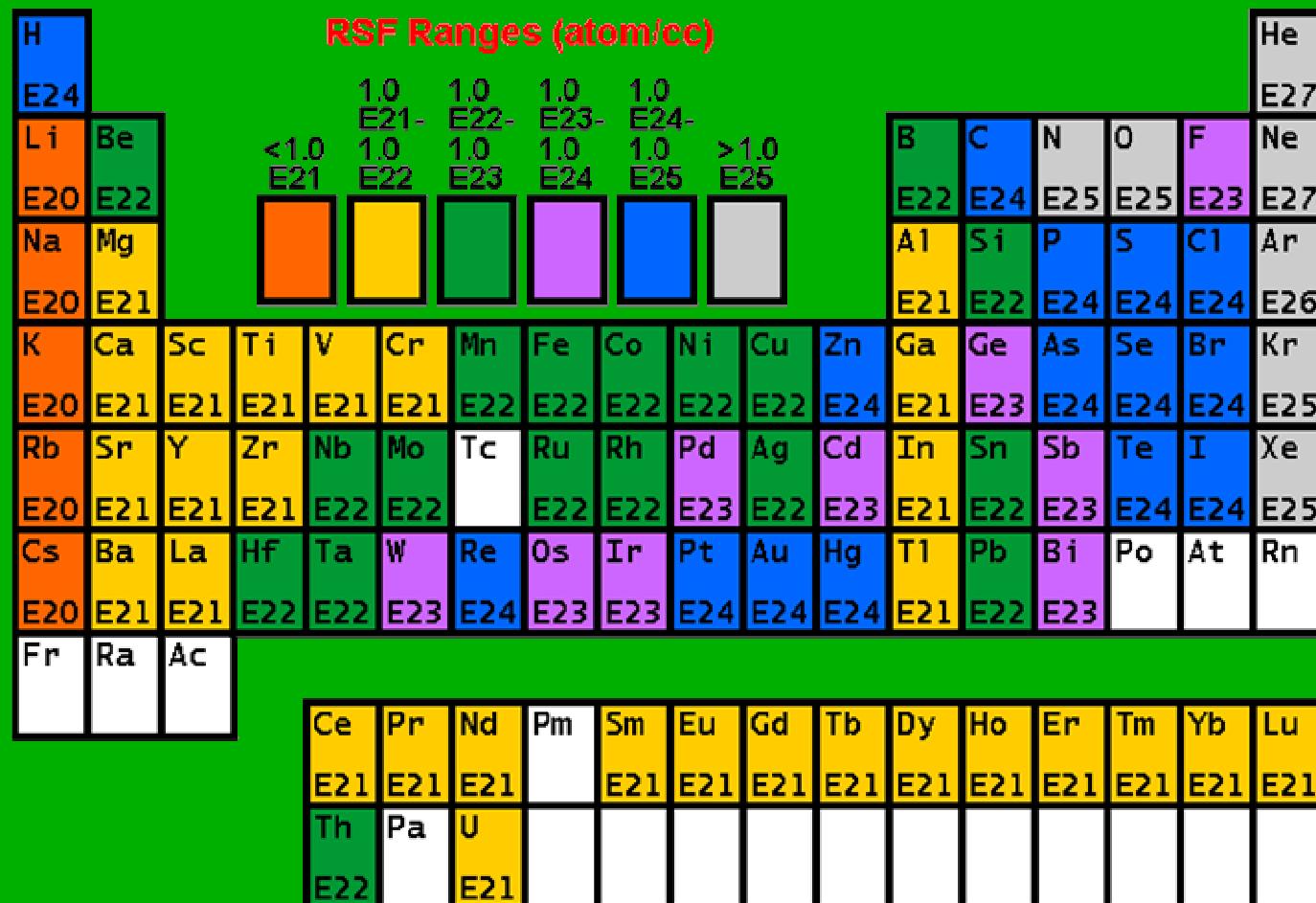
## **Prinos sekundarnih jona-uticaj prirode elementa**



## **Prinos sekundarnih jona-uticaj primarnog snopa**

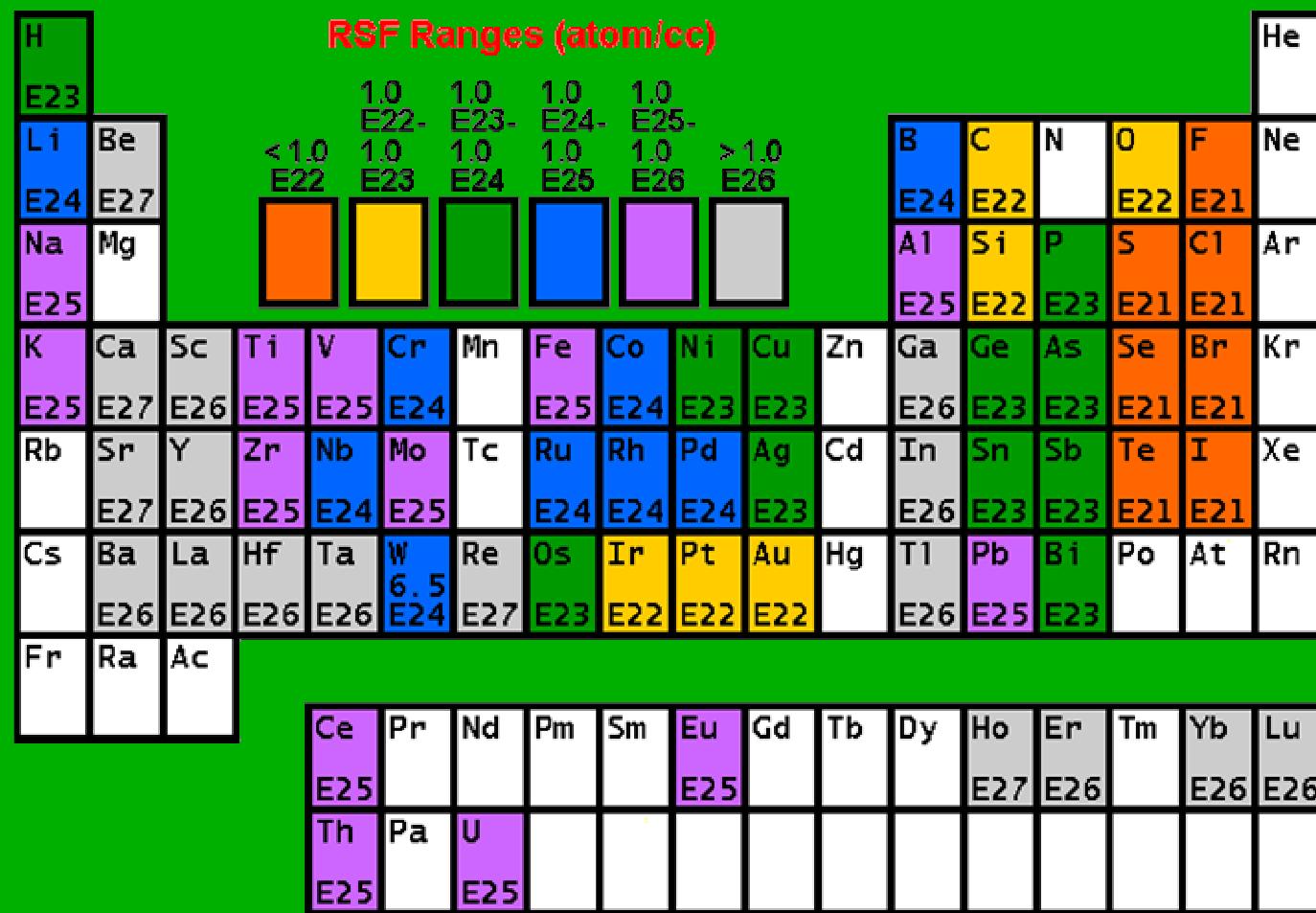
H	O <sub>2</sub> <sup>+</sup> Primary Positive Secondary												He					
Li	Be	Cs <sup>+</sup> Primary Negative Secondary												B	C	N	O	F
Na	Mg													Al	Si	P	S	Cl
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	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)

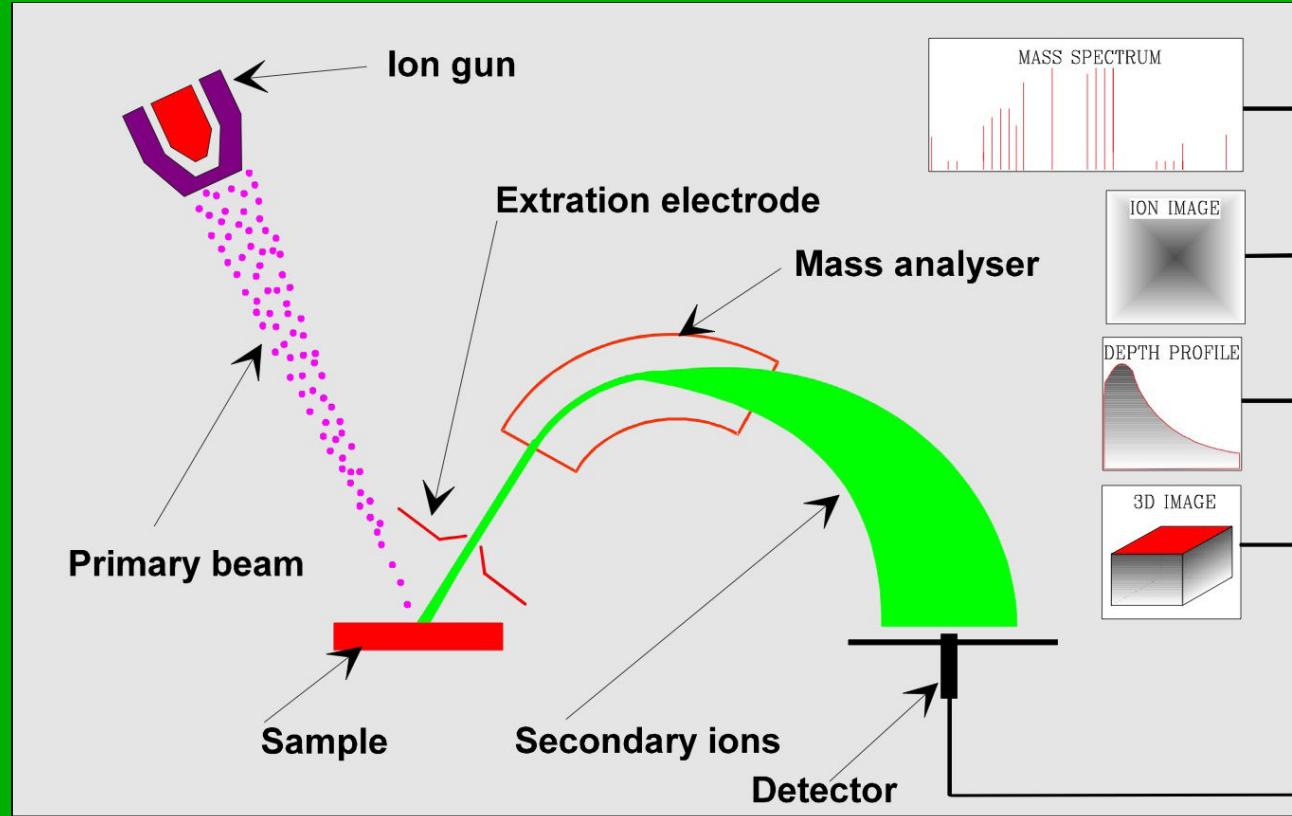


$$C_E = RSF \frac{I_E}{I_M}$$

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

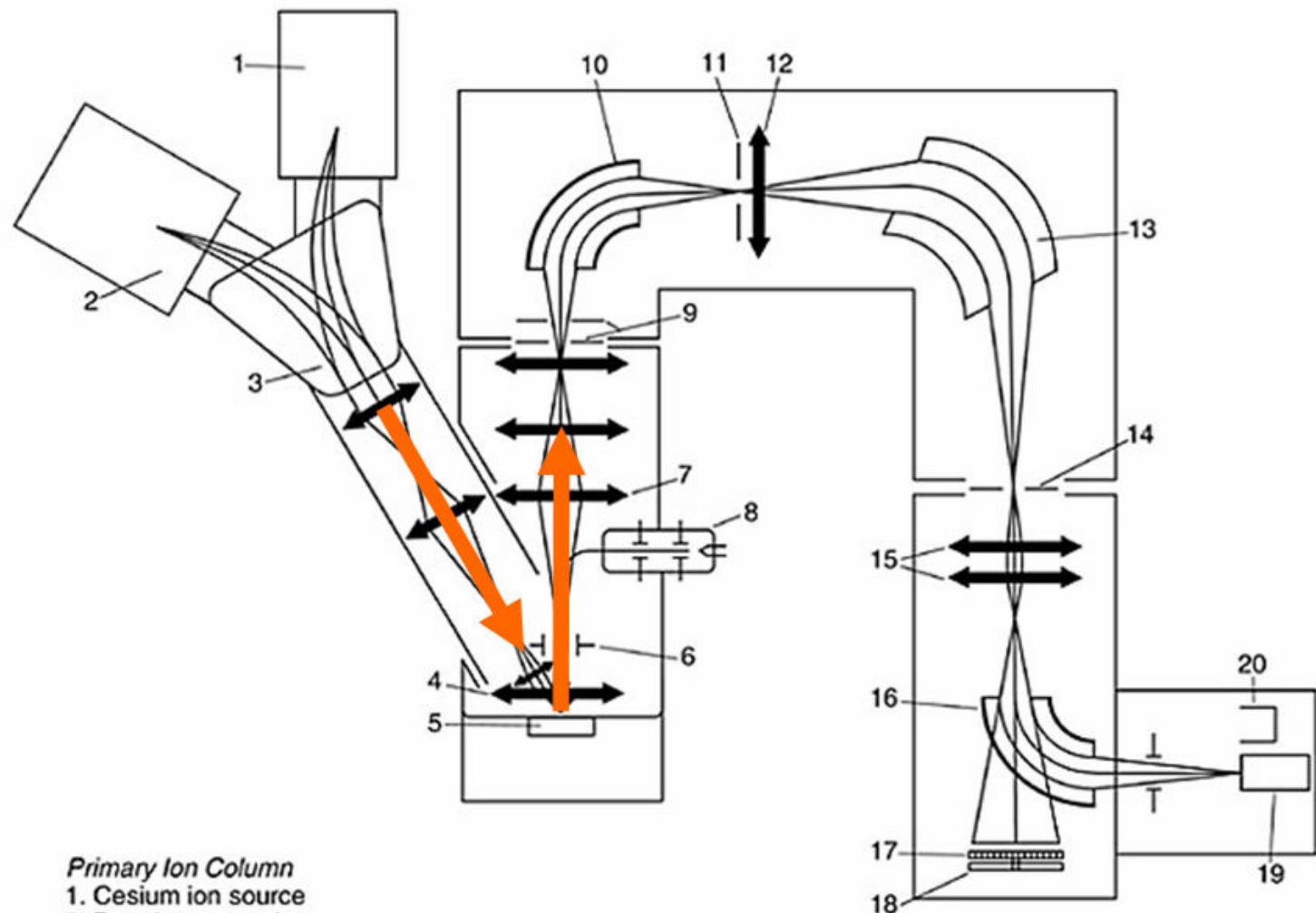


## Shematski prikaz glavnih komponenti SIMS tehnike



**Izvori primernih čestica:** plazma, jonski izvori, akceleratori, radiokativni  $\alpha$  emiteri

**Primarni joni:**  $\text{Ar}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{CF}_5^+$ ,  $\text{C}_{60}^+$ ,  $\text{Ar}_{2500}^+$ ,  $\text{O}^-$ ,  $\text{O}_2^-$



