

SPECTROMETRIA DE MASA

§ 1. Definiție

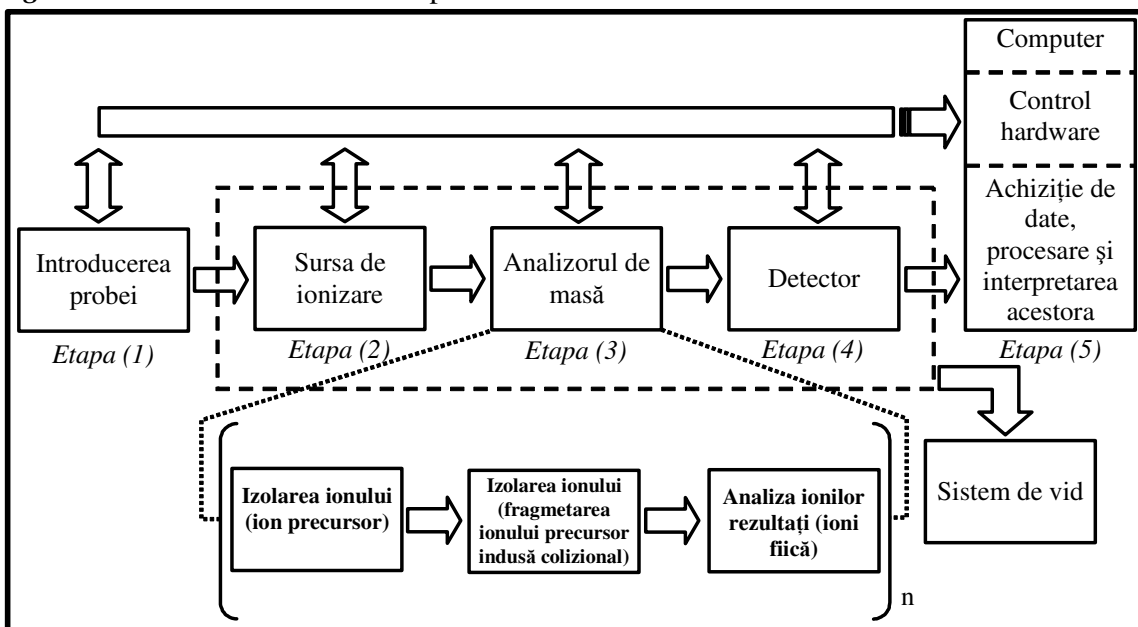
Spectrometria de masă este aceea ramură a științei având drept scop interpretarea sub aspect calitativ și cantitativ a ionilor produși în condiții controlate de către o probă supusă analizei prin intermediul spectrometrului de masă.

§2. Principiile spectrometriei de masă

Spectrometria de masă furnizează în egală măsură informație cantitativă și structurală. Inițial, moleculele substanței luate în lucru sunt fragmentate colizional. Dintre fragmentele moleculare generate în urma impactului, numai cele încărcate cu sarcină electrică (+) sau (-) vor fi considerate ulterior. Fragmentele moleculare ionizate cu sarcina electrică selectată vor fi ulterior caracterizate din punctul de vedere al raportului masă / sarcină (m/z). Informația cantitativă este produsă fie prin numărarea tuturor fragmentelor moleculare ionizate generate (sarcină + sau -), fie prin numărarea unei anumite specii de fragmente moleculare ionizate, caracterizate printr-o valoare specifică a raportului m/z , produse pe durata procesului de ionizare. Informația structurală se poate obține prin reconstrucția ipotetică a moleculei inițiale ca tot unitar, plecând de la fragmentele ionice cu masă cunoscută.

În consecință, spectrometria de masă se realizează prin următoarele operații consecutive: (1) introducerea probei; (2) ionizarea probei; (3) analiza fragmentelor moleculare ionice rezultate din punctul de vedere al rapoartelor m/z ; (4) numărarea ionilor produși / detecția propriu-zisă; (5) înregistrarea rezultatelor și interpretarea acestora. Schema de principiu a unui spectrometru de masă este redată în *Figura 1*.

Figura 1. Schema de bază a unui spectrometru de masă.



Anumite aplicații pot impune dezvoltarea etapei (3) în sensul îmbunătățirii cantității de informație care poate fi extrasă din procesul de ionizare, și în consecință, o creștere corespunzătoare a selectivității. Secvența de operații dintre parantezele drepte din figură ilustrează alternativa de mai sus.

Deoarece spectrometria de masă are ca scop caracterizarea fragmentelor moleculare ionice produse de către analit în condiții controlate, și deoarece aceste fragmente ionice pot fi încărcate cu sarcină electrică pozitivă sau cu sarcină electrică negativă, maniera de lucru în condiții reale va trebui să definească în mod univoc semnul sarcinii ionilor analizați în spectrometrul de masă (+)sau (-)MS. În

spectrometrele moderne de masă, analiza ionilor pozitivi și negativi poate fi realizată alternativ, pe durata aceluiași proces, dar niciodată într-o manieră simultană.

Va trebui de asemenea menționat faptul că formarea, separarea și caracterizarea fragmentelor ionice trebuie realizate într-un mediu lipsit de interferențe de orice natură, cu alte cuvinte, spectrometrul de masă va trebui să opereze în condiții de vacuum avansat (funcție de caracteristicile constructive ale analizorului de masă, nivelul vidului poate varia în intervalul 10^{-5} și 10^{-12} torri).

Principiile de funcționare și modalitățile practice de realizare ale spectrometriei de masă sunt detaliate în monografiile menționate ca referințe bibliografice 1 – 12.

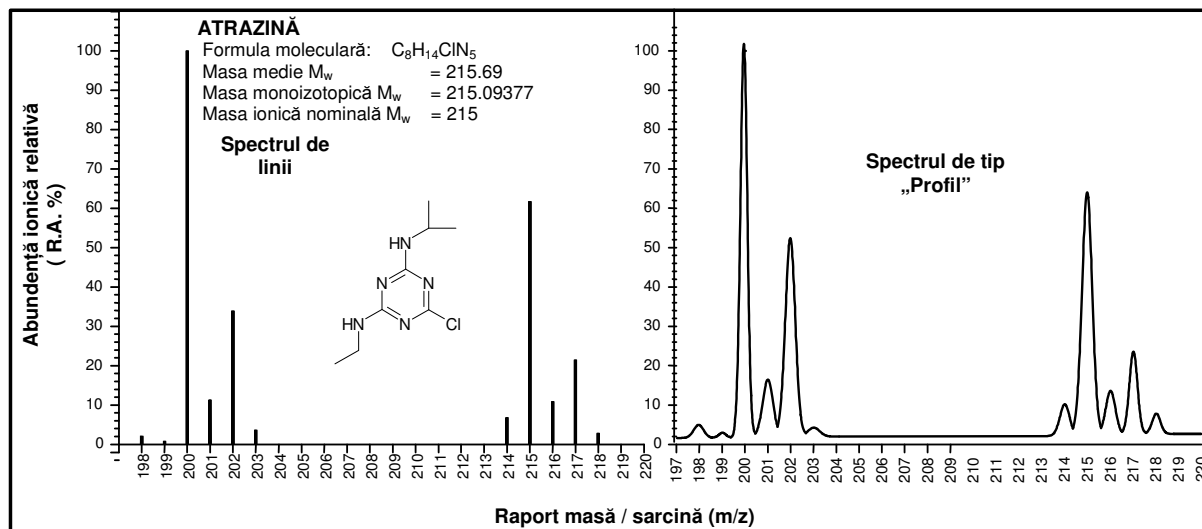
§4. Spectrul de masă

Spectrul de masă este reprezentarea bidimensională a abundențelor individuale ale fragmentelor moleculare ionice generate în procesul de ionizare în funcție de rapoartele masă/sarcină corespunzătoare. Fragmentele ionice sunt produse în etapa de ionizare a unei probe ce poate reprezenta un compus pur sau un amestec de componenți individuali.

Masa ionilor poate fi descrisă în următoarele trei moduri distincte: (1) *masa medie* a ionului reprezentând suma maselor medii ale atomilor ce îl formează, masele atomice medii sunt calculate ca și medie ponderată a maselor izotopice, prin raportarea la distribuția lor în natură; (2) *masa monoizotopică* a ionului, reprezintă suma maselor atomice exacte corespunzătoare celor mai abundenți izotopi naturali ai atomilor ce intră în compoziția ionului respectiv; (3) *masa ionică nominală* reprezintă suma maselor celor mai abundenți izotopi naturali ai atomilor care intră în compoziția ionului în cauză, exprimată ca număr întreg. Masele ionice se vor exprima în Daltoni (Da). z reprezintă numărul total de sarcini acumulate de fragmentul molecular ionic în cauză, exprimat în unități elementare de sarcină (e).

În **Figura 2** este prezentat un detaliu din spectru de masă al atrazinei (intervalul cuprins între 197 și 220 Da). Maniera de prezentare de tip Profil spectral presupune o rezoluție dată, caracteristică pentru analizorul de masă utilizat, pe când maniera de reprezentare de tip linie spectrală reprezintă un mod idealizat, prin care sunt figurate intensitățile doar pentru valorile întregi ale rapoartelor m/z . Ionul cu cea mai mare abundență în spectrul de masă se va numi *ionul major* (este acel ion care se formează cu probabilitatea cea mai mare). Raportarea abundențelor individuale a tuturor celorlalți ioni la abundența ionului major va conduce la măsurători de abundență relativă (RA%) în lungul axei Oy . Ionul molecular este ionul produs de către moleculele analitului prin îndepărtarea sau captura unuia sau mai multor electroni.

Figura 2. Spectrul de masă al atrazinei (detaliu).



