

Tömegspektrometria

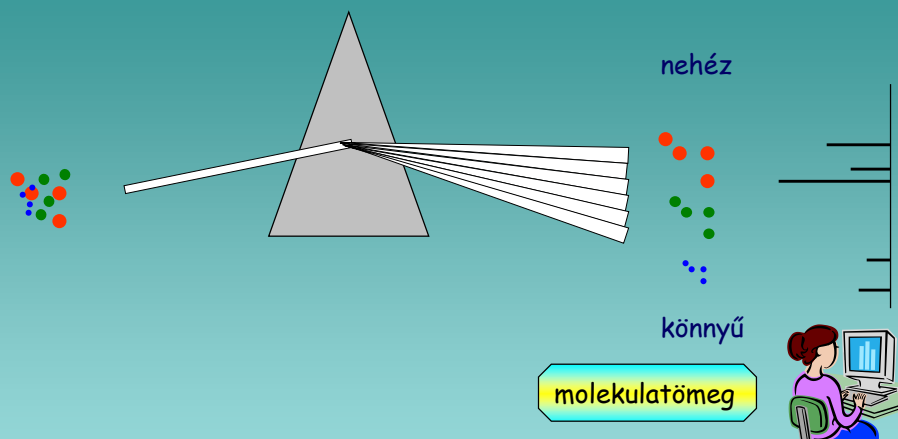
“Science and Technology of gas-phase ions”

Dr. Drahos László
MTA Természettudományi Kutatóközpont
e-mail: drahos.laszlo@ttk.mta.hu

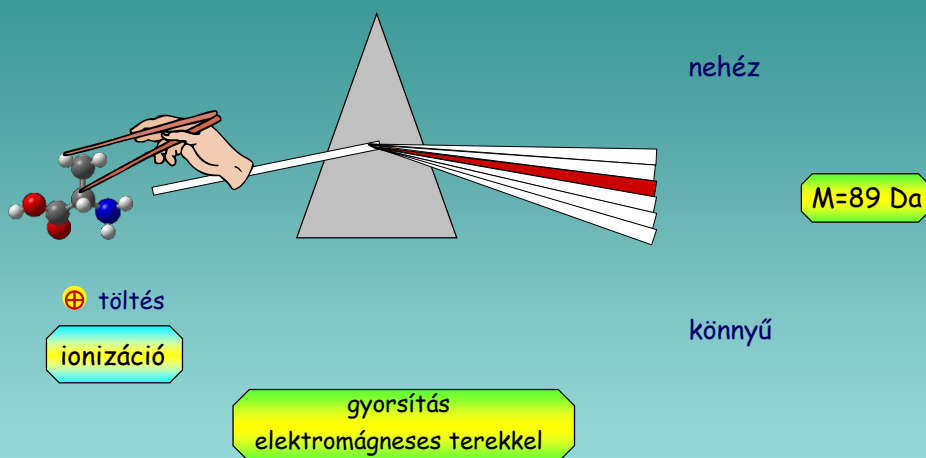
Tartalom

- Bevezetés: MS alapok
- Ionforrások
- Készülék típusok (analizátorok)
- Tandem MS
- Kapcsolt technikák (LC-MS)
 - Tendenciák, technikai változások
- Biológiai minták vizsgálata, proteomika
- MS technika kiválasztásának szempontjai
- Példák

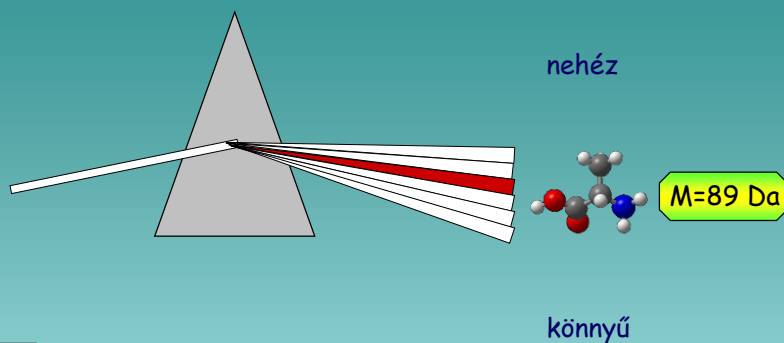
tömegspektroszkópia, -spektrometria, MS



a tömegspektrometria elve



a tömegspektrometria elve



tömegmérés: a mozgás tehetetlenségén alapul
nehéz részecske csak kicsit,
könnyű részecske jelentősen eltérül

Tömegspektrometria: „különleges mérleg”

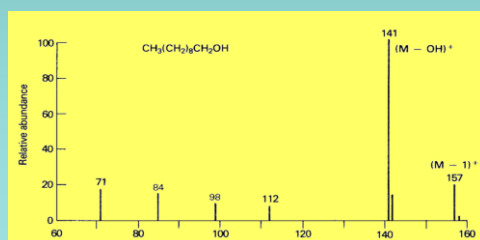
atomok és molekulák tömegének mérése

Módszer:

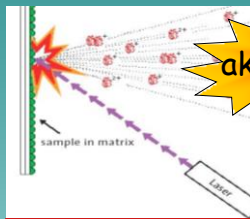
- mintabevitel
- ionizáció
- molekulák töredezése (fragmentáció)
- gyorsítás
- szétválasztás tömeg/töltés alapján
- ionok detektálása
- tömeg/töltés értékek és jel intenzitás mérése
- spektrum értékelés



tömegspektrum:
intenzitás vs. (tömeg/töltés)



töredés, fragmentáció

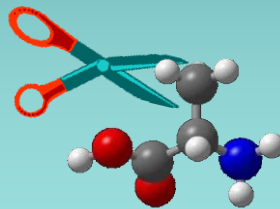
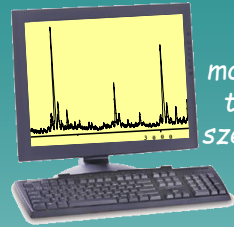


ionizáció

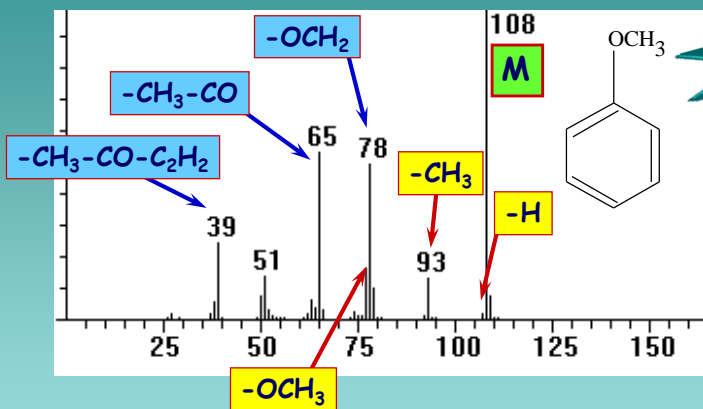
aktiválás

fragmentáció

termékek,
spektrum



fragmentáció: szerkezetmeghatározás !



tömegspektrometria alkalmazási területei:

szerkezetvizsgálat

mi a vegület szerkezete?

analitika

milyen komponensekből áll a minta?
mik a szennyezőanyagok?
milyen mennyiség, milyen koncentráció?

fizikai kémia

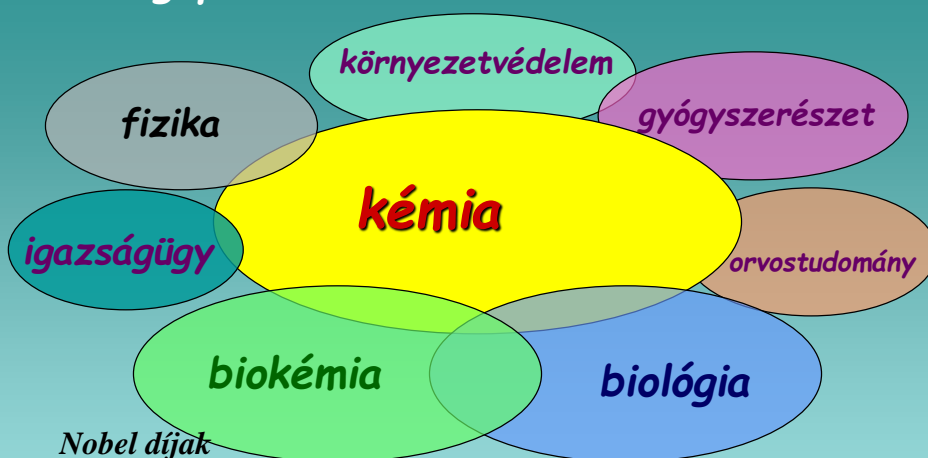
ionizációs energia, megjelenési energia,
disszociációs energia, stb.

mit vizsgálunk ?

atomok, molekulák, makromolekulák
tiszta vegület, bonyolult keverék

nagyon érzékeny
nagyon szelektív

tömegspektrometria alkalmazási területei:



Nobel díjak

1906: Thomson

1922: Aston

1939: Lawrence

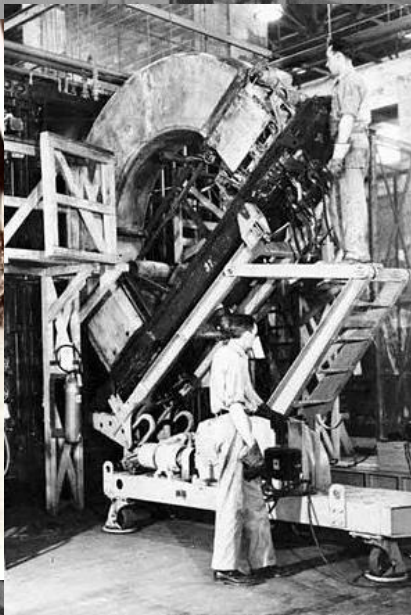
1989: Paul

2002: Fenn, Tanaka

MS - előnyök/hátrányok

- ☺ **Extrém érzékeny**
10⁻¹⁵g, 10⁻²¹ mol detektálható
- ☺ **Gyors** - 10 spektrum/s
- ☺ **Könnyen kapcsolható kromatográfiával**
- ☺ **Hatékony**
egyszerű mintaelőkészítés
rövid analízis idő
- ☺ **Szerkezeti & kvantitatív információ**
- ☺ **Flexibilis**
szelektív/univerzális detektálás
- ☺ **"Easy to get a job" MS gyakorlattal**
- ☹ **Drágák a készülékek**
100.000-1.000.000 EUR
- ☹ **Spektrumokat nehéz értelmezni**
- MS "szakember"
- ☹ **Korlátozott szerkezeti info**
- ☹ **Izomereket nehéz megkülönböztetni**
- ☹ **Sok gyakorlati probléma**
készülék tisztítás & karbantartás javítás

