



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

Ενόργανη Ανάλυση II

Ενότητα 3: Φασματομετρία Μοριακών Μαζών

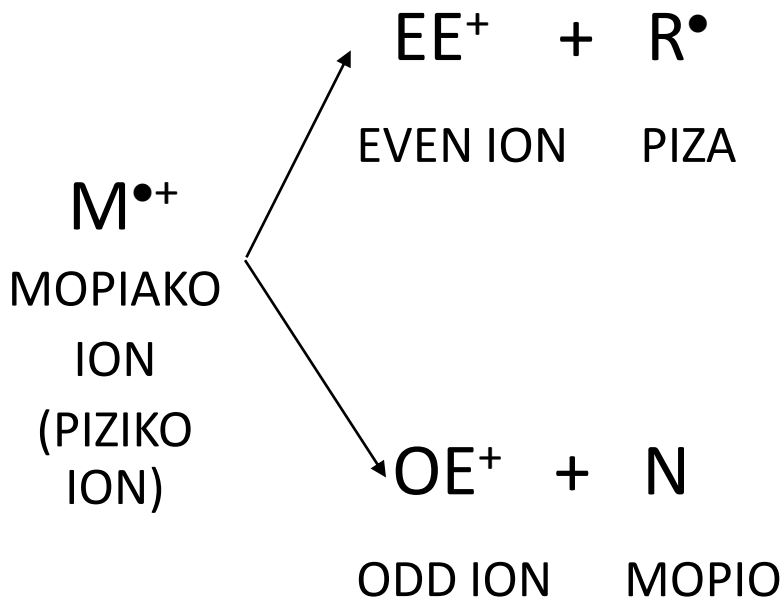
Θωμαΐδης Νικόλαος
Τμήμα Χημείας
Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΜΑΖΩΝ

Ιοντισμός :



Θραυσματοποίηση :