§ 4. Sistemul de introducere a probelor în spectrometrul de masă

Probele de interes pot fi aduse în zona de ionizare atât în fază gazoasă cât și în fază condensată (lichidă sau solidă). Probele supuse analizei prin spectrometria de masă pot fi în egală măsură de natură organică sau anorganică. De cele mai multe ori, probele de natură organică sunt supuse analizei prin spectrometrie de masă pentru a obține informația structurală sau confirmarea acesteia, de cele mai multe ori plecând de la cantități extrem de reduse. În cazul în care informația structurală reprezintă scopul declarat, ionizarea simultană a mai multor specii moleculare este de dorit a fi evitată. Rezultă deci necesitatea separării compușilor individuali din amestecurile multicomponent înainte de analiza lor prin spectrometrie de masă. Toate tehnicile de separare (cromatografia în strat subțire, cromatografia de gaze, cromatografia de lichide, cromatografia de fluide în stare supercritică, cromatografia electrocapilară, cromatografia electrocinetică micelară – tehnica de imobilizare a miceliilor și electroforeza capilară) au fost cuplate cu succes la spectrometrele de masă, în mod direct sau prin intermediul unor interfețe specializate. Pentru probele de natură anorganică, informația produsă de spectrometria de masă, se referă la indentificarea și determinarea calitativă a atomilor, inclusiv a ponderilor naturale izotopice asociate. În asemenea cazuri, introducerea probei nu necesită o structură/construcție specială, doar modalitățile practice de ionizare sunt mult mai complexe (bombardarea cu ioni accelerați, plasmă cuplată inductiv, etc.)

§ 5. Modalități de ionizare în spectrometria de masă

§ 5.1. Ionizarea în fază gazoasă

§ 5.1.1. Ionizarea prin impact electronic (EI)

Ionizarea prin impact electronic presupune coliziunea moleculelor analitului de interes aduse în stare gazoasă cu un flux focalizat de electroni accelerați, în zona de ionizare. Procesul de ionizare se produce după următoarele mecanisme:



M = molecula probă; A, B, C, D = fragmente moleculare; p = primar; s = secundar; * = stare activată de energie; • = electron neîmperecheat

Condiția necesară și suficientă pentru ca un electron primar să ionizeze molecula analitului este să posedă o energie cinetică cel puțin egală cu potențialul de ionizare al acesteia ($E_{e_p^-} \geq (I.P.)_M$). Un surplus de energie va fi necesar și pentru producerea de fragmente moleculare (reacțiile 3, 4, 7, 8). Când potențialul de ionizare a moleculelor organice se situează în intervalul 8 – 12 eV, rezultă în mod evident că o energie a electronului primar mai mare de 15 eV ar putea asigura atât ionizarea moleculelor țintă cât și fragmentarea acestora.

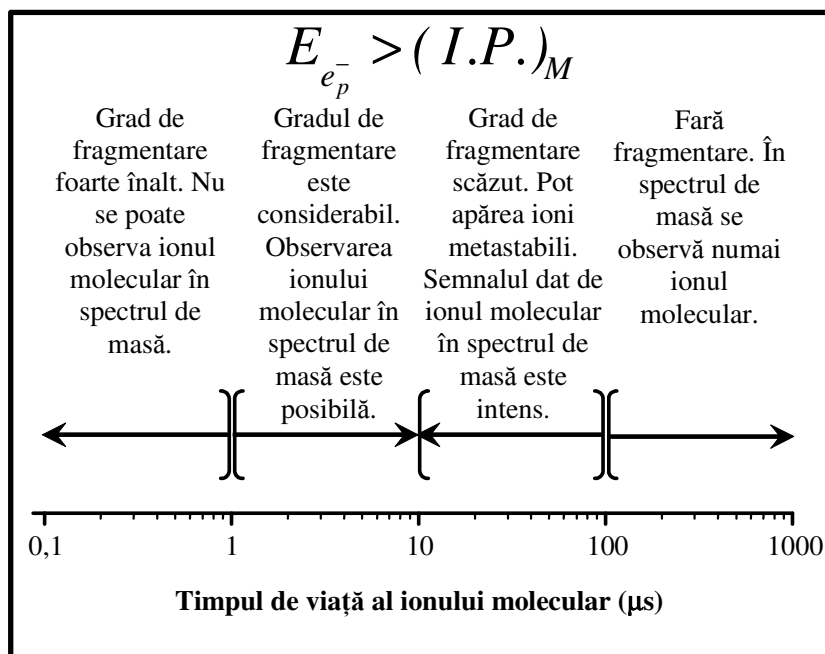
Alegerea unei valori standardizate $E_{e_p^-} = 70 \text{ eV}$ pentru energia cinetică a electronilor primari este justificată prin faptul că această valoare reprezintă cea mai scăzută de energie care generează variații minime ale randamentului de ionizare.

În spectrul de masă, apar trei tipuri de specii ionice: ioni moleculari, fragmente moleculare ionice produse în zona de ionizare, precum și ioni metastabili (produși prin descompunerea ionilor moleculari, după ce aceștia părăsesc zona de ionizare).

Rezistența ionilor în zona de ionizare se înscrie în intervalul $10^{-6} \div 5 \times 10^{-6}$ secunde, pe când timpul necesar acestor ioni pentru a străbate analizorul de masă este cu mult mai mare (aproximativ 10^{-5} secunde).

Figura 3 ilustrează relația dintre durata de viață a ionului molecular și spectrul de masă rezultat. O informație structurală consistentă se poate obține doar dacă atât ionul molecular cât și fragmentele moleculare ionice prezintă abundențe semnificative în spectrul de masă. Pentru speciile chimice care generează ioni moleculari caracterizați prin durată de viață extrem de redusă, găsirea unui mijloc de a reduce energia de ionizare reprezintă unica soluție palpabilă de adoptat, atâta timp cât observarea acestora este considerată ca importantă. Reducerea energiei electronului primar nu este totuși recomandată atâta timp cât randamentul de formare al ionilor și reproductibilitatea procesului sunt puternic afectate.

Figura 3. Corelația între timpul de viață al ionului molecular și caracteristicile spectrului de masă.



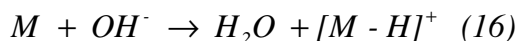
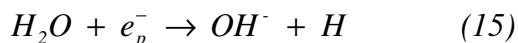
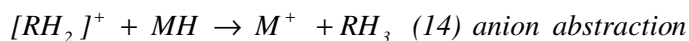
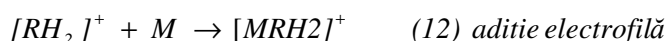
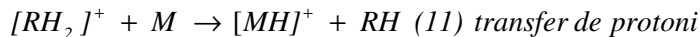
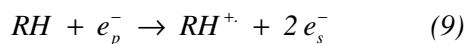
Avantajele majore ale ionizării prin impact electronic sunt reproductibilitatea, o manieră simplă de operare și control a intensității fasciculului, risc redus de contaminare a probei, o sensibilitate bună și nu în ultimul rând, generarea unor spectre identificabile prin compararea cu bibliotecile spectrale.

§ 5.1.2. Ionizarea chimică (CI)

Ionizarea chimică reprezintă maniera de ionizare a moleculelor de analit ca urmare a coliziunii lor cu alți ioni produși prin impactul cu electroni ale moleculelor unui gaz de reacție, introduse direct în sursa de ionizare. Existența moleculelor de gaz de reacție în mare exces în raport cu moleculele analitului de interes (10000:1) impune o creștere substanțială a energiei electronilor primari (500 eV). Ionizarea chimică este cunoscută și sub denumirea de “ionizare blândă” deoarece transferul energetic rezultat între ionii gazului de reacție și moleculele analitului nu depășește 5 eV. Producții rezultați în urma ionizării chimice prezintă o stabilitate mai bună din cauza stării electronice de dublet (prin comparație cu starea electronică de singlet - electron impar - care rezultă pentru ionii produși prin impact electronic). Interacțiunile posibile pe durata ionizării chimice sunt ilustrate mai jos:

Ionizare (+)

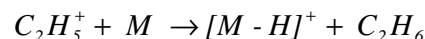
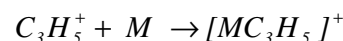
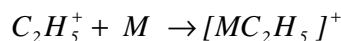
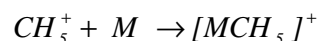
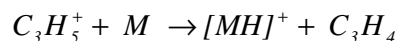
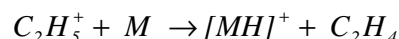
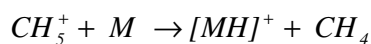
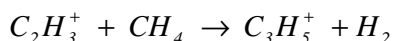
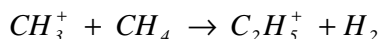
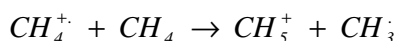
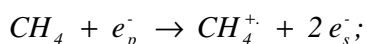
Ionizare (-)



RH = gaz de reacție; RH_2^+ = ion de reacție; M sau MH = moleculă țintă; p = primar; s = secundar:

• = electron impar

Interacțiunile care pot avea loc în sursa de ioni sunt exemplificate pentru cazul în care drept gaz de reacție se folosește metanul:

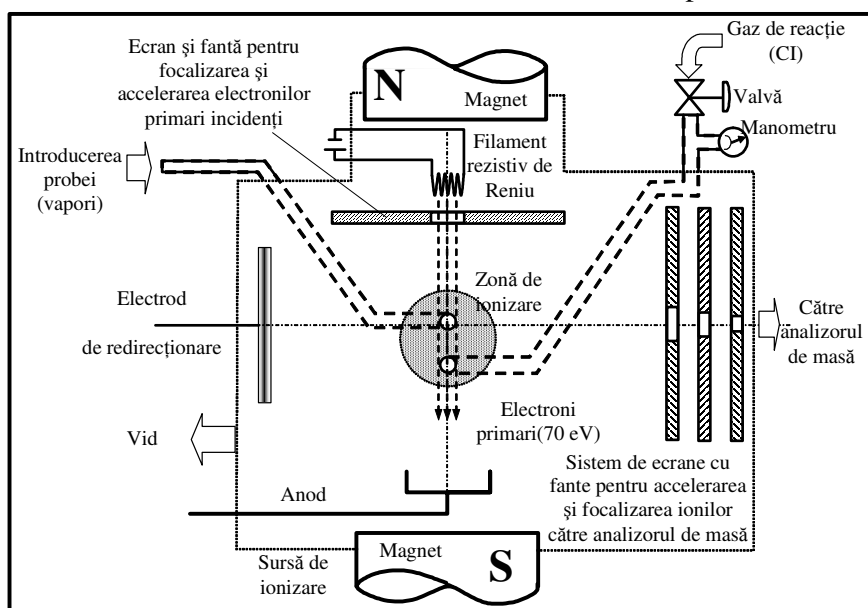


Următoarele substanțe sunt folosite în mod curent ca și gaze de reacție (ionii acestora sunt menționați între paranteze): H_2 (H_3^+); CH_4 (CH_5^+); C_2H_6 ($C_2H_7^+$); H_2O (H_3O^+); CH_3OH ($CH_3OH_2^+$); CH_3CN (CH_3CNH^+); NH_3 (NH_4^+); CH_3NH_2 ($CH_3NH_3^+$); $H_2NCH_2CH_2NH_2$ ($H_2NCH_2CH_2NH_3^+$). Pentru ionizarea chimică în manieră negativă următoarele substanțe sunt utilizate ca și gaze de reacție (ionii acestora sunt menționați între paranteze): NH_3 (NH_2^-); N_2O amestecat cu CH_4 ; $CH_4 + He$; $H_2 + He$ (OH^-); N_2O sau amestecat cu N_2 (O^-); NF_3 (F^-); CHF_3 (F^-); O_2 (O_2^-); CH_2Br_2 (Br^-); CH_2Cl_2 (Cl^-); $CHCl_3$ (Cl^-); CF_2Cl_2 (Cl^-).

