

# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

**\*přímá / ve spojení se separačními metodami\***

**(separace) + ionizace + detekce + identifikace + kvantifikace analytů**

## PŘÍMÁ IONIZACE

**MALDI-TOF, DART/MS**

## SEPARAČNÍ METODY

**chromatografie – CGC, GC x GC, HPLC, UPLC, CHIP-LC**

**elektromigrační m. – CZE, CITP**

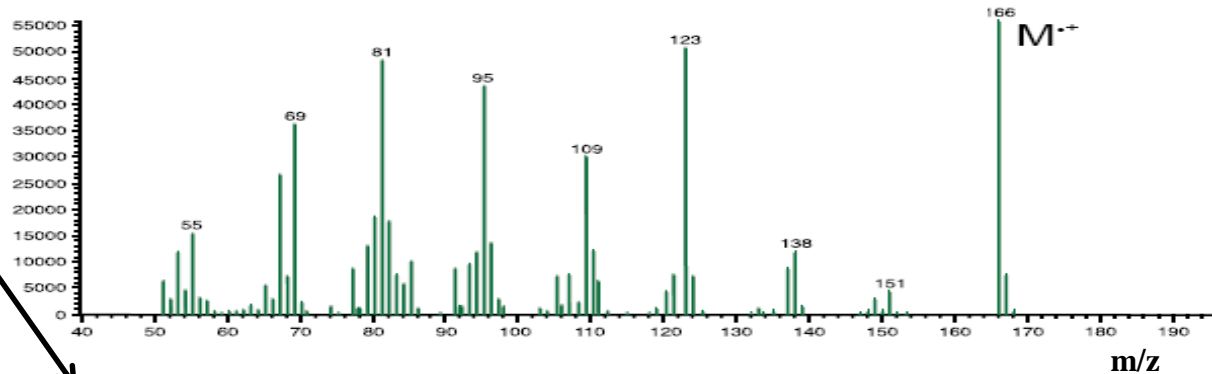


# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## \*princip\*

1. Tvorba iontů: ionizace – rozhoduje o charakteru spektra  
(intenzita pro sledované hodnoty  $m/z$ )
2. Fokusace proudu iontů – předfiltrace
3. Hmotnostní analýza (hmotnostní filtrace)
4. Detekce iontů – záznam spektra (měření intenzity signálu pro nastavený průchod podle  $m/z$ )

**1. IONIZACE: Primární vznik iontů;  $m/z \approx 1-1500$**



**2-4. Rozsah zaznamenaných iontů:  $m/z = 40-200$**



# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## \*části hmotnostního spektrometru\*

### Iontový zdroj

#### Plynná fáze:

EI ( $M^+$ , fragmentace)

– 70 eV (standardní energie  
– knihovna spekter)

CI ( $M^+ \approx PCI$ ,  $M^- \approx NCI$ ;  
ionizační plyn - methan)

#### Kapalná fáze:

ESI; APCI; APPI

Adukty  $\rightarrow$  pseudomolekulové  
ionty:  $[M+H]^+$ ;  $M+NH_4^+$ ;  
 $[M-H]^-$ ;  $M+Cl^-$ ;  $M+CH_3COO^-$   
 $[M + zH]^{z+}$ ;  $[M - zH]^{z-}$