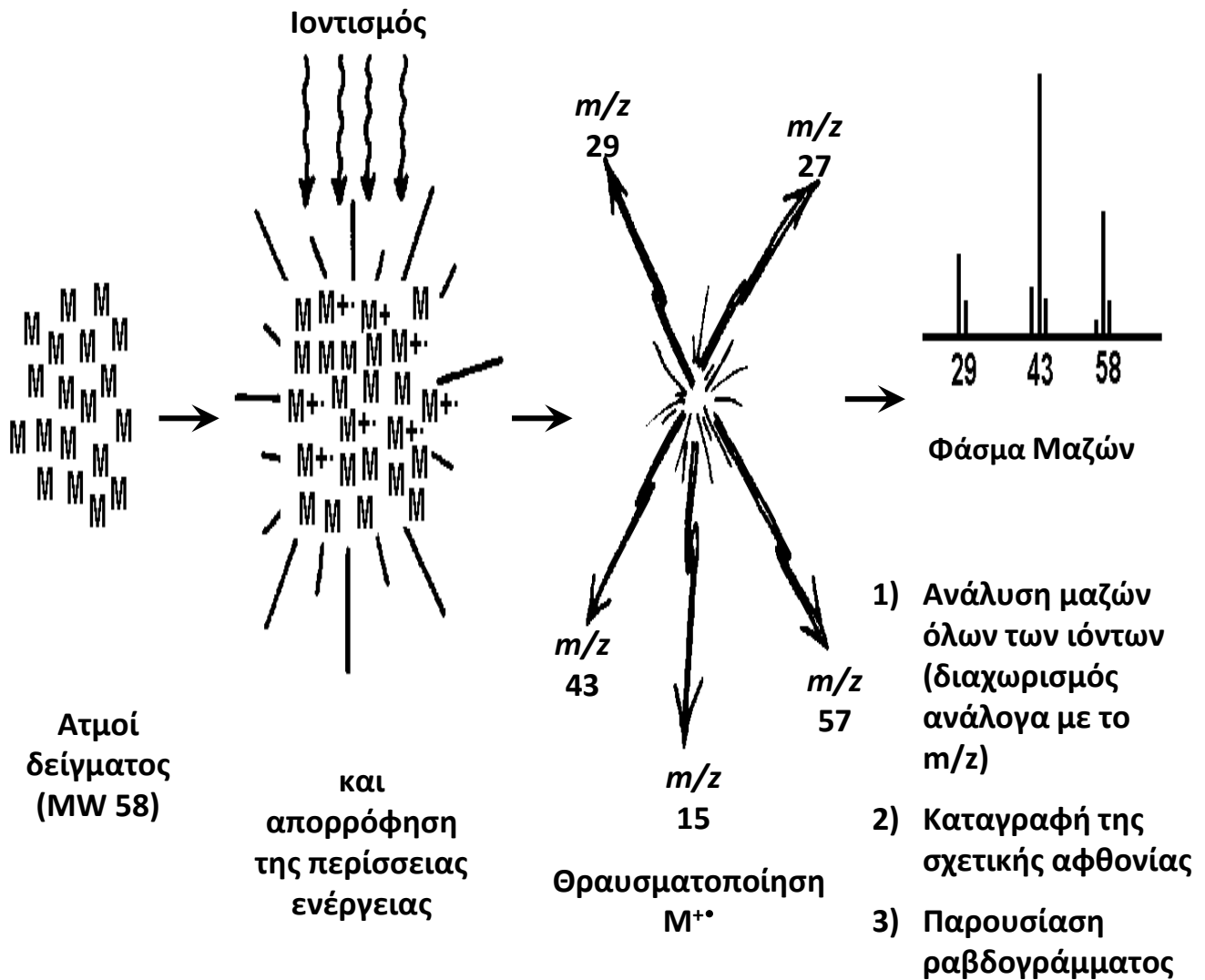


EE^+ : ιόν με άρτιο αριθμό e

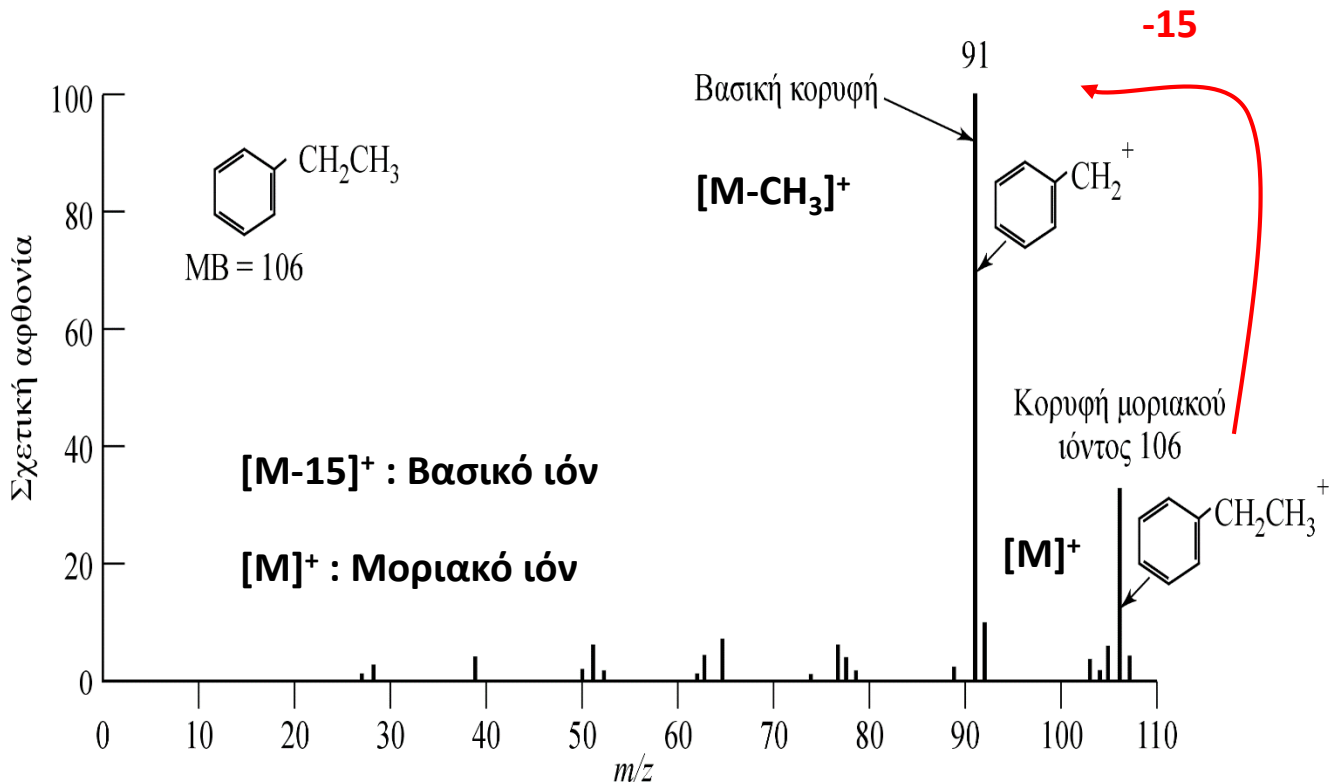
OE^+ : ιόν με περιττό αριθμό e



ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΜΑΖΩΝ



ΦΑΣΜΑ ΜΑΖΩΝ



Φάσμα μαζών πλήρους σάρωσης
(Full Scan MS)



Ισότοπα – Ισοτοπικές κορυφές

Φυσική αφθονία ισοτόπων μερικών συνηθισμένων στοιχείων

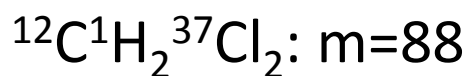
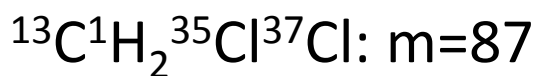
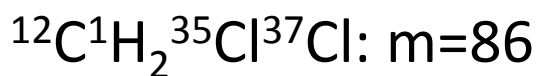
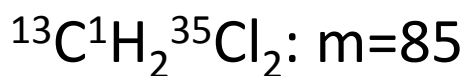
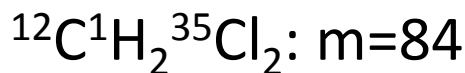
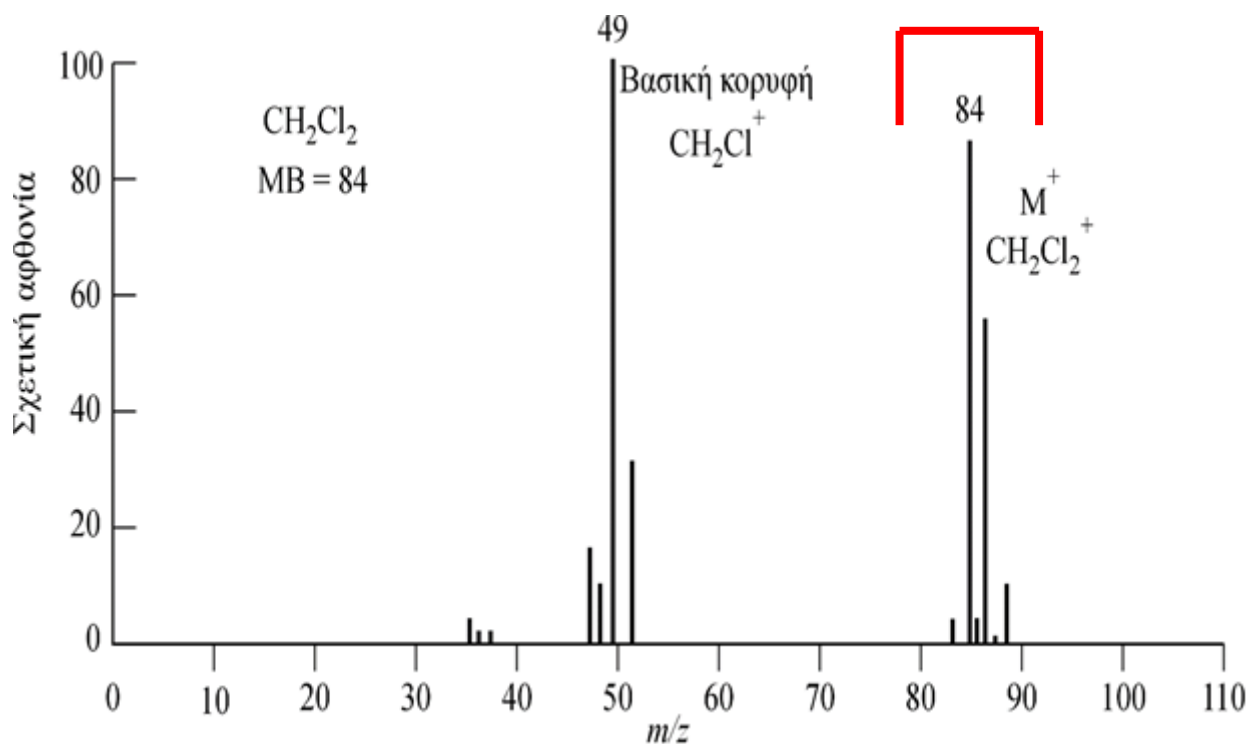
Στοιχείο ^α	Αφθονότερο ισότοπο	Αφθονία άλλων ισοτόπων σε σχέση με 100 μέρη του αφθονότερο ^β
Υδρογόνο	^1H	^2H 0,015
Άνθρακας	^{12}C	^{13}C 1,08
Άζωτο	^{14}N	^{15}N 0,37
Οξυγόνο	^{16}O	^{17}O 0,04 ^{18}O 0,20
Θείο	^{32}S	^{33}S 0,80 ^{34}S 4,40
Χλώριο	^{35}Cl	^{37}Cl 32,5
Βρώμιο	^{79}Br	^{81}Br 98,0
Πυρίτιο	^{28}Si	^{29}Si 5,1 ^{30}Si 3,4

^αΤα φθόριο (^{19}F), φωσφόρος (^{31}P), νάτριο (^{23}Na) και ιώδιο (^{127}I) δεν διαθέτουν άλλα φυσικά ισότοπα.