Avantajele modului de ionizare chimică sunt: ionizare blândă, posibilități multiple de confirmare a masei moleculare a analitului datorită unei game extrem de variate de interacții respectiv modalități de producere a ionilor, o acțiune selectivă sau universală, depinzând de natura gazului de reacție, formarea relativ ușoară a ionilor negativi, permițând evaluări structurale și termochimice.

Atât ionizarea prin impact electronic cât și ionizarea chimică se pot realiza în surse de ionizare având construcții foarte asemănătoare așa cum se prezintă în **Figura 4**.

Figura 4. Schema constructivă a unei surse de ionizare utilizate pentru EI sau CI.



Electronii produși prin încălzirea filamentului de Reniu sunt focalizați și accelerați datorită polilor magnetului, anodului și a ecranului de focalizare / accelerare. Fascicolul de electroni intră în coliziune cu moleculele de analit (sau moleculele de gaz reactiv) în aria de ionizare. Modul de alimentare cu gaz reactiv include un robinet de control al debitului și un manometru. În acest mod, se poate în fapt controla numărul ionilor formați în interiorul sursei. Electrodele de redirectionare este utilizat pentru eliminarea ionilor al căror transfer către analizorul de masă nu este dorit (electrodul va fi încărcat cu sarcină pozitivă în cazul în care se dorește eliminarea ionilor negativi formați prin ruperea moleculelor de analit și va fi încărcat cu sarcină negativă în cazul în care ioni care trebuie înlăturați au sarcini pozitive). Sistemul de ecrane ajută la focalizarea și accelerarea ionilor formați în zona de ionizare spre analizorul de masă (ecranele sunt încărcate cu voltaje crescătoare de semn opus ionilor care se dorec a fi analizați). Întreaga sursă de ionizare este vacuumată corespunzător prin intermediul pompelor turbomoleculare sau de difuzie.

§ 5.1.2. Ionizarea în câmp (FI)

Prin metoda de ionizare în câmp, moleculele analitului în stare gazoasă sunt aduse în vecinătatea unei suprafețe curbe (cum ar fi de pildă vârfuri sau lame) supuse unui câmp electric intens ($10^7 \div 10^8 \text{ V} \times \text{cm}^{-1}$). Moleculele analitului vor fi ionizate datorită efectului de tunel cuantic al electronilor de valență către suprafața metalică. Această modalitate de ionizare trebuie considerată ca o "ionizare blândă", având drept neajuns major un randament relativ scăzut.

§ 5.2. Ionizarea din faze condensate

§ 5.2.1. Faza lichidă

§ 5.2.1.1. Bombardarea cu atomi rapizi (FAB)

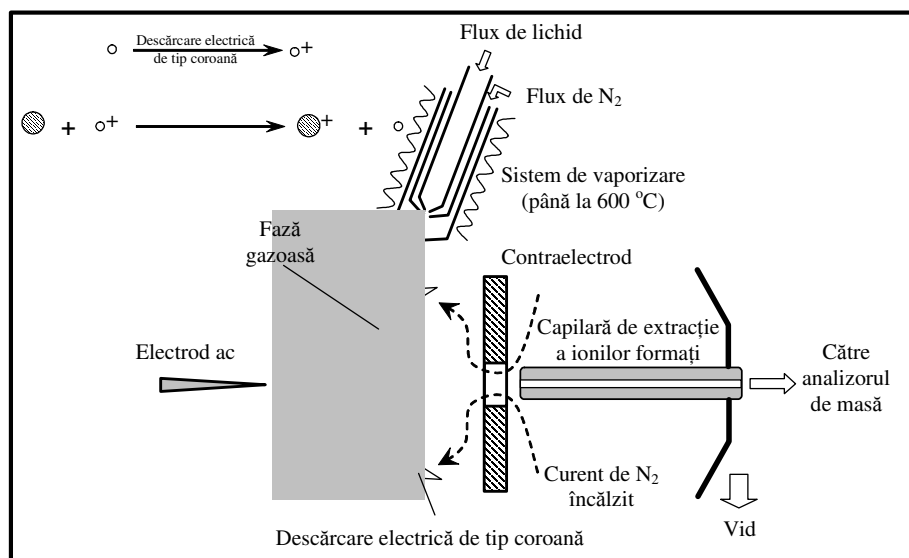
Moleculele analitului de interes sunt dispersate într-un mediu lichid cu volabilitate redusă, la nivelul unei suprafețe solide poroase și sunt supuse coliziunii (bombardării) cu atomi sau ioni caracterizați prin energii cinetice mari (domeniul keV). Utilizarea atomilor de Xe sau a ionilor de Cs conduce la obținerea unor spectre foarte asemănătoare. În zona din imediata apropiere a suprafețelor solide poroase, molecula de analit interacționează într-o manieră foarte asemănătoare cu ionizarea chimică, prin producerea speciilor $[M+H]^+$ sau $[M-H]^-$. Cel mai frecvent utilizat mediu lichid de

dispersie este glicerina. FAB este aplicabilă moleculelor polare cu masă moleculară inferioară valorii de 20,000 Da. Dacă ionii de energie mare înlocuiesc atomii, tehnica de ionizare este cunoscută și sub denumirea LSIMS (spectrometria de masă a ionilor secundari generați din fază lichidă).

§ 5.2.1.2. Ionizarea chimică la presiune atmosferică (APCI)

Un flux de lichid conținând moleculele analitului de interes este pompat printr-un sistem de vaporizare. Jetul de vapori rezultat conținând deasemenea picături de lichid (aflate în continuă evaporare sub influența căldurii) va fi orientat către zona de descărcare. Descărcarea electrică generată este de tip coroană și se realizează între vârful ascuțit al unui ac și un contraelectrod discooidal, menținut la un potențial de 1 – 4 kV. Descărcarea electrică ionizează moleculele de solvent existente în stare gazoasă. O serie de coliziuni și reacții cu transfer de sarcină între ionii generați de solvent și moleculele de analit, conduce în final la ionizarea acestora din urmă. Generarea ionilor moleculari protonați sau deprotonați $[M+H]^+$; $[M-H]^-$ este în consecință posibilă. Ionii rezultați sunt extrași către analizorul de masă prin intermediul unui tub capilar. Maniera de ionizare chimică la presiune atmosferică este reprezentată schematic în **Figura 5** (construcție ortogonală).

Figura 5. Sursa de ionizare chimică la presiune atmosferică (construcție ortogonală).



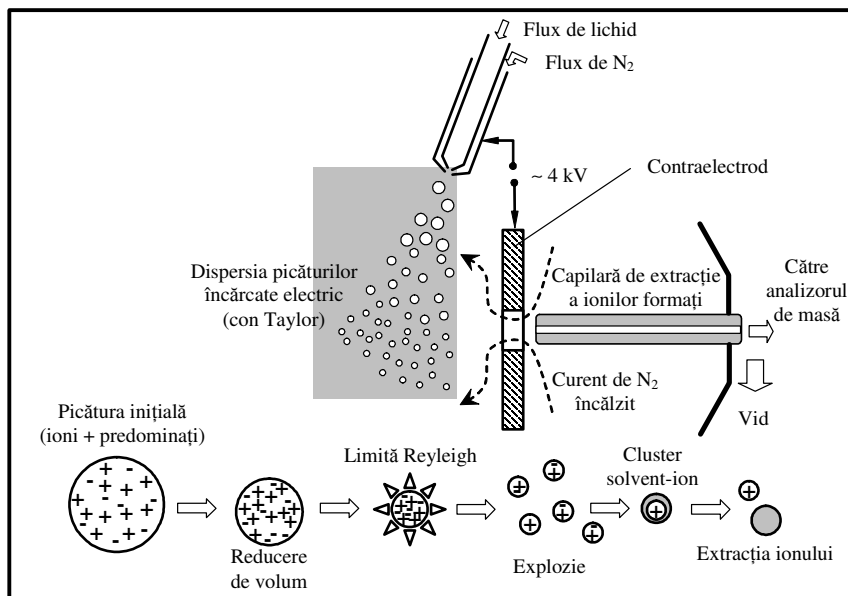
Ionizarea chimică la presiune atmosferică se poate utiliza pentru o gamă destul de largă a polarității moleculelor de interes și tolerează relativ bine sărurile nevolatice sau tamponii anorganici din lichidul purtător. Cu toate acestea ionizarea chimică la presiune atmosferică se folosește cu predilecție pentru compușii apolari. Maniera de ionizare nu este prea mult influențată de interacțiile în soluție ale moleculelor de analit (prin intermediul fazei purtătoare). Ionizarea chimică la presiune atmosferică nu se poate utiliza în cazul compușilor cu labilitate termică și doar foarte rar poate genera ioni cu sarcină multiplă. Precursorul sistemului de ionizare APCI este cunoscut și sub denumirea de termospray (TSP). Varianta termospray nu a cunoscut niciodată o aplicabilitate prea largă la analize de serie și cu timpul a fost total înlocuită de APCI.

§ 5.2.1.3. Ionizarea de tip electrospray (ESI sau AP-ESI)

Un flux de lichid conținând moleculele analitului de interes este amestecat cu azot și forțat să treacă printr-un tub capilar din oțel inoxidabil menținut la un potențial de 3-4 kV. Se formează astfel un con de detenție (cunoscut sub denumirea de con Taylor) conținând picături de lichid suspendate în fază

gazoasă. În contra curent se va aplica un flux de azot încălzit, care determină micșorarea continuă a volumului picăturilor. Acest proces are ca rezultat o creștere substanțială a densității câmpului electric pe suprafața picăturii până în momentul în care se atinge limita Reyleigh. Ionii rezultați sunt extrași din picături și orientați prin intermediul unui tub capilar către analizorul de masă. Principiul de funcționare al ESI este ilustrat în **Figura 6**.

