

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ
ΗΛΕΚΤΡΟΨΕΚΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΥΠΕΡΗΧΗΤΙΚΗΣ
ΕΚΝΕΦΩΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΙΟΝΤΩΝ
ΣΤΗΝ ΑΕΡΙΑ ΦΑΣΗ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΙΡΗΝΗ ΚΑΓΙΑΜΠΑΚΗ

A.M.: 1751

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΠΥΡΙΔΩΝ Α. ΠΕΡΓΑΝΤΗΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ

-2017-

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ
ΗΛΕΚΤΡΟΨΕΚΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΥΠΕΡΗΧΗΤΙΚΗΣ
ΕΚΝΕΦΩΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΙΟΝΤΩΝ
ΣΤΗΝ ΑΕΡΙΑ ΦΑΣΗ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΙΡΗΝΗ ΚΑΓΙΑΜΠΑΚΗ

A.M.: 1751

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΠΥΡΙΔΩΝ Α. ΠΕΡΓΑΝΤΗΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ

-2017-

UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
DIVISION: CHEMISTRY OF THE ENVIRONMENT AND ANALYTICAL
CHEMISTRY



**COMPARISON OF ELECTROSPRAY AND SONIC
SPRAY IONIZATION TECHNIQUES FOR THE
FORMATION OF GAS PHASE IONS**

BACHELOR THESIS

IRENE KAGIAMPAKI

S.N.: 1751

SUPERVISOR: SPYRIDON A. PERGANTIS

HERAKLION

-2017-

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Περγαντή Σπύρο που με καθοδήγησε, υποστήριξε και συμβούλεψε καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς και τον καθηγητή κύριο George R. Agnes από το Simon Fraser University στον Καναδά, που συνεργάστηκε με το εργαστήριο και μου έδωσε τη δυνατότητα να συμμετάσχω στην ερευνητική του εργασία.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω ιδιαίτερα το μεταπτυχιακό φοιτητή Λεωνίδα Μαυρουδάκη, που συνετέλεσε σε πολύ μεγάλο βαθμό για τη διεκπεραίωση αυτού του έργου. Επιπλέον, ευχαριστώ πολύ τους μεταπτυχιακούς φοιτητές Λευκοθέα Τρασανίδου και Εμμανουήλ Μαυράκη που με υποστήριξαν και βοήθησαν πολύ από την πρώτη στιγμή που εντάχθηκα στην ερευνητική ομάδα, καθώς και την προπτυχιακή φοιτήτρια Γεωργία Νικολακάκου για τις συμβουλές και τη βοήθειά της.

Ακόμη, ένα μεγάλο ευχαριστώ στο Πανεπιστήμιο Κρήτης για την παροχή της υλικοτεχνική υποδομής, χωρίς την οποία δε θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της εργασίας αυτής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την στήριξη και την ενθάρρυνση που μου παρέχουν τόσα χρόνια.

Always question, always wonder

Στην αδελφή μου Ελένη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή.....	2
1.1. Σκοπός	
1.2. Περίληψη	
2. Αναλυτικές τεχνικές.....	4
2.1. Φασματομετρία μάζας (φασματόμετρο, αναλυτής μαζών, ανιχνευτής)	
2.2. Πηγή ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό	
2.3. Πηγή ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης	
3. Πειραματικό μέρος.....	12
3.1. Αντιδραστήρια	
3.2. Οργανολογία	
3.3. Πειραματική διαδικασία	
4. Ανάλυση αποτελεσμάτων.....	21
4.1. Γενική μελέτη φασμάτων	
4.2. Σύγκριση αποτελεσμάτων των δύο τεχνικών	
5. Συμπεράσματα.....	54
6. Βιβλιογραφία.....	56

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Σκοπός

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διεξαγωγή φασματομετρικών αναλύσεων με πηγές ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης (Sonic Spray Ionization - SSI) και ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization - ESI) και η σύγκριση των αποτελεσμάτων όσον αφορά την ευαισθησία των δύο τεχνικών. Μέρος των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε από τον καθηγητή George R. Agnes από το τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Simon Fraser στο Burnaby της British Columbia στον Καναδά, για την μελέτη μέσω της παραπάνω σύγκρισης του μηχανισμού δημιουργίας ιόντων με την πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης, που μέχρι και σήμερα δεν έχει επιβεβαιωθεί. Συγκεκριμένα συγκρίθηκαν τα φάσματα μάζας από τις δύο τεχνικές για διαλύματα δικατιόντων $C_5(bpyr)_2^{2+}$ διαφορετικών συγκεντρώσεων που περιείχαν σταθερή συγκέντρωση βρωμικών ανιόντων (BrO_3^-) και μελετήθηκαν τα ιοντικά ζεύγη που δημιουργήθηκαν, τα ελεύθερα ιόντα και τα θραύσματα αυτών. Επιπλέον, μελετήθηκαν τα φάσματα μάζας με SSI και ESI για το STFA (sodium trifluoroacetate), τα BrO_3^- και τα $C_5(bpyr)_2^{2+}$ με αυξανόμενη θερμοκρασία τριχοειδούς σωλήνα μεταφοράς ιόντων και αυξανόμενου δυναμικού επιτάχυνσης των ιόντων (Source fragmentation). Τέλος, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για την εύρεση της βέλτιστης θέσης του εκνεφωτή SSI σε σχέση με την είσοδο του φασματομέτρου μάζας ώστε να γίνεται λήψη του μέγιστου σήματος. Επιπλέον στόχος της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας ήταν η εξοικείωσή με σύγχρονες αναλυτικές τεχνικές όπως αυτή της φασματομετρίας μάζας αλλά και γενικότερα με την οργάνωση και αυτόνομη εκτέλεση πειραμάτων σε εργαστηριακό χώρο.

1.2. Περίληψη

Η εκπόνηση της παρούσας εργασίας είχε ως στόχο τη σύγκριση των τεχνικών ιοντισμού ηλεκτροψεκασμού και υπερηχητικής εκνέφωσης για την ανάλυση δειγμάτων δικατιόντων $C_5(bpyr)_2^{2+}$ διαφορετικών συγκεντρώσεων με BrO_3^- , STFA και BrO_3^- . Τα φάσματα που λήφθηκαν για κάθε δείγμα με τις δύο τεχνικές συγκρίθηκαν ως προς την ένταση των κορυφών και την ευαισθησία της τεχνικής, καθώς επίσης και για τη θραυσματοποίηση που παρουσίασαν με αυξανόμενη θερμοκρασία τριχοειδούς και αυξανόμενο δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων βρέθηκε ότι η πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης δίνει μεγαλύτερης έντασης σήμα στην ανάλυση των διαλυμάτων με το δικατιόν $C_5(bpyr)_2^{2+}$ και τα ανιόντα BrO_3^- μέχρι και δύο τάξεις μεγέθους σε σχέση με την πηγή ηλεκτροψεκασμού. Αντίθετα, για το STFA μεγαλύτερη ένταση κορυφών παρέχει η πηγή ηλεκτροψεκασμού. Επιπλέον, η θερμοκρασία αυξάνει τη θραυσματοποίηση των BrO_3^- και του STFA ιδιαίτερα με την πηγή ESI, ενώ η δημιουργία του ιοντικού ζεύγους $[C_5(bpyr)_2BrO_3]^+$ ευνοείται. Με την αύξηση του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή παρατηρείται μείωση σήματος και άρα θραυσματοποίηση, ξανά μεγαλύτερη με την πηγή ESI, στο STFA καθώς και στα βρωμικά ανιόντα αλλά και για το ιοντικό ζεύγος $[C_5(bpyr)_2BrO_3]^+$. Επιπλέον,

επιβεβαιώθηκε και με άλλο πείραμα η βέλτιστη θέση του εκνεφωτή για το SSI και συμπεράστηκε ότι το μέγιστο σήμα επιτυγχάνεται όταν ο εκνεφωτής βρίσκεται 0.5 mm αριστερά από την είσοδο του φασματομέτρου μάζας και 1 mm μακριά από αυτήν. Γενικά, η τεχνική της υπερηχητικής εκνέφωσης είναι πολλά υποσχόμενη και έχει πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με την τεχνική του ηλεκτροψεκασμού, καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση δειγμάτων που είναι ασταθή παρουσία υψηλής θερμοκρασίας και δυναμικού.

1.2. Abstract

The purpose of this study was the comparison of electrospray and sonic spray ionization techniques for the analysis of solutions with $C_5(bpyr)_2^{2+}$ dications of varying concentrations and BrO_3^- ions, STFA and BrO_3^- ions. The spectra received for each solution using the two techniques were compared with respect to the intensity of the peaks and the sensitivity of each technique, as well as for the fragmentation caused with increasing capillary temperature and source fragmentation voltage. From the results of the experiments it was concluded that the sonic spray ionization source provides higher signal for the analysis of the $C_5(bpyr)_2^{2+}$ dications and BrO_3^- anions up to two orders of magnitude in comparison to the electrospray ionization source. On the contrary, the electrospray ionization source results in higher intensity for the STFA ions. Moreover, the fragmentation of the BrO_3^- and STFA ions increases with capillary temperature, especially when using the ESI source, while the formation of the ion pair $[C_5(bpyr)_2BrO_3]^+$ is enhanced. Increase of the source fragmentation voltage causes a reduction of the signal and thus, fragmentation, again higher when using the ESI source for the analysis of STFA, BrO_3^- , as well as for $[C_5(bpyr)_2BrO_3]^+$. In addition, with another experiment the most optimized position of the SSI nebulizer was confirmed and it was concluded that the maximum signal is achieved when the nebulizer is placed 0.5 mm on the left of the entrance of the mass spectrometer and 1.0 mm away from it. In general, sonic spray ionization technique is very promising and has many advantages compared to electrospray, since it can be used for the analysis of samples which are unstable under at high temperature and voltage.

2. ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

2.1. Φασματομετρία μάζας^{1 2 3}

Η τεχνική αυτή μελετά τη μάζα ατόμων ή μορίων και θραυσμάτων τους και μπορεί να παρέχει πληροφορίες για τη δομή των μορίων του εξεταζόμενου δείγματος, για τη στοιχειακή του σύσταση, την ισοτοπική αναλογία των ατόμων, καθώς και για την ποιοτική και ποσοτική σύσταση. Για την πραγματοποίηση ενός φασματομετρικού προσδιορισμού, τα άτομα ή τα μόρια του δείγματος πρέπει να ιοντιστούν έτσι ώστε να διαχωριστούν στη συνέχεια από το φασματομέτρο μάζας με βάση το λόγο μάζα προς φορτίο τους. Σε αντίθεση με τα διάφορα είδη φασματοσκοπίας (IR, UV-Vis, NMR), που δίνουν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ώστε το μόριο να μεταβεί από τη θεμελιώδη σε μία διεγερμένη κατάσταση και τελικά να επιστρέψει στην αρχική, χωρίς να καταστρέψει το μόριο, η φασματομετρία μάζας χαρακτηρίζεται ως καταστρεπτική μέθοδος ανάλυσης. Αυτό συμβαίνει επειδή στην τελευταία χρησιμοποιούνται ιόντα τα οποία περνάνε σε σύστημα κενού οπότε είναι αδύνατη η ανάκτησή τους. Η απόκριση του ανιχνευτή στο λόγο μάζας προς φορτίο απεικονίζεται σ' ένα διάγραμμα της έντασης των κορυφών ως προς το λόγο m/z και ονομάζεται φάσμα μάζας. Το εμβαδόν της κάθε κορυφής είναι ανάλογο της ποσότητας του φορτισμένου ατόμου, μορίου ή θραύσματος που αντιστοιχεί σ' αυτήν.

Τα φασματομέτρα μάζας αποτελούνται από τέσσερα βασικά τμήματα: την πηγή ιοντισμού που μετατρέπει τα άτομα και μόρια του δείγματος σε ιόντα στην αέρια φάση, τον αναλυτή μαζών ο οποίος διαχωρίζει τα δημιουργούμενα ιόντα με βάση το λόγο m/z , τον ανιχνευτή και το καταγραφικό. Το όργανο λειτουργεί υπό κενό (πολύ χαμηλή πίεση της τάξης των 10^{-6} Torr) κι αυτό γιατί το νήμα πυρακτώσεως που υπάρχει σε κάποιες πηγές ιοντισμού θα οξειδωνόταν και θα καιγόταν υπό κανονική ατμοσφαιρική πίεση. Επιπλέον, η χαμηλή πίεση βοηθάει τις λιγότερο πτητικές ουσίες να εξατμιστούν. Τέλος, η ύπαρξη κενού αποτρέπει τα ιόντα από το να συγκρούονται με μόρια του αέρα, πράγμα το οποίο θα προκαλούσε μη αποτελεσματική επιτάχυνση από τα πλακίδια υψηλού δυναμικού του οργάνου και τα ιόντα τελικά δε θα έφταναν στον ανιχνευτή.

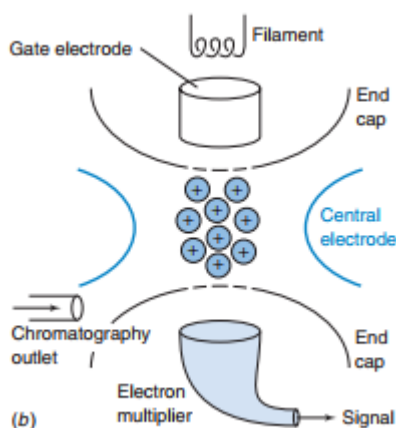
Ξεκινώντας από τις πηγές ιοντισμού, αυτές χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες: στις πηγές αέριας φάσης και εκρόφησης. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν ο χημικός ιοντισμός (CI) και η πρόσκρουση ηλεκτρονίων ή αλλιώς ηλεκτρονιακός ιοντισμός (EI). Στη δεύτερη υπάγονται οι παρακάτω πηγές ιοντισμού: εκρόφηση πεδίου (FD), ιοντισμός πεδίου (FI), ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό (ESI), ιοντισμός υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI), ιοντισμός εκρόφησης με τη βοήθεια υλικού μήτρας (MALDI), εκρόφηση πλάσματος (PD), εκρόφησης λέιζερ (LD), βομβαρδισμός με άτομα μεγάλης ταχύτητας (FAB), δευτερογενούς ιόντος (SIMS) και ιοντισμός με θερμοψεκασμό (TS). Οι δύο τεχνικές ιοντισμού που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία θα αναλυθούν εκτενώς σε επόμενο τμήμα.

¹ (Harris, 2007)

² (D.A. Skoog, 2007)

³ (Barker, 1999)

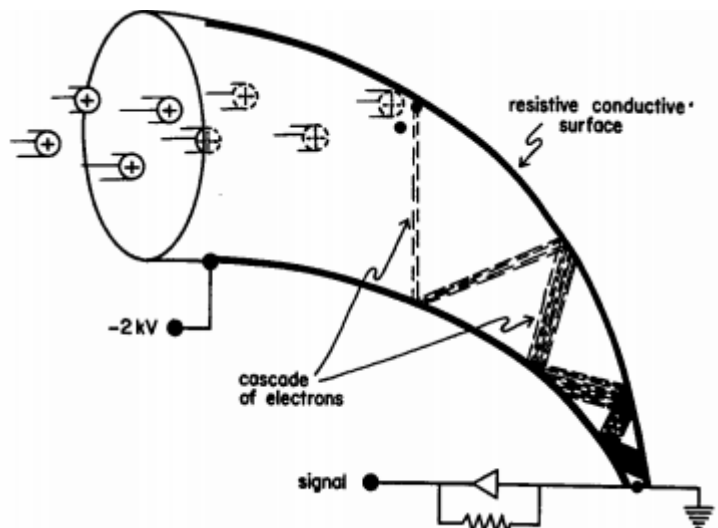
Αμέσως μετά την πηγή ιοντισμού στη διάταξη του φασματομέτρου, ακολουθεί ο αναλυτής μάζας. Αυτός μπορεί να είναι διπλής εστίασης που συνδυάζει ηλεκτρικό και μαγνητικό πεδίο για να επιτύχει υψηλή διαχωριστική ικανότητα, τετραπολικός αναλυτής μαζών, παγίδευσης ιόντων, χρόνου πτήσης και κινητικότητα ιόντος. Για την εκπόνηση των πειραμάτων στα πλαίσια της εργασίας αυτής χρησιμοποιήθηκε τετραπολικό φασματόμετρο μάζας παγίδευσης ιόντων LCQ Advantage της Thermo Finnigan. Σ' αυτό το είδος αναλυτών μάζας, τα δημιουργούμενα ιόντα παγιδεύονται για λίγο χρόνο με τη βοήθεια μεταβαλλόμενου (AC) και στατικού (DC) ηλεκτρικού πεδίου. Η διάταξη αποτελείται από ένα κεντρικό δακτυλιοειδές ηλεκτρόδιο και δύο γειωμένα πλευρικά κάλυπτρα-ηλεκτρόδια. Τα ηλεκτρόνια που δημιουργεί η πηγή ιοντισμού φτάνουν αρχικά στο πάνω ηλεκτρόδιο και το δυναμικό ραδιοσυχνοτήτων που ξεκινάει να μεταβάλλεται. Για κάθε τιμή της ραδιοσυχνότητας που παρέχουν τα δακτυλιοειδή ηλεκτρόδια, ιόντα με διαφορετικό λόγο m/z συντονίζονται κάθε φορά και εκτελούν κυκλική τροχιά εντός της εσωτερικής κοιλότητας μεταξύ των ηλεκτροδίων. Τα υπόλοιπα ιόντα που δεν συντονίζονται, προσκρούουν στα τοιχώματα και δεν φτάνουν στον ανιχνευτή. Με την αύξηση του δυναμικού ραδιοσυχνοτήτων συντονίζονται ιόντα με μεγαλύτερο λόγο μάζας προς φορτίο. Τα εξερχόμενα ιόντα καταλήγουν στον ανιχνευτή και δίνουν σήμα. Βέβαια, στην ιοντική παγίδα, σε κάθε m/z τα μισά από τα συνολικά ιόντα καταλήγουν τελικά στον ανιχνευτή με αποτέλεσμα η διακριτική ικανότητα να είναι 1/1000 και σε αντίθεση με τα τετραπολικά φασματόμετρα, η ευαισθησία είναι αυξημένη 10 έως 100 φορές.



Εικόνα 1: Αναλυτής μάζας παγίδευσης ιόντων (Harris, 2007)

Πιθανοί ανιχνευτές που βρίσκονται μετά τον αναλυτή μάζας είναι οι ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές, το φαρανταϊκό κύπελο, συστοιχίες μεταλλακτών, φωτογραφικές πλάκες και φιλμ και μεταλλάκτες τύπου σπινθηριστή. Στο φασματόμετρο που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα υπήρχε ηλεκτρονιοπολλαπλαστής ως ανιχνευτής. Γενικότερα απαντώνται δύο τύποι ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστών, αυτοί με διακριτές δυνόδους κι αυτοί συνεχούς δυνόδου. Στην πρώτη περίπτωση η επιφάνεια της καθόδου και των δυνόδων είναι καλυμμένη με Cu/Be. Όταν, λοιπόν, ιόντα ή ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας προσπέσουν στην επιφάνειά τους, εκπέμπουν ηλεκτρόνια, τα οποία στη συνέχεια έλκονται από την επόμενη δύνοδο και η διαδικασία επαναλαμβάνεται για το καθένα από τα δημιουργούμενα ηλεκτρόνια πολλές φορές μέχρι την τελευταία δύνοδο, με αποτέλεσμα να παράγονται πάρα πολλά ηλεκτρόνια

για κάθε ένα από τα αρχικά και έτσι το σήμα να ενισχύεται θεαματικά. Όσον αφορά τους ανιχνευτές συνεχούς δυνόδου, αυτοί λειτουργούν με τον ίδιο τρόπο με τη διαφορά ότι είναι κατασκευασμένοι από ύαλο που περιέχει μόλυβδο και έχουν σχήμα τρομπέτας. Το υλικό αυτό έχει χαμηλή αγωγιμότητα και με την εφαρμογή δυναμικού και τη δημιουργία διαφοράς δυναμικού, τα ηλεκτρόνια ή ιόντα που προσκρούονται στην επιφάνειά του δημιουργούν ριπές ηλεκτρονίων που καταλήγουν λόγω έλξης σε κάποιο άλλο σημείο του σωλήνα με υψηλότερο δυναμικό. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρι το τέλος του σωλήνα και ενισχύει το σήμα συνήθως όχι τόσο όσο οι ανιχνευτές διακριτών δυνόδων.



Εικόνα 2: Ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής συνεχούς δυνόδου (αναφορά στην πηγή του σχήματος) (D.A. Skoog, 2007)

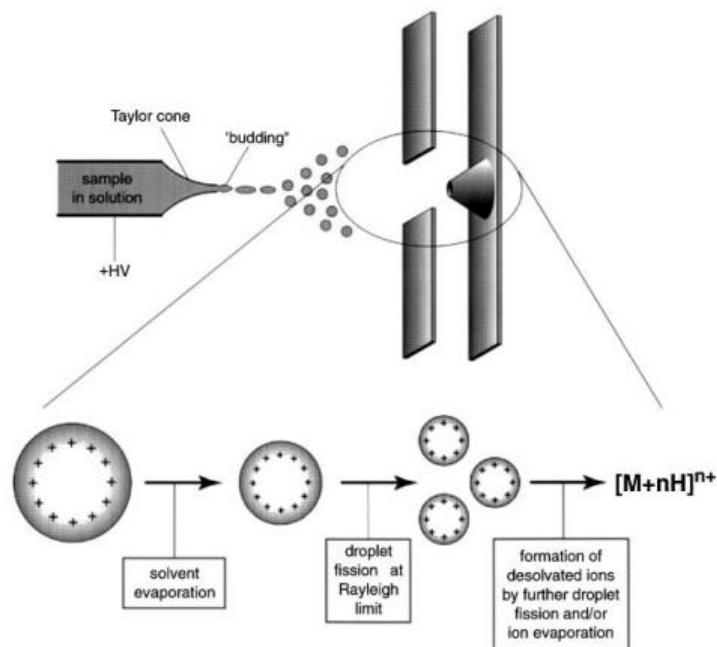
Τέλος, η διάταξη ολοκληρώνεται με το καταγραφικό, το οποίο είναι συνήθως ένας υπολογιστής. Αυτός έχει διπλό ρόλο, καθώς μέσω αυτού ελέγχονται οι λειτουργίες του οργάνου και γίνεται ο χειρισμός του αλλά παράλληλα πραγματοποιεί την ψηφιοποίηση του ρεύματος που δημιουργείται από τα ιόντα στον ανιχνευτή, έτσι ώστε να μπορέσει να καταγραφεί σαν σήμα στο σχηματιζόμενο φάσμα μάζας. Το φασματόμετρο διαθέτει, επιπλέον, μικροεπεξεργαστές που ελέγχουν τη λειτουργία των τμημάτων του αλλά και μεταφέρουν πληροφορίες από το όργανο στον υπολογιστή και αντίστροφα. Η μεγαλύτερη κορυφή στο φάσμα μάζας είναι αναφορική και ορίζεται ως 100 στην κλίμακα της έντασης και οι υπόλοιπες κορυφές έχουν σχετική ένταση με βάση την αναφορική.

2.2. Πηγή ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό⁴

Η τεχνική αυτή είναι από τις πιο σύγχρονες μεθόδους ιοντισμού και μάλιστα τις πιο ήπιες, καθώς λειτουργεί υπό ατμοσφαιρική πίεση και θερμοκρασία. Χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση μεγάλων βιομορίων, όπως π.χ. πρωτεϊνών με μοριακό βάρος πάνω από 100.000 Da. Μπορεί, όμως, να χρησιμοποιηθεί και για ανόργανες ουσίες, όπως έγινε στην παρούσα εργασία αλλά και για πολυμερή. Η ανακάλυψη αυτής της

⁴ (D.A. Skoog, 2007)

μεθόδου ιοντισμού έγινε το 1984 από τους Masamichi Yamashita και John Fenn⁵ και βασίζεται στη διέλευση του διαλύματος που περιέχει τους αναλύτες από τριχοειδή σωλήνα, ενώ παράλληλα εφαρμόζεται δυναμικό. Στη δημοσίευση του Simon J. Gaskell⁶ όσον αφορά τις βασικές αρχές της τεχνικής του ηλεκτροσπασμού, αναλύεται ο μηχανισμός ο οποίος μπορεί να χωριστεί σε τρία στάδια, αυτά της δημιουργίας των σταγονιδίων, της συρρίκνωσής τους και τέλος της δημιουργίας ιόντων στην αέρια φάση. Με την εφαρμογή του δυναμικού και καθώς το διάλυμα ρέει μέσα από τον τριχοειδή σωλήνα, το υγρό σχηματίζει στην άκρη αυτού μια κωνοειδή μορφή που ονομάζεται κώνος Taylor. Αυτός, όταν το δυναμικό που εφαρμόζεται στον τριχοειδή είναι αρκετά υψηλό, καταλήγει σε μια λεπτή «δέσμη» υγρού, η οποία παράγει φορτισμένα σταγονίδια ανάλογα με το είδος του εφαρμοζόμενου δυναμικού. Τα σταγονίδια αυτά δημιουργούνται όταν η ηλεκτροστατική άπωση μεταξύ των ιόντων στο διάλυμα ξεπεράσει την επιφανειακή τάση του υγρού. Το στάδιο της συρρίκνωσης των σταγονιδίων γίνεται καθώς εξατμίζεται ο διαλύτης από τα σταγονίδια, με αποτέλεσμα η πυκνότητα φορτίου στα σταγονίδια να αυξάνεται. Όταν η συνολική ηλεκτροστατική δύναμη λόγω του φορτίου που έχει συγκεντρωθεί στη σταγόνα γίνει μεγαλύτερη από την επιφανειακή τάση που συγκρατεί την σταγόνα και ξεπεραστεί, δηλαδή, το λεγόμενο όριο Rayleigh, τότε επέρχεται η σχάση της σταγόνας σε μικρότερα σταγονίδια. Αυτά με τη σειρά τους συρρικνώνονται και αποκτούν μεγάλη πυκνότητα φορτίου μέσω εξάτμισης διαλύτη και ακολουθεί η σχάση τους, με την ίδια διαδικασία να επαναλαμβάνεται έως ότου δημιουργηθούν σταγονίδια που περιέχουν μόνο ένα ιόν και τελικά ιόντα στην αέρια φάση. Τα στάδια που μόλις περιεγράφηκαν αποδίδονται και σχηματικά στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 3: Στάδια δημιουργίας μονοφορτισμένων σταγονιδίων με πηγή ιοντισμού ESI (πηγή σχήματος) (Gaskell, 1997)

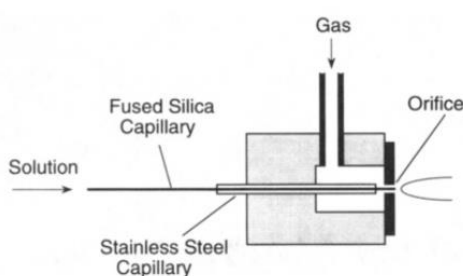
⁵ (Masamichi Yamashita, 1984)

⁶ (Gaskell, 1997)

Όπως αναφέρει και στο βιβλίο του Richard B. Cole με τίτλο «Electrospray Ionization Mass Spectrometry»⁷ οι παλαιότερες τεχνικές ιοντισμού επέτρεπαν την ανάλυση θερμικά σταθερών ενώσεων, με σχετικά μικρό μοριακό βάρος όπως πεπτίδια και μικρές πρωτεΐνες. Όταν, όμως, εισήχθη η τεχνική του ηλεκτροψεκασμού τη δεκαετία του '80, οι εφαρμογές της φασματομετρίας μάζας επεκτάθηκαν πολύ. Έγινε, έτσι, δυνατή η ανάλυση μεγαλύτερων μορίων, ακόμα και θερμικά πιο ευαίσθητων, αλλά και η άμεση σύνδεση της φασματομετρίας μάζας με την υγρή χρωματογραφία. Πιθανές εφαρμογές της τεχνικής είναι για την ανάλυση φυσικών προϊόντων, συνθετικών ενώσεων, υδατανθράκων, μακρομορίων όπως DNA και πρωτεΐνες καθώς και για φαρμακευτικές ουσίες, ναρκωτικά, πολυμερή, ανόργανες και οργανικές ενώσεις ακόμα και μικύλλια.

