



Masena spektrometrija- savremeni trendovi

Doktorske studije-
Nove fizičkohemijske metode

Maj 2019

Ivana Holclajtner-Antunović

Uvod

Jonski izvor:

- Jonski izvori bez organskog matriksa pri sniženom pritisku (SALDI) i pri ambijentalnim uslovima
- SIMS-Masena spektrometrija sa sekundarnim jonima

Analizatori:

- Jonski trap-kvistor
- 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
Aston	 1919 određivanje atomske mase i izotopskog sastava pomoću MS	1922 Hemija
Paul and Steinwedel	 1953 Quadrupolni analizatori	1989 Fizika
Tanaka, Karas i Hillenkamp	1983 Desorpcija laserom iz matrice (MALDI) 	2002 Hemija
Fenn	 1984 ESI za biomolekule	2002 Hemija

Nobelove nagrade

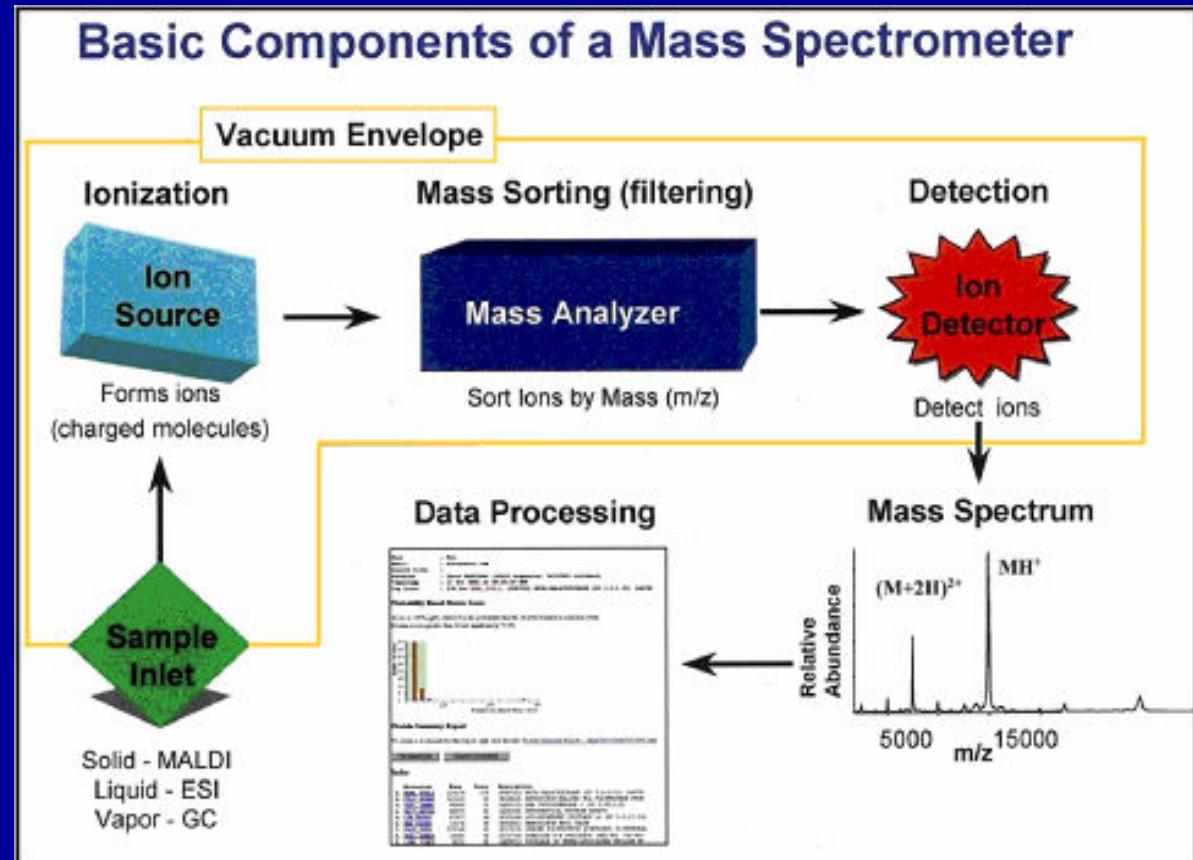
- John B. Fenn and Koichi Tanaka "for their development of soft desorption ionisation methods for mass spectrometric analyses of biological macromolecules" 2002-hemija
- Hans G. Dehmelt and Wolfgang Paul "for the development of the ion trap technique" 1989-fizika.
- Francis William Aston "for his discovery, by means of his mass spectrograph, of isotopes, in a large number of non-radioactive elements, and for his enunciation of the whole-number rule" 1922-hemija
- Joseph John Thomson "in recognition of the great merits of his theoretical and experimental investigations on the conduction of electricity by gases" 1906-fizika

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.

Jonizacija u gasnoj fazi

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

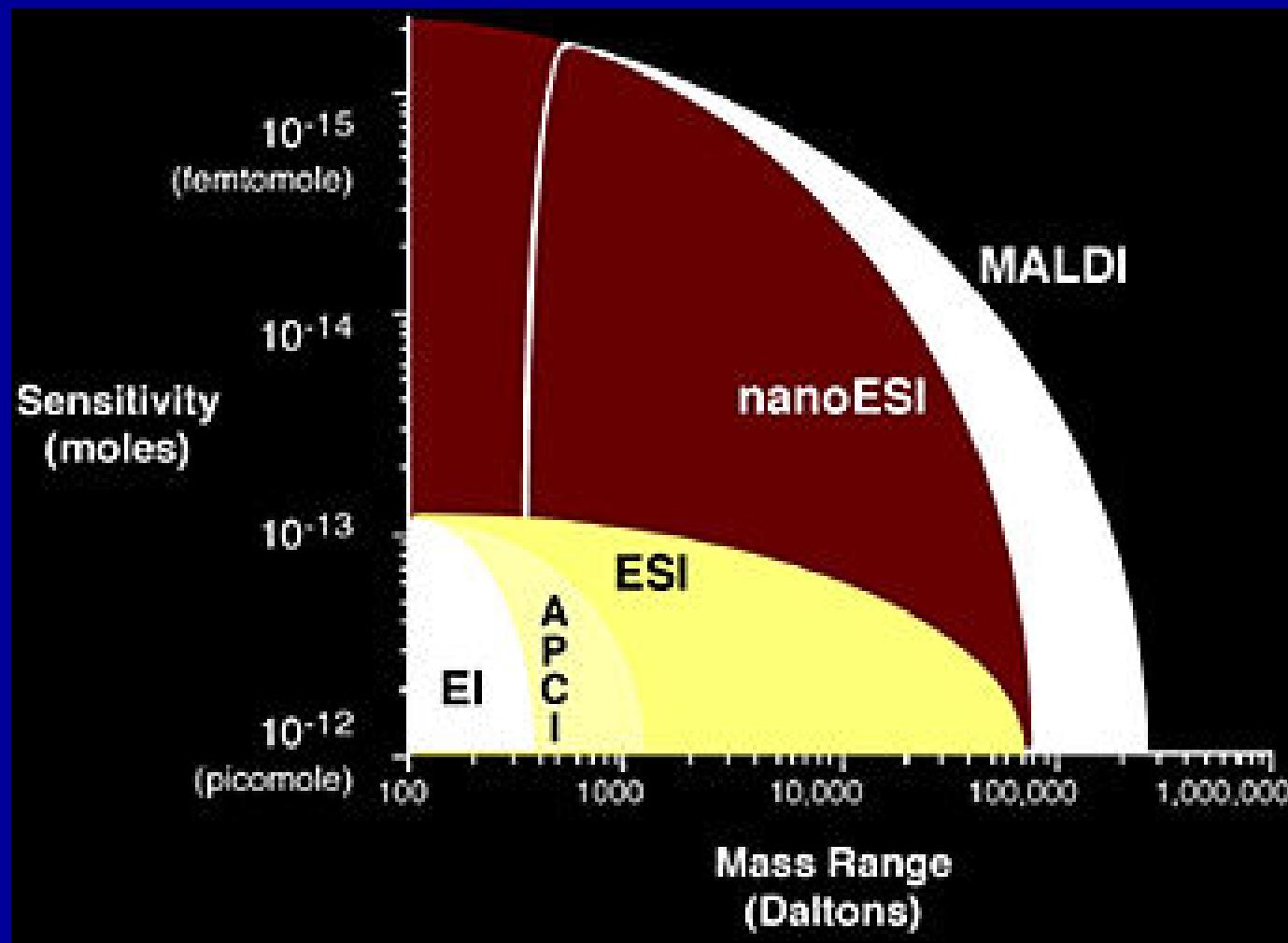
Desorpcioni izvori jona

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

Aerosol rastvora (Spray Methods)

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

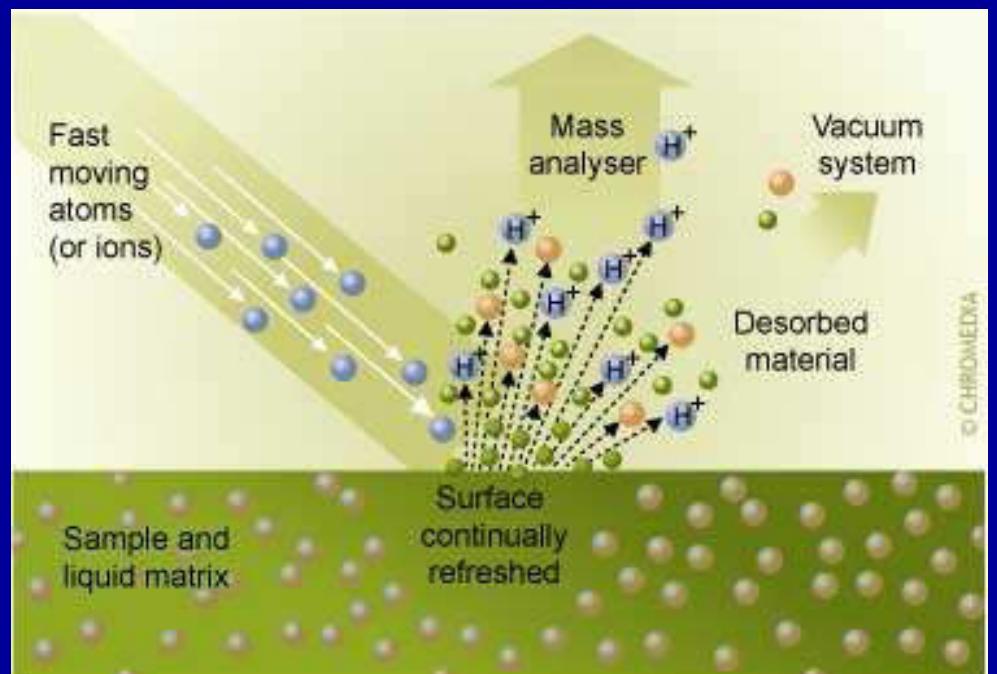
Poređenje granica detekcije i oblasti masa koje se mogu postići različitim metodama jonizacije



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

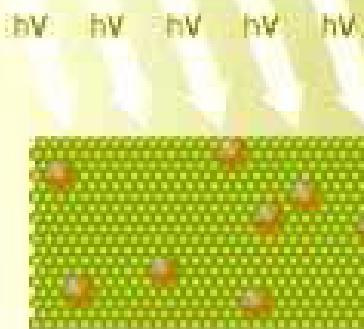
Brzo atomsko/jonsko bombardovanje- FAB i FIB

FAB zahteva direktno unošenje probe u jonski izvor i korišćenje visokoenergetskih snopova **Xe atoma, jona Cs⁺ ili masivnih glicerol-NH₄⁺ klastere (MCI)** da bi se raspršavali (spaterovali) uzorak i matriks sa površine probe (**m-nitrobenzil alkohol (NBA) i glicerol**).

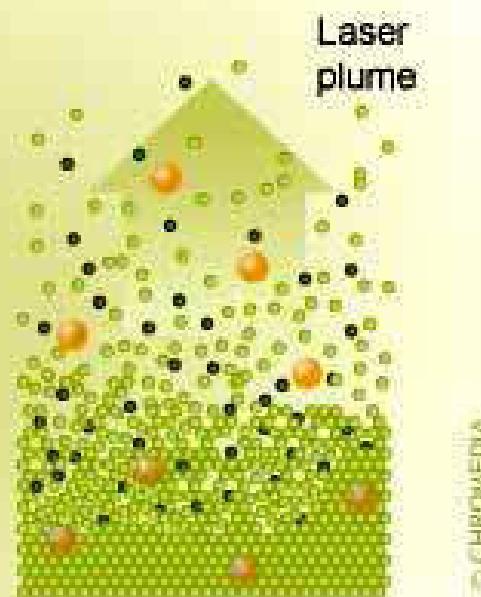


MALDI-Laserska desorpcija/jonizacija potpomognuta matriksom

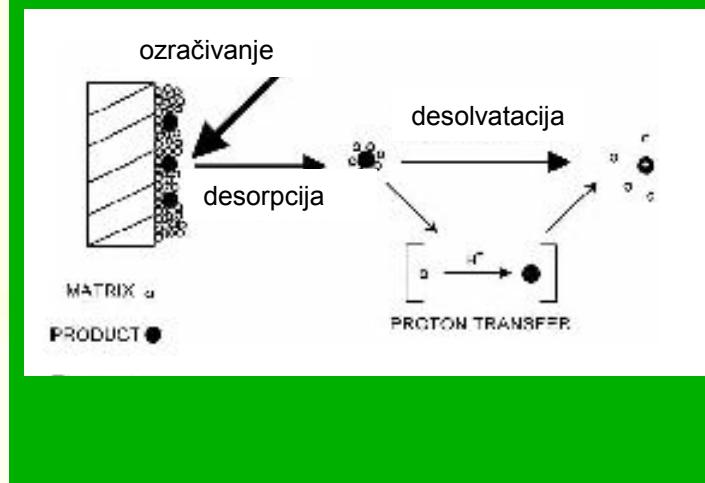
- Analyte molecule
- Matrix
- Excited matrix



Before laser desorption



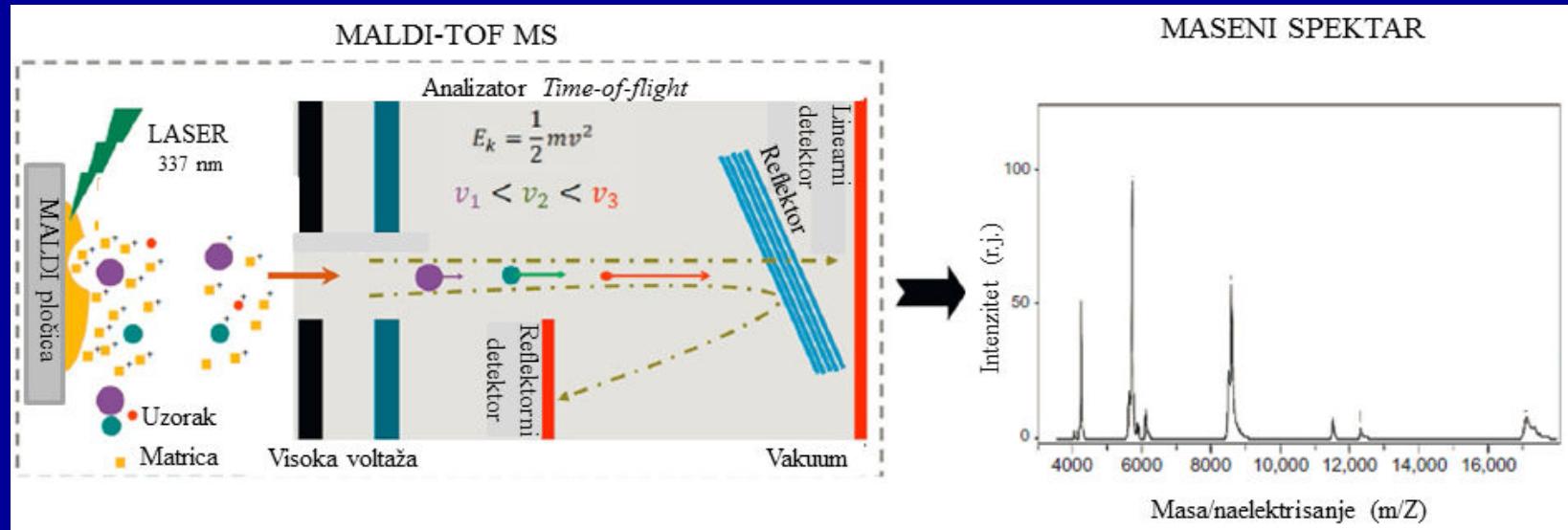
After laser desorption



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

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 ₂	10,600	100	2.7 0.12





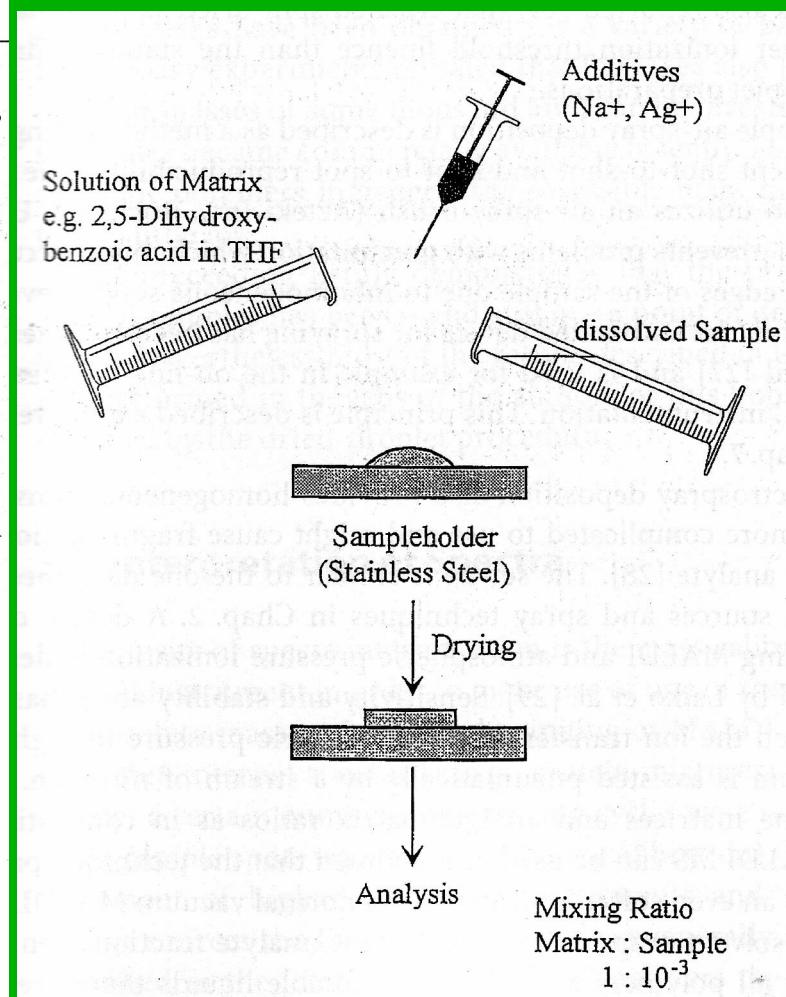
Osobine matriksa

- visok optički apsorpcioni koeficijent (matrica mora dobro apsorbovati na talasnoj dužini zračenja laserskog pulsa),
- visoka toplotna provodljivost koja omogućava brz porast temperature na površini tokom procesa desorpcije/jonizacije laserom i efikasni prenos energije sa površine supstrata do ispitivanog molekula sa minimalnim procentom raspadanja analita,
- lako isparljiv, ali dovoljno stabilna u vakuumu ili pri pripremi uzorka,
- matrica mora dobro izolovati molekule analita jednog od drugog,
- neophodna je kokristalizacija matice sa molekulima analita,
- ne sme produkovati jonske interferencije sa molekulima ispitivanog uzorka

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 ₃ , 0 : acetone, DMSO, hexane, EtOH - : ACN, H ₂ O, HCOOH
HBM	170.05	4-Hydroxy-benzylidene malonitrile		+ : THF, DMA, EtOH, HFIP 0 : H ₂ O
CCA	189.17	α-Cyano-4-hydroxy cinnamic acid		+ : THF, DMF, EtOH, DMA, acetone 0 : xylene, toluene - : H ₂ O, HFIP, Cl-benzene
NA	223.23	9-Nitroanthracene		+ : toluene, THF, DMF, ACN, DMA, CHCl ₃ , DMSO, NMP, Cl-benzene, 0 : hexane, HFIP, EtOH, MeOH - : H ₂ O, HCOOH
HABA	242.23	2-(4-Hydroxy-phenylazo) benzoic acid		+ : THF, acetone, DMF, NaOH, NMP 0 : EtOH, HFIP - : CHCl ₃ , toluene, hexane, H ₂ O, ACN, HCOOH, xylene
DHB	154.13	2,5-Dihydroxy benzoic acid		+ : THF, acetone, DMF, EtOH, NaOH, NMP, H ₂ O/ACN 1:1 0 : H ₂ O, HFIP, toluene - : CHCl ₃ , Cl-benzene

Način pripreme uzorka



Jonski izvori bez organskog matriksa pri sniženom pritisku

SALDI-Laserska desorpcija/jonizacija potpomognuta površinom

Nano-struktuirani neorganski supstrati zahvaljujući svojim osobinama olakšavaju desorpciju i jonizaciju.

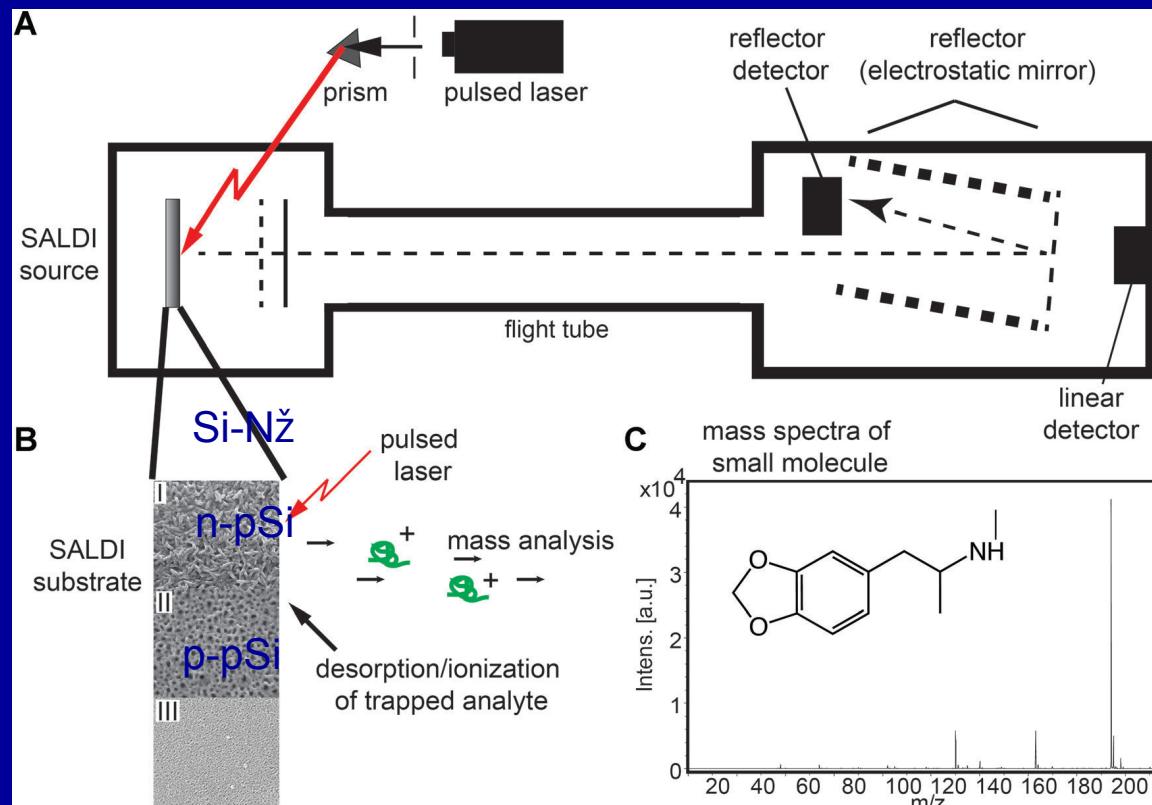
Koriste se i drugi akronimi kao DIOS, NIMS, NALDI

Bazirani su na:

- ugljeničnim i silicijumskim materijalima (grafen, ugljenične nano tube, fulereni, HOPG, nano dijamant, porozni Si)
- metali (Au, Se, kvantne tačke CdTe, Pt nanosundjeri)
- metalni oksidi (TiO_2 , ZnO , F_2O_3)
- hibridni materijali

Metoda pogodna za analizu malih organskih molekula (<700Da). Najčešće ugljenihidrati, proteini, peptidi, aminokiseline, lekovi...

