

# Zdroje iontů používané v hmotnostní spektrometrii

Miloslav Šanda

# Ionizace v MS

- Hmotnostní spektrometrie je fyzikálně chemická metoda, při které se provádí separace iontů podle jejich hmotnosti a náboje  $m/z$
- Vzhledem ke skutečnosti, že v hmotnostní spektrometrii je prováděna manipulace s látkami pomocí elektrického nebo magnetického pole, je nutné z neutrálních molekul vytvořit ionty
- Iontové zdroje u hmotnostních spektrometrů mohou být v kontinuálním (ESI...) nebo diskontinuálním provedení (MALDI...)

# Volba ionizační techniky

- Většina látek je stanovitelná pomocí více ionizačních technik
- Volba ionizace je závislá na povaze látky (polarita, rozpustnost, velikost, ionizační energie, u MALDI možnost kokrystalizovat s matricí, ....)
- Volba ionizace je závislá na volbě separační techniky

# Ionizační techniky podle energie ionizace

- Měkké ionizační techniky (ESI, APCI, FAB, MALDI, CI, FD, TS,.... )
- Tvrdé ionizační techniky ( EI, (ICP))

# Měkké ionizační techniky

- Nízká ionizační energie
- Vytvoření převážně molekulárních nebo iontů molekulárních aduktů
- Výtěžnost ionizace a tvorba aduktů velmi závisí na zvolených podmínkách (složky mobilní fáze, matrice, pH atd.)
- Ve spojení se separačními technikami problematická kvantifikace, bez použití vnitřního standardu téměř nemožná

