

**Pražské analytické centrum inovací**

Projekt CZ.04.3.07/4.2.01.1/0002 spolufinancovaný ESF a Státním rozpočtem ČR

# **Hmotnostní spektrometrie ve spojení se separačními metodami**

**Ivan Jelínek**

PřF UK Praha



## Definice:

Hmotnostní spektrometrie je fyzikálně chemická metoda určování hmotností atomů, molekul a jejich částí po převedení na kladné nebo záporné ionty. Při vhodné interpretaci výsledků měření má metoda velmi dobrou vypovídací schopnost o struktuře analyzovaných látek. Těžištěm analytického využití hmotnostní spektrometrie je především stopová analýza organických látek s důrazem na zjištění či potvrzení jejich struktury.

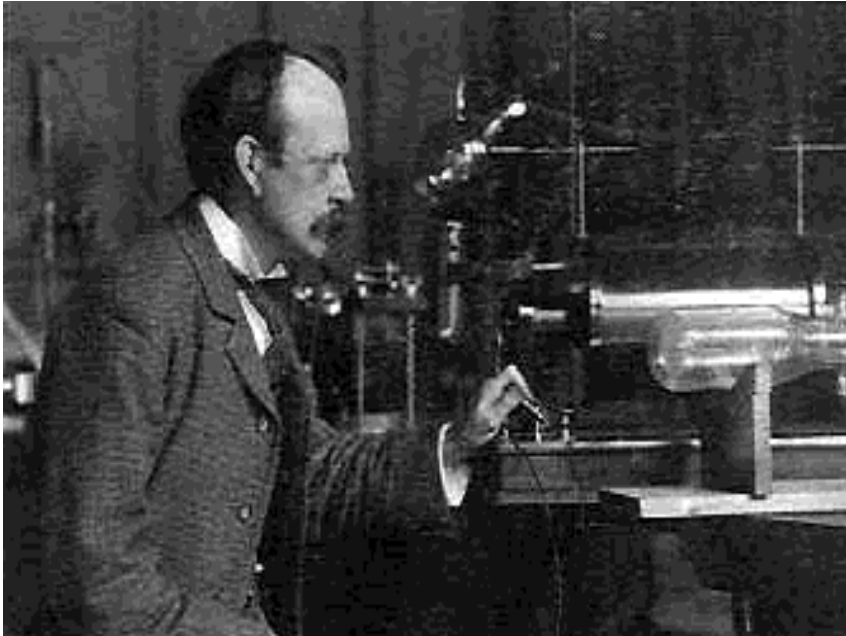
### Analytické aplikace

- Organická strukturní analýza
- Organická stopová analýza
- Organická elementární analýza
- Anorganická prvková analýza

### Neanalytické aplikace

- Určení přesných relativních atomových hmotností
- Studium mechanismu iontových reakcí
- Příprava čistých izotopů
- Iontové obrábění
- Určení stáří hornin

## Velká jména



### Joseph John Thomson

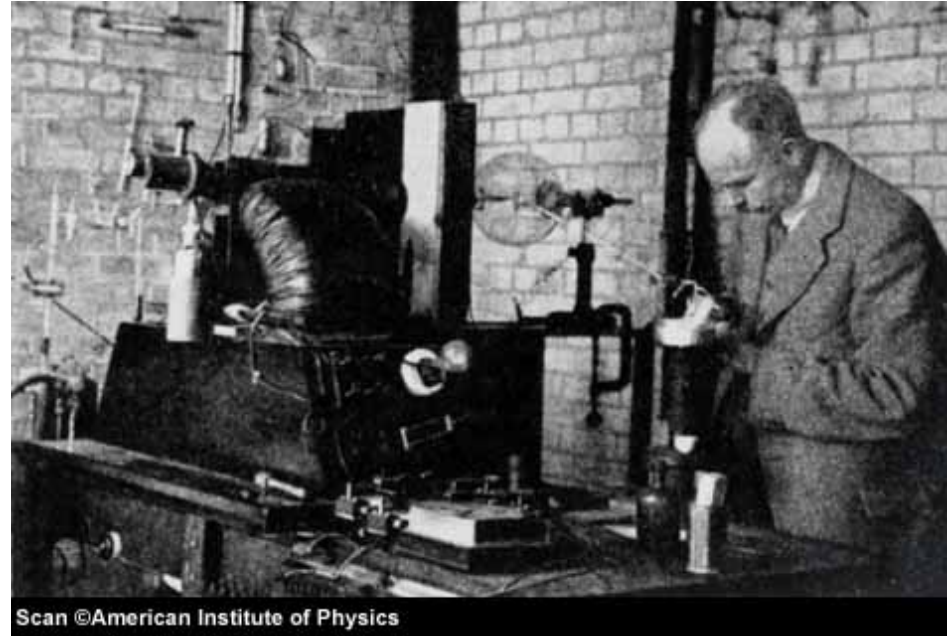
University of Cambridge  
Cambridge, United Kingdom

b. 1856

d. 1940



**1906**



Scan ©American Institute of Physics

### **Francis William Aston**

University of Cambridge  
Cambridge, United Kingdom

b. 1877

d. 1945



**1922**

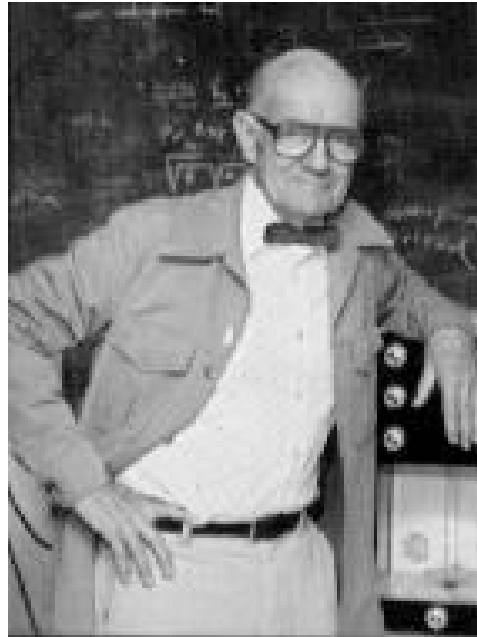
## Velká jména



**Wolfgang Paul**  
University of Bonn  
Bonn, Germany  
b. 1913  
d. 1993



1989



**John B. Fenn**  
Virginia University  
Richmond, VA, USA  
b. 1917



2002



**Koichi Tanaka**  
Shimadzu corporation  
Kyoto, Japan  
b. 1959



2002

## Velká jména

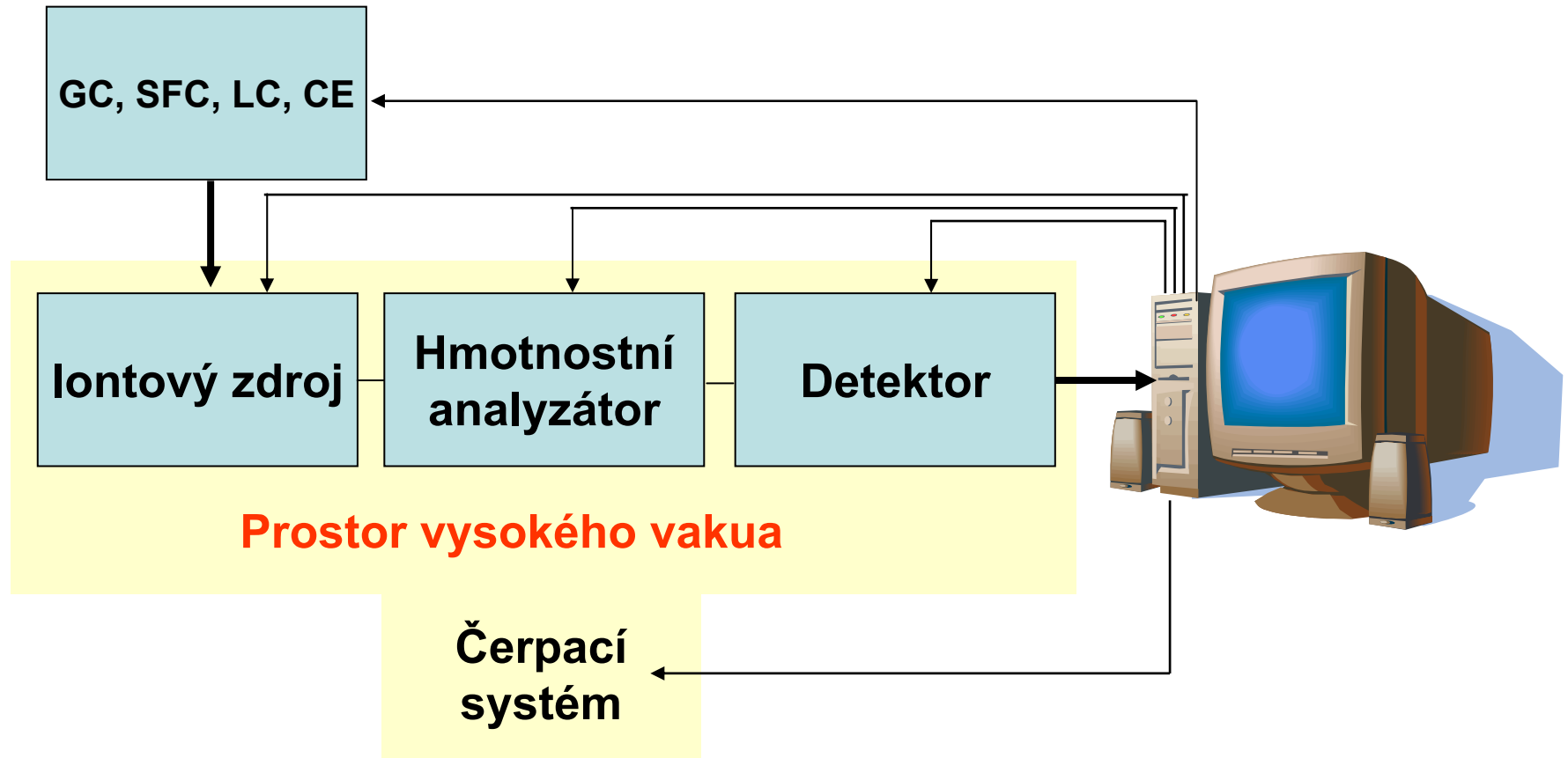


**Fred W. McLafferty**  
Cornell University  
Ithaca, New York, USA  
b. 1923



**Klaus Biemann**  
Massachusetts Institute of Technology  
Cambridge, Massachusetts, USA  
b. 1926

# Blokové schéma





**Ionizační techniky  
vhodné pro LC(CE)/MS**

## Klasifikace ionizačních technik dle skupenství analytu při ionizaci

Ionizace z plynné fáze:

EI, CI, FI, ICP

Ionizace z kondenzované fáze:

FAB, ESI, APCI, APPI  
MALDI

Díky stabilizačnímu účinku matrice patří veškeré způsoby ionizace z kondenzované fáze mezi měkké ionizační techniky, a to bez ohledu na velikost primární ionizační energie.



