

Hmotnostní spektrometrie (v organické analýze)

Robert Jirásko

- každé úterý 16 - 18 hod v učebně S23
- pdf verze přednášek jsou ke stažení:
<https://holcapek.upce.cz/vyuka-ms-org-anal.php>
- zkouška:
písemný test (ca 60-90 min) – skládá se z teoretické části a interpretace spekter měkkých ionizačních technik
(91-100% - A, 81-90% - B, 71-80% - C, 61-70% - D, 51-60% - E, <50% - F).

Plán přednášek - 2024

- 1) Úvod do hmotnostní spektrometrie (13.2.)
- 2) Ionizační techniky – 1. část (20.2.)
- 3) Ionizační techniky – 2. část (27.2.)
- 4) Hmotnostní analyzátory – 1. část (5.3.)
- 5) Hmotnostní analyzátory – 2. část (12.3. přednáška nebude – posun na 19.3.)
- 6) Spojení MS a separačních technik (26.3.)
- 7) Měkké ionizační techniky - kvantitativní analýza (2.4.)
- 8) Kvalitativní analýza v hmotnostní spektrometrii – základy interpretace „měkkých“ MS a MS/MS spekter (9.4. a 16.4.)
- 9) Vybrané příklady interpretace „měkkých“ MS a MS/MS spekter (23.4)
- 10) Interpretace spekter léčiv a jejich metabolitů (30.4.)
- 11) Konzultace včetně možného procvičování interpretace spekter apod. (2.5.)

Pozn. EI interpretace je v rámci předmětu Molekulová spektrometrie – prof. Holčapek

Úvod do hmotnostní spektrometrie

- **Hmotnostní spektrometrie (MS)** je analytická metoda sloužící k převedení molekul na ionty, rozlišení těchto iontů podle poměru hmotnosti a náboje (m/z) a následnému záznamu intenzit jednotlivých iontů
- **Hmotnostní spektrometr** je iontově-optické zařízení, které rozlišuje ionty podle poměru jejich m/z
- + vysoká citlivost (podle analytu – pmol/l), vysoká selektivita a univerzálnost
- + kvalitativní analýza - určení M_R (elementární složení) a dalších strukturních informací
- + kvantitativní analýza - odezva je závislá na koncentraci
- + minimální spotřeba vzorku
- destruktivní metoda
- vysoké pořizovací a provozní náklady

Co dokáže hmotnostní spektrometrie?

- **kvalitativní i kvantitativní analýza** nejrůznějších sloučenin v nejrůznějších vzorcích (krev, moč, tkáně, potraviny, hlína, atd.) – často předchází selektivní extrakce pro zjednodušení vzorku a spojení se separačními technikami
 - ověření struktury sloučenin, degradačních produktů, nečistot při **syntéze**
 - studium sloučenin a jejich **metabolismu** v organismech: **exogenní** – léčiva, drogy, potravinářské aditiva, kontaminanty, pesticidy, atd. i **endogenní** sloučeniny (analýza lipidů, sacharidů, proteinů, peptidů, aminokyselin, vitamínů, hormonů – npř. adrenalinu, atd.), ale i prvková analýza.
 - **forenzní analýza**: detekce a stanovení drog (odhalování nových syntetických drog), výbušnin a jejich degradačních produktů, jedů, atd.
 - **hledání biomarkerů** závažných onemocnění (rozdílný analytický profil pro zdravé a nemocné), novorozenecký screening, atd. (**klinická hmotnostní spektrometrie**)
 - **mikrobiologie** – rychlá diagnostika kmenů mikroorganismů na základě charakteristického hmotnostního spektra (taxonomicky významných proteinů)
 - potravinářství a další odvětví – **kontrola kvality, „analytická špionáž“**, apod.
 - **analýza vesmírných materiálů** (na zemi i ve vesmíru – jednoduché a hlavně miniaturizované MS je často součástí vesmírných sond)
 - environmentální analýza, petroleomika (ropný průmysl), atd.

Hmotnostní spektrometrie

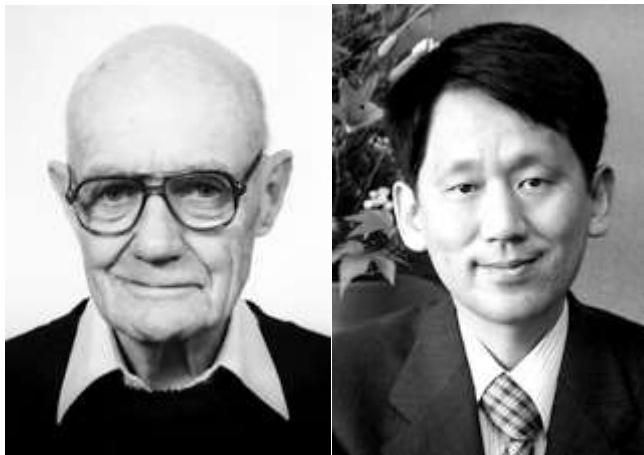
Držitelé Nobelových cen za chemii nebo fyziku



Francis William Aston (1922, chemie)
hmotnostní spektrometrie izotopů



Wolfgang Paul (1989, fyzika)
popis iontové pasti



John B. Fenn (elektrosprej) a Koichi Tanaka (MALDI) (2002, chemie)
vývoj měkkých ionizačních technik pro hmotnostní spektrometrii biomakromolekul

Historický vývoj hmotnostní spektrometrie

- historické kořeny ve fyzikálních a chem. studiích o povaze hmoty
- polovina 19. století - studium výbojů v plynech vedlo k objevení elektronu a iontů (v plynné fázi)
- počátek 20. století – konstrukce prvních hmotn. spektrometrů
- první polovina 20. století – vývoj různých typů analyzátorů
- druhá polovina 20. století – vývoj různých typů iontových zdrojů
- od 50. let 20. století – rozvoj GC/MS
- od 70. let 20. století – rozvoj LC/MS
- od 80. let 20. století – rozvoj SFC/MS a CE/MS
- od 21. století – rozvoj ambientních a zobrazovacích technik

VYUŽITÍ MS:

ve fyzice

v chemii

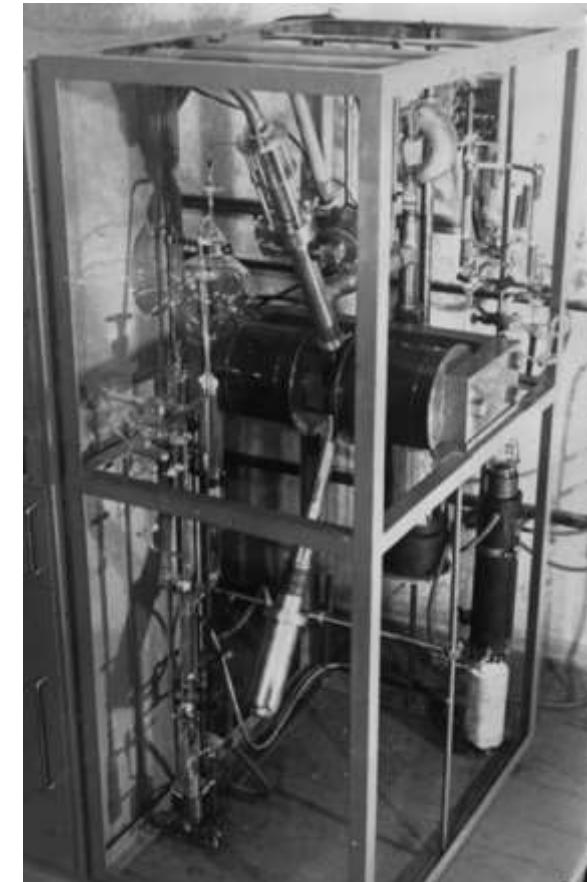
v biologii

Historický vývoj hmotnostní spektrometrie

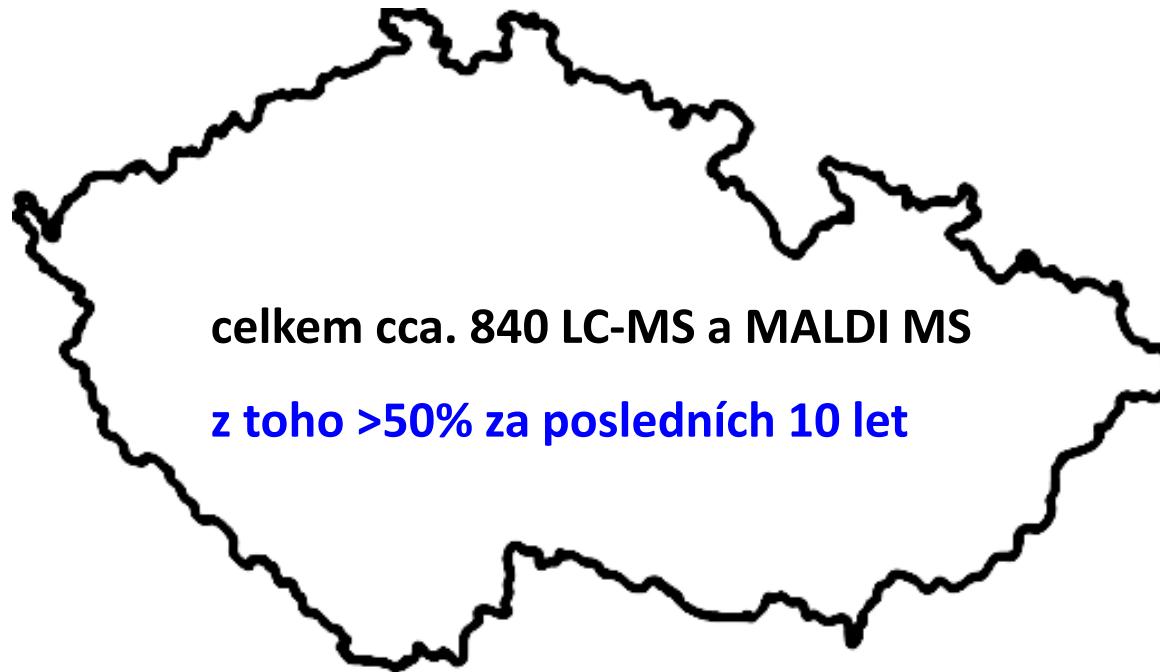
- 1898 (Wien) - objev zakřivení dráhy letu urychlených iontů v elektrickém a magnetickém poli
- 1913 (Thomson) - rozdělení izotopů neonu ^{20}Ne a ^{22}Ne , považován za zakladatele MS
- 1924 (Thomson, Aston) - charakterizováno izotopické zastoupení 50ti prvků
- 1934 (Mattauch, Herzog) - sektorový analyzátor s dvojí fokusací
- 1946 (Stephens) – TOF (analyzátor doby letu)
- 1953 (Paul) - kvadrupól a iontová past (Nobelova cena 1989)
- 1957 (Holmes, Morrell) - první spojení GC/MS
- 1966 (Munson, Field) - popis chemické ionizace (1. měkká ionizační technika)
- 1968 (Dole) - elektrosprej jako zdroj iontů
- 1973 (Baldwin, McLafferty) - první spojení LC/MS
- 1974 (Comisarow, Marshall) – FTICR (Hmotnostní analyzátor s vysokou rozlišovací schopností)
- 1984 (Willoughby, Browner) - Particle Beam LC/MS spojení
- 1984 (Fenn) - ionizace biomolekul pomocí ESI (Nobelova cena 2002)
- 1985 (Hillenkamp, Karas) - vynález MALDI
- 1999 (Makarov) - Orbitrap jako hmotnostní analyzátor

