

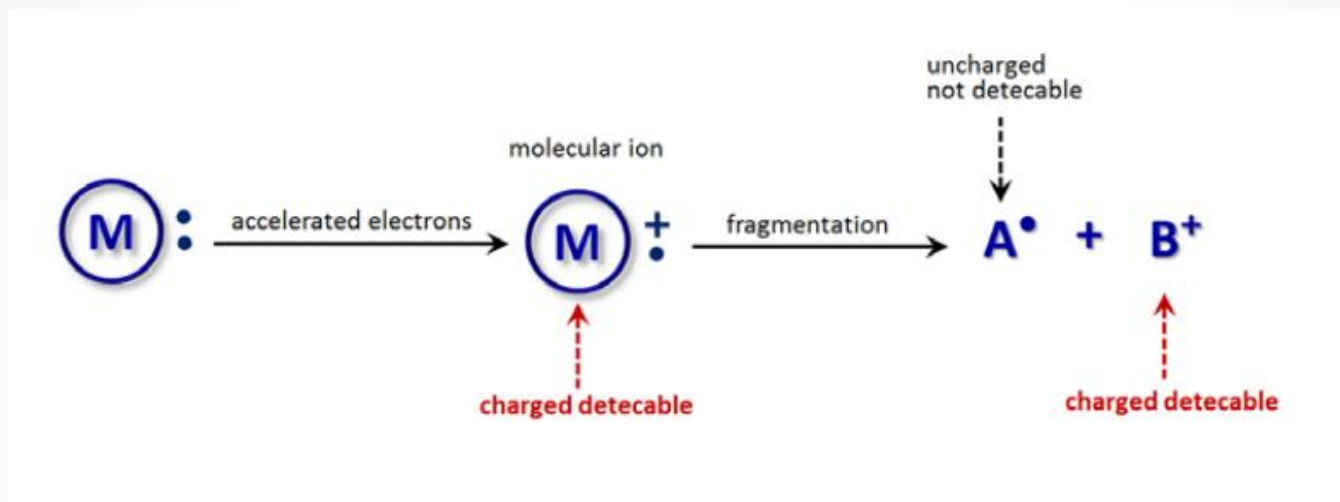
# Σύγχρονες Αναλυτικές Τεχνικές

## Διάλεξη 4

- Φασματομετρία Μαζών
- Συζευγμένες Τεχνικές

**Αλίκη Ντζιφά, PhD**  
**2024**

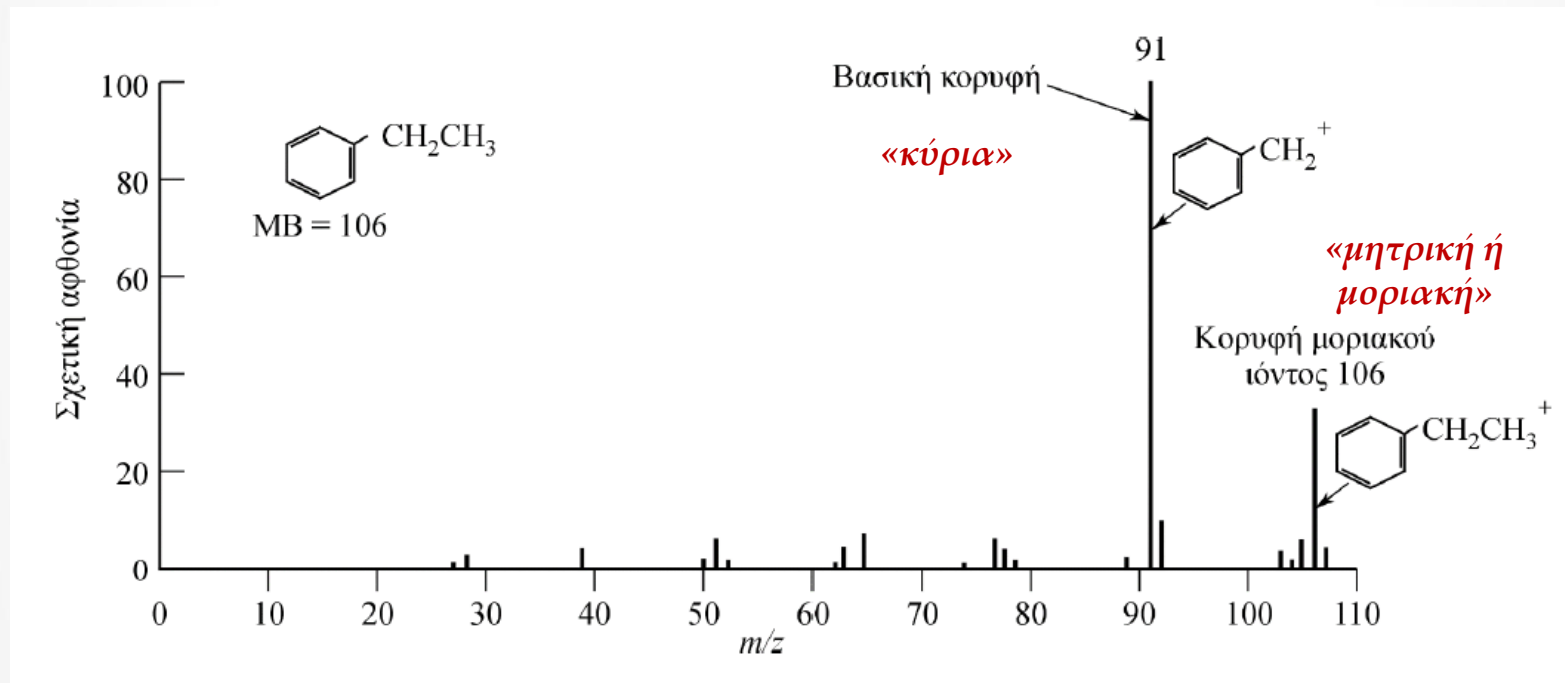
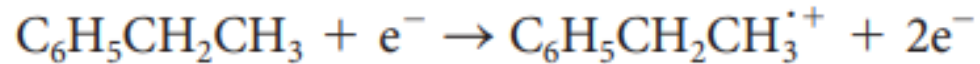
# ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ



- ❑ Ατμοί της ένωσης (π.χ. αιθυλοβενζόλιο) βομβαρδίζονται με δέσμη ηλεκτρονίων
- ❑ Αποσπάται ένα ηλεκτρόνιο από το μόριο του αναλύτη και σχηματίζεται το μοριακό ιόν
- ❑ Το φορτισμένο σωματίδιο  $M$  είναι το μοριακό ιόν (ίδια μοριακή μάζα με το μόριο)
- ❑ Με τη σύγκρουση μεταφέρεται αρκετή ενέργεια στα μόρια-διεγερμένη κατάσταση
- ❑ Κατά την αποδιέγερση γίνεται διάσπαση μέρους των μοριακών ιόντων προς ιόντα μικρότερης μάζας
- ❑ Τα θετικά ιόντα που παράγονται έλκονται μέσω της σχισμής του φασματομέτρου μαζών και διαχωρίζονται ανάλογα με τον λόγο μάζας-προς-φορτίο ( $m/z$ )

# ΦΑΣΜΑ ΜΑΖΩΝ

- διάγραμμα που δείχνει την ένταση του μετρούμενου ρεύματος ως συνάρτηση του λόγου μάζας-προς-φορτίο ( $m/z$ )
- οριζόντιο άξονα έχει το λόγο  $m/z$  και στον κατακόρυφο την σχετική ένταση του λαμβανομένου σήματος

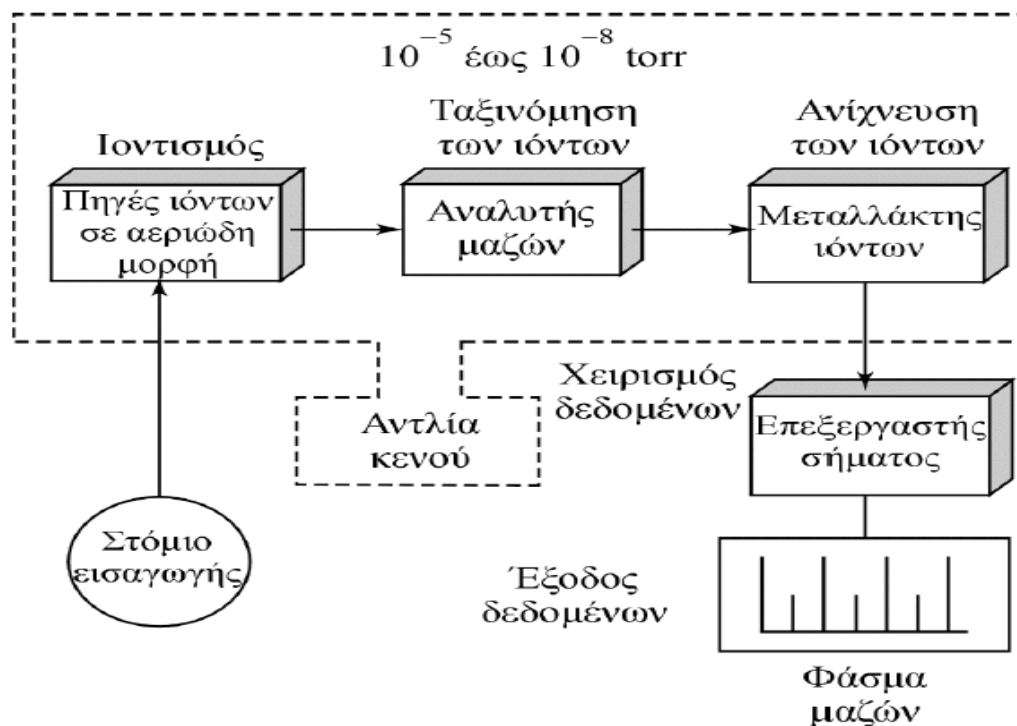


□ Φάσμα μαζών αιθυλοβενζολίου

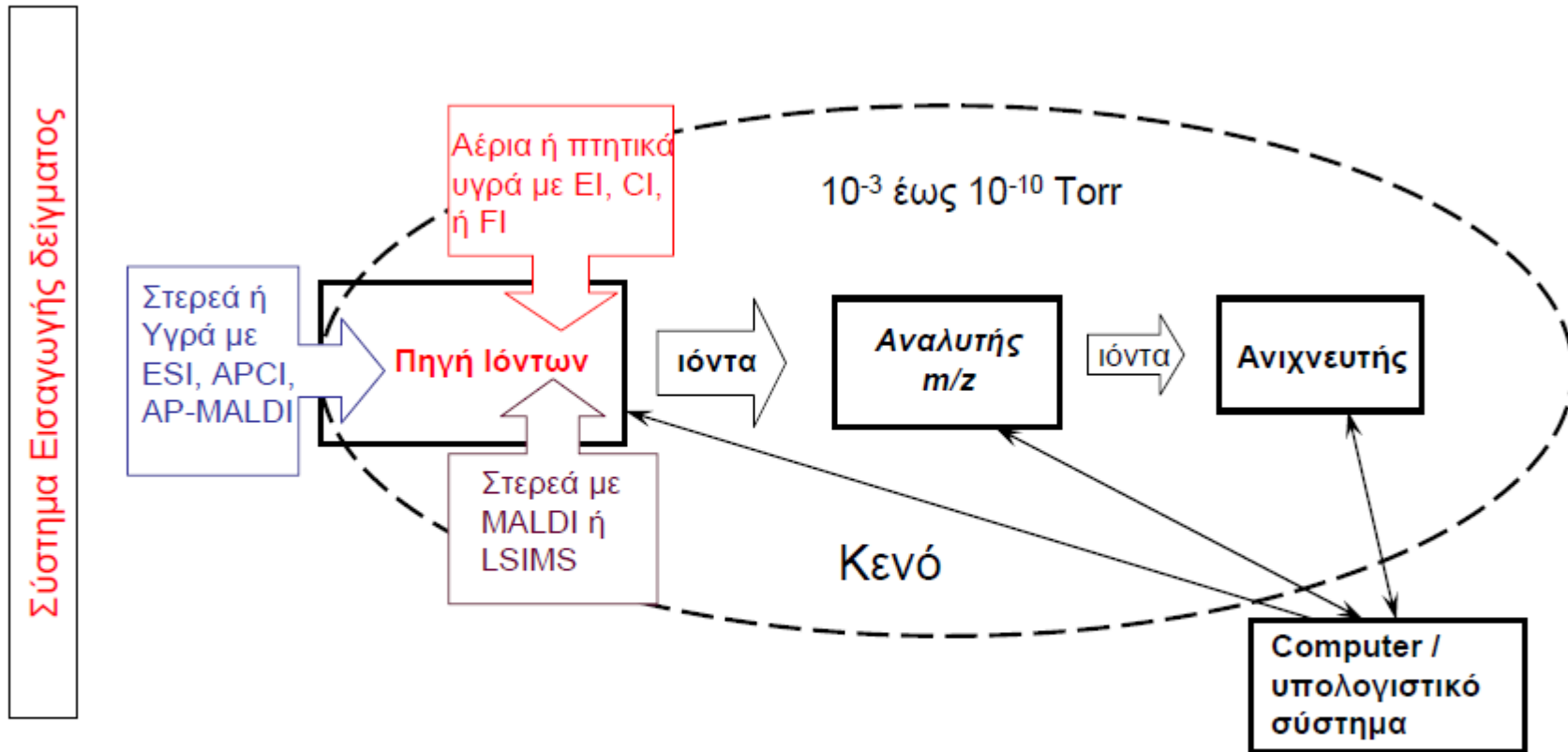
*\*Άλλες κορυφές: θυγατρικές, ισοτόπων, θορύβου υποστρώματος*

# ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΩΝ

- ❑ Αρχικό στάδιο μιας μέτρησης με MS ο σχηματισμός ιόντων του αναλύτη σε αέρια φάση
- ❑ Η μορφή του φάσματος μαζών εξαρτάται πολύ από την επιλογή της πηγής ιόντων
- ❑ Για την ίδια ένωση, το λαμβανόμενο φάσμα μπορεί να είναι εντελώς διαφορετικό με εφαρμογή διαφορετικών τεχνικών και συνθηκών ιονισμού



# ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΩΝ



Στο τμήμα αυτό λαμβάνει χώρα ο ιοντισμός του δείγματος

# ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΩΝ

Οι τεχνικές αυτές χωρίζονται σε δυο κατηγορίες:

- i. σκληρές
- ii. μαλακές

i. Στις **σκληρές** τεχνικές μεταδίδεται μεγάλη ποσότητα ενέργειας στα μόρια του αναλύτη και έτσι ανεβαίνουν σε υψηλότερη διεγερμένη κατάσταση. Η αποδιέγερση που ακολουθεί οδηγεί σε σπάσιμο δεσμών και παραγωγή θυγατρικών ιόντων (θραύσματα) με λόγους  $m/z$  μικρότερους από το μητρικό ιόν.

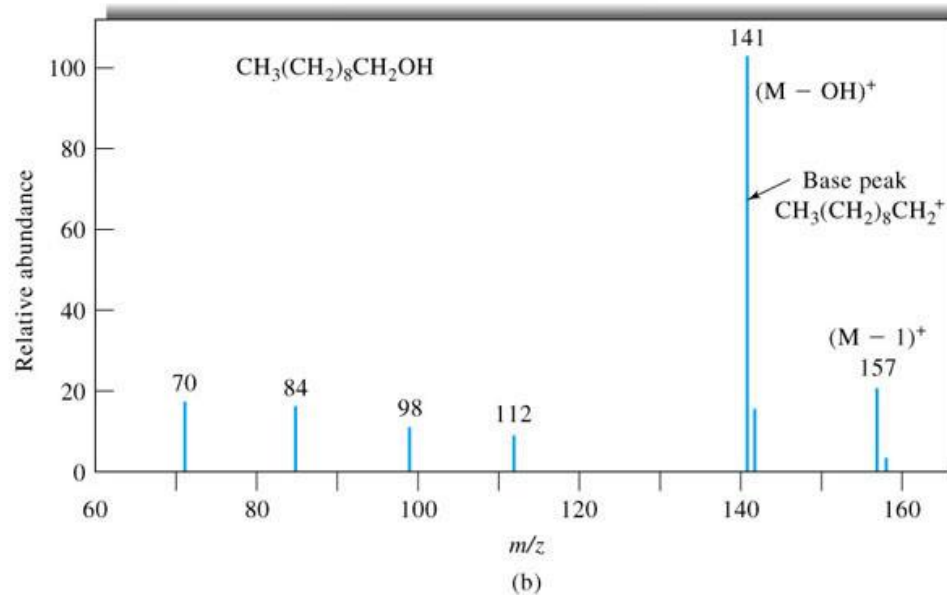
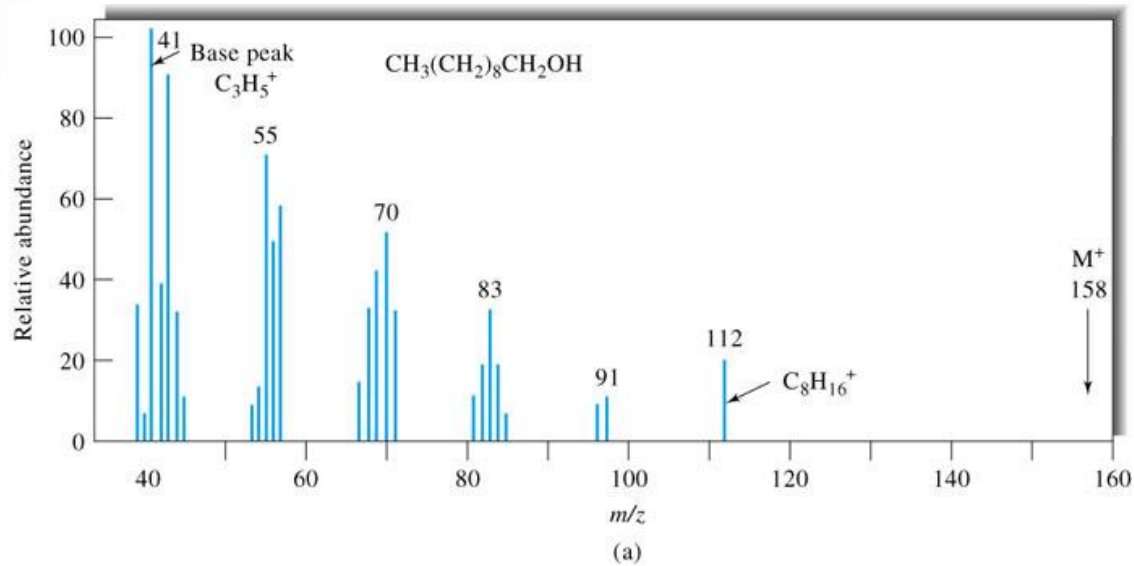
- ✓ Οι πολλές κορυφές μας πληροφορούν για το ποιες χαρακτηριστικές ομάδες υπήρχαν στο αρχικό μόριο και άρα αποκτούμε μια σαφή εικόνα της δομής του

ii. Στις **μαλακές** τεχνικές ο ιοντισμός επιτυγχάνεται με ηπιότερες συνθήκες από αυτές των σκληρών, με αποτέλεσμα να έχουμε περιορισμένη θραύση των μορίων του αναλύτη και στο λαμβανόμενο φάσμα να υπάρχει μια κύρια κορυφή, του μοριακού ιόντος, και ένα μικρό πλήθος επιπλέον κορυφών που αντιστοιχούν στα προϊόντα θραύσης.

- ✓ τα φάσματα μας δίνουν την δυνατότητα να υπολογίσουμε με μεγάλη ακρίβεια τη σχετική μοριακή μάζα των μορίων του αναλύτη

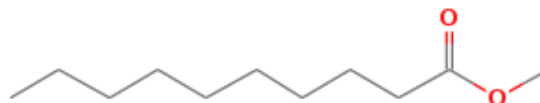
# ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΩΝ

- Φάσμα μαζών 1-δεκανόλης
- Διαφορές μαλακής και σκληρής πηγής

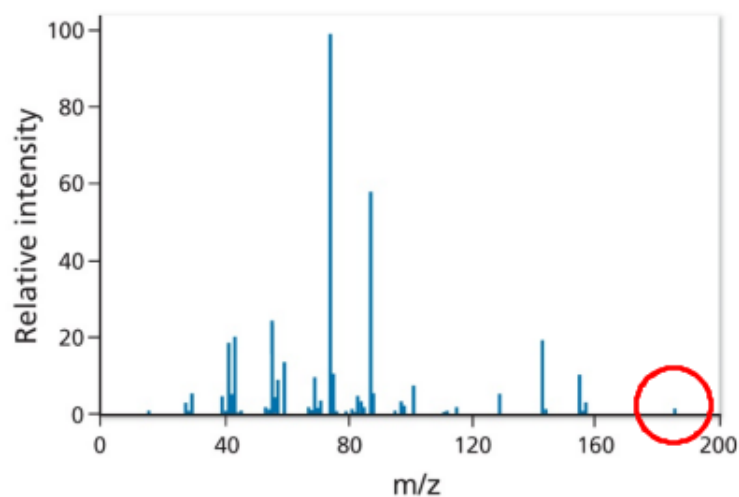


# ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΩΝ

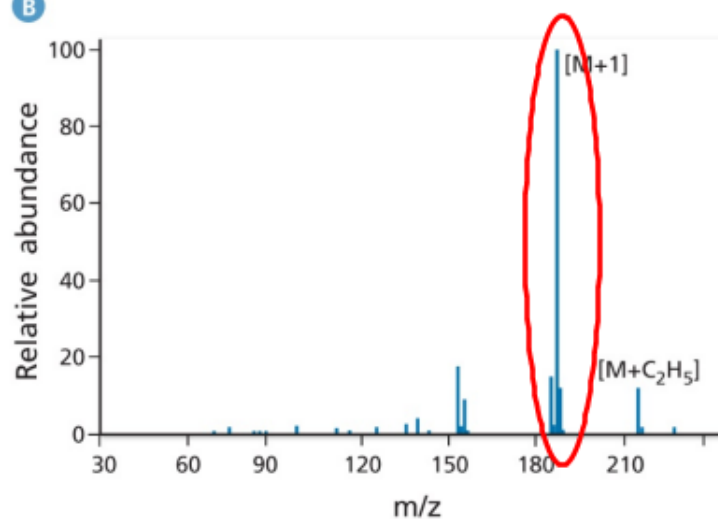
## Comparison: Hard and soft ionization



**A** Decanoic acid, methyl ester mass spectrum



**B**



**Figure 13.3** Mass spectra of the methyl ester of decanoic acid ( $C_{11}H_{22}O_2$ , 186.3 g/mol) obtained using (A) electron ionization (a hard ion source) and (B) chemical ionization (a soft ion source).



# ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΩΝ

## 1) Πηγές αέριας φάσης

✓ *το αναλυόμενο δείγμα μετατρέπεται σε αέριο και μετά ιοντίζεται*

- Ηλεκτρονιακού ιοντισμού ή Πρόσκρουσης ηλεκτρονίων (Electron Impact/ Ionization, EI)
- Χημικού ιοντισμού (Chemical Ionization, CI)

## 2) Πηγές εκρόφησης

✓ *το στερεό ή υγρό δείγμα απορροφά ενέργεια από κάποια πηγή και τα μόρια του εκροφούνται και μετατρέπονται κατευθείαν σε ιόντα που βρίσκονται στην αέρια φάση*

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

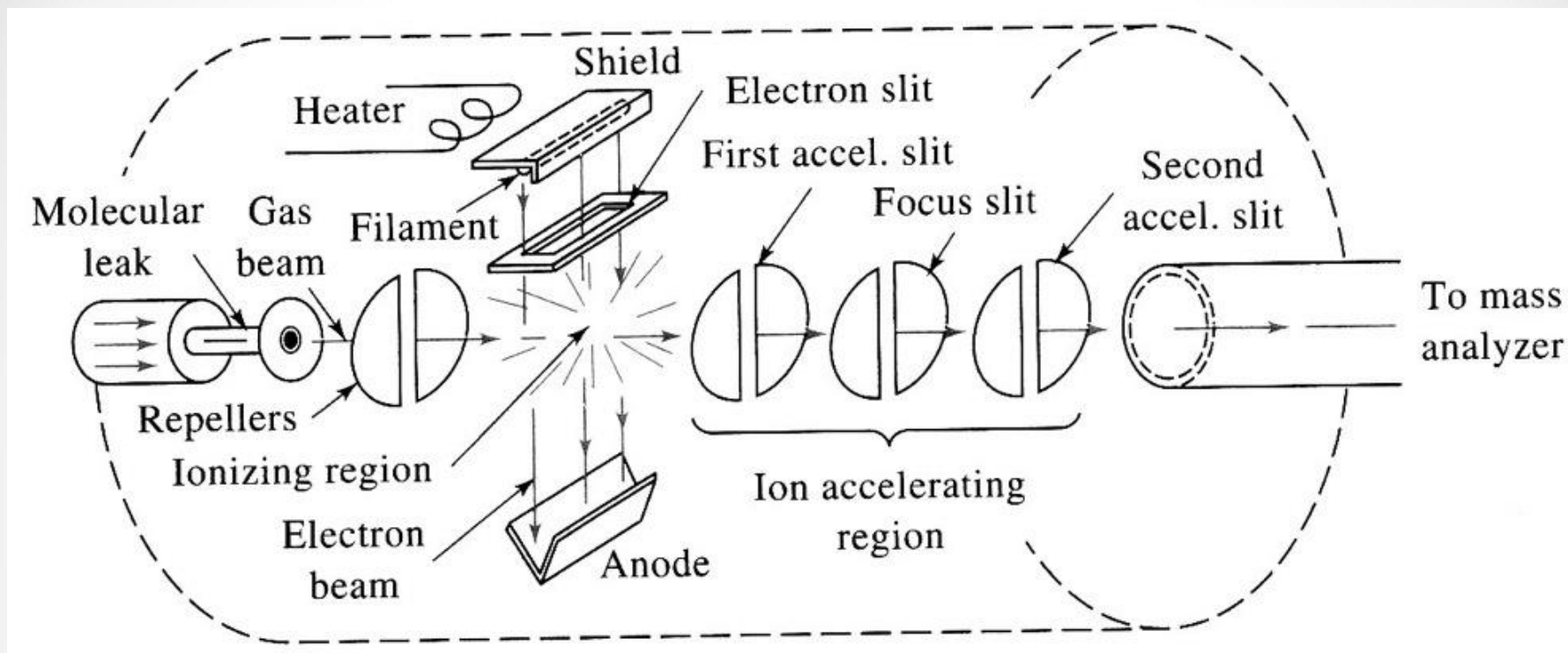
# ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΩΝ

| Ομάδα        | Όνομα και συντομογραφία                                                                                  | Τρόπος ΙΟΝισμού                    |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Αέριας φάσης | Πρόσκρουσης ηλεκτρονίων (electron impact-EI)                                                             | Ηλεκτρόνια μεγάλης ενέργειας       |
| Αέριας φάσης | Χημικός ιονισμός (chemical ionization- CI)                                                               | Αντιδραστήρια-ιόντα σε αέρια φάση  |
| Αέριας φάσης | Ιονισμός ηλεκτρικού πεδίου (field ionization-FI)                                                         | Ηλεκτρόδιο υψηλού δυναμικού        |
| Εκρόφησης    | Εκρόφησης πεδίου (field desorption- FD)                                                                  | Ηλεκτρόδιο υψηλού δυναμικού        |
| Εκρόφησης    | Ψεκασμός σε ηλεκτρικό πεδίο ( electrospray ionization-ESI)                                               | Ισχυρό ηλεκτρικό πεδίο             |
| Εκρόφησης    | Εκρόφησης πλάσματος (plasma desorption-PD)                                                               | Θραύσματα σχάσης $^{252}\text{Cf}$ |
| Εκρόφησης    | Ιοντισμός με θερμοψεκασμό (thermospray ionization-TS)                                                    | Υψηλή θερμοκρασία                  |
| Εκρόφησης    | Βομβαρδισμός με άτομα μεγάλης ταχύτητας (fast atom bombardment-FAB)                                      | Δέσμη ατόμων μεγάλης ενέργειας     |
| Εκρόφησης    | Ιονισμός εκρόφησης με τη βοήθεια υλικού υποστρώματος (matrix assisted laser desorption ionization-MALDI) | Ακτίνα λέιζερ                      |
| Εκρόφησης    | Φασματομετρία μαζών δευτερογενούς ιόντος (secondary ion Mass Spectrometry-SIMS)                          | Δέσμη ιόντων μεγάλης ενέργειας     |

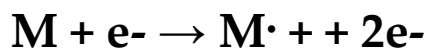
# Ηλεκτρονιακός Ιοντισμός -EI

- Παλαιότερη ονομασία: Ιοντισμός με πρόσκρουση ηλεκτρονίων-EI
  - Θεωρείται μια κλασική μέθοδος.
  - Χρησιμοποιείται συνήθως για την ανάλυση των χαμηλής σχετικής μοριακής μάζας( μικρότερης περίπου των  $10^3$  Da) , πτητικών, θερμικά σταθερών οργανικών ενώσεων που είναι δύσκολο να ιονιστούν με άλλες τεχνικές.
  - Η EI είναι ιδιαίτερα χρήσιμη όταν συνδυάζεται με αέρια χρωματογραφία (GC-MS).
  - Υπάρχουν καταγεγραμμένες βιβλιοθήκες φασματικών δεδομένων μαζών (NIST-National Institute of Standards and Technology-  
<https://chemdata.nist.gov/>)
- 
- **Το δείγμα φέρεται σε πολύ υψηλή θερμοκρασία ώστε να δημιουργηθεί νέφος μορίων**
  - **Έπειτα, τα μόρια βομβαρδίζονται με δέσμη ηλεκτρονίων μεγάλης ενέργειας και ιοντίζονται**

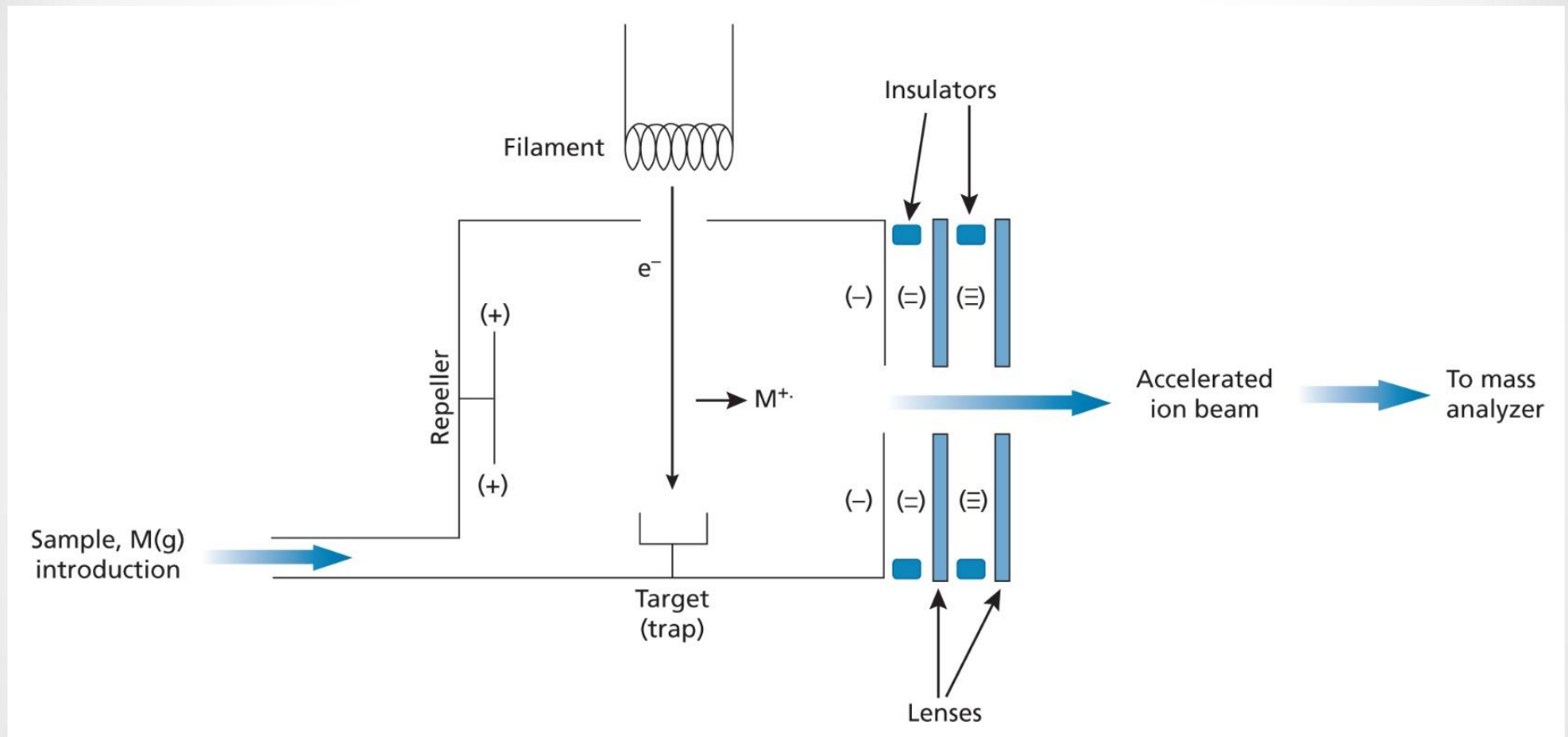
# Ηλεκτρονιακός Ιοντισμός -EI



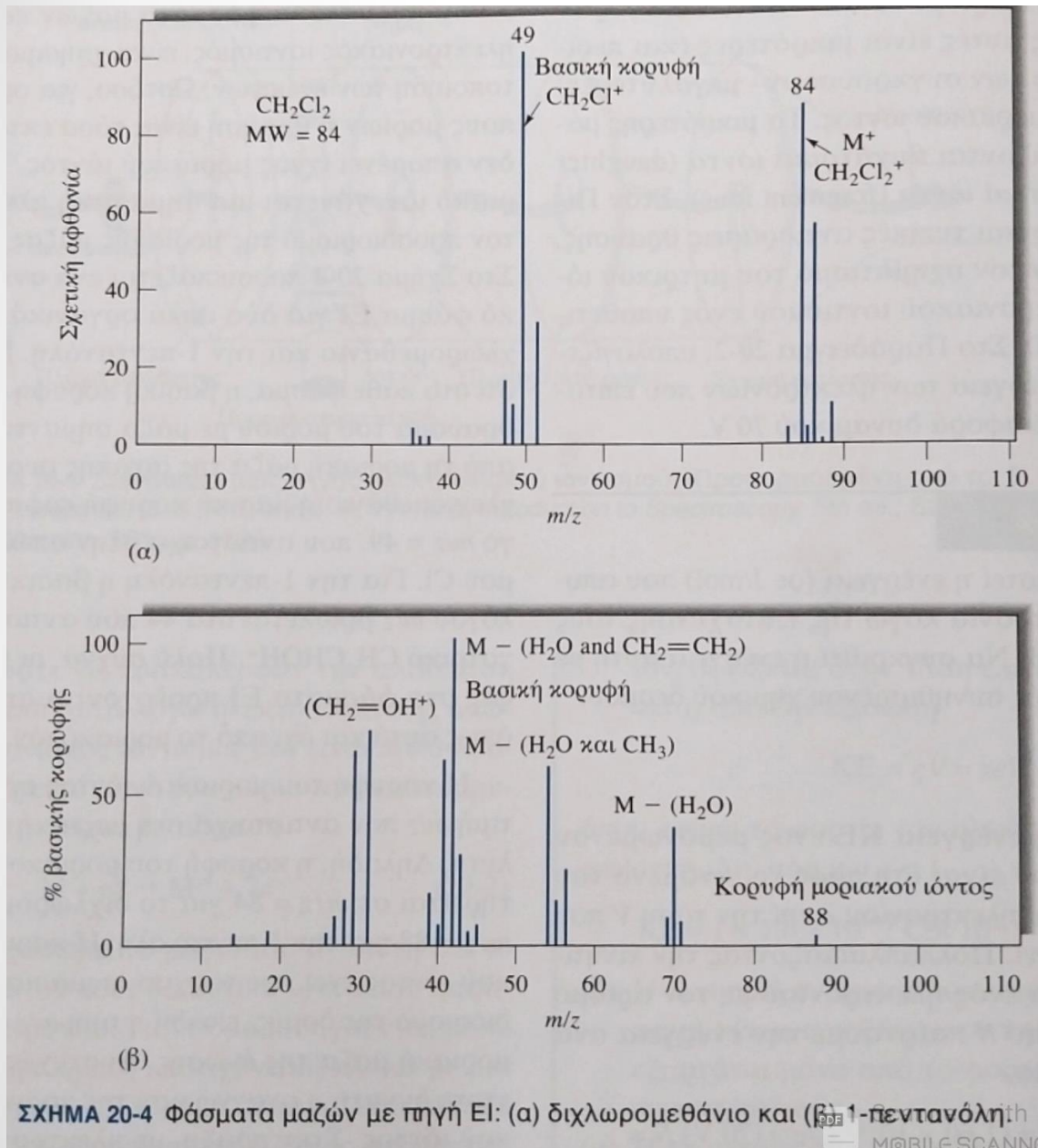
- Τα  $e^-$  εκπέμπονται από ένα θερμαινόμενο νήμα (W ή Re) και επιταχύνονται με τάση περίπου 70V μεταξύ νήματος και ανόδου- αποκτούν ενέργεια 70eV
- Στο κέντρο της πηγής διασταυρώνονται σε ορθή γωνία οι διαδρομές μορίων και  $e^-$
- Προκύπτουν μονοφορισμένα θετικά ιόντα λόγω απόσπασης  $e^-$
- Οδηγούνται μέσω σχισμής στην 1η επιταχυντική πλάκα και διαδοχικά στον αναλυτή μάζας



# Ηλεκτρονικός Ιοντισμός -EI



# Φάσματα EI-MS

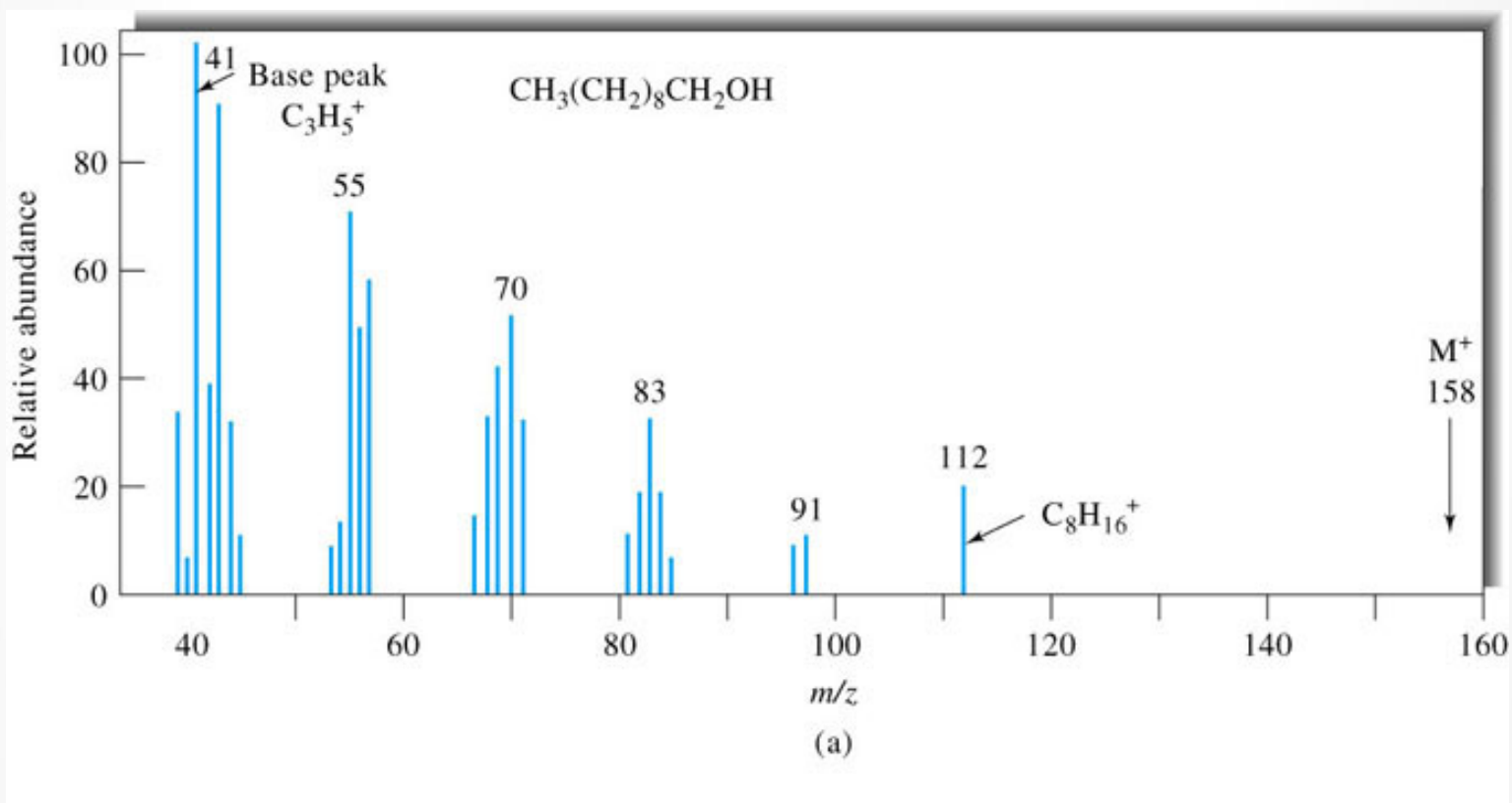


- Για ορισμένους τύπους μορίων η θραύση είναι τόσο εκτεταμένη που δεν απομένει ίχνος μοριακού ιόντος-χάνεται σημαντική πληροφορία
- Η κορυφή του μοριακού ιόντος έχει πρωταρχική σημασία για τον προσδιορισμό της δομής

ΣΧΗΜΑ 20-4 Φάσματα μαζών με πηγή EI: (α) διχλωρομεθάνιο και (β) 1-πεντανόλη

# Φάσματα EI-MS

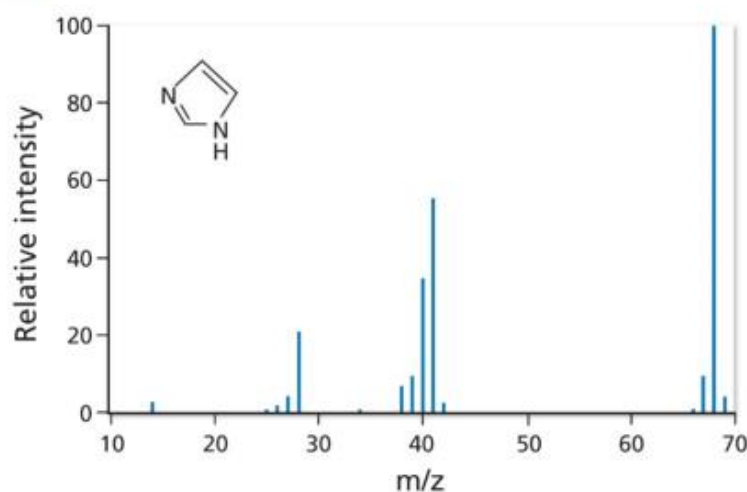
- Πρακτικά, ορισμένα μόρια δεν εμφανίζουν κορυφή μοριακού ιόντος
- Παράδειγμα 1-δεκανόλης



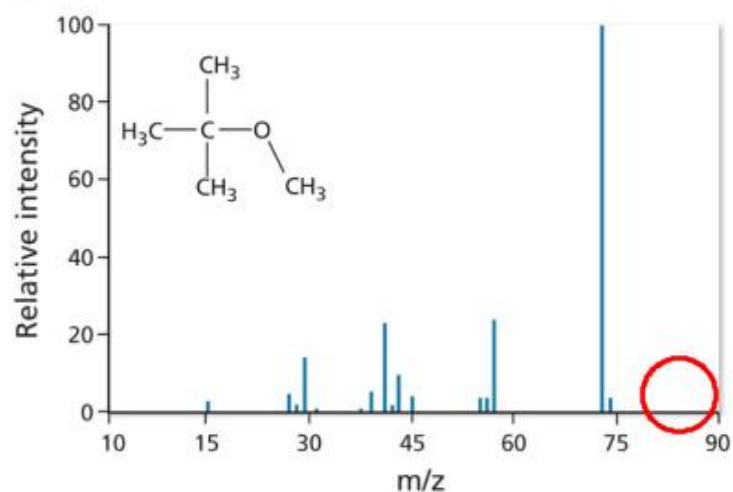
# Φάσματα ΕΙ-MS

## Hard ionization source - Electron Impact

A 1H-imidazole mass spectrum



B 2-methoxy-2-methylpropane mass spectrum



**Figure 13.2** Mass spectra of selected compounds obtained using electron impact ionization: (A) imidazole ( $C_3H_4N_2$ , 68.08 g/mol), showing a clear precursor ion signal peak; and (B) methyl *tert*-butyl ether (MTBE) ( $C_5H_{12}O$ , **88.15** g/mol), in which a signal from the precursor ion is not observed.