*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*

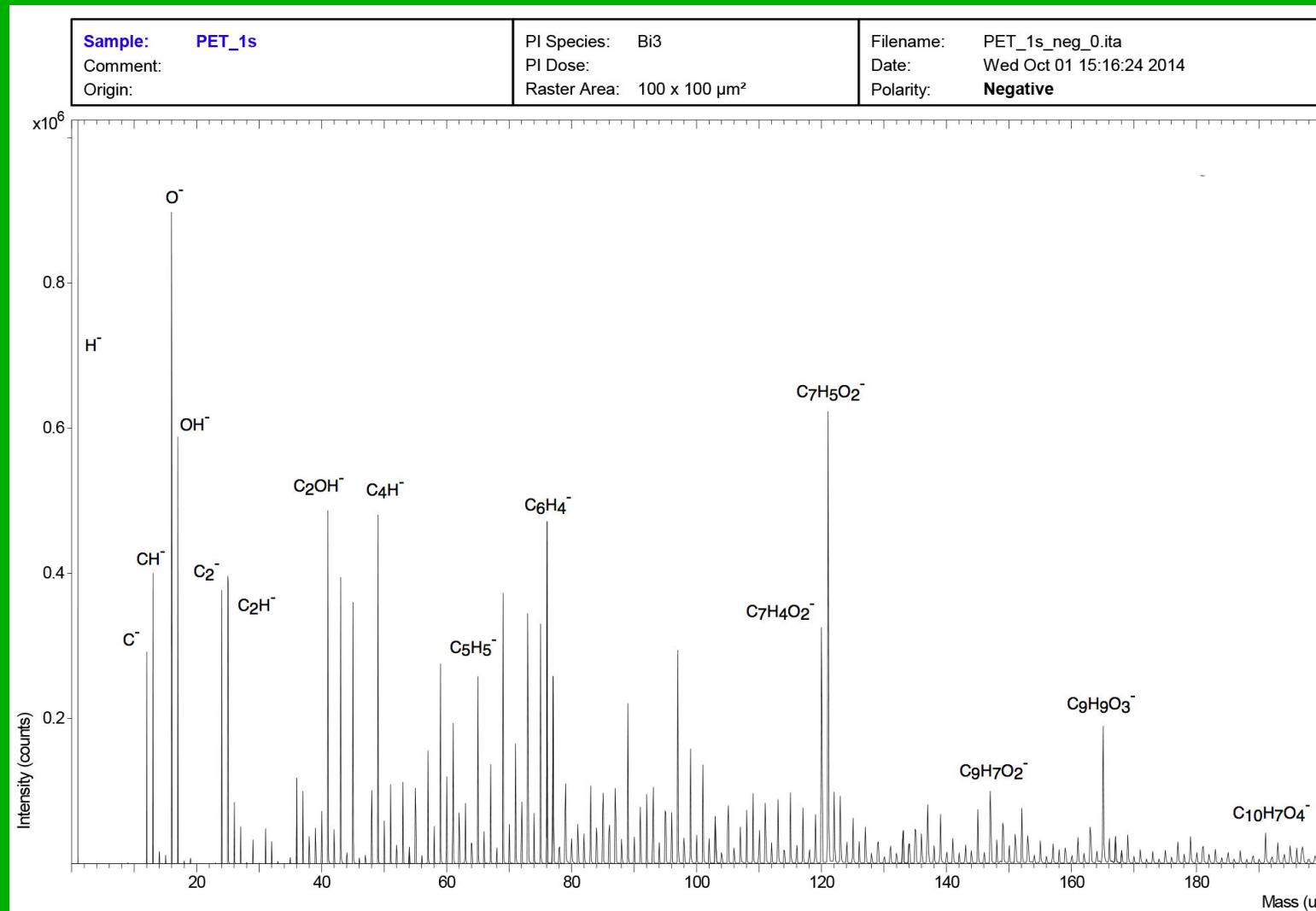
15. Projection lenses
16. Electrostatic sector
17. Channel-plate
18. Fluorescent screen
19. Electron multiplier
20. Faraday cup

Prema energiji i struji primarnih jona SIMS metoda može biti u dva moda:

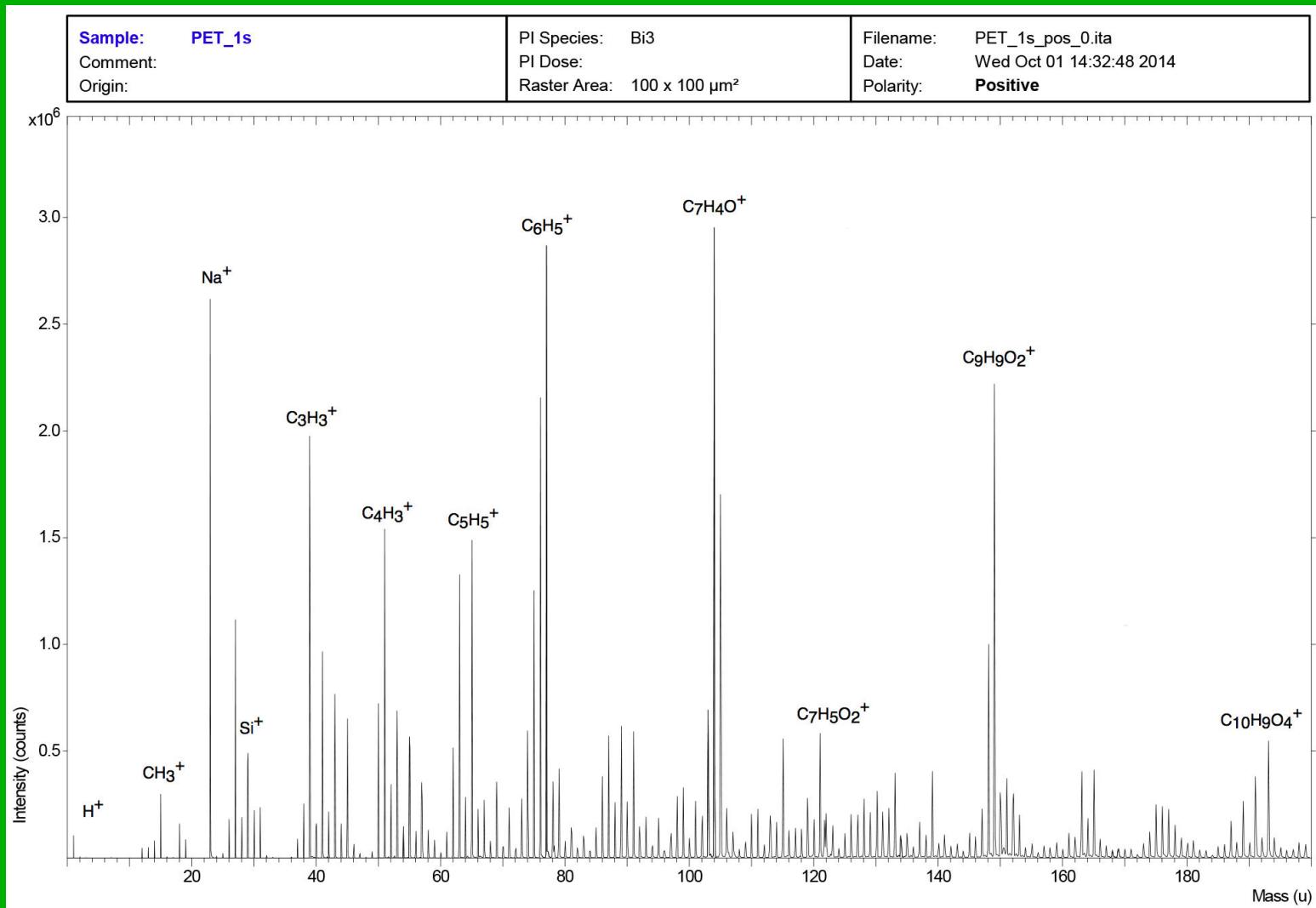
**Statički SIMS:** primenjuju se primarni joni energije od 0,1 do 10 keV sa površinskom gustinom struje od  $nA/cm^2$ . Za potpunu eroziju prvog mono sloja su potrebni sati. Pri takvim uslovima verovatnoća za stvaranje molekulskih i kvazi molekulskih jona je velika, a fragmentacija krajnje ograničena.

**Dinamički SIMS:** energije od 10 do 30 keV sa površinskom gustinom reda  $\mu A$  do  $mA/cm^2$ . Pri takvim uslovima uzorak kontinualno erodira i može se vršiti profilisanje po dubini.

# Analiza polimera PET

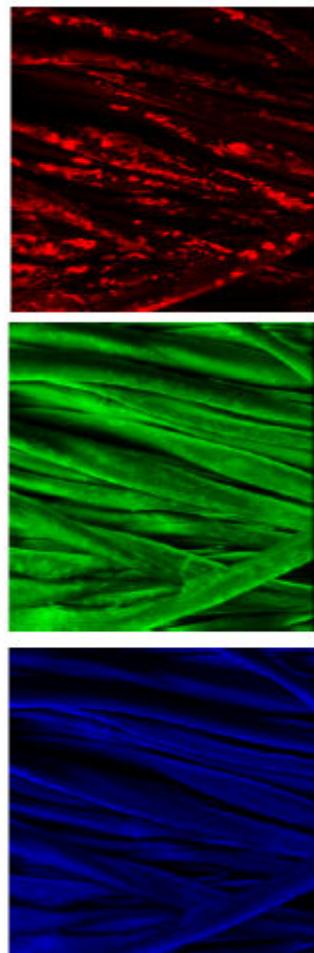


Bi<sub>3</sub><sup>+</sup> keV, 10<sup>-9</sup>mbar



field of view: 150 x 150  $\mu\text{m}^2$

$\text{Si}_x\text{O}_y$



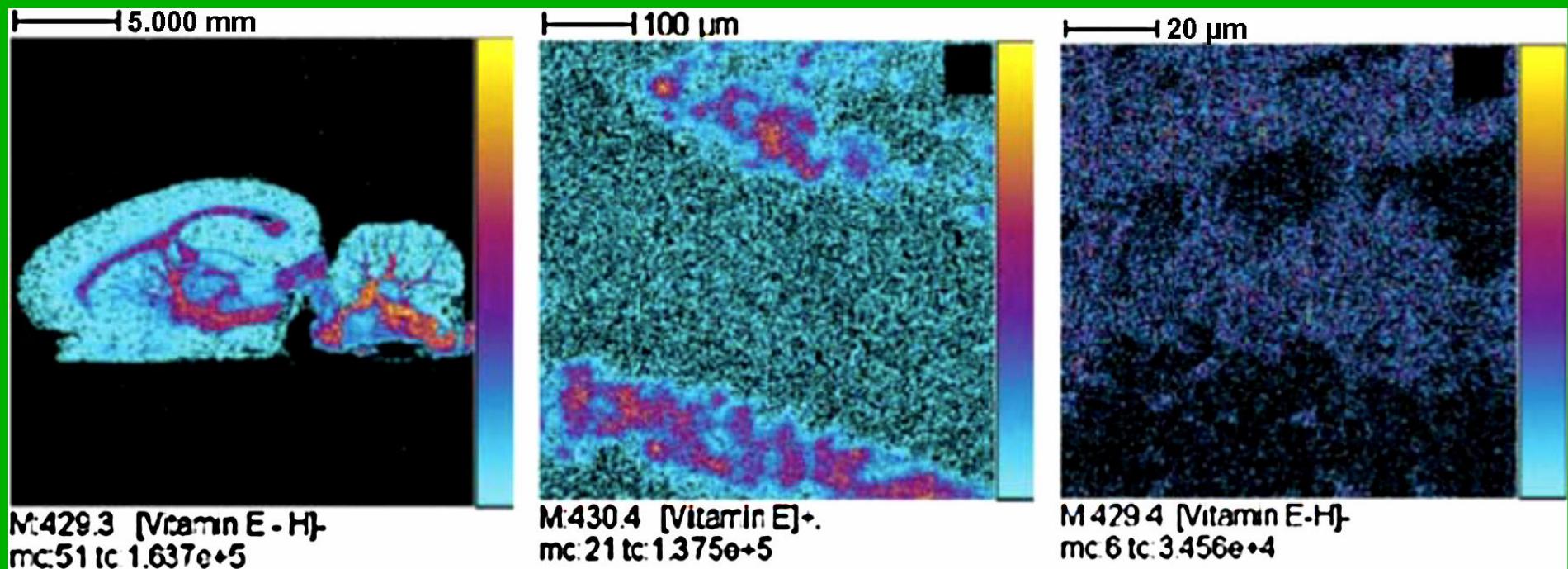
Fluorcarbon



Aliphatic hydrocarbons

TOF-SIMS dobijen sa pamučnih vlakana tretiranih fluoroalkilsilanom. 25 keV  $\text{Bi}_3^+$

# Sagitalni isečak mozga pacova pri različitim prostornim rezolucijama na m/z=430,4-vitamin E



# Određivanje m/e odnosa

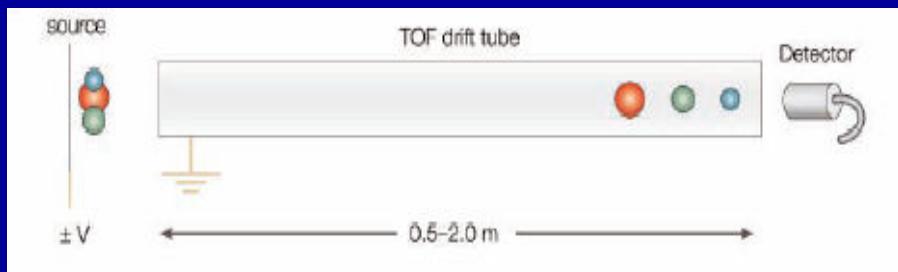
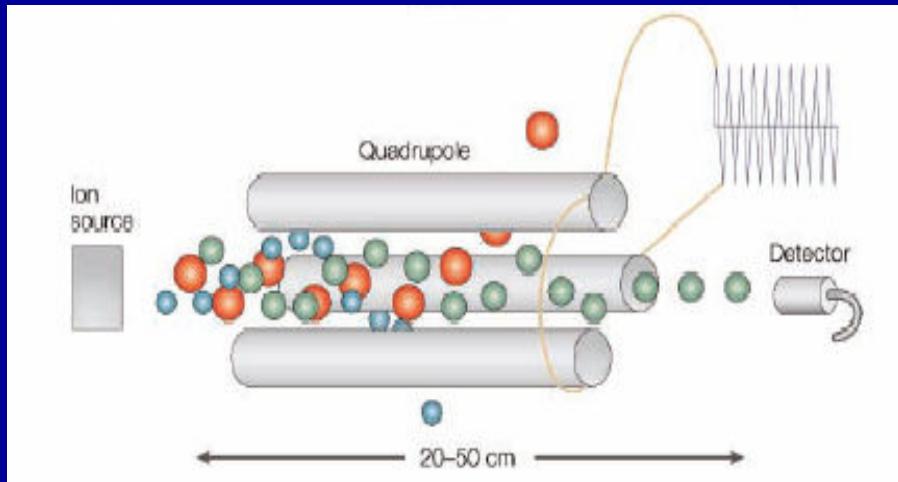
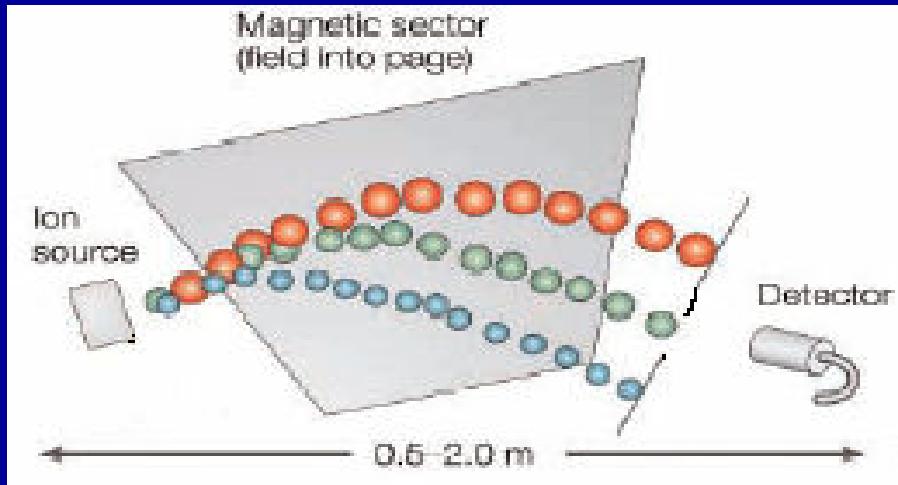
Merenjem:

- 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)

