



Ανάπτυξη
φασματομετρίας μάζας
ιοντισμού
υπερηχητικής
εκνέφωσης για την
υπερευαίσθητη
ανίχνευση ανόργανων
ανιόντων σε νερά

Μαυρουδάκης Λεωνίδα

Επιβλέπων Καθηγητής: Περγαντής Α. Σπυρίδων

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2016

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Σκοπός.....	4
2. Θεωρητικό μέρος.....	4
2.1 Αρχή λειτουργίας φασματομετρίας μάζας	4
2.2 Είδη πηγών ιοντισμού.....	6
2.2.1 Ηλεκτρονιακός ιοντισμός.....	6
2.2.2. Χημικός ιοντισμός	7
2.2.3. Ιοντισμός πεδίου	7
2.2.4. Βομβαρδισμός με άτομα υψηλής ταχύτητας και υγρή φασματομετρία μάζας δευτεροταγών ιόντων	7
2.2.5. Εκρόφηση πεδίου	8
2.2.6. Ιοντισμός εκρόφησης με λέιζερ υποβοηθούμενος από μήτρα	8
2.2.7. Ιοντισμός ατμοσφαιρικής πίεσης	9
2.2.7.1. Ιοντισμός ηλεκτροψεκασμού	9
2.2.7.2. Χημικός ιοντισμός ατμοσφαιρικής πίεσης	10
2.2.7.3. Ιοντισμός εκρόφησης με ηλεκτροψεκασμό	11
2.2.7.4. Ιοντισμός υπερηχητικής εκνέφωσης	11
2.3 Είδη αναλυτών μάζας	13
2.3.1 Αναλυτές μάζας τετραπόλου	13
2.3.2 Αναλυτές μάζας ιοντικής παγίδας	14
2.3.3 Αναλυτές μάζας ηλεκτροστατικής παγίδας ('Orbitrap')	15
2.3.4 Αναλυτές μάζας χρόνου πτήσεως.....	16
2.4 Είδη ανιχνευτών.....	17
2.4.1 Ανιχνευτές φωτογραφικής πλάκας	17
2.4.2 Ανιχνευτές κυπέλλου Faraday	17
2.4.3 Ανιχνευτές ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστών	17
3. Μέθοδοι ανίχνευσης χλωρικών, υπερχλωρικών και βρωμικών ανιόντων – Βιβλιογραφική ανασκόπηση	18
4. Πειραματικό μέρος	18

5. Αποτελέσματα και Συζήτηση	22
6. Συμπεράσματα.....	38
7. Βιβλιογραφία – Αναφορές	38

1. Σκοπός

Στην παρούσα εργασία, η οποία εκπονήθηκε στα πλαίσια της διπλωματικής μου εργασίας, αξιολογείται η χρήση του ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης (Sonic-Spray Ionization, SSI) ως πηγή ιοντισμού, συζευγμένη με την φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry, MS) για την υπερευαίσθητη ανίχνευση ανόργανων ανιόντων. Συγκεκριμένα, μελετώνται τα χλωρικά (ClO_3^-), υπερχλωρικά (ClO_4^-) και τα βρωμικά (BrO_3^-) ανιόντα. Τα χλωρικά και τα βρωμικά είναι παραπροϊόντα της απολύμανσης του νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση με την τεχνική της προσθήκης διοξειδίου του χλωρίου (ClO_2) και οζονισμού (O_3), αντίστοιχα. Οι ανόργανες αυτές ουσίες έχουν επίδραση στην ανθρώπινη υγεία. Τα υπερχλωρικά ανιόντα χρησιμοποιούνται ως κύρια συστατικά των στερεών προωθητικών για πυραύλους και πυροτεχνήματα καθώς και σε αερόσακους. Αναπτύχθηκε μια υπερευαίσθητη μέθοδος ανίχνευσης αυτών των ανόργανων ανιόντων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (ppt) σε νερά και επιπλέον αναφέρεται για πρώτη φορά η ποσοτική ανάλυση ClO_3^- , ClO_4^- και BrO_3^- με την τεχνική HPLC-SSI-MS σε νερά.

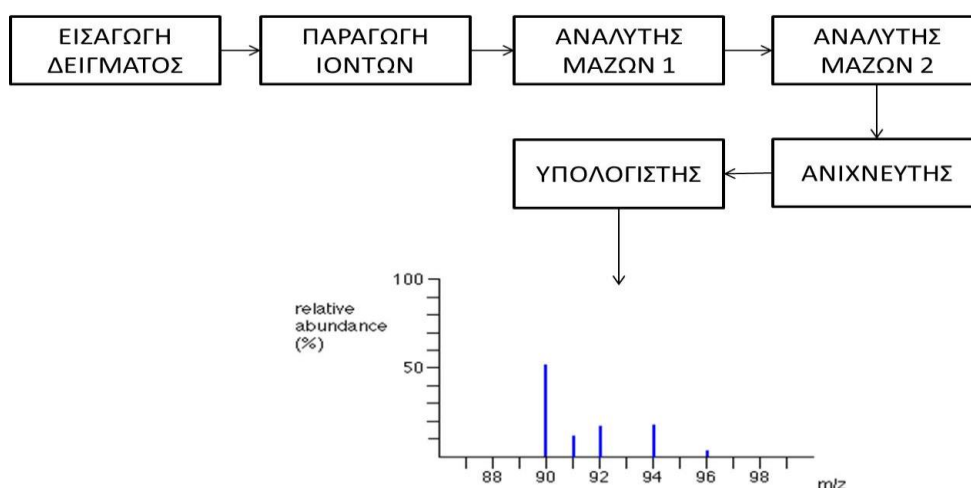
2. Θεωρητικό μέρος

2.1 Αρχή λειτουργίας φασματομετρίας μάζας

Η φασματομετρία μάζας είναι ένα ισχυρό εργαλείο στην διάθεση του Αναλυτικού Χημικού καθώς χαρακτηρίζεται από ταχύτητα στην ανάλυση, μεγάλη εκλεκτικότητα και ευαισθησία καθώς και μεγάλο εύρος εφαρμογών. Κατέχει σημαντικό ρόλο στην ανάλυση βιομορίων όπως οι πρωτεΐνες και τα πεπτίδια (πρωτεομική ανάλυση) αλλά και στην ανάλυση επιμολυντών στο περιβάλλον, στην δικανική επιστήμη (forensic science) και στην παρακολούθηση τροφίμων και ποτών. Τα τελευταία 10 χρόνια, η φασματομετρία μάζας αναπτύσσεται ραγδαία με αποτέλεσμα να γίνονται εμπορικά διαθέσιμα καινούρια και πιο ευαίσθητα όργανα.

Το πρώτο και κύριο βήμα στην ανάλυση με φασματομετρία μάζας είναι η δημιουργία ιόντων του αναλύτη στην αέρια φάση. Τα μόρια του αναλύτη, M , μπορούν να "χτυπηθούν" από μία δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας και έτσι να προκύψει μια κατιοντική ρίζα του αναλύτη, M^+ , η οποία να θραυματοποιηθεί περαιτέρω μέσω σχάσεων δεσμών. Όλα τα ιόντα που προκύπτουν μπορούν να αναλυθούν από τον αναλυτή μαζών με βάση τον λόγο μάζα προς φορτίο (mass to charge ratio, m/z). Το μέγεθος αυτό είναι βασικό στην φασματομετρία μάζας. Επιπλέον, κάποια μόρια μπορούν να αποκτήσουν παραπάνω από ένα φορτίο. Τα φορτισμένα μόρια ανιχνεύονται με βάση την αφθονία τους και έτσι προκύπτει ένα φάσμα μάζας το οποίο στον άξονα των y έχει την αφθονία των ιόντων που ανιχνεύονται και στον άξονα των x , τον λόγο m/z .

Ένα σύστημα φασματομετρίας μάζας περιέχει τα εξής στοιχεία: σύστημα εισαγωγής του δείγματος προς ανάλυση, πηγή παραγωγής ιόντων, έναν ή περισσότερους αναλυτές μάζας προκειμένου να διαχωριστούν τα διάφορα ιόντα που προέκυψαν, έναν ανιχνευτή ο οποίος “μετράει” τα ιόντα που εξέρχονται από τον τελευταίο αναλυτή μαζών και τέλος ένα σύστημα επεξεργασίας των δεδομένων ώστε να λαμβάνεται το φάσμα μάζας. Όλα αυτά μπορούν να συνοψιστούν στο διάγραμμα της εικόνας 1.



Εικόνα 1. Τυπικό διάγραμμα για σύστημα φασματομετρίας μάζας. Το φάσμα μάζας (θεωρητικό) αντιστοιχεί στο στοιχείο Zr (www.chemguide.co.uk/analysis/masspec/elements.html)

Τα συστήματα φασματομετρίας μάζας είναι απαραίτητο να λειτουργούν υπό συνθήκες υψηλού κενού (χαμηλής πίεσης) έτσι ώστε τα ιόντα που παράγονται να φτάνουν στον ανιχνευτή χωρίς να έχουν προηγηθεί κρούσεις με άλλα μόρια που βρίσκονται στην αέρια φάση. Οι κρούσεις αυτές μπορούν να εκτοπίσουν τα ιόντα από την τροχιά τους αλλά και να παραχθούν νέα ιόντα καθιστώντας έτσι το φάσμα μάζας αρκετά πολύπλοκο. Ένα πρακτικό πρόβλημα που προκύπτει είναι το ότι το προς ανάλυση δείγμα που βρίσκεται σε ατμοσφαιρική πίεση πρέπει να εισαχθεί στην περιοχή υψηλού κενού του οργάνου φασματομετρίας μάζας χωρίς να επηρεαστεί το τελευταίο. Οι μεγάλες αυτές διαφορές στην πίεση, ελέγχονται με την βοήθεια ενός αποτελεσματικού συστήματος αντλιών που χρησιμοποιεί μηχανικές αντλίες σε συνδυασμό με τουρμπομοριακές. Οι μηχανικές αντλίες μπορούν να δημιουργήσουν κενό της τάξης 10^{-3} Torr ενώ στην συνέχεια οι τουρμπομοριακές αντλίες επιτυγχάνουν κενό έως και 10^{-8} Torr. Τα δείγματα εισάγονται συνήθως χωρίς να επηρεάζουν το υψηλό κενό του οργάνου, με την χρήση μεθόδων απευθείας έγχυσης (direct infusion) ή απευθείας εισαγωγής (direct insertion). Στην μέθοδο της απευθείας έγχυσης, ένας τριχοειδής σωλήνας χρησιμοποιείται για να εισάγει το δείγμα είτε ως αέριο είτε ως διάλυμα. Στην απευθείας εισαγωγή, το δείγμα εισάγεται πάνω σε μία ακίδα ή ένα πλακίδιο, και αυτό εισάγεται στην πηγή παραγωγής ιόντων. Όταν η πηγή είναι ανοιχτή ώστε να εισαχθεί το δείγμα, το υψηλό κενό του οργάνου δεν επηρεάζεται από την ατμοσφαιρική πίεση καθώς είναι προσωρινά αποσυνδεδεμένο. Όταν εισαχθεί το δείγμα, όλο το σύστημα συνδέεται και επικρατούν συνθήκες υψηλού κενού. Αυτό μπορεί να αποφευχθεί με την χρήση πηγών ιοντισμού που λειτουργούν κάτω από ατμοσφαιρικές συνθήκες και

ονομάζονται πηγές ιοντισμού ατμοσφαιρικής πίεσης (*atmospheric pressure ionization sources, API*).

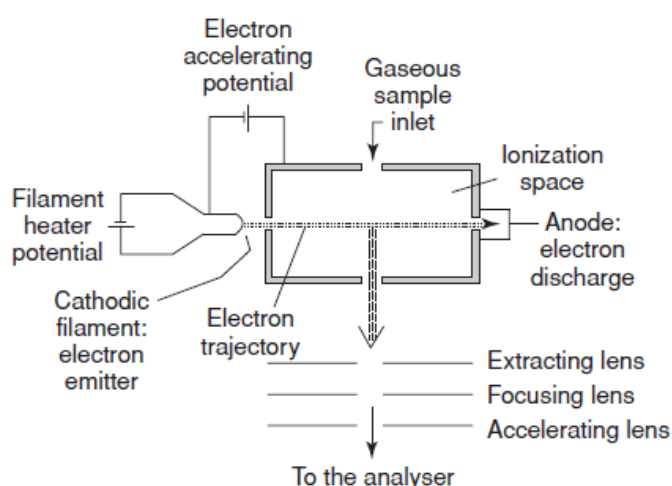
2.2 Είδη πηγών ιοντισμού

Στις πηγές ιόντων, τα δείγματα ιοντίζονται πριν εισέλθουν στο φασματομέτρο μάζας. Χρησιμοποιούνται διάφορες πηγές, ανάλογα με την εσωτερική ενέργεια που μεταφέρεται κατά τον ιοντισμό αλλά και τις φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος. Τα ουδέτερα μόρια του αναλύτη μετατρέπονται σε ιόντα στην αέρια φάση μέσω αποβολής ή πρόσληψης ηλεκτρονίων, πρωτονίωσης ή αποπρωτονίωσης, σχηματισμού συσσωματωμάτων (adducts) ή με την μεταφορά φορτισμένων ειδών από την υγρή στην αέρια φάση.

2.2.1 Ηλεκτρονιακός ιοντισμός

Ο ηλεκτρονιακός ιοντισμός (Electron Ionization, EI), χρησιμοποιείται κυρίως στην ανάλυση οργανικών δειγμάτων καθώς η τεχνική αυτή απαιτεί ο αναλύτης να βρίσκεται στην αέρια φάση. Δείγματα που βρίσκονται στην στερεή ή στην υγρή κατάσταση αρχικά θερμαίνονται έτσι ώστε να αυξηθεί η τάση ατμών του αναλύτη. Είναι μία "σκληρή" τεχνική ιοντισμού καθώς παρατηρείται εκτεταμένη θραυσματοποίηση και πολλές φορές το κύριο μοριακό ιόν του αναλύτη δεν παρατηρείται.

Όπως φαίνεται στην εικόνα 2, το δείγμα (που βρίσκεται στην αέρια φάση) εισάγεται στον χώρο ιοντισμού όπου συγκρούεται με μία παραγόμενη δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας (70 eV). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την θραυσματοποίηση του αναλύτη και την παραγωγή ιόντων τα οποία στην συνέχεια εστιάζονται με την βοήθεια φακών και αναλύονται από τους αναλυτές μάζας.



Εικόνα 2. Διάγραμμα πηγής ηλεκτρονιακού ιοντισμού (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

2.2.2. Χημικός ιοντισμός

Ο χημικός ιοντισμός (Chemical Ionization, CI) παράγει ιόντα με λιγότερη εσωτερική ενέργεια σε σχέση με τον ηλεκτρονικό ιοντισμό και έτσι το κύριο μοριακό ιόν μπορεί να παρατηρηθεί ευκολότερα. Ωστόσο, αυτό δεν σημαίνει ότι η μία τεχνική υπερισχύει της άλλης καθώς συνήθως χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά.

Στον χημικό ιοντισμό, τα ιόντα παράγονται μέσω κρούσεων μεταξύ των μορίων του αναλύτη (ο οποίος πρέπει να βρίσκεται στην αέρια φάση) και ιόντων που έχουν παραχθεί από την πηγή. Μέσα στην πηγή, μόρια ενός αντιδρώντος αερίου (μεθάνιο, ισοβουτάνιο, αμμωνία, κ.ά.) συγκρούονται με ηλεκτρόνια και έτσι παράγονται ιόντα του αερίου. Τα ιόντα αυτά στην συνέχεια συγκρούονται με άλλα μόρια του αντιδρώντος αερίου δημιουργώντας ένα ιοντισμένο πλάσμα μέσα από μια σειρά αντιδράσεων. Τα ιόντα του πλάσματος στην συνέχεια συγκρούονται με τα μόρια του αναλύτη και μέσω αντιδράσεων μπορούν να παραχθούν τόσο θετικά όσο και αρνητικά ιόντα. Οι κύριες αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι μεταφοράς πρωτονίου, απόσπασης υδριδίων και σχηματισμού συσσωματωμάτων (adducts).

2.2.3. Ιοντισμός πεδίου

Ο ιοντισμός πεδίου (Field Ionization, FI) είναι μία τεχνική η οποία χρησιμοποιεί ισχυρά ηλεκτρικά πεδία για να παραγάγει ιόντα από μόρια του αναλύτη που βρίσκονται στην αέρια φάση. Τα ισχυρά ηλεκτρικά πεδία που απαιτούνται σε αυτήν την τεχνική παράγονται από μία μεγάλη διαφορά δυναμικού (8-12 kV) που εφαρμόζεται μεταξύ ενός νήματος, το οποίο ονομάζεται εκπομπός (emitter), και ενός αντισταθμιστικού ηλεκτροδίου το οποίο βρίσκεται μερικά χιλιοστά μακριά. Τα μόρια του δείγματος πλησιάζουν την επιφάνεια του νήματος εκπομπού, ο οποίος βρίσκεται υπό υψηλό θετικό δυναμικό, και αν το ηλεκτρικό πεδίο της επιφάνειας είναι αρκετά ισχυρό (10^7 - 10^8 V/cm) τότε ένα από τα ηλεκτρόνια από τα μόρια του δείγματος μεταφέρεται στον εκπομπό μέσω του φαινομένου κβαντικής σήραγγας δημιουργώντας έτσι την κατιοντική ρίζα M^+ . Η ρίζα αυτή απωθείται και εκτρέπεται προς το αντισταθμιστικό ηλεκτρόδιο, το οποίο έχει αρνητικό δυναμικό. Το ιόν εισέρχεται στον αναλυτή μαζών μέσα από μια οπή του ηλεκτροδίου.

2.2.4. Βομβαρδισμός με άτομα υψηλής ταχύτητας και υγρή φασματομετρία μάζας δευτεροταγών ιόντων

Η φασματομετρία μάζας δευτεροταγών ιόντων (Secondary Ion Mass Spectrometry, SIMS) χρησιμοποιείται στην ανάλυση ιόντων που προκύπτουν από τον βομβαρδισμό μιας επιφάνειας με δέσμη ιόντων. Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται σε στερεά δείγματα και είναι χρήσιμη στην μελέτη αγώγιμων επιφανειών.

Ο βομβαρδισμός με άτομα υψηλής ταχύτητας (Fast Atom Bombardment, FAB) και η υγρή φασματομετρία μάζας δευτεροταγών ιόντων, είναι τεχνικές που χρησιμοποιούν μία εστιασμένη δέσμη ουδέτερων ατόμων/μορίων ή ιόντων, αντίστοιχα, για να βομβαρδίσουν το δείγμα. Τα βασικά χαρακτηριστικά αυτών των δύο τεχνικών είναι ότι το δείγμα πρέπει να είναι διαλυμένο σε μία μη πτητική υγρή μήτρα.

Τα ενεργειακά σωματίδια της δέσμης προσκρούουν στο διάλυμα του δείγματος, επάγοντας ένα ωστικό κύμα το οποίο αποβάλλει ιόντα και μόρια από το διάλυμα. Τα ιόντα επιταχύνονται από την εφαρμογή μιας διαφοράς δυναμικού προς τον αναλυτή μαζών. Οι

τεχνικές αυτές ιοντίζουν ελάχιστα το δείγμα. Τα ιόντα που αποβάλλονται από το διάλυμα βρίσκονται ήδη σε αυτό και δεν σχηματίζονται στην αέρια φάση.