# Φάσματα EI-MS

## Ισοτοπικές κορυφές

Ιόντα που έχουν τον ίδιο χημικό τύπο αλλά διαφορετική ισοτοπική σύσταση

Π.χ. δαχλωρομεθάνιο

Το ύψος των κορυφών εξαρτάται από τη φυσική αφθονία των ισοτόπων

Π.χ  $m/z=107$   $^{13}\text{C}$  σε μερικά μόρια, μικρής έντασης λόγω μικρής πιθανότητας παρουσίας πάνω από ένα άτομο  $^{13}\text{C}$

## Κορυφές προϊόντων σύγκρουσης

Οι συγκρούσεις ιόντων-μορίων –κορυφές με μεγαλύτερη τιμή  $m/z$

Σε συνηθισμένες πιέσεις, η πιο σημαντική αντίδραση όταν μεταφέρεται ένα άτομο H στο ιόν –σχηματισμός πρωτονιωμένου μοριακού ιόντος με έντονη κορυφή  $[M+1]^+$

# Ηλεκτρονιακός Ιοντισμός -ΕΙ

## **ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

- Εύχρηστες, μεγάλα ρεύματα ιόντων άρα μεγάλη ευαισθησία
- Καθιερωμένη και επαρκώς μελετημένη τεχνική
- Μπορεί να εφαρμοστεί πρακτικά σε όλα τα πτητικά μόρια
- Επαναλήψιμο φάσμα μαζών
- Η θραυσματοποίηση χρησιμοποιείται για ταυτοποίηση δομής
- Αποτελεί τη βάση για την ανάπτυξη βιβλιοθηκών φασμάτων μαζών που περιέχουν το «αποτύπωμα» κάθε ένωσης

## **ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

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

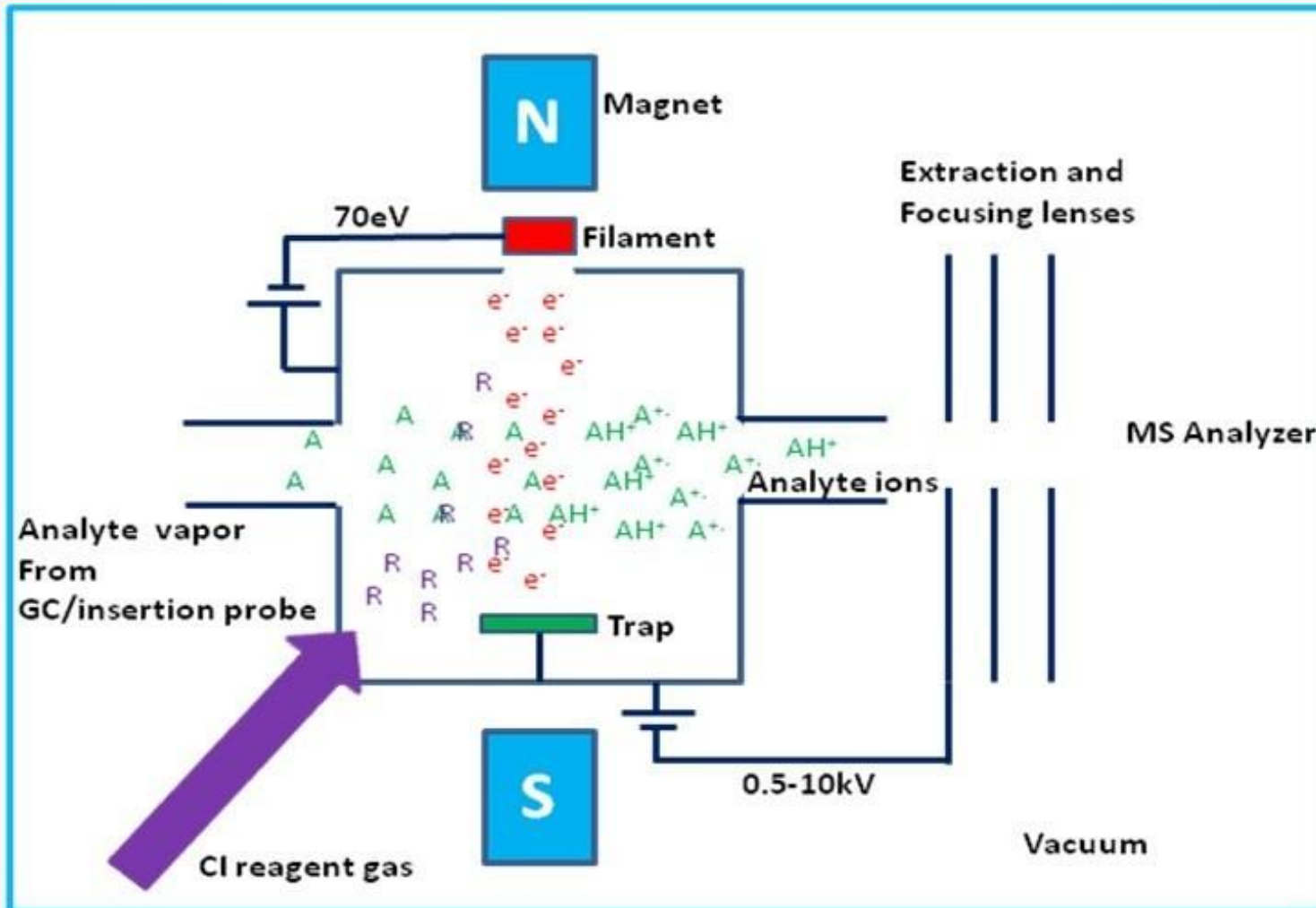
## **ΕΦΑΡΜΟΓΗ:**

- Η πλέον χρησιμοποιούμενη πηγή ιόντων στην τεχνική GC-MS (Q ή IT) για τον προσδιορισμό μη πολικών μορίων χαμηλής μοριακής μάζας ( $< 10^3$  Da).

# Χημικός ιοντισμός-CI

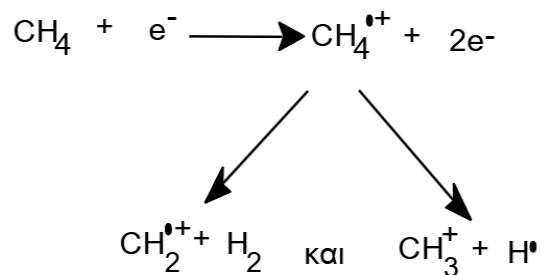
- Ο δεύτερος πιο διαδεδομένος τρόπος παραγωγής ιόντων στην MS
- **βομβαρδισμό ενός αερίου αντιδραστηρίου (συχνά CH<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub> ή N<sub>2</sub>) με e<sup>-</sup> υψηλής ενέργειας με αποτέλεσμα το σχηματισμό ιόντων του αντιδραστηρίου**
- **Τα αέρια μόρια του δείγματος (κατευθείαν από την είσοδο ή το θερμαντικό στοιχείο) ιοντίζονται μέσω της σύγκρουσής τους με ιόντα αερίου αντιδραστηρίου με αντιδράσεις μεταφοράς πρωτονίων ή φορτίου, προσθήκης, ακόμα και πυρηνόφιλης υποκατάστασης**
- Συνήθως, χρησιμοποιούνται θετικά ιόντα
- Όταν οι αναλύτες περιέχουν πολύ ηλεκτραρνητικά άτομα τότε ο CI με αρνητικά ιόντα
- Η πίεση του αντιδραστηρίου στην περιοχή ιοντισμού είναι της τάξης του 1 Torr, ενώ η πίεση του αναλύτη είναι πολύ χαμηλή κάτω από 10<sup>-5</sup>Torr.
- Η διαφορά των συγκεντρώσεων αντιδραστηρίου-αναλύτη είναι πολύ μεγάλη, οπότε η δέσμη των ηλεκτρονίων δεν προκαλεί ιονισμό στα μόρια του αναλύτη
- Προϋπόθεση: ο λόγος [αντιδραστηρίου]/[δείγματος]= 10<sup>3</sup> -10<sup>4</sup>
- CI Χαμηλής πίεσης: 10<sup>-3</sup> – 10<sup>-4</sup> Torr, ιδανική για GC-MS
- CI Ατμοσφαιρικής πίεσης: APCI, ιδανική για LC-MS

# Χημικός ιοντισμός-CI

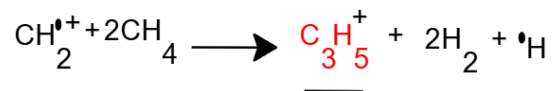
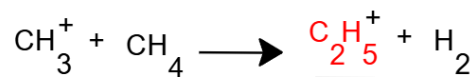
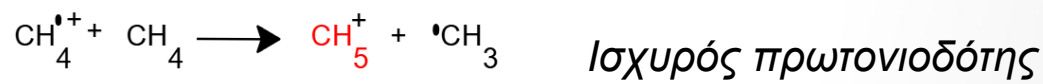


# Χημικός ιοντισμός-CI

- ❑ Τα φάσματα που προκύπτουν από την τεχνική CI μας "δείχνουν" καλά διαχωρισμένες κορυφές ιόντων  $(M+H)^+$  ή  $(M-H)^+$ , που προέκυψαν με μεταφορά πρωτονίου ή υδριδίου αντίστοιχα παρουσία του ιόντος του αντιδραστηρίου
- ❑ Συνήθως χρησιμοποιείται μεθάνιο που αντιδρά με  $e^-$  υψηλής ενέργειας και παράγει τα εξής ιόντα:



- ❑ Αυτά αντιδρούν ταχέως με επιπλέον μόρια μεθανίου:



*Ιοντίζουν μέσω συγκρούσεων και παραγωγής συμπλόκων*

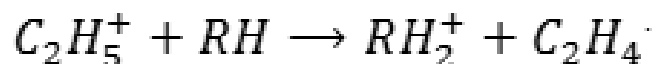
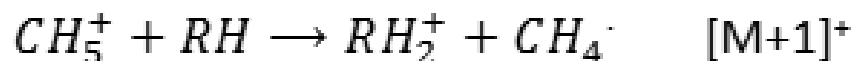
# Χημικός ιοντισμός-CI

## □ Τύποι χημικού ιοντισμού:

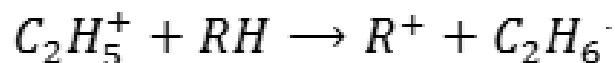
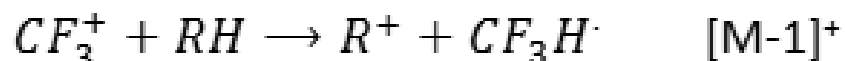
### Μεταφοράς φορτίου



### Μεταφοράς πρωτονίου



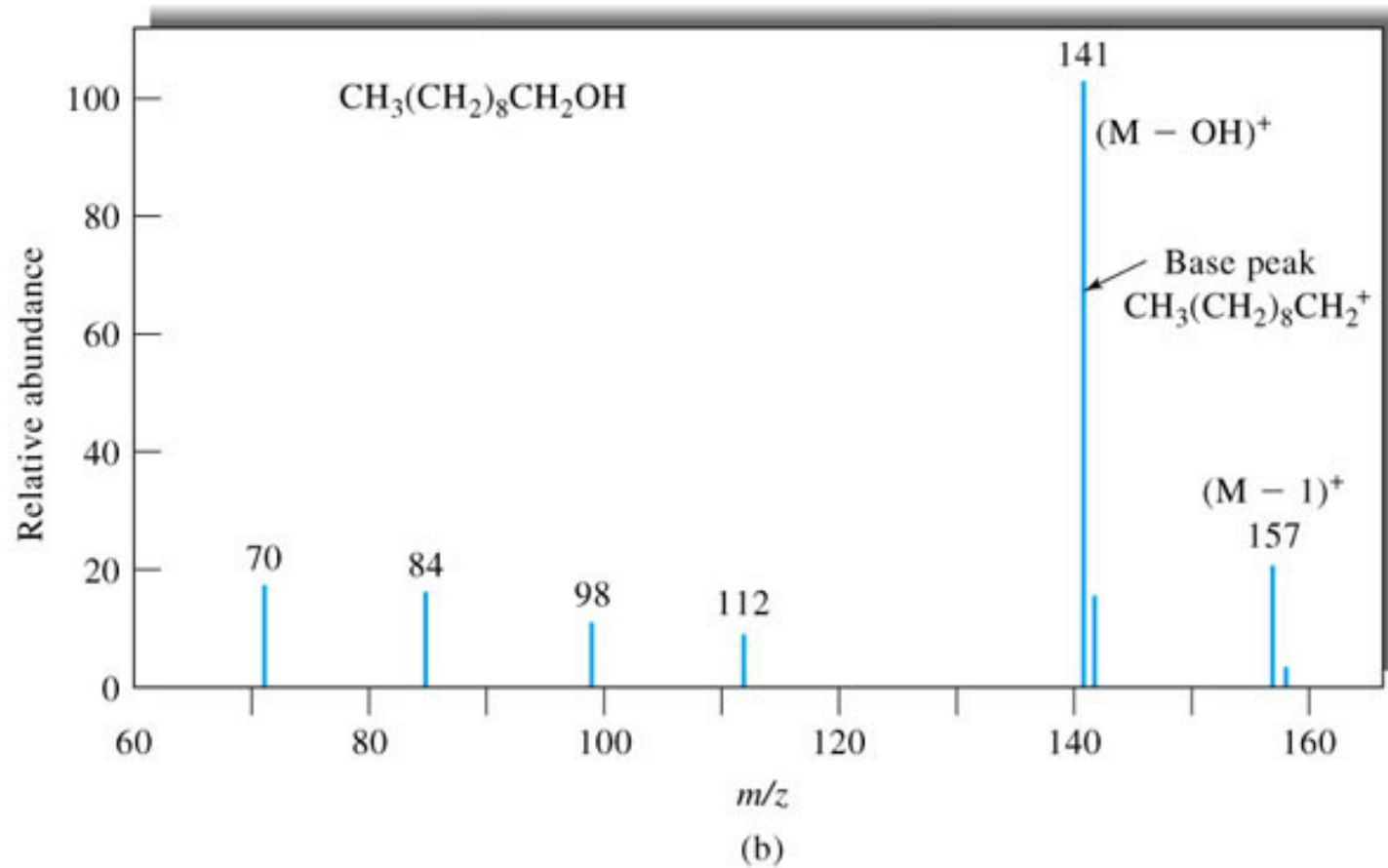
### Απόσπασης υδριδίου



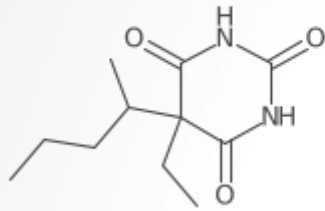
### Παραγωγής ιοντικών συμπλόκων μετά από σύγκρουση



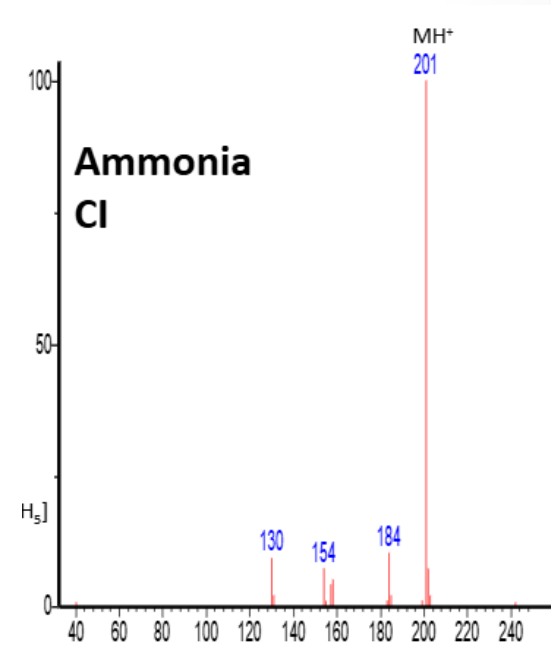
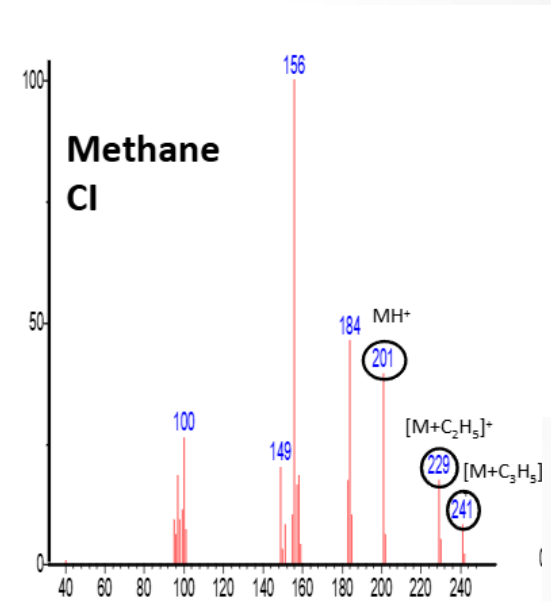
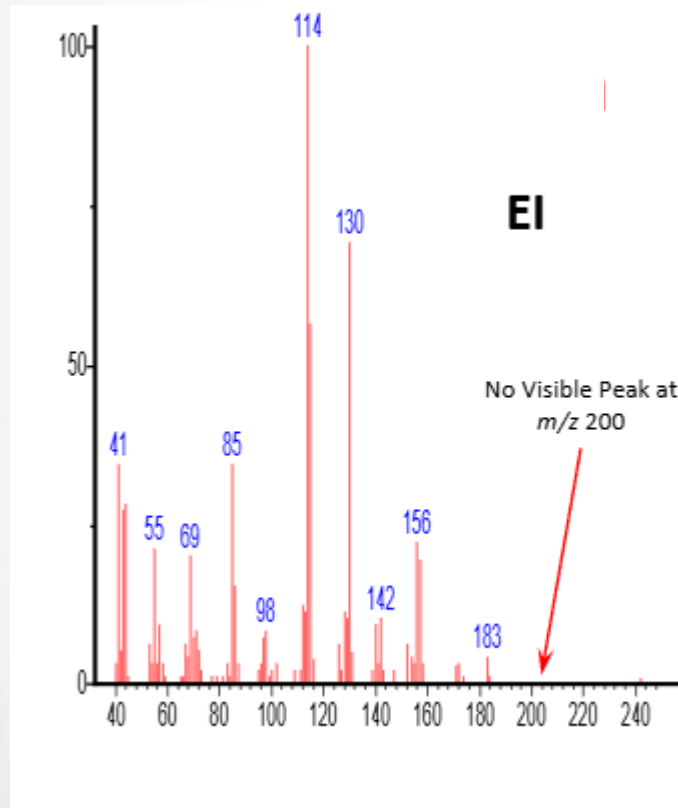
# Φάσματα CI-MS