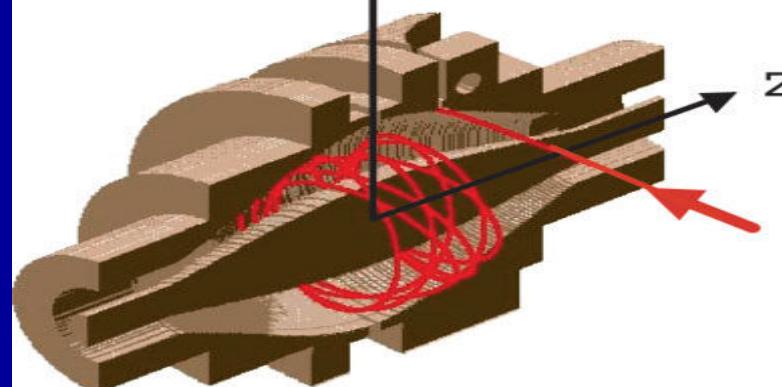
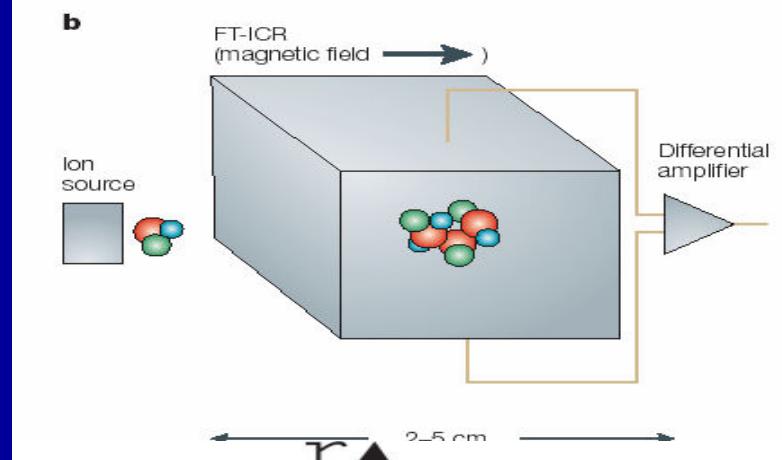
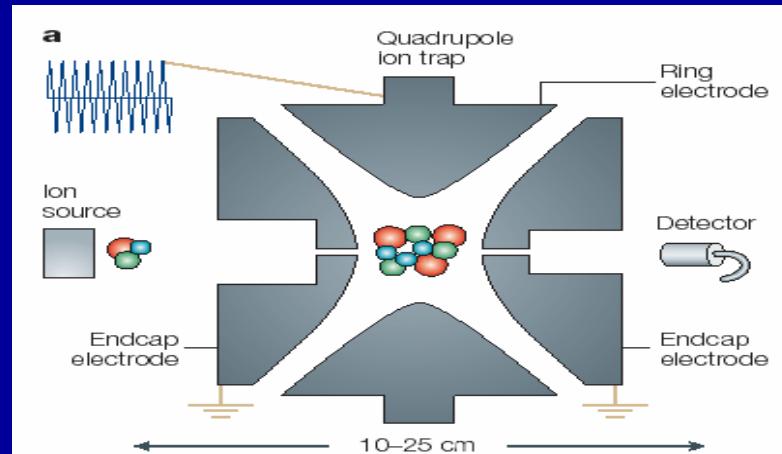
# Maseni analizatori

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

## Instrumenti sa snopom



## Trap instrumenti

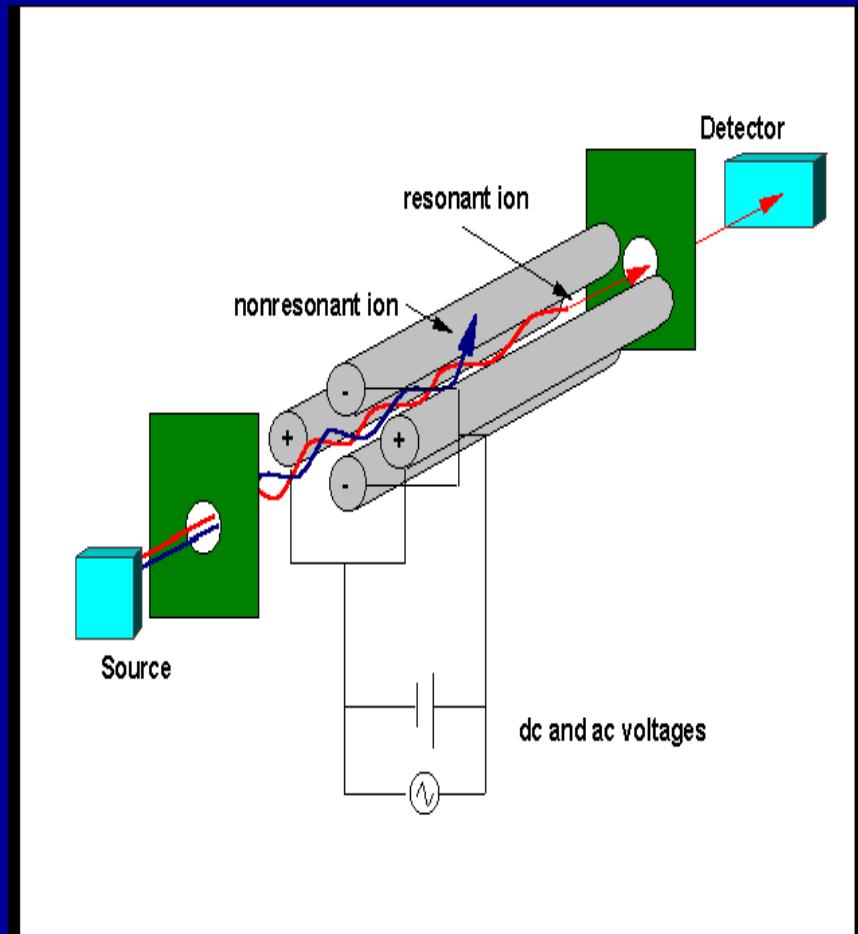


# Kvadrupolni maseni analizator

- 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),  
 $\omega$ = ugaona brzina  
naizmeničnog napona



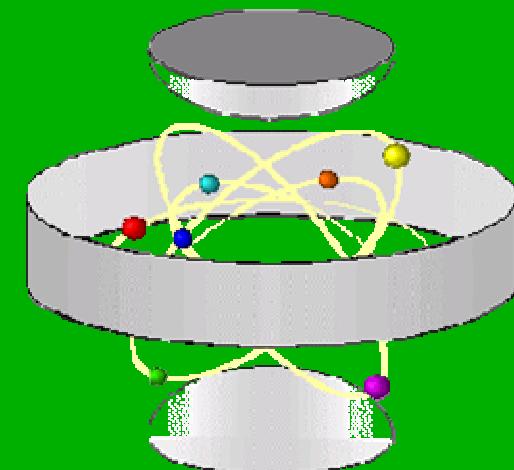
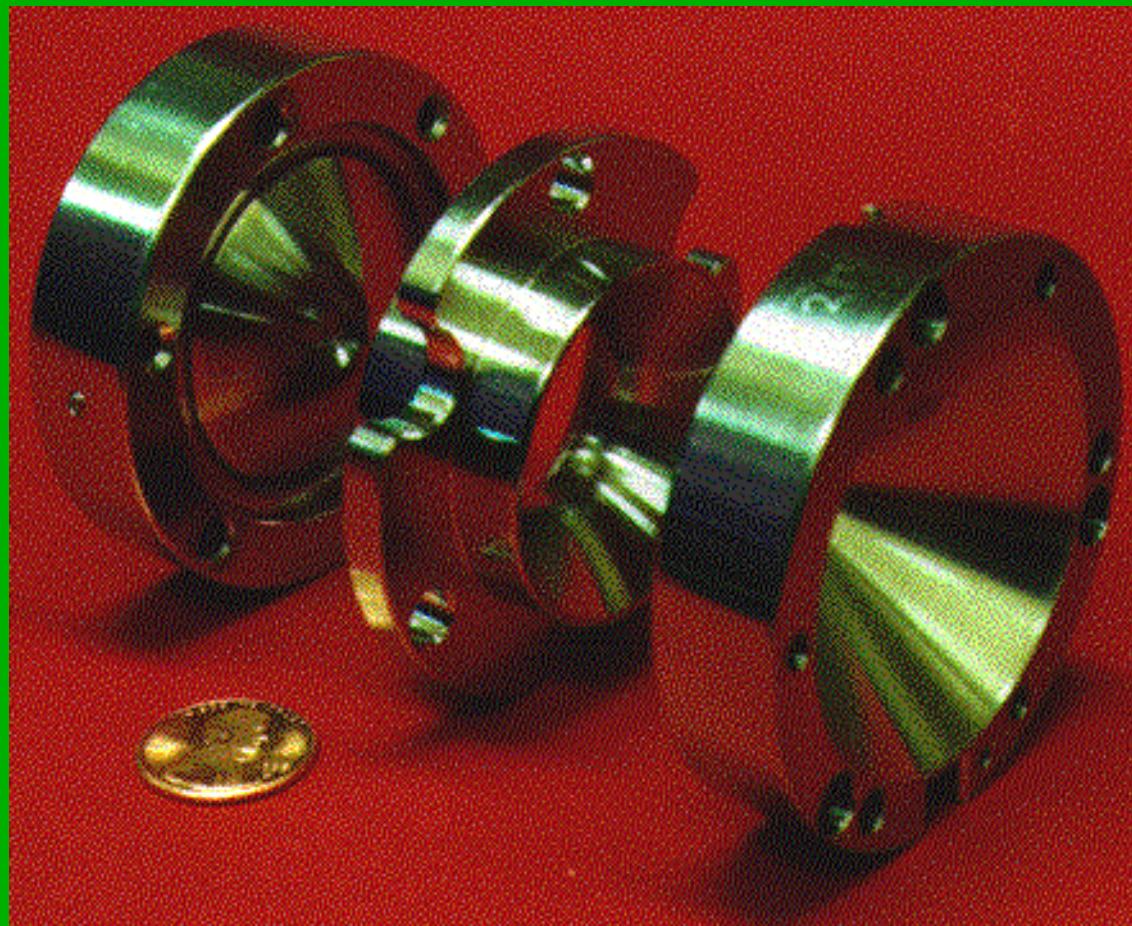
# *Jonski trap-kvistor*

- Jonski trap je uređaj u kome, pomoću trodimenzionalnog 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  $MS^n$  analize.
- Komercijalni uredjaji se najčešće koriste u **GC-MS** ili **LC-ESI-MS** kombinaciji.

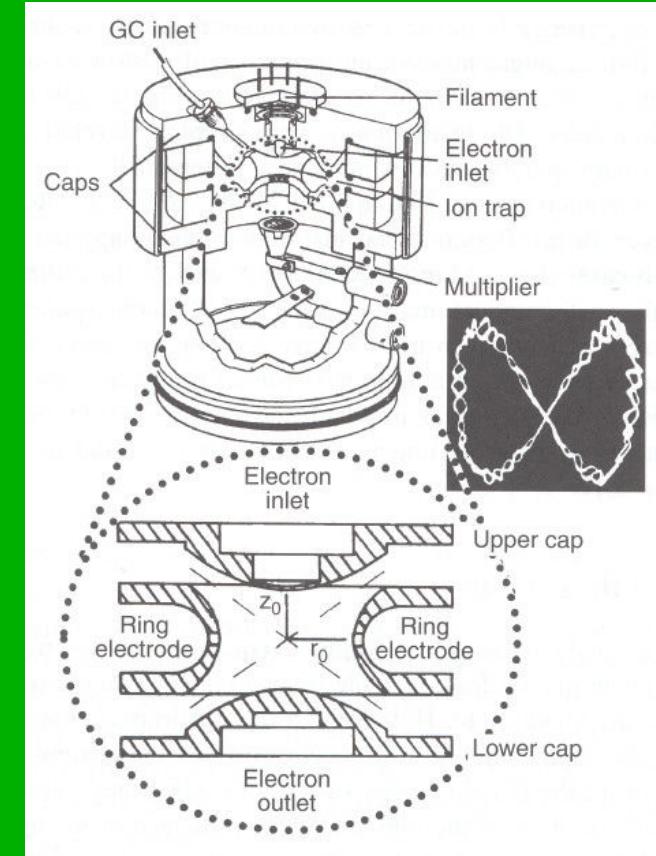
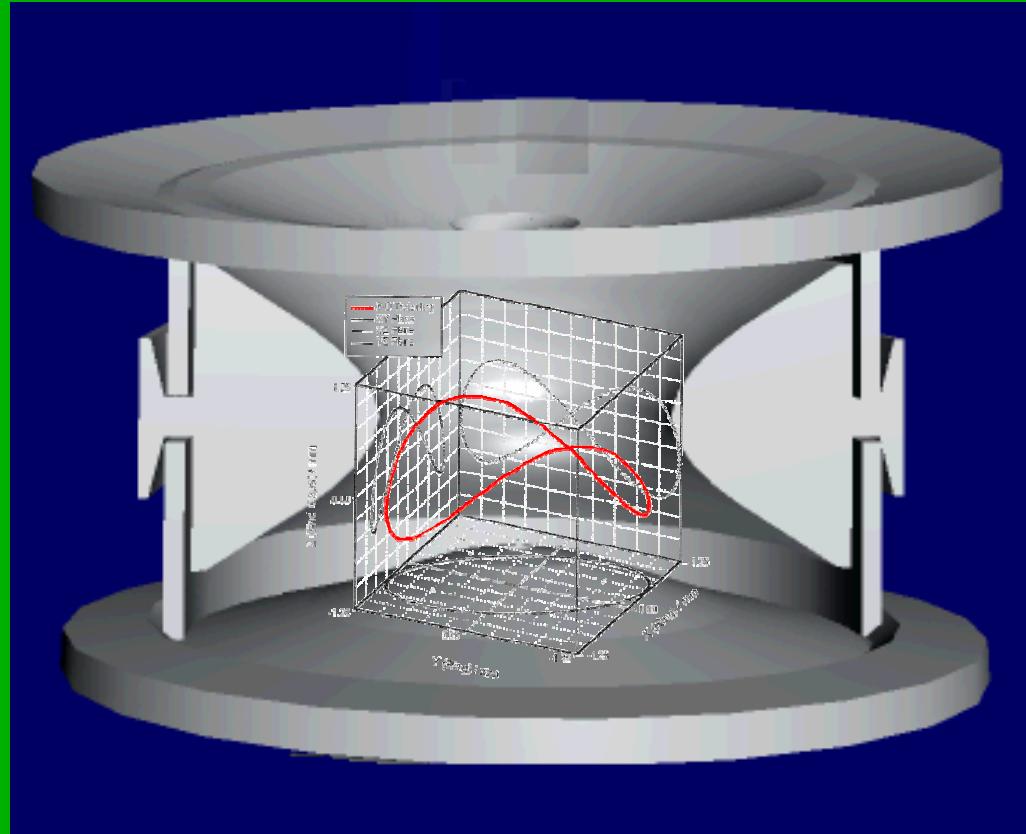
Jonski trap