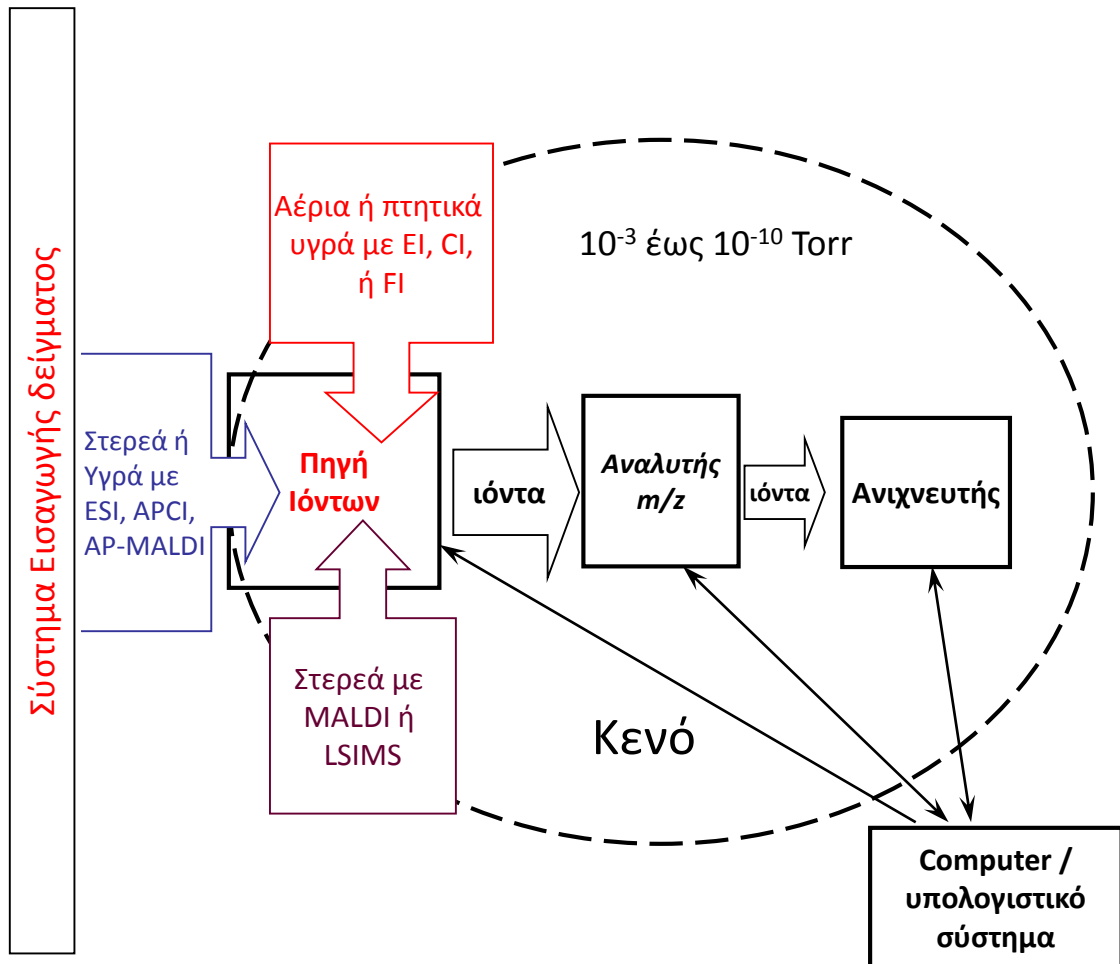
^βΟι αριθμοί δείχνουν το μέσο όρο του πλήθους των ισοτόπων ατόμων που υπάρχουν ανά 100 άτομα του αφθονότερου ισοτόπου. Δηλαδή για κάθε άτομα ^{12}C θα υπάρχουν κατά μέσο όρο 1,08 άτομα ^{13}C



Ισότοπα – Ισοτοπικές κορυφές



Πηγές Ιόντων



Στο τμήμα αυτό λαμβάνει χώρα ο ιοντισμός του δείγματος



Πηγές Ιόντων

Πηγές Αέριας Φάσης:

Το δείγμα πρώτα εξαερώνεται και μετά ιοντίζεται

- **Πρόσκρουσης ηλεκτρονίων** (Electron Impact, **EI**)
- **Χημικού ιοντισμού** (Chemical Ionization, **CI**)

Πηγές εκρόφησης:

Το δείγμα, σε υγρή ή στερεά κατάσταση, μετατρέπεται σε αεριώδη ιόντα

- Βομβαρδισμού με άτομα μεγάλης ταχύτητας (Fast Atom Bombardment, **FAB**)
- Ιοντισμός εκρόφησης με τη βοήθεια υλικού μήτρας (Matrix Assisted Desorption Ionization, **MALDI**)
- Ιοντισμός με **Ηλεκτροψεκασμό** (Electrospray Ionization, **ESI**)

Σκληρές και Μαλακές Πηγές:

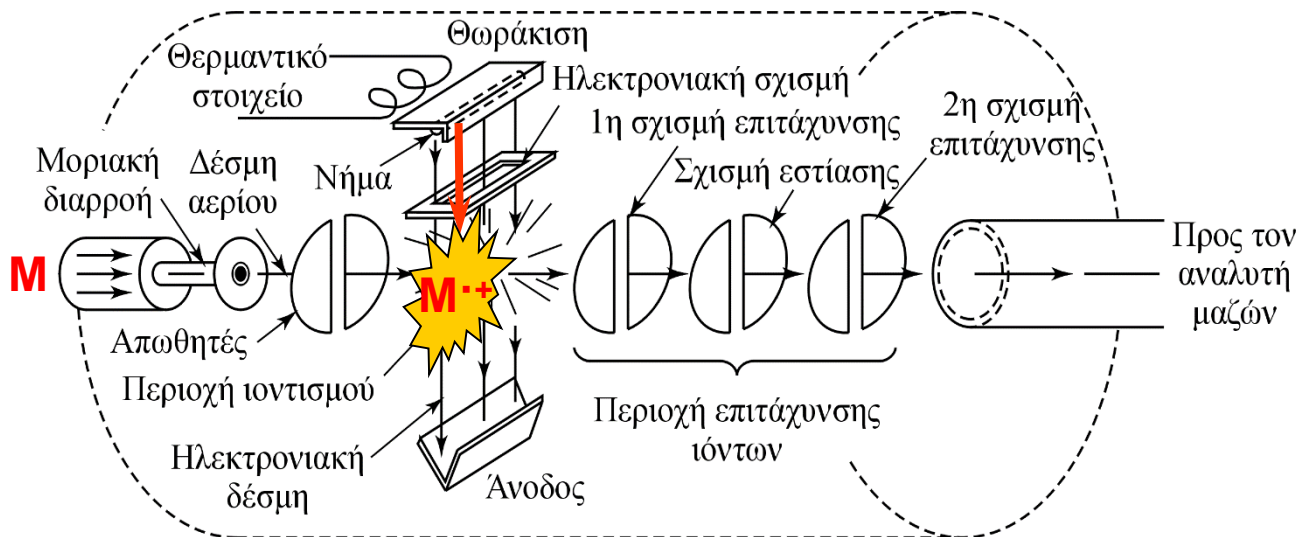
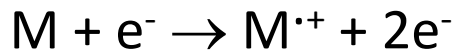
Έντονη ή περιορισμένη θραυσματοποίηση



