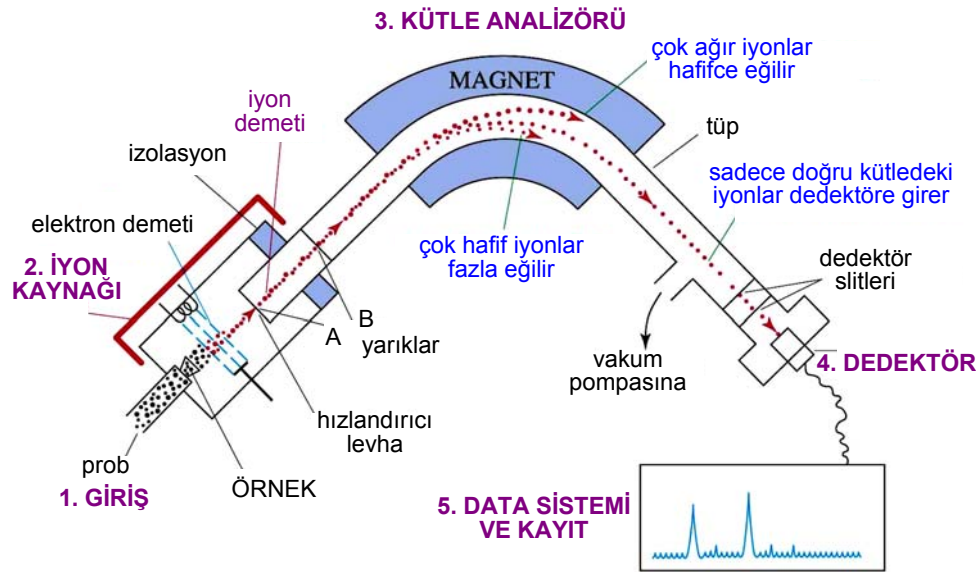


KÜTLE SPEKTROMETRESİ

Ref. e-makaleleri, Enstrümantal Analiz, Kütle Spektrometre Uygulamaları

Kütle spektrumu, örnekteki bileşiklerin kolaylıkla hareket edebilen iyonlara (çoğunlukla pozitif) dönüştürülmesi ve bu iyonların kütle/yük oranına göre sıralanmasıyla elde edilir. İyonizasyon işleminde, çoğunlukla kütle dağılımı ana maddeye göre özel olan, bir pozitif tanecikler serisi meydana gelir. Kütle spektrometresi de bu gerçek üzerine kurulmuştur. Bir kütle spektrumu kimyasal yapı hakkında önemli bilgiler verir. Spektral veriler, bazı bakımlardan, infrared ve NMR spektrallerden daha kolay tanımlanır; çünkü bilgiler, bir örneğin, yapısal bileşiminin moleküler kütlesi cinsinden ifade edilir. Ayrıca verilerden analitin molekül ağırlığı da doğru olarak saptanabilir. Kütle spektrası kompleks karışımların kantitatif analizlerinde de kullanılır. Burada, değişik kütlelerdeki iyon akımlarının konsantrasyonla olan ilişkisinden yararlanır.

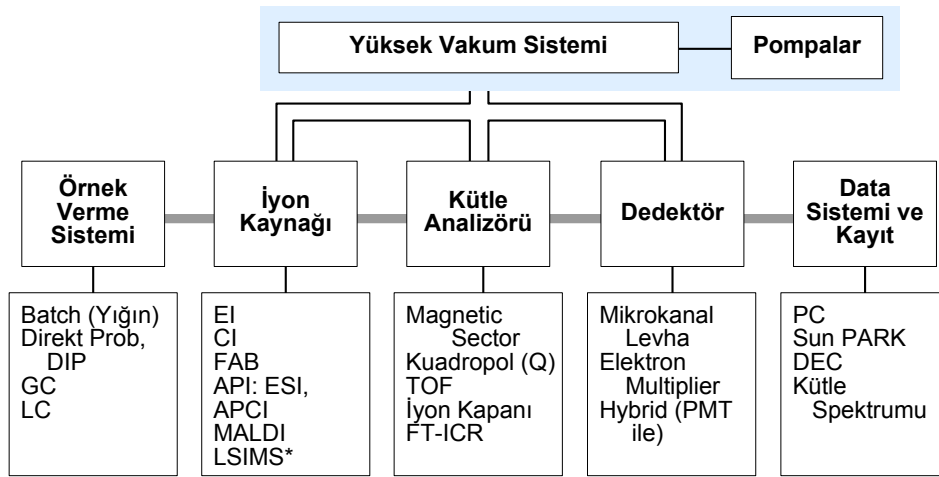


http://wps.prenhall.com/wps/media/objects/340/348272/Instructor_Resources/Chapter_12/Wade12.ppt

Şekil: Bir kütle spektrometrenin şematik diyagramı

Şekilde bir kütle spektrometresinin temel kısımları görülmektedir. Kütle analizörü, bir optik spektrometredeki elektromagnetik ışını ayıran prizma veya gratingin görevini yapan ayırıcı bir sistemdir; buradaki ayırma işlemi örnekten taneciklerin ayrılmasıdır. Kütle spektrometrenin optik yöntemlerin çoğunda karşılaşılmayan bir özelliği, dedektöre kadar olan tüm sistemlerin düşük basınç (10^{-4} – 10^{-8} torr) altında bulunmasıdır; hassas vakum sistemleri kütle spektrometrelerin en önemli kısmıdır.

Kütle Spektrometresi Blok Diyagramı



*LSIMS - liquid secondary ion

<http://www.msg.ucsf.edu/agard/maldi/IntrotoMS.ppt#9>

Çalışmada aşağıdaki sıra izlenir.

Örnek Verme Sistemi: Bir mikromol (veya daha az) örnek gazlaştırılarak yavaş bir hızla 10^{-5} torr basınçtaki iyonizasyon odacığına gönderilir.

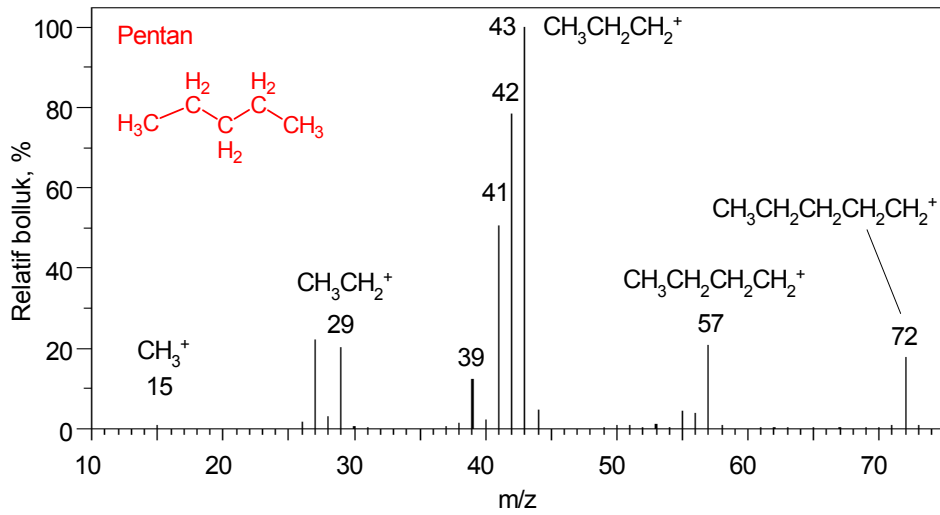
İyon Kaynağı: Örnekteki moleküller, ısıtılan bir flamandan anoda doğru akan bir elektron akımı tarafından, doğrudan veya dolaylı olarak iyonlaştırılırlar (iyonizasyon ile hem pozitif ve hem de negatif iyonlar oluşur, fakat pozitif olanlar çoğunluktadır ve analitik yöntemler de, çoğunlukla, pozitif taneciklere dayanır). A slitindeki küçük negatif potansiyel ile pozitif iyonlar negatiflerden ayrılır ve A ile B arasındaki birkaç yüz-birkaç bin voltluk potansiyel tarafından hızlandırılırlar. Paralleştirilen bir pozitif iyonlar demeti B slitinden ayırma bölgesine girer.

Kütle Analizörü: 10^{-7} torr basınç altında tutulan analizör tüpünde hızlı hareketli iyonlar kuvvetli bir magnetik alan içine girerler ve alanın etkisiyle eğri bir yol çizerler. Yolun eğrimi (eğrinin çapı) magnetik alanın kuvvetine, iyonların hızına ve külesine göre değişir. Hızlandırma potansiyeli veya alan kuvveti değiştirilerek küleleri farklı taneciklerin çıkış slitine odaklanması sağlanır.

Dedektör: Çıkış slitinden geçen iyonlar toplayıcı bir elektrot üzerine düşer ve iyon akımı oluşur. İyon akımı yükseltilir.

Data Sistemi ve Kayıt: Yükseltelen iyon akım alan kuvveti veya hızlandırma potansiyelinin fonksiyonu olarak kaydedilir.

Bir Kütle Spektrumu



26.0	1.6	40.0	2.2	53.0	1.1
27.0	22.2	41.0	50.5	55.0	4.4
28.0	3.1	42.0	78.3	56.0	3.7
29.0	20.3	43.0	100.0	57.0	20.6
38.0	1.3	44.0	4.6	72.0	17.8
39.0	12.2				

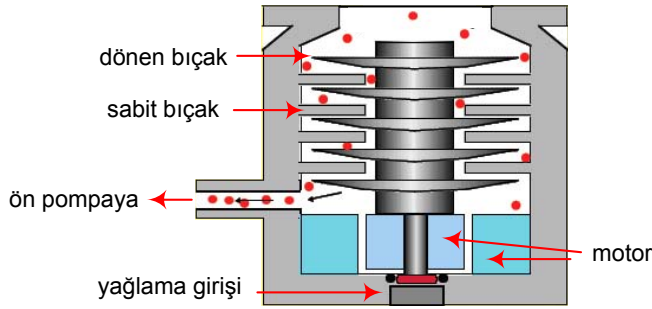
1. YÜKSEK VAKUM SİSTEMİ

Kütle spektrometresi ile çalışmalarda sistemin vakum altına tutulması gerekir; bunun temel nedeni ortalama-serbest yolu yükseltmektir. Ortalama mesafe, iyonize moleküllerin, diğer iyon ve moleküllerle çarpışmalarından önceki yolculuğu olarak tanımlanır; yüksek bir ortalama-serbest yol, tekrarlanabilir fragmantasyon sağlar ki bu da yüksek hassasiyet ve güvenilir bir kütle analizi yapılmasına olanak verir. Ortalama-serbest yol, iyonizasyon kaynağı ve iyon dedektörü arasındaki mesafeden daha büyük olmalıdır.

Vakum, iki kademeli vakum sistemiyle sağlanır: Birincisi, bir rotary pompadır; bu kaba veya ön pompadır; 10^{-2} - 10^{-4} torr vakum sağlar. İkinci pompa bir turbomoleküler veya bir difüzyon pompası olabilir; vakum 10^{-5} torr değere ulaşır. Bu pompalar kompresörler gibi çalışır.

Turbomoleküler Pompa

Turbomoleküler pompada bir dizi bıçak veya kanat bulunur; bunlar 30 000-90 000 rpm hızla dönerken etraftaki gaz moleküllerini aşağı ve dışarı atarlar. Bir turbo pompa birkaç saat içinde temiz bir vakum ortamı sağlar. Ancak kullanım süresi kısadır (1-2 yıl) ve gürültülü çalışır.