## JONSKI TRAP

- prstenasta elektroda
- dve kupaste elektrode-poklopci



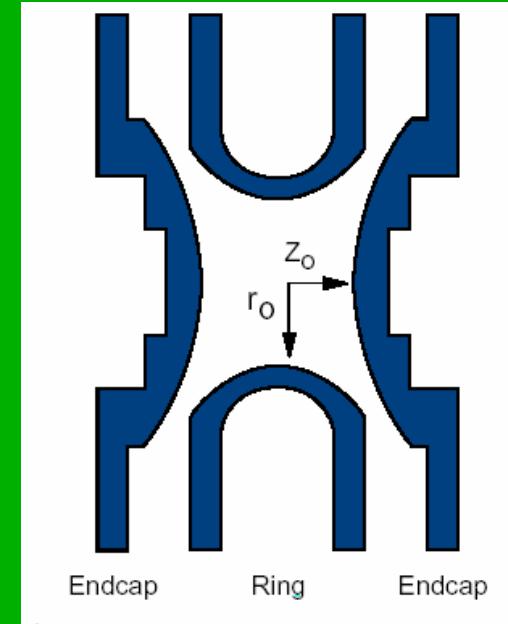
# Jonska putanja u trapu



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

# 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

$U$  – primjenjen **dc** potencijal

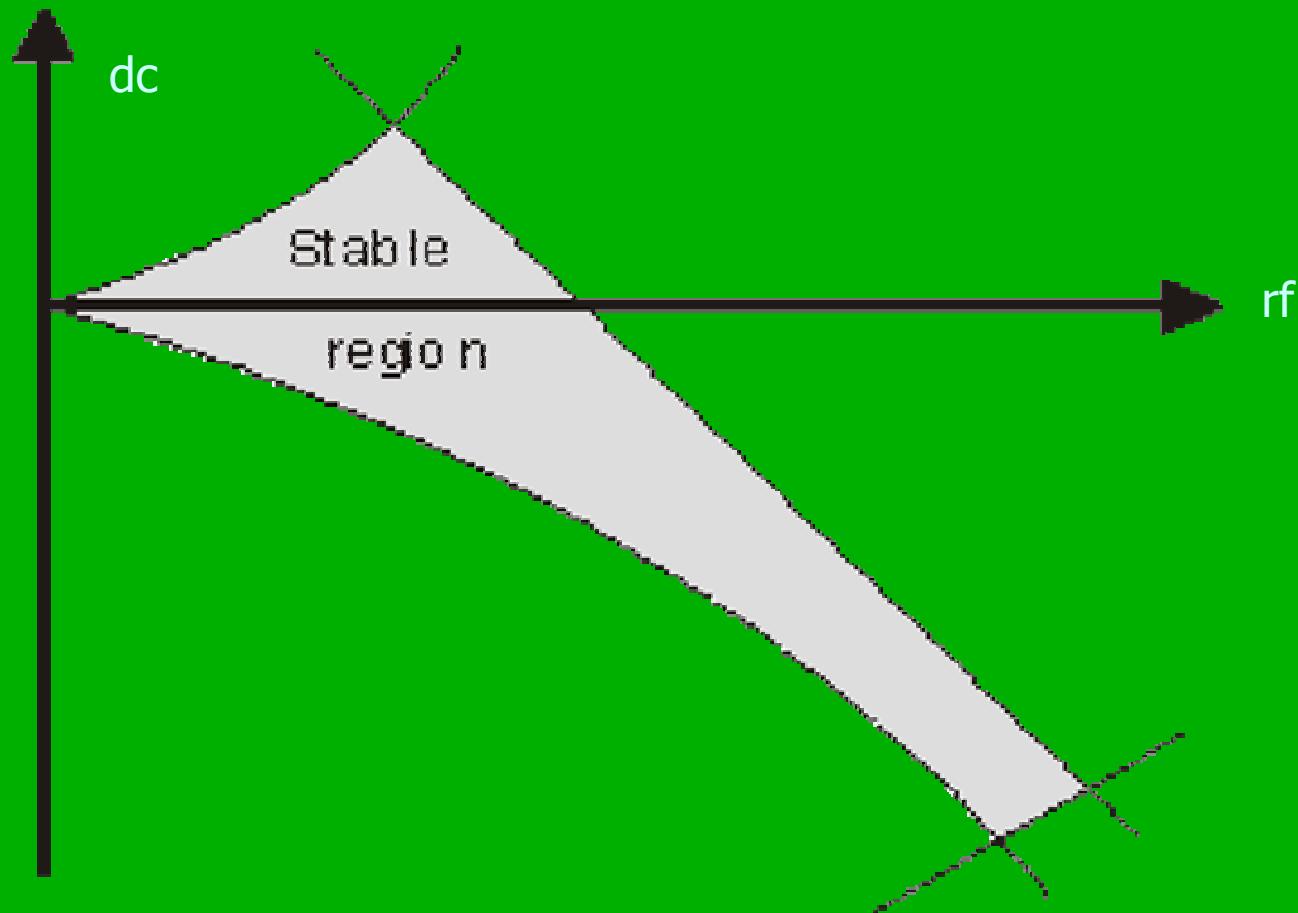
$V$  – primjenjen **rf** potencijal

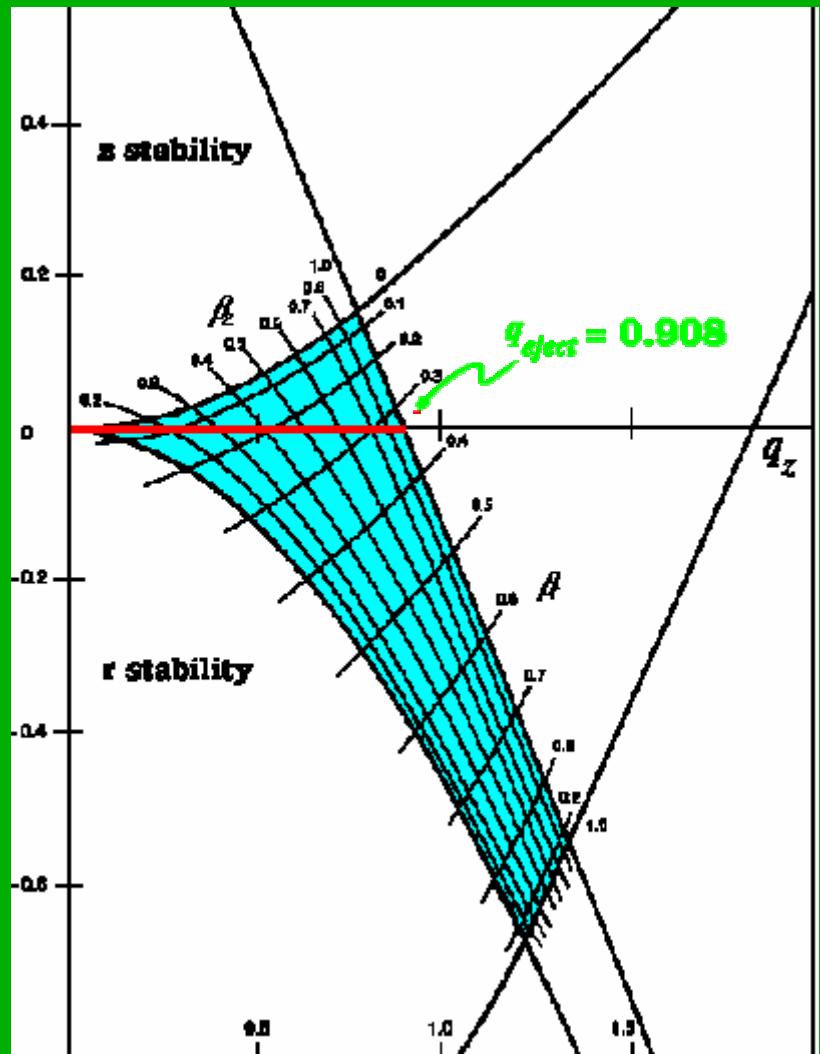
$\omega$  – ugaona frkfenca **rf**

$r_0$  i  $z_0$  – dimenzije jonskog trapa

## *Dijagram stabilnosti jona*

povezuje primjenjen *dc* napon (U) i primjenjen *rf* napon (V) i *rf* frekfencu ( $\omega$ ) 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

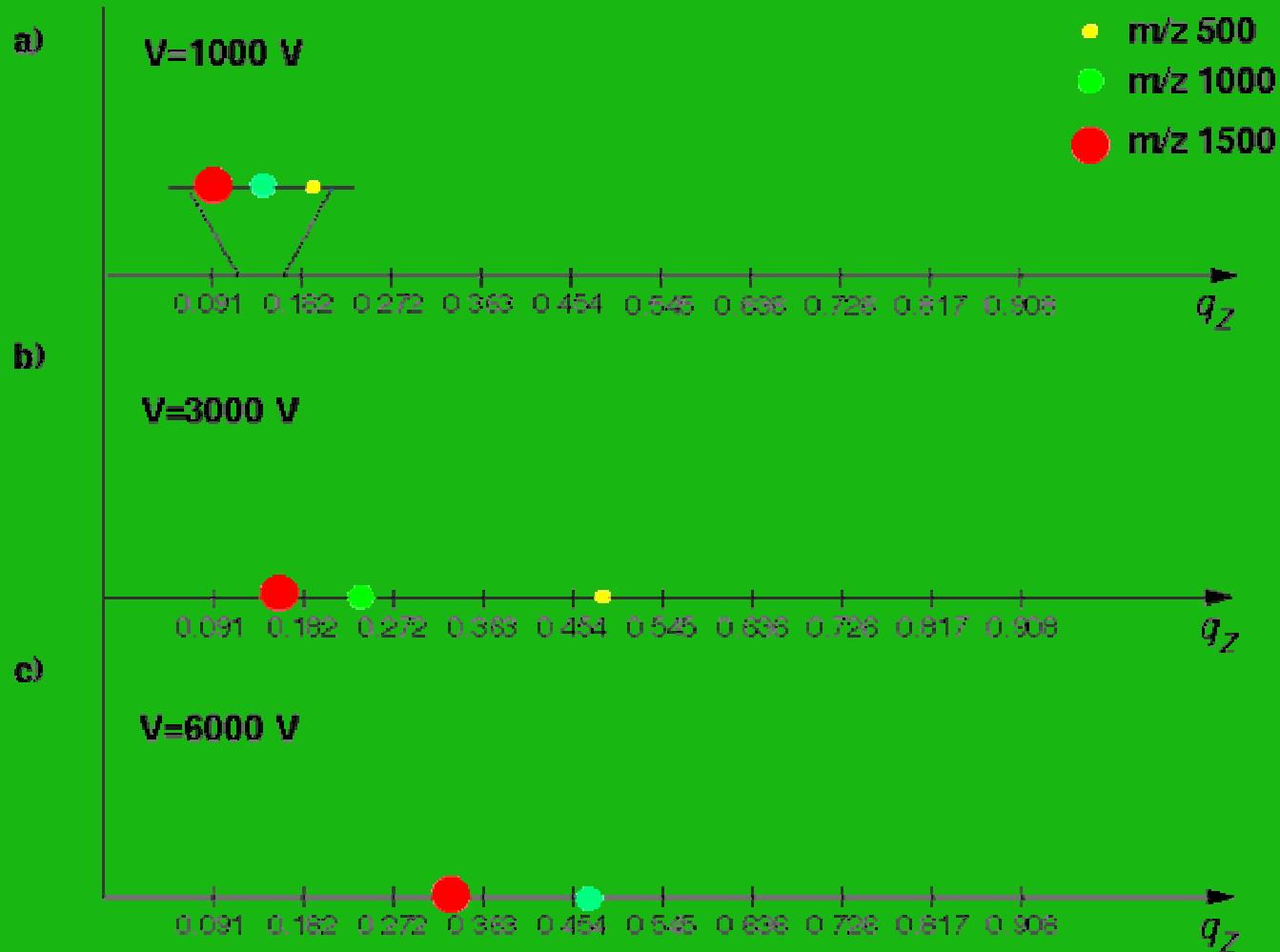
$$\frac{m}{z} = \frac{8eV}{(r_0^2 + 2z_0^2)\omega^2 q_z}$$

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

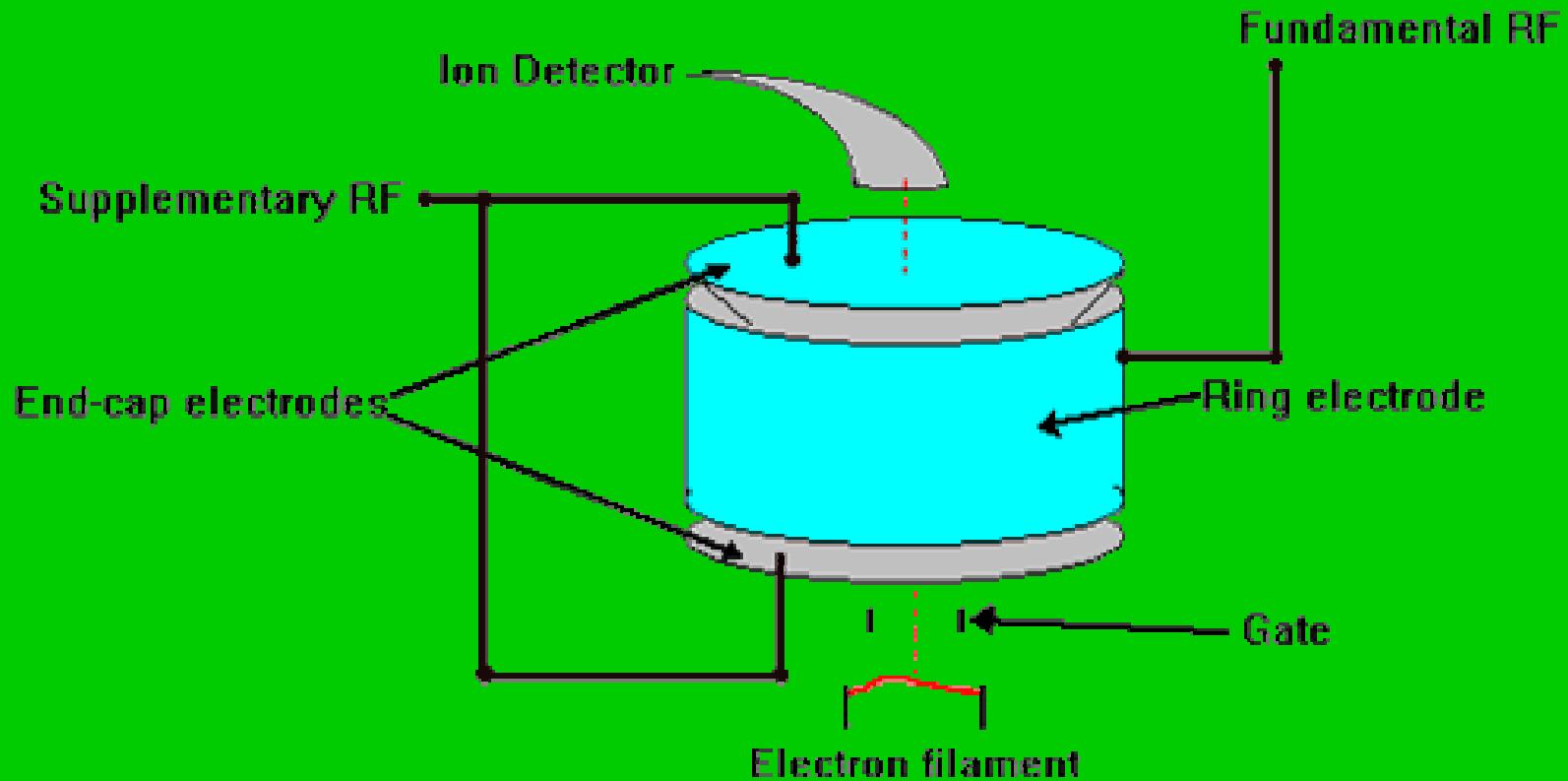
# Izbacivanje jona dostizanjem granice stabilnosti