SALDI-Laserska desorpcija/jonizacija potpomognuta površinom



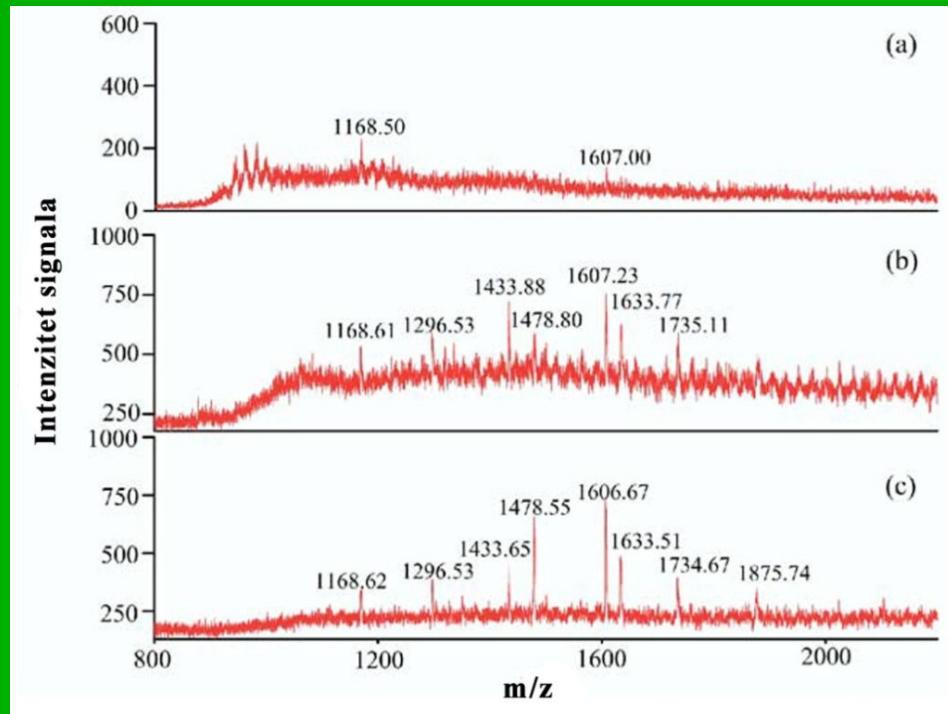
SALDI-TOF-MS

Supstrat: porozni Si

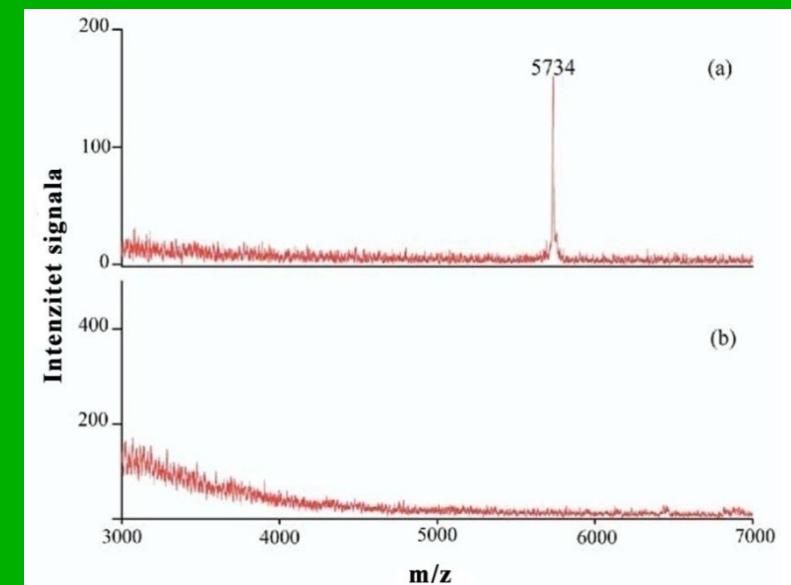
Analit: ekstazi

MDMA (3-4 methylene-dioxymethamphetamine)
poznat kao ekstazi

Ugljenične nanotube

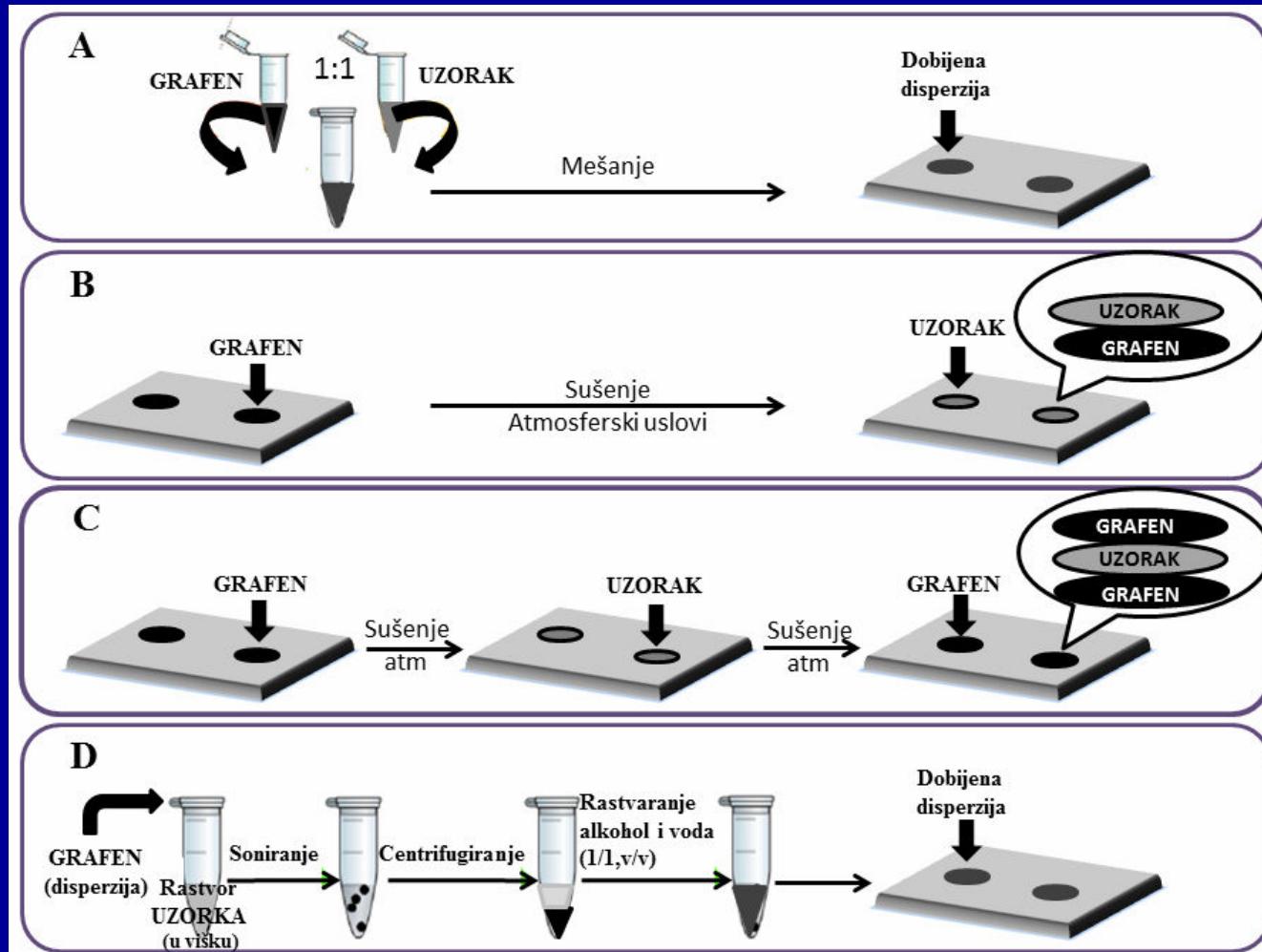


MS proizvoda digestije citohroma C tripsinom (a)bez matrtiksa, (b) sa CNT na pH 7,9 (b) i (c) na pH 4 (limunska kiselina)



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

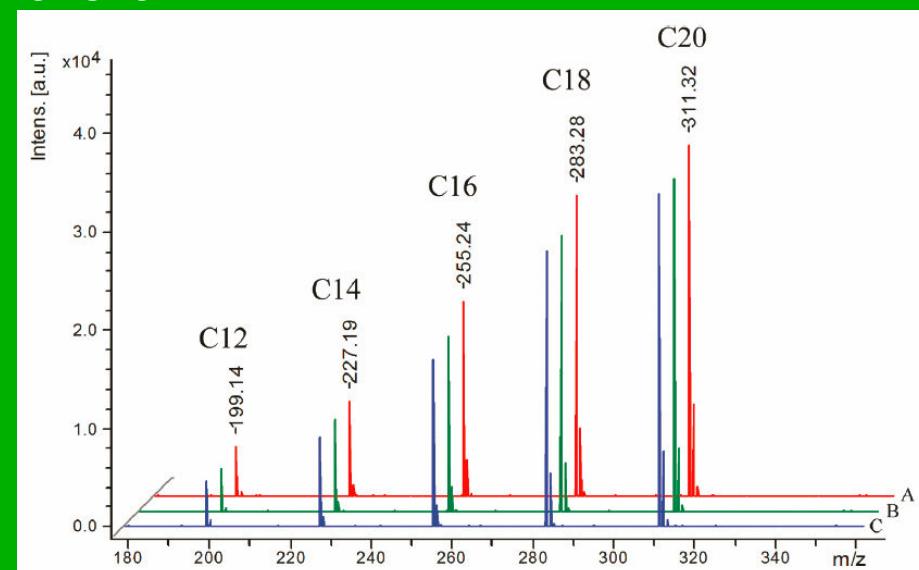
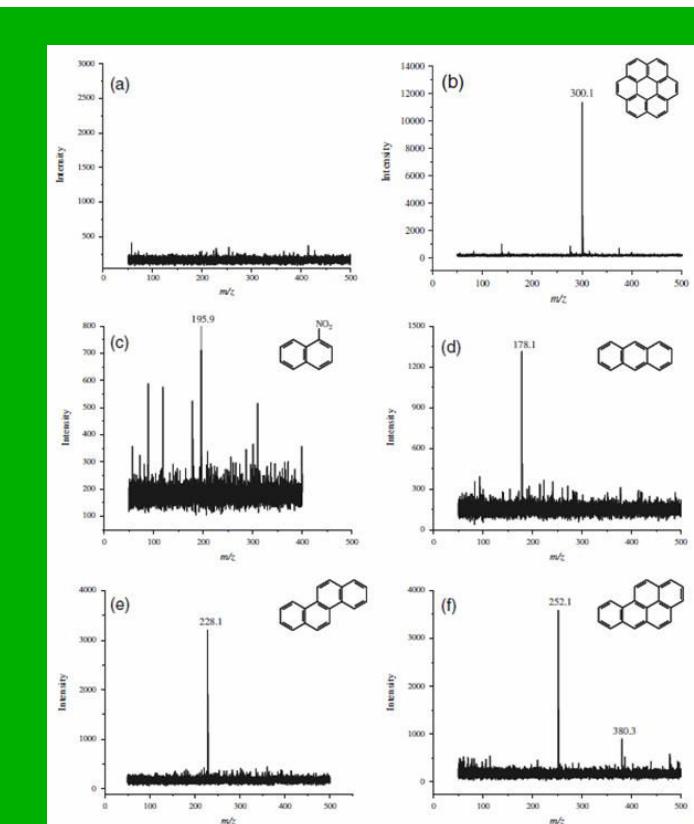
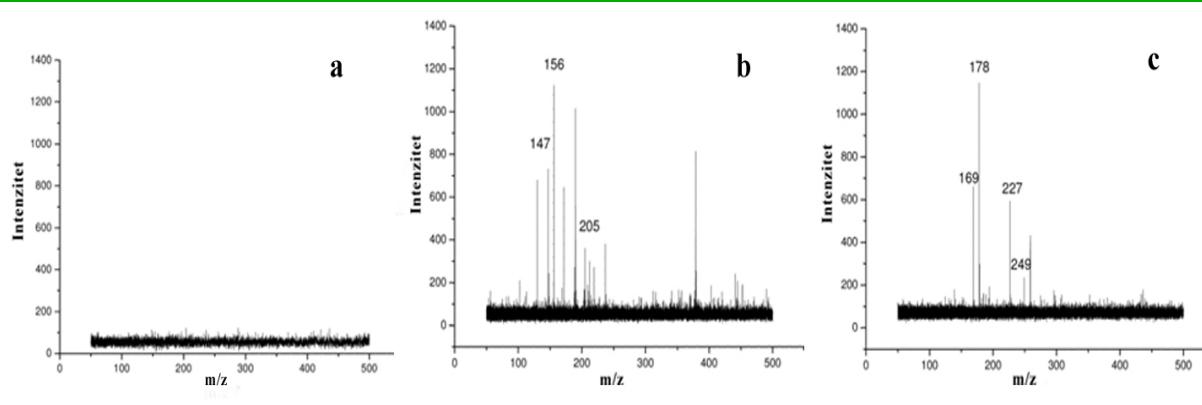
Grafen kao supstrat



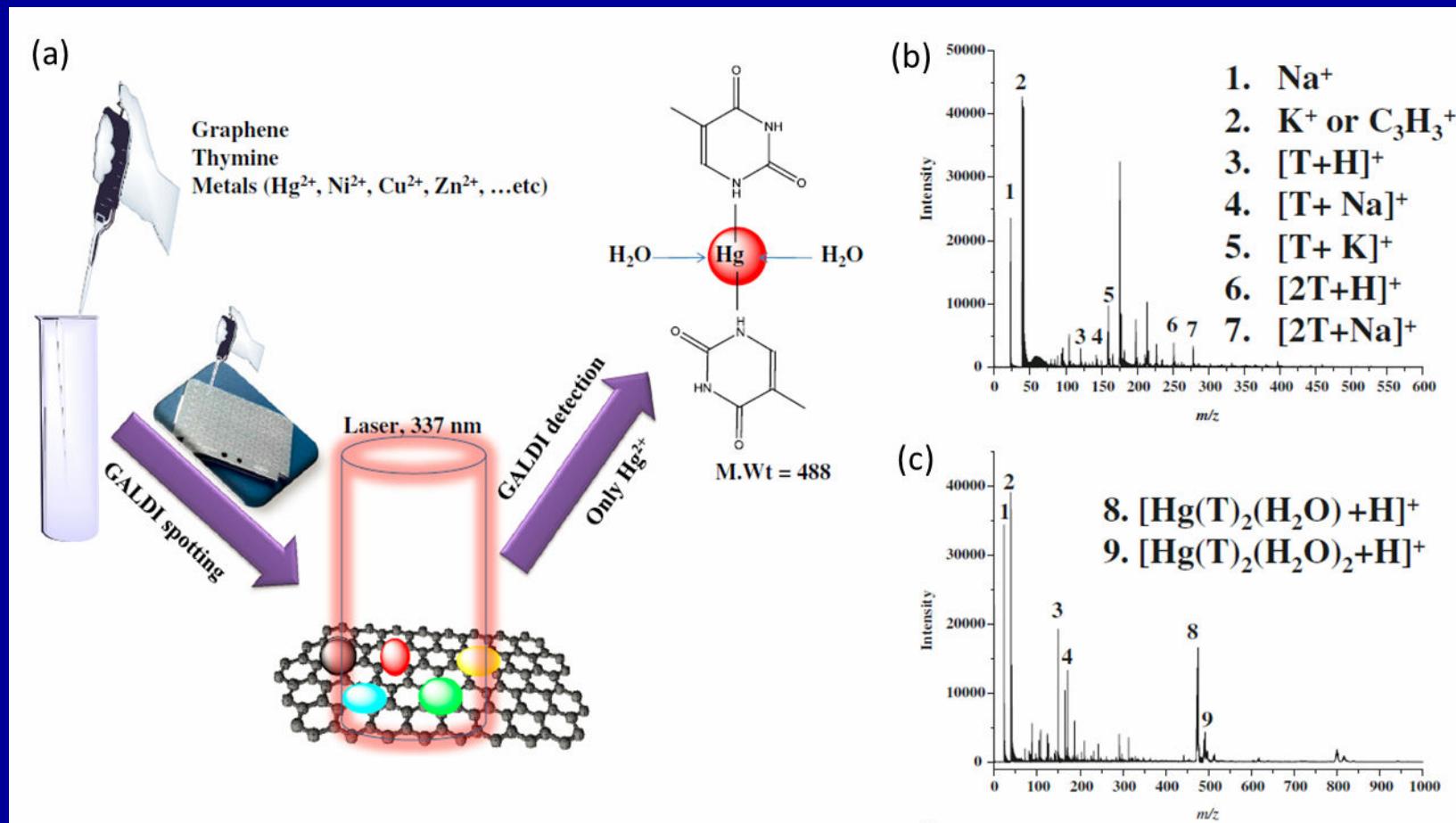
Pripreme probe sa grafenskim disperzijama:

- A) Metoda osušene kapi,**
- B) Metoda tankog sloja,**
- C) Dvoslojna ili „Sendvič“ metoda,**
- D) Sonohemijska metoda.**

Grafen

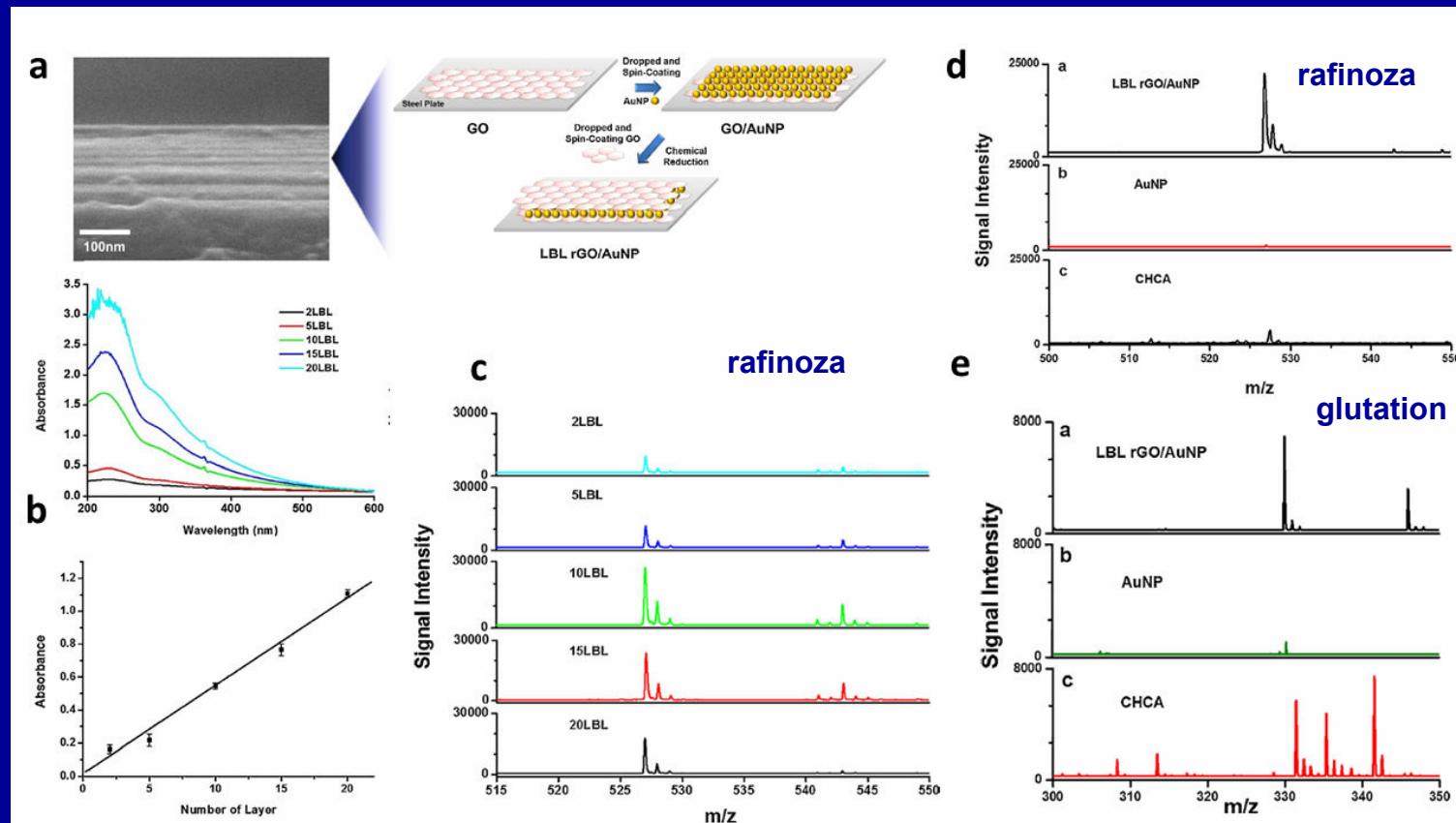


Grafen



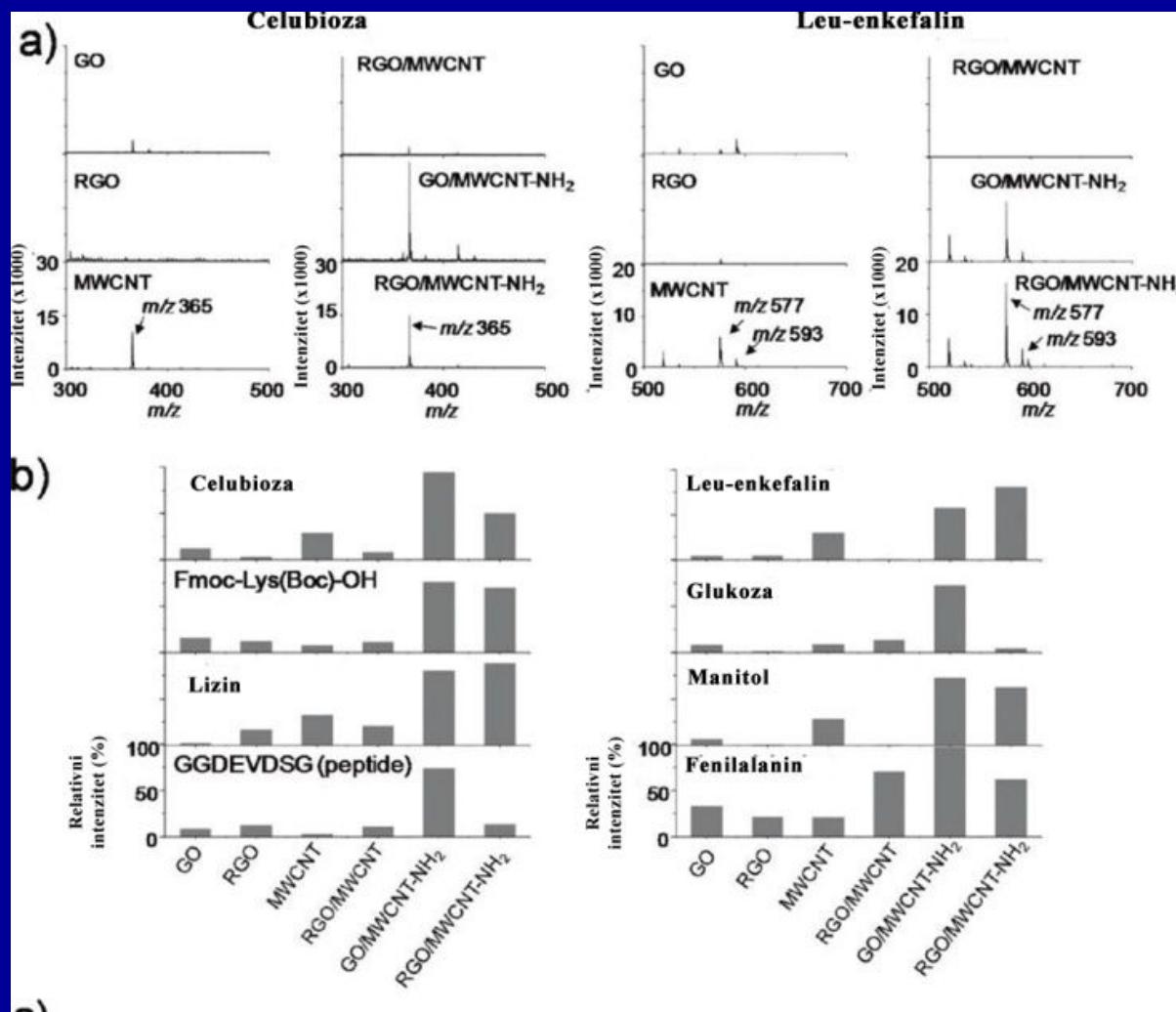
- a) Shematski prikaz pripreme uzorka kompleksnog jedinjenja $\text{Hg}(\text{T})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ za SALDI MS analizu.
- b) SALDI maseni spektar: b) timina, c) $\text{Hg}^{2+}\text{-T}$

Redukovani grafen oksid sa Au(nč)



LBL rGO/AuNP platforme:

- shematski prikaz depozicije jednog LBL sloja ($\sim 15\text{nm}$) i SEM slika filma
- apsorpcioni spektar filma i zavisnost apsorbancije (337nm) od broja LBL slojeva
- SALDI-TOF MS spektar rafinoze ($527,1\text{-[rafinoza+NA]}^+$) na LBL rGO/AuNP platformi za različit broj LBL slojeva,
- i e) SALDI-TOF MS spektar rafinoze i glutationa ($330,2$ i $346,4\text{ m/z}$) na različitim matricama

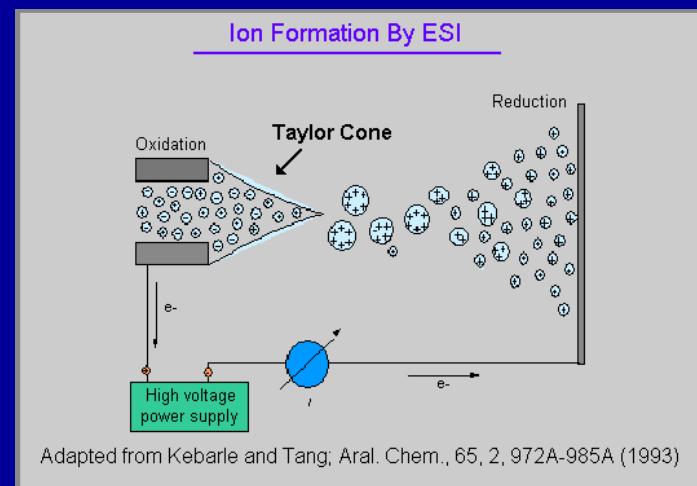
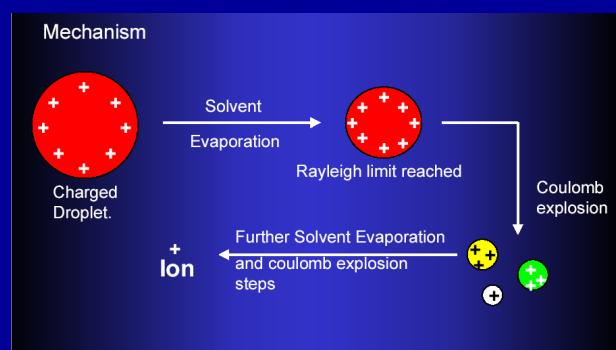
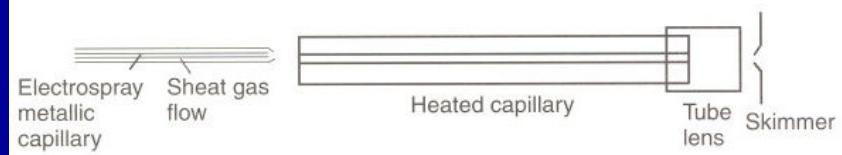
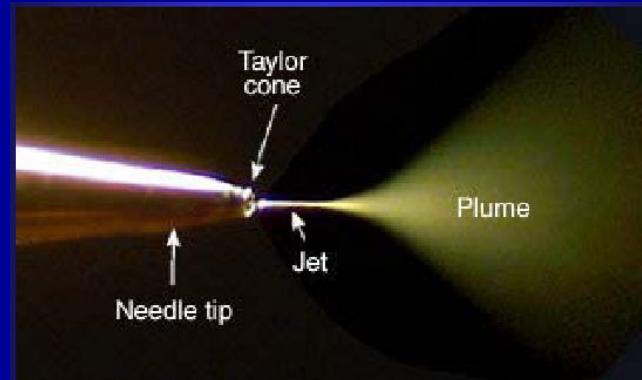
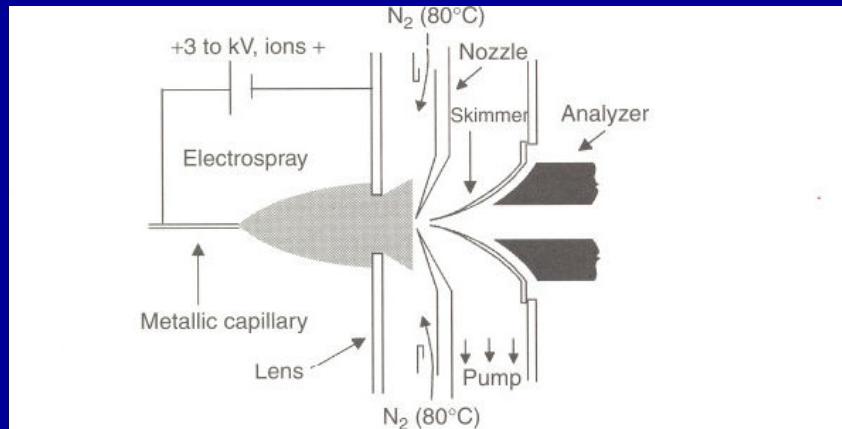