2.2.5. Εκρόφηση πεδίου

Η εκρόφηση πεδίου (Field Desorption, FD) είναι μία τεχνική που βασίζεται στον ιοντισμό πεδίου αλλά συνδυάζει ιοντισμό και εκρόφηση του αναλύτη χωρίς την ανάγκη για εξάτμιση του δείγματος πριν την ανάλυση. Η τεχνική αυτή είναι χρήσιμη για την ανάλυση μορίων μεγάλου μοριακού βάρους αλλά και θερμικά ασταθών (thermally labile) συμπλόκων. Το διάλυμα του δείγματος που περιέχει επίσης κάποιο άλας, εναποτίθεται πάνω σε ένα νήμα βολφραμίου ή ρηνίου καλυμμένο με μικροβελόνες άνθρακα και εξατμίζεται. Μια διαφορά δυναμικού εφαρμόζεται μεταξύ του νήματος και ενός ηλεκτροδίου έτσι ώστε να επιτευχθεί ένα πεδίο της τάξης των 10^8 V/cm. Το νήμα θερμαίνεται μέχρι το δείγμα να λιώσει. Τα ιόντα ταξιδεύουν και συσσωρεύονται στην άκρη των βελόνων και στην συνέχεια εκροφούνται μεταφέροντας μαζί μόρια από το δείγμα. Ο ιοντισμός προκύπτει στην συμπυκνωμένη φάση ή κοντά στην επιφάνεια του νήματος μέσω αλληλεπιδράσεων με το ηλεκτρικό πεδίο. Τα ιόντα που προκύπτουν από αυτήν την τεχνική έχουν πολύ χαμηλή εσωτερική ενέργεια και έτσι δεν παρατηρείται σχεδόν καθόλου θραυσματοποίηση.

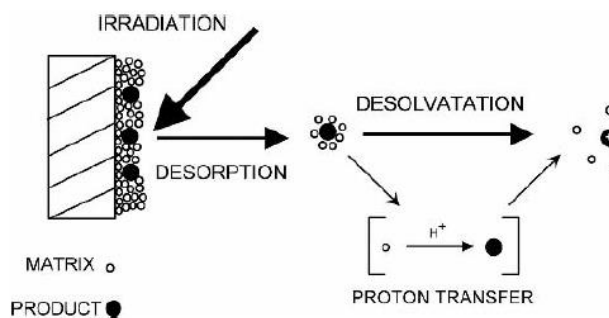
2.2.6. Ιοντισμός εκρόφησης με λέιζερ υποβοηθούμενος από μήτρα

Η τεχνική του ιοντισμού εκρόφησης με λέιζερ υποβοηθούμενου από μήτρα (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization, MALDI) είναι μία πολύ διαδεδομένη πηγή για την παραγωγή ανέπαφων ιόντων στην αέρια φάση από ένα μεγάλο εύρος αναλυτών όπως οι πρωτεΐνες, ολιγονουκλεοτίδια, συνθετικά πολυμερή και μεγάλα ανόργανα σύμπλοκα.

Αρχικά, ο αναλύτης διαλύεται σε κάποιον διαλύτη που περιέχει μικρά οργανικά μόρια, τα οποία ονομάζονται μήτρα. Τα μόρια της μήτρας πρέπει να απορροφούν ισχυρά την ακτινοβολία του laser. Το διάλυμα ξηραίνεται έτσι ώστε να απομακρυνθεί ο διαλύτης και αυτό που προκύπτει είναι κρύσταλλοι του υλικού της μήτρας εμπλουτισμένοι με τον αναλύτη.

Στην συνέχεια, σε συνθήκες κενού του οργάνου, γίνεται εκτομή μιας μεγάλης ποσότητας του δείγματος

με την βοήθεια ενός έντονου παλμού laser. Η ακτινοβολία από το laser δημιουργεί ταχεία θέρμανση των κρυστάλλων, τοπική εξαχνωση και εξάπλωση της μήτρας που περιέχει τον αναλύτη στην αέρια φάση. Αντιδράσεις ιοντισμού μπορούν να συμβούν οποιαδήποτε στιγμή κατά την διάρκεια αυτής της διαδικασίας στις συνθήκες κενού. Ο πιο διαδεδομένος τρόπος ιοντισμού περιλαμβάνει την μεταφορά πρωτονίου στην συμπυκνωμένη φάση ή στην αέρια φάση, από την μήτρα προς τον αναλύτη. Τα ιόντα που δημιουργήθηκαν



Εικόνα 3. Σχηματική περιγραφή των διαδικασιών που συμβαίνουν στο MALDI (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

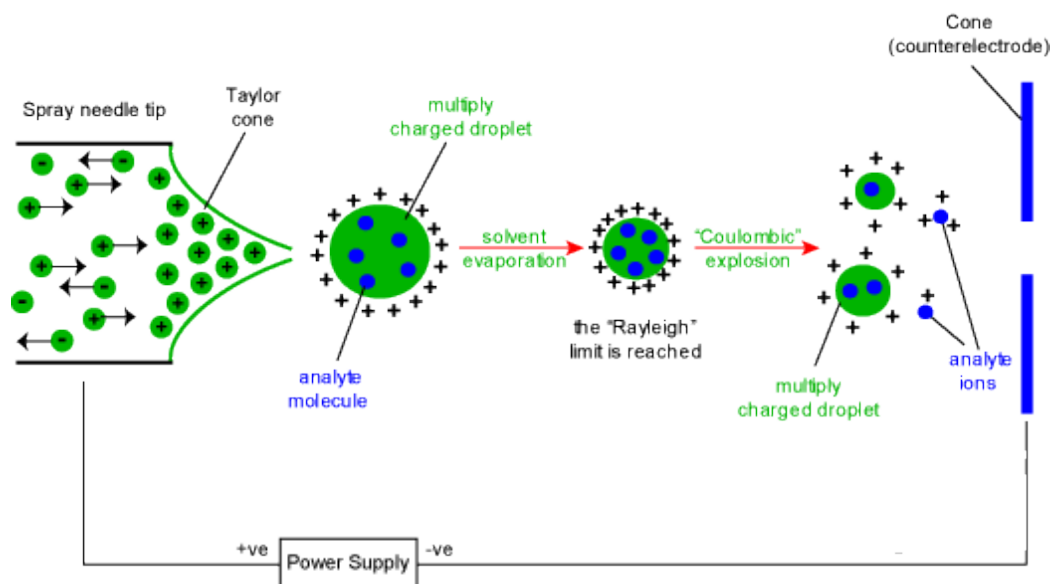
επιταχύνονται από ένα ηλεκτρικό πεδίο προς τον αναλυτή μαζών. Τα παραπάνω βήματα περιγράφονται σχηματικά στην εικόνα 3.

2.2.7. Ιοντισμός ατμοσφαιρικής πίεσης

Οι πηγές ιοντισμού ατμοσφαιρικής πίεσης (atmospheric pressure ionization, API) ιοντίζουν το δείγμα και μεταφέρουν τα ιόντα στον αναλυτή μαζών. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα αυτών των τεχνικών είναι η απλότητα τους που επιτρέπει την σύζευξη με τεχνικές διαχωρισμού (HPLC, ηλεκτροφόρηση τριχοειδούς, κ.ά.). Ένα άλλο πλεονέκτημα είναι ότι το δείγμα εισάγεται πολύ ευκολότερα σε σχέση με τις τεχνικές όπου το δείγμα πρέπει να βρίσκεται σε θάλαμο υψηλού κενού του οργάνου.

2.2.7.1. Ιοντισμός ηλεκτροψεκασμού

Ο ιοντισμός ηλεκτροψεκασμού (ElectroSpray Ionization, ESI) χρησιμοποιεί εφαρμογή υψηλού δυναμικού (3-6 kV), κάτω από ατμοσφαιρικές συνθήκες, σε ένα υγρό που διέρχεται μέσα από ένα τριχοειδή σωλήνα με μικρή ροή. Η εφαρμογή του πεδίου προκαλεί συσσώρευση φορτίων στην άκρη του τριχοειδούς σωλήνα δημιουργώντας έναν κώνο, ο οποίος ονομάζεται *κώνος Taylor*. Ο κώνος στην συνέχεια "σπάει" σχηματίζοντας μικρότερα σταγονίδια των οποία η πυκνότητα φορτίου είναι υψηλή. Καθώς τα σταγονίδια προχωράνε προς τον αναλυτή μαζών, διάσπαση των σταγονιδίων μπορεί να προκύψει και με την βοήθεια θέρμανσης. Τα σταγονίδια μπορούν να υποστούν σχάση όταν ξεπεράσουν το όριο Rayleigh, δηλαδή όταν οι ηλεκτροστατικές απώσεις των φορτίων μέσα στο σταγονίδιο υπερσχύσουν της επιφανειακής τάσης του υγρού. Με την βοήθεια ροής αερίου τα σταγονίδια μεταφέρονται προς τον αναλυτή μαζών. Στην εικόνα 4 φαίνεται σχηματικά η διάσπαση των σταγονιδίων κατά τον ηλεκτροψεκασμό.



Εικόνα 4. Διάσπαση σταγονιδίων κατά τον ηλεκτροψεκασμό (www.bris.ac.uk/nerclsmf/techniques/hplcms.html)

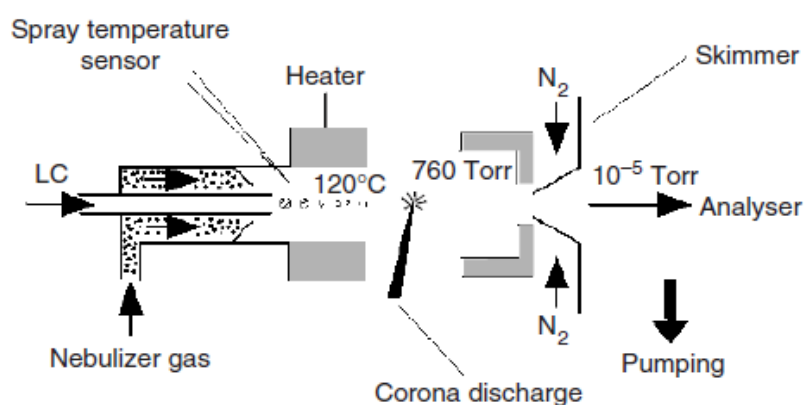
Τόσο θετικά όσο και αρνητικά ιόντα μπορούν να παραχθούν κατά τον ηλεκτροψεκασμό με αλλαγή στο εφαρμοζόμενο δυναμικό πάνω στον τριχοειδή σωλήνα από τον οποίο διέρχεται

το δείγμα. Στην εικόνα 4, εφαρμόζεται θετικό δυναμικό πάνω στον τριχοειδή, επομένως τα αρνητικά φορτισμένα ιόντα πηγαίνουν προς τον σωλήνα και δεν αναλύονται ενώ τα θετικά φορτισμένα ταξιδεύουν προς την αρνητικά φορτισμένη είσοδο του φασματομέτρου μάζας. Επιπλέον, από τον ηλεκτροψεκασμό μπορούν να προκύψουν πολλαπλά φορτισμένα μόρια, όπως είναι οι πρωτεΐνες. Να σημειωθεί ότι τα ιόντα προϋπάρχουν ήδη στο διάλυμα του δείγματος.

2.2.7.2. Χημικός ιοντισμός ατμοσφαιρικής πίεσης

Ο χημικός ιοντισμός ατμοσφαιρικής πίεσης (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI) είναι μία τεχνική που χρησιμοποιεί αντιδράσεις ιόντων-μορίων στην αέρια φάση κάτω από ατμοσφαιρικές συνθήκες. Είναι μία παρόμοια μέθοδος με τον χημικό ιοντισμό, όπου τα κύρια ιόντα παράγονται από εκκενώσεις κορώνας (corona discharges) πάνω στο αερόλυμα του δείγματος.

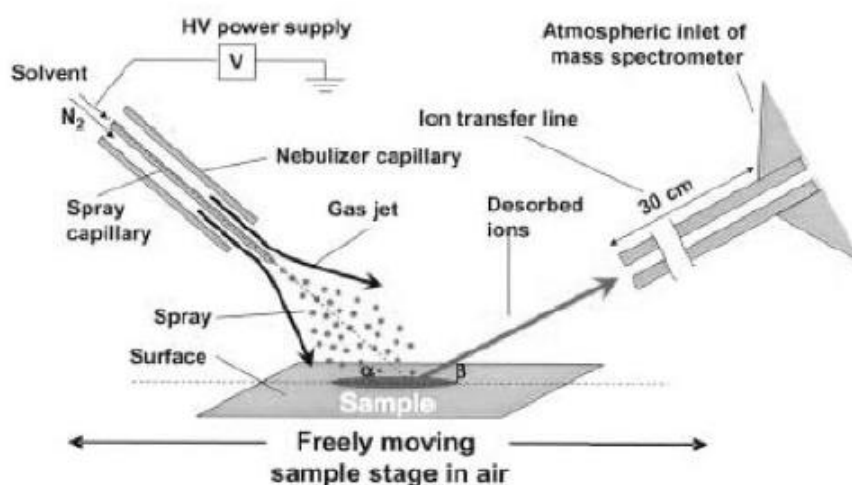
Το διάλυμα του δείγματος εισέρχεται σε έναν πνευματικό εκνεφωτή όπου με την βοήθεια υψηλής ροής αζώτου μετατρέπεται σε λεπτό αερόλυμα. Στην συνέχεια, οι σταγόνες εξατμίζονται στον θάλαμο θέρμανσης και τα μόρια του δείγματος στην αέρια φάση μεταφέρονται στον θάλαμο ιοντισμού όπου συμβαίνουν εκκενώσεις κορώνας πάνω σε ένα ηλεκτρόδιο. Οι διαδικασίες ιοντισμού είναι παρόμοιες με αυτές που συμβαίνουν κατά τον χημικό ιοντισμό ωστόσο σε αυτήν την τεχνική γίνονται κάτω από ατμοσφαιρική πίεση. Για την παραγωγή θετικών ιόντων, μεταφορά πρωτονίου ή σχηματισμός συμπλόκου με το αντιδρών αέριο μπορούν να οδηγήσουν στην δημιουργία ιόντων. Για την παραγωγή αρνητικών ιόντων, γίνεται απόσπαση πρωτονίου ή σχηματισμός συμπλόκου. Η κινητή φάση στην οποία περιέχεται το δείγμα είναι εκείνη που όταν εξατμιστεί δρα ως το αντιδρών αέριο μετά την εκκένωση κορώνας. Στην εικόνα 5 φαίνονται σχηματικά η διάταξη για την τεχνική του χημικού ιοντισμού ατμοσφαιρικής πίεσης.



Εικόνα 5. Απεικόνιση διάταξης χημικού ιοντισμού ατμοσφαιρικής πίεσης (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

2.2.7.3. Ιοντισμός εκρόφησης με ηλεκτροψεκασμό

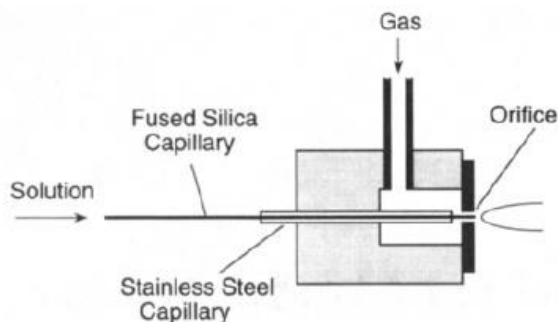
Ο ιοντισμός εκρόφησης με ηλεκτροψεκασμό (Desorption ElectroSpray Ionization, DESI) περιγράφηκε για πρώτη φορά το 2004 από τον R. Cooks και τους συνεργάτες του¹ και περιλαμβάνει τον ψεκασμό μιας ιοντισμένης δέσμης διαλύτη, που παράγεται μέσω ηλεκτροψεκασμού, πάνω σε ένα δείγμα κάτω από ατμοσφαιρικές συνθήκες. Τα φορτισμένα σταγονίδια και ιόντα του διαλύτη εκροφούν ουσίες από το δείγμα και αυτές οδηγούνται στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας. Το δείγμα μπορεί να βρίσκεται πάνω σε επιφάνεια, αρκεί αυτή να μην δημιουργεί θόρυβο υποβάθρου. Επίσης το δείγμα μπορεί να μετακινείται κατά την ανάλυση και έτσι να γίνει χαρτογράφηση της περιοχής σε σχέση με την παρουσία του αναλύτη. Στην εικόνα 6 φαίνεται η διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για αυτά τα πειράματα.



Εικόνα 6. Πειραματική διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για τον ιοντισμό εκρόφησης με ηλεκτροψεκασμό (αναφορά 1)

2.2.7.4. Ιοντισμός υπερηχητικής εκνέφωσης

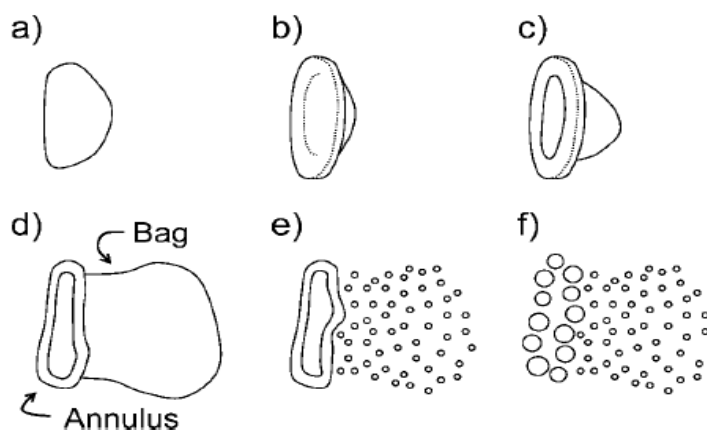
Ο ιοντισμός υπερηχητικής εκνέφωσης (Sonic Spray Ionization, SSI) ανακαλύφθηκε τυχαία το 1994 από τον Hirabayashi και τους συνεργάτες τους². Στην τεχνική αυτή δεν είναι απαραίτητη η χρήση εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου για την παραγωγή ιόντων στην αέρια φάση και επιπλέον λειτουργεί υπό ατμοσφαιρική πίεση. Το διάλυμα του δείγματος που διέρχεται μέσα από έναν τριχοειδή σωλήνα ψεκάζεται υπό ατμοσφαιρικές συνθήκες με την βοήθεια ομοαξονικής ροής αζώτου. Η τεχνική ονομάστηκε *ιοντισμός υπερηχητικής εκνέφωσης* γιατί το αερόλυμα που προκύπτει από την εκνέφωση εξαρτάται από την ροή του αερίου αζώτου, συνεπώς και από την ταχύτητα του. Βρέθηκε ότι η ένταση των ιόντων που ανιχνεύονταν έφτανε το μέγιστο όταν η ταχύτητα του αζώτου ήταν περίπου 1 Mach, δηλαδή το αέριο ταξίδευε με την ταχύτητα του ήχου. Στην εικόνα 7, φαίνεται η διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή ιόντων στην αέρια φάση.



