



KATIONIZÁCIÓ VIZSGÁLATA MALDI KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT

Doktori (PhD) értekezés

Szilágyi László

Témavezető:

Dr. Zsuga Miklós

egyetemi tanár

a kémia tudomány doktora

Debreceni Egyetem,
Alkalmazott Kémiai Tanszék

Debrecen, 2004.

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem TTK Kémiai Doktori Iskola Makromolekuláris és Felületi Kémia programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem TTK doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2004.05.13.

Szilágyi László

Tanúsítom, hogy Szilágyi László doktorjelölt 2000 – 2003 között a fent megnevezett Doktori Iskola Makromolekuláris és Felületi Kémia programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2004.05.13.

Dr. Zsuga Miklós
egyetemi tanár

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek Dr. Zsuga Miklósnak, a DE Alkalmazott Kémiai Tanszék tanszékvezető egyetemi tanárának, aki mind szakmai, mind emberi szempontból hasznos tanácsaival segítségemre volt egész munkám során. Köszönettel tartozom továbbá Dr. Kéki Sándornak, akihez a tanszéken végzett többéves munkám során bármilyen szakmai problémával, kérdéssel nyugodtan fordulhattam.

Köszönetem fejezem ki Dr. Borda Jenőnek, Dr. Deák Györgynek a számos hasznos tanácsért, melyekkel elláttak, valamint Nagy Miklós és Török János tanársegédeknek, akik hasznos technikai tanácsokat adtak a kísérletes munkák végrehajtásában és mindemellett emberileg is mellettem álltak.

Köszönöm Berzovicz Cecília és Rózsáné Lukács Júlia vegyésztechnikusoknak a munkám kísérletes részében való segítséget, továbbá Sipos Attila és Harsányi László műszerészeknek, hogy az esetenként felmerülő műszaki problémákat gyorsan és szakszerűen megoldották. Hálával tartozom az Alkalmazott Kémiai Tanszék összes többi munkatársának is, valamint mindazoknak, akik valamilyen formában hozzájárultak e dolgozat elkészítéséhez.

Köszönetemet fejezem ki a kedvesemnek és családomnak, akik biztosították számomra azt a nyugodt családi légkört, amely nélkül ez a disszertáció nem jöhetett volna létre.

Munkámhoz az anyagi háttérrel az OTKA T 030519, M 28369, M 36872, F 019376 és T 037448 számú pályázatai biztosították.

Tartalom

<u>I. Bevezetés</u>	3
<u>II. Irodalmi háttér</u>	5
<u>II.1 A tömegspektrometriás módszer kialakulásának rövid története</u>	6
<u>II.2 A tömegspektrométerek felépítése és működése</u>	8
<u>II.2.1. Mintabevitel</u>	8
<u>II.2.2. Ionforrások</u>	9
<u>II.2.2.1. Kémiai ionizáció</u>	10
<u>II.2.2.2. Szekunder tömegspektrometria</u>	10
<u>II.2.2.3. Térdeszorpció és térionizáció</u>	12
<u>II.2.2.4. Termospray</u>	12
<u>II.2.2.5. Ionizáció légköri nyomáson</u>	12
<u>II.2.2.6. Lézer deszorpció és MALDI</u>	13
<u>II.2.3. Tömeganalizátorok</u>	14
<u>II.2.3.1. Szektor-típusú analizátor</u>	14
<u>II.2.3.2. Lineáris kvadrupol analizátor</u>	15
<u>II.2.3.3. Kvadrupol ioncsapda analizátor</u>	16
<u>II.2.3.4. Repülési idő analizátor</u>	17
<u>II.2.3.5. Ion ciklotron rezonancia analizátor</u>	17
<u>II.2.4. Detektorok és jelfeldolgozás</u>	18
<u>II.2.5. Elválasztástechnikákkal kombinált tömegspektrometriás módszerek</u>	20
<u>II.2.6. MS-MS</u>	21
<u>II.3. MALDI-TOF MS</u>	22
<u>II.3.1. A MALDI-TOF MS alapjai</u>	22
<u>II.3.2. Tömegtartomány és érzékenység</u>	23
<u>II.3.3. Minta előkészítés</u>	24
<u>II.3.4. Az iondeszorpció mechanizmusa</u>	26
<u>II.3.5. A repülési idő analizátor működése</u>	27
<u>II.3.6. Delayed extraction és reflektrom</u>	30
<u>II.3.7. A MALDI technika esetén bekövetkező bomlások</u>	31
<u>II.3.8. Polimerek karakterizálása MALDI technikával</u>	32
<u>II.3.9. A MALDI MS egyéb alkalmazásai</u>	33
<u>III. A vizsgálatokhoz felhasznált anyagok, alkalmazott készülékek és a mintakészítés</u>	35
<u>III.1. Felhasznált anyagok</u>	35
<u>III.1.1. Matrixok</u>	35
<u>III.1.2. Ionizáló ágensként használt sók</u>	36
<u>III.1.3. Lágyítók</u>	36
<u>III.1.4. Polimerek</u>	37
<u>III.1.5. Oldószerek</u>	37
<u>III.2. Alkalmazott műszeres módszerek és szoftverek</u>	37
<u>III.2.1. MALDI-TOF MS</u>	37
<u>III.2.2. PSD MALDI-TOF MS/MS</u>	37
<u>III.2.3. Infravörös spektroszkópia</u>	39
<u>III.2.4. Gázkromatográfia</u>	39
<u>III.2.5. Illesztésmódszer és szoftver</u>	39

<u>III.3. Mintakészítés</u>	40
<u>III.3.1. Ezüst-klaszterek</u>	40
<u>III.3.2. Lágyítók</u>	40
<u>III.3.3. Poli(etilén-glikol)</u>	40
<u>IV. Eredmények és értékelésük</u>	41
<u>IV.1. Ezüst-klaszterek képződése gőzfázisban</u>	41
<u>V. Összefoglalás</u>	86
<u>VI. Summary</u>	88
<u>VII. Irodalomjegyzék</u>	90
<u>VIII. Tudományos közlemények és konferencia-részvételek</u>	101
<u>VIII.1. Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények</u>	101
<u>VIII.2. Egyéb közlemények</u>	102
<u>VIII.3. Az értekezés témájához kapcsolódó konferencia-részvételek</u>	103
<u>VIII.4. Egyéb konferencia-részvételek</u>	104

I. Bevezetés

A tömegspektrometriás módszereket 100 éve széles körben használják. Segítségével jelentős, eddig szinte elképzelhetetlennek tartott tudományos felfedezésekre kerülhetett sor. Ezek közé az eredmények közé tartoznak például a következők: izotópok felfedezése; atomtömegek pontos meghatározása; új elemek felfedezése; kvantitatív gáz analízis; nyomokban jelenlévő szennyezők, illetve gyógyhatású készítmények gyors kimutatása; a kémiai szerkezet gyors és pontos meghatározása.

A tömegspektrometria területén e közel száz év alatt olyan nagymértékű fejlődés zajlott le, hogy a módszer ma már az egyik leghatékonyabb technikának számít az anyagok összetételének és szerkezetének meghatározásában.

Napjainkban is egyre intenzívebb kutatások folynak minél kisebb, kompaktabb tömegspektrométerek kifejlesztése érdekében. Legalább ekkora erőfeszítéseket tesznek, hogy a számos ionizációs technika mellé újabb ionizációs módszereket sorakoztathassanak fel. A közel egy évtizede kifejlesztett MALDI (**M**atrix-**A**ssisted **L**aser **D**esorption/**I**onization) és ESI (**E**lectro**S**pray **I**onization) ionizációs technikák segítségével lehetőség nyílt nagy molekulatömegű, nem illékony biopolimerek, valamint szintetikus rendszerek szerkezetének komplex tanulmányozására.

A Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén 2000-ben egy, a Bruker cég által gyártott igen korszerű MALDI-TOF tömegspektrométer került beüzemelésre, amely kiszélesítette a tanszéken folyó kutatások spektrumát. A kutatások intenzitását fokozta, hogy a 2002-es évben egy szintén Bruker gyártmányú ESI-TOF MS került installálásra. Azóta számos, elsősorban polimerrendszereket érintő kémiai problémát, valamint eddig tisztázatlan reakciómechanizmust derítettek fel.

Ez adta a lehetőséget, hogy különböző kémiai rendszereket vizsgálhassunk meg MALDI-TOF MS és „post-source” decay (PSD) MALDI-TOF MS/MS módszerek alkalmazásával. Az így kapott információk felhasználásával képet kaphatunk a MALDI körülmények között lejátszódó kationizáció folyamatáról, valamint annak mechanizmusáról.

A kationizáció vizsgálatának analitikai szempontból kitüntetett jelentősége van, hiszen MALDI MS műszerrel csak akkor kapunk értékelhető spektrumot, ha a

vizsgálendő anyag valamelyik kationnal addukt iont ($[M+Cat]^+$) alakít ki. Ez a kation a leggyakoribb esetben proton (H^+), vagy alkálifém ion, pl. a nátriumion és a káliumion. A MALDI spektrum minőségét erősen befolyásolja a képződött addukt ion stabilitása (kation + minta kölcsönhatása) is, valamint az ion fragmentációja, amely folyamatot az addukt ion kialakításában részt vevő kation minősége határozza meg.

Jelen disszertációban bemutatom a MALDI-TOF MS és a PSD MALDI-TOF MS/MS módszerek alkalmazását különböző kémiai rendszereken, az ezen módszerek által nyert információk felhasználását a vizsgált rendszer kémiai szerkezetére, a lejátszódó fragmentációs reakció mechanizmusára és termodinamikájára vonatkozóan. A disszertáció három fő részre tagolható. Az első rész az ezüstionokkal kationizált polisztirol vizsgálata során tapasztalt megfigyeléseket tartalmazza. Ennek kapcsán megmutatjuk a különböző poláris szerves mátrixok jelenlétében képződött ezüstklaszter ionokat. Ezen tapasztalatok segítségével lehetőségünk van a vizsgálat paramétereit vagy az ezüstklaszter ionok képződésére, vagy az apoláris polimerek tanulmányozására optimalni. A második részben kis molekulatömegű vegyületek (ez esetben lágyítók) fragmentációjának vizsgálatát mutatjuk be. A kísérleti eredmények lehetőséget nyújtanak a protonnal, vagy nátriumionnal kationizált ftalát-észterek kationizációs mechanizmusának megadására. A harmadik rész a különböző alkálifém ionok PEG4000 és PEG6000 polimerek kationizációjára gyakorolt hatásával foglalkozik. Az eredmények ismeretében egy új szelektivitási tényező definiálására van módunk, amely segítségével megbízhatóbb információkat nyerhetünk a szelektivitásról.

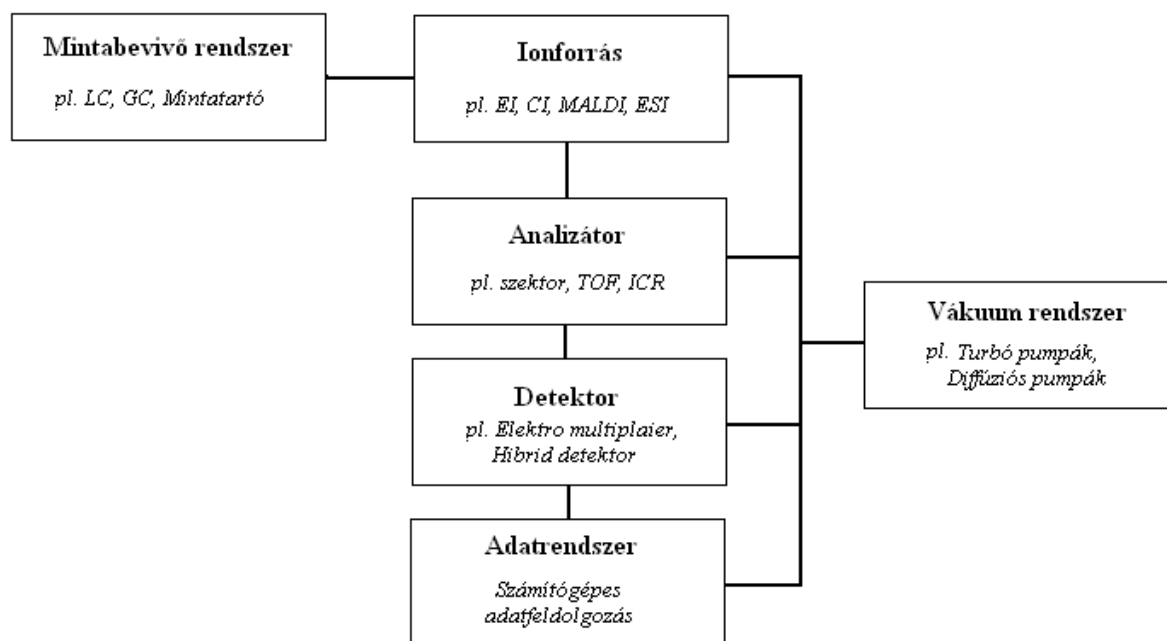
II. Irodalmi háttér

A tömegspektrometria (Mass Spectrometry, MS) a különböző molekulák/atomok ionizációján, majd ezen ionok relatív tömegének meghatározásán alapuló, nagy hatékonyságú analitikai és szerkezetvizsgáló módszer. Az MS bármilyen halmazállapotú minta analizálására alkalmas.

A tömegspektrometriát a kémikusok és biokémikusok már évek óta alkalmazzák ismeretlen anyagok azonosítására, ismert anyagok mennyiségének meghatározására, valamint különböző anyagok molekulatömegének meghatározására és kémiai tulajdonságainak, szerkezetének felderítésére.

A tömegspektrométerek mérete igen széles skálán változik. A legkisebbek alig nagyobbak, mint egy TV készülék, mások – elsősorban a kutatási célra használt berendezések – hatalmasak és egész csarnokokat foglalhatnak el.

A tömegspektrométerek általános felépítése az **1. ábrán** látható.



1. ábra

A tömegspektrométerek általános felépítése

A nagy vákuumra egyrészt az ionizáció megfelelő hatékonyságának biztosítása, másrészt az ion-molekula ütközések elkerülése miatt van szükség. Egyrészt az

analizátorban bekövetkező ütközések módosíthatják az ionok repülési pályáit, másrészt a fémfelületeken az ionok elveszthetik töltésüket, vagyis nemcsak számos nem kívánt mellékreakció következhetne be, hanem az érzékenység is jelentősen leromlana. A nem megfelelő vákuum további bonyodalom forrása lehet a nagy feszültségen üzemelő ionforrások esetében, ilyen esetekben a megnövekedett nyomás elektromos kisüléseket is okozhat.

Az alkalmazni kívánt ionizációs módszer kiválasztását elsősorban a vizsgált minták tulajdonságai, valamint az alkalmazott tömegspektrométer befolyásolják. Általánosságban azt mondhatjuk, hogy univerzálisan használható ionizációs módszer nincs, így mindig a tanulmányozott vegyületnek megfelelő optimális módszert kell kiválasztanunk, mert ez szolgáltatja számunkra a legtöbb értékes információt.

A tömegspektrometriás készülékekről általánosságban elmondható az, hogy nagy pontosságúak valamint nagyon kis anyagmennyiségekkel is képesek dolgozni. Mindemellett a mérés igen gyors, egyes mérések akár néhány perc alatt is kivitelezhetők.

II.1 A tömegspektrometriás módszer kialakulásának rövid története

Az MS történetének kezdete az 1897-es évig nyúlik vissza, amikor a Cambridgei Egyetemen Sir J. J. Thomson elektromosan töltött gázok vizsgálata közben felfedezte az elektront¹. A 20. század elején Thomson elhatározta, hogy megépíti az első tömegspektrométert (mely később a „parabola spektrográf” nevet kapta). A berendezéssel Thomson elsődleges célja az ionok tömeg/töltés arányának meghatározása volt. A készülékben az ionokat úgynevezett kisülési csövekben állították elő, melyeket ezután elektromos és mágneses térbe vezettek, ahol az ionok parabolikus pályára kényszerültek. A detektálás fluorezcencián, vagy fotólemez segítségével történt.

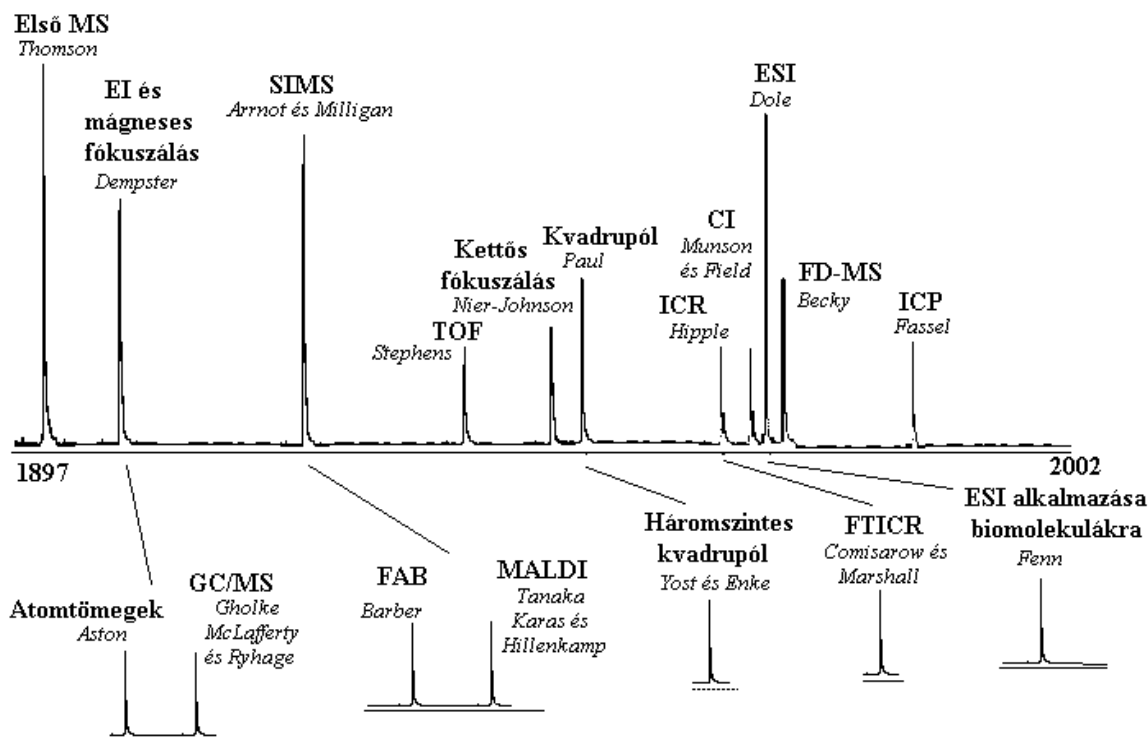
Thomson munkásságát továbbfolytatta munkatársa, Francis W. Aston, aki a Cambridgei Egyetemen olyan tömegspektrométert tervezett, melyben az ionokat a tömegeik szerint szétválogatta és a sebességük szerint fókuszálta. Ezáltal egy nagyságrenddel jobb felbontást sikerült elérni, mint amit a Thomson által tervezett

legjobb készülék tudott produkálni. Francis W. Aston 1922-ben kémiai Nobel díjat kapott az általa tervezett készülékkel végrehajtott izotópok vizsgálatáért.²

Az 1940-es évek elején nagy jelentőségűvé vált egy másik típusú készülék is, az ún. szektor-típusú berendezés. A műszerben a megfelelő geometriával elhelyezett homogén mágneses mező biztosította az ionok tömeg/töltés szerinti szeparációját. A szektor-típusú készülék kifejlesztése a Minesotai Egyetem Fizika Tanszékén dolgozó Alfred O. C. Neir nevéhez fűződik. Neir II. világháború ideje alatt végzett kutatásainak fő irányvonala egyértelműen a radioaktív izotópok elválasztása volt. Kitüntetett jelentősége volt a ^{235}U izotópok ^{238}U izotópoktól történő elválasztásában. Ő volt az, aki a tömegspektrometriát felhasználva először izolált plutóniumot. Az általa tervezett szektor-típusú MS készülék egy továbbfejlesztett változata volt az a berendezés, ami az első atombomba előállításához ^{235}U izotópot különített el. A II. világháború technikai fejlesztésekre gyakorolt hatása közvetlenül érezhető volt a tömegspektrometria területén is. A világháború közben, illetve nem sokkal utána már számos cég kínálta tömegspektrométereit (fő gyártó országok: Anglia, USA, Németország).

Az MS területén kutatók egyik fő célja a felbontás javítása volt. Ezt az ún. kettős fókuszálású készülékek konstruálásával sikerült elérniük, melyek már kinetikus energia alapján is képesek voltak fókuszálni. A kettős fókuszálású készülékek kifejlesztését elsősorban az izotópok és az elemek atomtömegének pontos meghatározásának szándéka indukálta.

A tömegspektrometria előzőekben tárgyalt időbeli fejlődését a **2. ábra** szemlélteti³.



2. ábra

A tömegspektrometriás technikák fejlődése az időben

II.2 A tömegspektrométerek felépítése és működése

II.2.1. Mintabevitel

Egy univerzálisan is használható tömegspektrométer számos különféle mintabeviteli lehetőséggel is rendelkezik. Ennek segítségével elvileg bármilyen halmazállapotú, egy vagy több komponensből álló anyag vizsgálata megoldható. Az alkalmazott mintabeviteli technika szorosan összefügg az ionizációs módszerrel, az analizátor típusával, de mindenekelőtt a vizsgált anyag tulajdonságával.

Az egykomponensű vegyületet közvetlenül, ún. közvetlen-mintabevittel juttathatjuk az ionforrásba. Több komponensű, összetett rendszerek esetében azonban valamilyen elválasztástechnikát kell alkalmaznunk, majd az elválasztott komponenseket egy interfész egységen keresztül kell bejuttatni neutrális, vagy ionizált formában az ionforrásba, vagy adott esetben magába a tömeganalizátorba. A nem közvetlen mintabeviteli technikákat és az egyes interfészek működését az ionforrásokkal foglalkozó részben (II.2.2.) érintőlegesen tárgyaljuk.

Általánosságban azt mondhatjuk, hogy minden mintabevitel esetében az egyik legfontosabb szempont, hogy a vákuum ne romoljon le, mert ekkor az ionizáció hatékonysága, vagyis az érzékenység nagymértékben lecsökken. Ezért például a GC-MS módszernél nagy jelentősége van a vivőgáz megfelelő eltávolításának. A HPLC-MS technika pedig még ennél is precízebb megoldásokat igényel, mivel már kis mennyiségű folyadékból is képződhet olyan nagy mennyiségű gőz ami a vákuumot nagymértékben leronthatja.

II.2.2. Ionforrások

Az ionforrásban történik az analizálni kívánt mintából a megfelelő ionok előállítása. Ez lehetséges helyileg, külön ionforrás egységben, vagy valamelyik analizátorral egybeépített rendszerben. Feloszthatjuk továbbá az ionizációs módokat aszerint is, hogy az ionizáció közvetlen, vagy közvetett módon játszódik le.

A legrégebbi, de talán még ma is a legáltalánosabban használt ionizációs technika az elektron ionizáció (EI)^{4,5}. Elve, hogy vákuumban a nagy sebességű elektronok a gőz fázisú molekulákkal kölcsönhatva pozitív és/vagy negatív töltésű gyök kationokat, vagy gyök anionokat hoznak létre. Előnye, hogy intenzív, stabil, könnyen reprodukálható ionáramot biztosít és kompatibilis a legtöbb tömeganalizátorral. Ezenkívül viszonylag egyszerűen kombinálható a gázkromatográfiás technikákkal. Hátránya azonban, hogy megfelelő eredményességgel csak a viszonylag illékony, stabil vegyületek esetében alkalmazható. Vagyis EI körülmények között csupán a viszonylag kis molekulatömegek esetén kaphatunk megbízható információt a móltömegről, illetve a szerkezetről. Továbbá az EI ionforrásban uralkodó magas hőmérséklet és nagy feszültség kedvez a termikusan instabil vegyületek, illetve molekulaionjaik bomlásának. A bekövetkező fragmentációk miatt a spektrumban a mólcúcs nem jelentkezik. A molekulaion stabilitása növelhető ugyan az ionizáló elektronok energiájának csökkentésével, de sok esetben ez sem bizonyul elegendőnek. Ezért fejlesztették ki az ún. kíméletesebb – „soft” – ionizációs módszereket.

Ezek az eljárások három nagy csoportba oszthatók: részecske ütközésen alapuló módszerek, párolgáson/porlasztáson alapuló módszerek és lézer deszorpciós

módszerek. A részecske ütközésen alapuló technikák közé tartozik a kémiai ionizáció (CI)⁶⁻⁸, a szekunder tömegspektrometria (SIMS), a gyors atom ütköztetés (FAB)⁹⁻¹² és a plazma deszorpció (PD)¹³. A párolgáson/porlasztáson alapuló eljárások a következők: térdeszorpció (FD)¹³ és térionizáció (FI)¹³, atmoszférikus nyomáson lejátszódó kémiai ionizáció (APCI)¹⁴⁻¹⁸, termospray (TS)¹⁹ és elektropray (ES)²⁰. A lézer deszorpció (LD) technikák közül a mátrix segített deszorpció és ionizáció (MALDI)²¹ a legfontosabb.

II.2.2.1. Kémiai ionizáció

A kémiai ionizációt, azaz azt a jelenséget, amikor az ionizáció ion-molekula reakció eredményeként jön létre, 1913-ban Thomson figyelte meg hidrogén gázban. Ekkor Thomson még nem értette a jelenséget és így nem kémiai ionizációnak nevezte el. Valójában a kémiai ionizáció első, széles tartományt átölelő leírása és jellemzése Frank H. Field és Burnaby Munson nevéhez fűződik (1960-as évek közepe)⁶. A kémiai ionizáció előnye abban rejlik, hogy elődjével szemben jóval kíméletesebb módon játszódik le az ionizáció, így kevesebb fragmens ion képződik, valamint láthatóvá válik a spektrumban a protonált molekulaion $[M+H^+]$, másnéven a kvázi-molekulaion. A módszer elve a gőzfázisba juttatott molekulák és a reagens gáz ionjai között lejátszódó reakció. További előnye, hogy mind pozitív, mind negatív üzemmódban használható.

II.2.2.2. Szekunder tömegspektrometria

A SIMS tulajdonképpen a hirtelen energia közléses módszerek egy csoportját alkotja. A sík – általában fém – felületen elhelyezett mintát részecske- vagy ionnyalábbal bombázzuk és a mintából kibocsátott szekunder ionokat analizáljuk. Ide tartozik a plazma deszorpció és a folyadék szekunderion tömegspektrometria (LSIMS).

Plazma deszorpció:

A módszer elve, hogy a vizsgálandó mintát vékony filmrétegre viszik fel, és e mögé, a mintával ellentétes oldalra, helyezik el az erősen α -sugárzó ^{252}Cf radioaktív izotópot. Az izotópból kilépő nagy energiájú hasadási termékek a mintán történő áthaladáskor helyi felmelegedést okoznak és mikroplazmát hoznak létre; így energiát adnak át a minta molekuláinak, amelyek ionizálódnak és deszorbeálódnak.

Ez volt az első módszer, amelynek segítségével nagy móltömegű fehérjék, illetve összetett antibiotikumok is sikeresen tanulmányozhatók voltak.

Folyadék szekunderion tömegspektrometria, avagy gyors atomütköztetés:

Ez a technika napjainkban is használatos elsősorban a hőre érzékeny vagy nem illékony kis és közepes molekulatömeggel rendelkező anyagok esetében. A FAB ionizációt az 1980-as években fejlesztették ki a hagyományos (száraz) SIMS módszerből, úgy, hogy a vizsgálandó mintát egy folyadék halmazállapotú – kevésbé illékony – ún. mátrixanyagban feloldva elhomogenizálták, és ezt bombázták nagy energiájú neutrális részecskenyalábbal. Innen ered a LSIMS elnevezés.

A FAB ionizációhoz használt nagy energiájú neutrális Ar^0 -, vagy Xe^0 -nyalábot úgy állítják elő, hogy a minta egy részét nagy feszültséggel ionizálják, majd ezeket a nagy energiájú ionokat ütköztetik a semleges atomokkal. A nagy energiájú ion/atom keverékből az ionokat negatív töltésű elektróddal eltávolítjuk.

Abban az esetben, ha az ionizációhoz a semleges részecskenyaláb helyett Cs^+ ionnyalábot használunk, a gyors ionütköztetés (FIB) technikáról beszélünk. Mivel a Cs^+ ionnyaláb energiája nagyobb, ez az eljárás a nagyobb móltömegű molekulák vizsgálatát teszi lehetővé.

Mind a FAB, mind a FIB alapja, hogy a részecskék a folyadékfelszínbe ütközve energiát adnak át a felszínnek, ami eloszlik a felületi réteg minta/mátrix molekulái között, azok ionizációját eredményezve. A képződő minta és/vagy mátrix ionok kiszakadnak a felszínről és az így létrejött szekunderionokat analizáljuk. A folyadékfilm felületi rétege diffúziós folyamatok révén állandóan pótlódik, frissül.

II.2.2.3. Térdeszorpció és térionizáció

A térdeszorpció és a térionizáció a deszorpciós módszerek közé tartozó rokon módszerek, melyek történelmi jelentőséggel bírnak, mivel ezekkel lehetett legelőször a hőérzékeny, nagy móltömegű anyagokat tömegspektrometriásan vizsgálni. Szerkezeti információt ugyan keveset szolgáltat, de a móltömeg információ kinyerésének egy biztos módszere.

Mind a FD és a FI esetében a minta ionizációját erős elektromos tér váltja ki. A két módszer tulajdonképpen csak a mintabeviteli módban különbözik egymástól.

II.2.2.4. Termospray

Az ES technika bevezetése előtt egyedül a termospray jelentett igazi előrelépést a hőre érzékeny, nem illékony anyagok MS, illetve LC-MS vizsgálatának területén. Elve, hogy a HPLC oszlopról lejövő folyadékot nagy nyomással egy elektromosan melegített fém kapillárisba juttatják, amelynek a vége a tömegspektrométer ionforrásában van. Az ionforrás 100 és 200 °C közötti hőmérsékletű azért, hogy elkerüljük az oldószergőzők kondenzációját. Így a folyadék nagy sebességű spray formájában kerül be a tömegspektrométerbe.

II.2.2.5. Ionizáció légköri nyomáson

Ebben az esetben az ionok az atmoszférikus nyomású térben képződnek és innen jutnak be a nagy vákuumú analizátorba, míg a TS esetén az ionok a nagy vákuumban képződnek. Hasonlóság a termospray technikával, hogy ez is porlasztásos módszer, azaz az első lépésben töltött folyadékcseppek képződnek. Az ionképződést viszont egy elektrosztatikus tér eredményezi és nincs szükség illékony elektrolit jelenlétére.

Elektrospray és ionspray:

A módszer elvét már az 1960-as években kigondolták, de a megvalósítás az 1980-as évekig váratott magára. A kapilláris hegye és az ellenelektrod között erős elektrosztatikus tér jön létre, ennek a térnek a hatására a kapilláris végén lévő folyadék felszínén töltéstöbblet alakul ki, ezért a kapillárisból kilépő folyadék kúpszerűen

kicsúcsosodik (Taylor-kúp), és a csúcsról töltéssel rendelkező folyadékcseppek szakadnak le. Nagy áramlási sebességeknél azonban az elektrosztatikus tér már önmagában nem képes cseppeket kiszakítani. Aerodinamikus porlasztással kombinálva viszont lejátszódik a folyamat, ezt nevezzük ionspray-nek (IS). Inert porlasztó gázt - rendszerint nitrogént - alkalmazunk a töltött aeroszol létrehozásához.

Azért, hogy csökkentsük az oldószer mennyiségét, az aeroszolt fűtött kapillárison vezetjük át, ennek eredményeképpen a cseppek összezsugorodnak. A zsugorodó cseppek töltése azonban nem változik, így a felületi töltéssűrűség fokozatosan növekszik, amíg el nem éri az instabilitási határt. Amikor a felületi feszültségből adódó összetartó erő egyenlő lesz a felületi töltésből eredő elektrosztatikus taszító erővel, bekövetkezik a coulomb robbanás, azaz a cseppek még kisebb cseppecskékre szakadnak szét. Ez a folyamat addig zajlik, ameddig a minta protonált ionjai meg nem jelennek.²²⁻²⁷

A módszer elsősorban a könnyen protonálódó, bázikus csoportokat tartalmazó vegyületek vizsgálatára alkalmas, és jól kombinálható szinte az összes tömegspektrometriás analizátorral.

Atmoszférikus nyomáson lejátszódó kémiai ionizáció:

Az APCI ionforrás nagyon hasonlít az ES ionforráshoz, eltérés azonban, hogy a fémkapillárisra nem kapcsolnak feszültséget, tehát a spray képződése és az ionizáció egymástól független folyamatok. A spray képződése után az oldószer elpárologtatása egy fűthető cső segítségével történik. Ezután elektromos kisülés hatására a víz és az oldószer molekulái ionizálódnak, belőlük kémiai ionizációs reagensgáz képződik, ami protonálja az áthaladó minta molekulákat kvázi-molekulaionok képződését eredményezve.

II.2.2.6. Lézer deszorpció és MALDI

Lásd II.3.1 fejezet

II.2.3. Tömeganalizátorok

A tömeganalízis kifejezés a tömegspektrometriában a tömeg/töltés (m/z) hányados meghatározását jelenti. Az ionanalizátorok az ionokat m/z hányadosuknak megfelelően különválasztják, majd ezeket a diszkrét ionnyalábokat a detektorra fókuszálják.

Nincs olyan tömeganalizátor, amely minden elvárásnak megfelelne és az összes lehetséges tömegspektrometriás vizsgálathoz alkalmazható lenne; ezért a megfelelő tömeganalizátor kiválasztása mindig gondos mérlegelés eredménye²⁸. Az ionok szeparációja alapvetően vagy az ionok transzportja, vagy az ionok tárolása alapján oldható meg. Az iontranszport módszerek főbb típusai a következők: szektor-típusú analizátor, kvadrupol analizátor, repülési idő analizátor (**Time-Of-Flight, TOF**). Időben később jelentek meg az iontárolás alapján működő analizátorok, például: kvadrupol ioncsapda (**Ion Trap, IT**), vagy ion ciklotron rezonancia (**Ion Cyclotron Resonance, ICR**).

Az analizátorok jellemzésére használt legfontosabb paraméterek: a felső tömeglimit, az analizátor transzmissziója – vagyis a detektort elérő, és a forrásban képződő ionszámok hányadosa – és a felbontás.

II.2.3.1. Szektor-típusú analizátor

Ezek a legrégebben kifejlesztett tömeganalizátorok³. Nagy érzékenységük, felbontásuk és széles tömegtartományuk következtében analitikai és szerkezetkutatói célokra egyaránt alkalmazhatók. Az ionokat mágneses (B), vagy mágneses és elektromos terek (E) alkalmazásával lehet szétválasztani. Ennek alapján megkülönböztethetők egyszeres fókuszálású szektor-típusú tömegspektrométerek és kettős fókuszálású berendezések. Az előbbi esetben csak egy mágneses analizátor szeparálja az ionokat, míg az utóbbi esetén a mágnes egy elektrosztatikus analizátorral (ESA) van kombinálva.