Ιοντισμός με πρόσκρουση ηλεκτρονίων

- EI -

Τα e^- παράγονται από ένα θερμαινόμενο νήμα (W ή Re) και επιταχύνονται με μια τάση 70 V (σταθερή ενέργεια επιτάχυνσης):



Ιοντισμός με πρόσκρουση ηλεκτρονίων

- EI -

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:

- Καθιερωμένη και επαρκώς μελετημένη τεχνική
- Μπορεί να εφαρμοστεί πρακτικά σε όλα τα πτητικά μόρια με $MB < 1000 \text{ Da}$
- Επαναλήψιμο φάσμα μαζών
- Η θραυσματοποίηση χρησιμοποιείται για ταυτοποίηση δομής
- Αποτελεί τη βάση για την ανάπτυξη βιβλιοθηκών φασμάτων μαζών που περιέχουν το «αποτύπωμα» κάθε ένωσης

ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:

- Το δείγμα πρέπει να είναι θερμικά σταθερό και επαρκώς πτητικό
- Το μοριακό ιόν μπορεί να απουσιάζει ή αν έχει χαμηλή αφθονία

ΕΦΑΡΜΟΓΗ:

- Η πλέον χρησιμοποιούμενη πηγή ιόντων στην τεχνική **GC-MS (Q ή IT)** για τον προσδιορισμό μη πολικών μορίων χαμηλής μοριακής μάζας ($< 1000 \text{ Da}$)



Χημικός Ιοντισμός

- CI -

Βομβαρδισμός **αέριου αντιδραστηρίου** (συντά CH_4 , NH_3 ή N_2) με e^- υψηλής ενέργειας με αποτέλεσμα το σχηματισμό ιόντων του αντιδραστηρίου. Τα **αέρια μόρια (M) του δείγματος** συγκρούονται με τα ιόντα του αντιδραστηρίου και τα ιοντίζουν με αντιδράσεις μεταφοράς πρωτονίων ή φορτίου, προσθήκης, ακόμα και πυρηνόφιλης υποκατάστασης.

Προϋπόθεση: ο λόγος

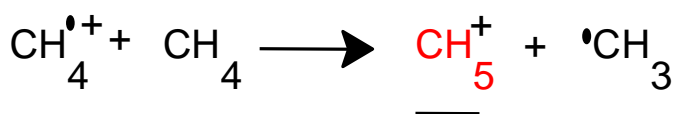
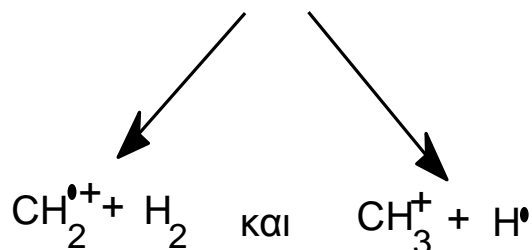
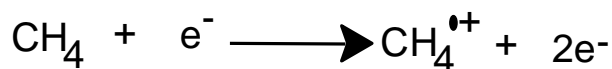
$$[\text{αντιδραστηρίου}]/[\text{δείγματος}] = 10^3 - 10^4$$

CI Χαμηλής πίεσης: $10^{-3} - 10^{-4}$ Torr, ιδανική για GC-MS

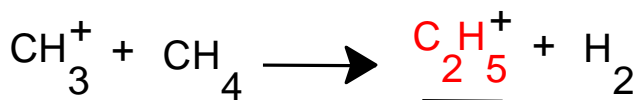
CI Ατμοσφαιρικής πίεσης: APCI, ιδανική για LC-MS



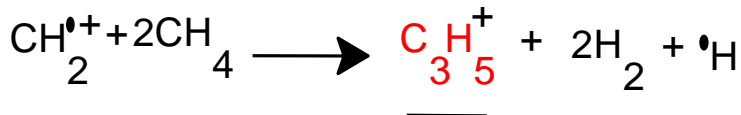
Χημικός Ιοντισμός - Cl -



Ισχυρός
πρωτονιοδότης



Ιοντίζουν μέσω
συγκρούσεων και
παραγωγής
συμπλόκων

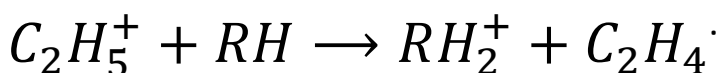
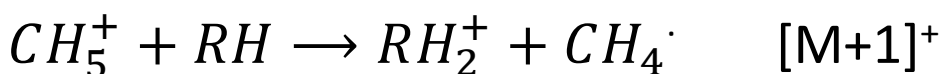


Τύποι Χημικού Ιοντισμού

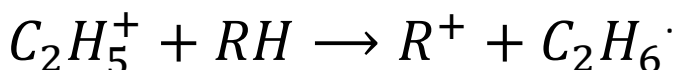
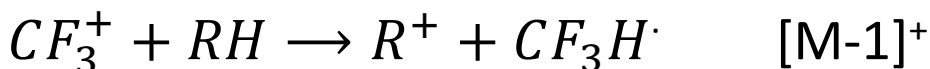
ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΦΟΡΤΙΟΥ



ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΠΡΩΤΟΝΙΟΥ



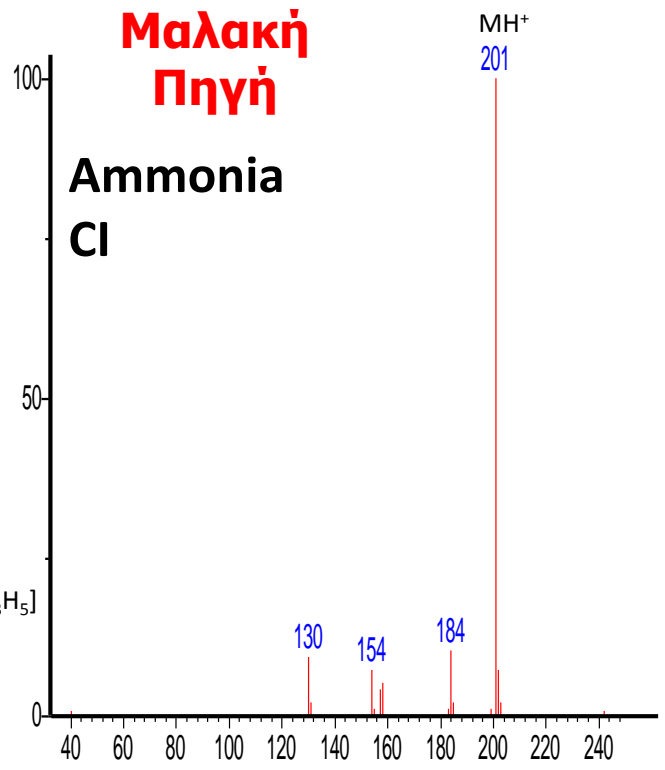
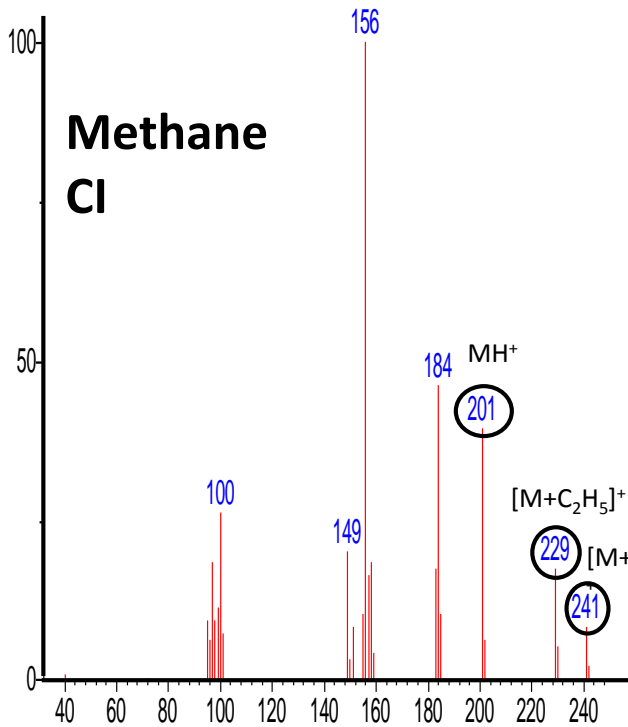
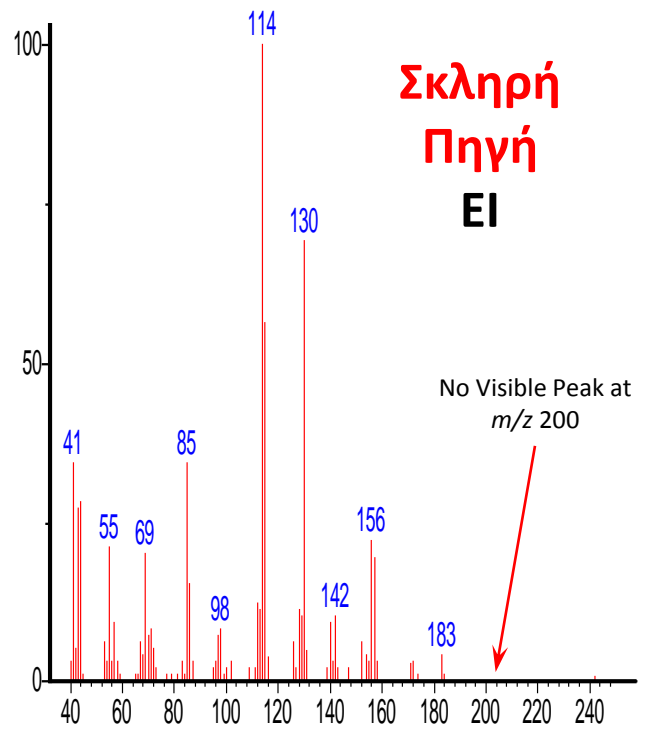
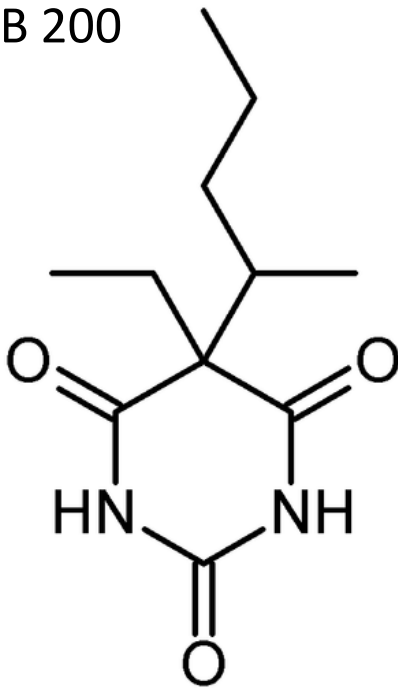
ΑΠΟΣΠΑΣΗ ΥΔΡΙΔΙΟΥ



ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΙΟΝΤΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΣΥΓΚΡΟΥΣΗ



Πεντοβαρβιτάλη
MB 200



Χημικός Ιοντισμός

- CI -

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:

- Δίνει πληροφορία για το MB της ένωσης, παράγοντας συνήθως τα ψευδομοριακά ιόντα $[M+1]^+$ ή $[M-1]^+$
- Απλό φάσμα μαζών χωρίς ιδιαίτερη θραυσματοποίηση

ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:

- Το δείγμα πρέπει να είναι θερμικά σταθερό και επαρκώς πτητικό
- Η ελλιπής θραυσματοποίηση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ταυτοποίηση ένωσης μέσω έρευνας σε βιβλιοθήκες MS
- Τα αποτελέσματα εξαρτώνται από τον τύπο του αερίου, την πίεση ή τον χρόνο αντίδρασης και τη φύση του δείγματος

ΕΦΑΡΜΟΓΗ:

- Χρησιμοποιείται στην τεχνική **GC-MS (Q ή IT)** για τον προσδιορισμό μη πολικών μορίων χαμηλής μοριακής μάζας (< 1000 Da)



Ιοντισμός σε ατμοσφαιρική πίεση

- API -

- **Ιοντισμός με Ηλεκτροψεκασμό (Electrospray Ionization, ESI)**

Το υγρό δείγμα ψεκάζεται μέσα από τριχοειδή σωλήνα στον οποίο εφαρμόζεται υψηλή τάση (3-4 kV) και σχηματίζεται αερόλυμα φορτισμένων σταγονιδίων