### Hmotnostní analyzátor

**Kvadrupól** (přímý, sférický - past)

$\Delta M \approx 0,1 - 1$

**TOF** - s dobou měření letu

$\Delta M \approx 0,001$

**Orbitrap**

$\Delta M \approx 0,0001$

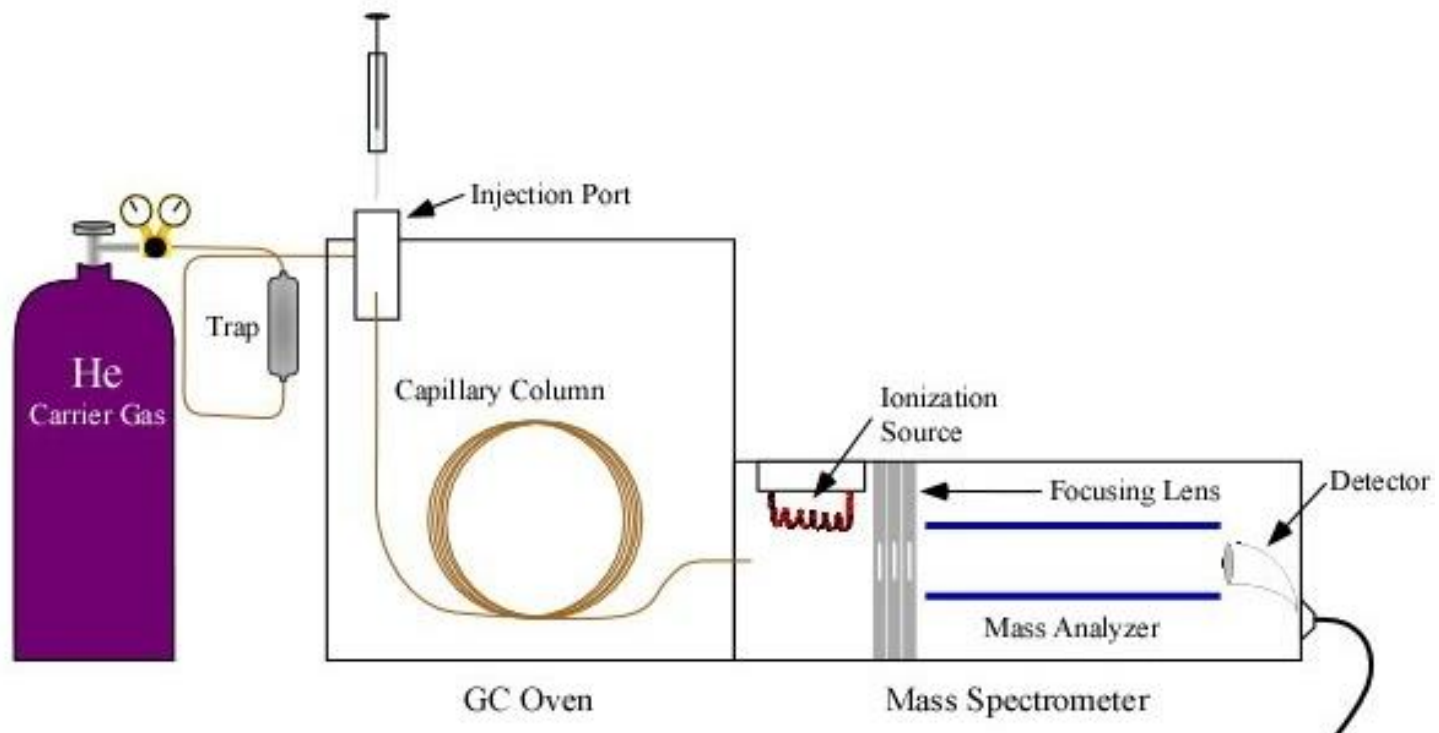
**Vícestupňová MS** – fragmentace