Az egyszeres fókuszálású tömegspektrométert 1920 környékén a Chicagói Egyetemen dolgozó fizika professzor, A. J. Dempster fejlesztette ki³. Ezt az akkor kidolgozott elvet később átvette az ipar és a mai napig gyártanak ilyen elven működő készülékeket. Az egyszeres fókuszálású berendezés azonban a kinetikus energiák

különbözősége miatt nem biztosított kellő felbontást. Az azonos tömegű ionok eltérő kinetikus energiája egyrészt az ionforrásban lévő gyenge elektromos tér inhomogenitásából ered, másrészt abból, hogy az ionok termikus energiája, így kinetikus energiája is, Boltzman-eloszlást mutat. A mágneses analizátor elve alapján bármilyen változás a kinetikus energiában a mágneses eltérítés változását eredményezi. Annak az ionnak, amelynek szélesebb tartományban változik a kinetikus energiája pontatlanabb lesz a tömegmeghatározása. A felbontás javításához minimálni kell a kinetikus energia szórását. Ez a probléma az ESA bevezetésével oldódott meg, így jöttek létre a kettős fókuszálású tömeganalizátorok, melyek már mind az irány, mind az energia (sebesség) fókuszálását megoldották. Az egyik ilyen készüléket az 1930-as években a Bécsi Egyetemen dolgozó Joseph Mattauch és tanítványa, Richard F. K. Herzog, míg egy másik típust Nier és kollégája, E. G. Johnson, fejlesztettek ki. Az 1950-es évekre vált egyértelművé, hogy mind a Mattauch-Herzog, mind pedig a Nier-Johnson geometriával épült nagy felbontású készülék nagyon hatékony eszköz a szerves vegyületek azonosításában.

A két szektor elhelyezkedése alapján megkülönböztetünk hagyományos (EB) és fordított (BE) geometriájú tömegspektrométereket. Ha az elektrosztatikus analizátor megelőzi a mágnesest EB, ha mögötte helyezkedik el BE tömeganalizátor elrendeződésről beszélünk. Az 1990-es évekig az egyszeres fókuszálású (Dempster-féle), illetve a kettős fókuszálású (Mattauch-Herzog-, de főképp a Nier-Johnson-típusú) mágneses eltérítésen alapuló készülékek képviselték a nagy teljesítményű tömegspektrométereket³. Az egyéb tömeganalizátorok (pl. TOF, kvadrupol, ioncsapda) ezzel egy időben, párhuzamosan fejlődtek. Előtérbe kerülésükhöz azonban bizonyos technikai, elsősorban elektronikai és számítástechnikai fejlődésre volt szükség.

II.2.3.2. Lineáris kvadrupol analizátor

A kvadrupol készülékek működési elveiről először az 1950-es évek közepén Wolfgang Paul és Steinweger fizikusok jelentettek meg tudományos publikációt²⁹. Ezek a berendezések az ionpályák stabilitását használják fel az ionok m/z alapon történő elválasztásához. Habár a tulajdonságai nem vetekszenek egy szektor-típusú tömegspektrométerével – limitált mintabeviteli és ionizációs lehetőségek, alacsony

felbontó képesség, relatív szűk tömegtartomány – működése nagyon gyors és kitűnően alkalmazható a kapcsolt technikákhoz, elsősorban mint kromatográfias tömegszelektív detektor. Mindamelletts kis mérete révén előkelő helyet vívott ki magának a tömegspektrométerek egyre élesedő piaci harcában.³⁰

A lineáris kvadrupol analízátor négy, szimmetrikusan elrendezett kör vagy hiperbolikus keresztmetszetű rúd. A rudakra állandó egyenáramot, illetve nagyfrekvenciás váltóáramot kapcsolunk. Az egymással szemben lévő rudak azonos, míg az egymás mellettiek ellentétes polaritásúak (+/- $(U+V\cos(\omega t))$). Az oszcilláló tér hatására az ionok rezegve haladnak a rudak között, rezgésük amplitúdója az ionok tömegének, töltésének és a beállított paramétereknek a függvénye. Mivel csak a stabil oszcillációt végző ionok tudnak áthaladni a rudak között úgy juthatunk el a tömegspektrumhoz, hogy az elektromos mező térerejét és frekvenciáját fokozatosan változtatjuk.

II.2.3.3. Kvadrupol ioncsapda analízátor

Egy másik, szintén Paul és Steinwegen által kifejlesztett készülék a kvadrupol ioncsapda, amely egy háromdimenziós kvadrupol rádiófrekvenciás elektromos tér segítségével tárolja és analizálja az ionokat.^{31,32} Az első ioncsapdás készüléket Stafford és munkatársai építették meg és 1983-ban került kereskedelmi forgalomba, mint gázkromatográfias (GC) detektor. A kvadrupol ioncsapda lényegében önmagán körbehajlított lineáris kvadrupol rendszer, vagyis három hengeresen szimmetrikus, hiperbolikus belső felülettel rendelkező elektródból áll: két végelektrodból és egy gyűrűelektrodból. Így alakul ki a csapda belsejében a háromdimenziós kvadrupólus tér, ami az ionokat egy nyolcas alakú pályára kényszeríti.

Ebben a készülékben a növekvő tömeg/töltés aránnyal rendelkező ionok a rádiófrekvenciás feszültség változtatásával fokozatosan elveszítik stabilitásukat. Így az ionok kilépése és detektálása a növekvő m/z értékek sorrendjében történik. Ezáltal kapjuk meg a csapdában tárolt ionok tömegspektrumát.

Az ioncsapda elvén működő detektorok mára már nem csupán a kromatográfias technikákkal együtt állják meg a helyüket, hanem önálló tömegspektrométer analízátorként is kiválóan alkalmazhatók³³. Lényeges előnyük továbbá, hogy a

viszonylag hosszú tárolási idő lehetővé teszi az ion-molekula reakciók vizsgálatát, valamint a tandem tömegspektrometria (MS/MS) alkalmazását.

II.2.3.4. Repülési idő analizátor

A TOF MS ötlete már 1946-ban megszületett a Pennsylvanai Egyetemen dolgozó William E. Stephens elgondolásai alapján³⁴. A repülési idő analizátor leegyszerűsített lényege, hogy az ionokat repülési idejük alapján választja szét. Ennek a módszernek az előnye, hogy nagyon gyors, széles molekulatömeg tartományban képes dolgozni, a pulzáló ionizációs módszerekhez társítva nagy felbontású, precíz tömegspektrométerek építhetők. Az első ilyen készülékeket az 1940-es évek végén, az 1950-es évek elején építették meg³⁵. A kereskedelemben is kapható készülékek 1955-ben jelentek meg, a felbontás azonban még a legegyszerűbb egyszeres fókuszálású mágneses készülék felbontását sem érte el, ami újabb fejlesztéseket indukált. Két alapvető módosítás elvégzésével azonban jelentős javulást sikerült elérni a felbontásban. Az egyik az ún. „time-lag-focusing”, vagy „késleltetett ion extrakció” alkalmazása volt, ami a kezdeti tér- és kinetikus energia eloszlását minimalizálta³⁶. A másik az 1973-ben Boris A. Mamyrin által kifejlesztett reflektoron (iontükör) alkalmazása, ami az ionok kinetikus energiájának eloszlását szűkítette³⁷. Mára a rendkívül népszerű „újításokkal” ellátott TOF analizátorok felbontása olyan, ami a legmodernebb kettős fókuszálású tömeganalizátorokkal is felveszi a versenyt.

II.2.3.5. Ion ciklotron rezonancia analizátor

Az ion ciklotron MS egy olyan tömegspektrometriás analizátor, ahol az ionokra egyidejűleg hat a rádiófrekvenciás elektromos tér és az állandó mágneses tér. Így az ionok repülésük során spirális pályára kényszerülnek. A rádiófrekvencia, illetve a mágneses tér fokozatos változtatásával az ionok egymást követően detektálhatók.^{38,39} A kémikusok figyelmébe az 1960-as évektől fordult az ICR MS felé. Ez a módszer különösen jól alkalmazható ion-molekula reakciók tanulmányozására. 1974-ben Melvin B. Comisarow és Alan G. Marshall forradalmasította a technikát a Fourier transzformációs ICR bevezetésével (FT-ICR MS). A FT-ICR MS legfontosabb előnye

elődjével szemben, hogy míg az csupán egy ion detektálását tette lehetővé egy adott időpillanatban, ezzel a módszerrel számos különböző ion detektálható egyszerre. Az összes tömegspektrometriás módszer közül a FT-ICR MS biztosítja a legnagyobb felbontást.

II.2.4. Detektorok és jelfeldolgozás

A tömegspektrometriás detektorok feladata az analizátor(ok) által az m/z értékek alapján elkülönített ionok összegyűjtése és mennyiségükkel arányos elektromos analóg jel képzése⁴⁰. A modern tömegspektrometriában ma már kizárólag az ionáram időbeli változását is követni tudó detektorokat alkalmazzák. Ezeket a detektorokat a következő általános paraméterekkel jellemezhetjük: érzékenység, erősítési tényező, sötétáram, stabilitás, valamint az ionáram változásának a követési sebessége.

Az első generációs MS készülékek fotográfias lemezeket használtak detektorként. Egyes izotóparány-mérő berendezésekben még ma is használatos az ún. Faraday cella⁴¹. Működése közben mérjük a cella ellenállását, ami a kilépő másodlagos elektronoktól függ. Kis érzékenysége miatt ma elsősorban ellenőrzési célra használják.

Az iondetektorok működési elvük alapján két nagy csoportba sorolhatók: az egyik csoportba a pontdetektorok, a másikba a sordetektorok tartoznak. A pontdetektorok esetében az ionok egymás után érik el a detektor ugyanazon pontját, míg a sordetektorok esetében valamennyi ion egyszerre éri el az analizátor leképzési síkjában elhelyezett detektorsort. Ebből következően a lineáris kvadrupol és ioncsapda analizátorok esetében – melyek időben választják szét az ionokat – pontdetektorokat, míg a mágneses eltérítésen alapuló analizátorok esetén – melyek térbeli szétválasztást valósítanak meg – sordetektorokat használunk.

Pontdetektorként elsősorban a szekunder elektronemisszió alapuló elektrosztatikus sokszorozókat, azaz az elektronsokszorozókat (elektron multiplier) alkalmazzuk⁴²⁻⁴⁴. Ennek sokszorozó felülete lehet folytonos, vagy diszkrét diódákból összeálló rendszer. A konverziós diódára érkező fókuszált ionnyaláb elektronemissziót vált ki. Ezek az elektronok nekiütköznek a soron következő diódának és lavinaszerű

másodlagos elektronáramot hoznak létre. A folytonos felületű elektronsokszorozók egyik speciális fajtája az ún. „channeltron”, melynek előnye, hogy a detektor zajszintjét növelő szekunder ionok visszaszóródását a változó alak (speciális geometria) megakadályozza.

Az utóbbi néhány évben megjelentek a korszerű fotókonverziós, szcintillációs, vagy másik nevén Daly-féle iondetektorok⁴⁵⁻⁴⁸. Az ionok először a nagy feszültségen lévő konverziós diódába ütköznek, abból szekunderion emissziót váltanak ki, amelyek a szcintillátor anyagába – ami rendszerint foszfor – ütközve abból foton emissziót indukálnak. Az így emittált fotonok azután fotomultiplierrel könnyedén elektromos árammá alakíthatók. Nagy előnye az elektronsokszorozókkal szemben, hogy élettartama hosszabb és jobb a hatásfoka.

A sor, vagy „array” detektor a modern mágneses készülékekben jelent meg először^{40,49}. A mágnes fókusz síkjában sorban elhelyezett nagyobb számú iondetektorból – rendszerint channeltron – áll, ami lehetővé teszi a térben szétválasztott ionok azonos időben történő detektálását.

A TOF analizátorok esetén alkalmazhatunk ún. „microchannel plate”, azaz mikrocsatornasor iondetektorokat^{50,51}. Ez a detektortípus üvegapillárisok sorozatából áll, amelyeknek a belső fala elektronemisszióra képes anyaggal borított. A különböző m/z értékű ioncsoportok mindegyik ionja beleütközik valamelyik mikrocsatorna belső felületébe és onnan elektronokat szakít ki, megindítva ezzel a lavinaszerű szekunder ionáramot. Ezt az ionáramot a mikrocsatornasor végénél lévő fémlemez gyűjti össze, a lemeztől elfolyó áram pedig detektálható. A mikrocsatornasor detektor tehát érzékelni tudja valamennyi ion érkezési idejét.

A jelfeldolgozás ma már szinte kizárólag számítógépek segítségével történik. Ehhez azonban a primer analóg jelet egy Analóg/Digitális (A/D) konverter segítségével digitális jellé kell alakítanunk⁵². A számítógépes jelfeldolgozás egyik meghatározó tényezője az A/D konverzió frekvenciája, azaz a mintavétel gyakorisága. A számítógépes jelfeldolgozás segítségével gyorsabb és precízebb tömegspektrumokat kaphatunk, valamint lehetőségünk van az eltárolt spektrumokon később utólagos módosításokat végrehajtani.

II.2.5. Elválasztástechnikákkal kombinált tömegspektrometriás módszerek

A tömegspektrometriás módszert leggyakrabban a következő elválasztástechnikai módszerekkel kombinálják: gázkromatográfia (GC), nagynyomású folyadék kromatográfia (HPLC), szuperkritikus folyadék kromatográfia (SFC) és kapilláris elektroforézis (CE). Ennek megfelelően a létrehozott kapcsolt technikákat a következőképpen jelölhetjük: GC-MS⁴³⁻⁵⁵, LC-MS^{56,57}, SFC-MS^{58,59} és CE-MS⁶⁰. Manapság az ilyen típusú vizsgálatok jellemzik a tömegspektrometria fő felhasználását.

Ezeket az on-line technikákat egyrészt tekinthetjük úgy, mint nagy érzékenységgű, szelektív detektorral – tömegspektrométerrel – felszerelt kromatográfias berendezéseket, másrészt az elválasztástechnikát tekinthetjük úgy, mint a tömegspektrométer speciális mintabevivő egységét. Az ideális kromatográfias MS detektorral szemben támasztott legfontosabb követelmények: ne befolyásolja a kromatográfias felbontást, nagy érzékenységgű legyen, szelektív legyen, valamint az általa adott jel arányos legyen a koncentrációval. A kromatográfias módszerek és a tömegspektrometria kombinálásakor számos egyedi technikai problémát kellett megoldani, ilyen pl. a mozgófázis eltávolítása, a minta dúsítása, az ionforráson kívüli ionképzés. A kromatográf és a tömegspektrométer között lévő interfész ezen feladatok ellátását szolgálja.

Az 1950-es évek közepén sikerült megvalósítani a gázkromatográf és a tömegspektrométer direkt összekapcsolását. Ezt a kromatográfias technikát kombinálták sikeresen először az EI/CI ionizációval, valamint körülbelül ugyanerre az időre tehető a GC mágneses szektor-típusú, valamint kvadrupol analizátorral történt sikeres együttalkalmazása is. A modern GC-MS készülékek felhasználhatóságát az 1960-as években kifejlesztett vivőgáz szeparátor nagyban javította, ugyanis eltávolítja a GC elválasztás során alkalmazott vivőgázt, még azelőtt, hogy a mintát a nagy vákuumtérbe juttatnánk. Ugrásszerű fejlődés azonban a kapillár kolonnák megjelenése után indult meg. Így az összekapcsolás módja alapvetően a kolonna típusától függ, de fontos szempont az is, hogy az interfész a lehető legjobb hatásfokkal juttassa a neutrális vizsgálandó molekulákat az ionforrásba. Továbbá az interfész egységnek a lehető legrövidebbnek kell lennie, hogy a minta kondenzációját elkerüljük.

Az LC-MS megvalósítása technikai okok miatt az 1980-as évek elejéig váratott magára. Mára azonban a nem illékony, vagy hőre érzékeny molekulák analitikájának egyik legnagyobb teljesítményű analitikai módszerévé fejlődött ki.

A modern GC-MS és LC-MS eljárásokat elsősorban környezetvédelmi, törvényszéki analízisekre, valamint gyógyszer és farmakológiai kutatásokra használják.⁶¹⁻⁶³

II.2.6. MS-MS

Ionkémiai vagy analitikai célokra az ún. tandem, vagy hibrid tömegspektrométerek – melyek egyidejűleg alkalmasak az ionok elválasztására és azonosítására – széles skálája terjedt el. A tandem MS (MS-MS) esetén a prekursor iont először tömeg szerint kiválasztjuk, majd ún. ütközés kiváltotta disszociációval (vagy ütközés aktiválta disszociációval) fragmentáljuk és az így képződött ionok tömeganalízisét végezzük el.⁶⁴⁻⁶⁹ Ahhoz, hogy a prekursor iont és a termék ionokat analizálni tudjuk, vagy két tömeg analizátorra van szükség, vagy pedig egy olyan speciális analizátorra, amelyet szekvenciálisan is lehet működtetni. A tandem MS előnye, hogy kapcsolatot teremt a prekursor ion és a belőle képződött fragment ionok között, így segítségével fontos szerkezeti információkhoz juthatunk. Az ütközés kiváltotta disszociációs eljárást 1968-ban Keith R. Jennings vezette be. Az újabban kifejlesztett lágy ionizációs módszerek és a tandem MS együttes alkalmazása nagymértékben megnöveli a tandem MS népszerűségét. Napjainkban az ún. hármas kvadrupol tömegspektrométerek a legelterjedtebbek. Ezekkel a készülékekkel a következő üzemmódokban lehet dolgozni:

- egyszeres kvadrupol berendezésként;
- a Q_1 kvadrupollal kiválasztanak egy adott iont, majd ezt az iont Q_2 kvadrupol RF üzemmódjában ütköztetnek és a bomlásból származó ionokat a Q_3 kvadrupol pásztázásával analizálják, így kaphatók meg a kiválasztott prekursor ionból képződő fragmentumok;
- a Q_3 kvadrupollal kiválasztanak egy termékiont és a Q_1 pásztázásával megkapják mindazon prekursor ionokat, amelyekből az adott fragmentum képződött;

- a Q_1 és Q_3 kvadrupolokat egy állandó, megadott különbséggel pásztáz, akkor az ún. állandó neutrális vesztes spektrumot lehet megkapni, azaz meghatározható, hogy mely ionok vesztenek egy adott tömegű neutrális molekulát;
- vizsgálni lehet egy adott bomlási folyamatot, amennyiben a Q_1 és Q_3 kvadrupolokat beállítják a megfelelő tömegértékre.

II.3. MALDI-TOF MS

II.3.1. A MALDI-TOF MS alapjai

A MALDI MS tulajdonképpen a 1970-es években kifejlesztett LDMS egyik változata. A lézer deszorpciós eljárásoknak – a lágy ionizációs technikákkal szemben – több nagy hátránya is van. Egyrészt a mintával olyan nagy energiát közölnek, amely a minta disszociációját eredményezi, vagyis a molekulaionok helyett csak a kis tömegtartományba eső fragmensionok képződnek. Másik hátránya, hogy a lézerimpulzust követően az ionképződésnek rövid az időtartama. A MALDI⁷⁰⁻⁷³ az 1980-as években került bevezetésre, amikor bebizonyították, hogy kis mennyiségű szerves ún. mátrix anyag mintához adásával a direkt lézerbesugárzásnak kitett minta ionjai nem szenvednek fotodisszociációt. A MALDI-TOF MS nagy előnye, hogy a lágy ionizáció következtében csekély mértékben megy végbe a minta fragmentációja. Így a kvázi-molekulaionok analízisére is lehetőség van. A MALDI alapjait 1988-ban tették közzé Hillenkamp⁷⁰ és kutatócsoportja, valamint tőlük függetlenül Tanaka és munkatársai⁷¹. A módszer egyik legérzékenyebb pontja megtalálni az adott mintához megfelelő, jó lézer abszorpcióval rendelkező, kis molekulatömegű szerves mátrix anyagot. Ilyenek lehetnek pl.: szinapiksav, 2,5-dihidroxibenzoésav, stb. Ezután úgy kell felvinni a minta + mátrix keveréket, hogy homogén, mikrokristályos, szilárd anyag keletkezzen. A rövid ideig alkalmazott, nagy intenzitású lézerimpulzus következtében a mátrix gerjesztett állapotba kerül, az elnyelt energia a minta deszorpcióját (elpárolgását) és ionizációját okozza, így egy nagyon sűrű MALDI gőz keletkezik. Az ionok tulajdonképpen impulzusszerűen képződnek egy adott pillanatban és egy adott helyen, ahol az erős elektromos tér hatására felgyorsulnak, és a repülési csőben a repülési idejük alapján szétválnak, majd eléri a detektort.

A repülési idő egyszerű matematikai összefüggés segítségével átalakítható tömeg/töltés (m/z) aránnyá, így egy klasszikus tömegspektrumhoz juthatunk.

A MALDI elméleti alapjai körül ma is folynak kutatások, számos neves analitikai újságban közölnek cikkeket a témában⁷⁴. Alkalmazásait tekintve elsősorban a biológiai tudományok terén nagyon gyors a fejlődés és csak kisebb figyelmet kapnak a technológiai fejlesztések, újítások.

II.3.2. Tömegtartomány és érzékenység

A MALDI-TOF praktikusan alkalmazható nagy molekulatömegű anyagok vizsgálatára: biopolimerek^{75,76}, pl. fehérjék, szénhidrátok, oligonukleotidok, valamint szintetikus polimerek analízisére. Számos, az iparban is széleskörben használt szintetikus polimer vizsgálatát végezték már el ezzel a módszerrel, például: poli(etilén-glikol)^{71,77-78}, poli(propilén-glikol)^{71,77-79}, politejsav⁸⁰, poliuretánok⁸¹, poli(metil-metakrilát)⁸²⁻⁸⁵, polisztirol^{78,86-88}, vagy poliizobutilén⁸⁹. A felső tömeghatár egyértelműen nem adható meg, de néhány száz kDa tömegű molekulák még biztonsággal analizálhatók. Az analízisnek ugyanis nem a deszorpciós/ionizációs folyamat szab határt, hanem a képződött ionok detektálásának hatékonysága. A MALDI-TOF MS alsó kimutathatósági határa sem adható meg pontosan, mivel ebben a tartományban számos mellékcsúcs megjelenése zavarhatja az azonosítást. Ezek a mellékcsúcsok származhatnak magából a mátrixból, a minta mátrixszal képzett addukt ionjaiból, valamint lehetnek az összes lehetséges ion fragmentjei. A kis molekulatömegű anyagokat (kb. 500 Da alatt) sokszor LDI technikával vizsgálják, hogy kiküszöböljék a mátrixból eredő, az azonosítást megnehezítő mellékcsúcsokat.

A MALDI vizsgálatok során használt „érzékenység” kifejezés általában azt jelenti, hogy mekkora az a legkisebb mennyiség, amit a mintatartóra helyezve még értékelhető MALDI spektrumot kapunk. Ebben az összefüggésben tehát az érzékenység nincs közvetlen kapcsolatban a koncentrációval. A mintatartóra felvitt mennyiség általában 0,2–1,5 μL között változik. A koncentrációtartomány könnyen kiszámítható: attomól MALDI érzékenység például pikomól koncentrációra utal. A MALDI által előállított ionokat egy TOF-típusú tömeganalizátor pikomól ($\text{pmol} = 10^{-12}$ mol) és femtomól ($\text{fmol} = 10^{-15}$ mol) közötti tömegtartományban elemzi

ki rutinszerűen, de attomól ($\text{amol} = 10^{-18}$) érzékenység is elérhető bizonyos készülékekkel.

II.3.3. Minta előkészítés

A minta előkészítésének alapvető jelentősége van a kísérlet kimenetelére nézve. Az első lépés a megfelelő mátrix anyag kiválasztása. Mátrixként kis tömegű anyagokat használunk, mivel általában a vizsgált anyag nagyobb tömegtartományba esik, és így elkerülhetők a kiértékeléskor jelentkező bonyodalmak. A leghatékonyabb mátrix kiválasztását mindig gondos kísérletek előzik meg, mivel a kapott jel nagymértékben függ a vizsgálandó anyagtól is, pl. két, szerkezetileg is nagyon hasonló minta esetén az is előfordulhat, hogy a legjobb MALDI spektrumot különböző mátrix anyagokkal tudjuk felvenni. Vannak bizonyos általánosan alkalmazható mátrixok, ilyen anyagokat azonban elsősorban fehérjékre találunk. A mintakészítés szempontjából megkülönböztetünk szilárd⁹⁰ és folyadék⁹¹ állapotú mátrixokat alkalmazó eljárásokat. A mintaelőkészítés során a minta/mátrix arány az a paraméter, amelyet az analízist végző személy könnyedén változtathat. Érdemes minél több minta/mátrix arányt kísérletesen kipróbálni, mivel csupán közelítőleg lehet valószínűsíteni a megfelelőt. Ezért a minta/mátrix arány pontos megállapítása mindig kísérleti munkát igényel.

MALDI körülmények között proton és fémionok, elsősorban nátrium- és káliumionok kapcsolódhatnak az adott mintához. Így sok esetben összetett csúcsok figyelhetők meg, melyek különböző ionizáló ágenshez rendelhetők. Az ilyen csúcsok közötti távolság megegyezik a megfelelő ionizáló ágensek tömegkülönbségével. Ennek megfelelően elképzelhető, hogy ún. nem kívánatos ionok jelennek meg a spektrumban, melyek pl. proton transzferrel képződnek a minta készítése közben. Ennek oka, hogy a mintában nyomnyi mennyiségben jelenlévő, ionizáló ágensként viselkedő szennyezők eltávolítása gyakorlatilag lehetetlen. Ezért az általunk kívánatosnak vélt ionizáló ágensből többszörös mennyiséget kell adnunk a mintához. Így relatív intenzitásnövekedést válthatunk ki.

A minta/mátrix rendszeren kívül azonban több más fontos paraméter is befolyásolja a minta megfelelő előkészítését. Az sem mindegy, hogy milyen kristályosítási módszert használunk a gyakorlati munka során. Számos kristályosítási

technikát fejlesztettek ki. Vannak például olyanok, amelyek folyadék állapotú mátrixot⁹²⁻⁹⁶ alkalmaznak alternatív módszerként. Az alábbiakban néhány fontosabb kristályosítási eljárást soroltunk fel: „dried-droplet”^{97,98}, „vacuum-drying”^{99,100}, „crushed-crystal”^{101,102}, „overlayer”^{98,103-105}, „sandwich”¹⁰⁶, „spin-coating”¹⁰⁷, „slow-crystallization”¹⁰⁸, „electrospray”¹⁰⁹⁻¹¹², „matrix-protected target”¹¹³.

A megfelelő oldószer kiválasztása a mai napig próbálgatások és előkísérletek eredménye. Fontos szabály, hogy a kísérletekhez felhasznált oldatokat (elsősorban a mátrixok oldatait) célszerű mindig frissen készíteni. Általánosságban azt mondhatjuk, hogy első lépésben meg kell találni a mintához megfelelő oldószert. Amennyiben a minta tökéletesen feloldódik a választott oldószerben, a mátrix anyagot is fel kell oldani egy olyan oldószerben, amely jól elegyedik a minta oldószerével, és amelyben a mátrix tökéletesen oldódik. Bizonyos esetekben – ide tartozik a fehérjék, vagy az oligonukleotidok vizsgálata is – a megfelelő oldószerek illetve oldószer keverékek közismertek. Az oldószer kiválasztásánál az oldhatóság tehát kulcsfontosságú tényező, hiszen amennyiben nem tökéletes az oldódás (pl.: csapadék jelenléte gyanítható) nem kapunk megfelelő MALDI tömegspektrumot. Fontos továbbá, hogy se a minta, se a mátrix ne csapódjon ki, amikor a két oldatot összekeverjük.

A kiválasztáskor figyelmet kell fordítanunk az oldószer felületi feszültségére is. Kis felületi feszültségű oldószerek esetén a mintával kevert mátrixcsepp nagy felületen terül szét, ami csökkenti az egységnyi felületre eső kristálmennyiséget, vagyis az egy lézer impulzus hatására képződő ionok mennyiségét. Általánosságban azt mondhatjuk, hogy a „vízben gazdag” oldószerek megfelelő felületi feszültséggel rendelkeznek, ezáltal lehetőség nyílik a reprodukálható, megfelelően nagy kristálysűrűségű, kör alakú cseppek elhelyezésére a mintatartón.

Az oldószer illékonysága szintén fontos tényező. Az oldószer gyorsabb párolgása eredményeképpen kisebb, homogén mintaeloszlású kristályok képződnek (mikrokristályos szerkezet). A gyors kristályosodás így megnöveli a kationizációt, azonban a nagyon vékony kristályrétegek csupán néhány lézerimpulzus erejéig képesek biztosítani a mintát. Az illékonyabb oldószerek általában nagyobb tapasztalatot igényelnek, mivel gyorsan kell velük dolgozni, nehogy a túlzott párolgás miatt például a pipetta hegyben váljon ki a minta egy része.

Bizonyos minták esetében fontolóra kell venni az oldószer, illetve az általában savas karakterű mátrix anyagok által okozott pH változásokat is, ami pl. fehérjék vizsgálatakor konformációváltást, vagy kritikusabb esetben degradációt eredményezhet, így téves következtetéseket vonhatunk le a kapott MALDI spektrumból.

Fontos lehet még az oldószer összetétele; mindenképpen el kell kerülni, hogy az oldószer a mintával, vagy a mátrix anyaggal reakcióba lépjen.

II.3.4. Az iondeszorpció mechanizmusa

Számos elképzelés látott napvilágot azzal kapcsolatban, hogy magyarázatot találjanak a makromolekulák MALDI alkalmazása közben lejátszódó deszorpciójára. Az egyik ilyen modell a „thermal-spike”, amely azt feltételezi, hogy a mátrix molekulák felületről történő szublimációja kis lézerintenzitások esetén kialakuló helyi felmelegedés eredményeként játszódik le. Egy adott lézerintenzitás fölött azonban a deszorpció hatékonyságának gyors növekedése figyelhető meg. A mátrix molekulák belső rezgéseit a kristályt összetartó hidrogénhidak csatolják a makromolekulák vibrációs módusaihoz, és ez a csatolás a jelentős frekvencia különbségek következtében nagyon gyenge. Ezért a makromolekulák viszonylag alacsony belső energiával lépnek át a gőz fázisba és így elkerülhetik a fragmentációt¹¹⁴. Egy másik jelentős elmélet a nyomás változását használja magyarázatként. Ez azt feltételezi, hogy nyomás gradiens kialakulásával kell számolnunk, ami a makromolekulák felületről történő deszorpcióját – a gyorsan mozgó mátrix molekulákkal való ütközések következtében lejátszódó momentum transzfer miatt – felgyorsíthatja¹¹⁵. A MALDI mechanizmusa azonban a mai napig nem tisztázott teljesen, de valószínűsíthető hogy a következő általános elvek alapján értelmezhető:

(I) „Szilárd oldat” képződése: A minta molekulái a mátrixban tökéletesen szétoszlatott állapotban vannak, vagyis teljesen el vannak különítve egymástól. Ez úgy lehetséges, hogy a feloldáshoz szükséges oldószerek elpárolgása után a mátrix homogén „szilárd oldatot” hoz létre.

(II) Mátrix gerjesztése: A mátrix elnyeli a ráeső lézer fotonok egy részét, ami gyors vibrációs gerjesztést okoz, ezzel helyileg szétrázza a szilárd fázist. Így semleges

és gerjesztett mátrix molekulával körülvevett klaszterek képződnek, melyek csupán egy minta molekulát tartalmaznak klaszterenként, majd ezekből a klaszterekből a mátrix molekulák elpárolognak magukra hagyva a gerjesztett minta molekulákat.

(III) Mintaionizáció: A minta molekulák ionizálódhatnak a fotolitikusan gerjesztett mátrix okozta egyszerű kationizációval, ami a tipikus $[M+X]^+$ ($X=H, Li, Na, K, \text{ stb.}$) szerkezetek képződéséhez vezet, melyek mellett többszörös töltésű származékok, dimerek, sőt trimerek is képződhetnek. Természetesen negatív ionok képződése is lehetséges, a minta molekula deprotonálódása révén, $[M-H]^-$ szerkezet képződése közben, illetve fotoelektronokkal való reakciók révén, $[M]^0$ gyök molekulaion képződésével. A minta ionizációját (és ezáltal a képződött tömegspektrumot) tehát tudatosan befolyásolni tudjuk úgy, hogy megfelelően kiválasztott kationizáló ágenszt keverünk az analizálandó mintához. Az ionizáló ágens az esetek többségében H^+ , vagy valamilyen kis molekulatömegű, kémiai szempontból közömbös vegyület illékony alkálifém, vagy alkáliföldfém sója.

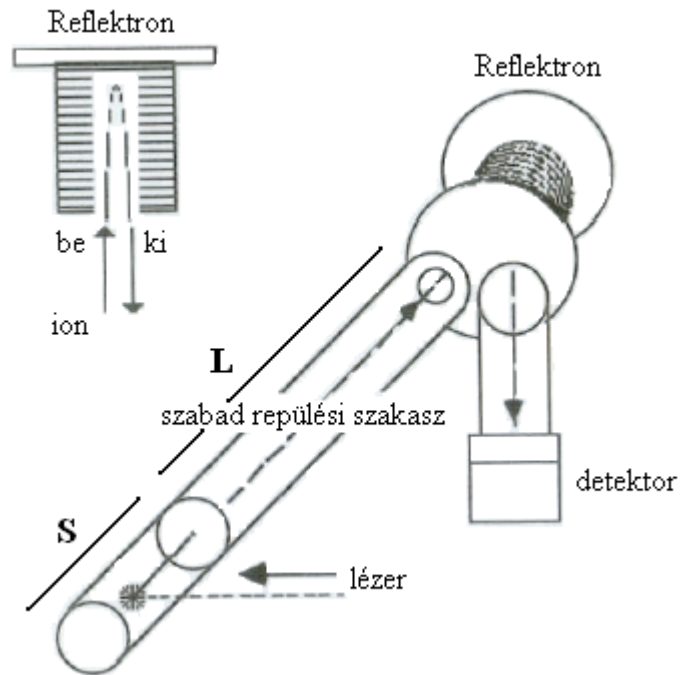
II.3.5. A repülési idő analizátor működése

A TOF¹¹⁶⁻¹¹⁸ analizátorhoz a pulzáló elven működő ionforrások (pl. MALDI) ideálisak, ezekkel az ionok pontosan meghatározott időben generálhatók. Az így kapott ionokat S (1-2 cm) távolságon U_{acc} (20-30 kV) gyorsító feszültséggel felgyorsítjuk, majd az ionokat egy L (1-2 m) hosszúságú ún. szabad repülési szakaszba vezetjük, melyben eljutnak a detektorig. Így az ionok a repülési idejük alapján, vagyis m/z alapján válnak szét. A TOF analizátor sematikus rajza a **3. ábrán** látható.

Az E_{kin} energiára szert tevő ionra a következő összefüggés írható fel:

$$E_{kin} = \frac{1}{2}mv^2 = U_{acc} \cdot e \cdot z \quad (1)$$

ahol m az ion tömege, v az ion repülési sebessége, z az ion töltésszáma, e az elektron töltése és U_{acc} a gyorsító feszültség.