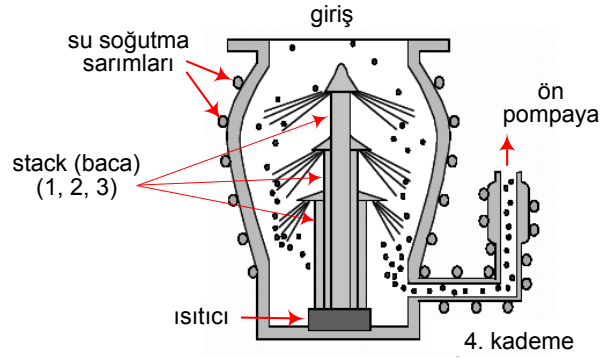


Turbomoleküler pompa

<http://ull.chemistry.uakron.edu/gcms/1-MS%20detector.pdf>

Yağ Difüzyon Pompası

Yüksek vakum elde etmek için kullanılan, 4-kademeli bir pompa türüdür. Yağ ısıtılır ve bacalardan (1, 2, 3) yükselir, tepeye ulaştığında her bir bacanın üst kısmında bulunan deliklerden püskürür; püsküren her bir tanecik çevresine bulunan gaz moleküllerini toplar ve aşağıya doğru ittirir. Dördüncü ve son kademe de yağ damlaları bir pompayla toplanır ve tekrar devreye gönderilir. Bu tür pompaların bakımı kolaydır, ancak yüksek vakuma ulaşmak zaman alır. Ayrıca, iyi dizayn edilmemişse deney örneğine yağ kaçma olasılığı vardır.



Yağ difüzyon pompası

2. ÖRNEK VERME SİSTEMİ

Örnek verme sisteminin amacı, bir örneğin düşük basınçta gaz halinde iyon kaynağına gönderilmesidir. Örneğin fiziksel haline göre giriş sisteminin yapısı da farklı olur; her tipteki örnek düşünüldüğünde birkaç sistemin olması gerekir.

Örnek Verme Sistemleri

Örnek verme sistemi	Örnek tipi	Örnek miktarı	Özellikler	İyonlaşma metodu
Yığın (batch)	gaz, sıvı, düşük erime noktalı katı	<1 mg	örnek akışı kararlıdır, uzun süreli	EI, CI
Direkt prob giriş	az uçucu örnek	<1µg	örnek akışı prob sıcaklığına göre değişir	EI, CI, DI
Membran	karışım çözelti	<10 ⁻⁶ M	sadece buharlar	EI, CI
Kromatografi; GC, SFC	karışım çözelti	<1µg	çok uçucu bileşikler	EI, CI
Kromatografi; LC, CZE	karışım çözelti	<1µg	az uçucu bileşikler	SI

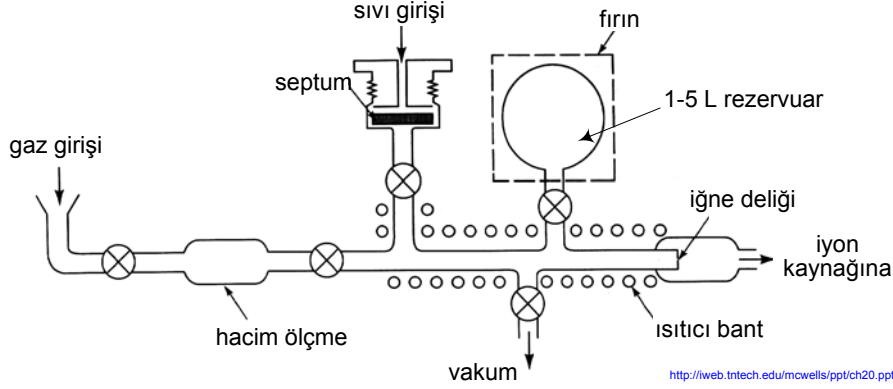
SFC: supercritical fluid chromatography

CZE: capillary zone electrophoresis

http://www.colorado.edu/chemistry/chem5181/MS1_Intro_SampleInt.pdf

a. Yığın (Batch) Girişi

En çok uygulanan örnek hali gazdır ve bunun için 1-5 litrelik gaz rezervuarları kullanılır. Rezervuardaki gazın basıncı, iyonizasyon odacığının basıncının bir veya ikinci derecesi kadar daha yüksektir, böylece odacığa ince bir delikten sürekli ve kararlı bir örnek akımı sağlanır; örnek basınçları için 0.01 torr tipik bir değerdir. 150 °C'nin altında kaynayan sıvı örneklerle çalışıldığında, uygun bir miktar alınarak oda sıcaklığında, havası boşaltılmış bir rezervuarda gazlaştırılır. Daha az uçucu örnekler durumunda, maddenin ısı olarak kararlı hale gelmesi için, örnek ve rezervuar ısıtılabilir. Aksi halde, örneğin özel bir cihaz ile doğrudan iyonizasyon odacığına verilmesi gerekir.



Bir yığın (batch) giriş sistemi şematik görünüşü

b. Doğrudan Örnek Buharı Girişi (Direct Vapor Inlet)

Doğrudan buhar girişi, en basit örnek verme tekniğidir. Gaz halindeki analit bir iğne valfle, kütle spektrometresinin kaynak bölgesine verilir. Örnekte bulunabilecek hava pompa çıkış hatlarıyla uzaklaştırılır.

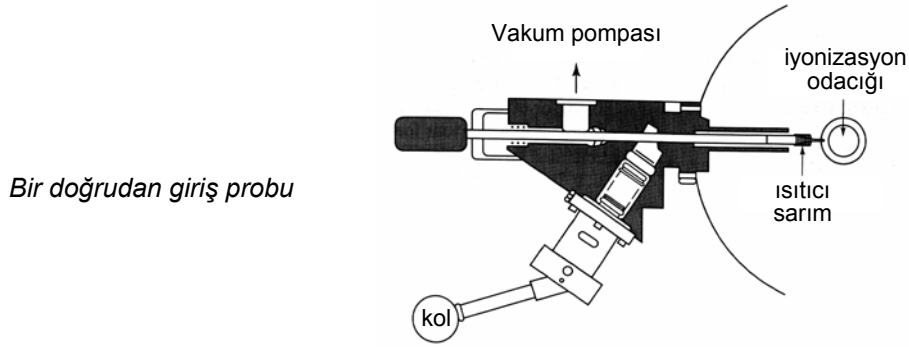
Bu tip örnek verme tekniği gazlar, sıvılar ve yüksek buhar basıncı katılar için uygundur. Düşük buhar basıncı örnekler için, örnek önceden ısıtılarak buhar basıncı yükseltilir. Yöntem, kararlı bileşiklere uygun olduğundan ve makul sıcaklıklara izin verdiği için çok sayıda örneğe uygulanamaz.

c. Direkt Prob, DIP (Direct Insertion Probe)

DIP tekniği, buhar basıncı düşük olan sıvılar ve katıların kütle spektrometresine verilmesinde kullanılan bir yöntemdir. İşlemde, örnek, ısıtılmış bir kovanın ucundaki kısa bir kapiler tüpe yüklenir. Kovan, bir vakum kanalıyla kaynak bölgesine gönderilir. Probun gerekli konuma ayarlanmasından sonra kapiler tüpün sıcaklığı, örneğin buharlaşmasını sağlayacak bir seviyeye kadar yükseltilir. Bu prob, direkt buhar girişiyle uygulanabilen sıcaklıklardan daha yüksek sıcaklıklarda çalışmaya olanak sağlar. Ayrıca. Örnek vakum atındadır, ve kaynağa çok yakın bir konum-

dadır; bu durum analizin daha düşük sıcaklıklarda yapılmasını sağlar. Düşük sıcaklıkta analiz, sıcaklığa karşı hassas bileşikler için çok önemlidir.

DIP tekniği, doğrudan buhar girişine (Direct Vapor Inlet) kıyasla daha zahmetli olmasına karşın pek çok örneğin analizinde kullanılmaktadır.

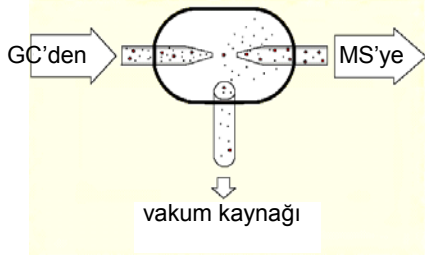


d. Gaz Kromatografisi Giriş Sistemleri

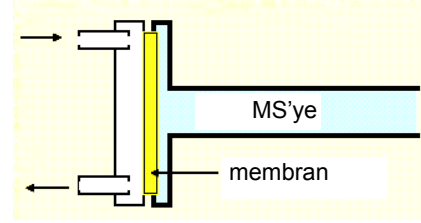
Bir kütle spektrometreye örnek verme işleminde uygulanan en popüler teknik gaz kromatografisidir. Kompleks karışımlar önce gaz kromatografisi ile ayrılır, her bir bileşenin tanımlanması ve miktarlarının saptanması için kütle spektrometresine verilir. Bu iki cihazı (GC-MS) birbirine bağlamak için çeşitli arayüz (interface) dizaynları kullanılmaktadır. Girişlerin en önemli karakteristiğini, kütle spektrometreye giren GC taşıyıcı gazın ve analitin miktarlarının ayarlanması oluşturur. Taşıyıcı gazın fazla olması kaynak bölgesinin basıncının artmasına neden olur. Bu durumda bölgenin gerekli basıncının devam ettirilmesi için daha büyük ve güçlü vakum pompasına ihtiyaç doğar (ki bu çok pahalıdır). Kütle spektrometreye giren analit miktarı, cihazın algılama sisteminin geliştirilmesi (dedektör) yönünden önemlidir. İdeal hal, kütle spektrometrenin kaynak bölgesine taşıyıcı gaz girmesine izin vermemek ve fakat analitin tamamının girmesini sağlamaktır.

GC/MS arayüzler çok çeşitlidir; moleküler separatör, permeasyon seperatör, açık slit ve kapiler giriş kullanım alanları fazla olan bazı arayüzlerdir.

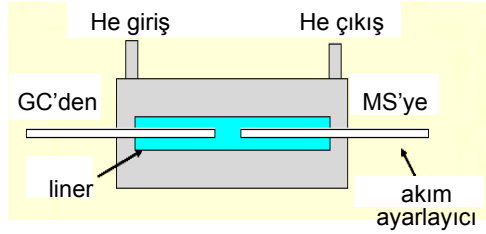
Bazı Tipik Gaz Kromatografisi Giriş Sistemleri



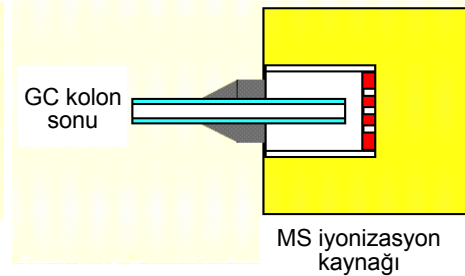
(a) Moleküler separatör



(b) permeation (geçirgenlik) separatörü,



(c) açık split



(d) kapiler direkt

<http://ull.chemistry.uakron.edu/gcms/1-MS%20detector.pdf>

Moleküler Separatör

Gaz kromatografisinde özellikle dolgulu kolonlar kullanılması durumunda yararlı olan çok popüler bir sistemdir; çalışma prensibi relatif difüzyon hızına dayanır: Küçük moleküllerin difüzyonu daha hızlı olduğundan, pek çoğu, kütle spektrometrenin giriş jetini yakalayamaz; oysa daha büyük moleküller daha yavaş difüzlendiğinden MS giriş jetine ulaşma şansları çok yüksek olur.

Geçirgenlik (Permeation interface)

Bu tip bir sistemde, GC ve kütle spektrometresi arasında yarı-geçirgen bir membran bulunur. Bu teknikte karşılaşılan sorunlar arasında: örneğin molekül ağırlığı ve polaritesine bağlı olarak membran seçiminin farklı olması, algılamanın yavaşlığı ve membrandan analitin sadece az bir miktarının geçebilmesi sayılabilir.

Açık Split (Open split interface)

Bu arayüzde kütle spektrometresine verilen akım, kapiler kolon çıkışlarında olduğu gibi, genellikle ~1 mL/dak ile sınırlandırılmıştır; bunun üstünde akım geldiğinde akımın fazlası atılır. Açık split arayüz herhangi bir gaz üretin sisteminde kullanılabilir, ancak split sırasında örneğin de dışarı atılması gibi bir dezavantajı vardır.