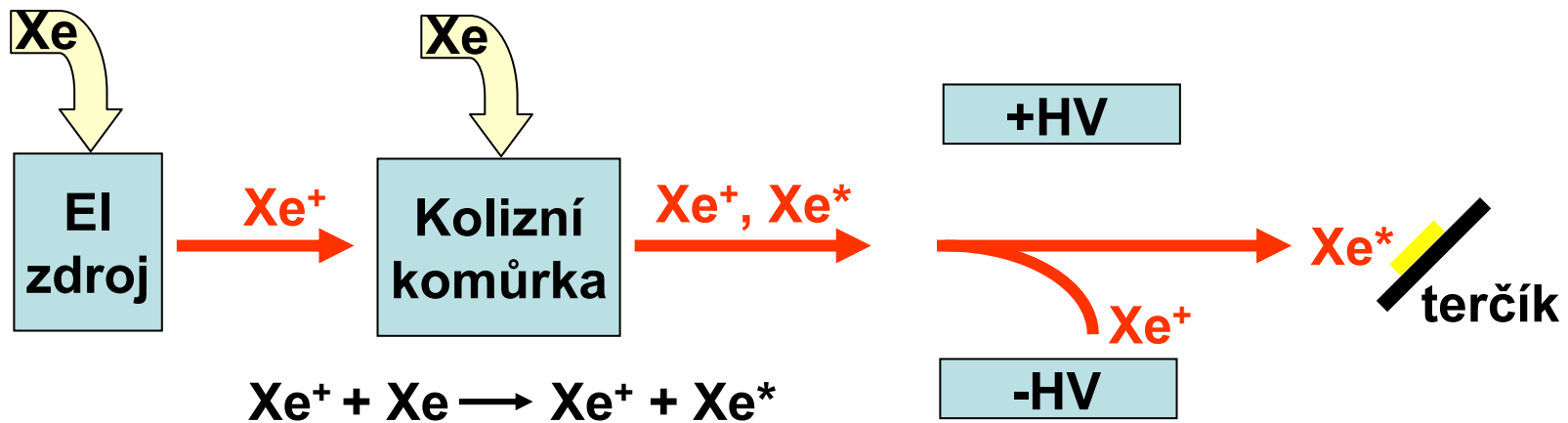
## Ionizace urychleným částicemi; atomy (fast atom bombardment, FAB), ionty (fast ion bombardment, FIB)

Měkké ionizační techniky z kondenzované fáze vhodné pro analýzu netěkavých a tepelně nestálých látek.