2.3. Πηγή ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης

Μια δεκαετία μετά την εισαγωγή της πηγής ηλεκτροψεκασμού ως τεχνική ιοντισμού, έκανε την εμφάνισή της η τεχνική της υπερηχητικής εκνέφωσης, βασισμένη στην ίδια φιλοσοφία με το ESI αλλά με κάποιες διαφορές. Η ανακάλυψη έγινε από τον Atsumu Hirabayashi και τους συνεργάτες του και όπως αναφέρουν στην πρώτη δημοσίευση⁸ που έκαναν το 1994 και αναφέρεται στη νέα αυτή τεχνική ιοντισμού, η εκνέφωση γίνεται και εδώ σε ατμοσφαιρική πίεση και θερμοκρασία περιβάλλοντος, αλλά αυτή τη φορά χωρίς την εφαρμογή δυναμικού. Μια δεκαετία μετά την εισαγωγή της πηγής ηλεκτροψεκασμού ως τεχνική ιοντισμού, έκανε την εμφάνισή της η τεχνική της υπερηχητικής εκνέφωσης, βασισμένη στην ίδια φιλοσοφία με το ESI αλλά με κάποιες διαφορές. Η ανακάλυψη έγινε από τον Atsumu Hirabayashi και τους συνεργάτες του και όπως αναφέρουν στη δημοσίευση που έκαναν το 1994 η οποία αναφέρεται στη νέα αυτή τεχνική ιοντισμού, η εκνέφωση γίνεται και εδώ σε ατμοσφαιρική πίεση και θερμοκρασία περιβάλλοντος, αλλά αυτή τη φορά χωρίς την εφαρμογή δυναμικού. Αναφέρεται, ακόμη, ότι η πηγή ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης (πηγή SSI) μπορεί να συνδεθεί με τριχοειδή ηλεκτροφόρησης και με υγρό χρωματογράφο και η διάταξή της είναι η εξής:



Εικόνα 4: Τμήματα της πηγής ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης (πηγή) (Atsumu Hirabayashi, 1994)

Όπως φαίνεται και στην εικόνα ο εκνεφωτής αποτελείται από έναν κεντρικό τριχοειδή σωλήνα τηγμένης πυριτίας, ο οποίος επειδή είναι ιδιαίτερα ευέλικτος στηρίζεται διερχόμενος μέσα από έναν δεύτερο ατσάλινο τριχοειδή σωλήνα μεγαλύτερης διαμέτρου. Το σύστημα των τριχοειδών καταλήγει σε ένα ακροφύσιο με τον τριχοειδή

⁷ (Cole, 1997)

⁸ (Atsumu Hirabayashi, Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry, 1994)

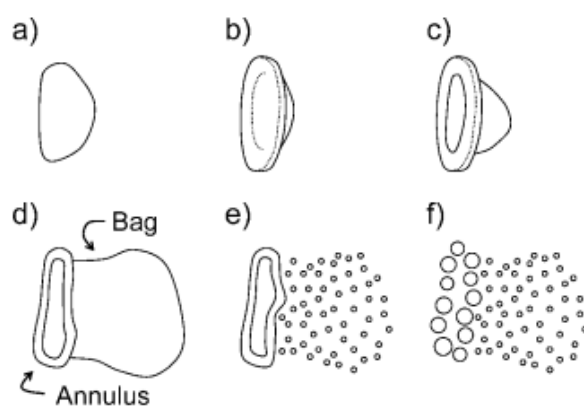
τηγμένης πυριτίας να είναι κεντραρισμένος με αυτό και να προεξέχει κατά 0.6 mm. Μέσα από το ακροφύσιο διέρχεται ρεύμα αερίου αζώτου προς το περιβάλλον. Καθώς, λοιπόν, το διάλυμα που αναλύεται διέρχεται μέσα από τον τριχοειδή, ενώ παράλληλα περνάει αέριο άζωτο από το ακροφύσιο, σχηματίζεται ένα είδος σπρέι με σταγονίδια και ιόντα.

Ο μηχανισμός δημιουργίας ιόντων στην αέρια φάση⁹ με την χρήση αυτής της τεχνικής ιοντισμού δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως αλλά είναι γνωστό πως γίνεται αεροδυναμική σχάση των σταγονιδίων. Για τη μελέτη της σχάσης αυτής χρησιμοποιείται η παράμετρος Weber που περιγράφεται από την εξίσωση:

$$We = \frac{\rho_G v^2 d}{\sigma}$$

Όπου ρ_G η πυκνότητα αερίου, v η σχετική ταχύτητα του αερίου, d η διάμετρος της σταγόνας και σ η επιφανειακή τάση στη σταγόνα. Για να πραγματοποιηθεί αεροδυναμική σχάση απαιτείται ο αριθμός Βέμπερ (We) να είναι μεγαλύτερος από 10. Τέσσερις είναι οι μηχανισμοί που προτείνονται και είναι οι εξής κατά αυξανόμενο αριθμό We : α) μηχανισμός της σακούλας, β) μηχανισμός σακούλας-πήδακα, γ) μηχανισμός μετάβασης και δ) μηχανισμός διάτμισης.

Η σχάση με το μηχανισμό σακούλας πραγματοποιείται σε μια σειρά σταδίων που προσομοιάζουν το σχηματισμό σακούλας εξ' ου και το όνομα του μηχανισμού. Αρχικά, λοιπόν, η σταγόνα που δημιουργείται από τον εκνεφωτή γίνεται επίπεδη και ακολούθως σχηματίζεται ένα κοίλωμα στο κέντρο της σταγόνας το οποίο αυξάνεται δημιουργώντας μια σακούλα που έχει ως βάση έναν δακτύλιο. Σε επόμενο στάδιο το κοίλωμα σπάει δημιουργώντας μικρά σταγονίδια και τέλος σπάει και ο δακτύλιος δημιουργώντας σταγονίδια μεγαλύτερης διαμέτρου. Η διαδικασία σχάσης της σταγόνας φαίνεται στην εικόνα που ακολουθεί.



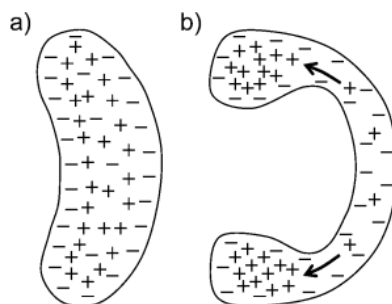
Εικόνα 5: Αεροδυναμική σχάση σταγονιδίων με το μηχανισμό σακούλας (Lloyd W. Zilch, 2008)

Στο εσωτερικό της σταγόνας τα μόρια του νερού είναι παρόντα ως ηλεκτρικά δίπολα. Σύμφωνα με τον Zilch et al. (2008)¹⁰ το νερό έχει θετικό επιφανειακό δυναμικό κι έτσι για εξισορρόπηση φορτίων τα δίπολα προσανατολίζονται με τον αρνητικό πόλο

⁹ (Lloyd W. Zilch, 2008)

¹⁰ (Lloyd W. Zilch, 2008)

στραμμένο στη διεπιφάνεια νερού-ατμόσφαιρας. Κατά την αεροδυναμική σχάση με το μηχανισμό σακούλας, το κοίλωμα έχει τη μορφή λεπτής στοιβάδας στην οποία τα μόρια του νερού έρχονται σε επαφή με την ατμόσφαιρα πολύ περισσότερο από ότι στον δακτύλιο. Έτσι, τα αρνητικά ιόντα της σταγόνας συσσωρεύονται κυρίως στη «σακούλα» που δημιουργείται και τα θετικά φορτία στο εσωτερικό του δακτυλίου, όπως παρουσιάζεται και στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 6: Κατανομή των φορτίων στο εσωτερικό της σταγόνας κατά τον σχηματισμό «σακούλας» (Lloyd W. Zilch, 2008)

Έτσι μετά την σχάση της σακούλας θα δημιουργηθούν πολλές σταγόνες μικρής διαμέτρου με αρνητικό φορτίο και αφού πραγματοποιηθεί και η σχάση του δακτυλίου θα προκύψουν και σταγόνες μεγαλύτερης διαμέτρου με θετικό φορτίο. Στις μικρές φορτισμένες σταγόνες το φορτίο είναι κυρίως αρνητικό και πολλές φορές δεν μπορεί να ανιχνευτεί. Γι' αυτό με την τεχνική ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης παρατηρούνται περισσότερο θετικά φορτία αφού πιο εύκολα ανιχνεύεται το φορτίο στις μεγαλύτερες σταγόνες.

Η τεχνική του ιοντισμού με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης έχει διευρύνει ακόμη περισσότερο τις εφαρμογές της φασματομετρίας μάζας, καθώς με την απουσία δυναμικού στην πηγή είναι κατάλληλη και για πολύ ευαίσθητες ενώσεις. Χαρακτηριστικά σε δημοσίευση των Dams et al. (2002)¹¹ οι οποίοι ανέλυσαν αλκαλοειδή του οπίου σε δείγματα ηρωίνης χρησιμοποιώντας και τις δύο τεχνικές (ESI και SSI) διαπίστωσαν ότι το σήμα που λάμβαναν με την πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης ήταν υψηλότερο για κάποιες ενώσεις όπως η μορφίνη. Σε άλλη δημοσίευση των Wang et al. (2007)¹² που αναφέρεται στην ανάλυση διαγονιδιακών καλαμποκιών για την ύπαρξη ή όχι γλυκανών στις γλυκοπρωτεΐνες πάλι ανέδειξε το SSI ως καταλληλότερη τεχνική ιοντισμού. Η παρουσία των γλυκανών ελέγχθηκε μέσω της παρουσίας παραγώγων μονοσακχαριτών, που είναι ιδιαίτερα ασταθείς ενώσεις και επομένως, επηρεάζονται πολύ από την ύπαρξη δυναμικού, κάνοντας, έτσι, την τεχνική ESI λιγότερο ευαίσθητη. Η πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης αποδείχθηκε καταλληλότερη και για την ανάλυση θερμικά ασταθών ενώσεων που περιέχονται στα κρασιά όπως αναφέρουν και οι Kovacs et al. (2004)¹³. Σύμφωνα με αυτή τη δημοσίευση, παρόλο που και με τις δύο τεχνικές το φάσμα μάζας στο θετικό ιοντισμό είναι παρόμοιο, στον αρνητικό ιοντισμό με SSI το φάσμα μάζας είναι απλούστερο χωρίς την παρουσία διμερών και προσθέτων και δίνει περισσότερες κορυφές από το ESI. Το πρόβλημα

¹¹ (Riet Dams, 2002)

¹² (Tongwen Wang, 2007)

¹³ (Zsuzsanna Kovács, 2004)

χαρακτηρισμού των ενώσεων λόγω έλλειψης πολλών θραυσμάτων μπορεί να ξεπεραστεί με την εισαγωγή MS/MS μετά την πηγή ιοντισμού για τη δημιουργία παράγωγων ιόντων. Μία πολύ σημαντική υπεροχή της τεχνικής SSI αναδείχθηκε μέσα από τη δημοσίευση των Qi Lia et al. (2000)¹⁴ για την ανάλυση θεικών 17-κετοστεροειδών και γλυκουρονιδίων. Σύμφωνα με τη μελέτη, για το διαχωρισμό των συμπλόκων που δημιουργούν τα 17-κετοστεροειδή απαιτείται παρουσία υψηλή συγκέντρωση οξικού αμμωνίου, η οποία όμως μειώνει το σήμα με πηγή ESI κατά 95%. Αυτό συμβαίνει επειδή το οξικό αμμώνιο είναι ασταθές στις υψηλές θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται στο ESI και ιδιαίτερα κατά την παρουσία νερού. Από την άλλη, η πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης ήταν πολύ αποτελεσματική, αφού μπορεί να υποστηρίξει πολλούς διαφορετικούς διαλύτες και πολλές διαφορετικές ροές. Έτσι, βρέθηκε ότι το SSI είναι 20 φορές πιο ευαίσθητη τεχνική από το ESI για την πραγματοποίηση της συγκεκριμένης ανάλυσης. Επιπλέον, σε ανάλυση ισομερών παραγοντοποιημένων ολιγοσακχαριτών που πραγματοποίησαν οι Takegawa et al. (2004)¹⁵ φαίνεται το SSI να δίνει δύο φορές μεγαλύτερο σήμα από το ESI. Συμπεραίνουμε, λοιπόν, ότι η τεχνική ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης, υπερτερεί σε πολλές περιπτώσεις έναντι του ηλεκτροψεκασμού, είναι πιο ευαίσθητη και κατάλληλη για ανάλυση ασταθών ενώσεων γι' αυτό και οι εφαρμογές της είναι ευρείς.

¹⁴ (Qi Jia, 2001)

¹⁵ (Yasuhiro Takegawa, 2004)

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. Αντιδραστήρια

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- Διάλυμα $C_5(bpyr)_2F_2$ (1,5-pentanediy1-bis(1-butylpyrrolidinium) difluoride) 0.0025 M
- $NaBrO_3$ (βρωμικό νάτριο) Mr: 150.9gr/mol
- Διάλυμα STFA (Sodium Trifluoroacetate – Τριφθοροξικό νάτριο) (Ο τρόπος παρασκευής του διαλύματος παρατίθεται στη βιβλιογραφία)¹⁶
- Διαλύτης MeOH
- Nanopure water

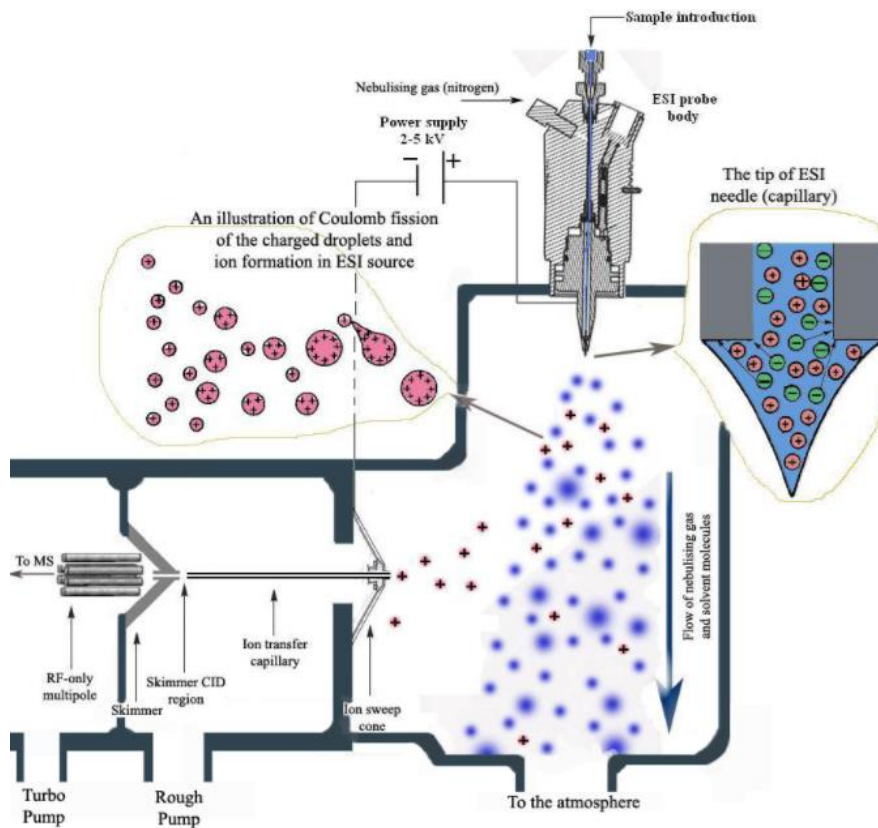
3.2. Οργανολογία

Για την εκπόνηση των πειραμάτων στα πλαίσια της εργασίας αυτής χρησιμοποιήθηκε τετραπολικό φασματόμετρο μάζας παγίδευσης ιόντων LCQ Advantage της Thermo Finnigan με πηγές ιοντισμού ηλεκτροψεκασμού και υπερηχητικής εκνέφωσης.

Ο τρόπος λειτουργίας του φασματομέτρου παγίδευσης ιόντος, καθώς και του ανιχνευτή έχει εξηγηθεί νωρίτερα, γι' αυτό εδώ θα γίνει εκτενέστερη αναφορά στις δύο πηγές ιοντισμού που χρησιμοποιήθηκαν.

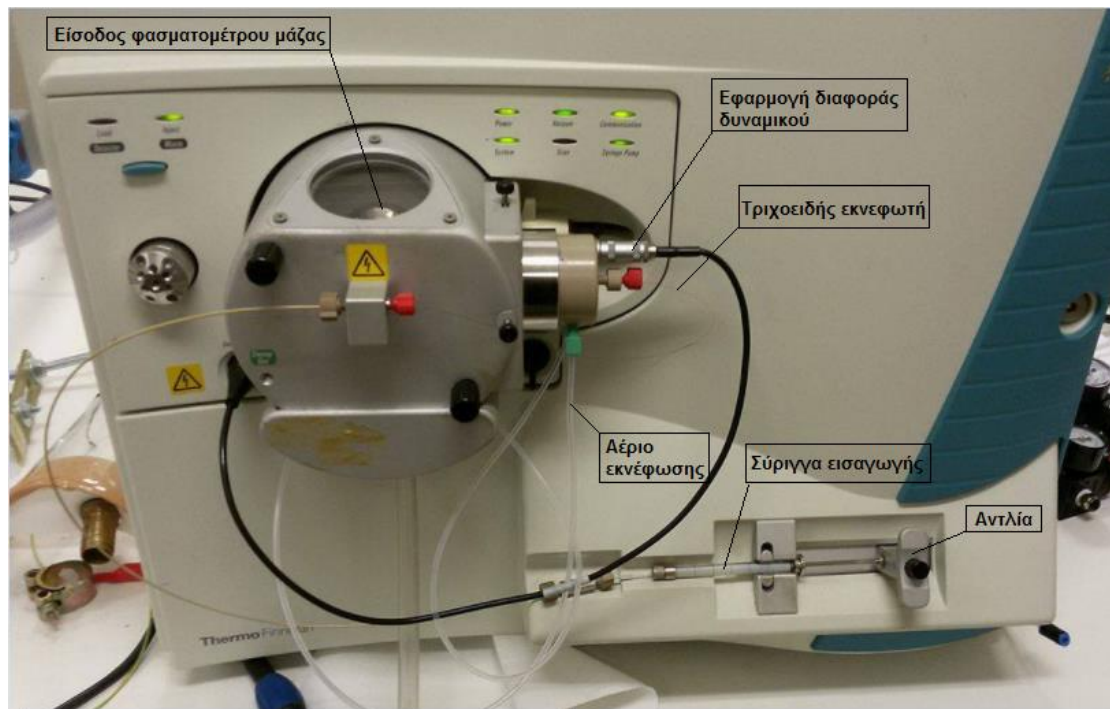
Στην πηγή ηλεκτροψεκασμού το δείγμα φορτώνεται σε μία σύριγγα, στη συνέχεια αυτή συνδέεται με έναν τριχοειδή σωλήνα και τοποθετείται σε αντλία που πιέζει το έμβολο της σύριγγας, ωθώντας το διάλυμα προς το θάλαμο του ηλεκτροψεκασμού με σταθερή ταχύτητα ροής. Σε αυτό το θάλαμο καταλήγει ο τριχοειδής και στην άκρη του εφαρμόζεται διαφορά δυναμικού με την είσοδο στο MS.

¹⁶ (Mehdi Moinia, 1998)



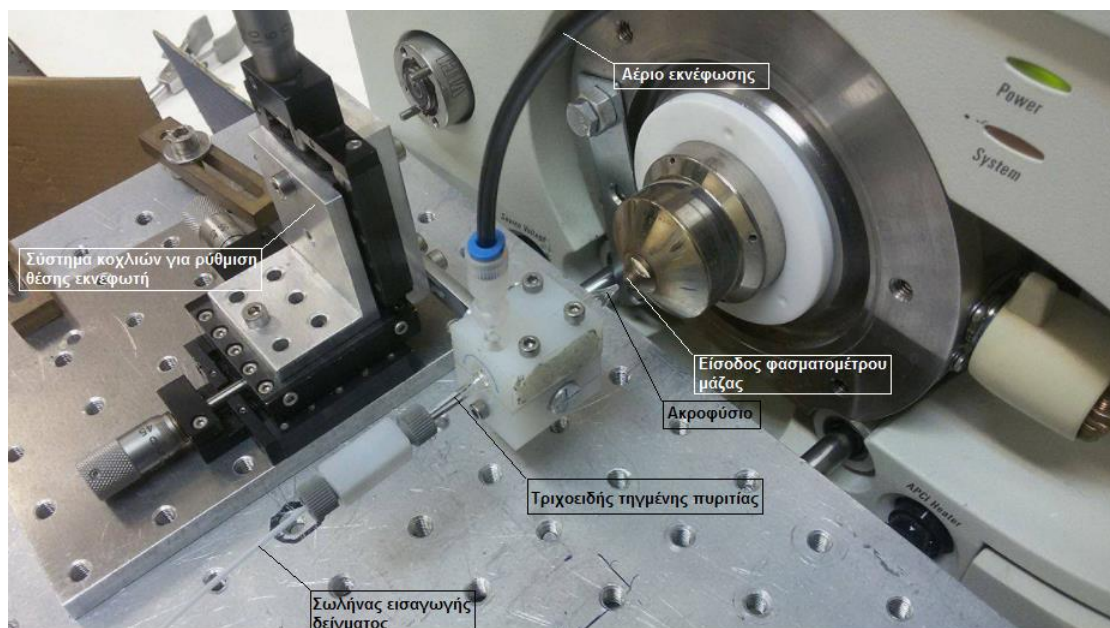
Εικόνα 7: Πηγή ιοντισμού ESI, θάλαμος εκνέφωσης και είσοδος του φασματομέτρου μάζας

Όπως φαίνεται και στην παραπάνω εικόνα, ο τριχοειδής είναι τοποθετημένος κάθετα στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας. Για τη δημιουργία σπρέι, το διάλυμα εξέρχεται από τον τριχοειδή υποβοηθούμενο από ένα αέριο εκνέφωσης (άζωτο). Έτσι, τα φορτισμένα σταγονίδια που δημιουργούνται έλκονται από τον τριχοειδή στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας στον οποίο εφαρμόζεται δυναμικό, στρίβουν κατά 90° και ξεκινούν την πορεία τους μέσα στο όργανο, ενώ τα ουδέτερα συνεχίζουν ευθεία από τον εκνεφωτή και καταλήγουν στα απόβλητα. Στην εικόνα που ακολουθεί φαίνονται τα εξαρτήματα της πηγής ιοντισμού στο όργανο που χρησιμοποιήθηκε για την παρούσα εργασία.



Εικόνα 8: Φασματομέτρο μάζας Thermo Finnigan LCQ Advantage με πηγή ηλεκτροψεκασμού

Για την πραγματοποίηση των μετρήσεων με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης η παραπάνω πηγή αφαιρούνταν και στη θέση της τοποθετούταν η πηγή SSI όπως φαίνεται στην ακόλουθη εικόνα.



Εικόνα 9: Τμήματα της πηγής υπερηχητικής εκνέφωσης

Ο τρόπος λειτουργίας της πηγής SSI έχει εξηγηθεί νωρίτερα και πρακτικά περιλαμβάνει τον ψεκασμό του δείγματος με τη βοήθεια ενός αερίου εκνέφωσης (άζωτο) χωρίς αυτή τη φορά χρήση δυναμικού. Έτσι, όπως είναι φανερό, σε αντίθεση με την πηγή ESI, το ακροφύσιο τοποθετείται απέναντι και όχι κάθετα στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας, ώστε τα φορτισμένα σταγονίδια να μπορούν να εισέλθουν. Η

συγκεκριμένη πηγή ιοντισμού κατασκευάστηκε στο εργαστήριο από φοιτητές στα πλαίσια άλλων εργασιών και έχει συνδεθεί με ένα σύστημα που ρυθμίζει τη θέση του ακροφυσίου για βελτιστοποίηση της εισόδου ιόντων στο φασματόμετρο μάζας και επομένως βελτιστοποίηση του σήματος. Το αέριο εκνέφωσης εισάγεται κάθετα προς τη ροή του διαλύματος στον τριχοειδή τηγμένης πυριτίας και η ροή του ρυθμίζεται από ένα ροοστάτη. Κι εδώ η εισαγωγή του δείγματος γίνεται με την χρήση σύριγγας, το έμβολο της οποίας πιέζεται από μια αντλία δημιουργώντας σταθερή και ελεγχόμενη ταχύτητα ροής.

3.3. Πειραματική διαδικασία

i) Μελέτη φασμάτων μάζας διαλυμάτων δικατιόντων $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ με ανιόντα BrO_3^- σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Αρχικά παρασκευάστηκαν δύο αραιά διαλύματα δικατιόντων $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$, 10 και 100 μM σε 50% MeOH από το αρχικό διάλυμα των 0.0025 M. Επιπλέον, παρασκευάστηκε διάλυμα ανιόντων BrO_3^- από 1 mg στερεού NaBrO_3 σε 10mL MeOH 50% με συγκέντρωση $0,663 \times 10^{-3}$ M. Με διαφορετικές αναμειξείς παρασκευάστηκαν τα παρακάτω διαλύματα τελικού όγκου 1000 μL .

Συγκέντρωση διαλυμάτων $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ (μM)	Όγκος αρχικού διαλύματος $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ (μL)	Όγκος διαλύματος BrO_3^- 7 μM (μL)	Όγκος διαλύτη (MeOH 50%) (μL)
0.07	7 (από stock 10 μM)	10.6	982
0.2	20 (από stock 10 μM)	10.6	969
0.7	70 (από stock 10 μM)	10.6	919
2	200(από stock 10 μM)	10.6	789
7	70 (από stock 100 μM)	10.6	919
14	140 (από stock 100 μM)	10.6	849
21	210 (από stock 100 μM)	10.6	779
28	280 (από stock 100 μM)	10.6	709
35	350 (από stock 100 μM)	10.6	639

Πίνακας 1: Τρόπος παρασκευής διαλυμάτων $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ διαφορετικών συγκεντρώσεων

Η αρχική συγκέντρωση που χαρακτηρίζει το διάλυμα αναφέρεται στη συγκέντρωση των δικατιόντων, ενώ η συγκέντρωση των βρωμικών ανιόντων παραμένει σταθερή σε όλα. Στα πρώτα 4 διαλύματα η συγκέντρωση των δικατιόντων είναι μικρότερη από αυτή των ανιόντων, επομένως γίνεται δέσμευση μεταξύ τους και μια ποσότητα βρωμικών παραμένει ελεύθερη. Στο διάλυμα των 7 μM οι συγκέντρωση δικατιόντων και ανιόντων είναι σχεδόν η ίδια, επομένως αναμένεται να δεσμευθεί όλη η ποσότητα των ιόντων του διαλύματος. Ομοίως, στα τελευταία 4 διαλύματα, στα οποία η συγκέντρωση των δικατιόντων είναι μεγαλύτερη από τη συγκέντρωση των ανιόντων, επομένως ποσότητα των $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ θα παραμείνει ελεύθερη.

Ακολούθησε η ανάλυση των 9 δειγμάτων και με τις δύο τεχνικές (ESI-MS και SSI-MS) χρησιμοποιώντας τις συνθήκες που αναγράφονται παρακάτω:

Για το ESI-MS:

Sheath gas: 45 a.u. (αέριο παράλληλο στη ροή του διαλύματος για τη δημιουργία σπρέι)

Auxiliary gas: 5 a.u. (βοηθητικό αέριο υπό γωνία για την εστίαση του σπρέι και βελτίωση της εξάτμισης του διαλύτη)

Source fragmentation voltage: 10V

Ταχύτητα Ροής: 20μL/min

Στα θετικά: Capillary Temperature:300° C

Capillary Voltage: 20V

Tube Lens Offset: 5V

Spray Voltage: 4.50kV

Στα αρνητικά: Capillary Temperature:300° C

Capillary Voltage: -40V

Tube Lens Offset: -30.00V

Spray Voltage: 4.00kV

Για το SSI-MS:

Sheath gas: 0 a.u.

Auxiliary gas: 0 a.u.

Source fragmentation voltage: 10V

Ταχύτητα Ροής: 10μL/min

Πίεση αερίου αζώτου: 5bar

Στα θετικά: Capillary Temperature:300° C

Capillary Voltage: 20V

Tube Lens Offset: 5V

Spray Voltage: 0V

Στα αρνητικά: Capillary Temperature:300° C

Capillary Voltage: -40V

Tube Lens Offset: -30.00V

Spray Voltage: 0V

Τα φάσματα μάζας που λήφθηκαν βρίσκονται στο τμήμα «ανάλυση αποτελεσμάτων», όπου και εξηγούνται λεπτομερώς.

ii) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης του STFA (τριφθοροξικού νατρίου) από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή.

Οι μετρήσεις ξεκίνησαν χρησιμοποιώντας την πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) με τις παρακάτω συνθήκες:

Source fragmentation voltage: 20V

Ταχύτητα ροής: 10μL/min

Πίεση αερίου αζώτου: 5bar

Στα θετικά: Capillary Voltage: 20V

Tube Lens Offset: 5V

Spray Voltage: 0V

Στα αρνητικά: Capillary Voltage: -40V

Tube Lens Offset: -30.00V

Spray Voltage: 0V

Η θερμοκρασία αυξανόταν σταδιακά ξεκινώντας από τους 140° C έως τους 300° C με βήμα 20° C και λαμβανόταν το φάσμα μάζας του STFA στα αρνητικά και στα θετικά κάθε φορά.

Επίσης, με σταθερή θερμοκρασία έγινε λήψη των φασμάτων μάζας του STFA σε θετικά και αρνητικά ενώ αυξανόταν σταδιακά το δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή ξεκινώντας από 0V έως τα 50V με βήμα 10V τη φορά. Οι συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι εξής:

Θερμοκρασία τριχοειδούς: 300° C

Ταχύτητα ροής: 10μL/min

Και διατηρήθηκαν οι ίδιες παράμετροι του οργάνου που αναγράφονται πιο πάνω

Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε και με πηγή ηλεκτροψεκασμού χρησιμοποιώντας τις παρακάτω συνθήκες:

Sheath gas: 45 a.u.

Auxiliary gas: 5 a.u.

Ταχύτητα Ροής: 10μL/min

Στα θετικά: Capillary Voltage: 20V

Tube Lens Offset: 5V

Spray Voltage: 4.50kV

Στα αρνητικά: Capillary Voltage: -40V

Tube Lens Offset: -30.00V

Spray Voltage: 4.00kV

Να σημειωθεί ότι κάθε φορά μετά την εισαγωγή κάθε πηγής ιοντισμού γινόταν βελτιστοποίηση της έντασης του σήματος με ρύθμιση της θέσης του ακροφυσίου.

Επίσης, η λήψη των φασμάτων μάζας έγινε σε εύρος m/z από 90 έως 1500, αλλά τα ιόντα που μελετώνται βρίσκονται σε μικρά m/z γι' αυτό και τα φάσματα έχουν προσαρμοστεί ώστε να εμφανίζονται μέχρι m/z : 500. Τα ιόντα που μελετώνται είναι αυτό του ανιόντος BrO_3^- με m/z : 127/129 λόγω των δύο ισοτόπων του Br, τα ^{79}Br και ^{81}Br καθώς και τα BrO_2^- δηλαδή βρωμικά μετά την αφαίρεση ενός ατόμου οξυγόνου με ατομική μάζα 16. Επομένως οι άλλες δύο κορυφές που μελετώνται βρίσκονται σε m/z : $127-16=111$ και $129-16=113$.

iii) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης των BrO_3^- από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή.

Αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα BrO_3^- συγκέντρωσης 7mM από stock διάλυμα 663 μM με αραιώση (10,6 μL από το stock σε 989,4 μL διαλύτη MeOH 50%). Επιπλέον, βρέθηκαν οι βέλτιστες τιμές Capillary Voltage και Tube Lens Offset για τα βρωμικά ανιόντα (-22V και -24V αντίστοιχα) και χρησιμοποιήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων. Έγινε, στη συνέχεια, λήψη των φασμάτων μάζας με τις δύο τεχνικές για αυξανόμενη θερμοκρασία τριχοειδούς και αυξανόμενο δυναμικό επιτάχυνσης στην πηγή.

Συγκεκριμένα, λήφθηκαν τα φάσματα μάζας σε αρνητικό ιοντισμό και σε δυναμικά επιτάχυνσης 0, 10, 20, 30, 40 και 50V διατηρώντας σταθερή τη θερμοκρασία του τριχοειδούς στους 300° C την ταχύτητα ροής στα 10 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Έπειτα, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για τις θερμοκρασίες 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280 και 300° C πάλι μόνο σε αρνητικό ιοντισμό, διατηρώντας αυτή τη φορά σταθερό το δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή στα 20V και τη ταχύτητα ροής στα 10 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Η διαδικασία ακολουθήθηκε με τον ίδιο τρόπο και για τις δύο διαφορετικές τεχνικές, έχοντας για την καθεμιά τις αντίστοιχες συνθήκες που αναφέρονται στον πιο κάτω πίνακα:

Παράμετροι	ESI	SSI
Sheath gas	45 a.u.	0
Auxiliary gas	5 a.u.	0
Ταχύτητα Ροής	10μL/min	10μL/min
Capillary Voltage	-22V	-22V
Tube Lens Offset	-24.00V	-24.00V
Spray Voltage	4.00kV	0V

Πίνακας 2: Συνθήκες πραγματοποίησης μετρήσεων για τα BrO_3^-

iv) Εύρεση βέλτιστης θέσης εκνεφωτή SSI

Οι καταγραφές του σήματος σε κάθε θέση πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας διάλυμα STFA και ροή 10μL/min σε δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή: 20V και θερμοκρασία τριχοειδούς: 300° C υπό πίεση 5bar αερίου αζώτου.

Ο εκνεφωτής βρισκόταν στηριγμένος σε βάση με βαθμονομημένους κοχλίες που επέτρεπαν την μετακίνησή του μπρος-πίσω (διεύθυνση z) και δεξιά-αριστερά (διεύθυνση x).

Στη θέση $x=0$ ο εκνεφωτής ήταν ευθυγραμμισμένος με τον κώνο του MS, ενώ στη θέση $z=0.5$ ο εκνεφωτής βρισκόταν σε απόσταση 0.5mm από τον κώνο.

Οι μετρήσεις ξεκίνησαν στη θέση $x=0$ και $z=0.5$ και κρατώντας σταθερή τη θέση $x=0$, άλλαζε η θέση z κατά 0.5mm προς τα πίσω κάθε φορά μέχρι ο εκνεφωτής να φτάσει σε απόσταση 4mm από τον κώνο και σε κάθε θέση καταγραφόταν η ένταση του σήματος. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε και για τις θέσεις $x=-0.5$ και $x=+0.5$.

Τα φάσματα συγκεντρώθηκαν και έγινε σύγκριση της έντασης του σήματος που λαμβάνεται σε κάθε θέση, ώστε να βρεθεί η βέλτιστη.

v) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης των ιοντικών ζευγών δικατιόντων $\text{C}_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ με ανιόντα BrO_3^- από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων (CID).

Αρχικά παρασκευάστηκε 1mL διαλύματος δικατιόντων $\text{C}_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ 7μM και ανιόντων BrO_3^- 7μM χρησιμοποιώντας 70μL από το stock διάλυμα των 100μM δικατιόντων, 10.6μL από το διάλυμα του NaBrO_3 και 914.4 μL διαλύτη MeOH 50%.

Ακολούθησε η ανάλυση του δείγματος και με τις δύο τεχνικές (ESI-MS και SSI-MS) χρησιμοποιώντας τις συνθήκες που αναγράφονται παρακάτω:

Για το ESI-MS:

Sheath gas: 45 a.u.

Auxiliary gas: 5 a.u.

Collision Energy: 10V

Ταχύτητα Ροής: 10μL/min

Στα θετικά: Capillary Temperature:300° C

Capillary Voltage: 20V

Tube Lens Offset: 5V

Spray Voltage: 4.50kV

Στα αρνητικά: Capillary Temperature:300° C

Capillary Voltage: -40V

Tube Lens Offset: -30.00V

Spray Voltage: 4.00kV

Για το SSI-MS:

Sheath gas : 0 a.u.

Auxiliary gas: 0 a.u.

Collision Energy: 10V

Ταχύτητα Ροής: 10μL/min

Πίεση αερίου αζώτου: 5bar

Στα θετικά: Capillary Temperature:300° C

Capillary Voltage: 20V

Tube Lens Offset: 5V

Spray Voltage: 0V

Στα αρνητικά: Capillary Temperature:300° C

Capillary Voltage: -40V

Tube Lens Offset: -30.00V

Spray Voltage: 0V

Παρόλο που οι συγκεντρώσεις των δύο ειδών ιόντων ήταν ίδιες, δεν υπήρχε στοιχειομετρική αναλογία για να μπορέσει να δεσμευθεί όλη η ποσότητα των ιόντων και να μελετηθεί καλύτερα η θραυσματοποίηση. Αναλυτικότερη εξήγηση και προτάσεις βελτίωσης του πειράματος θα δοθούν παρακάτω.

4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

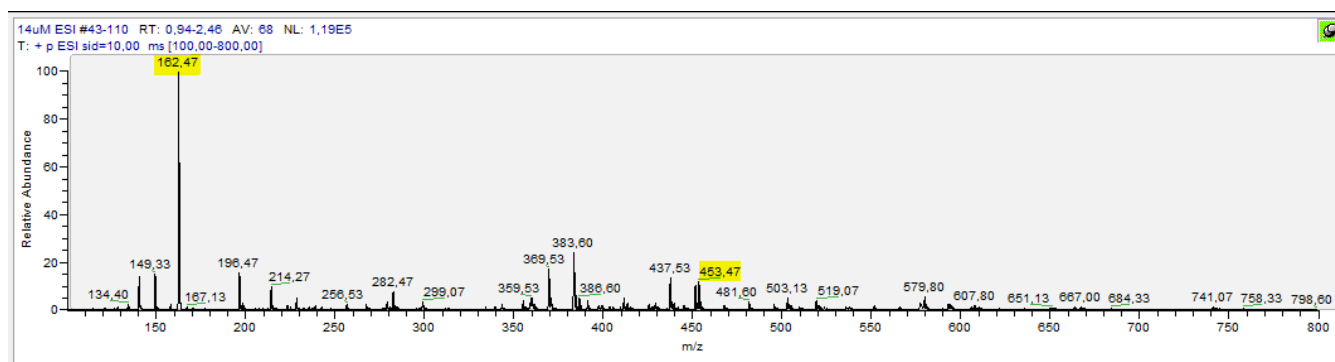
Στο τμήμα αυτό παρατίθενται τα φάσματα μάζας που λήφθηκαν κατά τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν. Η προβολή και επεξεργασία των φασμάτων αυτών έγιναν με τη χρήση του προγράμματος Xcalibur, ενώ τα διαγράμματα για τη συγκεντρωτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων σχεδιάστηκαν με το πρόγραμμα Microsoft Excel 2016.

4.1. Ανάλυση κορυφών

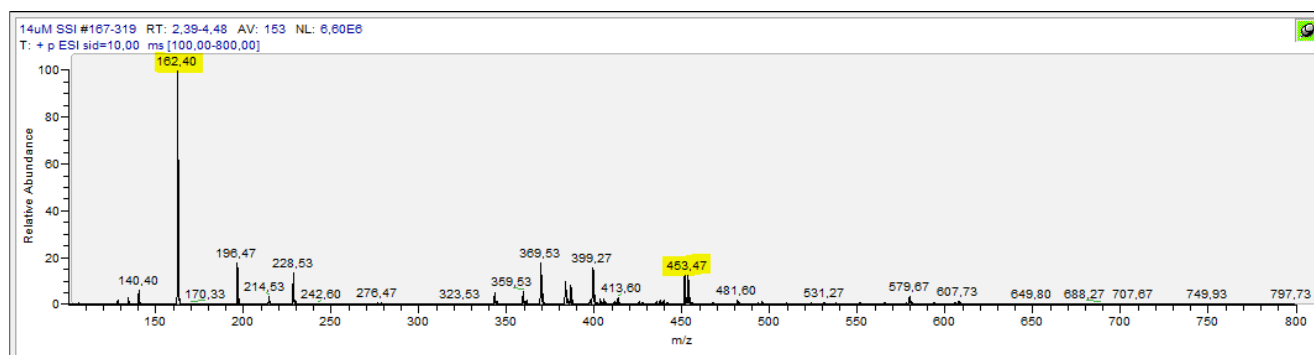
Στα φάσματα μάζας που λήφθηκαν εμφανίζονται κορυφές που μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες. Αρχικά, είναι οι κορυφές των μοριακών ιόντων των ενώσεων που μας ενδιαφέρουν, μετά είναι αυτές των θραυσμάτων των ενώσεων που μας ενδιαφέρουν και τέλος είναι οι κορυφές των μοριακών ιόντων και θραυσμάτων από παρεμποδιστικές ενώσεις.

Παρακάτω θα αναλυθούν οι κορυφές από μερικά φάσματα μάζας για κάθε πείραμα ξεχωριστά.

Πείραμα i) Μελέτη φασμάτων μάζας διαλυμάτων δικατιόντος $C_5(bpyr)_2^{2+}$ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις με ανιόντα BrO_3^-



Εικόνα 10: Φάσμα μάζας διαλύματος δικατιόντων $C_5(bpyr)_2^{2+}$ (14μΜ) και BrO_3^- (7μΜ) με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό (+) ιοντισμό

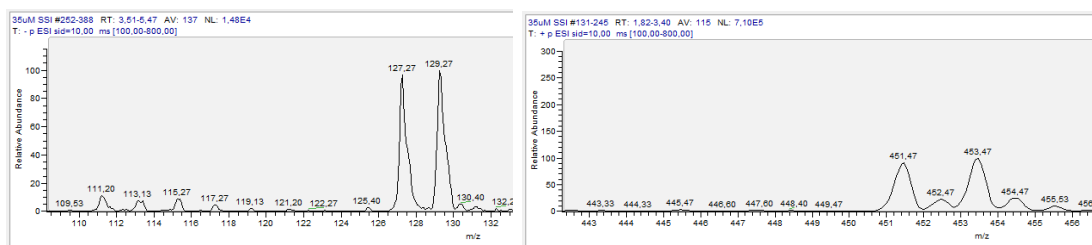


Εικόνα 11: Φάσμα μάζας διαλύματος δικατιόντων $C_5(bpyr)_2^{2+}$ (14μΜ) και BrO_3^- (7μΜ) με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό (+) ιοντισμό

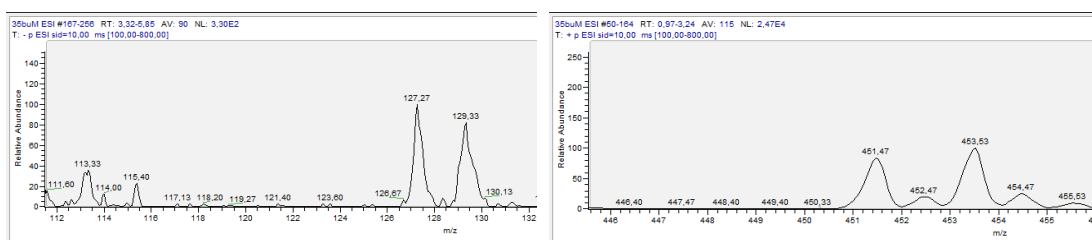
Η κορυφή με m/z 162,4 οφείλεται στο μοριακό ιόν του δικατιόντος $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ αφού έχει μάζα 324,5 amu και φορτίο 2 (άρα m/z : $324,5/2=162,25$)

Σε m/z 451,5 και 453,5 παρατηρείται μια διπλή κορυφή η οποία οφείλεται στο ιοντικό ζεύγος αποτελούμενο από το δικατιόν $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ και το ανιόν BrO_3^- . Το συνολικό φορτίο του ιοντικού ζεύγους είναι +1 και έτσι η συνολική μάζα του ταυτίζεται με το m/z . Η κορυφή είναι διπλή λόγω των δύο ισοτόπων βρωμίου με διαφορά μάζας 2 amu (A_{Br} : 79 και 81) τα οποία έχουν και παραπλήσιες αναλογίες (51% και 49% αντίστοιχα).

Να σημειωθεί ότι, ενώ η αναλογία των δύο ισοτόπων είναι σχεδόν η ίδια, η μεγαλύτερη σε μάζα κορυφή κάθε διπλής κορυφής παρατηρείται να έχει συνήθως και τη μεγαλύτερη ένταση κι αυτό οφείλεται στην ύπαρξη ισοτόπου ^{18}O . Παρακάτω φαίνονται σε μεγέθυνση οι διπλές κορυφές 127/129 και 451/453 σε δύο φάσματα ESI και SSI.



Εικόνα 12: Ισοτοπικές κορυφές ιόντων $[C_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3^-]^+$ (451/453) και BrO_3^- (127/129) με πηγή υπερχητικής εκνέφωσης SSI

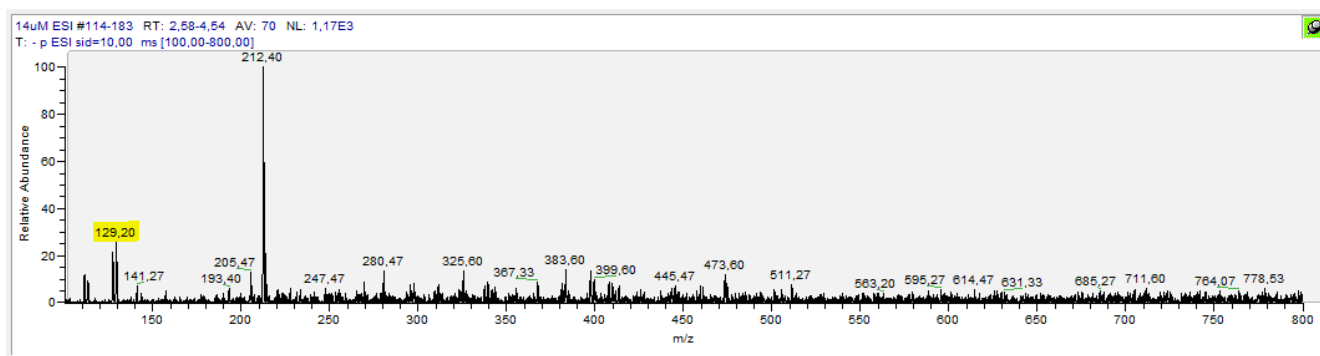


Εικόνα 13: Ισοτοπικές κορυφές ιόντων $[C_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3^-]^+$ (451/453) και BrO_3^- (127/129) με πηγή ηλεκτροψεκασμού ESI

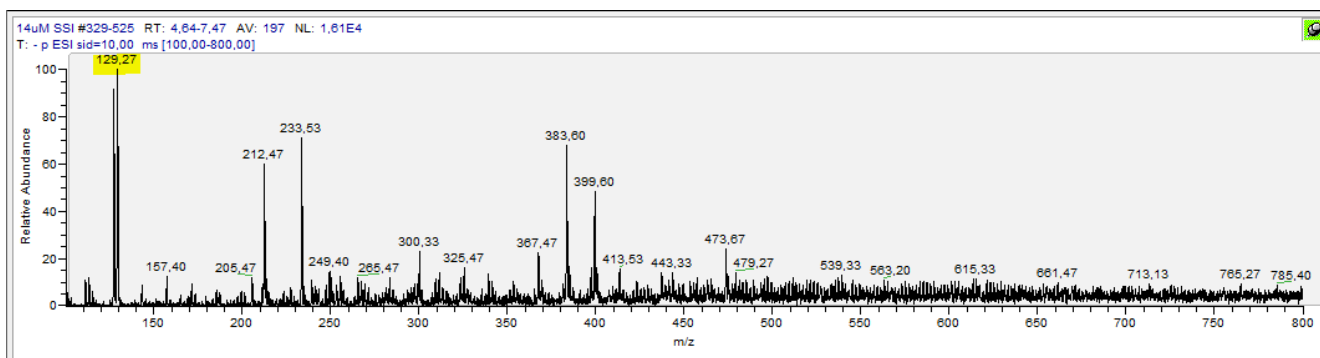
Όλες οι κορυφές που εμφανίζονται πάνω από m/z :453,5 οφείλονται σίγουρα σε παρεμποδιστικές ενώσεις που έχουν μεγαλύτερη μάζα από τις ενώσεις που μελετώνται και αυτές μπορεί να είναι ιόντα από άλλα διαλύματα, επιμολύνσεις σε διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν, ακόμα και πολυμερή από πλαστικά μέρη του συστήματος που έχουν φθαρεί.

Οι κορυφές που βρίσκονται κάτω από τα 453,5 οφείλονται είτε σε παρεμποδιστικές ενώσεις είτε σε θραύσματα των ενώσεων που μελετώνται.

Παραδείγματος χάριν, η κορυφή με m/z : 369.5 μπορεί να οφείλεται στο adduct του δικατιόντος (m/z : 324,5) με το αποπρωτονιωμένο φορμικό οξύ (m/z : 45).



Εικόνα 14: Φάσμα μάζας διαλύματος δικατιόντων $C_5(bpyr)_2^{2+}$ (14 μ M) και BrO_3^- (7 μ M) με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό (-) ιοντισμό



Εικόνα 15: Φάσμα μάζας διαλύματος δικατιόντων $C_5(bpyr)_2^{2+}$ (14 μ M) και BrO_3^- (7 μ M) με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό (-) ιοντισμό

Όσο για τον αρνητικό ιοντισμό, είναι γνωστό πως η μάζα του ιόντος BrO_3^- είναι 127 ή 129 (διαθέτοντας ^{79}Br και ^{81}Br αντίστοιχα) και εφόσον το φορτίο του είναι -1 αναμένεται κορυφή σε m/z που να ταυτίζεται με τη μάζα του, όπως και διαπιστώνεται στις παραπάνω εικόνες.

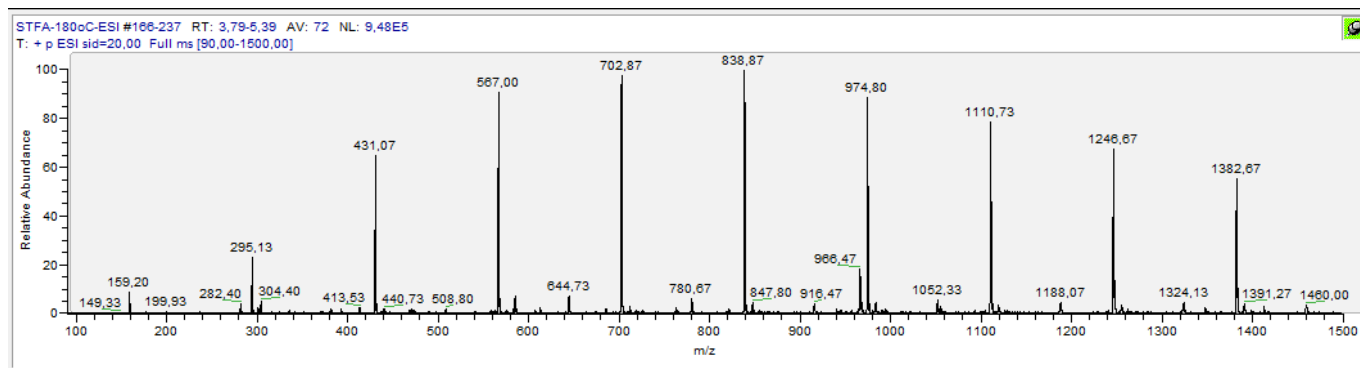
Κορυφές με υψηλή ένταση που εντοπίζονται σε m/z μεγαλύτερο του μοριακού ιόντος ίσως οφείλονται σε ιόντα όπως η ένωση $C_{10}H_{15}NO_2S$ (n-butyl benzenesulfonamide) που είναι πλαστικοποιητής και εμφανίζεται στην κορυφή με m/z:212.

ii) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης του STFA (τριφθοροξικού νατρίου) από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού διάστασης από συγκρούσεις (CID).

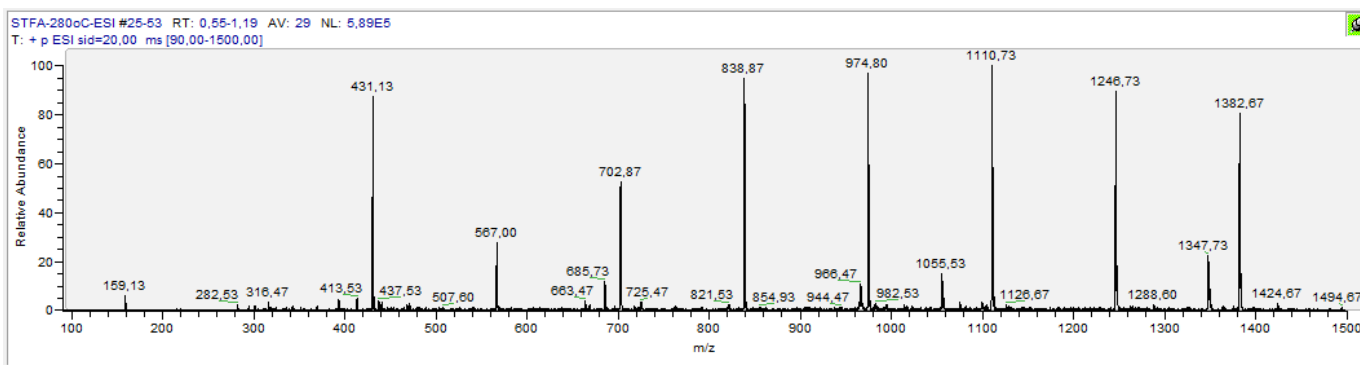
Το άλας τριφθοροξικό νάτριο δημιουργεί πολλές κορυφές με μεγάλη ένταση σε συγκεκριμένα m/z στο φάσμα μάζας, γι' αυτό και χρησιμοποιείται για να ελεγχθεί η σωστή λειτουργία του οργάνου. Στο συγκεκριμένο πείραμα για να μελετηθεί η ένταση των κορυφών και πώς αυτή επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και το δυναμικό

διάστασης CID, επιλέχθηκε μια τυχαία κορυφή υψηλής έντασης και γινόταν σύγκριση των εντάσεων μόνο μέσω αυτής.

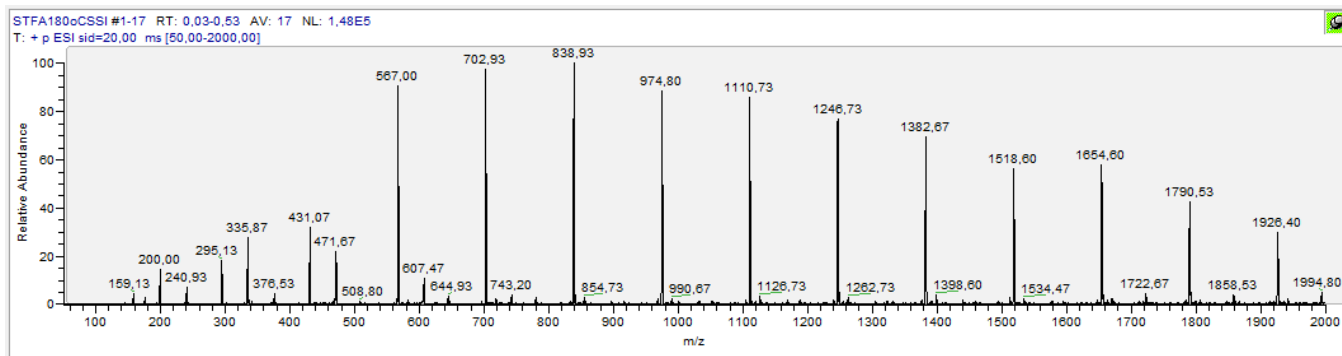
Παρακάτω απεικονίζονται τα φάσματα μάζας του STFA με πηγές ESI και SSI αρχικά σε θετικό και έπειτα σε αρνητικό ιοντισμό σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες και δύο διαφορετικά δυναμικά διάστασης.



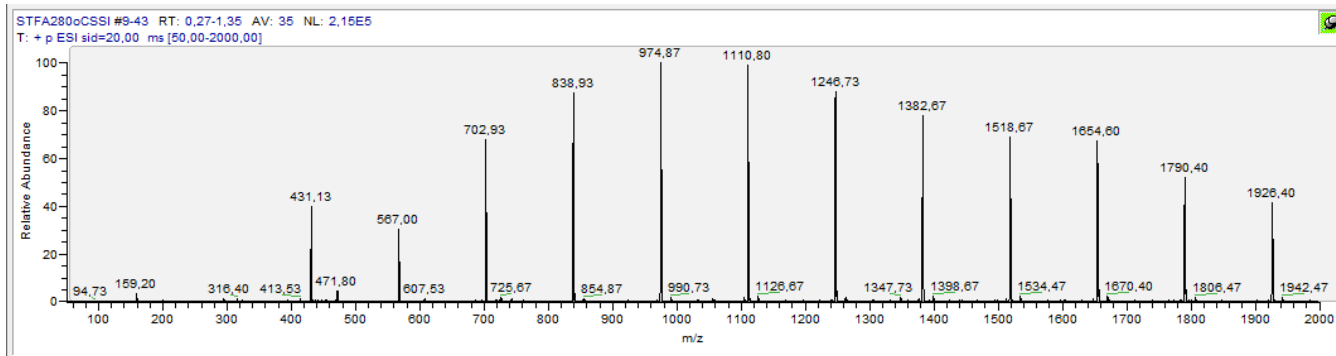
Εικόνα 16: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε θερμοκρασία 180° C



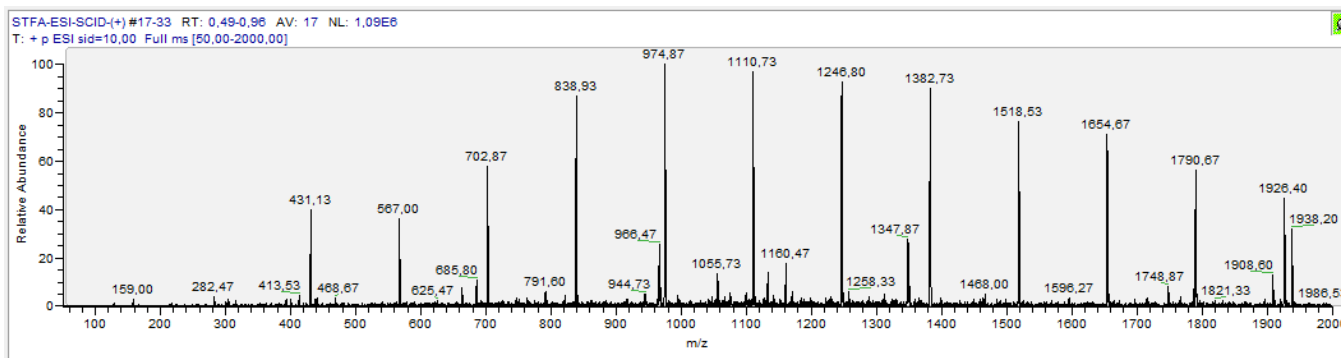
Εικόνα 17: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε θερμοκρασία 280° C



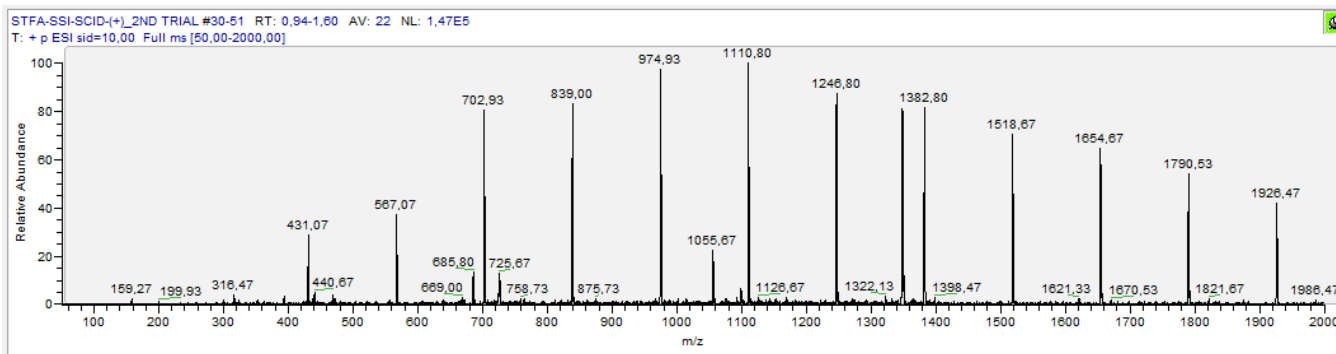
Εικόνα 18: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε θερμοκρασία 180° C