Historický vývoj hmotnostní spektrometrie Česká republika

- **1953** sestrojen první hmotnostní spektrometr v ČR
 - magnet Nierova typu
 - Ústavu fyzikální chemie ČSAV
 - V. Čermák, V. Hanuš, Č. Jech, J. Cabicar
 - 1954 udělena Státní cena
- **1962** první komerční hmotnostní spektrometry
 - MCH-1303
 - Ústav organické chemie a biochemie ČSAV - L. Dolejš
 - Ústavu fyzikální chemie ČSAV - V. Hanuš



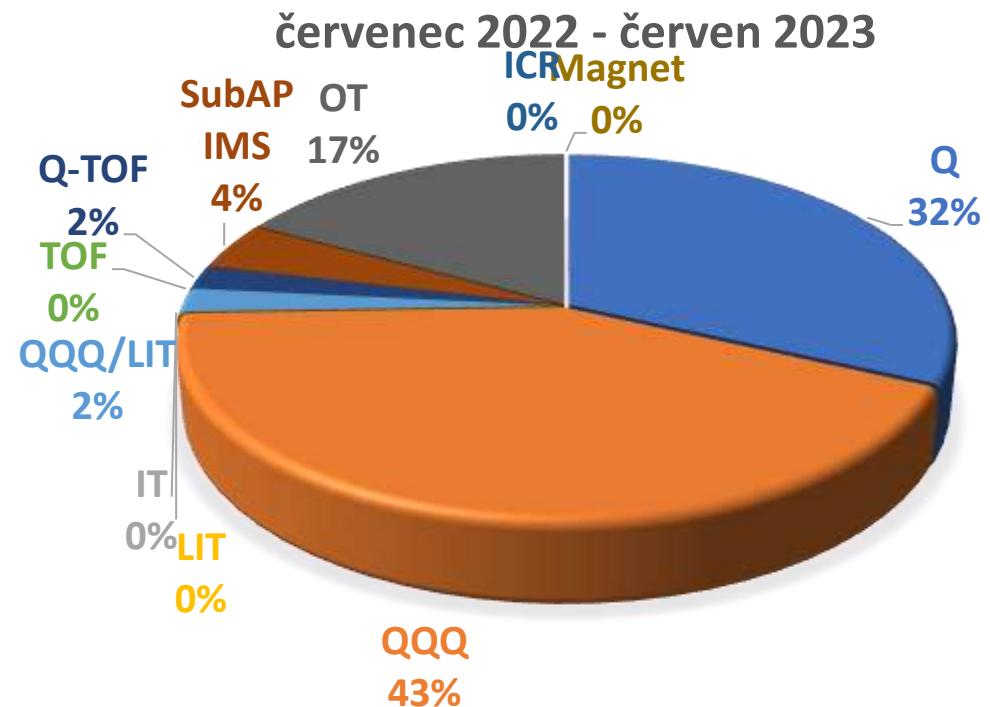
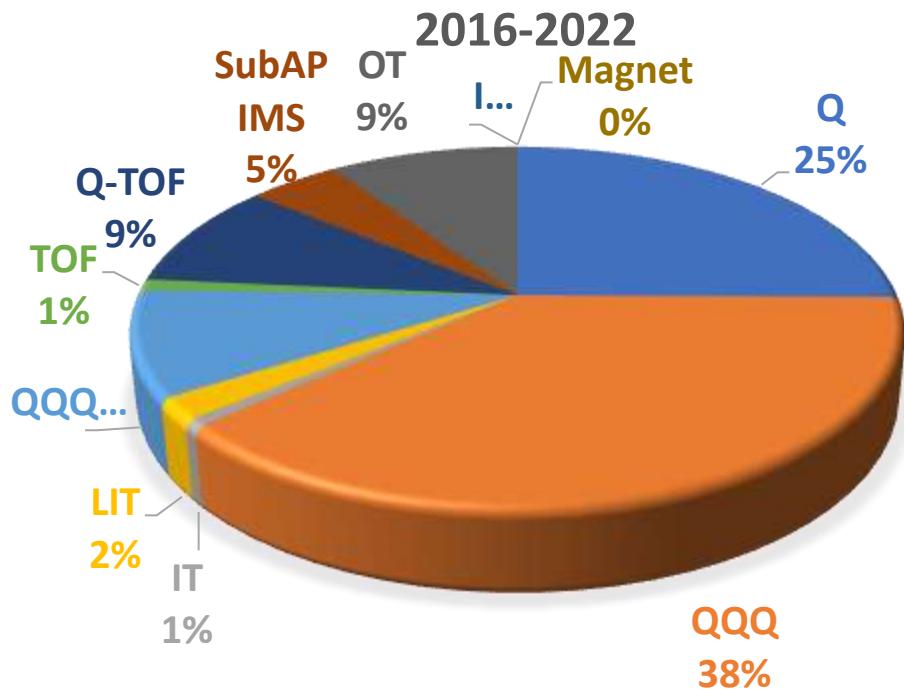
Současný stav hmotnostní spektrometrie v České republice



- Odhad instalovaných, nikoli funkčních přístrojů.
- Odhad nezahrnuje GC-MS, ICP MS, IRMS a další speciální přístroje.

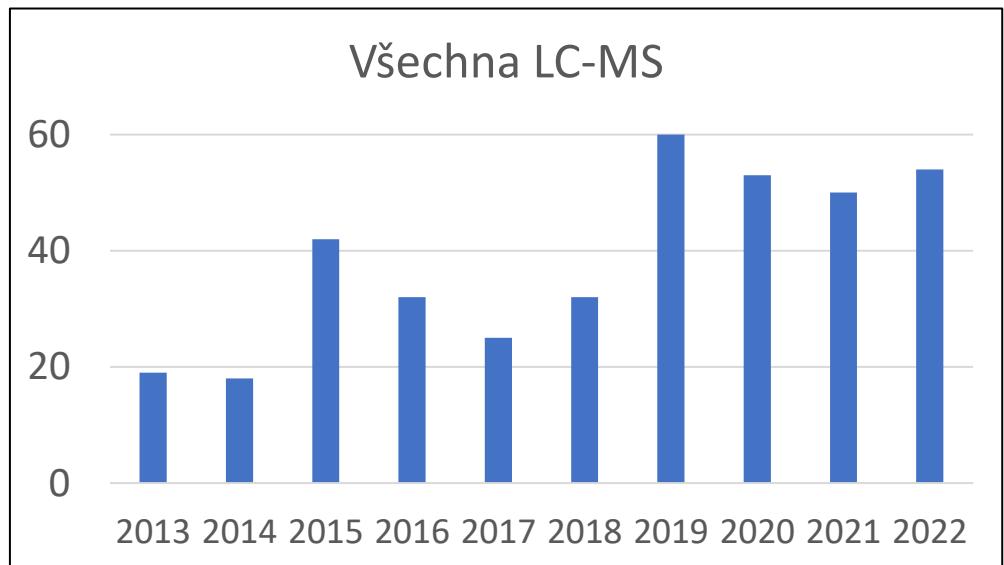
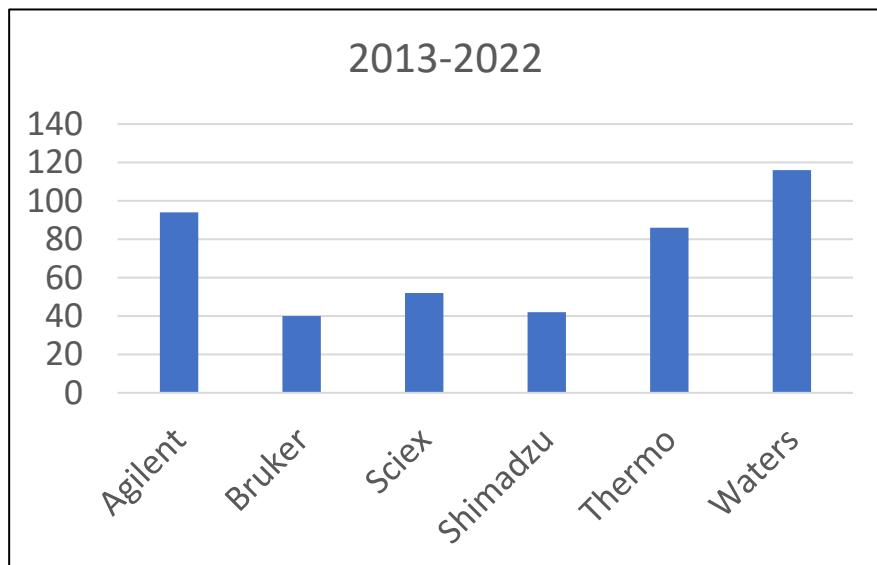
Současný stav hmotnostní spektrometrie v České republice

LC-MS podle analyzátorů



Současný stav hmotnostní spektrometrie v České republice

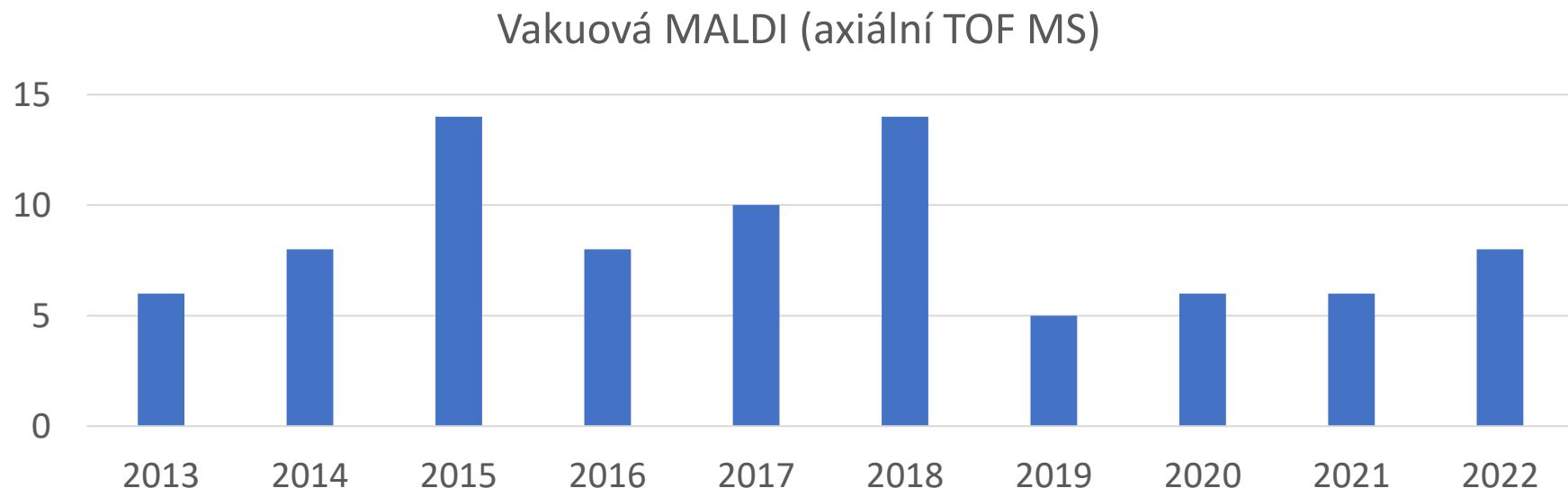
Přehled instalací přístrojů LC-MS



- za posledních 10 let (2013-2022): 430
- za rok 2022: 54
- za první polovinu 2023: 24