Kapiler Girişi (Capillary Direct Interface)

GC cihazında sadece kapiler kolon kullanılması halinde, kolon çıkışının tümüyle kütle spektrometresine verilmesi sistemine göre çalışan bir arayüzdür.

e. Sıvı Kromatografisi Giriş Sistemleri

Bir kütle spektrometreye az uçucu bileşikler için örnek verme işleminde uygulanan tekniklerden biri de sıvı kromatografisidir. Kompleks karışımlar önce sıvı kromatografisi ile ayrılır, her bir bileşenin tanımlanması ve miktarlarının saptanması için kütle spektrometresine verilir. LC-MS sistemlerini birbirine bağlamak için, GC-MS sistemlerinde olduğu gibi çeşitli arayüzler (interface) kullanılmaktadır. Aşağıda bazı arayüzler kısaca tanımlanmıştır.

Doğrudan Giriş (Direct Inlet)

Bu teknikte sıvı kromatografi cihazından gelen akımın bir kısmı, çapı ~2.5 mm olan bir orifisten doğrudan injekte edilir. İnjektörden basınçla çıkan sıvı ince spreyleyler halinde dağılır, damlalar ısıtılan bir odacıkta buharlaştırılarak çözgeninden kurtulur ve sonra iyonizasyon odacığına girer.

Termosprey

Termosprey arayüz doğrudan giriş sisteminin doğal bir uzantısı gibi düşünülebilir; giriş tüpünü ucu uygun bir sıcaklığa ısıtılarak örnek damlacıklarının buharlaşması kolaylaştırılır. Optimum arayüz sıcaklığı hareketli fazın bileşimine bağlıdır.

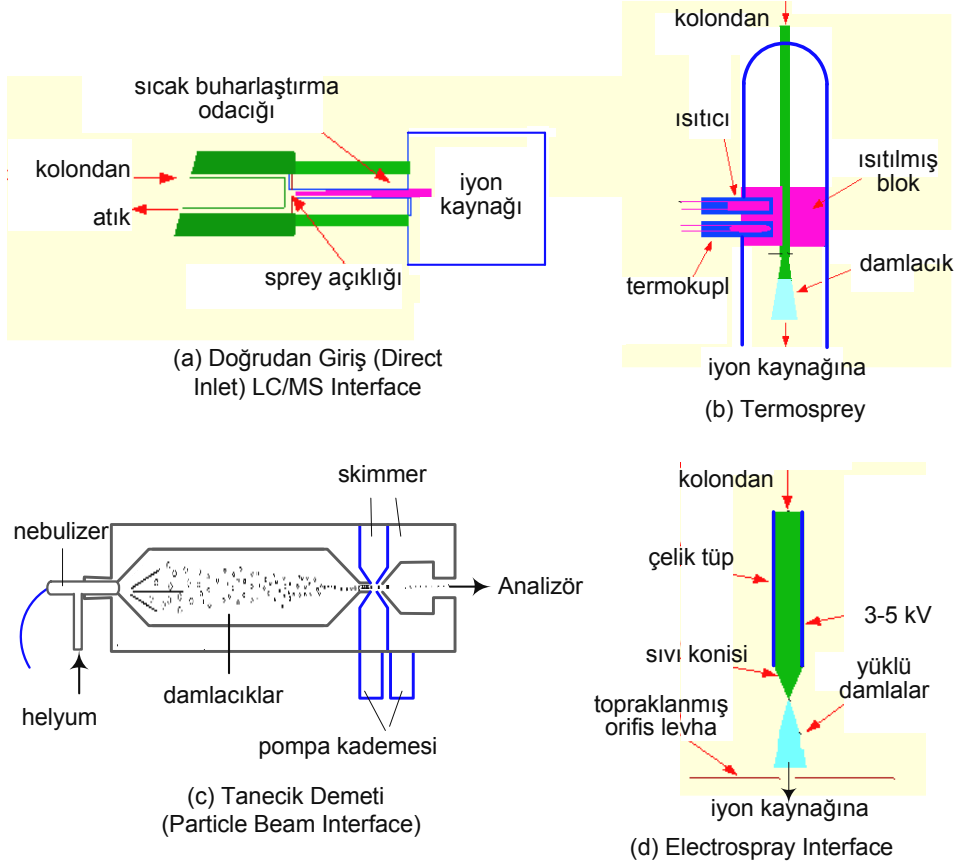
Tanecik Demeti (Particle Beam)

Sürekli (continue) bir örnek giriş sistemidir. Sıvı birkaç mikron çapında damlacıklar halinde atomize edilir ve solventin büyük bir kısmı buharlaşmaya kadar ısıtılır. Tanecikler, püskürtmeyle buharlaştırılarak kütle spektrometrenin iyonizasyon bölgesine gönderilir.

Elektrosprey

Elektrosprey arayüz atmosfer basıncında çalışır; bu özelliği nedeniyle vakum altında (1-10 torr) çalışan termosprey tekniğinden ayrılır. Örnek çözeltisi, iyon orifisinden 1 cm kadar mesafedeki paslanmaz çelik bir kapilerin ucundan (jet) püskürtülür. Orifis levhası ve jet arasına uygulanan 3-5kV potansiyel damlacıkların iyonlaşmasını sağlar. Elektrospreyin iyonlaşma verimi iyonizasyon potansiyeline bağlı olarak değişir. Potansiyel farkının artırılması başlangıçta damlacık boyutunu yükseltir, ancak iyon oluşması gerçekleşemez. Ancak voltajın daha fazla yükseltilmesi halinde sisle kaplanan tanecikler yüklenir ve iyonlaşırlar.

Bazı Tipik Sıvı Kromatografisi Giriş Sistemleri



<http://www.chromatography-online.org/ion-chromatography/Ion-Chromatography-Spectroscopy-Systems>.

3. İYON KAYNAKLARI

Molekülleri gaz iyonlar şekline dönüştüren çok sayıda yöntem vardır; kütle spektrometresinde uygulanan bazı iyonizasyon kaynakları:

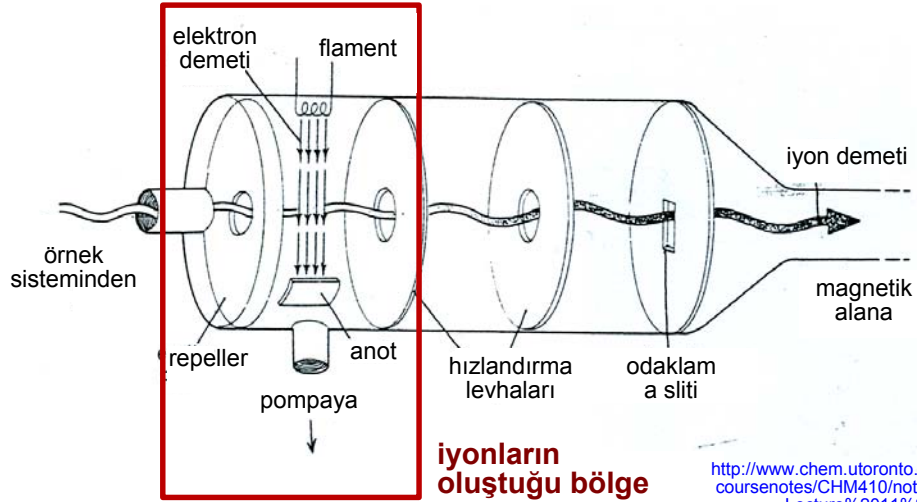
Uçucu bileşikler için:

- Elektron Impact İyonizasyon (EI)
- Kimyasal İyonizasyon (CI): Pozitif kimyasal iyonizasyon (PCI), ve negatif kimyasal iyonizasyon (NCI) kaynaklar

Uçucu olmayan bileşikler için:

- Hızlı Atom Bombardımanı (FAB); Atmosferik Basınç İyonizasyon (API); MALDI

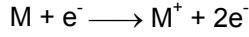
a. Elektron İyonizasyon (Elektron Impact) Kaynağı (EI)



Elektron iyonizasyon (EI) kaynağı şematik

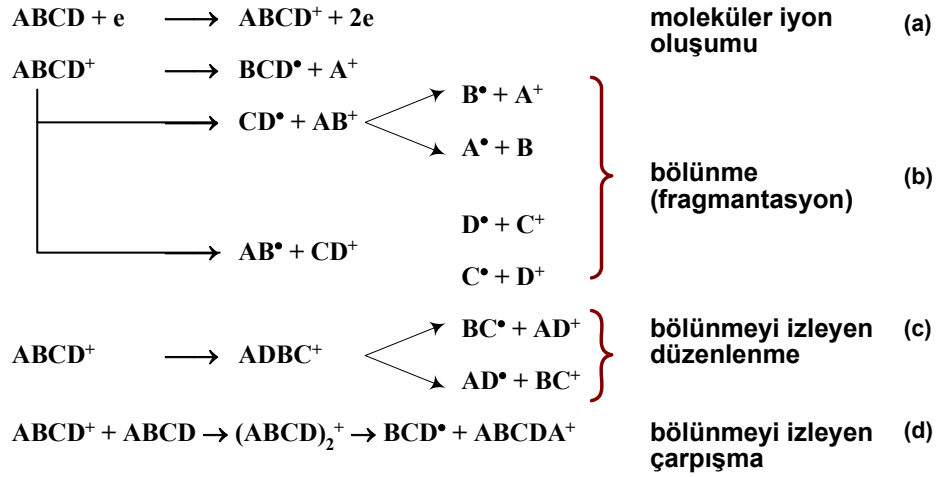
Elektron iyonizasyon yöntemine, elektron impact iyonizasyon da denir; "sert" iyonizasyon tekniğidir, 10^{-5} torr yüksek vakum altında çalışılır. GC-MS bağlantılı sistemlerde kullanımı oldukça yaygındır.

Kütle spektrumunun alınabilmesi için aşağıdaki iyonizasyon işlemi başlatılabilecek minimum miktarda bir elektron-demeti enerjisine (pek çok organik bileşik için 7-15 eV kadar) gereksinim vardır.



M molekülü, M^+ 'da "moleküler iyon"u veya "ana iyon"u gösterir. Elektron demeti enerjisinin az miktarda fazlası, iyon-üretici çarpışmalar olasılığının artması nedeniyle, daha fazla moleküler iyon oluşmasına yol açar. Demet enerjisindeki büyük artışlar, moleküler iyon pikinin küçülmesine de neden olabilir; böyle bir durumla, ilave edilen enerjinin ana iyondaki elementler arasındaki bağı (veya bağları) kopararak daha küçük (bazan da daha büyük) kütleli taneciklerin üretilmesinde karşılaşılr.

Böyle bir işlem, aşağıdaki ABCD molekülü için açıklanabilir.



Çok sayıda atom içeren bir molekülden üretilen farklı pozitif iyonların sayısı fazla olur. Dağılım, ilk üretilen iyonun kararlılığına ve elektron demetinin moleküle verdiği enerjiye bağlıdır.

Denklem (b), (c) ve (d)'deki nötral tanecikler radikaller şeklinde gösterilmiştir. Bunlar molekül halinde de bulunabilirler.; her iki tipi de dedektöre ulaşamazlar.

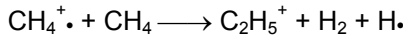
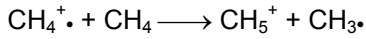
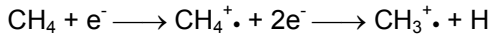
Analiz edilecek örnek, doğrudan bir giriş yoluyla veya gaz kromatografi kolonundan iyon kaynağı içine verilir. Isıtılmış tungsten veya renyum gibi bir filamentten üretilen bir elektron demeti gaz halindeki örnek molekülleriyle çarpışır, bir elektron bırakır ve pozitif yüklü bir iyon üretir; iyon, örneğin relatif kütlelerini gösterir. Isıtılan bir filamentten çıkan elektronlar, bir potansiyel farkıyla hızlandırılarak örnek odacığına gönderilir. Örnek molekülü, bir elektron kaybederek iyonlaşır ve çiftleşmemiş bir elektron içeren pozitif yüklü iyon haline dönüşür.

Elektron iyonizasyon kaynağı, molekülleri çeşitli kütlelerde çok sayıda pozitif iyonlara bölebilecek yeterli enerjiye sahiptir. Maddenin tanımlanması alınan karmaşık spektrumdan doğru olarak yapılabilir.