A legnagyobb tömegspektrométer



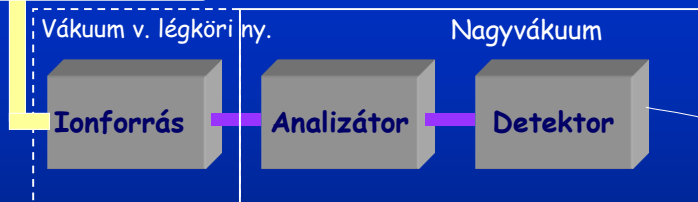
áború)
eparatív
sa
ség - MS
ométer - Calutron

Mass spectrometers - large and small



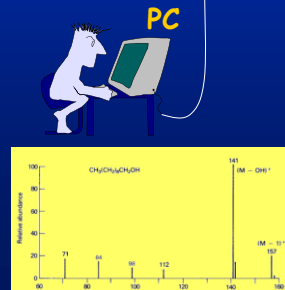
Tömegspektrométer felépítése

kromatográfia:
GC-MS, HPLC-MS



- Ionforrás - mintabevitel
- Ionforrás - Ionizáció (molekulák töredezése, *fragmentáció*)
- Ionoptika – fókuszálás, gyorsítás,
- analizátor - szétválasztás tömeg/töltés alapján
- detektor - Ionok detektálása
- adatfeldolgozás - tömeg/töltés értékek és jel intenzitás ábrázolása

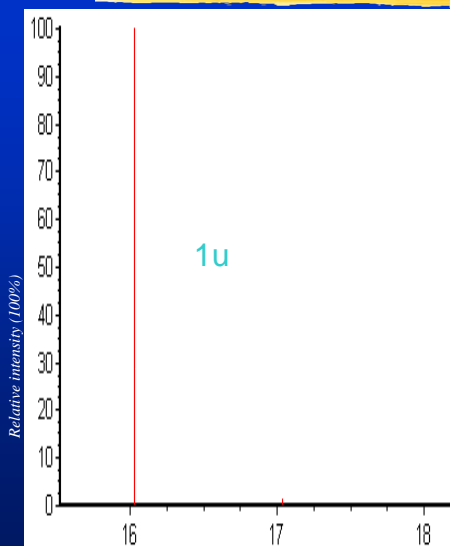
- **tömegspektrum:**
- intenzitás vs. (tömeg/töltés)



MS – definíció:

- **Nominális tömeg** (C=12, H=1, Cl=35)
- **Monoizotópos tömeg** ($^{12}\text{C}=12,000$, $^1\text{H}=1,0078$, $^{35}\text{Cl}=34,9689$)
- **Átlagtömeg** (összes izotóp figyelembevételével, pl. Cl 35,453)
- **Pontostömeg:**
~1-30 ppm pontosság (~ 4 értékes jegy)
nagyfelbontás (felbontás >10.000)
500 Da-ig : monoizotópos ~ nominális ~ pontos tömeg
- **Miért fontos a pontos tömeg meghatározása?**
 - **ELEMI ÖSSZETÉTEL MEGHATÁROZÁSA**
- **Izotópcsúcsok**

Methane CH₄



Composition	Monoisotopic Mass	Abundance
-------------	-------------------	-----------

$^{12}\text{C}_1^1\text{H}_4$	16.0313	100.00
-------------------------------	---------	--------

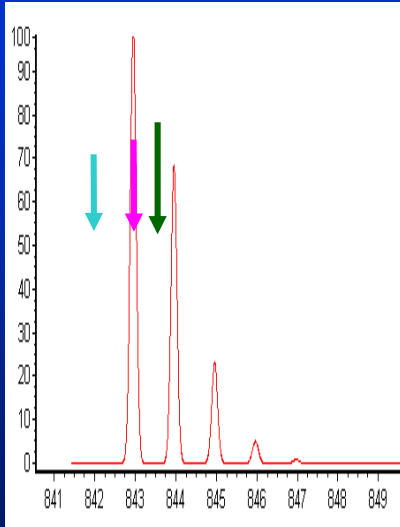
$^{12}\text{C}_0^{13}\text{C}_1^1\text{H}_4$	17.0348	1.17
--	---------	------

Nominális tömeg	16
-----------------	----

Monoizotópos tömeg	16.0313
--------------------	---------

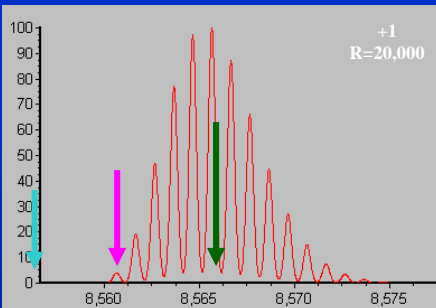
Átlag tömeg	16.0429
-------------	---------

Hexacontane $C_{60}H_{122}$



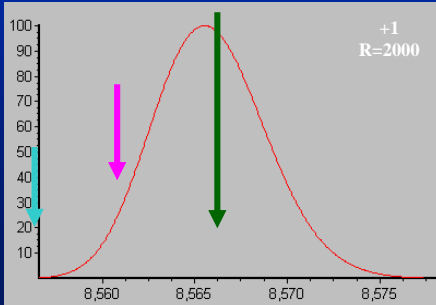
Nominális tömeg 842
 Monoizotópos tömeg 842.95465
 Átlag tömeg 843.5363

Composition	Monoisotopic Mass	Abundance
$^{12}C_{60}^1H_{122}$	842.95465	100.00
$^{12}C_{59}^{13}C_1^1H_{122}$	843.95801	62.54
$^{12}C_{60}^1H_{121}^2H_1$	843.96093	0.62
$^{12}C_{58}^{13}C_2^1H_{122}$	844.96136	9.40
$^{12}C_{59}^{13}C_1^1H_{121}^2H_1$	844.96429	0.41
$^{12}C_{57}^{13}C_3^1H_{122}$	845.96472	1.59
$^{12}C_{58}^{13}C_2^1H_{121}^2H_1$	845.96764	0.14
$^{12}C_{59}^{13}C_1^1H_{120}^2H_2$	845.97056	0.004
$^{12}C_{56}^{13}C_4^1H_{122}$	846.96807	0.25

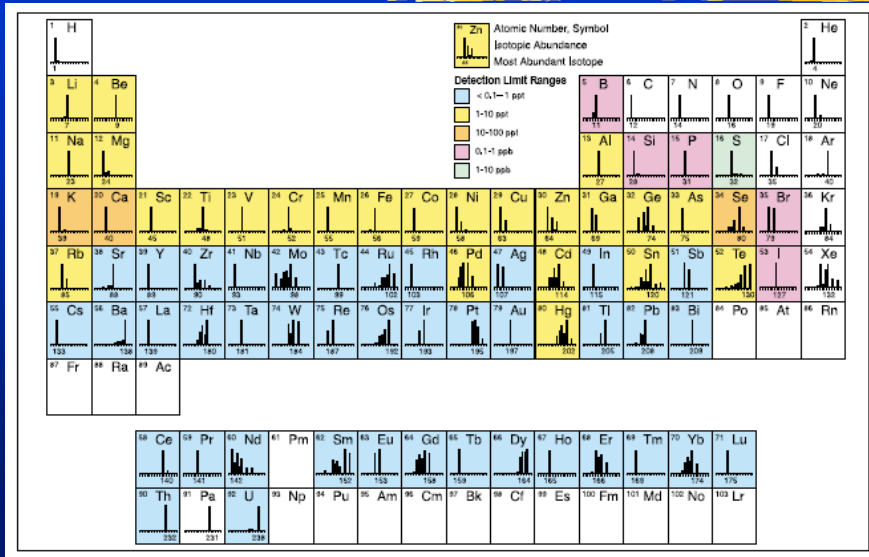


[Ubiquitin+H]⁺ $C_{378}H_{630}N_{105}O_{118}S$

Nominális tömeg 8,556
 Monoizotópos tömeg 8,560.623
 Átlag tömeg 8,565.880



Isotopes of Other Elements

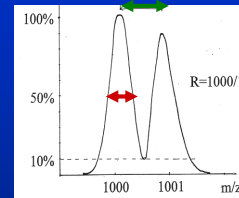


MS - definíció:

- **Felbontás (R):** milyen tömegkülönbséggel lehet szétválasztani két iont

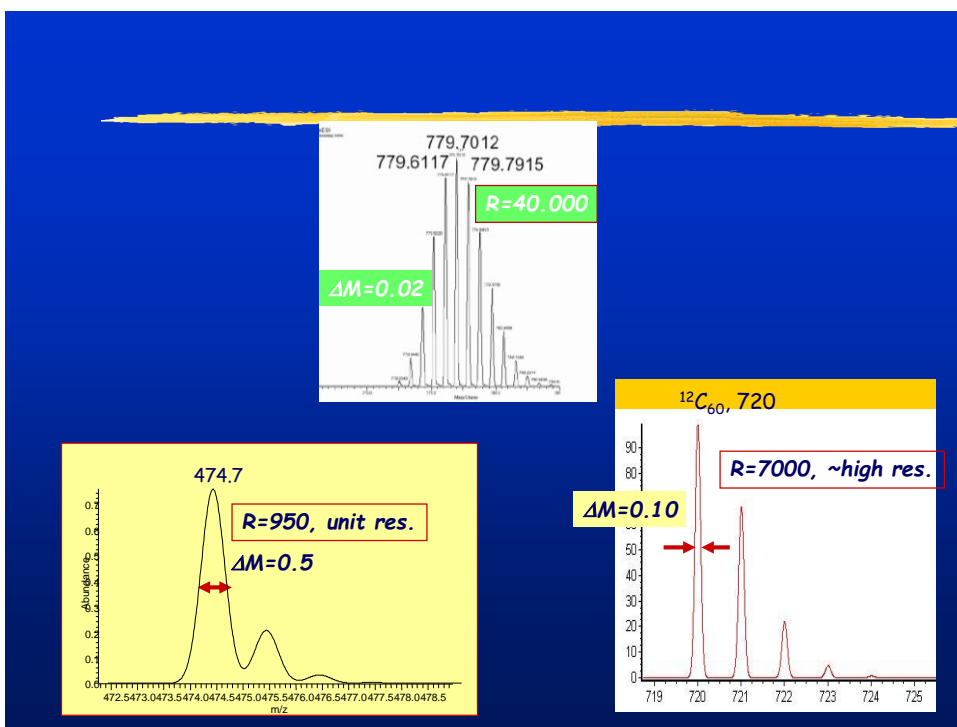
$$R = M / \Delta M$$

- - csúcs szélesség mérése:
50 % csúcsmagasságnál (újabb készülékek esetén)
FWHM (full width at half maximum)