Současný stav hmotnostní spektrometrie v České republice

Přehled instalací přístrojů MALDI MS 2013 - 2022

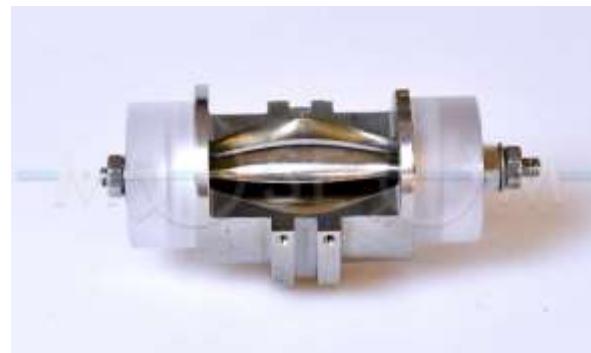


- dominantní ve vakuové MALDI Bruker: 85 TOF MS (2013-22), ale i Shimadzu
- subAP, příp. AP MALDI i Waters a Thermo (partner): < 10 kusů

Historie hmotnostní spektrometrie - literatura

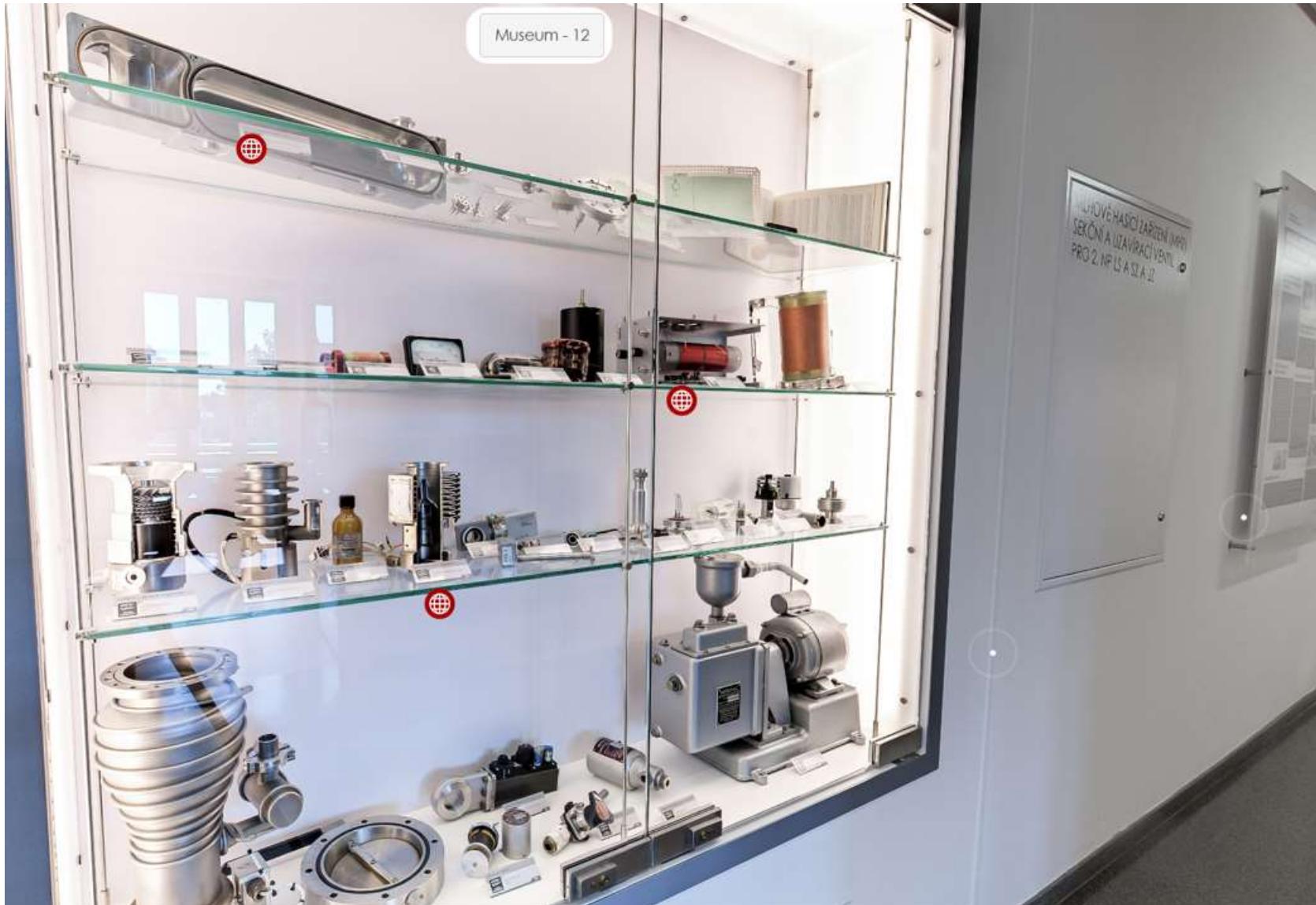
- F.W. McLafferty, A Century of Progress in Molecular Mass Spectrometry, *Annu. Rev. Anal. Chem.* 4 (2011) 1-22.
- J.R. Yates, A century of mass spectrometry: from atoms to proteomes, *Nat. Methods* 8 (2011) 633-637.
- J. Griffiths, A brief history of mass spectrometry, *Anal. Chem.* 80 (2008) 5678-5683.
- O.D. Sparkman, Mass Spectrometry: Overview and History, *Encyclopedia of Analytical Chemistry* (2006).
- Z. Herman, Počátky hmotnostní spektrometrie u nás: Hmotnostní spektrometrie v Ústavu fyzikální chemie Akademie věd, *Chem. Listy* 104 (2010) 962-966.
- J. Pól a M. Volný, Počátky a historie československé hmotnostní spektrometrie (2012)

České muzeum hmotnostní spektrometrie (ÚOCHB AV ČR): <http://www.ms-museum.org/>



Historie hmotnostní spektrometrie

České muzeum hmotnostní spektrometrie (ÚOCHB AV ČR): <http://www.ms-museum.org/>



Základní termíny

- Mass Spec Terms Project (http://mass-spec.lsu.edu/msterms/index.php/Main_Page)
 - projekt MS názvosloví podporovaný IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)
 - Pure and Applied Chemistry (K. Murray a kol., 2013) - Standard definitions of terms relating to mass spectrometry
 - J. Chromatogr. A (K. Murray, 2010) - Glossary of terms for separations coupled to mass spectrometry
 - český překlad - Česká terminologie hmotnostní spektrometrie (2016)
<http://terminologie-ms.sci.muni.cz/>
- **hmotnostní spektrometrie** (MS) - Studium hmoty prostřednictvím tvorby iontů v plynné fázi, které jsou charakterizovány jejich hmotností, nábojem, strukturou anebo fyzikálně-chemickými vlastnostmi pomocí hmotnostních spektrometrů (IUPAC definice). Fyzikálně-chemická metoda určování hmotností atomů a molekul po jejich převedení na kladně nebo záporně nabité ionty.
 - zkratku MS nelze využívat jako zkratku pro hmotnostní spektrometer
 - nepoužívat hmotnostní spektroskopie nebo hmotnostní spektroskop (není optická metoda)
- **hmotnostní spektrometr** - zařízení, které vytváří z analytu ionty v plynné fázi, měří m/z hodnoty a zaznamenává jejich intenzitu
- **hmotnostní spektrum** - graf závislosti intenzity iontů (absolutní/relativní) na jejich m/z
 - není chromatogram

Základní termíny

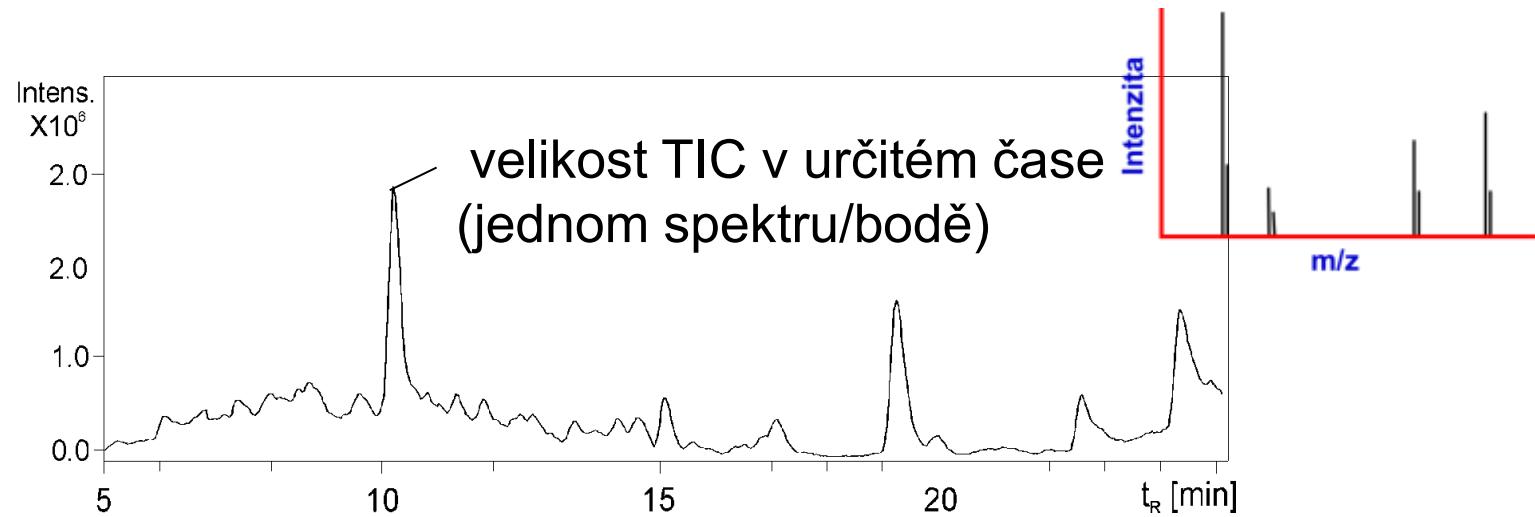
- **m/z** - bezrozměrná veličina získaná vydelením hmotnosti iontu nábojovým číslem (počtem elementárních nábojů, bez ohledu na polaritu)
 - jednotku Th (Thomson) IUPAC nedoporučuje
- Dalton (Da) - není SI jednotka, většinou se používá v biologii, pro molekulové hmotnosti větších proteinů (kDa)
 - atomová hmotnostní jednotka (unified atomic mass unit) u - 1/12 hmotnosti ^{12}C
 $1 \text{ u} = 1 \text{ Da} = 1.6605402(10) \times 10^{-27} \text{ kg}$ (hodnota konstanty vyjádřená v jednotkách SI)
- **základní pík spektra** - pík s největší intenzitou ve spektru
- **ion prekurzoru** - ion, který reaguje za vzniku konkrétních produktových iontů
 - nepoužívá se termín "rodičovský ion"
- **produktový ion** - vzniká jako produkt po reakci z jednotlivých iontů prekurzoru
 - disociace (fragmentový ion), reakce ion/molekula, změna počtu nábojů
 - nepoužívat termín "dceřiný ion"
- **fragmentový ion** - produktový ion vzniklý disociací iontu prekurzoru
- **aduktový ion** - ion tvořený interakcí iontu s jedním a více atomy nebo molekulami
→ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\text{M}+\text{K}]^+$, $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ atd.