3. ábra

A TOF analízátor sematikus vázolata

Ezt átalakítva a repülési sebesség a következőképpen adható meg:

$$v = \sqrt{\frac{2U_{acc}e \cdot z}{m}} \quad (2)$$

Ha feltételezzük, hogy a kezdeti pillanatban a sebesség nulla, vagyis $v_0 = 0$, akkor a gyorsító szakaszban eltöltött idő (t_s) és a szabad repülési szakaszban eltöltött idő (t_L) a következő:

$$t_s = \frac{2S}{v} = 2S \sqrt{\frac{m}{2U_{acc}e \cdot z}} \quad (3)$$

$$t_L = \frac{L}{v} = L \sqrt{\frac{m}{2U_{acc}e \cdot z}} \quad (4)$$

Vagyis a TOF analízátorban eltöltött teljes idő (t_{TOF}) e két idő összege:

$$t_{TOF} = t_S + t_L = (2S + L) \sqrt{\frac{m}{2U_{acc} e \cdot z}} \quad (5)$$

Ezt az egyenletet átrendezve a következő összefüggéshez juthatunk:

$$\sqrt{m} = \frac{\sqrt{2U_{acc} e \cdot z}}{2S + L} \cdot t_{TOF} \quad (6)$$

ahol U_{acc} , e , S és L állandók, melyeket egy A közös konstanssal jelölhetünk. Vagyis:

$$\sqrt{\frac{m}{z}} = A \cdot t_{TOF} \quad (7)$$

azaz:

$$\frac{m}{z} = A' \cdot t_{TOF}^2 \quad (8)$$

ahol A' a műszer konstans. Ennek az egyenletnek a segítségével tehát kalibráció után, a repülési idő mérésével meg tudjuk határozni az m/z értéket.

Reális körülmények között azonban az előző kezdeti feltétel nem teljesül, mivel a képződött ionoknak sebességeloszlása van, vagyis $v_0 \neq 0$, ami jelszélesedéshez vezet. Tegyük fel, hogy van egy ion (i), amelyre teljesül, hogy $v_0 = 0$ és van egy másik (ii), amelyre az igaz, hogy $v_0 \neq 0$. Akkor a t_i és t_{ii} – az i és az ii ionok repülési ideje – valamint a Δt időkülönbség, azaz a jelszélesedés a következőképpen adható meg.

Amennyiben $E_0 = 0$, akkor:

$$t_i = (2S + L) \sqrt{\frac{m}{2U_{acc} e \cdot z}} \quad (9)$$

Amennyiben $E_0 \neq 0$, akkor:

$$t_{ii} = (2S + L) \sqrt{\frac{m}{2(E_0 + U_{acc} e) \cdot z}} \quad (10)$$

és

$$\Delta t = t_i - t_{ii} = (2S + L) \left(\sqrt{\frac{m}{2U_{acc} e \cdot z}} - \sqrt{\frac{m}{2(E_0 + U_{acc} e) \cdot z}} \right) \quad (11)$$

Vagyis:

$$\frac{m}{\Delta m} \cong \frac{eU_{acc}}{E_0} \quad (12)$$

Ebből az következik, hogy a felbontás nem függ a repülési cső hosszától.

EMBEDEMBEDEMBEDEMBEDEMBEDE

MBEDEMDED

II.3.6. Delayed extraction és reflekttron

A felbontás több nagyságrenddel történő javításához el kellett térni a folyamatos ionextrakciótól (Continuous Extraction, CE), azaz a feszültséget csak egy kicsivel később, egy ún. τ időpillanatban kapcsolták az ionforrásra. A lézer impulzusától számított τ időpillanatig tehát a tér potenciálmentes. Ez alatt az idő alatt a nagyobb kinetikus energiájú ion hosszabb utat tesz meg, mint a kisebb kinetikus energiával rendelkező. Azaz, ha rákapcsoljuk a feszültséget – és feltételezzük, hogy az elektrosztatikus tér tökéletesen homogén – a nagyobb kinetikus energiájú ion kisebb elektromos potenciálnak van kitéve, mint a nálánál kisebb mozgási energiájú társa. Ennek eredményeképpen az ionok fókuszálódnak mielőtt elhagynák a gyorsító szakaszt. A módszer kifejlesztése Wiley és McLaren (1955) nevéhez fűződik, ők ezt „Time Lag Focusing” (TLF)ként nevezték el¹¹⁸. Mára azonban a műszergyártók előszeretettel használnak különféle elnevezéseket ugyanerre a jelenségre, pl. „Pulse Ion Extraction” (PIE), „Dynamic Extraction” (DE), vagy „Delayed Extraction” (DE). A DE (10 – néhány száz nanoszekundum) kompenzálja a MALDI által előállított ionsomagok kezdeti sebességének eloszlását, ezáltal az azonos m/z arányú ionok közel egyszerre érnek a detektorhoz, vagyis a felbontás javul.¹¹⁹⁻¹²⁵

A felbontás növelésére van még egy széles körben használt módszer, ez pedig a reflekttron alkalmazása³⁷. Kifejlesztése Mamyrin (1973) orosz tudós nevéhez fűződik. A reflekttronra, vagy iontükörré ráadott feszültség 5-10 százalékkal nagyobb, mint a gyorsító feszültség, polaritása pedig azzal ellentétes. A reflekttron, vagy iontükör a repülési cső végén helyezkedik el, ami az azonos m/z értékű és némileg eltérő kinetikus energiával bíró részecskék közötti repülési idő különbségeket kompenzálja, és ezáltal javít a felbontáson. Ennek megfelelően az eltérő kinetikus energiával és

sebességgel érkező részecskék eltérő mértékben hatolnak be az iontükör belsejébe. Így a nagyobb kinetikus energiával érkező ion nagyobb mértékben hatol be a reflektorra, mint a kisebb kinetikus energiával érkező. Vagyis, nagyobb utat tesz meg, tehát több időt tölt el az iontükör belsejében. Ennek következtében közel egyszerre érkeznek a detektorra, vagyis ismételt fókuszálás történik. Tehát a repülési cső végén található ion reflektorra célja, hogy a kis kinetikus energia különbségű, azonos m/z értékű ionok repülési idejének különbségét kompenzálja. Ennek eredményeként az ionsomagok mind térben, mind időben a detektorra fókuszálódnak.

II.3.7. A MALDI technika esetén bekövetkező bomlások

Amennyiben az analízis célja a kvázi-molekulaion, vagy pedig a makromolekula molekulatömegének meghatározása, semmilyen fragmentáció lejátszódása nem kívánatos. Lehetőség van azonban a MALDI körülmények között bekövetkező fragmentáció tanulmányozására is. A MALDI módszer esetén a fragmentáció minimális, ha bekövetkezik, akkor alapvetően két módja lehetséges. Ha ez a fragmentáció a MALDI ionforrásban következik be, akkor az ún. forrásban belüli bomlásról (**In-Source Decay, ISD**) beszélünk. A fragmentáció másik módja, ha a molekula fragmentációja nem az ionforrásban játszódik le, hanem a műszer szabad repülési szakaszában. Ennek elnevezése az ún. forrás utáni bomlás (**Post-source Decay, PSD**)¹²⁶⁻¹³⁰. A forrás utáni bomlás bekövetkezhet a repülési csőben található egyéb molekulákkal, atomokkal történt ütközés következtében. Ahhoz, hogy eldöntsük, hogy a spektrumunkban jelentkező kisebb intenzitású csúcsok a PSD jelenség következtében alakulnak-e ki, fel kell vennünk a spektrumot mind lineáris, mind reflektorra módban. Mivel a PSD esetén a képződött bomlástermékek sebessége azonos lesz, ezért a lineáris detektor nem lát köztük különbséget – a spektrum leegyszerűsödik. Míg reflektorra alkalmazásával repülési idejük eltérő lesz és a reflektorra detektor különbséget észlel. A PSD technikát rutinszerűen alkalmazzák például fehérjék szerkezetének felderítésére.

II.3.8. Polimerek karakterizálása MALDI technikával

A polimerek jellemzése elengedhetetlenül fontos a polimerek tulajdonságainak, szerkezetének és morfológiájának megismerése céljából. A karakterizáció tipikusan a következő lehet: (1) molekulatömeg analízis: gélpermeációs kromatográfia (GPC, SEC), fényszórás, ozmometria vagy viszkozimetria felhasználásával, (2) az ismétlődő egységek meghatározása NMR segítségével, (3) végcsoport meghatározás titrálással, NMR vagy IR spektroszkópiával, (4) tisztaságvizsgálat NMR, FT-IR vagy elemanalízis felhasználásával. A MALDI-TOF MS segítségével lehetőség van a molekulatömegek, az ismétlődő egységek, a végcsoportok, valamint a polimerben lévő adalékanyagok és szennyezők gyors és pontos analizésére.¹³¹⁻¹³⁶

A szintetikus polimereket termikus instabilitásuk és kis illékonysági hajlamuk miatt csak a lágy ionizációs technikák megjelenése óta tudják kellőképpen analizálni MS készülékekben. A MALDI lágy volta miatt a mintával közölt energia nagy része a rendszer elpárologtatására fordítódik és csak kis mennyiségben következik be fragmentáció (a polimer láncok degradációja).

A kapott MALDI spektrumból – szűk eloszlású polimerek esetén ($M_w/M_n < 1,2$) – a következő összefüggések segítségével egyszerűen kiszámíthatjuk a polimer számátlag molekulatömegét (M_n), tömegátlag molekulatömegét (M_w) és a polidiszperzitást (PD):

$$M_n = \sum M_i I_i / \sum I_i \quad (20)$$

$$M_w = \sum M_i^2 I_i / \sum M_i I_i \quad (21)$$

$$PD = M_w / M_n \quad (22)$$

ahol M_i az i -edik tömeg (a kationizáló ágensként jelenlévő kation tömegének levonása után), I_i az i -edik csúcs intenzitása.

Az alábbi elvet követve – mint azt már korábban említettük – lehetőség nyílik a polimerkémiai alapvető jelentőséggel bíró végcsoport meghatározásra. A végcsoportok pontos ismerete az adott polimer felhasználásakor szükséges. A

MALDI-TOF MS módszer egyszerű megoldást kínál a végcsoportok meghatározására a következő egyenlet alkalmazásával:

$$M_i = M_{\text{vég}} + iM_m + M_{\text{cat}} \quad (23)$$

ahol M_i az i monomeregységet tartalmazó polimerlánc tömege, $M_{\text{vég}}$ a végcsoport tömege; M_m , a monomer tömege és M_{cat} pedig a kation tömege.

A szintetikus polimerek MALDI-TOF MS vizsgálata csak bizonyos (de egyre szélesedő skálájú) polimertípusok esetén valósítható meg könnyen, mivel sok esetben tökéletes feloldásuk is nehézkes. Valamint többnyire az ionizáció határfoka sem megfelelő. Mára azonban már számos tanulmány rámutatott, hogy lehetőség van a szintetikus polimerek MALDI vizsgálatára, legyen az vízoldható, pl. PEG, PPG, polisztirol szulfonsav, poliakrilsav, vagy szerves oldószerben oldható, pl. polisztirol, poli(butil-metakrilát), poliizobutilén. Más MALDI tanulmányok polimer keverékekkel, vagy polimer adalékokkal foglalkoznak. Montaudo és munkatársai például statisztikai modellt dolgoztak ki kopolimerek tömegspektrumainak értelmezésére¹³¹.

II.3.9. A MALDI MS egyéb alkalmazásai

Gyógyszerészeti területen:

A gyógyszergyártás területe vezet mind műszerezettség, mind szaktudás tekintetében a MALDI MS technika ipari hasznosítását. A gyógyszeriparban elsősorban a biomakromolekulák, főként fehérjék gyors és rutinszerű azonosítására használják. A gyors adatfeldolgozásnak köszönhetően ugrásszerűen meggyorsította a gyógyszerfejlesztéseket.¹³⁷⁻¹³⁹

Ipari szintézisek területén:

Az előállított polimerek karakterizálására használják, mert tömegpontossága jóval nagyobb, mint az ilyen területeken régebben általánosan használt GPC készüléké. Azonban a megfelelő ipari rutinvizsgálatok pontosabb információt igényelnének a megfelelő mátrix kiválasztáshoz.

A kémiai iparban a MALDI technikát elsősorban a szénhidrogének azonosítására, az alkalmazott polimertípusú adalékok kimutatására, valamint szerkezetmeghatározásra használják.¹⁴⁰

A finomkémiai ipar területén elsősorban a nagy molekulatömegű anyagok vizsgálatában nyújt nagy segítséget. Főként bevonatok (poliakrilátok, poliészterek, poliuretánok), tömítő anyagok (polisziloxánok, perfluorozott származékok) és speciális cellulózok (cellulóz éterek, cellulóz acetátok) analízisében játszik fontos szerepet. A MALDI MS a molekulatömeg meghatározása mellett alkalmas a finom vegyiparban alkalmazott reagensek, illetve termékek végcsoportjának, valamint szerkezetének precíz felderítésére is.

Élelmezési területeken:

A MALDI MS módszert az élelmiszeripar, illetve élelmiszer ellenőrzés is széles körben alkalmazza az élelmiszerek csomagoló anyagaiból kioldódott szennyezők analízisére, valamint elsősorban a szintetikus és a természetes eredetű gyümölcslevek megkülönböztetésére.¹⁴¹

III. A vizsgálatokhoz felhasznált anyagok, alkalmazott készülékek és a mintakészítés

III.1. Felhasznált anyagok

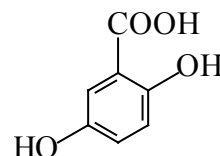
III.1.1. Mátrixok

A következő mátrixokat: 3,5-dimetoxi-4-hidroxi-fahéjsav (szinapiksav, SA), *trans*-3-indolakrilsav (IAA), 1,8,9-trihidroxi-antracén (ditranol, DIT), 3-hidroxi-pikolinsav (3-HPA), 2-(4-hidroxifenilazo)benzoesav (HABA), α -ciano-4-hidroxi-fahéjsav (CHCA), 2-amino-5-nitropiridin (ANP), 1-metil-7-metoxi-3,4-dihidro- β -karbolin (harmalin, HAR), 2,4,6-trihidroxi-acetofenon (THAP), 2,5-dihidroxi-benzoesav (2,5-DHB) az Aldrich-tól (Németország) szereztük be. Az előzőekben felsorolt mátrixok szerkezeti képletét az **1. táblázatban** tüntettük fel.

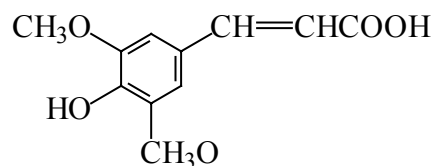
1. táblázat

Az általunk használt mátrixok neve, rövidítése illetve szerkezeti képlete

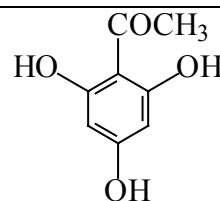
2,5-dihidroxi-benzoesav
(DHB)



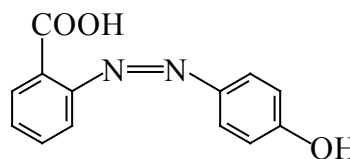
3,5-dimetoxi-4-hidroxi-fahéjsav
(SA)



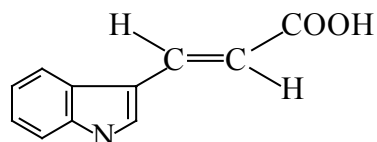
2,4,6-trihidroxi-acetofenon
(THAP)



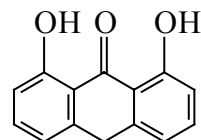
2-(4-hidroxifenilazo)benzoesav
(HABA)



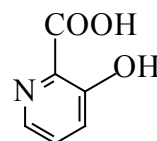
trans-3-indolakrilsav
(IAA)



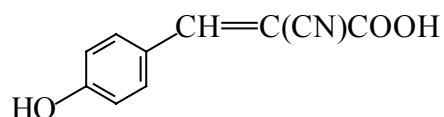
1,8,9-trihidroxi-antracén
(DIT)



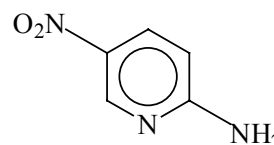
3-hidroxi-pikolinsav
(HPA)



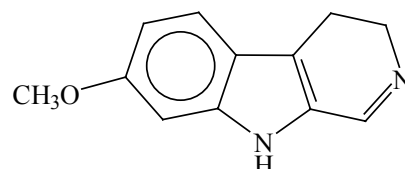
α -ciano-4-hidroxi-fahéjsav
(CHCA)



2-amino-5-nitropiridin
(ANP)



1-metil-7-metoxi-3,4-dihidro- β -karbolin
(HAR)



III.1.2. Ionizáló ágensként használt sók

Kísérleteinkhez alkálifém sókat (LiCl, NaCl, KCl, RbCl, CsCl), valamint ezüst trifluor-acetátot (AgTFA) alkalmaztunk; gyártójuk szintén Aldrich (Németország).

III.1.3. Lágyítók

A vizsgálatokhoz a következő lágyítókat használtuk: di-oktil-ftalát (DOP), di-izononil-ftalát (DINP), di-izodecyl-ftalát (DIDP), di-undecyl-ftalát (DUP), oktil-benzil-ftalát (OBP), tri-oktil-trimellitát (TOTM), di-oktil-adipát (DOA), melyeket a BorsodChem Rt. (Magyarország) biztosította.

III.1.4. Polimerek

A kísérletekhez különböző molekulatömegű poli(etilén-glikol)okat (PEG), valamint polisztirolt (PS) használtunk. Az alkalmazott anyagok molekulatömegei a következők voltak: PEG4000 ($M=4000$ g/mol), PEG6000 ($M=6000$ g/mol), valamint PS2200 ($M=2200$ g/mol). A poli(etilén-glikol) minták forgalmazója a Fuzio-Pharma (Magyarország), míg a polisztirol mintákat a Merck (Németország) szállította.

III.1.5. Oldószer

Oldószerként vizet, tetrahidro-furánt (THF), illetve etanolt használtunk. A THF és az etanol szállítója az Aldrich (Németország). A THF egy, már korábban ismertetett módon lett tisztítva¹⁴².

III.2. Alkalmazott műszeres módszerek és szoftverek

III.2.1. MALDI-TOF MS

A MALDI MS méréseket Bruker gyártmányú BIFLEX IIITM típusú, repülési idő (TOF) tömeganalizátorral felszerelt, valamint reflektronnal ellátott tömegspektrométeren végeztük (**4.**, **5.** és **6. ábra**). Minden esetben 19 kV gyorsítófeszültséget alkalmaztunk késleltetett ionextrakciós (DE) mód mellett. Az ionokat lineáris és reflektron módban is detektáltuk. A lézerdeszorpció kiváltására LSI típusú impulzus üzemmódban működő N₂ (337 nm, 10^6 - 10^7 W/cm²) UV-lézert alkalmaztunk. Az impulzusok frekvenciája 1-4 Hz között változtatható, szélessége 3 ns.

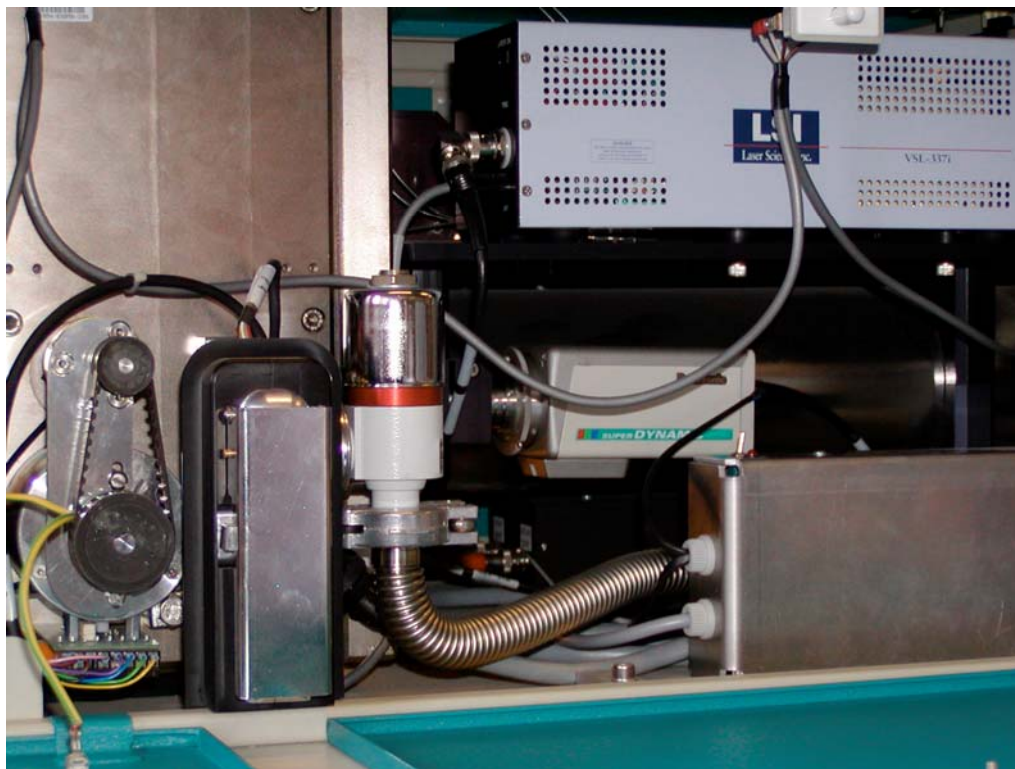
III.2.2. PSD MALDI-TOF MS/MS

A vizsgált anyagok szerkezetének felderítése céljából PSD MALDI-TOF MS/MS módszert is alkalmaztunk. A PSD spektrumok felvételéhez megfelelő ablakméretet (5-25 Da) a pulzerrel választottuk ki, mely tartalmazta a vizsgálni kívánt prekursor iont. A reflektron feszültséget az adatgyűjtés minden szegmensében csökkentettük. Ezután az egyes részeket összemásoltuk, majd a kapott spektrumot a Bruker által szállított XMASS 5.0 elnevezésű szoftver segítségével kalibráltuk. A PSD spektrumokat Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH) segítségével kalibráltuk.



4. ábra

A Bruker gyártmányú BIFLEX IIITM típusú MALDI-TOF MS készülék



5. ábra

A tömegspektrométer ionforrása



6. ábra

A tömegspektrométer repülési csöve és detektorai

III.2.3. Infravörös spektroszkópia

A mérésekhez Perkin Elmer gyártmányú Paragon 1000 PC típusú Fourier-transzformációs infravörös (FT-IR) spektrométert alkalmaztunk.

III.2.4. Gázkromatográfia

A gázkromatográfias méréseket HP 5890 II készüléken végeztük. A minta 1-10 mg/mL koncentrációjú hexános oldatából 1 μ L-t injektáltunk be a 260 °C-os injektoron keresztül. Az elválasztást 250 °C-on termosztált kapilláris kolonnákon (HP 1, 25 m x 0,2 mm, I.D., 0,1 μ m film) hajtottuk végre. A detektálás lángionizációs detektorral (Flame Ionisation Detector, FID) történt 280 °C-on. Vivőgázként nitrogént alkalmaztunk, 1 mL/perc áramlási sebességgel.

III.2.5. Illesztésimódszer és szoftver

A különböző eloszlások paramétereinek illesztésére a FITTER 5v elnevezésű program Gauss-Newton-Marquard eljárását használtuk.

III.3. Mintakészítés

III.3.1. Ezüst-klaszterek

A mátrixokból THF-ban 0,08-0,15 M koncentrációjú oldatokat készítettünk. Az AgTFA-ból 0,09 M koncentrációjú oldatot készítettünk, azonos oldószerben. A mátrixanyag oldatát, valamint az ezüstsó oldatát 5:1 (v/v) arányban (mátrix/AgTFA) kevertük össze. Az oldatból 0,5 μL -t a rozsdamentes acélból készült mintatartóra cseppentettünk, majd hagytuk levegőn beszáradni.

III.3.2. Lágyítók

A vizsgálathoz felhasznált DHB mátrixot (20 mg/mL) etanolban oldottuk fel. A lágyítókból etanol hozzáadásával 5 mg/mL koncentrációjú oldatokat készítettünk. A két oldatot 5:1 (v/v) arányban (mátrix/vizsgálandó anyag) kevertük össze. Az oldat 0,5-1,0 μL -ét a rozsdamentes acélból készült mintatartóra cseppentettük, majd hagytuk beszáradni.

III.3.3. Poli(etilén-glikol)

A 20 mg DHB mátrixot 1 mL víz és etanol 1:1 (v/v) elegyében oldottuk fel. A PEG4000 és a PEG6000 mintákat víz hozzáadásával készítettük el, úgy, hogy a koncentráció 10 mg/mL legyen. Az alkálifém sók törzsoldatainak moláris koncentrációi megegyeztek a nátrium-klorid moláris koncentrációjával, ami 5 mg/mL volt. A nátriumion és a többi alkálifém ion koncentrációjának arányát úgy változtattuk, hogy a törzsoldatok különböző térfogatait kevertünk össze, de a hozzáadott sók össztérfogatát állandó értéken tartottuk. Az oldatokat 10:2:1 (v/v) arányban (mátrix/vizsgálandó anyag/kationizáló ágens) kevertük össze. Az oldat 1 μL -ét a mintatartóra cseppentettük, majd hagytuk beszáradni.

IV. Eredmények és értékelésük

IV.1. Ezüst-klaszterek képződése gőzfázisban

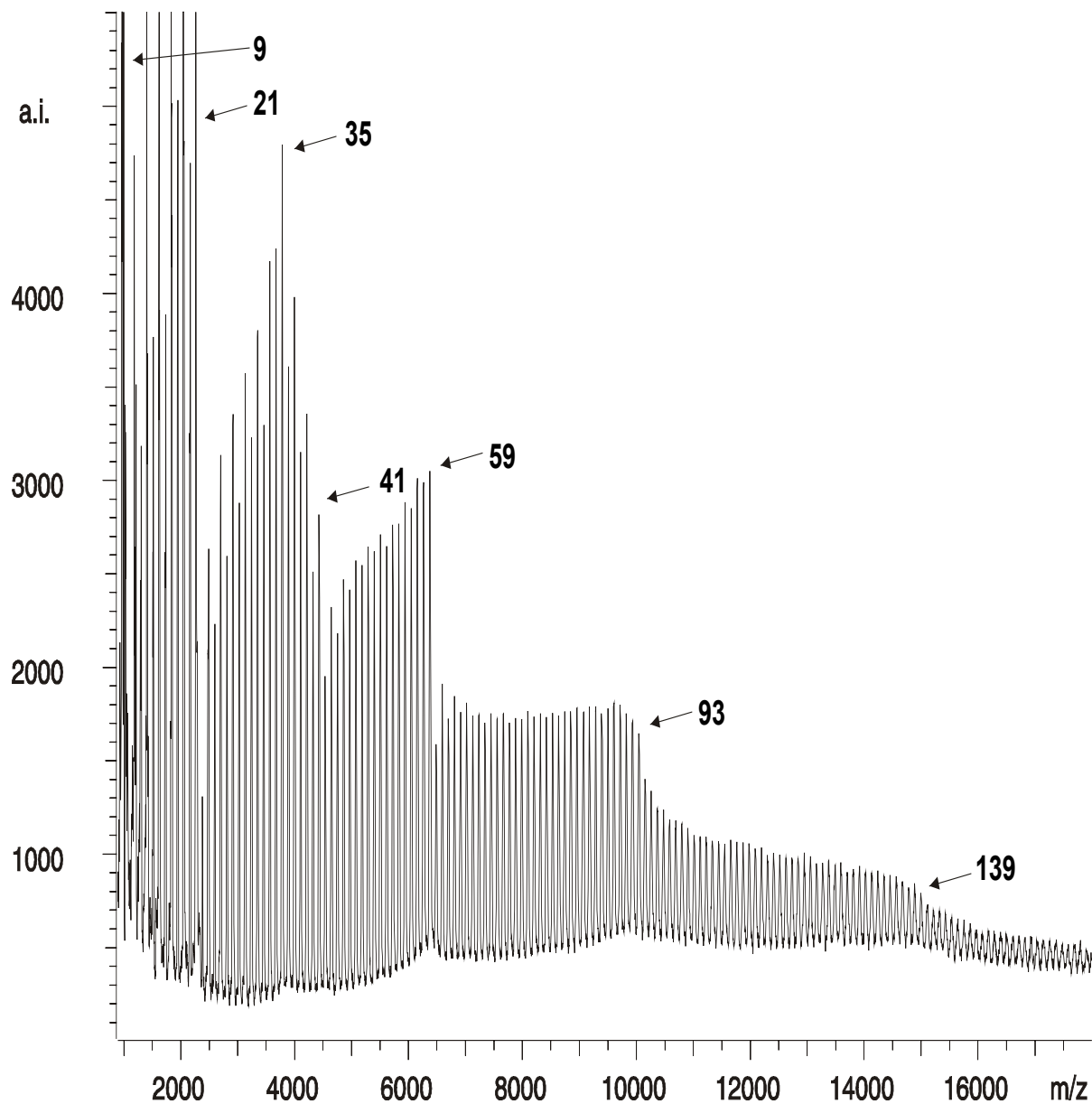
A fém-klaszterek mind elméleti¹⁴³, mind gyakorlati¹⁴⁴. szempontból nagy jelentőséggel bírnak. A gőzfázisú klaszterképződés tömegspektrometriás módszerekkel való tanulmányozása hasznos információkkal szolgálhat a különböző méretű klaszterek stabilitásviszonyairól, valamint azok elektronikus tulajdonságairól. Az elmúlt néhány évben számos módszert dolgoztak ki a fém-klaszterek gőzfázisban történő előállítására, ezen módszerek nagy része hevítés^{145,146}, lézer¹⁴⁷⁻¹⁴⁹, illetve ionütköztetés¹⁵⁰⁻¹⁵³ segítségével párologtatja el a fémeket. Nemrégiben MALDI körülmények között is sikerült ezüst-klasztereket előállítani savas karakterű mátrixok segítségével^{154,155}.

Bennünket, akik elsősorban polimerkémiával foglalkozunk, az vezetett az ezüst-klaszterek vizsgálatához, valamint a mátrix klaszterképződésben betöltött szerepének tanulmányozásához, hogy a klaszterképződést minimalizálva a vizsgált apoláris polimerről minél jobb felbontású MALDI MS spektrumot kapjunk. Az apoláris polimerek (polisztirol⁷⁸, polibutadién¹⁵⁷, poliizobutilén⁸⁹, stb.) vizsgálata során ugyanis gyakran különböző ezüstsókat adunk a mátrix és a vizsgálandó anyag keverékéhez, hogy elősegítsük a polimer kationizációját. Mivel a gőzfázisban bekövetkező kationizációt az ezüst-klaszterek kialakulása erősen befolyásolja így a jelenség számottevő hatással van a kapott MALDI tömegspektrumra. A MALDI kísérleti körülményektől függően előfordulhatnak olyan esetek is, amikor az Ag_n^+ klaszterekhez tartozó jelek erősen zavarják a $(polimer + Ag)^+$ ionok jeleit és így jelentősen megnehezítik a kapott tömegspektrum kiértékelését.

A MALDI ionforrás hatékony eszköz lehet akkor, ha nem minimalizálni akarjuk ezeknek a klasztereknek a képződését, hanem az a célunk, hogy nagy számban Ag_n^+ , és/vagy Ag_n^- klaszterionokat állítsuk elő. Így lehetőségünk nyílna például a klaszterionok és a molekulák közötti reakciók¹⁵⁶ tanulmányozására.

Kísérleteink során a különböző mátrixanyagok hatását vizsgáltuk, figyelembe véve azt, hogy a mátrix anyagának savassága fontos tényező az ezüst-klaszterek kialakulásában. A legintenzívebb klaszterképződést a HABA/AgTFA rendszer

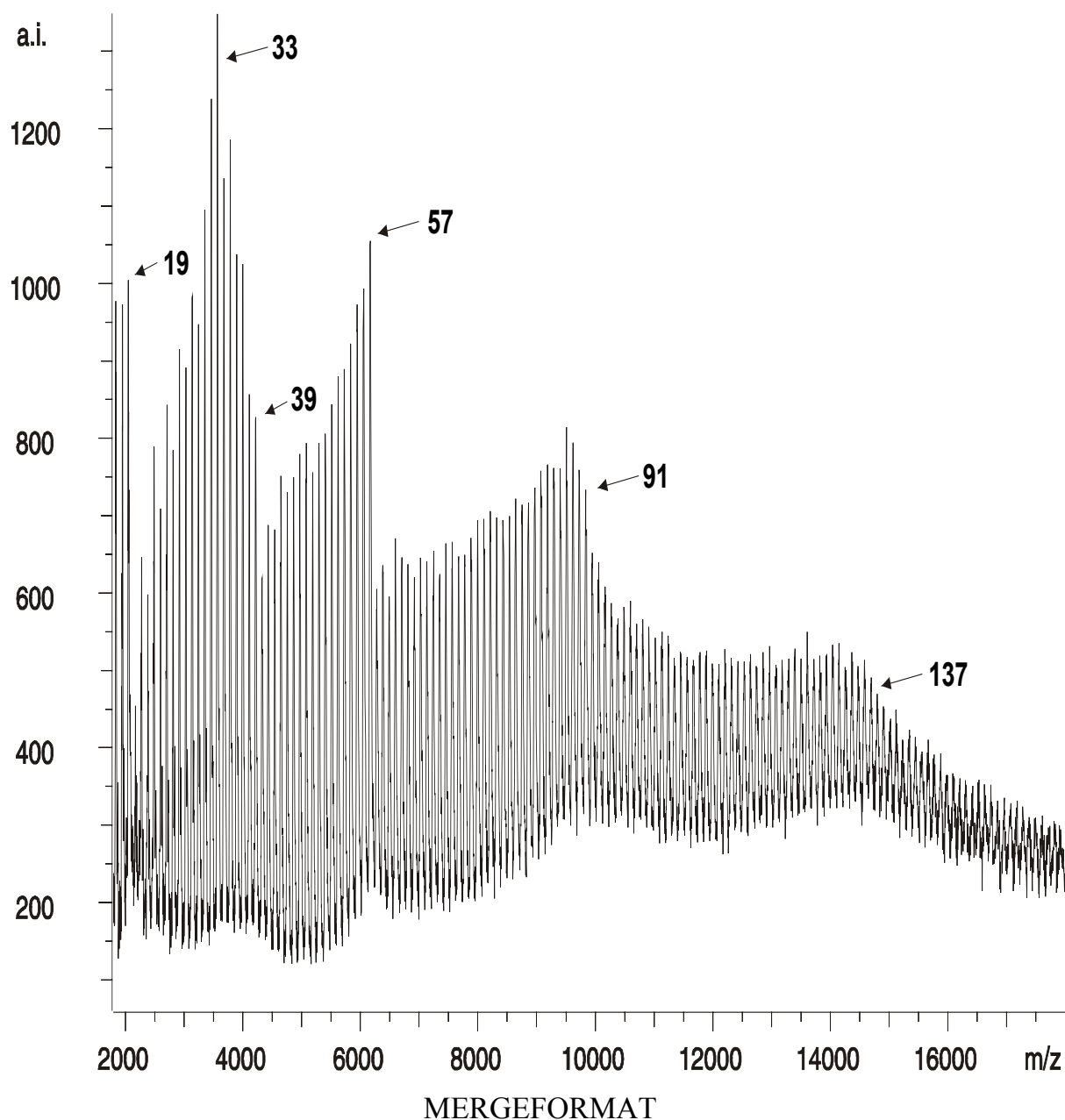
esetében tapasztaltuk, melynek segítségével kitűnő felbontású tömegspektrumot sikerült előállítani mind pozitív, mind negatív reflektoron módban. A **7. ábra** a pozitív töltésű (Ag_n^+) klaszter-ionok MALDI-TOF tömegspektrumát mutatja, míg a **8. ábrán** a negatív töltésű (Ag_n^-) klaszter-ionok MALDI-TOF tömegspektruma látható.