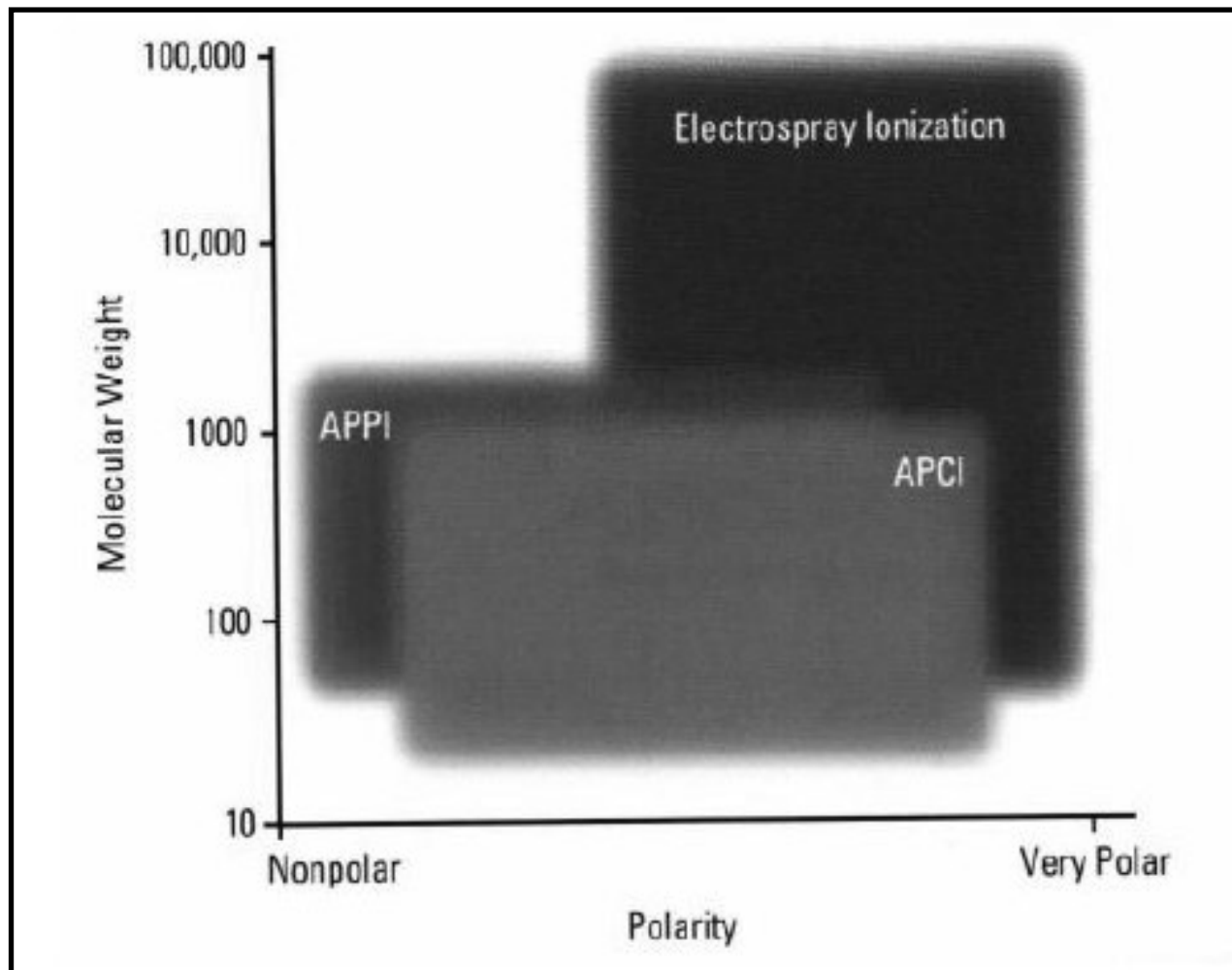
# Tvrdé ionizační techniky

- Spektra obsahují ve větší míře fragmenty
- Tvorba maximálně molekulárních iontů
- Při zvolené ionizační energii vznik reprodukovatelných spekter (pro knihovny 70eV)
- Vytváření knihoven spekter a následná snadnější identifikaci látek
- V případě EI ionizace, nejpropracovanější teorie fragmentace – řešení struktur látek z EI spekter

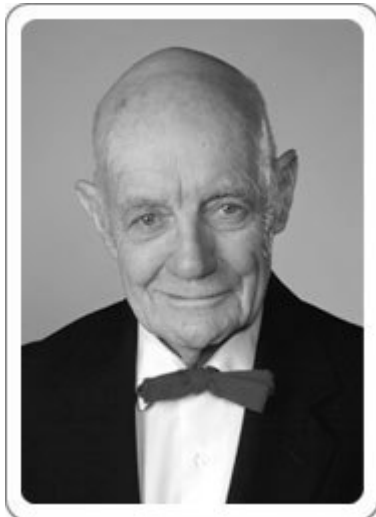
# Ionizační techniky podle tlaku v iontovém zdroji

- Ionizace za atmosférického tlaku (ESI, APCI, APPI... )
- Ionizace za sníženého tlaku (EI, FAB, MALDI.... )