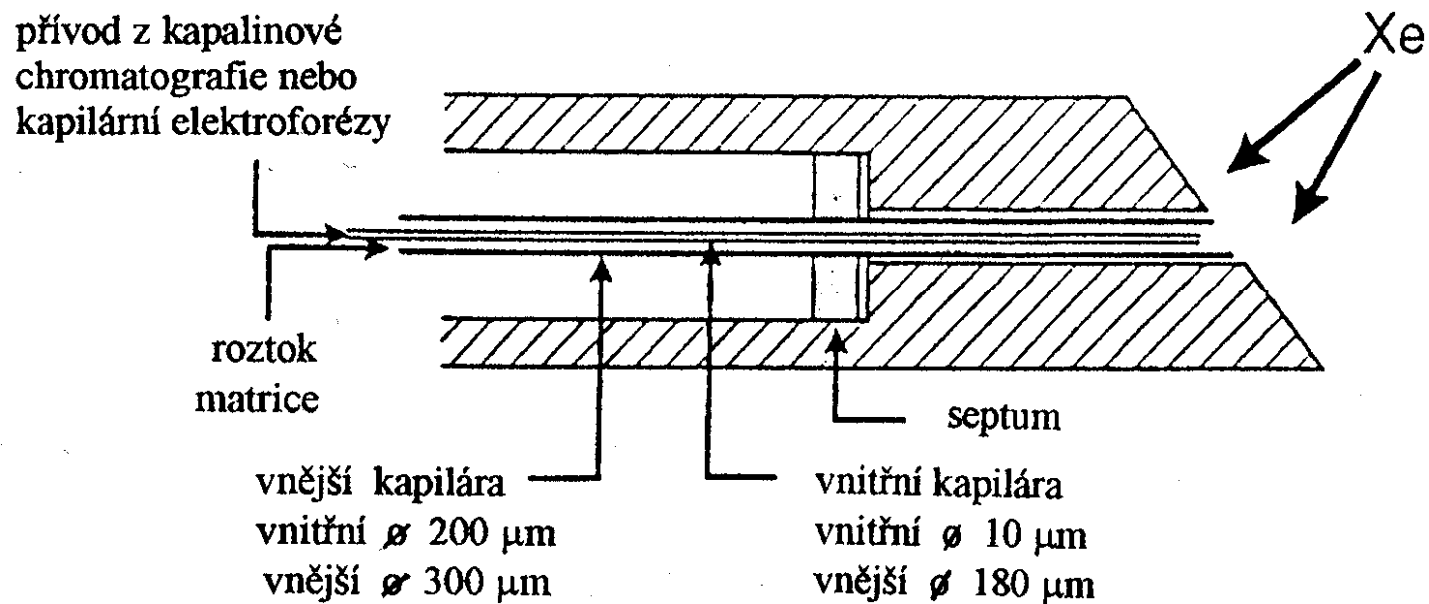
**FAB** - urychlené atomy Ar, Xe

**FIB**, - urychlené ionty Cs<sup>+</sup>, Ga<sup>+</sup>, Ar<sup>+</sup>, Xe<sup>+</sup>

### Schéma FAB zdroje



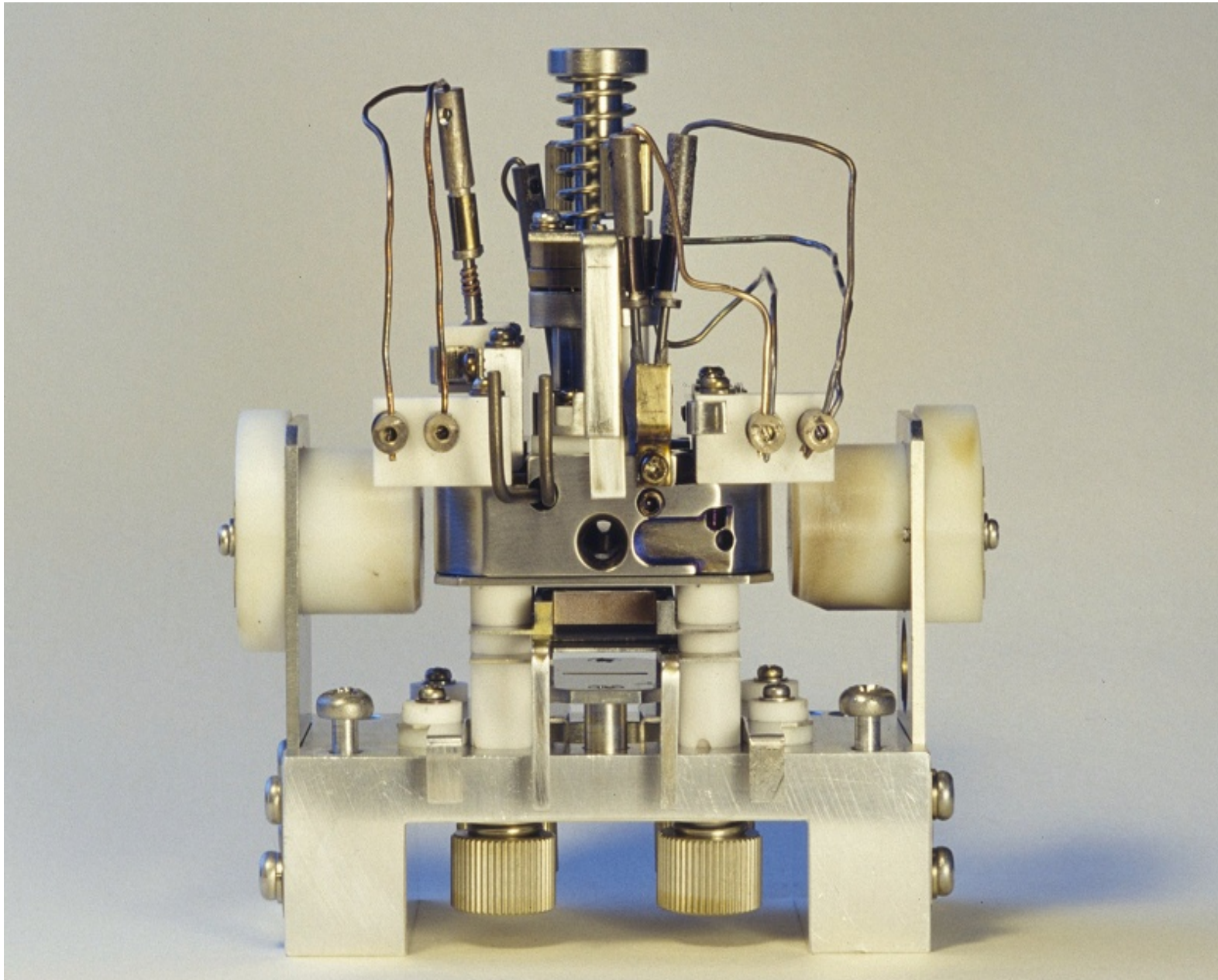
## Průtokové sondy pro FAB ionizaci

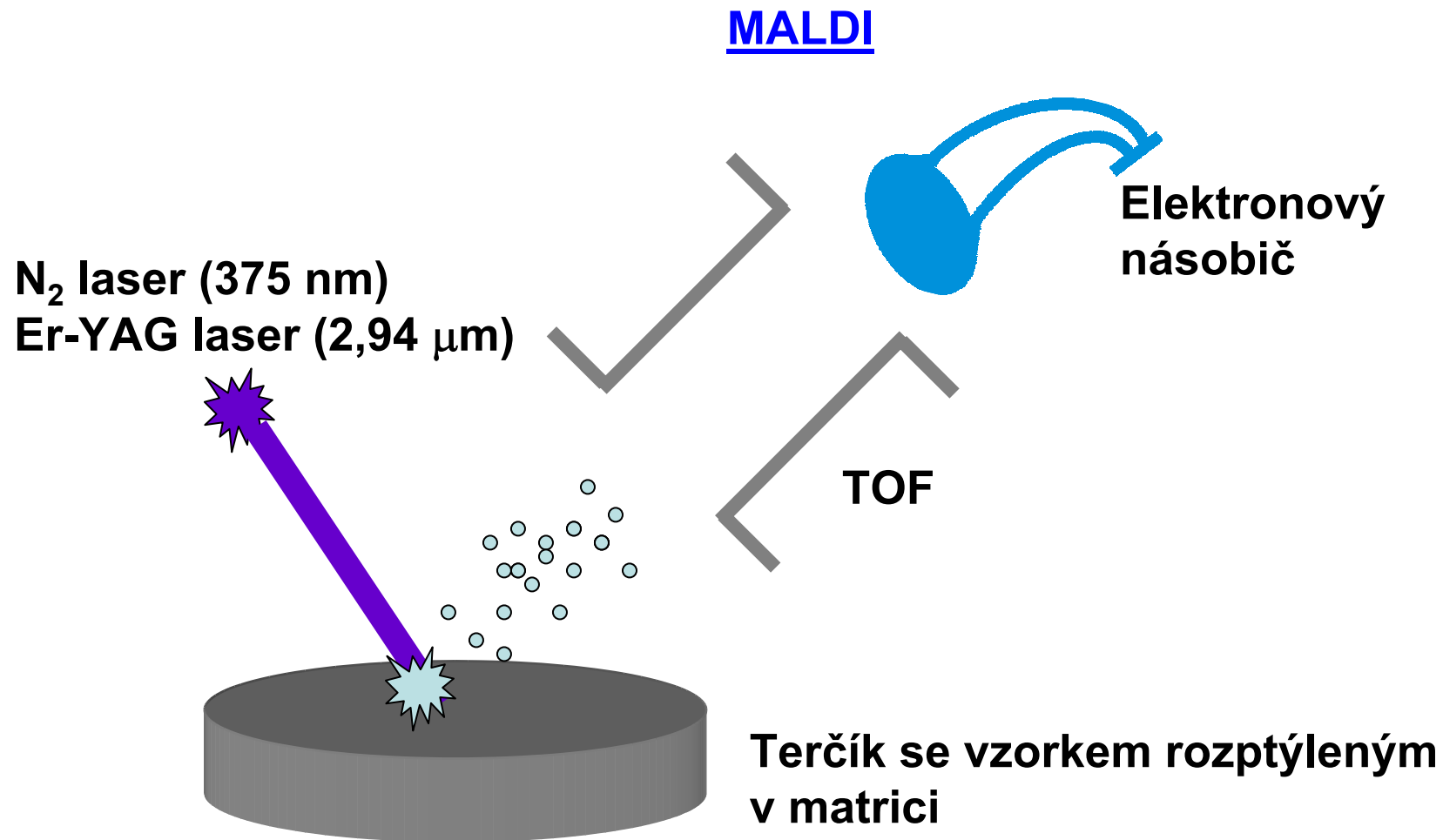


**CF-FAB sonda používaná u spojení LC/MS a CE/MS.**



## Kombinovaný EI-CI-FAB zdroj





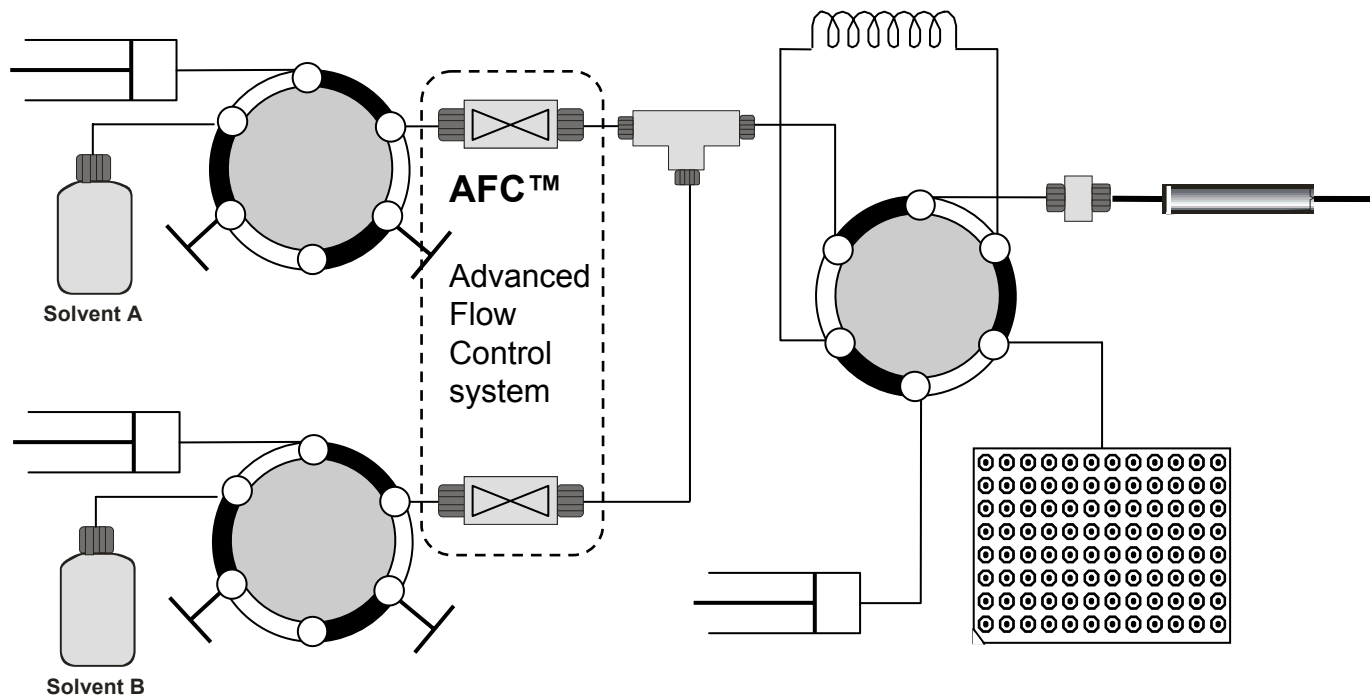
Běžně používané matrice:

CHCA 2-kyano-4-hydroxyskořicová kyselina

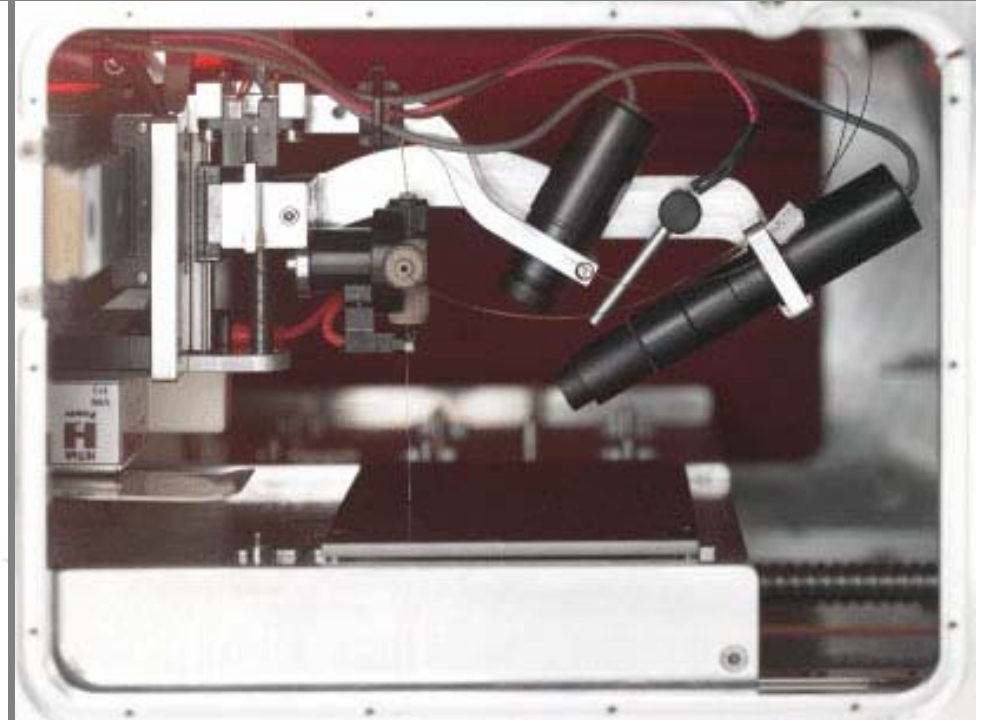
DHB 2,4-dihydroxybenzoová kyselina

SA 3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoová kyselina (sinapinic acid)

# nLC MALDI spotter



## nLC MALDI spotter



## MALDI – TOF instrumentace





## Прїмэ spojení LC/MALDI – TOF



## MALDI aplikace

- molekulová hmotnost proteinů a bílkovin
- sekvence proteinů a bílkovin
- farmakokinetika léčiv
- návykové látky
- syntetické polymery

## Sprejové ionizace

Převodu iontů z kapalné fáze do vakua je dosaženo odsušením mikropapének rozprášené kapalné fáze. Pokud je tento proces dostatečně rychlý, pak energie elektrického pole povrchového náboje kapének postačí k převodu disociovaných částic z roztoku do vakua bez nutnosti dodání vnější energie.

### Členění dle způsobu rozprášení kapalné fáze

Tepelná energie:

termosprej (TSI)

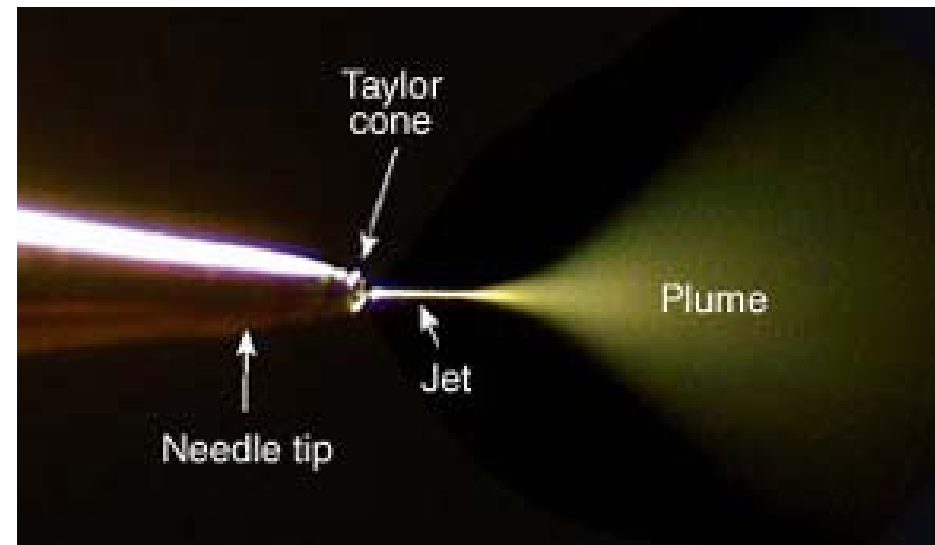
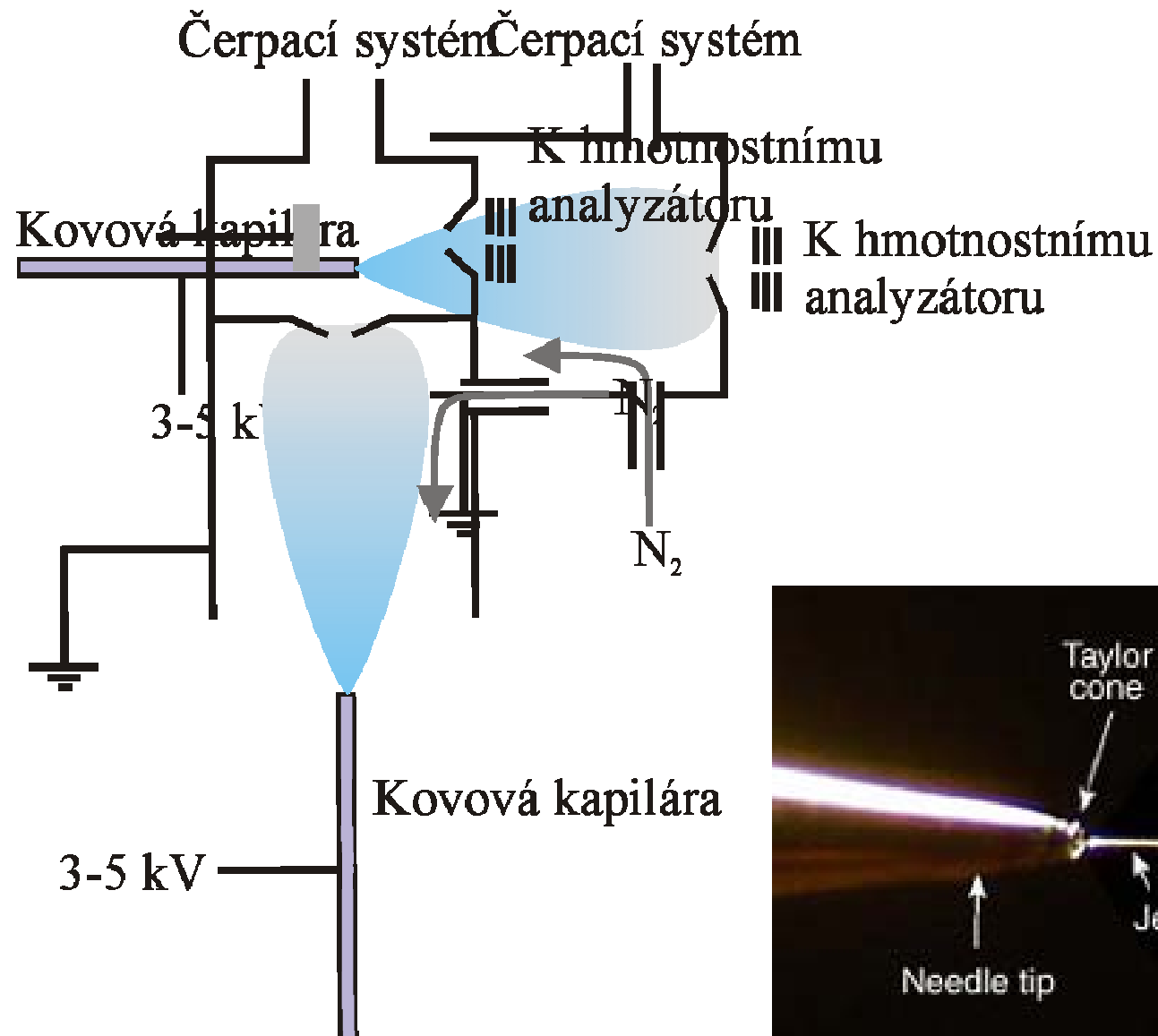
chemická ionizace za atmosferického tlaku (APCI)

fotoionizace za atmosferického tlaku (APPI)

elektrické pole:

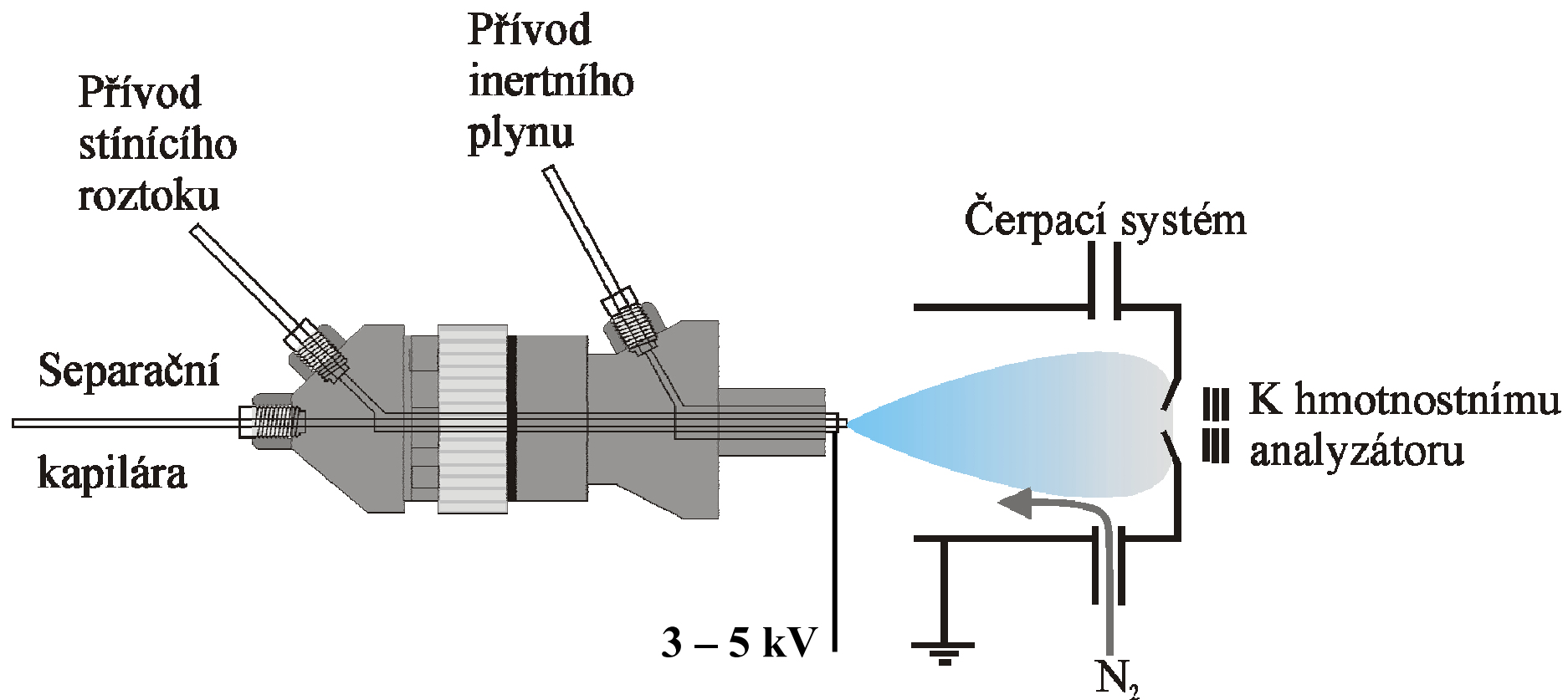
elektrosprej (ESI)