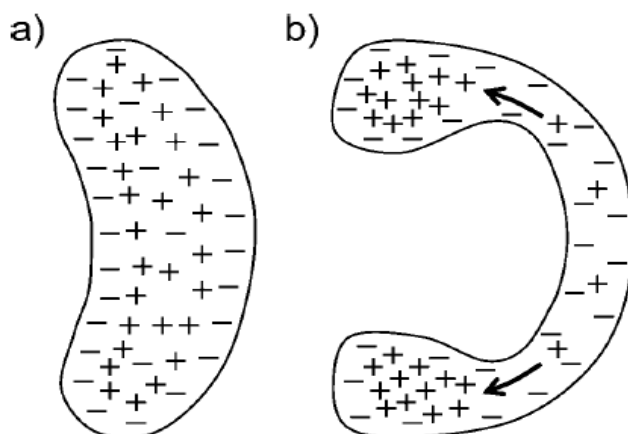
Εικόνα 7. Πειραματική διάταξη πηγής ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης (αναφορά 2)

Ο μηχανισμός με τον οποίον προκύπτουν φορτισμένες σταγόνες δεν έχει αποσαφηνιστεί, ωστόσο το επικρατέστερο μοντέλο φαίνεται να είναι αυτό του υπολειμματικού φορτίου (charge residue model)³. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, κατά τον σχηματισμό των σταγονιδίων, τα περισσότερα από αυτά θα είναι φορτισμένα ουδέτερα μιας και η κατανομή των φορτίων είναι ίση. Ωστόσο σε κάποιες σταγόνες, μικρές διακυμάνσεις μπορούν να οδηγήσουν σε στατιστική ανισορροπία των φορτίων και έτσι να προκύψουν φορτισμένα σταγονίδια.

Ο μηχανισμός διάσπασης της σταγόνας που προτάθηκε από τον Zilch⁴ περιλαμβάνει το μοντέλο "σακούλας-στεφάνης", όπως φαίνεται σχηματικά στις εικόνες 8 και 9.



Εικόνα 8. Αεροδυναμική διάσπαση σταγόνας νερού (αναφορά 4)



Εικόνα 9. Διαχωρισμός φορτίων σε σταγονίδιο (αναφορά 4)

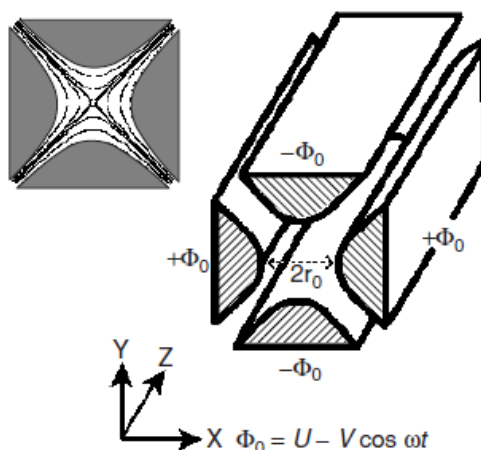
2.3 Είδη αναλυτών μάζας

Εφόσον δημιουργηθούν ιόντα στην αέρια φάση από την πηγή ιοντισμού, τα ιόντα αυτά πρέπει να “μετρηθούν”. Στην φασματομετρία μάζας, το μέγεθος που μετράται είναι ο λόγος μάζα προς φορτίο, m/z . Για τα περισσότερα ιόντα, το φορτίο είναι 1 επομένως ο λόγος m/z είναι η μάζα τους σε ατομική μονάδα μάζας, u ή σε Dalton, Da. Ωστόσο, ιόντα που φέρουν παραπάνω από ένα φορτίο μπορεί να υπάρξουν, όπως για παράδειγμα οι πρωτεΐνες, και τότε η τιμή m/z που φαίνεται είναι ουσιαστικά ένα κλάσμα της μάζας τους. Για να προσδιοριστεί ο λόγος m/z των ιόντων πρέπει αυτά να μπορούν να διαχωρίζονται από τον αναλυτή μαζών. Ο διαχωρισμός αυτός βασίζεται σε διαφορετικές αρχές, ανάλογα με το είδος του αναλυτή του οργάνου που χρησιμοποιείται. Ωστόσο, όλοι οι αναλυτές μαζών χρησιμοποιούν στατικά ή δυναμικά ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία τα οποία μπορούν επίσης να συνδυαστούν.

Παρακάτω περιγράφονται συνοπτικά τα κυριότερα είδη αναλυτών μάζας.

2.3.1 Αναλυτές μάζας τετραπόλου

Οι αναλυτές μάζας τετραπόλου (quadrupole mass analysers) χρησιμοποιούν ταλαντούμενα ηλεκτρικά πεδία για να μεταβάλλουν την σταθερότητα της τροχιάς των ιόντων και έτσι αυτά να διαχωριστούν. Αποτελούνται από τέσσερις ράβδους κυκλικού ή, ιδανικότερα, υπερβολικού τομέα. Οι ράβδοι πρέπει να είναι παράλληλοι μεταξύ τους. Στην εικόνα 10 φαίνεται η διάταξη ενός τετραπολικού αναλυτή με ράβδους υπερβολικού σχήματος. Ένα ιόν με θετικό φορτίο μέσα στο τετράπολο θα κινηθεί προς τις αρνητικά φορτισμένες ράβδους. Αν όμως, το δυναμικό της



ράβδου αλλάξει πριν φτάσει σε εκείνη το ιόν, τότε το τελευταίο θα αλλάξει τροχιά. Αυτή είναι η βασική αρχή της εστίασης των ιόντων μέσα στον τετραπολικό αναλυτή. Στην εικόνα 10, τα ιόντα

κινούνται κατά μήκος του άξονα z . Στην εξίσωση που φαίνεται στην εικόνα 10, Φ_0 είναι το δυναμικό σε κάθε ράβδο, ω είναι η γωνιακή συχνότητα, U είναι το απευθείας δυναμικό που εφαρμόζεται και V είναι εύρος του δυναμικού των ραδιοσυχνοτήτων. Η τροχιά ιόντων με μικρό m/z επηρεάζεται αρκετά από το ηλεκτρικό πεδίο, ωστόσο με κατάλληλη επιλογή της συχνότητας του πεδίου, τα ιόντα αυτά μπορούν να σταθεροποιηθούν.

Στην συζευγμένη φασματομετρία μάζας (tandem mass spectrometry) η οργανολογία περιλαμβάνει περισσότερα από ένα τετράπολα σε σειρά. Για παράδειγμα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τρία τετράπολα σε σειρά, όπου το πρώτο και το τρίτο είναι αναλυτές μάζας ενώ το δεύτερο είναι ένα κελί όπου γίνεται θραυσματοποίηση ιόντων που εξέρχονται από το πρώτο τετράπολο. Στην εικόνα 11 φαίνεται σχηματικά η διάταξη της συζευγμένης φασματομετρίας μάζας τριπλού τετραπόλου. Στο τετράπολο Q1 εισέρχονται τα ιόντα από

Εικόνα 10. Τετράπολο υπερβολικού σχήματος όπου φαίνεται το εφαρμοζόμενο δυναμικό Φ_0 σε κάθε ράβδο (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

την πηγή ιοντισμού. Στο q2 γίνεται κρούση με κάποιο αδρανές αέριο ή μπορεί να γίνει και χημική αντίδραση μεταξύ του αερίου και των ιόντων. Τα παραγόμενα θραύσματα ή μοριακά είδη που προέκυψαν από την αντίδραση, εισέρχονται στο τετράπολο Q3 από το οποίο αναλύονται.



Εικόνα 11. Σχηματική διάταξη συζευγμένης φασματομετρίας μάζας τριπλού τετραπόλου (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

Η διάταξη αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την εξαγωγή πληροφοριών σχετικά με την δομή της ένωσης. Υπάρχουν τρεις διαφορετικοί τρόποι με τους οποίους μπορούν να λειτουργήσουν τα τετράπολα:

- 1) Σάρωση παραγόμενων ιόντων (product ion scan): Από το τετράπολο Q1 επιλέγεται ένα συγκεκριμένο m/z ιόντος. Στο q2 γίνεται κρούση ή αντίδραση με το αέριο και στο Q3 γίνεται ανάλυση είτε των θραυσμάτων που έχουν προκύψει είτε των νέων μοριακών ειδών που σχηματίστηκαν, αν το αέριο δεν είναι αδρανές.
- 2) Σάρωση πατρικών ιόντων (parent ion scan): Το τετράπλο Q1 αναλύει όλους τους λόγους m/z ιόντων που διέρχονται από αυτό. Στο q2 γίνεται κρούση ή χημική αντίδραση με το αέριο και στο Q3 έχει επιλεχθεί να ανιχνεύεται μόνο κάποιο συγκεκριμένο ιόν. Έτσι μπορούν να ανιχνευθούν όλα τα ιόντα που δίνουν κάποιο συγκεκριμένο m/z μετά από κρούση ή αντίδραση.
- 3) Σάρωση ουδέτερης απώλειας (neutral loss scan): Σε αυτόν τον τρόπο σάρωσης, τα τετράπολα Q1 και Q3 σαρώνουν όλο το εύρος m/z αλλά με μία σταθερή διαφορά a μεταξύ τους. Αν ένα ιόν με $m/z, m$, περάσει από το Q1, γίνει θραυσματοποίηση στο q2, τότε μόνο το ιόν με $m/z = m - a$ θα αναλυθεί από το Q3. Για παράδειγμα, οι αλκοόλες κατά τον χημικό ιοντισμό χάνουν συνήθως ένα μόριο νερού ($m/z=18$). Επομένως, μόνο οι ενώσεις που έχουν μειωμένο m/z κατά 18 θα ανιχνεύονται. Επίσης, η διαφορά a μπορεί να είναι και αύξηση στο m/z λόγω αντίδρασης στο κελί q2.

2.3.2 Αναλυτές μάζας ιοντικής παγίδας

Οι αναλυτές μάζας ιοντικής παγίδας (ion trap mass analysers) είναι συσκευές που χρησιμοποιούν ταλαντούμενα ηλεκτρικά πεδία για να “αποθηκεύσουν” τα ιόντα. Οι παγίδες χρησιμοποιούν τετραπολικά πεδία ραδιοσυχνότητας τα οποία παγιδεύουν τα ιόντα σε δύο ή τρεις διαστάσεις. Έτσι οι αναλυτές ιοντικής παγίδας διακρίνονται σε 2D και 3D.

Οι 3D ιοντικές παγίδες αποτελούνται από ένα κυκλικό ηλεκτρόδιο με δύο ελλειψοειδή καπάκια από πάνω και από κάτω τα οποία δημιουργούν ένα τρισδιάστατο τετραπολικό

πεδίο. Στην εικόνα 12 φαίνεται η σχηματική διάταξη μιας τέτοιας ιοντικής παγίδας. Στην περίπτωση αυτής της διάταξης το δυναμικό Φ_0 , το οποίο είναι το άθροισμα του απευθείας και του εναλλασσόμενου δυναμικού, εφαρμόζεται απευθείας στο κυκλικό ηλεκτρόδιο.

Ανάλογα με το δυναμικό στο ηλεκτρόδιο, ιόντα με συγκεκριμένο m/z μπορούν να παγιδεύονται μέσα στην παγίδα ενώ τα υπόλοιπα εξέρχονται από αυτήν.

Μέσα στην παγίδα μπορεί να γίνει θραυσματοποίηση των ιόντων. Αρχικά, ένα ιόν επιλέγεται και παγιδεύεται μέσα στην

παγίδα. Κρούσεις με αδρανές αέριο ήλιο

οδηγούν σε θραυσματοποίηση και τα

παραγόμενα ιόντα αναλύονται και

ανιχνεύονται. Υπάρχει η δυνατότητα να

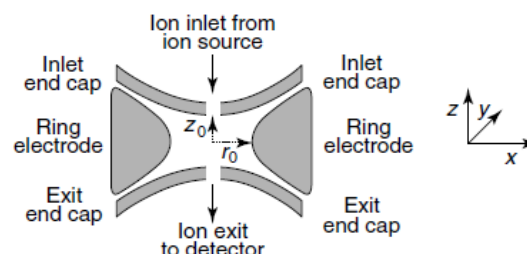
επιλεγεί κάποιο θραύσμα και να απομονωθεί

από την παγίδα ώστε να γίνει περαιτέρω

θραυσματοποίηση.

Η 2D ιοντική παγίδα, επίσης γνωστή ως γραμμική ιοντική παγίδα (linear ion trap, LIT)

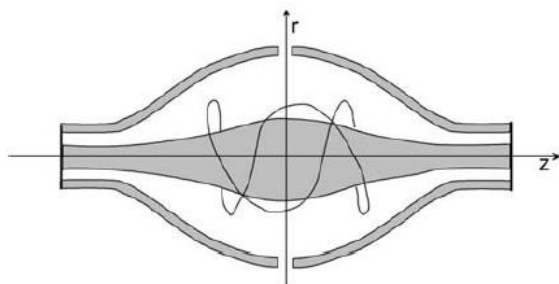
χρησιμοποιεί ένα σύστημα τεσσάρων ράβδων σε διάταξη τετραπόλου, όπου τα ιόντα απωθούνται μέσα στις ράβδους και μένουν παγιδευμένα. Εφαρμογή θετικού δυναμικού στις ράβδους οδηγεί στην παγίδευση θετικών ιόντων. Το πλεονέκτημα αυτού του είδους παγίδας, σε σχέση με τις τρισδιάστατες, είναι ότι μπορούν να παγιδεύσουν περισσότερα ιόντα. Τα ιόντα που βρίσκονται παγιδευμένα μπορούν να εξέλθουν με δύο τρόπους: είτε παράλληλα με τον άξονα της παγίδας είτε κάθετα σε αυτόν.



Εικόνα 12. Σχηματική διάταξη 3D ιοντικής παγίδας (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

2.3.3 Αναλυτές μάζας ηλεκτροστατικής παγίδας ('Orbitrap')

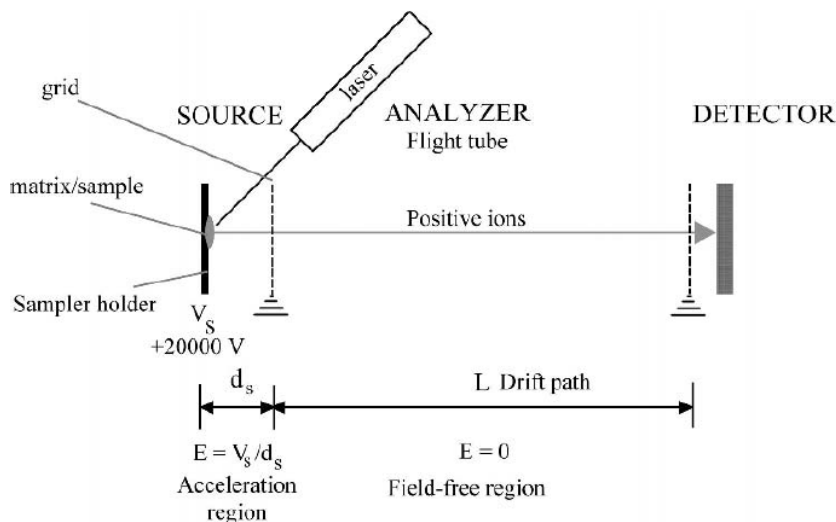
Οι αναλυτές μάζας τύπου Orbitrap χρησιμοποιούν ηλεκτροστατικές παγίδες και μετασχηματισμούς Fourier για την δημιουργία φάσματος μάζας. Στην εικόνα 13 φαίνεται σχηματικά η απεικόνιση μιας τέτοιας παγίδας. Το εξωτερικό μέρος είναι ένα ηλεκτρόδιο που έχει σχήμα βαρελιού το οποίο έχει κοπεί σε δύο ίσα μέρη με ένα μικρό κενό. Το κεντρικό ηλεκτρόδιο έχει σχήμα ατράκτου. Τα ιόντα εισέρχονται μέσω του κενού μεταξύ των δύο εξωτερικών ηλεκτροδίων. Στο κεντρικό ηλεκτρόδιο εφαρμόζεται αρνητικό δυναμικό και τα θετικά ιόντα αρχίζουν να ταλαντώνονται μέσα στην παγίδα διαγράφοντας τροχιά γύρω από το κεντρικό ηλεκτρόδιο. Λόγω των αρμονικών συχνοτήτων ταλάντωσης των παγιδευμένων ιόντων προσδιορίζεται ο λόγος m/z των ιόντων με μεγάλη ακρίβεια.



Εικόνα 13. Σχηματική διάταξη μιας παγίδας τύπου Orbitrap (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

2.3.4 Αναλυτές μάζας χρόνου πτήσεως

Οι αναλυτές μάζας χρόνου πτήσεως (time of flight mass analysers) βασίζονται στο χρόνο που χρειάζονται τα ιόντα για να ταξιδέψουν σε έναν σωλήνα. Στα ιόντα που παράγονται από την πηγή ιοντισμού δίνεται μια αρχική κινητική ενέργεια μέσω εφαρμογής ηλεκτρικού πεδίου το οποίο τα απωθεί. Στην συνέχεια, λόγω των διαφορετικών χρόνων που χρειάζεται κάθε ιόν, ανάλογα με την μάζα και το φορτίο του, προσδιορίζεται ο λόγος m/z . Ένα τυπικό σύστημα γραμμικού αναλυτή μαζών χρόνου πτήσεως συνδυασμένο με πηγή ιοντισμού MALDI φαίνεται στην εικόνα 14.



Εικόνα 14. Τυπική διάταξη γραμμικού αναλυτή μάζας χρόνου πτήσεως συνδυασμένο με πηγή ιοντισμού MALDI. (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

Στην διάταξη αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ένας ανακλαστήρας ιόντων. Όταν τα ιόντα φτάσουν στον ανακλαστήρα, αυτά απωθούνται λόγω του δυναμικού που εφαρμόζεται και επιστρέφουν προς τα πίσω κινούμενα προς τον ανιχνευτή. Η διάταξη αυτή προσφέρει αυξημένη διαχωριστική ισχύ.

Το σημαντικό πλεονέκτημα αυτών των αναλυτών μάζας είναι το μεγάλο εύρος μαζών που μπορούν να διαχωρίσουν. Σύμφωνα με την βασική αρχή λειτουργίας του, ο αναλυτής δεν έχει πάνω όριο μάζας. Πράγματι, έχουν παρατηρηθεί και μακρομόρια με μοριακό βάρος πάνω από 300.000 Da με την χρήση αυτού του αναλυτή μαζών. Επομένως, είναι μία πολύ

καλή τεχνική για την ανάλυση μεγάλων μακρομορίων σε συνδυασμό με ήπιες τεχνικές ιοντισμού. Τέλος, ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα είναι η μεγάλη τους απόδοση στην μετάδοση ιόντων που συνεπάγεται αυξημένη ευαισθησία. Ωστόσο, αυτού του είδους αναλυτές μάζας δεν έχουν υψηλή διακριτική ικανότητα.

2.4 Είδη ανιχνευτών

Ο ρόλος του ανιχνευτή είναι να ανιχνεύει τα ιόντα που εξέρχονται από τους αναλυτές μάζας και να τα μετατρέπει σε σήμα το οποίο διαβάζεται από τον χρήστη. Το σήμα αυτό είναι ανάλογο της ποσότητας των ιόντων. Επειδή η ποσότητα των ιόντων που κατευθύνονται προς τον ανιχνευτή είναι μικρή, και επομένως παράγει μη σημαντική ποσότητα σήματος, το σήμα αυτό θα πρέπει να ενισχύεται έτσι ώστε να είναι ανιχνεύσιμο.