# Měkké ionizační techniky







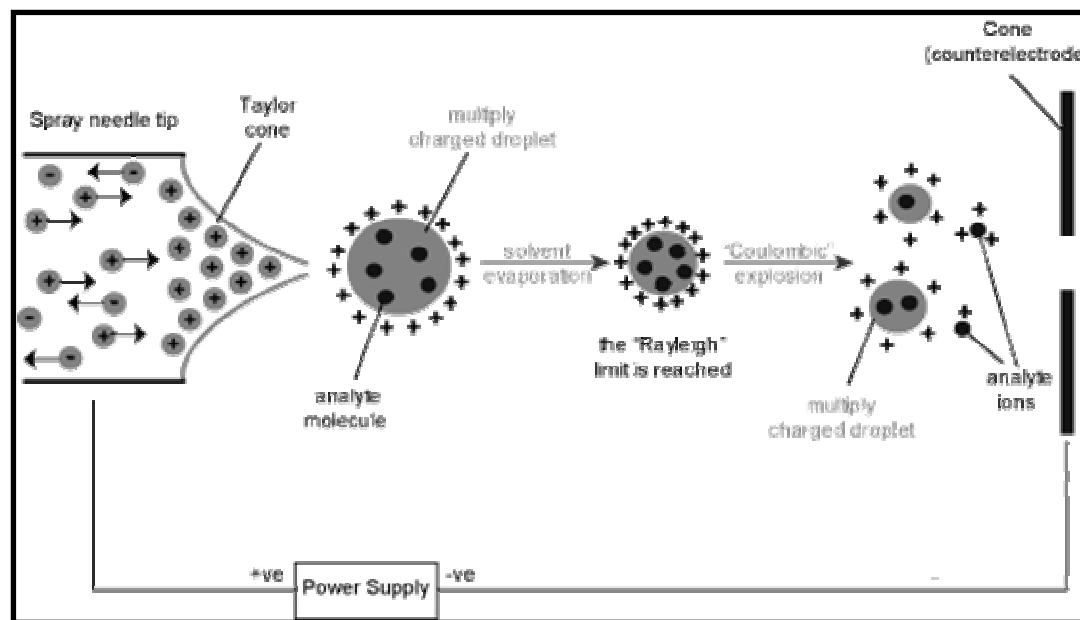
John B. Fenn

Nobelova cena za chemii  
rok 2002



# ESI

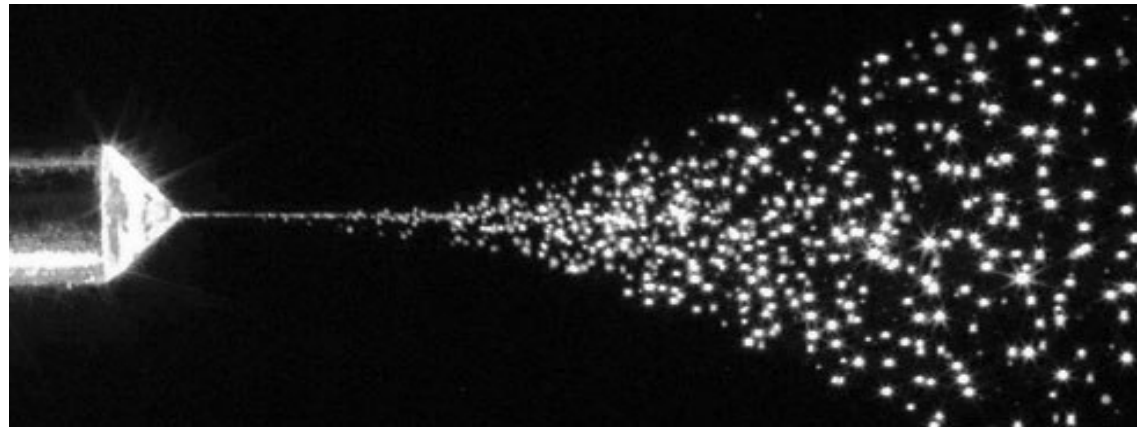
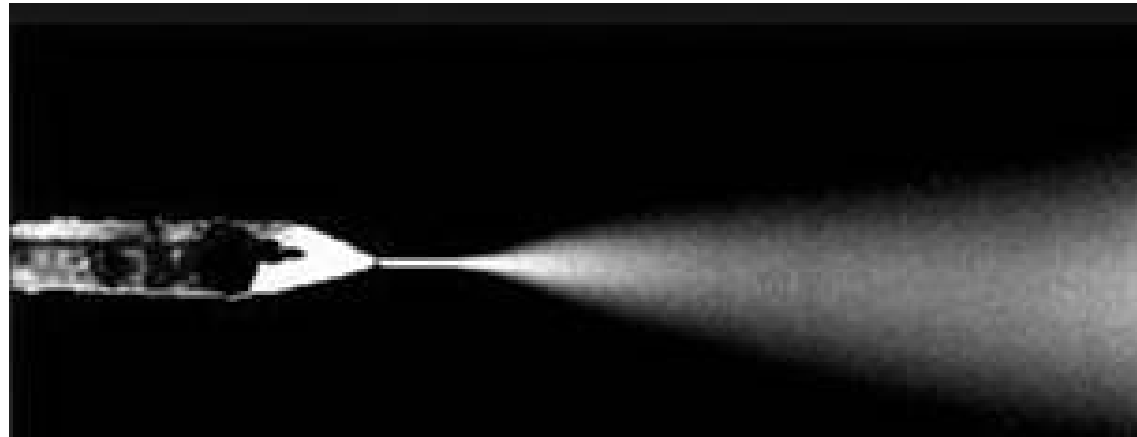
„elektrosprej = křídla pro  
molekulární slony“



# Elektrosprej : ESI

- Sprejování vzorku rozpuštěného v kapalně fázi kapilárou, na kterou je vloženo vysoké napětí (kV)
- Postupnými coulombickými explosemi a odpařováním rozpouštědla vznikají nabitě kapky a dochází k desorpci iontů
- Při nižších průtocích (menších 5 $\mu$ l) není nutné použití pomocných plynů - nanoelektrosprej