kis felbontás (<1000 vagy egységnyi felbontás)

nagy felbontás (>10.000) szükséges pontos tömegméréshez



Definitions

1. Average mass or chemical mass: mass calculated using a weighted average of the natural isotopes for the atomic mass of each element. Example: average mass of $\text{CH}_3\text{Br} = (12.01115 + 3 \times 1.00797 + 79.904) \text{ u} = 94.93906 \text{ u}$. This is the mass a chemist normally uses in stoichiometric calculations.
2. Nominal mass: mass calculated using the mass of the predominant isotope of each element rounded to the nearest integer value. Example: nominal mass of $\text{CH}_3\text{OH} = ^{12}\text{C}^1\text{H}_3^{16}\text{O}^1\text{H} = (12 + 4 \times 1 + 16) \text{ u} = 32 \text{ u}$.
3. Monoisotopic mass: mass calculated using the 'exact' mass of the predominant isotope of each element, which takes into account the mass defects. Example: $\text{CH}_3\text{Br} = ^{12}\text{C}^1\text{H}_3^{79}\text{Br} = (12.0000 + 3 \times 1.007825 + 78.918336) \text{ u} = 93.941011 \text{ u}$.
4. Mass defect: difference between the monoisotopic and nominal mass.

Definitions

5. m/z : the ratio of the relative mass of an ion to its charge number. It is an abstract, unitless number that allows us to talk about, for example, $m/z = 60$. This is the definition we use in this book. If we define m/z as the mass-to-charge ratio, m is given in daltons and the charge is given in e , thus m/z is in thomsons. For example, an ion with mass $m = 200$ u and with charge $2e$ has $m/z = 100$ Th.
6. Relative mass (m): mass of an atom, a molecule or an ion divided by one-twelfth of the mass of the ^{12}C carbon atom. It is thus dimensionless. Thus $m = (\text{mass of a molecular or ionic species})/(\text{mass of } ^{12}\text{C}) \times (1/12)$.
7. Mass number: sum of the protons and neutrons in an atom, molecule or ion.
8. Charge number: the total charge on an ion divided by the elementary charge (e).
9. Mass spectrum: plot of ion abundance versus mass-to-charge ratio normalized to most abundant ion in the spectrum.
10. Base peak: the most intense peak in the spectrum.
11. Isotopic peak: peak due to other isotopes of the same chemical formula but with a different isotopic composition.
12. Relative abundance: normalization in per cent relative to the base peak.
13. Relative intensity: ratio of the peak intensity to that of the base peak.
14. Percentage of the total intensity: abundance of an ion over the total abundance of all ions within a specified mass region.

Ionizáció

Ideális ionizáció

- ✓ érzékeny
- ✓ Atomokra, kis és nagy molekulákra is alkalmas
- ✓ Apoláris, poláris és ionos vegyületekre is jó
- ✓ szerves és szervesetlen vegyületek,
- ✓ Kapcsolható GC-hez (gáz fázis) és HPLC-hez (folyadék fázis)
- ✓ Intenzív molekulaion észlelhető (molekulatömeg+kvanti)
- ✓ fragmensek (szerkezeti információ)

Mindezt egy módszer nem tudja

Aktív kutatási terület

Nagy áttörésekhez vezethet

Nobel díj:

2002: Fenn, Tanaka

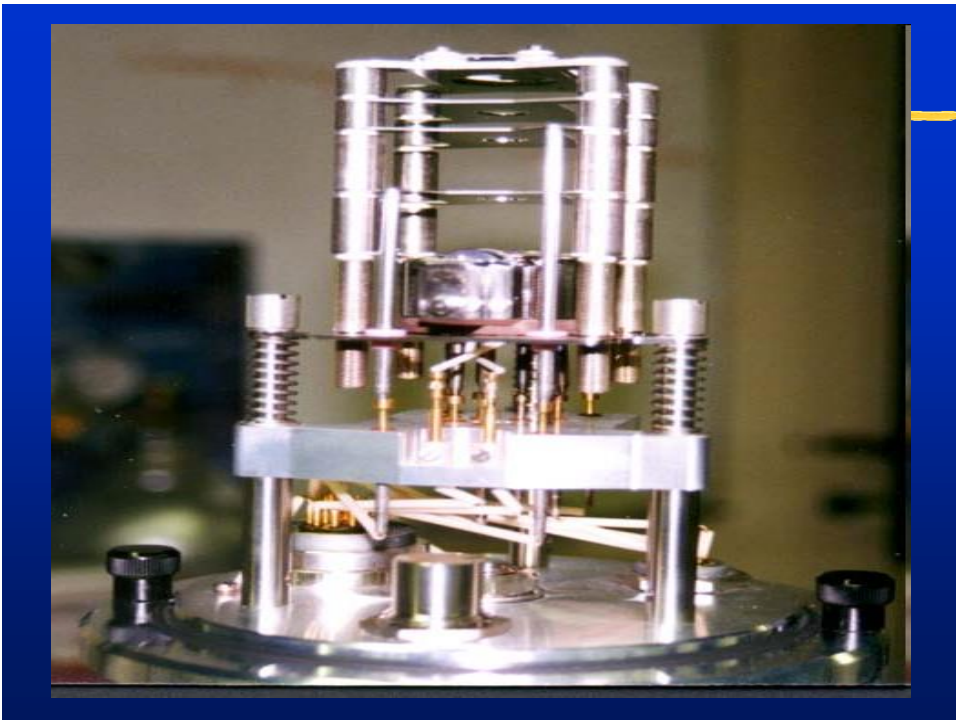
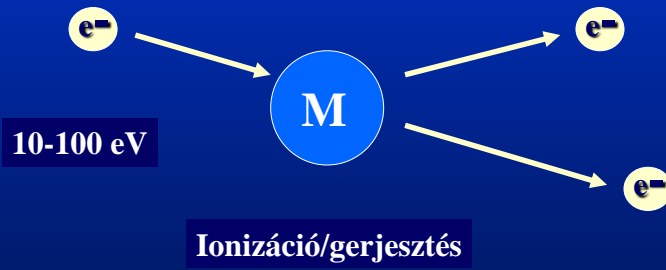
Ionizációs módszerek:

- ✓ Sok különböző módszer:
 - electron attachment
 - photoionization (PI)
 - field ionization (FI)
- ✓ Csoportosításuk
 - technikai megoldás
 - fragmens ionok
 - ionizáló ágens
 - a képződő molekulaion
 - minta polariása és mérete
- ✓ Legfontosabbak:
 - multiphoton ionization (MPI)
 - fast atom bombardment (FAB)
 - plasma desorption mass spectrometry (PDMS)
 - secondary ion mass spectrometry (SIM)
 - thermospray (TS)
 - infrared laser desorption (IRLD)
 - nanospray
 - thermal ionization

electron impact (EI)
chemical ionization (CI)
electrospray, nanospray (ES, ESI)
atmospheric pressure chemical ionization (APCI)
atmospheric pressure photo ionization (APPI)
matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI)

Electron Ionization (Electron Impact)

A legrégebbi, legegyszerűbb ionizáció



Elektronütközéses ionizáció (Electron Impact, EI)

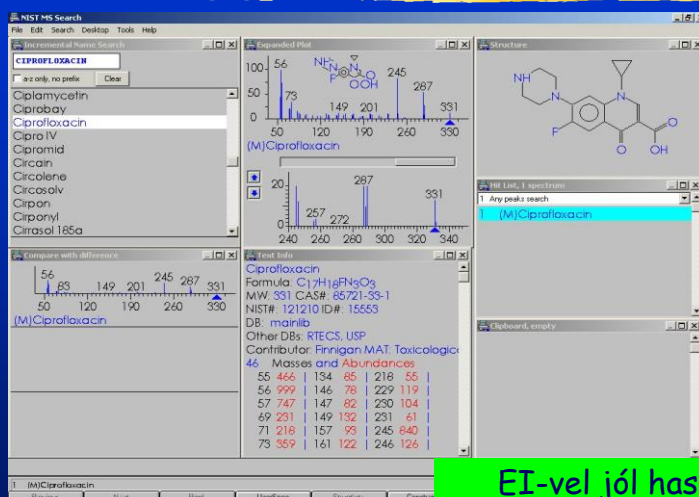
- Szerkezet meghatározásra alkalmas (**spektrumkönyvtári keresés**)
- Ideális **univerzális GC detektorként** (szerkezeti információ)
- Kiváló **kvantitatív** meghatározásra
- Elemi összetétel meghatározás nagyfelbontással
- Gyökionok képződnek

Alkalmazás:

- **Környezetvédelmi analitika** - érzékeny, GC-kapcsolat, mennyiségi meghatározás
- Szerves vegyületek **szerkezet meghatározása** - fragmentáció, elemanalízis, spektrumkönyvtár
- **GC alkalmazások**

Tömegspektrometriás adatbázis

NIST-EPA-NIH adatbázis: ~150,000 komponens



EI-vel jól használható, de
más ionizációs technikákkal NEM

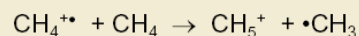
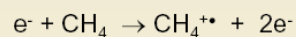
Elektron ütközéses ionizáció – összefoglalás

TABLE 1.2
Advantages and Disadvantages of Electron Ionization

Advantages	Disadvantages
Subpicomole to picomole sensitivity.	Limited mass range due to thermal desorption (volatility) requirement.
Availability of vast computer databases, containing over 100,000 compounds.	Possible decomposition by thermal desorption prior to vaporization.
Use of fragmentation pattern as a fingerprint with databases to identify unknowns.	Too much fragmentation, often resulting in no observable molecular ion.
Structural information obtained from fragmentation pattern.	