2.4.1 Ανιχνευτές φωτογραφικής πλάκας

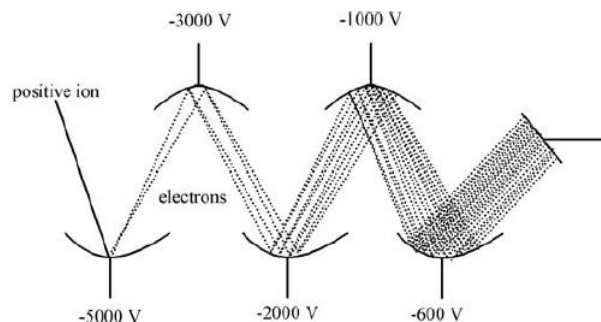
Αυτού του είδους οι ανιχνευτές ήταν οι πρώτοι που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση ιόντων στην φασματομετρία μάζας. Η βασική τους αρχή είναι αρκετά απλή: ιόντα με τον ίδιο λόγο m/z φτάνουν στην πλάκα του ανιχνευτή στο ίδιο σημείο και ύστερα από κατάλληλη βαθμονόμηση μπορεί να γίνει διάκριση των λόγων m/z . Οι ανιχνευτές αυτοί δεν χρησιμοποιούνται πλέον σήμερα.

2.4.2 Ανιχνευτές κυπέλλου Faraday

Οι ανιχνευτές κυπέλλου (cup) Faraday, αποτελούνται από μία κοίλη επιφάνεια η οποία έχει μια οπή. Τα ιόντα που εισέρχονται, "εξουδετερώνονται", μέσω κρούσεων με τα τοιχώματα του κυπέλλου, με μία διαδικασία κατά την οποία γίνεται ανταλλαγή ηλεκτρονίων. Αυτή η ανταλλαγή ηλεκτρονίων οδηγεί στην δημιουργία ηλεκτρικού ρεύματος το οποίο ενισχύεται και ανιχνεύεται. Το μειονέκτημα αυτών των ανιχνευτών είναι η χαμηλή ευαισθησία τους.

2.4.3 Ανιχνευτές ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστών

Οι ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές (electron multipliers) αποτελούνται από μία συστοιχία δυνόδων (μεταλλικές επιφάνειες οι οποίες εκπέμπουν δευτερογενή ηλεκτρόνια). Τα ιόντα προσκρούουν στις δυνόδους, οι οποίες έχουν δυναμικό αντίθετο από το φορτίο των ιόντων. Όταν θετικά ιόντα φτάσουν σε μία αρνητικά φορτισμένη δύνοδο τότε τα δευτερογενή σωματίδια που παράγονται είναι αρνητικά ιόντα και ηλεκτρόνια. Τα αρνητικά ιόντα που φτάνουν σε μία θετικά φορτισμένη δύνοδο μετατρέπονται σε θετικά ιόντα. Στην συνέχεια, όλα τα δευτερογενή σωματίδια που παράγονται μέσω αυτής της σειράς των διαδικασιών στις δυνόδους, μετατρέπονται σε ηλεκτρόνια και έχουμε ενίσχυση του σήματος. Η παραγωγή ηλεκτρονίων οδηγεί σε δημιουργία ηλεκτρικού ρεύματος, δηλαδή σε σήμα από τον ανιχνευτή. Αυτού του είδους οι ανιχνευτές είναι οι πιο διαδεδομένοι στην φασματομετρία μάζας. Στην εικόνα 15 φαίνεται σχηματικά η διάταξη ενός ανιχνευτή με ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή.



Εικόνα 15. Σχηματική διάταξη ενός ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή (Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant)

3. Μέθοδοι ανίχνευσης χλωρικών, υπερχλωρικών και βρωμικών ανιόντων – Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Ο τρέχων ισχύων κανονισμός της Ευρωπαϊκής Ένωσης⁵ έχει θεσπίσει για τα βρωμικά ανιόντα μέγιστο επιτρεπόμενο όριο σε νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση την παράμετρο των 10 µg/L ενώ για τα χλωρικά και τα υπερχλωρικά άλατα δεν υπάρχει κάποια σχετική μέγιστη επιτρεπόμενη τιμή. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει θεσπίσει το όριο των 10 µg/L για τα βρωμικά και 0,7 mg/L για τα χλωρικά⁶. Για τα υπερχλωρικά ανιόντα, δεν έχουν θεσπιστεί μέγιστες επιτρεπόμενες τιμές, εκτός από την πολιτεία της Καλιφόρνια και της Μασαχουσέτης όπου έχουν θεσπιστεί όρια των 6 και 2 µg/L, αντίστοιχα⁷.

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος ανίχνευσης ανιόντων περιλαμβάνει αρχικά τον διαχωρισμό τους με ιοντική χρωματογραφία και ανίχνευση των ουσιών με αγωγιμομετρικό ανιχνευτή^{8,9,10,11,12}, φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS)^{13,14,15} και φασματομετρία μάζας με ηλεκτροψεκασμό.^{16,17,18,19,20,21,22,23} Επίσης, έχει αναφερθεί και ο διαχωρισμός ανιόντων σε στήλες χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης και ανίχνευση με φασματομετρία μάζας.^{22,23}

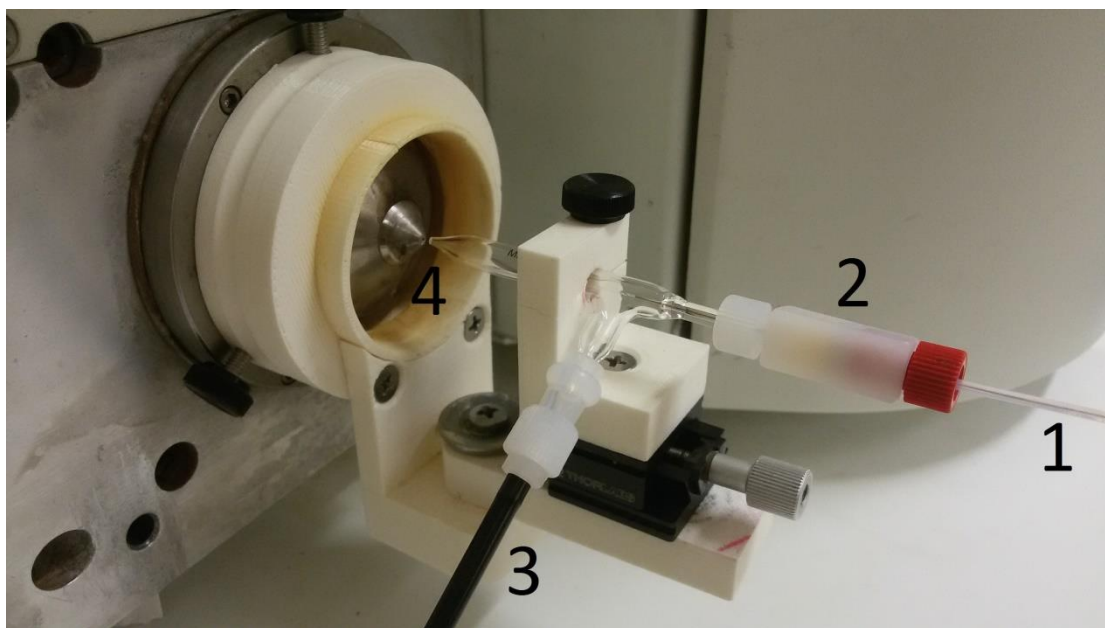
Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, ως πηγή ιοντισμού χρησιμοποιείται ο ηλεκτροψεκασμός. Επιπλέον ο διαχωρισμός των ανιόντων επιτυγχάνεται κυρίως με ιοντικές στήλες χρωματογραφίας. Το κύριο αντικείμενο μελέτης της παρούσας εργασίας είναι να αξιολογηθεί η χρήση της πηγής ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης σε σύζευξη με την φασματομετρία μάζας για τον διαχωρισμό και την ανίχνευση χλωρικών, υπερχλωρικών και βρωμικών ανιόντων και να συγκριθεί με αντίστοιχες τεχνικές όπου η πηγή ιοντισμού που χρησιμοποιείται είναι ο ηλεκτροψεκασμός.

4. Πειραματικό μέρος

Η καρδιά της πηγής ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI) είναι ένας γυάλινος πνευματικός εκνεφωτής τύπου HEN (High Efficiency Nebulizer, HEN-90-A0.2), της εταιρείας

Meinhard. Ο εκνεφωτής αυτός προορίζεται για χρήση στην ατομική φασματοσκοπία και έχει την δυνατότητα εισαγωγής δείγματος με ροές 50-200 $\mu\text{L}/\text{min}$. Μέσα στο τριχοειδές του εκνεφωτή, στερεώνεται ένας τριχοειδής σωλήνας τηγμένης πυριτίας με εσωτερική διάμετρο 99 μm με σκοπό την εισαγωγή του δείγματος. Επιπλέον, στον εκνεφωτή εισάγεται παροχή μοριακού αζώτου (N_2) για την εκνέφωση του δείγματος. Στην συνέχεια με την βοήθεια ειδικής βάσης, ο εκνεφωτής προσαρτάται μπροστά από την είσοδο του φασματομέτρου μάζας (εικόνα 16) και η σχετική θέση της άκρης του εκνεφωτή ως προς τον μεταλλικό κώνο δειγματοληψίας του οργάνου ρυθμίζεται έτσι ώστε το σήμα που λαμβάνεται από το σύστημα να είναι το μέγιστο δυνατό.

Για την ανάλυση των ανόργανων ανιόντων ClO_3^- , ClO_4^- και BrO_3^- χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα φασματομετρίας μάζας τριπλού τετραπόλου (TSQ, Thermo Scientific, San Jose, CA). Η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση των ανιόντων έγινε με την μέθοδο της παρακολούθησης επιλεγμένης αντίδρασης (Selected Reaction Monitoring, SRM) παρακολουθώντας τις αντιδράσεις απώλειας ενός οξυγόνου από τους αναλύτες κατά την θραυσματοποίηση. Συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν οι αντιδράσεις $^{35}\text{ClO}_3^-$ (m/z 82,88) \rightarrow $^{35}\text{ClO}_2^-$ (m/z 66,95), $^{35}\text{ClO}_4^-$ (m/z 98,86) \rightarrow $^{35}\text{ClO}_3^-$ (m/z 82,92) και $^{79}\text{BrO}_3^-$ (m/z 126,91) \rightarrow $^{79}\text{BrO}_2^-$ (m/z 110,90). Για την ταυτοποίηση του κάθε αναλύτη χρησιμοποιήθηκαν επιπλέον οι μεταβάσεις



Εικόνα 16. Η πηγή ιοντισμού SSI συζευγμένη με το σύστημα φασματομετρίας μάζας.

- 1: Τριχοειδής σωλήνας τηγμένης πυριτίας για την εισαγωγή του δείγματος
- 2: Εξαρτήματα τύπου PEEK για την ασφάλιση του τριχοειδούς τηγμένης πυριτίας στο τριχοειδές του εκνεφωτή
- 3: Παροχή αερίου αζώτου
- 4: Παραγωγή ιόντων στην αέρια φάση και είσοδος στο φασματόμετρο μάζας

$^{37}\text{ClO}_3^-$ (m/z 84,88) \rightarrow $^{37}\text{ClO}_2^-$ (m/z 68,95), $^{37}\text{ClO}_4^-$ (m/z 100,86) \rightarrow $^{37}\text{ClO}_3^-$ (m/z 84,92) και $^{81}\text{BrO}_3^-$ (m/z 128,91) \rightarrow $^{81}\text{BrO}_2^-$ (m/z 112,90). Η ισοτοπική αναλογία για τα ισότοπα του χλωρίου είναι περίπου 3 ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) ενώ για τα ισότοπα του βρωμίου είναι περίπου 1 ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$). Επομένως, παρακολουθώντας την αναλογία σήματος ανάμεσα στα ισότοπα του ίδιου στοιχείου μπορούμε να ταυτοποιήσουμε την παρουσία του αναλύτη.

Οι τιμές των παραμέτρων του συστήματος φασματομετρίας μάζας που επιλέχθηκαν για την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση των αναλυτών, ύστερα από βελτιστοποίηση, συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1. Παράμετροι συστήματος φασματομετρίας μάζας

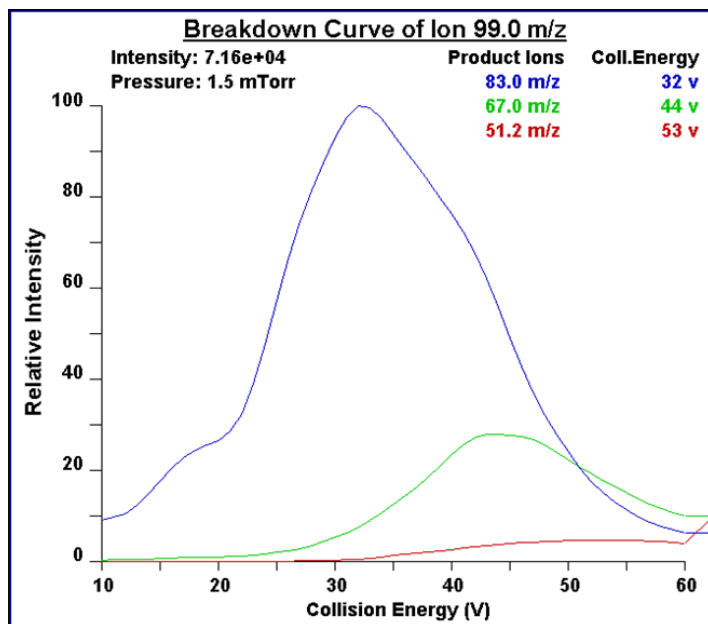
Παράμετρος	Τιμή
Εύρος σάρωσης (scan width)	0,01 m/z
Χρόνος σάρωσης (scan time)	0,1 s
Ενέργεια συγκρουσιογενούς διάσπασης στην πηγή (source collision induced dissociation)	5 V
Θερμοκρασία τριχοειδή σωλήνα (capillary temperature)	310 °C

Για την ανίχνευση των ιόντων με την μέθοδο της παρακολούθησης επιλεγμένης αντίδρασης, χρησιμοποιήθηκαν οι παράμετροι που φαίνονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. Παράμετροι παρακολούθησης επιλεγμένης αντίδρασης

Αναλύτης	m/z πρόδρομου ιόντος	m/z θυγατρικού ιόντος	Ενέργεια διάσπασης (V)	Δυναμικό οπτικών εστίασης (Tube lens offset, V)	Εύρος Q1 (m/z)	Εύρος Q3 (m/z)
$^{35}\text{ClO}_3^-$	82,88	66,95	28	-123	0,3	0,7
$^{37}\text{ClO}_3^-$	84,88	68,95	28	-114	0,3	0,7
$^{35}\text{ClO}_4^-$	98,86	82,92	32	-96	0,3	0,3
$^{37}\text{ClO}_4^-$	100,86	84,92	32	-113	0,3	0,3
$^{79}\text{BrO}_3^-$	126,91	110,90	32	-150	0,3	0,3
$^{81}\text{BrO}_3^-$	128,91	112,90	32	-128	0,3	0,3

Ο προσδιορισμός της βέλτιστης τιμής για την ενέργεια διάσπασης και για το δυναμικό οπτικών εστίασης έγινε ύστερα από κατασκευή καμπύλης διάσπασης (breakdown curve) του κάθε ιόντος. Κατά την διαδικασία αυτή, εισάγουμε στο σύστημα φασματομετρίας μάζας τον επιθυμητό αναλύτη με συνεχή ροή και το όργανο σαρώνει όλο το εύρος δυναμικών οπτικών εστίασης ώστε να βρει την τιμή εκείνη που το σήμα του αναλύτη είναι το μέγιστο. Για τον προσδιορισμό της ενέργειας διάσπασης, το όργανο προσδιορίζει αρχικά όλα τα θραύσματα του αναλύτη και στην συνέχεια σαρώνοντας όλο το εύρος των ενεργειών διάσπασης προσδιορίζεται η ενέργεια που δίνει το μέγιστο σήμα για κάθε θραύσμα. Στην εικόνα 17 φαίνεται η καμπύλη διάσπασης ιόντος, όπου προσδιορίζεται η ενέργεια διάσπασης που απαιτείται για να λάβουμε το μέγιστο σήμα από κάθε θραύσμα των υπερχλωρικών ανιόντων (m/z 99). Τα παραγόμενα θραύσματα αντιστοιχούν στις ενώσεις ClO_3^- (m/z 83,0), ClO_2^- (m/z 67,0) και ClO^- (m/z 51,2). Το πιο άφθονο από αυτά είναι το ClO_3^- , το οποίο και επιλέγεται να παρακολουθείται στην παρακολούθηση επιλεγμένης αντίδρασης. Αντίστοιχα, λαμβάνονται και οι καμπύλες διάσπασης για τα χλωρικά και τα βρωμικά ιόντα.



Εικόνα 17. Καμπύλη διάσπασης υπερχλωρικών ανιόντων. Το πιο άφθονο θραύσμα είναι το m/z 83 και απαιτεί ενέργεια 32 V για να παραχθεί σε αυτήν την ένταση

Η θραυσματοποίηση των αναλυτών γίνεται στο δεύτερο τετράπολο q2, το οποίο βρίσκεται μεταξύ του Q1 και του Q3, με την βοήθεια αερίου Ar σε πίεση 1,5 mTorr. Η διαδικασία θραυσματοποίησης των ιόντων προκύπτει από τον συνδυασμό της ενέργειας διάσπασης που παρέχεται στα ιόντα αλλά και της πίεσης του αερίου.

Το σύστημα της φασματομετρίας μάζας ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI-MS) συζεύχθηκε με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) με σκοπό τον διαχωρισμό των ανιόντων. Το σύστημα HPLC αποτελείται από μια αντλία παροχής της κινητής φάσης (Surveyor MS Pump), έναν εισαγωγέα δείγματος 6 θέσεων (Rheodyne, 7750E-185) με βρόγχο χωρητικότητας δείγματος 20 μ L και μία στήλη αντίστροφης φάσης C₁₈ (Shim-pack XR ODS, 2 mm (i.d.) x 100 mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε ήταν H₂O/MeOH 70:30 με 0,1 % φορμικό οξύ με ροή 100 μ L/min. Η παρουσία της μεθανόλης είναι απαραίτητη για την κατακράτηση των ανιόντων από την στήλη. Τα ανιόντα έχουν χαμηλή διαλυτότητα στην οργανική φάση της κινητής φάσης και έτσι αλληλεπιδρούν με την στατική φάση της στήλης και παρουσιάζουν κατακράτηση. Όμως η παρουσία νερού και φορμικού στην κινητή φάση οδηγεί στην έκλυση των αναλυτών από την στήλη και στον διαχωρισμό τους καθώς αλληλεπιδρούν διαφορετικά με την στατική φάση. Επιπλέον, η χρήση στηλών χρωματογραφίας με στατική φάση C₁₈ απαιτεί την παρουσία οργανικού διαλύτη στην κινητή φάση ώστε να αλληλεπιδρούν οι ομάδες C₁₈ με αυτόν.

Η εκνέφωση του εκλούσματος της χρωματογραφίας από τον εκνεφωτή γίνεται με την βοήθεια ομοαξονικής ροής μοριακού αζώτου (N₂) σε πίεση 60-80 psi.

Η παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων των ανιόντων γίνεται με διάλυση του αντίστοιχου άλατος κάθε ανιόντος (NaClO₃, KClO₄, NaBrO₃) σε νερό (nanopure, 18,2 M Ω /cm) και στην συνέχεια με διαδοχικές αραιώσεις παρασκευάζονται υδατικά διαλύματα που περιέχουν και τα τρία ανιόντα στις επιθυμητές συγκεντρώσεις.