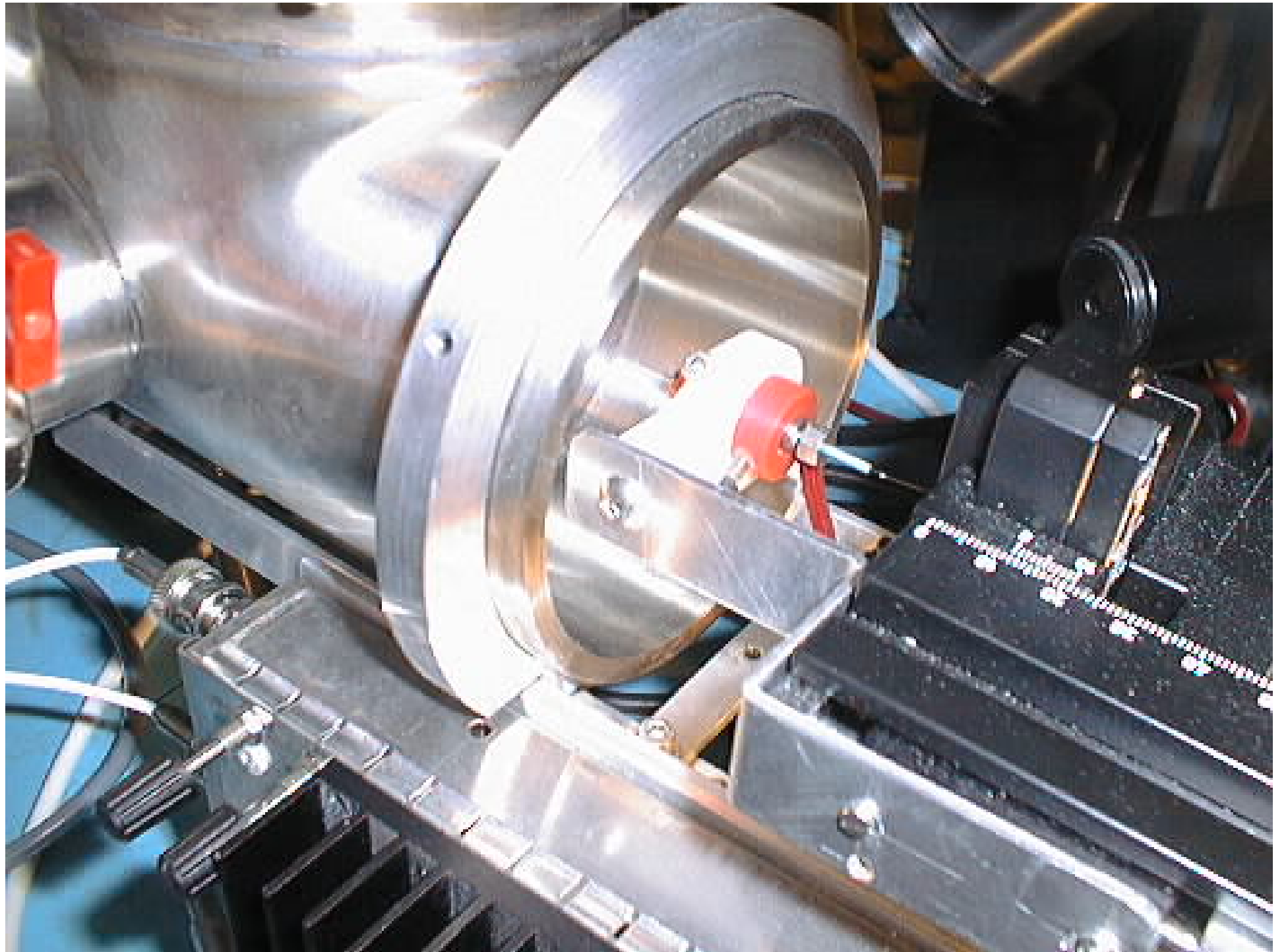
## Elektrosprej

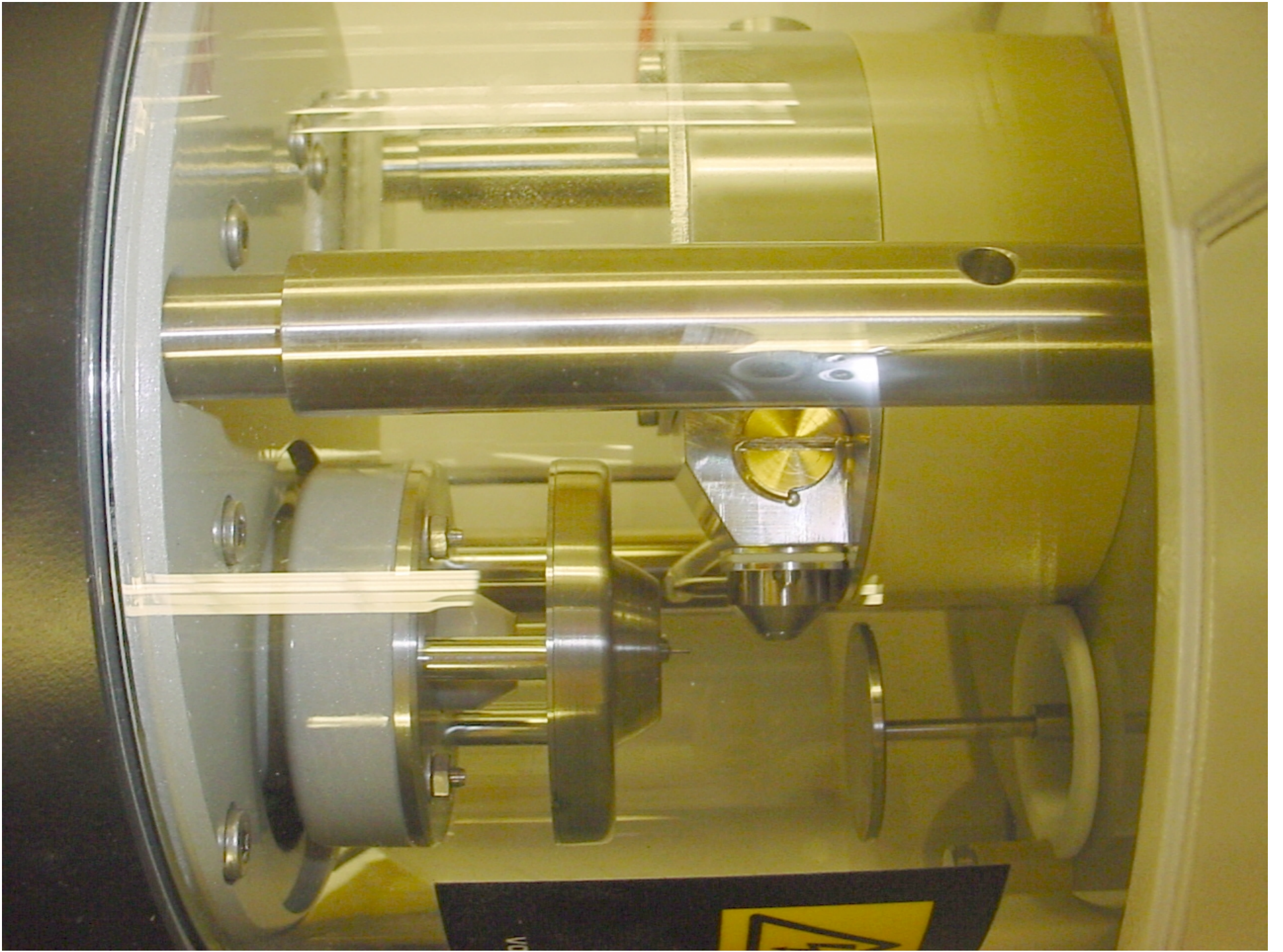




## ESI/CE - interface

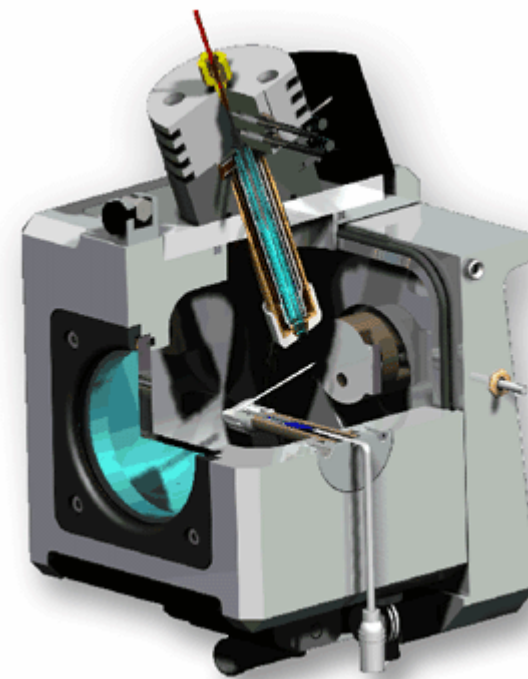
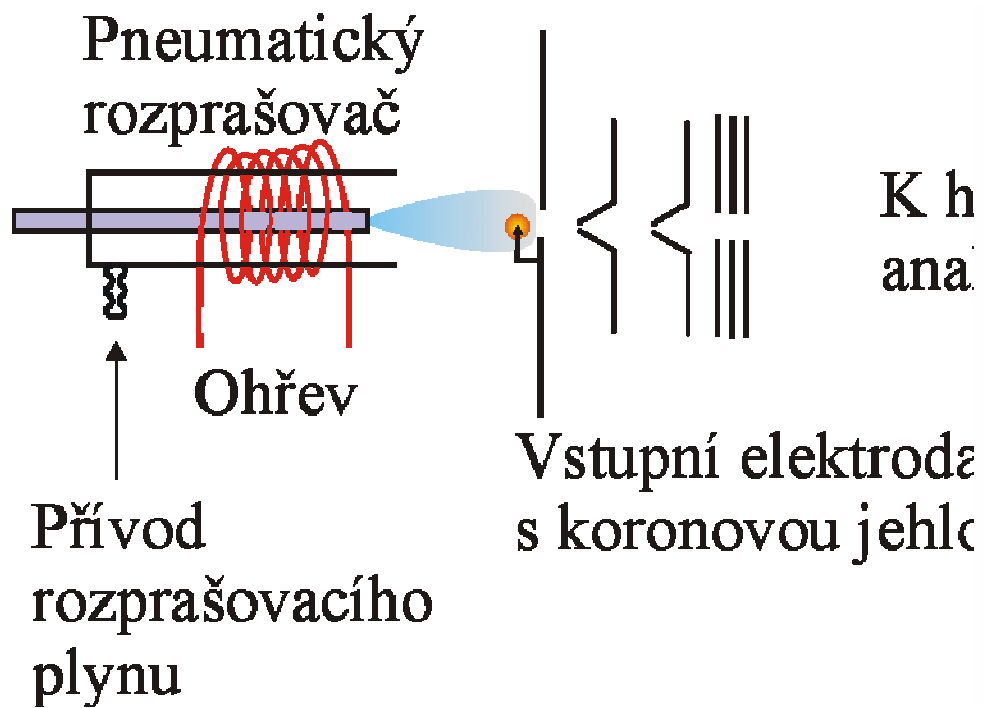




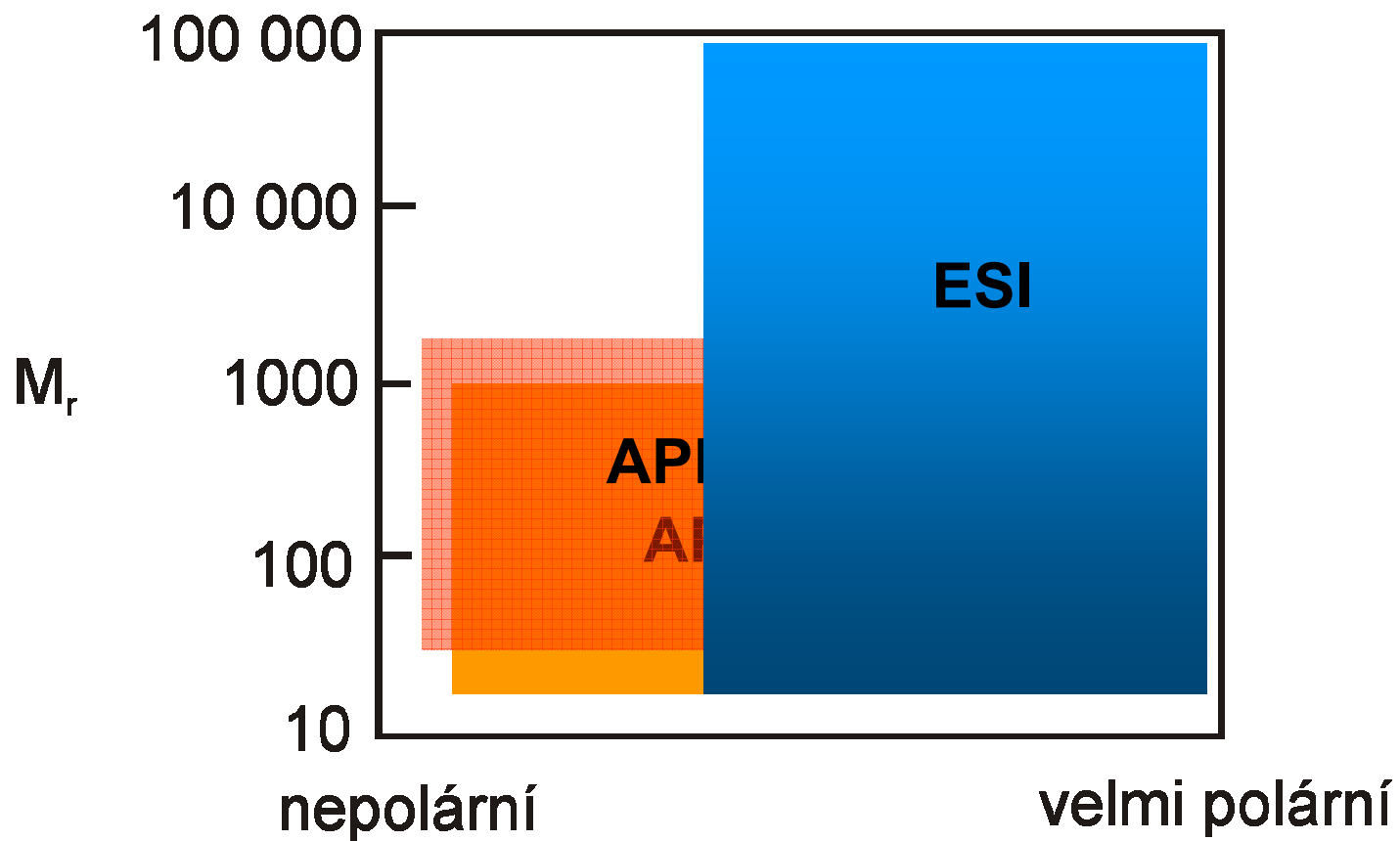




# APCI



## Aplikační oblast sprejových ionizačních technik



# Hmotnostní analyzátořy

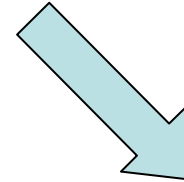
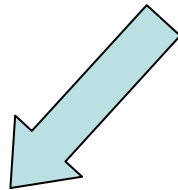


## Pohyb iontu v elektrickém poli

### Coulombův zákon

$$F_C = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Q_1 Q_2}{r^2}$$

### Elektrické pole



#### s konstantní intenzitou

• ionty jsou vychylovány z přímého směru a sledují dráhu vymezenou prostorem mezi elektrodami

**aktuální dráha iontu je určena jeho kinetickou energií**

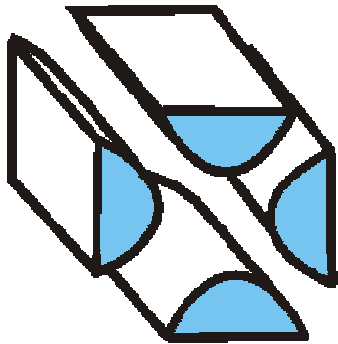
#### s proměnnou intenzitou

ionty oscilují s frekvencí danou frekvencí elektrického pole; schopnost sledovat změny ***E*** klesá s rostoucí **frekvencí** a ***m/z***

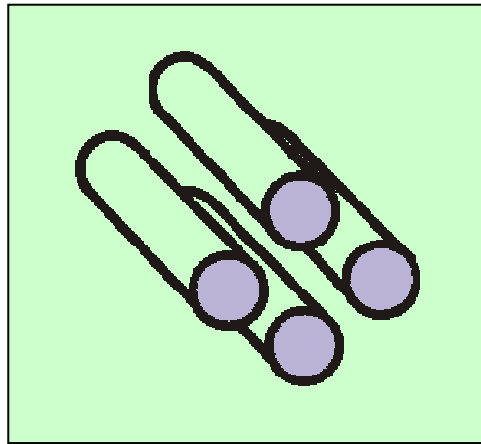
**aktuální dráha iontu je určena hodnotou *m/z***