Figura 6. Schema de funcționare a unei surse de ionizare de tip AP-ESI.



Maniera de ionizare de tip electrospray reprezintă cea mai blândă tehnică de ionizare cunoscută. Este destinată compușilor polari, chiar și în cazul unui caracter relativ nevolații al acestora. Ionii sunt ejectați din picăturile încărcate cu sarcină sub formă protonată $[M+H]^+$ sau deprotonată $[M-H]^-$. Randamentul de ionizare este puternic influențat de chimia în soluție a analitului situat în fluxul purtător. ESI acceptă cu greu sărurile nevolații și tampoane anorganice. Poate genera ușor ioni cu sarcină multiplă, motiv pentru care este des utilizată la caracterizarea compușilor cu mase moleculare mari.

Sursa de ionizare de tip electrospray poate fi relativ ușor miniaturizată. Nanosprayul și Rețeaua de Surse Electrospray pot ameliora în manieră considerabilă creșterea eficienței în prelucrarea probelor. Realizarea la nivel micro a proceselor de preparare, concentrare și separare a probelor este astfel mult înlesnită.

Manierele de lucru în sistem tandem APCI / AP-ESI au fost de asemenea testate, conducând la o înaltă sensibilitate a determinărilor și la o viteză crescută de procesare a datelor.

§ 5.2.1.4 Ionizare multifotonică (MPI)

Moleculele analitului de interes sunt dispersate într-un flux lichid, care amestecat cu azot, generează efectul de spray. Atât moleculele de solvent cât și cele de analit sunt vaporizate apoi într-un tub de cuarț și sunt transferate în zona de iradiere. Fotoionizarea directă a moleculelor analitului de interes este din punct de vedere statistic puțin probabilă, ceea ce ar conduce la randamente de ionizare reduse. Introducerea în fluxul de azot utilizat pentru sprayere a unui dopant poate avea repercusiuni importante asupra randamentului de ionizare. Moleculele dopantului sunt cele care ionizează primele, iar mai apoi ionii respectivi interacționează cu moleculele analitului.

Utilizarea unui laser acordabil emițând în regim pulsant poate conduce la o creștere substanțială a

randamentului de ionizare. Vor trebui considerate cel puțin două etape distincte: 1. fotoni de tip n vor excita în mod coerent moleculele analitului de interes, aducându-le pe un nivel electronic intermediar (proces de rezonanță); 2. iradierea secvențială a acestor intermediari cu fotoni de tip m care conduce la ionizare.

Prin creșterea puterii (intensității) radiației laser este posibil să se controleze procesul de ionizare, plecând de la un proces blând și ajungându-se, dacă se dorește, la o fragmentare moleculară avansată.

§ 5.2.2. Faza solidă

§ 5.2.2.1 Ionizarea prin desorbție din matrice asistată Laser (MALDI)

Proba se amestecă inițial cu o matrice lichidă (de exemplu acid sinapinic) aleasă tocmai datorită proprietăților sale de a absorbi și a disipa energia transferată de fasciculul laser. Raportul molar analit matrice este un parametru operațional important de care analistul trebuie să țină seama. Odată preparată proba aceasta se va transfera la nivelul unei suprafețe solide. Caracteristicile acestei suprafețe și geometria sa trebuie de asemenea să fie considerate ca influențând rezultatul analizei. După aplicare, atât proba cât și matricea sunt convertite la o fază condensată (solidă) prin evaporare sub flux de gaz sau vacuum. Astfel, apare fenomenul de co-cristalizare a probei cu matricea. Variația de dimensiune și de distribuție spațială a clusterilor sunt fenomene ce pot apărea frecvent la nivelul suprafeței de depunere. Instrumentele moderne încorporează un dispozitiv microscopic permițând în egală măsură mișcarea probei, pentru a se permite astfel selectarea acelor cristale care să fie ulterior supuse excitării Laser. Selectarea zonei de impact (“sweet spots”) poate fi urmărită cu ajutorul unei camere digitale.

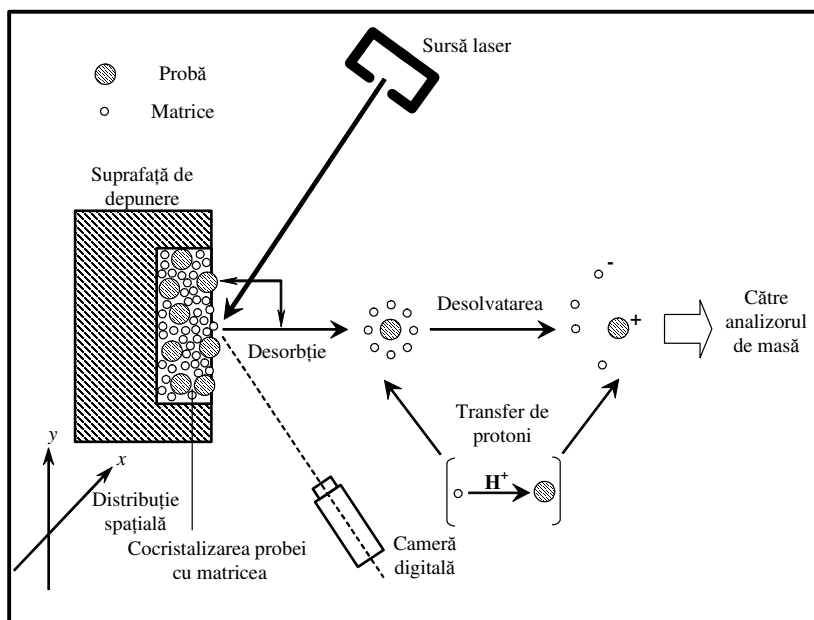
Fasciculul modulat de laser generează un volum de particule ejectate din suprafața solidă, conținând ioni și molecule neutre apăsându-se în egală măsură matricei și analitului. Acest volum este în continuă expansiune (cu viteze supersonice) plecând de la suprafața probei în unghi drept. Laserele UV sunt cele mai folosite (N_2 la 337 nm sau Nd-YAG). Laserele IR (CO_2 sau Er-YAG) sunt utilizate pentru situații cu totul speciale. Durata unui puls este de 1 la 10 ns și suprafața de impact este de circa 0.01 mm². Excitarea laser este repetată la intervale determinate de timp (frecvența este de circa o excitare pe secundă - 1 Hz). Frecvența de excitare va trebui aleasă în acord cu tipul de analizor de masă utilizat. Analizoare ale timpului de zbor (TOF) și cele de tip Rezonanță Ionică Ciclotronică – varianta Fourier Transform sunt cele mai frecvent cuplate la sursa de ionizare MALDI.

MALDI reprezintă o manieră de ionizare blândă, având tendința de a produce ioni încărcăți cu o singură sarcină electrică. Ambele moduri de ionizare (+) și (-) pot fi realizate, deși maniera (+) este de departe cea mai comună. Urmărirea ionilor negativi este însă des utilizată în analiza acizilor nucleici. În mod normal, MALDI nu produce fragmentare moleculară. Studiile biochimice de investigare structurală utilizând MALDI vor presupune în consecință fragmentarea moleculei precursor pe cale enzimatică sau chimică, înainte de ionizarea propriu zisă. Aplicațiile MALDI acoperă domenii de interes extrem de variate, plecând de la identificarea aditivilor în industria alimentară și caracterizarea compușilor macromoleculari în analiza de mediu (corelarea datelor analitice cu structura și impactul asupra mediului). Sursa de ionizare MALDI este prezentată în *Figura 7*.

§ 5.2.2.2 Ionizarea cu fragmente rezultate din fisiune sau Ionizarea prin desorbție din plasma (PDI)

Moleculele analitului de interes sunt depuse pe o suprafață de Ni (foiță subțire). Pulsuri cu fragmente de fisiune ale izotopului ²⁵²Cf vor fi orientate și focalizate asupra probei. Șocul termic va avea ca rezultat vaporizarea ionilor mobili (H^+ , Na^+ , și H). Ioni astfel produși vor interacționa cu moleculele de probă, imediat după șocul termic, transformându-le în ioni. PDI poate fi aplicată la studiul structural al moleculelor mari (până la 50.000 Da). Depunerile pe film de nitroceluloză conduc în egală măsură la formarea de ioni cu sarcină egală cu unitatea cât și la ioni cu sarcini multiple. PDI este considerat a fi ca un precursor MALDI.

Figura 7. Sursă de ionizare MALDI.



§ 5.2.2.3 Depunerea în câmp (FD)

Foarte similară cu FI (vezi § 5.1.2.), o astfel de tehnică necesită depunerea moleculelor probei pe suprafețe cu geometrie curbă supusă unor câmpuri electrice foarte intense.

§ 5.2.2.4 Spectrometria de masă a ionilor secundari (SIMS)

Un flux de ioni (monoatomici sau poliatomici, pozitivi sau negativi, provenind de la gazele inerte sau de la elemente cu accentuat caracter pozitiv / negativ) colidează proba depusă pe o suprafață metalică. Ionii secundari produși prin ejecția din suprafața probei vor fi apoi colectați și analizați. Această tehnică poate opera atât cu probe de natură organică cât și anorganică. În primul caz, sunt formați ioni moleculari și aduși cu sodiu. Imagistica la nivelul suprafeței (SIMS static) cât și harta tridimensională de distribuție (SIMS dinamic) a ionilor țintă sunt posibile. Natura ionilor primari aleși poate determina pe cei secundari transferați în analizorul de masă. Teoriile cinetică și de chemosorbție explică ejecția diferiților ioni din probă, plecând de la natura și proprietățile ionilor primari.

§ 5.2.2.5 Plasma cuplată inductiv (ICP) [107-112]

Probele lichide sau solide conținând material de natură organică sau anorganică sunt dispersate într-un flux de Argon și introduse într-o torță de plasmă. Temperatura în jur de 8000 °K a torței produce atomizarea probei dar și ionizarea atomilor rezultați. Randamente de ionizare mari sunt posibile pentru toate elementele chimice de interes. Ionii rezultați sunt captați prin intermediul unui separator în jet supersonic în analizorul de masă, direct din plasma formată.