Αναλύθηκαν δείγματα νερού με το σύστημα HPLC-SSI-MS/MS με σκοπό την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση χλωρικών, υπερχλωρικών και βρωμικών ιόντων. Επίσης, τα δείγματα αυτά καθαρίστηκαν με την βοήθεια φίλτρου Ag. Αυτό γίνεται ώστε να μειωθούν όποιες παρεμποδίσσεις υπάρχουν από την μήτρα του δείγματος, η οποία είναι υψηλή σε ιόντα όπως χλωριούχα, θειικά αλλά και όξινα ανθρακικά. Στην συνέχεια συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα ανακτήσεων ανάμεσα στα δείγματα που είχαν καθαριστεί με το φίλτρο αργύρου και σε αυτά που δεν είχαν υποστεί οποιοδήποτε καθαρισμό. Η ποσοτικοποίηση των αναλυτών έγινε με την μέθοδο του εξωτερικού προτύπου ύστερα από κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς για κάθε αναλύτη.

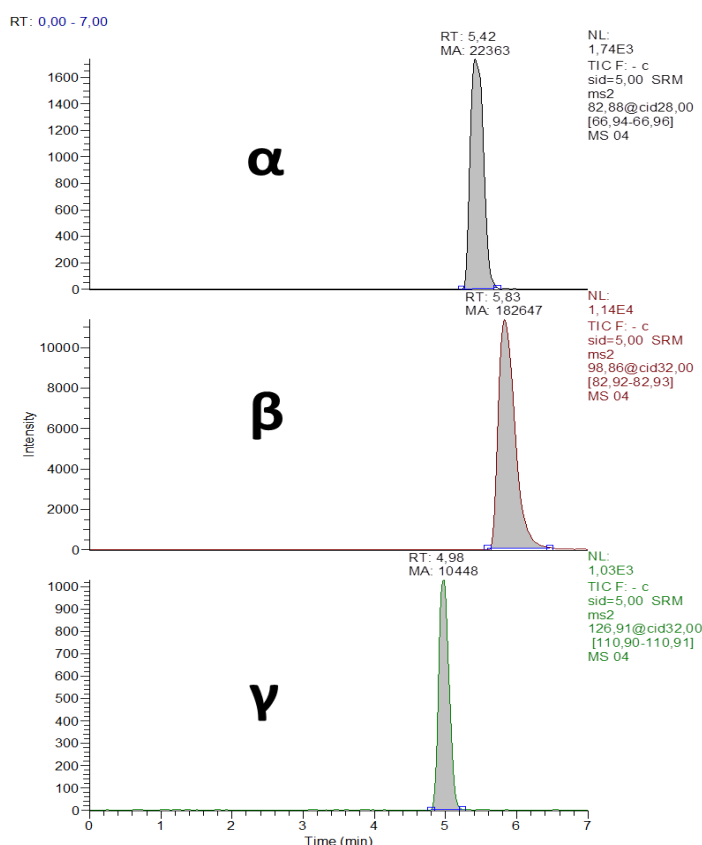
Τα φάσματα που λήφθηκαν επεξεργάστηκαν με την βοήθεια του λογισμικού Xcalibur.

5. Αποτελέσματα και Συζήτηση

Το όριο ανίχνευσης μιας ουσίας είναι η συγκέντρωση στην οποία μπορούμε να ξεχωρίσουμε το σήμα του αναλύτη από το υπόβραθο με βεβαιότητα²⁴. Για τον υπολογισμό του ορίου ανίχνευσης για κάθε ουσία, αρχικά κάνουμε 7 εισαγωγές τυφλού δείγματος (blank). Στην προκειμένη περίπτωση το τυφλό διάλυμα είναι υπερκάθαρο νερό. Στην συνέχεια κάνουμε τουλάχιστον 3 εισαγωγές διαλύματος αναλύτη με γνωστή συγκέντρωση. Γνωρίζοντας τον χρόνο

κατακράτησης της ουσίας, μπορούμε να ολοκληρώσουμε την περιοχή στην οποία αναμένεται η ουσία, στο χρωματογράφημα του τυφλού διαλύματος. Αυτό είναι το σήμα του τυφλού και αφαιρείται από την τιμή της ολοκλήρωσης της κορυφής του αναλύτη και έτσι προκύπτει το καθαρό σήμα του αναλύτη (S). Το καθαρό σήμα του αναλύτη διαιρείται με την τυπική απόκλιση των 7 ολοκληρώσεων του τυφλού διαλύματος και έτσι προκύπτει η ποσότητα S/N η οποία είναι το σήμα προς τον θόρυβο. Η ποσότητα S/N που προέκυψε αντιστοιχεί σε γνωστή συγκέντρωση αναλύτη και το όριο ανίχνευσης προκύπτει αν αναζητήσουμε την συγκέντρωση εκείνη στην οποία το σήμα προς θόρυβο είναι 3.

Τα υπολογιζόμενα όρια ανίχνευσης για τα χλωρικά, υπερχλωρικά και βρωμικά ανιόντα συνοψίζονται στον πίνακα 3.



Εικόνα 18. Χρωματογραφήματα που λήφθηκαν ύστερα από εισαγωγή πολυσυστατικού διαλύματος των τριών ανιόντων σε συγκέντρωση 5 ppb. Τα χλωρικά ιόντα αντιστοιχούν στο (α) χρωματογράφημα, τα υπερχλωρικά στο (β) και τα βρωμικά στο (γ).

Πίνακας 3. Υπολογιζόμενα όρια ανίχνευσης της μεθόδου HPLC-SSI-MS/MS για τα χλωρικά, υπερχλωρικά και βρωμικά ανιόντα

Αναλύτης	Όριο ανίχνευσης (ng/L)	Απόλυτο όριο ανίχνευσης (pg)
ClO ₃ ⁻	5,3	0,1
ClO ₄ ⁻	10	0,2
BrO ₃ ⁻	33,7	0,7

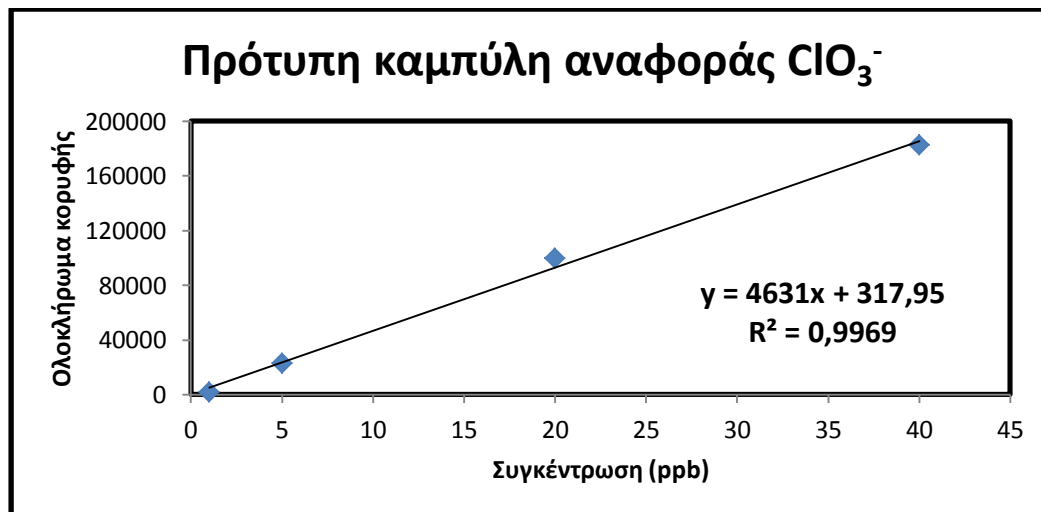
Το απόλυτο όριο ανίχνευσης προκύπτει αν πολλαπλασιάσουμε το όριο ανίχνευσης με τον όγκο εισαγωγής δείγματος στην στήλη (20 μL).

Για την κατασκευή των πρότυπων καμπυλών αναφοράς, παρασκευάστηκαν διαλύματα που περιείχαν και τα τρία ανιόντα σε συγκεντρώσεις 1, 5, 20 και 40 ppb. Κάθε πρότυπο διάλυμα αναλύθηκε τρεις φορές για την εξαγωγή του μέσου όρου του ολοκληρώματος της κορυφής του αναλύτη, της τυπικής απόκλισης και της σχετικής τυπικής απόκλισης επί τοις εκατό.

Στην εικόνα 18 φαίνονται τα χρωματογραφήματα από πρότυπο διάλυμα που περιέχει χλωρικά, υπερχλωρικά και βρωμικά ανιόντα, σε συγκέντρωση 5 ppb καθώς και η ολοκλήρωση των κορυφών.

Πρότυπες καμπύλες αναφοράς

Η πρότυπη καμπύλη αναφοράς για το κάθε ανιόν καθώς και ο αντίστοιχος πίνακας με τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή αυτών, παρατίθενται παρακάτω.



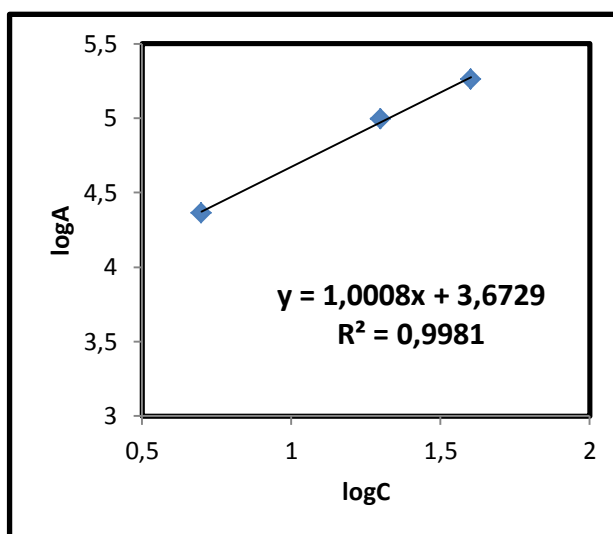
Εικόνα 19. Πρότυπη καμπύλη αναφοράς για τα χλωρικά ανιόντα. Για την κατασκευή της γραμμής χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα που περιείχαν 1, 5, 20 και 40 ppb χλωρικά.

Πίνακας 4. Στατιστικά δεδομένα από την ολοκλήρωση των κορυφών για τα χλωρικά ανιόντα.

Συγκέντρωση (ppb)	1	5	20	40
Μέσος όρος ολοκληρώματος	1848	23164	99526,3	182381,3
Τυπική απόκλιση	136,8	1341,3	1748,7	1865,8

Σχετική τυπική απόκλιση %	7,4	5,8	1,7	1,0
---------------------------	-----	-----	-----	-----

Για να εξετάσουμε την γραμμικότητα της καμπύλης, κατασκευάζουμε το διάγραμμα logA-logC όπου A το ολοκλήρωμα της κορυφής και C η συγκέντρωση της ουσίας. Η μέγιστη γραμμικότητα επιτυγχάνεται στο εύρος 5-40 ppb, όπως φαίνεται και στην εικόνα 20, όπου η κλίση της ευθείας είναι 1,0008.

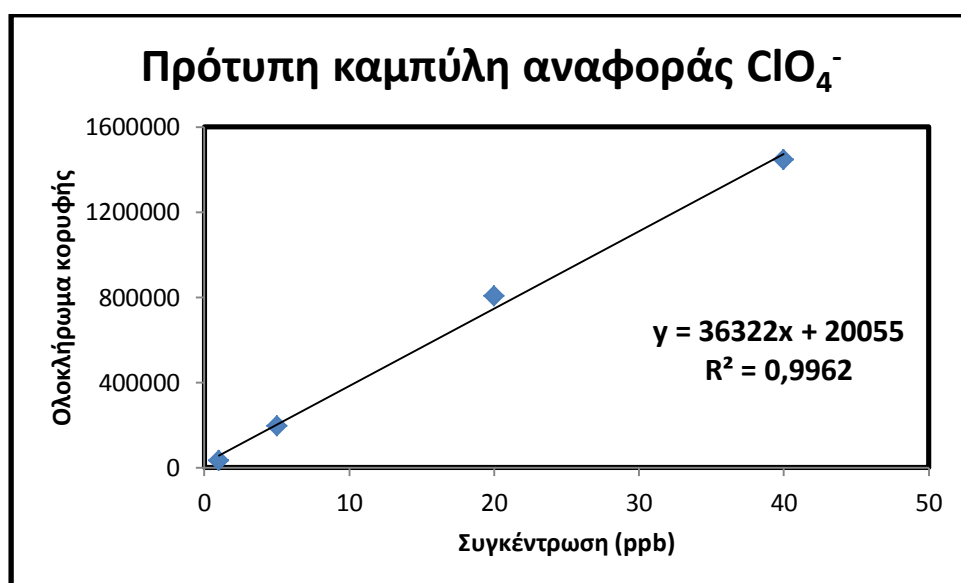


Εικόνα 20. Γράφημα logA-logC για τα χλωρικά ανιόντα, όπου A το ολοκλήρωμα της κορυφής και C η συγκέντρωση σε ppb. Η μέγιστη γραμμικότητα λαμβάνεται στο εύρος 5-40 ppb.

Η παραπάνω πρότυπη καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιήθηκε τόσο για την ποσοτικοποίηση χλωρικών στα δείγματα νερού όσο και για την μελέτη της ανάκτησης του αναλύτη.

Η ποσότητα των υπερχλωρικών ανιόντων που ανιχνεύθηκε στα δείγματα νερού ήταν αρκετά μικρότερη από εκείνη των χλωρικών και για αυτό ήταν απαραίτητο να κατασκευαστεί πρότυπη καμπύλη αναφοράς με μικρότερες συγκεντρώσεις ώστε να είναι δυνατή η ποσοτικοποίηση.

Για την ποσοτικοποίηση των υπερχλωρικών στα δείγματα νερού κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα υπερχλωρικών ανιόντων σε συγκεντρώσεις 0,05, 0,1, 0,5, 1 και 2 ppb. Για την μελέτη της ανάκτησης του αναλύτη χρησιμοποιήθηκε πρότυπη καμπύλης αναφοράς με συγκεντρώσεις 1, 5, 20 και 40 ppb υπερχλωρικών.

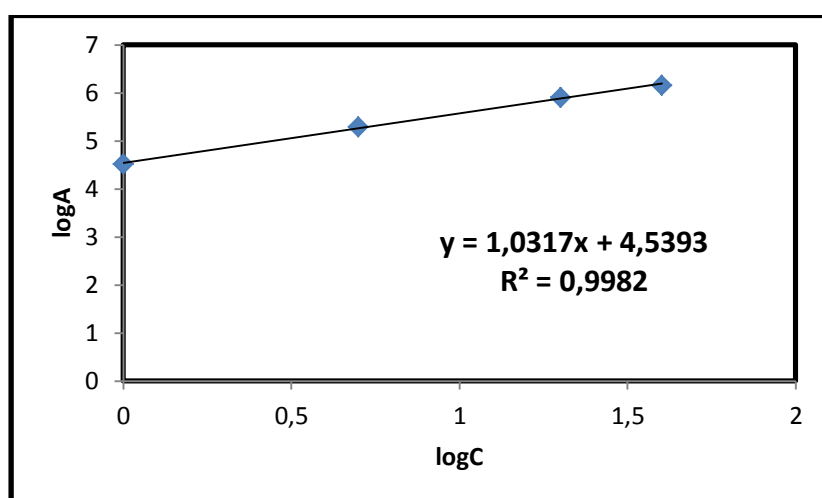


Εικόνα 21. Πρότυπη καμπύλης αναφοράς υπερχλωρικών ανιόντων στο εύρος συγκεντρώσεων 1-40 ppb.

Πίνακας 5. Στατιστικά δεδομένα από την ολοκλήρωση των κορυφών για τα υπερχλωρικά

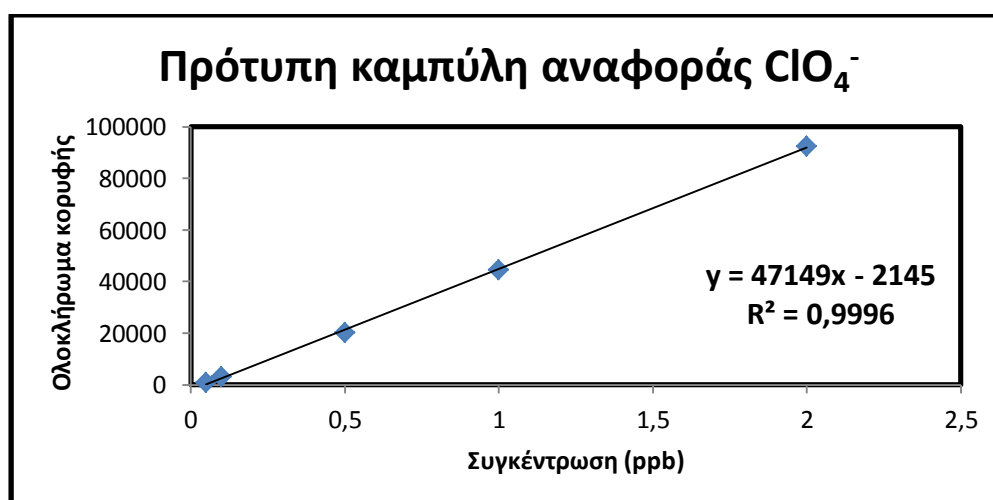
Συγκέντρωση (ppb)	1	5	20	40
Μέσος όρος ολοκληρώματος	32988	194765	804167	1445528,7
Τυπική απόκλιση	3427,1	10905,0	9209,6	21724,3
Σχετική τυπική απόκλιση %	10,4	5,6	1,1	1,5

Εξετάζεται και η γραμμικότητα σε αυτό το εύρος συγκεντρώσεων, μέσω της κατασκευής των αντίστοιχων διαγραμμάτων logA-logC. Όπως φαίνεται στην εικόνα 22, η γραμμικότητα είναι ικανοποιητική σε όλο το εύρος των συγκεντρώσεων.



Εικόνα 22. Διάγραμμα logA-logC για τα υπερχλωρικά ανιόντα στο εύρος συγκεντρώσεων 1-40 ppb

Η παραπάνω πρότυπη καμπύλη χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της ανάκτησης των υπερχλωρικών σε δείγματα νερού ενώ η ποσοτικοποίηση έγινε με την βοήθεια της πρότυπης καμπύλης που φαίνεται στην εικόνα 23.