(a) MS celubioze (levo) i leu-enkefalina (desno) na različitim LDI supratima: GO, RGO, MWCNT, RGO/MWCNT, GO/MWCNTNH₂, RGO/MWCNTNH₂, (b) poređenje intenziteta signala različitih molekula na različitim dvoslojnim supratima

Jonski izvori bez matriksa pri ambijentalnim uslovima

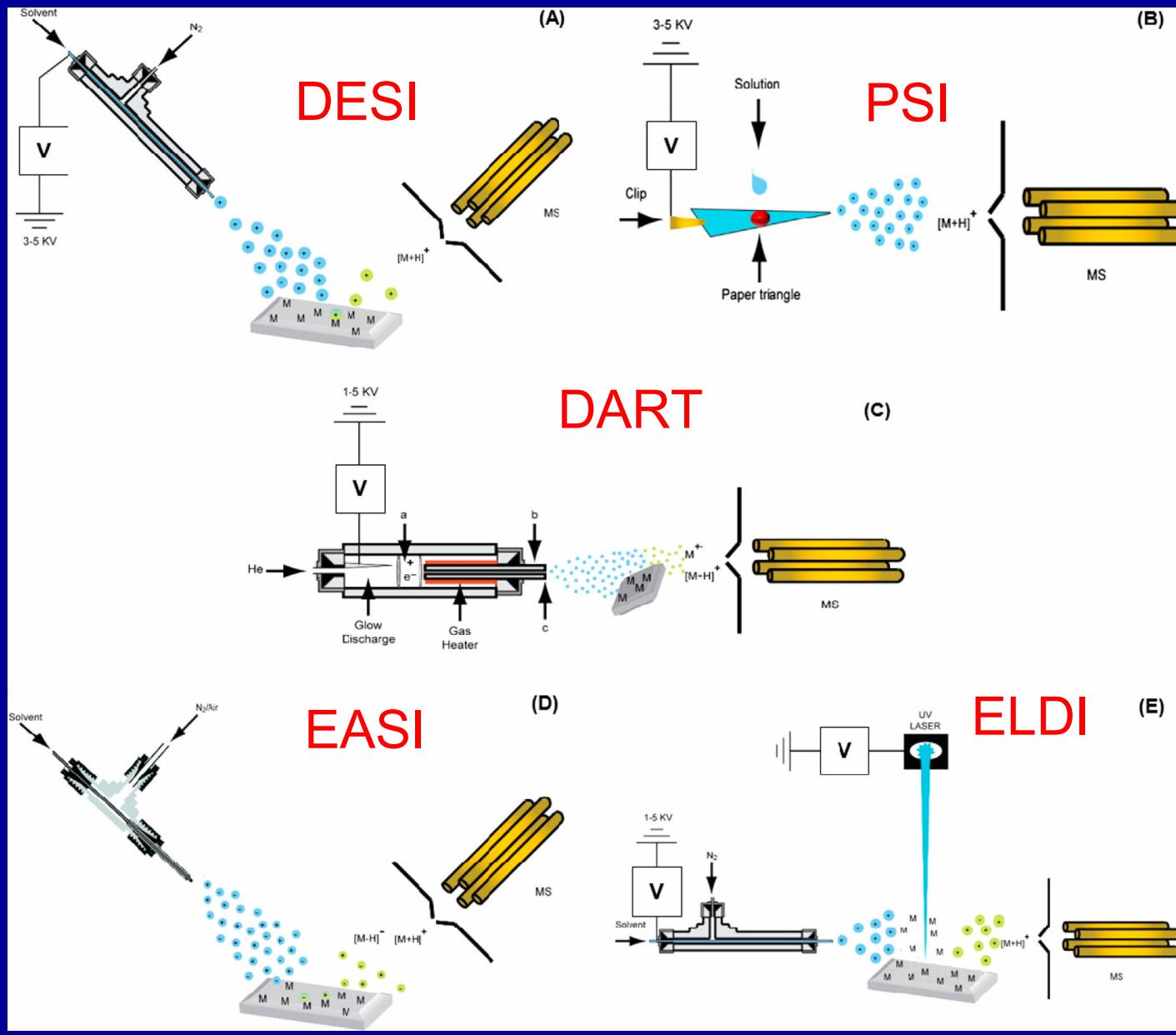
- DESI- desorpciona elektrosprej jonizacija
- PSI- sprej jonizacija na papiru
- DART- direktna analiza u realnom vremenu
- EASI-ultrazvučna sprej jonizacija
- ELDI-laserska desorpcija/jonizacija potpomognuta elektrosprejom

Elektrosprej jonizacija -ESI

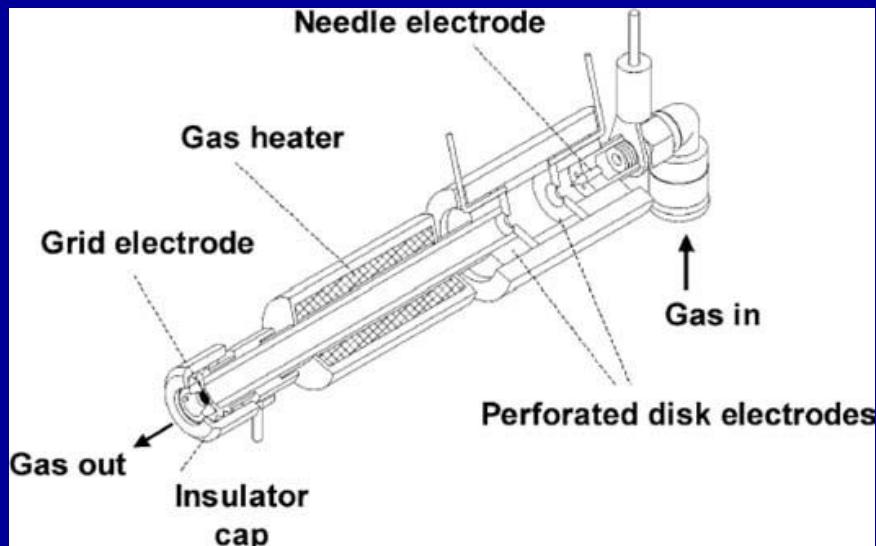


$$q^2 = 8\pi^2 \epsilon_0 \gamma D^3$$

Jonski izvori bez matriksa pri ambijentalnim uslovima

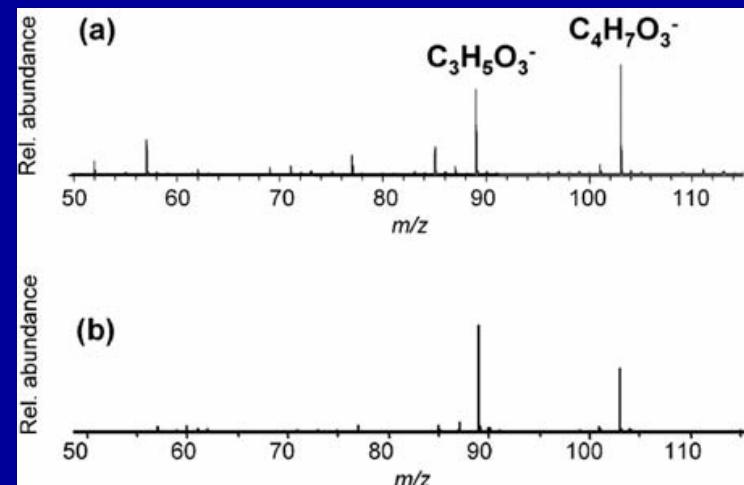


DART-Direktna analiza u realnom vremenu



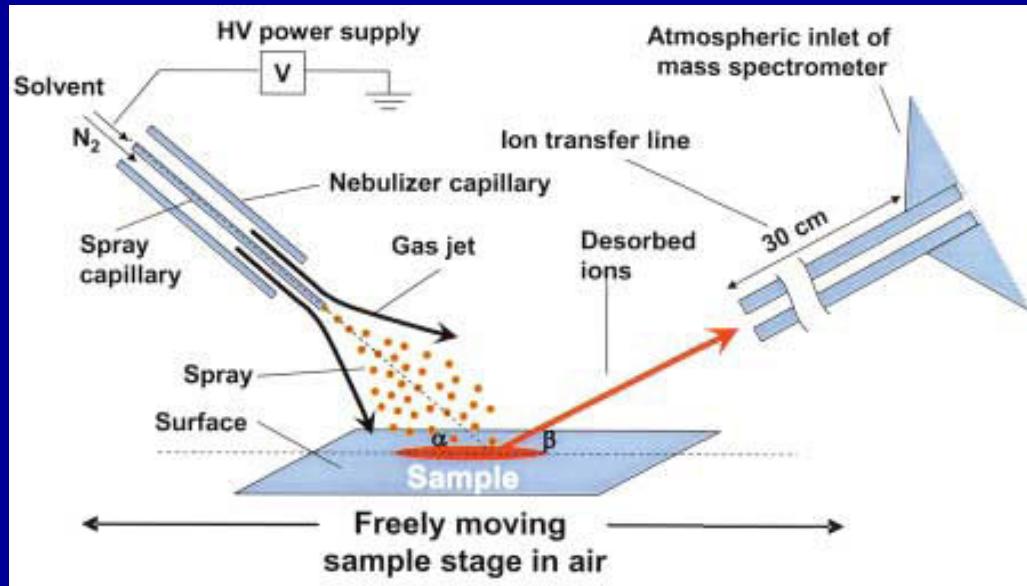
Pozitivni joni $M^{\bullet+}$ ili $[M + H]^+$

Negativni joni $M^{\bullet-}$ ili $[M - H]^-$

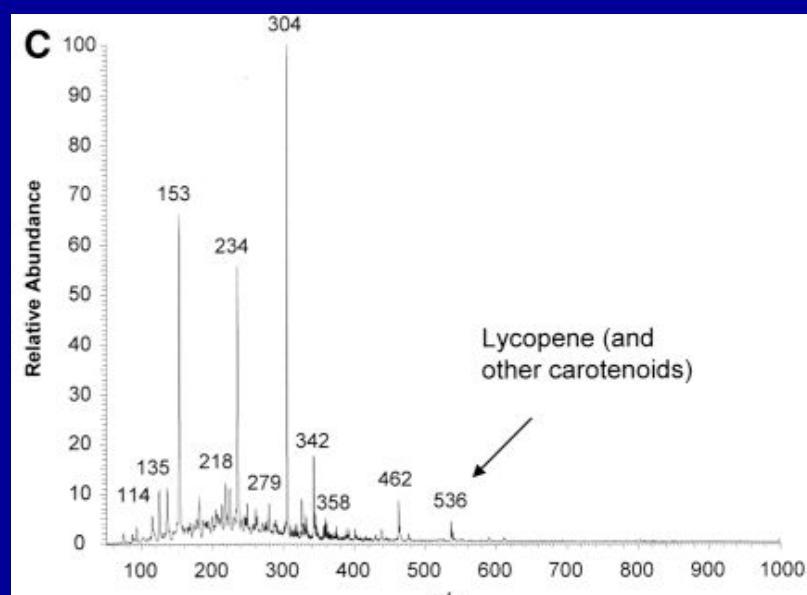


Detekcija γ -hidroksi biturata
a) u rumu, b) kao Na so na ivici
čaše

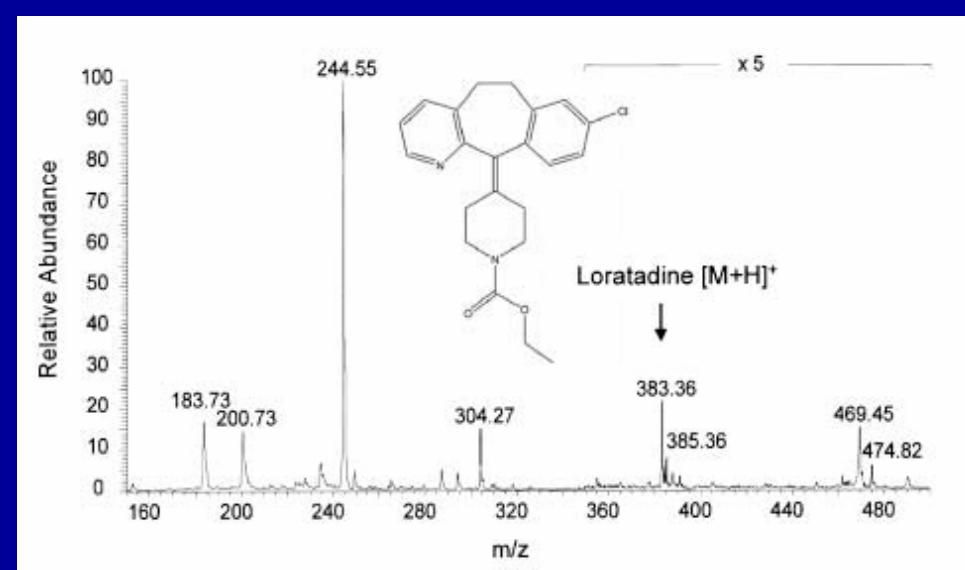
DESI-desorpciona elektersprej jonizacija



Uzorak rastvora je nanet i osušen na PTFE površini i bombardovan rastvorom metanol-voda (1:1 v/v) pri protoku od 3-15 $\mu\text{L}/\text{min}$ i naponu od 4 kV. Mogu se analizirati mali i veliki molekuli, polarni i nepolarni na provodnim i izolatorskim površinama

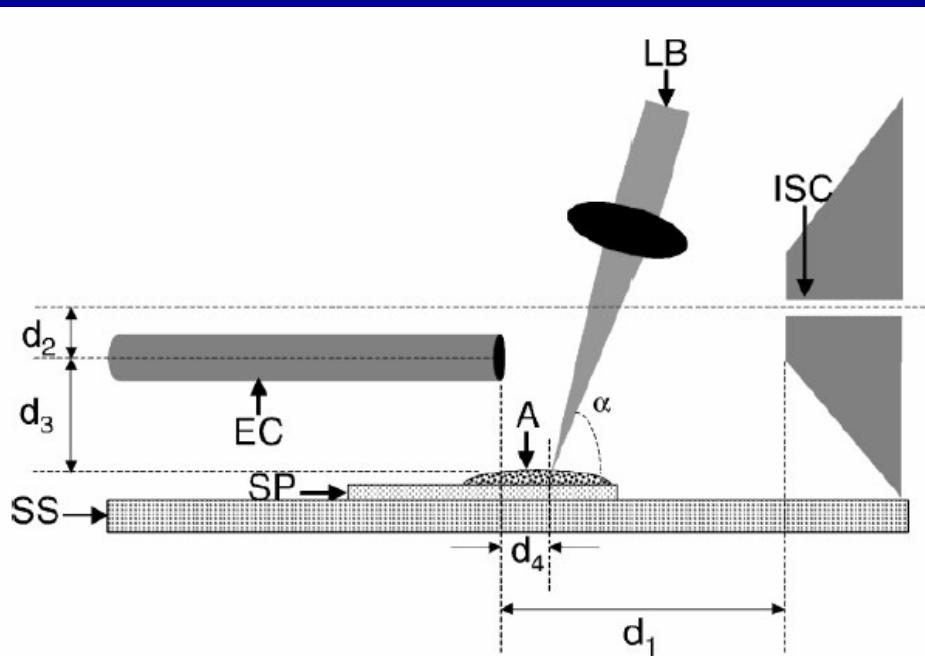


DESI MS sa površine paradajza

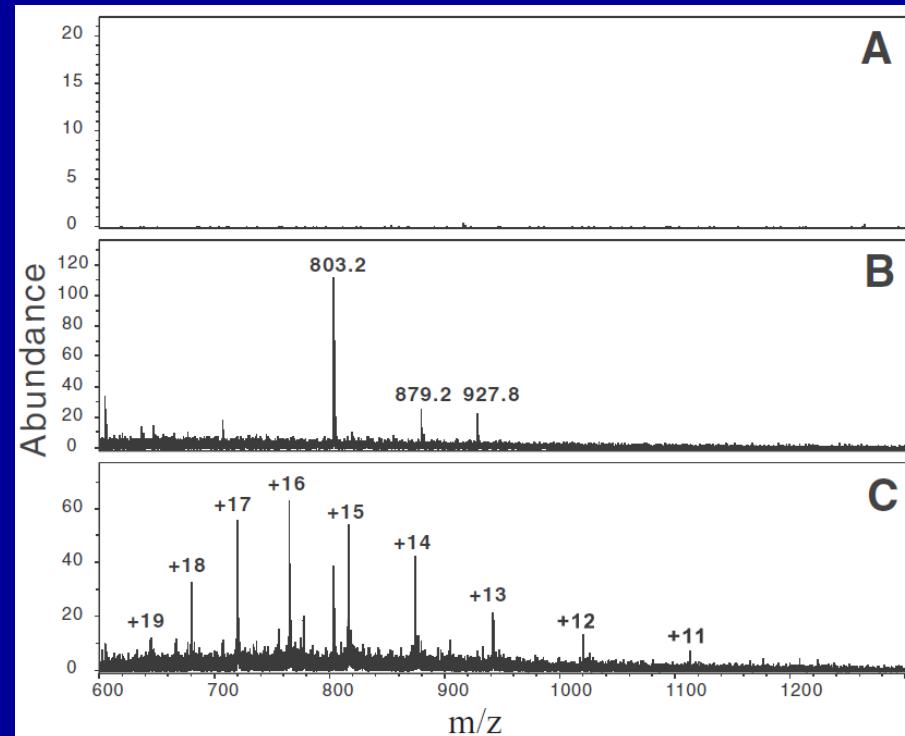


DESI MS *in vivo* antihistaminika loratadina sa prsta osobe 50min posle uzimanja 10mg leka

ELDI-laserska desorpcija/jonizacija potpomognuta elektrosprejom

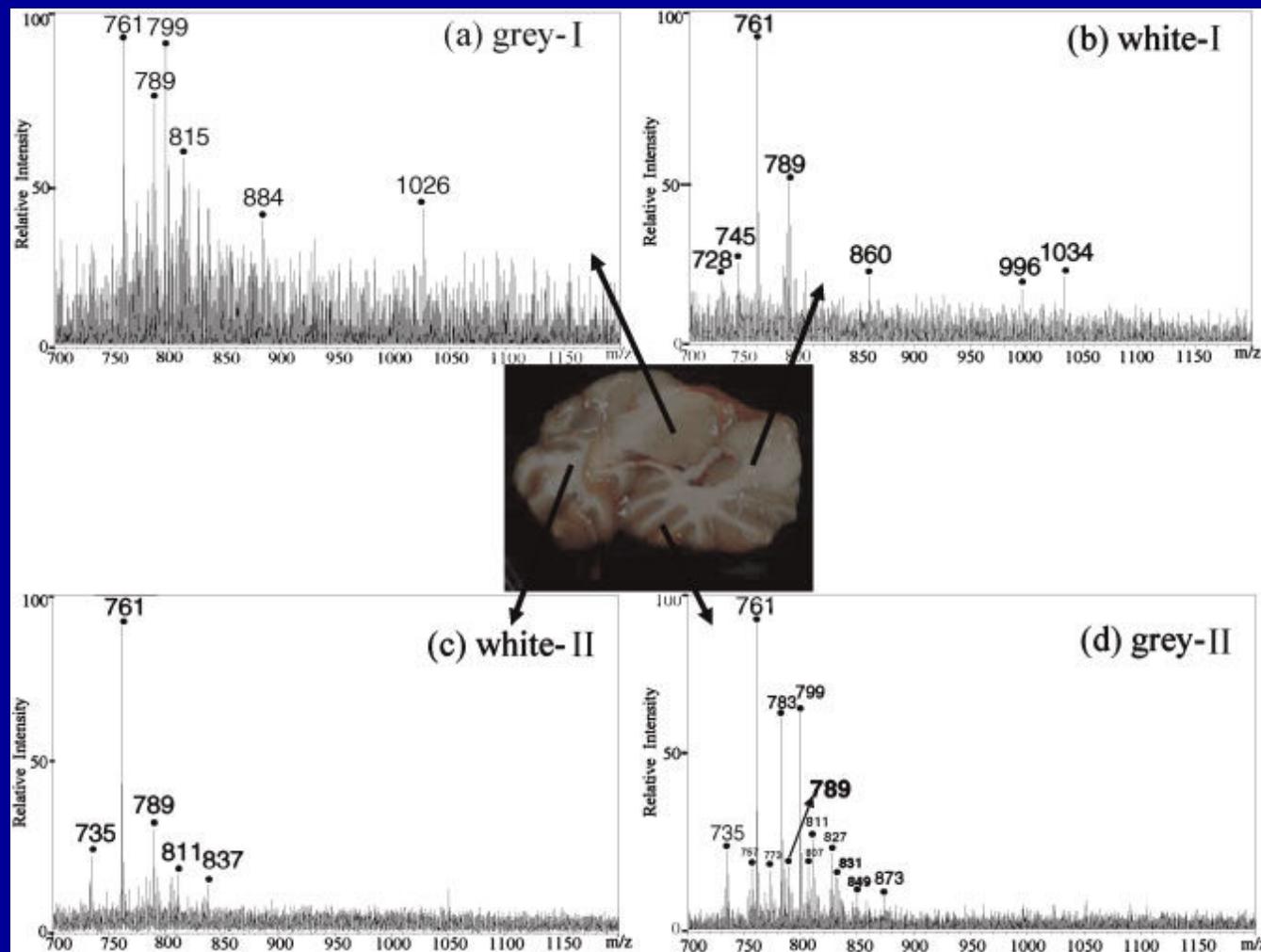


Shema ELDI uređaja



MS goveđeg citohroma c: A samo laserska desorpcija, B samo elektrosprej rastvarača, C i laserska desorpcija i elektrosprej aktivacija

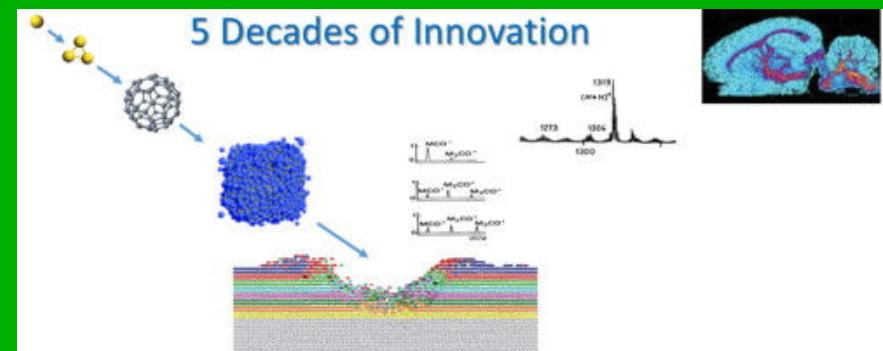
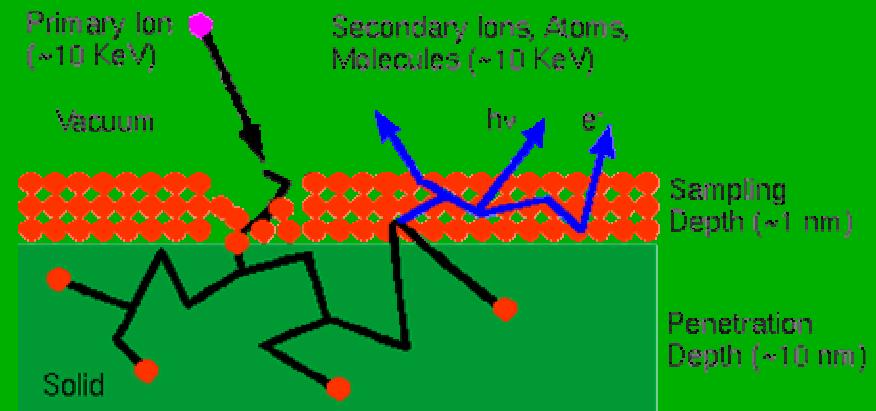
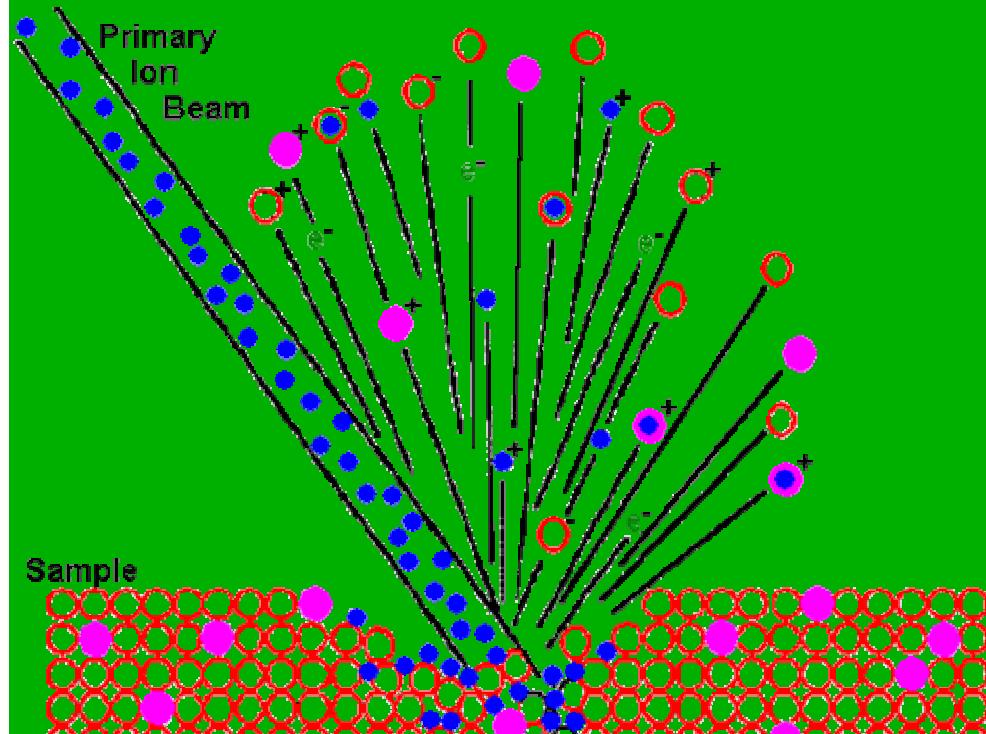
ELDI



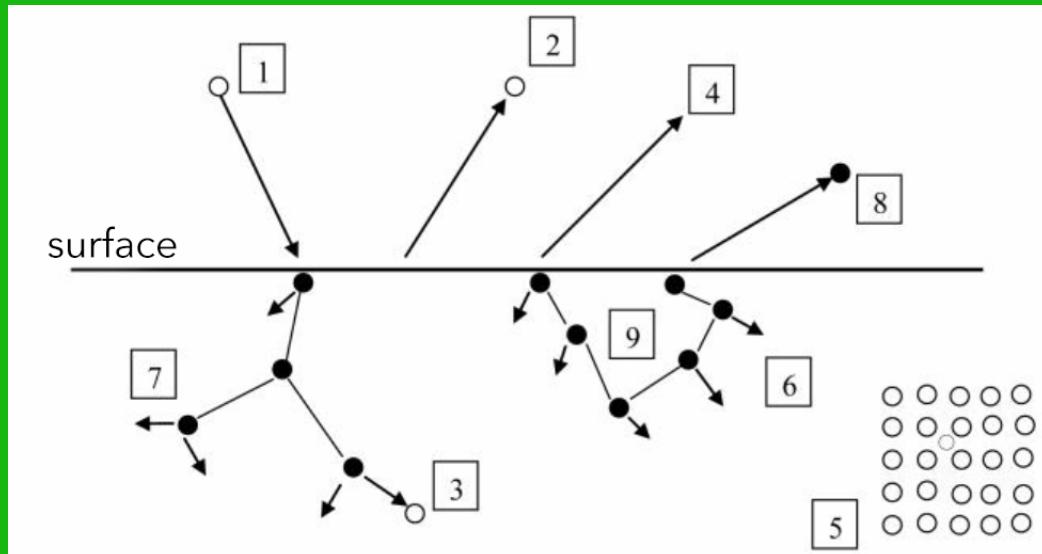
ELDI MS u pozitivnom modu iz različitih (siva i bela masa) površina tkiva mozga svinje. Dominantni signali fosfatidilholina