# Φάσματα CI-MS



Πεντοβαρβιτάλη  
MB=200





# Χημικός ιοντισμός-CI

## **ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

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

## **ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

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

## **ΕΦΑΡΜΟΓΗ:**

- Χρησιμοποιείται στην τεχνική GC-MS (Q ή IT) για τον προσδιορισμό μη πολικών μορίων χαμηλής μοριακής μάζας ( $< 1000$  Da).
- Χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο σήμερα σαν εργαλείο επιβεβαίωσης της τιμής της σχετικής μοριακής μάζας, διευκρίνησης της δομής πολλών οργανικών ενώσεων ακόμη και των διαφορών των ισομερών ενώσεων

# Πηγές εκρόφησης

- Οι τεχνικές ιοντισμού αέριας φάσης δεν μπορούν να εφαρμοστούν σε μη πτητικά ή θερμικώς ασταθή δείγματα
- Εναλλακτικά χρησιμοποιούνται οι τεχνικές ιοντισμού με εκρόφηση
- Φάσματα μαζών θερμικώς ευαίσθητων ουσιών με μοριακές μάζες  $>100.000$  Da
- Ευρεία εφαρμογή στην πρωτεομική

➤ **Παρέχεται στο στερεό ή υγρό δείγμα ενέργεια διαφόρων μορφών με τρόπο τέτοιο ώστε να προκαλείται απευθείας σχηματισμός αεριωδών ιόντων**

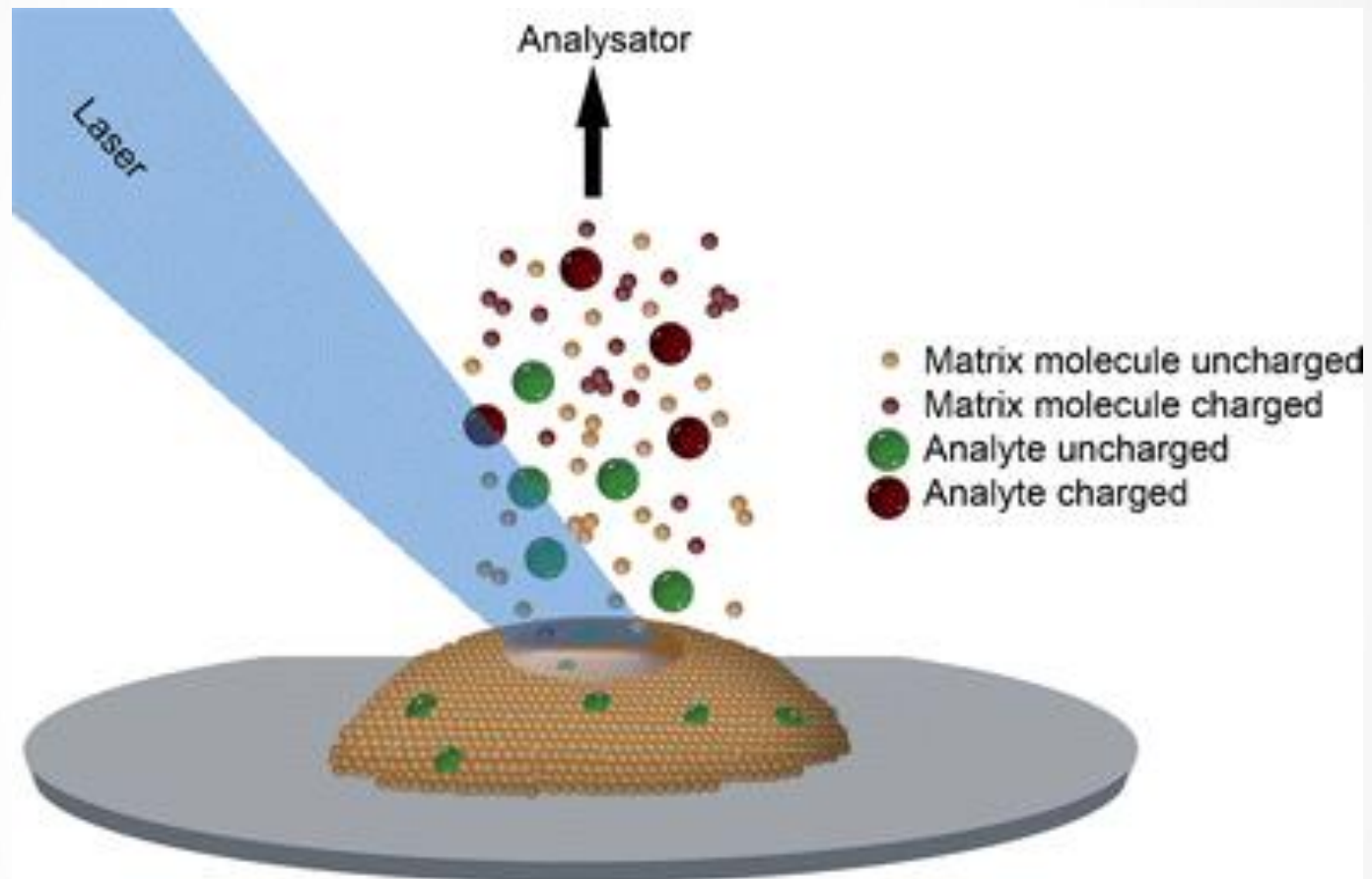
- Απλά φάσματα, συχνά μόνο από το μοριακό ιόν ή το πρωτονιωμένο μοριακό ιόν

# Ιοντισμός εκρόφησης-MALDI

Ιοντισμός εκρόφησης υποβοηθούμενος από υλικό μήτρας και laser  
(Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-MALDI)

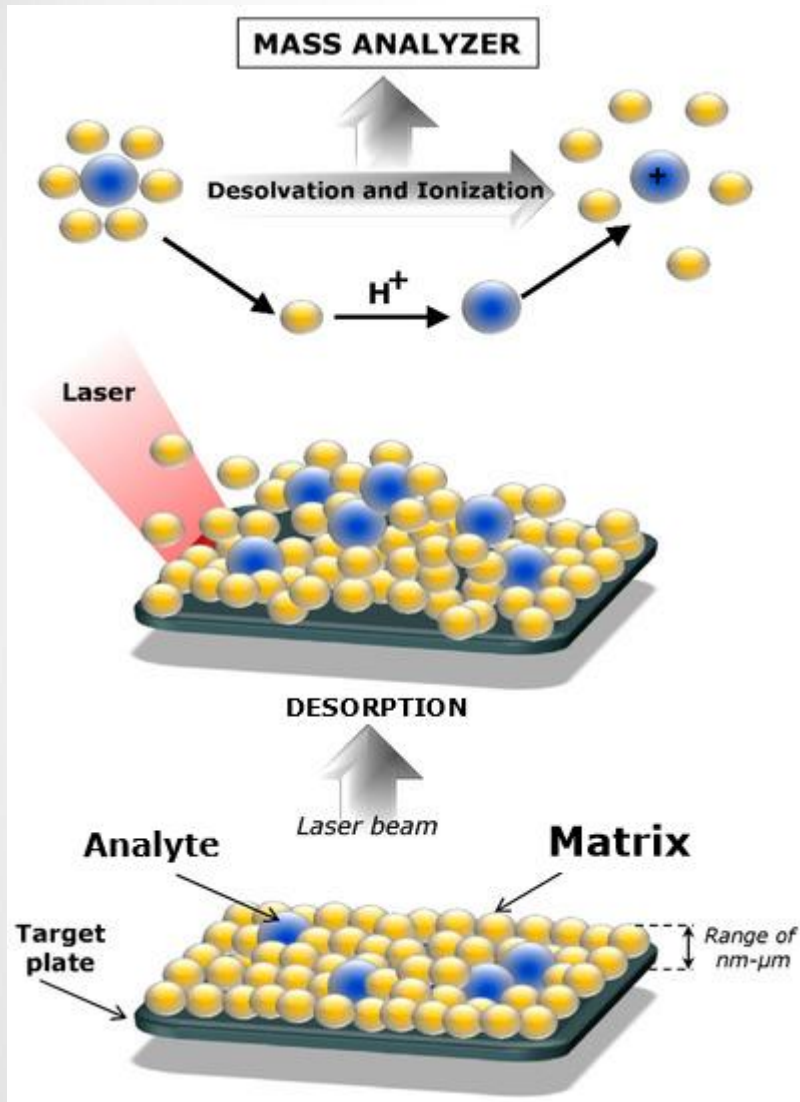
- επέφερε μια επανάσταση στο χώρο της χημικής ανάλυσης , γιατί επέτρεψε την ανάλυση κυρίως πολικών μεγαλομορίων, βιοπολυμερών ή συνθετικών πολυμερών με σχετικές μοριακές μάζες μεγαλύτερες από  $10^6$  Da
- Αναλύτης χαμηλής συγκέντρωσης διασπείρεται ομοιόμορφα σε μια στερεή ή υγρή μήτρα που έχει αποθεθεί στο άκρο ενός ανοξειδωτικού σύρματος ή σε μεταλλική πλάκα
- Έπειτα, η πλάκα τοποθετείται μέσα σε θάλαμο κενού
- Μια δέσμη λέιζερ εστιάζεται στο δείγμα
- Η μήτρα πρέπει να απορροφά έντονα την ακτινοβολία λέιζερ
- Εικάζεται ότι μεσολαβεί απορρόφηση της δέσμης λέιζερ από τη μήτρα και έπειτα μεταφορά ενέργειας από τη μήτρα στον αναλύτη
- Μήτρα και αναλύτης εκροφούνται και ιοντίζονται-νέφος ιόντων

# Ιοντισμός εκρόφησης-MALDI



- Ο αναλύτης εκροφείται στη μορφή ουδέτερων μορίων και μετά ιοντίζεται μέσω αντιδράσεων μεταφοράς πρωτονίου με πρωτονιωμένα ιόντα μήτρας στην πυκνή φάση πάνω στην επιφάνεια που περιέχει τη μήτρα

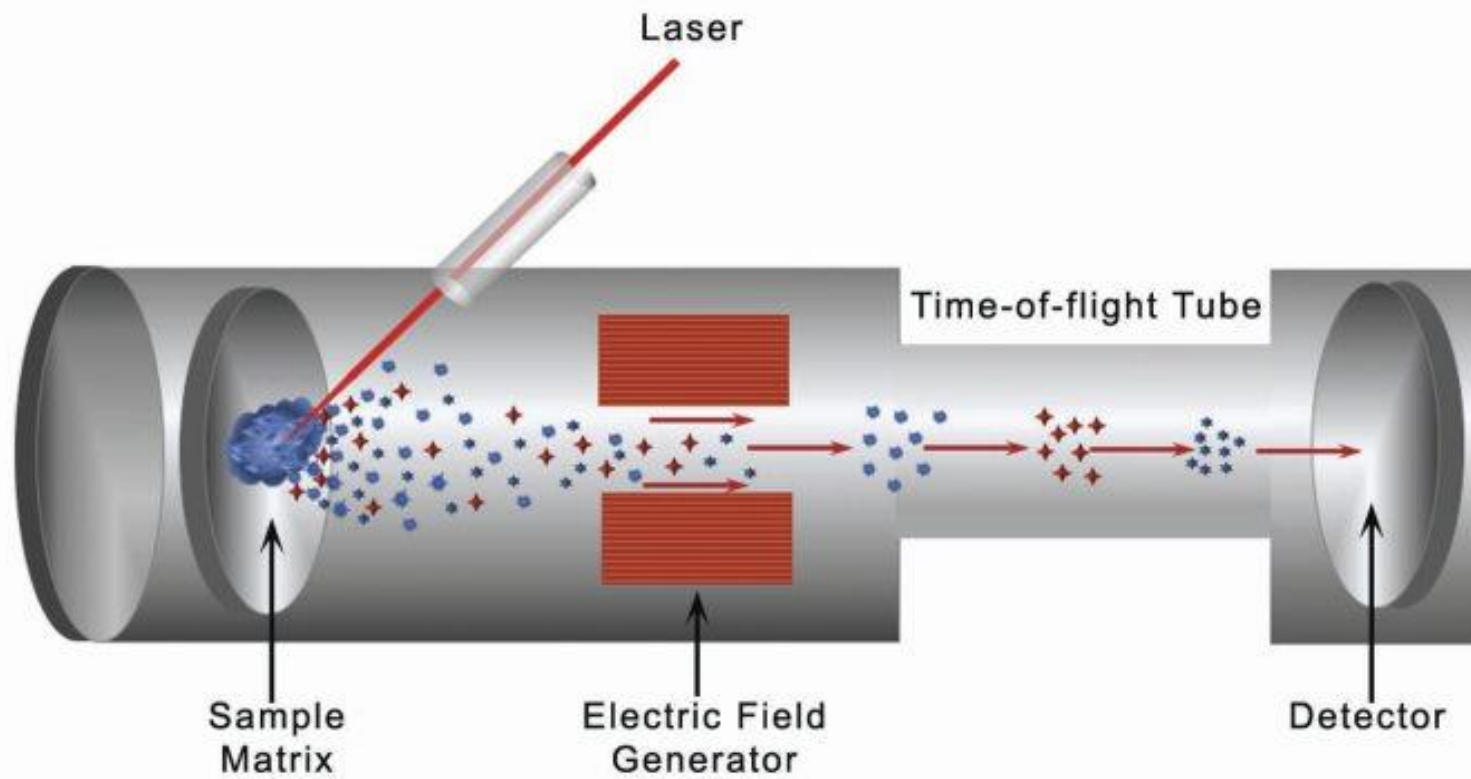
# Ιοντισμός εκρόφησης-MALDI



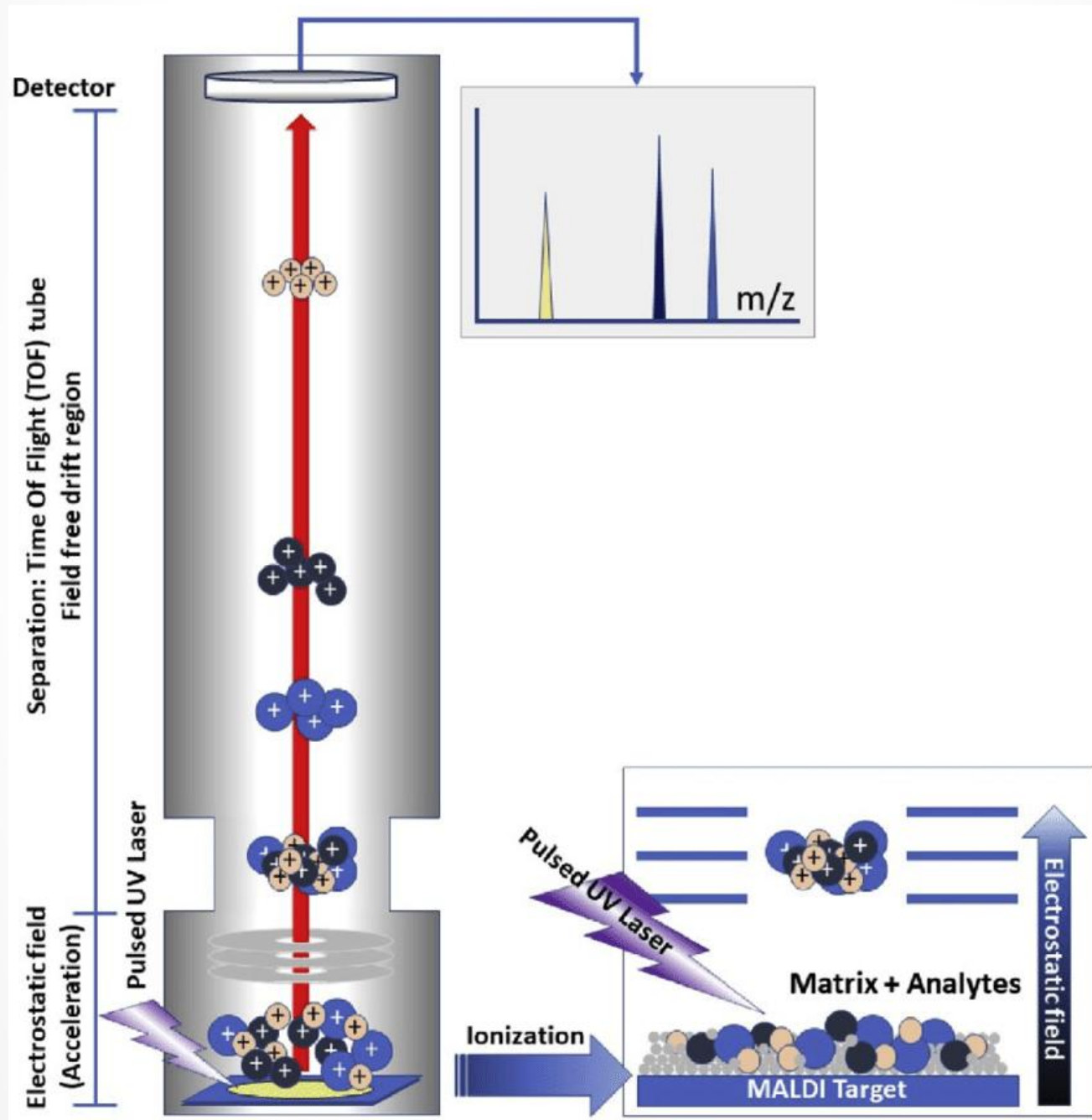
ο ρόλος του υποστρώματος είναι :

- Να παρεμβληθεί μεταξύ των μεγαλομορίων του μείγματος, ώστε να μεγαλώσουν οι μεταξύ τους αποστάσεις και έτσι να μειωθούν οι διαμοριακές δυνάμεις
- Να απορροφήσει ισχυρά την ενέργεια της δέσμης laser
- Να συντελέσει στον ιοντισμό των μεγαλομορίων

# MALDI-TOF



# MALDI-TOF



# Ιοντισμός εκρόφησης-MALDI

## **ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

- Δίνει πληροφορία για το MB της ένωσης, παράγονται συνήθως τα μονοφορτισμένα μοριακά ιόντα  $[M+1]^+$
- Απλό φάσμα μαζών χωρίς θόρυβο υποβάθρου και θραύσματα
- Εξαιρετικά διαδεδομένη τεχνική στην ανάλυση πρωτεϊνών

## **ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

- Χαμηλή επαναληψιμότητα
- Ο αναλύτης δεν πρέπει να απορροφά την ακτινοβολία λέιζερ
- Απαιτεί παλμικό αναλυτή μαζών (TOF, IT)

## **ΕΦΑΡΜΟΓΗ:**

- ✓ Χρησιμοποιείται στην τεχνική TOF-MS για τον προσδιορισμό πολικών βιομορίων μεγάλης μοριακής μάζας ( $> 10000$  Da).