§ 6. Analizoare de masă

Analizorul de masă este o componentă a spectrometrului de masă în care sunt ordonați în funcție de valoarea m/z ionii transferați din sursa de ionizare. Principiul de funcționare al unui analizor de masă se bazează pe interacția pe care ionii țintă o au cu câmpuri externe de natură electrostatică și magnetică, cu geometrie precizată.

§ 6.1 Analizoare de masă de tip sector

Pentru construcția analizorului de masă au fost utilizate două tipuri de sectoare: magnetic (B) și

electrostatic (E).

În sectorul electrostatic are loc numai o aranjare isocinetică a ionilor. Atunci când ionii sunt introduși într-un câmp electric radial, traiectoria lor devine stabilă numai dacă forța centrifugă este egală cu forța electrică:

$$\frac{m \times v^2}{r_E} = \frac{z \times e \times E}{d} \quad (1)$$

unde E este potențialul aplicat între cei doi electrozi curbați, d este distanța dintre cei doi electrozi, r_E este raza traiectoriei urmate de ion în câmpul electric, v este viteza ionului, m este masa ionului, z este sarcina electrică a ionului și e este unitatea elementară de sarcină.

Pentru ca un ion introdus într-un sector magnetic să se deplaseze pe o traiectorie circulară cu raza r_B , trebuie, din nou, ca forța centrifugă să fie egală cu forța magnetică.

$$\frac{m \times v^2}{r_B} = z \times e \times B \times v \quad (2)$$

Este important de menționat faptul că un câmp magnetic extern se comportă ca un separator de moment cinetic ($m \times v$). Cum viteza ionului este aceeași în cele două sectoare electrostatic și magnetic, relațiile (1) și (2) vor fi combinate după cum urmează:

$$v = \sqrt{\frac{z \times e \times E \times r_E}{m \times d}} \quad (3) \text{ din relația (1)}$$

$$\frac{z \times e \times B \times r_B}{m} = \sqrt{\frac{z \times e \times E \times r_E}{m \times d}} \quad (4) \text{ introducând rel.(3) în rel.(2)}$$

Din această relație rezultă că:

$$\frac{m}{z} = \frac{e \times d}{E \times r_E} \times B^2 \times r_B^2 \quad (5)$$

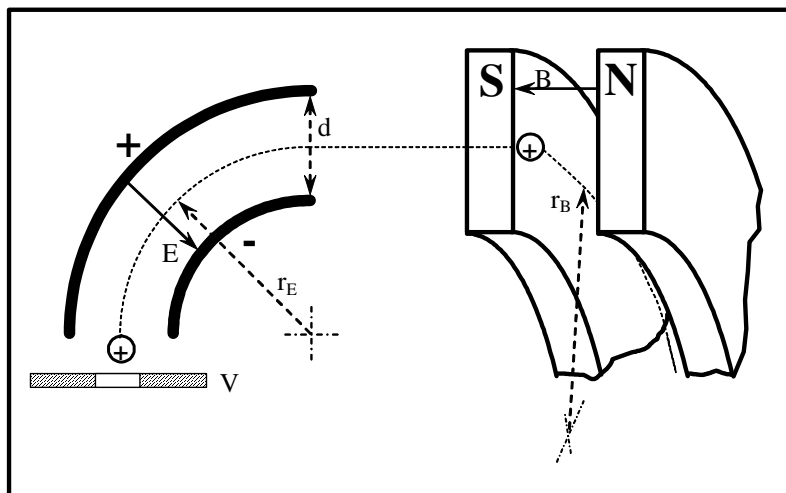
Cuplajul dintre sectoarele electrostatic și magnetic se comportă ca un singur analizor de masă prin scanarea câmpului magnetic B sau a câmpului electrostatic E .

Din relația (5) reiese că raportul m/z este independent față de potențialul de accelerare inițial V , aplicat ionului în timpul transferului său de la sursa de ionizare la analizorul de masă. Dacă viteza obținută în timpul transferului de la sursă la analizorul de masă este egală cu viteza în sectorul electrostatic, se poate defini o relație între V și E . Această relație dependentă de construcția instrumentului:

$$V = \frac{E \times r_E}{2 \times d} \quad (6)$$

Relațiile anterioare sunt ilustrate în **Figura 8**.

Figura 8. Traiectoria unui ion pozitiv în sectoarele electrostatic și magnetic.

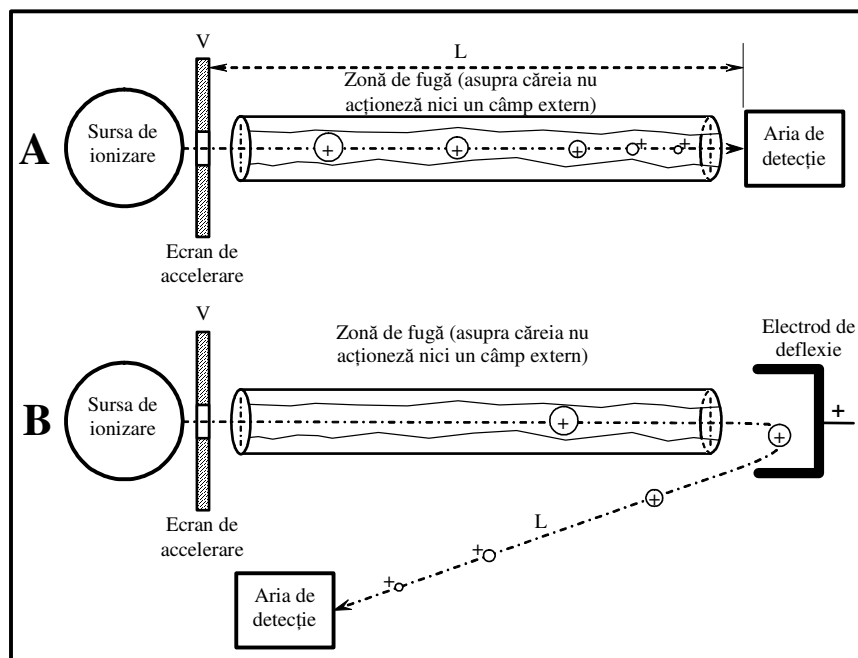


Caracteristici asociate cuplajului între sectorul electrostatic și cel magnetic: rezoluție spectrală de peste 10.000 pe un domeniu de masă de până la 15.000 Da; creșterea rezoluției peste valoarea de 100.000 pe un domeniu de masă mai mare de 100.000 Da poate fi obținută cu pierderea sensibilității; vitezele de scanare sunt limitate de fenomenul de histerzis și de încălzirea magnetului; instrumentul presupune o construcție complexă; necesită condiții de ultra vid ($10^{-10} \div 10^{-12}$ torri). Analizorul de masă cu dublă focalizare este utilizat pentru măsurători de înaltă rezoluție (de exemplu, metoda EPA pentru dioxine impune acest analizor ca o cerință) și în studiile fundamentale de MS.

§ 6.2 Analizorul de masă cu măsurarea timpului de zbor (ToF)

Acest tip de analizor de masă are ca principiu de funcționare măsurarea timpului de zbor caracteristic unor specii ionice caracterizate prin aceeași energie cinetică, pe o distanță determinată (zonă de fugă) care separă sursa de ionizare de aria de detecție (vezi **Figura 9A**).

Figura 13. Schema de funcționare a unui analizor de masă de tip ToF.



Energia cinetică a ionilor produși în interiorul sursei este obținută cu ajutorul potențialului de accelerare V .

$$\frac{m \times v^2}{2} = z \times e \times V \quad (7)$$

Timpul de zbor este calculat cu ajutorul relației:

$$t = \frac{L}{v} = \frac{L \times m^{1/2}}{\sqrt{2 \times z \times e \times V}} \quad (8)$$

Din această relație rezultă că:

$$\frac{m}{z} = t^2 \times \left(\frac{2 \times e \times V}{L^2} \right) \quad (9)$$

Pentru anumite valori ale lui V și L , măsurarea timpului de zbor devine un factor discriminatoriu în raport cu m/z . Rezoluția specifică a ToF crește dacă se utilizează modelul de aparat cu electrod de deflexie (vezi **Figura 9B**), permițând un mai bun control asupra dispersiei energiei cinetice inițiale și a

distribuției spațiale. Introducerea ionilor în zona de zbor trebuie să fie un proces în regim pulsatoriu, orientat în sensul obținerii unor “pachete” distincte de ioni. Timpul de zbor al ionilor se situează de obicei în intervalul cuprins între 1 până la 100 ns.

Caracteristici asociate analizorului de tip ToF: nu există nici un parametru instrumental care să limiteze domeniul măsurat al m/z ; o rezoluție spectrală mare ($> 20,000$) se poate obține atunci când este utilizat modelul cu electrod de deflexie; sensibilitate mare, în special la frecvențe mari de transfer a ionilor către analizorul propriu-zis; impune utilizarea unor circuite electronice de înaltă performanță pentru controlul zonei de detecție; este utilizat în aplicații pentru compuși cu masă moleculară mare care impun rezoluție și sensibilitate înaltă; tehnica de multiplexare Hadamard este aplicabilă principiului de funcționare ToF.