## Kvadrupól

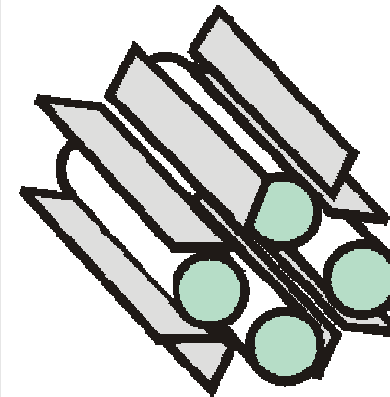
hyperbolický Q



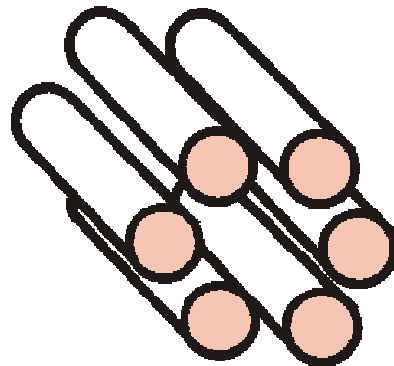
kruhový Q



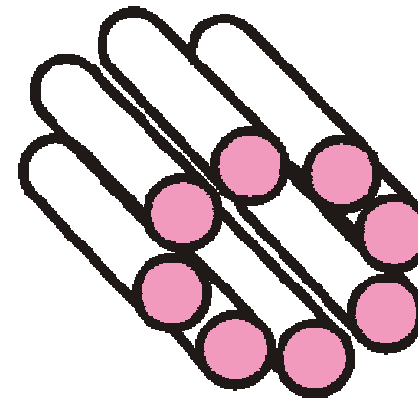
korigovaný kruhový Q  
(dodekapól)



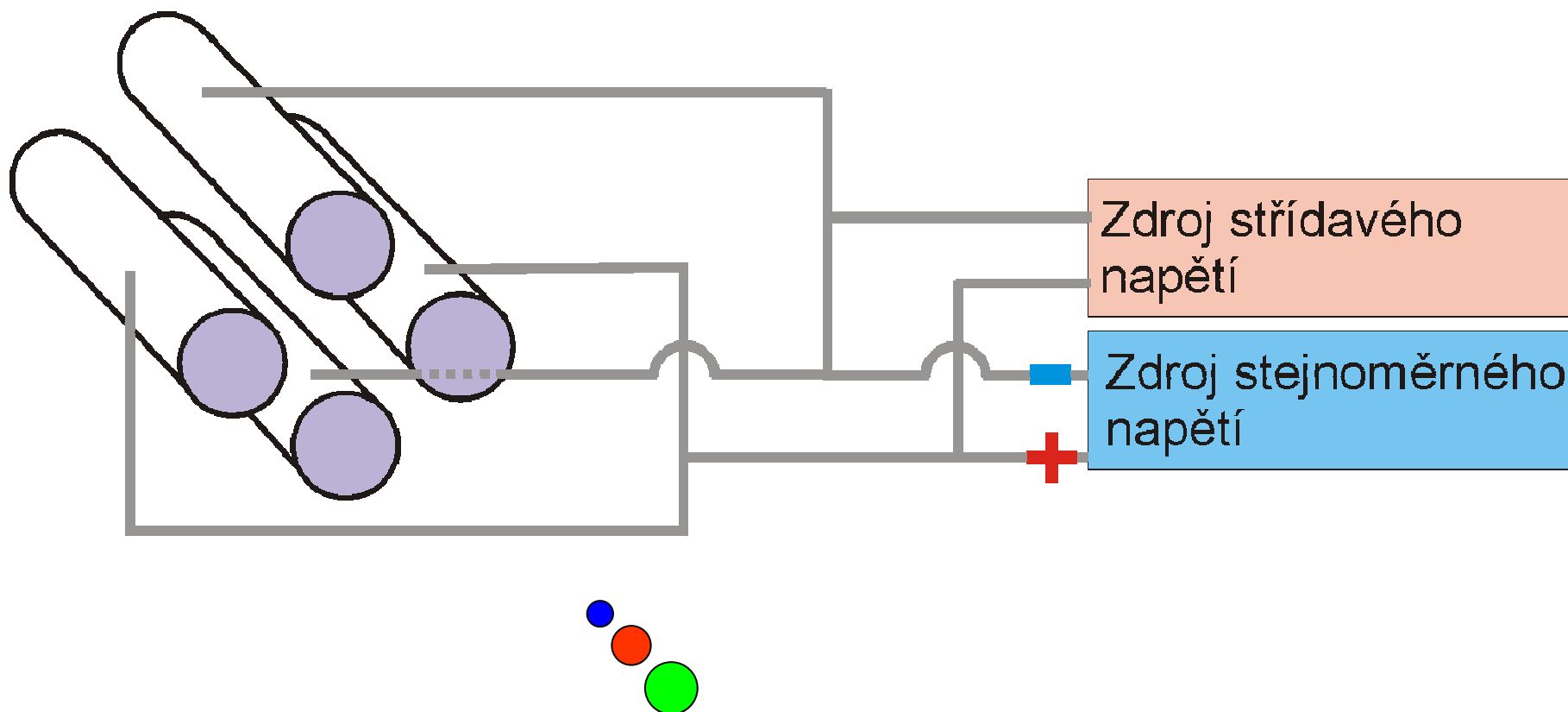
hexapól



oktapól

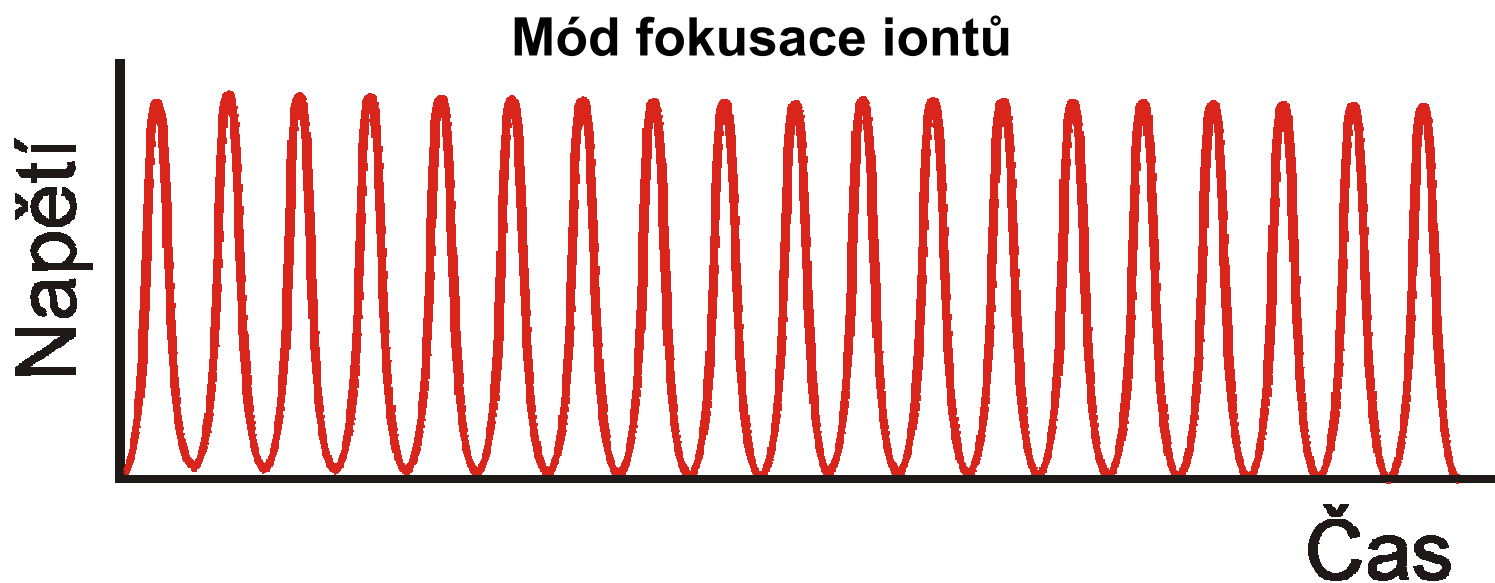
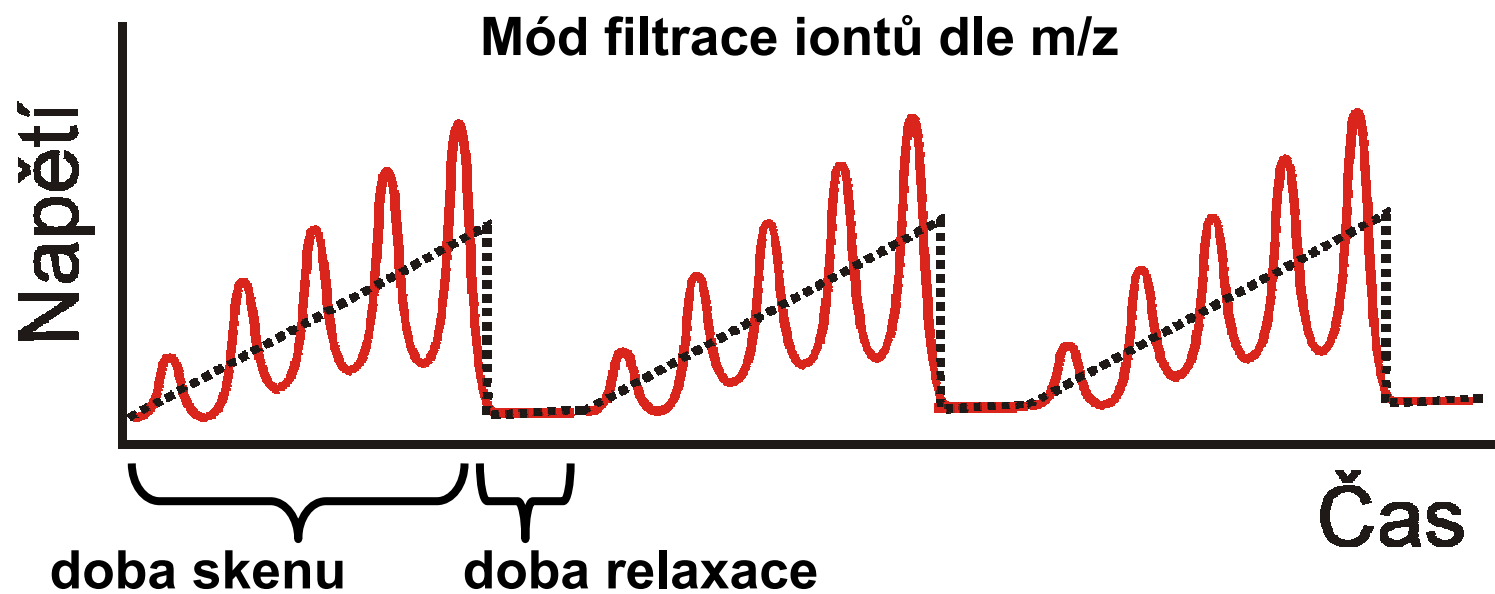


## Funkce kvadrupólového filtru

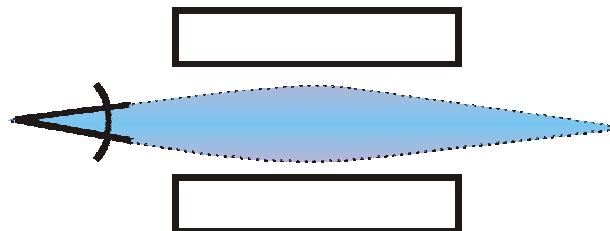


**Pro danou hodnotu stejnosměrné a střídavé složky vloženého napětí projde kvadrupólovým filtrem pouze ion určitého  $m/z$ .**