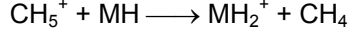
b. Kimyasal İyonizasyon Kaynağı (CI)

Elektron iyonizasyondan daha "yumuşak" bir iyonizasyon tekniğidir; fragman sayısı daha azdır. Pozitif ve negatif iyon şekilleri vardır.

Kimyasal bir iyonizasyon kaynağında metan gibi bir reaktif gaz, 1 torr kadar basınçta, özel bir elektron demeti kaynağı içine konulur. Aynı kaynak içine, konsantrasyonu reaktifin 10^{-3} – 10^{-4} katı olacak şekilde örnek ilave edilir. Örnek moleküllerinin elektronlar yerine reagent iyonları ile çarpışması sonucunda iyonlaşma meydana gelir. Başlangıçta, elektron demeti reaktif gaz ile etkileşerek CH_5^+ , CH_4^+ , CH_2^+ , H_2^+ , ve C_2H_5^+ gibi çok sayıda iyon oluşturur.

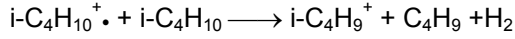
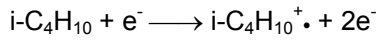


Bu iyonlardan birkaçı (CH_5^+ gibi), kuvvetli proton vericidir ve analit molekülleri ile reaksiyona girerek kütlesi bir birim daha büyük ($M+1$) iyonlar meydana getirirler. Örneğin,

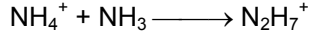
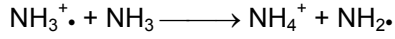
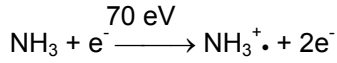


reaksiyonu ile MH analitinden MH_2^+ iyonu oluşur. Bu tür iyonizasyonda, çoğunlukla, kimyasal iyonizasyon kaynağı analitten çok az cins iyon üretir, bu nedenle de kütle spektrumu basittir ve kolaylıkla tanımlanabilir.

Reaktif gaz izobütan olduğunda,



Reaktif gaz olarak amonyak da kullanılabilir (10^2 torr).

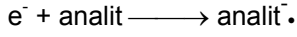
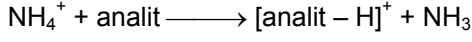


Kimyasal iyonizasyonda spektrometrenin iyon kaynağı, yüksek basınçta tutulur.

Bazı Reaktif Gazlar ve Özellikleri

Reaktant			Analit
Gaz	İyonlar	Nötral iyon	İyonları
H_2	H_3^+	H_2	$[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}-\text{H}]^+$
CH_4	CH_5^+ (C_2H_5^+ ve C_3H_5^+)	CH_4	$[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5]^+$ ve $[\text{M}+\text{C}_3\text{H}_5]^+$
$i\text{-C}_4\text{H}_{10}$	$t\text{-C}_4\text{H}_9^+$	$t\text{-C}_4\text{H}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+\text{C}_4\text{H}_9]^+$, $[\text{M}+\text{C}_3\text{H}_3]^+$, $[\text{M}+\text{C}_3\text{H}_5]^+$, $[\text{M}+\text{C}_3\text{H}_7]^+$
NH_3	NH_4^+	NH_3	$[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

Pozitif kimyasal iyonizasyon (PCI) işleminde proton transfer reaksiyonuyla kuvvetli moleküler iyon $[\text{analit-H}]^+$ meydana gelirken, negatif kimyasal iyonizasyon işleminde (NCI) $[\text{analit}^-]$ kuvvetli moleküler iyon oluşumuyla sonuçlanan elektron yakalama reaksiyonu gerçekleşir.



Proton transfer reaksiyonu için analiz edilen bileşik bir proton alabilmelidir; aminler ve alkoller gibi. Elektron yakalama reaksiyonunun oluşabilmesi için ise, bileşiğin bir elektron alabilme özelliğinde olması gerekir; örneğin, F, Cl, Br, I gibi elektronegatif atomlar ve fenil halkası (veyahalkaları) içeren konjuge sistemler bu özelliktedir.

İyonizasyon tekniği uygulanırken bileşiğin yapısına göre teknik seçimi yapılmalıdır.

ÖRNEK. 1

Efedrin

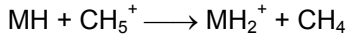
Aşağıdaki şekilde molekül ağırlığı 165 olan efedrinin,

(a) elektron impact iyonizasyon ve,

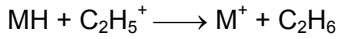
(b) kimyasal iyonizasyon spektrumları verilmiştir.

EI spektrumda (Şekil-a) ana molekülün parçalanmasıyla oluşan küçük taneciklere ait çok sayıda pik vardır. Moleküler iyon piki 165 görülmez; sonuç olarak da bileşiğin molekül ağırlığı saptanamaz. 58 deki temel pik $(\text{CH}_3\text{CH} = \text{NHCH}_3)^+$ taneciğini gösterir.

Şekil-b, aynı maddenin kimyasal iyonizasyon spektrumudur. Burada kuvvetli bir (M+1) piki bulunur. Bu pik,

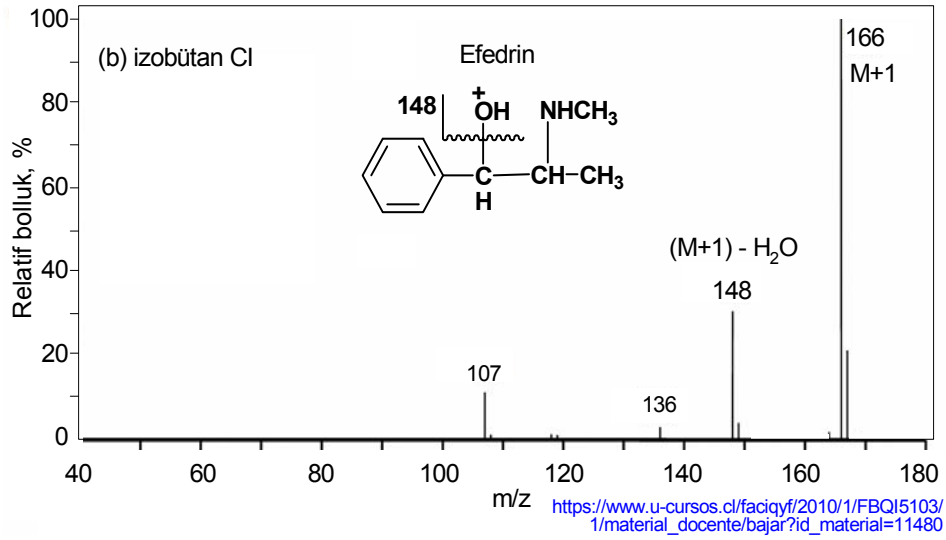
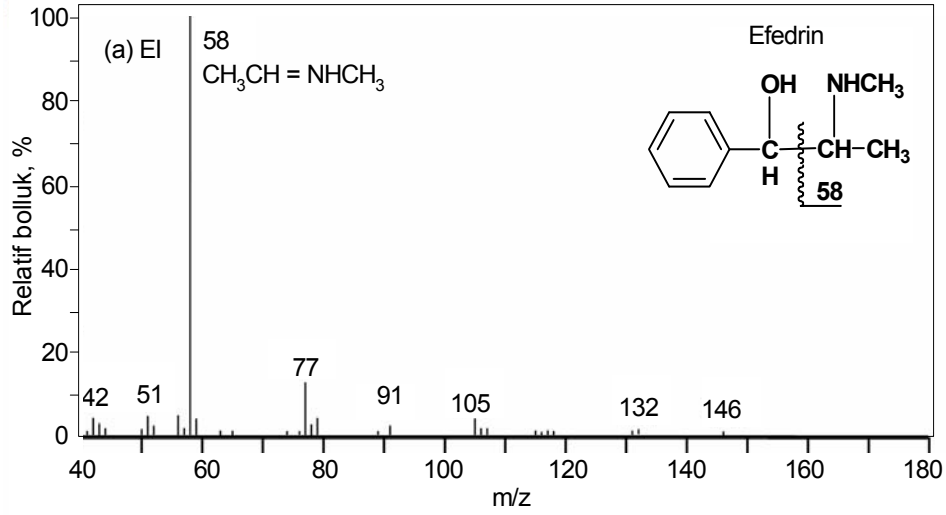


gibi bir reaksiyonla oluşur. (M-1) piki de,

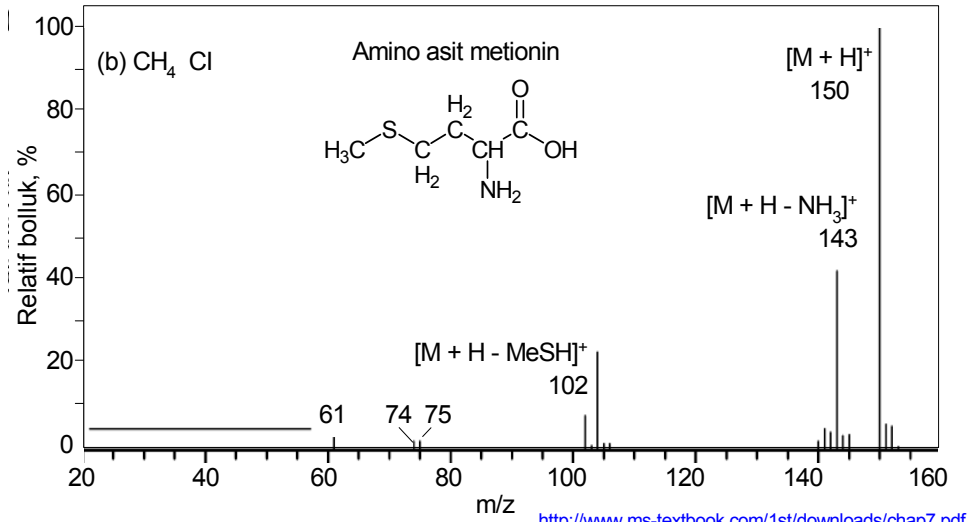
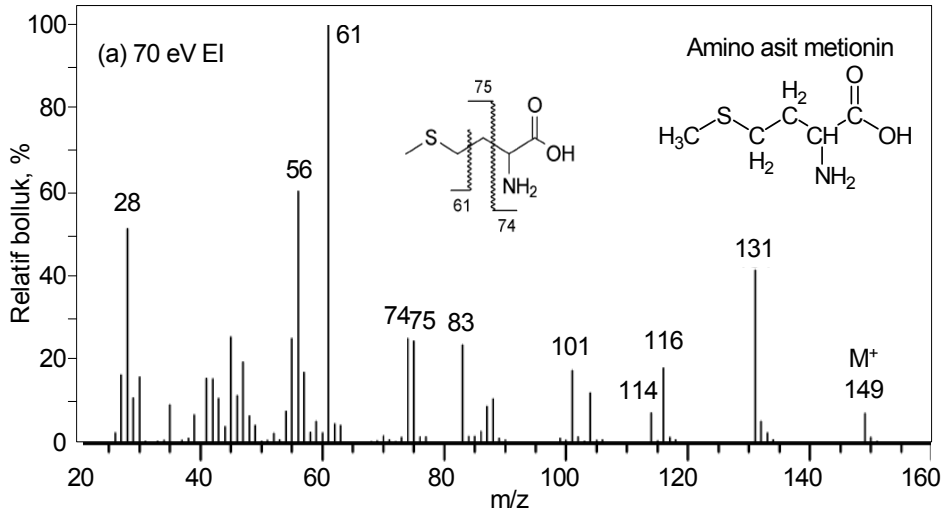


reaksiyonuna benzer bir reaksiyonla meydana gelir. Bu spektrumdan bileşiğin molekül ağırlığı tayin edilebilir.