**Kombinace:** iontová mobilita + MS



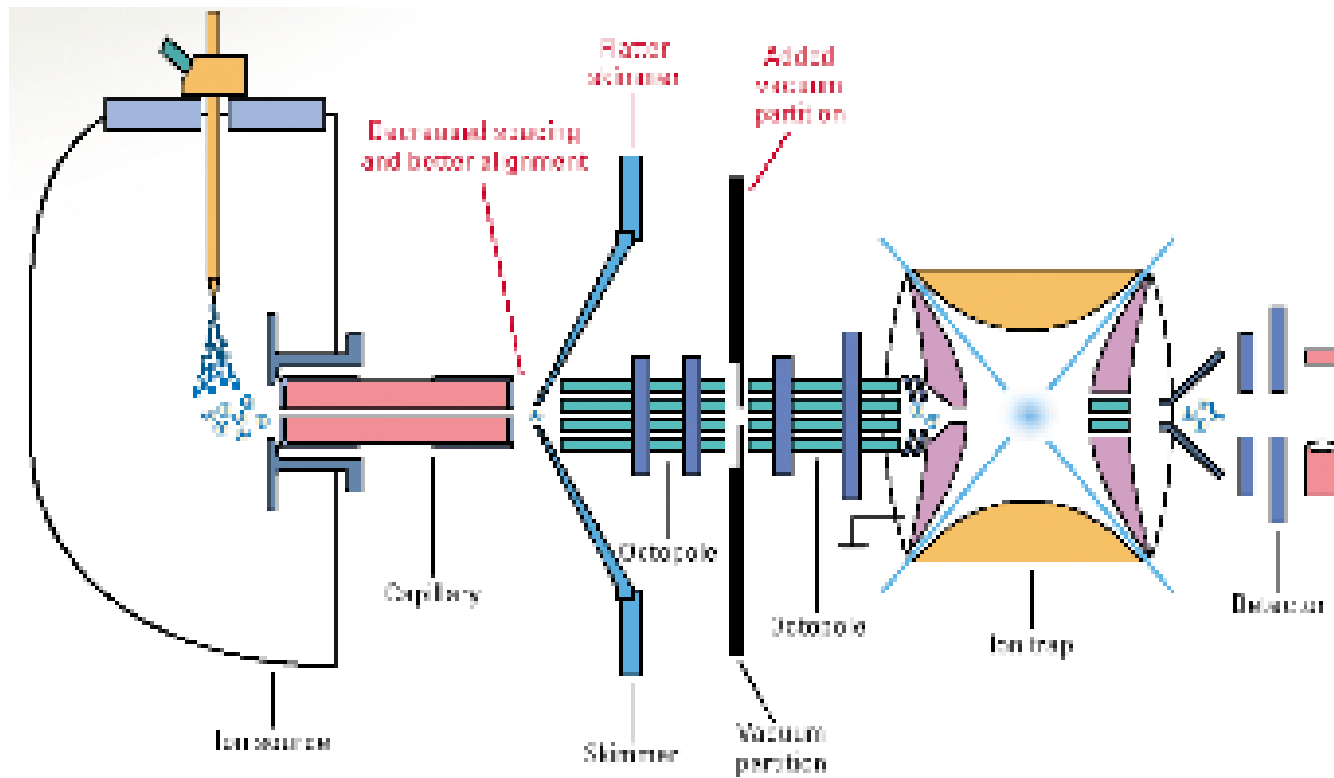
# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## \*spojení GC - MS\*



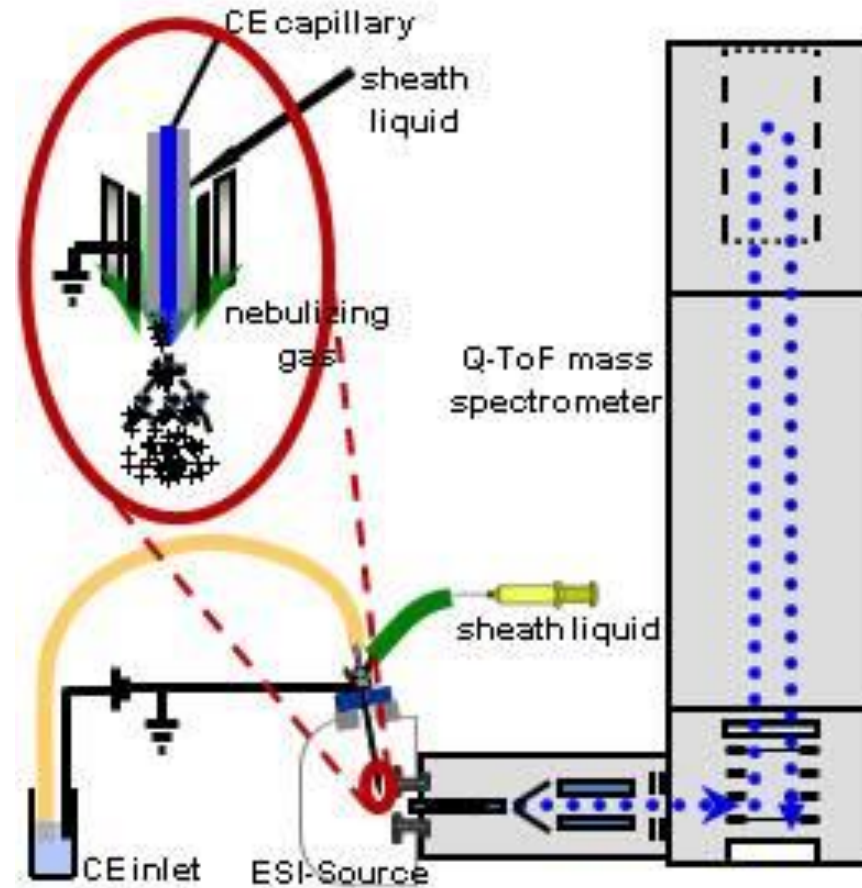
# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## \*spojení LC - MS\*