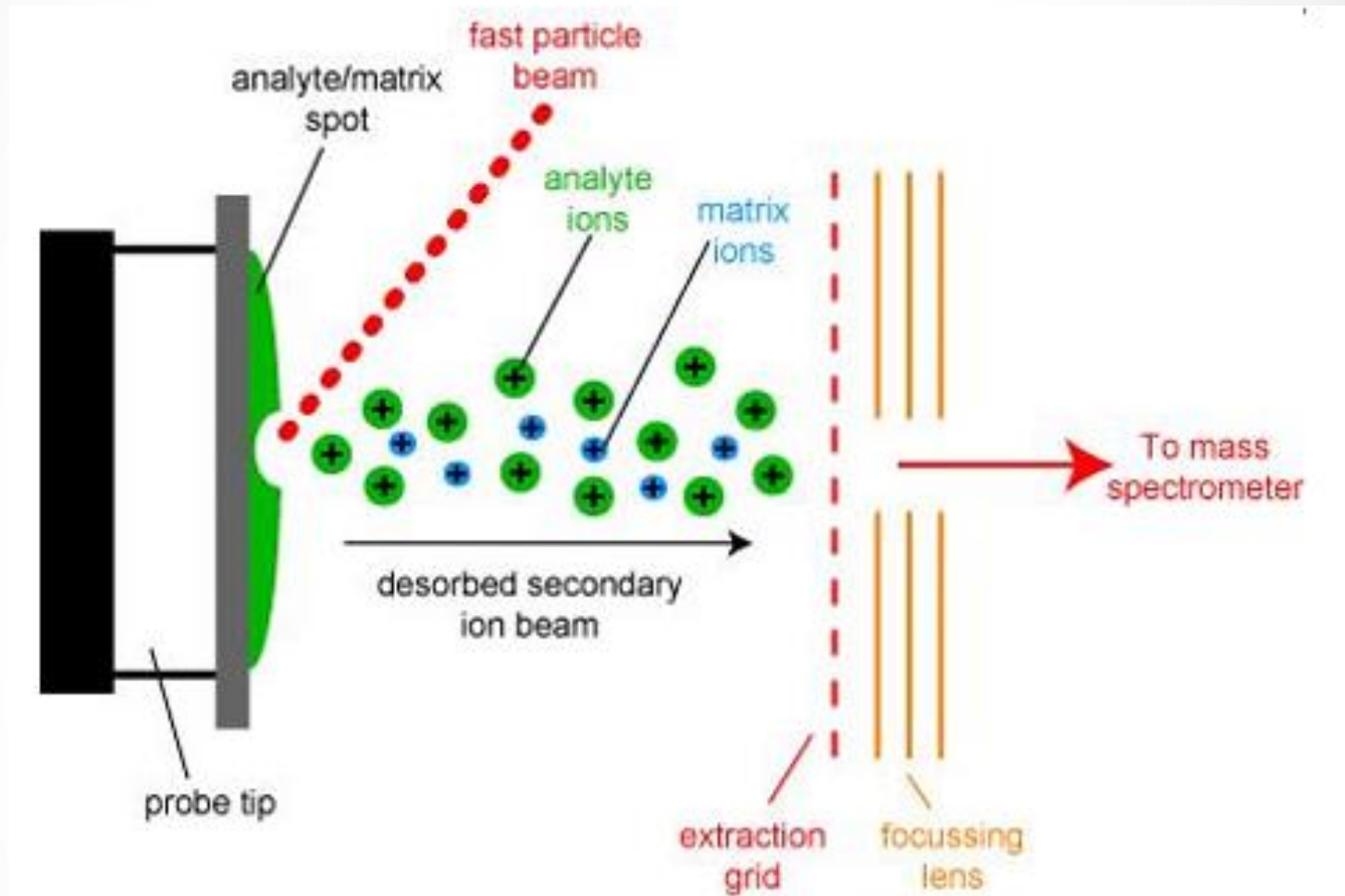


# Ιοντισμός εκρόφησης-FAB

**Ιοντισμός εκρόφησης με πηγές βομβαρδισμού με ταχεία άτομα (Fast Atom Bombardment-FAB)**

- ανήκει στις ήπιες/μαλακές τεχνικές ιοντισμού
- Η ουσία που ιονίζεται με την αυτή την τεχνική διαλύεται στον κατάλληλο, μη πτητικό, διαλύτη, π.χ. γλυκερόλη, που παίζει το ρόλο του υποστρώματος.
- Πάνω σε ένα μεταλλικό δίσκο απλώνεται ένα πολύ λεπτό στρώμα από το διάλυμα και κατόπιν μεταφέρεται στο θάλαμο ιονισμού (υψηλό κενό), όπου βομβαρδίζεται με άτομα ξένου (Xe) ή αργού (Ar) μεγάλης ενέργειας της τάξης μερικών keV.
- Η ενέργεια των ατόμων απορροφάται από τα μόρια της γλυκερόλης προκαλώντας ιονισμό τους.
- Τα ιόντα της γλυκερόλης εκροφόνται και ιονίζουν τα μόρια του αναλύτη.
- Τα παραγόμενα ιόντα του αναλύτη, θετικά και αρνητικά, εκροφόνται και εκτινάσσονται από την επιφάνεια του λεπτού στρώματος, και κατευθύνονται προς τον αναλυτή μάζας.
- Το υγρό υπόστρωμα αποκαθιστά κατά κάποιο τρόπο τη φθορά από τον βομβαρδισμό και μειώνει την ενέργεια πλέγματος βοηθώντας με αυτό τον τρόπο την εκρόφηση των ιόντων από τη στερεή φάση.

# Ιοντισμός εκρόφησης-FAB



- Το υγρό υπόστρωμα αποκαθιστά κατά κάποιο τρόπο τη φθορά από τον βομβαρδισμό και μειώνει την ενέργεια πλέγματος βοηθώντας με αυτό τον τρόπο την εκρόφηση των ιόντων από τη στερεή φάση
- αναλύτες θερμικά ασταθείς, μεγάλης τιμής  $M_r$ , δίνουν συχνά σεβαστές ποσότητες μοριακών ιόντων καθώς και θραυσμάτων ιόντων

# Ιοντισμός εκρόφησης-FAB

## **ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

- Γρήγορη και απλή τεχνική
- Καλή τεχνική ιοντισμού για ποικιλία μορίων
- Οι σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες ιοντισμού επιτρέπουν τη μελέτη θερμικά ασταθών μορίων
- Απλά φάσματα, με μοριακά ιόντα και ισχυρά ιοντικά ρεύματα, οπότε είναι κατάλληλη για μετρήσεις MS υψηλής διακριτικής ικανότητας

## **ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

- Υψηλός χημικός θόρυβος υποβάθρου
- Ο αναλύτης πρέπει να είναι διαλυτός και σταθερός σε υγρή μήτρα
- Προβληματική λειτουργία σε χαμηλά  $m/z$  (<200Da)

## **ΕΦΑΡΜΟΓΗ:**

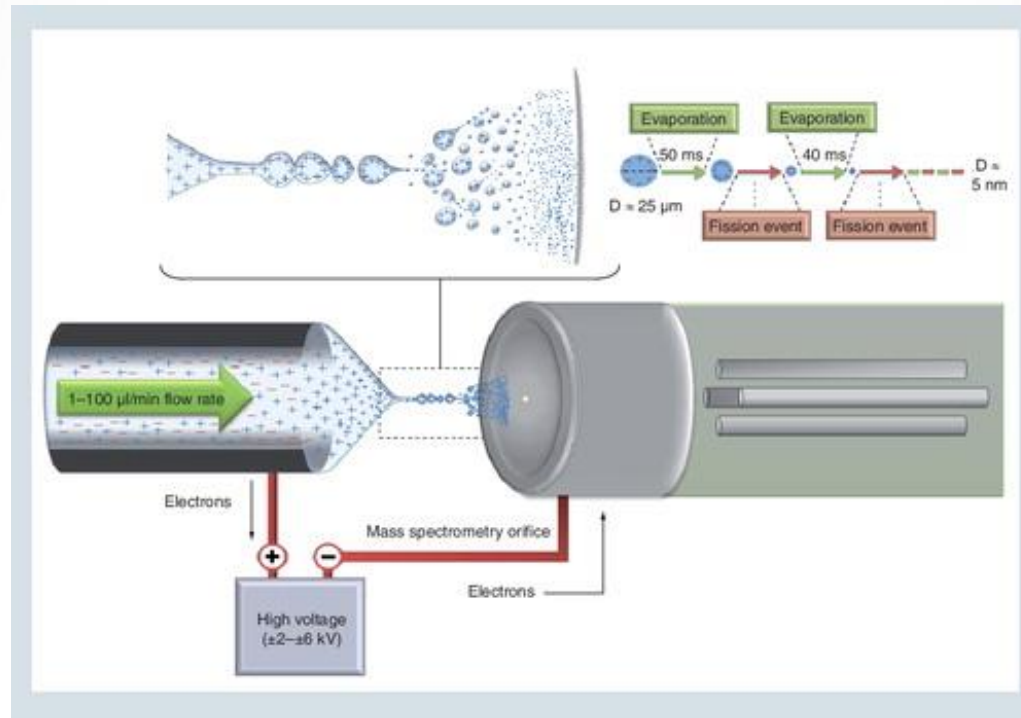
- Χρησιμοποιείται με όργανα MS μαγνητικού τομέα για τον προσδιορισμό πολικών οργανικών (βιο)μορίων σχετικά μεγάλης μοριακής μάζας (>200Da), καθώς και τη μελέτη υλικών (SIMS).

# Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό-ESI

## Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό- electrospray ionization (ESI)

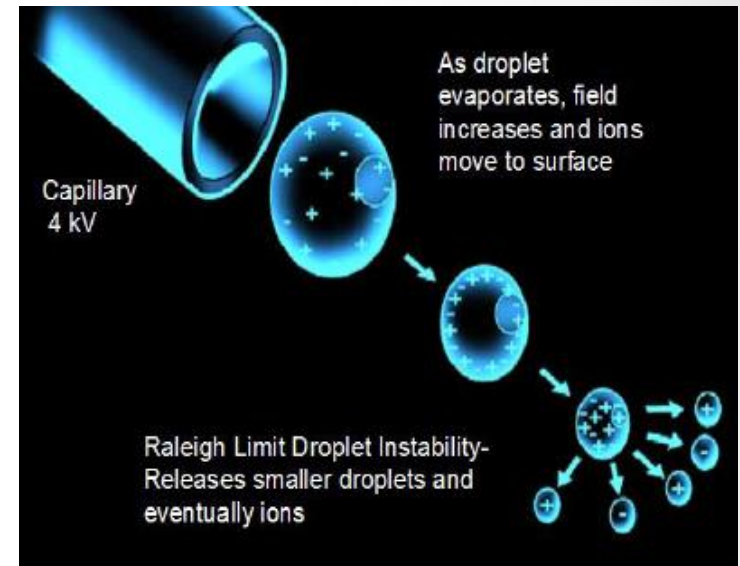
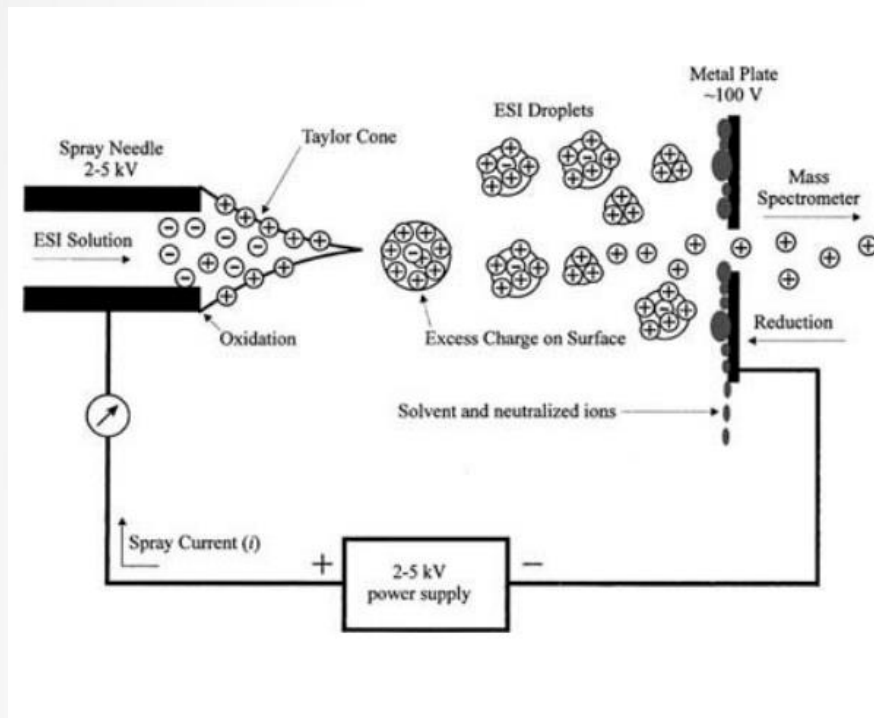
- Σήμερα αποτελεί μια από τις κυριότερες τεχνικές για την ανάλυση βιομορίων π.χ πολυπεπτίδια, πρωτεΐνες, ολιγονουκλεοτίδια με μοριακές μάζες >100.000 Da
- περιορισμένη θραύση των μορίων του αναλύτη και τα αντίστοιχα φάσματα είναι καθαρά, απλά και εύκολα στην μελέτη τους
- παράγει ιόντα με πολλαπλό φορτίο, οπότε ο λόγος  $m/z$  μειώνεται αισθητά και έτσι η χρήση π.χ. ενός τετραπολικού ανιχνευτή με εύρος ανίχνευσης σχετικών μοριακών μαζών μικρότερο του 1500, είναι δυνατή.
- Η διαδικασία της ESI πραγματοποιείται σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης
- Η ESI τεχνική είναι η πιο διαδεδομένη στην περίπτωση που έχουμε σύζευξη υγρής χρωματογραφίας και φασματογραφίας μαζών

# Ιοντισμός με ηλεκτροψεκάσμο-ESI



- Μέσω ενός ανοξειδωτού τριχοειδή σωλήνα το διάλυμα του αναλύτη αντλείται και ρέει με ταχύτητα μερικών µL/min.
- το απέναντι αντισταθμιστικό ηλεκτρόδιο βρίσκεται σε δυναμικό της τάξης των μερικών kV.
- Μεταξύ τους δημιουργείται ένα ισχυρό ηλεκτρικό πεδίο.
- Στην άκρη του τριχοειδούς διαβιβάζεται αέριο ξήρανσης (συνήθως είναι θερμό N<sub>2</sub>) για να δημιουργηθεί εκνέφωμα.
- Το διάλυμα του αναλύτη ψεκάζεται στο χώρο του ισχυρού ηλεκτρικού πεδίου με αποτέλεσμα την εμφάνιση ενός νέφους επιφανειακά, φορτισμένων σταγονιδίων.
- Ο διαλύτης όμως εξατμίζεται πάρα πολύ γρήγορα & το φορτίο των σταγονιδίων ενισχύεται όσο εξατμίζεται ο διαλύτης

# Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό-ESI



- Η ενίσχυση του φορτίου των σταγονιδίων συνεχίζεται μέχρι ενός σημείου (όριο Rayleigh) όπου τα σταγονίδια διασπώνται σε μικρότερα σταγονίδια αφού η ηλεκτροστατική άπωση είναι μεγαλύτερη της επιφανειακής τους τάσης
- «Κουλομβική έκρηξη»
- Επαναλαμβάνεται η διαδικασία πολλές φορές μέχρι να σχηματιστούν μικροσκοπικά σταγονίδια
- Τα ιόντα που προκύπτουν απωθούνται («εξατμίζονται») από τα σταγονίδια λόγω των ηλεκτροστατικών δυνάμεων. Τα ιόντα, σε αέρια φάση, εισέρχονται στον αναλυτή μαζών

# Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό-ESI

## **ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

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

## **ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

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

## **ΕΦΑΡΜΟΓΗ:**

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

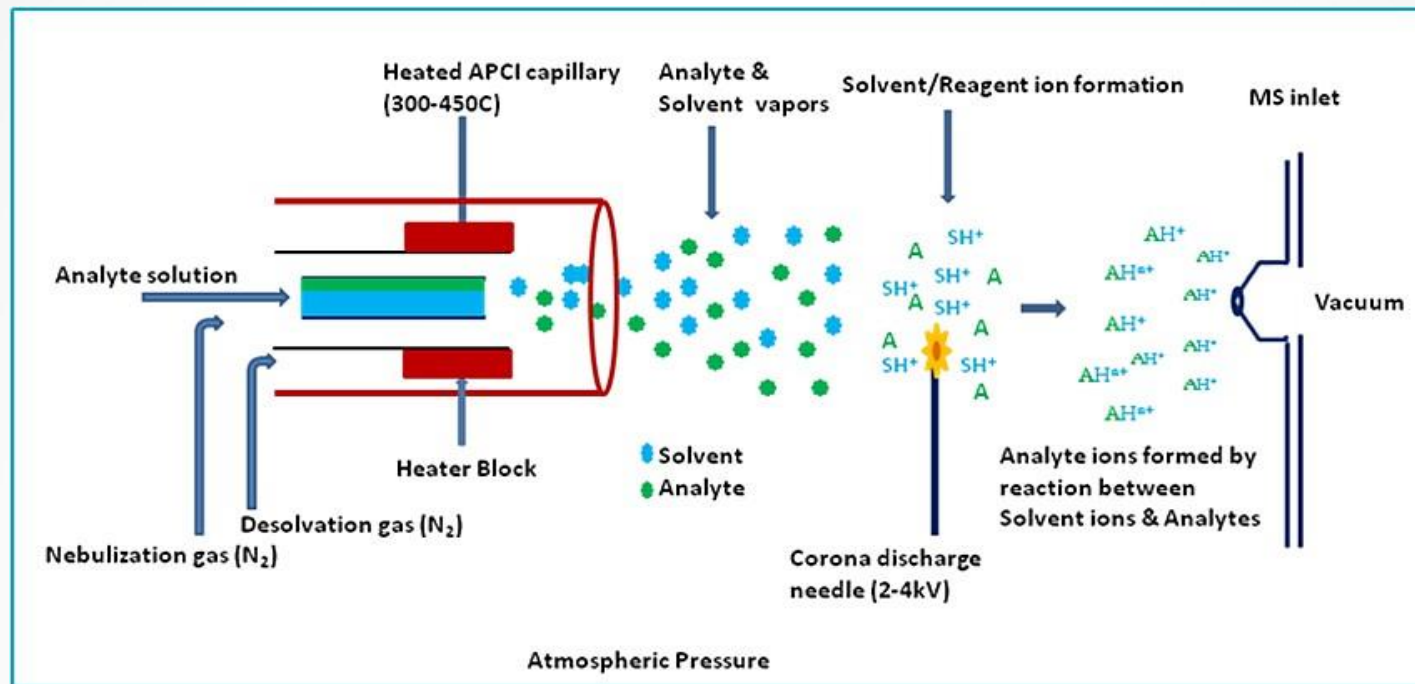
# Χημικός ιοντισμός σε ατμοσφαιρική πίεση-APCI

## Atmospheric Pressure Chemical Ionization-APCI

- Θεωρείται πολύ ήπια τεχνική όπως και η τεχνική ESI, διαφέρουν όμως στο μηχανισμό παραγωγής και ανάλυσης ιόντων
  - Μια πηγή CI λειτουργεί σε συνθήκες πίεσης περίπου 100 Pa
  - Η APCI χρησιμοποιεί αντιδράσεις μορίων- ιόντων που βρίσκονται σε αέρια φάση και σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης ( $10^5$  Pa)
  - συνήθως λειτουργεί ως διεπαφή με HPLC.
  - Ο ιοντισμός πραγματοποιείται με ηλεκτρόνια χαμηλής ενέργειας που εκπέμπονται από πηγή ακτινοβολίας  $\beta$  ή από εκκένωση κορώνας
- Το υγρό δείγμα διέρχεται μέσα από ένα θερμαινόμενο τριχοειδή σωλήνα 450 C και εξατμίζεται, παράγοντας αεριώδη μόρια. Πλησίον της εξόδου του σωλήνα, υπάρχει μια ακίδα σε υψηλή τάση που ιοντίζει τον αέριο διαλύτη ή το  $N_2$  ( $N_2^+$ ) το οποίο με τη σειρά του ιοντίζει τα μόρια του αναλύτη στην αέρια φάση (μεταφορά φορτίου)



# Χημικός ιοντισμός σε ατμοσφαιρική πίεση-APCI



- Το διάλυμα του δείγματος εκνεφώνεται από το τριχοειδές δημιουργώντας σταγονίδια.
- από έναν θερμαινόμενο θάλαμο μεταβαίνουν στην αέρια φάση με εξάτμιση του διαλύτη
- πραγματοποιείται παράλληλα με τη ροή αερίου  $N_2$  ,έτσι ώστε να αραιωθεί και να δημιουργηθεί ένα νέφος πολύ μικρών σταγονιδίων-σε αέριο ρεύμα.
- Ισχυρό δυναμικό 2-3kV σε ακίδα εκκένωσης αίγλης (εκφόρτισης)-δημιουργία ιόντων μέσω μιας σειράς χημικών αντιδράσεων μεταξύ των μορίων του αναλύτη και των μορίων αζώτου.
- Τα σχηματισμένα ιόντα αλληλεπιδρούν με τα μόρια του αναλύτη προκαλώντας τον ιοντισμό τους
- Τα ιόντα του δείγματος εισέρχονται μέσω μια μικρής οπής (“skimmer” ή «αποκορυφωτής») στον αναλυτή μαζών αφού προηγουμένως καθοδηγηθούν και εστιαστούν κατάλληλα.