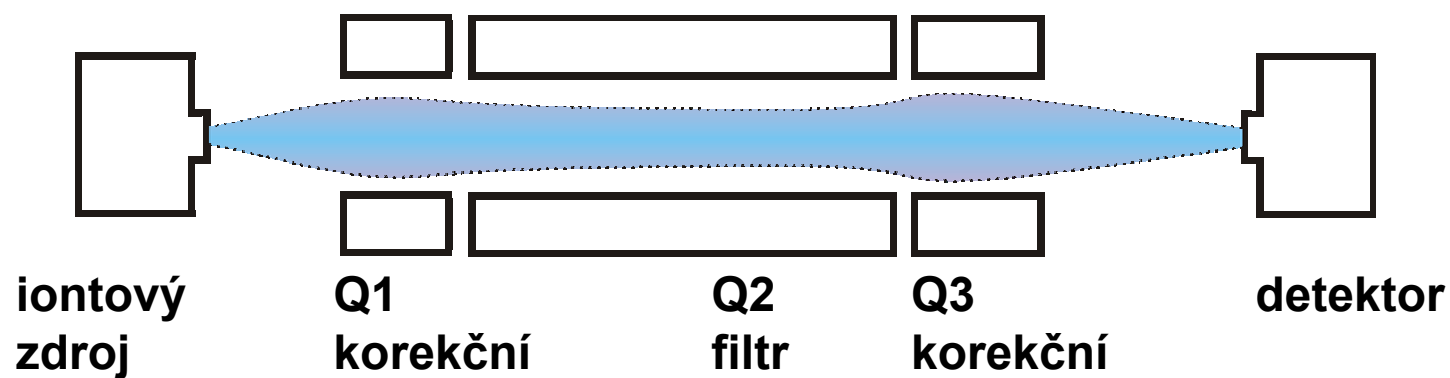
## Q-sken



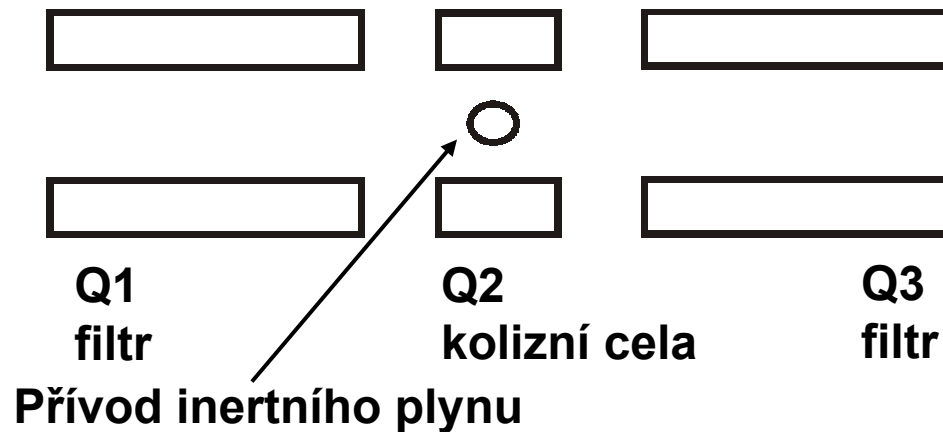
## Kvadrupól jako fokusační iontová optika



## Kvadrupólový filtr s korigovanou nehomogenitou pole



## Trojitý kvadrupól (triple quadrupole, 3Q)

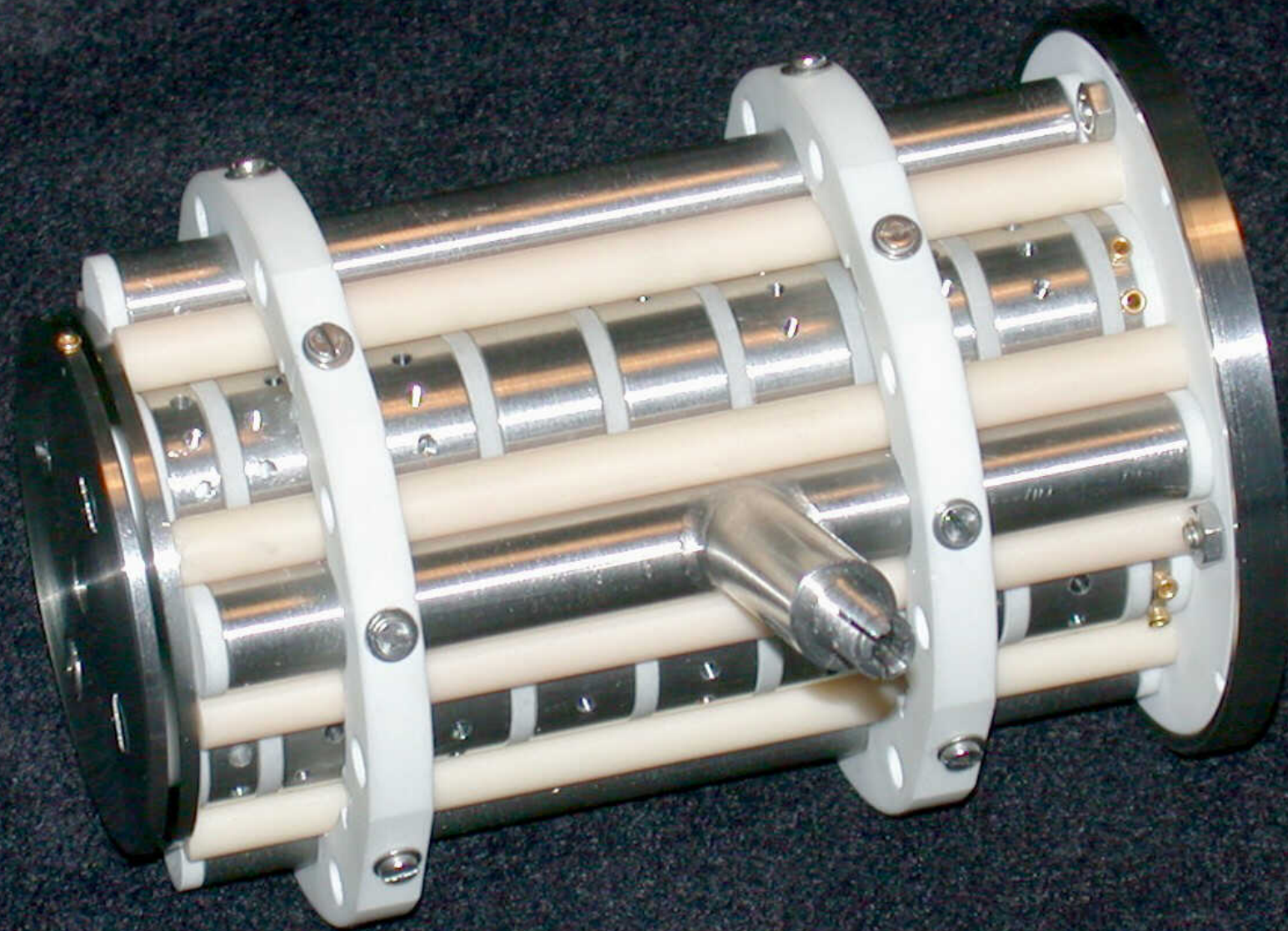






**Hexapole, 9.5 mm Quadrupoles and 19 mm Quadrupoles**

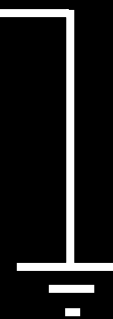
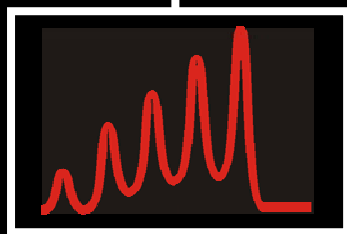
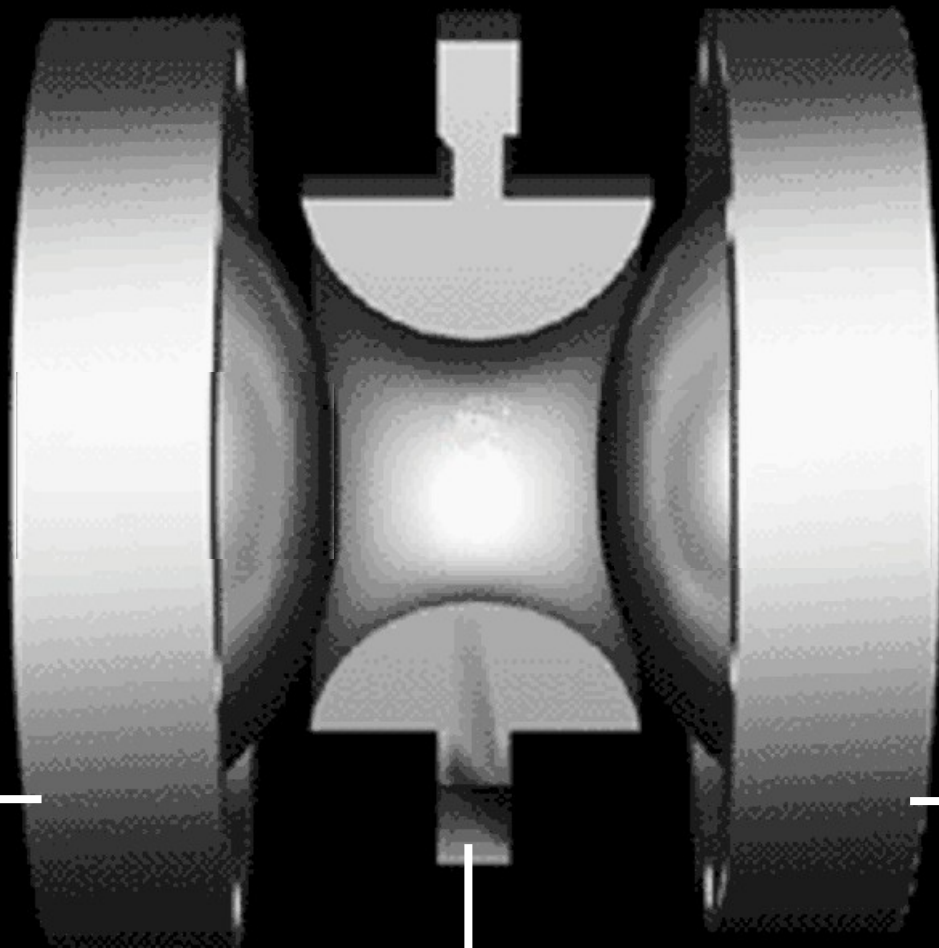
## Hexapól jako kolizní cela





# Iontová past

Iontový zdroj



## Operační módy iontové pasti

**Mód akumulace iontů:** na středovou prstencovou elektrodu se přivádí střídavé napětí o malé amplitudě; ionty v širokém rozsahu hmotností se udržují na stabilních uzavřených drahách a jsou akumulovány v prostoru iontové pasti. Běžná doba akumulace se pro techniky GC-MS a LC-MS pohybuje v rozmezí 10  $\mu$ s – 200 ms, v případě velmi malých koncentrací zorku se však může prodloužovat až na 1s.

**Mód detekce iontů:** postupně je zvyšována amplituda střídavého napětí vkládaného na prstencovou středovou elektrodu; ionty s rostoucím m/z jsou postupně vypuzeny z pasti a přes otvor výstupní kruhové elektrody vedeny do detektoru.