Základní termíny

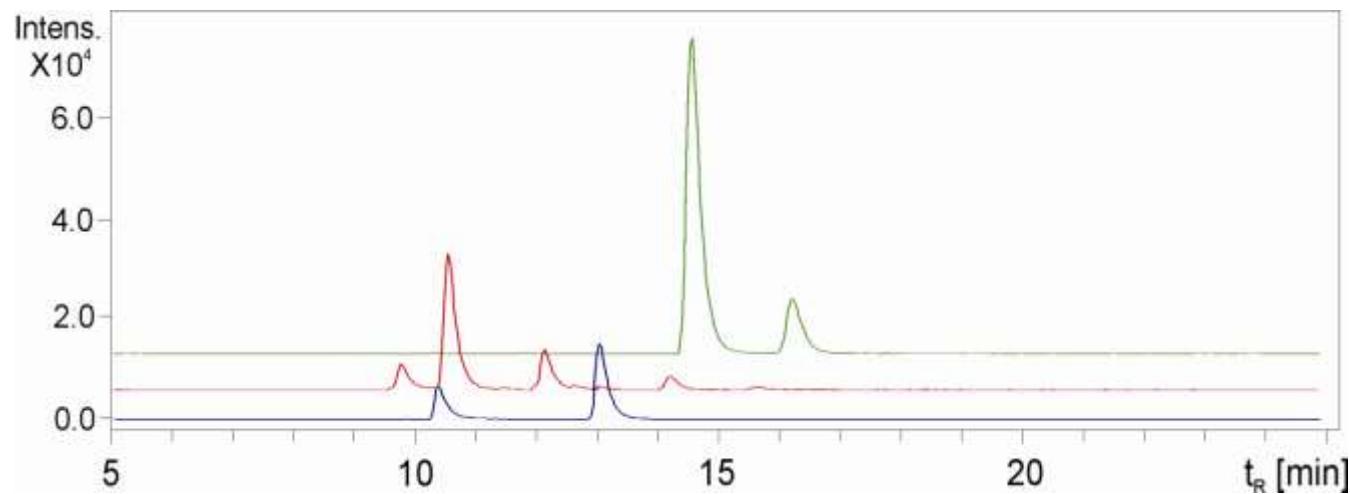
- molekulární ion - ion vzniklý odebráním nebo přidáním jednoho a více elektronů z molekuly za vzniku kladného nebo záporného iontu
- protonovaná molekula - ion vzniklý interakcí molekuly s protonem, $[M+H]^+$
- deprotonovaná molekula - ion vzniklý odštěpením protonu, $[M-H]^-$
- hybridní analyzátor - hmotnostní spektrometr, který kombinuje hmotnostní analyzátoře různého typu za účelem tandemové hmotnostní spektrometrie
- celkový iontový proud (TIC) - suma iontových proudů všech m/z přítomných ve spektru daného rozsahu (např. m/z 50 až 1000)
- celkový iontový chromatogram (TICC) – chromatogram zkonstruovaný jako závislost celkového iontového proudu v sérii hmotnostních spekter na retenčním čase
- extrahovaný iontový chromatogram (EIC or RIC) - závislost proudu vybrané m/z na čase (rekonstruujeme z TICC)
- záznam vybraného iontu (SIM) - měření vybrané m/z v závislosti na čase (hmotnostním analyzátem vybereme pouze jeden ion, ostatní se nezaznamenávají)

Základní termíny

TICC

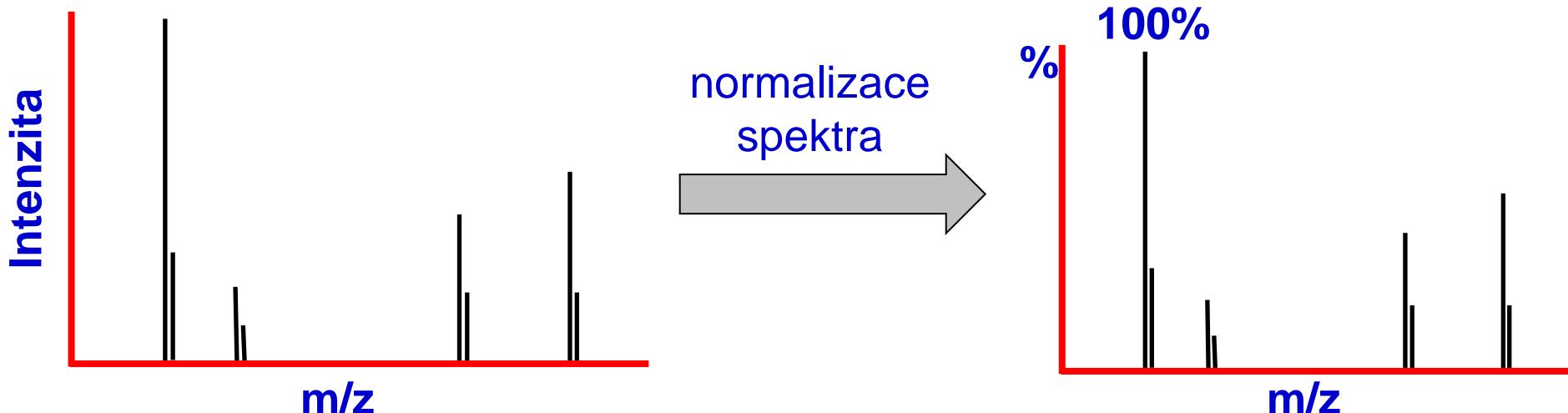


EIC – 540,186
EIC – 542,202
EIC – 556,218



Hmotnostní spektrum

- **Základní veličiny** – intenzita (absolutní, relativní), poměr hmotnosti a náboje (m/z)



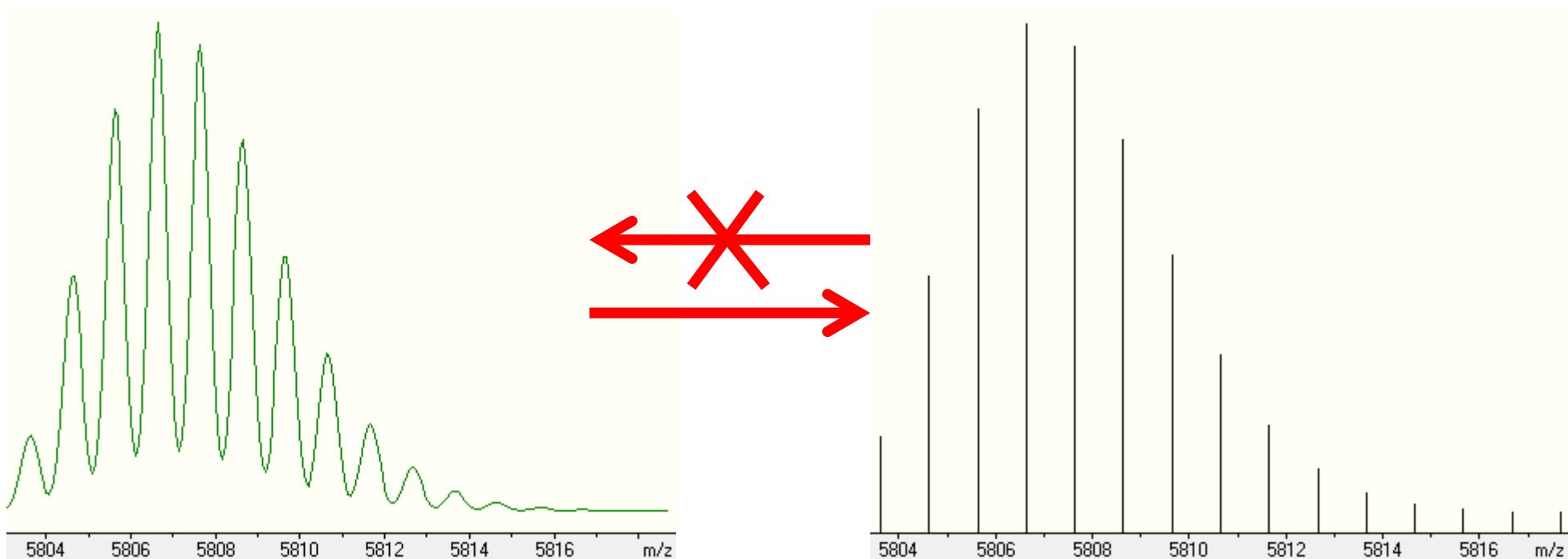
- měří se intenzita iontů v závislosti na m/z :
 - skenování = změna skenované veličiny (U_{DC} , V_{AC} , B) – Q, sektorové analyzátory, lineární a 3D iontová past
 - záznam signálu v čase – TOF, FTICR, Orbitrap

Jednotlivé m/z o příslušných intenzitách skenujeme a postupně propouštíme na detektor nebo zaznamenáváme signál v čase

- normalizace spekter:
 - převedení absolutních intenzit na relativní
 - intenzita osy y je v rozsahu 0-100%
 - intenzita základního píku spektra je 100% a intenzity ostatních píků jsou k ní vztaženy

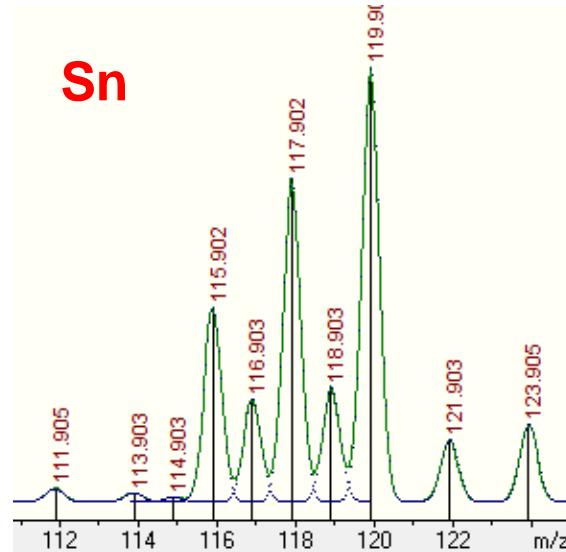
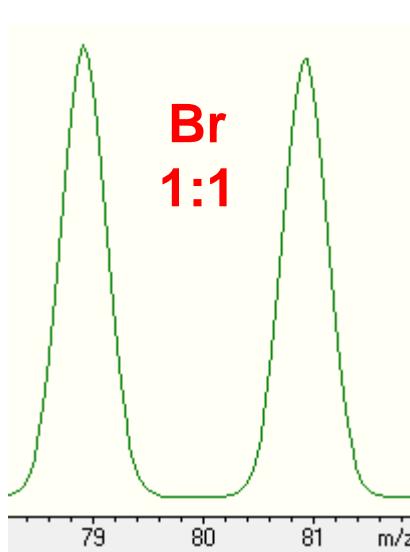
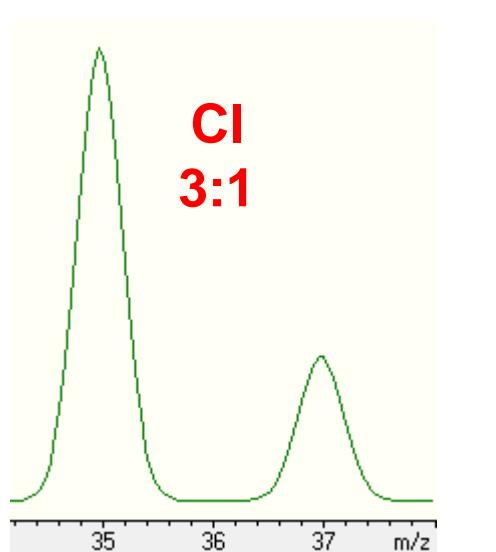
Hmotnostní spektrum

- profilové spektrum (kontinuální) - profil složený z naměřených bodů, gaussovský tvar píků, vhodné pro kontrolu kvality píků, objemná data
- čárové spektrum (centroidální) - pásky převedené na čáry, které odpovídají jejich středu, intenzita odpovídá výšce nebo ploše píku, menší množství dat, nelze převést zpětně na profilové spektrum!