MERGEFORMAT

7. ábra

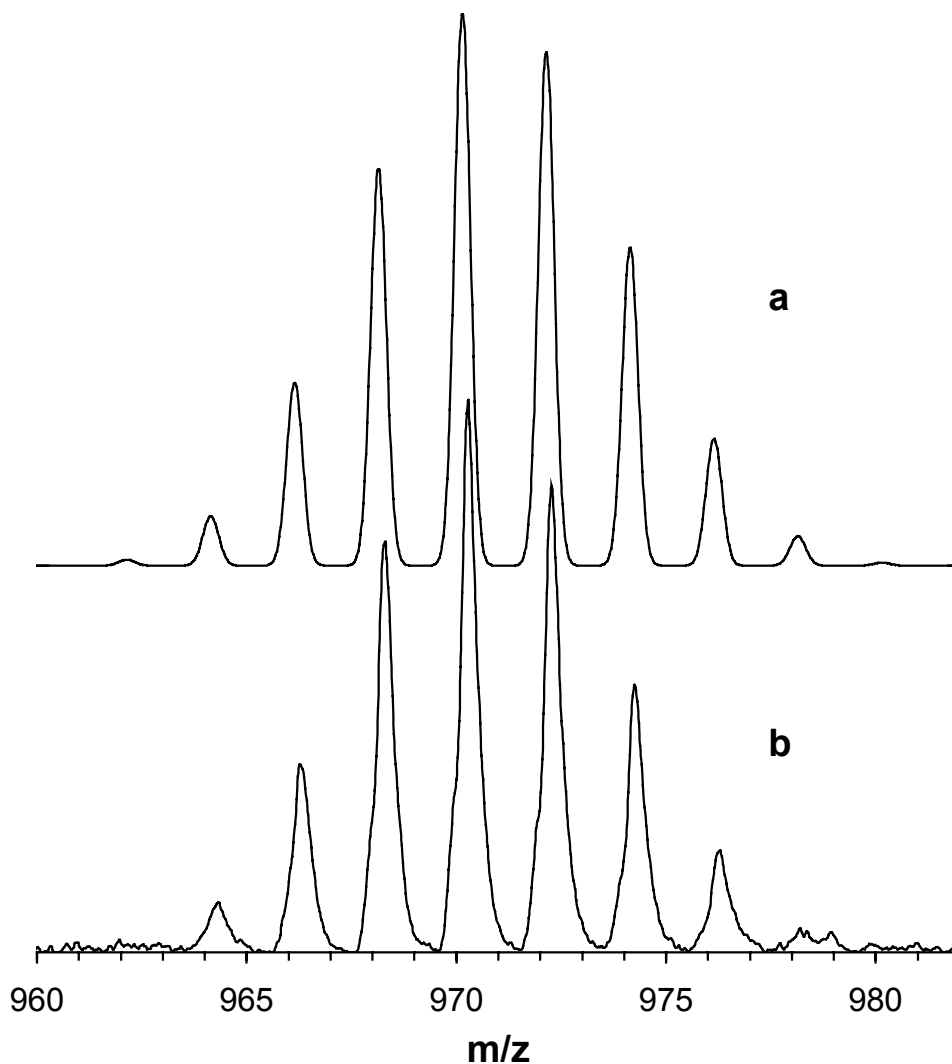
HABA és AgTFA keverékének pozitív reflektoron módban rögzített MALDI-TOF MS spektruma; (HABA (0,08 M) : AgTFA (0,09M) = 5 : 1 (v/v))

**8. ábra**

HABA és AgTFA keverékének negatív reflektoron módban rögzített MALDI-TOF MS spektruma; (HABA (0,08 M) : AgTFA (0,09M) = 5 : 1 (v/v))

A 7. és 8. ábrán látható MALDI-TOF MS spektrumokat úgy vettük fel, hogy a 700 m/z alatti tartományba eső ionokat (mátrix, addukt ionok, kis ezüst-klaszter ionok) eltűkröztük, hogy a detektor telítődését elkerüljük, mivel ebben a tartományban igen nagy számú ion van jelen. A csúcssorozatok egyes tagjai közötti távolság mindkét

ábrán 108 Da, ami megfelel az ezüstatom átlagtömegének. Ezen megfigyelések támasztják alá az Ag_n^+ és Ag_n^- klaszterionok jelenlétét. Bizonyítandó az ezüst-klaszter ionok jelenlétét a mért csúcsok izotópeloszlását összehasonlítottuk az elméletileg ezüst-klaszter ionokra számított izotópeloszlással. A **9. ábra** az Ag_9^+ klaszterion megfigyelt, illetve számított izotópeloszlását mutatja.



9. ábra

Az Ag_9^+ klaszterion számított (a) és mért (b) izotóp eloszlása.

(HABA (0,08 M) : AgTFA (0,09M) = 5 : 1 (v/v))

A **9. ábra** alapján azt mondhatjuk, hogy a kísérletileg kapott és a számított izotópeloszlás között jó az egyezés, amely az ezüst-klaszter ionok jelenlétét bizonyítja.

A 7. és a 8. ábrán feltüntetett tömegspektrumokban két fontos sajátosság figyelhető meg:

–Az ionintenzitás váltakozása a páros és a páratlan klaszternek megfelelő tömegeknél (a páros számú klaszter ionintenzitása kisebb, mint a két szomszédos páratlan számúé).

–Az ionintenzitás jelentős csökkenése bizonyos páratlan számú, „mágikus” klaszterszámoknál. Ezek a „mágikus” számok az Ag_n^+ klaszterionok esetén a következők: $n = 9, 21, 35, 41, 59, 93, 139$, míg az Ag_n^- klaszterionok esetén a „mágikus” klaszterszámok kettővel kisebb értékeknél jelentkeznek: $n = 19, 33, 39, 57, 91, 137$.

Helyi maximumokat figyelhetünk meg az ionintenzitásban: pozitív töltés esetén: $n = 35$ és 59 , negatív töltésnél pedig $n = 33$ és 57 értékeknél. A megfigyelt sajátosságok a „jellium” elmélet segítségével értelmezhetőek. Az elmélet szerint a stabilitást a klaszterben lévő szabad elektronok energiaállapota határozza meg. A páros számú elektront tartalmazó (így páratlan számú pozitív vagy negatív töltésű) klaszter a spin-spin csatolás miatt stabilabb, mint a páratlan számú elektront tartalmazó (lásd előzőekben felsorolt sajátosságok). Ezen kívül a zárt elektronhéjjal rendelkező klaszter stabilabb, ami az $n_s = 2, 8, 20, 34, 58, 90, 138$ db elektront tartalmazó klasztereknél figyelhető meg. A „mágikus” számok (n_m) – vagyis ahol az ionintenzitás jelentősen lecsökken – z töltésű klaszterek esetében a következőképpen fejezhetők ki:

$$n_m = n_s + z \quad (24)$$

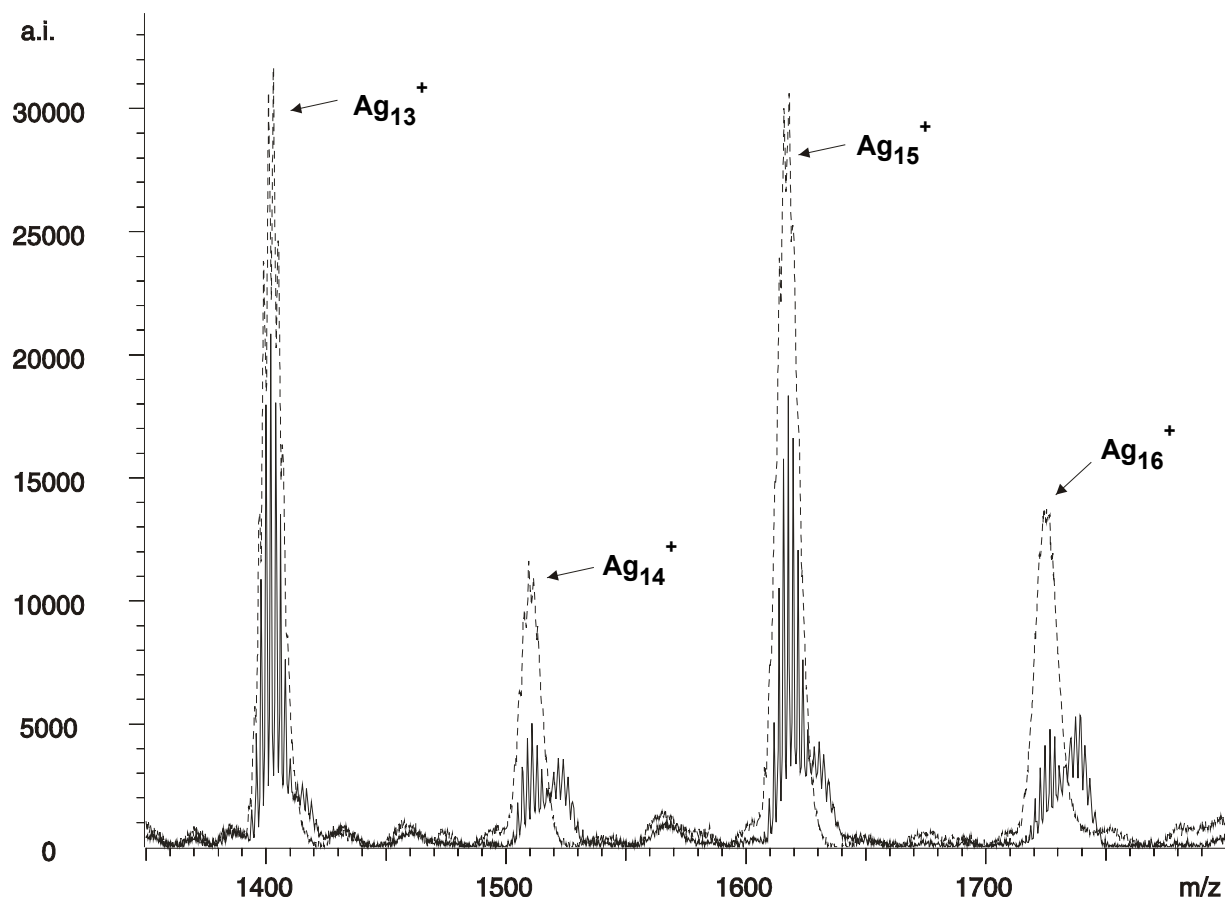
A fenti összefüggés, (24) egyenlet, alapján látható, hogy a +1 és -1 töltésű klaszterek mágikus számai kettővel térnek el egymástól, ami jó egyezést mutat a kísérletileg megállapított „mágikus” számokkal. Mind pozitív, mind negatív módban közel 200 db ezüst atomot tartalmazó klaszterionokat sikerült kimutatni. A következő mágikus számot (pozitív ionok esetén, $n = 199$, negatív ionok esetén $n = 197$) kísérletileg nem tudtuk kimutatni, mert ebben a tartományban a jel/zaj viszony ehhez már nem megfelelő. Másrészt a növekvő klaszterszámmal az intenzitáscsökkenés nagysága csökken, különösen 57 és 59 klaszterszám fölött. Azt is megfigyeltük, hogy a lézerintenzitás

hatással van az ionok képződésének gyakoriságára. Kis lézerintenzitás esetén, adott küszöbérték fölött, nem figyelhető meg jelentősebb ezüst-klaszter képződés. A klaszterionok csupán nagyobb lézerintenzitás alkalmazásakor jelennek meg.

A pozitív, reflektrom módban felvett MALDI-TOF MS spektrumon (**7. ábra**) a fő csúcsoktól 11 Da távolságra még található kisebb intenzitású csúcsok. Annak ellenére, hogy 700-2500 Da tömegtartományban az összes csúcs izotóp felbontása látható, ezeknek a kisebb intenzitással jelentkező csúcsoknak a felbontása igen csekély. Ebből a megfigyelésből arra következtethetünk, hogy ezek a csúcsok a műszer repülési csövében bekövetkező ezüst-klaszter fragmentációból származnak. Ennek a feltételezésnek az alátámasztása érdekében lineáris módban is készítettünk felvételeket. Az egymásra helyezett és kinagyított lineáris és reflektrom módban felvett MALDI-TOF MS spektrumok a **10. ábrán** láthatók.

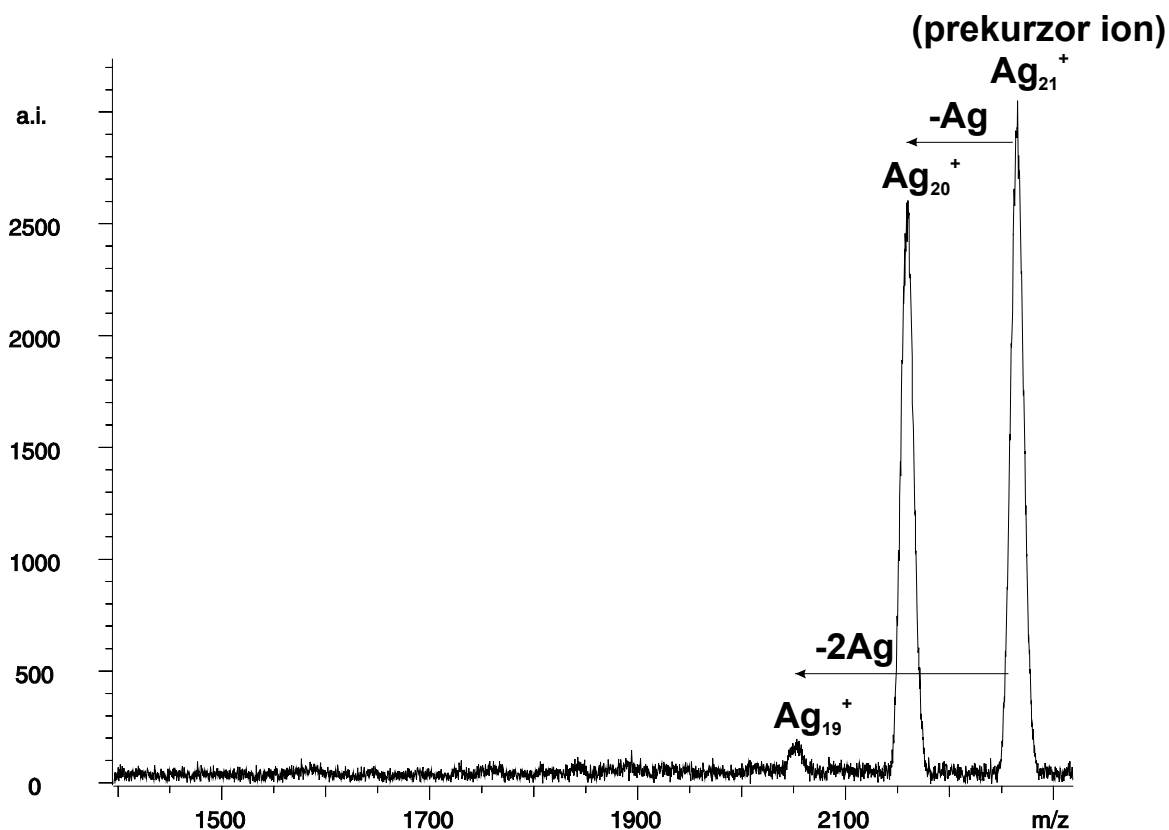
A **10. ábrán** szembevetjük, hogy a kisebb csúcsok a lineáris módban felvett spektrumon eltűntek, ami egyértelműen bizonyítja, hogy ezek azoktól az ezüst-klaszter ionoktól származtak, amelyek a repülési csőben az úgynevezett „post-source decay”, (PSD) következtében fragmentálódtak. Lineáris módban a fragment ionoknak és azok prekursor ionjainak a repülési ideje megegyezik, vagyis így nem lehet különbséget tenni közöttük. Az ezüst-klaszterek fragmentációjának tanulmányozásához kiválaszthatjuk például az Ag_{21}^+ klaszteriont, prekursoraként, az ennek megfelelő PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumot a **11. ábrán** láthatjuk.

Amint az a **11. ábrából** kitűnik az Ag_{21}^+ klaszterionból egy, illetve két Ag atom vesztéssel Ag_{20}^+ , illetve Ag_{19}^+ ionok képződnek. Mind az Ag_n^+ , mind az Ag_n^- klaszterionok fragmentációját megvizsgáltuk a klaszterszám függvényében. Ennek során azt tapasztaltuk, hogy a páros számú klaszterek kizárólag egy ezüst atom, míg a páratlan számúak egy illetve két ezüstatom vesztésével fragmentálódnak. Azt is megfigyeltük, hogy az Ag_{13}^+ és az Ag_{23}^+ klaszterionok esetében a két ezüstatom vesztéssel képződött fragmentionok intenzitása jelentősen megnő. Ez azzal magyarázható, hogy az Ag_{13}^+ és az Ag_{23}^+ fragmentációja úgynevezett “mágikus” klaszterek képződéséhez vezet (Ag_{11}^+ és Ag_{21}^+). A negatív töltésű Ag_n^- klaszterek a pozitív töltésűekhez hasonlóan fragmentálódnak. Ezek a megfigyelések jó egyezést mutatnak a Katakuse és munkatársai¹⁵¹ által végzett ion-ütköztetési kísérletekkel.

**10. ábra**

HABA/AgTFA rendszer pozitív módban(——) és negatív módban(-----) rögzített MALDI-TOF MS spektruma. A kísérleti körülmények megegyeznek a **7. ábrán** feltüntetettekkel

Ahhoz, hogy határozottabb képet kaphassunk a mátrix ezüst-klaszterek képződése során betöltött szerepéről, különböző mátrixokat és mátrix/AgTFA keveréket használtunk a vizsgálatok során. Minden esetben fokozottan törekedtünk arra, hogy azonos kísérleti körülményeket biztosítsunk. Az eredményeket a **2. táblázatban** foglaltuk össze.



11. ábra

Az Ag_{21}^+ klaszterion HABA és AgTFA keverékéből előállított PSD MALDI-TOF MS/MS spektruma. A kísérleti körülmények megegyeznek a 7. ábrán feltüntetettekkel

MERGEFORMAT2. táblázat

Pozitív (+) és negatív (-) reflektoron módban felvett különböző mátrix/AgTFA keverékek MALDI-TOF MS spektrumainak jellemzői

N=nagy, K=közepes, Gy=gyenge jel intenzitás.

Kísérleti körülmények: 5:1 (v/v) mátrix (0.08 M) és AgTFA (0.09 M) oldat keveréke.

A spektrumok felvétele során a lézer intenzitását állandó értéken tartottuk.

Mátrix	Megfigyelhető legnagyobb "mágikus" szám (+/-)	Megfigyelhető legnagyobb páratlan-páros váltakozás (+/-)	Megfigyelhető legnagyobb klaszter szám (+/-)	A klaszterek átlagos jelintenzitása
IAA	93/91	63/25	165/140	N/K

HPA*	93/19	51/7	140/19	K/Gy
DHB	93/57	43/31	140/120	K/K
THAP	59/19	35/13	65/25	Gy/Gy
ANP	41/19	23/11	45/21	Gy/Gy
CHCA	93/91	63/19	140/130	K/K
SA	59/19	57/15	100/30	K/Gy
DIT	59/7	45/11	65/15	Gy/Gy
HAR*	139/91	53/55	165/150	N/K
HABA	139/137	71/61	210/200	N/N

*az adott mátrixra nézve THF-ben telített oldatot használtunk.

Ahogy az a **2. táblázatból** látható a mátrix jelentős hatással van a klaszterképződésre. Mind az Ag_n^+ , mind az Ag_n^- klaszterionok hatékonyan állíthatók elő HABA, HAR, IAA és DHB mátrixok felhasználásával. A várakozásoknak megfelelően a teljes jelintenzitás összhangban van a megfigyelhető legnagyobb mágikus számokkal, valamint a legnagyobb még éppen kimutatható klaszterrel. Akkor, ha egy mátrix esetén jelentős Ag_n^+ klaszterion képződést tapasztaltunk, az Ag_n^- klaszterionok is számottevő mértékben kimutathatók voltak. A HPA esetében annak ellenére, hogy a pozitív töltésű klaszterek jól detektálhatóknak bizonyultak, csupán igen kis mértékben találtunk negatív töltésűeket. Itt meg kell jegyeznünk azt is, hogy a negatív klaszterionok jelintenzitása minden esetben kisebb, mint a pozitív klaszterionok jelintenzitása. A **2. táblázat** adatait vizsgálva általánosságban azt állapíthatjuk meg, hogy azon mátrixok esetén, melyek karboxil csoportot tartalmaznak (pl. HABA, DHB, IAA, CHCA) a klaszterionokhoz tartozó jelek intenzitása a spektrumban jelentős. A fenolos hidroxil csoportot tartalmazó mátrixok (DIT, THAP) esetén, vagy azoknál, amelyeknél az előbb említett funkciós csoportok egyike sem található meg (ANP) a klaszterionok igen gyenge jelintenzitásúak. A fenti megfigyelés alól csupán a HAR a kivétel, ennek a magyarázatáról a későbbiekben lesz szó.

Megfigyeléseink alapján javaslatokat tehetünk a klaszterképződés mechanizmusára. Mátrix hiányában, vagyis ha csak $AgTFA$ van jelen, nem tudunk

jelentősebb mennyiségű klaszteriont előállítani és csupán kisebb klaszterszámú ($n = 9-13$) ionok jelenlétét figyelhetjük meg. A nagyobb klaszterek képződése mátrix hozzáadásának hatására fokozódik. Amennyiben a mátrix/AgTFA arány 50/1, vagy 1/50 volt csupán kis mértékű klaszterképződést tapasztaltunk. Nem találtunk különbséget továbbá azokban a MALDI-TOF MS spektrumokban sem, amelyek felvétele a mátrix és az ezüstsó összekeverése után azonnal, illetve bizonyos meghatározott idő elteltével történt. Azokról a szilárd keverékekről, melyeket a mátrix és az ezüstsó THF-ban oldott keverékének beszárításával nyertünk FT-IR felvételeket készítettünk. A spektrumokban sem új csúcs megjelenését, sem pedig csúcscsúcsotólódást nem figyeltünk meg (a mátrix, valamint az AgTFA spektrumaihoz képest), amiből arra következtethettünk, hogy szilárdfázisban nincs kölcsönhatás a mátrix és az AgTFA között. Ez azt mutatja, hogy az ezüst-klaszter ionok legvalószínűbb képződési helye a gőzfázis. Nyilvánvaló az is, hogy gőzfázisban kell végbemennie az Ag^+ ezüstatom mátrix redukciónak is. A következőkben vizsgáljuk meg az ezüstion gőzfázisú redukciójának lehetőségét termodinamikai szempontból. Az egyik lehetséges reakció, ha az ezüstion a semleges mátrix molekulával (M) reagál:



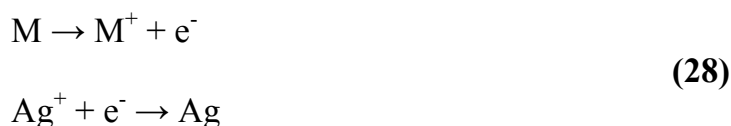
A fenti reakció szabadenergiája (ΔG) a következőképpen adható meg:

$$\Delta G = IP(M) - IP(\text{Ag}) \quad (26)$$

ahol $IP(M)$ a mátrix, míg $IP(\text{Ag})$ az ezüst ionizációs potenciálja. A leggyakrabban alkalmazott poláris szerves mátrixok ionizációs potenciáljai 8-9 eV¹⁵⁷ között változnak, az ezüstre ez az érték 7,6 eV¹⁵⁸, következésképpen a (25) reakció endoterm, és $\Delta G \cong 0,4-1,4$ eV. A (25) reakció lejátszódására azonban mégis van lehetőség a gőzfázisú expanzió korai szakaszában bekövetkező, nagy energiájú (~1,5 eV^{159,160}) ütközések miatt. A másik lehetőség töltésátvitel a gerjesztett mátrix molekula (M^*) és az ezüstionok között:



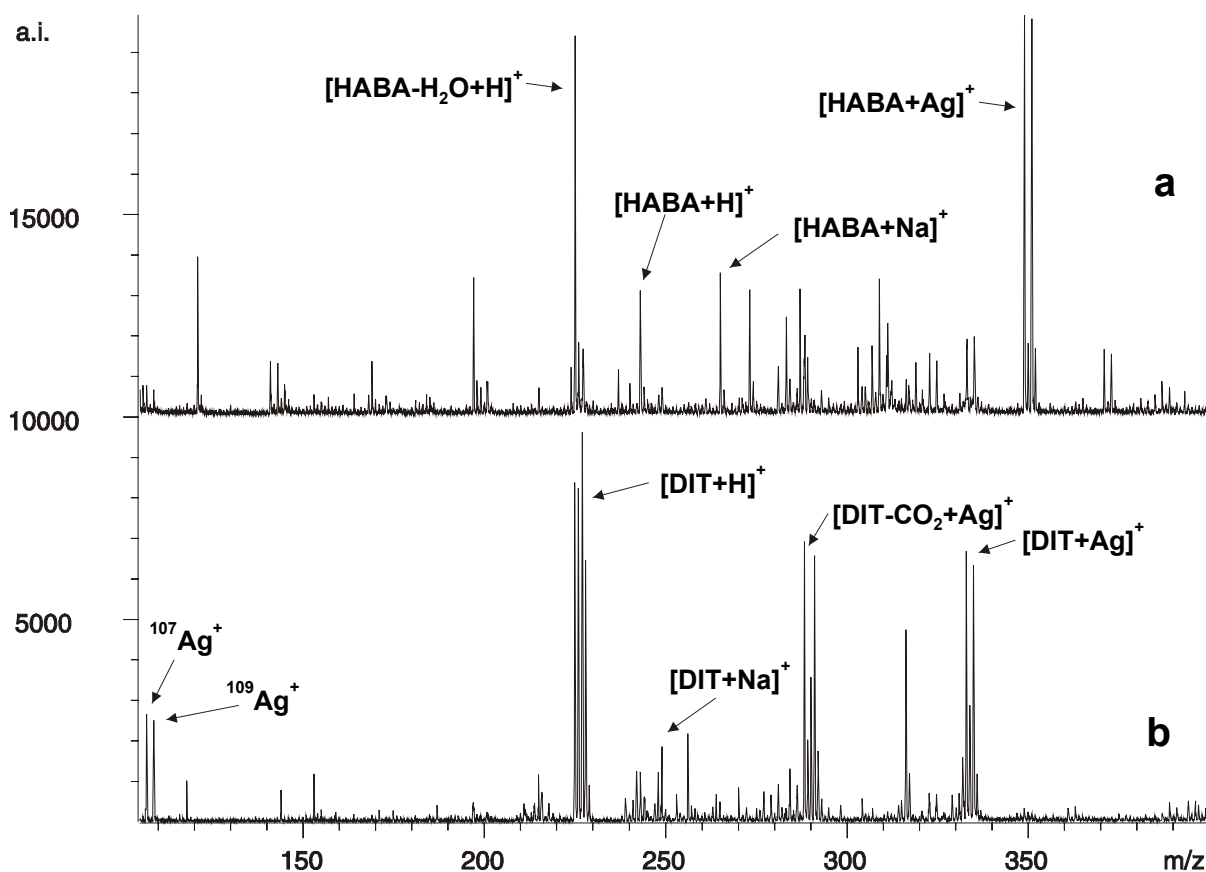
A mátrix molekulák abszorbeálják a 337 nm-es (3,68 eV) kvantumot és mivel a sűrű gőzfázisban jelentős az ütközések száma, a gerjesztett mátrix molekuláknak lehetősége van redukálni az ezüstionokat. A harmadik lehetőség a mátrix fotoionizációja két kvantum (2 x 3,68 eV) abszorpciója révén:



A mátrix fotoionizációjának következtében szabad elektronok képződnek, melyeket az ezüstionok befognak. Ennek a (28) reakciónak a lehetősége azonban igen csekély, mivel mind a fotoionizációnak, mind az elektron befogásnak kicsi a hatékonysága. Tapasztalataink szerint a gerjesztett mátrix molekulák száma növekszik a növekvő lézer intenzitással. Kis lézer intenzitásoknál nem tapasztaltunk jelentős klaszter képződést. Ez az összefüggés azt támasztja alá, hogy MALDI körülmények között a (27) reakció lejátszódásának van a legnagyobb valószínűsége. A **12. ábrán** a HABA/AgTFA és a DIT/AgTFA rendszer kis lézer intenzitásnál felvett MALDI-TOF MS spektruma látható.

Ahogy az a **12. ábrán** látható a mátrix (M) protonnal és nátriummal képzett addukt ionja ($[M+H]^+$, $[M+Na]^+$) és némi fragmention mellett az $[M+Ag]^+$ addukt ionokhoz tartozó csúcsok is megfigyelhetők. Másrésztől a szabad $^{107}Ag^+$, $^{109}Ag^+$ izotópokhoz tartozó csúcsok is megjelennek a spektrumokon. A HABA (a) esetén ezek a csúcsok kis intenzitásúak a DIT (b) szabad ezüst izotóp csúcsaihoz képest. Az $[M+Ag]^+$ addukt ionok képződését mind a tíz általunk vizsgált mátrix esetén ki tudtuk mutatni. Kis lézerintenzitásoknál a szabad ezüsthöz tartozó csúcsok igen csekély mértékben jelentkeztek. Bizonyos mátrixok esetén (HABA, HAR és IAA, amelyekkel a legjobb klaszterképződést tudjuk elérni nagy lézer intenzitásoknál) egyáltalán nem voltak kimutathatóak a szabad ezüsthöz tartozó csúcsok. Ezek a megfigyelések azt mutatják, hogy HABA, HAR, illetve IAA mátrixok és az ezüstionok között kialakuló kölcsönhatás igen erős. Ebből arra is következtethetünk, hogy az ezüst ionok gőzfázisú redukciója ezeken az $[M+Ag]^+$ adduktokon keresztül játszódik le. A HABA mellett tehát a HAR is hatékony mátrix az ezüstklaszterek előállítására. A HAR/AgTFA

rendszer MALDI-TOF MS spektrum alacsony tömegtartományának vizsgálatakor kiderült, hogy jelentős az ezüst mátrixszal képzett adduktjának mennyisége. A negatív töltésű ezüst-klaszter ionok képződése nagy valószínűséggel a (27) reakció segítségével magyarázható. Tehát az ezüstatomok, vagy a semleges ezüst-klaszterek, a gerjesztett mátrix molekulákkal való reakció során juthatnak elektronhoz. A gőzfázisban jelentős mennyiségben jelenlévő Ag^+ és $[\text{M}+\text{Ag}]^+$ ionok miatt a pozitív klaszterionok esetén nagyobb jelintenzitás várható, mint a negatív klaszterionok esetén. Tapasztalataink igazolták ezt, minden esetben nagyobb volt a jelintenzitás a pozitív, mint a negatív klaszterek képződésénél.



12. ábra

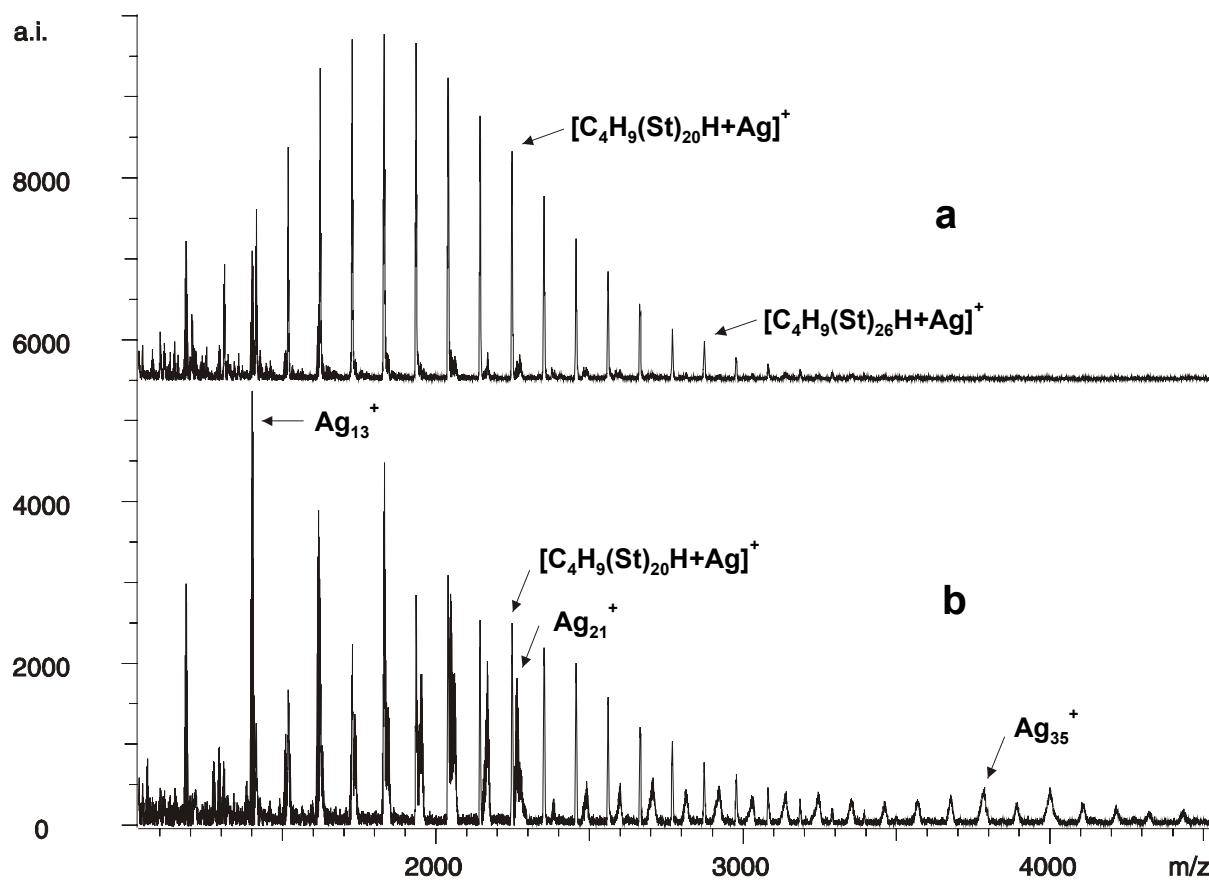
A HABA/AgTFA (a) és a DIT/AgTFA (b) keverékének kis lézer intenzitásnál felvett MALDI-TOF MS spektruma. A kísérleti körülmények megegyeznek a 7. ábrán feltüntetettekkel.

Amint már az előzőekben is említettük fő célunk volt, hogy tökéletesíteni tudjuk az apoláris szintetikus polimerekről készíthető MALDI-TOF MS spektrumokat azáltal, hogy alaposabban megismerjük a klaszterképződést befolyásoló tényezőket. A következőkben a ezüst-klaszter ionok képződésének és a polisztirol(PS)+Ag⁺ addukcionok képződésének egymásra gyakorolt hatásáról lesz szó. A **13. ábra** mutatja a PS/AgTFA (a) és a PS/AgTFA/HABA (b) rendszerek lézereszorpciós tömegspektrumát (LDI-TOF MS).