§ 6.3 Analizorul de masă de tip cvadрупol (QMA)

Analizorul de masă de tip cvadрупol are ca principiu de funcționare interacția dintre ioni și câmpul electromagnetic hiperbolic generat între 4 electrozi sub formă de bară, poziționați după o geometrie quadratică, interconectați doi câte doi la potențiale pozitive și negative. Potențialul electric de semn contrar aplicat celor două perechi de electrozi prezintă o componentă constantă și o adoua componentă variabilă, modulată cu frecvență radio (vezi **Figura 10**). Potențialul aplicat perechilor de electrozi este:

$$\Phi_0 = (- \text{sau } +)(V_{DC} + V_{RF} \cos(2\pi\nu t)) \quad (10)$$

Câmpul hiperbolic generat între electrozi este în consecință descris prin ecuația de mai jos:

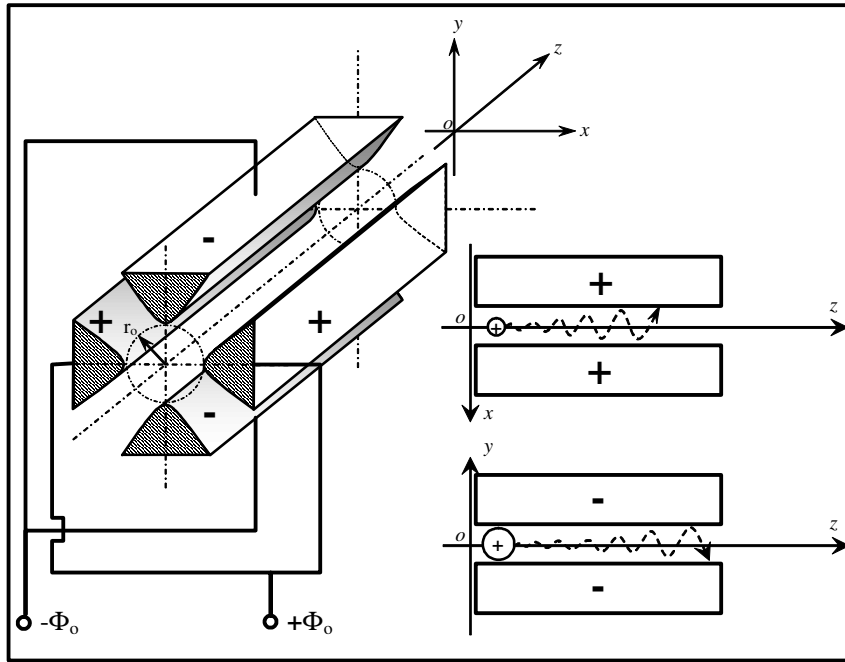
$$\Phi = (V_{DC} + V_{RF} \cos(2\pi\nu t)) \times \frac{x^2 - y^2}{r_0^2} \quad (11)$$

Dacă $V_{RF} > V_{DC}$, ionii cu mase moleculare mici sunt eliminați pe direcția Ox (prin coliziunea cu electrodul stâng sau drept datorată variației potențialului RF) iar ionii cu mase moleculare mari sunt eliminați pe direcția Oy (prin coliziunea cu electrodul superior sau inferior, datorată inerției lor în raport cu modificarea rapidă a câmpului extern variabil). Combinarea acestor două efecte duce la obținerea unui domeniu de stabilitate a traiectoriilor individuale definit prin valorile specifice ale lui v , V_{DC} , V_{RF} și a raportului V_{DC}/V_{RF} .

Intervalul de masă al ionilor care se deplasează pe direcțiile Ox și Oy pe distanțe mai mici decât r_0 (ionii rămân între cei patru electrozi), depinde de raportul V_{DC}/V_{RF} . În general, raportul V_{DC}/V_{RF} este ales astfel încât o fereastră de 1 Da este selectată la nivelul întregului interval de mase. Următoarele maniere practice de lucru sunt posibile: **a.** v are valoare variabilă, V_{DC} , V_{RF} și V_{DC}/V_{RF} au valori constante; **b.** v și V_{DC}/V_{RF} au valori constante, pe când valorile V_{DC} și V_{RF} sunt variabile.

Caracteristici asociate analizorului de tip cvadрупol magnetic: intervalul de mase în care cvadрупolul este funcțional se limitează la domeniul 3,000 – 4,000 Da; principiul constructiv tolerează un nivel relativ înalt al regimului presiune ($10^{-4} - 10^{-5}$ torr), ceea ce presupune utilizarea unui sistem de vacuumare relativ simplu; costuri mici de întreținere; multe aplicații în care este cuplat cu sisteme de separare GC sau LC; potrivit pentru confirmări structurale pentru molecule cu masă moleculară mică; pentru a putea realiza experimente de tip MS/MS vor trebui cuplați în serie trei cvadрупoli.

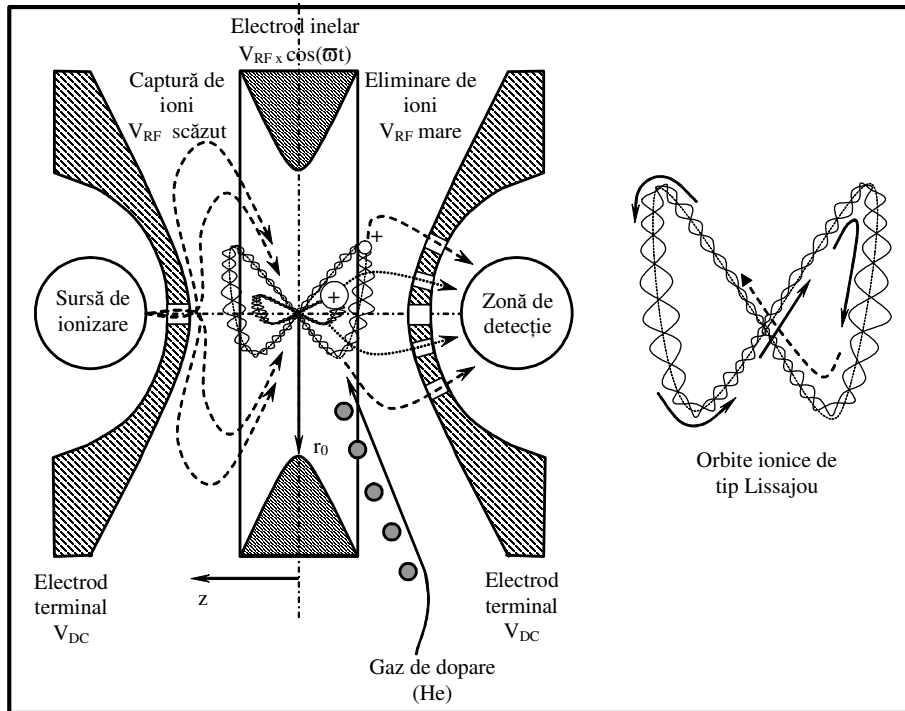
Figura 14. Schema constructivă a unui analizor de masă de tip cuadrupol.



§ 6.4 Analizorul de masă de tip Trapă ionică sau quistor (QIT)

Principiul de funcționare al unei trape ionice este identic cu cel descris pentru un cuadrupol liniar pentru simplu motiv că acest quistor rezultă prin îndoirea imaginară a unui cuadrupol liniar sub forma unui inel. Această operație imaginară transformă electrodul stâng și cel drept într-o calotă hiperbolică, electrodul superior într-un inel în timp ce electrodul inferior este redus la un punct matematic (vezi *Figura 11*).

Figura 11. Trapa ionică (quistor).



Suprafețele hiperbolice (calote sau electrozi terminali) sunt perforate pentru a permite extracția ionilor din sursa de ionizare și transferul lor în zona de detecție. Un potențial constant este aplicat pe acești electrozi terminali. Ionii se pot forma în interiorul trapei sau pot fi capturați dintr-o sursă externă de ionizare.

Un potențial electric modulată în fracvență radio ($V_{RF} \times \cos(\omega t)$) se va aplica pe suprafața internă a electrodului inelar. În interiorul acestui aranjament tridimensional ionii se mișcă după traiectorii de tip Lissajou. Pentru valori scăzute ale amplitudinii (V_{RF}), toți ionii obținuți vor fi păstrați împreună în interiorul electrodului inelar, pe orbite stabile, caracterizate prin raze și amplitudine pe direcția Oz fixe. Forțând ionii să se deplaseze pe orbite stabile în interiorul electrodului inelar, poate ușor apărea riscul unei creșteri necontrolate a razelor traiectoriilor, datorită repulsiei electrostatice. Coliziunea ionilor cu electrozii devine astfel posibilă. Pentru a evita acest lucru, un gaz dopant (în mod obișnuit He sau H₂) este introdus în trapă la o presiune de 10⁻³ torri. Coliziunile dintre ionii reținuți în interiorul electrodului inelar și atomii gazului dopant reduc energia acestora și îi forțează să se deplaseze pe orbite cât mai apropiate de centrul trapei. Acest proces îmbunătățește rezoluția, deoarece limitează distribuția spațială a ionilor din trapă (imperfecțiunile câmpului sunt minime în centrul trapei). Când toți ionii sunt stabiliți în interiorul electrodului inelar, amplitudinea V_{RF} a potențialului modulată în fracvență radio poate să fie variată.

Creșterea amplitudinii V_{RF} conduce la eliminarea din trapă a ionilor către aria de detecție (prin orificiile realizate în electrodul terminal), în ordinea creșterii maselor acestor ioni. Trapa ionică are o capacitate limitată de captură a ionilor și, în funcție de viteza de scanare a domeniului de valori pentru V_{RF} , ea poate fi încărcată și descărcată succesiv. Sensibilitatea instrumentului depinde de frecvența de umplere / golirea a trapei.

Caracteristici asociate analizorului cu trapă ionică: energia diferențiată și distribuția spațială a ionilor produși în sursa de ionizare nu reprezintă parametri critici pentru un quistor; utilizarea unor valori relativ reduse de potențial pentru câmpurile electrice generate în trapă permite o presiune relativ mare de lucru și în consecință un sistem de producere a vidului mai puțin performant (și deci mai ieftin); costurile de exploatare sunt reduse; dimensiunile geometrice sunt de asemenea reduse; rezoluția spectrală obținută este de obicei la nivel de 1 Da; îmbunătățirea rezoluției poate fi obținută prin profile de scanare specifice ale domeniului V_{RF} , cu reducerea proporțională a intervalului de masă sau sensibilității rezultate; există posibilitatea realizării de procese MS/MS succesive în timp; analizorul de tip trapă ionică este utilizat pentru confirmări structurale; poate fi ușor conectat prin intermediul interfețelor cu sistemele de separare GC și LC.

§ 6.5 Analizorul de masă cu rezonanță ionică ciclotronică (ICR)

Schema constructivă a unui analizor de masă cu rezonanță ionică ciclotronică este prezentată în *Figura 12*.