SIMS-Secundary Ion Mass Spectrometry

Masena spektrometrija sekundarnim jonima

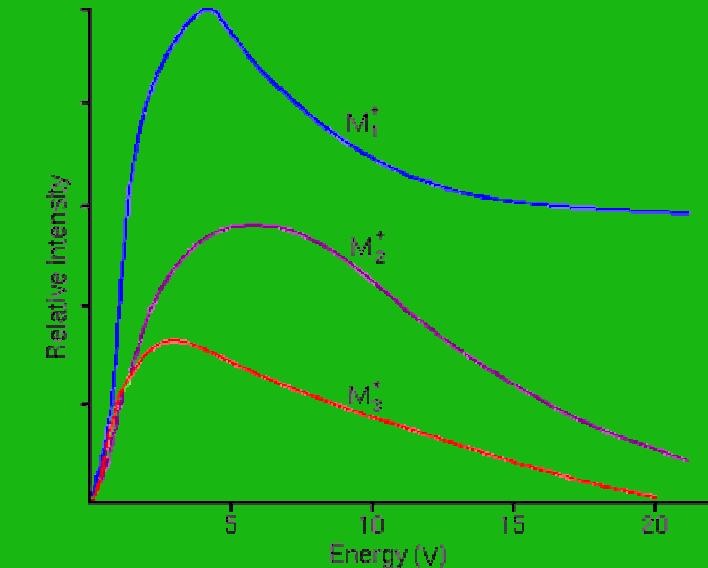


Energetska raspodela sekundarnih jona



Sudarna kaskada reda fs

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



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

Prinos spaterovanja

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

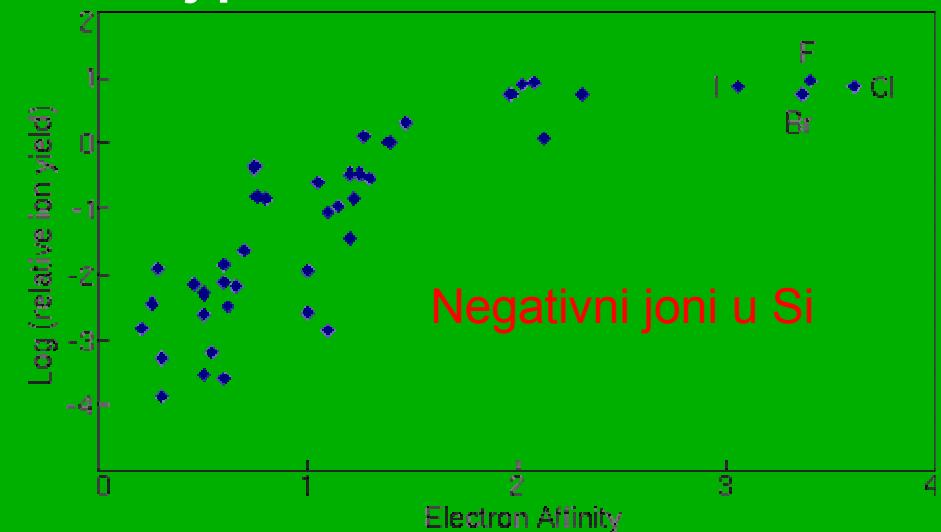
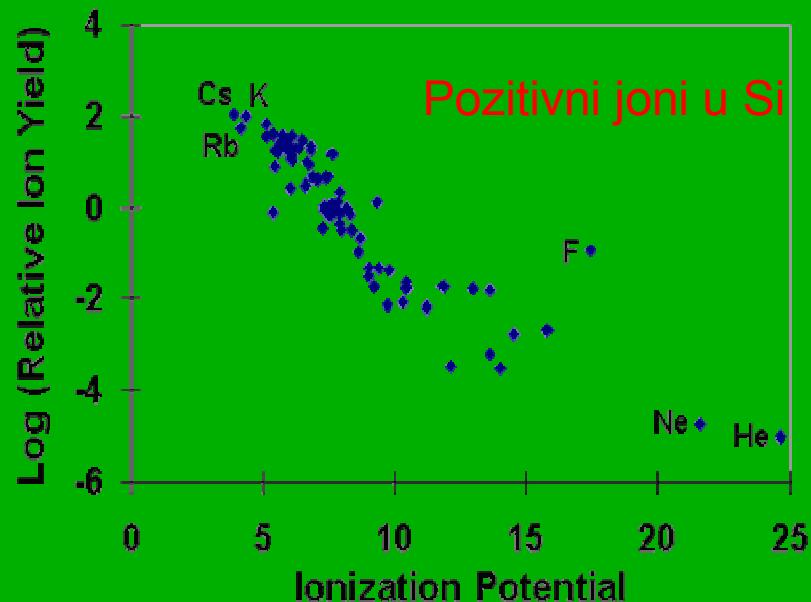
Mogućnosti SIMS metode

- Čvrste površine i tanki slojevi
- Kvalitativni i kvantitativni elementarni (od H do U) izotopski (preciznost 0,5-0,05%) molekulski sastav kao i 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.

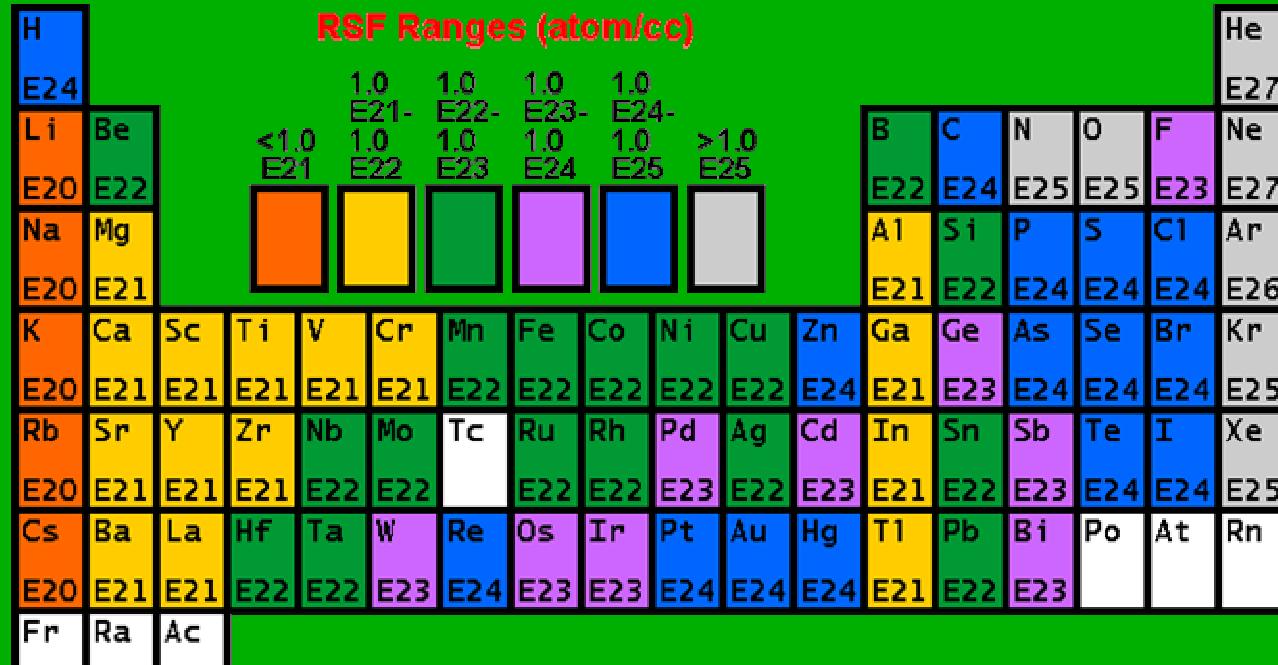
Prinos sekundarnih jona-uticaj prirode elementa



Prinos sekundarnih jona-uticaj primarnog snopa

H	O ₂ ⁺ Primary Positive Secondary												He					
Li	Be	Cs ⁺ 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)



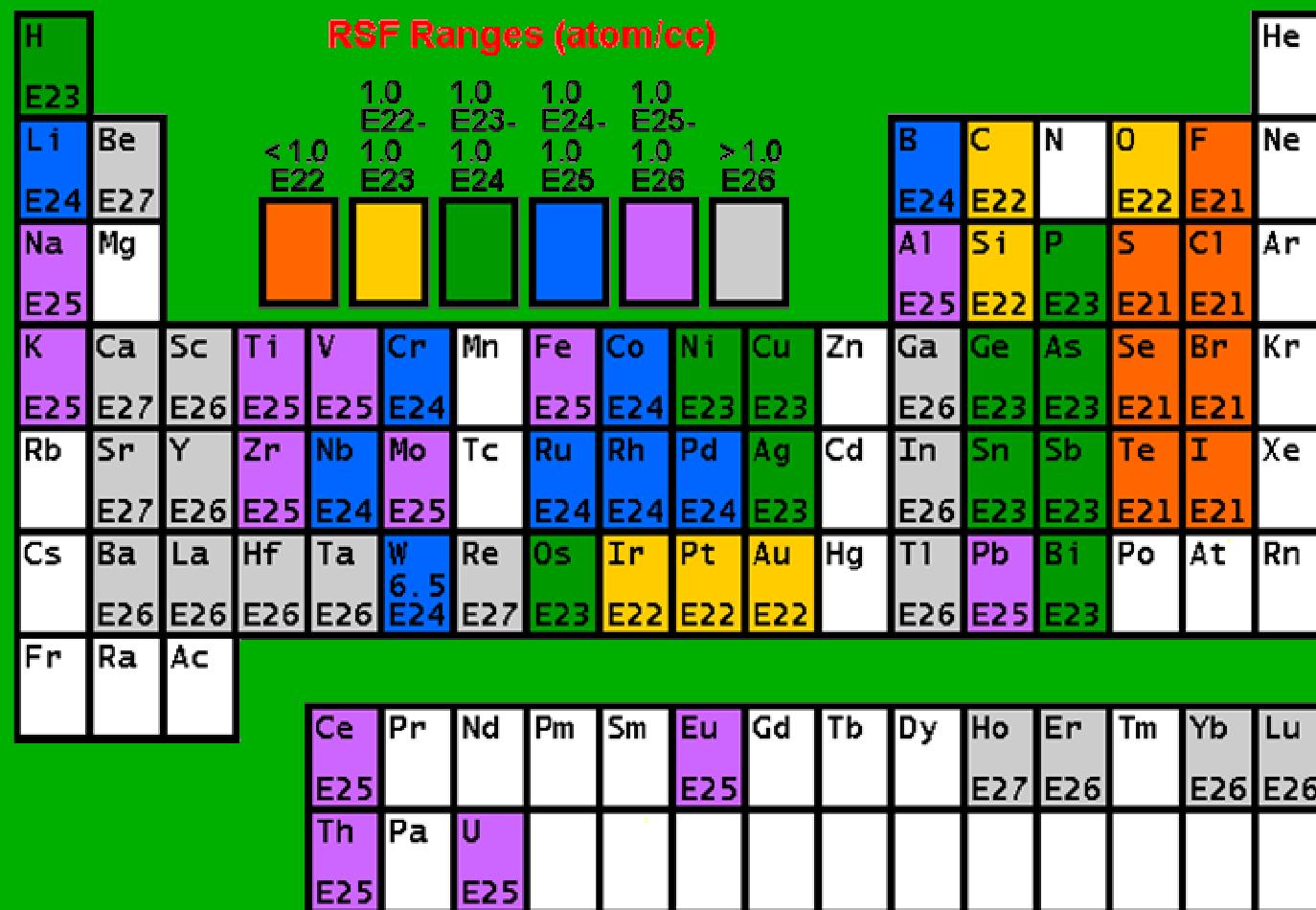
$$I_M = JAS\beta_M T_M c_M$$

$$\frac{I_M}{c_M} = RSF_E \frac{I_E}{c_E}$$

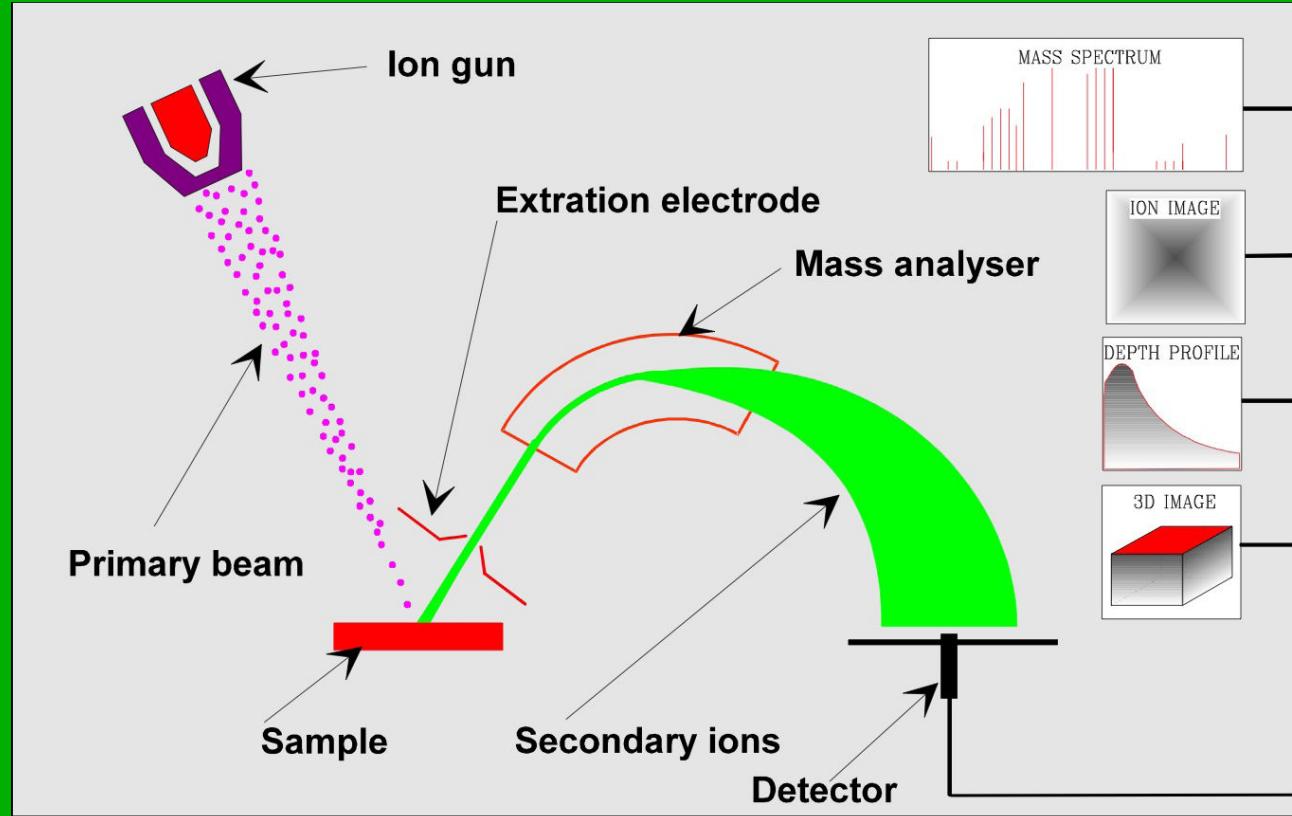
$$RSF_E = \frac{JAS\beta_M T_M}{JAS\beta_E T_E}$$

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

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



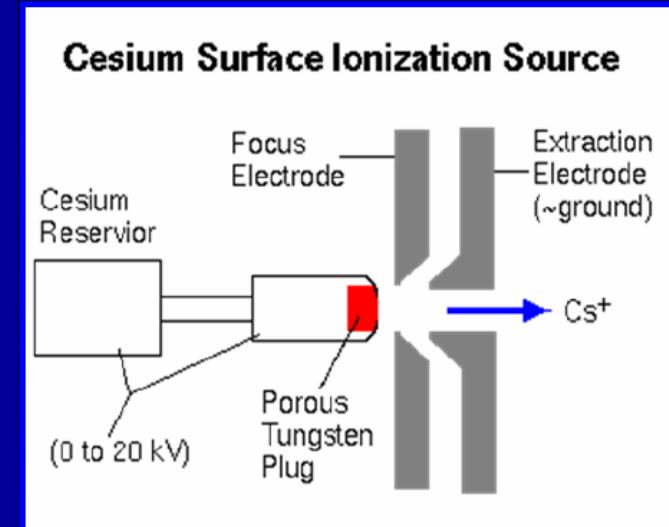
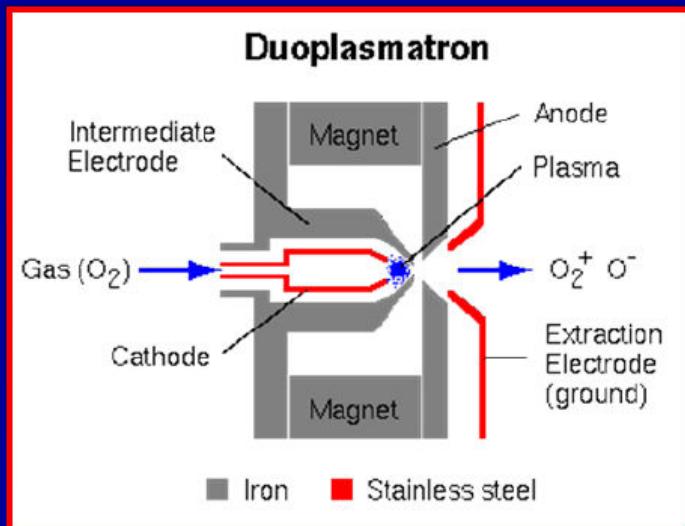
Shematski prikaz glavnih komponenti SIMS tehnike



Izvori primernih čestica: plazma, jonski izvori, akceleratori, radiokativni α emiteri

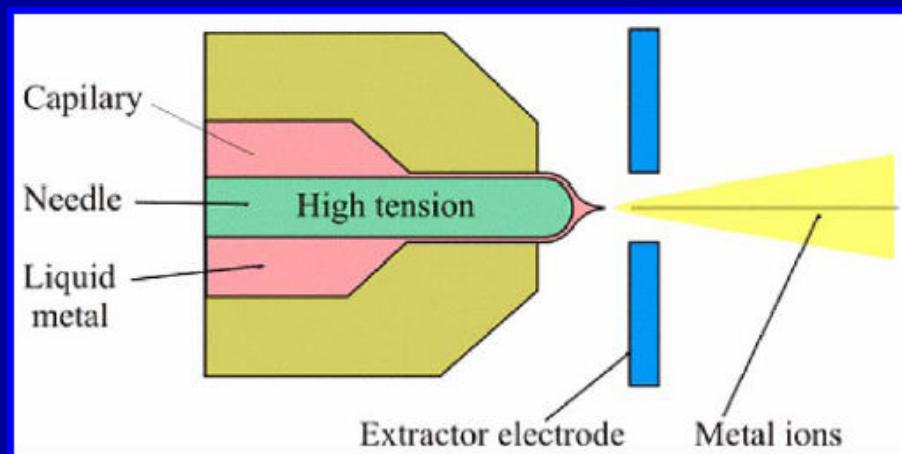
Primarni joni: Ar^+ , Cs^+ , CF_5^+ , C_{60}^+ , Ar_{2500}^+ , O^- , O_2^-

Izvori za SIMS

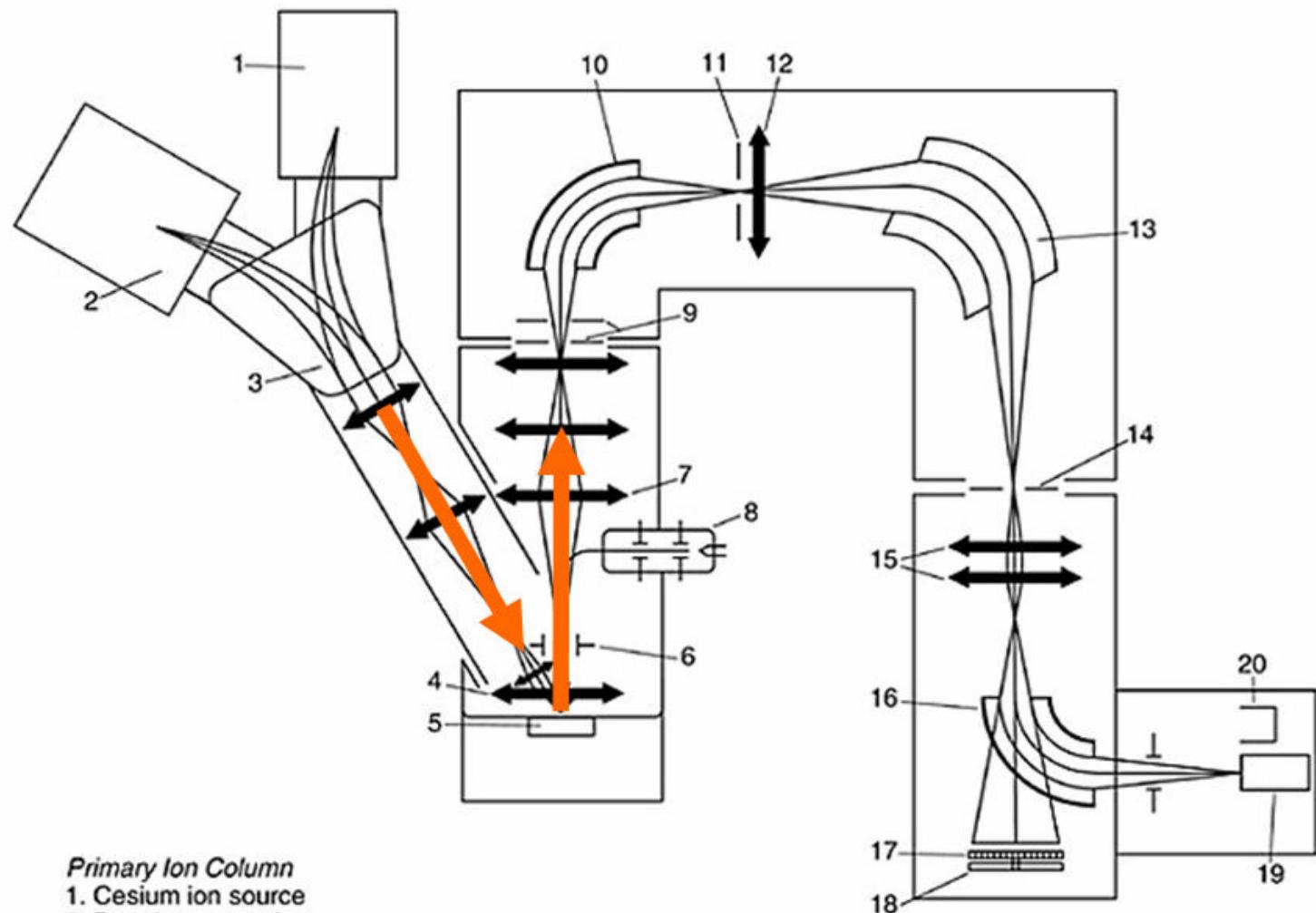


Dvojni plazmotron

Cezijumski izvor



Izvor tečnih metala



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

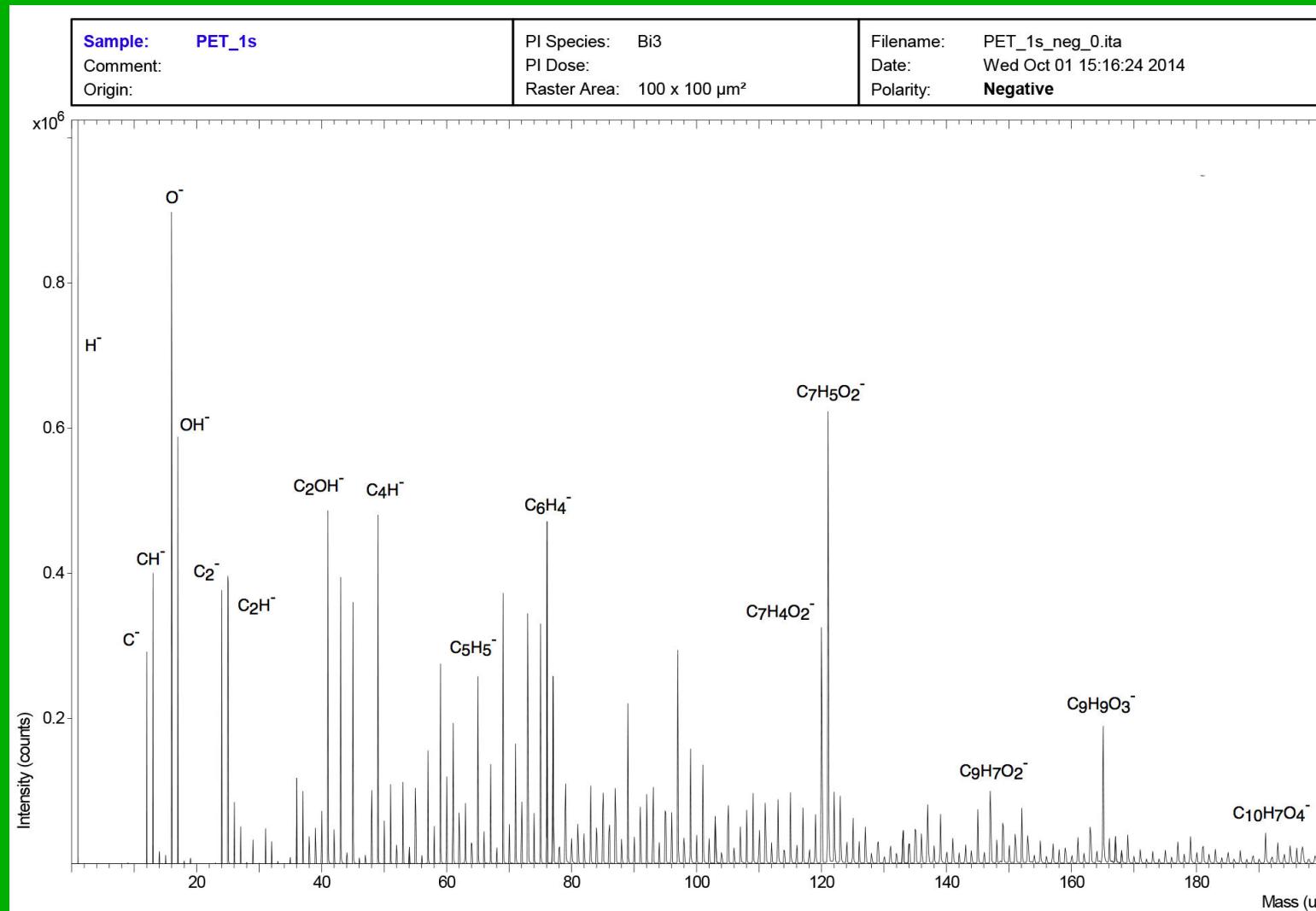
15. Projection lenses
16. Electrostatic sector
17. Channel-plate
18. Fluorescent screen
19. Electron multiplier
20. Faraday cup