# Χημικός ιοντισμός σε ατμοσφαιρική πίεση-APCI

## **ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

- Σχηματισμός μοριακού ιόντος πληροφορία για το MB)
- Εύκολη στη χρήση, με πολύ καλή επαναληψιμότητα
- Καλή ευαισθησία (συχνά καλύτερη του ESI)
- Μεγάλο εύρος στη ροή της κινητής φάσης(0,2–2ml/min)
- Συνδυάζεται με LC και με συστήματα ESI

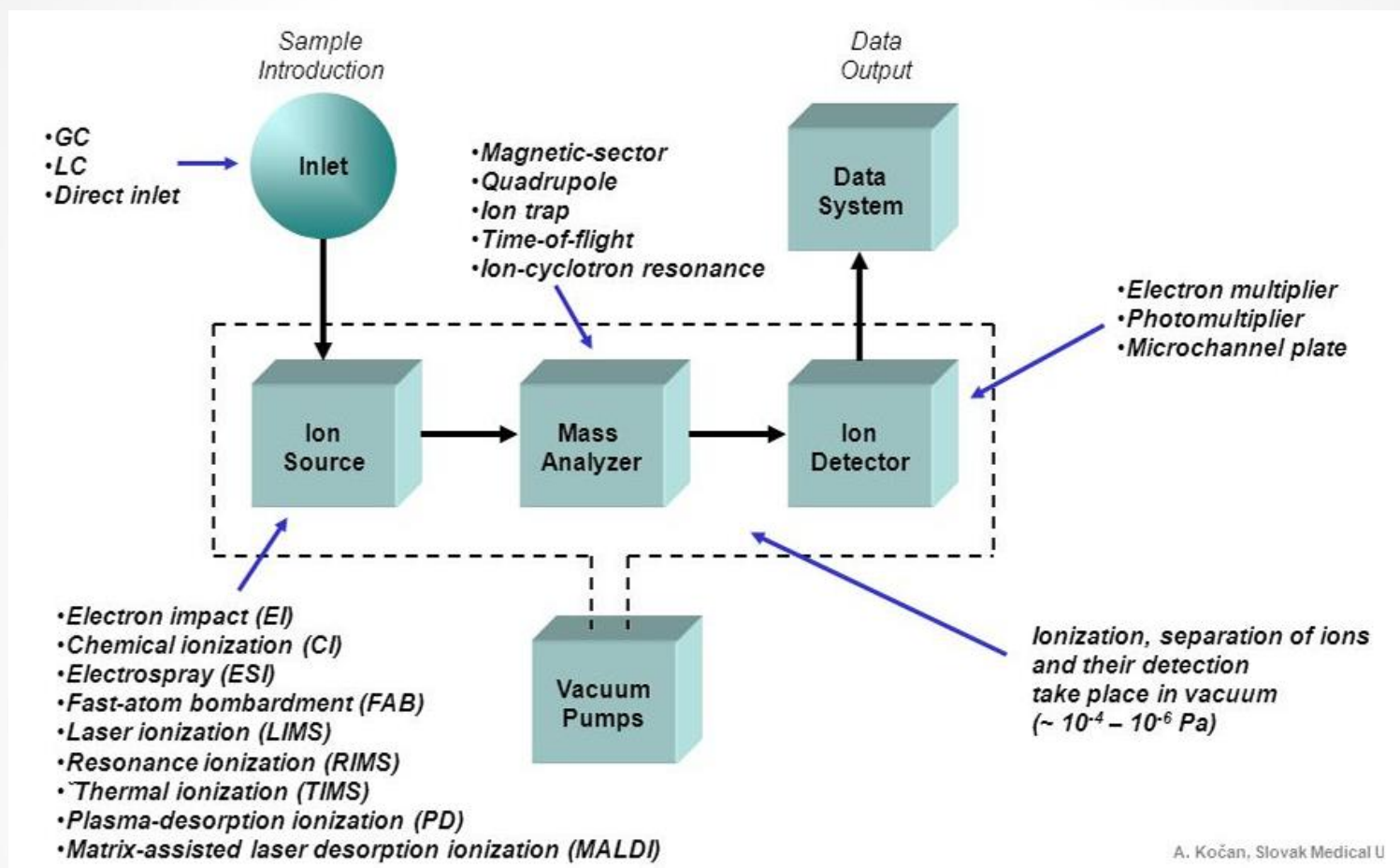
## **ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ:**

- Ακατάλληλη για ενώσεις με  $MB > 2000$ . Δεν σχηματίζει σειρές πολλαπλών φορτίων και δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για προσδιορισμούς μεγάλων βιομορίων
- Οι σχετικά υψηλές θερμοκρασίες δεν επιτρέπουν τη μελέτη θερμικά ασταθών μορίων (θερμοδιάσπαση ευπαθών μορίων)
- Αυξημένος θόρυβος σε χαμηλές τιμές  $m/z$
- Απαραίτητη η χρήση πτητικών ρυθμιστικών διαλυμάτων

## **ΕΦΑΡΜΟΓΗ:**

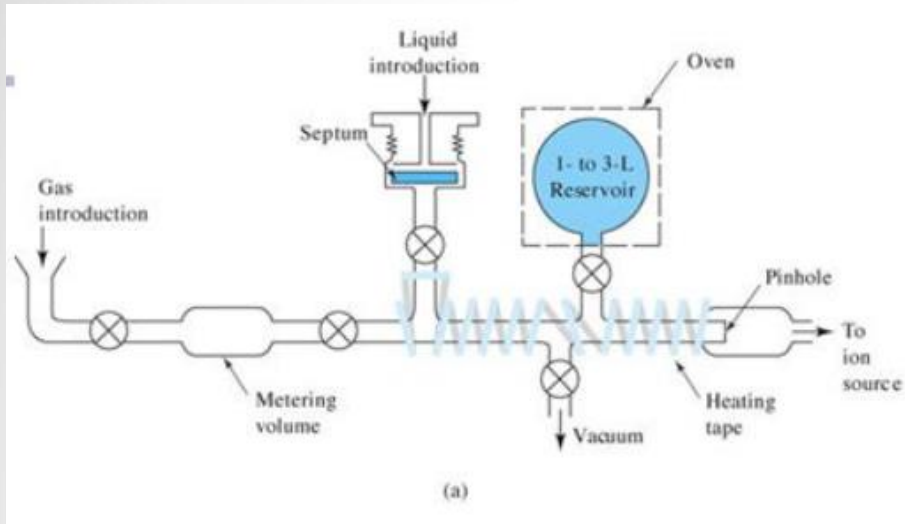
- Χρησιμοποιείται με όργανα LC-MS για τον προσδιορισμό μετρίως πολικών μορίων μικρών μοριακών μαζών

# Συστήματα εισαγωγής δείγματος



- χρησιμεύει στο να εισάγει την απαιτούμενη ποσότητα δείγματος στην πηγή ιόντων, χωρίς να διαταραχθούν οι συνθήκες κενού, που είναι απαραίτητες για τη σωστή λειτουργία του φασματογράφου μάζας
- i. σύστημα εισαγωγής δέσμης ή μεμονωμένης εισαγωγής (batch inlet system)
- ii. σύστημα άμεσης εισαγωγής με ακροφύσιο (direct probe, DIP)
- iii. συστήματα απευθείας εισαγωγής (σύζευξη) των προϊόντων της έκλυσης από στήλες της χρωματογραφίας ή της τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης

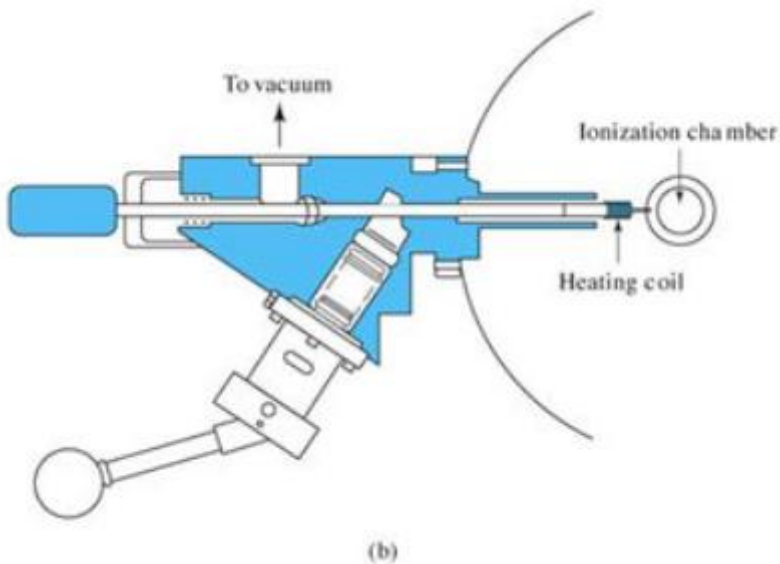
# Σύστημα μεμονωμένης εισαγωγής (batch inlet system)



- ο πιο απλός τρόπος εισαγωγής δείγματος στο φασματόμετρο μάζας.
- Σε ένα εξωτερικό χώρο αποθήκευσης το δείγμα εξαερώνεται και κατόπιν διαρρέει προς στην κενή περιοχή ιοντισμού.
  - Αέριο δείγμα: παγιδεύεται αρχικά σε ένα χώρο, γνωστού όγκου, μεταξύ δύο βαλβίδων και στη συνέχεια αφήνεται να εκτονωθεί προς το χώρο αποθήκευσης.
  - Υγρό δείγμα: διοχετεύεται με μικροσύριγγα στο χώρο εξαέρωσης.

- απαραίτητη η χρήση συστήματος κενού, προκειμένου οι ατμοί του δείγματος να ασκούν πίεση από  $10^{-4}$  έως  $10^{-5}$  Torr.
- Στο χώρο εξαέρωσης του δείγματος, χρησιμοποιείται είτε φούρνος είτε θερμαντικές ταινίες για τη διατήρηση υψηλής θερμοκρασίας,
- η μέγιστη θερμοκρασία που μπορεί να αναπτυχθεί είναι περίπου  $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ , γεγονός που περιορίζει τη χρήση αυτού του συστήματος σε υγρά με σημείο ζέσεως μικρότερο των  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- Στη συνέχεια το δείγμα, που είναι σε αέρια κατάσταση, μέσω ενός διαφράγματος (μεταλλικό ή γυάλινο) με μια ή περισσότερες οπές εισάγεται στο τμήμα ιοντισμού του φασματόμετρου.
- ολόκληρο το σύστημα είναι πολλές φορές επενδυμένο με γυαλί για να αποφεύγονται απώλειες λόγω προσρόφησης τυχόν πολικών ουσιών του δείγματος

# Σύστημα άμεσης εισαγωγής με ακροφύσιο (direct probe, DIP)

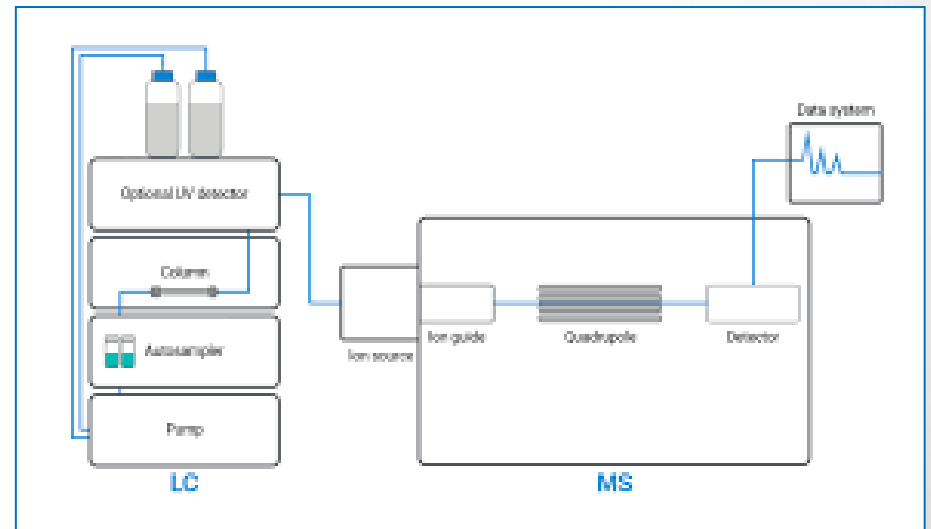
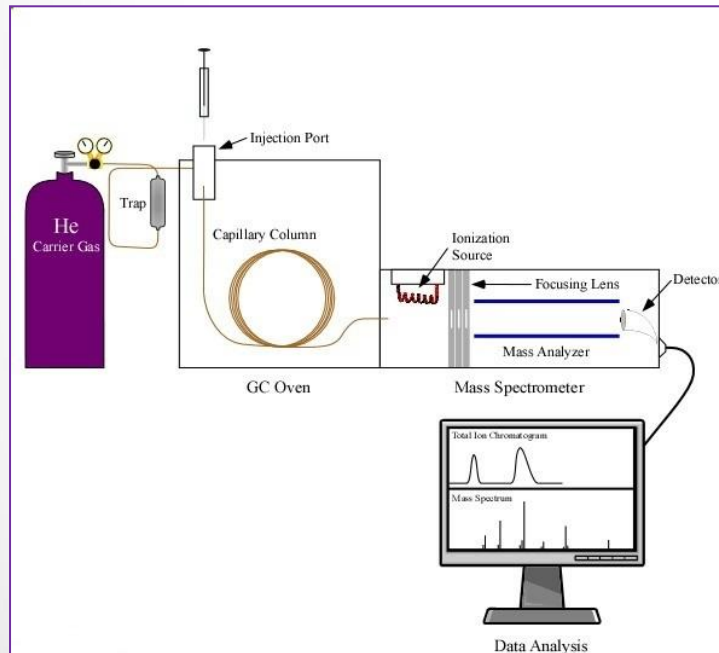


- στερεά ή μη πτητικά υγρά, τότε χρησιμοποιείται ένας δειγματολήπτης – υποδοχέας (probe) που μπορεί να πλησιάσει σε απόσταση μερικών mm από την πηγή ιόντων.
- είναι κατασκευασμένο με τέτοιο τρόπο, ώστε να διαταράσσει ελάχιστα το κενό στο εσωτερικό του φασματομέτρου καθότι αντλεί ελάχιστη ποσότητα αέρα κατά την εισαγωγή του δείγματος.

- χρησιμοποιείται και στην περίπτωση που έχουμε πολύ μικρή ποσότητα δείγματος της τάξης των ng.
- Το δείγμα με αυτή τη διαδικασία μπορεί να ψυχθεί ή να θερμανθεί, αν το απαιτεί η ανάλυση του και είναι τοποθετημένο στην επιφάνεια ενός τριχοειδούς γυάλινου ή αλουμινένιου σωλήνα, ενός μικρού κυπέλου ή λεπτού σύρματος.
- Θερμικά ασταθείς ενώσεις μπορούν να εισαχθούν με αυτή τη μέθοδο πολύ γρήγορα στην περιοχή ιοντισμού και να παραλάβουμε τα φάσματα τους, χάρις στην μικρή απόσταση του probe από αυτήν και στην ιδιαίτερα χαμηλή πίεση που επικρατεί εκεί.
- Επιπλέον εξ αιτίας της επικρατούσας χαμηλής πίεσης έχουμε αύξηση των συγκεντρώσεων μη πτητικών ουσιών και έτσι είμαστε σε θέση να μελετήσουμε ενώσεις όπως στεροειδή, υδατάνθρακες, πολυμερή χαμηλής σχετικής μοριακής μάζας κ.α.

# Σύστημα εισαγωγής χρωματογραφίας και τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης

- ❖ Όταν πρόκειται να αναλυθεί ένα πολύπλοκο μείγμα τότε τα φασματομέτρα συνδυάζονται με συστήματα αέριας χρωματογραφίας (GC), υγρής χρωματογραφίας (LC ή TLC ή HPLC) ή τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης (Capillary Electrophoresis, CE).
- ❖ Η σύζευξη της GC με την MS πρακτικά γίνεται άμεσα μέσω ενός θερμαινόμενου σωλήνα, όμως η HPLC, η TLC, η CE και άλλες τεχνικές διαχωρισμού που δρουν σε υγρό περιβάλλον απαιτούν ειδικά συστήματα εισαγωγής.



# ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

## Hyphenated Techniques

- Η φασματομετρία μάζας είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την ταυτοποίηση καθαρών ενώσεων

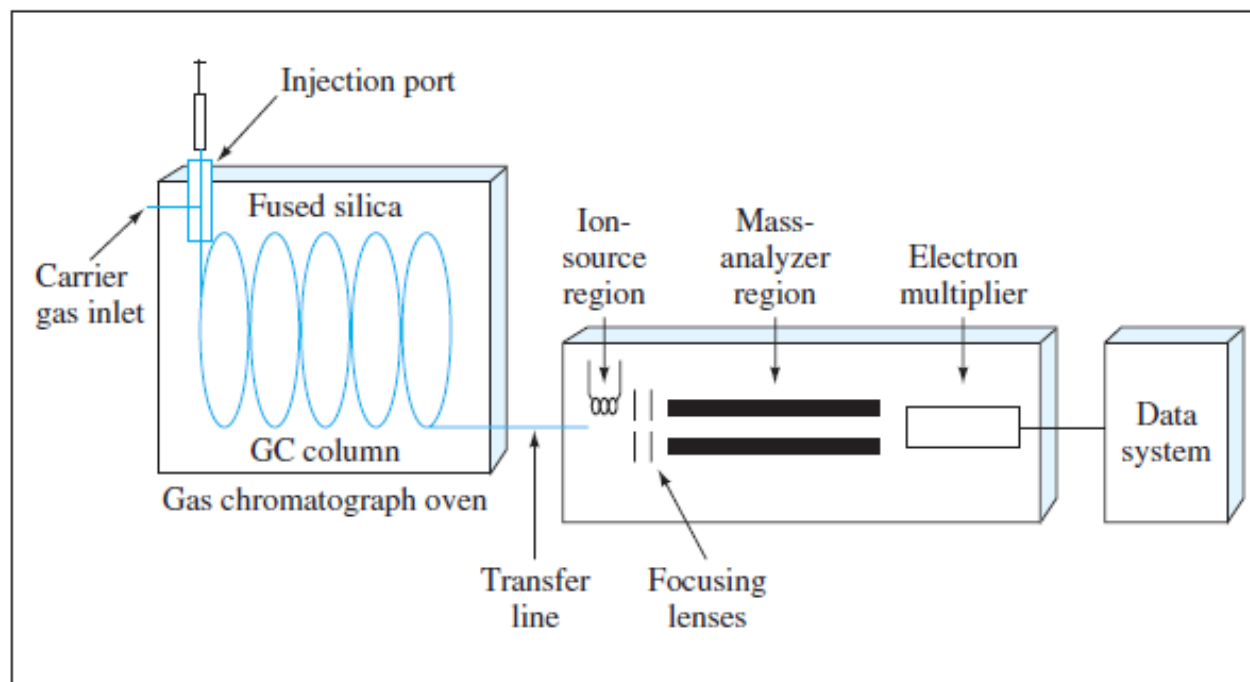
**Πρόβλημα:** όταν πρέπει να αναλυθούν περίπλοκα μείγματα, γιατί τώρα παράγεται πληθώρα θυγατρικών ιόντων και το αντίστοιχο φάσμα μαζών είναι σχεδόν αδύνατο να οδηγήσει σε ασφαλή συμπεράσματα

**Λύση:** ένας φασματογράφος μάζας συνδυάζεται με ένα , τουλάχιστον, επιπλέον όργανο διαχωρισμού οπότε προκύπτει ένα νέο όργανο, αποτελεσματικότερο των όσων συνδυάστηκαν, με νέα πρωτόκολλα λειτουργίας .

□ Η καινούρια τεχνική λέγεται **συζευγμένη τεχνική (hyphenated technique)** και συνήθως προκύπτει από τη σύζευξη της τεχνικής της υγρής χρωματογραφίας (LC) ή αέριας χρωματογραφίας (GC) και του φασματογράφου μάζας (MS)

- *Το κυριότερο πρόβλημα που έπρεπε να αντιμετωπιστεί ήταν η μεγάλη αραίωση του δείγματος στη χρωματογραφική στήλη από τον αέριο ή υγρό φορέα έκλουσης, δηλαδή να απομακρυνθεί ο διαλύτης πριν την εισαγωγή στο φασματογράφο μάζας*

# GC/MS



Χρησιμοποιείται στον:

1. Προσδιορισμό πτητικών ενώσεων
2. Υψηλή εκλεκτικότητα για τις ενώσεις που μπορούν να ιοντιστούν.
3. Χαμηλά όρια ανίχνευσης σε σχέση με τους υπόλοιπους ανιχνευτές.
4. Εύκολη διασύνδεση γιατί το έκλουσμα είναι ήδη στην αέρια φάση
5. Συνήθως ιοντισμός με EI ή CI

## **GC-MS/MS:**

Δυνατότητα χρήσης περισσότερων τρόπων σάρωσης SRM, neutral loss κλ π

Χαμηλότερα όρια ανίχνευσης

Ταυτόχρονος προσδιορισμός αναλυτών που δεν διαχωρίζονται πλήρως ,χρωματογραφικά

● Ακριβότερος Εξοπλισμός ●



# LC/MS

Χρησιμοποιείται στον:

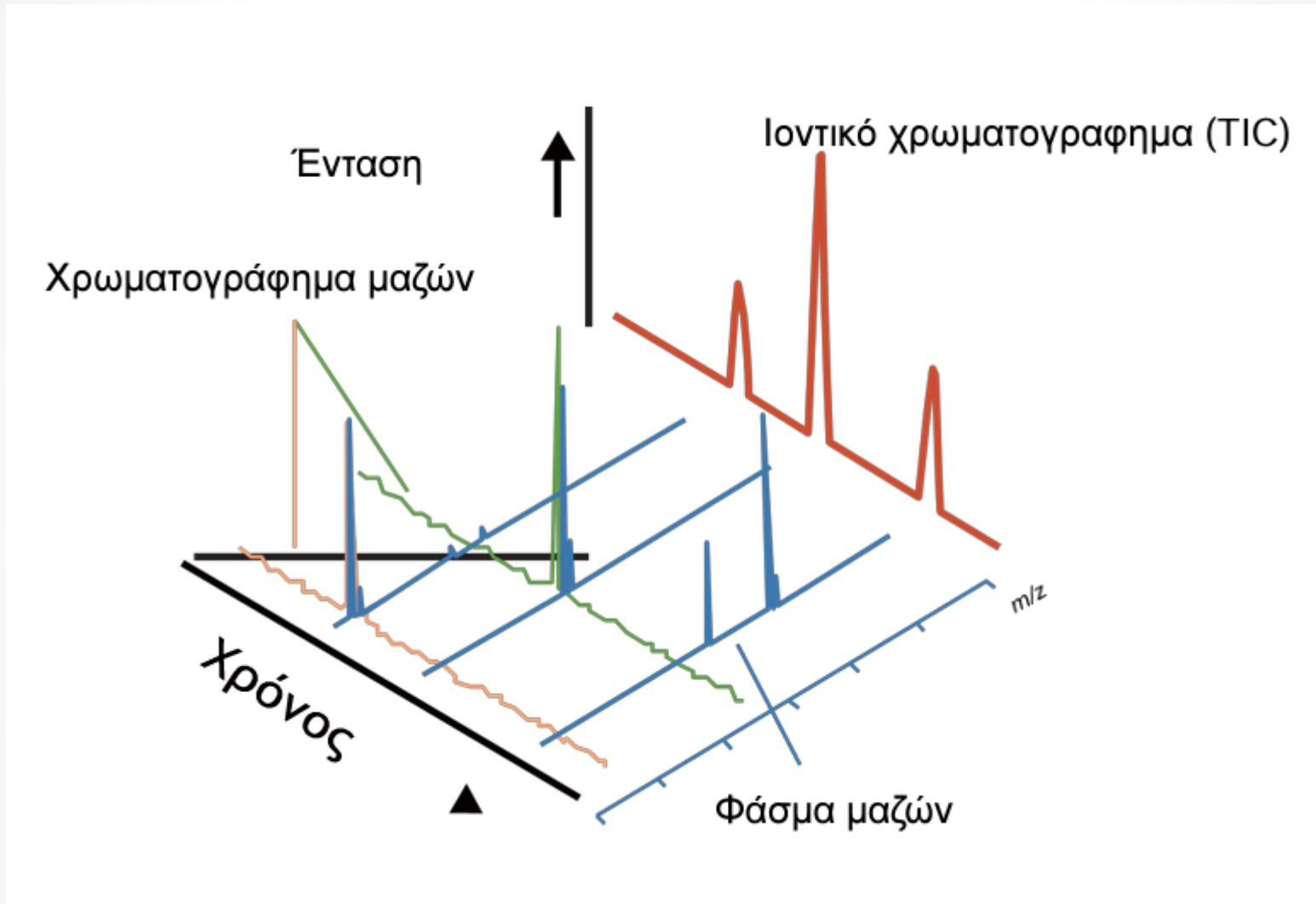
1. Προσδιορισμό μη πτητικών ενώσεων (αποφυγή παραγωγοποίησης και χρήσης GC)
2. Προσδιορισμό θερμοευαίσθητων ενώσεων που δεν μπορούν να προσδιοριστούν με GC-MS
3. Προσδιορισμό της καθαρότητας χρωματογραφικής κορυφής και την ταυτοποίηση δομής άγνωστων ενώσεων (πχ μεταβολιτών φαρμάκων, πεπτιδίων, πρωτεϊνώνκ.ά.)
  - Χρήση νέων τεχνικών ιοντισμού ESI, APCI, MALDI

□ Η φασματομετρία μάζας εκμεταλλεύτηκε την υψηλή διαχωριστική ικανότητα της υγρής χρωματογραφίας και το ότι πλέον δεν χρειαζόταν τροποποίηση των μορίων της αναλυόμενης, μη πτητικής ένωσης πριν την εισαγωγή τους στην MS. Η υγρή χρωματογραφία κέρδισε τη μεγάλη ευαισθησία ανίχνευσης της τάξης των pM που προσφέρει η MS, τη μεγάλη εκλεκτικότητα της, την χρήση ενός ολικού ανιχνευτή και βέβαια την δυνατότητα να μπορεί να ταυτοποιεί άγνωστες ενώσεις που περιέχονται σε μη γνωστά δείγματα.