Efedrin, C₁₀H₁₅NO (165.23)



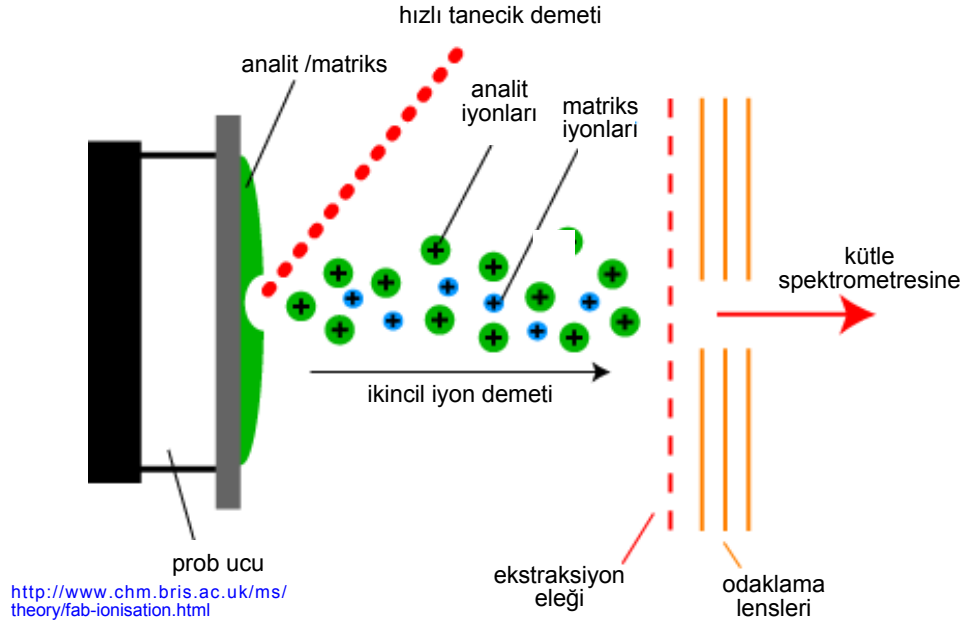
Şekil: Efedrinin, (a) elektron iyonizasyon (EI), ve (b) (izobütan reaktifi ile kimyasal iyonizasyon (CI) kütle spektrumları

ÖRNEK. 2**Amino asit metionin, $C_5H_{11}NO_2S$ (149.21)**

<http://www.ms-textbook.com/1st/downloads/chap7.pdf>

Şekil: Aminoasit metioninin, (a) 70 eV EI, ve (b) metan reaktif gaz ile CI kütle spektrumları

c. Hızlı Atom Bombardmanı (FAB) ve Sıvı İkincil İyon Kütle Spektrometresi (LSIMS)



FAB ve LSIMS kütle spektrometrenin mekanizması

FAB'da kullanılan tanecik demeti, nötral bir inert gazdır; 4-10 kV 'da Ar, Xe gibi.

LSIMS'de ise tanecik demeti iyonlardır; genellikle 2-30 keV'de Cs⁺ kullanılır. Her iki metot da "yumuşak" iyonizasyon metodudur; iyonların çıkışından sonra çok az kalıntı enerji kalır. Bu nedenle uçuculuğu düşük olan moleküllerin analizlerinde çok uygundur.

FAB ve LSIMS teknikleri birbirlerine çok benzer; her ikisinde de örnek probunun ucunda analit/matriks karışımının katı noktaları, hızlı tanecik demetiyle bombardıman edilir. Matriks, gliserin veya 3-nitro benzil alkol gibi küçük bir organik moleküldür; amacı, örnek yüzeyini homojen tutmaktır. Analit/matriks yüzeyi üstüne giren tanecik demeti lokalize çarpışmalarla enerjisini transfer eder; bu işlemde yüzeyden bazı ikincil iyonlar çıkar. Bunlar ekstrakt edilir ve kütle spektrometreye

gönderilmeden önce odaklanır. Üretilen iyonların polaritesi kaynak potansiyeline bağlıdır. Şekil, bir pozitif iyon demeti oluşumunu göstermektedir.

Elde edilen spektrada önemli miktarda $[M+H]^+$ and $[M+Na]^+$ gibi, bozulmamış moleküler tanecikler bulunur, yapısal parçalanma çok azdır. Spektranın düşük kütle bölgesinde, gene de matriks ve matriks/tuz küme iyonları vardır.

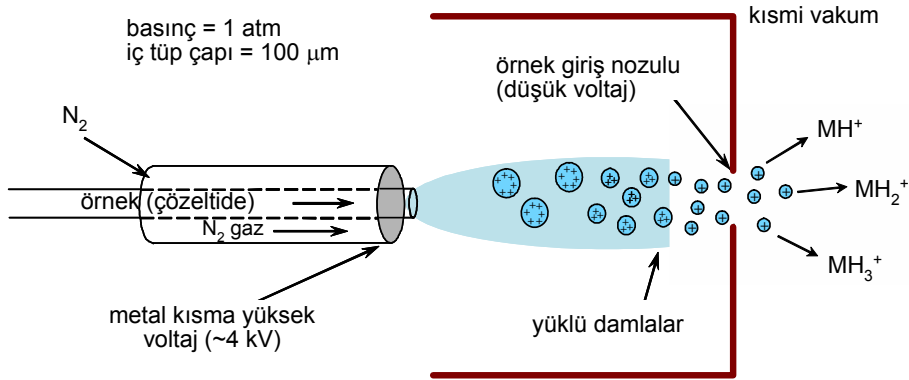
d. Atmosferik Basınç İyonizasyon (API)

API yöntemi, özellikle sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC/MS) sistemi için kullanım alanı çok yaygın olan bir iyonizasyon tekniğidir; iyonizasyon vakum sisteminin dışında meydana gelir. Örneğin çözelti halinde olması gerekir. İki tip API vardır:

- Elektrosprey iyonizasyon (ES)
- Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (APCI)

Elektrosprey İyonizasyon (ESI)

Elektrosprey iyonizasyon ESI, ES, IS kodlarıyla tanımlanabilir; ayrıca, iyon sprej, nanosprey, sonik sprej ve saf elektrosprey de denilmektedir. En yumuşak iyonizasyon tekniğidir. Polar ve uçucu olmayan bileşikler için ideal bir iyonizasyon yöntemidir; bunlar arasında, proteinler, peptitler, nükleik asitler, farmasetikler ve doğal ürünler sayılabilir.



http://uncw.edu/chem/documents/MSlecturefall2008312_000.ppt#7

Elektrosprey iyonizasyon (ESI) şematik görünümü

Sıvı kromatografi ile birleşik olarak kullanılabilir. Yüklü buhar damlacıklarından gaz faza geçen iyonlar $M+H^+$ veya $M-H^-$ iyonları üretir. Çok yüklü iyonlar da üretebilmesi yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin analizine olanak verir.

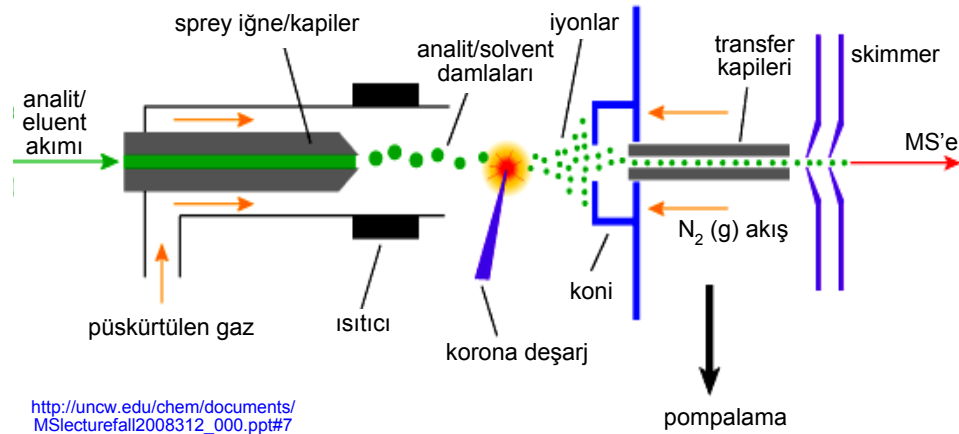
ESI kaynak, yüksek voltaj (4.5 kV) uygulanabilen çok ince bir iğne içerir; örnek çözeltisi bu iğne içinden kaynak odacığına püskürtülür, ve damlacıklar halinde dağıtılır. Damlacıklar kapilerden çıkarken yüküdürler; solvent buharlaşırken yüklü analit moleküllerini bırakırlar ve damlalar kaybolur.

ESI, özellikle buharlaştırılması ve iyonlaştırılması zor olan büyük biyolojik moleküller için faydalı bir iyonizasyon tekniğidir.

Atmosferik Basınç Kimyasal İyonizasyon (APCI)

Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (buna, Heated nebuliser, APCI da denir) polar bileşikler için kullanılan bir iyonizasyon tekniğidir.

Yüksek performans sıvı kromatografisinden (HPLC) gelen akım (< 2 mL/dak akış hızı) 600 °C'da buharlaştırılır. Korona deşarj iğne solvent moleküllerini iyonlaştırır. Solvent ve analit arasındaki çarpışmalar ve yük transfer reaksiyonlarının etkisiyle ya $M+H^+$ veya $M-H^-$ iyonlarının oluşmasına yol açan proton transferi meydana gelir. Bileşikler termal parçalanmaya uğrar. Çok değerli iyon oluşumuyla fazla karşılaşılmaz.

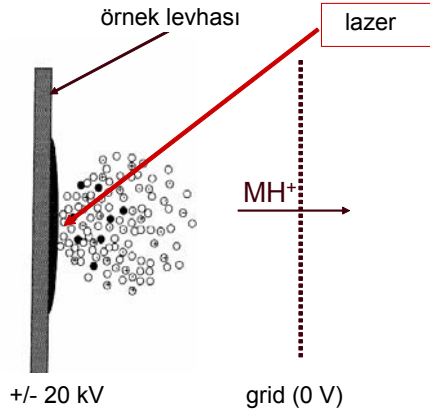


Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (APCI)

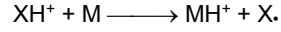
e. MALDI: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization

Hızlı atomik bombardıman (FAB) iyonizasyona benzer. Örnek, spesifik bir dalga boyundaki kısa pulslu lazerden gelen ışını absorblayan matris içinde çözülür, iyonlaşır ve kütle analizörlerinde ekstrakt edilir. Zaman-yol bağımlı kütle spektroskopisiyle (TOF, Time of Flight MS) bileştirilerek kullanılır, fakat sıvı kromatografisiyle uygun değildir. Yüksek kütle sayılarına çıkabilme özelliği nedeniyle kullanımı oldukça yaygın bir iyonizasyon yöntemidir.

MALDI hem pozitif ve hem de negatif iyonlar üretir; bunlar genellikle $(M+H)^+$, $(M+Na)^+$ ve $(M-H)^-$ şeklindedir. Ayrıca, +3'e kadar çok yüklü iyonlarla, dimerler, trimerler, v.s. de meydana gelir. Ana pik (veya pikler) sadece bir yük taşır.



Örnek matrisle (X) karıştırılır ve levha üzerinde kurutulur
Lazer matris moleküllerini iyonlaştırır
Örnek molekülleri (M) proton transferiyle iyonlaşır



<http://www.msg.ucsf.edu/agard/maldi/IntrotoMS.ppt#9>

4. KÜTLE ANALİZÖRÜ

Farklı kütle/yük oranlarındaki iyonların resolusyonu (ayrılması) için birkaç sistem vardır. En ideali, analizörün çok küçük kütle farklılıklarını algılayabildiği ve buna bağlı olarak yüksek seviyeli iyon akımlarının üretilebildiği bir düzendir. Bu iki özellik, doğrudan doğruya, birbirinin neden ve sonucu olmadığından aradaki ilişkiyi sağlayan bir sistem bulundurulur. Bazı uygulamalarda kütle sayıları farkının tam sayı olması yeterlidir, bazılarında ise farkın daha hassas olması gerekir; Örneğin, $C_2H_4^+$, CH_2N^+ , N_2^+ , ve CO^+ iyonlarının saptanması için kütle farkı 0.01 kütle birimi hassasiyetle bilinmelidir (kütleleri, sırasıyla, 28.031, 28.019, 28.006, ve 27.995 tir).

Çeşitli kütle spektrometreleri arasındaki temel farklılık, iyonları ayırma sistemleridir.