Un câmp magnetic puternic este utilizat pentru a curba traiectoria ionilor ajunși în interiorul ICR. Intesitatea câmpului magnetic (B) este atât de mare încât ionii se vor mișca pe orbite circulare în interiorul analizorului de masă. Un potențial redus (de același semn ca ionii) este aplicat pe placa de captură (față și spate) cu scopul de a preveni pierderile de ioni la nivelul plăcilor laterale. La fel ca și pentru analizorul de masă de tip sector magnetic, următoarea relație rămâne valabilă:

$$\frac{m \times v}{r} = z \times e \times B \quad (15)$$

Viteza unghiulară a ionului (ω) este dată de relația:

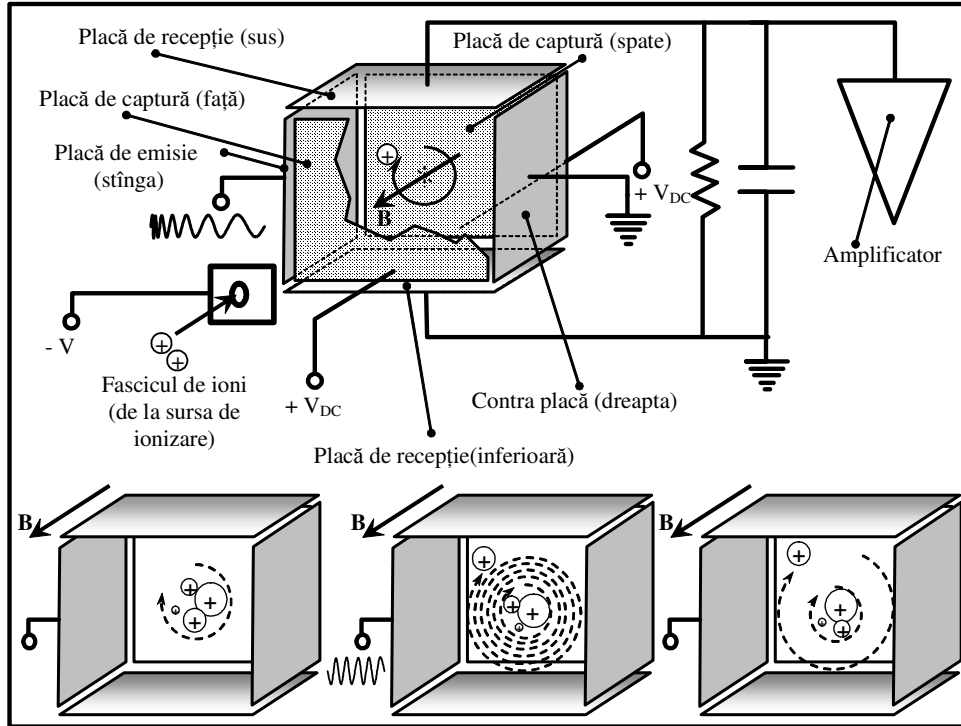
$$\omega = \frac{v}{r} = 2 \times \pi \times \nu \quad (16)$$

Înlocuind relația (16) în relația (15), vom obține următorul rezultat:

$$\frac{m}{z} = \frac{e \times B}{\omega} \quad (17)$$

Pentru un câmp magnetic aplicat cu intensitate de 5 T (Tesla) și un interval de masă variind între 15 și 1,500 Da, frecvența radio necesară pentru captura ionilor se situează în domeniul kHz - MHz.

Figura 12. Analizorul de masă cu rezonanță ionică ciclotronică.



Când o frecvență radio ν_i este aplicată pe placa de emisie, ionii caracterizați prin viteză unghiulară $\omega_i = 2 \times \pi \times \nu_i$ încep să absoarbă energia exterioară (fenomenul de rezonanță) și încep să se deplaseze pe orbite cu raze din ce în ce mai mari (din orbită circulară, traiectoria se transformă într-una de tip spirală). Odată ce traiectoria grupului de ioni rezonanți se apropie de plăcile de recepție, un “curent imagine” este indus și detectat (dacă ionii se apropie de placa de sus, electronii sunt atrași de această placă prin circuitul de împământare; când grupul de ioni este situat în apropierea plăcii inferioare, electronii se vor deplasa de la placa superioară către cea inferioară, producând un curent detectabil). Scanând frecvențele ν_i pentru un domeniu valoric dat se vor putea observa semnalele corespunzătoare maselor grupurilor de ioni formați.

O metodă alternativă mai rapidă (FT-ICR) presupune excitarea ionilor folosind un “pachet” de frecvențe aplicate simultan. Plăcile de recepție vor primi semnale la diferite momente de timp. Semnalul înregistrat la momentul de timp t_1 corespunde tuturor ionilor care au atins starea de rezonanță prin absorbția energiei provenită prin aplicarea primului pachet de frecvențe. La momentul de timp t_2 , semnalul înregistrat corespunde ionilor rezonanți care corespund frecvențelor din cel de-al doilea pachet de excitare. Procesul de transformare Fourier pentru variația “curentului imagine” în timp este posibil, deoarece funcția matematică prin care această variație este reprezentată este una periodică. Funcția de timp corespunzătoare fiecărei frecvențe de excitare în parte este convertită în sistemul de coordonate “abundență relativă în raport cu valoarea m/z ” ceea ce reprezintă un spectru de masă obișnuit.

Caracteristici asociate ICR: rezoluția cea mai bună (în jur de 50,000 pentru un interval $m/z \sim 10,000$); eficiență mare a detecției (se poate detecta chiar și o moleculă); procesul de detecție este nedistructiv; intervalul m/z accesibil este cuprins între 100 Da și 15,000 Da; există posibilitatea manierei de lucru în tandem MS; necesită costuri mari de întreținere datorate sistemului de răcire a magneților supraconductori, sistemului de vacuum înaintat și a unui sistem informatic de prelucrare a datelor extrem de performant; cuplarea cu sursele de ionizare la presiune atmosferică este dificilă; se poate utiliza la măsurători de mare rezoluție, în studiul chimiei fundamentale a ionilor și a stabilității acestora.

§ 7. Sisteme de detecție a ionilor

Intensitățile curenților generați de ionii separați în analizoarele de masă se încadrează într-un interval extrem de larg ($10^{-9} \div 10^{-18}$ A). Detecția ionilor este realizată în special prin intermediul electron (foton) multiplicatoarelor. Ionii primari lovesc în prealabil un electrod pentru a genera electroni secundari. Electronii secundari sunt ulterior amplificați numeric prin procese succesive de accelerare / impact între 12 – 20 electrozi (acești electrozi apelați în mod uzual dinode sunt realizați din aliaje Beriliu – Cupru cu putere mare de emisie) alimentați la potențiale pozitive crescătoare. O manieră alternativă de abordare a procesului de detecție a curenților ionici este multiplicatorul continuu de tip canal sau “channeltron” Acest dispozitiv are la bază un corp din sticlă dopată cu plumb, având proprietăți de emisie secundară și o rezistivitate electrică mare. Prin aplicarea unei diferențe de potențial între extremitățile unei cavității de formă conic - curbată, se generează un gradient continuu de potențial la nivelul pereților interiori. Dacă viteza ionilor care acced cavității este mai mică de $1,8 \times 10^4$ m/s, se obține o sensibilitate de detecție scăzută, datorată unei capacități de extracție scăzute a electronilor secundari. O soluție în rezolvarea acestei probleme ar putea consta în mărirea vitezei ionilor ejectați din analizorul de masă chiar înainte de detecție. În cazul sistemelor de accelerare a ionilor după ieșirea din analizorul de masă (PAD – post acceleration device) se utilizează un electrod cărui i se aplică un potențial electric mare (cca. 30 kV), ceea ce conduce la accelerarea ionilor incidenti, care la rândul lor vor produce electroni secundari cu randamente sensibil crescute la nivelul detectorului propriu-zis. Deoarece foto-multiplicatoarele sunt mult mai robuste decât electron-multiplicatoarele, unii producători preferă să introducă un ecran fosforescent între electrodul de post - accelerare și multiplicatorul propriu-zis.

§ 9. Detecție prin spectrometrie de masă multiplă (Cuplaj MS / MS)

Așa cum s-a arătat în *Figura 1*, pentru anumite experimente, poate apărea necesitatea reală de a izola un ion specific (precursor sau părinte) și de a-l fragmenta mai apoi, urmând să se analizeze fragmentele ionice rezultate (ioni produși sau fiică). Teoretic, acest lanț de procese poate continua de câteva ori consecutiv, rezultând experimente (MS)ⁿ multidimensionale.

Principala obiectiv al cuplajului MS/MS este acela de a mări selectivitatea metodelor cu finalitate cantitativă sau care își propun studii structurale / de stabilitate pentru analiții țintă.

În conformitate cu Compendiul de Termeni în domeniul Chimiei IUPAC, cuplajul MS/MS reprezintă un aranjament în care ionii sunt supuși la două sau mai multe etape secvențiale de analiză (care pot fi separate spațial sau temporal) în raport cu valoarea masă/sarcină.

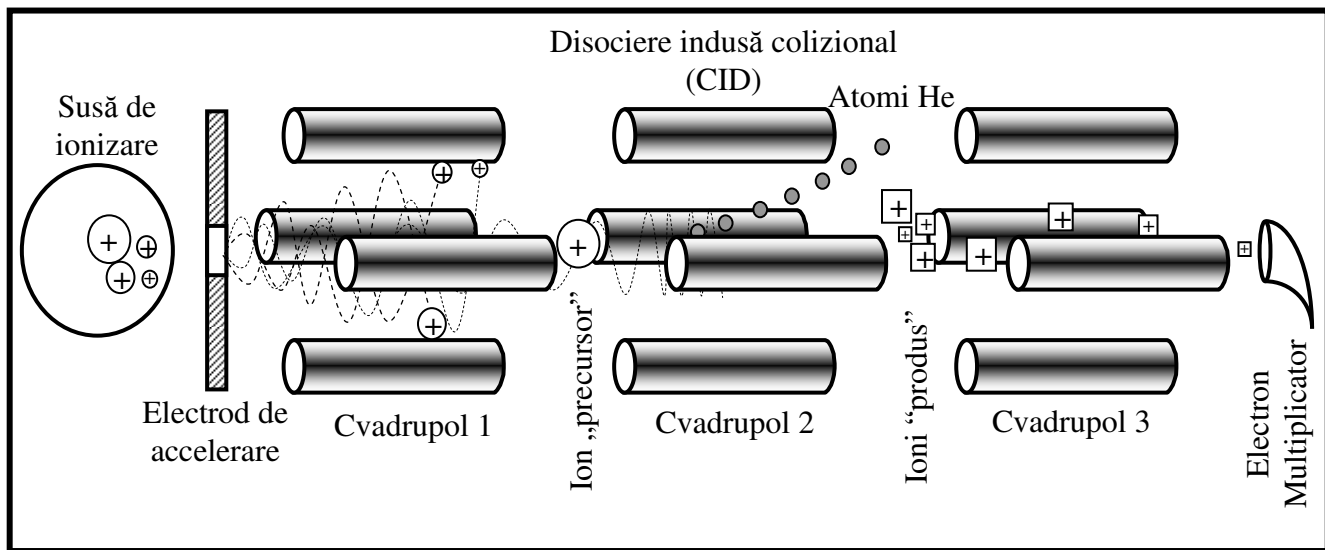
Cuplarea MS/MS în spațiu impune utilizarea a două sau mai multe analizoare de masă cuplate în serie (unul pentru fiecare proces de discriminare ionică). Cuplarea MS/MS în timp constă în utilizarea unui singur analizor de masă, selecția ionilor precursor / produs făcându-se succesiv, la diferite intervale de timp, determinate în raport cu momentul inițierii procesului.