A **13.a ábrán** látható, hogy mátrix hiányában a PS ezüsttel képzett adduktjainak csúcsa jelentkezik $[C_4H_9(St)_nH+Ag]^+$, de az is látható, hogy e mellett a nagyobb tagszámú ezüst-klaszter ionok nem képződnek. Ha a PS/AgTFA keverékéhez kis mennyiségű HABA mátrixot adunk (jóval kisebb mennyiséget, mint ami a MALDI körülmények biztosításához szükséges lenne) ezüst-klaszter ionok jelennek meg a spektrumban (**13.b ábra**). Azt mondhatjuk tehát, hogy a mátrix növeli az ezüstionok redukciójának valószínűségét. Látható, hogy a klaszterek csúcsai jelentősen átfednek a $[PS+Ag]^+$ addukcionok csúcsaival, ami nagymértékben megnehezítheti a spektrum kiértékelését. A **7.a** és **7.b** spektrumokat azonos kísérleti körülmények között vettük fel és mindkét esetben megegyező számú spektrumot összegeztünk. A kísérlet során a spektrumokat felvétele a minta különböző részleteiről történt, azért, hogy minimalizáljuk a minta inhomogenitása miatt bekövetkező hiba valószínűségét is.

Megfigyeltük továbbá azt is, hogy a PS jelintenzitások körülbelül egyharmadával csökkentek mátrix hozzáadásának hatására. Ez a megfigyelés a következőképpen magyarázható: a mátrix okozta redukció miatt a PS kationizációjához rendelkezésre álló Ag⁺ koncentrációja csökken, amely a $[PS+Ag]^+$ addukt ionok koncentrációjának csökkenését okozza, vagyis a $[PS+Ag]^+$ csúcsok jeleinek intenzitása is csökken. Meg kell jegyeznünk, hogy a hozzáadott mátrix mennyisége nagyon csekély, azaz a mátrix nem képes hatékonyan elősegíteni a PS deszorpcióját. Ez a megfigyelés jó összhangban van a már mások által is leírtakkal, miszerint apoláris polimerek esetén az ezüstsók a legkevésbé hatékony ionizáló ágensek, ha DHB, vagy HABA az alkalmazott mátrix¹⁵⁵. Ezek alapján azt mondhatjuk, hogy a mátrixnak két alapvető szerepe lehet a klaszterképződésben. Egyrészt képes MALDI körülmények között redukálni az ezüstionokat, másrészt „vivőgáz”-ként

viselkedhet a gőzfázis expanziójának első szakaszában, ezáltal elősegítheti a klaszterek növekedését.



13. ábra

A PS/AgTFA (a) és a PS/AgTFA/HABA (b) keverékek LDI-TOF MS spektruma.

Kísérleti körülmények:(a) PS (0,01M) és AgTFA (0,09M) oldatának

5:1 (v/v) arányú keveréke.

(b) PS (0,01M), AgTFA (0,09M) és HABA (0,08M) oldatának

10:2:1 (v/v) arányú keveréke

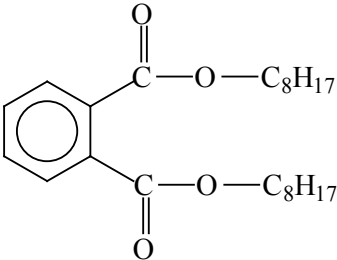
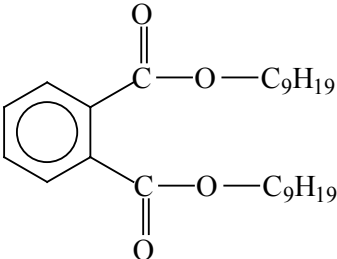
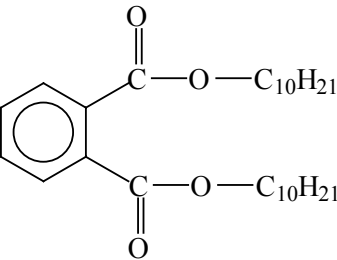
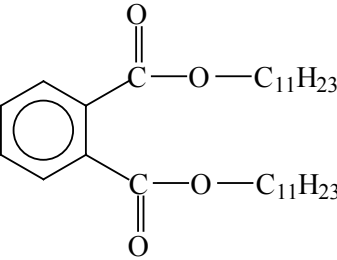
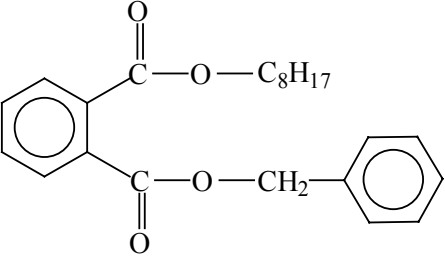
IV.2. Kis molekulatömegű vegyületek fragmentációjának vizsgálata

A MALDI-TOF MS módszert úgy tekintik, mint egy nagyon érzékeny és hatékony módszer a nagy molekulatömegű, nem illékony anyagok vizsgálatára. Ez a nagy molekulatömeg akár egy millió dalton is lehet. Bár a módszert valóban ilyen céllal fejlesztették ki, megfelelő mintapreparációval lehetőségünk van kis molekulatömegű anyagok fragmentációs viselkedésének tanulmányozására is. Így a PSD módszerrel kiegészített MALDI technika a kis molekulatömeg tartományban szerkezetfelderítésre is kitűnően alkalmazható^{81,161,162}. Ebben a tartományban a vizsgálatot azonban számos olyan plusz csúcs nehezíti, melyek nagyobb tömegtartományban mérve természetesen nem is jelentkeznek; így ezen spektrumok értelmezése nagyobb körültekintést igényel. Ezek a megjelenő „zavaró” csúcsok például a következőkből származhatnak: mátrix, különböző fragmentumok, illetve klaszterek. A kis molekulatömegű vegyületek fragmentációját egy gyakorlati szempontból is fontos, példán szemléltetjük: a PVC lágyítók fragmentációjának vizsgálatán. Előzetesen azonban meg kell említenünk néhány analitikai szempontból fontos tényezőt. Tudnunk kell, hogy a vizsgálni kívánt anyagok a különböző kationokkal milyen mértékben ionizálhatók, illetve hogy az így képződött addukt ionoknak milyen a fragmentációs hajlama. Továbbá meg kell jegyeznünk azt az általános szabályt, miszerint MALDI körülmények között az oxigént tartalmazó vegyületek (hidroxil-, éter-, karboxil-, észter-csoportok, stb.) nagy valószínűséggel alkálifém ionokkal (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) képeznek detektálható molekulaionokat.

A lágyítók tulajdonképpen olyan kis molekulatömegű anyagok, melyeket a polimerekhez keverve javítható a mechanikai tulajdonság, feldolgozhatóság. A következőkben elsősorban az egyik széleskörűen alkalmazott lágyító csoport, a ftálsav-észter alapú lágyítók MALDI-TOF MS és PSD MALDI-TOF MS/MS vizsgálatáról lesz szó. Az ilyen típusú lágyítókat például a PVC, polisztirol, poliamid^{163,164} és poliészterek előállítására is használják. A lágyítók gyors meghatározása környezetvédelmi és egészségügyi okokból is fontos. Az általunk vizsgált lágyítók jelölése és szerkezeti képlete a **3. táblázatban** látható.

3. táblázat

A vizsgált lágyítók jelölése, kémiai neve és szerkezeti képlete

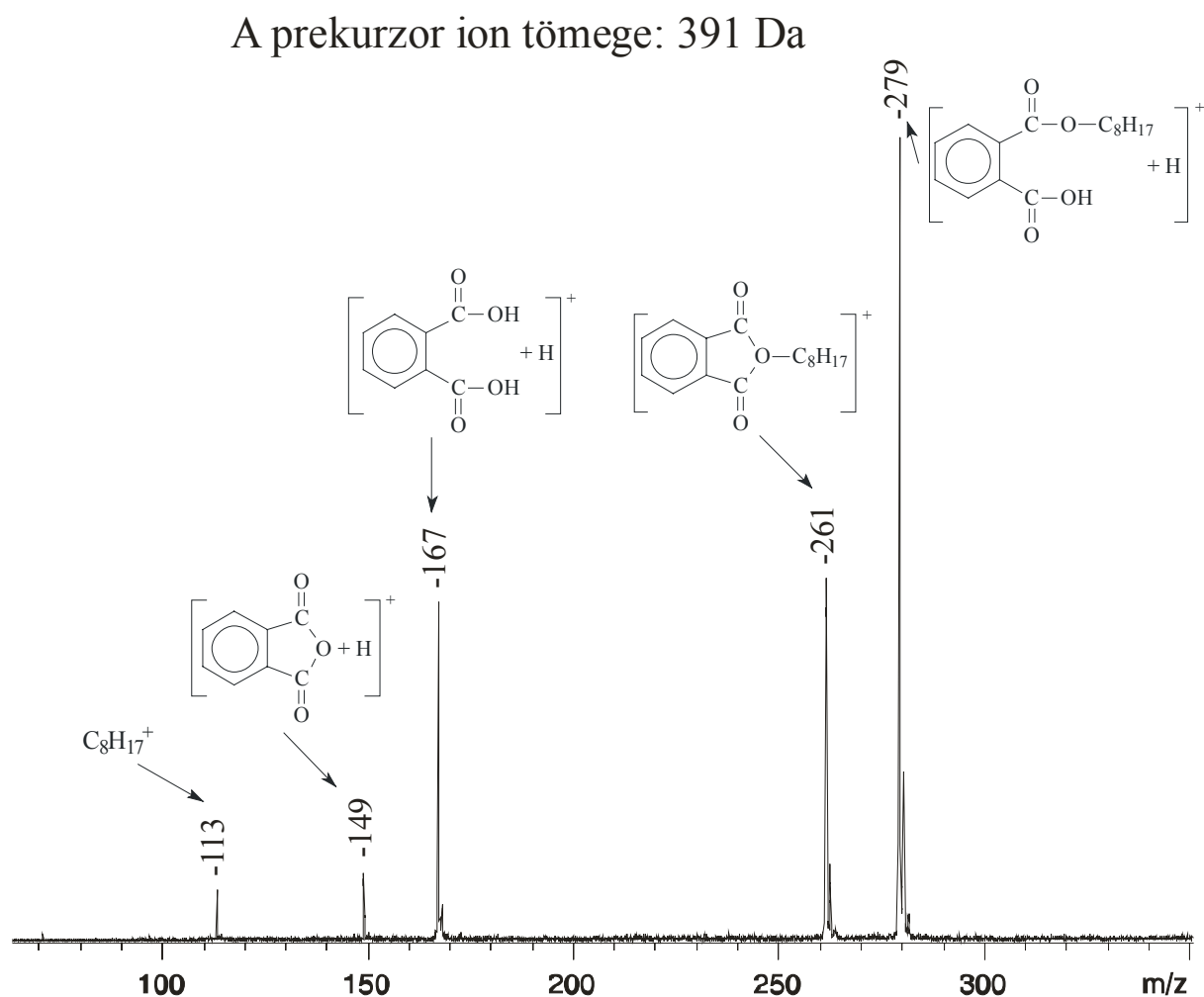
<i>Jelölés</i>	<i>Kémiai név</i>	<i>Szerkezeti képlet</i>
DOP	Dioktil-ftalát	
DINP	Diizononil-ftalát	
DIDP	Diizodecil-ftalát	
DUP	Diundecil-ftalát	
OBP	Oktil-benzil-ftalát	

TOTM	Trioktil-trimellitát	
DOA	Dioktil-adipát	

A ftálsav-észterek (DOP, DINP, DIDP, és DUP) MALDI-TOF MS spektrumában megtalálhatók a protonnal, nátriummal és káliummal képzett addukt ionokhoz tartozó jelek, ezt a **14. ábra** mutatja. A lágyítók fragmentációs vizsgálatának első lépéseként a PSD mérésekhez a protonált csúcsokat választottuk ki. A DOP protonált formájának PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumát, valamint a képződött fragmentum ionokra jellemző jeleket a **14. ábrán** vehetjük szemügyre.

A **14. ábrán** látható PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumon jól látható a $C_8H_{17}^+$ ($m/z = 113$) karbokation jelenléte. A 279 m/z értékeknél jelentkező fragmentation a C_8H_{16} egység prekursor ionból történő eliminációjával magyarázható. A 261 m/z értéknél jelentkező csúcs egy $C_8H_{17}OH$ egység eliminációjával értelmezhető. A 167 m/z értékhez tartozó csúcs a ftálsav protonált formájának feleltethető meg, ami a prekursor ionból képződik C_8H_{16} veszteséssel. A 149 m/z a ftálsavanhidrid protonált formájához rendelhető. Hasonló PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumokat kaptunk a DINP, DIDP és a DUP esetében is. A megfelelő fragmention tömege növekszik az alkilánc hosszának növekedésével, a DINP < DIDP < DUP sorrendnek megfelelően, és így csupán 14 Da tömeggel különbözve egymástól. Azaz a homológornak megfelelően jelentkeznek a csúcsok. A ftálsav protonált formájához tartozó csúcs (167 m/z) a DOP, DINP és DIDP lágyítók esetén megtalálható volt a spektrumban, a DUP esetén azonban hiányzott. A 149 m/z értéknél jelentkező és a ftálsavanhidrid protonált formájaként azonosított csúcs azonban minden esetben egyértelműen meghatározható volt. Ezért ezt a csúcsot a ftalát-észterekre jellemző csúcsnak tekintjük. Ugyanakkor a DINP, DIDP és DUP esetén egy kis intenzitású csúcssorozatra bukkantunk 99, 85, 71

és 57 m/z értékeknél, ami az alkilánc kismértékű fokozatos fragmentációjával értelmezhető.



14. ábra

A protonált DOP PSD MALDI-TOF MS/MS spektruma

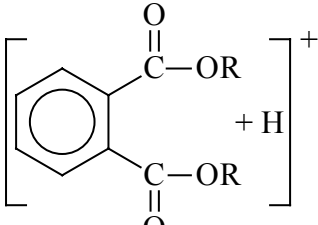
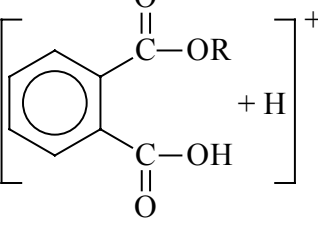
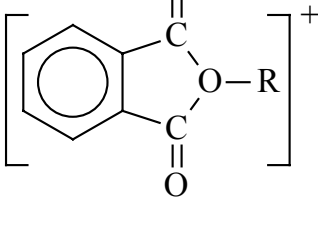
($[DOP+H]^+ = 391$ Da.)

A protonált DOP, DINP, DIDP és DUP lágyítók fragment ionjainak típusait, valamint a megfigyelt és a számított tömegek értékeit a **4. táblázatban** foglaltuk össze. A 167 és 149 m/z értékeknél jelentkező csúcsokat a **4. táblázat** nem tartalmazza.

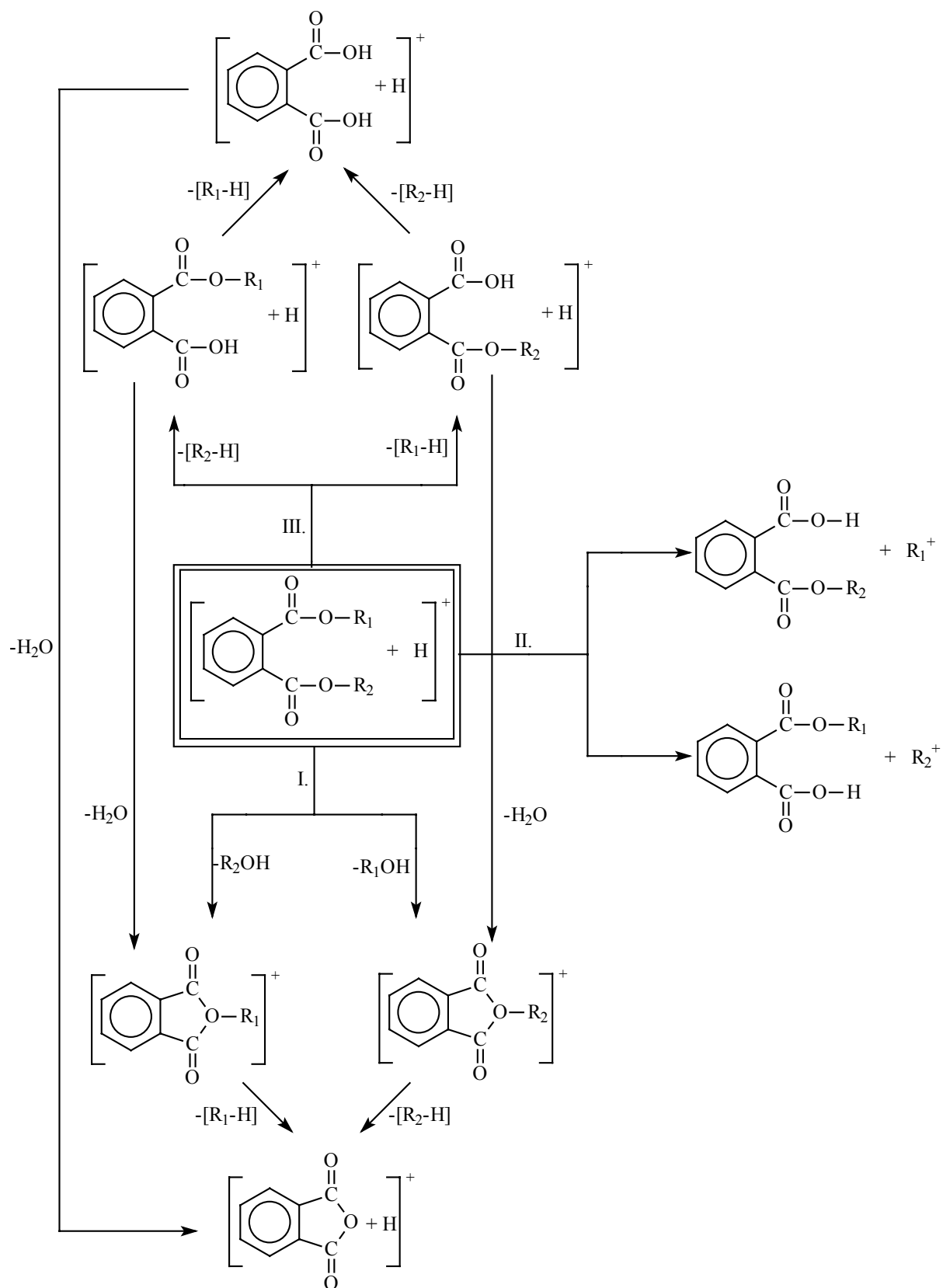
4. táblázat

A DOP, DIDP, DINP és DUP ftálsav-észterekből képződött
Prekursor- és fragmentionok mért és számított tömegei

A prekursor ionok és a fragment ionok tömegei (Da)
(mért tömeg/számított tömeg)

A fragment ion típusa	<i>DOP</i> ($R=-C_8H_{17}$)	<i>DINP</i> ($-C_9H_{19}$)	<i>DIDP</i> ($-C_{10}H_{21}$)	<i>DUP</i> ($-C_{11}H_{23}$)
	391,1/391,3	419,1/419,3	447,1/447,3	475,1/475,4
	279,3/279,2	293,6/293,2	307,6/307,2	321,5/321,2
	261,5/261,1	275,7/275,2	289,7/289,2	303,3/303,2
R^+	113,2/113,1	127,3/127,1	141,2/141,2	155,2/155,2

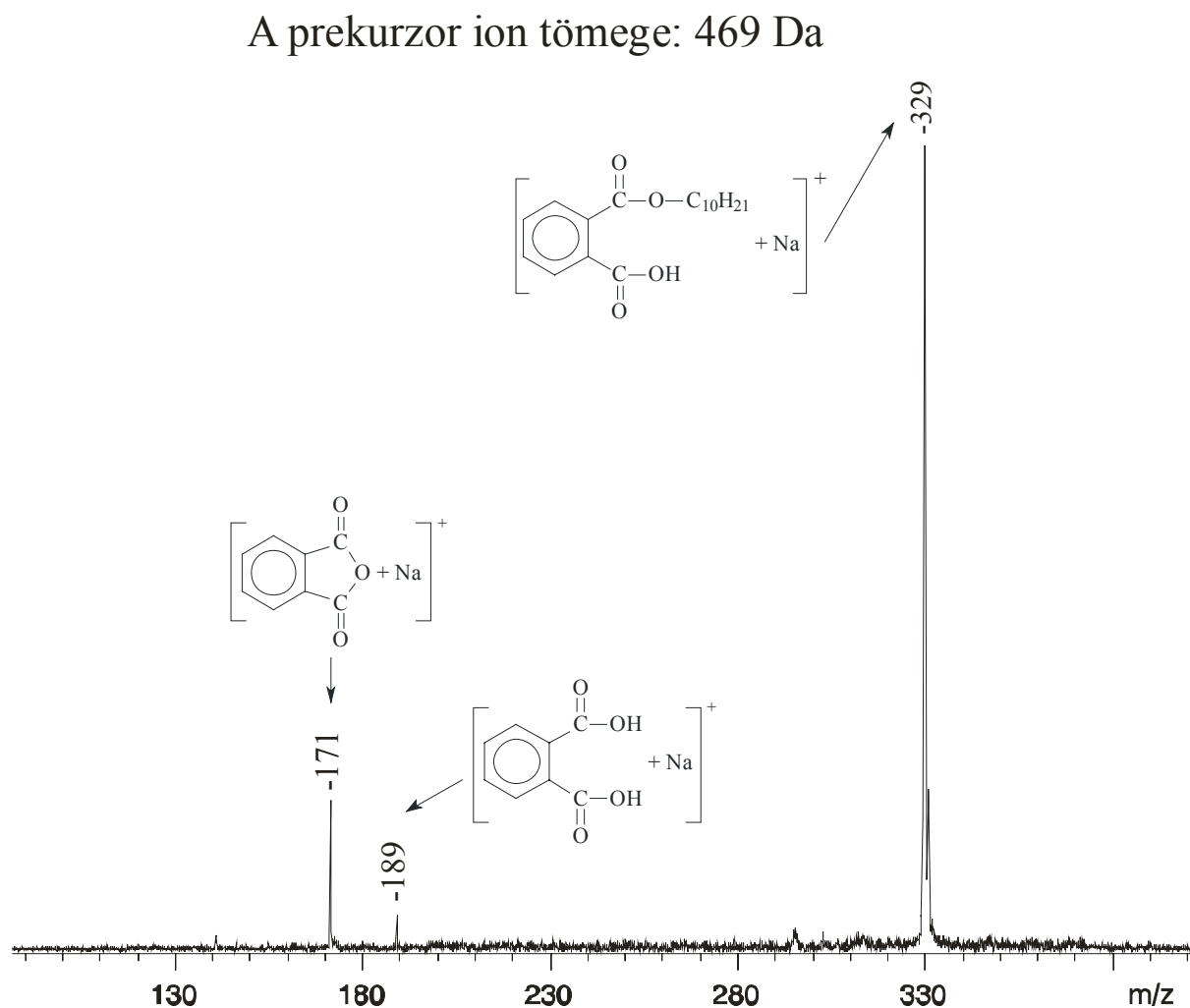
A vizsgálataink alapján az R_1 és R_2 (ahol R_1 és R_2 alkilcsoportok) csoportokat tartalmazó ftálsav-észterek protonált formájára a **15. ábrán** látható fragmentációs mechanizmust javasoljuk. Az ábrán az $[R_1-H]$ és $[R_2-H]$ a megfelelő alként jelöli, ami az R_1 és R_2 csoportokból egy hidrogén atom eltávolításával képződik.



15. ábra

A protonált, ftalát-típusú lágyítók javasolt fragmentációs mechanizmusa

A karbonil szénatom és az oxigén közötti kötés hasadása révén karbokation keletkezik a megfelelő alkohol kilépése közben (I. reakció út). Az O-R₁ és az O-R₂ kötések hasadásakor karbonsav és a megfelelő karbokation keletkezik (II. reakció út). Ebben az esetben a töltés az alkiláncon lokalizálódik. Lehetősége van továbbá a protonált ftalát-észternek az alkénvesztésre is (III. reakció út). Ez utóbbi esetben a karbonsav (ftálsav) protonált formája keletkezik. Az alkének kialakulása az R₁ és R₂ csoportokról az oxigénre történő hidrogén transzfer lévén következik be. Ezen kívül vizsgáltuk a ftalát-típusú lágyítók nátriumionnal képzett adduktjainak a fragmentációs mechanizmusát is. A DIDP Na⁺ ionnal képzett adduktjának PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumát és a keletkezett fragmentumokat a **16. ábrán** láthatjuk.



16. ábra

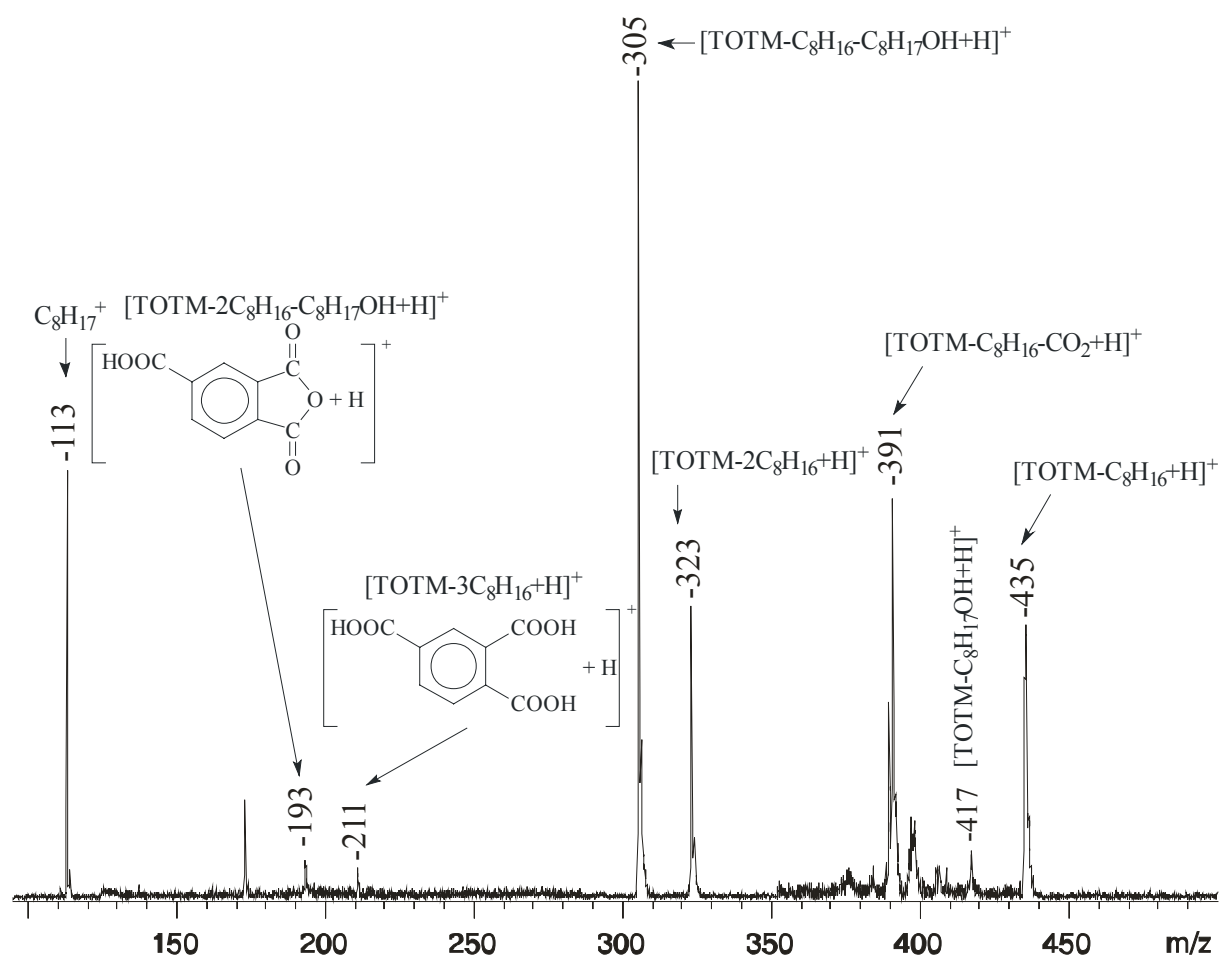
A [DIDP+Na]⁺ PSD MALDI-TOF MS/MS spektruma

([DIDP+Na]⁺ = 469 Da)

Ahogy az a **16. ábrából** látszik a Na^+ ionnal képzett addukt sokkal kisebb mértékben fragmentálódik, mint a protonált forma. Vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy minden ftalát-észter esetén csupán három fragmentont sikerült detektálni. A nátriumionnal képzett addukt fragmentációjára a **18. ábrán** látható mechanizmust javasolhatjuk. Képződésük az alkillánc fokozatos vesztésével magyarázható.

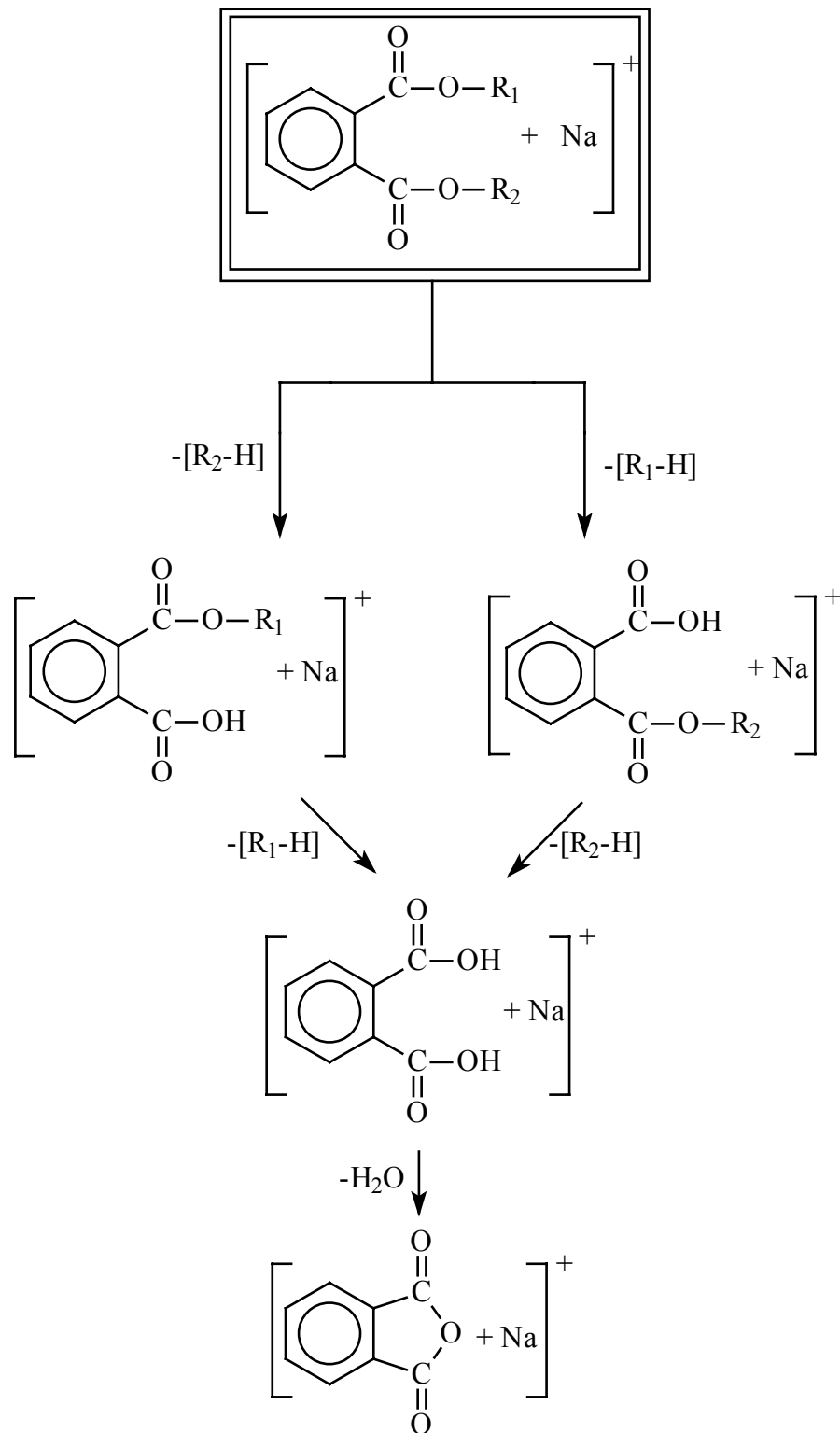
A **18. ábrán** látható mechanizmus reakciói analógiát mutatnak a **15. ábrán** látható, protonált formákra felírt mechanizmus I. és II. reakció útjával. Ezek a reakcióutak a gőzfázisban képződő karboxilát- és alkoxid-típusú sók jelenléte miatt kedvezményezettebbek. Másrésről a fragmentációs mechanizmusban fellelhető különbségek a proton és a nátriumion eltérő viselkedéséből is adódnak.

A prekursor ion tömege: 547 Da



17. ábra

A protonnal kationizált TOTM PSD MALDI-TOF MS/MS spektruma
 $([\text{TOTM}+\text{H}]^+ = 547 \text{ Da})$



18. ábra

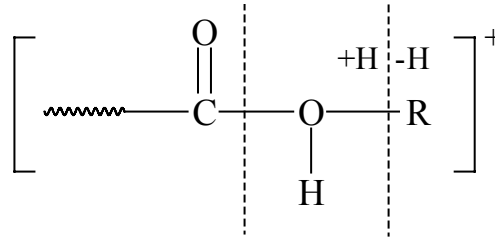
A ftalát-típusú lágyítók nátrium ionnal képzett adduktjának javasolt fragmentációs mechanizmusa

Amíg a proton többnyire töltéslokalizált fragmentációt vált ki, addig a nátrium ion csupán mint „szemlélő” (spectator) vesz részt a fragmentációs folyamatban¹⁶⁵.

Megvizsgáltuk a tri-oktil-trimellitát (TOTM) és a di-oktil-adipát (DOA) protonnal és nátrium ionnal képzett adduktjainak fragmentációs viselkedését is. A TOTM és a DOA szintén gyakran alkalmazott lágyítók a műanyagiparban, habár felhasználásuk nem olyan gyakori, mint a ftálsav-észtereké. A TOTM H⁺ ionnal képzett adduktjának PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumát és a keletkezett fragmentumokat a **17. ábrán** láthatjuk.