### Akumulace iontů



- výrazné snížení detekčního limitu
- možnost provádění experimentů (MS)<sup>n</sup>

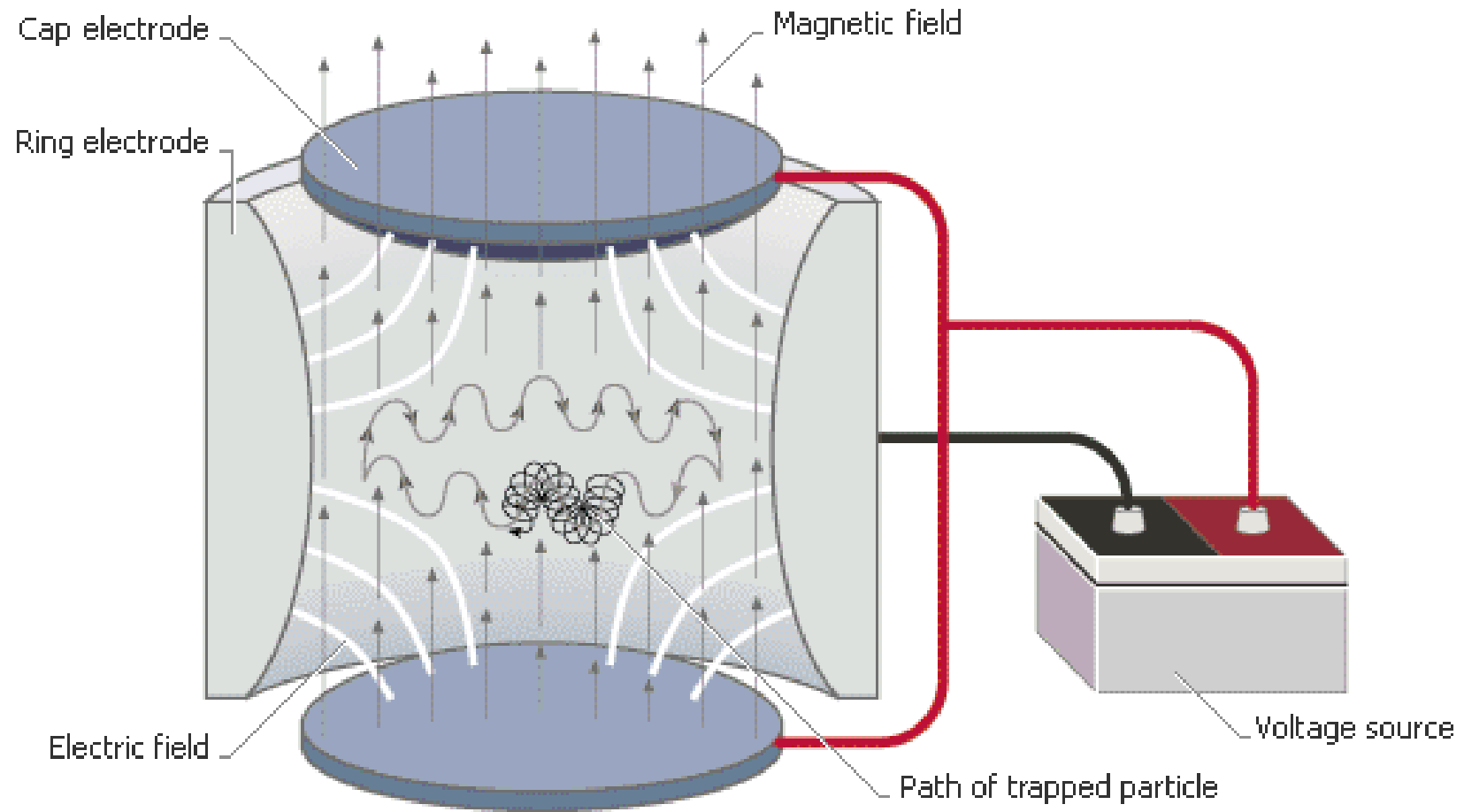


- iontové interakce mohou vést ke vzniku nestandardních hmotnostních spekter

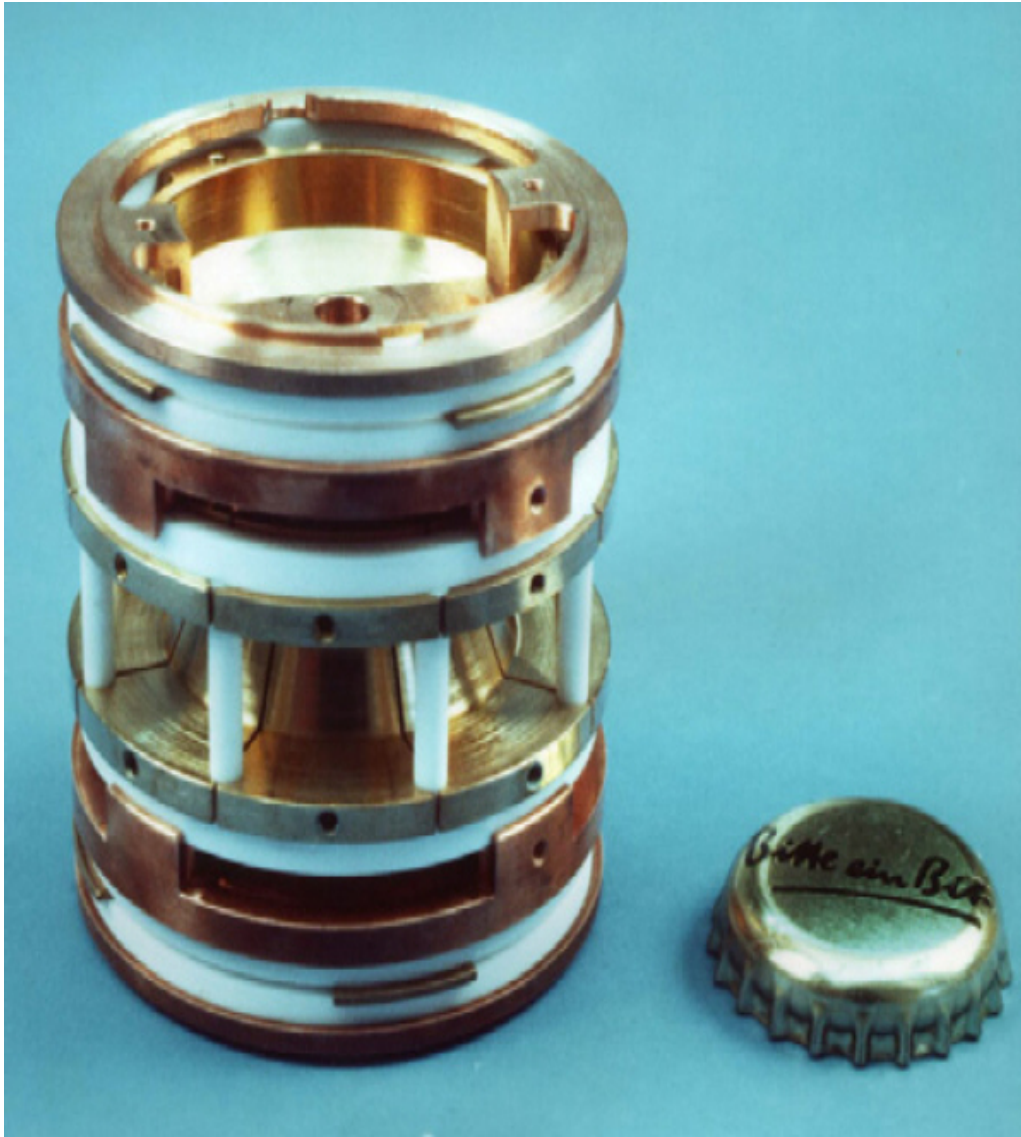




## Penningova past









## Pohyb iontů v prostoru bez vlivu elektrického a magnetického pole

$$E_K = \frac{mv^2}{2} = zeE$$

$$v = \sqrt{\frac{z}{m} 2eE}$$

- driftová rychlost iontu je nepřímo úměrná druhé odmocnině jeho hmotnosti;
- hmotnější ionty se pohybují pomaleji

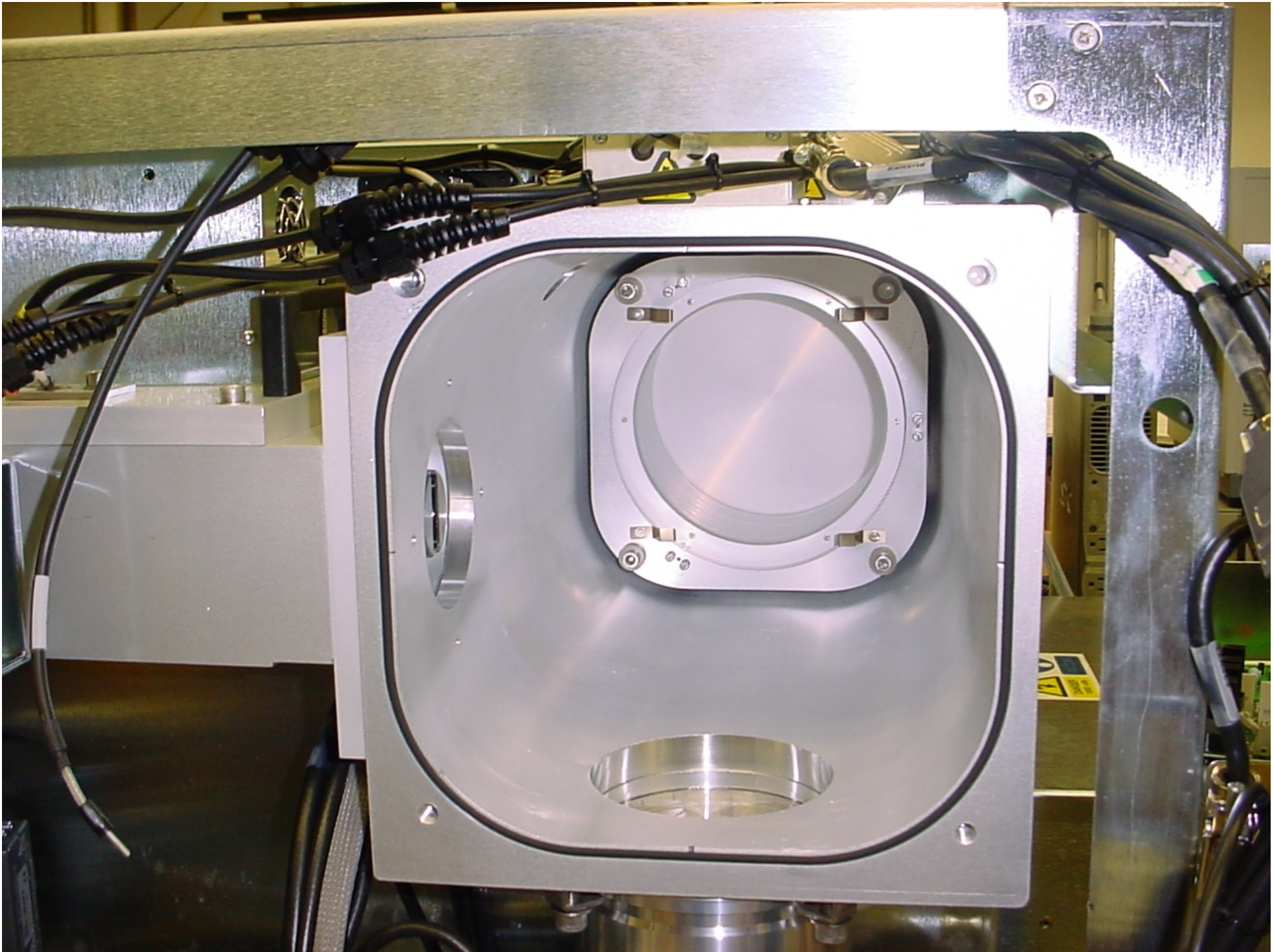


## Rozlišení driftové trubice

- dáno délkou pulzu iontového zdroje;
- rychlostí rozptylu oblaku iontů;
- délkou jejich letové dráhy

### TOF s reflektorem









Děkuji za pozornost  
a přeji krásný zbytek dne