Odată ce ionul precursor a fost izolat, este necesar să se inițieze disocierea lui pentru a se putea produce fragmentele ionice corespunzătoare (produși). Următoarele maniere de realizare a disocierii ionilor precursori sunt utilizate în practică: 1. Disocierea indusă colizional (CID – collisional induced

dissociation); 2. Disocierea indusă la nivelul unei suprafețe (SID – surface induced dissociation); 3. Disociere prin fotoni IR cu bandă largă de energie (IRMPD – infrared multiphoton dissociation); 4. Disociere IR în prezența unui corp negru (BIRD – blackbody infrared dissociation); 5. Iradiere susținută în stare de ne-rezonanță (SORI - Sustained Off-Resonance Irradiation); 6. Disociere cu captură de electroni (ECD – electron capture dissociation); 7. Alterare energetică după sursa de ionizare (PSD – post source decay). Cazurile 1-2 au un spectru larg de aplicabilitate, cele amintite la punctele 3-6 sunt caracteristice pentru analizoarele de masă de tip trapă ionică, în timp ce ultimul caz este dedicat surselor de ionizare de tip MALDI. Modul de disociere al ionilor precursori cel mai des întâlnit este fără îndoială CID. Procesul necesită atomi de Helium pentru a coliziona ionii precursori producând astfel fragmentarea lor. Deoarece controlul energiei cinetice a speciilor neutre din punct de vedere electric (atomii de He) este dificil, reproductibilitatea proceselor de disociere indusă colizional este obținută prin intermediul unui control riguros al accelerării ionilor precursori.

Un proces MS dublu și extins spațial se realizează pe un dispozitiv cunoscut sub denumirea de triplu cvadrupol (QQQ) a cărei configurație este discutată mai jos (vezi **Figura 13**). Cel de-al doilea cvadrupol este utilizat numai pentru accelerarea ionului precursor (părinte) și pentru obținerea CID. Alte configurații pentru experimente MS tandem dezvoltate în spațiu sunt: 1. Sectoare magnetice multiple; 2. Analizor de masă de tip cuarupol / Analizor de masă de cu măsurare a timpului de zbor (Q/TOF); 3. Analizor de masă cu măsurarea timpului de zbor / Analizor de masă cu măsurarea timpului de zbor (TOF/TOF).

Figura 13. Structura de tip triplu cvadrupol pentru cuplarea MS/MS.



O ilustrare tipică pentru cuplajul MS “în timp” este analizorul de masă de tip trapă ionică (quistor). Ionii obținuți în interiorul trapei sunt capturați în electrodul inelar central, urmând ca eliminarea tuturor celorlalte specii ionice cu excepția ionilor „precursor sau părinte” să fie realizată fără activarea detecției. Odată ce ionii „precursor” au fost izolați, un potențial electric constant este aplicat electrozilor calotă pentru a produce accelerarea lor. După ce disocierea indusă colizional s-a produs prin impactul între ionii “precursor” și atomii de heliu introduși în trapă, V_{RF} este setat din nou la valori scăzute pentru a permite captura tuturor ioniiilor „produs sau fiică”. Variind amplitudinea V_{RF} ionii “produs” vor fi ejectați din trapă în ordinea crescătoare a valorii m/z , simultan cu activarea sistemului de detecție. Această procedură poate fi repetată de mai multe ori (comercial sunt disponibile sisteme care permit până la 13 repetări), deși mai mult de patru experimente MS succesive nu sunt în mod uzual

necesare. Instrumentele cu analizor de masă de tip ICR sunt potrivite pentru a lucra în cuplare MS decalată în timp. Cuplarea MS în timp este mai puțin costisitoare decât cuplarea în spațiu, deoarece se utilizează un singur analizor de masă.

§ 9. Moduri de lucru în spectrometria de masă

Manierele posibile de a realiza determinări prin MS sunt ilustrate în figura următoare:

Figura 14. Maniere de lucru în spectrometria de masă (pentru una sau mai multe etape MS succesive).

O SINGURĂ ETAPĂ MS

Sursa de ionizare	Analizorul de masă	Detectorul	Tehnica
$m_i/z, i = 1, \dots, n$	$m_1/z, m_2/z, \dots, m_n/z$ transmiși și ordonați în funcție de valoarea m/z	R.A. = $f(m/z)$	Scanare completă În scop calitativ și cantitativ (sensibilitate redusă)
$m_i/z, i = 1, \dots, n$	m_j/z : transmiși $m_i/z, i \neq j$: blocați	R.A. = $f(m_j/z)$	Monitorizarea Ionului Selectat (SIM) Analiză cantitativă (creșterea sensibilității $\sim \times 1,000$)
$m_i/z, i = 1, \dots, n$	$m_j/z; m_q/z; m_k/z$: transmiși $m_i/z, i \neq j, q, k$: blocați	R.A. = $f(m_j/z, m_q/z,$ $m_k/z)$; R.A. $(m_j)/RA(m_q)$ R.A. $(m_j)/RA(m_k)$ R.A. $(m_q)/RA(m_k)$	Detecția simultană a mai multor ioni (MID) Analiză cantitativă (creșterea sensibilității) și confirmare structurală

MAI MULTE ETAPE MS SUCCESIVE

Sursa de ionizare	Analizor de masă 1	CID	Analizor de masă 2	Detector	Tehnică
$m_i/z,$ $i = 1, \dots, n$	m_j/z : transmiși $m_i/z, i \neq j$: blocați	m_j/z fragmentat la $m'_i/z,$ $i = 1, \dots, n$	$m'_1/z,$ $m'_2/z, \dots, m'_n/z$ transmiși și ordonați în funcție de valoarea m/z	R.A. = $f(m'_i/z)$	Scanarea Ionilor "Produs"
$m_i/z,$ $i = 1, \dots, n$	$m_1/z, m_2/z, \dots,$ m_n/z transmiși și ordonați în funcție de valoarea m/z	$m_1/z, m_2/z, \dots,$ m_n/z fragmentat la $m'_i/z,$ $i = 1, \dots, n$	m'_j/z : transmiși $m'_i/z, i \neq j$: blocați	R.A. = $f(m'_j/z)$	Scanarea Ionului "Precursor"

m_i/z , $i = 1, \dots, n$	$m_1/z, m_2/z, \dots,$ m_n/z transmiși și ordonati în funcție de valoarea m/z	$m_1/z, m_2/z, \dots,$ m_n/z fragmentați la m'_i/z , $i = 1, \dots, n$	$m'_1/z,$ $m'_2/z, \dots, m'_n/z$ transmiși și ordonati în funcție de valoarea m/z	$\Delta m = ct.$	<i>Scanarea pierderii sau câștigului de masă neutră</i>
m_i/z , $i = 1, \dots, n$	m_j/z : transmiși $m_i/z, i \neq j$: blocați	m_j/z fragmentat la m'_i/z , $i = 1, \dots, n$	m'_j/z : transmiși $m'_i/z, i \neq j$: blocați	R.A. = $f(m'_j/z)$	<i>Monitorizarea unui singur proces de disociere (SRM)</i>
m_i/z , $i = 1, \dots, n$	m_j/z : transmiși $m_i/z, i \neq j$: blocați	m_j/z fragmentat la m'_i/z , $i = 1, \dots, n$	$m'_j/z; m'_q/z;$ m'_k/z : transmiși $m_i/z, i \neq j, q, k$: blocați	R.A. = $f(m'_j/z,$ $m'_q/z, m'_k/z);$ R.A.(m'_j) / RA(m'_q); R.A.(m'_j) / RA(m'_k); R.A.(m'_q) / RA(m'_k);	<i>Monitorizarea simultană a mai multor proces de disociere (MRM)</i>

§ 10. Referințe bibliografice.

1. K.L. Busch, *Mass Spectrometry*, **17(6S)**, 26 (2002).
2. E. de Hoffman, V. Stroobant, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, 2nd Edition, J. Wiley & Sons, Chichester (2002).
3. *Analytical Mass Spectrometry Strategies for Environmental and Related Applications*, W.L. Budde Editor, American Chemical Society, Oxford University Press Inc., New York (2001).
4. *Advances in Mass Spectrometry*, E. Gelpi Editor, J. Wiley & Sons, Chichester (2001).
5. *Mass Spectrometry: Analytical Chemistry by Open Learning*, 2nd Edition, J. Barker, J.A. David Editors, J. Wiley & Sons, Chichester (1999).
6. C. Herbert, R. Johnstone, *Mass Spectrometry Basics*, CRC Press, Boca Raton, Florida (2002).
7. R.M. Smith, *Understanding Mass Spectra: A Basic Approach*, 2nd Edition, Wiley - Interscience (1998).
8. R.A. Hites, *Handbook of Mass Spectra of Environmental Contaminants*, Lewis Publisher, Boca Raton, Florida (1992).
9. F.W. McLafferty, F. Turecek, *Interpretation of Mass Spectra*, 4th Edition, University Science Books, Sansalito, California (1996).
10. R.E. Marsh, *Quadrupole storage Mass Spectrometry*, vol. 102, John Wiley & Sons, New York (1989).
11. *FT-ICR MS: Analytical Applications of Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry*, B. Asamoto Ed., VCH, Weiheim (1991).
12. *Tandem Mass Spectrometry*, F.W. McLafferty Ed., John Wiley & Sons, New York (1983).

§ 10. Site-uri internet utile.

1. www.asms.org; 2. <http://masspec.scripps.edu>; 3. www.i-mass.com; 4. <http://chipo.chem.uic.edu>
5. www.chem.arizona.edu.