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

Uticaj promene amplitude **rf** signala

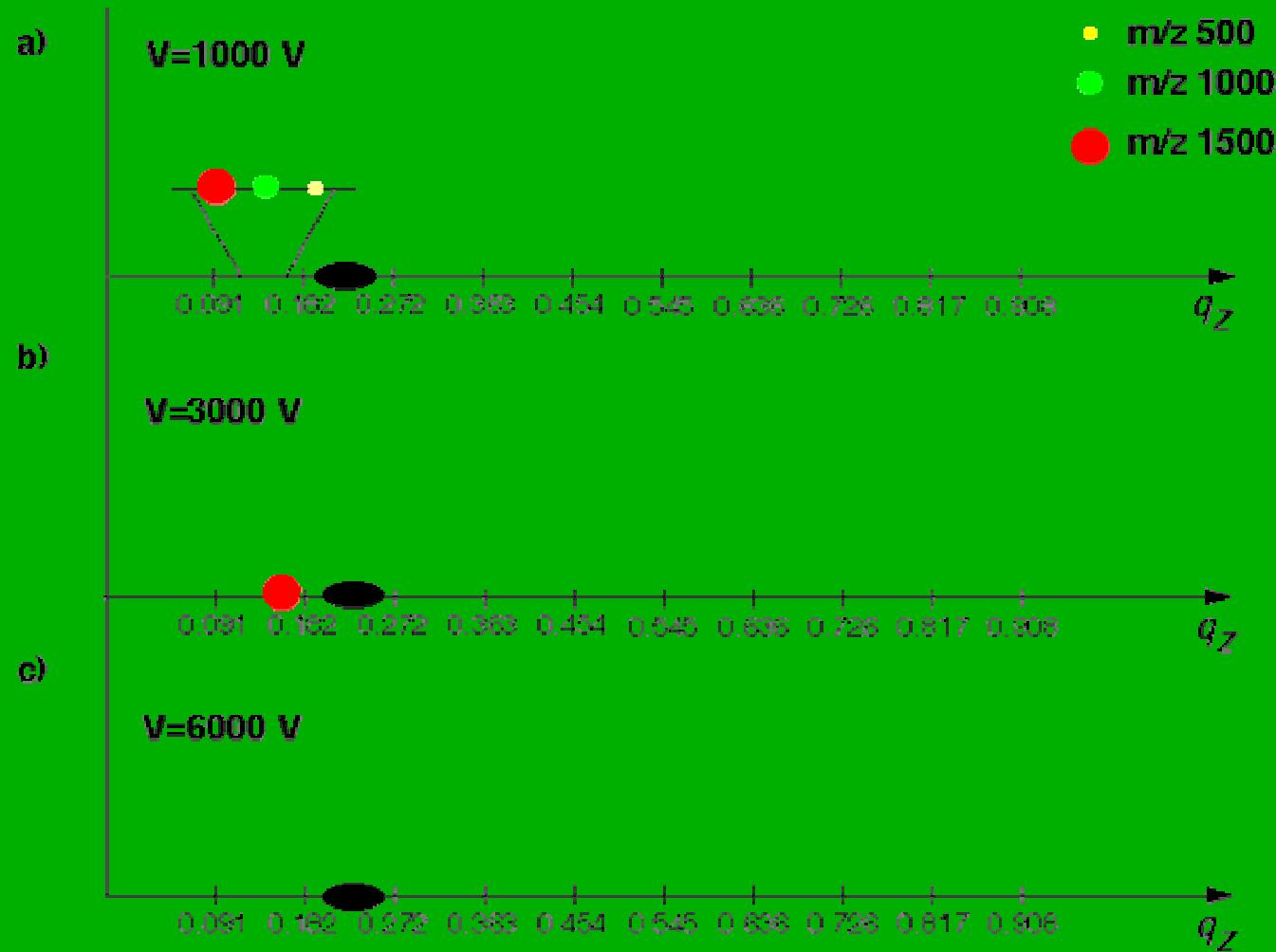


# Jonski trap-kvistor



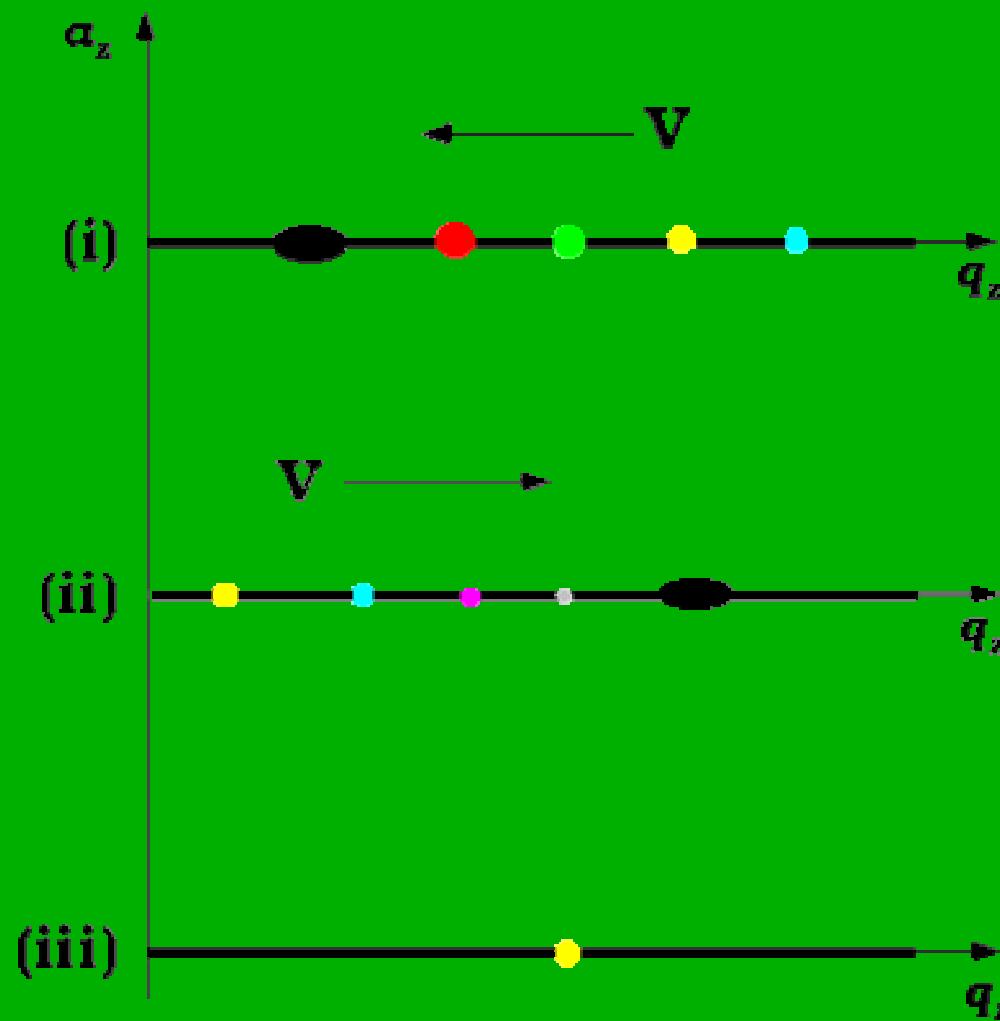
# Rezonantno izbacivanje jona “Resonant ejection”

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

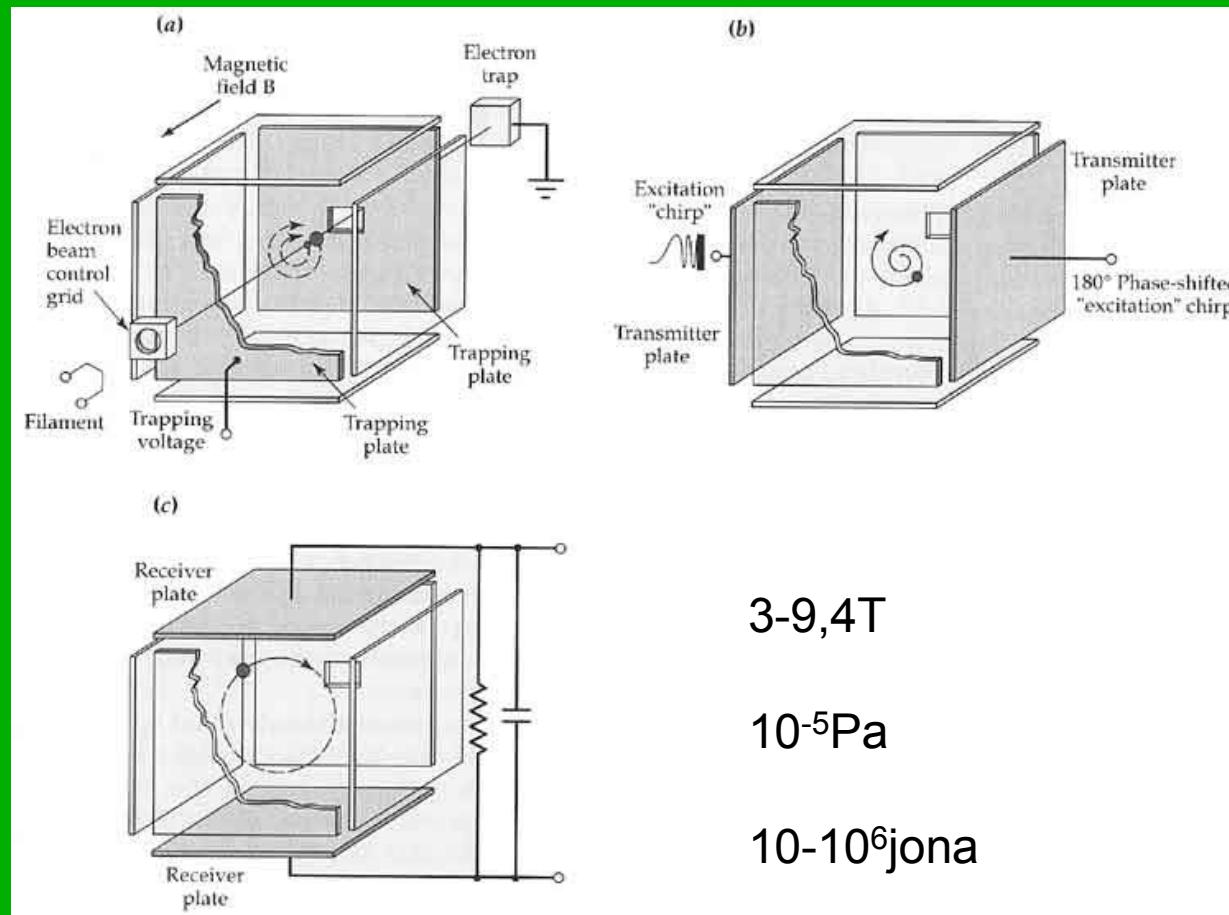


## Čuvanje odabralih jona

- (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

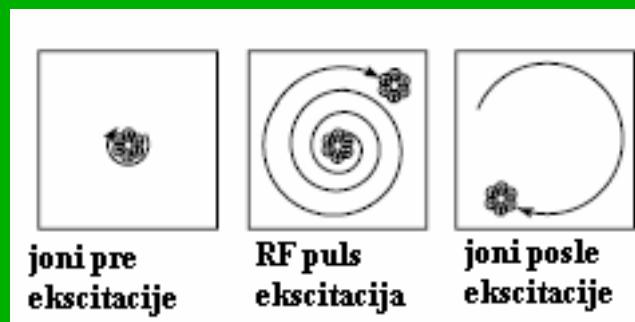


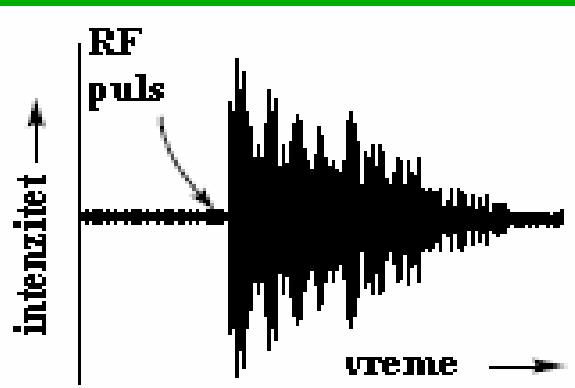
Dve strane kocke služe za pobuđivanje, dve za zarobljavanje jona i treći par za prikupljanje jona.

**Bez spoljašnjeg električnog polja, joni male energije putuju malim kružnim putanjama (oko 0,1 mm dijamетra) 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.

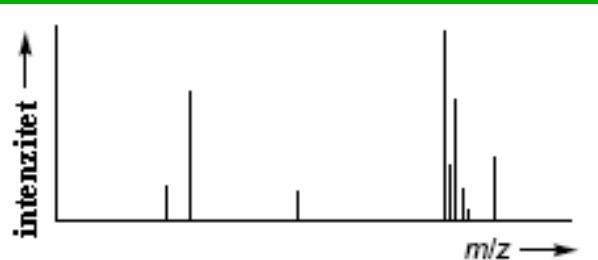




Umesto eksitacije impulsom jedne frekvencije, primenjuje se brzo skanirajuća velika oblast frekvencija (1 do 2 ms), ekscitujući sve jone koji imaju ciklotronske frekvencije u oblasti skanirajućih frekvencija na istoj putanji.



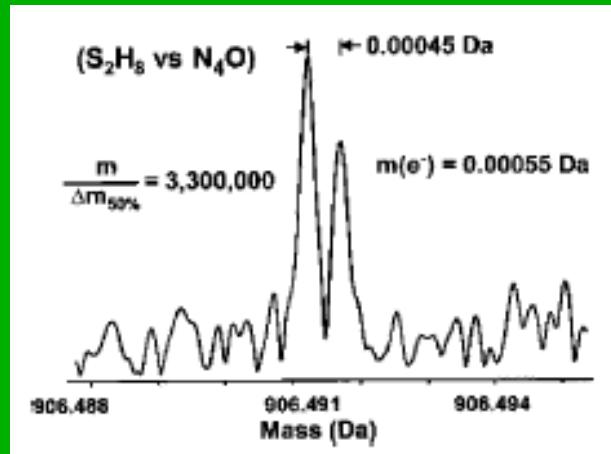
$$r = \frac{V_o T_{exc}}{B_o}$$



Ukupni signal koji izlazi iz ćelije je superpozicija ciklotronskih frekvencija svih jona.

Primenom Furijeove transformacije na složeni signal se dobijaju frekvencije koje odgovaraju ukupnom signalu, a odatle i maseni spektar.

# FT-ICR-MS-ogromna rezolucija



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

## Prednost

- Ekstremno visoka rezolucija
- Amol konc.
- Din. obl. do 10<sup>5</sup>
- MS/MS

## Nedostaci

- **Skupa**
- **Potrebni superprovodni magneti**
- **Spora MS/MS**

# FT-jon ciklotron analizator



# 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 vakuma

# Tandem Masena Spektrometrija (MS/MS ili MS<sup>n</sup>)

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

## Metastabilni joni

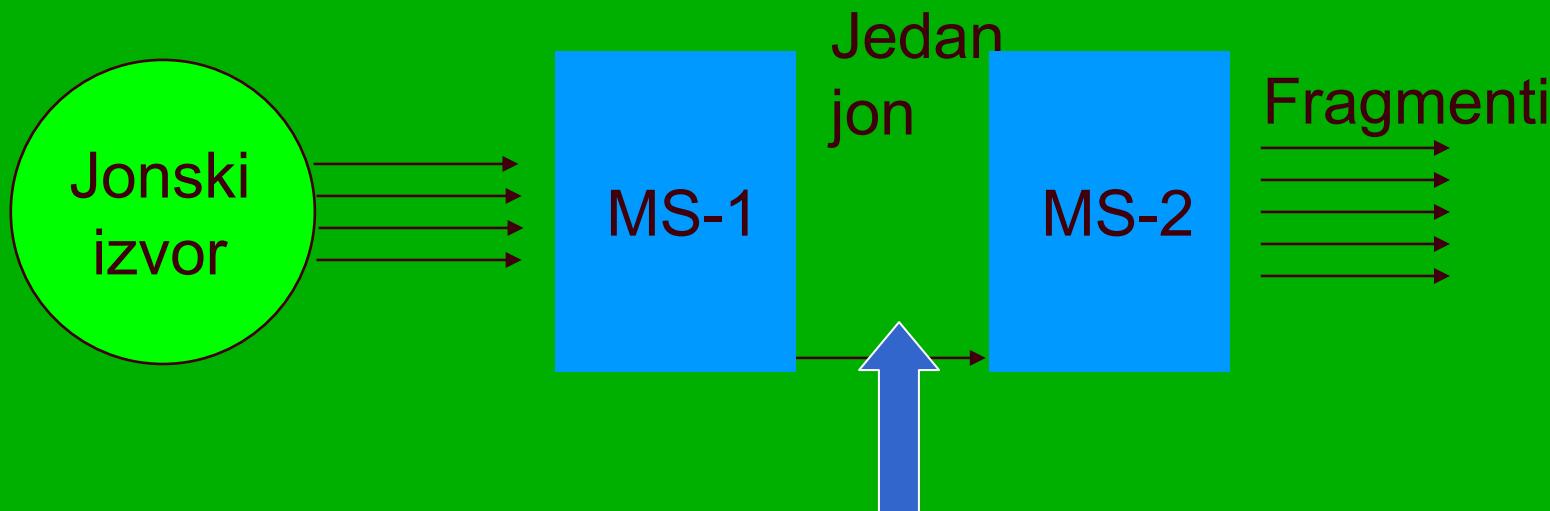


metastabilna fragmentacija :  $m^* = \frac{m_2^2}{m_1}$

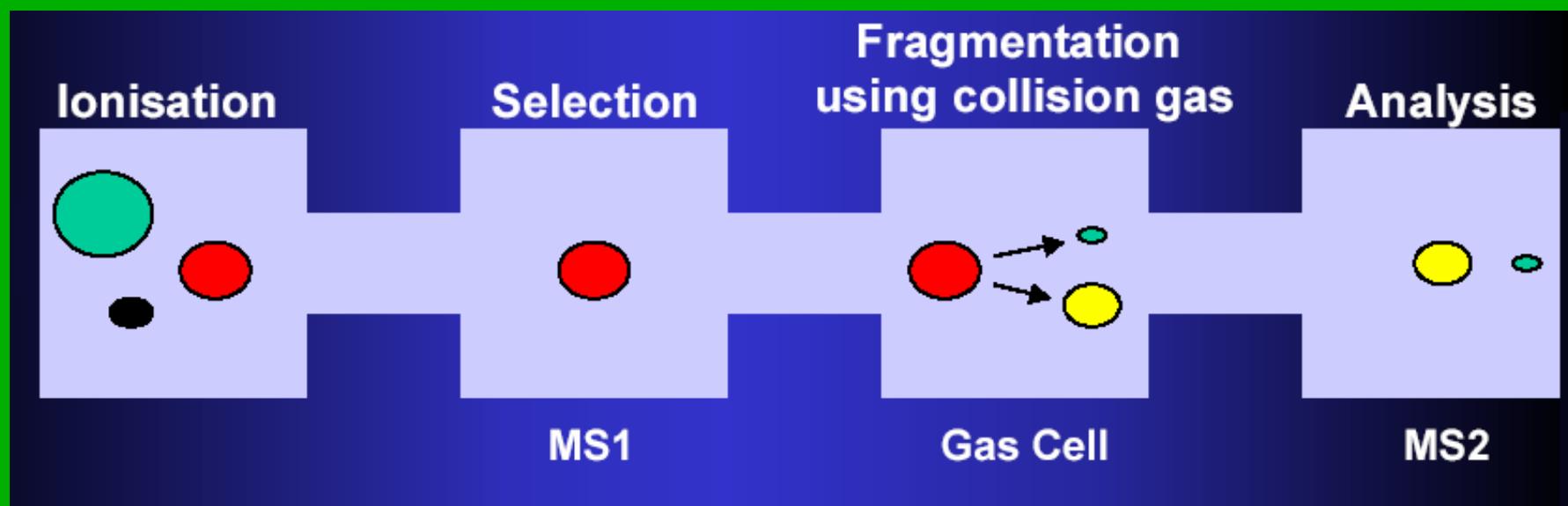
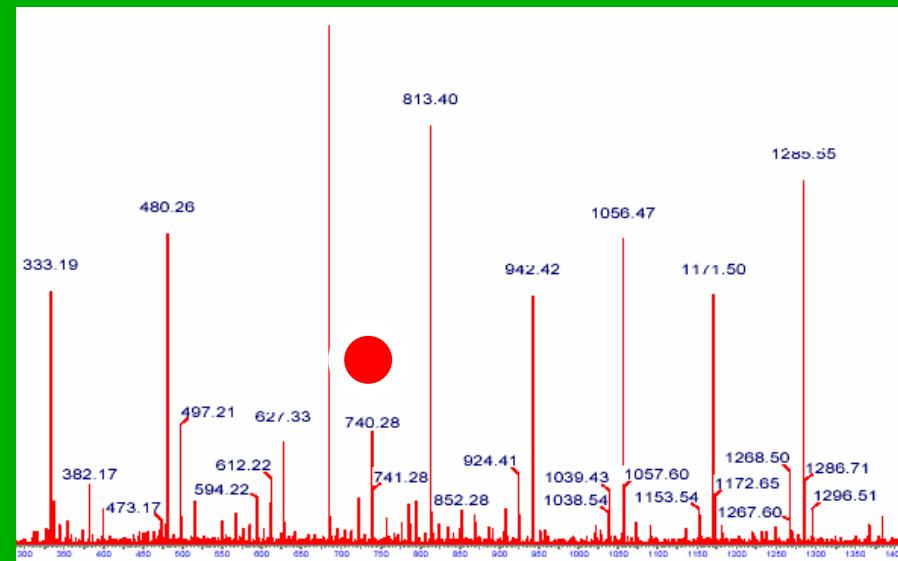
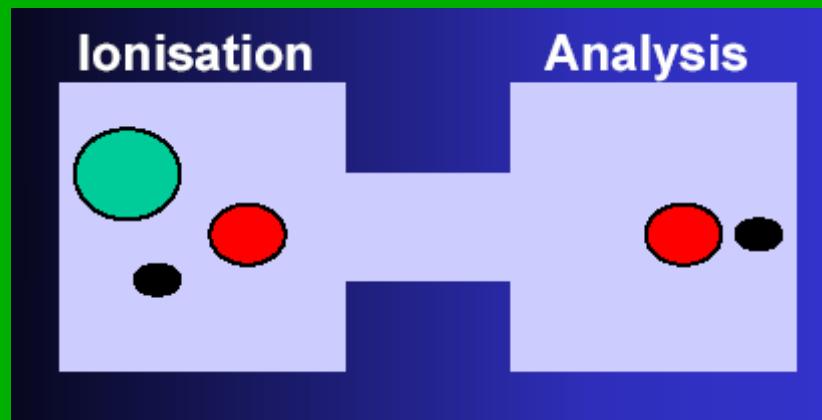
# Šta je MS/MS-tandem maseni spektrometar?