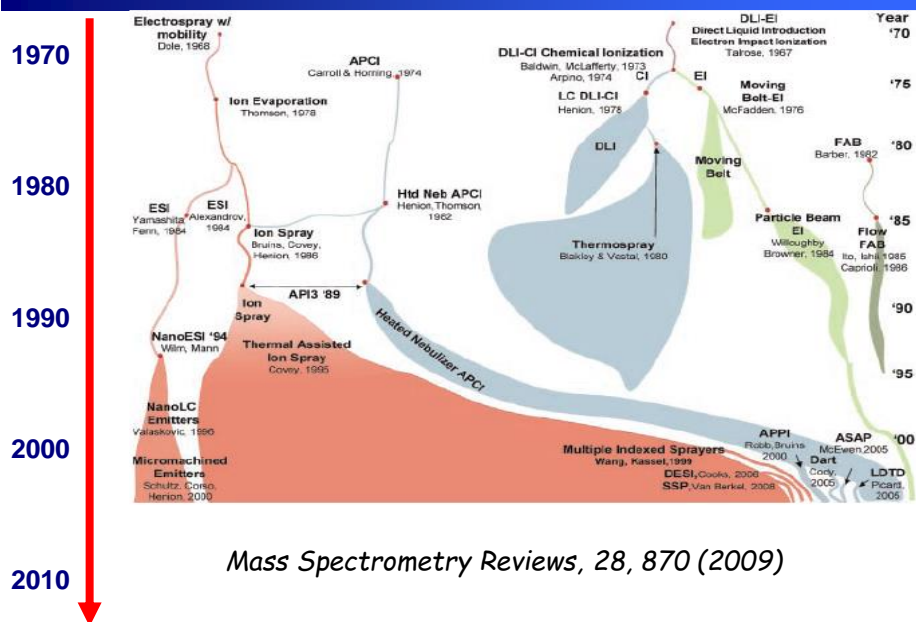
Kémiai ionizáció (CI)

- Kombinált EI/CI forrás
- Reagens gázok: metán, i-bután, ammónia
- Ion-molekula ütközések a reagens ionok és a minta molekulái között
- Kíméletes ionizáció
- Pozitív és negatív ionok
- Kis fragmentáció, kvázi molekulai ion $(M+H)^+$, $(M+NH_4)^+$

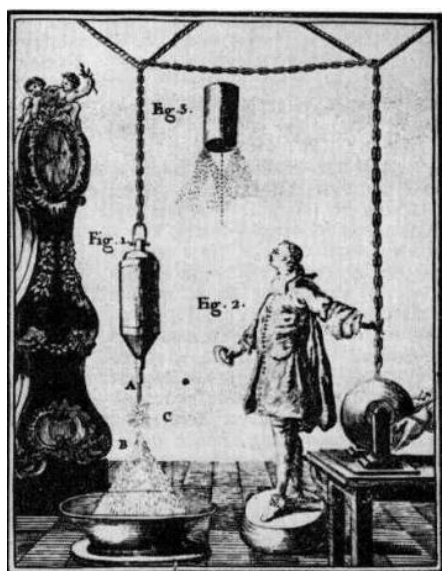


$$\Delta H_{\text{reaction}} = PA(CH_4) - PA(M)$$

Porlasztásos technikák - Történelmi áttekintés



Első elektroporlasztásos kísérlet



- Jean Antoine Nollet (1700-1790)
- Véletlenül fedezte fel, hogy az elektrosztatikusan feltöltött emberek „furcsán” véreznek
- Elektrosztatikus porlasztás vizsgálata

Spray ionizáció – Elektroporlasztás (ES, ESI)

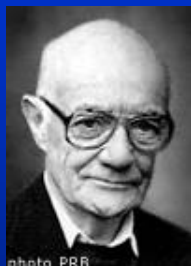
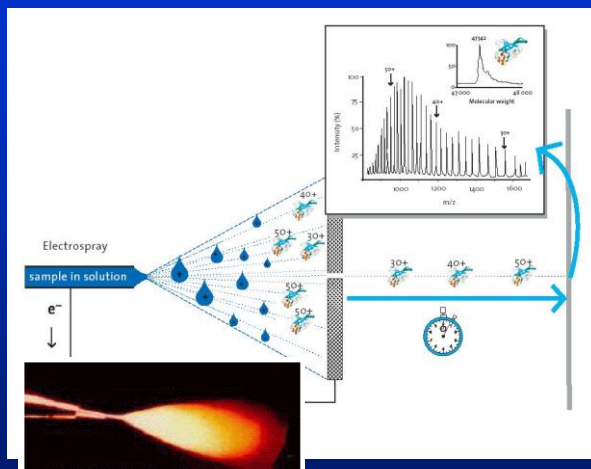


photo PRB

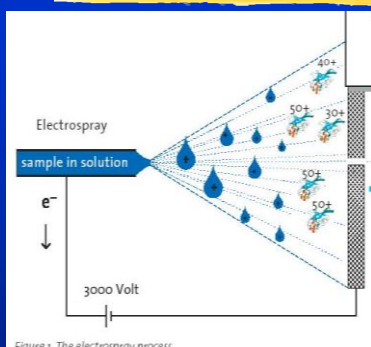
J. B. Fenn

Kémiai Nobel
díj
2002



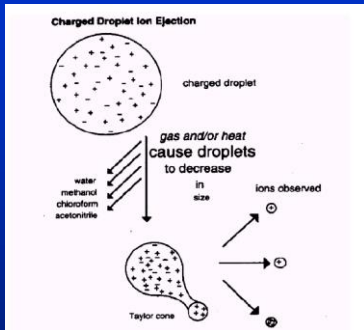
"for the development of methods for identification and structure analyses of biological macromolecules"

Electrospray



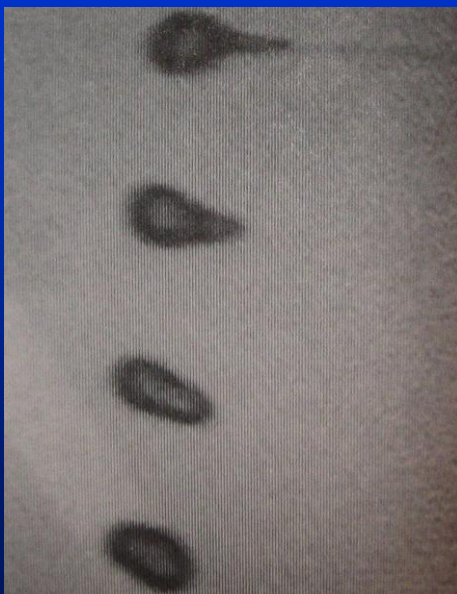
- spray nagy feszültség alatt: sokszorosán töltött cseppek keletkeznek
- Hasonló technika az autók festésénél
- Porlasztó gáz és fűtés segíti az ionizációs folyamatot
- Többszörösen töltött ionok keletkezhetnek

Electrospray mechanizmus



- **Charge residue modell:** az aeroszol csepp „beszárad” (elpárolog az összes oldószer) Többszörösen töltött cseppek párolognak és kritikus méretet elérve a töltéstartás hatására „szétrobbannak” (**Coulomb robbanás**): ionok és kisebb töltött aeroszol cseppek keletkeznek
- **Ion evaporation modell:** az instabil töltött csepp egy iont lök ki magából (töltéstartás miatt)

Electrospray: csepp- és ionképződés



Valódi kép:
a csepp „robbanása”



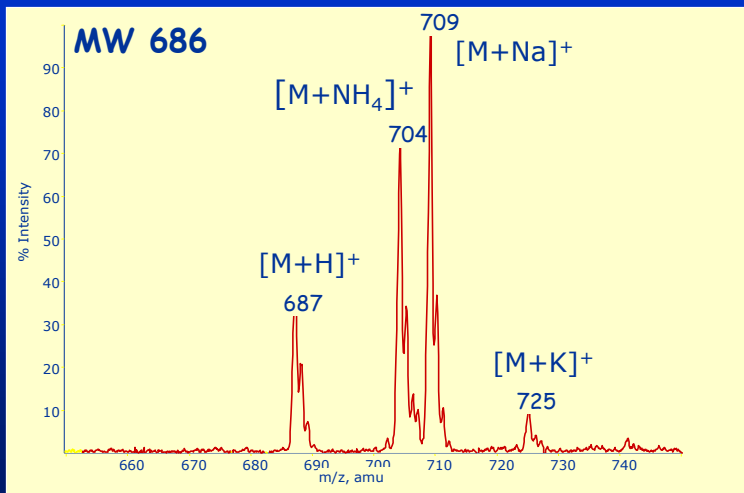
idő



Electrospray

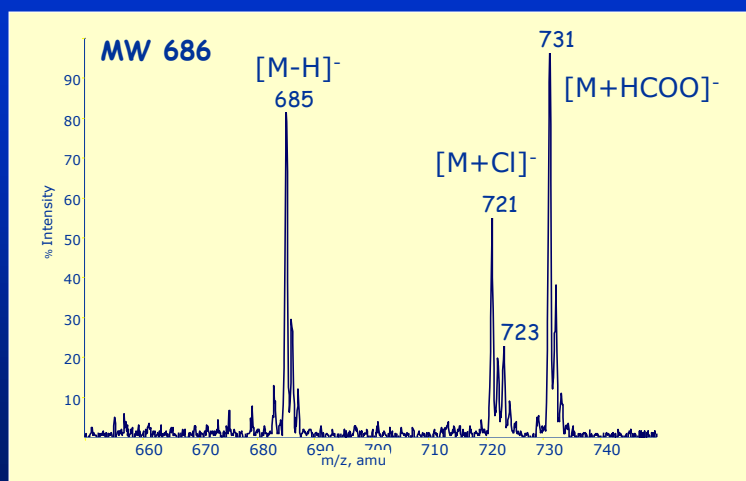
- nagyon érzékeny, ($\sim 10^{-12}$ - 10^{-18} mol)
- pozitív és negatív ionok, erősen poláris/ionos komponensek
- kis és nagy tömegű molekulák meghatározására egyaránt alkalmas
- könnyen (tipikus), egyszerűen kapcsolható HPLC-vel
- mennyiségi meghatározásra alkalmas
- pontos tömegmérés az új készülékeken
- alaptermék peptidek és proteinek vizsgálatára
- jól vizsgálhatók komplexek és nem-kovalens kölcsönhatások
 - kevésbé tolerálja a sókat és egyéb szennyezőket (csak illékony puffer használható!!!)
 - keverékek szétválasztás nélkül nem túl jól vizsgálhatók
 - nem alkalmas apoláris molekulák vizsgálatára