Farklı Kütle Analizörlerinin Özellikleri

Metot	Ölçülen özellik	Kütle/yük (m/z) aralığı	m/z = 1000'de rezolusyon	Dinamik aralık
Sektör magnetik	moment/yük	10^4	10^5	10^7
Uçuş zamanı (TOF)	uçuş zamanı	10^6	10^3-10^4	10^4
İyon siklotron rezonans	siklotron frekansı	10^5	10^6	10^4
İyon kapanı	frekans	10^4	10^4	10^4
Kuadropol kütle filtresi	m/z için filtreler	10^3-10^4	10^3-10^4	10^5

Aşağıda tipik bazı kütle analizör tipleri verilmiştir.

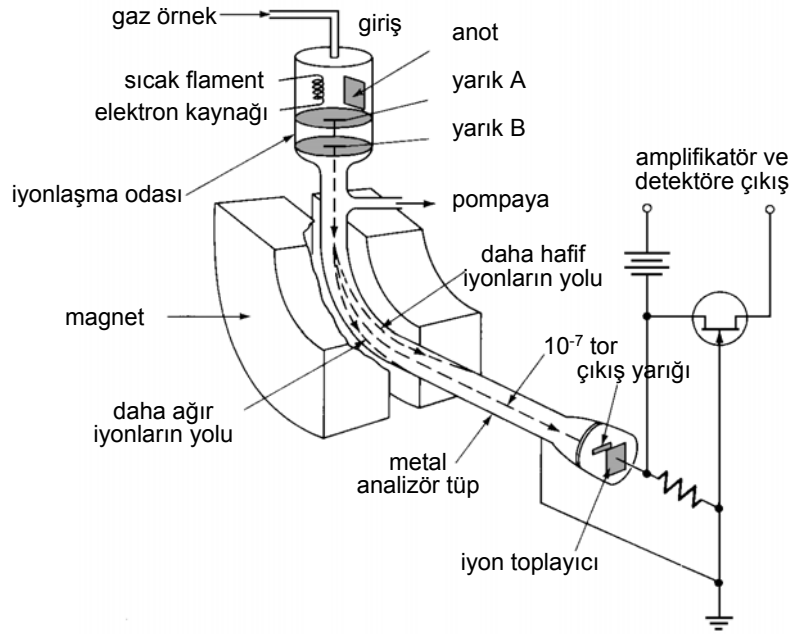
- Magnetic Sektör Analizörü (MSA)
 - Tek Odaklamalı: Yüksek rezolusyon, tam kütle, orijinal MA
 - Çift Odaklamalı: Enerji seçimini yapan elektrostatik alan ve m/e için magnetik alan

- Kuadropol Analizör (Q): Düşük rezolusyon (1 amu), hızlılık
- Zaman-Yol Bağımlı Analizör (TOF): m/z üst sınır yoktur
- İyon Kapanı Kütle Analizörü (QSTAR): İyi rezolusyon
- FT-İyon Siklotron Rezonans MS (FT-ICR MS): Çok yüksek rezolusyon, tam doğru kütle; 1ppm

a. Magnetic Sektör Analizörü (MSA)

Tek Odaklamalı MSA

(Yüksek rezolusyon, tam kütle, orijinal MA)



Tek odaklamalı bir kütle spektrometrenin şematik diyagramı

Tek odaklamalı ayırıcılarda 180, 90 veya 60° lik bir dairesel demet yolu kullanılır; örneğin, yukarıdaki şekilde görülen spektrometrede 90° lik bir yol izlenmektedir. Herhangi bir taneciğin takip ettiği yol, ona etki eden kuvvetler arasındaki dengeyi belirler. Magnetik merkezci kuvvet, F_M ,

$$F_M = H e v$$

eşitliği ile verilir. Burada H magnetik kuvvet, v taneciğin hızı, ve e iyon üzerindeki yüküdür. Dengeleyen merkezkaç kuvvet (santrifüj kuvvet), F_c ,

$$F_c = \frac{m v^2}{r}$$

m= taneciğin kütlesi, r =eğrinin yarıçapıdır.

$$E = e V = \frac{1}{2} m v^2$$

E = Taneciğin kinetik enerjisidir.

Buradaki V, iyonizasyon odacığındaki uygulanan hızlandırma potansiyelidir. Formüle göre kütlelerine bağlı olmaksızın, yükleri aynı olan tüm tanecikler, elektrik alanında hızlandırıldıklarında, aynı miktarda kinetik enerji kazanırlar. Bu varsayım sadece yaklaşık olarak doğrudur; çünkü iyonlar hızlandırılmadan önce de az miktarlarda, fakat farklı enerjiler içerirler. Bir taneciğin kollektöre giden dairesel yolu geçebilmesi için $F_M = F_c$ eşitliğinin sağlanması gerekir; bu durumda

$$H e v = \frac{m v^2}{r}$$

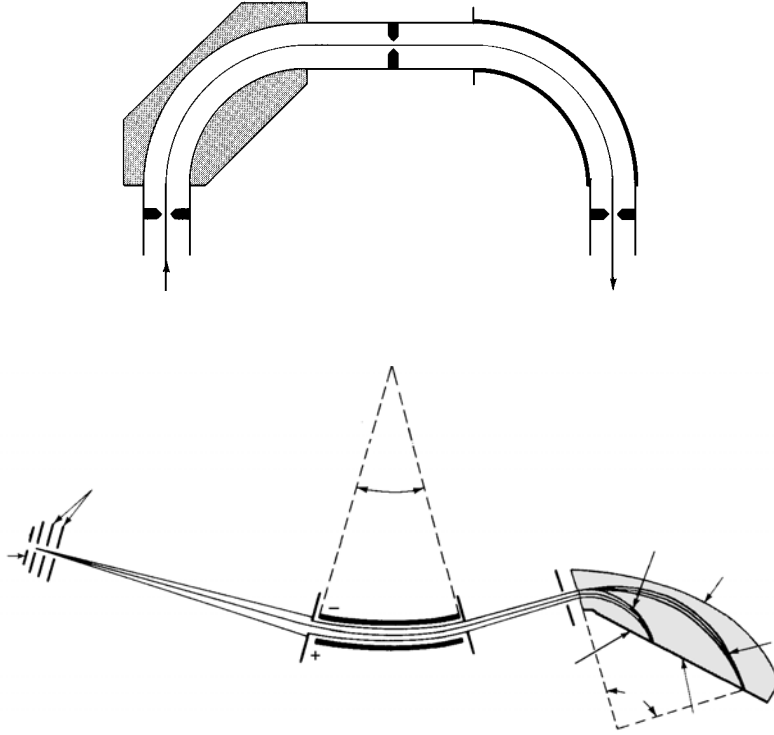
$$\frac{m}{e} = \frac{H^2 r^2}{2V}$$

Spektrometrelerin çoğunda, H ve r sabittir; bu nedenle slite ulaşan taneciğin kütle/yük oranı, hızlandırma voltajı ile ters orantılıdır. Pek çok tanecikte pozitif tek bir yük bulunur; V nin uygun bir şekilde ayarlanmasıyla istenilen herhangi bir kütlenin çıkış sliti (yarık) üzerine odaklanması sağlanabilir.

Çift Odaklamalı MSA

(Enerji seçimini yapan elektrostatik alan ve m/e için magnetik alan)

Tek odaklamalı cihazların küçük kütle farklarını (ki bu ayrılma gücüdür) ayırma yeteneği sınırlıdır; çünkü iyon kaynağını terk ederken taneciklerin sahip oldukları kinetik enerjiler birbirinden az miktarda farklıdır.



Şekil (a): Bir çift-odaklamalı ayırıcı ve (b): çift-odaklamalı kütle spektrometresi

Nötral moleküllerin kinetik enerjilerinin başlangıçtaki dağılımından kaynaklanan bu farklılık, kollektöre ulaşan iyon demetinin genişlemesine ve ayrılma gücünün kaybolmasına neden olur.

Çift-odaklamalı bir cihazda, demet önce radyal bir elektrostatik alandan geçer (Şekil-a). Bu alan aynı kinetik enerjili tanecikleri 2 numaralı slit üzerinde odaklar

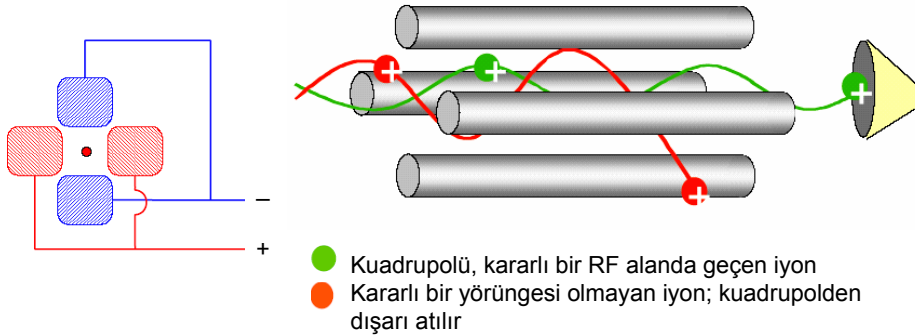
ve sonra magnetik ayırıcı için kaynak görevi yapar. Böylece birbirinden bir birim kütlenin küçük kesirleri kadar farklı olan taneciklerin ayrılması sağlanabilir. Üretilen iyon akımları çok çok küçüktür ve algılanıp kaydedilmesi için büyük amplifikasyona gereksinim vardır. Çift-odaklamalı kütle spektrometreler çok pahalı ve bakımı oldukça zor olan enstrümanlardır.

Şekil-b'de, Mattauch-Herzog geometrisine göre hazırlanmış diğer bir çift- odaklamalı cihazın şematik görünümü verilmiştir. Bu geometrik yapı, değişik kütle/yük oranındaki tüm iyonların tek bir odak düzlemi üzerinde toplanmasına olanak verir; bu durumda fotoğrafik algılama yapılabilir. Odak düzlemi boyunca kütle/yük oranı ile doğrusal bir dağılım gözlenir.

b. Kuadrupol Analizör (Q)

(Düşük rezolusyon; 1 amu, hızlılık, güçlü bir kromatografisi dedektörü)

Güçlü bir gaz kromatografisi dedektörüdür. Örnek kromatografi kolonundan çıktık-tan sonra, kütle spektrometrenin girişinde bulunan bir transfer hattından geçer ve bir elektron-şok iyon kaynağıyla (electron-iyonizasyon, EI) veya kimyasal iyonizasyonla (CI) iyonlaştırılır, fragmanlara (parçacıklar) ayrılır.

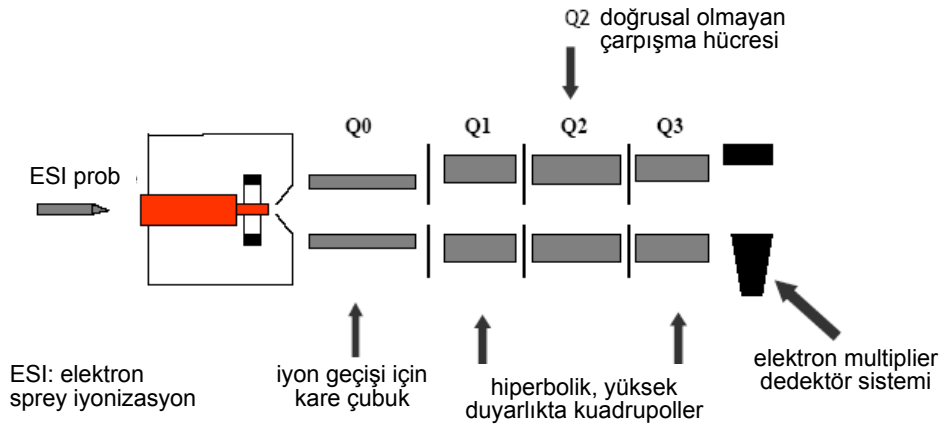


<http://www.enovatia.com/downloads/presentations/Mass%20Analyzers.pdf>

Dört kutuplu bir (kuadrupol) analizör

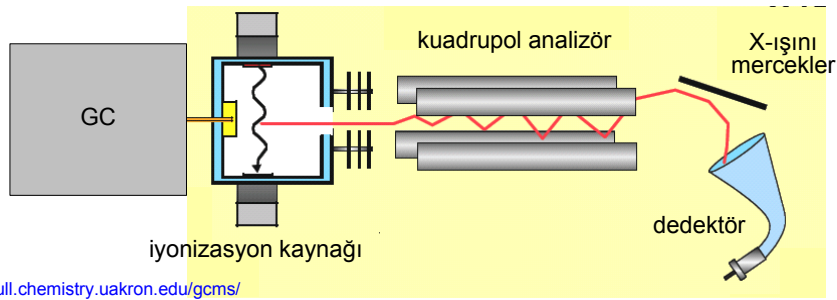
Dört kutuplu (kuadrupol) analizörler dört paralel çubuktan oluşur; karşılıklı çubuklar aynı polaritede, komşu çubuklar zıt polaritededir. Her bir çubuğa doğru akım (DC) ve radyo frekansı (RF) voltaj uygulanır; DC/RF kuadrupol voltajları değiştirir-

lerek iyonlar taranır. RF alanda, sadece seçilmiş kütle/yük oranındaki iyonlar doğru osilatör yolu izlerler. Alanlardan ikisi de iyon kaynağından çıkan pozitif tanecikleri hızlandıracak bir etki yapmaz, fakat birleştirilen alan, taneciklerin kendi hareketlerinin merkez eksenini etrafında titreşmesine neden olur; böylece çubuklardan biri ile çarpışarak sapıtılmadan, sadece bazı kütle/yük oranındaki tanecikler geçebilirler. Uygulanan alternatif akımın veya iki kaynağın potansiyellerin değiştirilmesi, fakat oranın sabit tutulması ile kuadropol spektrumu çizilir.