Ionty v hmotnostních spektrech

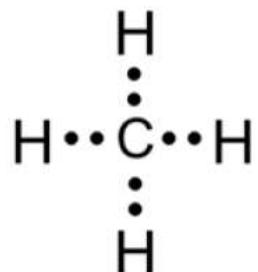
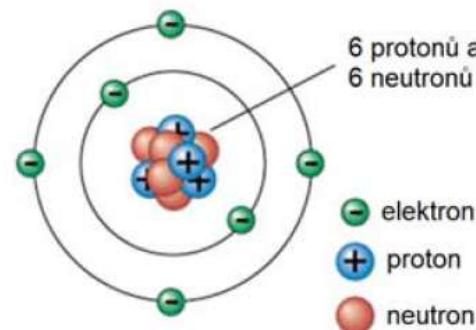
- závislé na typu použité ionizace
- ionty s lichým počtem elektronů → M^+ , především elektronová ionizace nebo ionty se sudým počtem elektronů → spektra měkkých ionizačních technik
- ionty (de)protonovaných molekul → $[M+H]^+$, $[M-H]^-$, určení molekulové hmotnosti (M)
- adukty molekul → $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$, $[M+NH_4]^+$, s mobilní fází, atd., ověření M_R
- fragmentové (produktové) ionty – strukturní informace, fragmentace funkčních skupin, částí molekuly, atd.
- ionty izotopů - atomy chemického prvku, které mají stejný počet protonů, ale rozdílný počet neutronů tedy stejné protonové (atomové) číslo a rozdílnou atomovou hmotnost



Ionty, neutrály, radikály

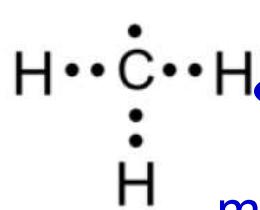
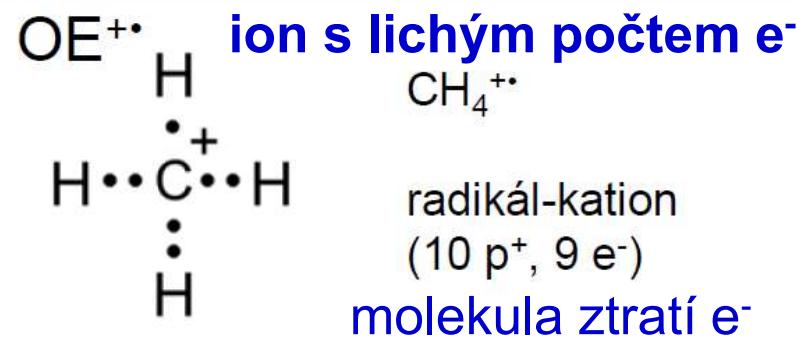
Atom uhlíku:
skupina IV A

6 protonů
4 valenční elektrony



methan CH_4

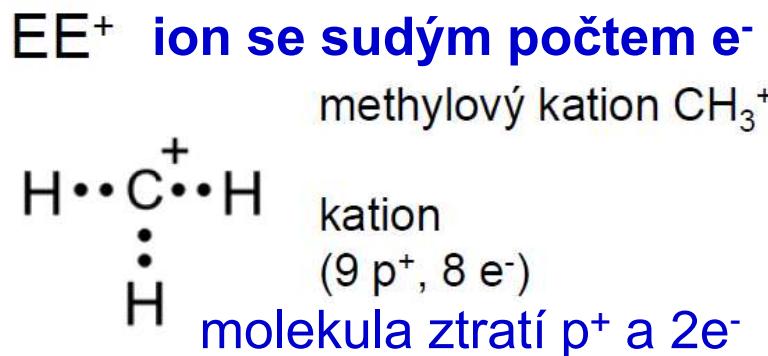
neutrální molekula
(10 p⁺, 10 e⁻)



methylový radikál CH_3^{\cdot}

radikál (nenese náboj)
(9 p⁺, 9 e⁻)

molekula ztratí p⁺ i e⁻



- snímek převzat z přednášky doc. J. Cvačky (ÚOCHB, Praha)

Přírodní zastoupení izotopů běžných organických prvků

Defekty atomových hmotností

Izotopické zastoupení

Prvek	Nominální atomová hmotnost [Da]	Hmotnostní defekt [mDa]	Přírodní zastoupení izotopů			Typ prvku
			M [%]	M+1 [%]	M+2 [%]	
H	1	7.8	100	0.015		"M"
C	12	0	100	1.1		"M+1"
N	14	3.1	100	0.37		"M+1"
O	16	-5.1	100	0.04	0.2	"M+2"
F	19	-1.6	100			"M"
Si	28	-23.1	100	5.1	3.4	"M+2"
P	31	-26.2	100			"M"
S	32	-27.9	100	0.79	4.4	"M+2"
Cl	35	-31.1	100		32	"M+2"
Br	79	-81.7	100		97.3	"M+2"
I	127	-95.5	100			"M"

Hmotnosti iontů ve spektru

- **nominální hmotnost:** hmotnost vypočítaná z celočíselných hmotností prvků

$$\text{CO}_2: 1 \times 12 + 2 \times 16 = \mathbf{44}$$

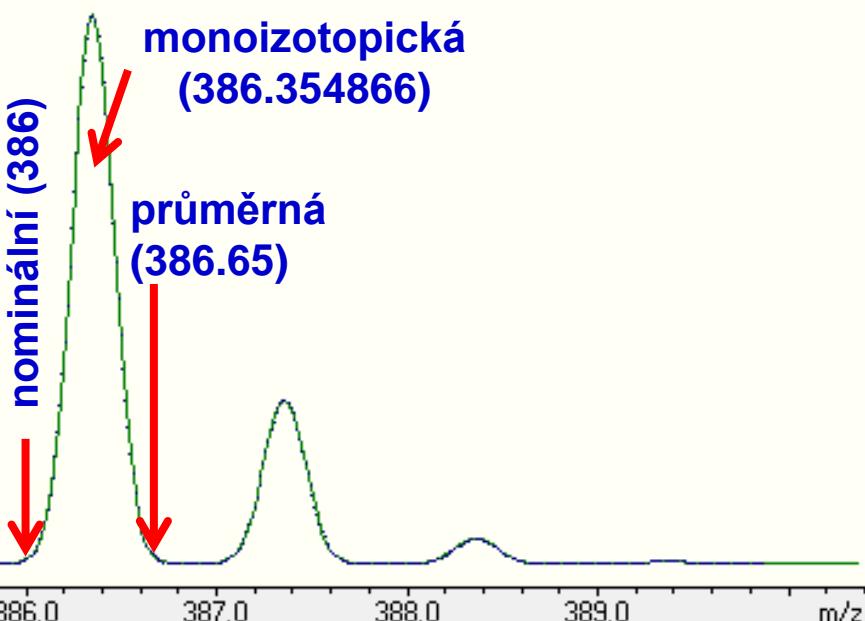
- **monoizotopická hmotnost:** hmotnost vypočítaná z přesných hmotnostní prvků

$$\text{CO}_2: 1 \times 12.0000 + 2 \times 15.9949 = \mathbf{43.9898}$$

- **průměrná hmotnost:** vážený průměr hmotností jednotlivých izotopů

$$\text{CO}_2: 1 \times 12.011 + 2 \times 15.999 = \mathbf{44.009}$$

cholesterol $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$



C = 12.000000
H = 1.007825
N = 14.003074
O = 15.994915
S = 31.972071

Základní části hmotnostního spektrometru

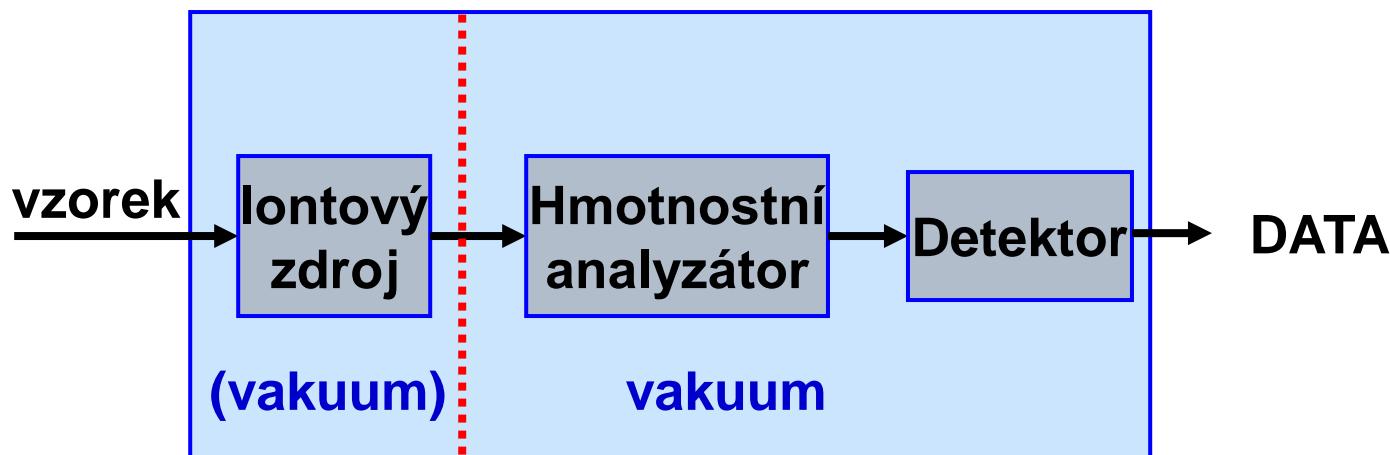
1/ iontový zdroj - slouží k převedení neutrálních molekul analytu na nabité částice (tzv. ionizace), konstrukce se liší podle použité ionizační techniky

2/ hmotnostní analyzátor - slouží k rozdělení iontů v plynné fázi za vysokého vakua podle poměru hmotnosti a náboje (m/z)

3/ detektor - slouží k detekci iontů po jejich rozdělení podle m/z a k určení relativní intenzity (četnosti) jednotlivých iontů (a k zesílení signálu)

- další důležité části přístroje:
 - vakuový systém
 - iontová optika sloužící k urychlení a fokusaci iontů
 - počítač na ovládání a ladění přístroje, sběr, ukládání a zpracování dat, porovnání spekter s knihovnou