Electrospray – pozitív ionok



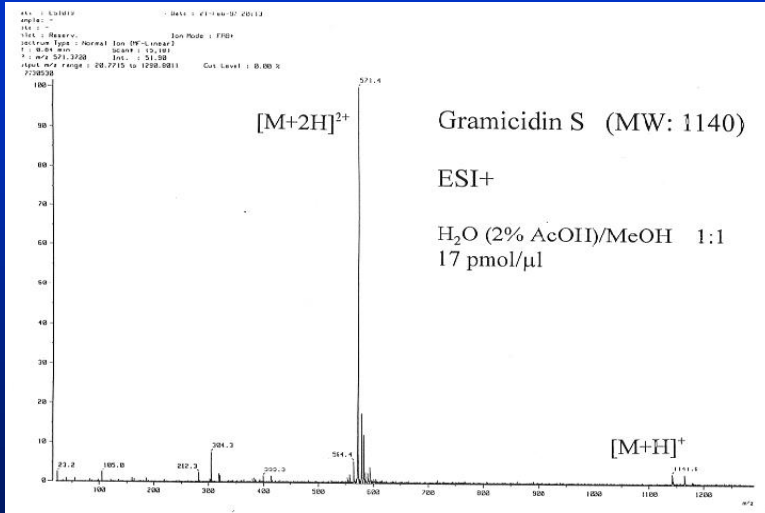
Zárthéjű ionok, protonált molekulaion vagy kation addukt

Electrospray – negatív ionok



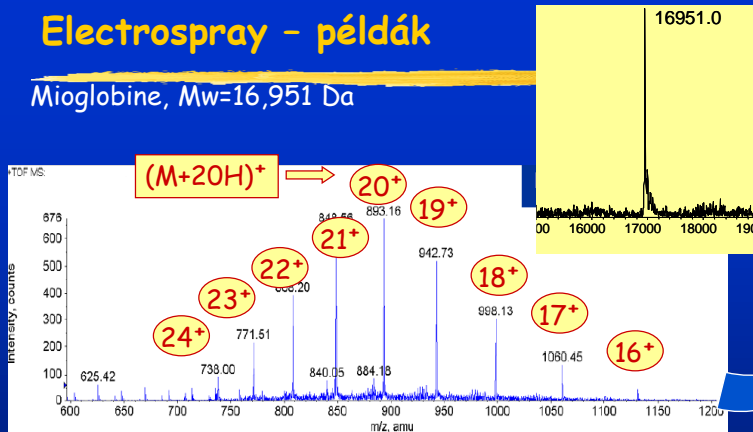
Zárthéjű ionok, deprotonált molekulaion vagy anion addukt

Electrospray - példák



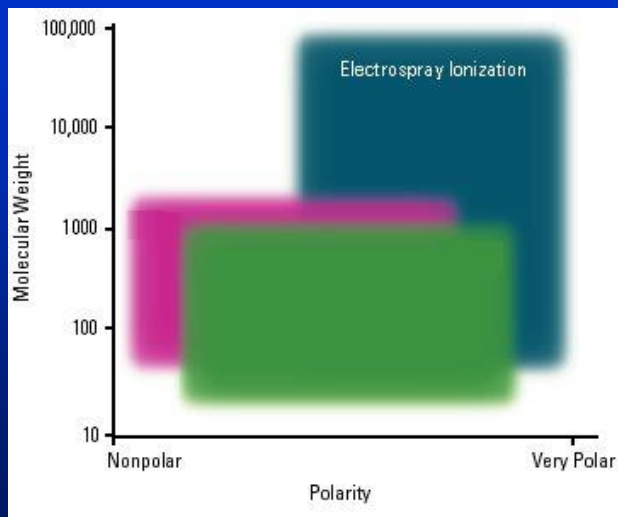
Electrospray - példák

Mioglobine, Mw=16,951 Da



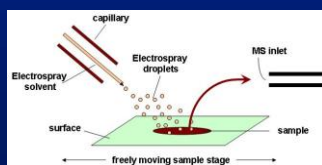
Nagy molekulák vizsgálatára: többszörös töltésű ionok (envelope)
 molekula tömeg meghatározás
 dekonvolúcióval
 protonált és/vagy kationizált ionok
 negatív ionizáció

Egyéb spray ionizációs technikák

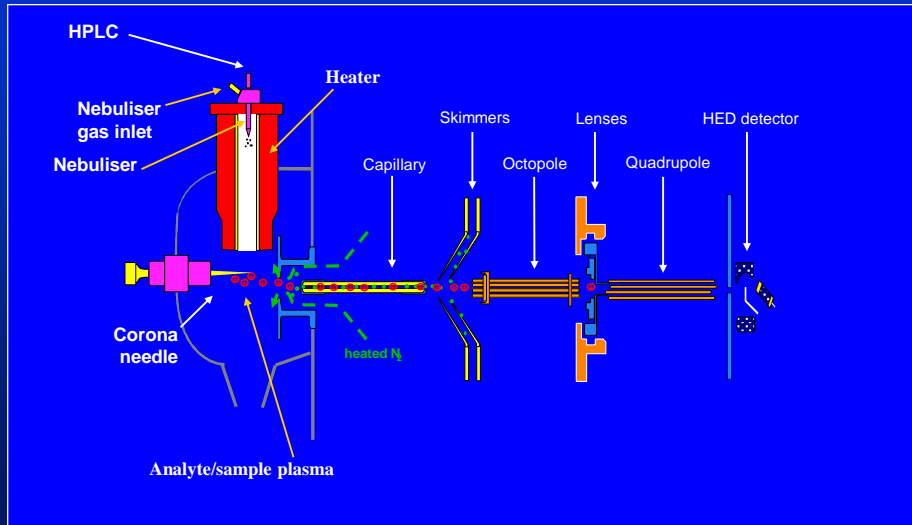


Van élet az elektroperlasztásos ionizáción kívül? Egyéb spray technikák

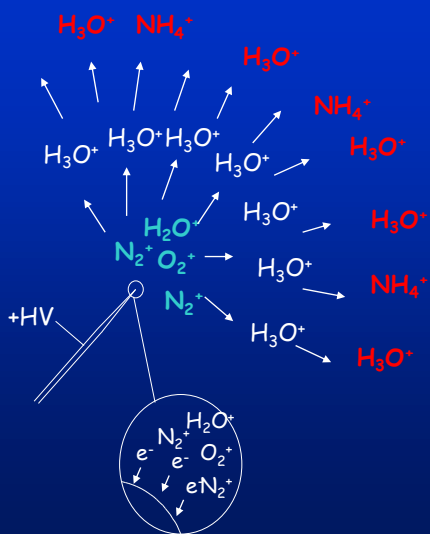
- **Atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció (APCI)**
technikailag nagyon hasonló az ESI-hez, a mechanizmus CI-hez hasonlít
tömegtartomány ~200 - 1500 Da, egyszeres töltésű protonált vagy kationizált molekulák
közepes polaritású vegyületek vizsgálatára alkalmas leginkább
- **Atmoszférikus nyomású fotoionizáció (APPI)**
technikailag nagyon hasonló az ESI és APCI-hoz, fotoionizáció
egyszeres töltésű molekuláris gyökök vagy protonált ionok
alacsony polaritású komponensek vizsgálatára alkalmas
tömegtartomány ~100 - 1000 Da
- **Deszorpciós electrospray ionizáció (DESI)**
Desorption electrospray ionization



Atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció – APCI

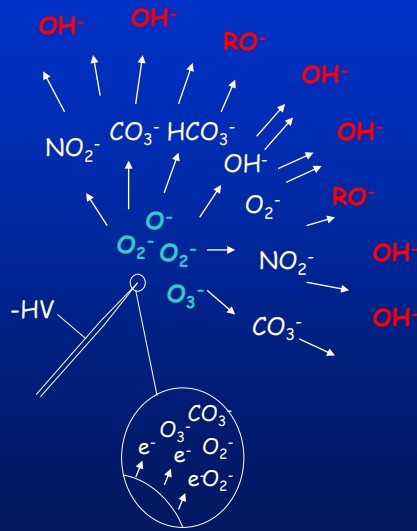


APCI: pozitív ion képződés mechanizmusa



- Az első fázisban a tú elektronokat fog be és N_2^+ , O_2^+ , H_2O^+ ... ionok (primer ionok) képződnek.
- A primer ionok rövid élettartamúak: átadják töltésüket az oldószernek, H_3O^+ , NH_4^+ , RH_2O^+ ... (reaktáns ionok) keletkeznek.
- A reaktáns ionok átadják töltésüket a vizsgálandó vegyületnek, $[M+H]^+$ képződik.

Koronakisülés: negatív ion képződés mechanizmusa



- Az első fázisban a tű elektronokat bocsát ki és O_3^- , O_2^- , NO_2^- , CO_3^- (primer ionok) képződnek.
- A primer ionok rövid élettartamúak: átadják töltésüket az oldószernek, OH^- , HCO_3^- , RO^- (reaktáns ionok) keletkeznek.
- A reaktáns ionok átadják töltésüket a vizsgálandó vegyületnek, $[M-H]^-$ képződik.

APCI LC-MS Interface előnyei és hátrányai

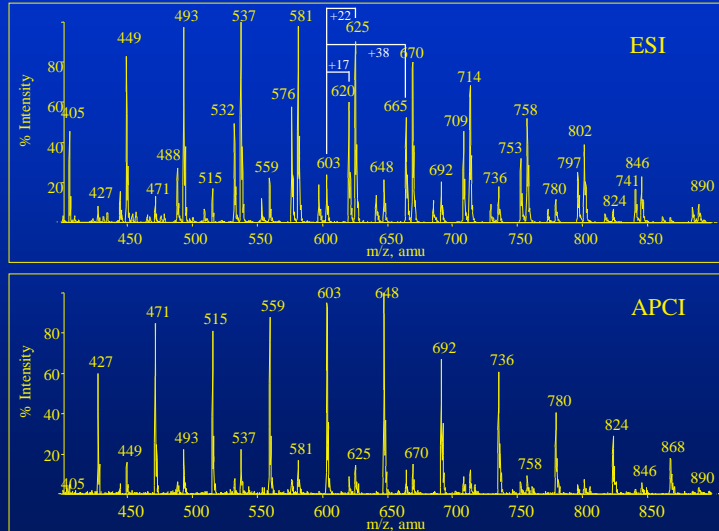
Előnyök

- ⊕ Pozitív és negatív ionok, közepesen poláros/illékony komponensek
- ⊕ Nincs nemkívánatos fragmentáció
- ⊕ Kvalitatív és kvantitatív meghatározás
- ⊕ 0,2-2 ml/perc áramlási sebesség
- ⊕ pH nem befolyásolja az ionizációt
- ⊕ Jobban tolerálja a puffereket, mint az ESI (nagyobb érzékenység)
- ⊕ Könnyű installálni és üzemeltetni
- ⊕ Egyszerűen kapcsolható HPLC-vel

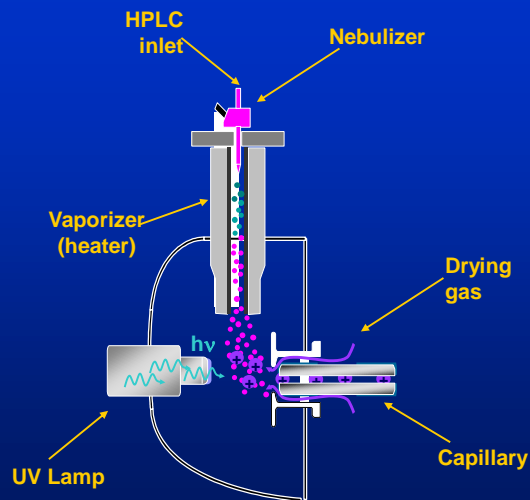
Hátrányok

- ⊖ Hőbomlás következhet be
- ⊖ Csak egyszeres töltésű ionok keletkeznek
- ⊖ Nem alkalmas apoláros molekulák vizsgálatára
- ⊖ Poláros vegyületek - ESI érzékenyebb

ESI vs. APCI



Atmoszférikus nyomású fotoionizáció (APPI)





Fotoionizáció elve

Fotoionizáció: $h\nu \geq IP$



Gerjesztés (de nincs ionizálás): $h\nu < IP$



☞ Legtöbb szerves vegyület $IP < 10 \text{ eV}$

☞ Tipikus HPLC oldószerek $IP > 10 \text{ eV}$

Milyen energiájú fotonokat érdemes választani?