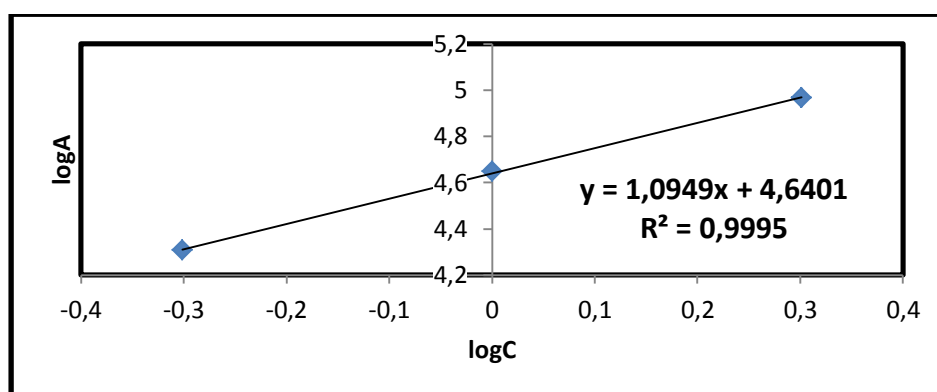


Εικόνα 23. Πρότυπη καμπύλη αναφοράς υπερχλωρικών στο εύρος 0,05-2 ppb

Πίνακας 6. Στατιστικά δεδομένα από την ολοκλήρωση των κορυφών για τα υπερχλωρικά

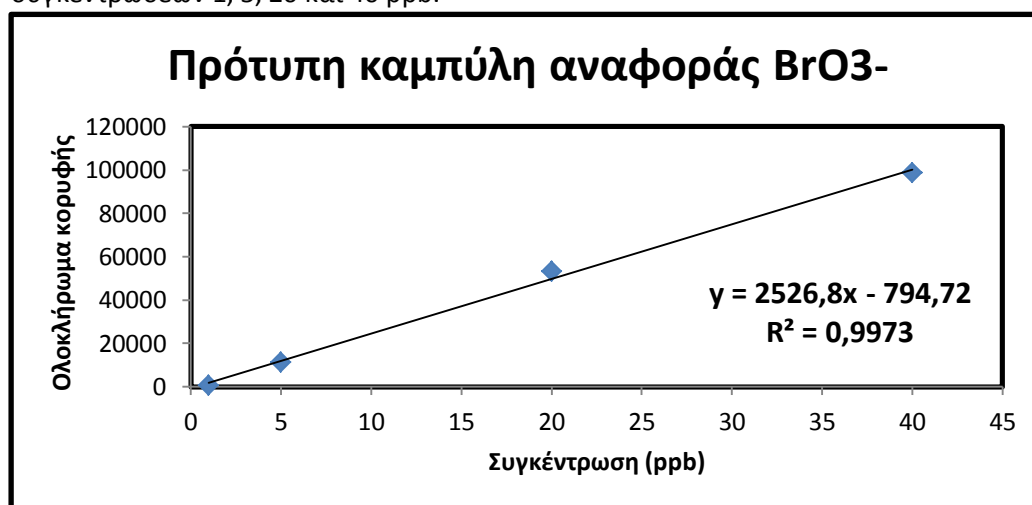
Συγκέντρωση (ppb)	0,05	0,1	0,5	1	2
Μέσος όρος ολοκληρώματος	778,3	3142,3	20253,7	44575,7	92618,0
Τυπική απόκλιση	130,8	45,5	320,2	1767,3	3101,4
Σχετική τυπική απόκλιση %	16,8	1,4	1,6	4,0	3,3

Όπως φαίνεται από το διάγραμμα logA-logC της εικόνας 24, η μέγιστη γραμμικότητα λαμβάνεται στο εύρος 0,5-2 ppb, όπου η κλίση της ευθείας είναι 1.0949



Εικόνα 24. Διάγραμμα logA-logC για τα υπερχλωρικά ανιόντα στο εύρος 0.5-2 ppb

Τα βρωμικά ιόντα, δεν ποσοτικοποιήθηκαν σε κανένα από τα δείγματα νερού που αναλύθηκαν καθώς η συγκέντρωσή τους ήταν πάρα πολύ χαμηλή, ωστόσο ικανή να ανιχνευθεί. Παρόλα αυτά, για την μελέτη της ανάκτησης των βρωμικών σε δείγματα νερού, κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιώντας διαλύματα συγκεντρώσεων 1, 5, 20 και 40 ppb.



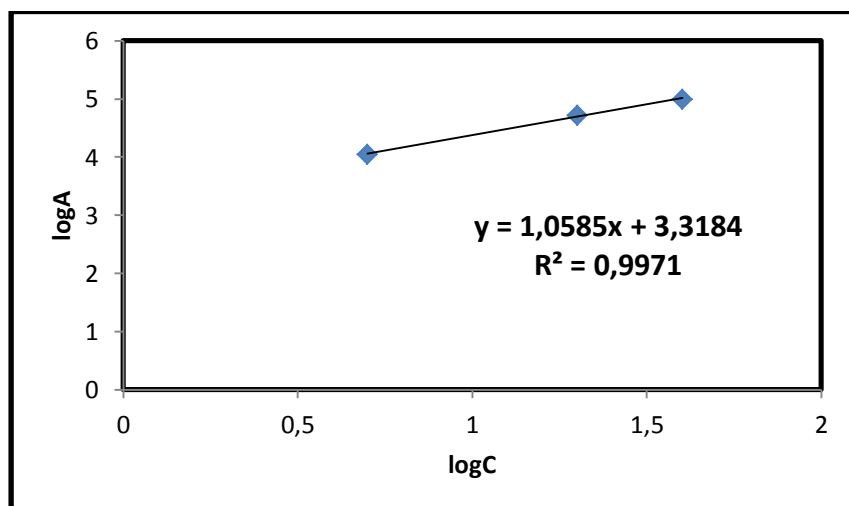
Εικόνα 25. Πρότυπη καμπύλη αναφοράς βρωμικών ιόντων στο εύρος 1-40 ppb.

Πίνακας 7. Στατιστικά δεδομένα από την ολοκλήρωση των κορυφών για τα βρωμικά

Συγκέντρωση (ppb)	1	5	20	40
Μέσος όρος ολοκληρώματος	575,3	10509,0	53157,7	98680,0
Τυπική απόκλιση	176,8	202,0	2823,2	4745,2
Σχετική τυπική απόκλιση %	30,7	1,9	5,3	4,

Παρατηρείται μια αστάθεια του σήματος στην συγκέντρωση 1 ppb, όπως φαίνεται και από την τιμή της σχετικής τυπικής απόκλισης.

Η γραμμικότητα, εξετάζεται μέσω του αντίστοιχου διαγράμματος logA-logC (εικόνα 26). Η μέγιστη γραμμικότητα λαμβάνεται στο εύρος 5-40 ppb, όπου η κλίση της ευθείας είναι 1,0585.



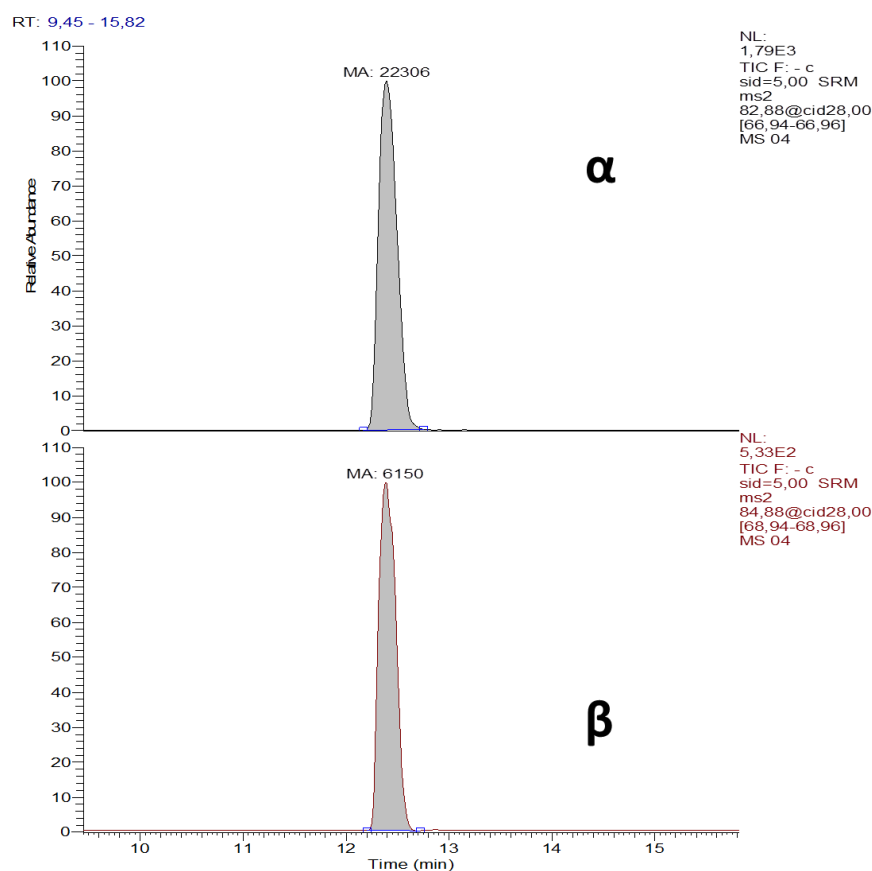
Εικόνα 26. Διάγραμμα logA-logC για τα βρωμικά ανιόντα όπου φαίνεται ότι η μέγιστη γραμμικότητα λαμβάνεται στο εύρος 5-40 ppb

Χρήση ισοτόπων ^{37}Cl και ^{81}Br για την ταυτοποίηση των κορυφών

Η ταυτοποίηση μιας ένωσης σε μία χρωματογραφική τεχνική γίνεται συνήθως μέσω του χρόνου κατακράτησης της ουσίας. Ωστόσο, αλλαγές στον χρόνο κατακράτησης μπορούν να επέλθουν κατά την ανάλυση πραγματικών δειγμάτων λόγω της επίδρασης των συστατικών της μήτρας. Η χρήση φασματομετρίας μάζας για την ανίχνευση ουσιών παράγει αξιόπιστα αποτελέσματα σχετικά με την παρουσία ενός αναλύτη. Είναι δυνατόν, στο εύρος μικρών μαζών να υπάρχουν άλλα ιόντα με ίδιο m/z με τον αναλύτη που μας ενδιαφέρει και να δίνουν αναλυτικό σήμα, παράγοντας έτσι ένα ψευδώς θετικό αποτέλεσμα. Η χρήση των ισοτόπων ορισμένων στοιχείων μας δίνει την δυνατότητα να ταυτοποιήσουμε την παρουσία ενός αναλύτη συγκρίνοντας το αναλυτικό σήμα των δυο ισοτόπων με την αναμενόμενη ισοτοπική αναλογία.

Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήσαμε τις αντίστοιχες θραυσματοποιήσεις των ενώσεων $^{37}\text{ClO}_3^-$, $^{37}\text{ClO}_4^-$ και $^{81}\text{BrO}_3^-$ με σκοπό την ταυτοποίηση της παρουσίας ενός αναλύτη σε ένα δείγμα. Ενώσεις με διαφορετικά ισότοπα εκλούνται ταυτόχρονα από μία χρωματογραφική στήλη.

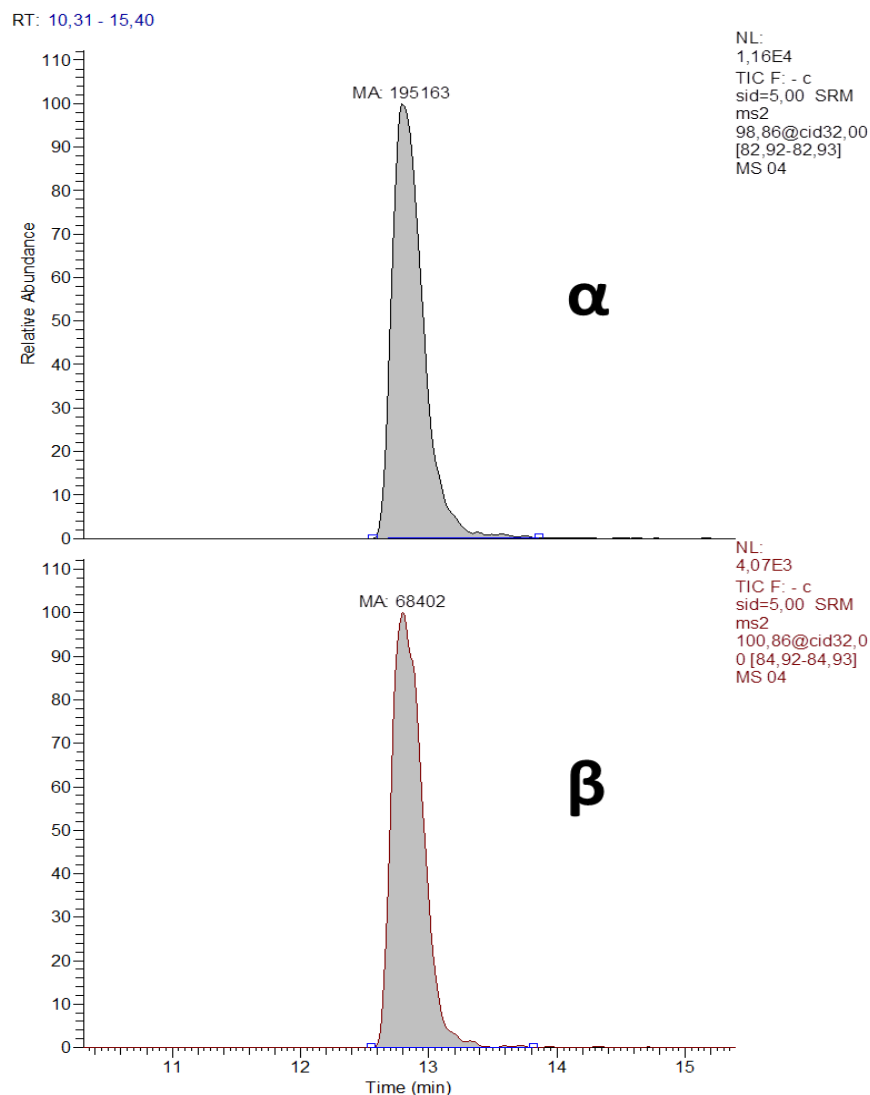
Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις, όπως εκείνες ορίζονται από την ευαισθησία της τεχνικής, οι ισοτοπικοί λόγοι ενδέχεται να διαφοροποιούνται λόγω ασταθούς απόκρισης του οργάνου στις ακόμη χαμηλότερες συγκεντρώσεις του ισότοπου με την λιγότερη αφθονία^{21,22}. Για παράδειγμα, κατά την ευαίσθητη ανίχνευση 50 ppt υπερχλωρικών ανιόντων, η ποσότητα των αναλυτών που φέρουν το ισότοπο ^{37}Cl είναι το 1/3 εκείνης που φέρουν το ισότοπο ^{35}Cl , επομένως το αναλυτικό σήμα στο λιγότερο άφθονο ισότοπο ενδεχομένως να μην είναι τόσο σταθερό.



Εικόνα 27. Χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μετά από εισαγωγή πρότυπου διαλύματος 5 ppb χλωρικών ανιόντων. (α) $^{35}\text{ClO}_3^-$, (β) $^{37}\text{ClO}_3^-$

Στην εικόνα 27 φαίνονται τα χρωματογραφήματα που προέκυψαν ύστερα από εισαγωγή πρότυπου διαλύματος που περιείχε 5 ppb χλωρικών ανιόντων. Φαίνονται οι χρωματογραφικές κορυφές και για τα δύο ισότοπα του χλωρίου. Η θεωρητική τιμή του λόγου $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ είναι 3,08 και η τιμή που μετράται πειραματικά πρέπει να βρίσκεται εντός του εύρους 2,31-3,85 ($3,08 \pm 25\%$) για να είναι αποδεκτή¹⁸. Στην παραπάνω εικόνα, ο λόγος των περιοχών του ολοκληρώματος των κορυφών για τα δύο ισότοπα είναι $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl} = 22306/6150 = 3,62$.

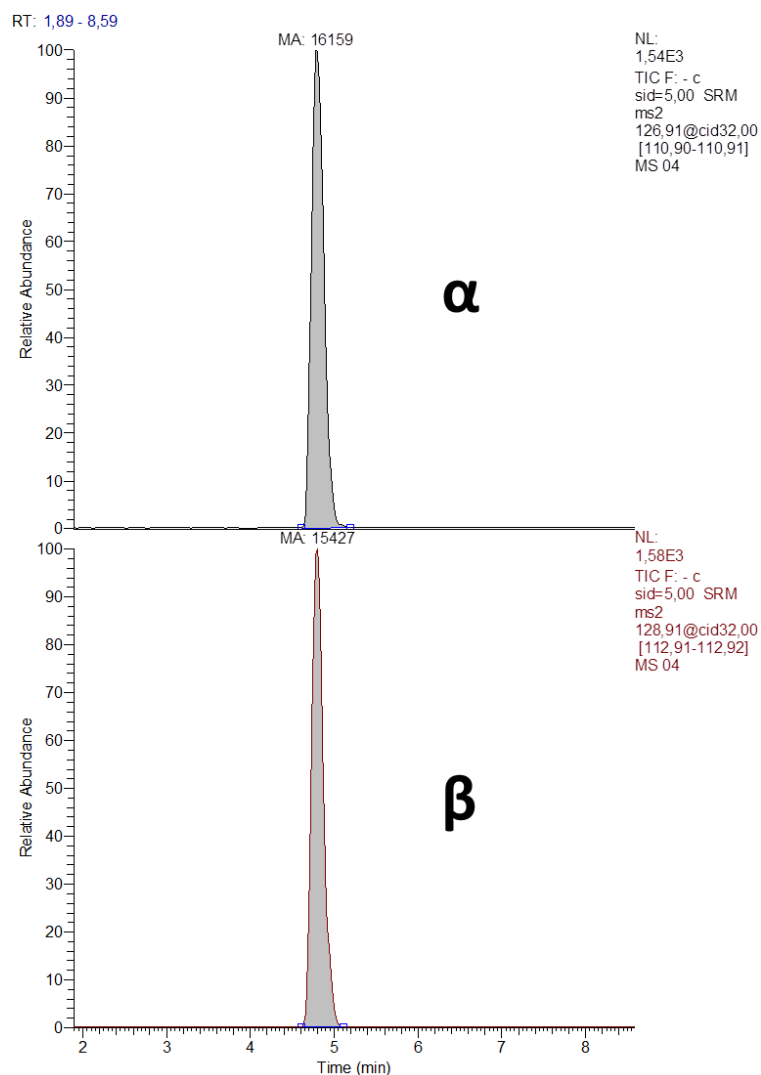
Αντίστοιχα, στην εικόνα 28 βλέπουμε τα χρωματογραφήματα που προέκυψαν μετά την εισαγωγή πρότυπου διαλύματος 5 ppb υπερχλωρικών ανιόντων.



Εικόνα 28. Χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μετά την εισαγωγή πρότυπου διαλύματος 5 ppb υπερχλωρικών. (α) $^{35}\text{ClO}_4^-$ (β) $^{37}\text{ClO}_4^-$

Όπως φαίνεται στα χρωματογραφήματα της εικόνας 28, ο λόγος των περιοχών ολοκλήρωσης των δύο ισωτόπων είναι $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl} = 195163/68402 = 2,85$.

Για τα ισότοπα του Br, η θεωρητική αναλογία $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$ είναι 1,03. Στην εικόνα 29 βλέπουμε ότι ο λόγος του εμβαδού των κορυφών για τα ισότοπα $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$ είναι $16159/15427 = 1,05$.