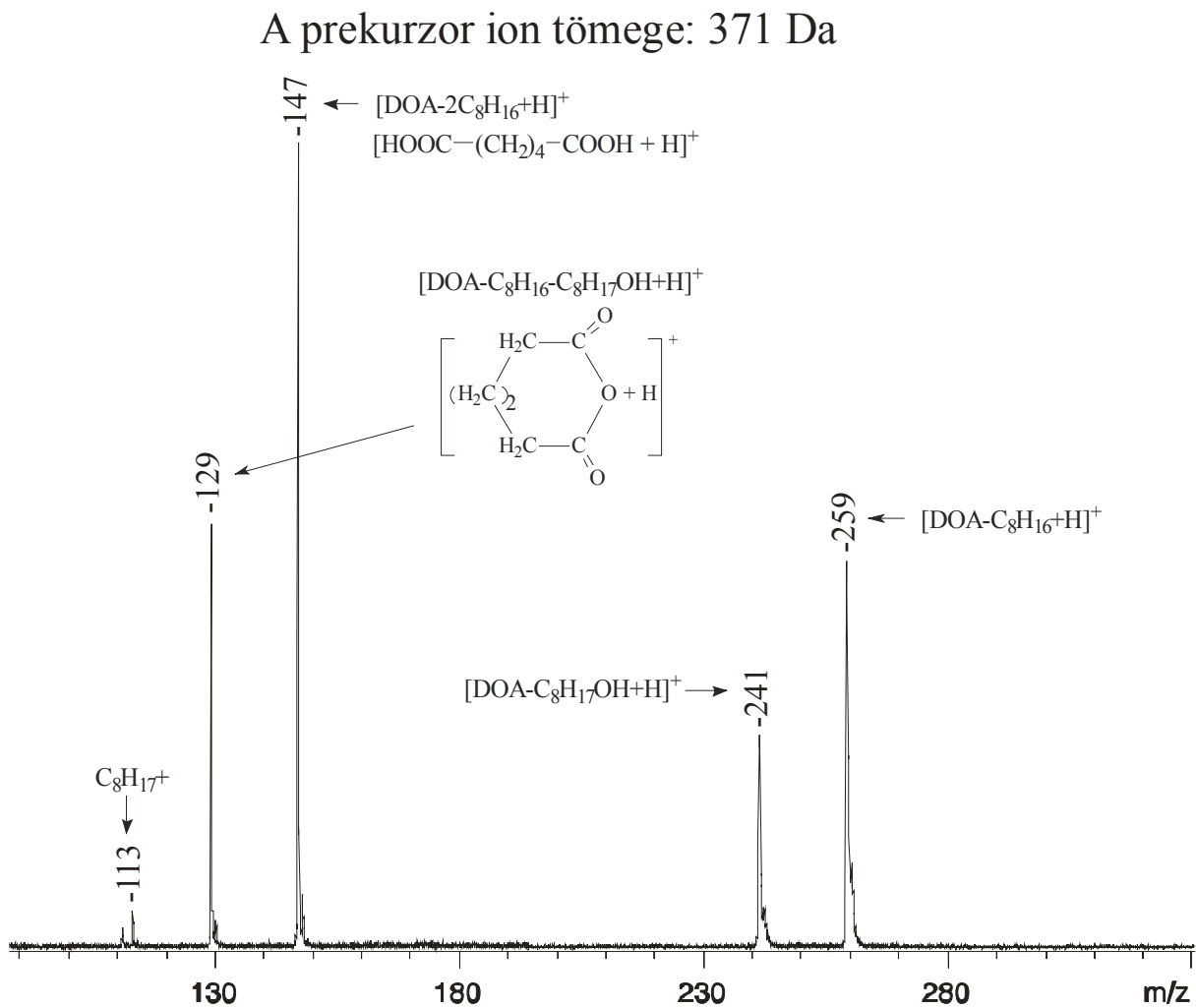
A spektrumban 435, 323 és 211 m/z értékeknél megjelenő csúcsok a fragmentation fokozatos tömegvesztésének eredményei, az ezekhez a tömegekhez tartozó egység a C₈H₁₆ (112 Da). Megfigyelhető a [TOTM+H]⁺ addukt ionból C₈H₁₇OH veszteséssel képződött fragmentation 417 m/z értéknél. A 391 m/z értéknél észlelhető csúcs a **17. ábrán** látható dekarboxileződési folyamat eredménye. A protonált TOTM lágyítóból képződött fragmentationok összetétele (kivéve a dekarboxileződési folyamat során képződött termékeket) a következőképpen adható meg: [TOTM-n₁C₈H₁₆-n₂C₈H₁₇OH+H]⁺, ahol n₁ a C₈H₁₆ és n₂ a C₈H₁₇OH egységek száma. Melyekre igaz, hogy: n₂ = 0 vagy 1, és n₁ + n₂ ≤ 3. A [TOTM+Na]⁺ PSD MALDI-TOF MS/MS spektruma a fragment ion fokozatos, 112 Da-os tömegvesztését mutatja. Ami megegyezik a C₈H₁₆ egységek tömegével. Azaz a spektrumban 457 és 345 m/z értékeknél jelennek meg a fragmentationokhoz tartozó tömegek.

A protonált DOA PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumát, valamint a képződő fragmentumokat a **20. ábrán** tüntettük fel. A **20. ábrán** látható, hogy a protonált DOA fragmentációja többé-kevésbé megegyezik a TOTM és a ftalát-észterek esetén tárgyaltakkal. A DOA PSD spektrumában csupán a 281 m/z értéknél megjelenő, és C₈H₁₆ vesztesésként azonosított fragmentum csúcsa jelentkezik. Az észter-típusú lágyítókra általánosan javasolt fragmentációs mechanizmust a **19. ábrán** jelöltük.



19. ábra

Észter-típusú lágyítókra általánosan javasolt fragmentációs mechanizmus



20. ábra

A protonált DOA PSD MALDI-TOF MS/MS spektruma

([DOA+H]⁺ = 371 Da)

A következőkben látni fogjuk, hogy az előzőekben vázolt módszer hogyan alkalmazható valódi PVC minták esetén. Három különböző PVC minta (M1, M2 és M3) MALDI-TOF MS és PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumait vettük fel. A tömegspektrometriás mérésekkel párhuzamosan a mintákat gázkromatográfiás módszerrel is analizáltuk. Elsődleges vizsgálatainkhoz a PVC minták lágyítótartalmát az ASTM D 3421-75 módszer szerint extraháltuk. Az extrakció a GC mérések kivitelezése miatt volt indokolt. A GC mérések eredményeit az **5. táblázatban** foglaltuk össze.

5. táblázat

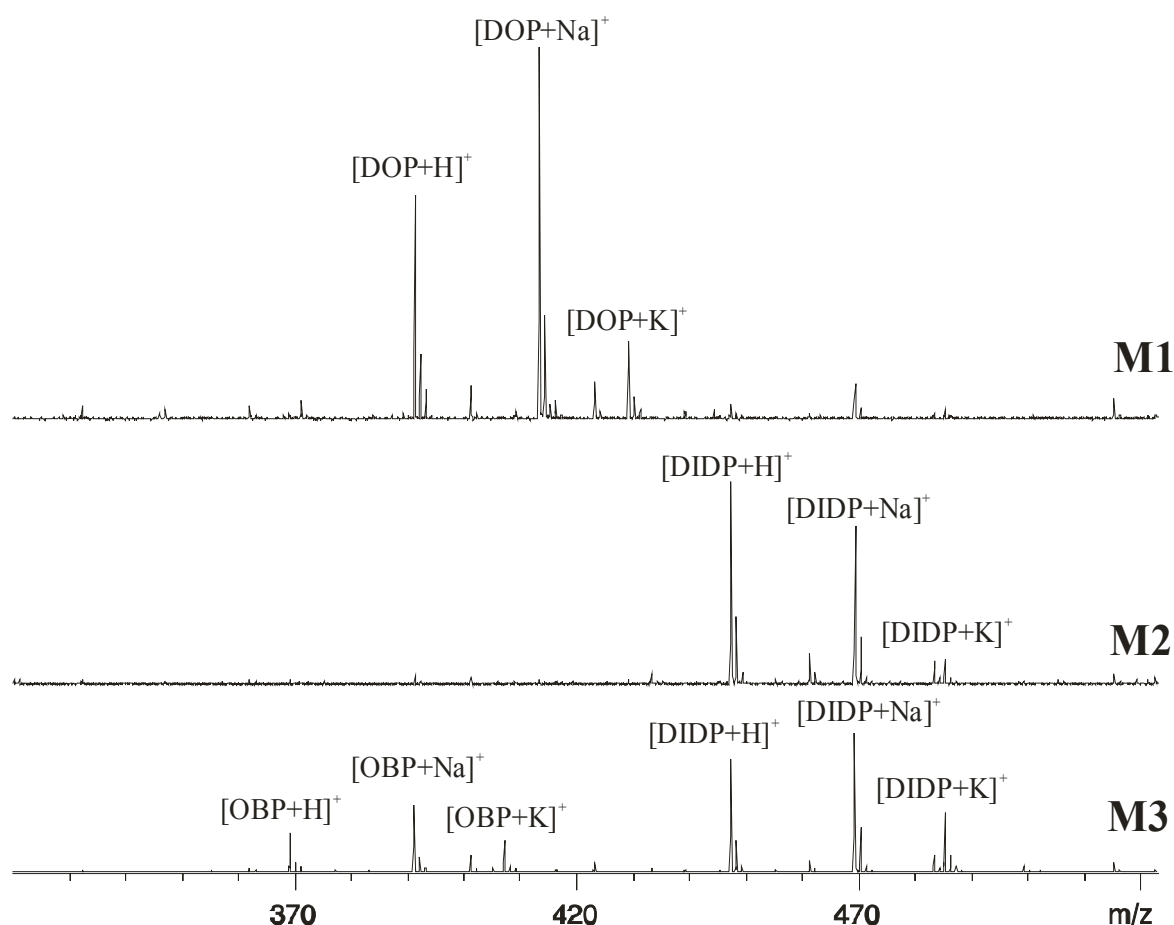
A PVC minták gázkromatográfiás mérésének eredményei

Minta	Retenciós idő (min)	Azonosított lágyító
<i>M1</i>	5,540	DOP
<i>M2</i>	10,996	DIDP
<i>M3</i>	6,452	Ismeretlen
	11,013	DIDP

A retenciós idők alapján és standard lágyítóminták felhasználásával meghatározható volt, hogy az M1 jelzésű minta DOP, az M2 jelzésű DIDP, míg az M3 DIDP és egy ismeretlen lágyítót tartalmazott. A három különböző PVC minta (M1, M2, M3) extraktumairól készült MALDI-TOF MS spektrumot a **21. ábrán** mutatjuk be.

Amint az a **21. ábrából** kiderül, a tömegspektrometriás vizsgálatok eredményei jó egyezést mutatnak a gázkromatográfiás eredményekkel. A MALDI-TOF MS módszerrel azonosított lágyítókat, tulajdonképpen a moláris tömegük alapján határoztuk meg. Az M3 jelzésű mintában jelenlévő, GC módszerrel megfelelő standard hiányában nem azonosítható lágyítót oktil-benzil-ftalátnak (OBP) sikerült tömege alapján valószínűsíteni. Meg kell azonban jegyeznünk, hogy számos „kevert” ftalát származékot használnak, melyeknek a molekulatömege megegyezhet. Ilyen izomer csúcsok jelentkeznek például a heptil-nonil-ftalát és a dioktil-ftalát MALDI-TOF MS

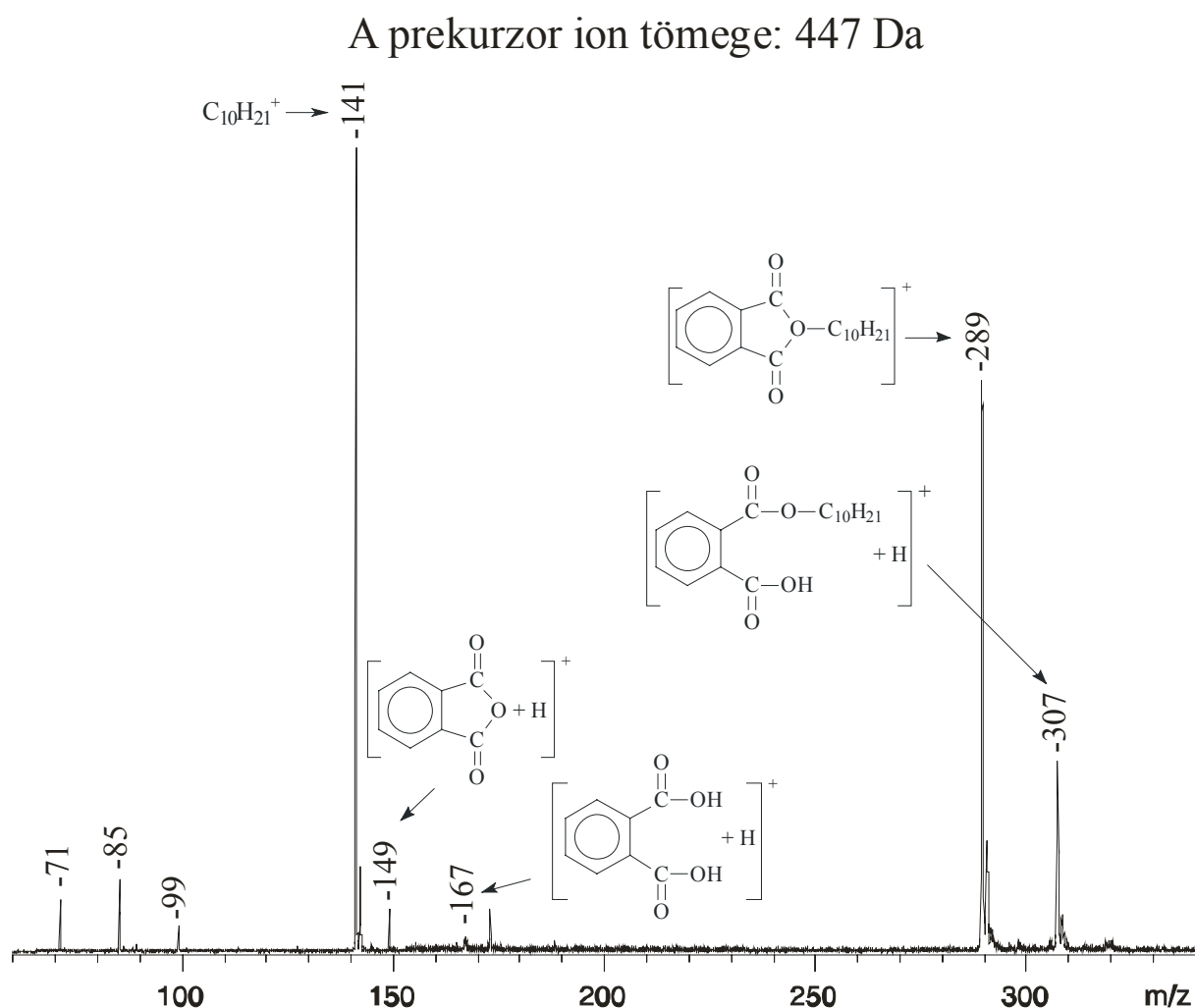
vizsgálatakor, azaz a molekulatömeg ismerete nem elegendő a lágyítók biztonságos azonosításához. A PSD MALDI-TOF MS/MS módszer (a molekula fragmentációs spektruma alapján) képes arra, hogy különbséget tegyen az azonos tömegű, különböző szubsztituenseket tartalmazó ftalát-észter-típusú lágyítók között. Ennek megfelelően történt az M1, M2 és M3 jelzésű mintákban lévő lágyítók PSD MALDI-TOF MS/MS vizsgálata a protonált formák fragmentációjának értelmezése alapján. Az M1 és M2 mintákban lévő lágyítók fragmentációs mechanizmusa megegyezett a standard DOP és DINP lágyítók fragmentációjával. A **22. és 23. ábrán** az M3 jelzésű PVC minta PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumait, valamint a képződött fragmentumokat láthatjuk. A **22. ábrán** a prekursor ion tömege 447 m/z, míg a **23. ábrán** ugyanez az érték 369 m/z.



21. ábra

Az M1, M2 és M3 jelzéssel ellátott PVC minta extraktumairól
felvett MALDI-TOF MS spektrumok

A **22. ábrán** látható PSD MALDI-TOF MS/MS spektrumon egyértelműen felfedezhető a DIDP lágyító fragmentációs sémája. A **23. ábráról** a OBP lágyító jelenlétére következtethetünk, megerősítve az előzőleg a MALDI-TOF MS spektrumból, a molekulatömeg alapján feltételezett összetételt. Ráadásul az OBP fragmentációs sémája kitűnően illeszkedik a **15. ábrán** feltüntetett mechanizmushoz. Figyelemre méltó, hogy a **23. ábrán** nem látunk olyan fragmentációt, ami [benzil-H] csoport vesztésével jönne létre. Ez azt jelzi, hogy a benzil-csoportról lejátszódó hidrogén transzfer nem kedvezményezett.

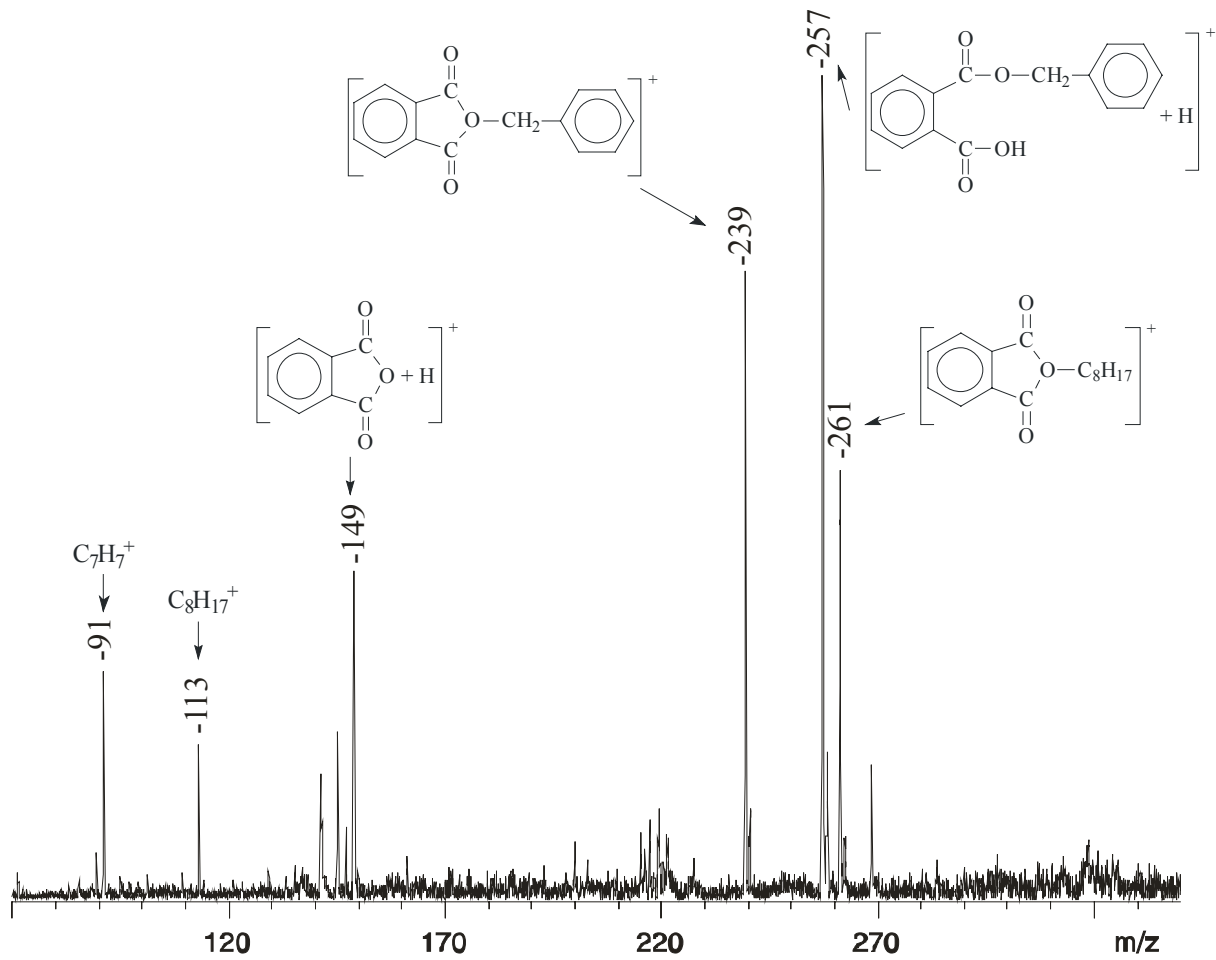


22. ábra

Az M3 jelzésű PVC minta extraktumának PSD MALDI-TOF MS/MS spektruma.

Prekursor ion kiválasztás: 447 m/z.

A prekursor ion tömege: 369 Da



23. ábra

Az M3 jelzésű PVC minta extraktumának PSD MALDI-TOF MS/MS spektruma.

Prekursor ion kiválasztás: 369 m/z.

IV.3. A kationizáció hatásának vizsgálata a polimer rendszerekre

Az olyan polimerek, amelyek az ismétlődő egységben oxigénatomot tartalmaznak, például a poli(etilén-glikol), PEG, poli(propilén-glikol), PPG, poli(metil-metakrilát), PMMA számottevő mértékben lépnek kölcsönhatásba az alkálifém ionokkal. Ismert továbbá, hogy a poláris tulajdonságú polimerek különböző affinitással bírnak a különböző alkálifém kationok iránt¹⁶⁶⁻¹⁶⁹. Így a MALDI MS spektrumokból számított molekulatömeg eloszlásokban ezek a különböző affinitások jelentős eltolódásokat okozhatnak¹⁷⁰⁻¹⁷². Rashidzadeh és munkatársai a Li^+ és Cs^+ ionok szelektivitását vizsgálták PEG1450 ($M=1450$ g/mol) esetén, IAA és DHB mátrix alkalmazása mellett^{168,169}. Kísérleteik során az irodalomban^{166,167} már leírt szelektivitási adatokkal megegyező eredményre jutottak. Abban az esetben, ha HABA mátrixot alkalmaztak a szelektivitási sorrend felcserélődött. Ezek alapján világossá vált, hogy a mátrix fontos szerepet játszhat a PEG oligomerek kationizációjában. Más vizsgálatok azt bizonyították, hogy PMMA MALDI MS spektrumát jelentősen befolyásolja a mintában jelen lévő ellenion is¹⁷³. Másrészt rámutattak arra, hogy a keletkezett polimer addukt ionok száma csökken, ha a halogén ionokat I^- - Cl^- sorrendben változtatjuk. CsCl és LiCl equimoláris keverékét alkalmazva kationizáló ágensként Rashidzadeh és munkatársai megfigyelték, hogy a PEG1450 alkálifém ionok komplexbe vitelének szelektivitása erősen függ az alkalmazott mátrixtól. A szerkezet változásának hatása a poliéterek MALDI körülmények közötti kationizációjára PEG, PPG és poli(tetrahidrofurán), PTHF¹⁶⁹, alkalmazásával már szintén tanulmányozott. Ezek a kísérletek kimutatták, hogy a poliéterek szerkezetének változása jelentős hatással van az alkálifém ionok komplex képződésének szelektivitására. A gőzfázisban lévő kationizált PEG szerkezetét Bowers és munkatársai tanulmányozták¹⁷⁴, vizsgálataik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy amennyiben a polimerben/oligomerben az ismétlődő egységek száma meghaladja a húszat, a PEG lítiumionnal és céziumionnal képzett adduktjának mobilitása megegyezik. Ez azt jelenti, hogy a képződött üreg mérete gyakorlatilag azonos a Li^+ és Cs^+ ionokkal kationizált PEG oligomerek esetén.

Nagyon fontos továbbá, hogy megértsük az ionpárok ionizációs folyamatra gyakorolt hatását, mivel attól függetlenül, hogy adunk-e ionizáló ágenszt a vizsgálandó

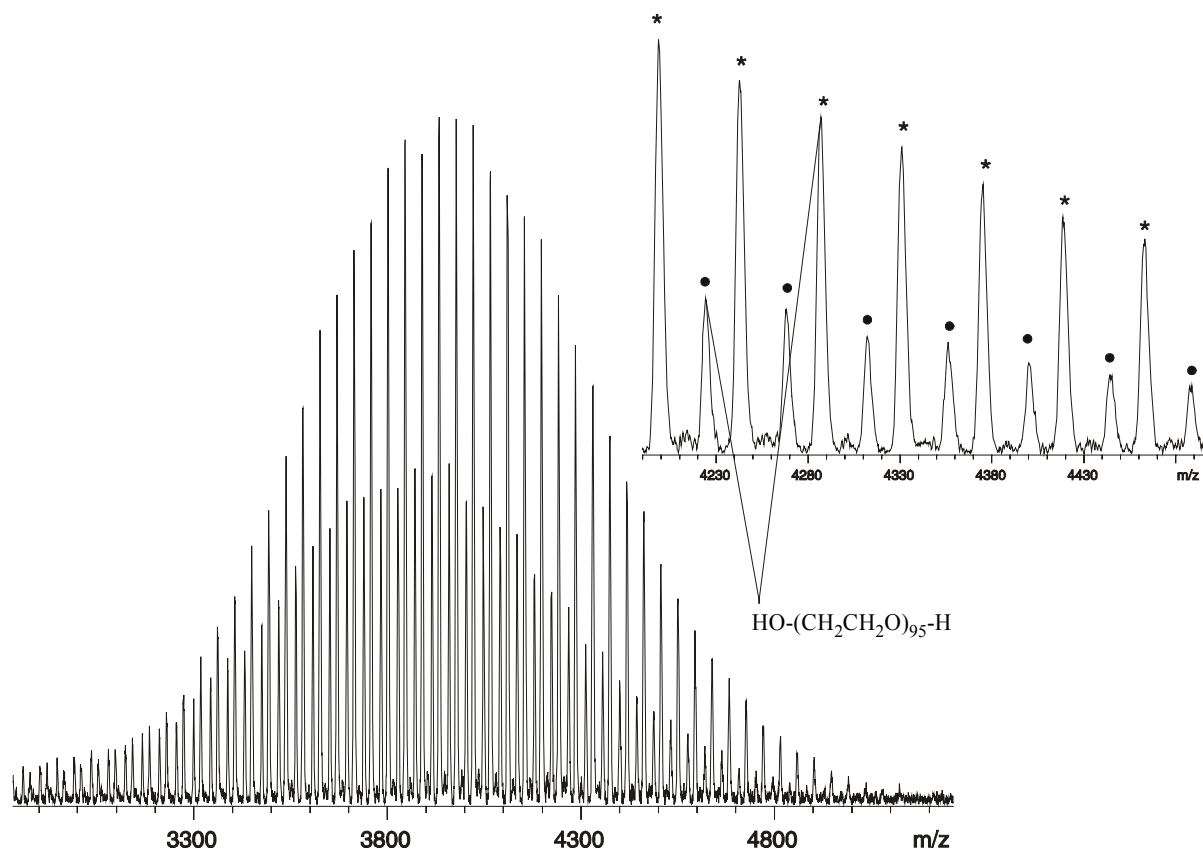
mintához mind a szintetikus, mind a természetes alapú polimerek tartalmaznak nátriumot, káliumot és/vagy hidrogént. Ezért sok esetben nem egyértelmű a kation azonosítása, ezt még az is nehezíti, hogy vizsgálandó minta készítésekor (pl. polimeranalóg átalakításokban) különböző alkálifém sókat alkalmazunk; ami végső soron nem megfelelő kation meghatározást és ezáltal hibás asszignációt vonhat maga után. A kationizáció mértéke azonban mind a már a mintában lévő kation és mind az általunk csupán a vizsgálat kezdete előtt hozzáadott kation mennyiségétől függ. Tehát az általunk a vizsgálat előtt a mintához adott kation segítségével módunkban áll megnövelni a kedvezményezett kation mennyiségét, így lehetőségünk van a csúcsok egyértelmű azonosítására és akár végcsoport meghatározására is.

Az előzőekben leírtak alapvető fontosságúak a polimerkémiai kutatások területén, ezért döntöttünk úgy, hogy megvizsgáljuk a PEG kationizációját és a kationizáció szelektivitását különböző alkálifém ionok jelenlétében.

A kationizáció és a kationizáció szelektivitásának vizsgálatához tanulmányoztuk mind az öt alkálifém ion (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) hatását a PEG4000 ($M = 4000 \text{ g/mol}$) és a PEG6000 ($M = 6000 \text{ g/mol}$) MALDI MS spektrumára. Hogy vizsgálni tudjuk ezt a hatást az alkálifém sókból kétkomponensű keverékeket készítettünk számos különböző koncentrációban. Kísérleteinkben a Na^+ iont választottuk referenciának, mivel ebben az esetben volt a legnagyobb a tömegkülönbség a különböző kationizált csúcsok között, így el tudtuk kerülni a nagyobb tömegeknél jelentkező, az analízálást jelentősen megnehezítő, szomszédos csúcsok közötti átfedést. A **24. ábra** a PEG4000 Na^+ és Rb^+ ionok hozzáadásával kapott MALDI-TOF MS spektrumát mutatja be, a két fémion koncentrációjának aránya: 1:1.

Amint az a **24. ábrából** rögtön kitűnik, a rubídiummal kationizált PEG csúcsok jóval intenzívebben jelentkeznek, mint a nátriummal kationizált csúcsok. Azonban az is jól látható, hogy mindkét formához tartozó csúcsok felbontása jó. Ezzel a módszerrel információhoz juthatunk a megfelelő csúcsok (nátriumionnal és egy másik alkálifém ionnal kationizált) intenzitásarányainak a nátriumion és egy másik alkálifém ion kezdeti koncentrációjának ($[\text{Na}^+]_0/[\text{C}^+]_0$) függéséről. Azaz, lehetőségünk van a $[\text{Na}^+]/[\text{C}^+]$ függvényében vizsgálni a megfelelő jelintenzitás hányadosait ($I_{\text{Na}^+}/I_{\text{C}^+}$).

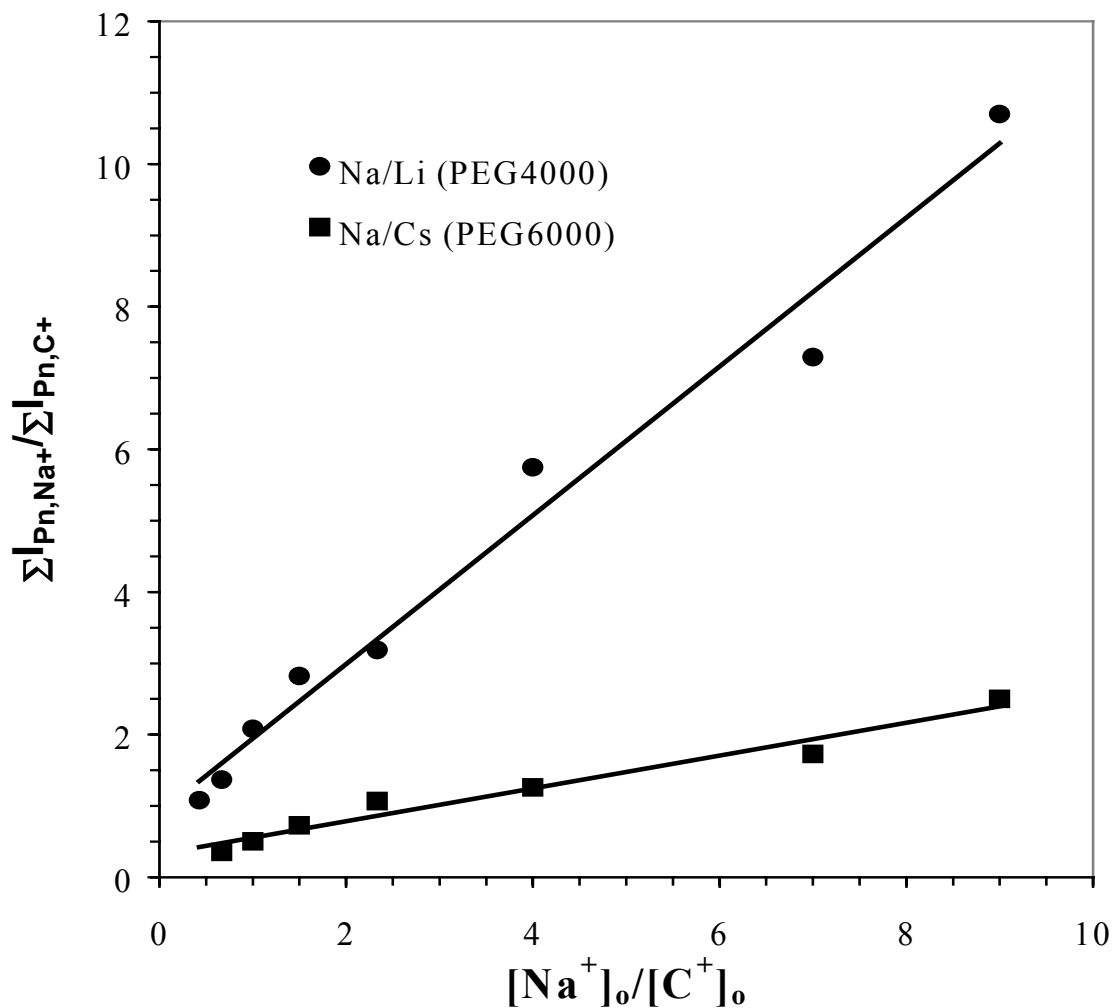
Ennek megfelelően az $\Sigma I_{Pn,Na^+}/\Sigma I_{Pn,C^+}$ értékeket a $[Na^+]_0/[C^+]_0$ függvényében ábrázoltuk, ahol $\Sigma I_{Pn,Na^+}$ az n monomeregységet tartalmazó polimerlánc nátriummal kationizált csúcsainak intenzitásösszege, $\Sigma I_{Pn,C^+}$ pedig az n monomeregységet tartalmazó polimerlánc egy másik alkálifémmel kationizált csúcsainak intenzitásösszege.



24. ábra

A PEG 4000 NaCl/RbCl (1: 1 molarány) hozzáadásával kapott MALDI-TOF MS spektruma. A rubidiummal (*) és a nátriummal (●) kationizált PEG csúcsok láthatók a kinagyított részleten. A bejelölt két csúcs ugyanahhoz a polimerhez (HO-(CH₂CH₂O)₉₅-H) tartozik.

Azért, hogy minimalizáljuk a minta inhomogenitásából eredő esetleges ionszignál változást minden egyes felvett spektrum úgy készült, hogy 240 lézerlövést összegeztünk a minta különböző pontjairól. A 25. ábra a $\Sigma I_{Pn,Na^+}$ és a $\Sigma I_{Pn,C^+}$ ($[Na^+]_0/[C^+]_0$ függését mutatja a PEG4000 és a PEG6000 esetében.



25. ábra

A $\Sigma I_{Pn,Na+}/\Sigma I_{Pn,Li+}$ és a $\Sigma I_{Pn,Na+}/\Sigma I_{Pn,Cs+}$ hányados változása a $[Na^+]_o/[Li^+]_o$, (PEG4000), és a $[Na^+]_o/[Cs^+]_o$ (PEG6000) függvényében.

Amint azt a **25. ábrából** láthatjuk az általunk vizsgált koncentrációtartományban a $\Sigma I_{Pn,Na+}/\Sigma I_{Pn,C+}$ és a $[Na^+]_o/[C^+]_o$ között lineáris összefüggés állapítható meg. Az egyenesek meredekségét jelöljük α -val. Ez a lineáris összefüggés azt mutatja, hogy az alkálifém ionok koncentrációjának arányai a gőzfázisba kerüléskor sem változnak. Így a szelektivitási paraméter (az előzőleg definiált α) a kation és a polimer közötti gőzfázisú folyamat egyensúlyi állandójával hozható összefüggésbe. A **6. táblázat** a PEG4000 és a PEG6000 polimerek esetén kapott szelektivitási paramétereket foglalja össze.