# Nanosprej



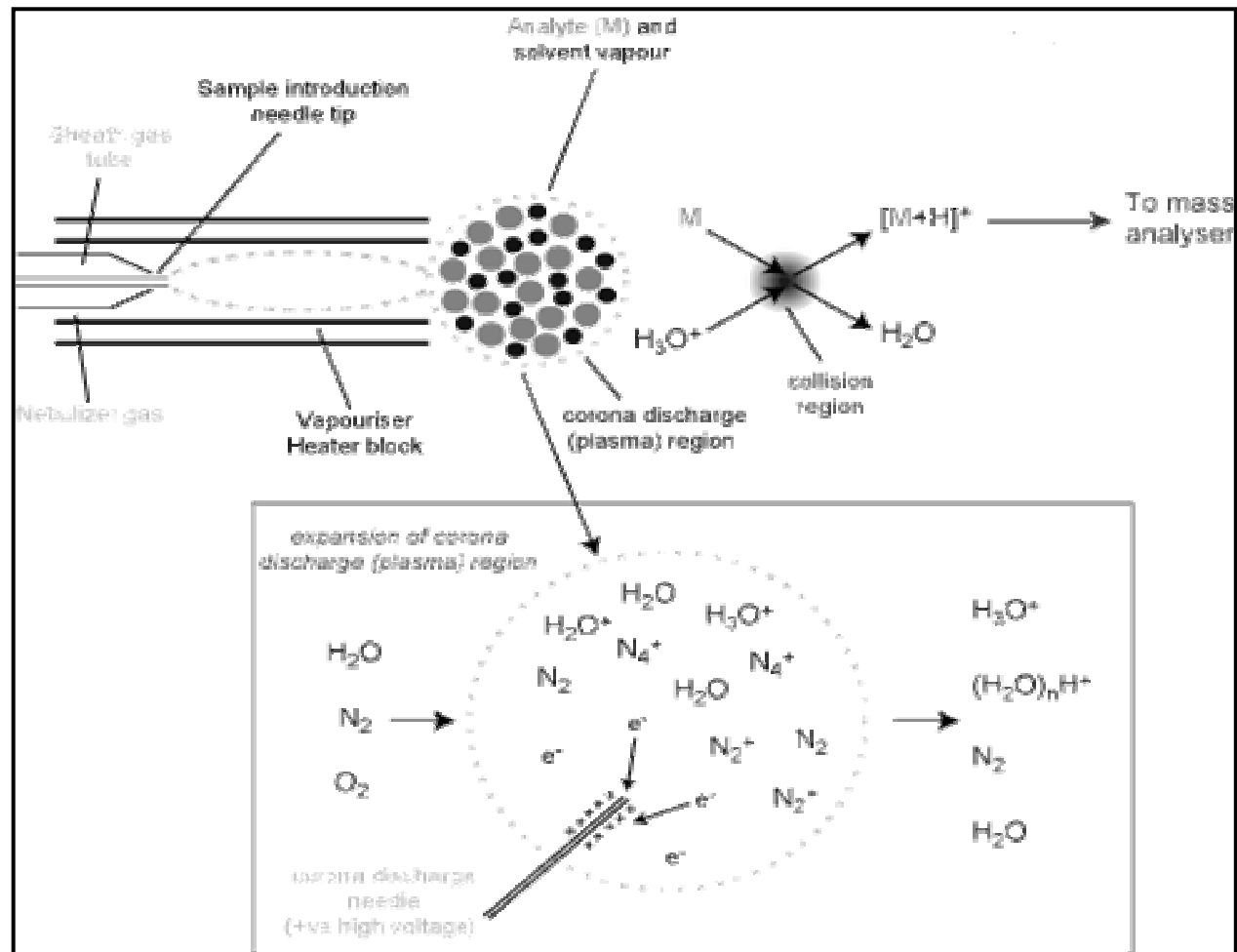
# ESI

- Ionizace semipolárních a polárních analytů v široké škále molekulových hmotností
- Vyžaduje alespoň částečně polární rozpouštědla jako donory protonů
- Tvorba vícekrát nabitých iontů – možnost analýzy relativně velkých molekul (kDa) i při použití analyzátoru s omezeným rozsahem hmotností

# Chemická ionizace za atmosférického tlaku APCI

- Vzorek je přiveden do vyhřívané části iontového zdroje (300-600 °C), kde je odpařen společně s rozpouštědlem
- Ionizace probíhá v koronovém výboji pomocí jehly, na kterou je vloženo vysoké napětí
- Ionizace analytu probíhá prostřednictvím ionizace nosného plynu, složek mobilní fáze nebo přímo analytu

# Schéma chemické ionizace za atmosférického tlaku APCI



# APCI

- Tvorba převážně iontů molekulárních aduktů s vodíkem nebo složkami rozpouštědla
- Výše energetická ionizace oproti elektrospreji – získaná spektra obsahují více fragmentů
- Možnost ionizace nepolárních látek v nepolárních rozpouštědlech