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

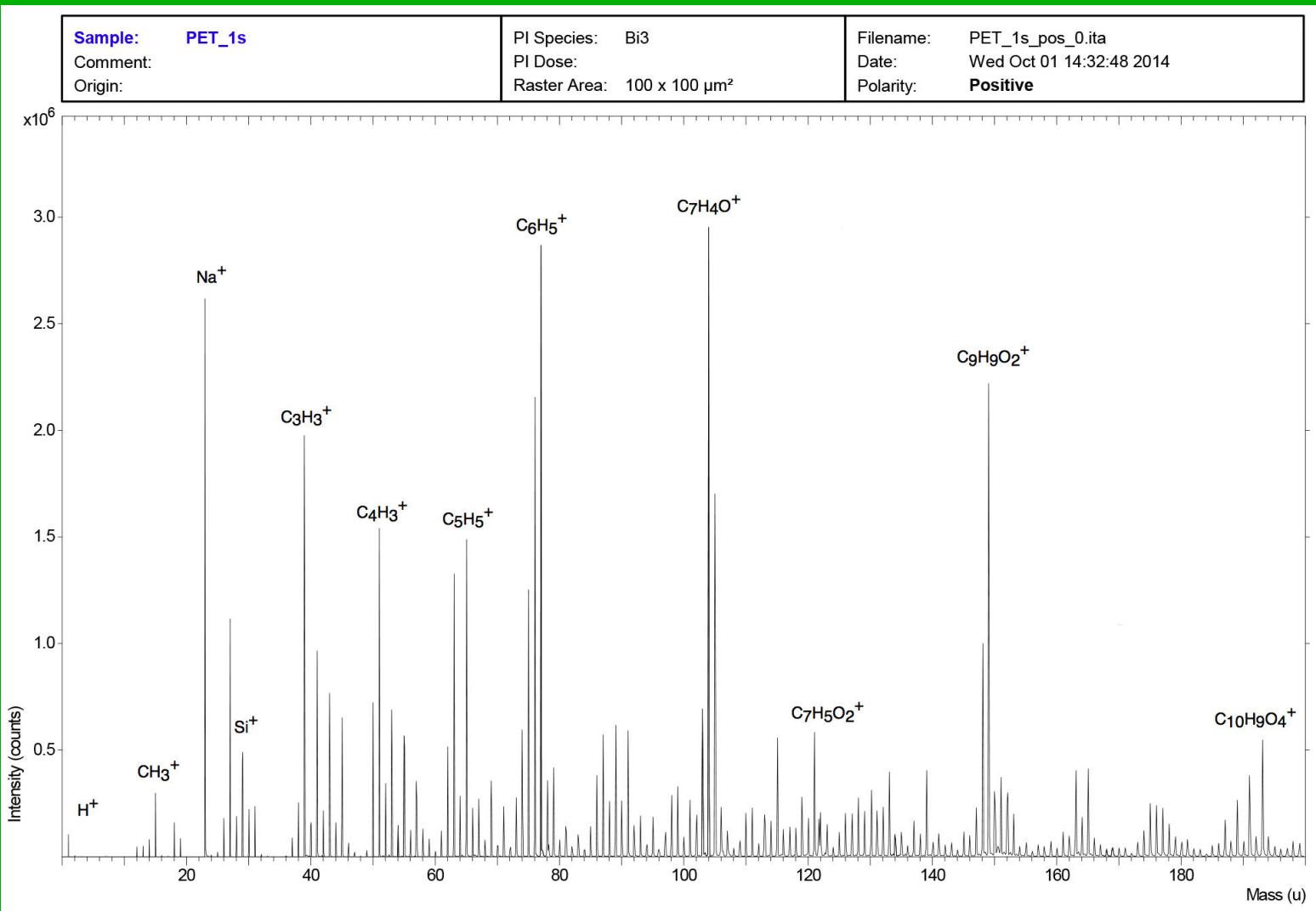
Statički SIMS: primenjuju se primarni joni energije od 0,1 do 10 keV sa površinskom gustinom struje od nA/cm^2 . Za potpunu eroziju prvog mono sloja su potrebni sati. Pri takvim uslovima verovatnoća za stvaranje molekulskih i kvazi molekulskih jona je velika, a fragmentacija krajnje ograničena.

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

Analiza polimera PET

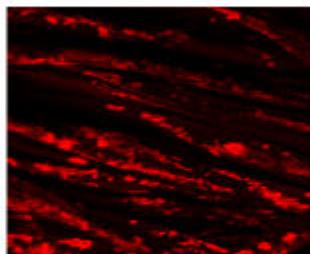


Bi_3^+ keV, 10^{-9} mbar

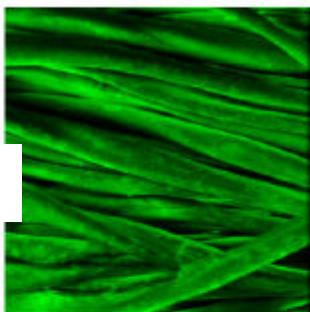


Površina $150 \times 150 \mu\text{m}^2$

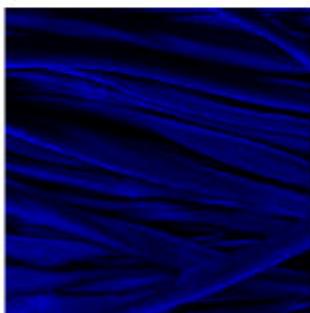
Si_xO_y



Fluorougljovodonici

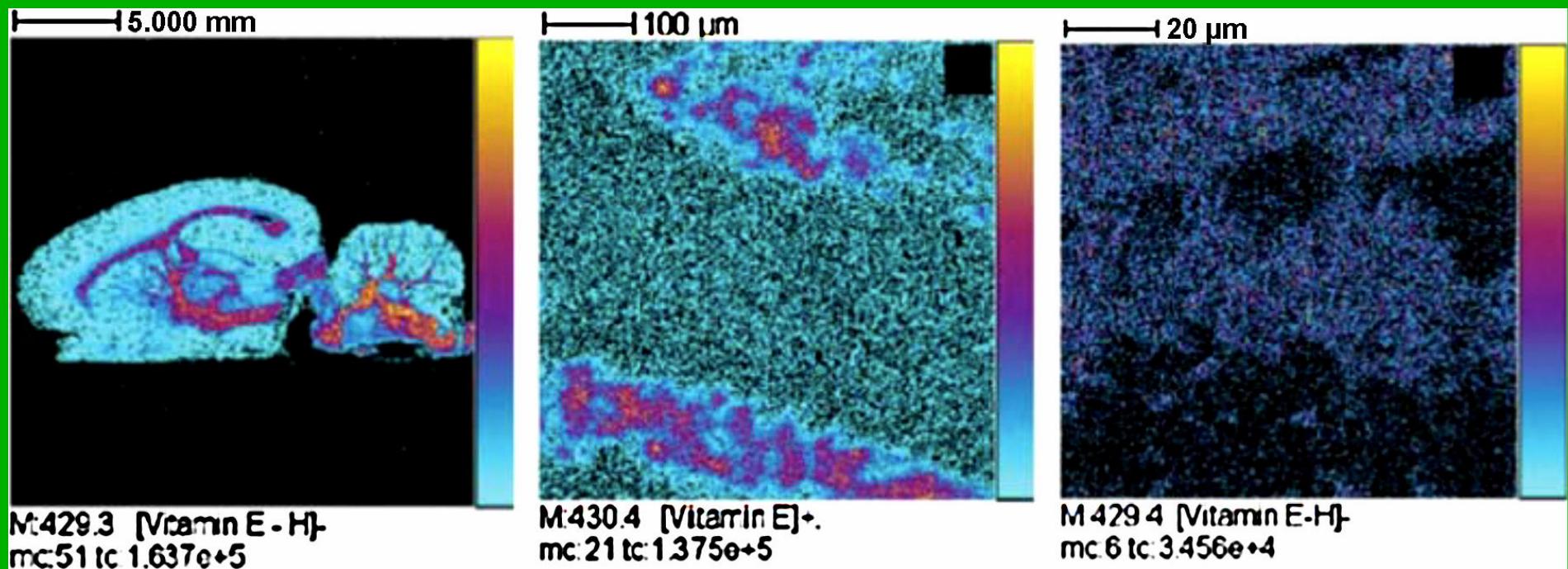


Alifatični
ugljovodonici



TOF-SIMS dobijen sa pamučnih vlakana tretiranih fluoroalkilsilanom
 Bi_3^+ primarni joni ebergije 25 keV

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



Određivanje m/e odnosa

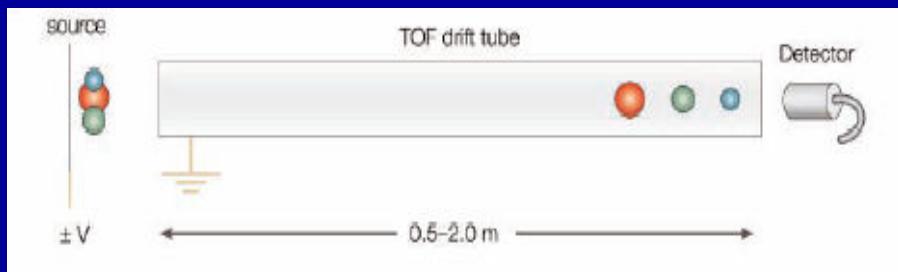
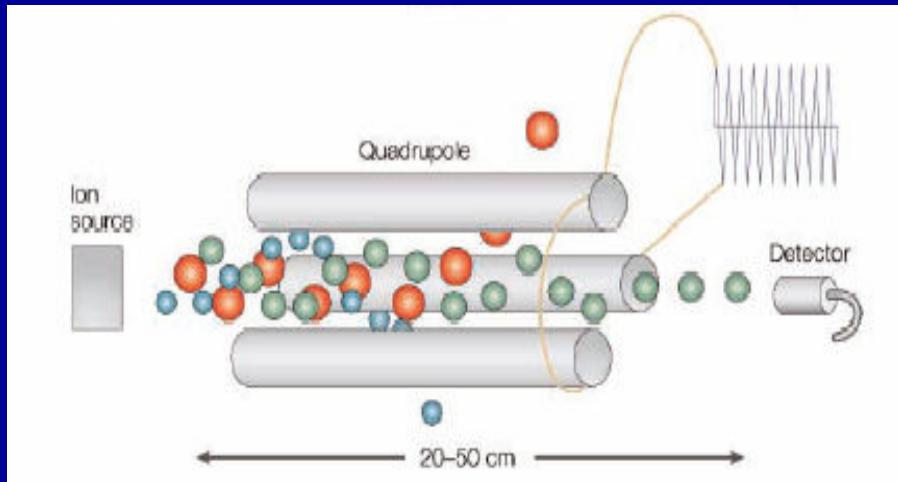
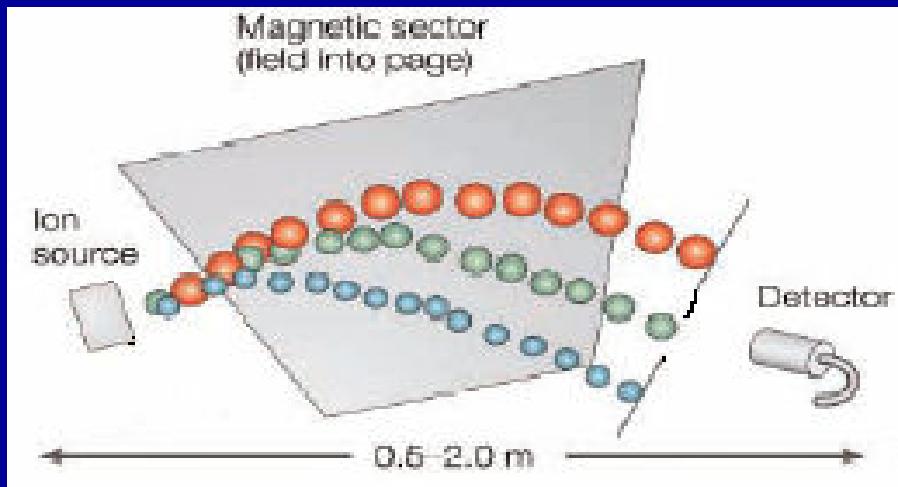
Merenjem:

- 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)

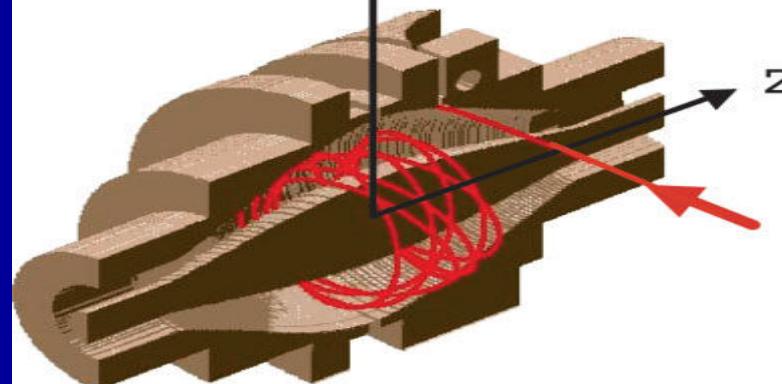
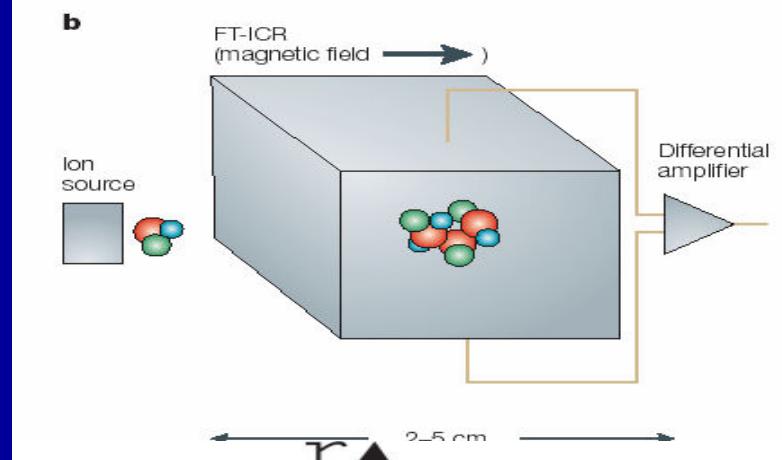
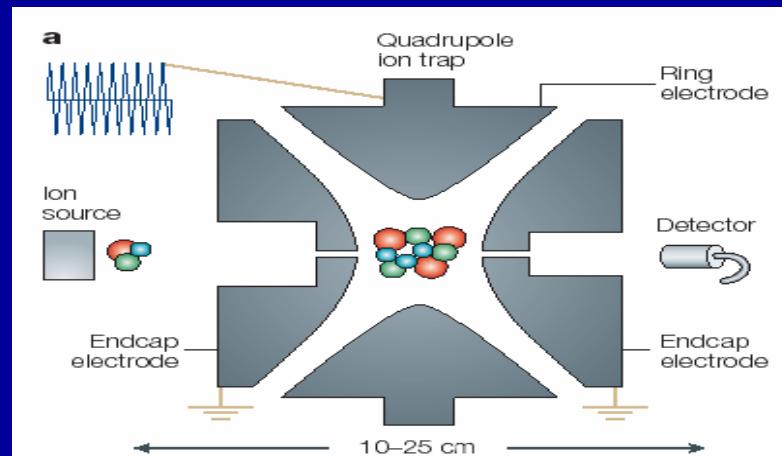
Maseni analizatori

- 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

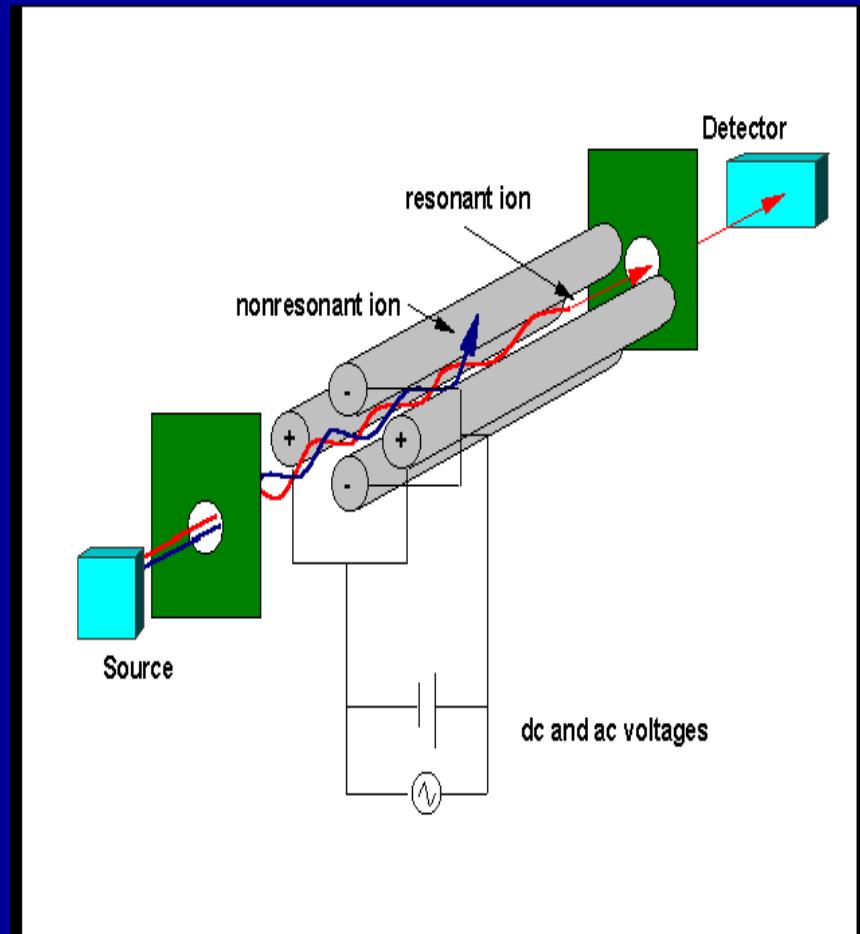


Kvadrupolni maseni analizator

- 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),
 ω = ugaona brzina
naizmeničnog napona



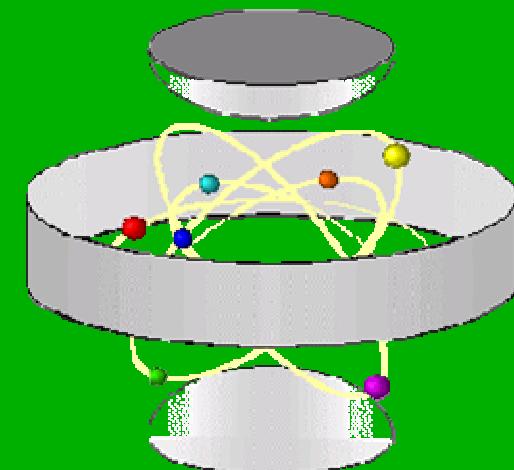
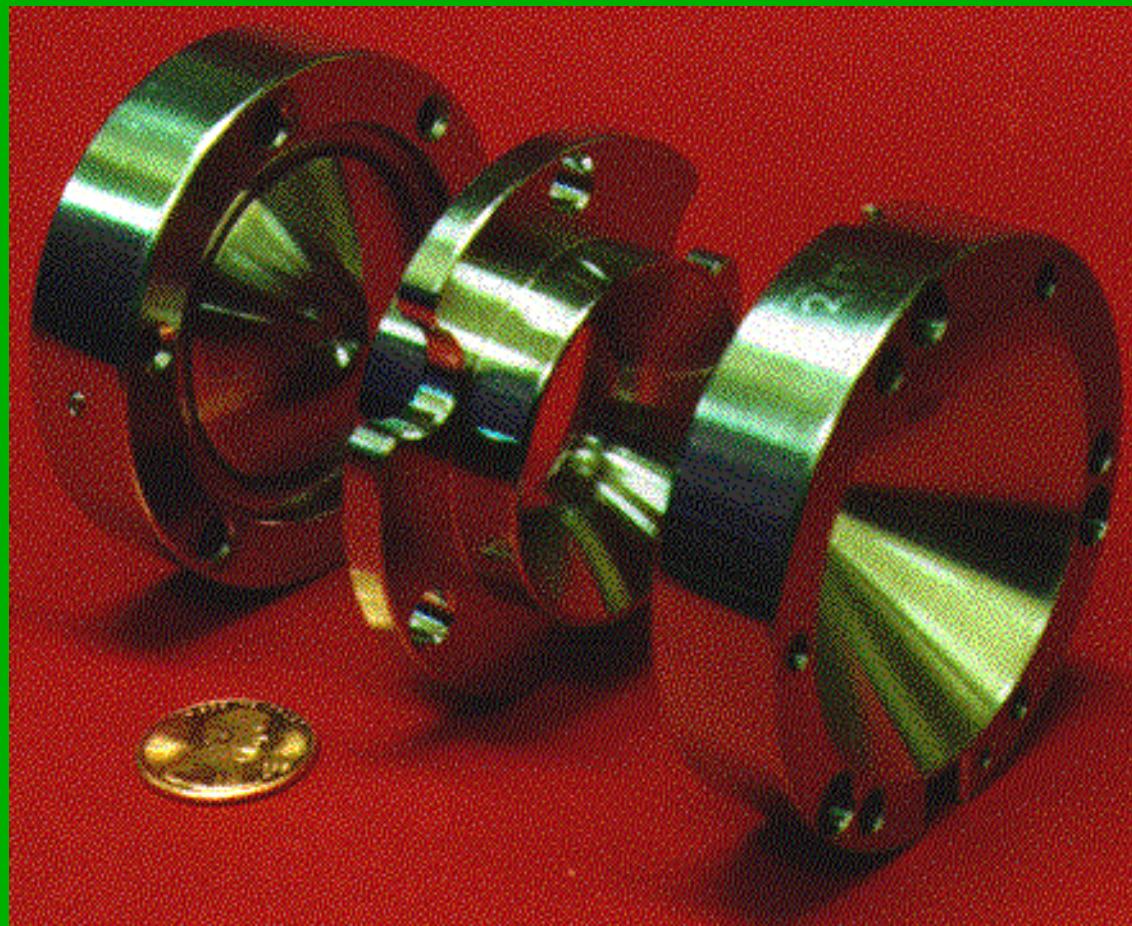
Jonski trap-kvistor

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

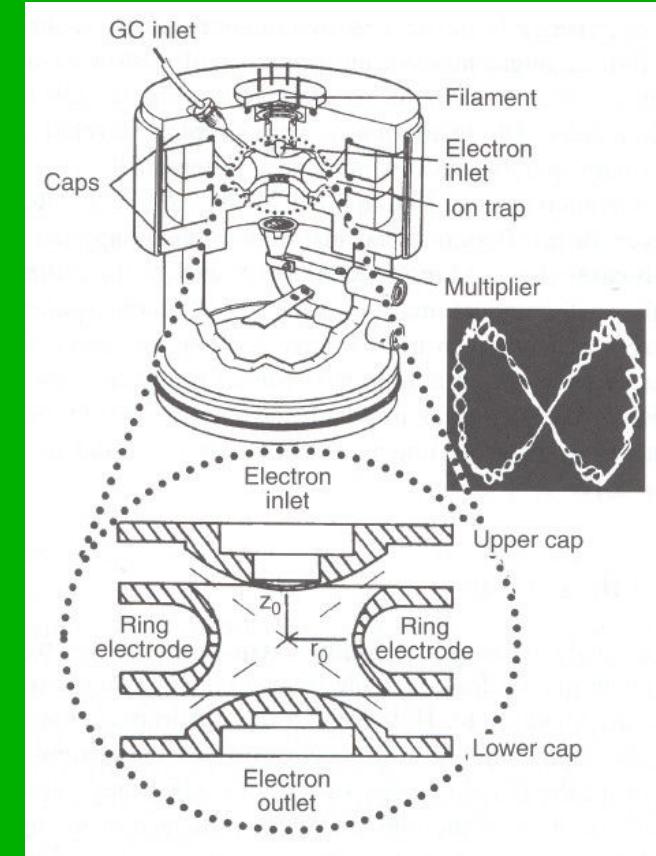
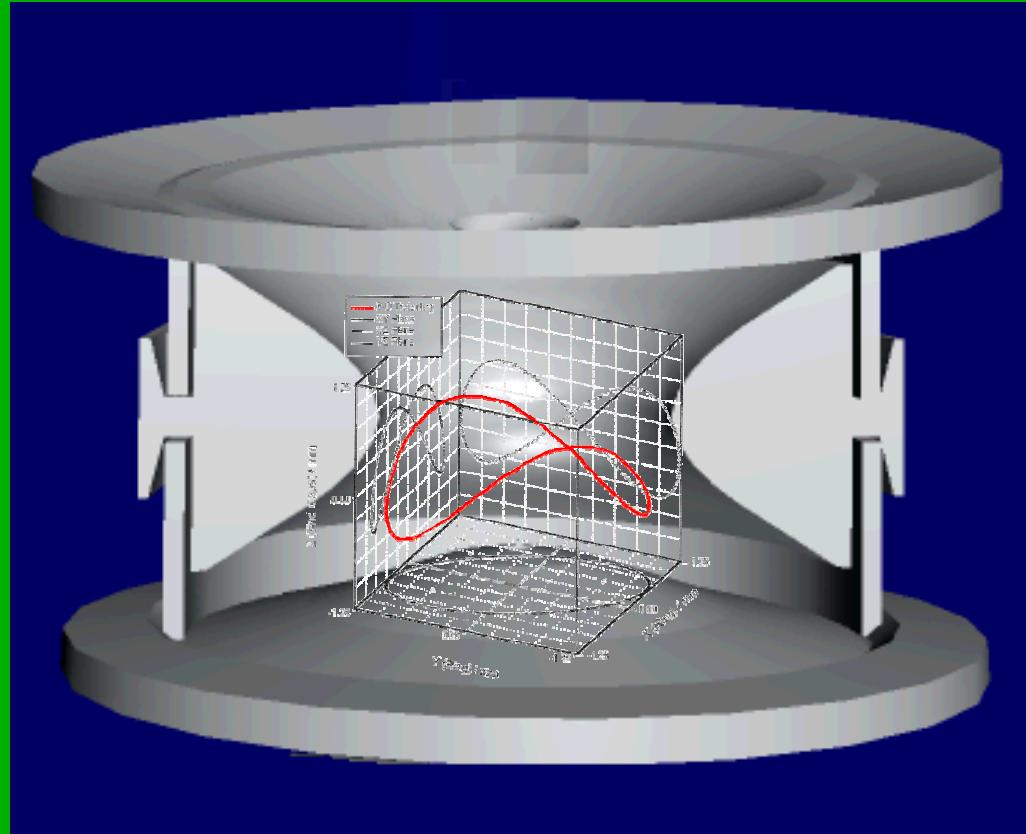
Jonski trap