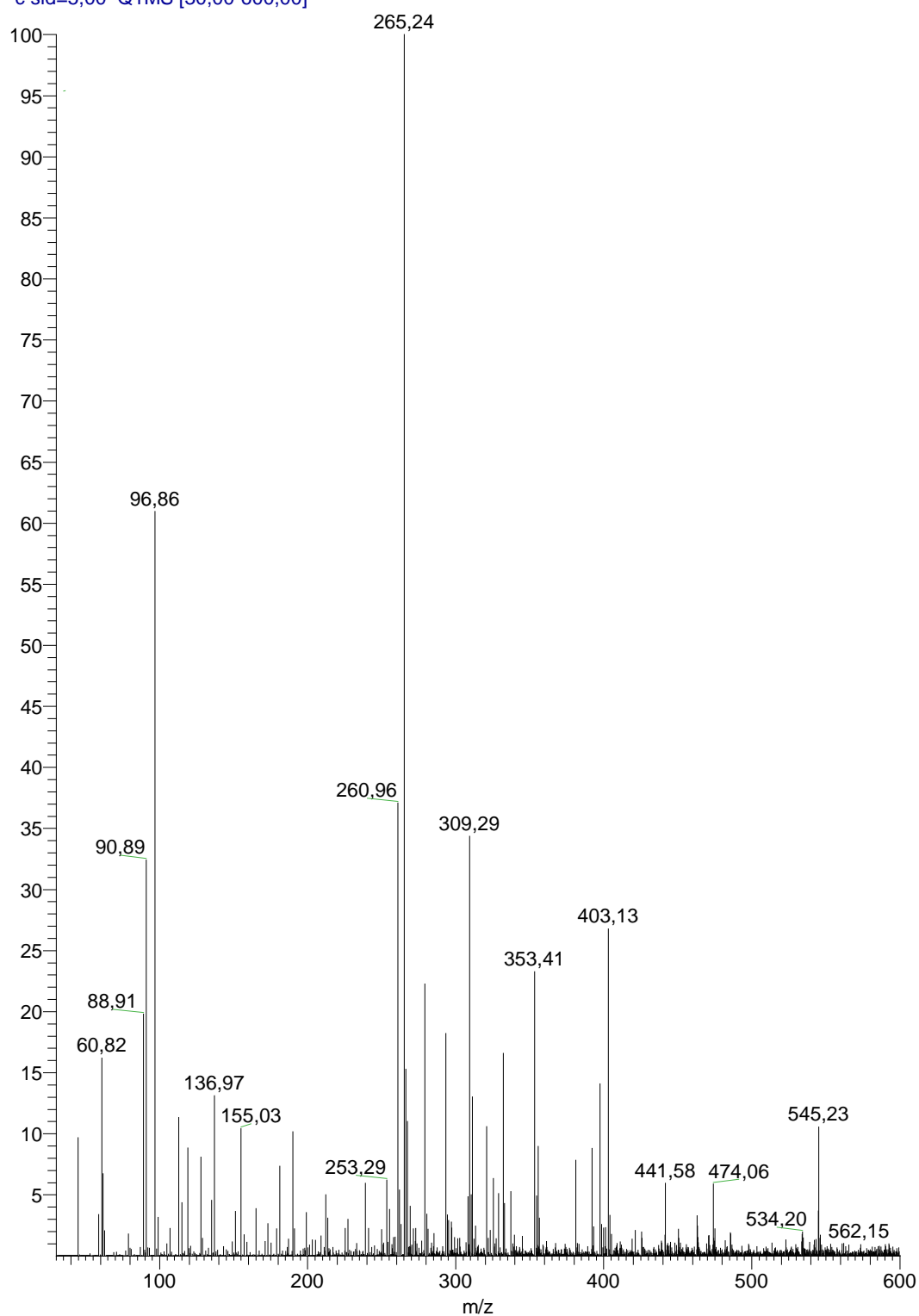
Εικόνα 29. Χρωματογραφήματα που λήφθηκαν ύστερα από εισαγωγή πρότυπου διαλύματος 5 ppb βρωμικών. (α) $^{79}\text{BrO}_3^-$ (β) $^{81}\text{BrO}_3^-$

Επίδραση θειικών ανιόντων στην ανίχνευση των υπερχλωρικών

Τα θειικά ανιόντα στο πόσιμο νερό βρίσκονται κυρίως με την μορφή SO_4^{2-} . Όμως κατά την διεργασία του ιοντισμού, παρουσία μικρής ποσότητας οξέος, τα θειικά βρίσκονται με την μορφή HSO_4^- . Παρά το γεγονός ότι για την πρωτονίωση του SO_4^{2-} σε υδατικό διάλυμα το pH πρέπει να είναι μικρότερο από 1,99, κατά τον σχηματισμό των σταγονιδίων και την εξάτμιση του διαλύτη, η χημεία του διαλύματος είναι διαφορετική. Επομένως, τα θειικά ανιόντα μπορούν να πρωτονιωθούν και να ανιχνευθούν ως HSO_4^- με φασματομετρία μάζας.

Στην εικόνα 30 φαίνεται το φάσμα μάζας που λήφθηκε ύστερα από την εισαγωγή διαλύματος Na_2SO_4 . Ως κύρια μορφή, διακρίνεται η μορφή HSO_4^- με m/z 96,86 ενώ δεν διακρίνεται καθόλου η μορφή SO_4^{2-} σε m/z 48. Επιπλέον διακρίνουμε την κορυφή 118,93 η οποία αντιστοιχεί στην μορφή NaSO_4^- καθώς και το cluster $(\text{NaSO}_4^-)(\text{Na}_2\text{SO}_4)$ σε m/z 260,96.

01 #114-174 RT: 1,16-1,77 AV: 61 NL: 3,06E5
T: - c sid=5,00 Q1MS [30,00-600,00]

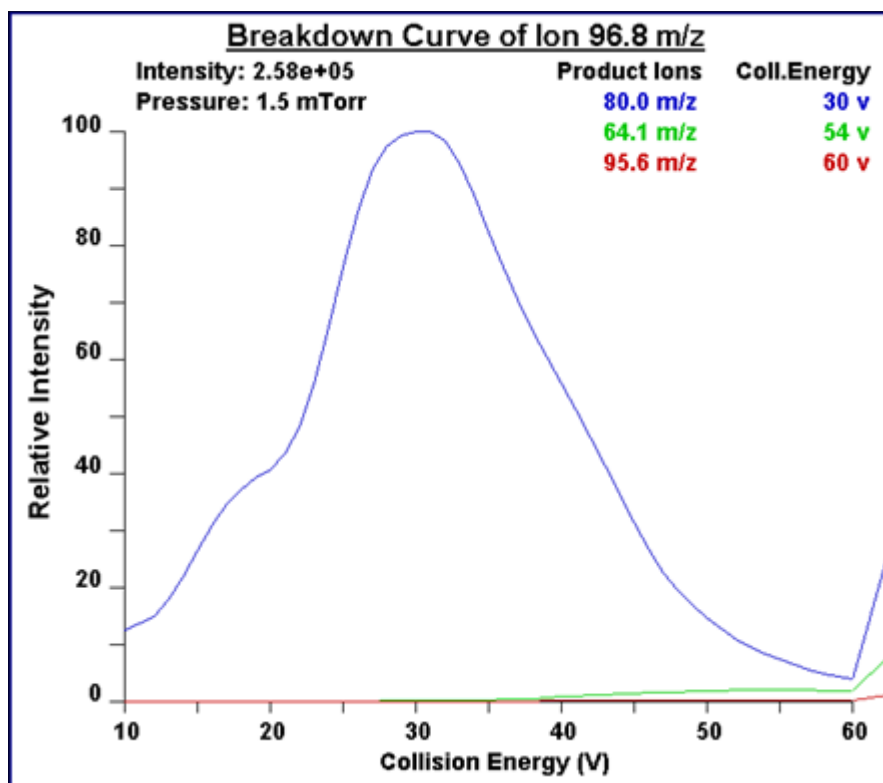


Εικόνα 30. Φάσμα μάζας που λήφθηκε μετά από εισαγωγή διαλύματος Na_2SO_4

Έχει αναφερθεί ότι τα θεϊκά ανιόντα στην μορφή HSO_4^- μπορούν να δημιουργήσουν ισοβαρική παρεμπόδιση στην ανίχνευση του ClO_4^- λόγω της παρουσίας του ^{34}S σε ποσοστό 4%²⁵. Η ένωση $\text{H}^{34}\text{SO}_4^-$ έχει $m = 99$ και επομένως εμφανίζεται στο φάσμα μάζας σε $m/z = 99$ και μπορεί κατά την θραυσματοποίηση να χάσει ένα άτομο οξυγόνου δημιουργώντας έτσι

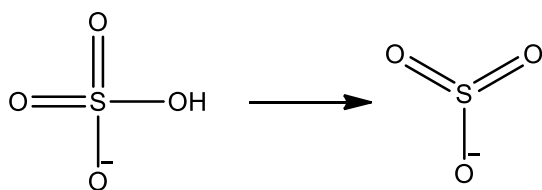
το ιόν $\text{H}^{34}\text{SO}_3^-$ ($m/z = 83$). Βλέπουμε ότι η μετάβαση αυτή είναι όμοια με την αντίστοιχη των υπερχλωρικών ανιόντων και ένα φασματόμετρο μάζας τριπλού τετραπόλου δεν έχει την διακριτική ικανότητα να ξεχωρίσει τα ιόντα ClO_4^- και $\text{H}^{34}\text{SO}_4^-$.

Ωστόσο, όπως φαίνεται στην παρακάτω καμπύλη διάσπασης των ιόντων $\text{H}^{32}\text{SO}_4^-$ ($m/z = 96,8$) το κύριο θραύσμα αποτελεί το ιόν με m/z 80,0 δηλαδή υπάρχει απώλεια μιας ομάδας OH ($m=17$).



Εικόνα 31. Καμπύλη διάσπασης των ιόντων HSO_4^-

Η θραυσματοποίηση που προτείνεται φαίνεται στην εικόνα 32.

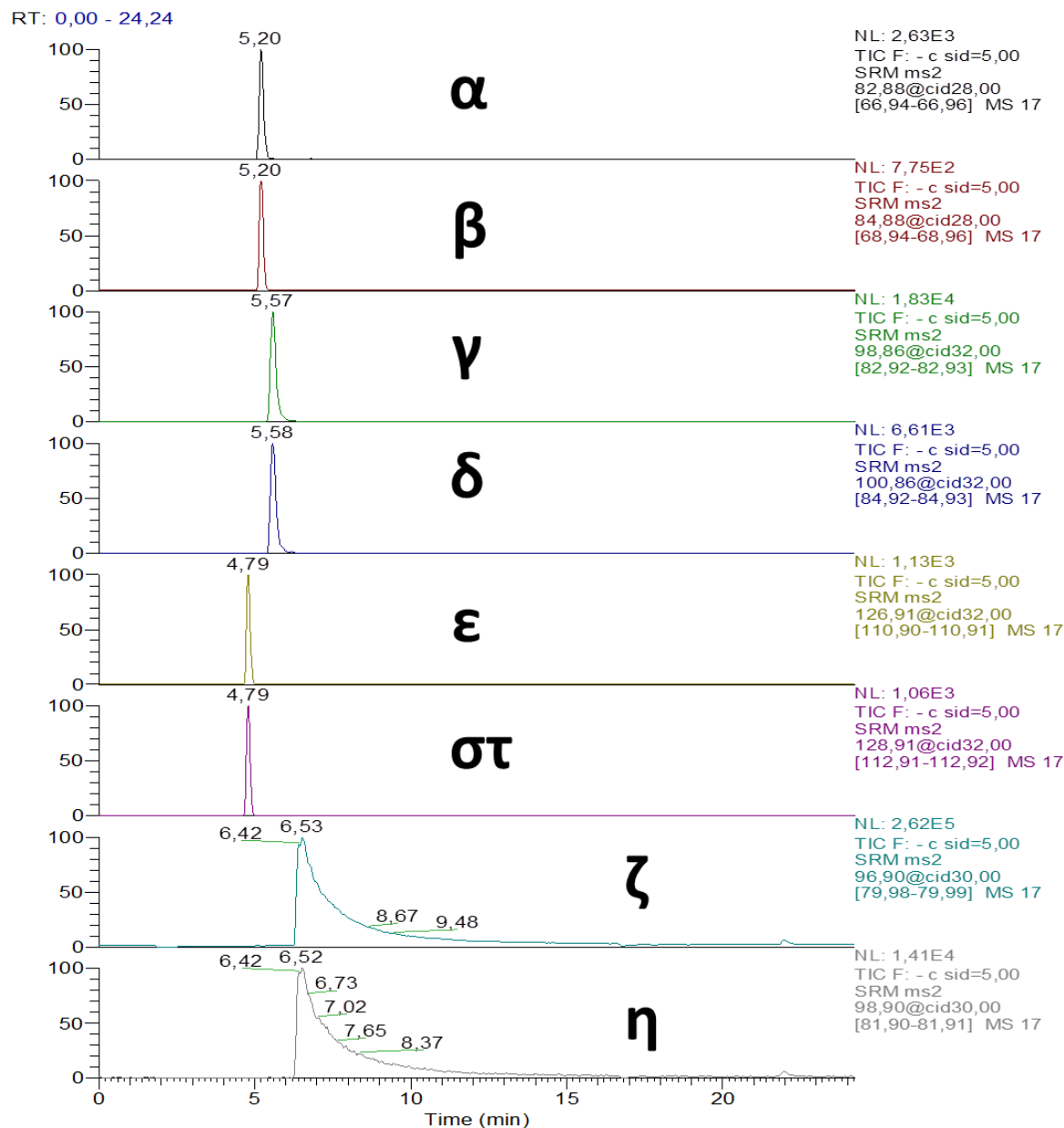


Εικόνα 32. Προτεινόμενη αντίδραση θραυσματοποίησης ιόντος HSO_4^-

Η προτεινόμενη θραυσματοποίηση φαίνεται να είναι ευνοϊκότερη καθώς η διάσπαση ενός απλού δεσμού απαιτεί λιγότερη ενέργεια από την διάσπαση ενός διπλού δεσμού.

Επίσης η απώλεια ενός ακόμη ατόμου οξυγόνου για την παραγωγή του ιόντος με $m/z = 64,1$ απαιτεί περισσότερη ενέργεια διάσπασης και η ένταση αυτού του ιόντος είναι πάρα πολύ μικρή σε σχέση με το κύριο θραύσμα. Το ιόν που ανιχνεύθηκε με m/z 95,6 δεν αποτελεί ιόν θραυσματοποίησης του πρωτονιωμένου θειικού ανιόντος. Επιπλέον η ένταση του είναι σχεδόν μηδενική.

Στην εικόνα 33 φαίνονται τα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μετά την εισαγωγή διαλύματος που περιείχε 5 ppb ClO_3^- , ClO_4^- και BrO_3^- καθώς και 10 ppm Na_2SO_4 . Οι κορυφές αντιστοιχούν στις μεταβάσεις $^{35}\text{ClO}_3^- \rightarrow ^{35}\text{ClO}_2^-$ (α), $^{37}\text{ClO}_3^- \rightarrow ^{37}\text{ClO}_2^-$ (β), $^{35}\text{ClO}_4^- \rightarrow ^{35}\text{ClO}_3^-$ (γ), $^{37}\text{ClO}_4^- \rightarrow ^{37}\text{ClO}_3^-$ (δ), $^{79}\text{BrO}_3^- \rightarrow ^{79}\text{BrO}_2^-$ (ε), $^{81}\text{BrO}_3^- \rightarrow ^{81}\text{BrO}_2^-$ (στ), $\text{H}^{32}\text{SO}_4^- \rightarrow ^{32}\text{SO}_3^-$ (ζ) και $\text{H}^{34}\text{SO}_4^- \rightarrow ^{34}\text{SO}_3^-$ (η).



Εικόνα 33. Χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μετά την εισαγωγή διαλύματος 5 ppb χλωρικών, υπερχλωρικών και βρωμικών και 10 ppm θειικών. $^{35}\text{ClO}_3^- \rightarrow ^{35}\text{ClO}_2^-$ (α), $^{37}\text{ClO}_3^- \rightarrow ^{37}\text{ClO}_2^-$ (β), $^{35}\text{ClO}_4^- \rightarrow ^{35}\text{ClO}_3^-$ (γ), $^{37}\text{ClO}_4^- \rightarrow ^{37}\text{ClO}_3^-$ (δ), $^{79}\text{BrO}_3^- \rightarrow ^{79}\text{BrO}_2^-$ (ε), $^{81}\text{BrO}_3^- \rightarrow ^{81}\text{BrO}_2^-$ (στ), $\text{H}^{32}\text{SO}_4^- \rightarrow ^{32}\text{SO}_3^-$ (ζ) και $\text{H}^{34}\text{SO}_4^- \rightarrow ^{34}\text{SO}_3^-$ (η)

Φαίνεται ότι η κορυφή των HSO_4^- διαχωρίζεται από εκείνη των ClO_4^- . Η "ουρά" της κορυφής οφείλεται σε υπερφόρτωση της στήλης. Η ταυτοποίηση της παρουσίας HSO_4^- γίνεται με την χρήση του ισότοπου ^{34}S .

Ανάλυση δειγμάτων νερού

Στην συνέχεια αναλύθηκαν δείγματα νερού με την τεχνική HPLC-SSI-MS/MS. Αρχικά αναλύθηκαν τα δείγματα νερού που δεν είχαν καθαριστεί με το φίλτρο Ag, αραιωμένα 1/5. Έπειτα, αναλύθηκαν εκείνα τα δείγματα νερού τα οποία είχαν καθαριστεί με το φίλτρο Ag, αραιωμένα 1/10. Και στις δύο ομάδες δειγμάτων μελετήθηκε η ανάκτηση των αναλυτών.

Δείγματα που δεν είχαν καθαριστεί με το φίλτρο Ag

Τα δείγματα αυτά αραιώθηκαν 1/5 και ύστερα αναλύθηκαν. Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση αυτών των δειγμάτων.

Στα δείγματα αυτά δεν ποσοτικοποιήθηκαν τα υπερχλωρικά και τα βρωμικά ανιόντα.

Για τον προσδιορισμό της ανάκτησης, παρασκευάζουμε ένα διάλυμα με γνωστή ποσότητα δείγματος και γνωστή ποσότητα από ένα πρότυπο διάλυμα του αναλύτη που μας ενδιαφέρει έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι αυξημένη κατά μία γνωστή ποσότητα. Η ανάκτηση υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\text{Ανάκτηση \%} = \frac{C1 - C2}{C3} \cdot 100$$

όπου, C1 η συγκέντρωση του διαλύματος που περιέχει το δείγμα και το πρότυπο διάλυμα του αναλύτη, C2 η συγκέντρωση που θα είχε το δείγμα αν δεν υπήρχε η επιπλέον ποσότητα του πρότυπου διαλύματος και C3 η συγκέντρωση του αναλύτη που προσθέσαμε στο διάλυμα του δείγματος.

Για τα υπερχλωρικά και τα βρωμικά ανιόντα, τα οποία δεν ποσοτικοποιήθηκαν στα δείγματα λόγω των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεών τους, το C2 στον τύπο υπολογισμού της ανάκτησης θεωρήθηκε 0.

Πίνακας 8. Συγκέντρωση και ανάκτηση χλωρικών ανιόντων στα δείγματα νερού που δεν είχαν καθαριστεί με το φίλτρο Ag

Δείγμα	Συγκέντρωση ClO ₃ ⁻ (ppb)	Ανάκτηση ClO ₃ ⁻	Ανάκτηση ClO ₄ ⁻	Ανάκτηση BrO ₃ ⁻
A	66,0	34 %	104 %	32 %
B	152,0	76 %	96 %	39 %
Γ	199,5	73 %	105 %	41 %
Δ	63,5	78 %	103 %	42 %
E	96,1	84 %	107 %	39 %
Z	66,4	73%	107 %	39 %

Η μικρή ανάκτηση χλωρικών στο δείγμα A υποδεικνύει ότι η σύσταση της μήτρας δημιουργεί καταστολή στα χλωρικά ανιόντα με αποτέλεσμα την ανίχνευση μικρότερης ποσότητας από το σύστημα. Έτσι, η μέτρηση της συγκέντρωσης των χλωρικών στο αραιωμένο δείγμα επηρεάζεται από την καταστολή αυτή.

Επίσης τα βρωμικά ανιόντα φαίνεται να επηρεάζονται από την σύσταση της μήτρας καθώς σε όλα τα δείγματα οι ανακτήσεις είναι μικρές.

Δείγματα που είχαν καθαριστεί με το φίλτρο Ag

Η διαδικασία καθαρισμού του δείγματος με το συγκεκριμένο φίλτρο περιλαμβάνει την εισαγωγή ποσότητας δείγματος στο φίλτρο μέσω σύριγγας και την συλλογή του εκλούσματος. Το καθαρισμένο δείγμα αραιώθηκε 1/10 και αναλύθηκε. Στον πίνακα 9 συνοψίζονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση.