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

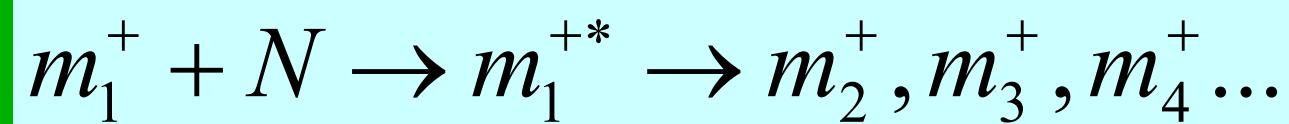
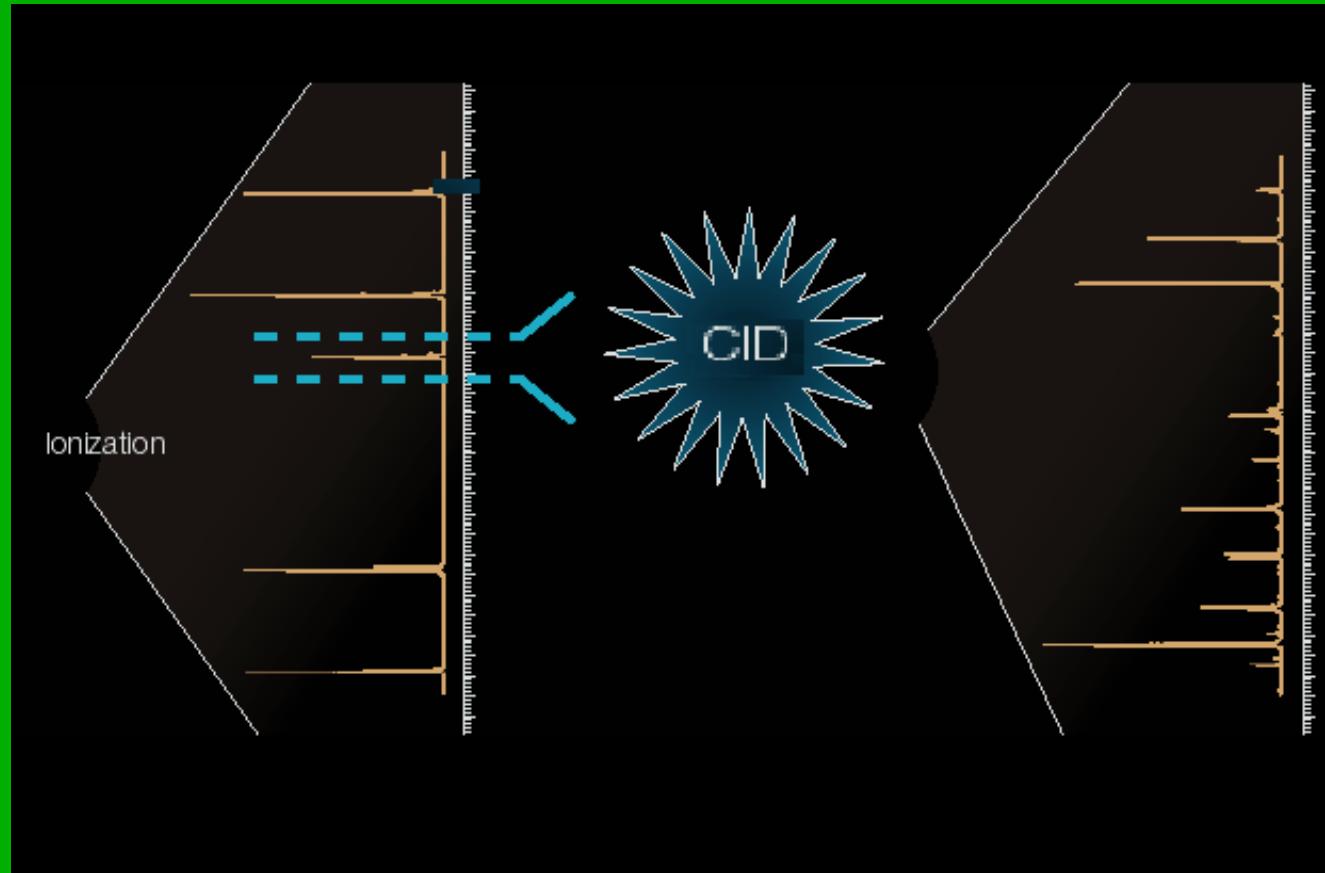


# Načini aktivacije jona

- **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)

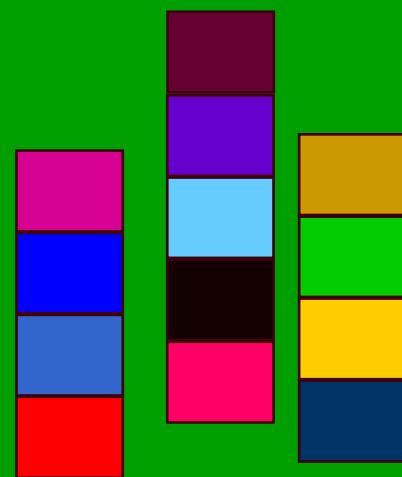
# MS/MS-CID

*(Collision Induced Dissociation)*



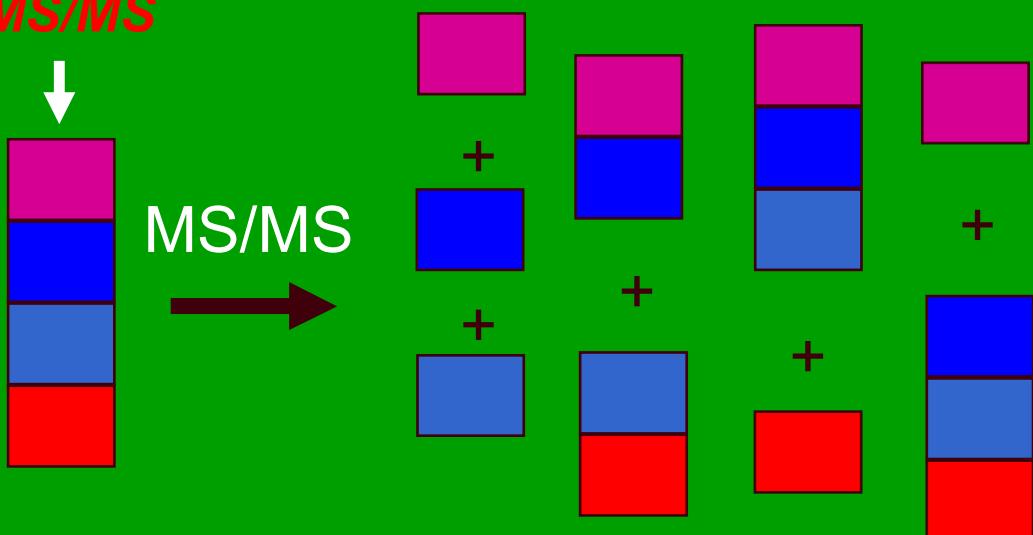
# Šta je MS/MS?

## Smeša peptida



# Imamo samo mase za početak

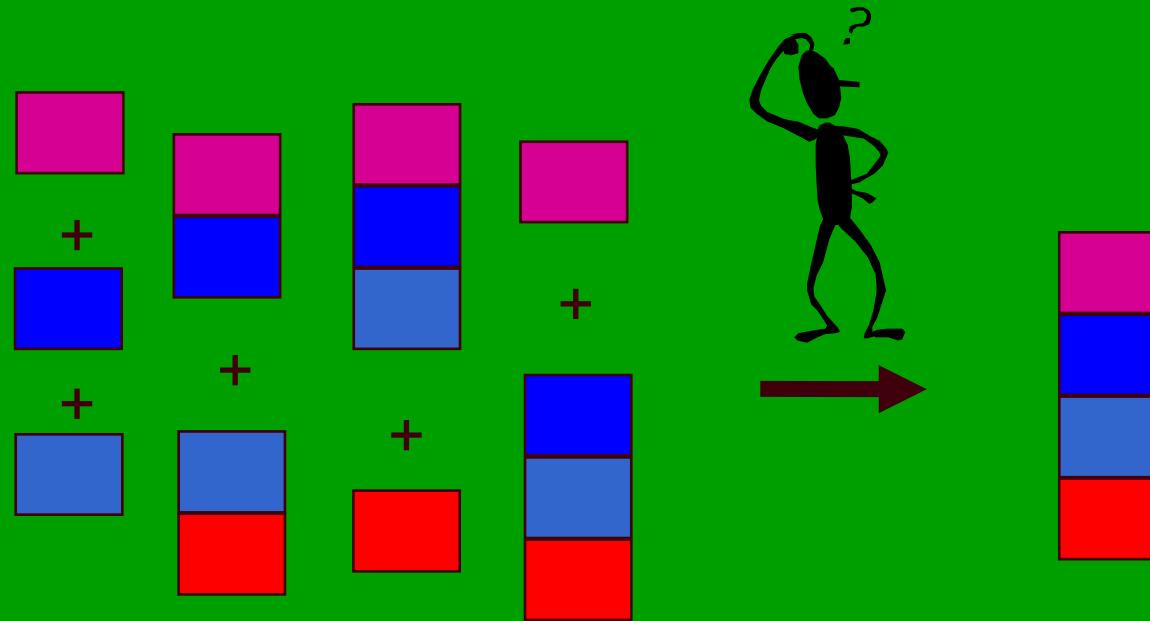
MS/MS



Mase svih  
fragmenata daju  
jedan MS/MS  
spektar

# Interpretacija jednog MS/MS spektra

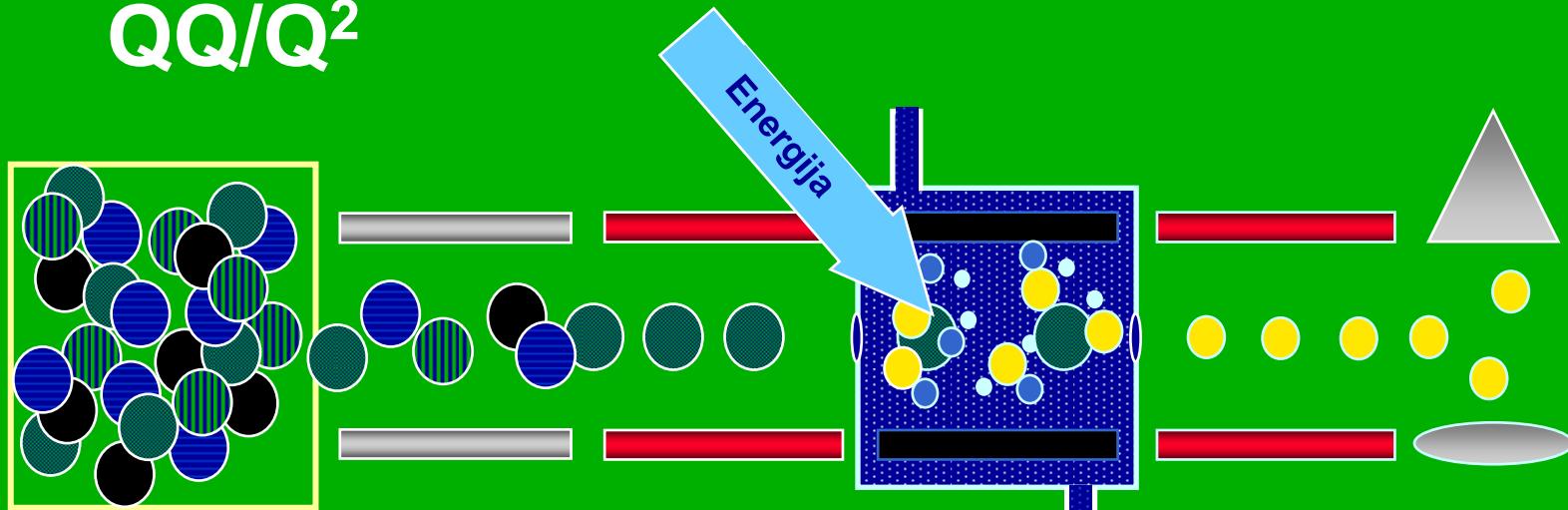
## Dobijanje informacije o strukturi je analogno rešavanju pazla