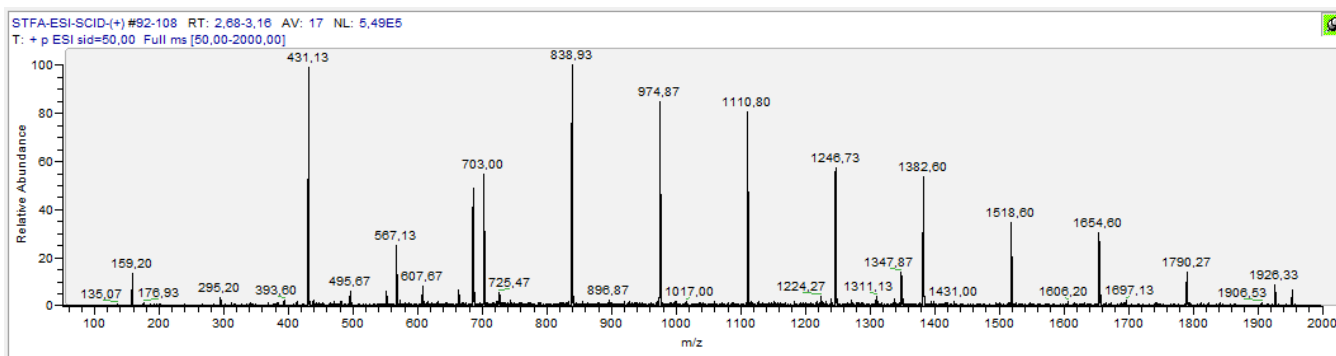
Εικόνα 19: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε θερμοκρασία 280° C



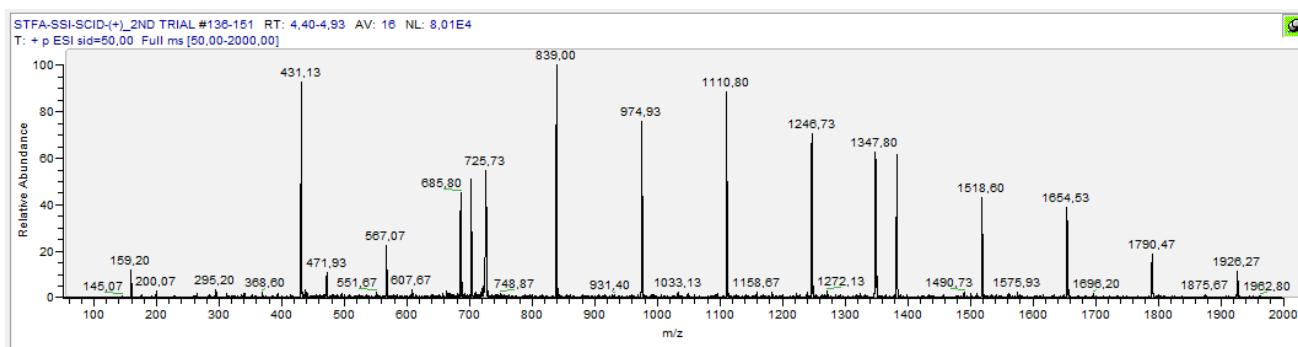
Εικόνα 20: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε δυναμικό CID 10V



Εικόνα 21: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε δυναμικό CID 10V



Εικόνα 22: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε δυναμικό CID 50V



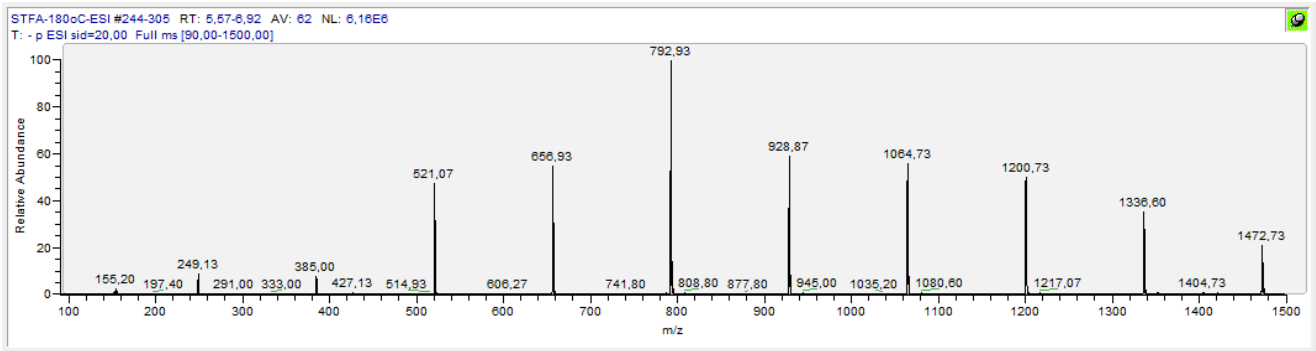
Εικόνα 23: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε δυναμικό CID 50V

Το εύρος μαζών που χρησιμοποιήθηκε στο SSI ήταν μεγαλύτερο γι' αυτό και φαίνονται περισσότερες κορυφές, παρ' όλα αυτά είναι φανερό πως οι ίδιες κορυφές παραμένουν. Παρατηρείται δε, μια μείωση στην ένταση των κορυφών με μεγαλύτερο m/z με την αύξηση της θερμοκρασίας ή του δυναμικού διάστασης που οφείλεται σε θραυσματοποίηση των ιόντων του STFA.

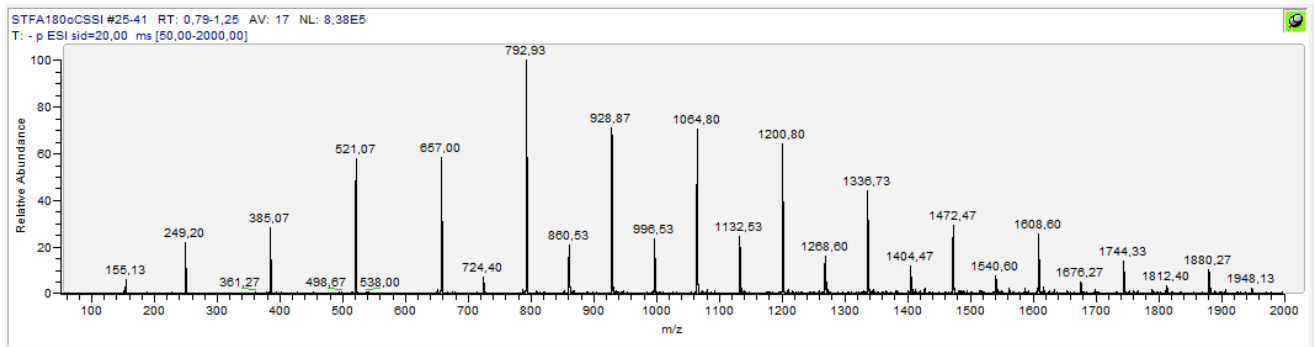
Όσον αφορά τώρα την ειδικότερη μελέτη των κορυφών, αξιοσημείωτη είναι η παρατήρηση πως οι κορυφές που εμφανίζονται είναι ισαπέχουσες με διαφορά 136 Da που αντιστοιχεί στη μάζα του τριφθοροξικού νατρίου CF_3COONa . Οι κορυφές που ισαπέχουν ξεκινούν από m/z: 159, 295, 431, 567 κλπ μέχρι και τις τελευταίες υψηλές κορυφές, με εξαίρεση τις μικρές κορυφές που εμφανίζονται ανάμεσα. Αυτές οφείλονται σε διπλά φορτισμένα ιόντα που σχηματίζονται όπως π.χ η κορυφή με m/z: 996.5 που αντιστοιχεί στο ιόν $(\text{CF}_3\text{COONa})_{13}(\text{CF}_3\text{COO}^-)_2$. Ο λόγος που οι κορυφές στο φάσμα μάζας ισαπέχουν είναι επειδή η αρχική ένωση που ιονίζεται και εισάγεται στο όργανο είναι της μορφής $[(\text{CF}_3\text{COONa})_n\text{Na}]^+$. Αυτό σημαίνει ότι μιλάμε για μια συστάδα αποτελούμενη από πολλές μονάδες τριφθοροξικού οξέος, οι οποίες με τη θέρμανση και την εφαρμογή δυναμικού αποκολλώνται και σχηματίζουν ιόντα με όλους τους πιθανούς αριθμούς μονάδων STFA.

Το ίδιο συμβαίνει και στον αρνητικό ιοντισμό, στον οποίο η γενική μορφή των ιόντων που σχηματίζουν τις ισαπέχουσες κορυφές είναι $[(\text{CF}_3\text{COONa})_n\text{CF}_3\text{COO}]^-$, επομένως εδώ οι συστάδες αποτελούνται από μονάδες $\text{STFA-CF}_3\text{COO}^-$ και συνεπώς οι κορυφές απέχουν μεταξύ τους κατά 249 Da. Σχηματίζονται, δε, με τον ίδιο τρόπο που αναφέρεται και στο θετικό ιοντισμό.

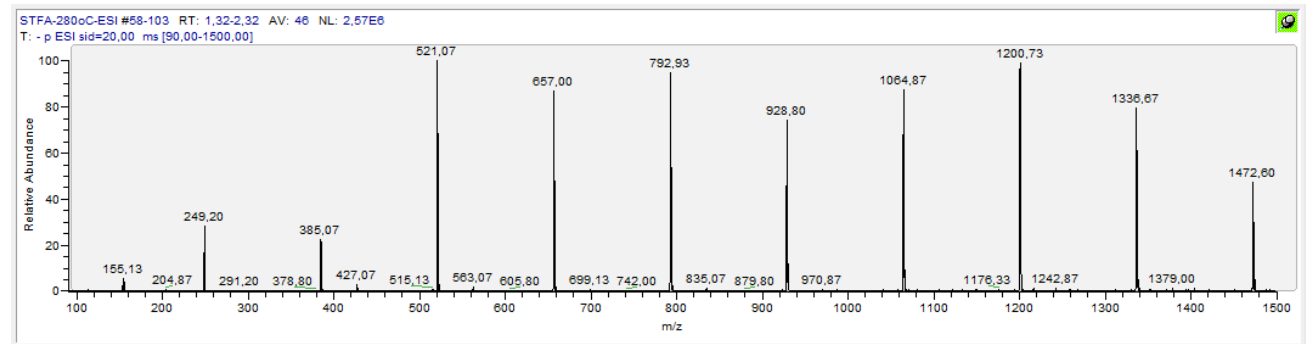
Χαρακτηριστικά παρατίθενται παρακάτω φάσματα μάζας σε αρνητικό ιοντισμό με τις δύο πηγές ιοντισμού και για δύο διαφορετικές θερμοκρασίες και δυναμικά CID.



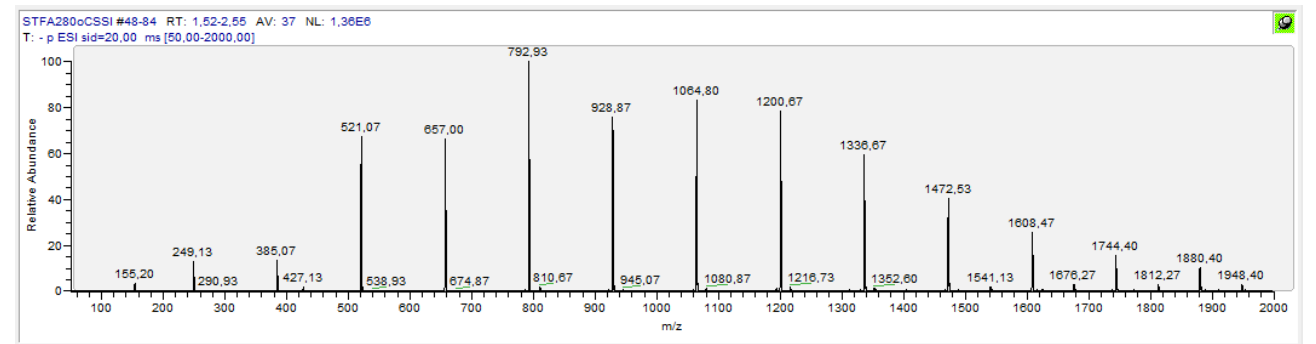
Εικόνα 24: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 180° C



Εικόνα 25: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 180° C

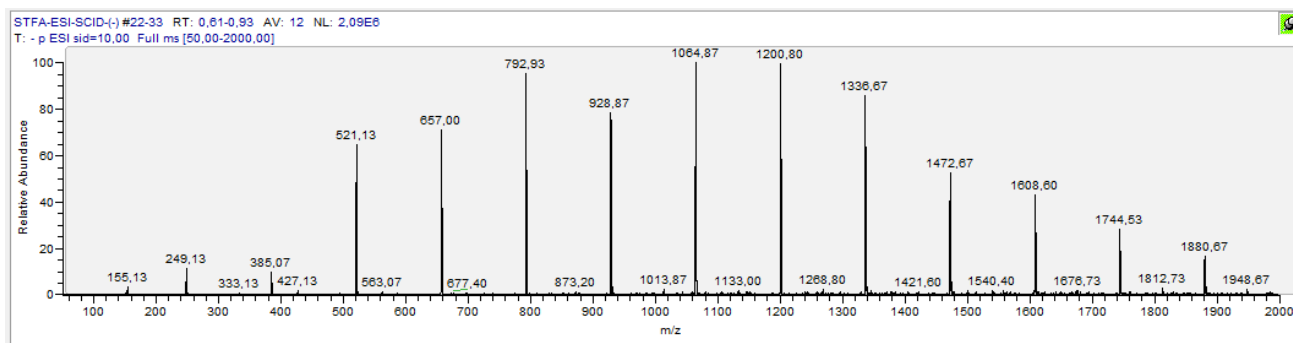


Εικόνα 26: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 280° C

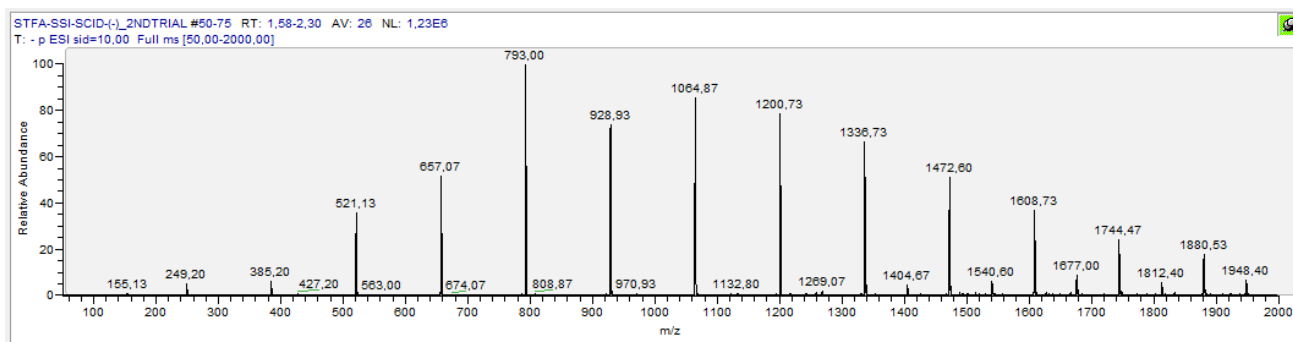


Εικόνα 27: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 280° C

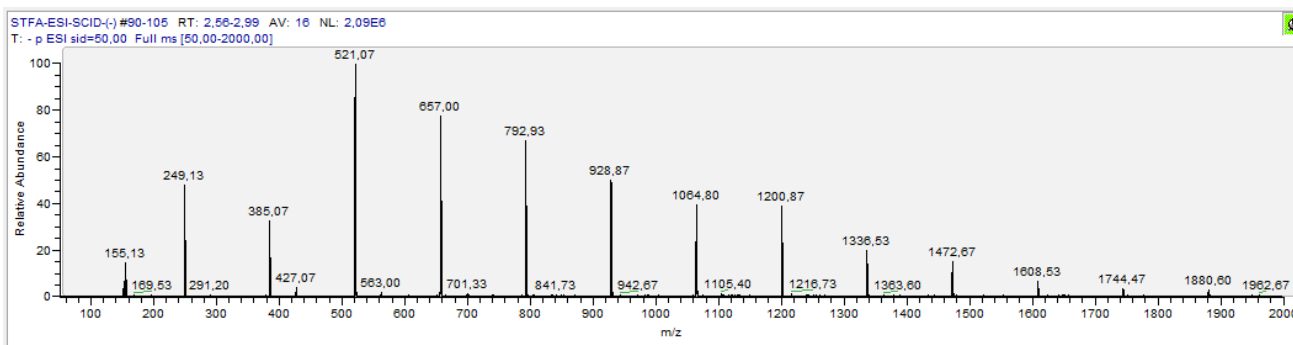
Η μείωση της έντασης των κορυφών με την αύξηση της θερμοκρασίας λόγω θραυσματοποίησης είναι εμφανής και με τις δύο πηγές ιοντισμού. Να σημειωθεί ότι στο φάσμα μάζας του SSI στον αρνητικό ιοντισμό και σε θερμοκρασία 180° C, παρατηρούνται εκτός από τις κορυφές που ισαπέχουν κατά 249 και κάποιες άλλες ενδιάμεσες που οφείλονται σε διπλά φορτισμένα ιόντα και είναι χαμηλότερης έντασης.



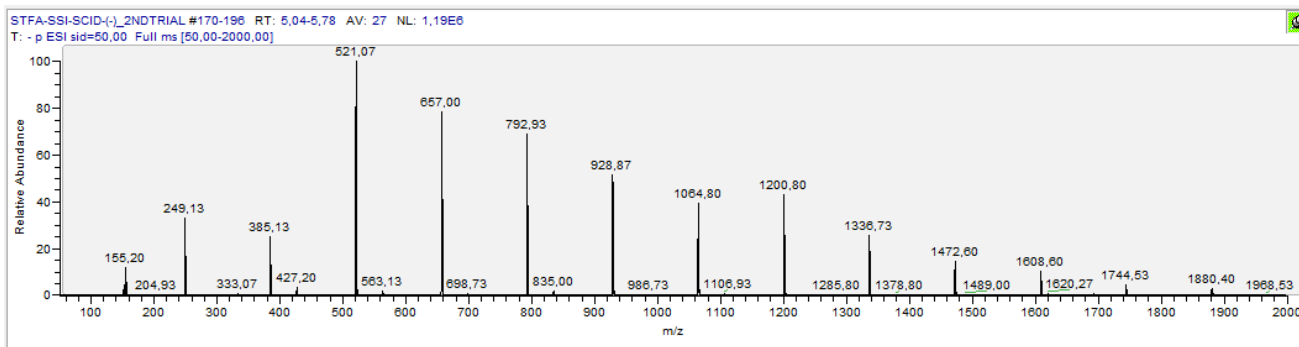
Εικόνα 28: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 10V



Εικόνα 29: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 10V



Εικόνα 30: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 50V

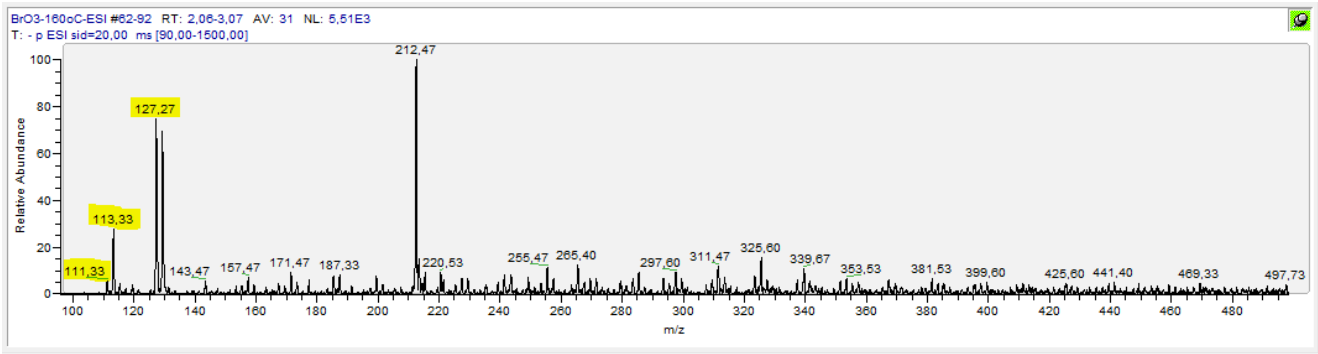


Εικόνα 31: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 10V

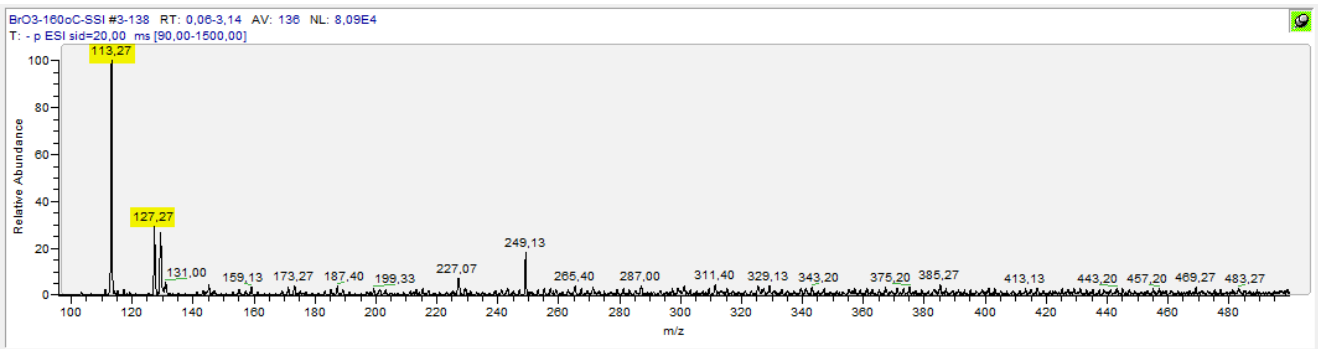
Και εδώ παρατηρείται η μείωση της έντασης του σήματος των κορυφών με μεγαλύτερο m/z και αύξηση αυτών με μικρότερο. Αυτό πρακτικά σημαίνει, ότι οι συστάδες που αποτελούνται από πολλές μονάδες $STFA-CF_3COO^-$ θραυσματοποιούνται λόγω της αύξησης του δυναμικού CID, με αποτέλεσμα μονάδες να αποκολλώνται και συνεπώς συστάδες με μεγάλο αριθμό μονάδων να μετατρέπονται σε συστάδες με μικρό αριθμό μονάδων $STFA-CF_3COO^-$ και η ένταση της κορυφής των τελευταίων να αυξάνεται, ενώ των πρώτων να μειώνεται.

iii) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης των BrO_3^- από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού διάστασης (CID).

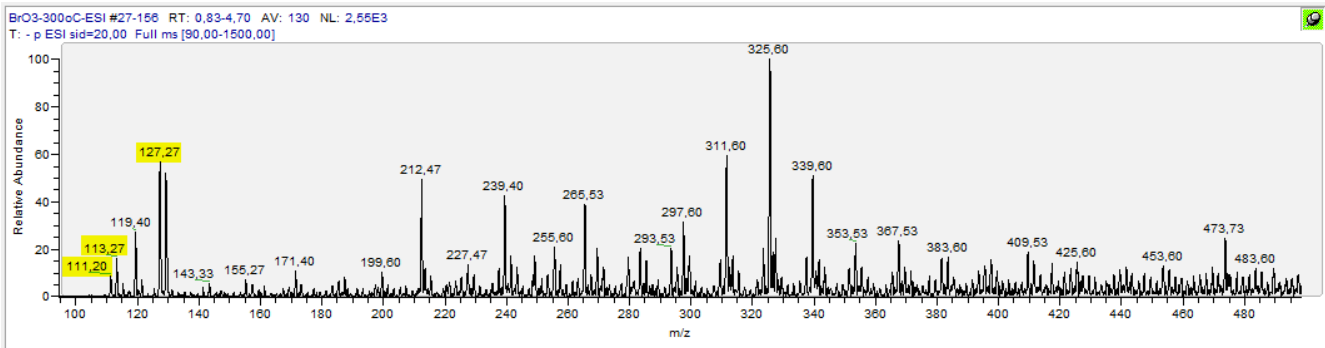
Μιας και στο συγκεκριμένο πείραμα μας ενδιέφερε μόνο η ένταση των αρνητικά φορτισμένων βρωμικών ιόντων και των θραυσμάτων αυτών, οι μετρήσεις έγιναν και με τις δύο πηγές μόνο σε αρνητικό ιοντισμό και αυξάνοντας τη θερμοκρασία αρχικά και το δυναμικό διάστασης μετά. Ας δούμε, λοιπόν, εδώ μερικά χαρακτηριστικά φάσματα μάζας που λήφθηκαν και την επίδραση που είχε η αύξηση της θερμοκρασίας και του δυναμικού CID στην ένταση των κορυφών. Υπενθυμίζεται ότι η κορυφή με m/z : 127/129 αντιστοιχεί στο μοριακό ιόν BrO_3^- , στα 111/113 εμφανίζεται η κορυφή για το ιόν BrO_2^- και στα 79/81 βρίσκεται κορυφή που αντιστοιχεί στο ελεύθερο ιόν βρωμίου. Συγκρίσεις δεν μπορούν να γίνουν χρησιμοποιώντας το ιόν 113 λόγω ύπαρξης παρεμποδιστικού ιόντος με το ίδιο m/z , όμως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το ιόν 111 που έχει το ισότοπο ^{79}Br . Το παρεμποδιστικό ιόν οφείλεται στο ιόν TFA^- του άλατος STFA που έχει και αυτό m/z : 113, όσο, δηλαδή και το ιόν BrO_2^- με το ισότοπο ^{81}Br . Να σημειωθεί ότι στα φάσματα μάζας που λήφθηκαν κατά την αύξηση της θερμοκρασίας δεν μπορεί να γίνει έλεγχος ύπαρξης ελεύθερων ιόντων βρωμίου καθώς το εύρος m/z είχε ρυθμιστεί από τα 100 και πάνω. Στις μετρήσεις, όμως, που έγιναν με αυξανόμενο δυναμικό CID το εύρος ρυθμίστηκε από m/z : 50, για να είναι δυνατή η παρατήρηση ελεύθερων Br^- .



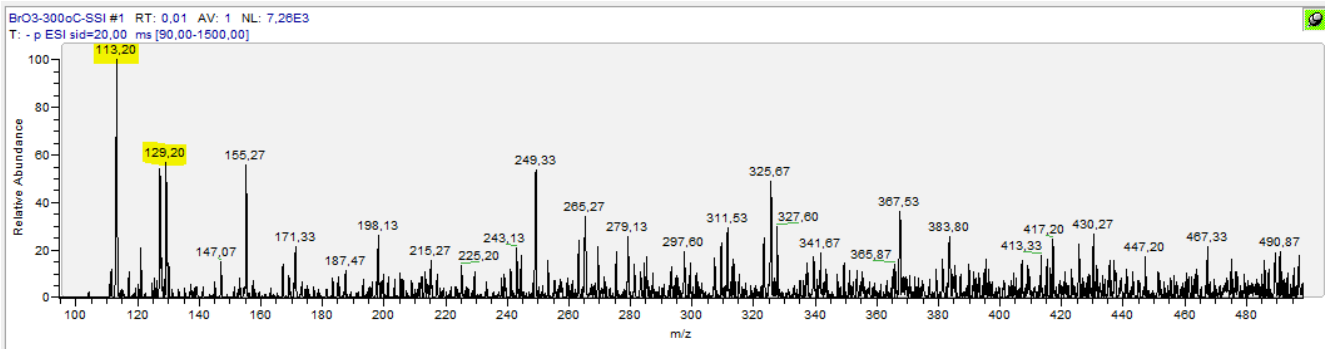
Εικόνα 32: Φάσμα μάζας διαλύματος NaBrO_3 με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 160°C



Εικόνα 33: Φάσμα μάζας διαλύματος NaBrO_3 με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 160°C

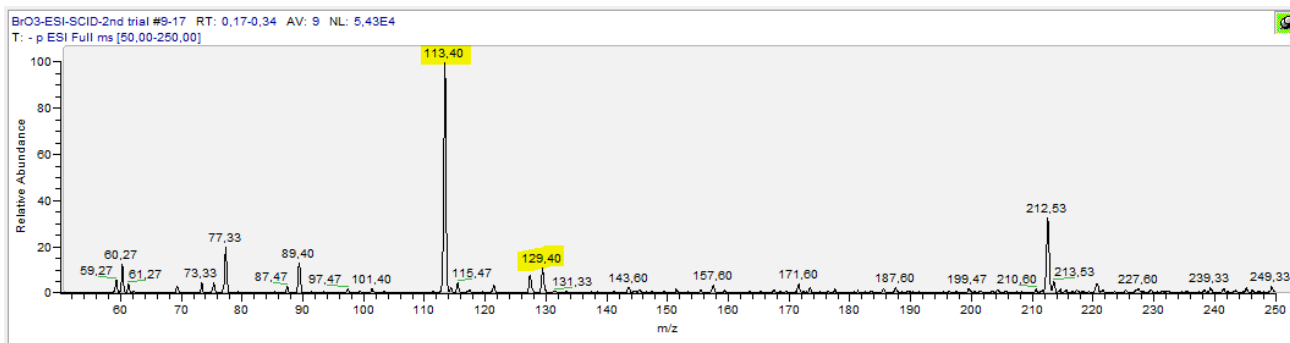


Εικόνα 34: Φάσμα μάζας διαλύματος NaBrO_3 με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 300°C

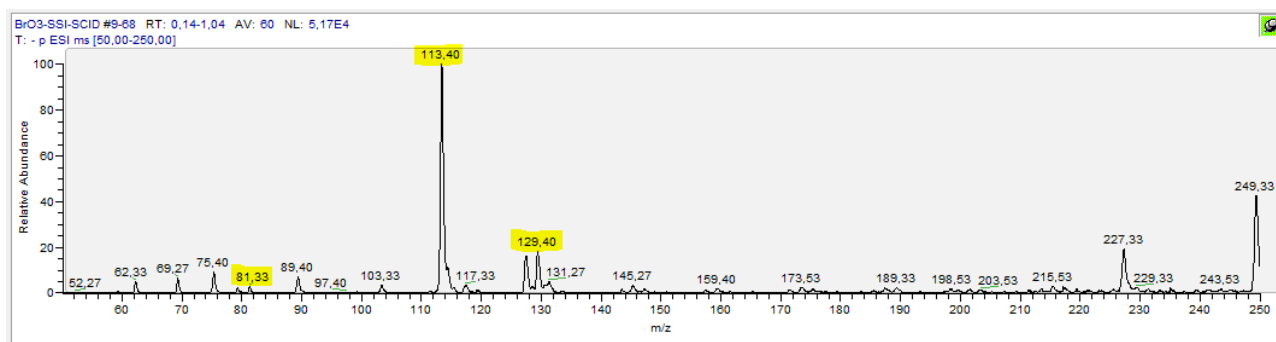


Εικόνα 35: Φάσμα μάζας διαλύματος NaBrO_3 με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 300°C

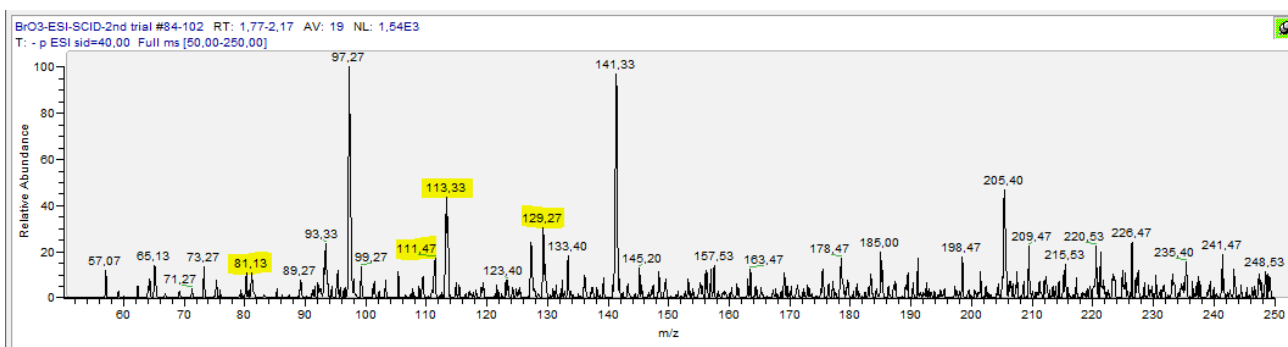
Κι εδώ είναι εμφανής η πτώση του σήματος του μοριακού ιόντος σε m/z : 127/129 καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία. Στην πηγή ESI το σήμα από 4000 πέφτει στα 1500 και με την πηγή SSI από 25000 στα 4000. Πιθανώς η πτώση του σήματος οφείλεται στην θραυσματοποίηση του μοριακού ιόντος, που δίνει τα ιόντα BrO_2^- (m/z : 111/113) και Br^- . Πτώση στο σήμα είναι εμφανής και στα παρακάτω φάσματα μάζας με την αύξηση του δυναμικού CID.