Szelektív ionizálás

3 lámpa alkalmazható

Ar: 11.2 eV

Kr: 10.0 eV

Xe: 8.4 eV

Nitrogen	15.58
Water	12.62
Acetonitrile	12.20
Oxygen	12.07
Methanol	10.84
Methyl pentanoate	10.40
Hexane	10.13
Heptane	9.93
Acetone	9.70
Pyridine	9.26
Benzene	9.24
Amphetamine	8.99
Toluene	8.83
Naphthalene	8.14
Reserpine	7.88
Triethylamine	7.53

Ionizációs potenciál (eV)

"Dopant"

Az ionizáció hatékonysága növelhető ún. "dopant" molekula alkalmazásával.

Direkt fotoionizáció



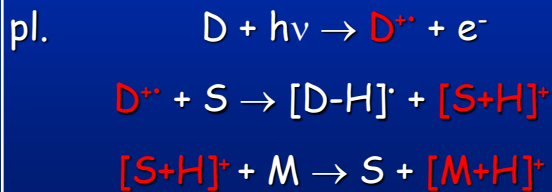
Dopant-közvetített fotoionizáció



Általánosan alkalmazott „dopant” molekulák:
toluol, aceton

Párhuzamos reakciók: protonált ionok keletkezése

Az M^+ gyökion képződése mellett protonált ionok $[M+H]^+$ is keletkeznek (domináns vagy kizárólagos is lehet):



APPI LC-MS Interface előnyei és hátrányai

Előnyök

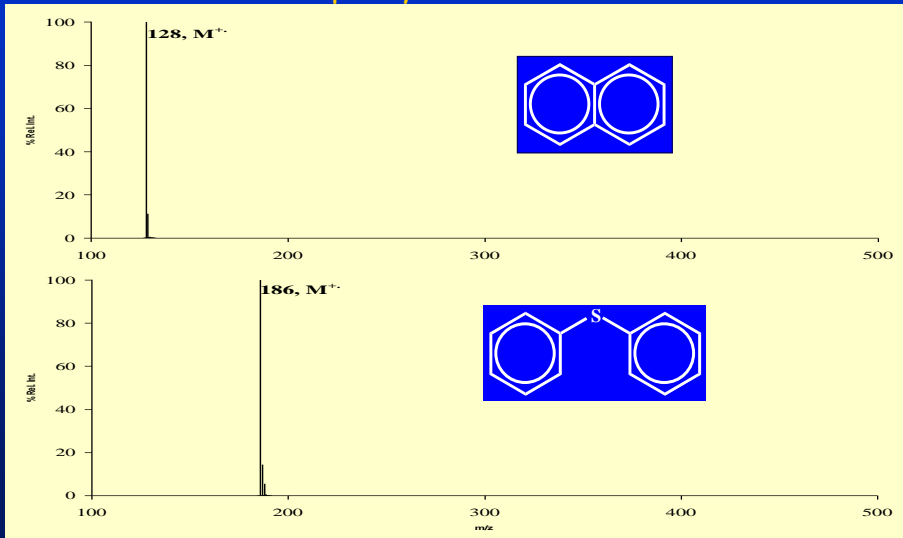
- ⊕ Pozitív és negatív ionok, apoláros komponensek
- ⊕ Molekulatömeg információ
- ⊕ Minimális háttér-interferencia, szelektív ionizáció
- ⊕ Könnyű installálni
- ⊕ Egyszerűen kapcsolható HPLC-vel
- ⊕ Kombinált ionforrások

Hátrányok

- ⊖ Kevés cikk - gyakorlati problémák??
- ⊖ Gyökion vagy protonált molekulaion?
- ⊖ Nem illékony pufferek???
- ⊖ Nem alkalmas poláros molekulák vizsgálatára

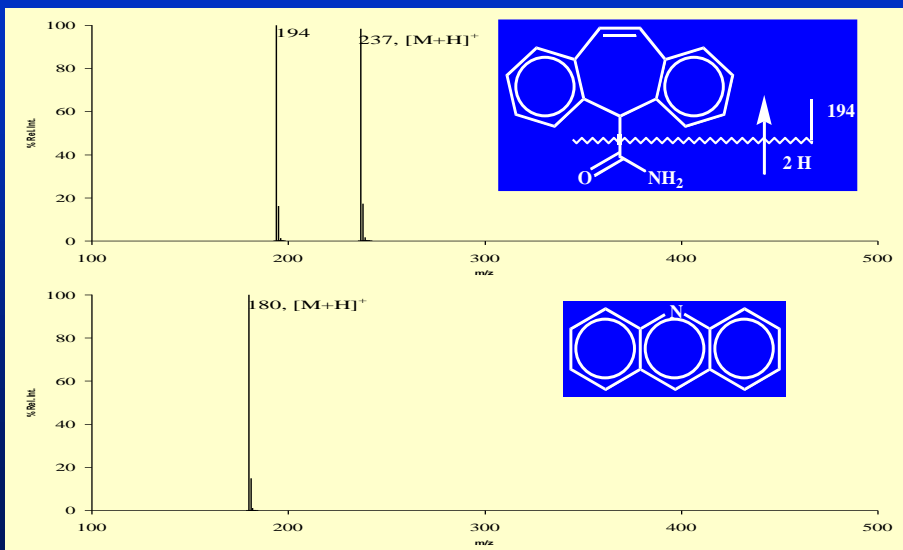
APPI példák

Naftalin és Diphenyl-Sulfide: M^+

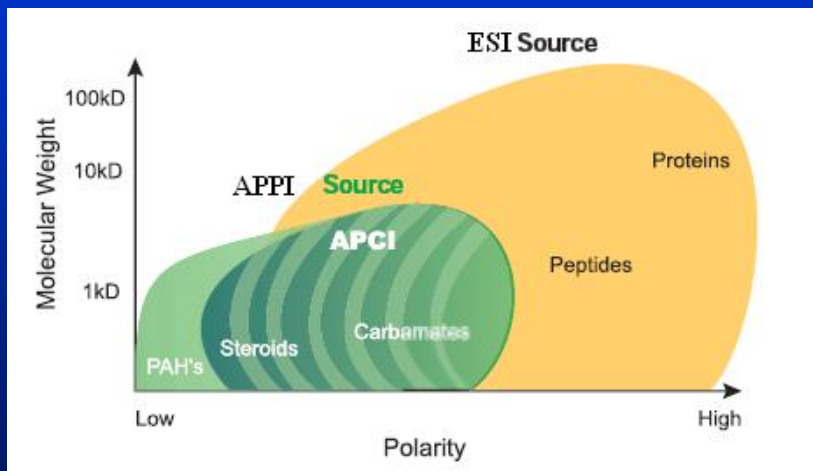


APPI példák

Carbamazepine és Acridine: $[M+H]^+$



Spray ionizációs technikák vs. alkalmazások



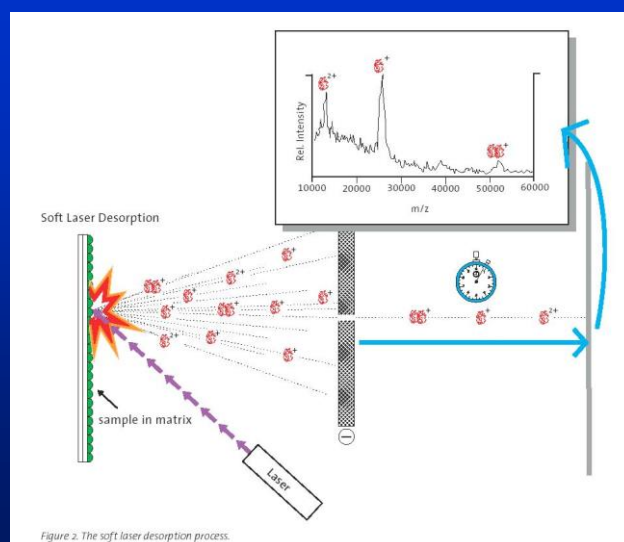
Deszorpciós ionizáció – MALDI Matrix Assisted Laser Desorption



photo PRB

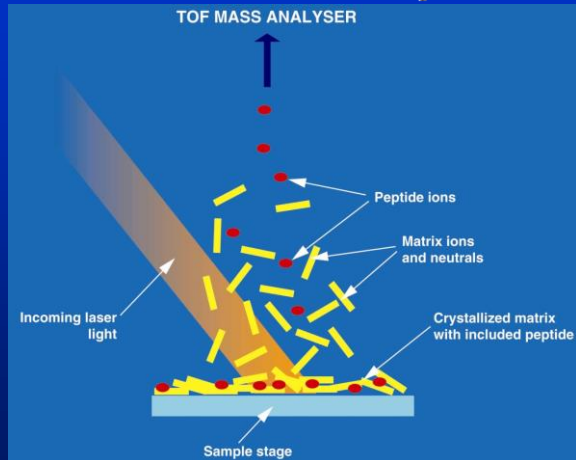
K. Tanaka

Kémiai Nobel
Díj
2002



MALDI

- Mintát UV abszorber folyadék mátrixban oldjuk (co-cristallized) **nagyon gyors helyi felmelegedés!**
- Alacsony minta koncentráció: minta/mátrix 1:100.000
- Mátrixok: **nikotin-sav, dihidrobenzoesav (DHB), hidroxifahéjsav (HCCA), stb.** segíti az ionizációt, minimális mintabomlás