# Další ionizace za atmosférického tlaku

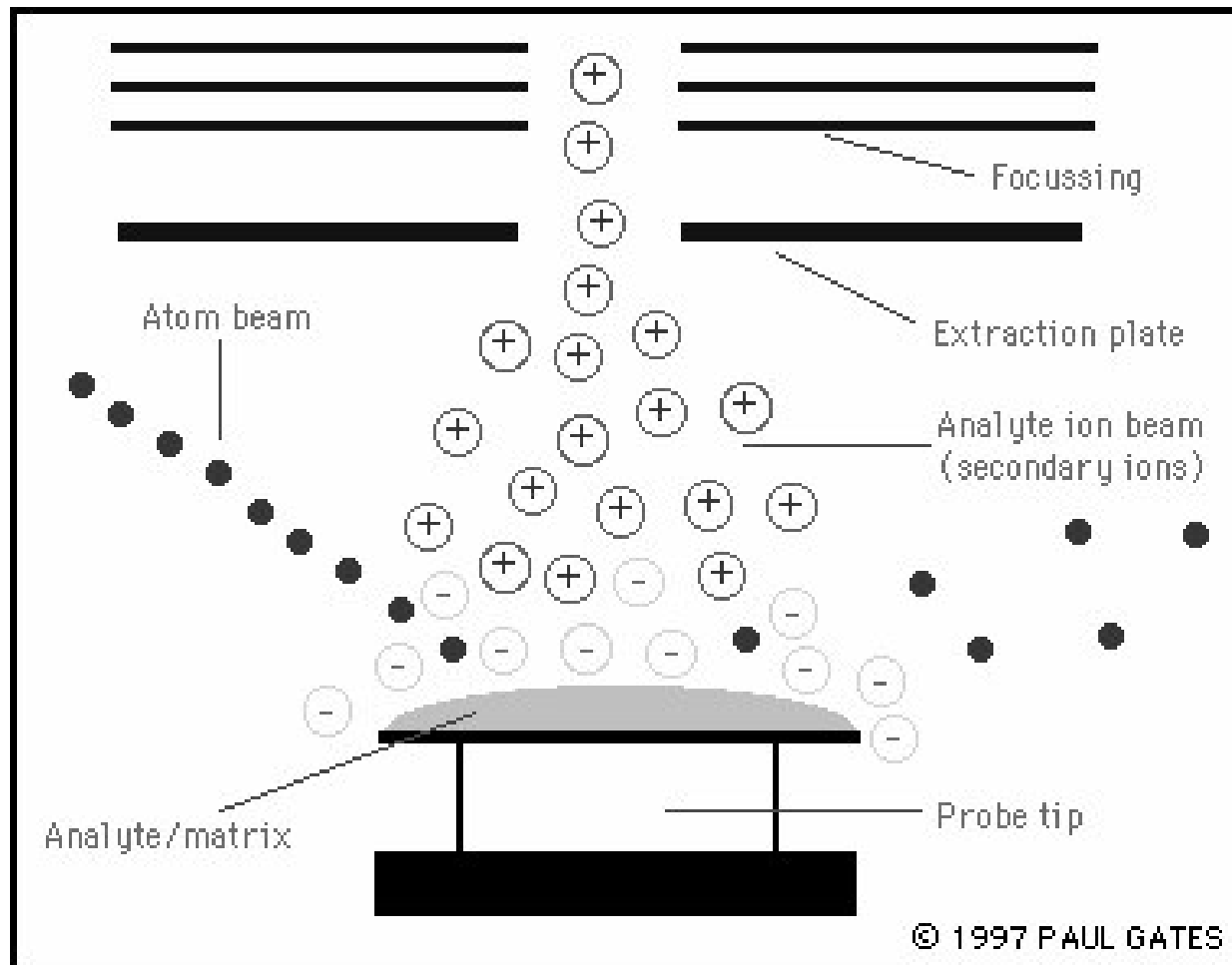
- APPI fotoionizace za atmosférického tlaku
- SSI sonosprej
- DESI (JeDI) desorpce elektrosprejem
- DAPCI desorpce APCI
- DART přímá analýza v reálném čase
- Kombinovaný ESI/APCI zdroj



# Ionizace urychlenými atomy FAB

- Vzorek je nanesen společně s matricí (glycerin, thioglycerin, 2-nitrobenzylalkohol, triethylamin,..) na vzorkovací terčik
- Vzorek je ionizován proudem urychlených atomů Xe nebo Ar, v EI zdroji vznikají xenonové ionty, které jsou urychleny a srážkami s neutrálními molekulami Xe jim předají kinetickou energii
- Při použití iontů  $\text{Cs}^+$  namísto neutrálních Xe (Ar) se technika nazývá ionizace urychlenými ionty SIMS (FIB)