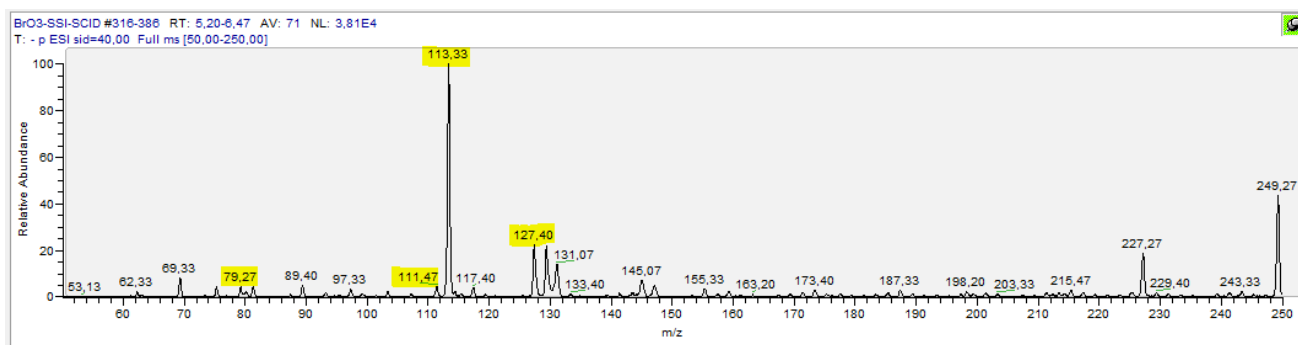
Εικόνα 36: Φάσμα μάζας διαλύματος NaBrO_3 με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 0V



Εικόνα 37: Φάσμα μάζας διαλύματος NaBrO_3 με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 0V



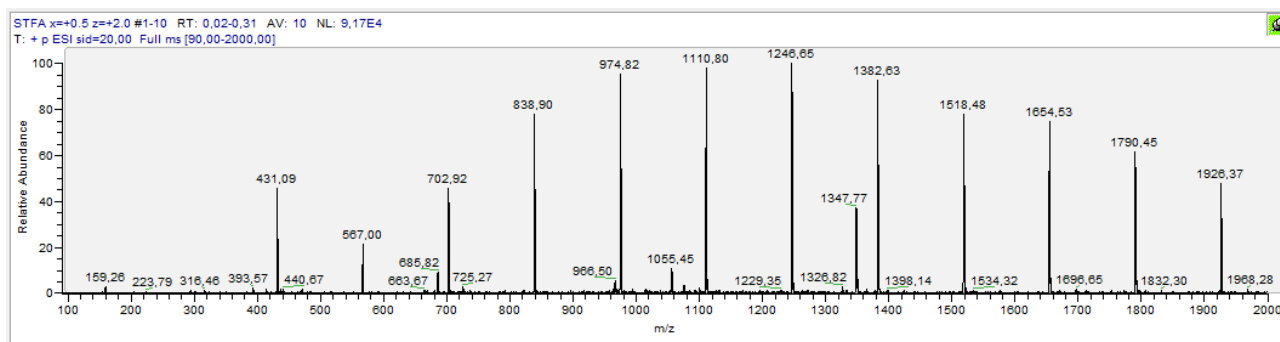
Εικόνα 38: Φάσμα μάζας διαλύματος NaBrO_3 με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 40V



Εικόνα 39: Φάσμα μάζας διαλύματος NaBrO₃ με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 40V

iv) Εύρεση βέλτιστης θέσης εκνεφωτή SSI

Υπενθυμίζεται ότι σε αυτό το πείραμα ο εκνεφωτής μετακινούνταν μπροστά-πίσω (διεύθυνση z) και δεξιά-αριστερά (διεύθυνση x) κατά μισό χιλιοστό κάθε φορά ώστε



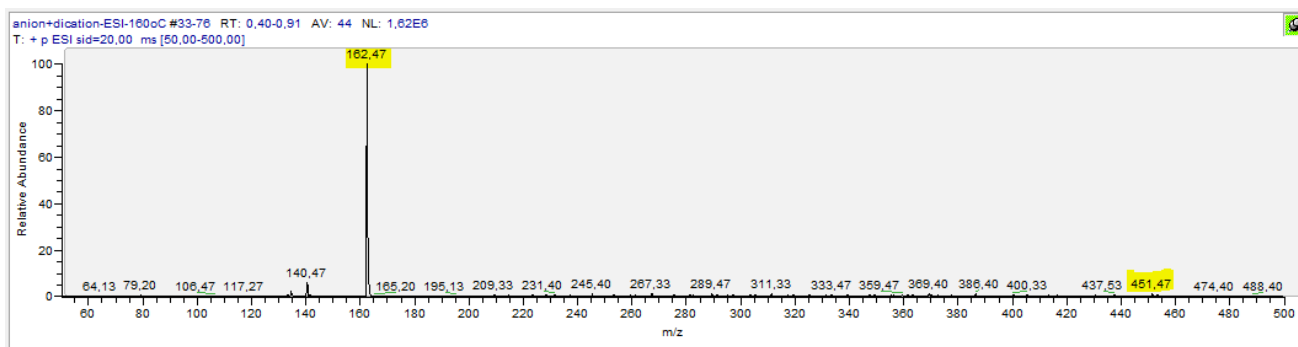
να ληφθούν μετρήσεις για όλους τους πιθανούς συνδυασμούς θέσεων με x: -0.5, 0, +0.5mm και για z: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 mm. Παρακάτω παρουσιάζεται ένα τυχαίο φάσμα μάζας για κάποια θέση του εκνεφωτή ώστε να φανεί η γενική μορφή που είχαν τα φάσματα μάζας σε αυτές τις μετρήσεις. Αυτές πραγματοποιήθηκαν σε θετικό και αρνητικό ιοντισμό με SSI χρησιμοποιώντας διάλυμα STFA. Για τις κορυφές που εμφανίζονται στο φάσμα μάζας ισχύουν τα ίδια που έχουν αναφερθεί νωρίτερα.

Εικόνα 40: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) με τον εκνεφωτή στη θέση (x=+0.5, z=+2.0)

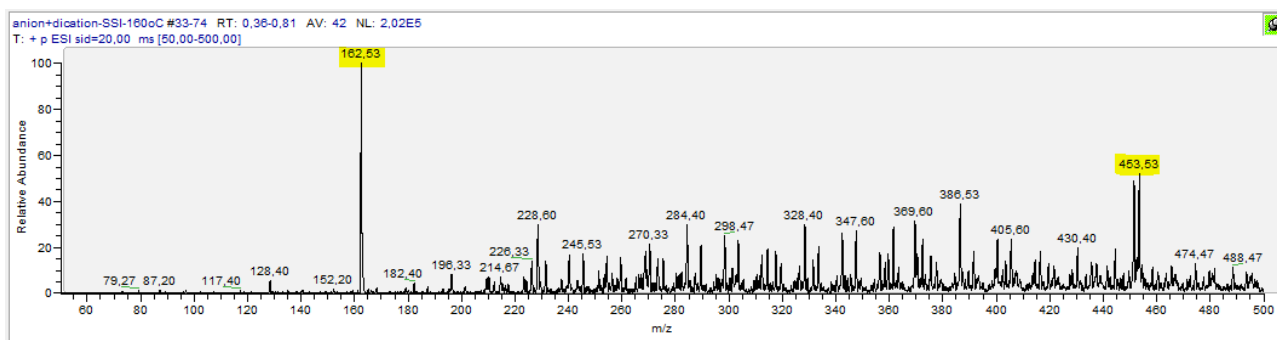
Στο θετικό ιοντισμό παρατηρείται μια ξεκάθαρη αύξηση του σήματος όταν ο εκνεφωτής είναι ευθυγραμμισμένος (x=0) και σχετικά κοντά (y ≤ 1.0) με την είσοδο του φασματομέτρου μάζας. Στον αρνητικό ιοντισμό αυτό δεν είναι πολύ ξεκάθαρο, αλλά θα γίνει εκτενής ποσοτική ανάλυση των αποτελεσμάτων παρακάτω για την εύρεση της βέλτιστης θέσης του εκνεφωτή.

ν) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης των ιοντικών ζευγών δικατιόντων $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ με ανιόντα BrO_3^- από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού διάστασης (CID).

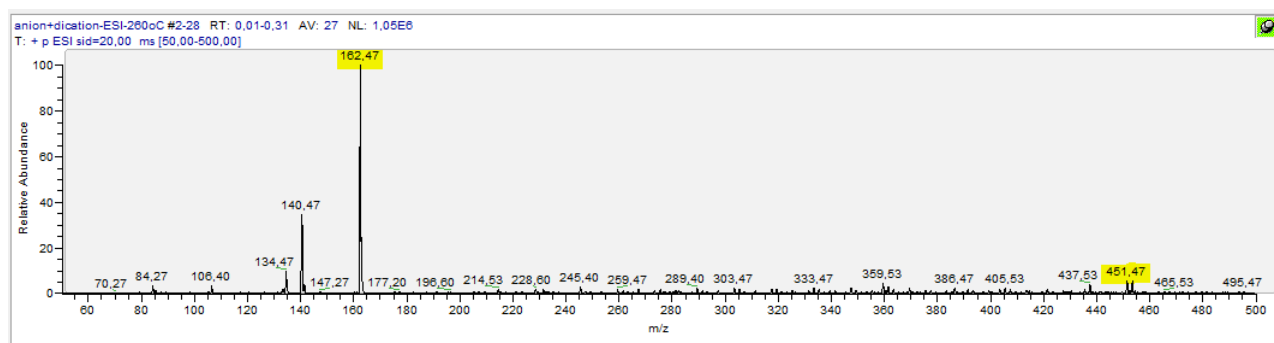
Εδώ λήφθηκαν τα φάσματα μάζας χρησιμοποιώντας και τις δύο πηγές ιοντισμού σε θετικό και αρνητικό ιοντισμό. Οι κορυφές που παρακολουθούνται στα θετικά είναι: 162,5 (δικατιόν $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$) και 451/453 (ιοντικό ζεύγος $[C_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$), ενώ στα αρνητικά το μοριακό ιόν BrO_3^- στα 127/129 και τα θραύσματα αυτού σε m/z : 111 (BrO_2^-) και m/z : 79/81 (Br^-).



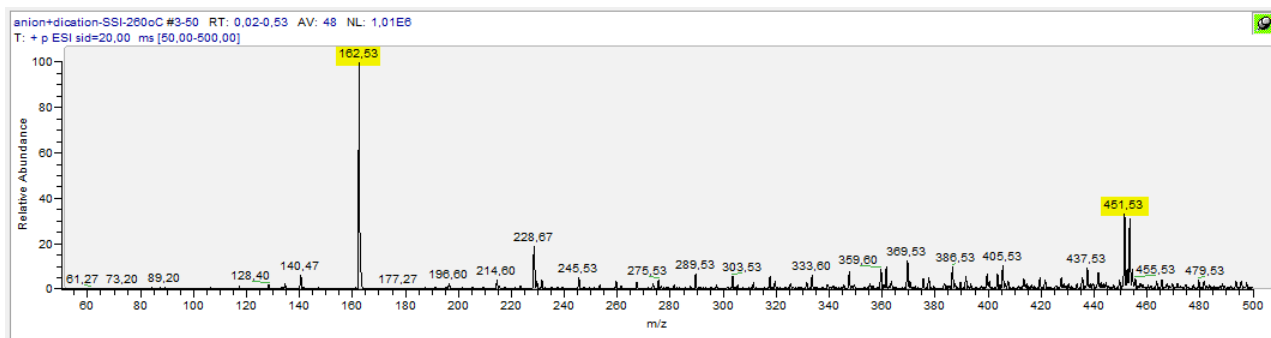
Εικόνα 41: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(\text{bpyr})_2\text{F}_2$ και NaBrO_3 με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε θερμοκρασία 160°C



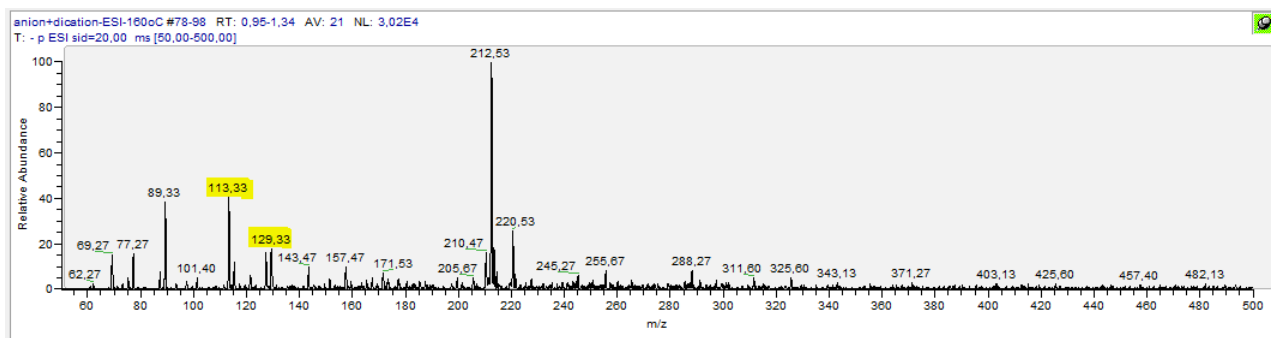
Εικόνα 42: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(\text{bpyr})_2\text{F}_2$ και NaBrO_3 με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε θερμοκρασία 160°C



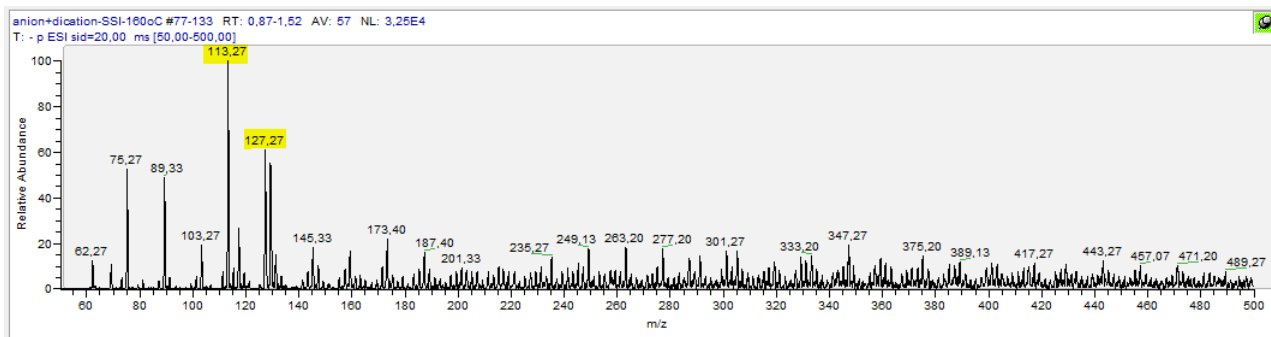
Εικόνα 43: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(\text{bpyr})_2\text{F}_2$ και NaBrO_3 με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε θερμοκρασία 260°C



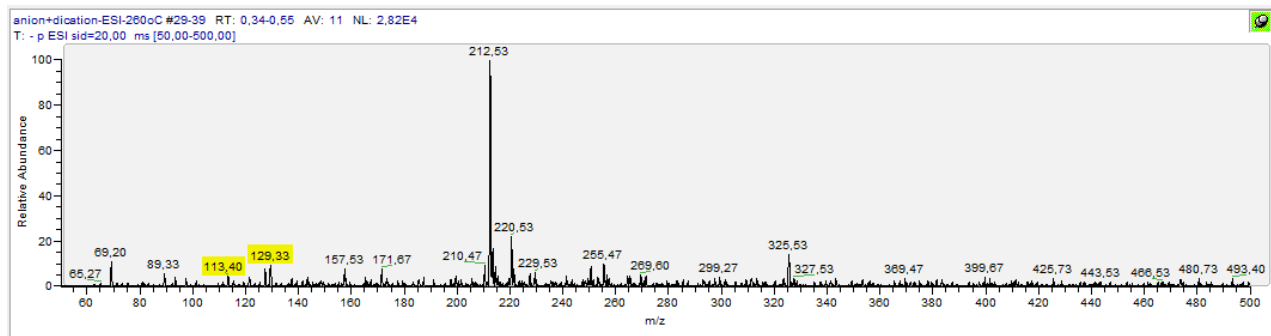
Εικόνα 44: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε θερμοκρασία 260°C



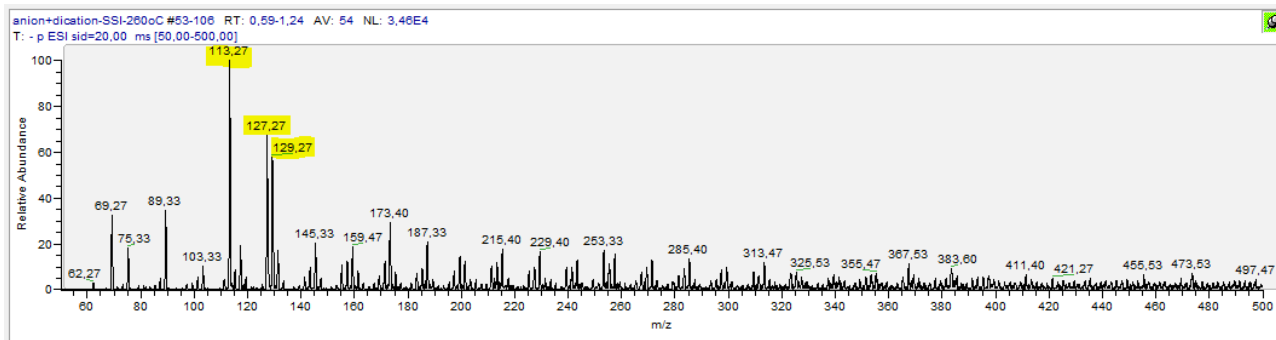
Εικόνα 45: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 160°C



Εικόνα 46: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 160°C

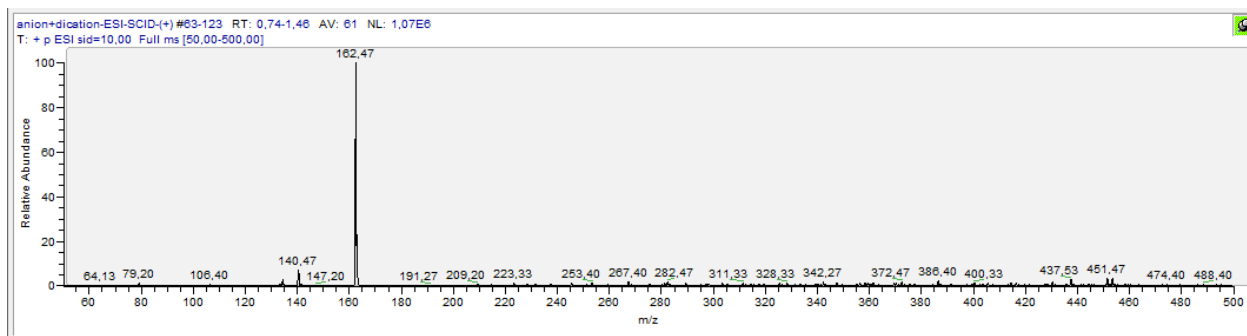


Εικόνα 47: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία 260°C

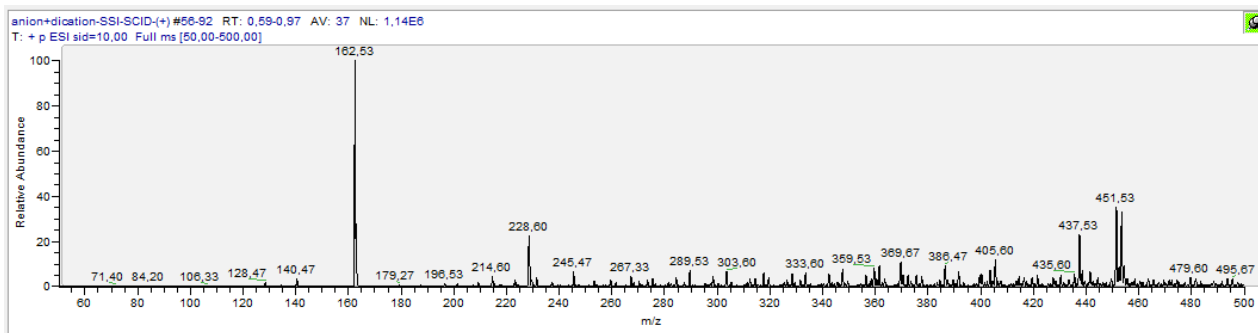


Εικόνα 48: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε θερμοκρασία $260^\circ C$

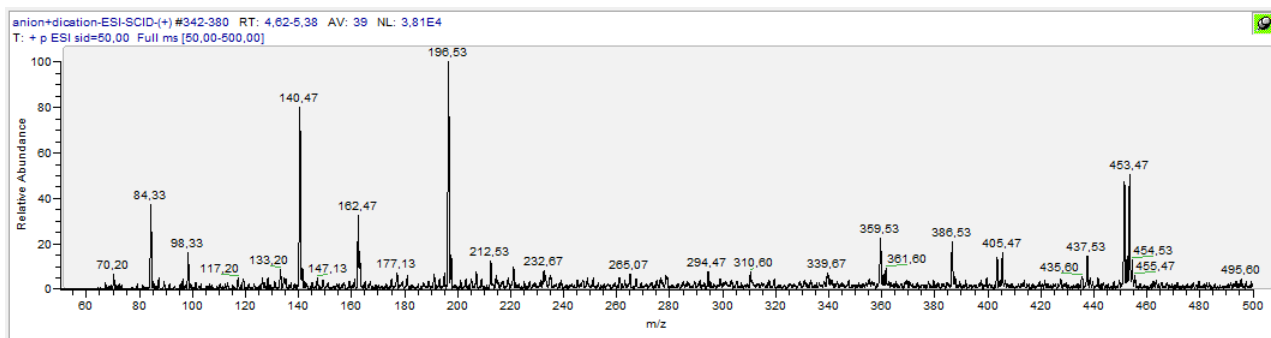
Ακολουθούν μερικά φάσματα μάζας με διαφορετικό δυναμικό CID σε θετικό και αρνητικό ιοντισμό και με τις δύο πηγές.



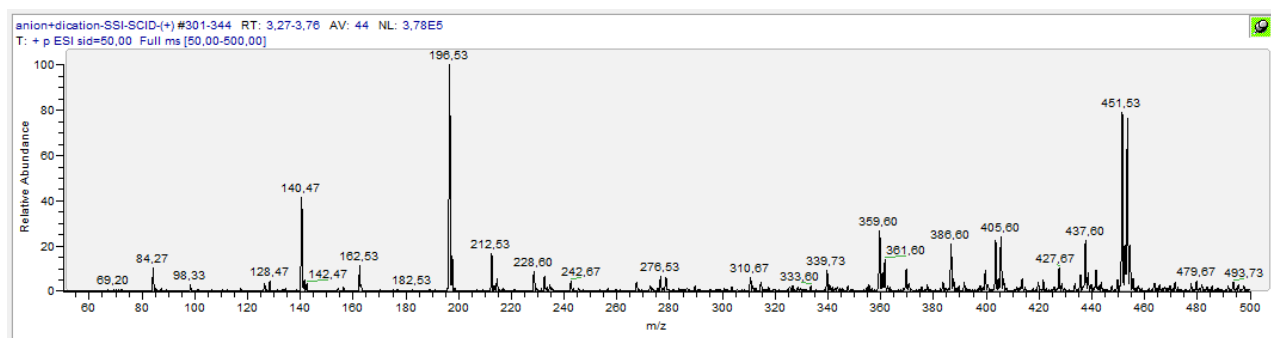
Εικόνα 49: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε δυναμικό CID 10V



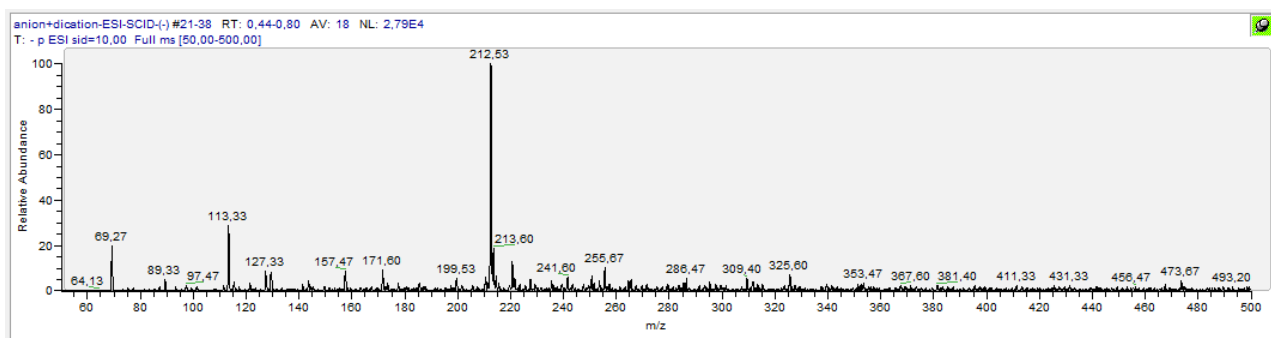
Εικόνα 50: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε δυναμικό CID 10V



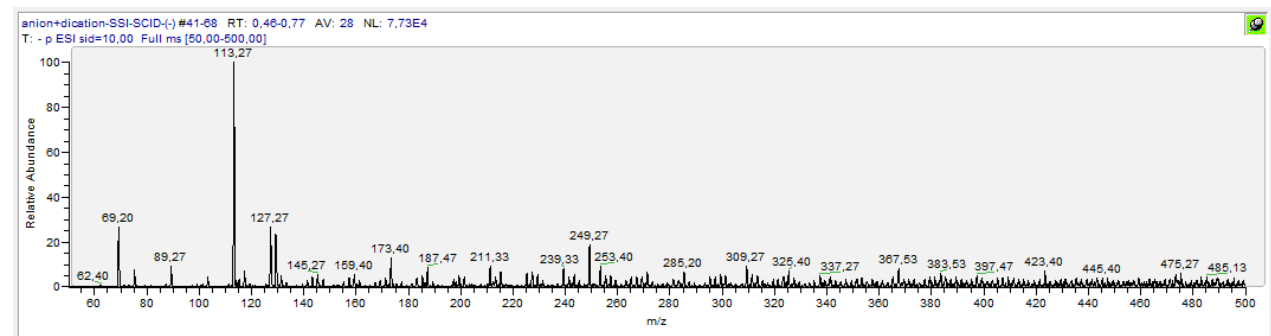
Εικόνα 51: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(\text{bpyr})_2F_2$ και NaBrO_3 με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε δυναμικό CID 50V



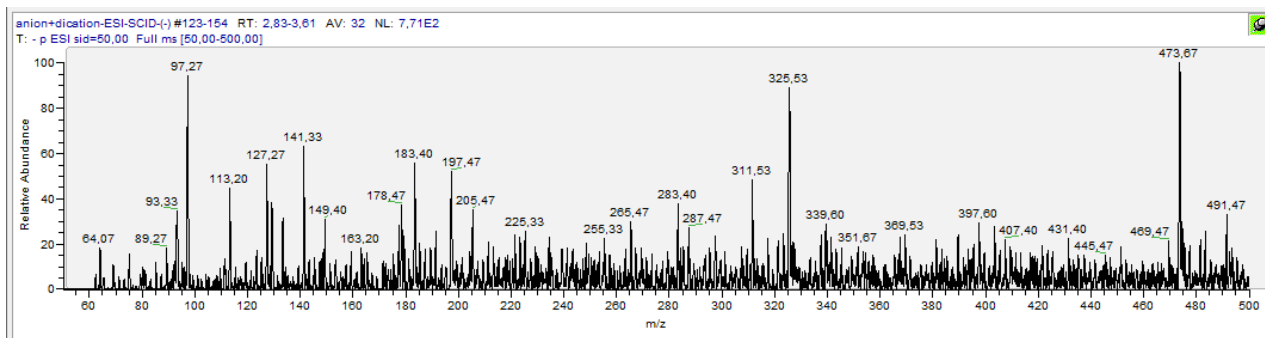
Εικόνα 52: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(\text{bpyr})_2F_2$ και NaBrO_3 με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στο θετικό ιοντισμό (+) και σε δυναμικό CID 50V



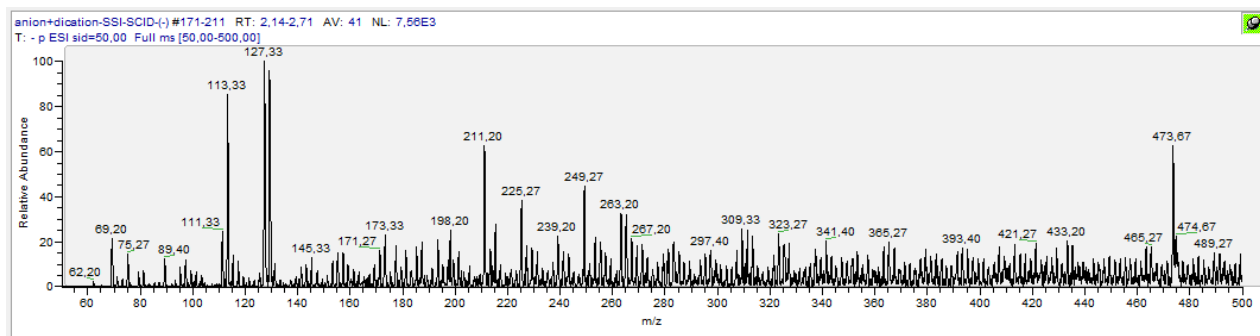
Εικόνα 53: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(\text{bpyr})_2F_2$ και NaBrO_3 με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 10V



Εικόνα 54: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(\text{bpyr})_2F_2$ και NaBrO_3 με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 10V



Εικόνα 55: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 50V



Εικόνα 56: Φάσμα μάζας διαλύματος $C_5(bpyr)_2F_2$ και $NaBrO_3$ με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) στον αρνητικό ιοντισμό (-) και σε δυναμικό CID 50V

Παρατηρείται ότι η ένταση του σήματος του ιοντικού ζεύγους δικατιόντος με ανιόν στα θετικά (m/z :451/453) μειώνεται με την αύξηση του δυναμικού και αυξάνεται η ένταση του δικατιόντος στα 162.5. Και η ένταση, όμως, της κορυφής του BrO_3^- μειώνεται με την αύξηση του δυναμικού και ενισχύεται η ένταση του θραύσματός του BrO_2^- σε m/z : 111.