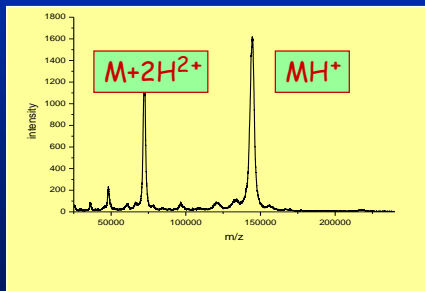
MALDI

- legérzékenyebb MS módszer, 10^{-15} - 10^{-21} mol
- pozitív és negatív ionok
- közepes és nagy tömegű molekulák vizsgálatára alkalmas ~ 3-400 - 1.000.000 Da **rutin technika**
- toleráns sószennyezésre (mmol conc.) **(ESI kevésbé)**
- alkalmas keverékek direkt analízisére
- Legnagyobb áteresztőképességű módszer - akár több minta/perc
- alap ionizációs technika peptidek és proteinek vizsgálatára
- On-line nem kapcsolható kromatográfiával
- Nagy tömegű molekulák esetén (> 30 kDa) a molekulacsúcs széles lehet (pontos tömeg - átlagtömeg?)
- Nem alkalmas mennyiségi meghatározásra



MALDI

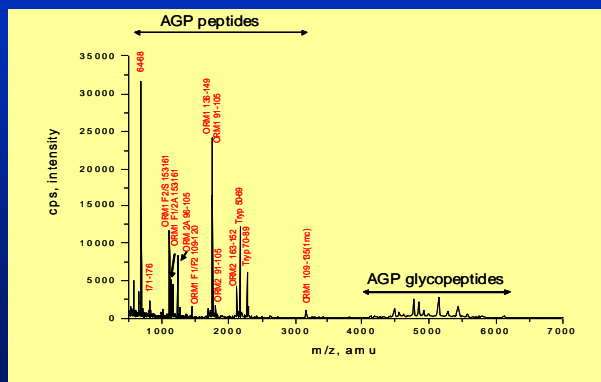
- Spektrum:
- intakt molekula
 - főként egyszeres, esetleg kétszeres töltésű ionok
 - protonált, gyakran kation addukt molekulák
pl. $(M+Na)^+$, $(M+K)^+$
 - kis mértékű fragmentáció



Intakt immunoglobulin G (IgG) spektruma

MALDI

Használható keverékek vizsgálatára:
peptidek és glikopeptidek meghatározására, ~70% szekvencia átlag

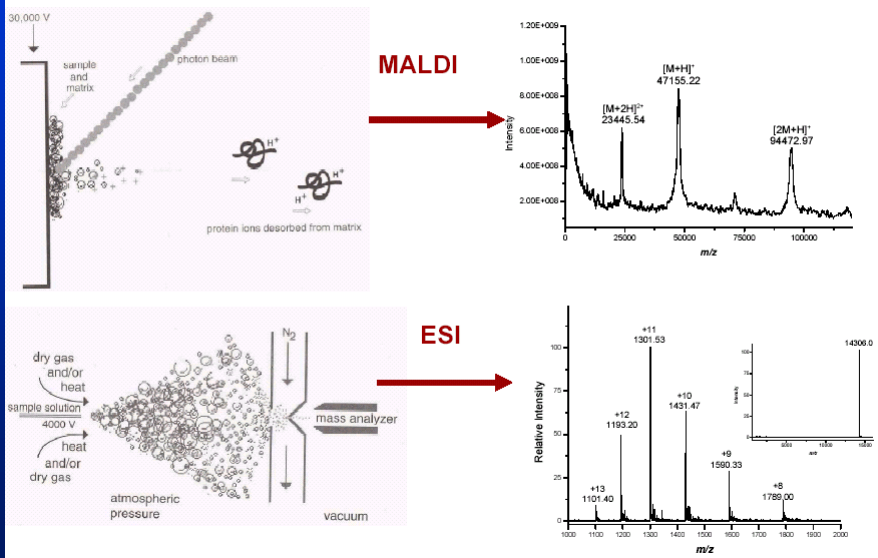


glikopeptid (AGP) triptikus emésztése

Egyéb deszorpciós ionizációs technikák

- Gyors Atom Bombázás (FAB), liquid SIMS, LSIMS
 ionizálás semleges gyors atomnyalábbal (Xe)
 a mintát folyékony mátrixban oldjuk (glicerín, NOBA, tioglicerín, stb.)
 5000 Da alatti minták vizsgálatára
 kvázi molekulaion $(M+H)^+$, $(M+Na)^+$ $(M+K)^+$
- Secondary Ion Mass Spectrometry (FIB, SIMS)
 ionizálás Cs^+ ionnyalábbal
 a mintát folyékony mátrixban oldjuk (glicerín, NOBA, tioglicerín, stb.)
 5000 Da alatti minták vizsgálatára
 kvázi molekulaion $(M+H)^+$, $(M+Na)^+$ $(M+K)^+$
 mátrix feladata: csökkenti a minta bomlását, növeli az ionok stabilitását

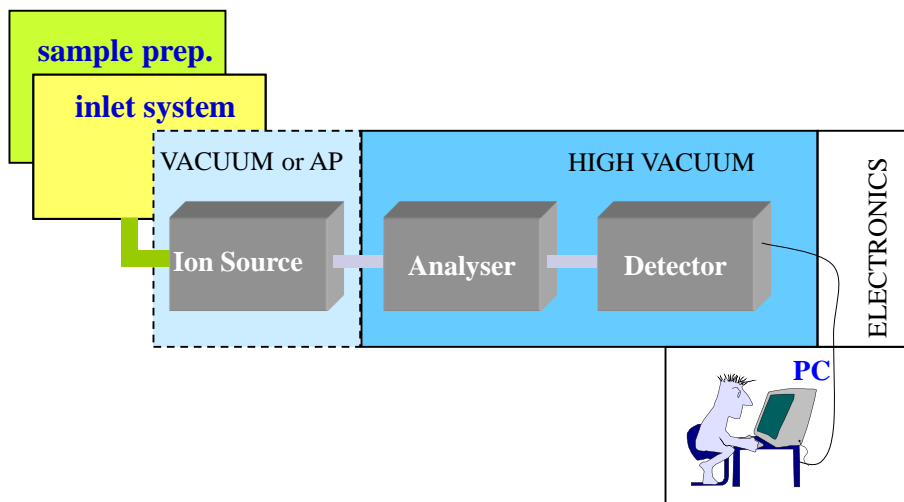
MALDI vs. ESI – Spectral Differences



Ionizációs módszerek

Ionizációs technika	Célvegyületek	Mintabevétel	Tömegtartomány	Jellemző
Elektron (ütközéses) ionizáció (EI)	viszonylag kicsi, illékony, apoláris molekulák	direkt vagy GC	1000-es molekulatömegig	Intenzív fragmentáció, fragmensek révén szerkezeti információ
Kémiai ionizáció (CI)	viszonylag kicsi, illékony, apoláris molekulák	direkt vagy GC	1000-es molekulatömegig	lágú ionizáció, molekulaion csúcs
Atmoszférikus nyomású fotoionizáció (APPI)	viszonylag kicsi, kevésbé poláris molekulák	LC vagy direkt folyadék	1000-es molekulatömegig	lágú ionizáció, de fragmensek időnként észlelhetők molekulaion csúcs vagy gyökion!!!
Atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció (APCI)	viszonylag kicsi, közepesen illékony és kevésbé poláris molekulák	LC vagy direkt folyadék	2000-es molekulatömegig	lágú ionizáció, molekulaion csúcs
Electrospray (ESI), Elektroporlasztás	nem illékony, poláris (nagy) molekulák	LC vagy direkt folyadék	200000-es molekulatömegig	lágú ionizáció, gyakoriak a többszörösen töltött ionok, adduktok
Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation (MALDI)	nem-illékony, poláris (nagy) molekulák	a minta szilárd mátrixban	500000-es molekulatömegig	lágú ionizációs módszer Nincsenek többszörösen töltött ionok

Készüléktípusok/analizátorok

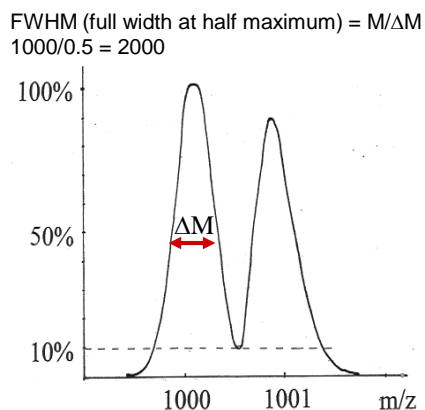
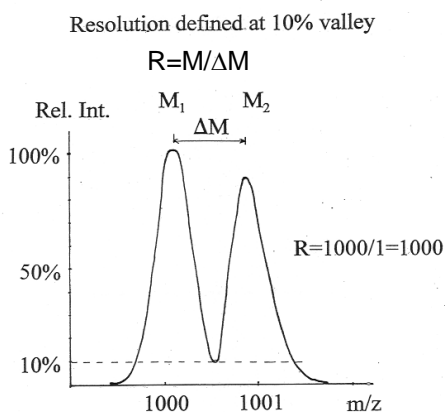


Készüléktípusok/analizátorok

- Szektor készülékek (elavult)
 - Egyszeres ill. 2x fókuszálású mágneses analizátorok
- Kvadrupól & hármaskvadrupól készülékek (leggyakoribb)
- Ioncsapda (MS^n)
- Orbitrap (nagy felbontás)
- Repülési idő (TOF, nagy felbontás)
- FT-ICR készülékek (legnagyobb felbontás)

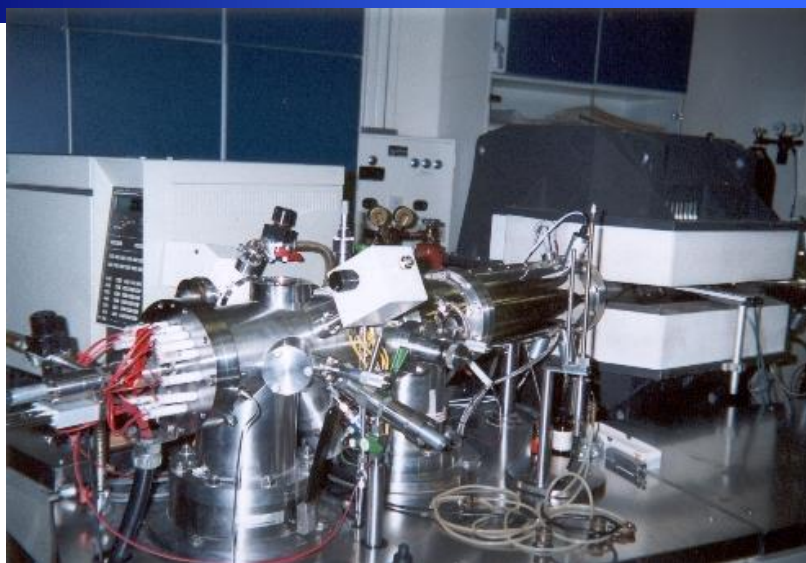
Miért van szükségünk analizátorokra?