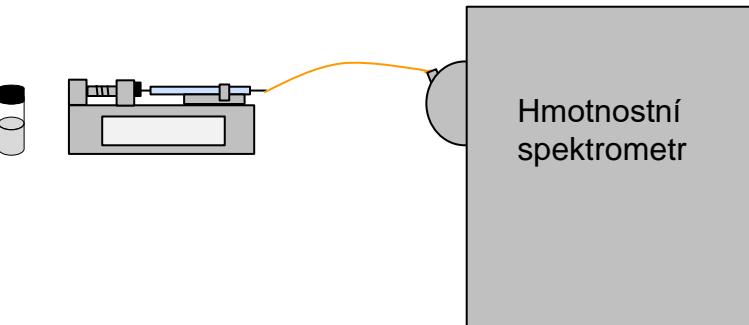
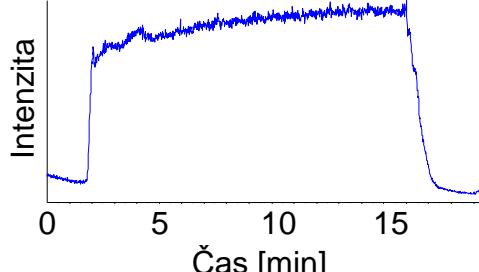
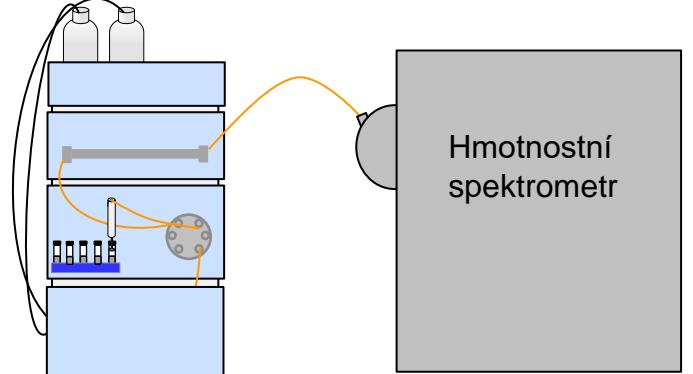
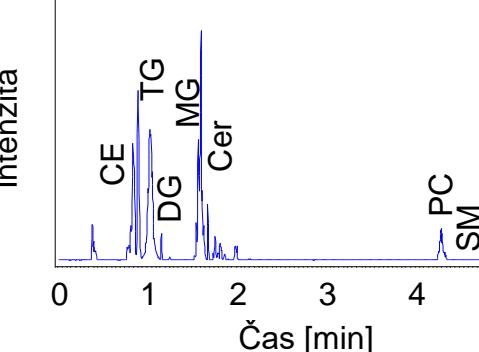
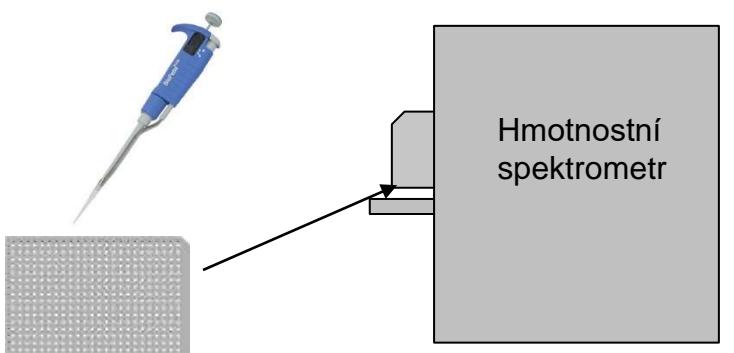
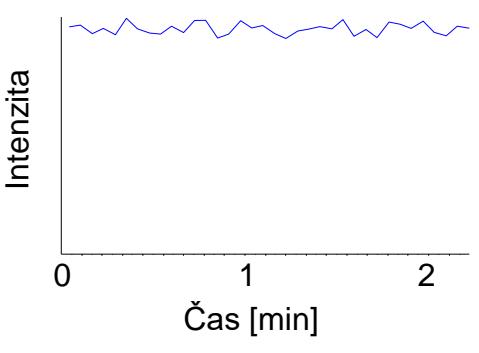
Hmotnostní spektrometr



Ionizační techniky (= tvorba iontů)

- iontový zdroj hmotnostního spektrometru slouží k převedení neutrálních molekul analytu na nabité částice (ionty)
- tvrdé ionizační techniky (EI) - ionizovaná molekula při ionizaci získá nadbytek vnitřní energie, což se projeví fragmentací molekulového iontu na menší části (tzv. fragmentové ionty)
- měkké ionizační techniky - (šetrné) ionizovaná molekula získá mnohem menší množství energie oproti EI, proto ve spektrech pozorujeme zejména (de)protonované molekuly a minimum fragmentových iontů
- ionizace může probíhat za sníženého tlaku - vakua (EI, CI, MALDI, atd.) nebo za atmosférického tlaku (ESI, APCI, APPI, AP-MALDI)
- volba ionizační techniky podle povahy analytu (M_R , polarita), příp. podle použité separační techniky (GC → EI, CI; HPLC → ESI, APCI, APPI)
- zavádění vzorku do iontového zdroje - přímá infúze, separační technika,, MALDI destičky, odpařování z kapiláry, přímá analýza vzorku (ambientní techniky) atd.

Zavedení vzorku do iontového zdroje

Infuzní pumpa, dávkování z injekční stříkačky		
Předřazená separační technika (LC, GC, SFC,...) Dávkování z autosampleru, nebo přes dávkovací ventil		
MALDI – zaschnutý vzorek umístěn přímo do stroje		

V každém bodě časového záznamu lze zobrazit hmotnostní spektrum

Vzorek umístěn přímo do iontového zdroje

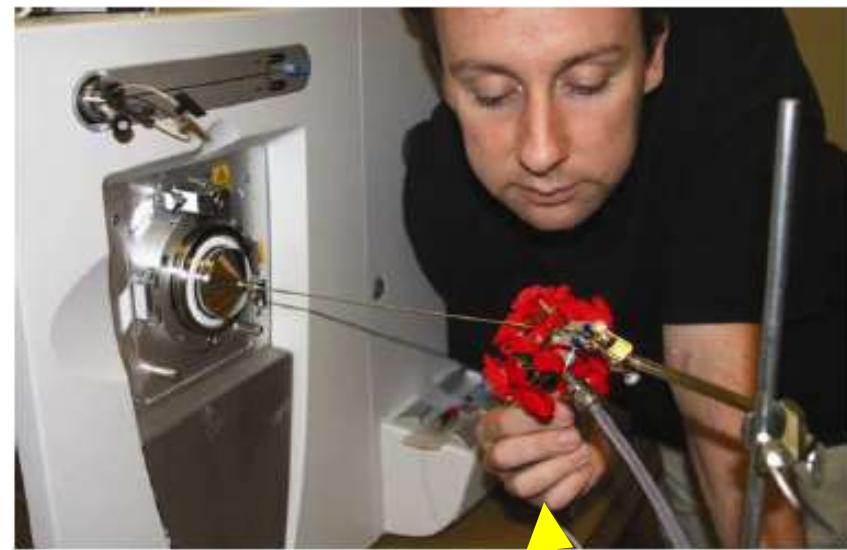
Ambientní techniky: např. desorpční ionizace elektrosprejem

- živočišná tkáň (prst živého člověka)

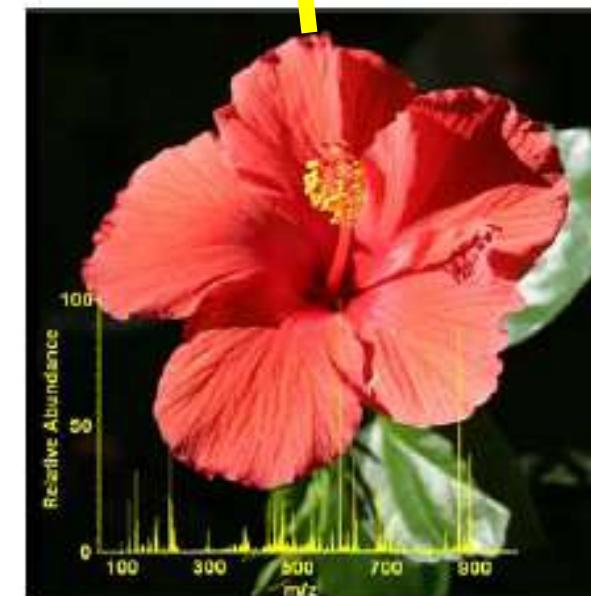


Photograph S3 Aqueous alcohol being sprayed onto outer skin surface to detect compounds including drugs and metabolites by DESI

- bez jakékoli úpravy vzorku!



- rostlinná tkáň (kytka)

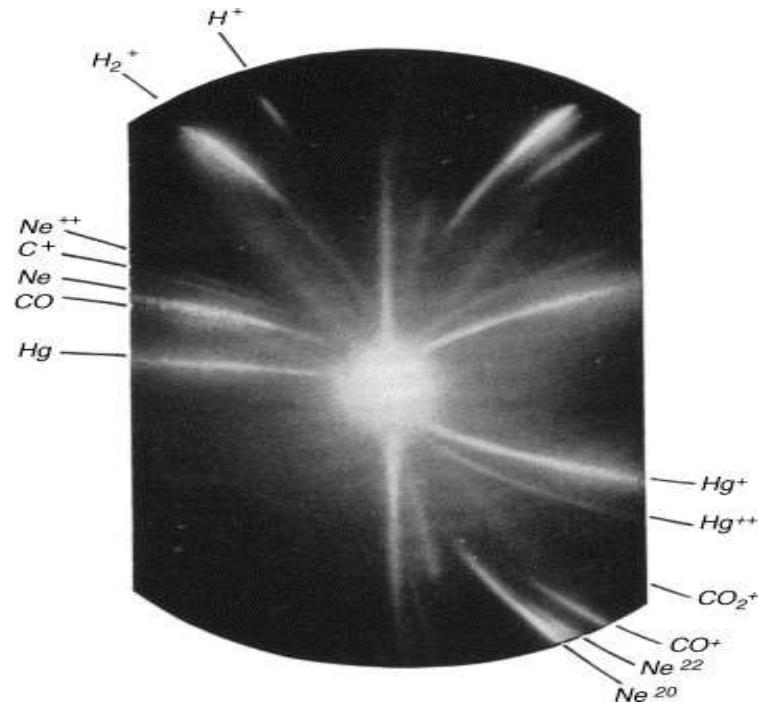


Hmotnostní analyzátory (= dělení iontů)

- hmotnostní analyzátor slouží k dělení iontů v plynné fázi za vakua podle poměru jejich hmotnosti a náboje (m/z)
- analyzátor je umístněn za iontovým zdrojem (tzn. molekuly již byly převedeny na ionty) a před detektorem (před detekcí musíme ionty rozdělit podle m/z)
- dělení iontů v analyzátoru probíhá **za vysokého vakua** (ca. 10^{-3} - 10^{-11} Pa, podle typu analyzátoru)
- dělení iontů podle m/z lze dosáhnout na základě různých fyzikálních principů:
 - 1/ zakřivení dráhy letu iontů v magnetickém nebo elektrickém poli (magnetický nebo elektrostatický analyzátor)
 - 2/ různá stabilita oscilací iontů v dvoj- nebo trojrozměrné kombinaci stejnosměrného a vysokofrekvenčního střídavého napětí (kvadrupól nebo iontová past)
 - 3/ různá doba rychlosti letu iontů (analyzátor doby letu – TOF)
 - 4/ různá frekvence harmonických oscilací v Orbitrapu
 - 5/ různá frekvence rotace při cykloidálním pohybu iontů v kombinovaném magnetickém a elektrickém poli (iontová cyklotronová resonance – ICR)

Detekce iontů

- detektory iontů používají všechny analyzátoru kromě FTICR a Orbitrap, kde je v analyzátoru prováděna zároveň detekce (indukce proudu na stěnách analyzátoru)
- ionty po rozdělení v hmotnostním analyzátoru dopadají na detektor iontů, který generuje signál z dopadajících iontů (převádí proud nabitéch částic na elektrický proud)
 - tvorba sekundárních elektronů, které se následně zesilují
 - indukce proudu po dopadu iontů (Faradayův pohár)
- dříve využití fotografické desky, kde ionty o určité m/z dopadají na jedno místo desky a vytvářejí body, intenzita iontů je dána intenzitou zbarvení bodu

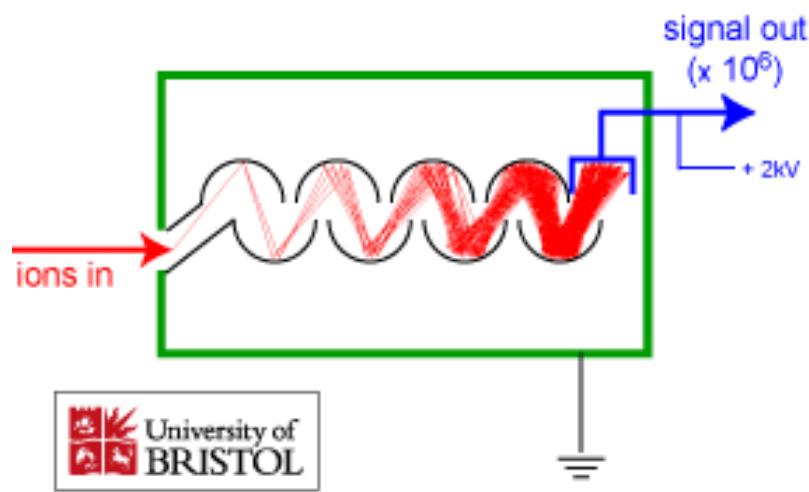


Fotografická deska Thompsonova spektrometru (1907)