4.2. Σύγκριση αποτελεσμάτων των δύο τεχνικών

Σε αυτό το τμήμα κατασκευάστηκαν διαγράμματα με τα αποτελέσματα που λήφθηκαν και με τις δύο τεχνικές ιοντισμού για να είναι ευκολότερη η σύγκριση.

Πείραμα i) Μελέτη φασμάτων μάζας διαλυμάτων δικατιόντων $C_5(bpyr)_2^{2+}$ με ανιόντα BrO_3^- σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Σε αυτό το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 9 διαφορετικά διαλύματα στα οποία η συγκέντρωση των δικατιόντων αυξανόταν, ενώ των βρωμικών ανιόντων παρέμενε σταθερή. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Διαλύματα	Συγκέντρωση σε $C_5(bpyr)_2^{2+}$ (μM)	Συγκέντρωση σε BrO_3^- (μM)
1	0.07	7
2	0.2	7
3	0.7	7
4	2	7
5	7	7
6	14	7
7	21	7
8	28	7
9	35	7

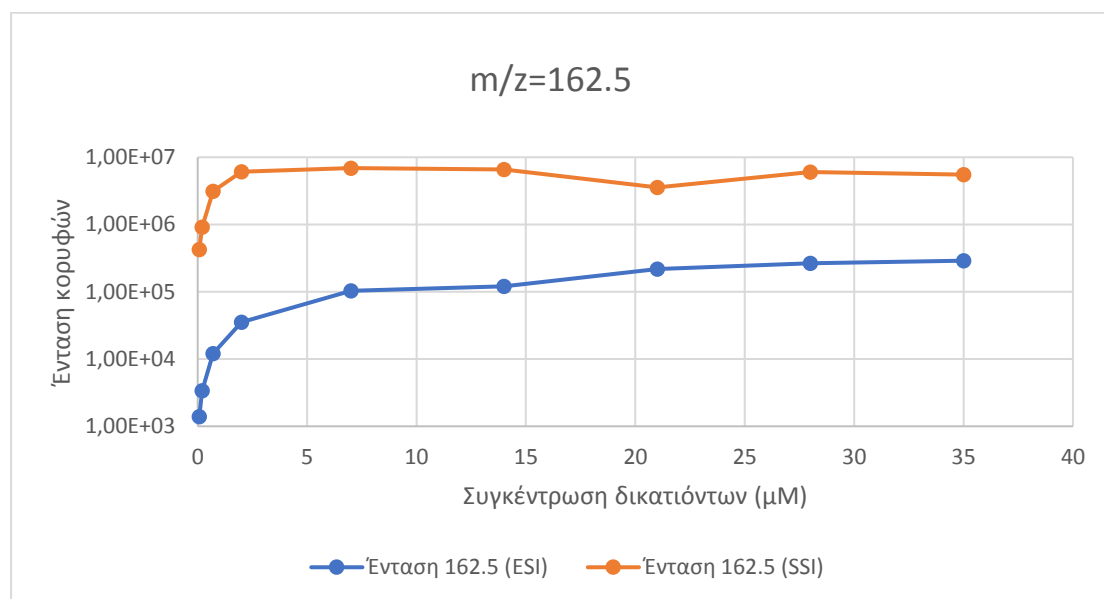
Πίνακας 3: Συγκεντρώσεις διαλυμάτων με $C_5(bpyr)_2^{2+}$ και BrO_3^-

Βλέπουμε, λοιπόν, ότι στα πρώτα διαλύματα (1-4) η συγκέντρωση των δικατιόντων $C_5(bpyr)_2^{2+}$ είναι μικρότερη από αυτή των βρωμικών, έπειτα στο διάλυμα 5 η συγκέντρωση ανιόντων και δικατιόντων είναι ίση και στα τελευταία διαλύματα η τα δικατιόντα βρίσκονται σε περίσσεια.

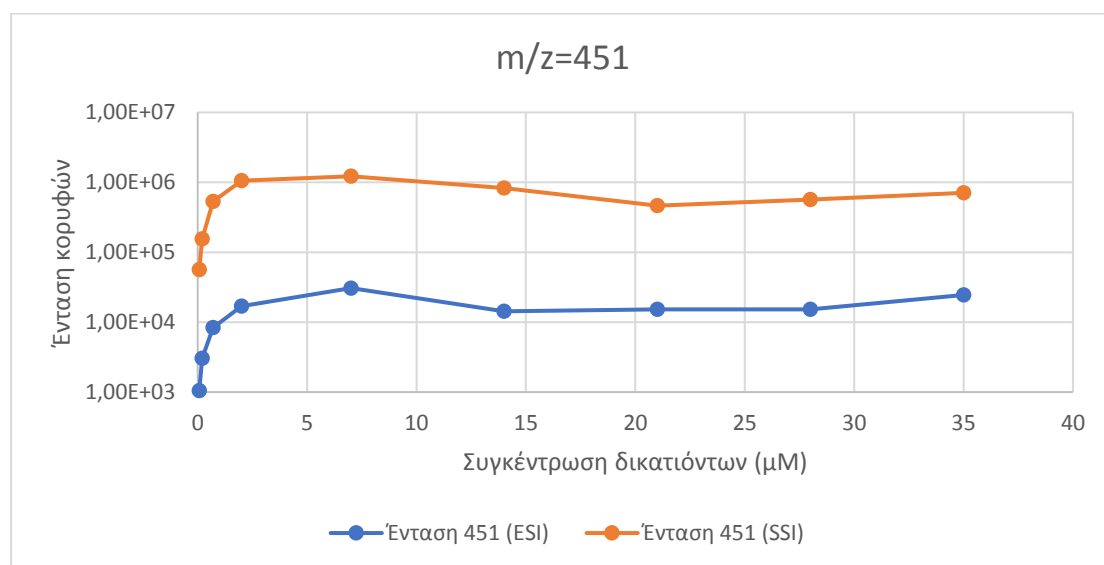
Όπως έχει αναφερθεί και νωρίτερα, τα BrO_3^- και τα $C_5(bpyr)_2^{2+}$ έχουν την τάση να σχηματίζουν ιοντικά ζεύγη με συνολικό φορτίο +1 και δημιουργούν την κορυφή 451/453 με θετικό ιοντισμό. Τα ελεύθερα δικατιόντα $C_5(bpyr)_2^{2+}$ και ανιόντα BrO_3^- που δεν συμβάλλουν στη δημιουργία των ιοντικών ζευγών είτε λόγω περίσσειας του ενός, είτε λόγω μη αποτελεσματικής ένωσης των δύο, εμφανίζουν κορυφές σε m/z: 162.5 και 127/129 αντίστοιχα.

Θεωρητικά, λοιπόν, θα αναμέναμε στα διαλύματα 1-4, στα οποία τα BrO_3^- βρίσκονται σε περίσσεια, να σχηματίζεται το ιοντικό ζεύγος του δικατιόντος με ανιόν που θα έδινε κορυφή στα 451/453, να εμφανίζεται επιπλέον μια κορυφή στα 127/129 στον αρνητικό ιοντισμό λόγω της περίσσειας των BrO_3^- που δε θα δεσμευόταν, με μειούμενη ένταση λόγω της μείωσης των ελεύθερων ιόντων τους, αλλά να μην εμφανίζεται κορυφή για ελεύθερα δικατιόντα, καθώς θα είχε καταναλωθεί όλη η ποσότητά τους στη δημιουργία των ιοντικών ζευγών. Στο διάλυμα 5 στο οποίο η συγκέντρωση των BrO_3^- και των $C_5(bpyr)_2^{2+}$ είναι ίση, αναμένεται η δημιουργία ιοντικού ζεύγους και επομένως, η

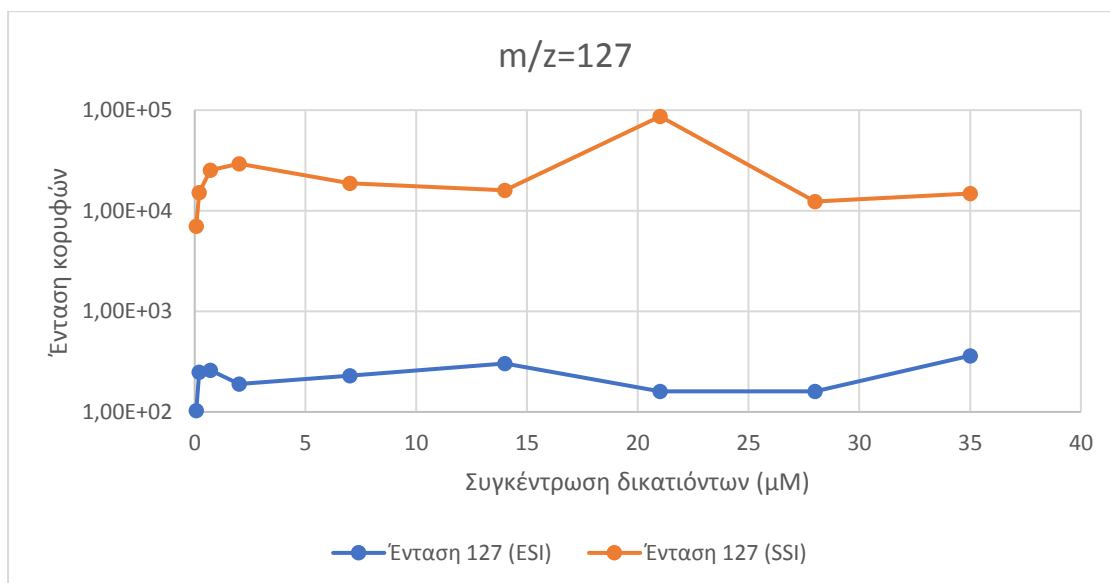
εμφάνιση κορυφής στα 451/453 στο θετικό ιοντισμό αλλά καθώς δεν θα υπάρχουν ελεύθερα ιόντα, θα περιμέναμε να μην παρατηρηθούν κορυφές για τα BrO_3^- και τα $\text{C}_5(\text{bpyr})_2^{2+}$. Τέλος, στα διαλύματα 6-9, στα οποία τα δικατιόντα είναι σε περίσσεια, περιμένουμε να εμφανίζεται κορυφή για το ιοντικό ζεύγος $[\text{C}_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$ στα θετικά σε m/z : 451/453, επίσης να εμφανίζεται κορυφή για τα ελεύθερα δικατιόντα που βρίσκονται σε περίσσεια και δεν δεσμεύονται και μάλιστα με αυξανόμενη ένταση κορυφής καθώς αυξάνεται η συγκέντρωσή τους στα διαλύματα, ενώ για τα βρωμικά δεν περιμένουμε να εμφανιστεί κορυφή, αφού όλη η ποσότητα θα πρέπει να έχει δεσμευθεί. Στα παρακάτω διαγράμματα απεικονίζονται τα αποτελέσματα που λήφθηκαν από τις μετρήσεις και δείχνουν τι πραγματικά συνέβη.



Γράφημα 1: Συγκριτική μεταβολή της έντασης της κορυφής του δικατιόντος $\text{C}_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ (162.5) με ESI και SSI με αυξανόμενη συγκέντρωση δικατιόντων



Γράφημα 2: Συγκριτική μεταβολή της έντασης της κορυφής του ιοντικού ζεύγους $[\text{C}_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$ (451) με ESI & SSI με αυξανόμενη συγκέντρωση δικατιόντων



Γράφημα 3: Συγκριτική μεταβολή της έντασης της κορυφής του ανιόντος BrO_3^- (127) με ESI και SSI με αυξανόμενη συγκέντρωση δικατιόντων

Συγκρίνοντας τις τιμές που δίνουν οι δύο πηγές είναι εμφανές, αρχικά, ότι η πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) παρέχει σήμα δύο τάξεις μεγέθους μεγαλύτερο από την πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI). Στα φάσματα μάζας που φαίνονται στο τμήμα 4.1, παρατηρείται ότι τόσο το υπόβαθρο όσο και τα ποσοστά θορύβου είναι παρόμοια με τις δύο τεχνικές. Τέλος παρατηρείται ίδια μεταβολική τάση της έντασης της κάθε κορυφής με ESI και SSI. Εξαίρεση αποτελεί το διάλυμα 21μM, για το οποίο όταν παρατηρείται μικρή αύξηση του σήματος με τη μία τεχνική, παρατηρείται μικρή μείωση της έντασης με την άλλη και αντίστροφα. Το γεγονός αυτό, όμως, μάλλον είναι τυχαίο, και δεν μπορεί να αιτιολογηθεί επιστημονικά. Εξάλλου, η μεταβολές που παρατηρούνται στις εντάσεις είναι μικρές.

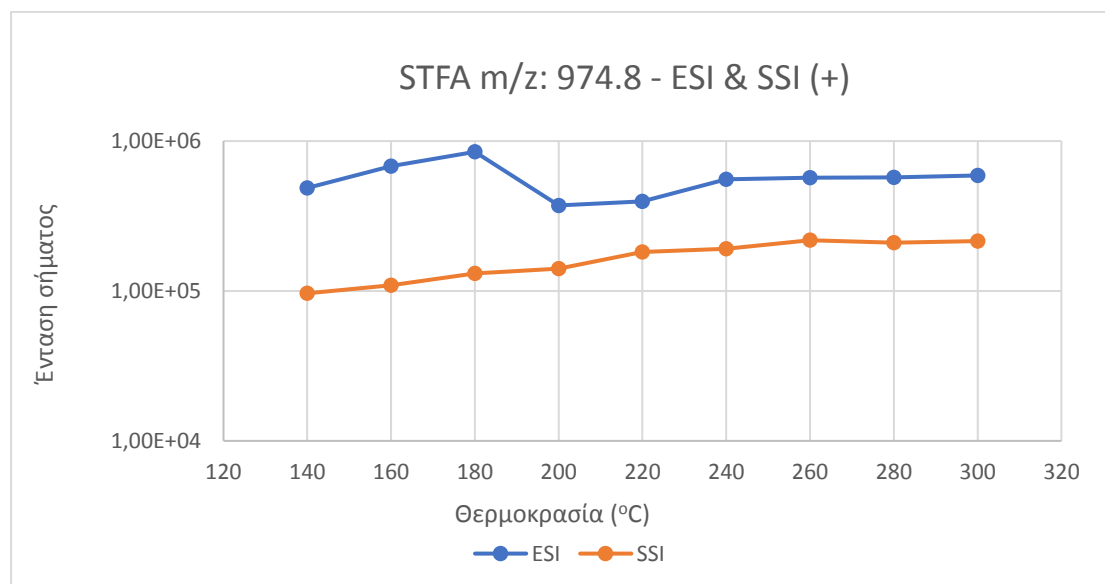
Απ' όσα φαίνονται στα διαγράμματα, αυτά που αναμένονταν δεν ισχύουν και πειραματικά. Γενικότερα, παρατηρείται ότι με την αύξηση της συγκέντρωσης των δικατιόντων αυξάνεται η ένταση του σήματος για όλα τα ιόντα. Φυσιολογικά θα αναμέναμε μια αύξηση του σήματος των δικατιόντων (m/z : 162.5) και μετά το 5 διάλυμα, αφού η συγκέντρωσή τους αυξάνεται συνεχώς, όμως, παρατηρείται μια σταθεροποίηση του σήματος. Επιπλέον, ενώ στα βρωμικά ιόντα θα περιμέναμε μείωση του σήματος μέχρι το διάλυμα 4 και μετά μηδενική ένταση, αντίθετα παρατηρείται και εδώ αύξηση και μετά σταθεροποίηση του σήματος. Τα αποτελέσματα, τώρα, για το ιοντικό ζεύγος $[\text{C}_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$ συμφωνούν με τα αναμενόμενα, κι έτσι η ένταση του σήματος για την κορυφή 451/453, αυξάνεται μέχρι και το διάλυμα 5 στο οποίο οι συγκεντρώσεις ανιόντος και δικατιόντος φτάνουν στην ίδια τιμή και μετά σταθεροποιείται. Οι αποκλίσεις από τα θεωρητικά αποτελέσματα, ίσως, να οφείλονται στο γεγονός ότι η δέσμευση δεν γίνεται εύκολα και έτσι, μικρή ποσότητα των ανιόντων καταφέρνει να ενωθεί με τα δικατιόντα, δημιουργώντας μια ισορροπία ιοντικού ζεύγους και ελεύθερων ιόντων που αναγκάζει τη συγκέντρωση να παραμένει σταθερή από ένα σημείο και μετά.

ii) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης του STFA (τριφθοροξικού νατρίου) από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων (CID).

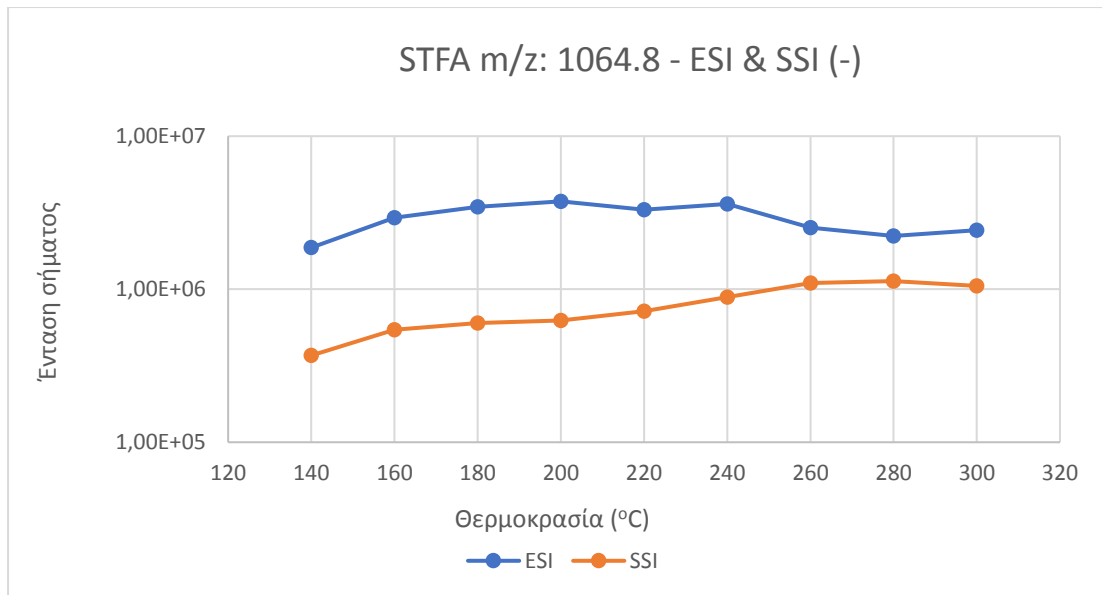
Επειδή το STFA σχηματίζει συστάδες με πολλές μονάδες αυτού σε θετικό και αρνητικό ιοντισμό, στο φάσμα μάζας δημιουργούνται πολλές κορυφές που αντιστοιχούν σε συστάδες με διαφορετικό αριθμό μονάδων. Για την κατασκευή των διαγραμμάτων και την παρακολούθηση της αλλαγής στην ένταση του σήματος με την αύξηση της θερμοκρασίας και του δυναμικού CID, επιλέχθηκε μία τυχαία κορυφή υψηλής έντασης που δεν αντιστοιχεί σε παρεμποδιστική ένωση κι αυτή ήταν με m/z: 974.8 στο θετικό ιοντισμό και η κορυφή με m/z: 1064.8 στον αρνητικό, ώστε να έχουν τον ίδιο αριθμό μονάδων. Ας μην ξεχάμε ότι η γενική μορφή των ιοντικών ζευγών στα θετικά είναι: $[(CF_3COONa)_nNa]^+$ και στα αρνητικά $[(CF_3COONa)_nCF_3COO]^-$, πράγμα το οποίο σημαίνει, ότι το αντίστοιχο ιόν στα αρνητικά θα είναι βαρύτερο κατά 90 Da ($M_{r}[(CF_3COONa)_nCF_3COO]^- - ArNa$).

Στα παρακάτω διαγράμματα απεικονίζεται η μεταβολή της έντασης του σήματος της κορυφής m/z: 974.8 στα θετικά και m/z: 1064.8 στα αρνητικά με την αύξηση της θερμοκρασίας και του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων CID.

Να υπενθυμίσουμε ότι για τη γενική μελέτη της μεταβολής του σήματος του STFA λόγω μεταβολής της θερμοκρασίας ή του δυναμικού, επιλέχθηκε συγκεκριμένη κορυφή στα θετικά και συγκεκριμένη στα αρνητικά. Επομένως, δεν είναι εύκολο να εξαχθεί γενικό συμπέρασμα για τη μεταβολή του σήματος και ίσως κάποιες μη αναμενόμενες μεταβολές στο σήμα των κορυφών που επιλέχθηκαν να συμβαίνουν μόνο σε αυτές.

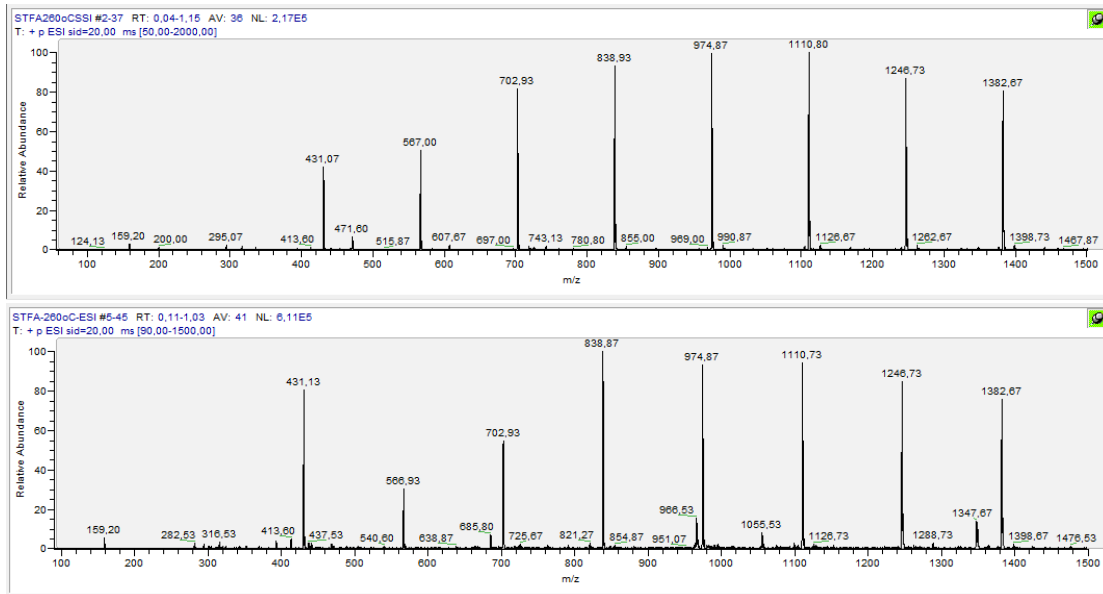


Γράφημα 4: Συγκριτική μεταβολή της έντασης της κορυφής 974.8 του STFA με ESI και SSI στο θετικό ιοντισμό με αυξανόμενη θερμοκρασία



Γράφημα 5: Συγκριτική μεταβολή της έντασης της κορυφής 1064.8 του STFA με ESI και SSI στον αρνητικό ιοντισμό με αυξανόμενη θερμοκρασία

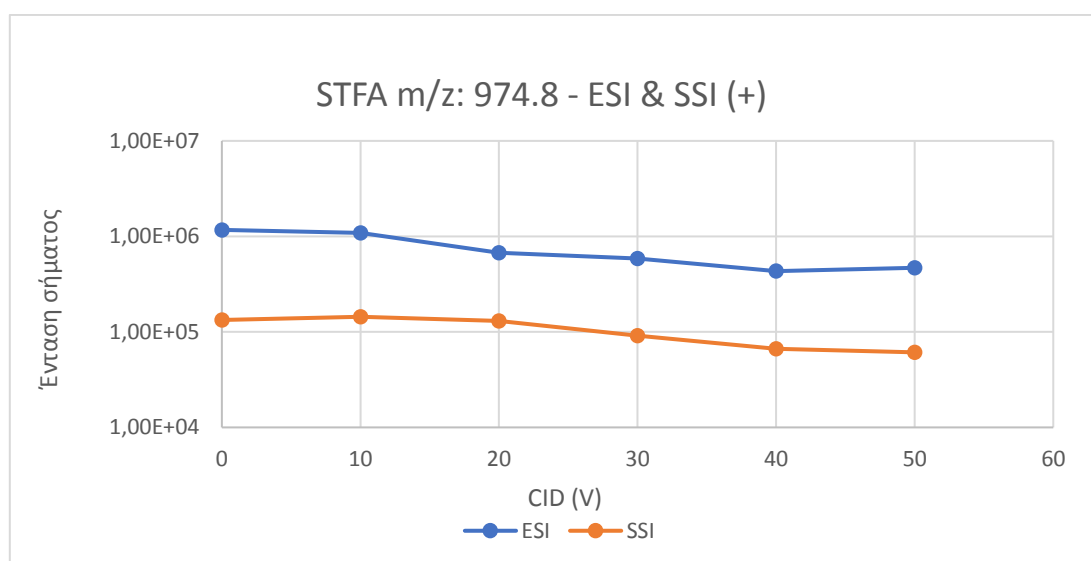
Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα του προηγούμενου πειράματος, εδώ βλέπουμε ότι μεγαλύτερο σήμα δίνει η πηγή ηλεκτροσπασμού, βέβαια με διαφορά μικρότερη της μίας τάξης μεγέθους από τις αντίστοιχες τιμές του SSI. Επιπλέον, η μεταβολική τάση της έντασης των κορυφών είναι παρόμοια και με τις δύο τεχνικές, με μια μικρή αύξηση του σήματος να παρατηρείται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Ωστόσο μικρές παρεκκλίσεις από αυτή την τάση γίνονται εμφανείς, αλλά όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ίσως αφορούν μόνο τις συγκεκριμένες κορυφές και όχι το γενικό προφίλ της ένωσης. Αυτό, όμως, που αξίζει να μελετηθεί είναι ο τρόπος κατανομής των εντάσεων των κορυφών στο φάσμα μάζας κάθε τεχνικής. Κάθε κορυφή αντιστοιχεί σε συστάδα του STFA με διαφορετικό αριθμό μονάδων, με αυτά με τις περισσότερες μονάδες να εμφανίζονται δεξιότερα στο φάσμα έχοντας μεγαλύτερο λόγο m/z . Η σύγκριση μπορεί να γίνει βλέποντας τα πιο κάτω φάσματα μάζας. Επειδή η λήψη των φασμάτων μάζας έγινε με διαφορετικό εύρος m/z στις δύο τεχνικές, έγινε μεγέθυνση στα φάσματα του SSI ώστε να είναι πιο εύκολη η σύγκριση.