Επιπλέον στα συγκεκριμένα δείγματα έγινε ποσοτικοποίηση υπερχλωρικών ανιόντων. Το δείγμα A αραιώθηκε 1/4 ενώ τα υπόλοιπα δείγματα δεν αραιώθηκαν.

Πίνακας 9. Συγκέντρωση και ανάκτηση χλωρικών ιόντων στα δείγματα νερού που καθαρίστηκαν με το φίλτρο Ag

Δείγμα	Συγκέντρωση ClO_3^- (ppb)	Ανάκτηση ClO_3^-
A	143,8	86 %
B	215,2	83 %
Γ	285,5	70 %
Δ	93,5	105 %
E	146,5	103 %
Z	85,6	98 %

Οι ανακτήσεις αυξήθηκαν για όλα τα δείγματα, σε σχέση με εκείνα που δεν είχαν καθαριστεί με το φίλτρο Ag. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η σύσταση της μήτρας παίζει σημαντικό ρόλο στην καταστολή του σήματος των χλωρικών ανιόντων και ότι το φίλτρο Ag απομακρύνει μεγάλο ποσοστό των συστατικών που προκαλούν αυτή την καταστολή.

Για τα υπερχλωρικά ανιόντα, τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 10.

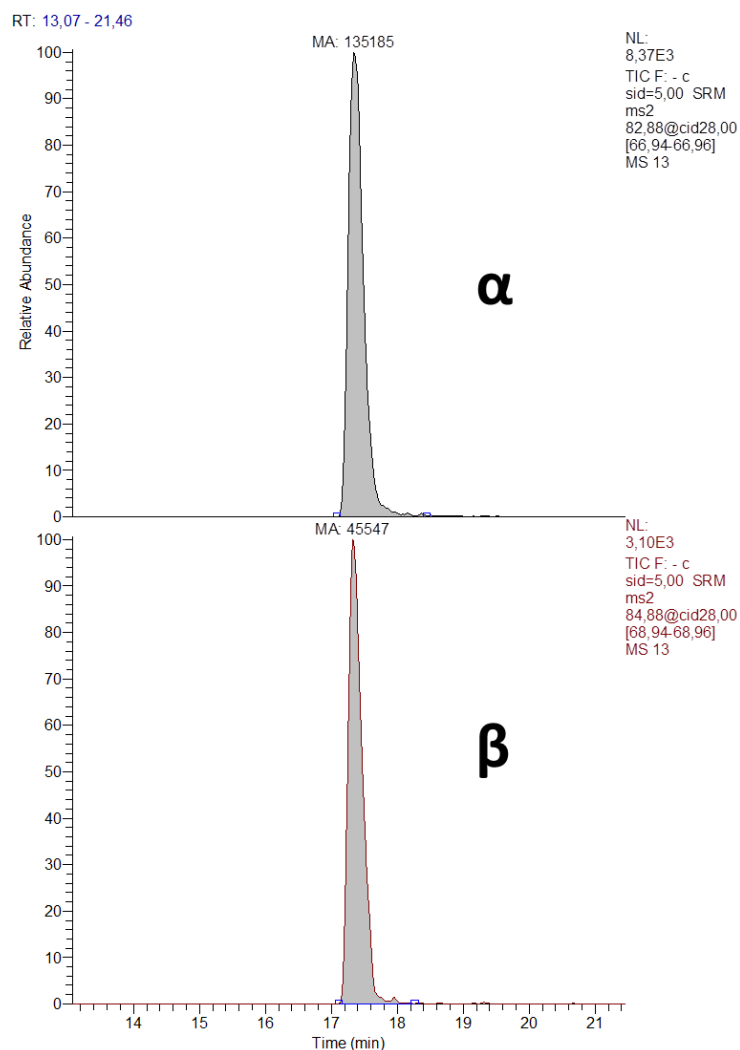
Πίνακας 10. Συγκέντρωση και ανάκτηση υπερχλωρικών στα δείγματα νερού που είχαν καθαριστεί με το φίλτρο Ag

Δείγμα	Συγκέντρωση ClO_4^- (ppb)	Ανάκτηση ClO_4^-
A	1,6	105 %
B	0,3	109 %
Γ	0,2	123 %
Δ	0,2	111 %
E	0,4	110 %
Z	0,4	110 %

Οι ανακτήσεις είναι αυτές που αναμένονται και φαίνεται ότι τα υπερχλωρικά ανιόντα δεν επηρεάζονται από την σύσταση της μήτρας.

Σε όλα τα δείγματα, η ισοτοπική αναλογία των κορυφών $^{35}\text{ClO}_3^-/^{37}\text{ClO}_3^-$ ήταν η αναμενόμενη για τα ισότοπα χλωρίου, γεγονός που πιστοποιεί την παρουσία χλωρικών στο δείγμα.

Στην εικόνα 34, φαίνεται η ολοκλήρωση των κορυφών $^{35}\text{ClO}_3^-$ (α) και $^{37}\text{ClO}_3^-$ (β), που προέκυψαν από την εισαγωγή δείγματος Γ, όπου ο λόγος των ολοκληρωμάτων είναι 2,96.



Εικόνα 34. Χρωματογραφήματα $^{35}\text{ClO}_3^-$ (α) και $^{37}\text{ClO}_3^-$ (β) που προέκυψαν μετά από εισαγωγή του δείγματος Γ αραιωμένου 1/10

Συζήτηση αποτελεσμάτων

Στον πίνακα 11 συνοψίζονται τα όρια ανίχνευσης που έχουν αναφερθεί βιβλιογραφικά για τα χλωρικά, υπερχλωρικά και βρωμικά ανιόντα, χρησιμοποιώντας τεχνικές όπως η φασματομετρία μάζας με ηλεκτροψεκασμό (ESI-MS/MS) και η ιοντική χρωματογραφία με αγωγιμομετρική ανίχνευση (IC-CD).

Πίνακας 11. Σύγκριση ορίων ανίχνευσης (μg/L) χλωρικών, υπερχλωρικών και βρωμικών

Μέθοδος	Χλωρικά	Υπερχλωρικά	Βρωμικά
ESI-MS/MS	0,002 ¹⁹	0,007 ²³	0,045 ¹⁹
IC-CD	0,560 ²⁶	0,041 ²⁷	0,009 ²⁸
Παρούσα	0,005	0,010	0,034

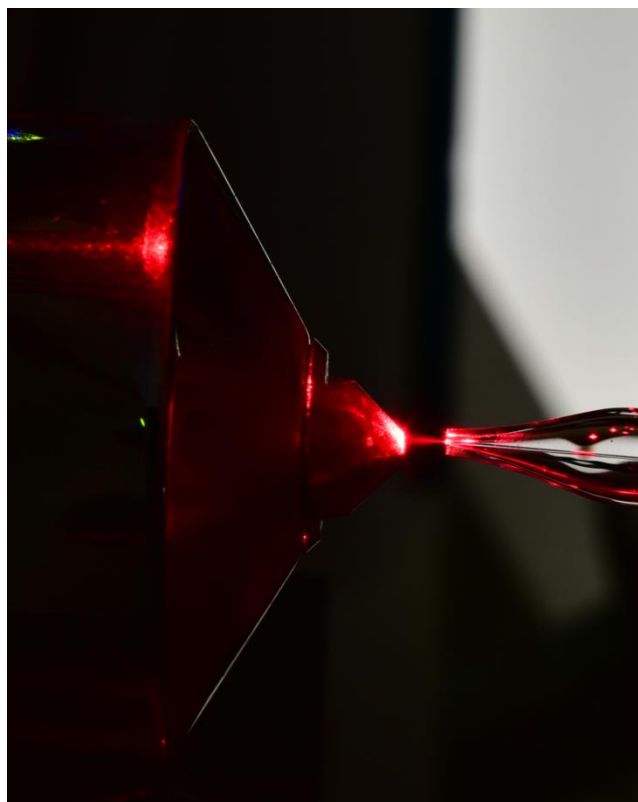
Όπως είναι φανερό από την σύγκριση, τα όρια ανίχνευσης που προκύπτουν από την μέθοδο αυτή είναι συγκρίσιμα με μεθόδους που χρησιμοποιούνται εδώ και πολλά χρόνια και έχουν καθιερωθεί.

Η γραμμικότητα των πρότυπων καμπυλών αναφοράς που κατασκευάστηκαν με την τεχνική HPLC-SSI-MS ήταν πολύ καλή στο εύρος των συγκεντρώσεων που βρίσκονταν οι αναλύτες στα δείγματα. Επιπλέον, η επαναληψιμότητα των μετρήσεων, όπως φαίνεται από τις σχετικές τυπικές αποκλίσεις, ήταν ικανοποιητική.

Στα δείγματα νερού που αναλύθηκαν, φάνηκε ότι η μήτρα μπορεί να δημιουργήσει καταστολή στην ανίχνευση των χλωρικών και των βρωμικών, φαινόμενο που έχει παρατηρηθεί και στην τεχνική της φασματομετρίας μάζας με ηλεκτροψεκασμό²⁵. Ωστόσο, αυτό μπορεί να αποφευχθεί με την χρήση ενός απλού φίλτρου Ag, το οποίο απομακρύνει κυρίως τα χλωριούχα ιόντα. Τα υπερχλωρικά ανιόντα δεν επηρεάζονται από αυτήν την καταστολή.

Παρατηρήθηκε ότι στα πολυσυστατικά πρότυπα διαλύματα που περιείχαν τα χλωρικά, υπερχλωρικά και βρωμικά ιόντα σε ίδια συγκέντρωση, το σήμα που ανιχνευόταν για τα υπερχλωρικά ήταν πολύ μεγαλύτερο από τα άλλα δύο ανιόντα. Μια πιθανή εξήγηση για αυτό έγκειται στην σταθερότητα των υπερχλωρικών ανιόντων στην αέρια φάση. Αυτά τα οξοανιόντα έχουν τέσσερα άτομα οξυγόνου γύρω τους με αποτέλεσμα το αρνητικό φορτίο να απεντοπίζεται αποτελεσματικότερα σε σχέση με τα χλωρικά και τα βρωμικά ανιόντα τα οποία έχουν τρία άτομα οξυγόνου. Έτσι κατά την διάσπαση των σταγονιδίων και την μετάβαση των αναλυτών από την υγρή στην αέρια φάση, τα υπερχλωρικά δεν είναι τόσο επιρρεπή στην πρόσληψη ενός πρωτονίου ώστε να δημιουργηθεί το ουδέτερο είδος HClO_4 . Ωστόσο, δεν έχουν αναφερθεί βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την συγγένεια πρωτονίων στην αέρια φάση αυτών των τριών ανιόντων.

Η συναρμολόγηση μιας πηγής ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης είναι πολύ απλή και απαιτεί απλά υλικά. Οι εκνεφωτές που χρησιμοποιήθηκαν είναι εμπορικά διαθέσιμοι (Meinhard, Golden CO) και αρχικά προορίζονται για χρήση στην ατομική φασματοσκοπία, ωστόσο με κατάλληλη τροποποίηση φάνηκε ότι μπορούν να παραγάγουν ιόντα στην αέρια φάση και σε συνδυασμό με την φασματομετρία μάζας τριπλού τετραπόλου να επιτευχθούν πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης. Επιπλέον το αερόλυμα των σταγονιδίων που παράγεται από τους εκνεφωτές τύπου HEN που χρησιμοποιήσαμε, είναι συμμετρικό. Αυτό μπορεί να διακριθεί στην εικόνα 34, όπου πρόκειται για μία φωτογραφία που λήφθηκε κατά την ακτινοβόληση του αερολύματος με



Εικόνα 35. Φωτογραφία του αερολύματος που παράγεται από εκνεφωτή τύπου HEN. Διακρίνεται η άκρη του εκνεφωτή και η είσοδος του φασματομέτρου μάζας

λείζερ με σκοπό την παρατήρηση του σχήματος αυτού.

Ενδεικτικά, κάποια πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής έναντι του ηλεκτροψεκασμού είναι:

1. Η απλότητα στην χρήση της καθώς απαιτεί μόνο την ομοαξονική ροή αερίου αζώτου και έναν πνευματικό εκνεφωτή
2. Δεν είναι απαραίτητη η χρήση αντλιών για την εισαγωγή του δείγματος καθώς λόγω του φαινομένου Venturi, η ταπείνωση της πίεσης στο άκρο του εκνεφωτή και η απότομη εκτόνωση του αερίου κατά την έξοδο του οδηγεί στην άντληση του δείγματος.
3. Είναι δυνατή η ταυτόχρονη παραγωγή θετικών και αρνητικών ιόντων και η ανίχνευση τους απαιτεί απλά την αλλαγή της πολικότητας στο φασματόμετρο μάζας, γεγονός που δεν διαταράσσει το αερόλυμα.
4. Είναι μία ήπια πηγή ιοντισμού και επιπλέον δεν δημιουργούνται οξειδοαναγωγικές μεταβολές²⁹

6. Συμπεράσματα

Αναπτύχθηκε και αξιολογήθηκε η τεχνική φασματομετρίας μάζας ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης σε σύζευξη με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με σκοπό τον διαχωρισμό και την ανίχνευση ανόργανων οξοανιόντων σε νερά. Οι αναλύτες που μελετήθηκαν ήταν τα χλωρικά, υπερχλωρικά και βρωμικά ανιόντα και τα όρια ανίχνευσης που βρέθηκαν ήταν πολύ χαμηλά και συγκρίσιμα με τεχνικές όπως η φασματομετρίας μάζας με ηλεκτροψεκασμό και η ιοντική χρωματογραφία με αγωγιμομετρική ανίχνευση. Τα ανιόντα διαχωρίζονταν σε στήλη C18 και επιπλέον φάνηκε ότι δεν υφίσταται ισοβαρική παρεμπόδιση των υπερχλωρικών ανιόντων από τα θειικά. Η εργασία αυτή έρχεται να προστεθεί στις εφαρμογές της φασματομετρίας μάζας ιοντισμού υπερηχητικής εκνέφωσης. Σαν μελλοντικός στόχος τίθεται η μελέτη περισσότερων αναλυτών με την τεχνική αυτή καθώς και η καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που οδηγούν στην δημιουργία φορτισμένων σταγονιδίων στην αέρια φάση.

7. Βιβλιογραφία – Αναφορές

- ¹ Takats, Z.; Wiseman, J.M.; Gologan, B. and Cooks, R.G.; *Science* **2004**, *306*, 471-473
- ² Hirabayashi, A.; Sakairi, M.; Koizumi, H. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 4557-4559
- ³ Touboul, D.; Jecklin, C.M.; Zenobi, R. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2008**, *22*, 1062-1068
- ⁴ Zilch, W.L.; Maze T.J.; Smith, W.J.; Ewing, E.G.; Jarrold, F.M.; *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 13352-13363
- ⁵ ΟΔΗΓΙΑ 98/83/ΕΚ σχετικά με την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης
- ⁶ Guidelines for Drinking Water Quality, Third Edition, World Health Organization
- ⁷ Perchlorate in Drinking Water – Regulatory Update and Treatment Options, Water Research Foundation
- ⁸ Zhu, B.; Zhong, Z.; Yao, Z.; *Journal of Chromatography A* **2006**, *1118*, 106-110
- ⁹ Asami, M.; Kosaka, K.; Yoshida, N.; *J. Health Science* **2009**, *55*, 549-553
- ¹⁰ Liu, Y.; Mou, S.; *Chemosphere* **2004**, *55*, 1253-1258
- ¹¹ Jackson, E. P.; Gokhale, S.; Streib, T.; Rohrer, S. J.; Pohl A. C.; *Journal of Chromatography A* **2000**, *888*, 151-158

- ¹² Anupama, N. V.; Kannan, K.; Prajeesh, G. V. P.; Rugmini, S.; Krishnakumar, B.; *Water Science and Technology: Water Supply* **2012**, *12*, 595-603
- ¹³ Creed, T.J.; Magnuson, L.M.; Pfaff D.J.; Brockhoff, C.; *Journal of Chromatography A* **1996**, *753*, 261-267
- ¹⁴ Nowak, M.; Seubert, A.; *Analytica Chimica Acta* **1998**, *359*, 193-204
- ¹⁵ Peng, Y.; Guo, W.; Zhang, J.; Guo, Q.; Jin, L.; Hu, S.; *Microchemical Journal* **2016**, *124*, 127-131
- ¹⁶ Blount, C.B.; Valentin-Blasini, L.; *Analytica Chimica Acta* **2006**, *567*, 87-93
- ¹⁷ Aribi, El H.; Le Blanca, C. J. Y.; Antonsen, S.; Sakuma, T.; *Analytica Chimica Acta*. **2006**, *567*, 39-47
- ¹⁸ U.S. E.P.A. Method 331.0 "Determination of perchlorate in drinking water by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry", Revision 1.0, January 2005
- ¹⁹ Rao, B.; Hatzinger, B.P.; Bohlke K.J.; Sturchio, C.N.; Andranski J.B.; Eckardt D.F.; Jackson, A.W.; *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 8429-8434
- ²⁰ Righi, E.; Fantuzzi, G.; Predieri, G.; Aggazzotti, G.; *Microchemical Journal* **2014**, *113*, 23-29
- ²¹ Winkler, P.; Minteer, M.; Willey, J.; *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 469-473
- ²² Li, Y.; George, J. Ed.; *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 4453-4458
- ²³ Li, Y.; George, J. Ed.; *Journal of Chromatography A* **2006**, *1133*, 215-220
- ²⁴ Thomsen, V.; Schatzlein, D.; Mercurio, D.; *Spectroscopy* **2003**, *18*, 112-114
- ²⁵ Snyder, S. ; Vanderford, B.; Rexing, D.; *Enviorn. Sci. Technol.* **2005**, *39*,4586-4593
- ²⁶ U.S. E.P.A. Method 317.0 (2000) "Determination of inorganic oxyhalide disinfection by-products in drinking water using ion chromatography with the addition of a postcolumn reagent for trace bromate analysis"
- ²⁷ Wagner, H.; Pepich, B.; Pohl, C.; Later, D.; Srinivasan, K.; Lin, R.; DeBorba, B.; Munch, D.; *Journal of Chromatography A* **2007**, *1155(1)*, 15-21
- ²⁸ Lawal, W.; Gandhi, J.; Zhang, C.; *Journal of Chromatographic Science* **2010**, *48(7)*, 537-543
- ²⁹ Antonakis, M.; Tsirigotaki, A.; Kanaki, K.; Milios, C.; Pergantis, S.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2013**, *24*, 1250-1259
- Mass spectrometry: Principles and Applications, Third Edition, Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant

Ευχαριστίες

Με το πέρας της διπλωματικής μου εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω αρχικά το Πανεπιστήμιο Κρήτης για την παροχή της υλικοτεχνικής υποδομής, χωρίς την οποία δεν θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της εργασίας αυτής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Σπύρο Περγαντή για την ευκαιρία που μου έδωσε να δουλέψω στο εργαστήριο και να καταπιαστώ με ένα ενδιαφέρον θέμα. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερα για τις χρήσιμες συμβουλές του, την ουσιαστική καθοδήγησή του και την εμπιστοσύνη του στο πρόσωπο μου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες εκφράζονται στα μέλη του εργαστηρίου του κ. Περγαντή για την άψογη συνεργασία που είχαμε και ιδιαίτερα στον Μάνο Μαυράκη του οποίου η αρωγή ήταν ουσιαστική και ιδιαίτερα χρήσιμη.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους κοντινούς μου ανθρώπους που με στηρίζουν και με εμπιστεύονται.