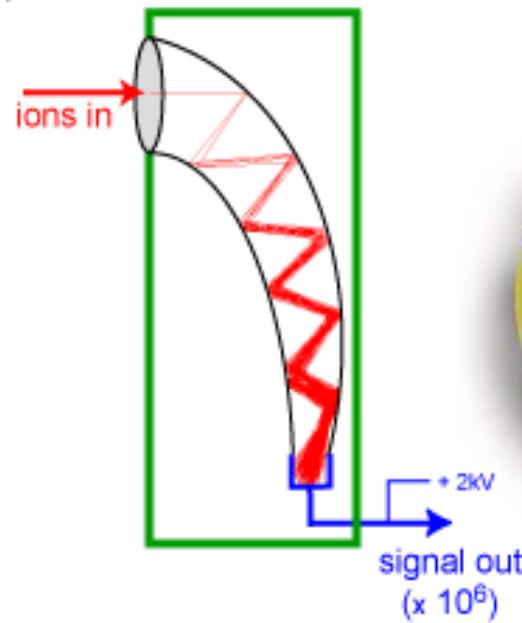
Detekce iontů

- **elektronový násobič** – nejběžnější; ionty dopadají na povrch dynody, ze které vyrazí e^- , ty jsou dále zesíleny systémem dynod nebo opakoványmi kolizemi na průběžné zakřivené dynodě, zesílení až 10^8 krát

Systém diskrétních dynod



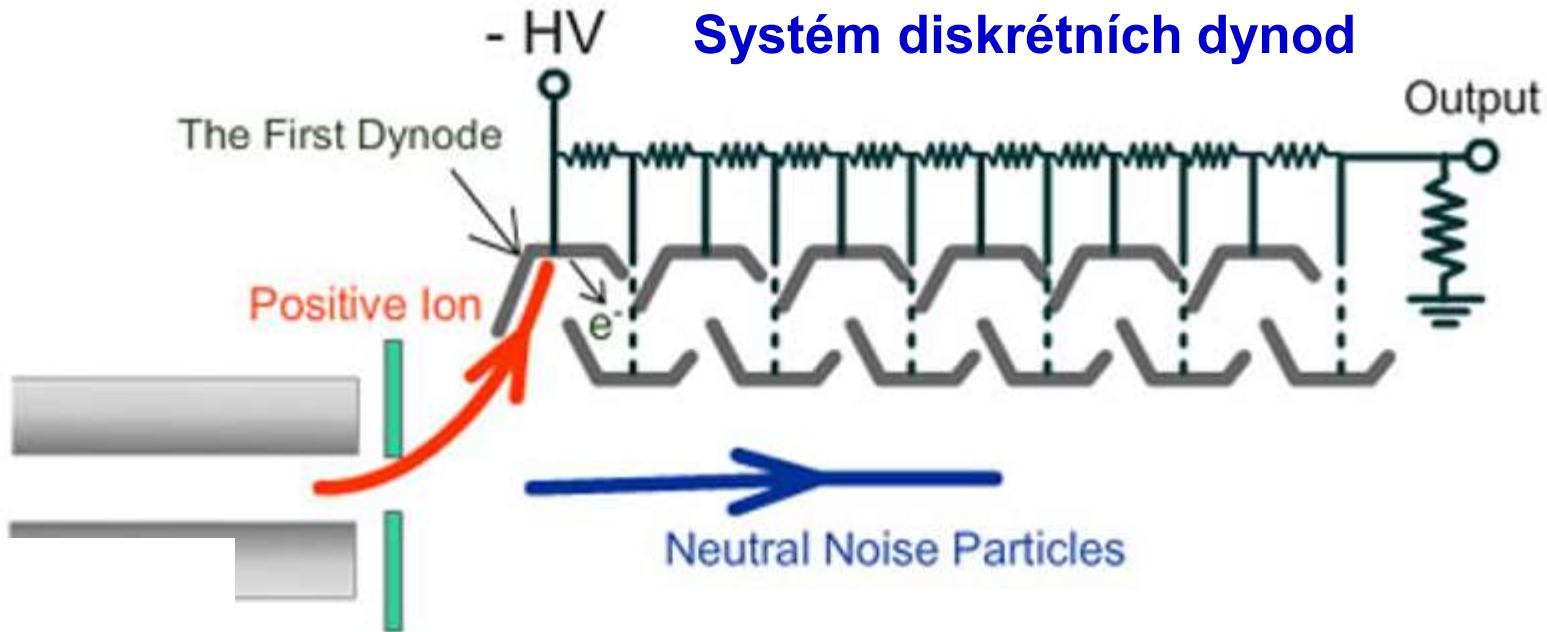
Zakřivená dynoda („channeltron“)



dynoda je elektroda, která slouží jako elektronový multiplikátor prostřednictvím sekundární emise

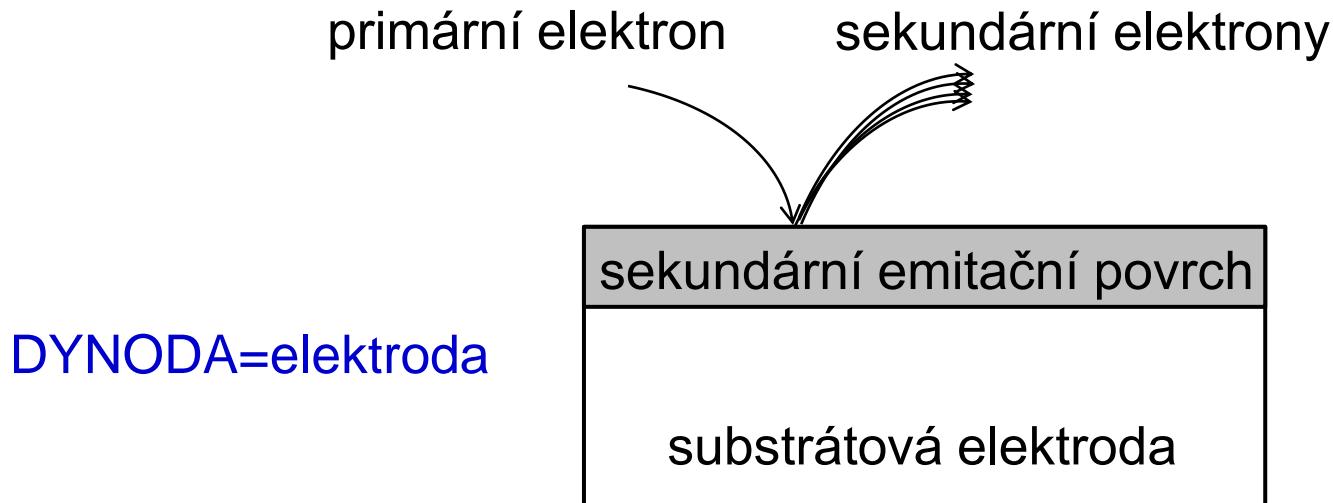
Detekce iontů

- **elektronový násobič** – nejběžnější; ionty dopadají na povrch dynody, ze které vyrazí e^- , ty jsou dále zesíleny systémem dynod (vzrůstající potenciál) nebo opakoványmi kolizemi na průběžné zakřivené dynodě, zesílení až 10^4 - 10^8 krát



- Na první dynodu vloženo relativně vysoké napětí (-1,5 kV).
- Poslední dynoda (sběrná anoda) je uzemněna.
- Mezi první a poslední elektrodou je gradient napětí díky vloženým odporům mezi dynodami – typický je 100-200 V rozdíl v napětí mezi jednotlivými dynodami (každá následující dynoda je 100-200 V více kladnější (méně zápornější než předchozí)).

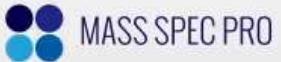
Detekce iontů



- po dopadu na dynodu (elektroda) - sekundární emise elektronu
- zesílení cca 2x - 5x na každém stupni (na první dynodě největší znásobení)
- materiály např. BeO, CsSb, MgO, GaP, GaAsP naneseny na substrátu z niklu, oceli nebo CuBe slitin

Systém diskrétních dynod: detekce (+) iontů

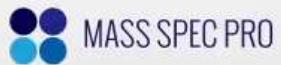
ELECTRON MULTIPLIER OPERATION



Zdroj - <http://www.massspecpro.com/detectors/>

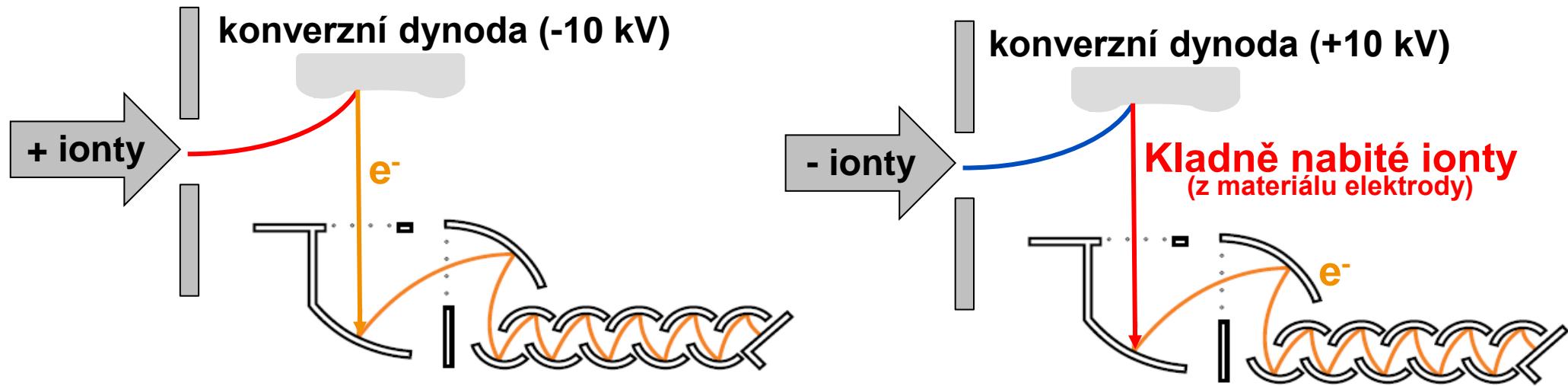
Zakřivená dynoda - detekce (+) iontů

ELECTRON MULTIPLIER OPERATION CONTINUOUS DYNODE



Zdroj - <http://www.massspecpro.com/detectors/>

Elektronový násobič s konverzní dynodou

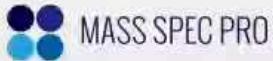


- Konverzní dynoda – vysokonapěťová elektroda, používá se ke zvýšení sekundární emise těžších iontů. Má zakřivený povrch kvůli nasměrování emitovaných částic do elektronového násobiče
- Typický násobič má 8 až 24 dynod

Elektronový násobič s konverzní dynodou



ELECTRON MULTIPLIER OPERATION WITH CONVERSION DYNODE



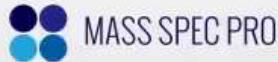
Zdroj - <http://www.massspecpro.com/detectors/>