# Schéma FAB ionizace



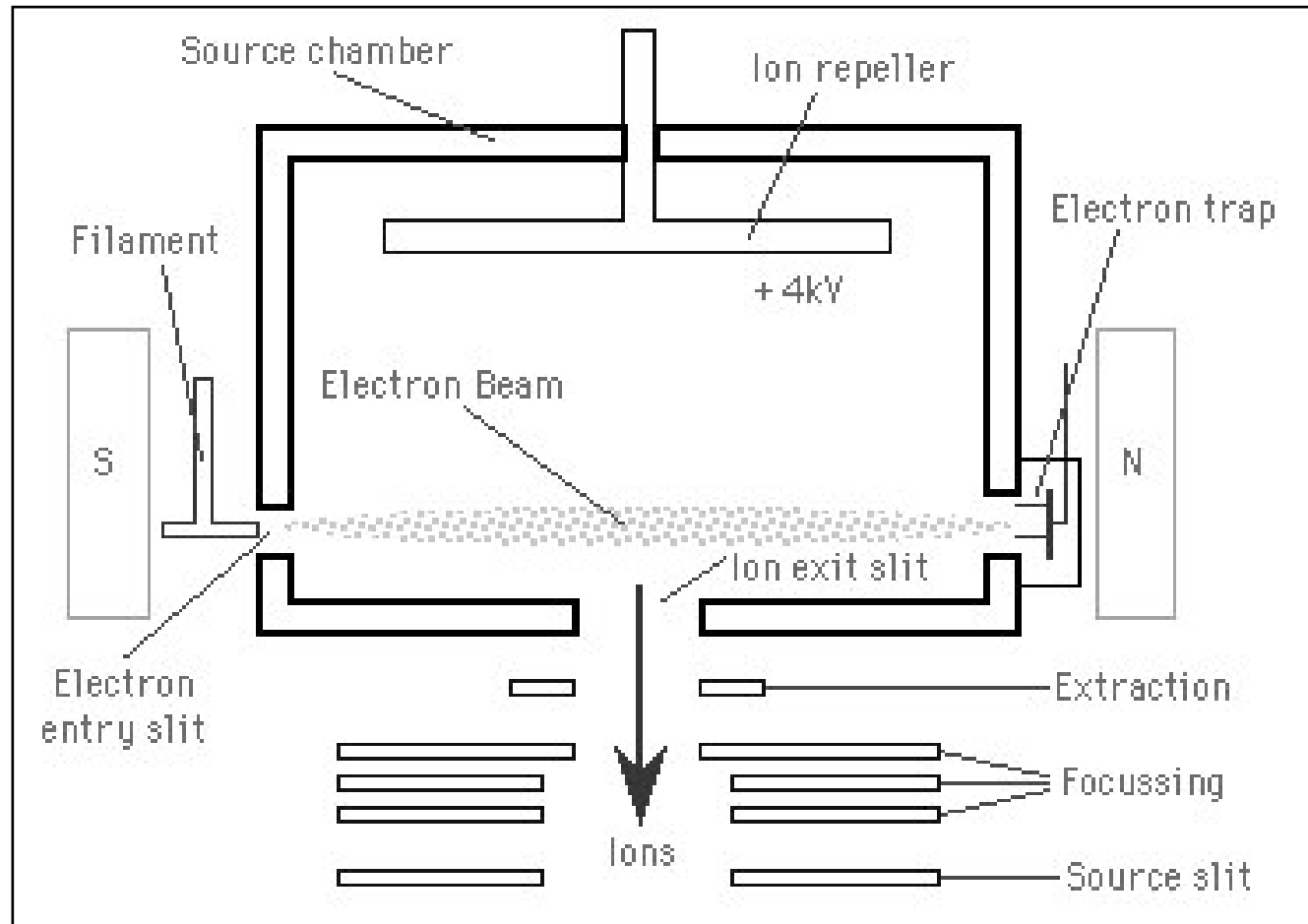
# FAB

- Vznikají molekulární ionty a ionty molekulárních aduktů s vodíkem, alkalickými kovy a složkami matrice
- Metoda pro široké spektrum látek
- Relativně šetrná ionizace – disociace analytu srovnatelná s APCI
- Instrumentálně náročná, spektra velmi často obsahují mnoho kontaminačních iontů z matrice
- V současné době ustupující metoda

# Elektronová ionizace EI

- Ionizace svazkem elektronů emitovaných z wolframového nebo rheniového vlákna
- Používá se ionizační energie 5-100eV (většina látek má ionizační energii do 20eV)
- Jedna z doposud nejpoužívanějších technik ionizace, zvláště ve spojení s plynovou chromatografií

# Schéma EI ionizace



# EI

- Tvrdá ionizace – vznikají spektra bohatá na fragmenty
- Při použití standardní energie vznikají reprodukovatelná spektra – možnost identifikace látek podle knihovny (70eV)
- Charakteristické rozpady pro jednotlivé struktury a typy látek – jednodušší řešení struktury

# Chemická ionizace CI

- Vzorek je ionizován ionty reakčního plynu, které jsou vytvořeny ionizací EI v iontovém zdroji
- Řadí se mezi měkké ionizační techniky
- Jako reakční plyn se používá methan, propan, dusík, methanol, acetonitril, amoniak ....
- Schéma CI zdroje je obdobné jako u EI