**LC-MS/MS**

**LC-QTOF-MS**

# TOTAL ION CHROMATOGRAPH



# LC/HRMS

- η ανάπτυξη της Φασματομετρίας Μάζας Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας (High Resolution Mass Spectrometry-HRMS) με την εισαγωγή στον τομέα της ανάλυσης πολυδύναμων αναλυτών όπως το Orbitrap και το QTOF που δίνουν τη δυνατότητα ταυτόχρονου προσδιορισμού πολλών ενώσεων με υψηλή ευαισθησία
  - παρέχουν πλήρες φάσμα δεδομένων με υψηλή διακριτική ικανότητα μάζας και μεγάλη ακρίβεια μάζα
  - η σύζευξή της με την Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας Φασματομετρία Μάζας παρουσιάζει δύο σημαντικά πλεονεκτήματα:
    - i. επιτρέπει τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων με υψηλή εκλεκτικότητα και ευαισθησία και
    - ii. παράλληλα δίνει τη δυνατότητα μετάβασης από τη στοχευμένη ανάλυση, που χρησιμοποιούνταν μέχρι σήμερα (target screening), στη μη-στοχευμένη ανάλυση (non-target screening)
- Η νέα τάση στους αναλυτικούς χημικούς είναι ο συνδυασμός της ευρείας εμβέλειας **στοχευμένης ανάλυσης (target screening) με την παρακολούθηση ύποπτων ενώσεων (suspect screening analysis)** και τη **«μη στοχευμένη ανάλυση» (non-target analysis)** με σκοπό μια πιο ολιστική παρακολούθηση και εκτίμηση του ρίσκου των πολύπλοκων μιγμάτων που απαντώνται π.χ στα υδατικά δείγματα

- Στοχευμένη (Target screening)
  - Παρακολούθηση «ύποπτων» ενώσεων (Suspect Screening Analysis)
  - Μη Στοχευμένη Ανάλυση (Non-target Analysis)
- Η βασική διαφορά ανάμεσα στη στοχευμένη και μη στοχευμένη ανάλυση είναι ότι στην πρώτη περίπτωση οι αναλύτες καθορίζονται από πριν, επομένως το όργανο αποκτά δεδομένα μόνο για τις προκαθορισμένες ενώσεις
  - Οι μέθοδοι στοχευμένης ανάλυσης (προεπιλογή ενώσεων στόχων) καλύπτουν μικρό εύρος των αναμενόμενων πια ρύπων στα υδατικά δείγματα εισάγοντας έτσι ένα σφάλμα (bias) με τη μη ανίχνευση ενώσεων πιο βλαβερών για τα οικοσυστήματα

Trends in Analytical Chemistry 154 (2022) 116671



Contents lists available at ScienceDirect

Trends in Analytical Chemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/trac](http://www.elsevier.com/locate/trac)



Advances in suspect screening and non-target analysis of polar emerging contaminants in the environmental monitoring



Monika Paszkiewicz\*, Klaudia Godlewska, Hanna Lis, Magda Caban, Anna Białk-Bielińska, Piotr Stepnowski

Department of Environmental Analysis, Faculty of Chemistry, University of Gdansk, Ul. Wita Stwosza 63, 80-308, Gdansk, Poland

# Στοχευμένη (Target screening)

- Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στον προσδιορισμό ήδη γνωστών ενώσεων και διεκπεραιώνεται με τη χρήση πρότυπων διαλυμάτων.
- Προκαθορισμένα ιόντα απομονώνονται σε ένα στενό παράθυρο του τετράπολου (narrow quadrupole isolation window) και έπειτα οδηγούνται στον αναλυτή είτε απευθείας είτε μετά τη θραυσματοποίησή τους στο (κελί θραυσματοποίησης) collision cell, ώστε να αποκτηθούν οι πληροφορίες MS<sup>2</sup>.
- Η χρήση του προτύπου αναφοράς είναι απαραίτητη για την ταυτοποίηση της ένωσης, συγκεκριμένα για τη σύγκριση και αντιστοίχιση του χρόνου κατακράτησης (retention time) και της θραυσματοποίησης MS/MS (MS/MS fragmentation), και για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσής της στο δείγμα
- Το πρότυπο αναφοράς εξυπηρετεί δηλαδή στο ότι είναι γνωστά εκ των προτέρων ο χρόνος κατακράτησης (retention time) και το φάσμα της θραυσματοποίησης MS/MS της ένωσης.
- Με βάση τα παραπάνω, μια ένωση ταυτοποιείται επιτυχώς στην περίπτωση αντιστοιχίας του χρόνου κατακράτησης, της μάζας της ένωσης (MS) και του φάσματος θραυσματοποίησης MS/MS

# Παρακολούθηση «ύποπτων» ενώσεων (Suspect Screening Analysis)

- είναι μία προσέγγιση που βασίζεται στην ύπαρξη προηγούμενης πληροφορίας σχετικά με τη δομή και το μοριακό τύπο των ύποπτων ενώσεων
- τα πρότυπα δεν είναι απαραίτητα διαθέσιμα εκ των προτέρων
- Επομένως, δεν βασίζεται στη χρήση των προτύπων για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των ενώσεων αλλά είναι μία προσέγγιση που βασίζεται στην ύπαρξη προηγούμενης πληροφορίας σχετικά με τη δομή και το μοριακό τύπο των ύποπτων ενώσεων
- έρευνα στα δείγματα για τις ενώσεις, για τις οποίες έχει προηγουμένως διαμορφωθεί μία λίστα, που είναι πιο πιθανό να απαντηθούν σ' αυτά και για τις οποίες έχει προηγουμένως προβλεφθεί η μοριακή μάζα λόγω της δομής και του μοριακού τους τύπου
- για την επιτυχή ταυτοποίηση της άγνωστης ένωσης: βαθμός σύγκλισης της ένωσης με το ισοτοπικό μοτίβο που είναι διαθέσιμο και των φασμάτων MS/MS με τα αντίστοιχα των βιβλιοθηκών φασμάτων. η αντιστοιχία του «δακτυλικού αποτυπώματος» με το μοτίβο θραυσματοποίησης είναι η πιο ισχυρή απόδειξη ταυτοποίησης της ένωσης, το ισοτοπικό προφίλ, η σύγκριση του χρόνου κατακράτησης που υπάρχει στη λίστα των ενώσεων με τον παρατηρούμενο στο χρωματογράφημα-κυρίως για τον περιορισμό του εύρους των «ύποπτων ενώσεων»

# Μη Στοχευμένη Ανάλυση (Non-target Analysis)

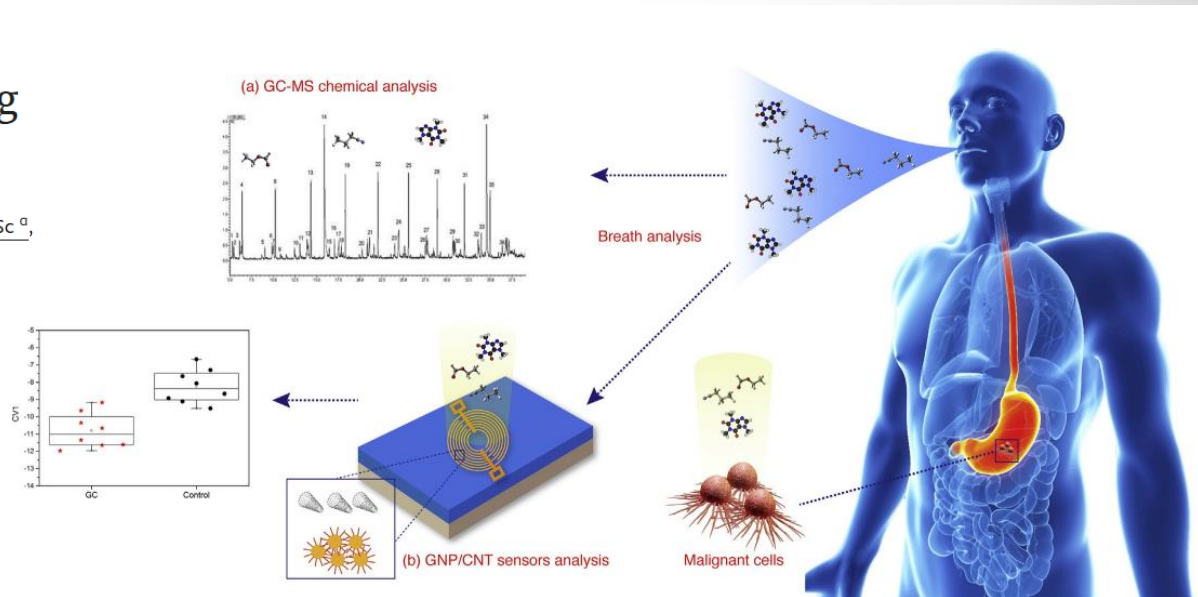
- Στη NTA δεν χρησιμοποιείται καμία προηγούμενη πληροφορία κι έτσι αποκτάται μια ευρύτερη εικόνα του περιεχομένου του δείγματος
- Στη μη στοχευμένη ανάλυση αναλύεται σε ένα πείραμα μία ευρεία κλίμακα μάζας
- όλα τα ιόντα που ανήκουν στο εύρος μάζας που μας ενδιαφέρει (συνήθως  $m/z$  100-1000), οδηγούνται στον αναλυτή και παράγεται το φάσμα MS. Για το πείραμα MS2 η κατάσταση είναι ανάλογη μόνο που τα ιόντα θραυσματοποιούνται προτού σταλούν στον αναλυτή και έτσι προκύπτει το φάσμα MS2.
- Στην περίπτωση αυτή το τετράπολο είναι ανοιχτό και το collision cell ενεργό. Τα πρόδρομα ιόντα θραυσματοποιούνται όλα μαζί και τα προκύπτοντα θραύσματα οδηγούνται στον HRMS αναλυτή. Όμως η ταυτόχρονη θραυσματοποίηση μπορεί να οδηγήσει σε ισοβαρή ιόντα σε ένα φάσμα με συνέπεια τη μείωση της ευαισθησίας
- Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της είναι η ευκολία ανάπτυξης μεθόδου καθώς δεν προκαθορίζονται ούτε τα παράθυρα του χρόνου κατακράτησης (retention time windows) ούτε βελτιστοποιείται η ενέργεια σύγκρουσης (collision energy) που είναι αρκετά χρονοβόρα στάδια

Original Article

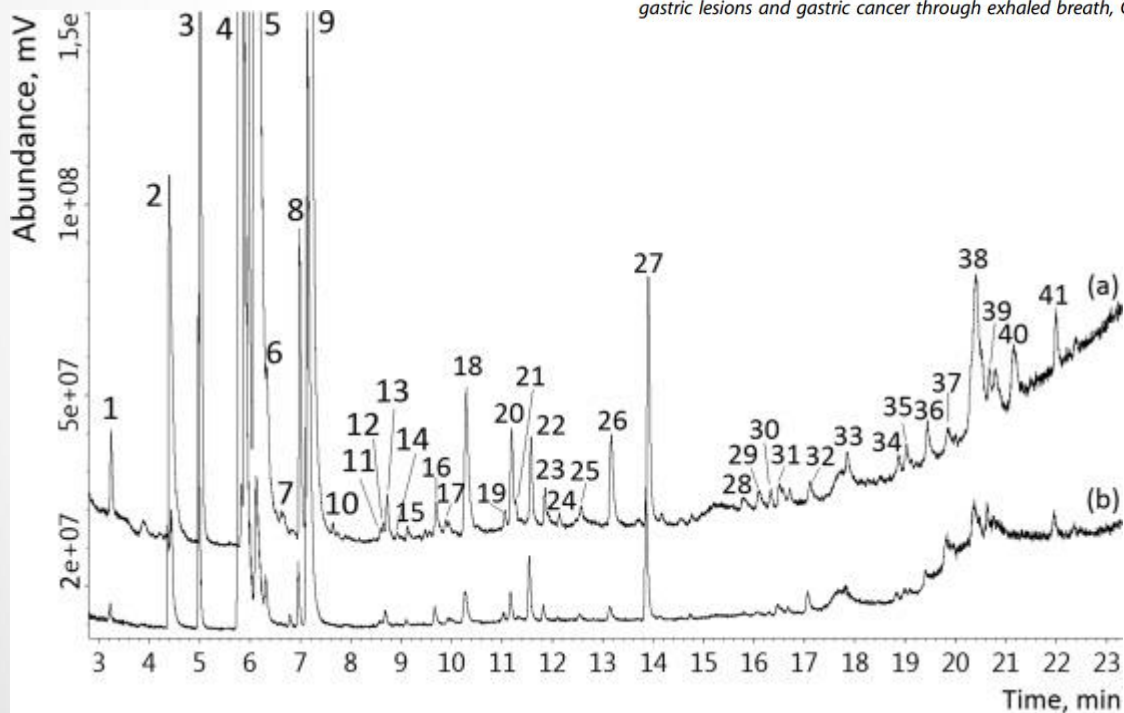
Translational Oncology

# Exhaled Breath Analysis for Monitoring Response to Treatment in Advanced Lung Cancer

Inbar Nardi-Agmon MD <sup>a</sup>, Manal Abud-Hawa MSc <sup>b</sup>, Ori Liran MSc <sup>a</sup>, Naomi Gai-Mor MSc <sup>a</sup>, Maya Ilouze PhD <sup>d</sup>, Amir Onn MD <sup>c</sup>, Jair Bar MD, PhD <sup>c</sup>, Dekel Shlomi MD <sup>a</sup>, Hossam Haick PhD <sup>c</sup> , Nir Peled MD, PhD <sup>a d</sup>



**Fig. 14.2** Illustration for breath analysis concept and approaches. (Reproduced with permission from H. Amal, et al., *Detection of precancerous gastric lesions and gastric cancer through exhaled breath*, *Gut* 65(3) (2016) 400–407. Copyright 2016, Gut.)



GC-MS chromatograms of exhaled breath samples from: a – a lung cancer patient, b – a healthy volunteer



# Identification of lung cancer breath biomarkers based on perioperative breathomics testing: A prospective observational study

Peiyu Wang,<sup>a,1</sup> Qi Huang,<sup>b,1</sup> Shushi Meng,<sup>c,1</sup> Teng Mu,<sup>b</sup> Zheng Liu,<sup>a</sup> Mengqi He,<sup>d</sup> Qingyun Li,<sup>d</sup> Song Zhao,<sup>b,\*</sup> Shaodong Wang,<sup>a,\*\*</sup> and Mantang Qiu<sup>a,d,\*\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Thoracic Surgery, Peking University People's Hospital, No. 11 Xizhimen South Street, Beijing 100044, China  
<sup>b</sup>Department of Thoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou, Henan 450003, China  
<sup>c</sup>Department of Thoracic Surgery, Beijing Haidian Hospital, Beijing 100080, China  
<sup>d</sup>Breax Laboratory, PCAB Research Center of Breath and Metabolism, Beijing 100074, China

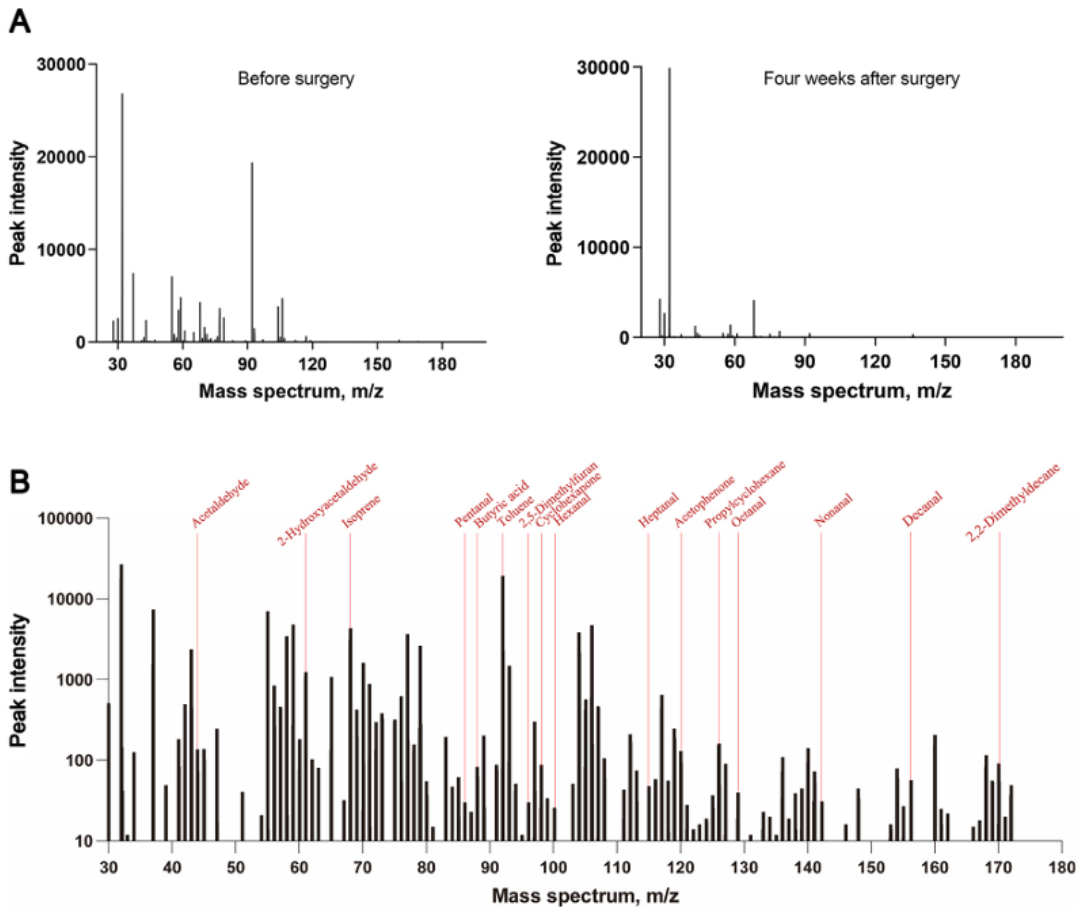
**Summary**

**Background** Breathomics testing has been considered a promising method for detection and screening for lung cancer. This study aimed to identify breath biomarkers of lung cancer through perioperative dynamic breathomics testing.