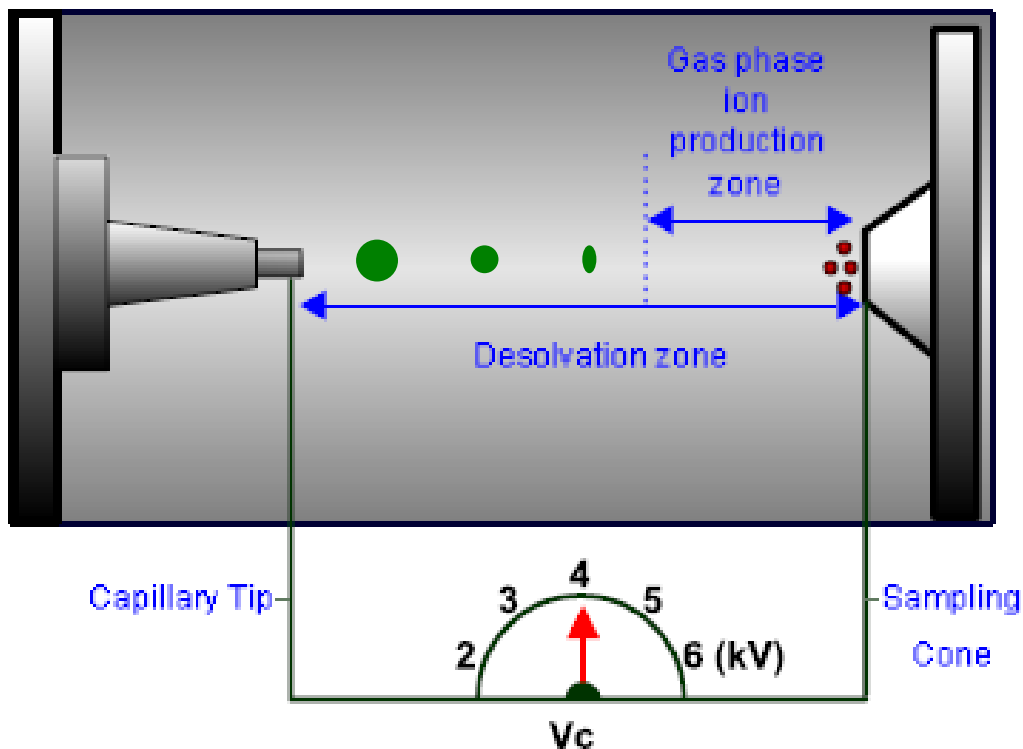
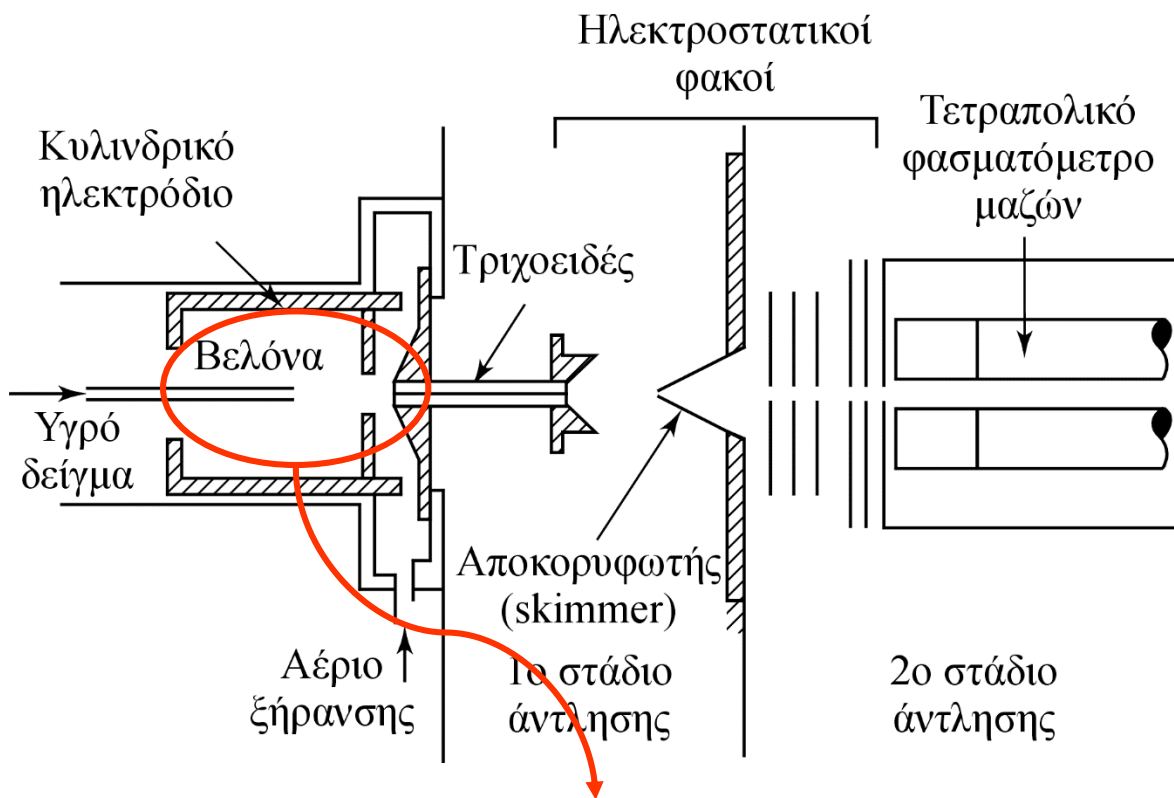
- **Χημικός ιοντισμός σε ατμοσφαιρική πίεση (Atmospheric Pressure CI, APCI)**

Το υγρό δείγμα διέρχεται μέσα από ένα θερμαινόμενο τριχοειδή σωλήνα (450°C) και εξατμίζεται, παράγοντας αεριώδη μόρια.

Πλησίον της εξόδου του σωλήνα, υπάρχει μια ακίδα σε υψηλή τάση που ιοντίζει τον αέριο διαλύτη ή το N_2 (N_2^+), το οποίο με τη σειρά του ιοντίζει τα μόρια του αναλύτη στην αέρια φάση (μεταφορά φορτίου)

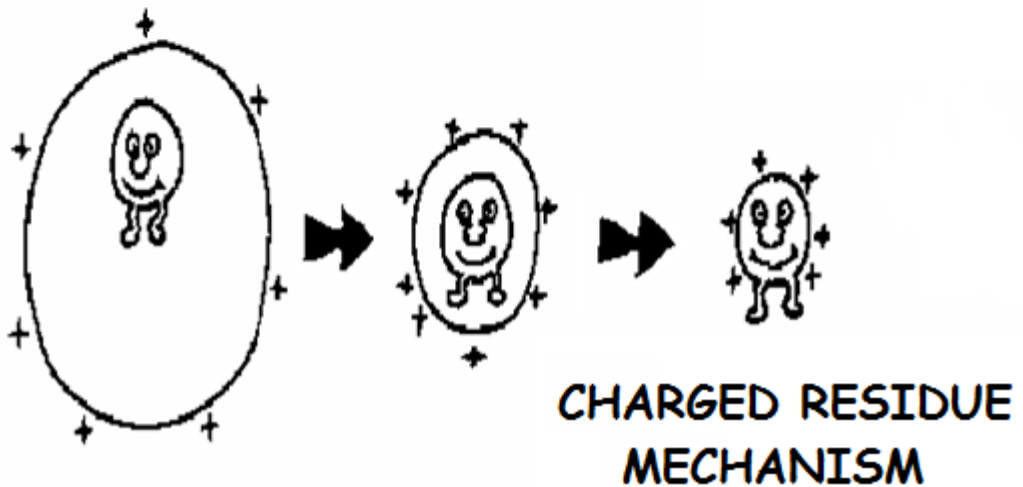
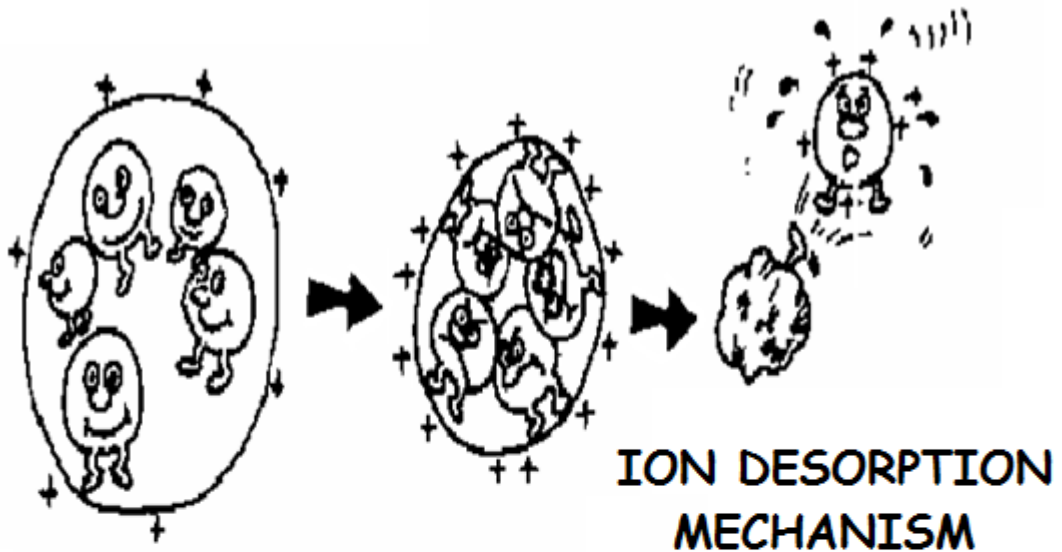