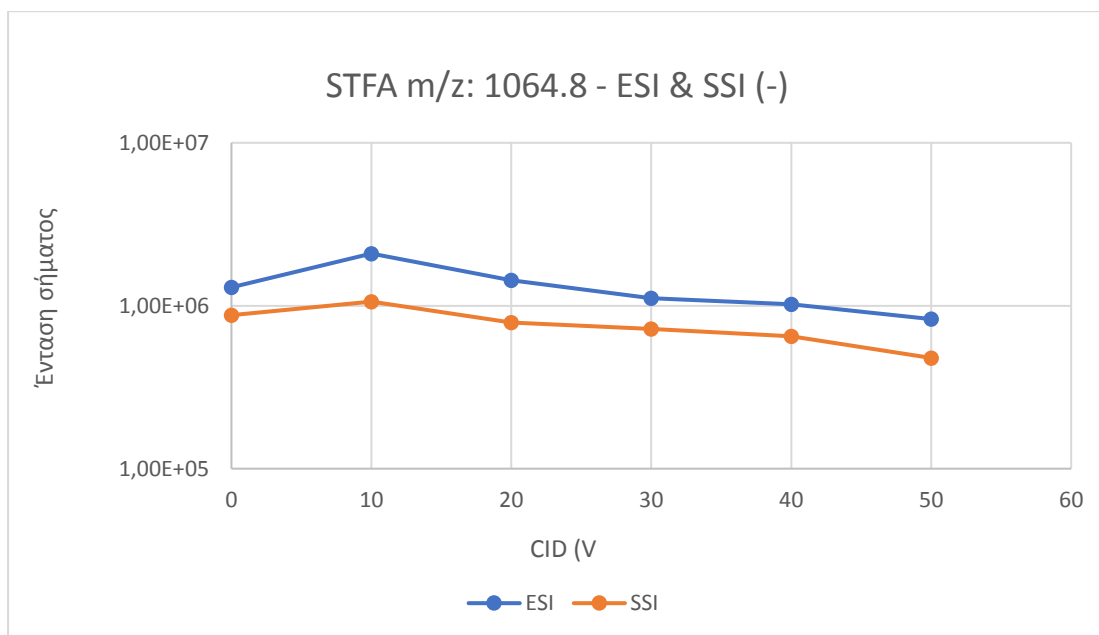
Εικόνα 57: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA σε θετικό ιοντισμό με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης SSI (πάνω) και πηγή ηλεκτρονεκασμού ESI (κάτω) σε θερμοκρασία τριχοειδούς 260° C

Αν παρατηρήσουμε τις σχετικές εντάσεις των κορυφών σε κάθε φάσμα, μπορούμε να δούμε ότι στο φάσμα μάζας του ESI μεγαλύτερη ένταση έχουν οι συστάδες με μικρότερο αριθμό μονάδων, ενώ στο SSI οι μεγαλύτερες κορυφές βρίσκονται στα δεξιά.

Αυτό πρακτικά σημαίνει, ότι για την ίδια θερμοκρασία παρατηρείται περισσότερη θραυσματοποίηση με την πηγή ηλεκτρονεκασμού κι έτσι, οι συστάδες με μεγαλύτερο αριθμό μονάδων σπάνε σε μικρότερα δίνοντας κορυφές στα αριστερά με μεγαλύτερη ένταση. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρούνται και με την αύξηση του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων CID, όπως φαίνεται στα παρακάτω γραφήματα.

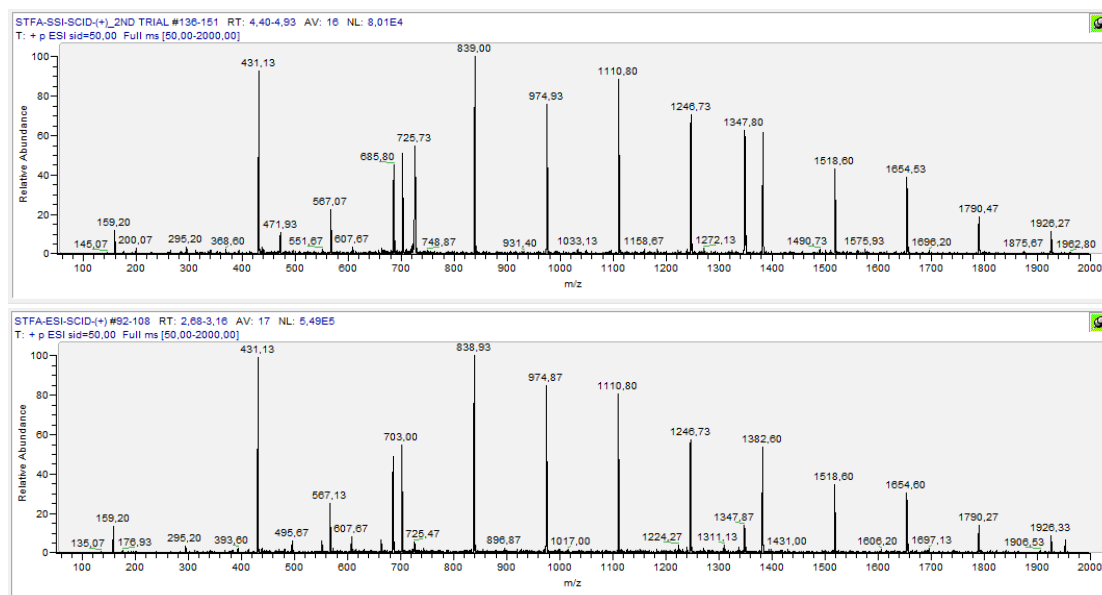


Γράφημα 6: Συγκριτική μεταβολή της έντασης της κορυφής 974.8 του STFA με ESI και SSI στο θετικό ιοντισμό με αυξανόμενο δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων



Γράφημα 7: Συγκριτική μεταβολή της έντασης της κορυφής 1064.8 του STFA με ESI και SSI στον αρνητικό ιοντισμό με αυξανόμενο δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων

Και πάλι παρατηρείται η ένταση των κορυφών που δίνει το ESI να είναι μεγαλύτερη από το SSI, ωστόσο μόνο στα θετικά υπάρχει διαφορά περίπου μια τάξης μεγέθους, ενώ στα αρνητικά το σήμα είναι σχεδόν το ίδιο. Όπως και προηγουμένως η μεταβολική τάση της έντασης με την αύξηση του δυναμικού είναι ίδια και με τις δύο τεχνικές και παρουσιάζει μια μικρή μείωση που οφείλεται στη θραυσματοποίηση των μεγαλύτερων συστάδων σε μικρότερες, λόγω αύξησης της ενέργειας που παρέχεται μέσω της αύξησης του δυναμικού.



Εικόνα 58: Φάσμα μάζας διαλύματος STFA σε θετικό ιοντισμό με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης SSI (πάνω) και πηγή ηλεκτροψεκασμού ESI (κάτω) σε δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων 50V

Αν συγκρίνουμε τις σχετικές εντάσεις στα φάσματα μάζας με τις δύο τεχνικές, βλέπουμε ότι είναι παρόμοια η κατανομή, με το ESI να δημιουργεί λίγο πιο χαμηλές κορυφές σε μεγαλύτερα m/z λόγω θραυσματοποίησης, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως.

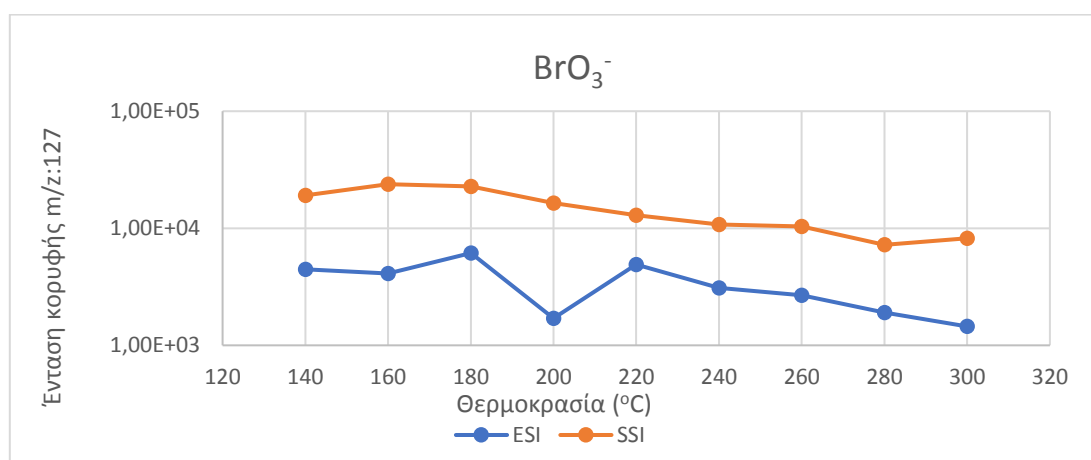
Οι κορυφές που επιλέχθηκαν ανήκουν στις συστάδες με μεγαλύτερο αριθμό μονάδων και γι' αυτό παρατηρείται μείωση της έντασής τους με αύξηση της θερμοκρασίας και του δυναμικού. Αν είχαν επιλεγεί κορυφές με μικρότερο λόγο m/z θα παρατηρούνταν η αντίθετη μεταβολή, δηλαδή θα αυξανόταν η έντασή τους με την αύξηση της θερμοκρασίας τριχοειδούς και του CID, επειδή θα παράγονταν με την θραυσματοποίηση των μεγαλύτερων συστάδων. Είναι εμφανές, λοιπόν, πως η ένταση των κορυφών δεν μεταβάλλεται ιδιαίτερα με την αύξηση της θερμοκρασίας ούτε στο θετικό, ούτε στον αρνητικό ιοντισμό.

Παρατηρείται, βέβαια, μια ανοδική πορεία, η οποία είναι περισσότερο εμφανής στο SSI, ενώ στο ESI υπάρχουν διακυμάνσεις στο σήμα. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός, ότι στον αρνητικό ιοντισμό το σήμα είναι μεγαλύτερο κατά μία τάξη μεγέθους με πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI).

Η μεταβολή του σήματος με την αύξηση του δυναμικού είναι μικρή, αλλά είναι εμφανής μια μικρή πτώση. Και πάλι, η ένταση του σήματος στα αρνητικά του SSI είναι μεγαλύτερη από τα θετικά στο SSI. Η σύγκριση βέβαια γίνεται για δύο συγκεκριμένες κορυφές του φάσματος μάζας, αλλά υποθέτουμε ότι και στις άλλες η μεταβολή της έντασης θα είναι ανάλογη, καθώς οι δυνάμεις που συγκρατούν τις μονάδες STFA συνδεδεμένες σε συστάδες είναι ίδιες σε όλα, ανεξαρτήτως αριθμού μονάδων. Επομένως, η αλλαγή της θερμοκρασίας ή του δυναμικού επηρεάζει με τον ίδιο τρόπο όλες τις συστάδες και άρα η ένταση των κορυφών αλλάζει ανάλογα σε όλες.

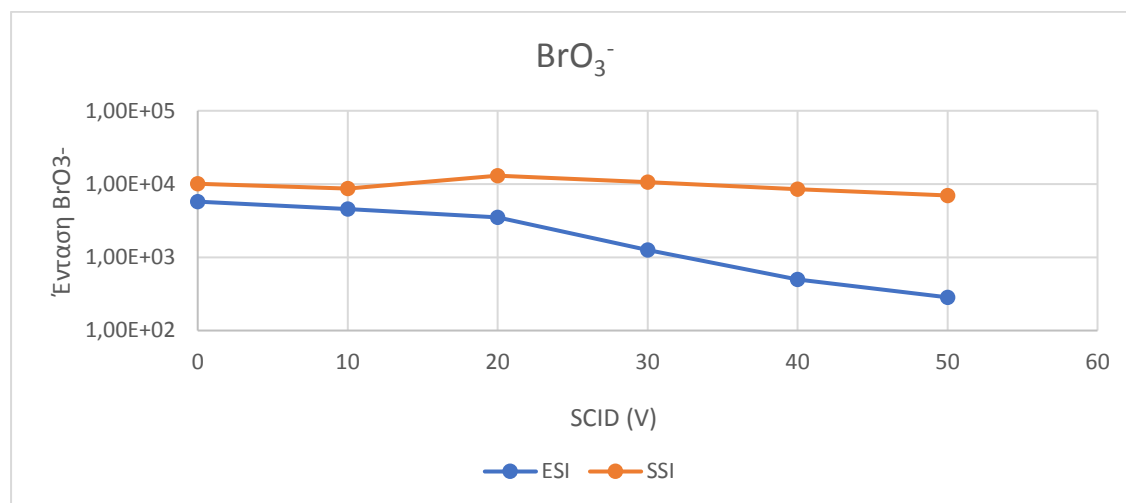
iii) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης των BrO_3^- από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού διάστασης (CID).

Στα διαγράμματα που ακολουθούν φαίνεται η μεταβολή της έντασης της κορυφής των BrO_3^- (m/z:127/129 στα αρνητικά), με την αύξηση του δυναμικού CID και της θερμοκρασίας τριχοειδούς και με τις δύο πηγές ESI και SSI.



Γράφημα 8: Συγκριτική μεταβολή της έντασης των ανιόντων BrO_3^- (m/z: 127) με ESI και SSI στον αρνητικό ιοντισμό με αυξανόμενη θερμοκρασία

Από το παραπάνω γράφημα φαίνεται η διαφορά στην ένταση των κορυφών μεταξύ των δύο τεχνικών, με την πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης να δημιουργεί κορυφές έως και μία τάξη μεγέθους μεγαλύτερες. Η μεταβολή της έντασης είναι παρόμοια και με τις δύο πηγές ιοντισμού σημειώνοντας μείωση καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία.

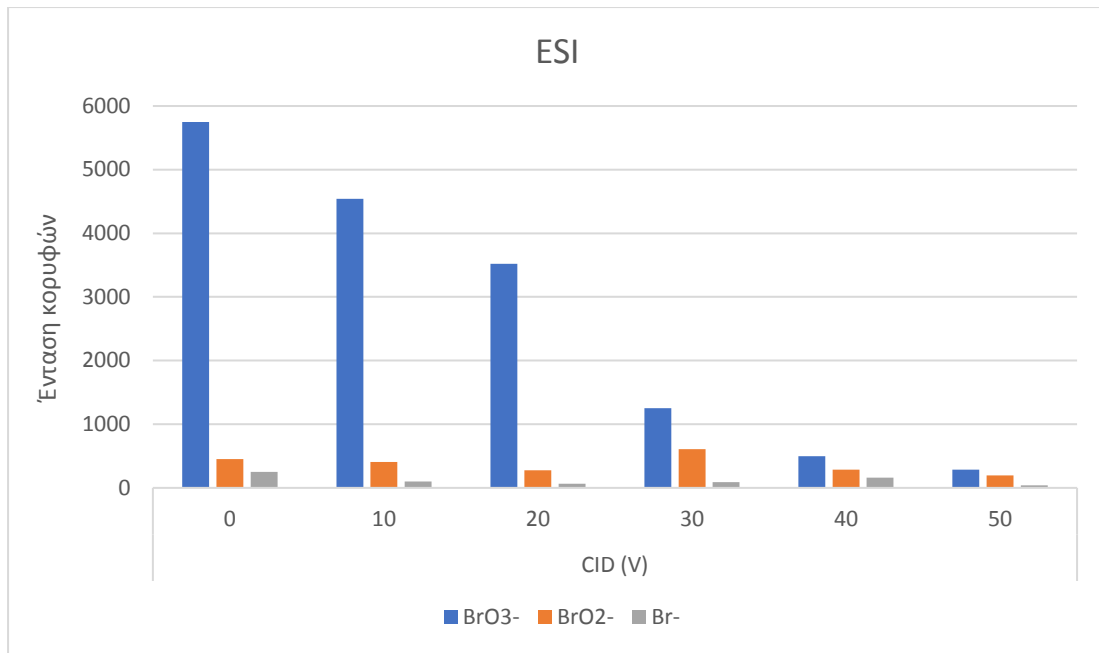


Γράφημα 9: Συγκριτική μεταβολή της έντασης των ανιόντων BrO₃⁻ (m/z: 127) με ESI και SSI στον αρνητικό ιοντισμό με αυξανόμενο δυναμικό CID

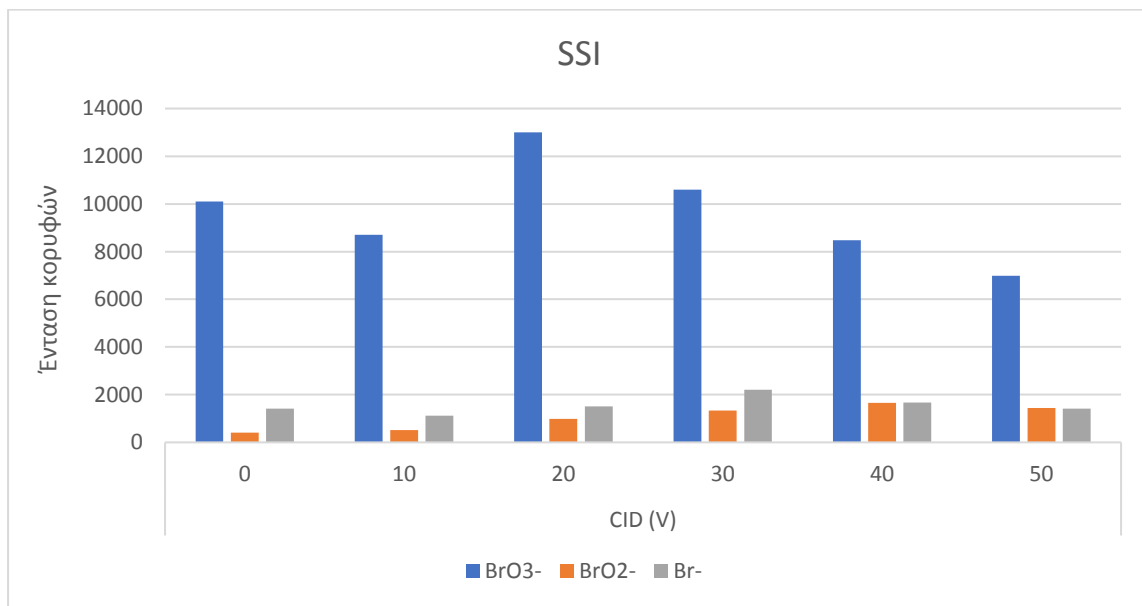
Και εδώ παρατηρείται διαφορά έως και μιάμιση τάξη μεγέθους στην ένταση του σήματος που δίνουν οι δύο τεχνικές, με μεγαλύτερη αυτή του SSI. Όσο για τη μεταβολή του σήματος με την αύξηση του δυναμικού, στο SSI η ένταση παραμένει σχεδόν σταθερή, ίσως με μια μικρή πτώση στις μεγαλύτερες τιμές δυναμικού. Αντίθετα, στο ESI παρατηρείται πολύ απότομη πτώση του σήματος και αυτό οφείλεται στην ίδια την τεχνική ιοντισμού που χρησιμοποιεί επιπλέον δυναμικό στην εκνέφωση κι έτσι η θραυσματοποίηση του μοριακού ιόντος είναι πολύ εντονότερη.

Όπως γίνεται φανερό, η αύξηση του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων προκαλεί και μια αρκετά μεγάλη πτώση στην ένταση του σήματος στο φάσμα μάζας του ESI, ενώ αντίθετα στο SSI το σήμα διατηρείται σχεδόν σταθερό για τις πρώτες τιμές του δυναμικού και σημειώνεται μία πολύ μικρή πτώση προς το τέλος. Η πτώση οφείλεται στη θραυσματοποίηση του μοριακού ιόντος που προκαλεί μείωση στην ένταση της αντίστοιχης κορυφής και αύξηση των κορυφών που αντιστοιχούν στα θραύσματα αυτό (m/z: 111, m/z:79/81), όπως έχει αναφερθεί πιο πάνω.

Στα παρακάτω γραφήματα φαίνεται η μείωση της έντασης του μοριακού ιόντος και η παράλληλη αύξηση της έντασης των κορυφών που αντιστοιχούν σε θραύσματα αυτού.



Γράφημα 10: Συγκριτική μεταβολή των εντάσεων των κορυφών για τα BrO_3^- , BrO_2^- και Br^- με αύξηση του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων χρησιμοποιώντας πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) σε αρνητικό ιοντισμό

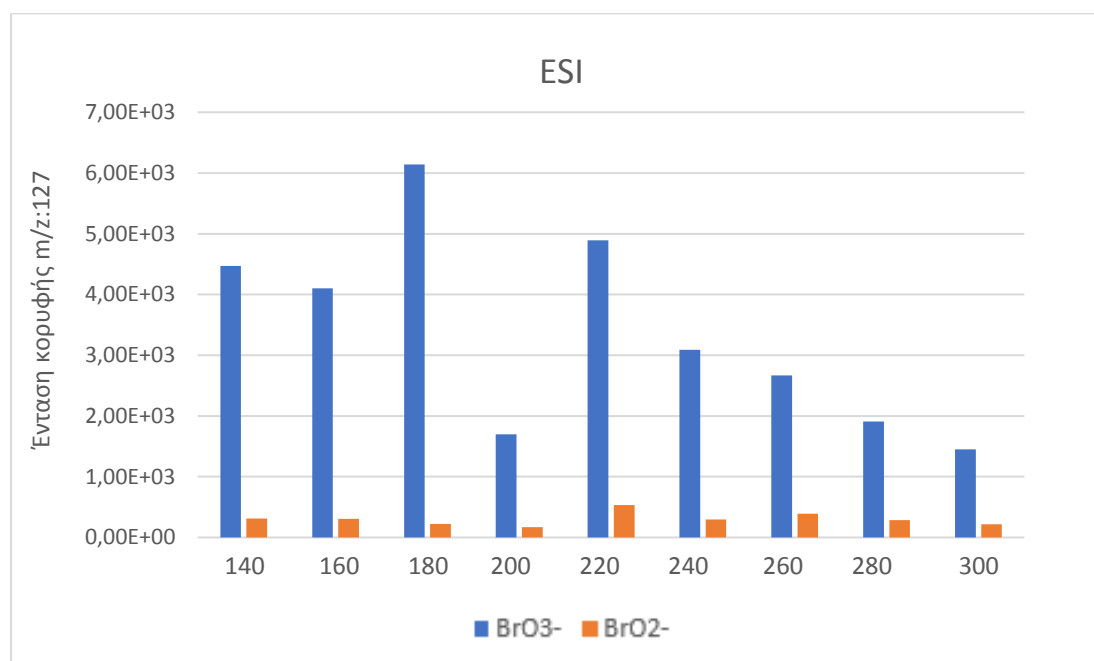


Γράφημα 11: Συγκριτική μεταβολή των εντάσεων των κορυφών για τα BrO_3^- , BrO_2^- και Br^- με αύξηση του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων χρησιμοποιώντας πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) σε αρνητικό ιοντισμό

Είναι φανερή η πολύ έντονη πτώση της κορυφής του μοριακού ιόντος που φαίνεται με μπλε στο διάγραμμα. Παρατηρείται, επίσης, και η ταυτόχρονη αύξηση των κορυφών των θραυσμάτων, που είναι πιο έντονη στο SSI. Μπορούμε, ακόμη, να δούμε ότι το συνολικό σήμα μειώνεται, οπότε δεν μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι όσο μειώνεται η ένταση της κορυφής του μοριακού ιόντος άλλο τόσο αυξάνεται η ένταση

των κορυφών των θραυσμάτων του. Αξίζει, όμως, να παρατηρηθεί η αλλαγή στη σχετική ένταση των κορυφών με την αύξηση του δυναμικού.

Και με τις δύο τεχνικές παρατηρείται μια μικρή μείωση της έντασης, καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία και αυτό οφείλεται στη θραυσματοποίηση του μοριακού ιόντος που προκαλείται από την ενέργεια που δέχεται σε μορφή θερμότητας. Στους 200° C στο διάγραμμα του ESI παρατηρείται μια απότομη πτώση της έντασης του μοριακού ιόντος. Για να διαπιστωθεί αν οφείλεται σε θραυσματοποίηση αυτού η απλώς μη αποτελεσματικό ιοντισμό όλων των ιόντων αξίζει να κατασκευαστεί συγκριτικό διάγραμμα της έντασης των κορυφών BrO_3^- (m/z:127) και BrO_2^- (m/z: 111) για όλο το εύρος των θερμοκρασιών.

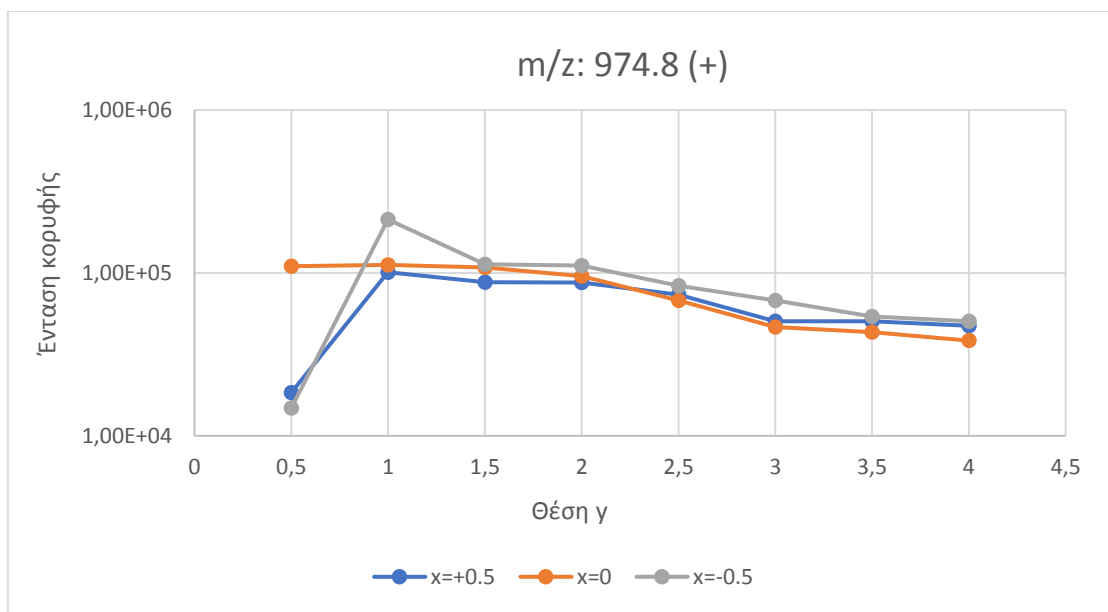


Γράφημα 12: Συγκριτική μεταβολή των εντάσεων των κορυφών για τα BrO_3^- και BrO_2^- με αύξηση της θερμοκρασίας χρησιμοποιώντας πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) σε αρνητικό ιοντισμό

Όπως φαίνεται και στο παραπάνω διάγραμμα, στους 200° C δεν πέφτει μόνο η ένταση του μοριακού ιόντος αλλά και του θραύσματος αυτού (BrO_2^-), επομένως η πτώση του σήματος των BrO_3^- δεν οφείλεται σε θραυσματοποίηση αυτού αλλά σε γενικότερη πτώση του σήματος σε αυτή τη θερμοκρασία.

iv) Εύρεση βέλτιστης θέσης εκνεφωτή SSI

Ως βέλτιστη θέση του εκνεφωτή ορίζουμε εκείνη στην οποία παρέχεται το μέγιστο σήμα. Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκε διάλυμα τριφθοροξικού νατρίου, το οποίο εμφανίζει πολλές κορυφές στο φάσμα μάζας όπως έχει αναφερθεί νωρίτερα. Και εδώ επιλέχθηκαν οι ίδιες κορυφές (974.8 στα θετικά και 1064.8 στα αρνητικά) για παρακολούθηση της μεταβολής της έντασής τους.

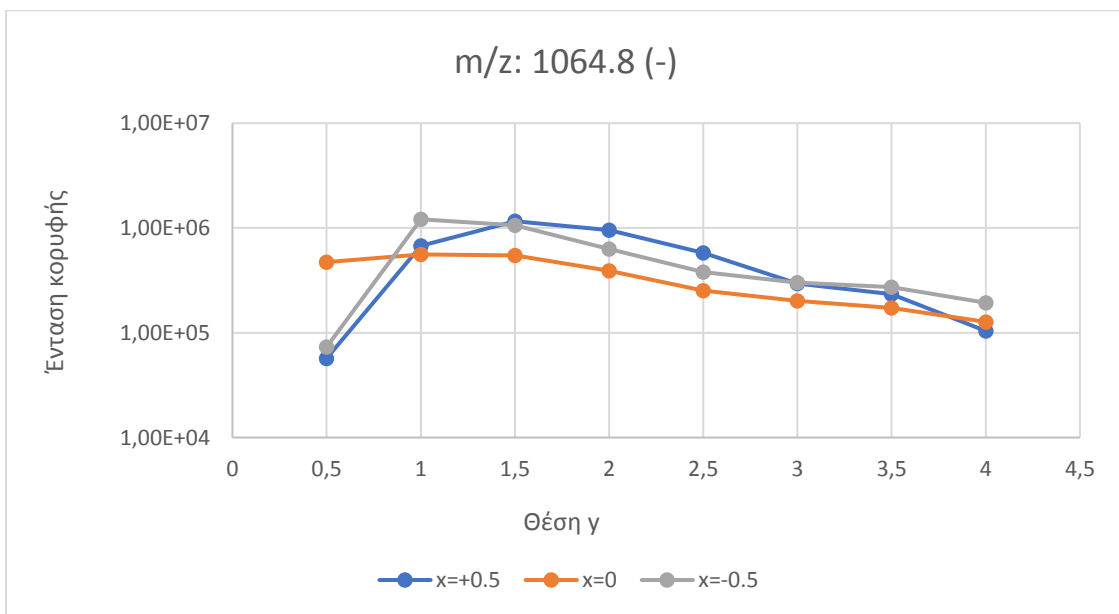


Γράφημα 13: Συγκριτική μεταβολή της έντασης του ιόντος 974.8 σε θετικό ιοντισμό στις θέσεις $x=+0.5$, $x=0$ και $x=-0.5$ καθώς μεταβάλλεται η θέση y

Παρατηρείται ότι στη θέση $x=0$ όπου ο εκνεφωτής βρίσκεται ακριβώς μπροστά από την είσοδο του φασματομέτρου μάζας, η ένταση του σήματος είναι υψηλή από την αρχή των μετρήσεων και παρουσιάζει μια μικρή μείωση όσο ο εκνεφωτής απομακρύνεται προς τα πίσω.