- Ionok elválasztása megfelelő *felbontással*.
- *Felbontás:*



Szektor készülékek

- érzékenyek, nagy felbontás, ionkémiai vizsgálatok
- drágák, nehezen automatizálhatók, lassúak, elavultak, ma már nem gyakoriak (pl. dioxin vizsgálatra MSZ)

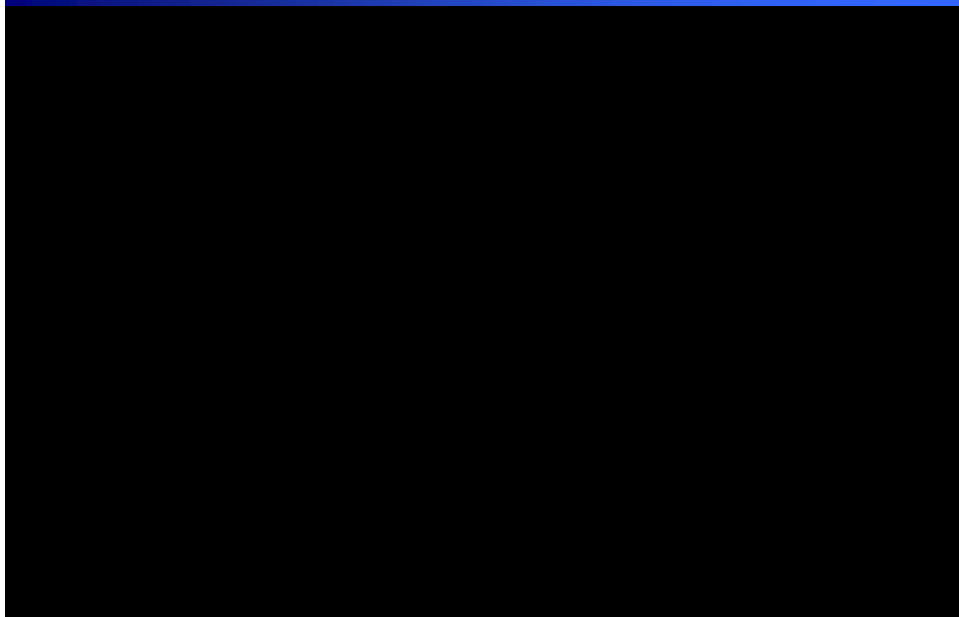


Kvadrupól készülék

- tipikus 'workhorse', MS/MS,
- tipikusan 2-3000 Da tömegtartomány
- Kvantitatív vizsgálatokra a legjobb
- egységnyi felbontás



EI Quad animation



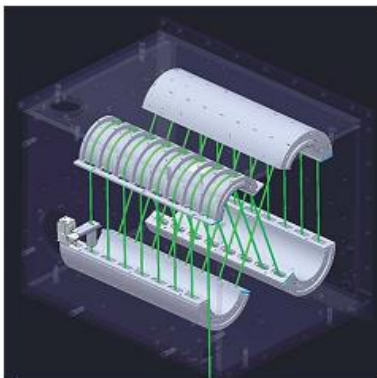
Repülési idő (TOF) készülékek



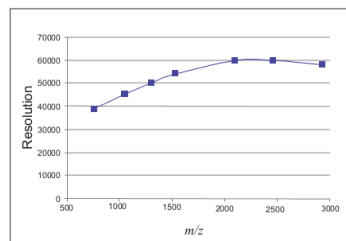
- tömegtartományuk nem limitált
- nagyfelbontás
- karbantartásuk egyszerű, olcsó
- kis dinamikus tartomány
- Működési elv:
 - m/z a repülési idővel négyzetesen arányos
 - Kis ionok gyorsabban, nagy ionok lassabban repülnek, kalibráció után tömeggel arányos
- Gyakran használják "hybrid" készülékként (QTOF, stb.)

Leghosszabb repülési úthossz

• Spiral TOF



JEOL's patented technology^{*3} achieves a spiral ion trajectory of 17 m within a compact space. The spiral ion trajectory goes through four sets of layered toroidal electric fields, which are implemented by four pairs of cylindrical electrodes and nine Matsuda plates that are incorporated with in every pair of cylindrical electrodes. Ions accelerated to 20 kV in the ion source sequentially fly through the layered toroidal electric fields to reach the detector.

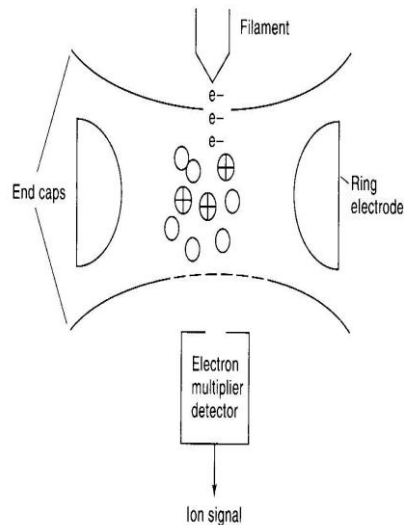


Bruker MALDI-TOF



Ion csapda

- olcsó, legérzékenyebb készülékek
- MS^n
- egységnyi vagy nagyfelbontás (csak szűk tömegtartományban)
- Végtelenített kvadrupól: három dimenziós kvadrupólus tér (nyolcas)
- **Kvantitatív vizsgálatokra csak szűk linearitási tartományban alkalmas.**
- Különböző technikai megoldások: lineáris ioncsapda, 3D ioncsapda



FT-ICR

- mágneses tér és elektrosztatikus tér : spirális pálya
- kis m/z gyorsan, körpályán mozog - körmozgás szögsebessége a tömegtől függ -feszültséget indukál- több tömeg, bonyolult jel- Fourier transzformáció
- tetszőleges ideig a cellában tarthatók az ionok - speciális vizsgálatok
- nagyfelbontás (1 millió), párhuzamos ion detektálás- nagy érzékenység
- **~high quality~** kutató készülék



Electrostatic Axially Harmonic Orbital Trapping: A High-Performance Technique of Mass Analysis

Alexander Makarov* *Anal. Chem.* 2000, 72, 1156–1162

HD Technologies Ltd., Atlas House, Simonsway, Manchester, M22 5PP, U.K.

Orbitrap

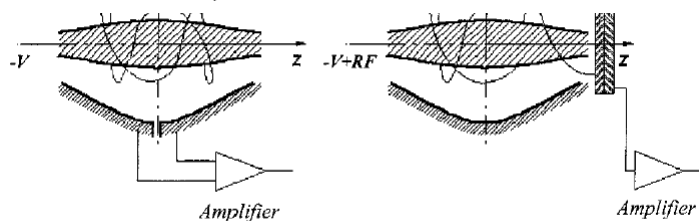


Figure 2. Modes of mass analysis in the orbitrap: (a) Fourier transform mass spectrometry (image current detection); (b) mass-selective instability (detection using secondary electron multiplier).

Hu, Q., Makarov, A., Noll, R. J., Cooks, R. G., TPG 127

Analizátorok és tulajdonságaik

Készüléktípusok:

- ✓ Qadruoles (Q, QQQ)
- ✓ Ion traps
- ✓ TOFs (TOF, QTOF)
- ✓ Orbitrap
- ✓ FT-MS (FT-ICR)

kvantitatív vizsgálat
 „workhorse” készülékek
 szerkezetfelderítés (MSⁿ)
 Pontos tömeg, széles tömegtartomány
 Csúcskészülékek, legnagyobb felbontás

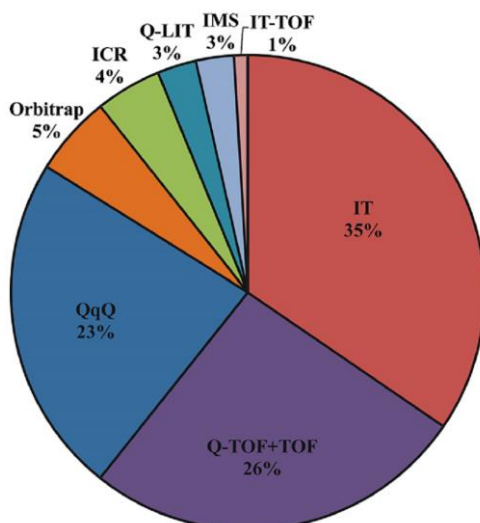
Table 2
 Common parameters of mass spectrometers used in LC-MS.

Mass analyzer type ^a	Resolving power [$\times 10^3$]	Mass accuracy (ppm)	m/z range (upper limit) [$\times 10^3$]	Acquisition speed (Hz)	Linear dynamic range	Price
Q	3-5	Low ^b	2-3	2-10	10^5-10^6	Lower
IT	4-20	Low	4-6	2-10	10^4-10^5	Moderate
TOF	10-60	1-5	10-20	10-50	10^4-10^5	Moderate
Orbitrap	100-240	1-3	4	1-5	5×10^3	Higher
ICR	750-2500	0.3-1	4-10	0.5-2	10^4	High

^a TOF, Orbitrap and ICR also include common hybrid configurations with Q or LIT as the first mass analyzer.
^b Qs with hyperbolic rods provide mass accuracies better than 5 ppm.

M. Holcapek, Journal of Chromatography A, 1259 (2012) 3-15

Relative use of instrument types in LC-MS papers (2012)



Source: Holcapek, Journal of Chromatography A, 1259 (2012) 3-15

“Hybrid” készülékek

- **Q/TOF**: érzékeny, alkalmazás orientált (nagy felbontás)
- **QTrap**: érzékeny, alkalmazás orientált (tandem MS)
- **Lineáris IonTrap-FT-ICR**: nagy érzékenység+felbontás

Micromass QTOF Premier