# CI

- Vznikají převážně ionty aduktů s vodíkem nebo ionty reakčního plynu
- Díky relativně vysoké energii iontů reakčního plynu se mohou ve spektru nacházet i částečně fragmentační ionty
- Citlivost a míru fragmentace lze výrazně ovlivnit volbou podmínek

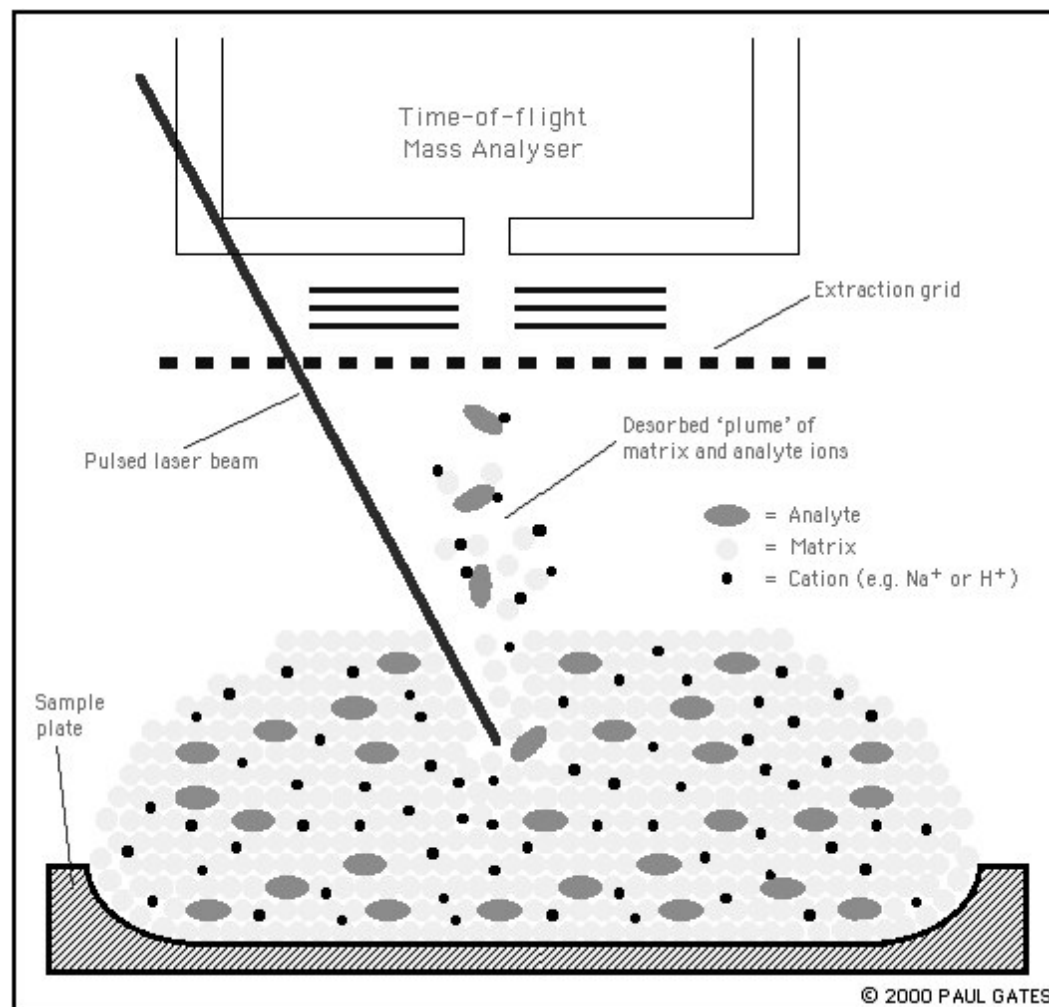


# MALDI



Koichi Tanaka

Nobelova cena za  
chemii rok 2002



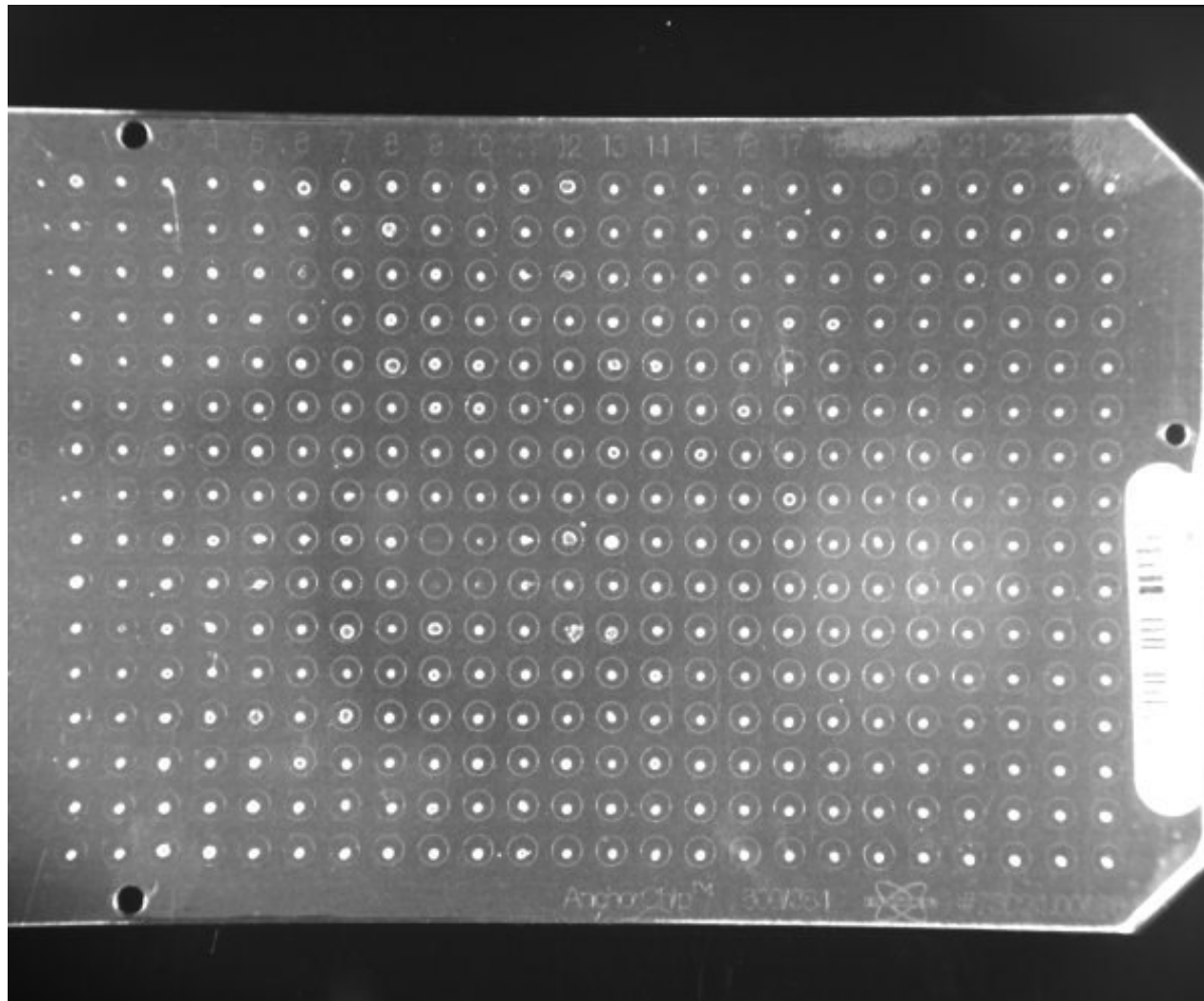
# Ionizace laserem za účasti matrice MALDI

- Vyvinula se z LDI (ionizace desorpcí laserem)
- Látky jsou nanášeny společně s matricí na terčik, dochází ke kokrystalizaci analytu a matrice
- Jako matrice je volena látka, která absorbuje energii laseru a následně ionizuje analyt (kyselina  $\alpha$ -hydroxyskořicová, DHB, kyselina sinapová ...)

# MALDI

- Možnost analýzy velkého rozsahu molekulových hmotností
- Možnost analýzy i velkých proteinů
- Vznikají převážně 1x nabitě quasimolekulární ionty analytu s vodíkem, při zasolení vzorků i se složkami solí (ty však výrazně ovlivňují odezvu)

# MALDI terč



# Spojení LC-MS

- Zejména měkké ionizační techniky
- Různé geometrie zdroje ( v ose, Z, W)
- Vliv složení a průtoku mobilní fáze
- Použití pouze těkavých pufrů
- Kvantifikace pouze pomocí vnitřního standardu

# Spojení GC-MS

- V současné době spojení hlavně s EI a CI
- Použití je limitované analýzou plynovou chromatografií – cca 20% látek
- Vytváření knihoven spekter – jednoduchá identifikace analytů
- Oproti LC-MS možnost použití vnější kalibrace
- Projev matričních efektů

# Dostupné ionizační techniky na UOCHB

- ESI (LR, HR, MS/MS, LC-MS)
- APCI (LR, HR, MS/MS, LC-MS)
- EI (LR, HR, MS/MS, GC-MS)
- CI (LR, HR, MS/MS, GC-MS)
- MALDI (LR)

Děkuji za pozornost