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

# KVADRUPOLNI MS/MS (u prostoru):

$QQ/Q^2$



$QQQ/Q^{30}$   
ION  
SELECTOR

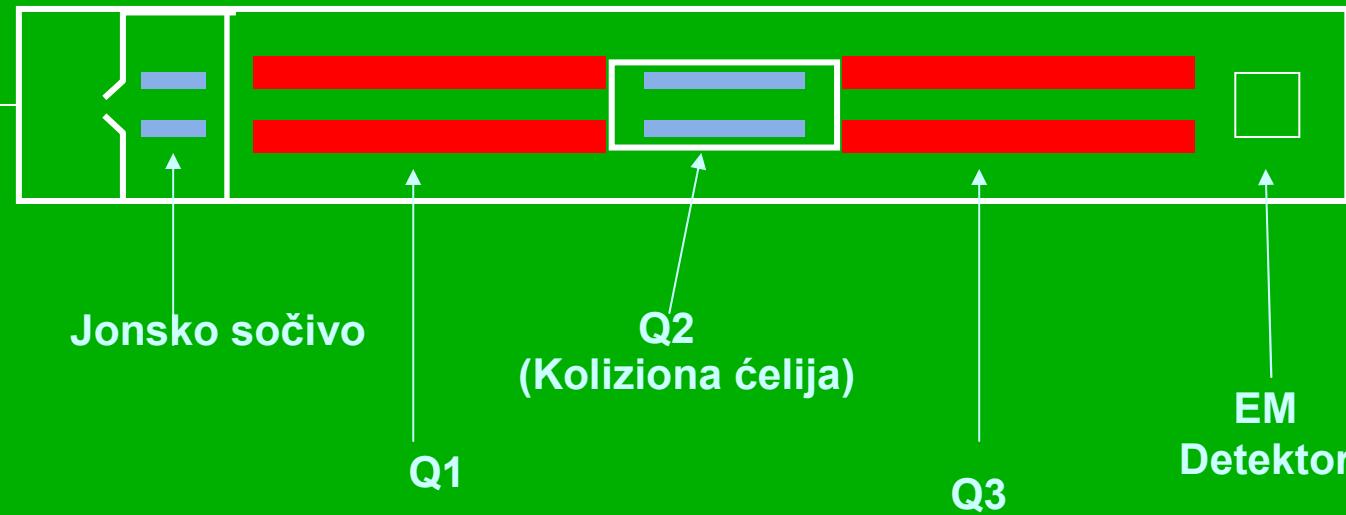
$Q_1$

$Q_2$   
Ar

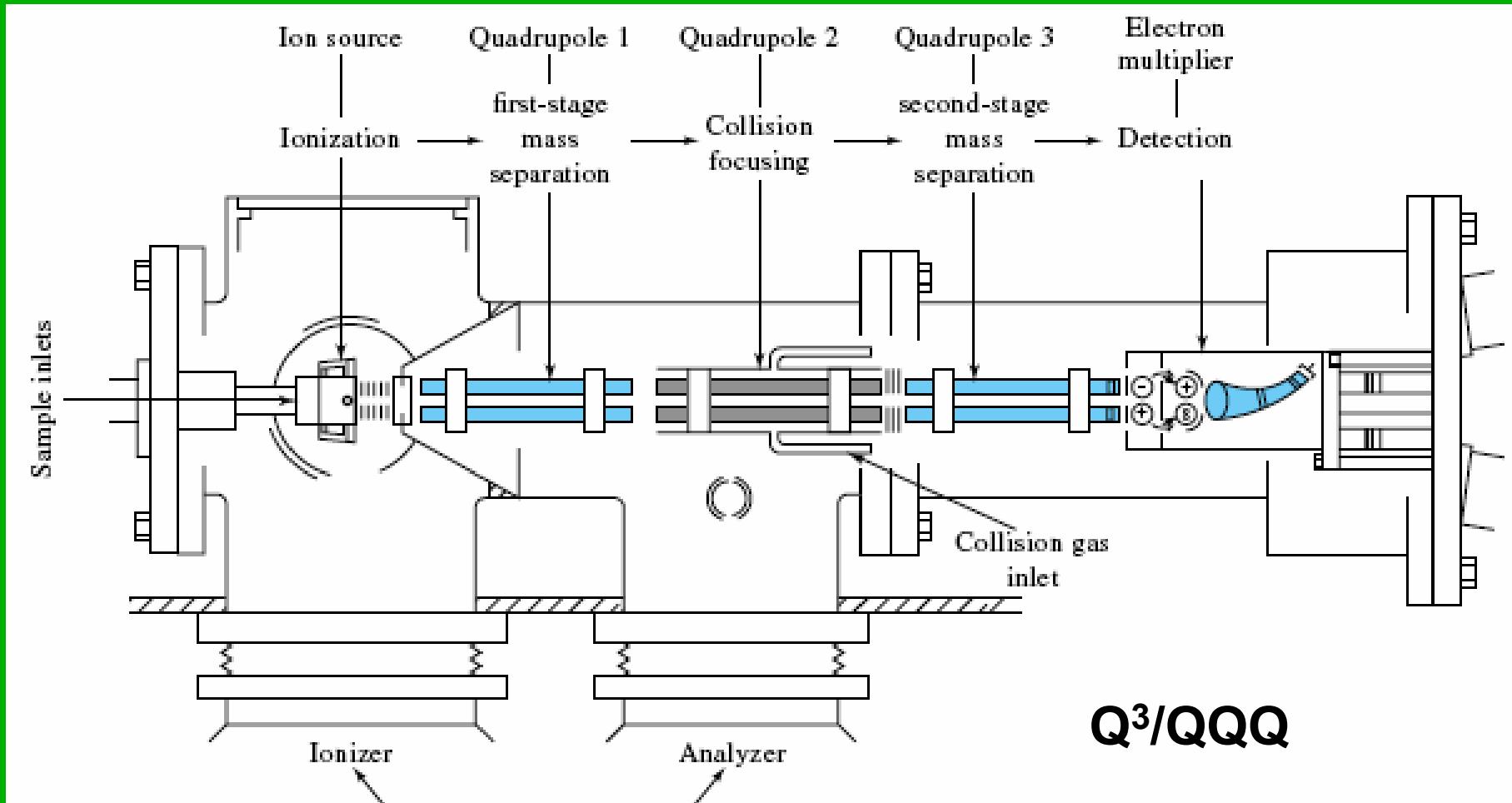
$Q_2$

DETECTOR

Ulez uzorka

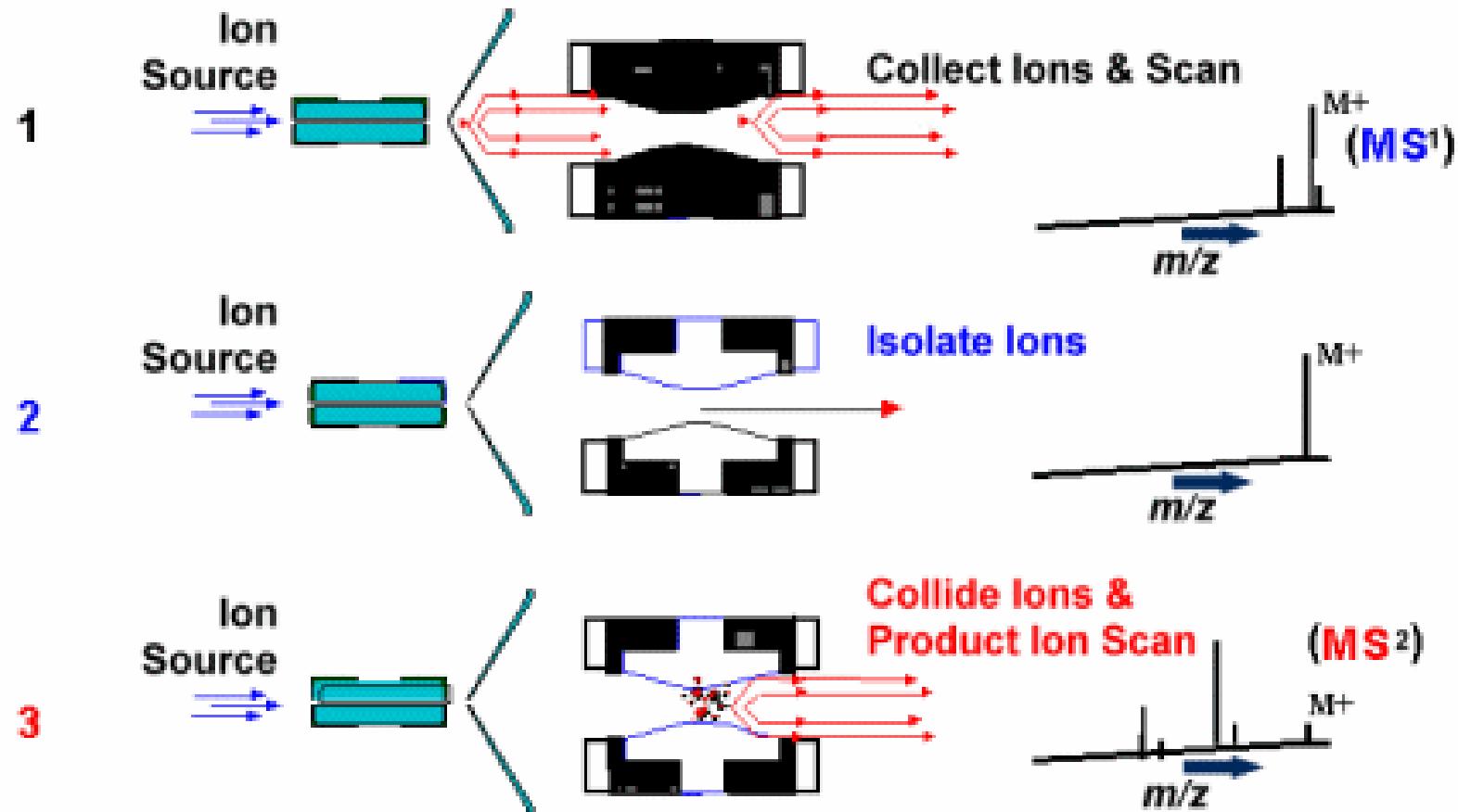


Tandem MS/MS **u prostoru** najčešće koriste magnetne(B), elektrostatičke(E) ili kvadrupolne (Q) analizatore (n=3,4)



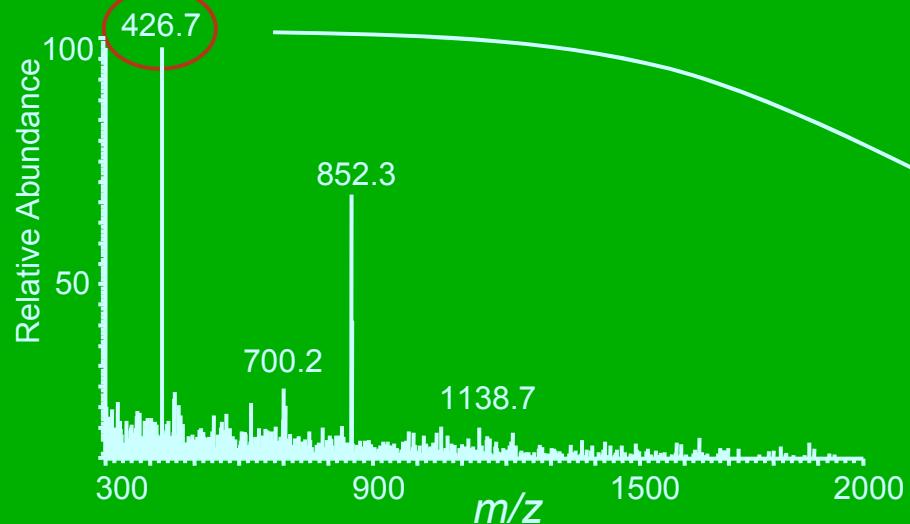
# Tandem MS u vremenu (n do 10)