Ιοντισμός με ηλεκτροψεκάσμο - ESI -



Ιοντισμός με ηλεκτροψεκάσμο - ESI -

ELECTROSPRAY



- ESI -

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:

- Τεχνική προσδιορισμού MB χωρίς περιορισμούς στη μάζα
- Παράγονται πολυσθενή ιόντα μεγαλομορίων (προσδιορισμός MB πρωτεϊνών)
- Καλή τεχνική ιοντισμού για ποικιλία μορίων (μετρίως πολικών και πολικών)
- Οι σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες ιοντισμού επιτρέπουν τη μελέτη θερμικά ασταθών μορίων
- Καλή ευαισθησία, εύκολη ποσοτικοποίηση
- Συνδυάζεται με LC και τριχοειδή ηλεκτροφόρηση

ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:

- Απαραίτητα χαμηλή ροή κινητής φάσης
- Τα ιόντα του αναλύτη δημιουργούνται στην υγρή φάση
- Απόσβεση σήματος σε διαλύματα με άλατα και ανταγωνιστική μήτρα
- Σχηματισμός ιόντων προσθήκης (adduct ions)

ΕΦΑΡΜΟΓΗ:

- Χρησιμοποιείται με όργανα **LC-MS** για τον προσδιορισμό μορίων μεγάλου εύρους μαζών (από μικρά πολικά μόρια έως μεγάλα βιομόρια)



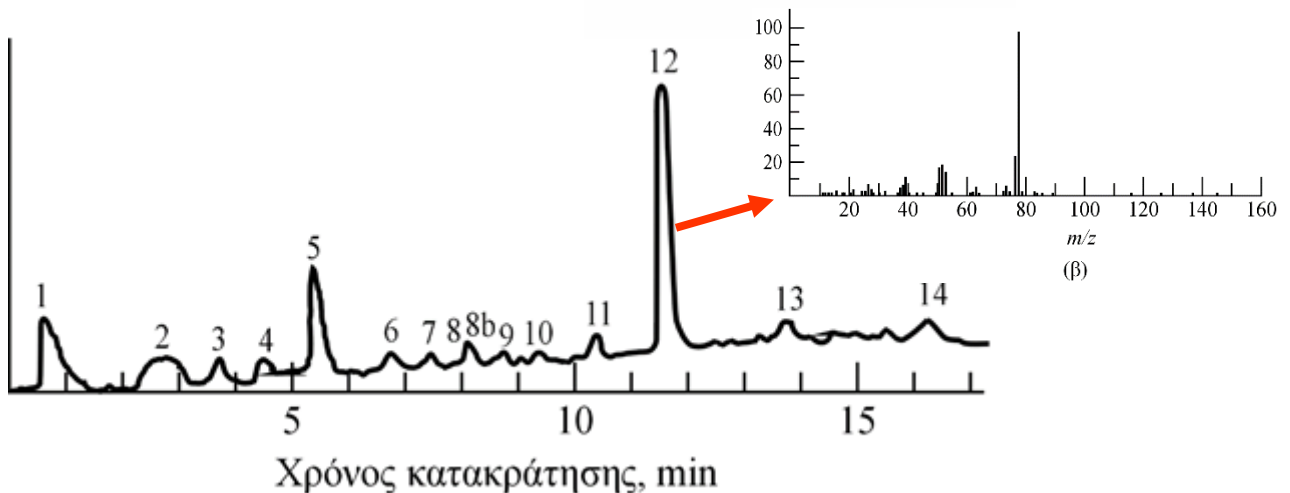
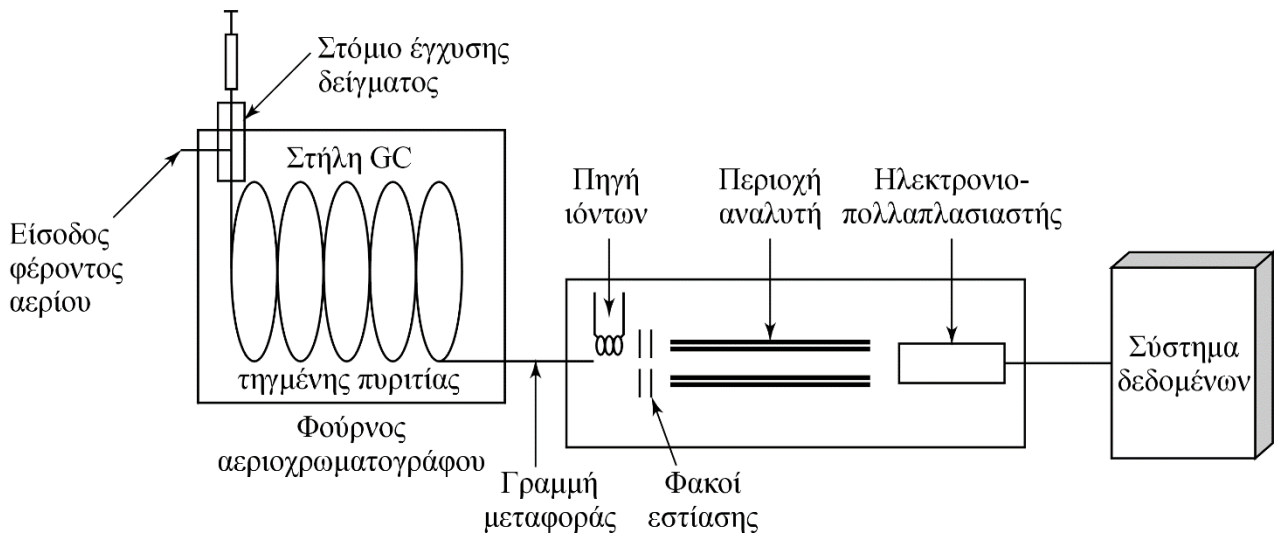
Συζευγμένες τεχνικές MS

ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ:

Τεχνικές στις οποίες ένα ή περισσότερα φασματόμετρα μαζών συζεύγνυνται με συστήματα διαχωρισμού.