6. táblázat

A különböző Na⁺/C⁺ ion párok esetén
PEG4000 és PEG6000 felhasználásával kapott α értékek

	α			
	Na ⁺ /Li ⁺	Na ⁺ /K ⁺	Na ⁺ /Rb ⁺	Na ⁺ /Cs ⁺
PEG4000	1,04 ± 0,05	0,19 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,25 ± 0,02
PEG6000	0,92 ± 0,05	0,17 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,02

A táblázatból látható, hogy a vizsgált két különböző molekulatömegű poli(etilén-glikol) esetében kapott szelektivitási értékek az adott ionpár esetén nagyjából azonosak. A következőkben a különböző alkálifém ionokkal végzett kationizációs kísérleteinket mutatjuk be. Az addukt ionok képződése a következő ion-molekula reakcióval modellezhető:



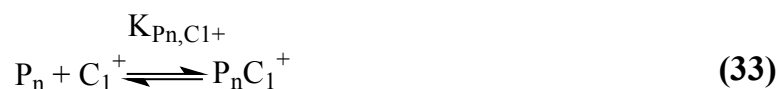
Ahol P_n az oligomert, C^+ a kationt, míg a $P_n C^+$ az oligomer+kation adduktot jelöli. A K_{P_n, C^+} a (29) reakció egyensúlyi állandója. Egy másik ilyen gőzfázisú reakció lehet a $P_n C^+$ keletkezése kationcsere reakción keresztül (lásd (30) és (31) reakciók):



Ahol M a mátrixot, $M C^+$ a mátrix+kation adduktot jelöli, míg K_{M, C^+} és $K_{P_n, M C^+}$ a (30) és a (31) egyenletekre vonatkozó egyensúlyi állandók. A gőzfázis tágulási szakaszában lejátszódó igen gyors egyensúlyokra a következő összefüggést írhatjuk fel:

$$K_{P_n, C^+} = K_{M, C^+} K_{P_n, MC^+} \quad (32)$$

Most, vegyük azt az esetet, amikor két különböző kationt (C_1^+ és C_2^+) tartalmaz a rendszer. Az általánosan lejátszódó folyamatot a következő egyensúlyok szemléltetik:



Ahol $P_n C_1^+$ a $P_n + C_1^+$, míg $P_n C_2^+$ a $P_n + C_1^+$ reakció során keletkezett addukt ion. K_{P_n, C_1^+} a (33) egyenletre vonatkozó egyensúlyi állandó, a (34) egyenletre vonatkozó egyensúlyi állandó a K_{P_n, C_2^+} .

A (35) egyenlet felhasználásával kiszámítható a $P_n C_1^+$ és a $P_n C_2^+$ koncentrációaránya ($[P_n C_1^+]/[P_n C_2^+]$).

$$[P_n C_1^+]/[P_n C_2^+] = K_{P_n, C_1^+}/K_{P_n, C_2^+} [C_1^+]/[C_2^+] \quad (35)$$

Amennyiben a (33) és (34) egyenletek egyensúlyi állandói kicsik, a $[C_1^+]/[C_2^+]$ arány közelítőleg megadható a C_1^+ és a C_2^+ kezdeti koncentrációjával, például: $[C_1^+]/[C_2^+] \approx [C_1^+]_0/[C_2^+]_0$. Ennek felhasználásával a (35) egyenletet a következő alakban is felírhatjuk:

$$[P_n C_1^+]/[P_n C_2^+] = \alpha [C_1^+]_0/[C_2^+]_0 \quad (36)$$

Ahol $\alpha = K_{P_n, C_1^+}/K_{P_n, C_2^+}$.

Továbbá, ha feltételezzük, hogy a $P_n C_1^+$ és a $P_n C_2^+$ addukt ionoknak a detektálási érzékenysége azonos, akkor a $P_n C_1^+$ és a $P_n C_2^+$ relatív csúcs intenzitásai a következőképpen fejezhetők ki:

$$I_{P_n, C_1^+}/I_{P_n, C_2^+} = \alpha [C_1^+]_0/[C_2^+]_0 \quad (37)$$

A (37) egyenlet tovább általánosítható, ha az összes $P_nC_1^+$ és a $P_nC_2^+$ kationizált oligomer addukt ionokhoz tartozó csúcsok intenzitásait összegezzük, lásd (38) egyenlet:

$$\Sigma I_{P_n,C_1^+} / \Sigma I_{P_n,C_2^+} = \alpha [C_1^+]_0 / [C_2^+]_0 \quad (38)$$

Ahol I_{P_n,C_1^+} és I_{P_n,C_2^+} a C_1^+ és C_2^+ ionokkal kationizált n-edik oligomerhez tartozó csúcsintenzitás.

A kezdeti koncentrációk aránya ($[C_1^+]_0/[C_2^+]_0$) a mintához adott sók mennyiségének arányát tükrözi. A (38) egyenlet azt valószínűsíti, hogy a $\Sigma I_{P_n,C_1^+} / \Sigma I_{P_n,C_2^+}$ arány $[C_1^+]_0/[C_2^+]_0$ függvényében való ábrázolásával egyenest kell kapnunk. Ezen kívül a (38) egyenlet értelmében a kapott egyenesnek az origóban kell metszenie az y-tengelyt. Az általunk vizsgált esetekben azonban az egyenesek nem az origóban metszik az y-tengelyt (25. ábra). A tengelymetszetért a mintában már eredetileg is jelenlévő kezdeti nátriumion „szennyezés” a felelős. Az egyenes meredeksége (α) az egyensúlyi állandók egymáshoz viszonyított arányát tükrözi (lásd (36) egyenlet). A 6. táblázatból az is kiderül, hogy az α értékek jelentősen függenek a kation típusától. Így a Na^+/K^+ ionpár esetén kapjuk a legkisebb α értéket, míg a legnagyobb α érték a Na^+/Li^+ ionpár esetén figyelhető meg. Az is teljesen nyilvánvaló, hogy nincs jelentős eltérés az általunk vizsgált két polimer (PEG4000 és PEG6000) α értékei között. Annak érdekében, hogy eredményeinket össze tudjuk hasonlítani a már korábban poli(etilén-glikol) esetén megfigyelt és leírt kísérleti eredményekkel, szükségessé vált meghatározni a szelektivitási hányados értékét („bulk selectivity ratio”, BSR)^{166,167}. A BSR értékét a (39) egyenlet segítségével számíthatjuk ki:

$$BSR = \Sigma I_{P_n,Na^+} / \Sigma I_{P_n,C^+} \quad (39)$$

Ahol I_{P_n,Na^+} az n-edik oligomer és a Na^+ által képzett addukt intenzitása, míg I_{P_n,C^+} az n-edik oligomer egy másik alkálifém ionnal képzett adduktjának intenzitása. Ahhoz, hogy meghatározzuk a BSR értékeket nátriumsó és egy másik alkálifém sójának ekvimoláris keverékét alkalmaztuk. A PEG4000 és a PEG6000 esetén kapott

szelektivitási hányados értékeit, valamint a szelektivitási sorrendet a **7. táblázatban** tüntettük fel.

7. táblázat

Szelektivitási hányados és szelektivitási sorrend PEG4000 és PEG6000 esetén

Szelektivitási hányados (BSR)		
Ionpárok	PEG4000	PEG6000
Na ⁺ /Li ⁺	2,08	1,61
Na ⁺ /K ⁺	0,28	0,40
Na ⁺ /Rb ⁺	0,39	0,36
Na ⁺ /Cs ⁺	0,39	0,51

Szelektivitási sorrend*	
PEG4000	PEG6000
K ⁺ > Cs ⁺ ~ Rb ⁺ > Na ⁺ > Li ⁺ (1:0,72:0,72:0,28:0,13)	Rb ⁺ > K ⁺ > Cs ⁺ > Na ⁺ > Li ⁺ (1:0,9:0,71:0,36:0,22)

*A szelektivitási sorrendek a következő összefüggéssel kerültek meghatározásra: BSR_s/BSR_i , ahol BSR_s a legkisebb BSR érték, míg BSR_i az i-edik BSR értéke.

A Na⁺/K⁺, Na⁺/Rb⁺ és Na⁺/Cs⁺ ionpárok szelektivitási hányadosai a PEG6000 esetén nagyobbak, mint a PEG4000 esetén. Ezzel szemben a **6. táblázatból** egyértelműen kiderül, hogy nincs jelentős különbség a PEG6000 és a PEG4000 esetén kapott szelektivitási paraméterek (α) között. A szelektivitási sorrend, hasonlóan a **7. táblázatban** bemutatottakkal, a szelektivitási paraméterek felhasználásával is kiszámítható. PEG4000 esetében ez a sorrend: K⁺ > Rb⁺ > Cs⁺ > Na⁺ > Li⁺ (1:0,79:0,76:0,19:0,18), ami jó közelítéssel megegyezik a BSR felhasználásával meghatározott értékkel. Véleményünk szerint a szelektivitási paraméter (α) jóval megbízhatóbb információt nyújt a szelektivitásra, mint az egyszerű szelektivitási hányados, mivel míg az α meghatározásához széles koncentráció tartományt veszünk figyelembe (számos $[Na^+]_0/[C^+]_0$ koncentráció arányt használva), addig a BSR csupán egy kísérleti ponthoz tartozó értéket használ. Mind a BSR, mind az α értékek egyértelműen mutatják, hogy a poli(etilén-glikol) nagyobb valószínűséggel lép

kölcsönhatásba azokkal az ionokkal, amelyeknek nagyobb az ionsugara (K^+ , Rb^+ , Cs^+), mint azokkal, melyeknek az ionsugara kisebb (Na^+ , Li^+). Az egyes alkálifém ionok sugarait a **8. táblázat** tartalmazza.

8. táblázat

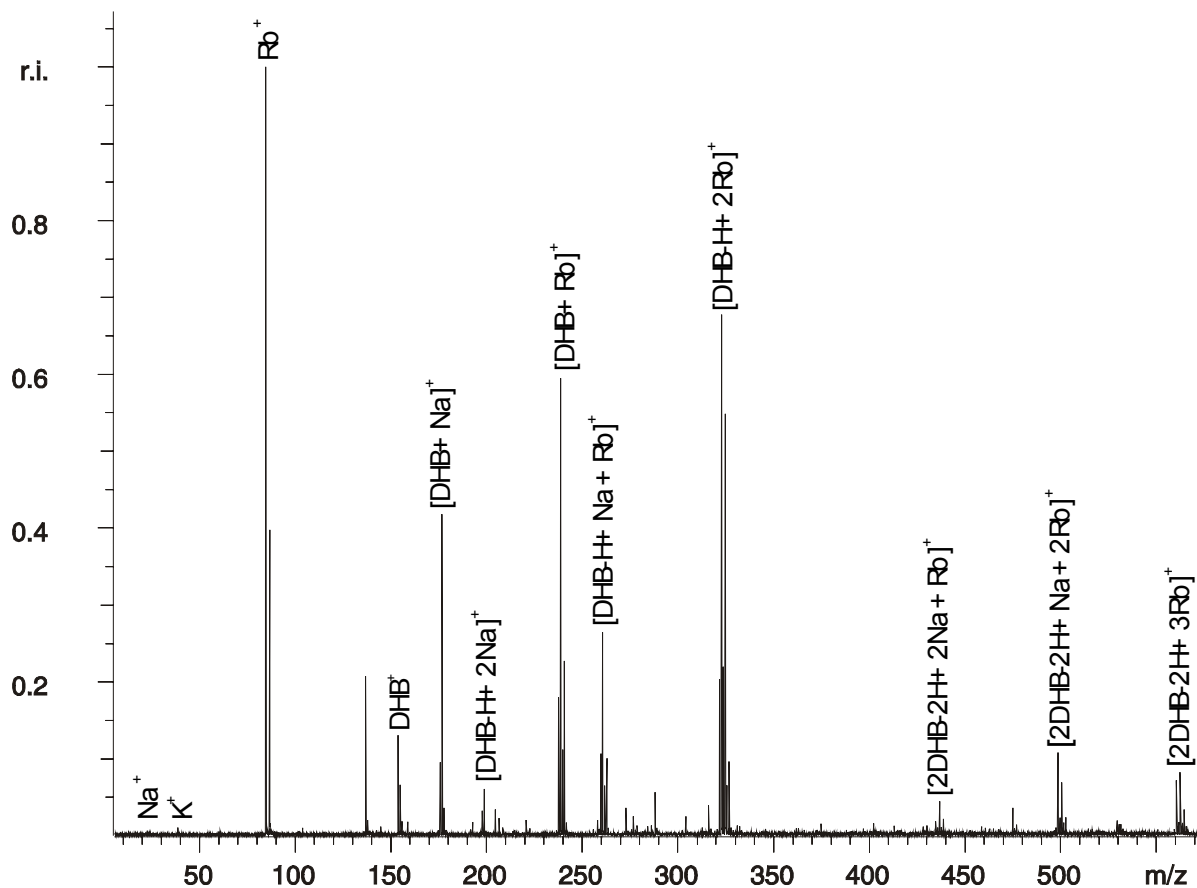
Az alkálifém ionok ionsugarai

Alkálifém ion	Ionsugár (pm)*
Li^+	76
Na^+	102
K^+	138
Rb^+	152
Cs^+	167

*Forrás: 175. irodalmi hivatkozás.

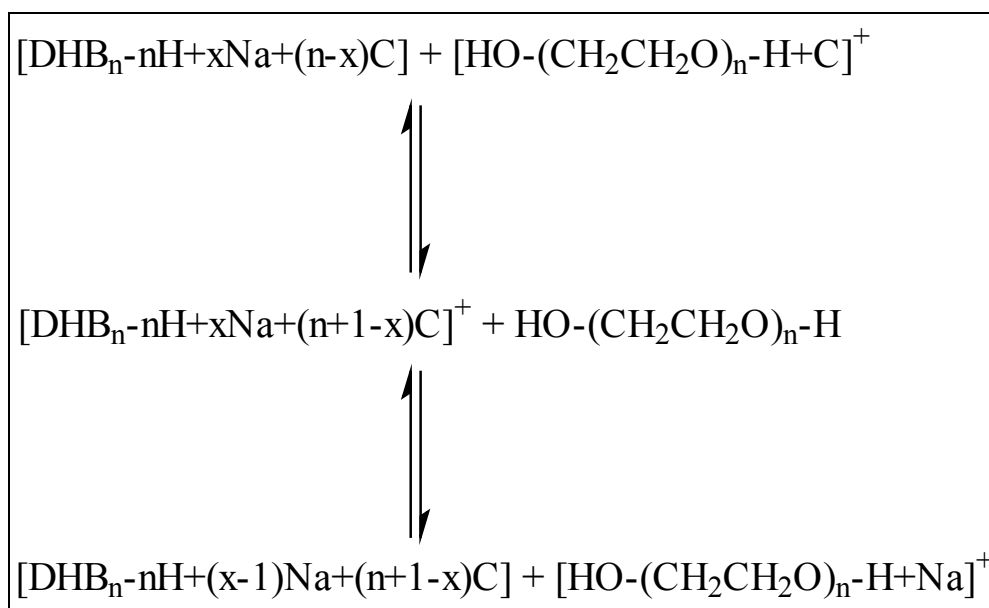
Az alkalmazott mátrix szerepének jobb megismerése érdekében a nátriumion és egy másik alkálifém ion jelenlétében vizsgáltuk a DHB mátrixból képződött ionokat. A **26. ábra** a DHB mátrixról készült MALDI MS spektrumok közül mutat egyet. Ebben az esetben NaCl és RbCl sókat alkalmaztunk ekvimoláris mennyiségben.

A **26. ábrából** világosan látszik, hogy a csupasz Rb^+ ion és a DHB^+ gyök kation mellett megfigyelhető a $[DHB+Na]^+$ és a $[DHB+Rb]^+$ addukt ionok jelenléte is. Valamint látszik, hogy a szabad Na^+ ionok koncentrációja elég csekély. Ezek mellett a csúcsok mellett találunk Na^+ és Rb^+ ionokkal kevert DHB klasztereket. Azok a klaszterek, amelyek a Na^+ ionok mellett egy másik alkálifém iont is tartalmaznak minden esetben megfigyelhetők voltak. A vegyes DHB klaszterek összetétele a következőképpen fejezhető ki: $[DHB_n-nH + xNa + (n+1-x)C]^+$, ahol $x \leq n+1$. Ezek a megfigyelések arra engednek következtetni, hogy a kationizáció valószínűleg a képződő vegyes DHB klasztereken keresztül játszódik le (**27. ábra**).



26. ábra

A DHB mátrix Na^+ és Rb^+ ionok 1:1 koncentráció arányánál felvett MALDI-TOF MS spektruma



27. ábra

A poli(etilén-glikol) oligomerek kationizációjára javasolt mechanizmus

A kationizáció összetettsége ellenére a DHB mátrix jelenlétében lejátszódó gőzfázisú ionizáció viszonylag egyszerű módon vázolható.

A PEG oligomerek MALDI MS vizsgálatai során lehetőségünk nyílik az egyedi poli(etilén-glikol) oligomerek eloszlásának tanulmányozására is. Általánosságban azt mondhatjuk, hogy ionos polimerizáció esetén, amennyiben láncátvitel és lánczáródás nem játszódik le (élő polimerizáció), az n ismétlődő egységekből álló oligomerek $p(n)$ móltömeg eloszlása Poisson-eloszlású¹⁷⁶. A Poisson-eloszlást a (40) egyenlet írja le:

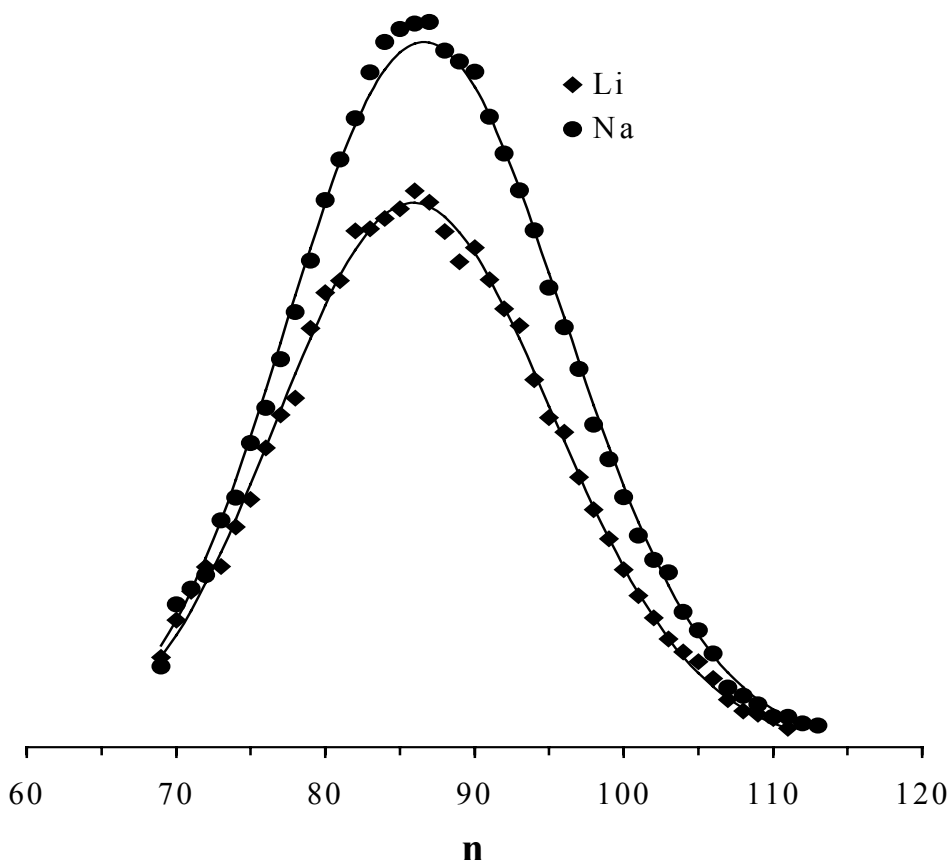
$$p(n) = \frac{e^{-\nu} \nu^{n-1}}{(n-1)!} \quad (40)$$

Ahol ν a kezdeti monomer koncentráció és a rendszerben jelenlévő iniciátor koncentráció aránya, $p(n)$ pedig az n darab monomer egységet tartalmazó oligomer aránya. A poli(etilén-glikol)-t is ilyen ionos polimerizáció alkalmazásával állítják elő. Mivel a MALDI módszer segítségével az oligomerek számáról kapunk információt, ezért a nátriumionnal és egy másik alkálifém ionnal (C^+) kationizált poli(etilén-glikol) oligomerek esetén a következőket írhatjuk fel:

$$I_{P_n, Na^+} = c_{Na} \frac{e^{-\nu_{Na}} \nu_{Na}^{n-1}}{(n-1)!} \quad (41)$$

$$I_{P_n, C^+} = c_c \frac{e^{-\nu_c} \nu_c^{n-1}}{(n-1)!} \quad (42)$$

Ahol I_{P_n, Na^+} és I_{P_n, C^+} intenzitások, c_{Na} és c_c nyújtási faktor, míg ν_{Na} és ν_c a ν értékeket jelöli a Na^+ ionnal és a C^+ ionnal kationizált oligomerek esetén. A c_{Na} , c_c , ν_{Na} és ν_c értékeket a FITTER 5v elnevezésű paraméterbecslő program segítségével számítottuk ki. A 28. és a 29. ábrán a Li^+ , Na^+ és Cs^+ ionokkal kationizált PEG4000 és PEG6000 oligomerek intenzitáseloszlása, valamint az erre illesztett görbék láthatók.



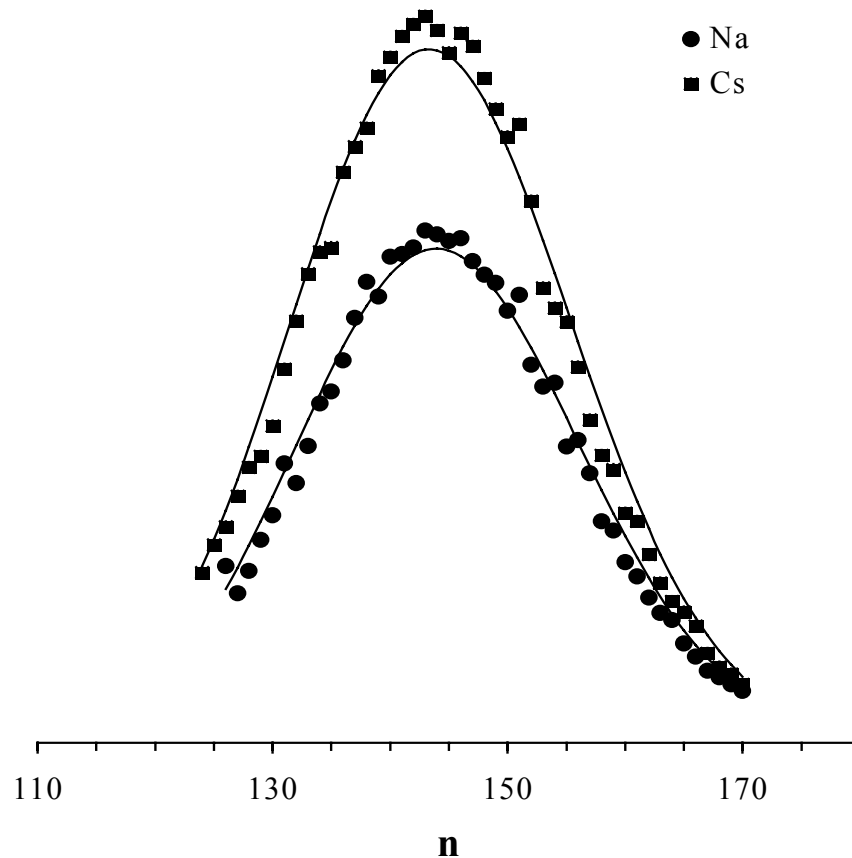
28. ábra

A lítiummal és nátriummal kationizált PEG4000 oligomerek intenzitás eloszlása.

A kiindulási koncentrációarány: $[\text{Na}^+]_0/[\text{Li}^+]_0=4/6$, n pedig az ismétlődő egységek számát mutatja.

A 28. és a 29. ábrából egyértelműen látszik, hogy a kationizált poli(etilén-glikol) oligomerek intenzitás eloszlásai a Poisson-eloszlást követik. A PEG4000 esetén meghatározott ν_{Na} érték $86 \pm 0,4$. A PEG6000 esetén kapott ν_{Na} érték pedig $142 \pm 0,9$. A lítium- és céziumionokra kapott ν értékek kisebbek, a kálium- és a rubídiumionokra kapott ν értékek, pedig nagyobbak, mint a ν_{Na} érték. Ez azt mutatja, hogy az intenzitás eloszlások a kisebb tömegtartomány felé tolódnak el a lítiummal és céziummal kationizált PEG oligomerek esetén. A káliummal és rubídiummal kationizált PEG4000 és PEG6000 esetén ezzel ellentétesen a nagyobb tömegek felé tolódnak el az intenzitás

eloszlások. Ezek az eltolódások csekélyek, mégis nagy jelentőségük van. A ν_{Na} értékkel összehasonlítva körülbelül $\frac{1}{2}$ n az eltolódás, vagyis egy fél ismétlődő egység.



29. ábra

A céziummal és nátriummal kationizált PEG6000 oligomerek intenzitás eloszlása. A kiindulási koncentrációarány: $[Na^+]_0/[Li^+]_0=6/4$, n pedig az ismétlődő egységek száma. A különálló pontok (\bullet , \blacksquare) a mérési eredményekhez tartoznak, míg a folytonos vonal az illesztett görbét jelöli.

Számszerűsítve és összefoglalva a következőket írhatjuk fel a ν értékekre vonatkoztatva:

$$\nu_{Li} \approx \nu_{Cs} \approx \nu_{Na}-0,5 \quad (43)$$

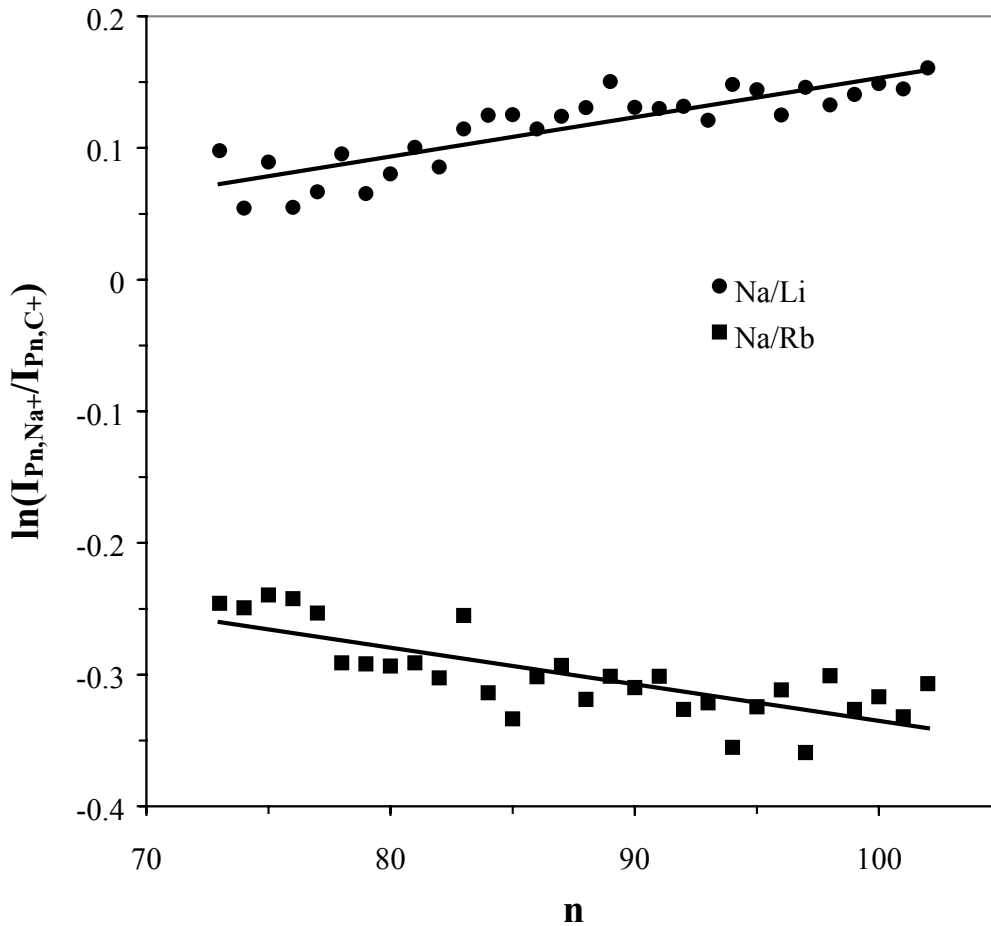
és

$$\nu_K \approx \nu_{Rb} \approx \nu_{Na}+0,5 \quad (44)$$

A (41) és a (42) egyenletek felhasználásával, kaphatjuk meg a (45) egyenletet.

$$\ln \frac{I_{Pn,Na+}}{I_{Pn,C+}} = v_C - v_{Na} + \ln \frac{c_{Na} v_C}{c_C v_{Na}} + n \ln \frac{v_{Na}}{v_C} \quad (45)$$

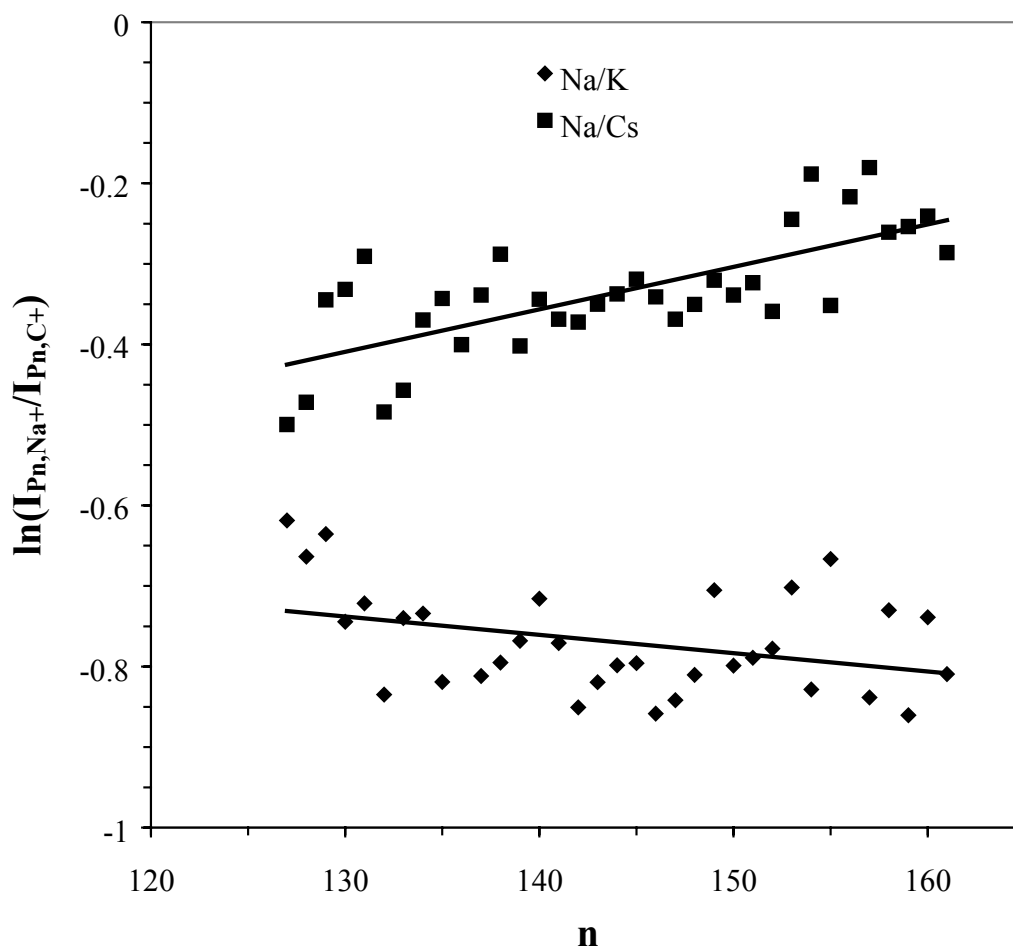
Amennyiben az $\ln(I_{Pn,Na+}/I_{Pn,C+})$ hányadost ábrázoljuk az n függvényében egyenest kapunk, melynek a meredeksége $\ln(v_{Na}/v_C)$. A 30. és 31. ábra mutatja az n függvényében ábrázolt $\ln(I_{Pn,Na+}/I_{Pn,C+})$ összefüggést a PEG4000 és PEG6000 esetén.



30. ábra

Az n függvényében ábrázolt $\ln(I_{Pn,Na+}/I_{Pn,C+})$ összefüggés a PEG4000 esetén. Az n az ismétlődő egységek számát mutatja. A folytonos vonal az illesztett egyenest jelöli.

A **30.** és a **31. ábra** lineáris összefüggést mutat. Az egyenes meredeksége a lítiummal és a céziummal kationizált poli(etilén-glikol) esetén pozitív, azaz $v_{Na}/v_C > 1$. Míg a káliummal és rubídiummal kationizált oligomerek esetén negatív, vagyis $v_{Na}/v_C < 1$. Az így kapott adatok alapján szintén az intenzitás eloszlásokban bekövetkező kismértékű eltolódásokra következtethetünk. A különböző alkálifém ionokkal kationizált PEG4000 és PEG6000 polimerekre számított számátlag molekulatömeg (M_n), tömegátlag molekulatömeg (M_w) és polidiszperzitás (M_w/M_n) értékeket a **9. táblázatban** foglaltuk össze.



31. ábra

Az n függvényében ábrázolt $\ln(I_{Pn,Na+}/I_{Pn,C+})$ összefüggés a PEG6000 esetén. Az n az ismétlődő egységek számát mutatja. A folytonos vonal az illesztett egyenest jelöli.

A **9. táblázat** adataiból egyértelműen látható, hogy a különböző alkálifém kationok segítségével kapott számátlag molekulatömegek közötti eltérés 2%-nál kevesebb.

A nagy térkitöltésű kationoknak azon tulajdonsága, hogy a nagyobb oligomerekkel nagyobb valószínűséggel képeznek komplexet jól ismert. Másrésztől minél nagyobb a kation térkitöltése, annál kisebb eltolódás várható a számátlag molekulatömeg és a v_C értékekben. Az általunk vizsgált PEG oligomerek több mint 60 ismétlődő egységet tartalmaztak, amely elegendő ahhoz, hogy csupán kis eltolódásokat várjunk a számátlag molekulatömegekben. Habár ez az eltolódás csekély, mégis megfigyelhető az M_n értékek növekedése a kation térkitöltésének növekedésével, az egyetlen kivétel ez alól a Cs^+ ion.

9. táblázat

A különböző alkálifém ionokkal kationizált PEG4000 és PEG6000 polimerekre számított M_n , M_w és M_w/M_n értékek. A számításokhoz a következő egyenleteket használtuk fel: $M_n = \sum I_i M_i / \sum I_i$ és $M_w = \sum I_i M_i^2 / \sum I_i M_i$, ahol M_i az i -edik oligomer tömege, míg I_i ugyanennek az oligomernek az intenzitása. A kationok tömegeit a számítások elvégzése előtt levontuk a megfelelő tömegekből.

PEG4000

<i>Kation</i>	M_n	M_w	M_w/M_n
Li^+	3836	3873	1,009
Na^+	3859	3894	1,009
K^+	3865	3896	1,008
Rb^+	3894	3930	1,009
Cs^+	3850	3880	1,008

PEG6000

<i>Kation</i>	M_n	M_w	M_w/M_n
Li^+	6223	6277	1,009
Na^+	6267	6303	1,006
K^+	6291	6325	1,005
Rb^+	6296	6329	1,005
Cs^+	6234	6260	1,004

V. Összefoglalás

Különböző komplex kémiai rendszereket vizsgáltunk meg MALDI-TOF MS és a „post-source decay” (PSD) MALDI-TOF MS/MS módszerek alkalmazásával. Az így kapott információk felhasználásával képet kaphattunk a MALDI körülmények között lejátszódó kationizációról, valamint annak mechanizmusáról. A kapott MALDI-TOF MS spektrumok vizsgálatán keresztül tanulmányoztuk a képződött addukt ionok stabilitását, valamint az ion fragmentációját.