Θέση με το βέλτιστο σήμα βρέθηκε για τα θετικά να είναι η θέση $x=-0.5$, $y=1.0$, δηλαδή αυτή στην οποία η ο εκνεφωτής είναι τοποθετημένος 0.5mm αριστερά από τον κώνο του οργάνου και 1.0mm προς τα πίσω.

Αντίστοιχα, στα αρνητικά παρατηρείται η εξής μεταβολή:



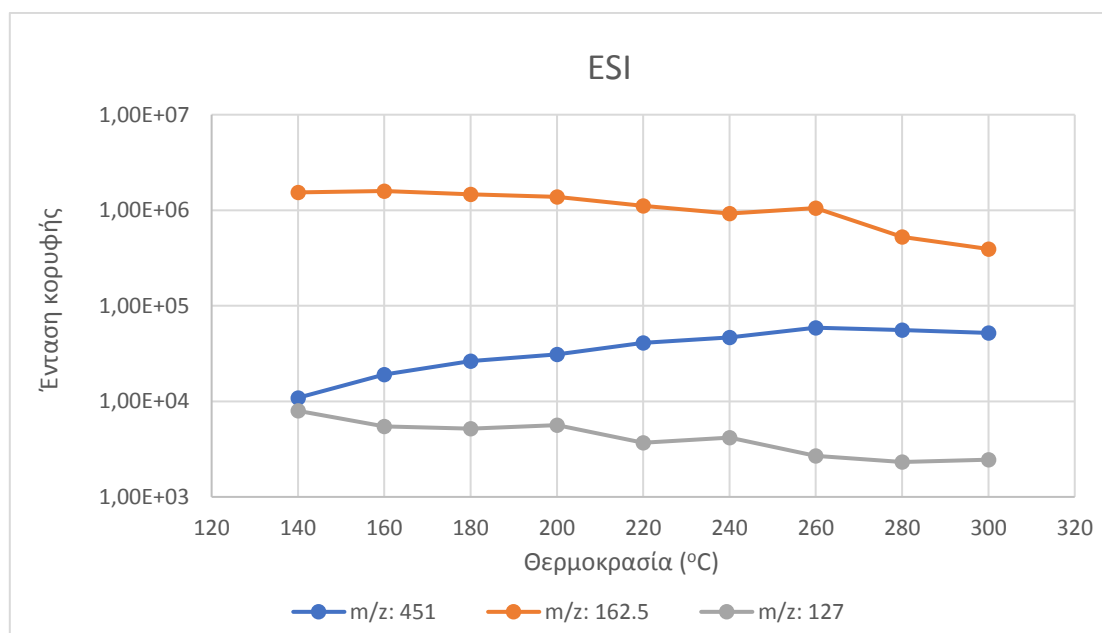
Γράφημα 14: Συγκριτική μεταβολή της έντασης του ιόντος 1064.8 σε αρνητικό ιοντισμό στις θέσεις $x=+0.5$, $x=0$ και $x=-0.5$ καθώς μεταβάλλεται η θέση y

Παρόμοια αποτελέσματα με τα θετικά παρατηρούνται και στα αρνητικά, με ανάλογη μεταβολική τάση στις τρεις θέσει x και την ίδια βέλτιστη θέση του εκνεφωτή σε $x=-0.5$ και $y=1.0$.

ν) Μελέτη της εξάρτησης της θραυσματοποίησης των ιοντικών ζευγών δικατιότων $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ με ανιόντα BrO_3^- από την αύξηση της θερμοκρασίας του τριχοειδούς και του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων (CID).

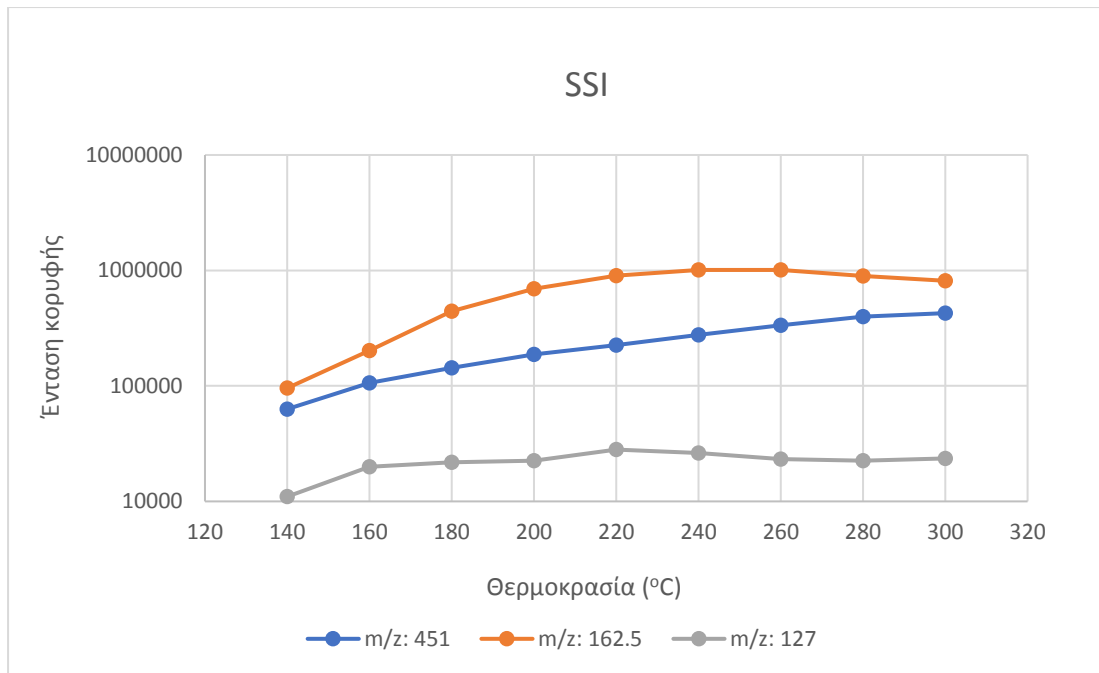
Στα διαγράμματα που ακολουθούν απεικονίζεται η μεταβολή της έντασης της κορυφής του ιοντικού ζεύγους $[C_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$ με την αύξηση της θερμοκρασίας και του δυναμικού σε ESI και SSI.

Και με τις δύο τεχνικές παρατηρείται αύξηση του σήματος του ιοντικού ζεύγους $[C_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$ με την αύξηση της θερμοκρασίας, πράγμα το οποίο υποδηλώνει όχι απαραίτητα ότι δεν θραυσματοποιείται αλλά ότι ίσως σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες να γίνεται καλύτερος ιοντισμός και γι' αυτό να ανιχνεύονται περισσότερα ιόντα. Αντίστοιχα, αναμένεται να αυξάνεται και η ένταση των κορυφών των θραυσμάτων των ιοντικών ζευγών, δηλαδή των ιόντων $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ και BrO_3^- με $m/z:162.5$ στα θετικά και $127/129$ στα αρνητικά αντίστοιχα. Ενδιαφέρον θα είναι να παρατηρήσουμε την αλλαγή στη σχετική ένταση του ιοντικού ζεύγους με τα θραύσματά του.



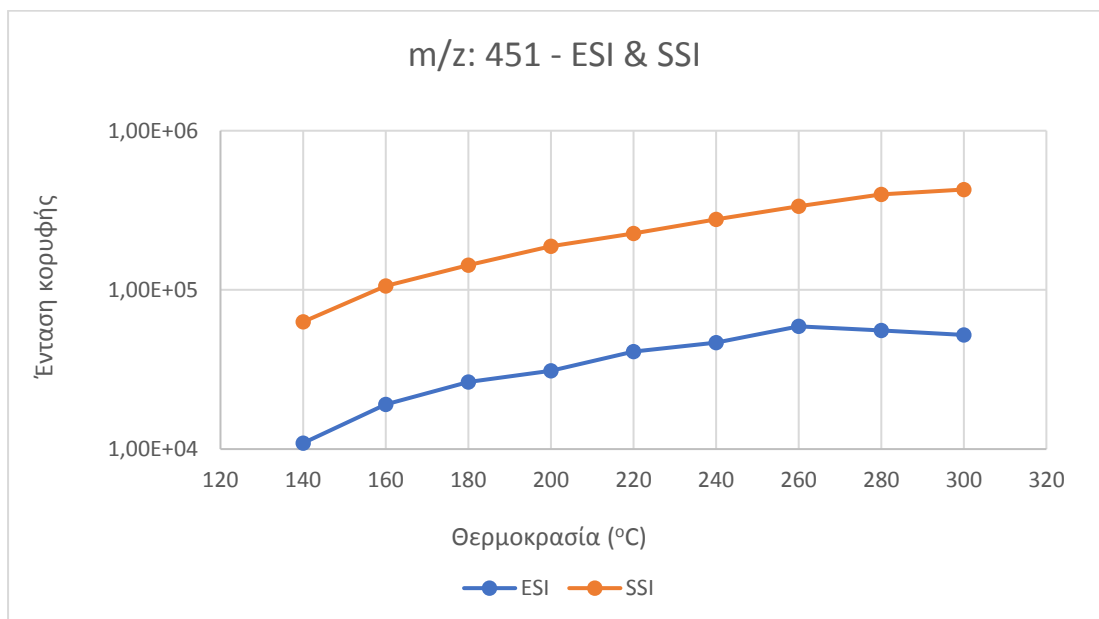
Γράφημα 15: Συγκριτική μεταβολή των εντάσεων των κορυφών για τα $[C_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$ (451), $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ (162.5) και BrO_3^- (127) με αύξηση της θερμοκρασίας τριχοειδούς, χρησιμοποιώντας πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI)

Όπως φαίνεται στο παραπάνω γράφημα για το ESI παρατηρείται η αναμενόμενη μείωση της έντασης του ιοντικού ζεύγους και η παράλληλη αύξηση της έντασης του θραύσματός του $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$, αλλά μείωση της έντασης του άλλου θραύσματος BrO_3^- καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία του τριχοειδούς.



Γράφημα 16: Συγκριτική μεταβολή των εντάσεων των κορυφών για τα $[C_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$ (451), $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ (162.5) και BrO_3^- (127) με αύξηση της θερμοκρασίας τριχοειδούς, χρησιμοποιώντας πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI)

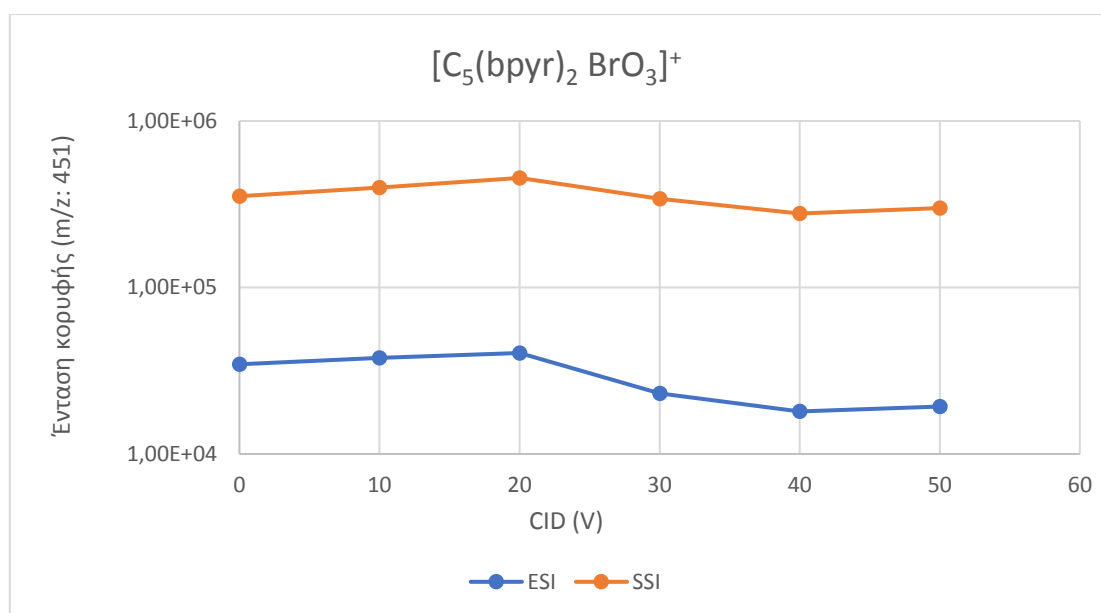
Στο SSI καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, φαίνεται να αυξάνεται και η ένταση του σήματος τόσο του ιοντικού ζεύγους, όσο και των θραυσμάτων του. Μάλλον, λοιπόν, η αύξηση αυτή οφείλεται σε πιο αποτελεσματικό ιοντισμό. Να υπενθυμίσουμε σε αυτό το σημείο ότι το διάλυμα περιείχε ίσες ποσότητες ανιόντος και δικατιόντος, οπότε θεωρητικά θα αναμενόταν η ποσότητα των ελεύθερων ανιόντων και δικατιόντων να ήταν ελάχιστη έως ανύπαρκτη αρχικά και με την αύξηση της θερμοκρασίας να αυξάνεται και αυτή, όμως, η δέσμευση δεν είναι τόσο αποτελεσματική.



Γράφημα 17: Συγκριτική μεταβολή της έντασης των ιοντικών ζευγών $[C_5(\text{bpyr})_2\text{BrO}_3]^+$ (m/z: 451) με ESI και SSI στο θετικό ιοντισμό με αυξανόμενη θερμοκρασία

Στο παραπάνω γράφημα είναι ξανά εμφανής η διαφορά στην ένταση των κορυφών μεταξύ των δύο τεχνικών, με την πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης να παρέχει σήμα μεγαλύτερο κατά μία τάξη μεγέθους. Ωστόσο η μεταβολή της έντασης με την αύξηση της θερμοκρασίας δεν είναι πτωτική όπως θα αναμενόταν, αλλά, αντιθέτως, αυξάνεται και με τις δύο τεχνικές ιοντισμού. Ίσως, λοιπόν, η αύξηση της θερμοκρασίας να ευνοεί το σχηματισμό του ιοντικού ζεύγους ή απλώς να ενισχύει τη δημιουργία ιόντων $[C_5(bpyr)_2 BrO_3]^+$ και γι' αυτό να εμφανίζεται αυτή η ενίσχυση στο σήμα.

Ας δούμε, τώρα, τι συμβαίνει στο ίδιο ιοντικό ζεύγος με την αύξηση του δυναμικού διάστασης CID.

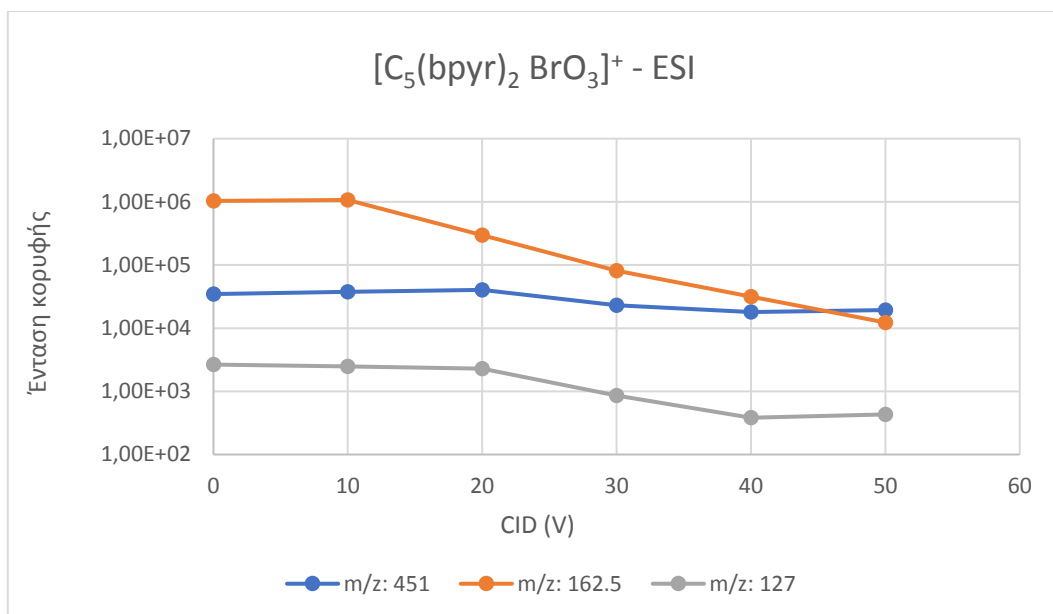


Γράφημα 18: Συγκριτική μεταβολή της έντασης των ιοντικών ζευγών $[C_5(bpyr)_2 BrO_3]^+$ (m/z: 451) με ESI και SSI στο θετικό ιοντισμό με αυξανόμενο δυναμικό CID

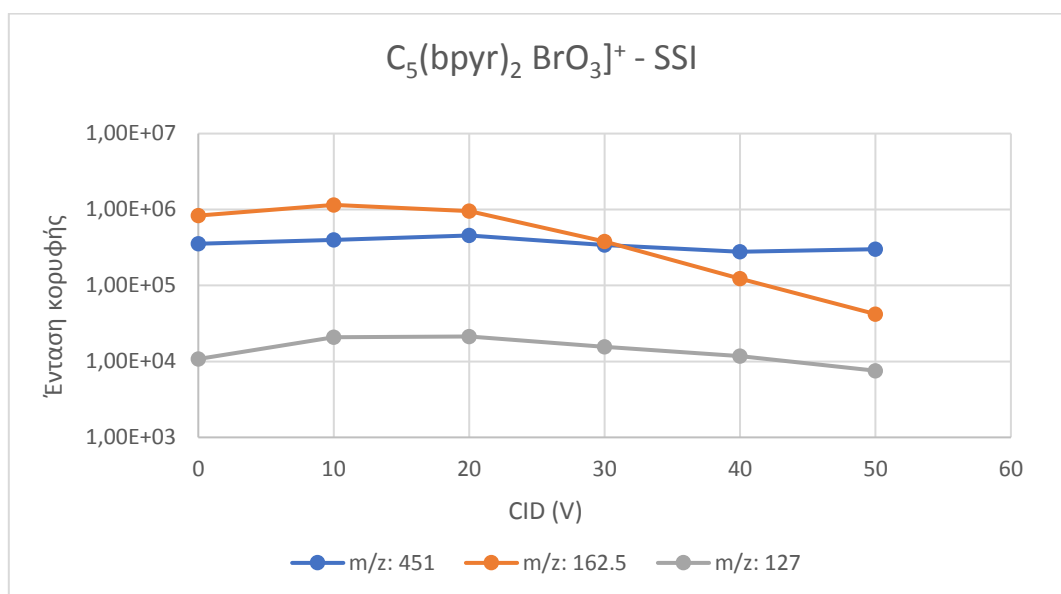
Ξανά σε αυτό το διάγραμμα παρατηρείται διαφορά έντασης μία τάξη μεγέθους μεταξύ των δύο τεχνικών, ενώ φαίνεται η ίδια μεταβολική τάση με ελαφρώς μειούμενη ένταση που οφείλεται στην θραυσματοποίηση λόγω αύξησης της ενέργειας που προσλαμβάνει το ιοντικό ζεύγος από το δυναμικό CID.

Στο γράφημα για το ESI είναι εμφανής η αναμενόμενη πτώση του σήματος του ιοντικού ζεύγους λόγω θραυσματοποίησης που προκαλείται από την αύξηση της ενέργειας που παρέχεται στα μόρια μέσω δυναμικού αλλά και εξαιτίας του επιπλέον δυναμικού που χρησιμοποιείται στην πηγή εκνέφωσης. Στο γράφημα του SSI βλέπουμε ότι η ένταση παραμένει σχεδόν σταθερή.

Ας δούμε, τώρα, τις σχετικές μεταβολές των εντάσεων του ιοντικού ζεύγους και των θραυσμάτων του.



Γράφημα 19: Συγκριτική μεταβολή των εντάσεων των κορυφών για τα [C₅(bpyr)₂ BrO₃]⁺ (451), C₅(bpyr)₂²⁺ (162.5) και BrO₃⁻ (127) με αύξηση δυναμικού CID, χρησιμοποιώντας πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI)



Γράφημα 20: Συγκριτική μεταβολή των εντάσεων των κορυφών για τα [C₅(bpyr)₂BrO₃]⁺ (451), C₅(bpyr)₂²⁺ (162.5) και BrO₃⁻ (127) με αύξηση δυναμικού CID, χρησιμοποιώντας πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI)

Αρχικά, όσον αφορά το γράφημα για το ESI παρατηρείται πτώση του σήματος του ιοντικού ζεύγους αλλά και ταυτόχρονη μείωση του σήματος των θραυσμάτων του, οπότε μάλλον η ένταση του ιοντικού ζεύγους δεν μειώνεται λόγω θραυσματοποίησής του. Επίσης, στο SSI, ενώ παρατηρείται η ένταση του ιοντικού ζεύγους παραμένει σχεδόν σταθερή και των θραυσμάτων του πέφτει, επομένως ούτε εδώ μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για την επίδραση της αύξησης του δυναμικού στην θραυσματοποίηση του ιοντικού ζεύγους.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εκτέλεση των πέντε αυτών διαφορετικών ειδών πειραμάτων έδωσε στοιχεία που επιτρέπουν την σύγκριση των δύο τεχνικών ιοντισμού αλλά και την εξαγωγή συμπερασμάτων όσον αφορά την εξάρτηση της έντασης του σήματος από την αλλαγή παραμέτρων του οργάνου, της θέσης του εκνεφωτή ή τη μεταβολή των συγκεντρώσεων των ιόντων στα διαλύματα.

Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά την επίδραση της συγκέντρωσης $C_5(\text{bpyr})_2^{2+}$ στο σχηματισμό ιοντικών ζευγών με BrO_3^- , φαίνεται να είναι θετική, καθώς με αύξηση της συγκέντρωσης των δικατιόντων, αυξάνεται και η ένταση της κορυφής του ιοντικού ζεύγους. Μόλις οι συγκεντρώσεις δικατιόντων και βρωμικών γίνουν ίσες, το σήμα ξεκινά να παραμένει σταθερό ακόμα και μετά τη συνέχιση της αύξησης της συγκέντρωσης των δικατιόντων. Αυτό ήταν αναμενόμενο να γίνει λόγω έλλειψης ανιόντων με τα οποία θα δεσμευθούν. Όμως, η ένταση των βρωμικών αντί να μειώνεται λόγω κατανάλωσής τους για σχηματισμό ιοντικών ζευγών, αυξάνεται. Οπότε, μάλλον, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η δέσμευση δεν γίνεται εύκολα και μικρό ποσοστό των ιόντων συμμετέχουν σ' αυτή, ενώ όλα τα υπόλοιπα βρίσκονται ελεύθερα. Ίσως, μάλιστα να υπάρχει και ισορροπία μεταξύ ιοντικών ζευγών και ελεύθερων ιόντων που να αναγκάζει την ποσότητα των δεσμευμένων ιόντων να είναι σταθερή και χαμηλή σε σχέση με τη συνολική ποσότητα ιόντων. Τέλος, η ένταση σήματος που δίνει η πηγή SSI είναι μεγαλύτερη κατά δύο τάξεις μεγέθους, επομένως αυτή θεωρείται καλύτερη τεχνική για την ανίχνευση αυτών των μορίων.

Από το πείραμα της συσχέτισης της θερμοκρασίας τριχοειδούς και δυναμικού CID με την θραυσματοποίηση του STFA συμπεραίνουμε ότι η ένταση των κορυφών που παρακολουθούνταν αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας και μειώνεται ελάχιστα με την αύξηση του δυναμικού. Οι κορυφές που επιλέχθηκαν βρίσκονταν σε σχετικά μεγάλα m/z , οπότε αντιστοιχούν σε συστάδες STFA με πολλές μονάδες. Βέβαια, υπάρχουν και κορυφές που αντιστοιχούν σε συστάδες με περισσότερες μονάδες STFA. Με την αύξηση, λοιπόν, της θερμοκρασίας, ίσως οι μεγαλύτερες συστάδες να θραυσματοποιούνται δίνοντας ως προϊόντα συστάδες όπως αυτές στις κορυφές που επιλέχθηκαν και γι' αυτό η έντασή τους αυξανόταν. Όσον αφορά τη μείωση που παρατηρείται με την αύξηση του δυναμικού, αυτή ίσως να οφείλεται στη μεγαλύτερη ενέργεια που παρέχεται μέσω δυναμικού, η οποία είναι ικανή να διασπάσει περαιτέρω τις συστάδες. Ως καταλληλότερη τεχνική από άποψη ενίσχυσης του σήματος θεωρείται ο ηλεκτροψεκασμός, αν και η διαφορά στην ένταση με το SSI είναι μικρότερη της μίας τάξης μεγέθους.

Για τη συσχέτιση της θραυσματοποίησης των βρωμικών ανιόντων με την αύξηση της θερμοκρασίας και του δυναμικού παρατηρήθηκε ότι με την επίδραση των τελευταίων μειώνεται η ένταση των BrO_3^- με τη μείωση να είναι εντονότερη με την πηγή ηλεκτροψεκασμού. Ταυτόχρονα παρατηρείται μείωση του γενικότερου σήματος και επομένως και των κορυφών που αντιστοιχούν στα θραύσματά τους. Η σχετική, όμως, ένταση των BrO_3^- και των θραυσμάτων τους (BrO_2^- και Br^-) αυξάνεται και αυτό πρακτικά σημαίνει ότι αυξάνεται η θραυσματοποίηση όσο αυξάνεται η θερμοκρασία και το δυναμικό CID. Συγκρίνοντας τις δύο τεχνικές καταλήγουμε στο ότι η πηγή

υπερηχητικής εκνέφωσης δίνει μεγαλύτερο σήμα με αρκετά μικρότερη επιρροή από τη θερμοκρασία τριχοειδούς και το δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων, συνεπώς και αρκετά μικρότερη θραυσματοποίηση του μοριακού ιόντος

Από το πείραμα για την εύρεση της βέλτιστης θέσης του εκνεφωτή SSI συμπεράθηκε ότι το μέγιστο σήμα επιτυγχάνεται όταν ο εκνεφωτής βρίσκεται 0.5mm αριστερά από την είσοδο του φασματογράφου μάζας και 1mm μακριά από αυτόν.

Τέλος, όσον αφορά τη συσχέτιση της θραυσματοποίησης του ιοντικού ζεύγους $[C_5(bpyr)_2BrO_3]^+$ με την αύξηση της θερμοκρασίας τριχοειδούς και του δυναμικού επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή, βρέθηκε ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία αυξάνεται και η ένταση του ιοντικού ζεύγους. Αυτό, ίσως να σημαίνει ότι η δημιουργία του ιοντικού ζεύγους ευνοείται σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Αντίθετα, με την αύξηση του δυναμικού CID παρατηρείται μια μικρή μείωση στο σήμα του ιοντικού ζεύγους, που δείχνει τη μεγαλύτερη επίδραση αυτής της παραμέτρου στην θραυσματοποίηση του $[C_5(bpyr)_2BrO_3]^+$. Η διαφορά, επίσης, στην ένταση του σήματος που δίνουν οι δύο τεχνικές είναι μία τάξη μεγέθους, με την πηγή υπερηχητική εκνέφωσης να είναι η αποτελεσματικότερη.

Βιβλιογραφία

- Atsumu Hirabayashi, M. S. (1994, December). Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. *Anal. Chem.*
- Atsumu Hirabayashi, M. S. (1994, December). Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. *Anal. Chem.*
- Barker, J. (1999). *Mass Spectrometry*. New York City: John Wiley & Sons.
- Cole, R. B. (1997). *Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, and Applications*. New York City: Wiley.
- D.A. Skoog, F. H. (2007). *Principles of Instrumental Analysis*. Philadelphia: Thomson Brooks-Cole.
- Gaskell, S. J. (1997, July). Electrospray: Principles and Practice. *Journal of Mass Spectrometry*.
- Harris, D. C. (2007). *Quantitative Chemical Analysis* (7η εκδ.). New York: W.H. Freeman and Company.
- Lloyd W. Zilch, J. T. (2008, November 26). Charge Separation in the Aerodynamic Breakup of Micrometer-Sized Water Droplets. *J. Phys. Chem.*
- Masamichi Yamashita, J. B. (1984, September). Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme. *J. Phys. Chem.*
- Mehdi Moinia, B. L. (1998, September). Sodium trifluoroacetate as a tune/calibration compound for positive- and negative-ion electrospray ionization mass spectrometry in the mass range of 100–4000 Da. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*.
- Qi Jia, M.-F. H.-X. (2001, January 5). Quantification of urine 17-ketosteroid sulfates and glucuronides by high-performance liquid chromatography–ion trap mass spectroscopy. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*.
- Riet Dams, †. B. (2002, May 17). Sonic Spray Ionization Technology: Performance Study and Application to a LC/MS Analysis on a Monolithic Silica Column for Heroin Impurity Profiling. *Anal. Chem.*
- Tongwen Wang, P. K.-s. (2007, April 1). Compositional Monosaccharide Analysis of Transgenic Corn Glycoproteins by HPLC with Fluorescence Detection and LC—MS with Sonic Spray Ionization. *Journal of Chromatographic Science*.
- Yasuhiro Takegawa, S. I.-I. (2004, January 19). Structural assignment of isomeric 2-aminopyridine-derivatized oligosaccharides using MS_n spectral matching†. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*.
- Zsuzsanna Kovács, Z. D. (2004, March 1). LC-SSI-MS Techniques as Efficient Tools for Characterization of Nonvolatile Phenolic Compounds of a Special Hungarian Wine. *Journal of Chromatographic Science*.