<http://www.enovatia.com/downloads/presentations/Mass%20Analyzers.pdf>

Üç kademeli kuadropol (TSQ) bir kütle analizörü



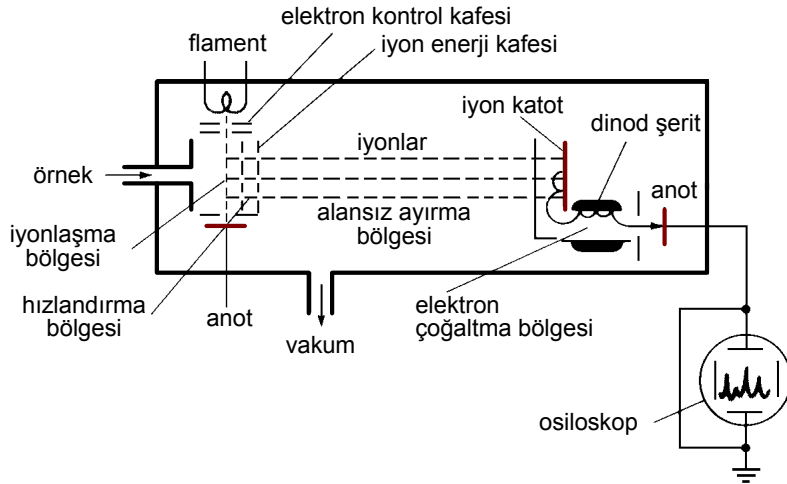
<http://ull.chemistry.uakron.edu/gcms/>

Bir MS/kuadropol MS sistemin şematik görünümü

c. Zaman-Yol Bağımlı (TOF) Analizörler

Zaman-yol bağımlı bir analizördeki ayırmada magnetik etki bulunmaz. Bunda, kısa süreli bir elektron pulsu ile bombardıman yapılarak pozitif iyonlar üretilir. Delikli bir levha ile kontrol edilen pusların frekansı 10000 Hz, yaşam süreci 0.25 s kadardır. Üretilen iyonlar daha sonra iyonizasyon pulsu ile aynı frekanstaki bir elektrik alanı pulsu ile hızlandırılır. Hızlandırılmış tanecikler, bir metre boyundaki elektrik alanı bulunmayan bir "ayıрма tüpü"ne girerler (Şekil). Daha önce değinildiği gibi, tüpe giren tüm taneciklerin kinetik enerjisi aynıdır; böylece her birinin hızı, kütleleri ile ters orantılı olacak şekilde farklı olur. Daha hafif tanecikler kollektöre ağırlardan daha kısa zamanda ulaşırlar.

Zaman-yol bağımlı kütle spektrometrelerdeki dedektör bir elektron multiplier (çok kademeli) tüptür; tüpün çıkışı bir katot ışını osilaskopun dikey döndürme levhalarına beslenir, yatay tarama hızlandırma pulsları ile senkronize edilerek kütle spektrumunun tamamı osilaskop ekranında hemen görüntülenir.



Zaman-yol bağımlı bir kütle spektrometrenin şematik görünümü

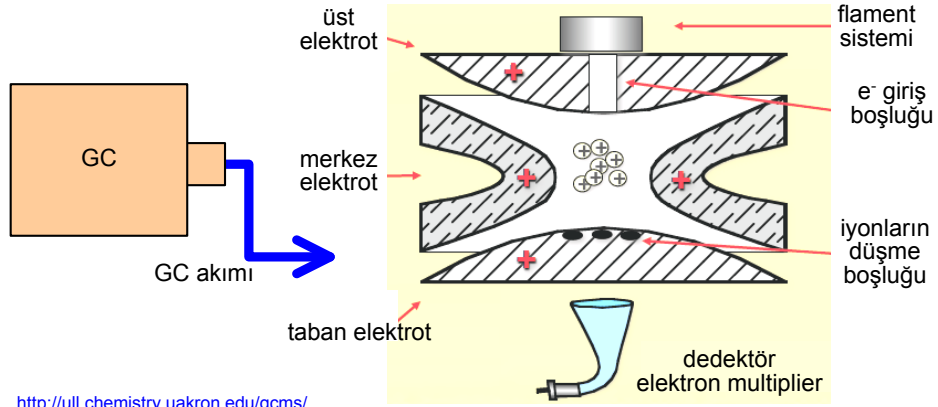
Ayıрма gücü, tekrarlanabilirlik, ve kütlelerin tanımlanma kolaylığı bakımından zaman-yol bağımlı analizörler magnetik odaklamalı analizörler kadar yeterli değildir. Ancak bunların da bazı avantajları vardır; iyon kaynağına kolaylıkla yerleştirir.

lebilmesi, uçucu olmayan veya ısıya-dayanıklı örneklerle çalışmayı kolaylaştırır. Ayrıca yaşam süreci kısa olan örneklerde sonucun hemen alınmasına olanak vermesi bakımından önemlidir. Zaman-yol bağımlı analizörler, çoğunlukla, küçüktür, taşınabilir ve karşıtı olan magnetik odaklamalı sistemlere göre kullanımı daha kolaydır.

d. İyon Kapanı Kütle Analizörü (QSTAR)

İyon kapanı analizörü, kuadropol kütle spektrometrenin modifiye edilmiş bir şeklidir. Kombine bir GC/MS enstruman sisteminden daha çok, bir gaz kromatografisi dedektörü olarak dizayn edilmiştir.

İyon kapanı analizöründe üç elektrot bulunur. Merkez elektrot halka; üst ve taban elektrotlar yarım küre şeklindedir. İyonizasyon ve kütle analizi aynı yerde gerçekleşir. Ayrılan iyonlar bir iyon dedektörüyle ölçülür; kullanımı en yaygın olan dedektör, sürekli dinod tip bir iyon dedektörü olan elektron multipliyerlerdir.

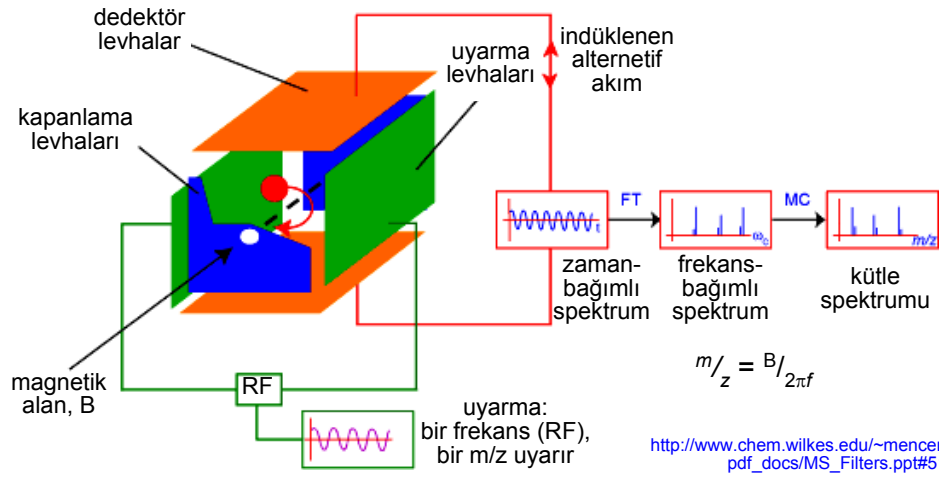


MS/iyon kapanı (IT) sistemin şematik görünümü

e. FT-İyon Siklotron Rezonans MS (FT-ICR MS) Fourier-Transform Mass Spectrometry

(Çok yüksek rezolusyon, tam doğru kütle; 1ppm)

FT-ICR kütle spektrometresinde sabit bir magnetik alanda iyonların siklotron frekansından yararlanılarak geliştirilmiş bir spektrometredir.



Bir ICR kapan

İyonlar özel bir kapanda tutulur (yükü tanecikleri depolamak için sabit magnetik alan ve sabit elektrik alanının uygulandığı bir kapan) ve burada magnetik alana dik bir osile bir elektrik alanı tarafından daha büyük bir siklotron çapına uyarılır; Alınan sinyal, zamanın fonksiyonu olarak görüntü akımı (zaman-bağımlı) olarak kaydedilir. Fourier transform ile zaman-bağımlı sinyal frekans-bağımlı spektruma, yani kütle spektrumuna dönüştürülür.

Spektrumdaki pik genişlikleri çok dardır; dolayısıyla benzer m/z değerindeki iki farklı iyonu algılayabilecek hassasiyete sahiptir. Örneğin, 800.000 Da kütledeki bir pik, 800.001 Da kütledeki bir pikten ayırt edilebilir.

FTICR kütle spektrometresi, yeni bölünme (veya parçalanma) tekniklerinin kullanılmasına olanak verir; örneğin, infrared lazer aktivasyon, elektron-yakalama disosiyasyon gibi. Bu teknikler tüm proteinlerde olduğu gibi, çok büyük molekül parçalarını incelemede kullanılmaktadır

FT-ICR MS uygulamalarına bazı örnekler verilebilir: Makromoleküller, kalıntı analizleri, meabolomikler, proteinler, peptidler, kompleks karışımlar (örneğin, ham petrol gibi), izotoplar, v.s.

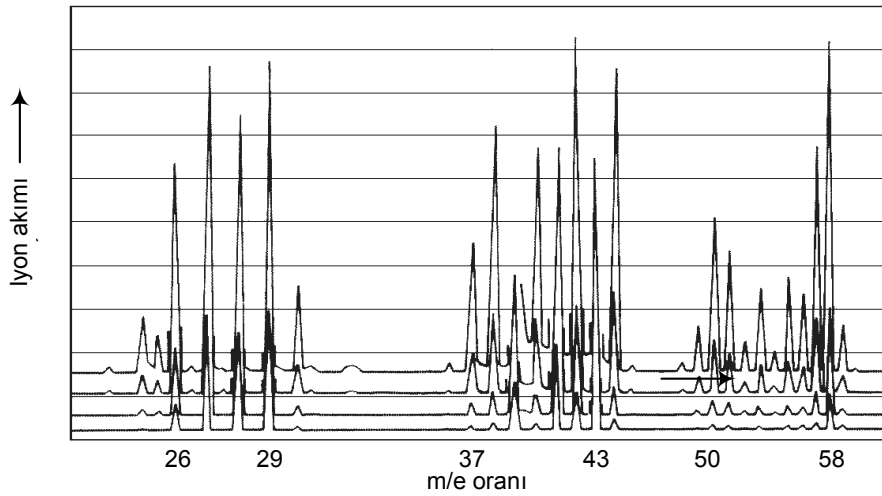
5. DEDEKTÖRLER

6. DATA SİSTEMİ VE KAYIT

İyon Akımlarının Görüntülenmesi ve Ölçülmesi

Ayırıcıdan gelen iyonlar bir slitten geçerek, sapmış iyonlara karşı korunan bir elektrot üzerinde toplanır. Cihazların çoğunda, üretilen akım büyük bir dirençten toprağa verilirken oluşan potansiyel düşmesi bir elektrometre tüpünün kafesinde veya bir alan etkili transistörde algılanır. Oluşan akım yükseltilerek kaydediciye gönderilir.