JONSKI TRAP

- prstenasta elektroda
- dve kupaste elektrode-poklopci



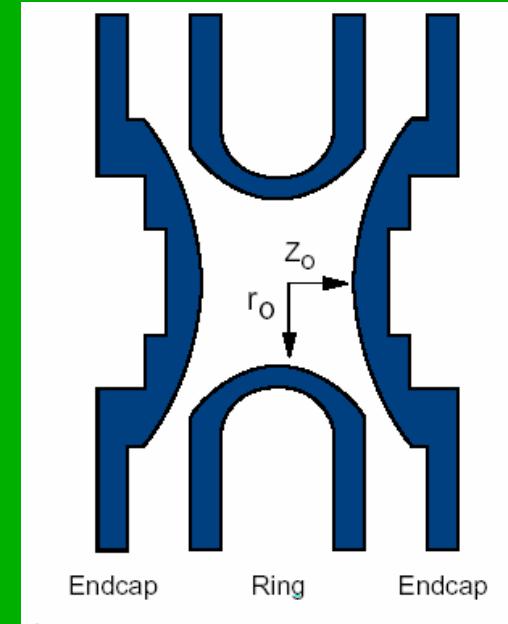
Jonska putanja u trapu



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

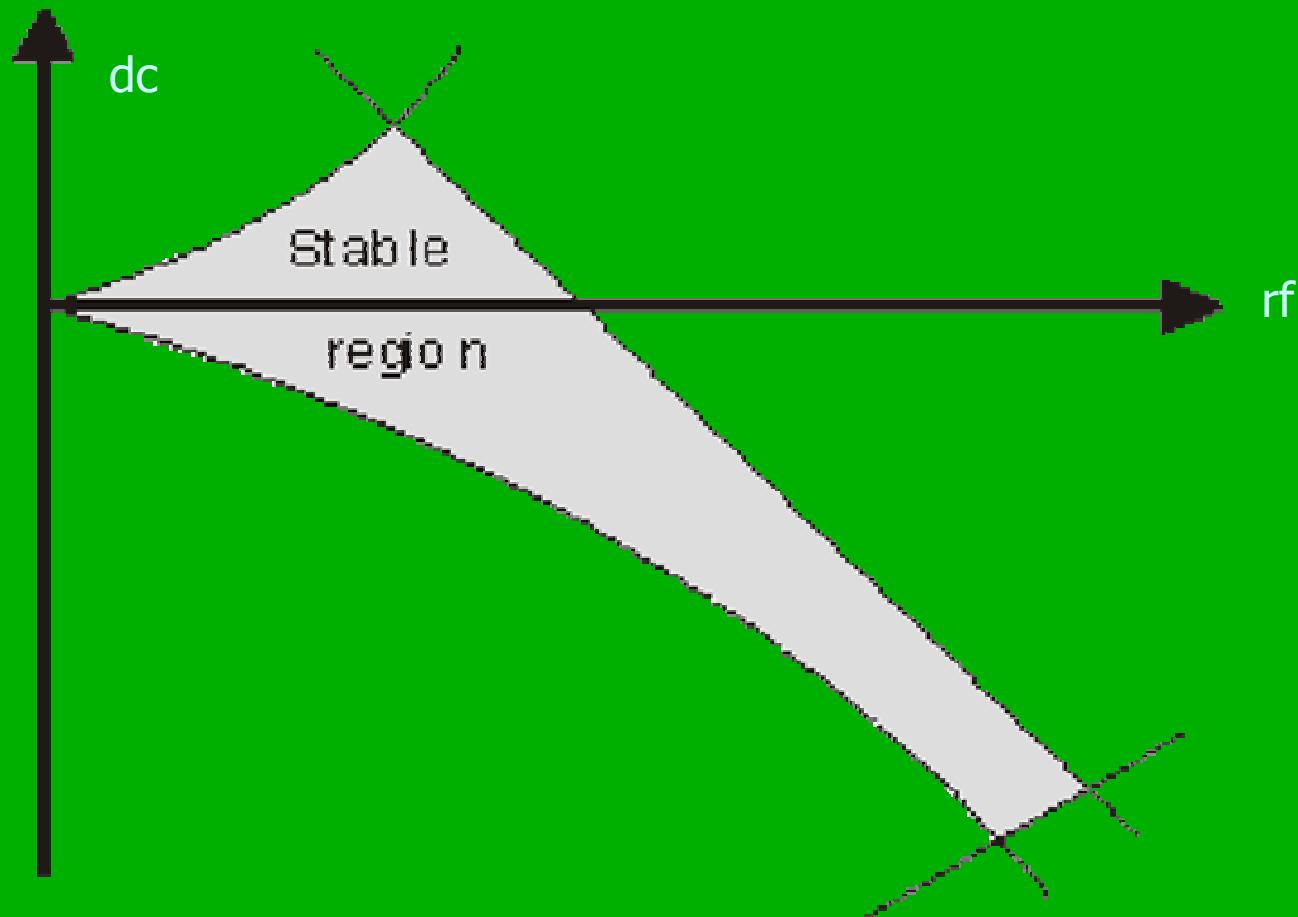
V – primjenjen **rf** potencijal

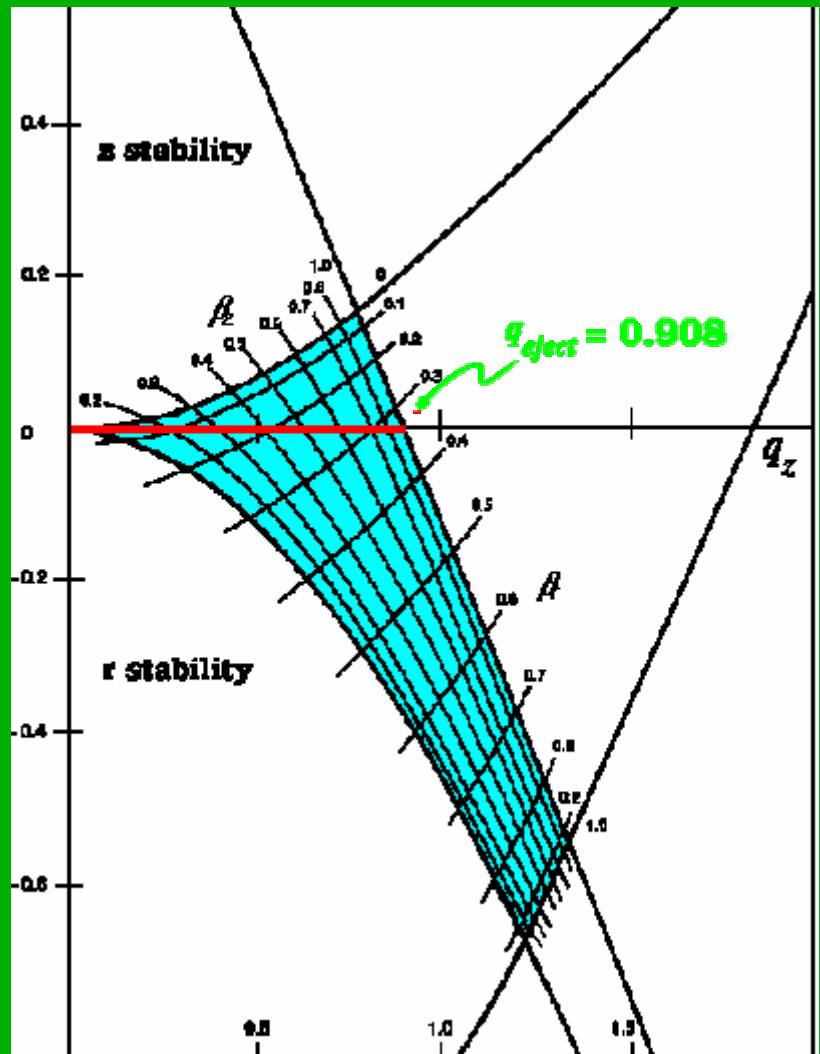
ω – ugaona frkfenca **rf**

r_0 i z_0 – dimenzije jonskog trapa

Dijagram stabilnosti jona

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

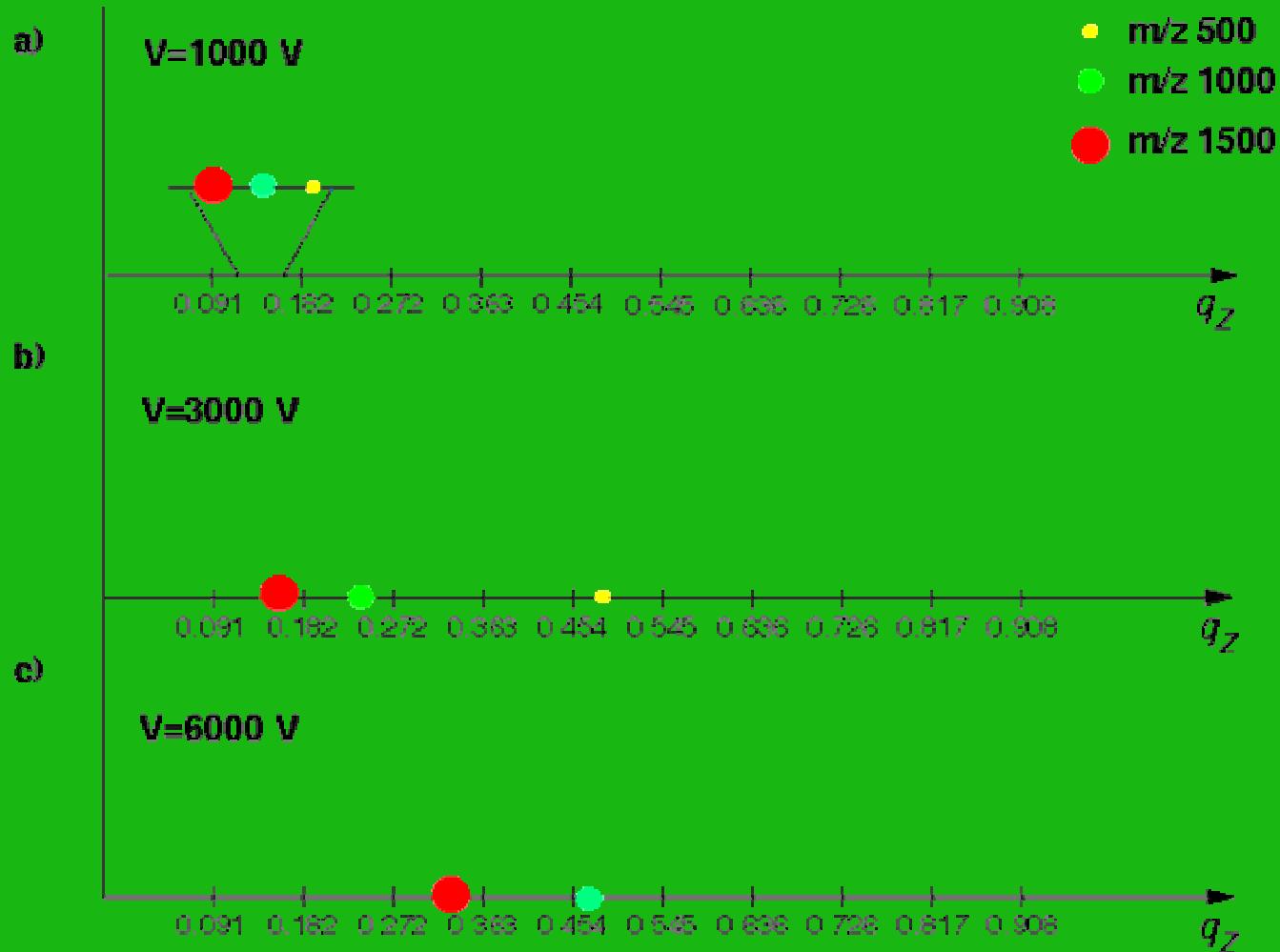
$$\frac{m}{z} = \frac{8eV}{(r_0^2 + 2z_0^2)\omega^2 q_z}$$

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

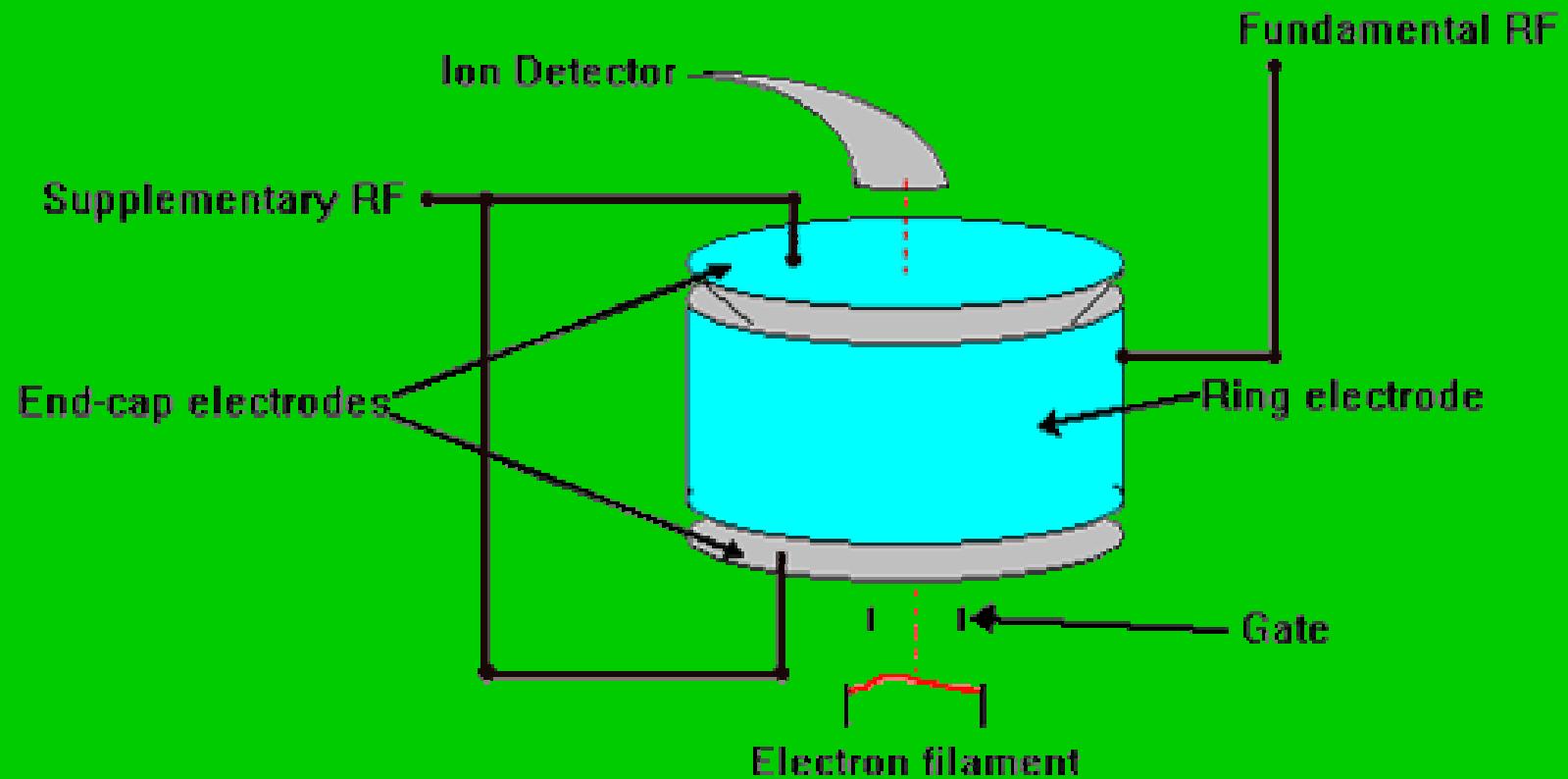
Izbacivanje jona dostizanjem granice stabilnosti

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

Uticaj promene amplitude rf signala

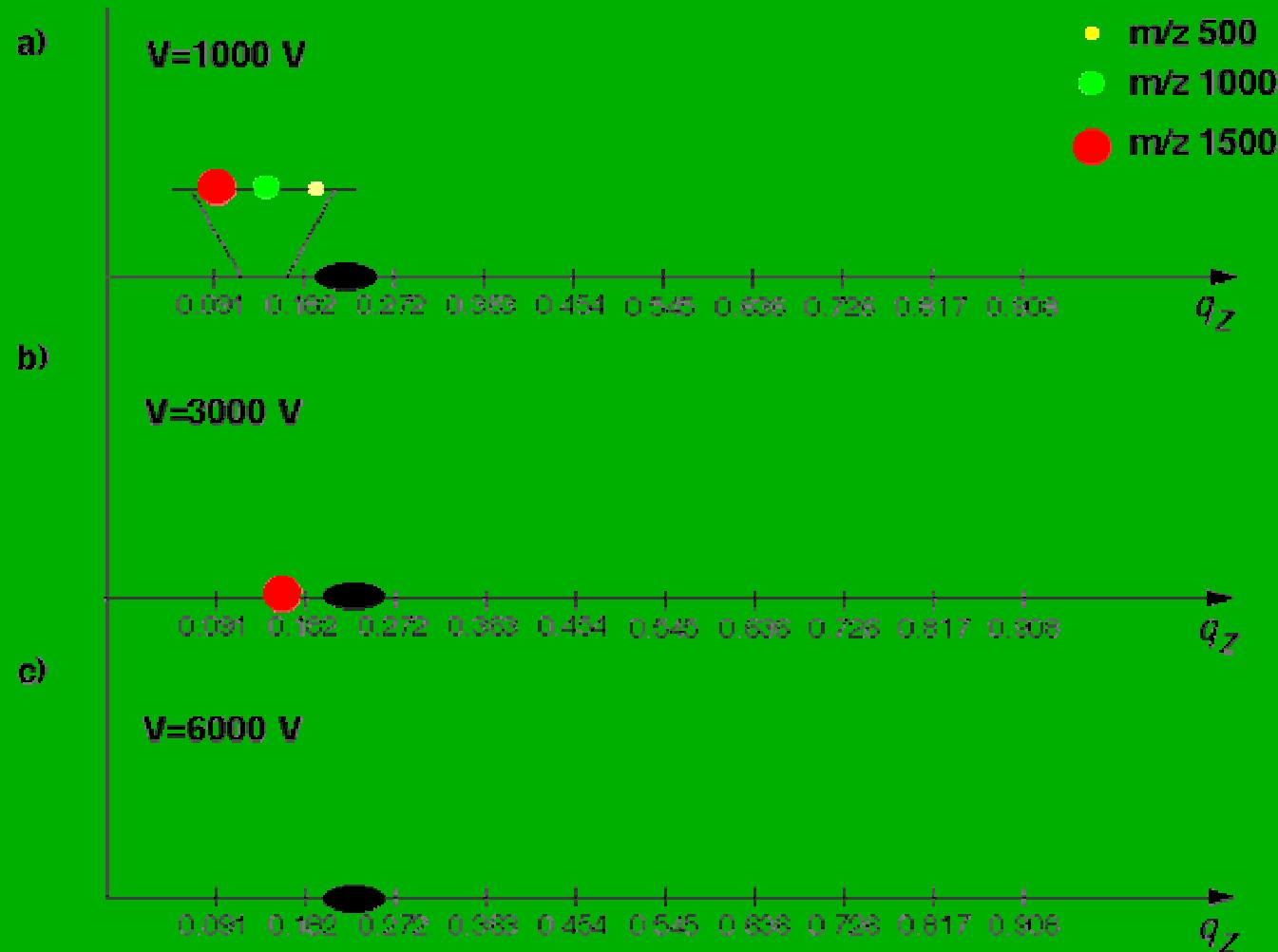


Jonski trap-kvistor sa rezonantnim izbacivanjem



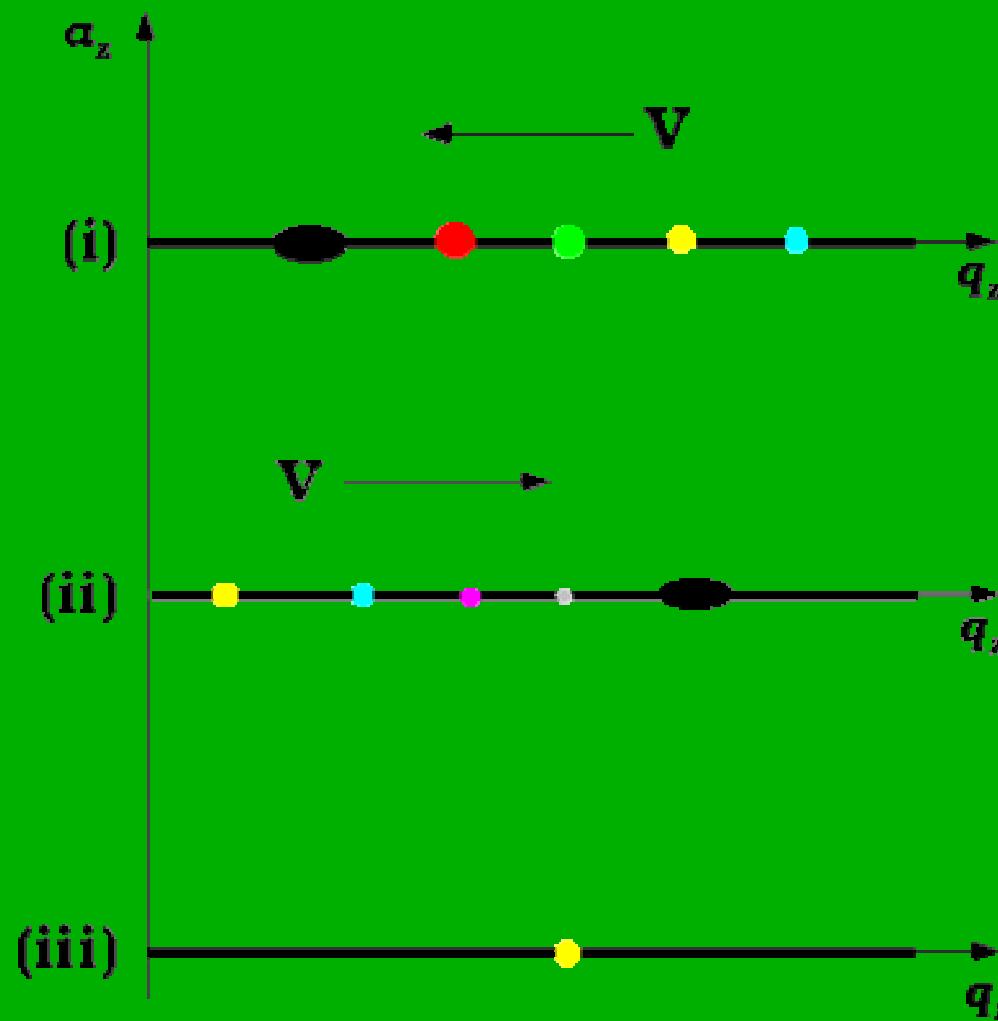
Rezonantno izbacivanje jona “Resonant ejection”

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

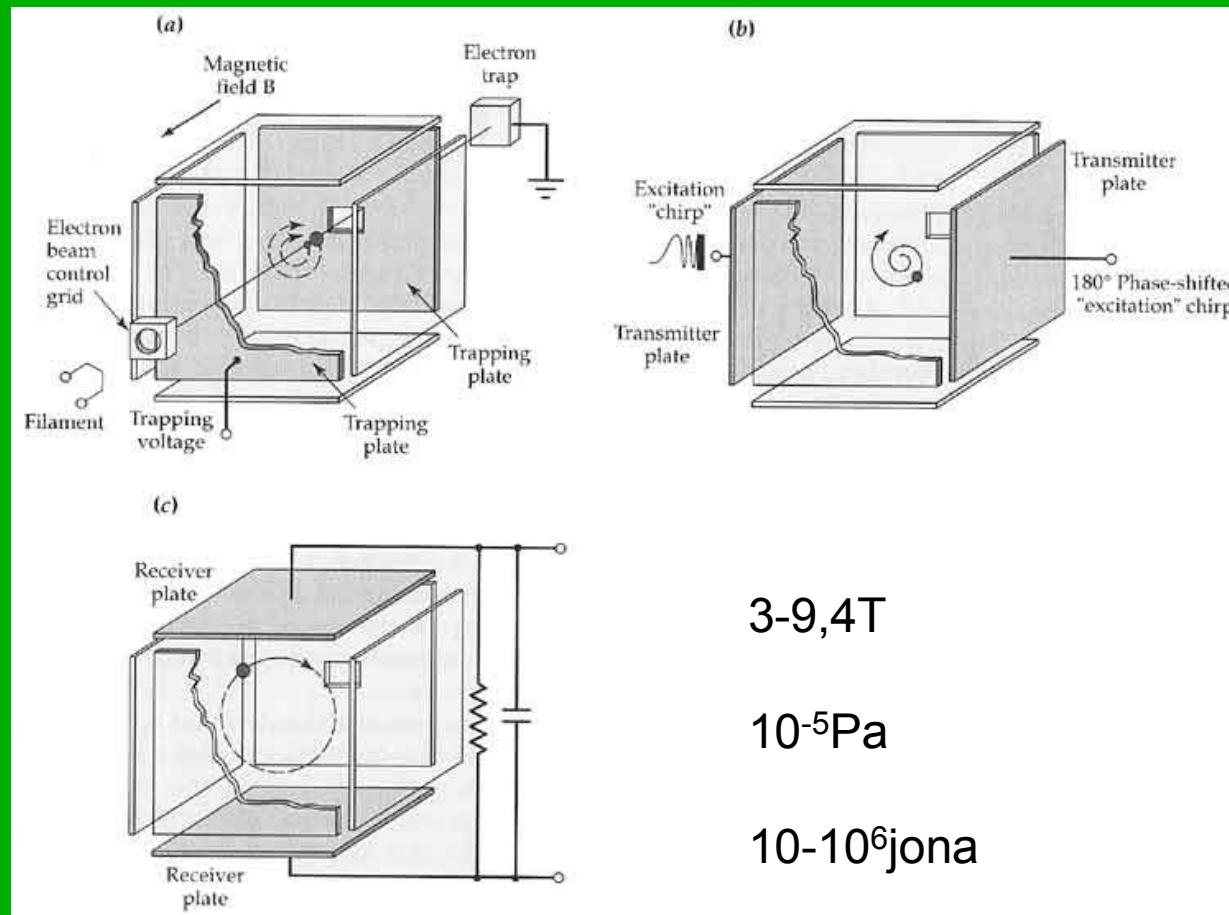


Čuvanje odabralih jona

- (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

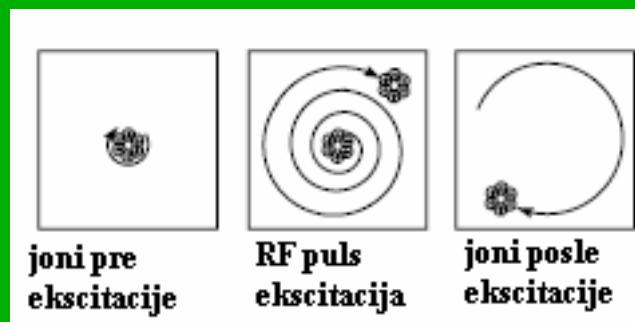


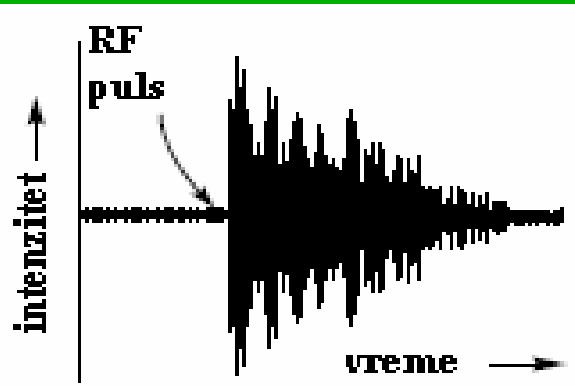
Dve strane kocke služe za pobuđivanje, dve za zarobljavanje jona i treći par za prikupljanje jona.