Különböző poláris szerves mátrixok jelenlétében vizsgáltuk az AgTFA-ból képződött ezüst-klaszter ionok képződését. Az ionintenzitásokban bekövetkező páros-páratlan váltakozás, illetve a „jellium” elmélet alapján megjósolt mágikus számok minden esetben megfigyelhetők voltak. Azt is megállapíthattuk, hogy a klaszterionok mennyiségét a mátrix jelentősen befolyásolja. Intenzív klaszterion jeleket kaptunk HABA, HAR és IAA mátrixok alkalmazásával, ezek közül is a HABA mátrix alkalmazása eredményezte a legnagyobb, közel kétszáz ezüstatomot tartalmazó még elkülönülő klaszterszámot. A legnagyobb általunk megfigyelt mágikus szám az Ag_n^+ esetén 139, míg az Ag_n^- esetén 137 volt. Ennek megfelelően a HABA és AgTFA keveréke bizonyult a legalkalmasabbnak a klaszterionok, illetve klaszterion-molekula kölcsönhatás tanulmányozására, valamint nanoklaszterek előállítására. Más részről, ha a célunk az apoláris polimerek ezüstionok segítetté analízise, a HABA, HAR és IAA mátrixok alkalmazása kifejezetten előnytelen a nagy mennyiségben képződő ezüstklaszter zavaró hatása miatt. Kísérleti tapasztalatainkra alapozva azt állíthatjuk, hogy a gerjesztett mátrix molekulák legnagyobb valószínűséggel az addukt ionokon keresztül redukálják az ezüstionokat. Feltételezhetjük azt is, hogy a mátrix „vivőgáz”-ként viselkedhet a gőzfázis expanziójának első szakaszában, ezáltal elősegítheti a klaszterek növekedését.

Kis molekulatümegű vegyületek fragmentációját is megvizsgáltuk. Az általunk alkalmazott kis molekulatümegű vegyületeknek a lágyítókat választottuk. Különböző típusú PVC lágyítók kimutatását és szerkezetük meghatározását végeztük el MALDI-TOF MS és MALDI-TOF MS/MS módszerek felhasználásával. Azt tapasztaltuk, hogy a MALDI-TOF MS és a PSD MALDI-TOF MS/MS alkalmas a viszonylag alacsony

molekulatömeggel rendelkező lágyítók kimutatására. Összehasonlítottuk a nátriumionnal és protonnal kationizált lágyítók különböző PSD MALDI-TOF MS/MS módszerrel felvett spektrumait. A kísérleti eredmények alapján a protonnal és nátriumionnal kationizált ftalát-észterek kationizációs mechanizmusa megadható. Az is kiderült, hogy a nátriummal kationizált addukt ionok a protonáltakhoz képest kevésbé fragmentálódnak, azaz a protonnal képzett addukt ionok fragmentációját érdemes tanulmányozni, mert ebből vonhatjuk le a legtöbb tapasztalatot a kémiai szerkezetre nézve. Valamint módszert dolgoztunk ki, a lágyítók szerkezetének közvetlenül PVC mintákból történő meghatározására.

Vizsgáltuk ezen kívül a különböző alkálifém ionok (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) hatását a különböző móltömegű poli(etilén-glikol) (PEG) kationizációjára. A $\Sigma I_{\text{Pn,Na}^+}/\Sigma I_{\text{Pn,C}^+}$ és $[\text{Na}^+]_0/[\text{C}^+]_0$ között lineáris kapcsolatot találtunk. Bevezettünk egy új szelektivitási paramétert, melyet α -val jelöltünk, és ami a különböző típusú alkálifém ionok nátriumionhoz viszonyított szelektivitását jellemzi. Az új szelektivitási paraméter előnye, hogy széles alkálifém ion koncentrációk esetében megbízhatóan jellemzi a fémion és a polimer molekula között fennálló kölcsönhatásokat. Megállapítottuk továbbá, hogy a különböző típusú alkálifém ionokkal kationizált poli(etilén-glikolok) MALDI-TOF MS spektrumban jelentkező jelintenzitásának a PEG polimerizációfoktól való függése Poisson-típusú eloszlást mutat. A vizsgálataink során meghatározott M_n értékek a kationizáló ágenstől függetlenül nem mutattak jelentős eltérést.

VI. Summary

We investigated complex chemical systems by MALDI-TOF MS and „post-source decay” (PSD) MALDI-TOF MS/MS. The resulting information provides possibility to study the mechanism of cationization reactions occurring under MALDI conditions. The stability of the formed adduct ions and fragmentation were investigated on the basis of the obtained MALDI-TOF MS spectra.

Formation of silver-cluster ions from AgTFA was studied in the presence of various polar organic matrices. Odd-even alternation in ion intensities and the magic numbers proposed by the jellium model were observed every case. It was also concluded that the quality of the matrix has a significant effect on the quantity of the cluster ions. Intensive cluster ion signals were obtained in case of HABA, HAR and IAA matrices. The highest cluster number containing almost two hundred silver atoms was detected in case of HABA matrix. The highest observable magic numbers were 139 and 137 for Ag_n^+ ion and Ag_n^- ion, respectively. On the basis of the above-mentioned HABA and AgTFA was proved to be the most suitable mixture for investigation of interaction between cluster ions and between cluster ions and molecules or for the preparation of nanoclusters. On the contrary due to the disturbing effect of the forming silver clusters the use of HABA, HAR and IAA matrices is especially disadvantageous for the analysis of apolar polymers supported by silver ions. According to the experimental results it can be concluded that excited matrix molecules reduce silver ions more likely through adduct ions. The „carrier-gas” behavior of the matrix in the first period of the gaseous phase expansion and its contribution to cluster growth can also be assumed.

Fragmentation of molecules with small molar mass was also studied. Plasticizers were used as model compounds with small molecular mass. Detection and structural analysis of different PVC plasticizers were investigated by MALDI-TOF MS and MALDI-TOF MS/MS. MALDI-TOF MS and PSD MALDI-TOF MS/MS were proved to be effective methods for detection of plasticizers with relatively small molecular mass. Comparison of spectra of plasticizers cationized with sodium ion and proton recorded by PSD MALDI-TOF MS/MS was performed. According to the

results the cationization mechanism of the sodiated and protonated phthalate esters can be suggested. It has been also revealed that the fragmentation of sodiated adduct ions is less probable compared to that of protonated ones, consequently the study of protonated adduct ions provides more information about the chemical structure. In addition a method was developed for the direct determination of the plasticizers from PVC samples.

We examined the effect of various alkali metal ions (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) on the cationization of PEG4000 and PEG6000. A linear relationship between the $\Sigma I_{\text{Pn,Na}^+}/\Sigma I_{\text{Pn,C}^+}$ and $[\text{Na}^+]_0/[\text{C}^+]_0$ was recognized. We introduced the term α , which characterizes the selectivities of different alkali metal ions with respect to the Na^+ -ions. In our opinion, α gives more reliable results for the selectivities, since it covers a wider concentration ratio than a single BSR. The intensity distribution of the PEG oligomers cationized with different alkali metal ions showed a Poisson-type distribution. The M_n -s determined for the alkali metal cationized PEG4000 and PEG6000 revealed no significant change with the type of the cation.

VII. Irodalomjegyzék

1. Falconer; Isobel: *J. J. Thomson's Work on Positive Rays 1906-1914, Historical Studies in the Physical and Biological Sciences* **18**, 265-310 (1988).
2. *Nobel Lectures, Chemistry 1922-1941*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, (1966).
3. Svec; Harry J.: *Mass Spectroscopy--Ways and Means: A Historical Prospectus*, International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes **66**, 3-29 (1985).
4. Davis, R.; Frearson, M.: *Mass Spectrometry: Analytical Chemistry by Open Learning*, John Wiley & Sons, Chichester, England, 603 pp. (1987).
5. McLafferty, F. W.; Turecek, F.: *Interpretation of Mass Spectra*, (4rd Ed.), University Science Books, Mill Valley, CA. (1993).
6. Munson, M. S. B; Fields, F. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 2621 (1966).
7. Field, F. H.: *J. Am. Soc. Mass Spectrum.*, **1**, 277 (1990).
8. Harrison, A.G.: *Chemical Ionization Mass Spectrometry*, CRC Press, Boca Raton, (2nd Ed.) (1992).
9. Barber, M.; Bordoli, R. S.; Elliot, G. J.; Sedgwick, R. D.; Tyler, A. N.: *Anal. Chem.*, **54**, 645A (1982).
10. Surman, D. J.; Vickerman, J. C.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 325 (1981).
11. Aberth, W.; Straub, K. M.; Burlingame, A. L.: *Anal. Chem.*, **54**, 2029 (1982).
12. Fenselau, C.; Cotter, R. J.: *Chem. Rev.*, **87**, 501-12 (1987).
13. Davidian, T.; Thivel, P. M.; Hausseguy, G.; Mercier, S.; Laloue, N.: *Field Ionization, Field Desorption and Plasma Desorption Mass Spectrometry*. www.cpe.fr/ciufolini/fd.htm.
14. Bruins, A. P.: *Trac-Trends Anal Chem*, **13**, 37-43 (1994).
15. Bruins, A. P.: *Trac-Trends Anal Chem*, **13**, 81-90 (1994).

16. Garcia, D. M.; Huang, S. K.; Stansbury, W. F.: *J Am Soc Mass Spectrom*, **7**, 59-65 (1996).
17. Voyksner, R. D.: *Environ Sci Technol*, **28**, 118A-127A (1994).
18. Carroll, D. I.; Dzidic, I.; Horning, E. C.; Stillwell, R. N.: *Appl. Spectrosc. Rev.*, **17**, 337-406, (1981).
19. Arpino, P.: *Mass Spectrom. Rev.*, **9**, 631-669 (1990).
20. Yamashita, M.; Fenn, J. B.: *J. Phys. Chem.*, **88**, 4451-4459 (1984).
21. Karas, M.; Bachman, D.; Bahr, U.; Hillenkamp, F.: *Int. J. Mass Spectrum. Ion Processes*, **78**, 53-68 (1987).
22. Cole, R. B.: *Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation and Applications*, Hardcover, ISBN 0-471-14564-5 (1997).
23. Gaskell, S. J.: *J. Mass Spectrom.* **32**, 677-688 (1997).
24. Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, Ch. K.; Wong, Sh. F.; Whitehouse, C. M.: *Mass Spectrom. Rev.* **9**, 37-70, (1990).
25. Yergey, A. L.; Edmonds, C. G.; Lewis, I. A. S.; Vestal, M. L.: *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Techniques and Applications*, Plenum Publ. Co., New York (1989).
26. Vestal, M. L.: *Mass Spec. Rev.*, **3**, 447-480 (1983).
27. Fenn, J. B.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **4** (7), 524-535, (1993).
28. Brunnee, C.: *Int. J. Mass Spectrum. Ion Processes*, **76** (2), 125-237 (1987).
29. Paul, W.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **29**, 739 (1990).
30. Cooks, R. G.; McLuckey, S. A.; Kaiser, R. E.: *Chemical and Engineering News*, **69** (12), 26-41, (1991).
31. Stafford, G. C. Jr.; Kelley, P. E.; Syka, J. E. P.; Reynolds, W. E.; Todd, J. F. J.: *Int. J. Mass Spectrum. Ion Processes*, **60**, 85-98 (1984).
32. Louris, J. N.; Cooks, R. G.; Syka, J. E. P.; Kelley, P. E.; Stafford, G. C. Jr.; Todd, J. F. J.: *Analytical Chemistry*, **59**, 1677-1685 (1987).

33. March, R. M.; Todd, J. F. J.: *Practical Aspects of Ion Trap Mass Spectrometry: Chemical, Environmental, and Biomedical Applications*, Volume III, CRC Press (1995)
34. Stephens, W. I.: *Phys. Rev.*, **69**, 691 (1946).
35. Cameron, A. E.; Eggers, D. F.: *Rev. Sci. Instrum*, **19**, 605 (1948).
36. Wiely, W.C.; McLaren, I.H.: *Rev. Sci. Instrum*, **26**, 1150 (1955).
37. Mamyrin, B. A.; Schmikk, D. V.; Zagulin, V. A.: *Soviet Phys. JEPT.*, **37**, 45 (1973).
38. Asamoto, B. (Ed.): *Analytical Applications of Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry*, VCH Publishers, New York (1991).
39. Buchanan, W. V. (Ed.): *Fourier Transform Mass Spectrometry: Evolution, Innovation and Applications*, ACS, Washington D.C. (1987).
40. Dinya, Z.: *Szerves Tömegspektrometria*, DE Kossuth Egyetemi Kiadó (2001).
41. Johnstone, R. A. W.; Herbert, C. G.: *Mass Spectrometry Basics*, CRC Press (2002).
42. Dietz, L.A.: *Electron multiplier-ion detector system*, US 3898456; PAT-APPL-491,988 (1975).
43. Lobeze, P.; Nief, G.: *Electron Multiplier for the Measurement of an Ion Current on a Mass Spectrometer*, CEA-692 (1957).
44. Koyama, K.; Connally, R. E.: *Rev. Sci. Instr.*, **28** (1957).
45. Daly, N. R.: *Rev. Sci. Instr.*, **31** (1960).
46. Daly, N. R.: *Positive Ion Detector*, US 3041453 (1962).
47. Daly, N. R.: *Rev. Sci. Instr.*, **34** (1963).
48. Daly, N. R.; Powell, R. E.; Ridley, R.G.: *Nucl. Instr. Methods*, **36** (1965).
49. Manning, G.; Sherwood, A. C.: *Nuclear Instr. Methods*, **14** (1961).
50. Ruggieri, D. J.: *IEEE Trans. Nucl. Sci.* NS-19, **3**, 74-84 (1972).
51. Dhawan, S.; Majka, R.: *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, **24**; 23 (1977).
52. Chapman, J. R.: *Computers in Mass Spectrometry*, Academic Press, London (1978).
53. Messarge, G. M.: *Practical Aspects of Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, John Wiley & Sons, New York, 351 p. (1984).

54. Douglas F.: *GC/MS Analysis, Scientific Testimony*
(<http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html>)
55. Karasek, F. W.; Clement, R. E.: *Basic gas chromatography-mass spectrometry: Principles and techniques*, Elsevier Science Pub. Co. Inc., New York (1988).
56. Abian, J.: *J. Mass Spectrom.*, **34**, 157-168 (1999).
57. Niessen, W. M. A.; Tinke, A. P.: *J. Chromatogr.*, **703**, 37-57 (1995).
58. Pinkston, J. D.; Chester, T. L.: *Analytical Chemistry*, **67**, 650A-656A (1995).
59. Smith, R. D.; Felix, W. D.; Fjeldsted, J. C.; Lee, M. L.: *Anal. Chem.*, **54**, 1883-1885 (1982).
60. Tomer, K. B; Deterding, L. J.; Parker, C. E.: Chap. 12, IN: *High Performance Capillary Electrophoresis*, Khaledi, M.G. (Ed.), John Wiley & Sons, New York (1998).
61. Niessen, W. M. A.: *Current Practice of Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, **86** in the Series Chromatographic Science series, Marcel Dekker, New York (2001).
62. Bertholf, R. L.: *Gas Chromatography and Mass Spectrometry in Clinical Chemistry*, Encyclopedia of Analytical Chemistry, Meyers, R. A. (Ed.) p. 1314–1336, John Wiley & Sons Ltd, Chichester (2000).
63. Watkins, P. J.; Shen, Z.; Wijesundera, C.: *Aust J. Dairy Technol.*, **57**, 70-70 (2002).
64. Munro, R.; Young, W. A. P.; Hayes, R.; Hardy, R. W. D.; Wilson, H. W.; Ridley, R.G.: *Advance. Mass Spectrometry*, **3** (1966).
65. Ciupek, J. D.: *Tandem mass spectrometry: applications and new instrumentation*, Thesis, (1984).
66. Glish, G. L.; Goeringer, D. E.: *Anal. Chem.*, **56**, 2291-2295 (1984).
67. McLafferty, F. W.; Amster, I. J.: *International Jnl. of Mass Spectrometry and Ion Processes*, **72**, 85-91 (1986).
68. McLafferty, F. W.: *Science*, **214**, 280-287 (1981).
69. Yost, R. A.; Fetterolf, D. D.: *Mass Spectrometry Reviews*, **2**, 1-45, (1983).
70. Karas, M.; Hillenkamp, F.: *Anal. Chem.*, **60**, 2299-2301 (1988).

71. Tanaka, K.; Waki, H.; Ido, Y.; Akita, S.; Yoshida, Y.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 151-153 (1988).
72. Overberg, A.; Karas, M.; Bahr, U.; Kaufmann, R.; Hillenkamp, F.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **4**, 293-296 (1990).
73. Karas, M.; Bachmann, D.; Bahr, U.; Hillenkamp, F.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process*, **78**, 53 (1987).
74. Dale, M. J.; Knochenmuss, R.; Zenobi R.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 136-142 (1997).
75. Beavis, R. C.; Chait, B. T.: *Methods in Enzymol.*, **270**, 519 (1996).
76. Coligan, J. E.; Dunn, B. M.; Ploegh, H. L.: "Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass analysis of peptides". Speicher, D. W. and Wingfield, P.T. Eds. (Contributed by William J. Henzel and John T. Stults), *Current Protocols in Protein Science*, **1**, John Wiley & Sons, New York, Unit 16.2. (1995).
77. Watson, E.; Shah, B.; DePrince, R.; Hendren, R. W.; Nelson, R.: *BioTechniques*, **16**, 178 (1994).
78. Belu, A. M.; DeSimone, J. M.; Linton, R. W.; Lange, G. W.; Friedman, R. M.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **7**, 11 (1996).
79. Kéki, S.; Török, J.; Deák, Gy.; Zsuga, M. *Macromolecules*, **34**, 6840 (2001).
80. Kéki, S.; Bodnár, I.; Borda, J.; Deák, G.; Zsuga, M.: *J. Phys Chem. B*, **105**, 2833 (2001).
81. Kéki, S.; Bodnár, I.; Borda, J.; Deák, G.; Batta, G.; Zsuga, M.: *Macromolecules*, **34**, 7288 (2001).
82. Montaudo, G.; Montaudo, M. S.; Puglisi, C.; Samperi, F.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **9**, 453 (1995).
83. Rashidzadeh, H.; Guo, B.: *Anal Chem.*, **70**, 131 (1998).

84. Hoberg, A.M.; Haddleton, D.M.; Derrick, P.; Jackson, A. T. Scrivens, J. H.: *Eur. Mass Spectrom.*, **4**, 435 (1998).
85. Juhász, P.; Costello, C. E.; Biemann, K.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **4**, 399 (1993).
86. Danis, P.O.; Karr, D. E.; Xiong, Y.; Owers, K. G.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **10**, 82 (1996).
87. Schriemer, D. C.; Li, L.: *Anal. Chem.*, **68**, 2721 (1996).
88. Danis, P. O.; Karr, D.E.: *Org. Mass Spectrom.*, **28**, 923 (1993).
89. Kéki, S.; Deák, Gy.; Mayer-Posner, F. J.; Zsuga, M.: *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 770 (2000).
90. Chapman, J. R.: *Methods in Mol. Biol.*, **61** (1996).
91. Zenobi, R.; Knochenmuss, R.: *Mass Spectrom. Rev.*, **17**, 337 – 366 (1999).
92. Dale, M.; Knochenmus, R.; Zenobi, R.: *Anal. Chem.*, **68**, 3321 (1996).
93. Sunner, J.; Dratz, E.; Chen, Y.: *Anal. Chem.*, **67**, 4335-4342 (1995).
94. Schurenberg, M.; Dreisewerd, K.; Hillenkamp, F.: *Anal. Chem.*, **71**, 221-229 (1999).
95. Sze, E. T. P.; Chan, T. W. D.; Wang, G.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **9**, 166-174 (1998).
96. Zhao, S.; Somayajula, K. V.; Sharkey, A. G.; Hercules, D. M.; Hillenkamp, F.; Karas, M.; Ingendoh, A.: *Anal. Chem.*, **63**, 450-453 (1991).
97. Strupat, K.; Karas, M.; Hillenkamp, F.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion. Proc.*, **111**, 89-102 (1991).
98. Dai Y.Q.; Whittal, R. M.; Li, L.: *Anal. Chem.*, **68**, 2494-2500 (1996).

99. Weinberger, S. R.; Boernsen, K. O.; Finchy, J. W.; Roberstson, V.; Musselman, B. D.: *Proceedings of the 41th Annual ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, San Francisco, May 31-June 5, p. 7 (1993).
100. Cohen, S.; Chait, B. T.: *Anal. Chem.*, **68**, 31-37 (1996).
101. Xiang, F.; Beavis, R. C.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **8**, 199-204 (1994).
102. Zhou, J.; Lee, T. D.: *Proceedings 43rd ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Atlanta, GA, May 21-26, p. 1231 (1995).
103. Dai, Y. Q.; Whittal, R. M.; Li, L.: *Anal. Chem.*, **71**, 1087-1091 (1999).
104. Edmonson, R. D.; Russell, D. H.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **7**, 995 (1996).
105. Onnerfjord, P.; Ekstrom, S.; Bergquist, J.; Nilsson, J.; Laurell, T.; Marko-Varga, Gy.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13**, 315-322 (1999).
106. Li, L.; Golding, R. R.; Whittal, R. M.: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 11662-11663 (1996).
107. Perera, I. K.; Perkins, J.; Kantartzoglou, S.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **9**, 180-187 (1995).
108. Xiang, F.; Beavis, R. C.: *Org. Mass Spectrom.*, **28**, 1424 (1993).
109. Hensel, R. R.; King, R. C.; Owens, K. G.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 1785-1793 (1997).
110. Hanton, S.; Clark, P.; Owens, K.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **10**, 104-111 (1999).
111. Hensel, R. R.; King, R. C.; Owens, K. G.: *Proceedings of the 43rd Annual ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*; Atlanta, GA, May 21-26, p. 947 (1995).

112. Axelsson, J.; Hoberg, A-M.; Waterson, C.; Myatt, P.; Chield, G. L.; Varney, J.; Haddleton, D. M.; Derrick, J.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 209-213 (1997).
113. Zhang, H.; Caprioli, R.: *JMS Letters, J. Mass Spectrom.*, **31**, 690-692 (1996).
114. Vertes, A.; Levine, R.D.: *Chem. Phys. Lett.*, **171**, 284-290 (1990).
115. Johnson, R. E.; Sundquist, B. U. R.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **5**, 574-578 (1991).
116. Ingendoh, A.; Karas, M.; Hillenkamp, F.; Giessmann, U.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.*, **131**, 345 (1994).
117. Goudsmit, S. A.: *Physical Review*, **74** (1948).
118. Wiley, W. C.; McLaren, I. H.: *Rev. Sci. Instr.*, **26**, 1150 (1955).
119. Brown, R. S.; Lennon, J. J.: *Anal. Chem.*, **67**, 1998 (1995).
120. Vestal, M. L., Juhasz, P.; Martin, S. A.: *Rapid Comm. Mass Spectrom.*, **9**, 1044 (1995).
121. Brown, R. S.; Lennon, J. J.; Christie, D.: *Desorption '94*, Sunriver Lodge, OR, March 27-31, p. 63. (1994).
122. Lennon, J. J.; Brown, R. S.: *42nd ASMS Conf. On Mass Spectrom.*, 501. (1994).
123. Lennon J. J.: *Anal. Chem.*, **67**, 1998-2003 (1995).
124. Colby, S. M.; King, T. B.; Reilly, J. P.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **8**, 865-868 (1994).
125. Whittal, R. M.; Li, L. *Anal. Chem.*, **67**, 1950-1954 (1995).
126. Kaufmann, R.; Kirsch, D.; Spengler, B: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **131**, 355 (1994).
127. Spengler, B.; Kirsch, D.; Kaufmann, R.: *J. Phys. Chem.* **96**, 9678 (1992).

128. Spengler, B.; Kirsch, D.; Kaufmann, R.; Jaeger, E.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **6**, 105 (1992).
129. Kaufmann, R.; Kirsch, D.; Spengler, B.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **5**, 198 (1991).
130. Kaufmann, R.; Spengler, B.; Lutzenkirchen, F.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **7**, 902 (1993).
131. Montaudo, G.; Garozzo, D.; Montaudo, M. S.; Puglisi, C.; Samperi, F.: *Macromolecules*, **28**, 7983-7989 (1995).
132. Lehre, R. S.; Sarson, D. S.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **9**, 91-92 (1995).
133. Axelsson, J.; Scrivener, E.; Haddleton, D. M.; Derrick, P. J.: *Macromolecules*, **29**, 8875-8882 (1996).
134. Martin, K.; Spickermann, J.; Reder, H. J.; Müllen, H. J.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **10**, 1471-1474 (1996).
135. Jackson, C.; Larsen, B.; McEwen, C.: *Anal. Chem.*, **68**, 1303-1308 (1996).
136. Kassis, C. M.; Desimone, J. M.; Linton, E. W.; Remsen, E. E.; Lange, G. W.; Friedman, R. M.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 1134-1138 (1997).
137. Lee, M. S.; Kerns, E. H.: *Mass Spectrom. Rev.*, **18**, 187-279 (1999).
138. Allen, M. C.; Shah, T. S.; Day, W. W.: *Pharm. Res.*, **15**, 93-97 (1998).
139. Kelleher, N. L.: *Chem. Biol.*, **7**, R37-R45 (2000).
140. Kéki, S.; Szilágyi, L. Sz.; Deák, Gy.; Zsuga, M.: *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **17(8)**, 783 (2003).
141. Chiarelli, M. P.; Lay, J. O. Jr.: *Spectral Methods in Food Analysis*, M. Masseba, Marcel Decker (Ed.), New York, 291-323 (1999).
142. Deák, Gy.; Zsuga, M.; Kelen, T.: *Polym. Bull.*, **29**, 239 (1992).
143. Fournier, R.: *J. Chem. Phys.*, **115**, 2165 (2001).
144. Schaffner, M. H.; Patthey, F.; Schneider, W. D.: *Eur. Phys. J.*, **D 9**, 609 (1999).
145. Hagen, O. F. Z.: *Phys.*, **D 20**, 425 (1991).
146. Rabin, I.; Jackschath, C.; Sculze, W. Z.: *Phys.*, **D 19**, 153 (1991).
147. Dots, T.; Duncan, M. A.; Powers, D.; Smalley, R. E.: *J. Chem. Phys.*, **74**, 6511 (1981).
148. Bondebey, V. E.; English, J. H.: *J. Chem. Phys.*, **76**, 2165 (1982).

149. Weidele, H.; Vogel, M.; Herlert, A.; Krückeberg, S.; Lievens, P.; Silverans, R. E.; Walther, C.; Schweikhard, L.: *Eur. Phys. J.*, **D 9**, 173 (1999).
150. Katakuse, I.; Ichihara, T.; Fujita, Y.; Matsuo, T.; Sakurai, T.; Matsuda, H.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **74**, 33 (1986).
151. Katakuse, I.; Ichihara, T.; Fujita, Y.; Matsuo, T.; Sakurai, T.; Matsuda, H.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **67**, 229 (1985).
152. Krückeberg, S.; Dietrich, G.; Lützenkirchen, K.; Schweikhard, L.; Walther, C.; Ziegler J.: *Eur. Phys. J.*, **D 9**, 169 (1999).
153. Staudt, C.; Heinrich, R.; Wucher, A.: *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. Sec. B, Beam Inter. Mat. and Atoms.*, **164**, 677 (2000).
154. Rashidzadeh, H.; Guo, B.: *Chemical Physics Letters*, **310**, 466 (1999).
155. Macha, S. F.; Limbach, P. A.; Hanton, S.D.; Owens, K. G.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **12**, 732 (2001).
156. Yalcin, T.; Schriemer, D.C.; Li, L.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **8**, 1220 (1997).
157. Karbach, V.; Knochenmuss, R.: *Rapid. Comm. Mass. Spectrom.*, **12**, 968 (1998).
158. Looock, H-P.; Beaty, L. M.; Simard, B.: *Phys. Rew. A*, **59**, 873 (1999).
159. Zenobi, R.; Knochenmuss, R.: *Mass Spectrom. Rev.*, **17**, 337 (1998).
160. Knochenmuss, R.; Stortelder, A; Breuker, K.; Zenobi, R.: *J. Mass Spectrom.*, **35**, 1237 (2000).
161. Seebach, D.; Herrmann, G.F.; Lengweiler, U.D.; Amrein, W.: *Helv. Chim. Acta*, **80**, 989 (1997).
162. Eisenberg, P.; Erra-Balsells, R.; Ishikawa, Y.; Lucas, J. C; Nonami, H.; Williams, R. J. J.: *Macromolecules*, **35**, 1160 (2002).
163. Deanin, R. D.; Seymour, R. B. (Ed.), *Additives for Plastics*, **1**, Academic Press, (1978).
164. Sears, J. K.; Darby, J. R.: *The Technology of Plasticizers*, Wiley, New York (1982).
165. Ngoka, L. C.; Gal, J. F.; Lebrilla, C. B.: *Anal. Chem.*, **66**, 692 (1994).
166. Chan, K.; Cook, K. D.: *Macromolecules*, **16**, 1736 (1983).
167. Mattern, D.; Hercules, D. M.: *Anal. Chem.*, **57**, 2041 (1985).

168. Rashidzadeh, H.; Wang, Y.; Guo, B. C.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **14**, 439 (2000).
169. Wang, Y.; Reshidzadeh, H.; Gou, B. C.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **11**, 639 (2000).
170. Jackson, A. T.; Yates, H. T.; MacDonald, W. A.; Scrivens, J. H.; Critchley, G.; Brown, J.; Deery, M. J.; Jennings, K. R.; Brookes, C.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **8**, 132 (1997).
171. Spickermann, J.; Martin, K.; Räder, H. J.; Müller, K.; Schlaad, H.; Muller, A. H. E.; Kruger, R. P.: *Eur. Mass Spectrom.*, **2**, 161 (1996).
172. Dogruel, D.; Nelson, R. W.; Williams, P.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **10**, 801 (1996).
173. Hoberg, A. M.; Haddleton, D. M.; Derrick, P. J.; Jackson A. T.; Scrivens, J. H.: *Eur. Mass Spectrom.*, **4**, 435 (1998).
174. Bowers, M. T.; Wyttenbach, T; Helden, G.: *Science*, **267**, 1483 (1995).
175. Greenwood, N. N.; Earnshaw, A.: *Chemistry of Elements*, Butterworth-Heinemann, (1997).
176. Jackson, C.; Larsen, B.; McEwen, C.: *Anal. Chem.*, **68**, 1303 (1996).

VIII. Tudományos közlemények és konferencia-részvételek

VIII.1. Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények

1. S. Kéki, L. Sz. Szilágyi, J. Török, Gy. Deák, M. Zsuga: High Aggregation Number Silver Clusters by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization: The Role of Matrices on the Gas-phase Reduction of Silver Ions, *J. Phys. Chem. B.* **107(20)**, 4818 (2003)
2. S. Kéki, L. Sz. Szilágyi, Gy. Deák, M. Zsuga: Identification and Fragmentation Study of Plasticizers with Post-source Decay Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **17(8)**, 783 (2003)
3. S. Kéki, L. Sz. Szilágyi, Gy. Deák, M. Zsuga: Effect of Different Alkali Metal Ions on the Cationization of Polyethylene Glycols in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry: A New Selectivity Parameter, *J. Mass Spectrom.* **37**, 1074 (2002)
4. Sándor Kéki, László Sz. Szilágyi, János Török, György Deák, Miklós Zsuga: A MALDI-TOF MS alkalmazása a kémiai szerkezet-felderítésben, *Studia Universitatis "Vasile Goldis", Arad, Seria B*, **3**, 11 (2001)

IF(összes): 8,87

VIII.2. Egyéb közlemények

1. J. Yun, R. Faust, L. Sz. Szilágyi, S. Kéki, M. Zsuga: Effect of Architecture on the Micellar Properties of Amphiphilic Block Copolymers: Comparison of AB Linear Diblock, A_2B_2 , A_3B_3 and $(AB)_3$ Star-Block Copolymers, *J. Macromol. Sci.* **A41(6)**, 613 (2004)
2. J. Yun, R. Faust, L. Sz. Szilágyi, S. Kéki, M. Zsuga: Effect of Architecture on the Micellar Properties of Amphiphilic Block Copolymers: Comparison of AB Linear Diblock, A^1A^2B and A_2B Heteroarm Star Block Copolymers, *Macromolecules*, **36(5)**, 1717 (2003)
3. J. Yun, R. Faust, L. Sz. Szilágyi, S. Kéki, M. Zsuga: Investigation of Architecture Effect on the Micellization of Hetero Three Arm A^1A^2B Star Block Copolymers: Poly(IB_1 -star- IB_2 -star-MeVE), *Polym. Prep.* **43**, 362 (2002)
4. Szilágyi L., Kéki S., Deák Gy., Zsuga M.: Poli(izobutilén)-poli(sztírol) diblokk kopolimerekből képződött micellák vizsgálata fényszórás fotometriával, *Műanyag és Gumi*, **363**, 10 (2000)

IF(összes): 4,30

VIII. 3. Az értekezés témájához kapcsolódó konferencia-részvételek

1. Szilágyi Sz. László, Kéki Sándor, Török János, Deák György, Zsuga Miklós: Ezüst-klaszterek előállítása MALDI körülmények között. *Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Arad, Románia (2003)
(előadás)
2. Szilágyi Sz. László: Szintetikus polimerek gőzfázisú kationizációja MALDI körülmények között. MTA Műanyag Munkabizottsági Ülés, Budapest 2003. április 28.
(előadás)
3. Szilágyi Sz. László, Kéki Sándor, Deák György, Zsuga Miklós: Ipari lágyítók meghatározása MALDI-TOF MS módszerrel, *VIII. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, Románia (2002. november 15-17.)
(előadás)
4. Kéki Sándor, Deák György, Szilágyi Sz. László, Zsuga Miklós: Önszerveződő rendszerek. *VIII. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, Románia (2002. november 15-17.)
(előadás)
5. László Sz. Szilágyi, Sándor Kéki, János Török, György Deák, Miklós Zsuga: A MALDI-TOF MS alkalmazása a kémiai szerkezet-felderítésben, *Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Arad, Románia (2001)
(előadás)

VIII. 4. Egyéb konferencia-részvételek

1. J. Yun, L. Sz. Szilágyi: Investigation of Architecture Effect on the Micellization of Hetero Three Arm A^1A^2B Star Block Copolymers: Poly(IB_1 -star- IB_2 -star-MeVE), *ACS Meeting*, Boston, MA, USA (2002)
(előadás)
2. Szilágyi Sz. L.: Poli(izobutilén)-poli(sztírol) diblokk kopolimerekből képződött micellák vizsgálata fényszórás fotometriával, *XXIV. OTDK konferencia*, Technológia „B” szekció, Veszprém (1999)
(előadás)

KATIONIZÁCIÓ VIZSGÁLATA MALDI KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a Kémia tudományágban

Írta: Szilágyi László okleveles vegyész

Készült a Debreceni Egyetem kémia doktori programja
(Makromolekuláris és Felületi Kémia alprogramja) keretében

Témavezető: Dr. Zsuga Miklós

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr. Posta József

tagok: Dr. Belina Károly

Dr. Dinya Zoltán

A doktori szigorlat időpontja: 2004. január 7.

Az értekezés bírálói:

Dr.

Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.

tagok: Dr.

Dr.

Dr.

Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 2004.