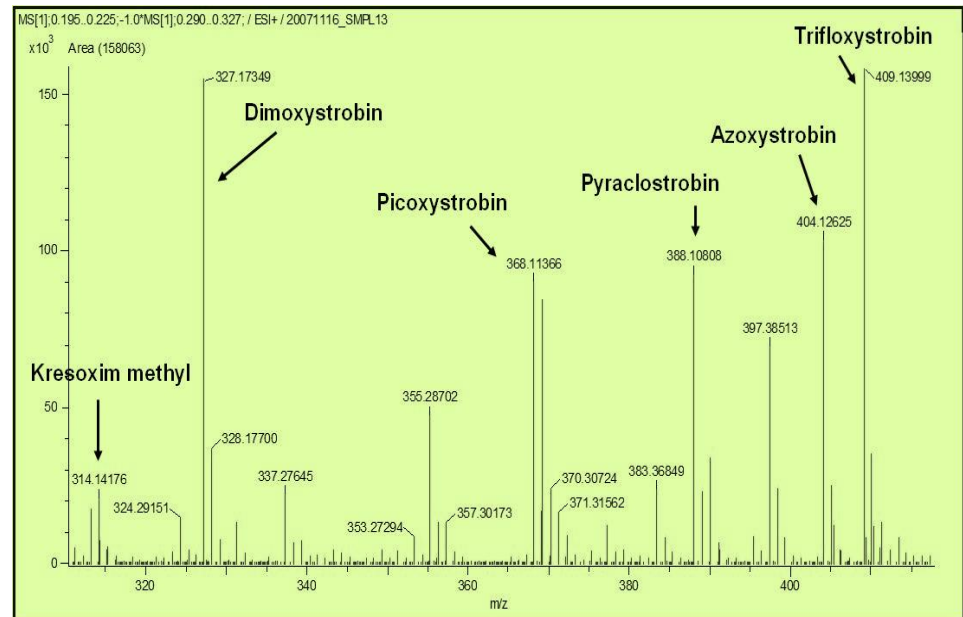
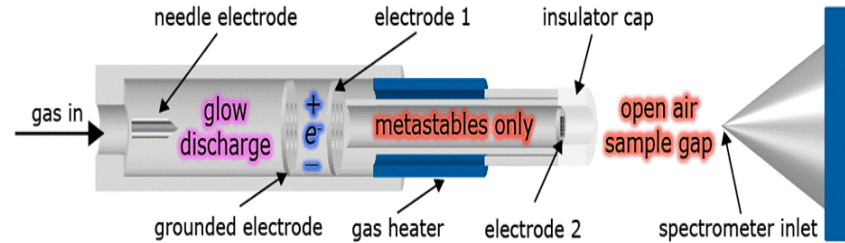
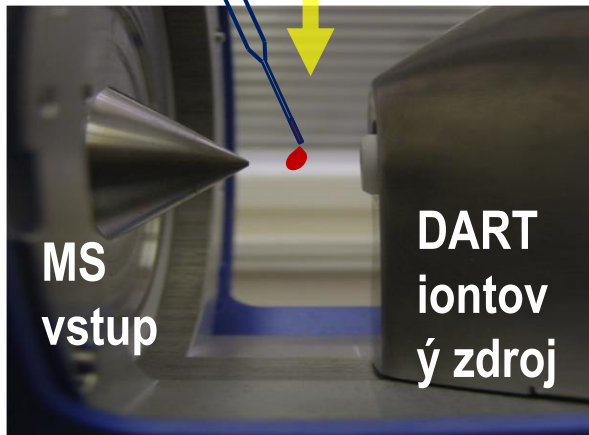
# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## \*spojení CZE - MS\*



# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

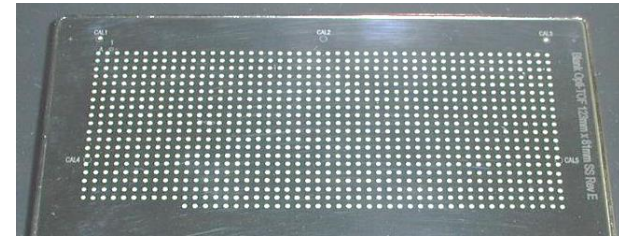
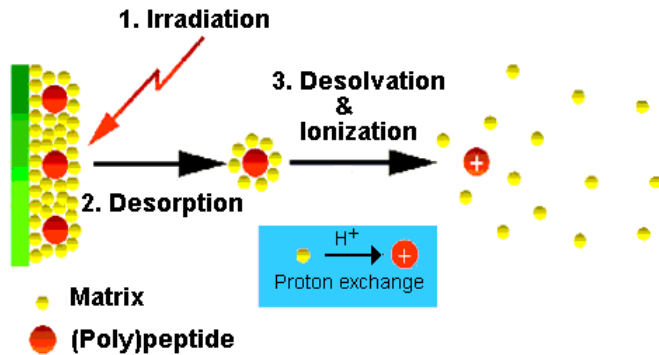
## \*DART / MS\*



# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## \*MALDI / TOF\*

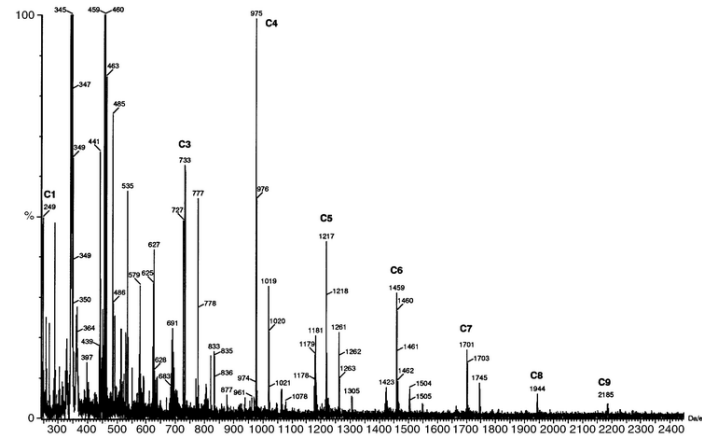
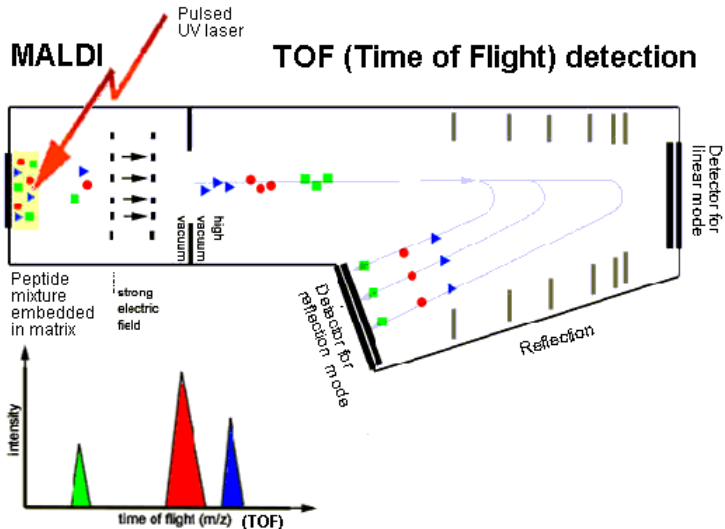
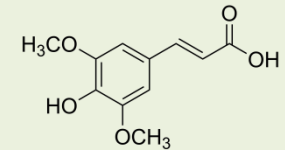
MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization)



*Vhodné matrice - absorbují záření laseru*  
 UV: ( $\text{N}_2$  laser - 337 nm; Nd:YAG laser 355 nm)

IČ: (Er:YAG laser - 2940 nm)

Např. 2,5-dihydroxybenzoová k.,  
 sinapová k.





# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## \*měřicí módy a zpracování dat\*

Technický parametr	Spektrální informace	Interpretační informace
Ionizace	Molekulový ion →→→→→	M
	Pseudomolekulový ion →	M
	Fragmentové ionty →→→→	Struktura molekuly
Hmotnostní separace	Přesná hmota →→→→→	M; elementární složení
	Izotopový klastr →→→→→ molekulového iontu	Velikost náboje; izotopové zastoupení
	Izotopové klastry →→→→ fragmentových iontů	Struktura molekuly
Ukládaná data	Plná spektra →→→→→→→→	Cílená, necílená a retrospektivní analýza
	Vybrané ionty →→→→→→ a MS <sup>n</sup> přechody	Identifikace a kvantifikace konkrétních sloučenin

# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## **\*aplikační možnosti\***

**Prakticky univerzální použitelnost - od vysoce těkavých látek až po vysokomolekulární biopolymery → organická chemie, petrochemie, farmacie, potravinářství...**

**Rutinní analýza – rychlost, spolehlivost, přesnost, identifikace, kvantifikace → inspekční činnost, provozní kontrola**

**Cílená a necílená analýza - inspekční činnost, forenzní analýza, retrospektivní analýza dat**

**Vědecké účely – identifikace, kvantifikace, profilace – spektrální vzory, multivariační analýza dat, metabolomické studie apod.**



**a) Separační metoda + MS:**

**RT, intenzita signálu**

**spektrální informace – identifikace**

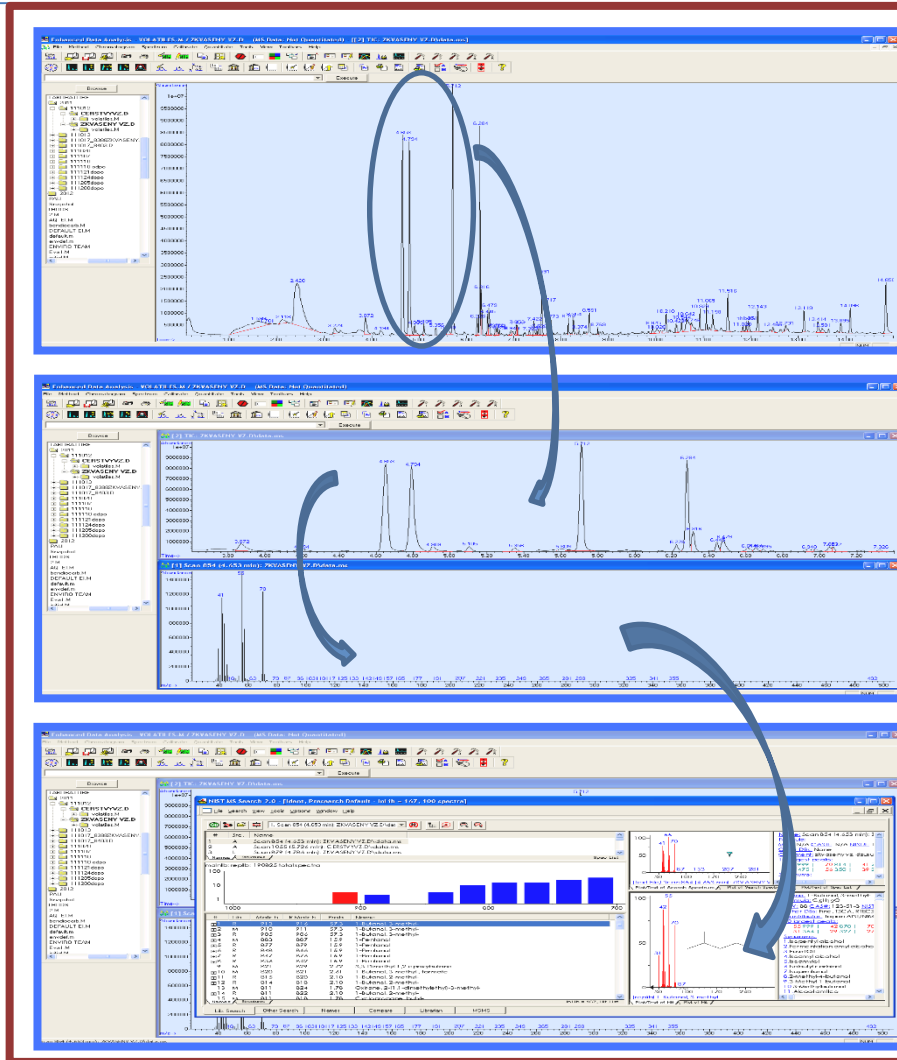
**→ zjednodušení optimalizace metod, vyhodnocení dat  
zrychlení separace – pomocí MS lze rozlišit sloučeniny  
v překrytých elučních zónách**

**b) Přímá MS: směsné spektrum → identifikace markerů**

**profilace → multivariační analýza dat**

# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## Příklad č.1: GC-MS – analýza těkavých látek