## Ion Trap MS



# Tandem Masena spektrometrija sa jonskim trapom

1) Registruje se čitav spektar



2) Izoluje se roditeljski ion:  
tj., prekursor  $m/z 426.7 \pm 1.5$

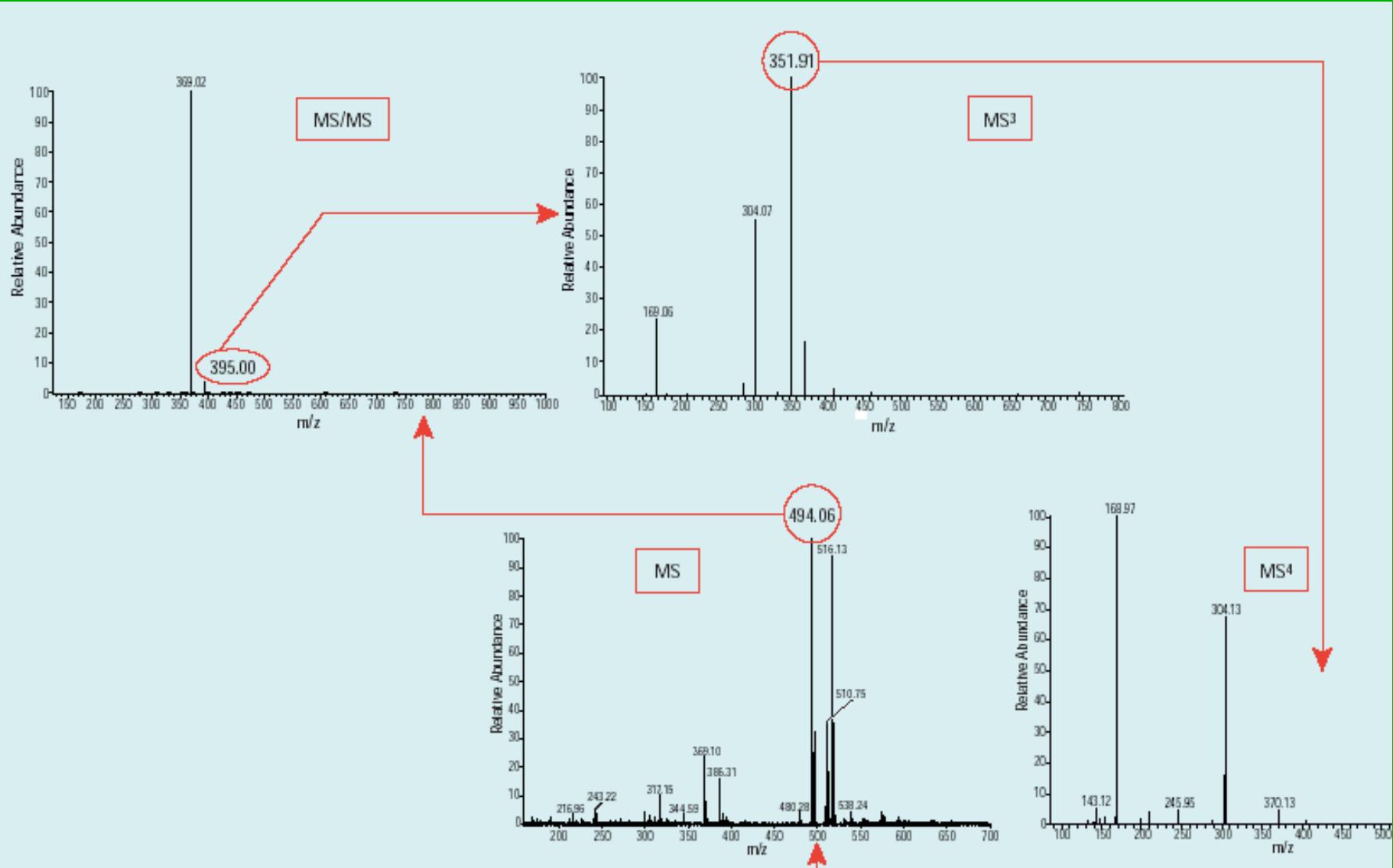


3) Dodaje mu se energija u sudarima



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

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



**MS 1**

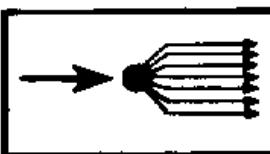
**COLLISION  
CELL**

**MS 2**

## **PRODUCT ION SCAN**



**SELECTED  
 $m/z$**



**CID**

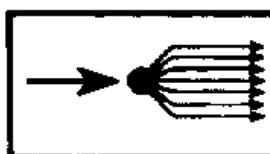


**SCANNED**

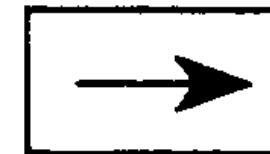
## **PRECURSOR ION SCAN**



**SCANNED**



**CID**

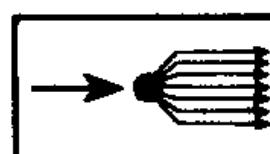


**SELECTED  
 $m/z$**

## **NEUTRAL LOSS SCAN**



**SCANNED  
 $m/z = X$**



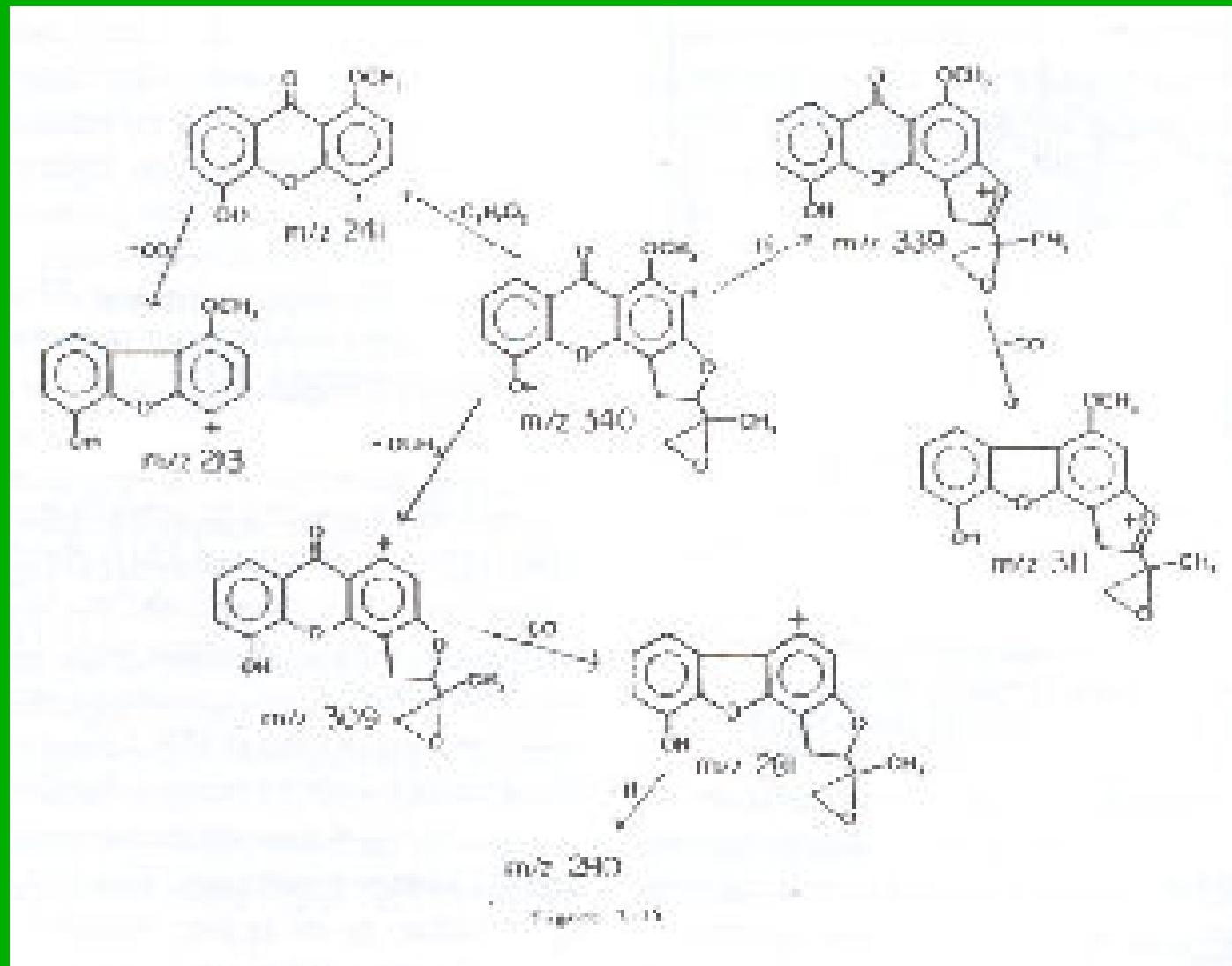
**CID**



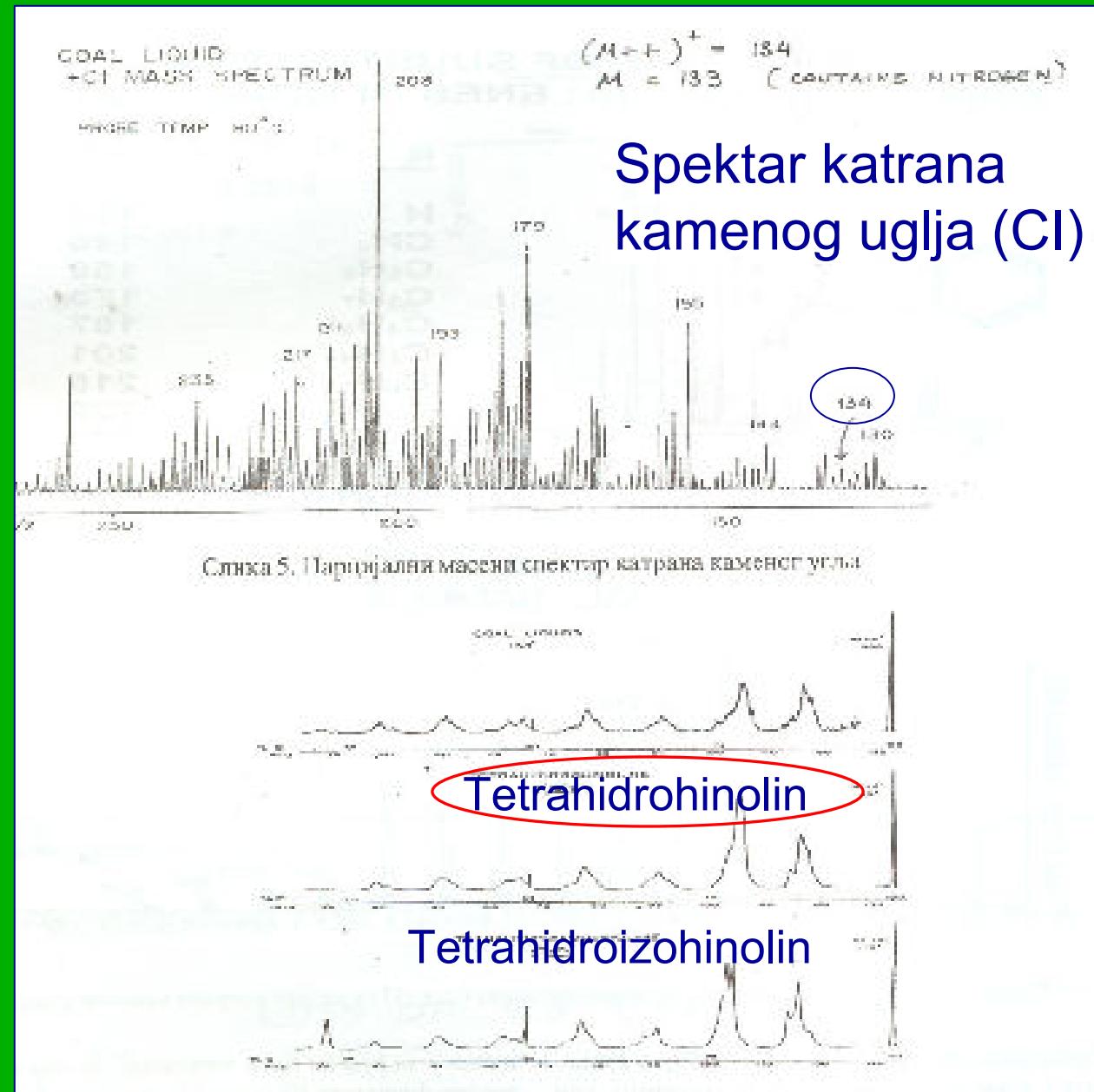
**SCANNED  
 $m/z = X-a$**

**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

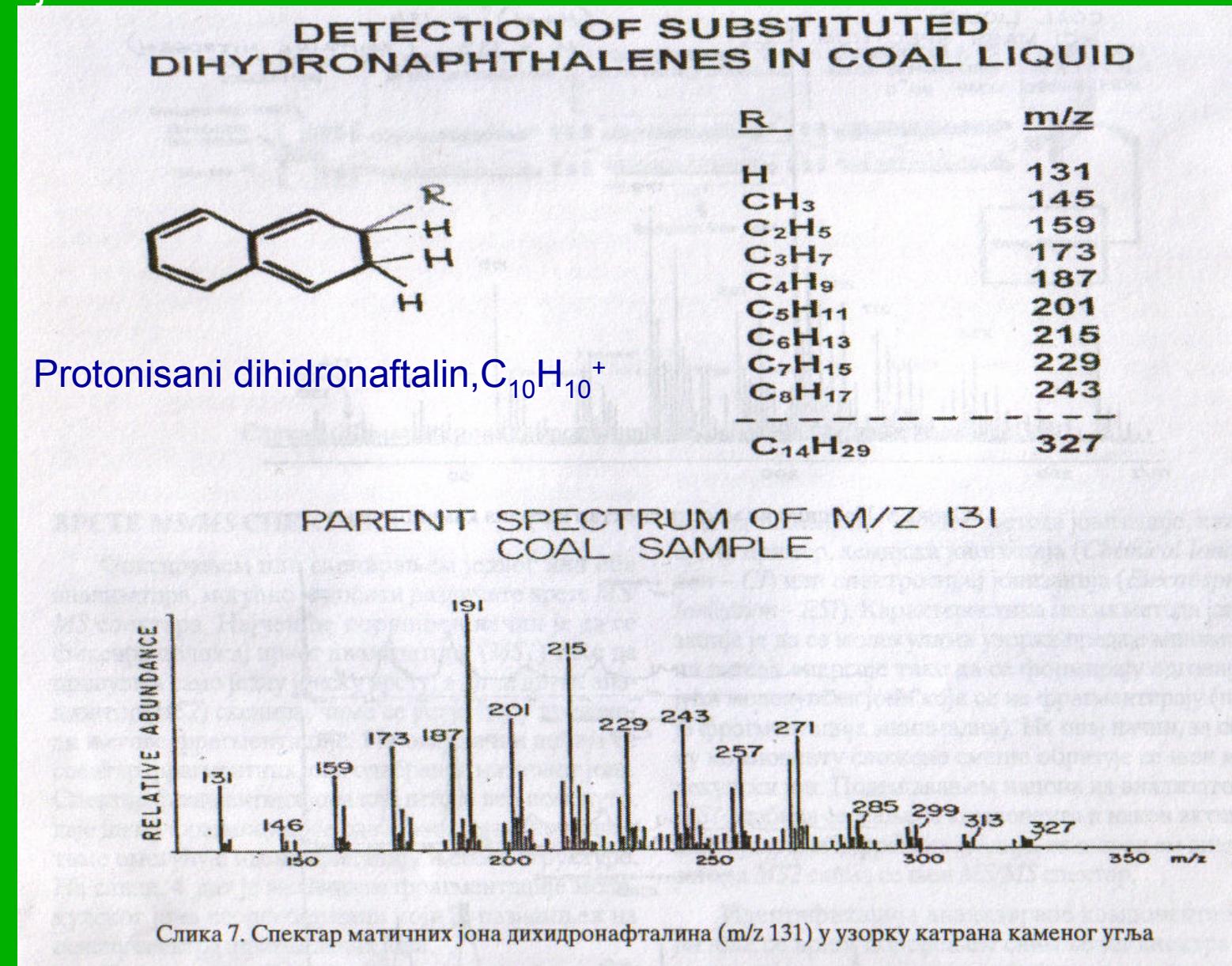
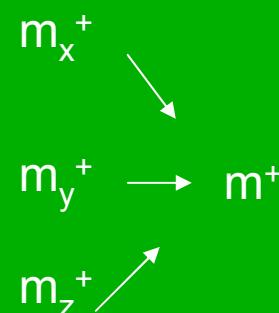


## Spektar katrana kamenog uglja (CI)

Analiza složenih smeša

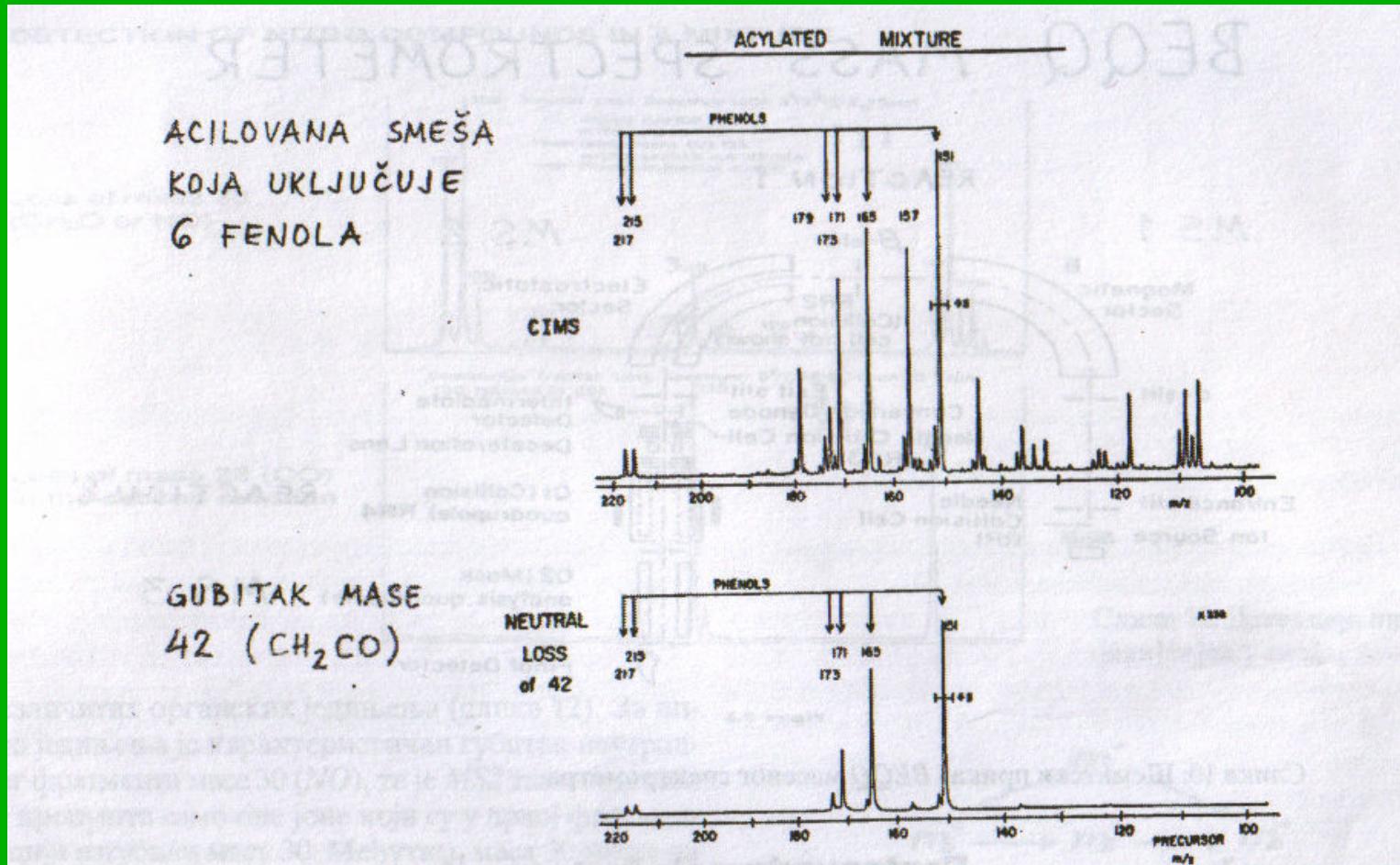
Uzorak se ionizuje nekorak od mekih metoda i Podešavanjem napona na M1 odabira željena komponenta koja se dalje fragmentira i analizira u M2. Identifikacija poređenjem sa spektrima iz biblioteke

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  $m^+$



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  $\text{CH}_2\text{CO}$

# Primena MS/MS

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

# Primene masene spektrometrije

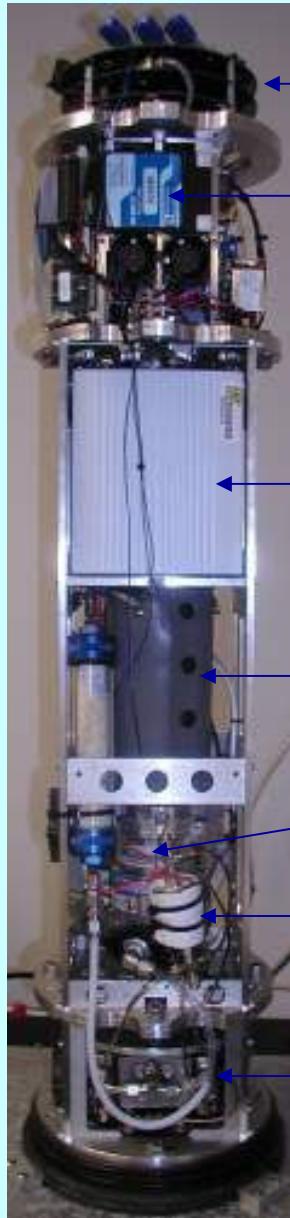
- Analiza u organskoj, neorganskoj i bioorganskoj hemiji
- Analiza geoloških uzoraka
- Kontrola u naftnoj, hemijskoj i farmaceutskoj industriji
- Analiza površina
- Zaštita okoline
  - Pesticidi u hrani
  - Zagađenje zemljišta, vazduha i voda
- Forenzička analiza/klinička
- Nauka o materijalima
- Analiza 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

# Principle Features of UMS



Type	Linear quadrupole mass filter
Mass range	200 amu
Inlet System	Membrane introduction system
Power consumption	85-90 Watts
Voltage of operation	24 VDC or 110 VAC
Deployment time	Configuration dependent
Dimensions	$\varnothing$ 19 cm (7.5") L 105 cm (41")
Weight	33 kg (72.7 Lb)
Depth	>1000 m
DSL tether range	~1600 m (1 mile)

# New 200 *In Situ* Maseni Spektrometar



Služi za određivanje:

Rastvorenih gasova ( $N_2, O_2, CO_2$ ,

Ar,  $CH_4, H_2S, CHCl_3$ ,

Isp. org.jed.(toluen, benzen, dimetil sulfid)

Jedinjenja većih MW (PCB, pesticidi, lekovi, toksini

# The Rosetta Mission

- Approved in Nov 1993
- Hardware design was frozen in 2000
- Launched Mar 2004 on Ariane 5G+ in Kourou, French Guyana
- Designed to meet up with comet Churyumov – Gerasimenko ('67P') in May 2014
- First project ever to attempt *in-situ* analysis of comet !!
- 3000kg launched (100kg lander, 165kg scientific instruments)
- Fly-by several other comets until the landing
- Fully automatic landing after determining a suitable landing site
- Total cost: \$ 970-980 million



Ariane - launch

# Rosetta ‘Orbiter’

- 11 experimental probes
- ALICE – ultraviolet imaging spectrometer
- CONSERT – radio wave transmission/reflection by nucleus
- COSIMA – ToF MS (up to 2000Th) of dust particles (organic??)
- GIADA – number, mass, momentum and velocity distribution
- MIDAS – dust environment: population, size, volume and shape
- MIRO – microwave to determine abundances of gases
- OSIRIS – optical, spectroscopic and infrared imaging system
- ROSINA – ion and neutral spectrometer
- RPC – physical properties of nucleus, structure of inner coma etc.
- RSI – radio signal shift to measure mass, density and gravity to determine orbit
- VIRTIS – visible and infrared spectrometer to map temperature, identify gases, examine physical conditions on the nucleus and determine landing site