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.

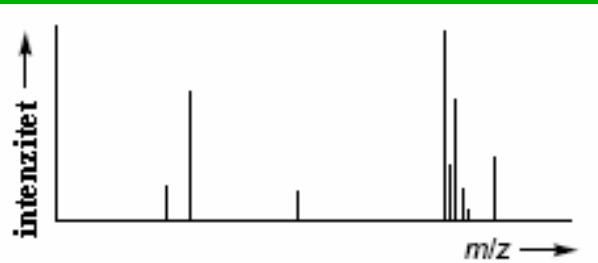




Umesto eksitacije impulsom jedne frekvencije, primenjuje se brzo skanirajuća velika oblast frekvencija (1 do 2 μs), eksitujući sve jone koji imaju ciklotronske frekvencije u oblasti skanirajućih frekvencija na istoj putanji.



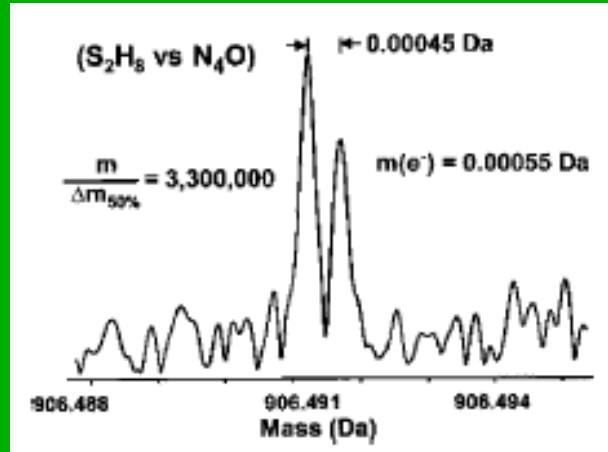
$$r = \frac{V_o T_{exc}}{B_o}$$



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

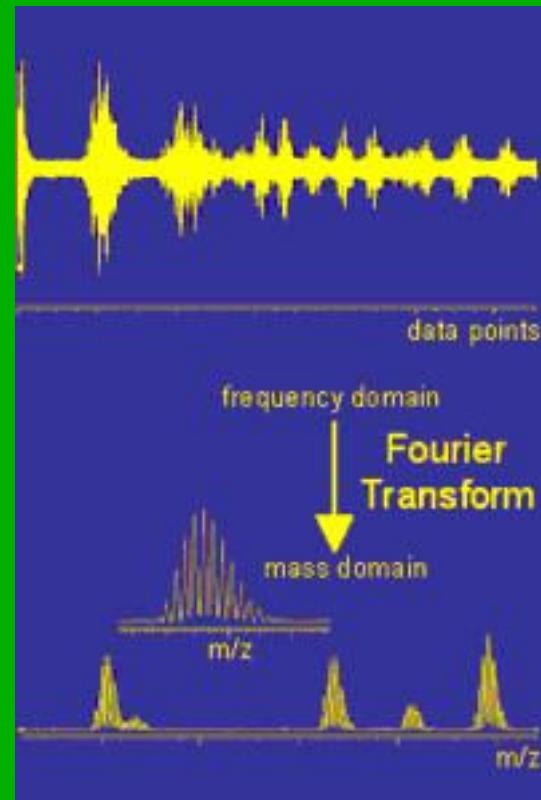
Prednost

- Ekstremno visoka rezolucija
- Amol konc.
- Din. obl. do 10^5
- 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 MSⁿ)

- 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

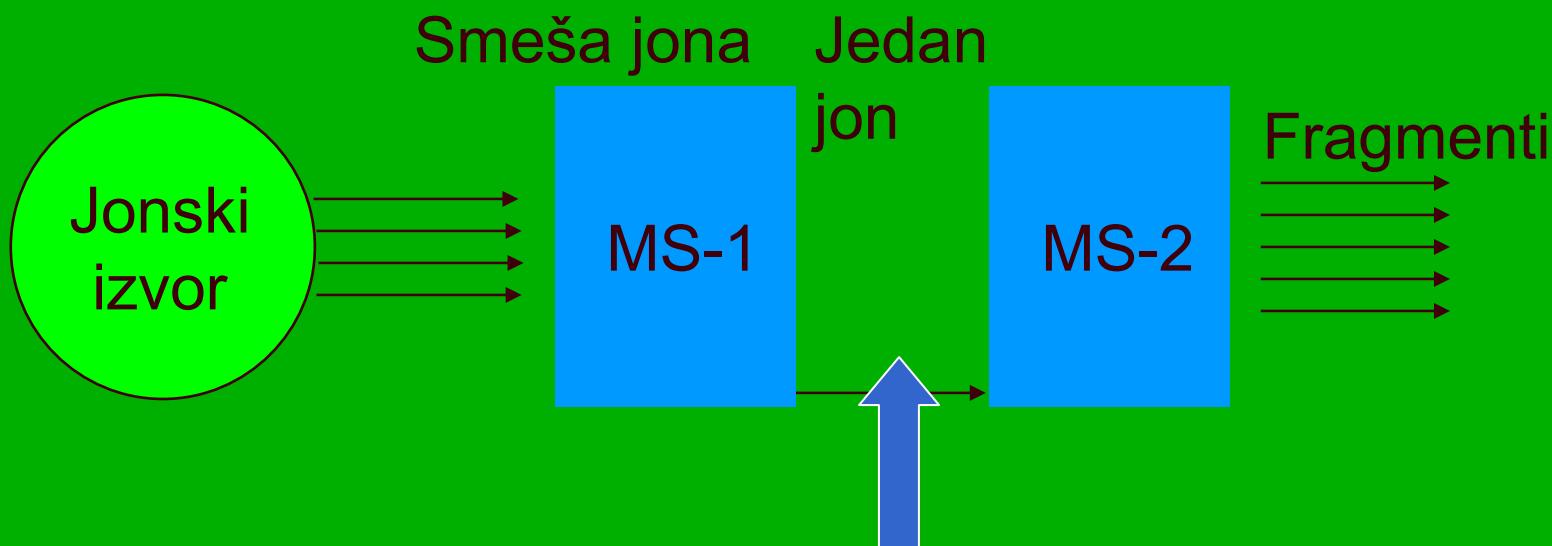
Metastabilni joni



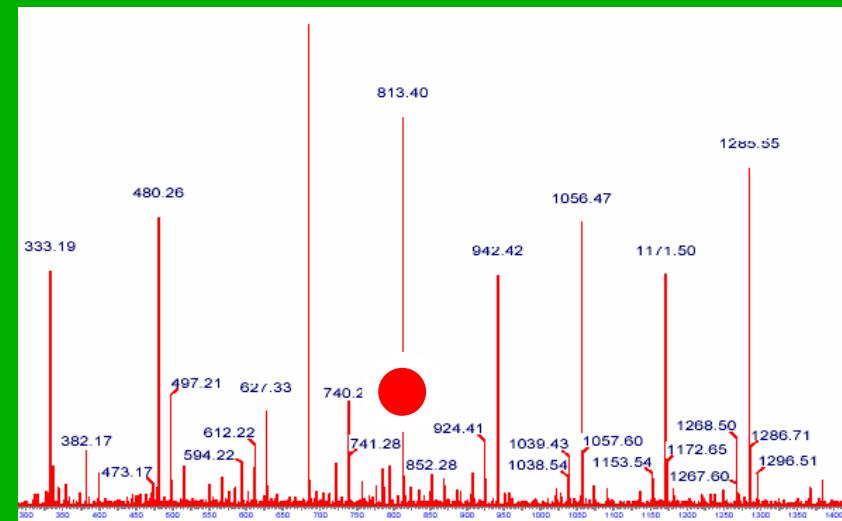
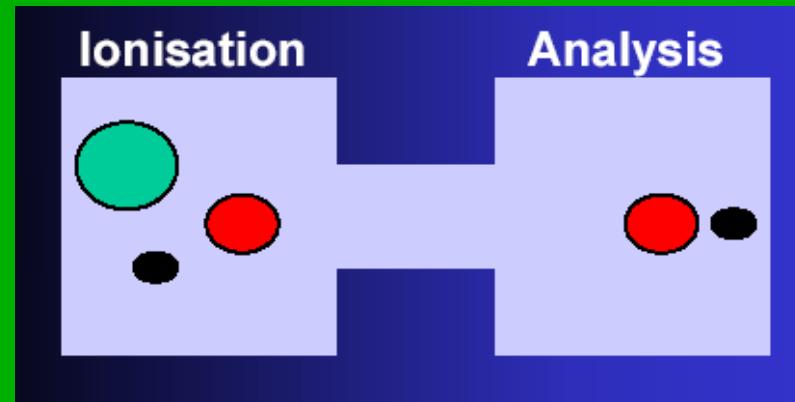
metastabilna fragmentacija : $m^* = \frac{m_2^2}{m_1}$

Šta je MS/MS-tandem maseni spektrometar?

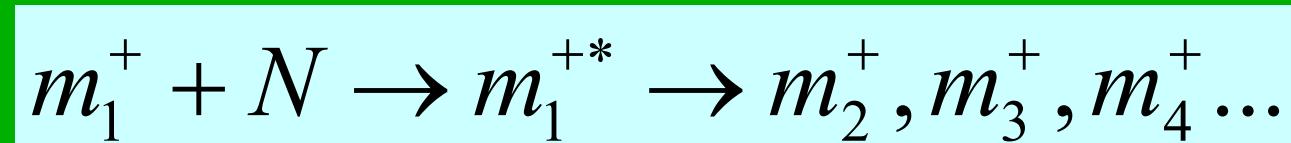
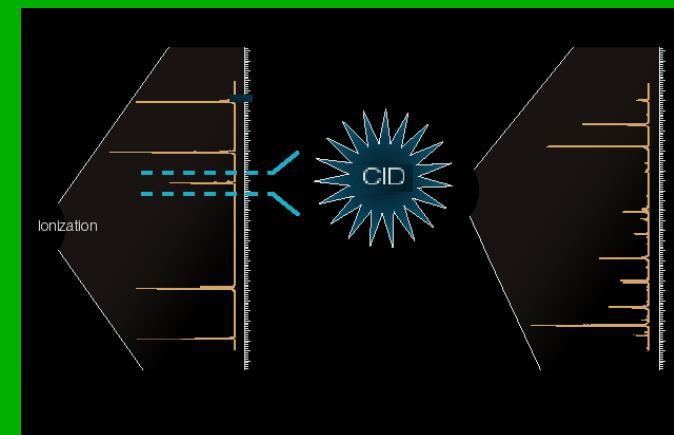
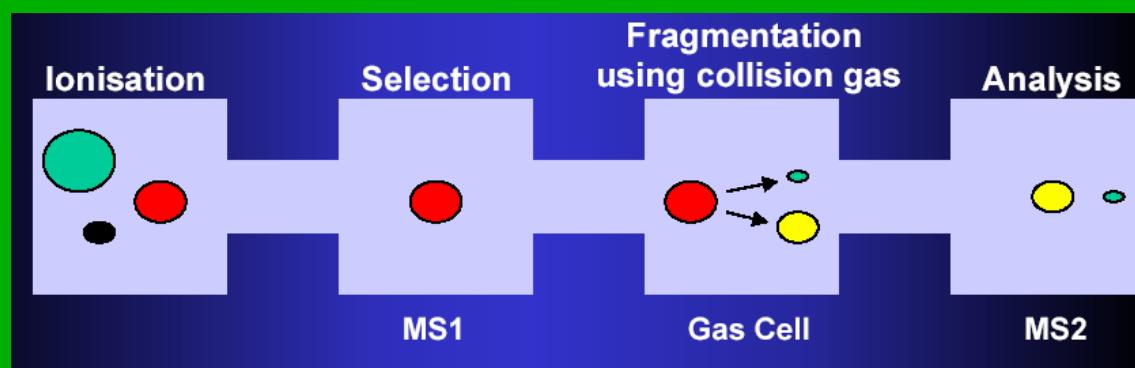
MS/MS znači korišćenje dva masena analizatora (kombinovana u jednom instrumentu) da bi se izdvojio jedan analit (jon) iz smeše, onda se stvaraju fragmenti odakle se dobijaju informacije o strukturi.



MS



MS² ili MS/MS

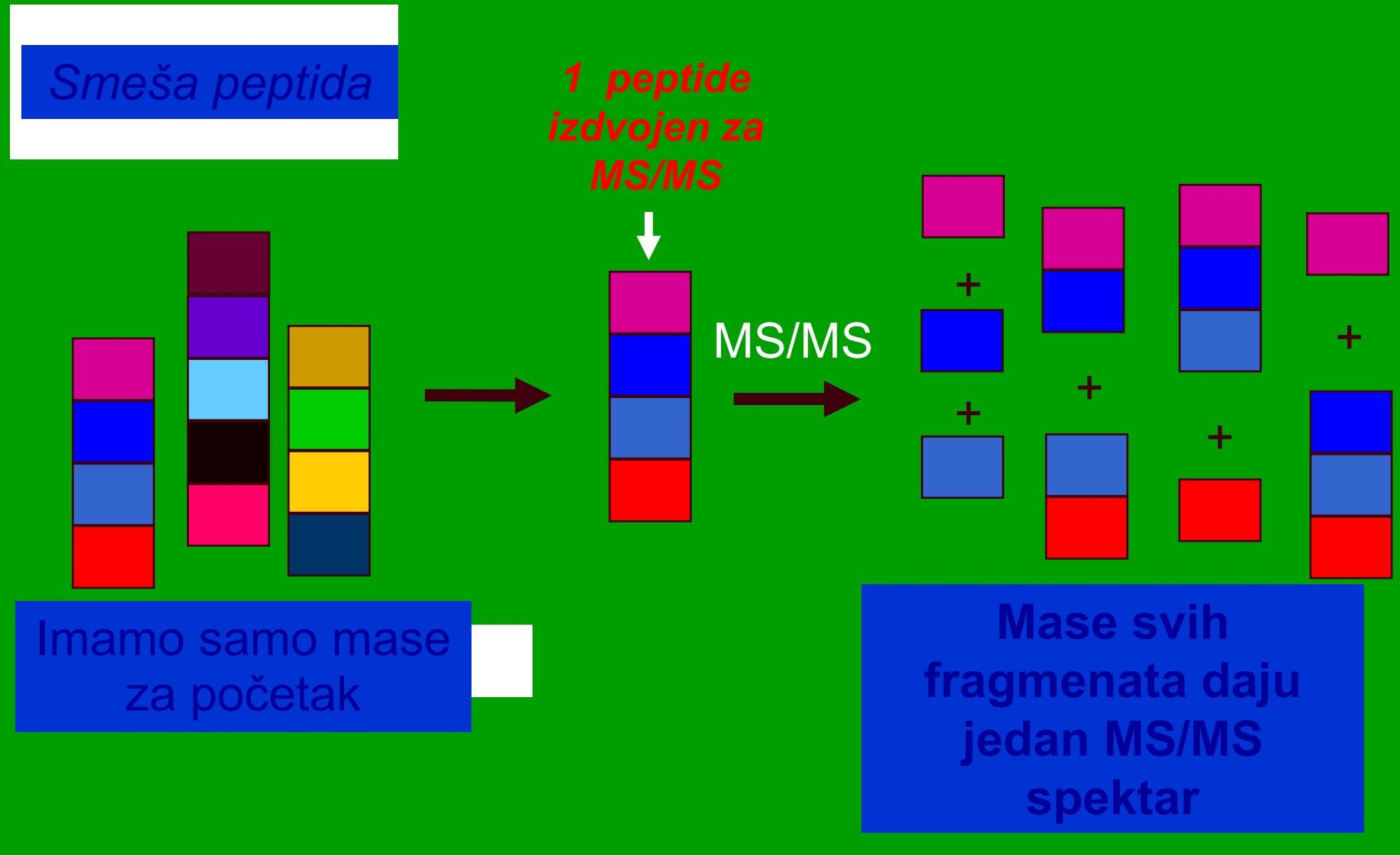


Načini aktivacije jona

- **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)

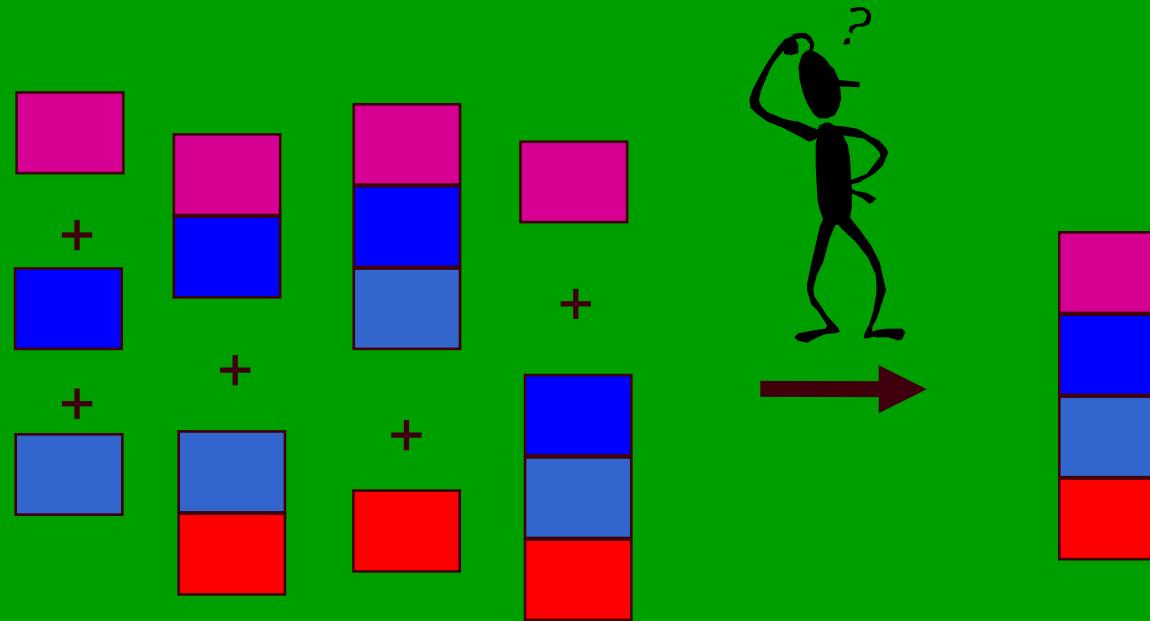
Moguća je tandem MS u prostoru ili vremenu

Šta je MS/MS?



Interpretacija jednog MS/MS spektra

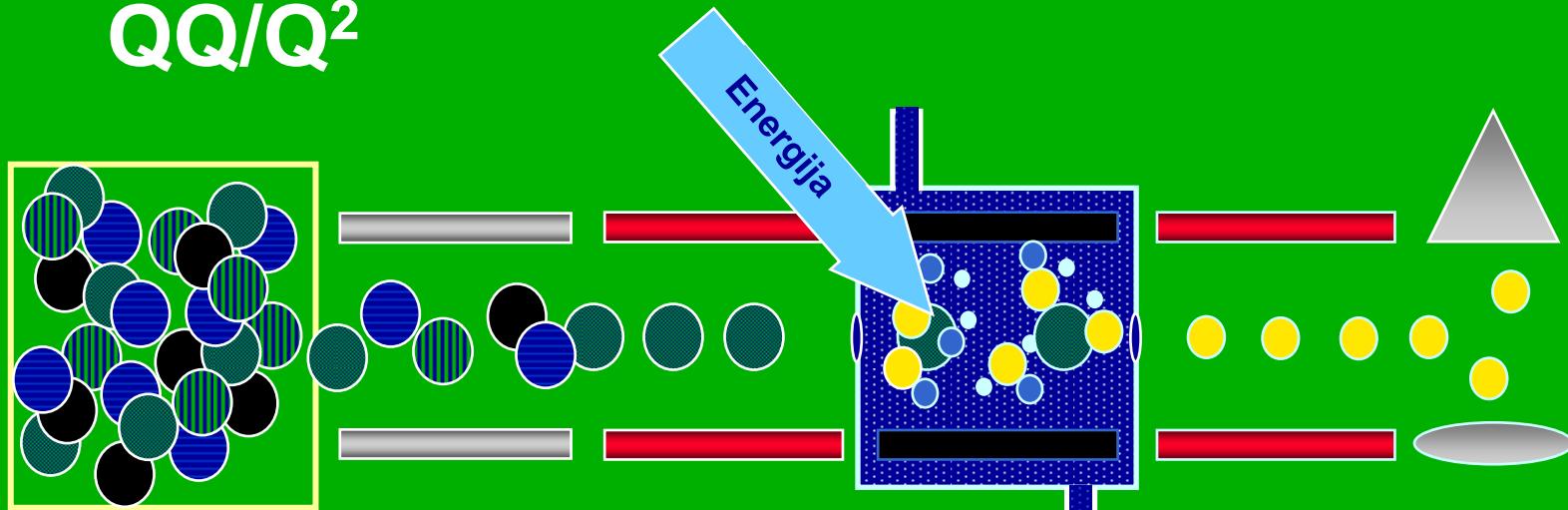
Dobijanje informacije o strukturi je analogno rešavanju pazla



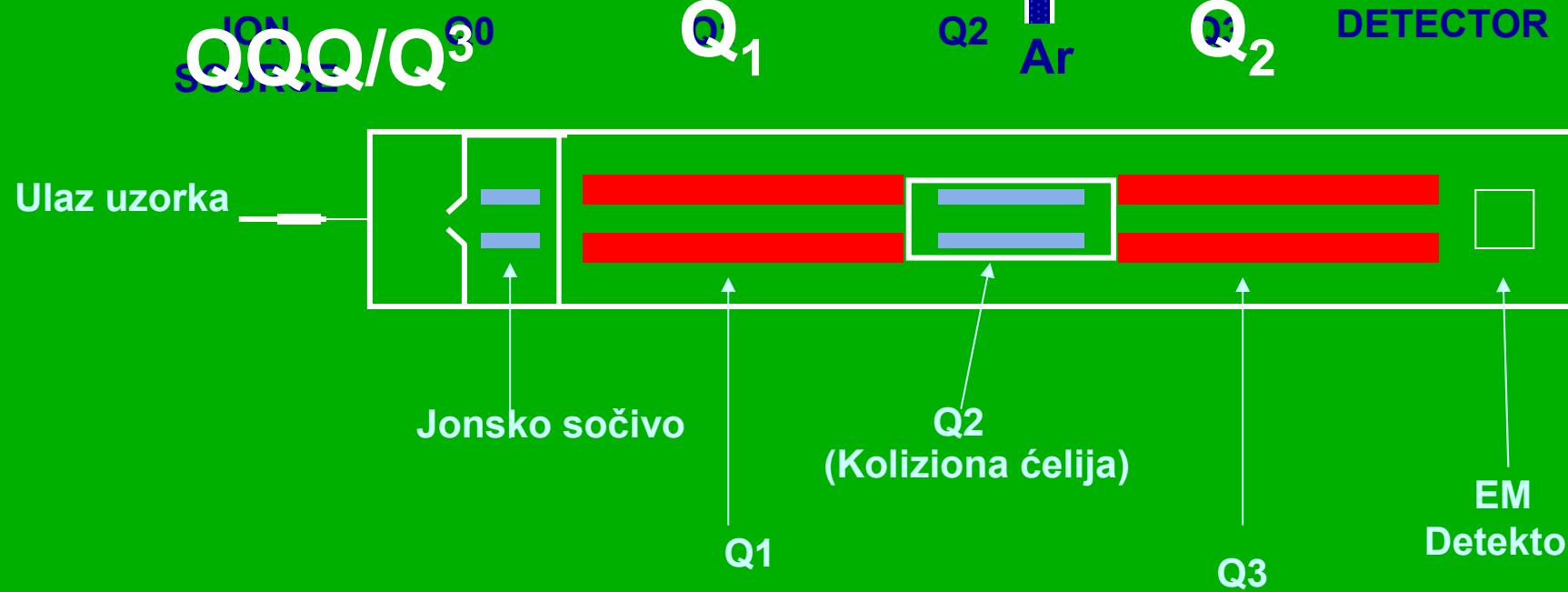
Koriste se mase fragmentnih jona kao delovi slagalice da bi se ponovo dobio roditeljski jon

KVADRUPOLNI MS/MS (u prostoru):