**Methods** The discovery study was prospectively conducted between Sept 1, 2020 and Dec 31, 2020 in Peking University People's Hospital in China. High-pressure photon ionisation time-of-flight mass spectrometry was used for

**eClinicalMedicine**  
**2022;47: 101384**  
 Published online 16 April 2022

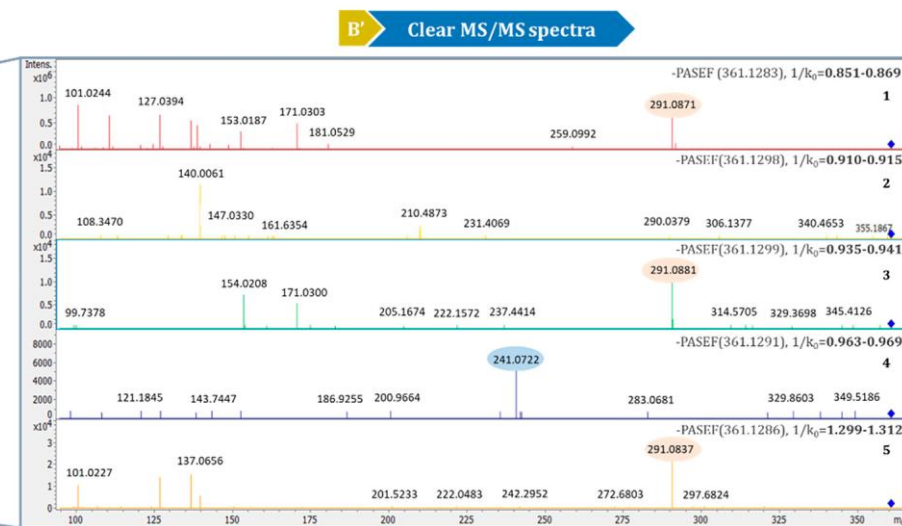
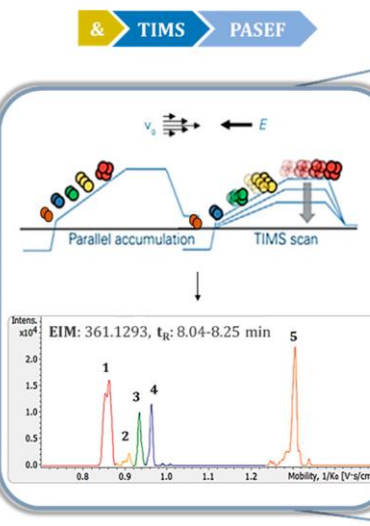
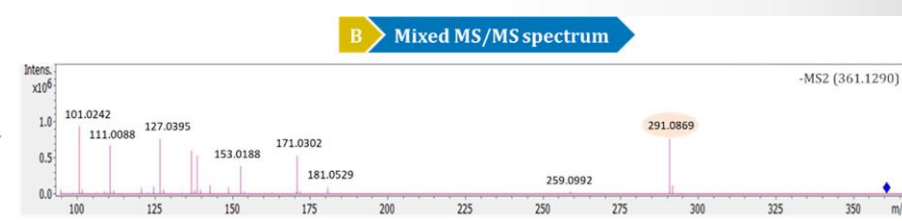
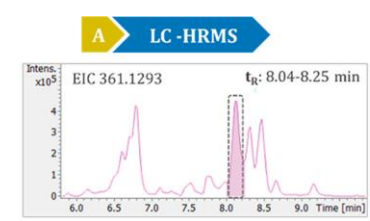
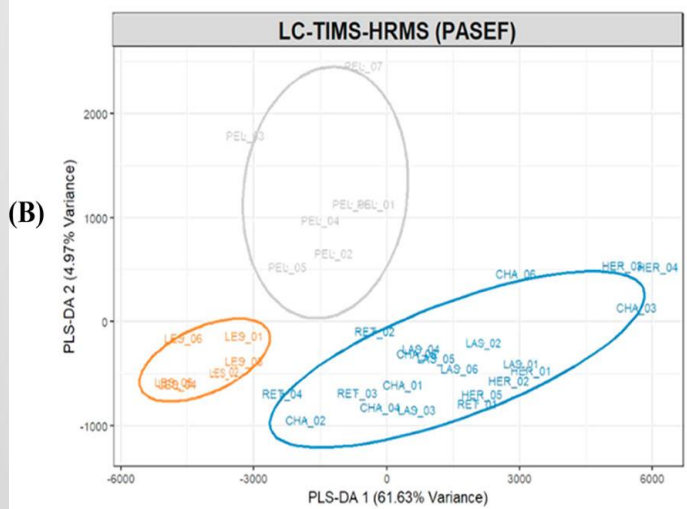
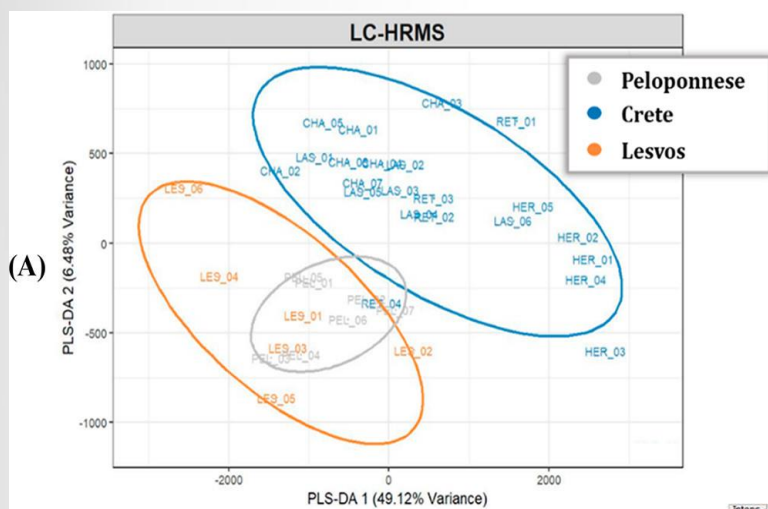
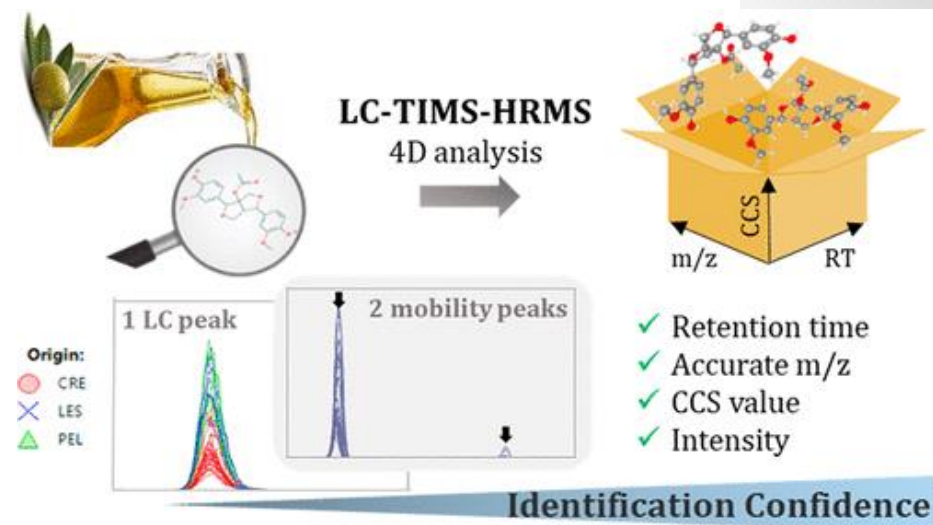
This study identified breath biomarkers of lung cancer through perioperative breathomics testing using HPPI-TOFMS. A total of 16 VOCs that showed dynamic changes perioperatively were [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com) Vol 47 Month May, 2022 identified and demonstrated to be capable of distinguishing patients with lung cancer from healthy individuals.



**Figure 2.** Examples of mass spectrums. A: The mass spectrums of a patient before surgery (left) and four weeks after surgery (right). B: Identification of 16 VOCs in mass spectrum before surgery. Patient characteristics: female, 52 years, stage IA3.

# Trapped Ion Mobility Incorporated in LC-HRMS Workflows as an Integral Analytical Platform of High Sensitivity: Targeted and Untargeted 4D-Metabolomics in Extra Virgin Olive Oil

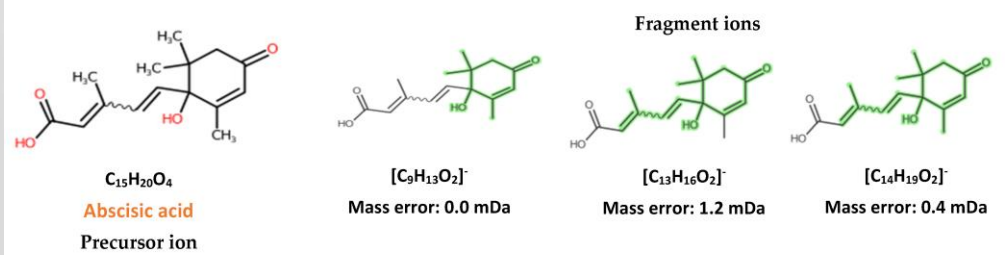
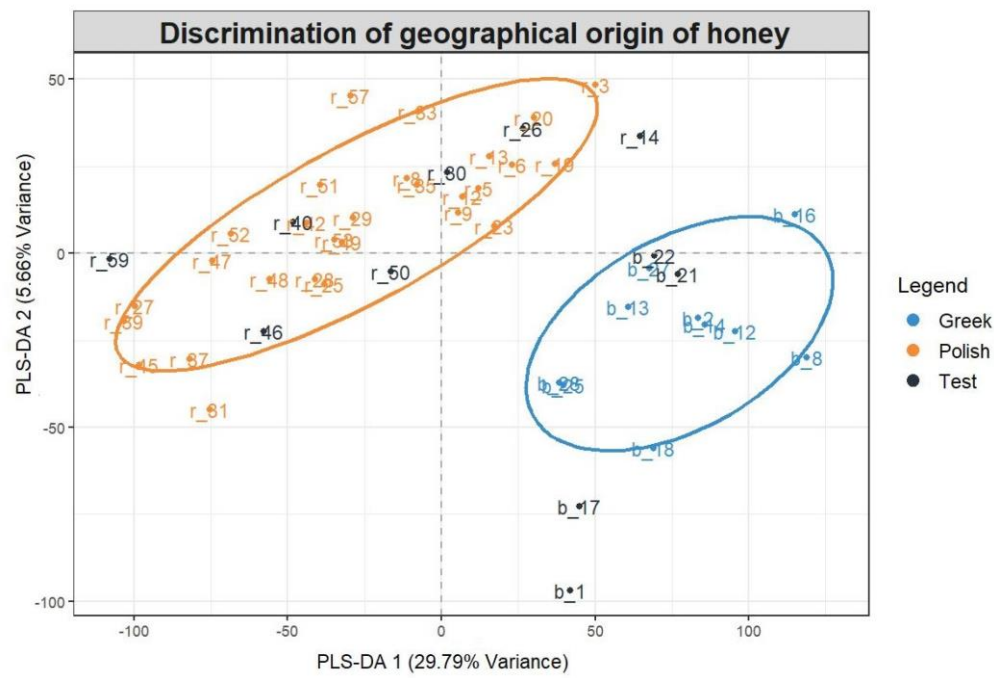
Sofia K. Drakopoulou, Dimitrios E. Damalas, Carsten Baessmann, and Nikolaos S. Thomaidis\*



# Honey Phenolic Compound Profiling and Authenticity Assessment Using HRMS Targeted and Untargeted Metabolomics

by Georgios A. Koulis <sup>1,2</sup> , Aristeidis S. Tsagkaris <sup>1,3</sup> , Reza Aalizadeh <sup>1</sup> ,  
 Marilena E. Dasenaki <sup>1,2,\*</sup> , Eleni I. Panagopoulou <sup>1</sup> , Spyros Drivelos <sup>4</sup> , Michał Halagarda <sup>5</sup> ,  
 Constantinos A. Georgiou <sup>4</sup> , Charalampos Proestos <sup>2</sup>  and Nikolaos S. Thomaidis <sup>1</sup> 

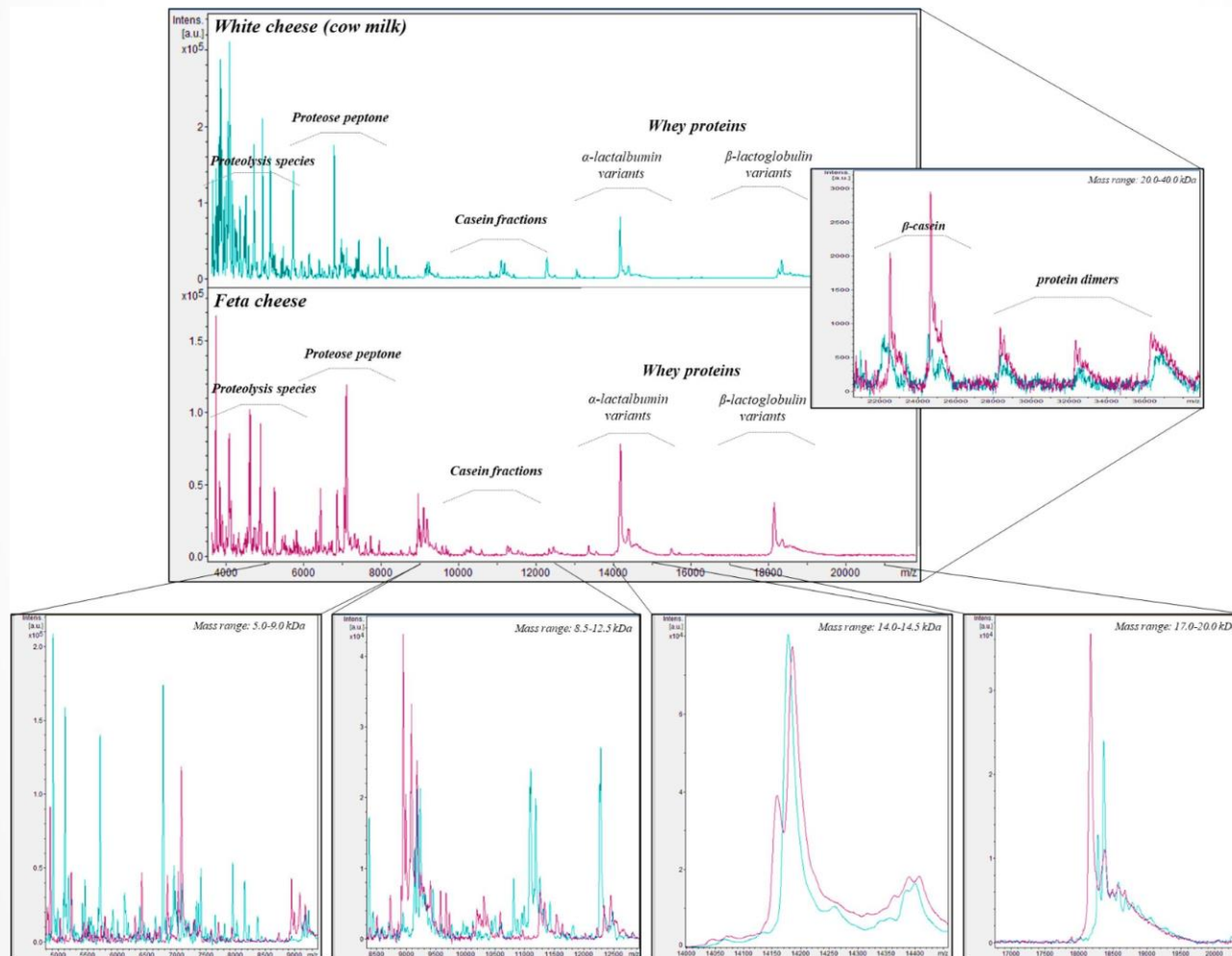
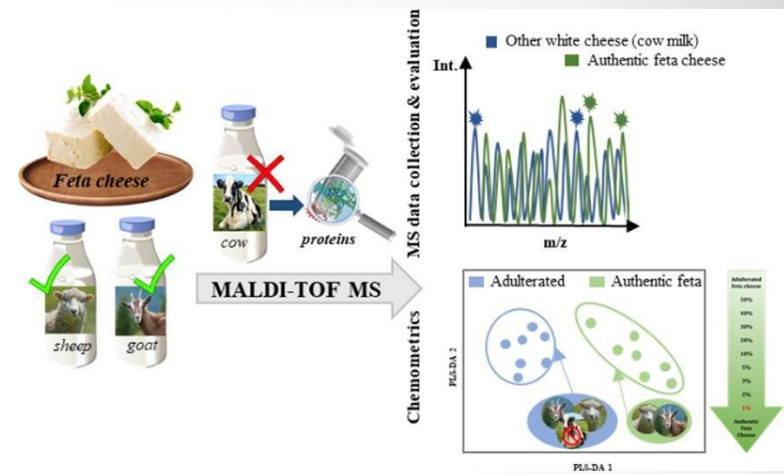
## UPLC-QToF-MS Analysis



(h)

# MALDI-TOF-MS integrated workflow for food authenticity investigations: An untargeted protein-based approach for rapid detection of PDO feta cheese adulteration

Anastasia S. Kritikou <sup>a</sup>, Reza Aalizadeh <sup>a</sup>, Dimitrios E. Damalas <sup>a</sup>, Ioanna V. Barla <sup>a</sup>, Carsten Baessmann <sup>b</sup>, Nikolaos S. Thomaidis <sup>a</sup> ✉

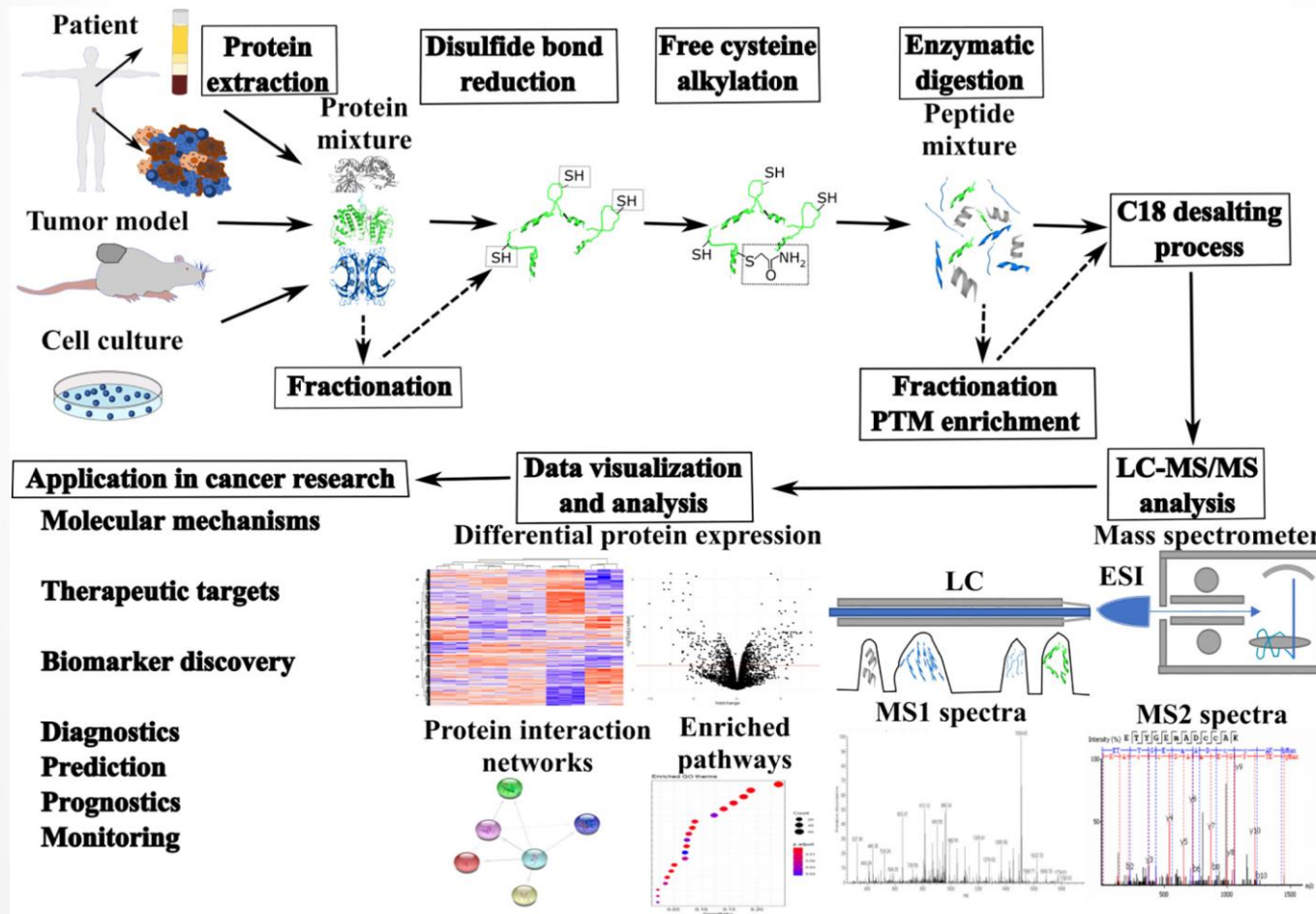


● Typical **MALDI** mass spectra of authentic **feta cheese** and **white cheese** prepared from cow milk. Different mass ranges of the detected proteins between white and feta cheese are shown in the magnified figures. ●

Review

# Proteomics approaches to characterize the immune responses in cancer

Víctor Urbiola-Salvador <sup>a</sup>, Dominika Miroszewska <sup>a</sup>, Agnieszka Jabłońska <sup>a</sup>,  
Talha Qureshi <sup>b</sup>, Zhi Chen <sup>a, b</sup>



# Single-cell protein analysis by mass spectrometry

Nikolai Slavov<sup>1,2,3</sup>



## Single-Cell Proteomics by Mass Spectrometry (SCoPE2)