Celkový záznam (plnospektrální mód)

Všechny ionty ve zvoleném rozsahu  
hodnot  $m/z$

Celkový proud iontů  
→ total ion current – TIC

Integrace - kvantifikace

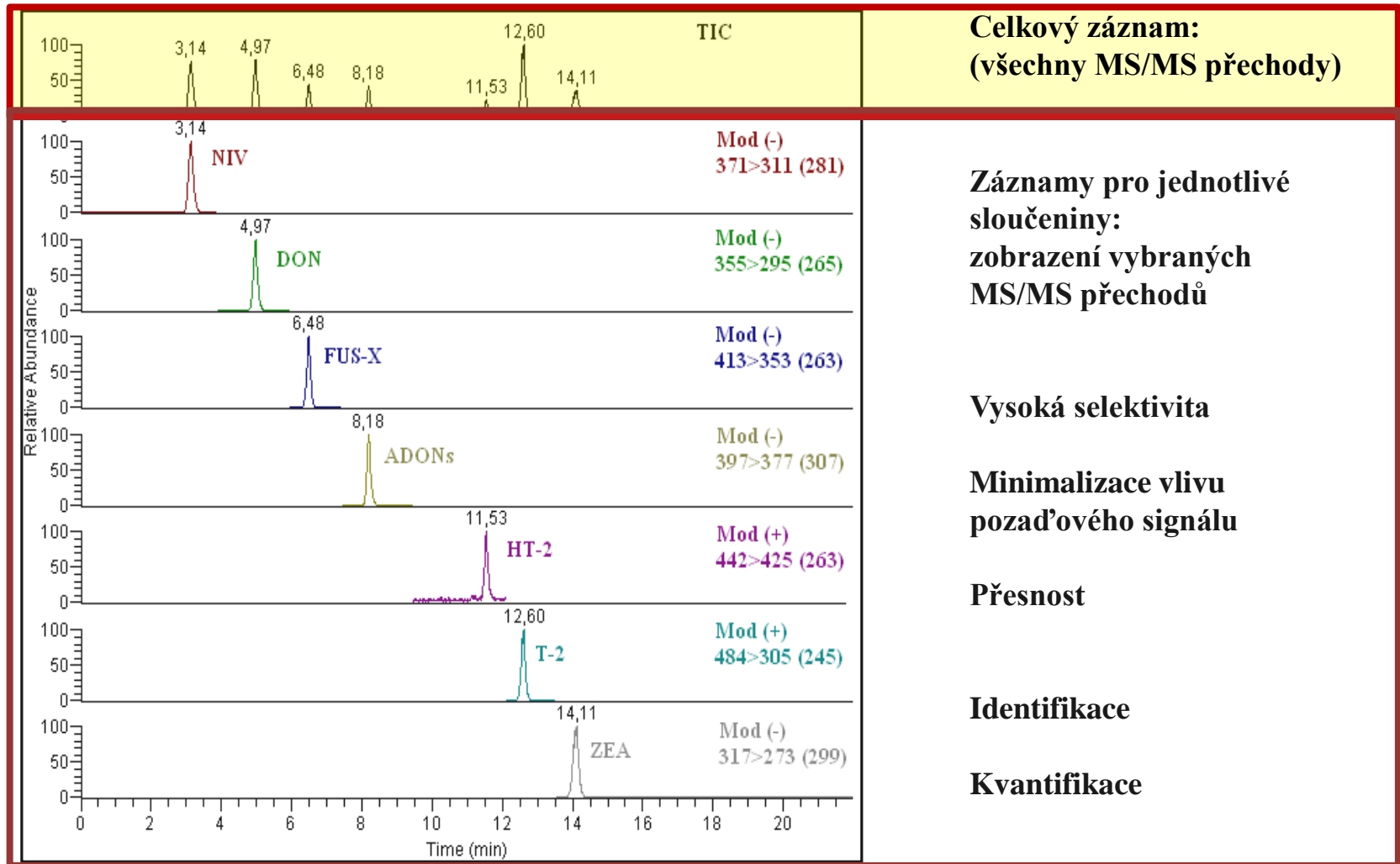
Zobrazení spektra vybrané sloučeniny  
(zvolený RT) - identifikace