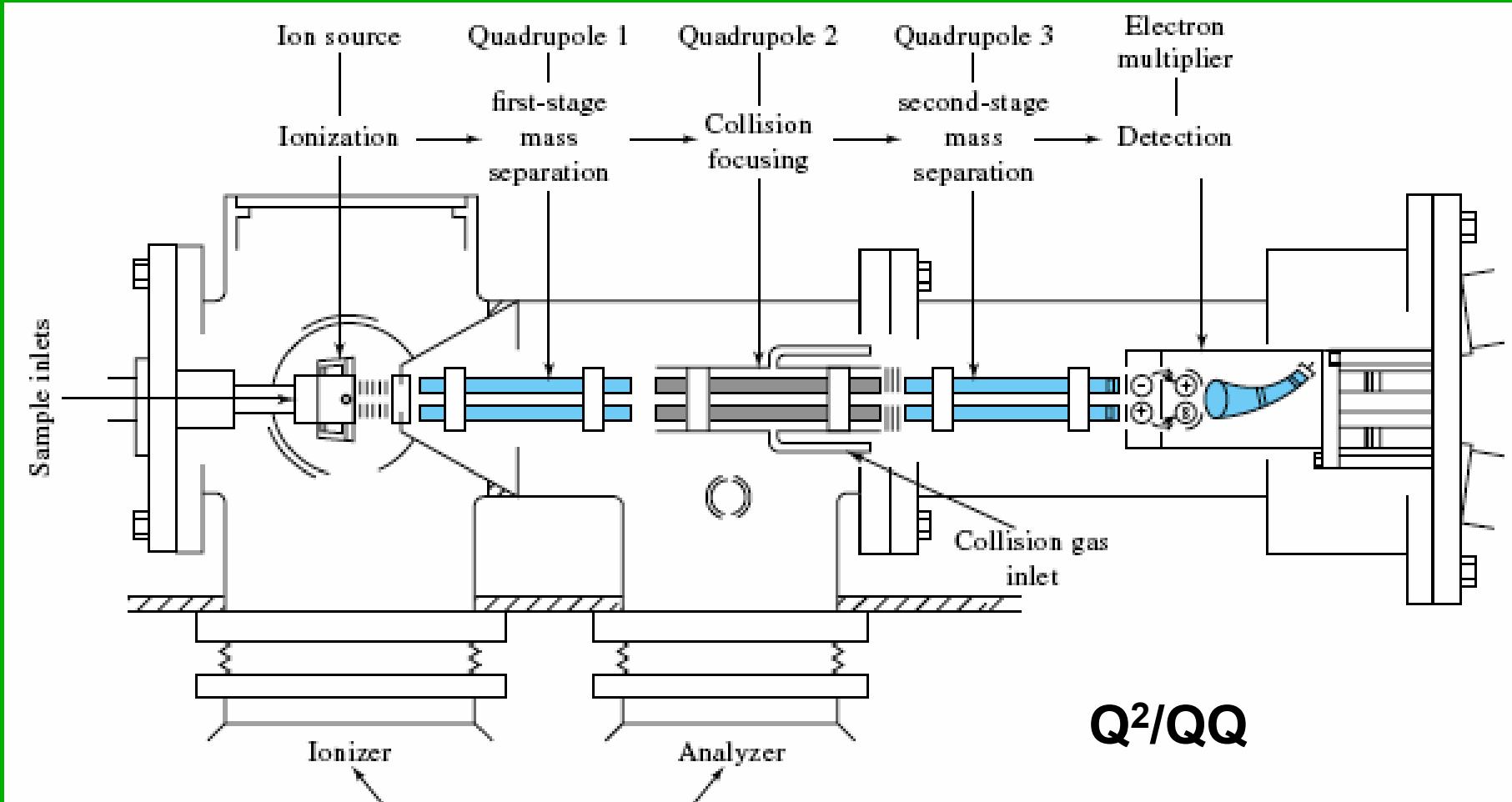
QQ/Q^2



QQQ/Q^{30}
ION
SPLITTER

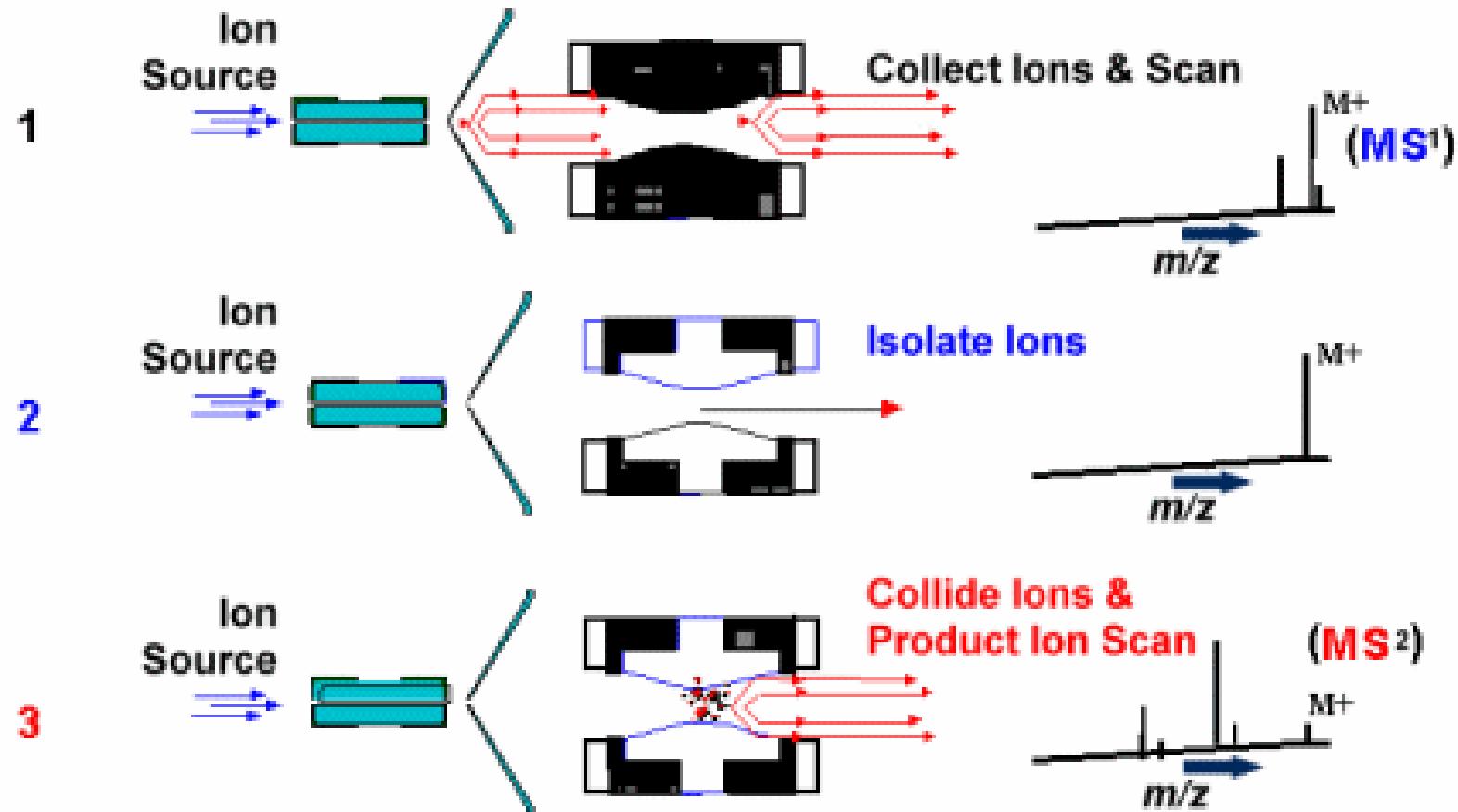


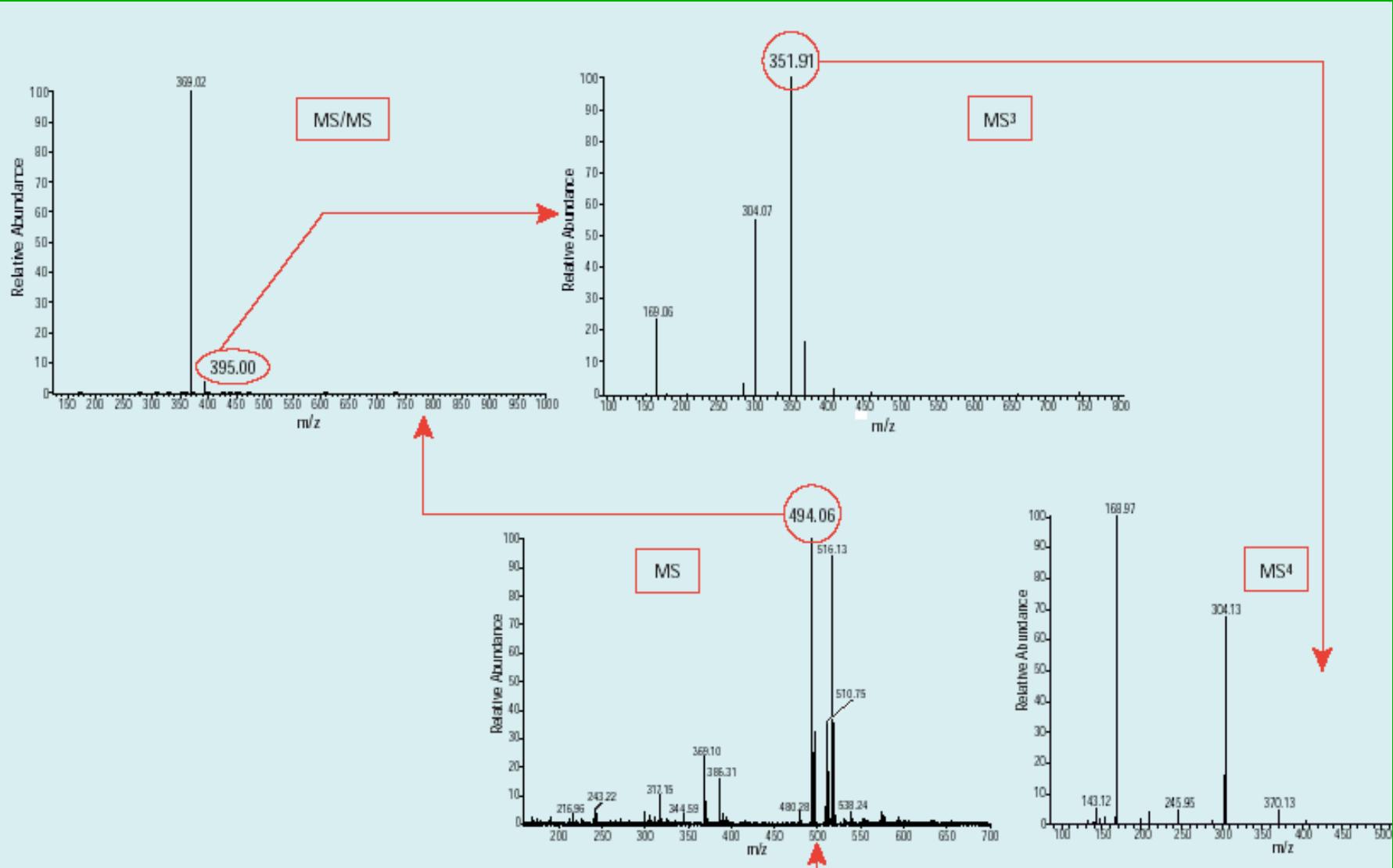
Tandem MS/MS **u prostoru** najčešće koriste magnetne(B), elektrostatičke(E) ili kvadrupolne (Q) analizatore (n=3,4)



Tandem MS u vremenu (n do 10)

Ion Trap MS





MS 1

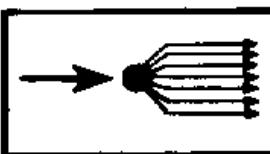
**COLLISION
CELL**

MS 2

PRODUCT ION SCAN



**SELECTED
 m/z**



CID

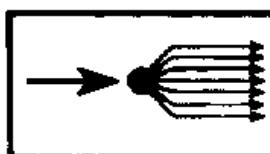


SCANNED

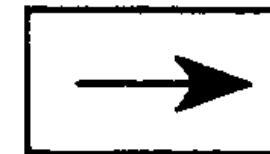
PRECURSOR ION SCAN



SCANNED



CID

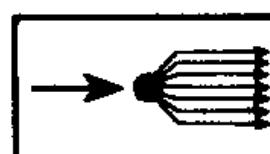


**SELECTED
 m/z**

NEUTRAL LOSS SCAN



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



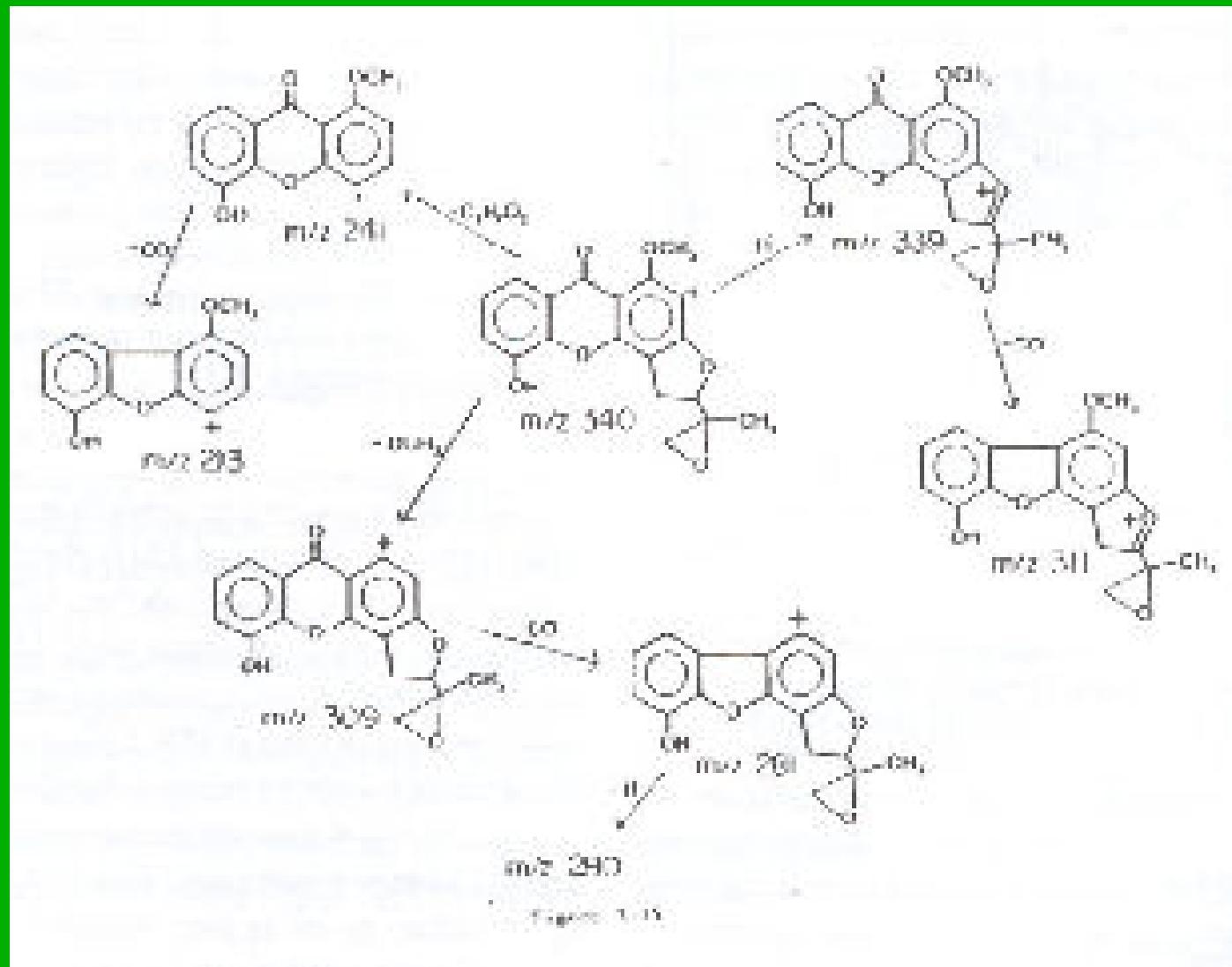
CID



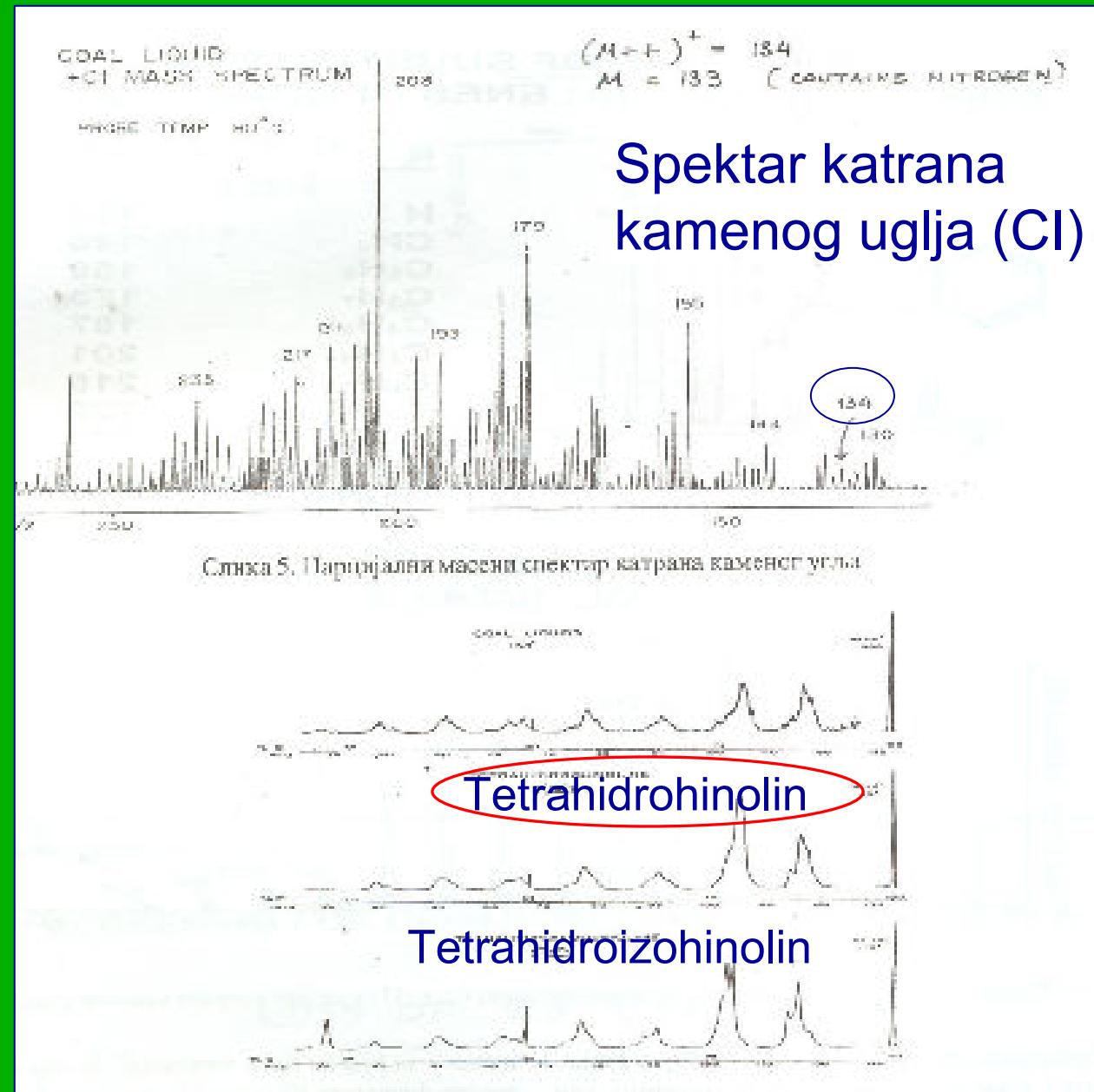
**SCANNED
 $m/z = X-a$**

**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

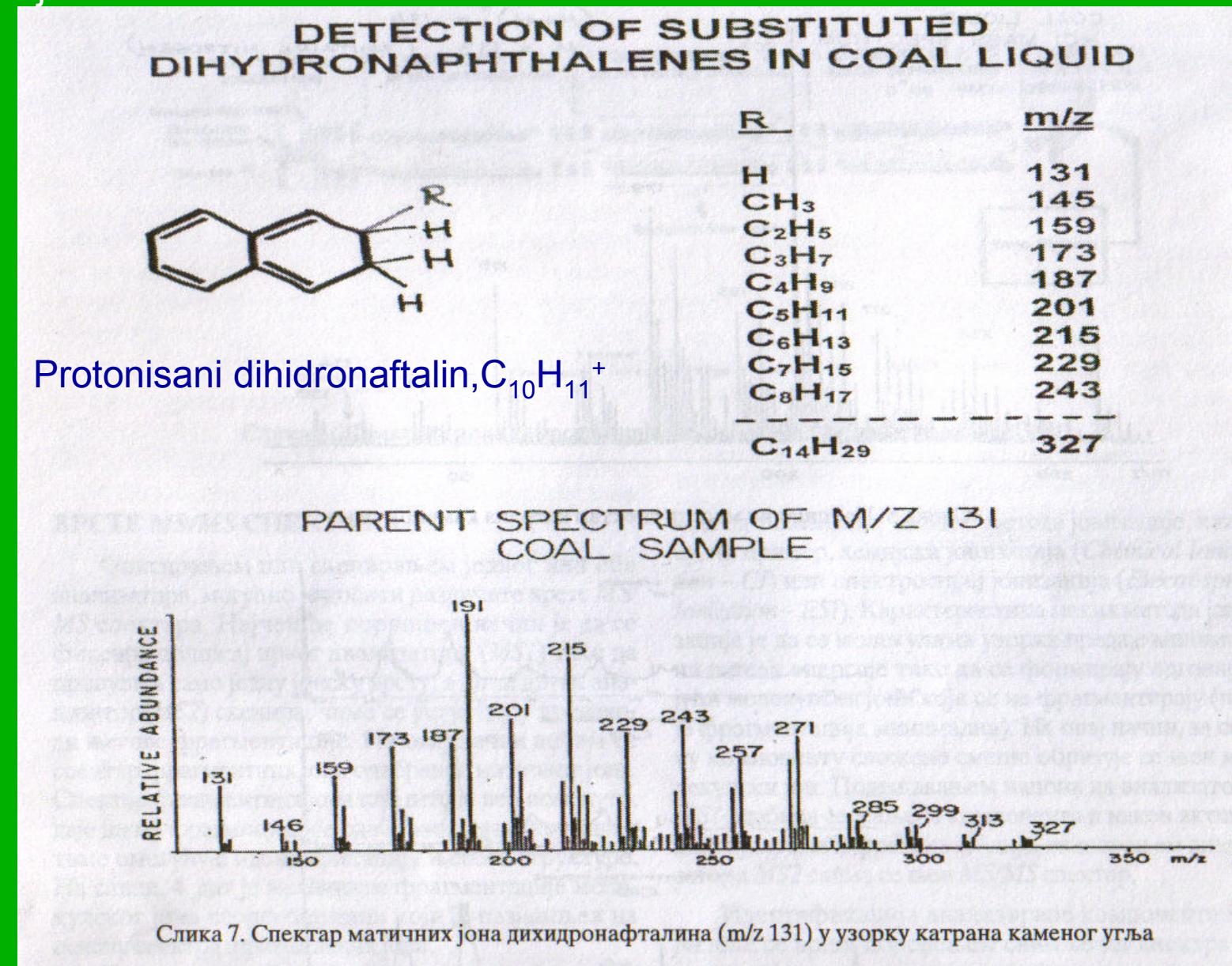
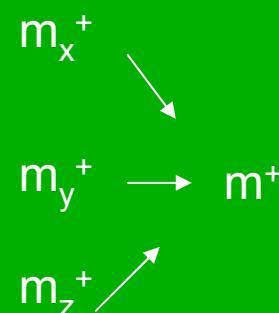


Spektar katrana kamenog uglja (CI)

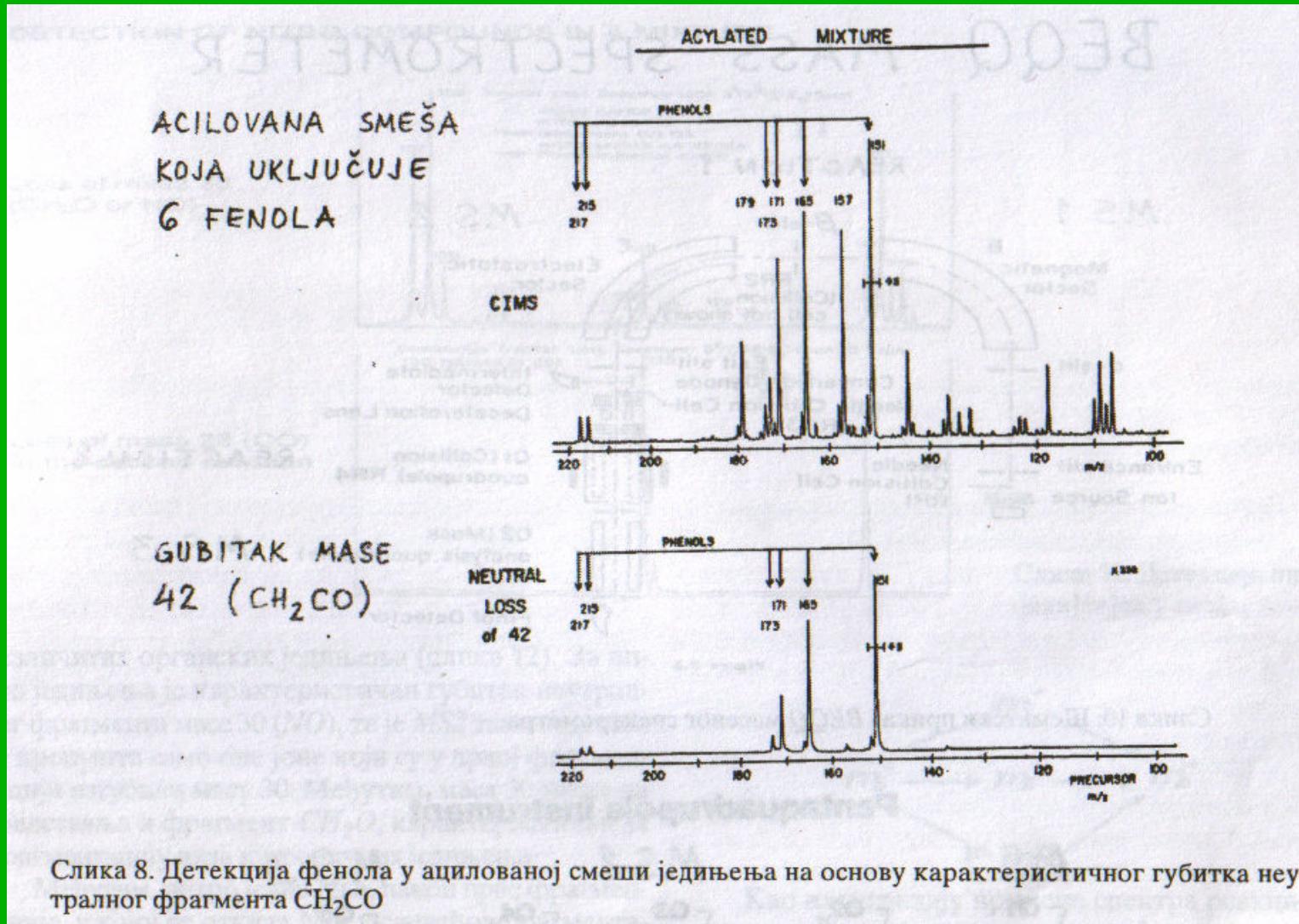
Analiza složenih smeša

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^+



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

Primena MS/MS

- Određivanje strukture molekulskog i fragmentnih jona
- Identifikacija poznatih jedinjenja
- Potrvdjivanje funkcionalnih grupa
- Proučavanje mehanizma fragmentacije jona
- Direktna analiza smeša
- Skrining kompleksnih smeša na specifične sastojke (zagađivači okoline, metaboliti, droge i dr.)
- Određivanje redosleda amino kiselina u peptidima

Primene masene spektrometrije

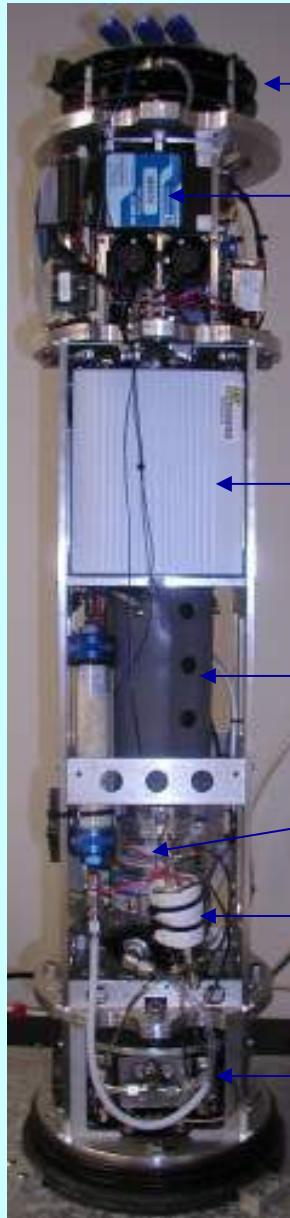
- Analiza u organskoj, neorganskoj i bioorganskoj hemiji
- Analiza geoloških uzoraka
- Kontrola u naftnoj, hemijskoj i farmaceutskoj industriji
- Analiza površina
- Zaštita okoline
 - Pesticidi u hrani
 - Zagađenje zemljišta, vazduha i voda
- Forenzička analiza/klinička
- Nauka o materijalima
- Analiza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