Başka bir yöntemde, ayırıcıdan gelen iyonlar bir katot yüzeyine çarparak elektron çıkarırlar. Oluşan elektronlar bir diyota doğru hızlandırılırlar ve diyota çarparak yeni elektronlar üretirler. Bu işlem bir kaç kez tekrarlanarak, bir fotomultiplier tüpte olduğu gibi, çok fazla yükseltilmiş bir elektron akımı elde edilir. Bu akım elektronik olarak bir yükseltme aşamasından daha geçirildikten sonra kaydedilir.



Şekil: *n*-bütanın farklı algılamalı dört galvanometreli bir cihazda çizilmiş kütle spektrumu (yukarıdan aşağı doğru galvanometre algılamaları: 30:10:3:1)

İyon akımları normal olarak küçüktür ve $10^{-17} - 10^{-9} A^0$ aralığında değişir. $10^{-17} A^0$ 'lık bir akım, dedektöre saniyede 60 kadar iyonun ulaşması demektir. Değişik miktarlardaki iyonların oluşturduğu pikleri kaydetmek için kütle spektrometrelerin çoğunda, farklı akım aralıklarını kaydeden, birkaç kalem bulunur. Böylece, akımın büyüklüğüne bağlı olmaksızın, kaydedici kağıtta uygun büyüklükteki her pik görülebilir.

Bazı cihazlarda, hassas kağıt üzerine kayıt yapan bir aynalı galvanometreler sistemi vardır; her bir galvanometrenin farklı algılama aralığında olması geniş bir aralıktaki piklerin tümünün kaydedilmesine olanak verir.

Bilgisayarlı Kütle Spektrometreleri

Kütle spektrometrelerde minikomputerler ve mikroprosesörler cihazı tamamlayıcı sistemlerdir. Bir kütle spektrumunun en önemli özelliği verdiği yapısal verilerin çokluğudur. Örneğin, molekül ağırlığı 400-500 arasında olan bir molekül, bir elektron demeti ile 200 kadar değişik iyonla bölünür, bunların herbiri de farklı spektral pik verir. Yapısal bir tayin için her bir pikin yüksekliğinin ve kütle sayısının saptanması, toplanması, ve görüntülenmesi gerekir. Verilerin sayısının çok fazla olması, bunların hızla toplanmasını ve süratle işlemlendirilmesini gerektirir; bu ise en ideal şekilde bilgisayarlarla yapılabilir. Kütle spektral verilerinin faydalı olabilmesi için veriler toplanırken birkaç enstrumantal değişkenin de çok sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gerekir. Bu tip kontroller en iyi bilgisayarlar veya mikroprosesörlerle yapılabilir.

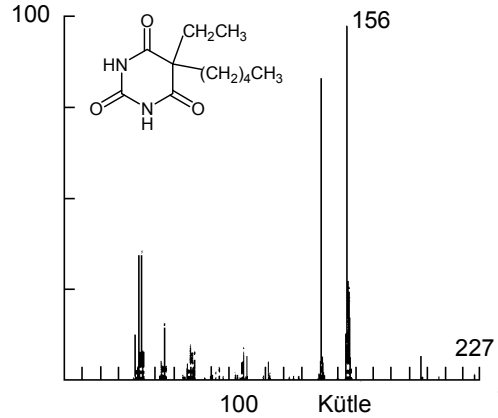
Bir kütle spektrometresi ve bir bilgisayar arasındaki ara yüz, yükseltilmiş iyon-akımı sinyali ve enstrumantal değişkenlerin kontrolünde kullanılan diğer sinyalleri sayısal hale dönüştürür. Enstrumantal değişkenleri kontrol eden sinyallerin kaynakları, kaynak sıcaklığı, hızlandırma voltajı, tarama hızı ve magnetik alan kuvveti gibi parametrelerdir.

Sayısal hale dönüştürülen iyon-akımı sinyali görüntülenmeden önce bazı işlemlerden geçirilir. Önce, pikler normalize edilmelidir; bunun için her bir pikin yüksekliği, referans bir pike karşı hesaplanır. Bu işlemde çoğunlukla, en yüksek pik referans olarak alınır ve bunun yüksekliği 100 (veya 1000) kabul edilir. Her pikin bir kütle numarası da olmalıdır. Numaralama pikin çıkış zamanı ve tarama hızına göre yapılır. İşlemde periyodik kalibrasyona gereksinim vardır. Kalibrasyonda

standart olarak fluorlu bir hidrokarbon kullanılır. Yüksek rezolusyonlu çalışmalarda örnek ve standart beraberce analize alınır. Sonra bilgisayar, kütle ölçümlerinde standardın pikini referans olarak algılayabilecek şekilde programlanır. Düşük-rezolusyonlu çalışmalarda, benzer pikler üst üste düşeceğinden, kalibrasyon ayrı olarak taranır.

Zaman dışındaki değişkenler kütle numarasını belirlemede kullanılır. Dört kutuplu spektrometrelerde yapılan analizlerde dedektöre ulaşan iyonun kütlesi çubuklar arasına uygulanan alternatif akım voltajı ile doğru orantılıdır. Bu nedenle, bir çubuk voltaj sinyali sayısal hale dönüştürülerek iyon-akımı sinyali üzerine bindirilir. Bilgisayar da, kütle numarasını sonuçta elde edilen sinyalden hesaplayacak şekilde programlanır. Magnetik enstrumanlarda bir Hall probu bulunur, kütle verileri bu prob ile ölçülen magnetik alan kuvvetine göre çıkarılır.

36	3	61	2	83	30	108	4	133	3	166	1
37	3	62	1	84	13	109	14	134	2	167	2
38	12	63	3	85	38	110	9	135	2	168	3
39	139	64	1	86	8	111	10	136	2	169	5
40	38	65	13	87	9	112	73	137	6	179	1
41	364	66	13	88	1	113	21	138	7	181	4
42	83	67	58	91	5	114	18	139	6	183	7
43	378	68	33	92	3	115	2	140	20	185	2
44	84	69	120	93	4	116	1	141	826	191	1
45	6	70	67	94	21	117	1	142	71	193	1
50	5	71	89	95	17	119	2	143	11	195	2
51	11	72	5	96	20	120	1	144	1	197	65
52	14	73	9	97	55	121	1	151	1	198	10
53	64	74	8	98	127	122	4	152	1	199	2
54	31	75	3	99	9	123	5	153	6	204	1
55	162	77	10	100	3	124	7	155	133	207	6
56	30	78	5	101	3	125	4	156	1000	208	2
57	17	79	12	103	1	126	12	157	273	209	1
58	5	80	22	105	2	128	14	158	29	227	6
59	1	81	18	106	3	129	12	159	3	228	1
60	5	82	13	107	2	130	2	165	1	.	.



Şekil: Kütle spektral verilerinin bilgisayar görünümü; madde bir kan serumu ekstraktından kromatografi ile ayrılmıştır. Spektrum maddenin barbüturat, pentobarbital olduğunu gösterir (Cihaz Dupont, Model 21-094)

Bilgisayar çıkışı sayısal veya grafiksel görüntüde olabilir. Şekilde her iki görüntüye de birer örnek verilmiştir. Sayısal görüntüdeki tek sayılı kolonlarda kütle sayıları artan bir sıraya göre dizilmişlerdir. Çift sayılı kolonlardaki değerler, iyon akımları-

nın en büyük pike göre normalize edilmiş değerleridir; en büyük pik 156 kütle numaralı tanecik için saptanmış ve bu taneciğin akımı 1000 numara ile gösterilerek diğer pik yükseklikleri buna göre hesaplanmıştır. Örneğin, 141 kütledeki pik, ana pikin %82.6 sı kadardır.

Kütle Spektrometrelerin Rezolusyonu (Ayrırma Gücü)

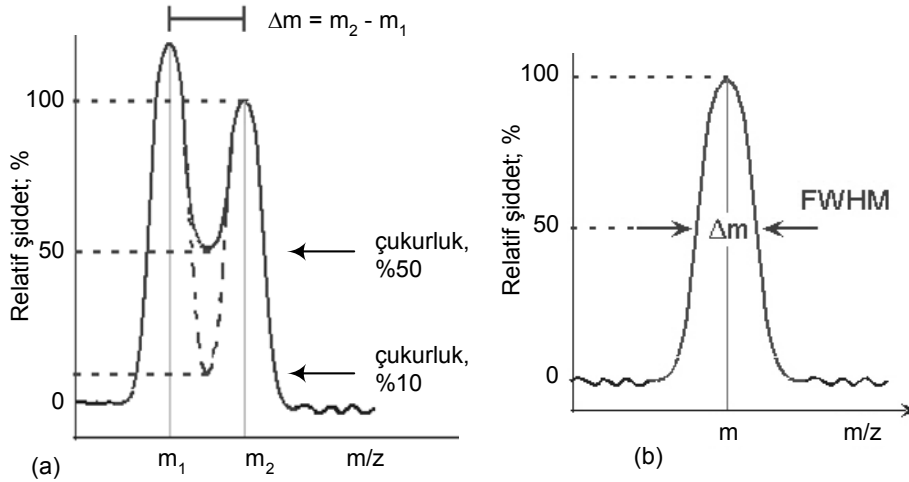
Bir kütle spektrometresinin kütleleri ayırabilme yeteneği, $m/\Delta m$ ile gösterilen rezolusyonu ile ifade edilir. Buradaki m ve $m+\Delta m$, eşit büyüklükte ve birbirinden tam olarak ayrılabilen iki taneciğin kütlelerini gösterir.

$$R_s = \frac{m}{\Delta m} = \frac{m_1}{m_2 - m_1}$$

Kütle analizörlerinde rezolusyon, %10 ve %50 çukurluk (valley) ile tanımlanır:

%50 çukurluk: iki pik arasındaki minimum (çukurluk), pik yüksekliğinin %50'sinden daha fazla değilse, pikler birbirinden ayrılabilir.

%10 çukurluk: iki pik arasındaki minimum (çukurluk), pik yüksekliğinin %10'undan fazla olmamalıdır.



http://www.icpress.co.uk/etextbook/p297/p297_chap04.pdf

Rezolusyon tanımları: (a) %10 ve %50 çukurluk, (b) FWHM

TOF (time of flight) kütle spektrometre için Δm , pik yüksekliğinin, yarısındaki pik genişliği (full width at half maximum, FWHM) olarak tanımlanır: $\Delta m = \text{FWHM}$

Bu tanıma göre rezolusyon aşağıdaki formülle ifade edilir.,

$$R_s = 15\,000 \text{ (FWHM)}$$

Bir kütle spektrometrede istenilen rezolusyon onun kullanım amacına bağlıdır. Örneğin, nominal kütleleri birbirine eşit olan, N_2^+ (28.006) ve CO^+ (27.995) gibi iki taneciğin birbirinden ayrılabilmesi için rezolusyonu birkaç bin olan bir cihaza gereksinim vardır. Oysa, birbirinden 1 veya daha fazla kütle birimi kadar farklı düşük-molekül ağırlıklı taneciklerin ayrılması için 50 den daha düşük bir rezolusyon yeterlidir; NH_3^+ ve CH_4^+ nın ayrılmasında olduğu gibi. Örneğin büyük parçalara bölünmesi durumunda birim kütle farklılığındaki ayırmalar 250-500 rezolusyonlu bir spektrometre ile çalışılabilir.

Yararlanılan Kaynaklar

Principles of Instrumental Analysis, D.A.Skoog, D.M. West, II. Ed. 1981

http://www.chemicalbook.com/ProductIndex_EN.aspx