➤ GC – MS

➤ LC – MS



Μέθοδος εσωτερικού προτύπου στις Τεχνικές MS

Ισοτοπικά επισημασμένες ενώσεις ως εσωτερικά πρότυπα:

➤ Αντιστάθμιση τυχαίων και συστηματικών σφαλμάτων:

-Οργανολογική αστάθεια

-Επίδραση μήτρας, και

-Απώλειες κατά την αναλυτικής πορείας (προετοιμασία δείγματος για ανάλυση)

...αν γίνει σωστή επιλογή IS!

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ IS:

• Σταθερή και διαθέσιμη ένωση

• Απουσία από το δείγμα

• Προσομοιάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες του αναλύτη

➔ Παρόμοια ευαισθησία

➔ Παρόμοιοι χρόνοι ανάσχεσης, αν έχουμε την απαραίτητη εκλεκτικότητα στο σύστημα ανίχνευσης (MS)



Μέθοδος εσωτερικού προτύπου στις Τεχνικές MS

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:

- ✓ Αναλύτης και το ισοτοπικά επισημασμένο ανάλογο (IS) έχουν σχεδόν ίδιες φυσικοχημικές ιδιότητες
- ✓ Ίδιες απώλειες κατά την αναλυτική πορεία
- ✓ Ίδια χρωματογραφική συμπεριφορά
- ✓ Διαφοροποιούνται σημαντικά στο m/z που παρακολουθείται

Δευτεριωμένα (αρκεί επισημανση $-CD_3$)

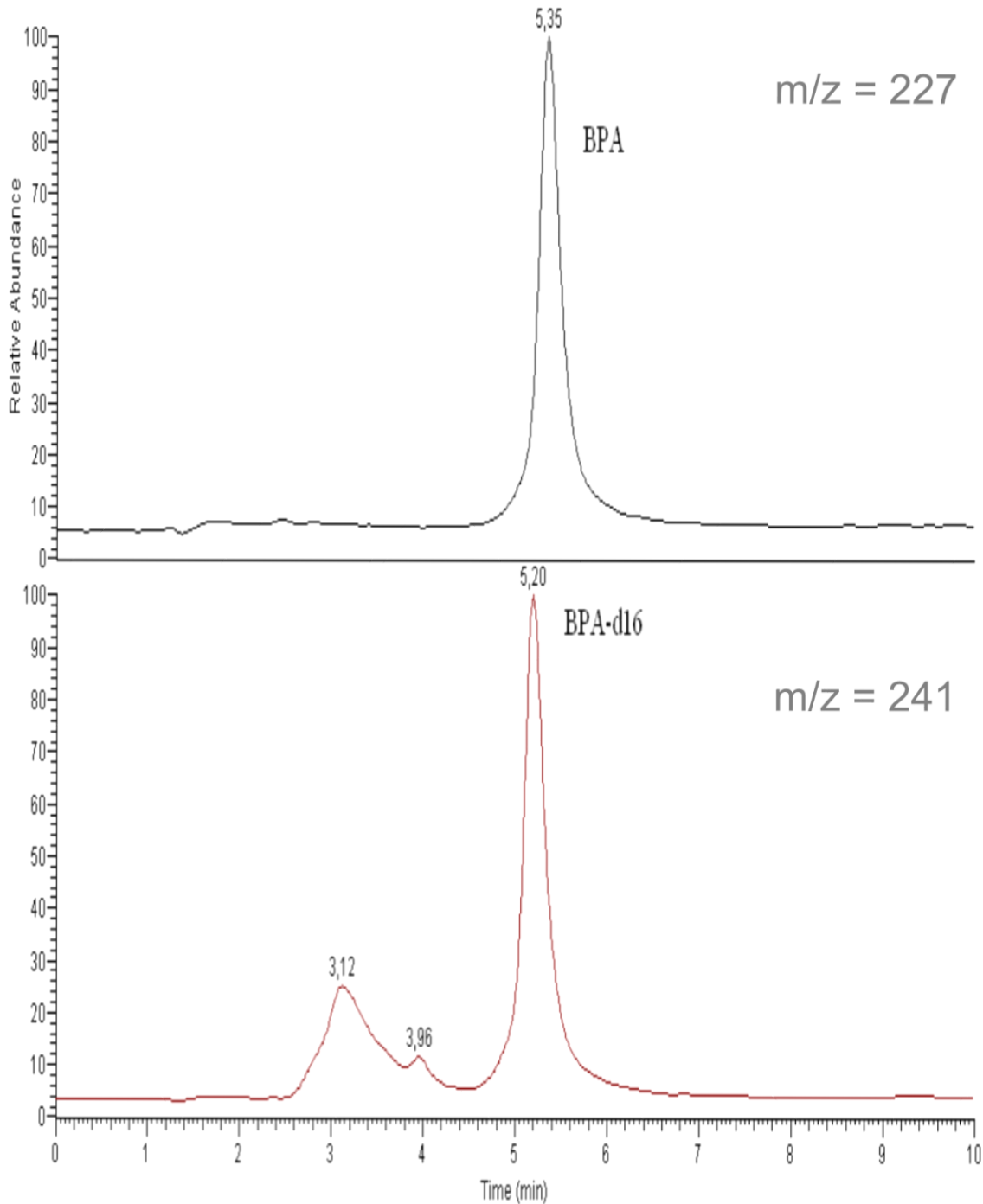
- ✓ Διαθέσιμα
- ✓ Πιο φθηνά
- *Ασταθή σε πρωτικό περιβάλλον

Επισημασμένα με ^{13}C ή ^{15}N (ή άλλα στοιχεία)

- ✓ Σταθερά
- *Υψηλό κόστος



Μέθοδος εσωτερικού προτύπου στις Τεχνικές MS



Τέλος



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Σημειώματα



Σημείωμα Ιστορικού Εκδόσεων Έργου

Το παρόν έργο αποτελεί την έκδοση 1.0.

Έχουν προηγηθεί οι κάτωθι εκδόσεις:

- Έκδοση διαθέσιμη [εδώ](#).



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Εθνικών και Καποδιστριακών Πανεπιστημίων
Αθηνών, Νικόλαος Θωμαΐδης 2015. Νικόλαος Θωμαΐδης.
«Ενόργανη Ανάλυση II». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015.

Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<http://opencourses.uoa.gr/courses/CHEM104>.



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



- [1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>
- Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:
 - που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
 - που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
 - που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο
- Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