Identifikace pomocí knihovny spekter  
→ spektrum + RTI



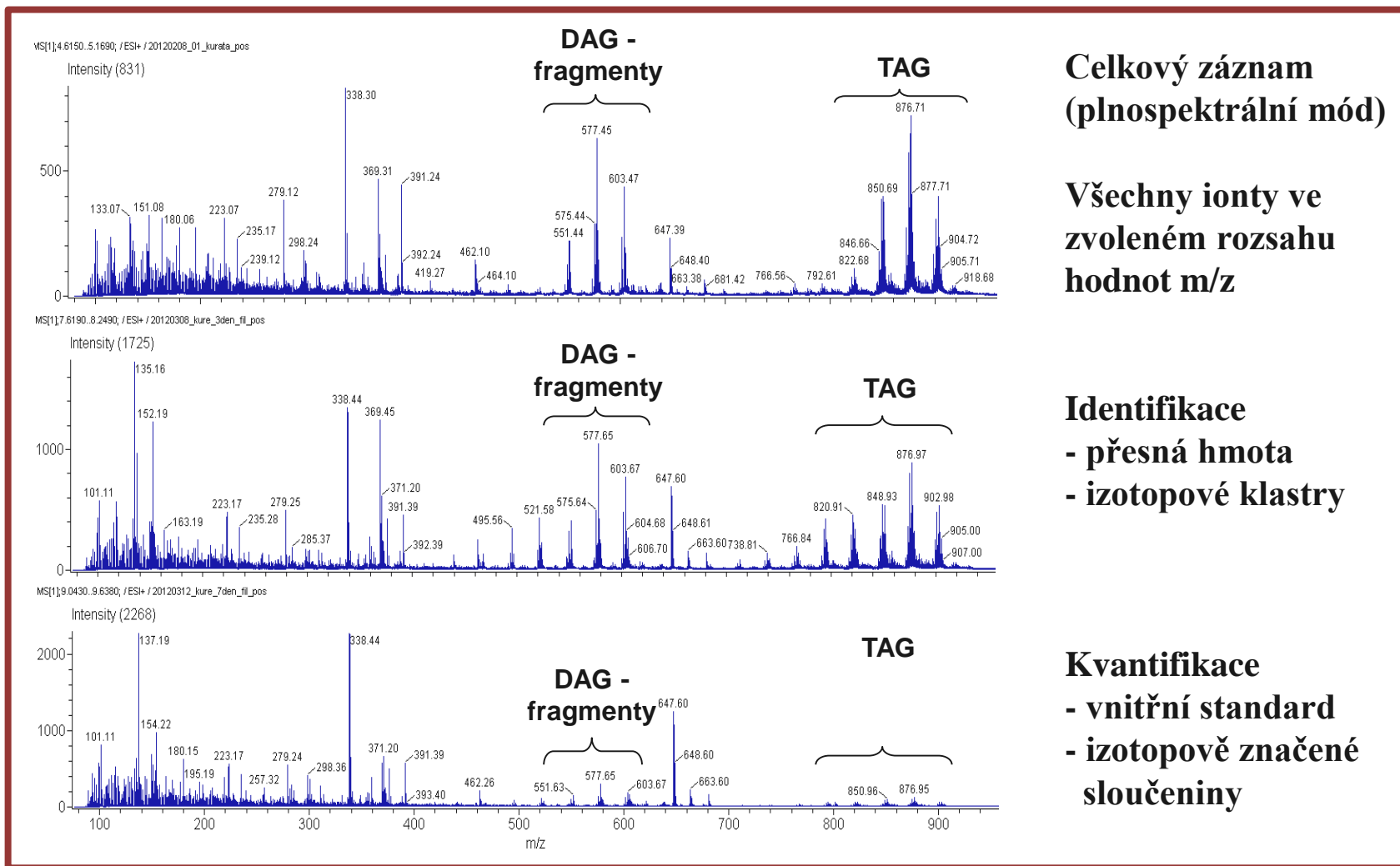
# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## Příklad č.2: LC-MS – analýza mykotoxinů



# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## Příklad č.3: DART/MS – degradace TAG



**Celkový záznam  
(plnospektrální mód)**

**Všechny ionty ve  
zvoleném rozsahu  
hodnot m/z**

**Identifikace  
- přesná hmota  
- izotopové klastry**

**Kvantifikace  
- vnitřní standard  
- izotopově značené  
sloučeniny**