Elektronový násobič s konverzní dynodou



ELECTRON MULTIPLIER OPERATION

WITH CONVERSION DYNODE - NEGATIVE MODE



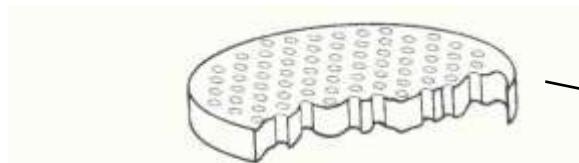
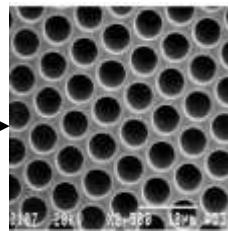
Zdroj - <http://www.massspecpro.com/detectors/>

Detekce iontů – mikrokanalová deska

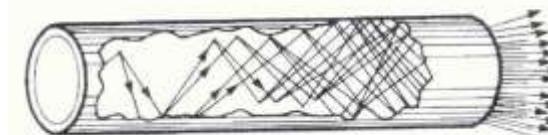
Elektronový násobič s polem
= mikrokanálová deska
(MCP – microchanel plate)



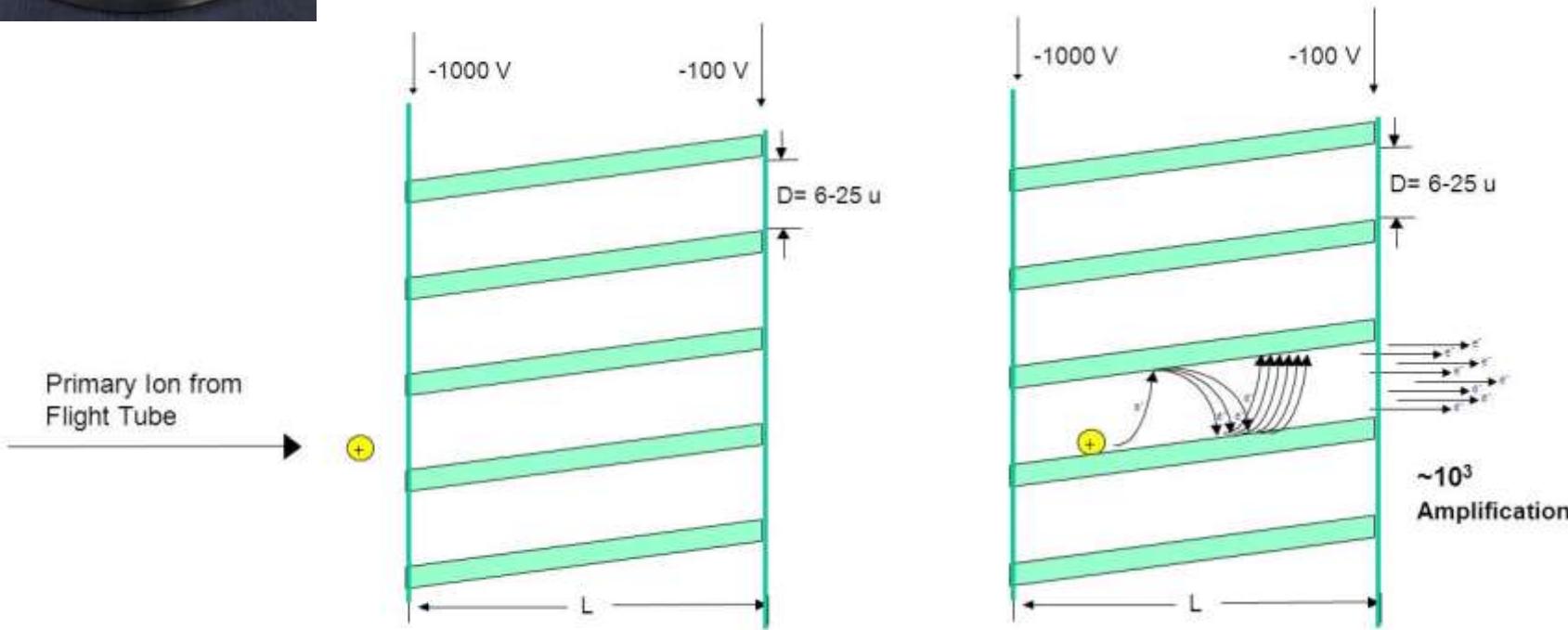
zoom



pole elektronových
násobičů

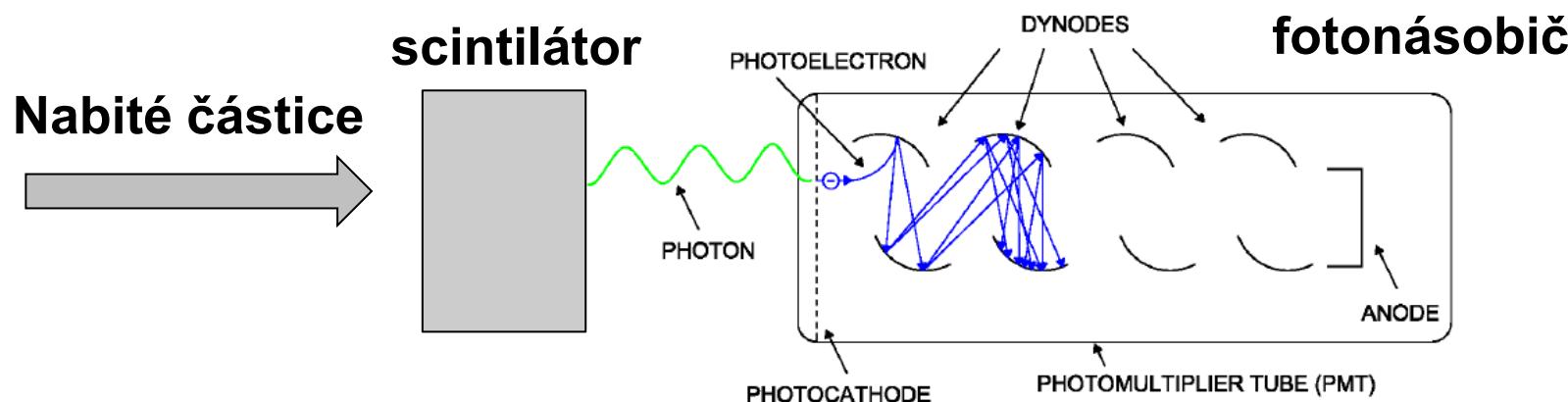


mikrokanálek



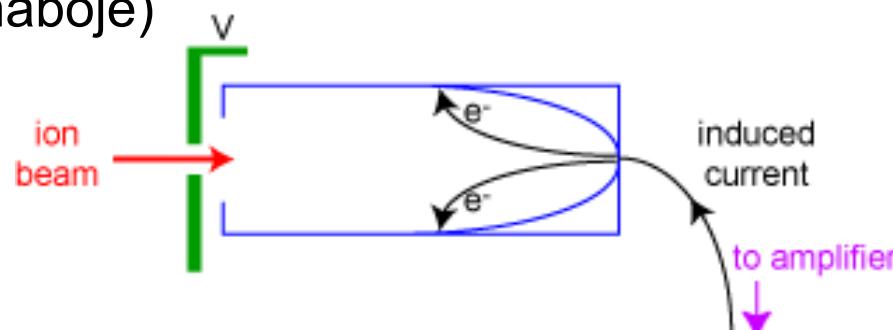
Detekce iontů

- **scintilační fotonásobičové detektory** - převod iontů na elektrický signál pomocí scintilační vrstvy, která při dopadu iontů vydává světelné záření (fotony). Tento typ záření je převeden na elektrický proud a dále zesílen; zesílení až 10^5 - 10^7 krát; delší životnost

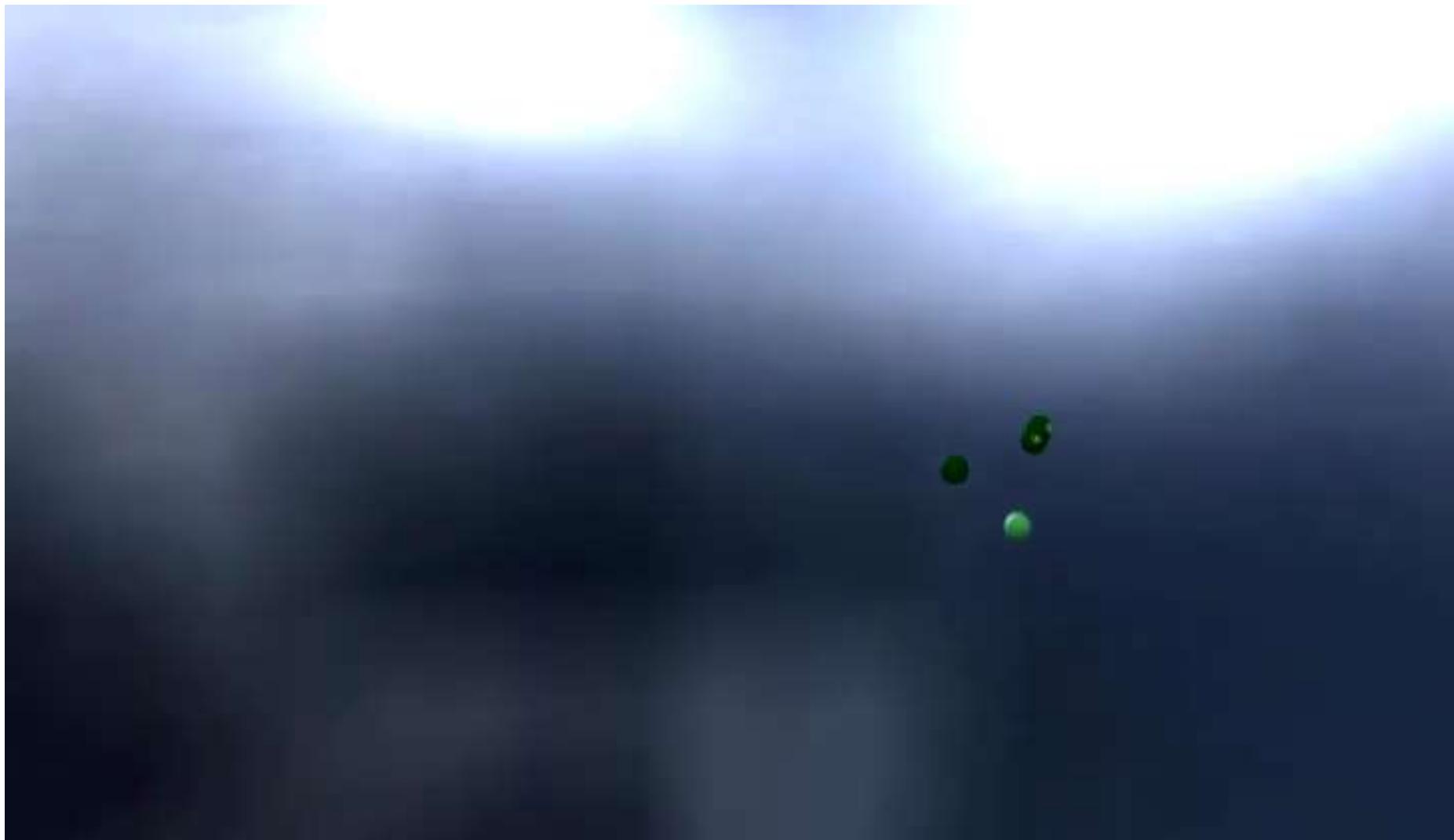


- **Faradayův pohár („Faraday cup“)** – dopadající ionty narážejí na povrch dynody, která emituje e^- a indukuje se proud, který je následně zesílen a zaznamenán, málo citlivý, ale robustní, velmi přesné na izotopická měření (měří se vybíjecí proud související s odevzdáním náboje)

**Konstantní citlivost
(nestárne)**



Scintilační fotonásobičový detektor



zdroj - Agilent Technologies

<https://www.youtube.com/watch?v=W-DRL-V2Rkg>

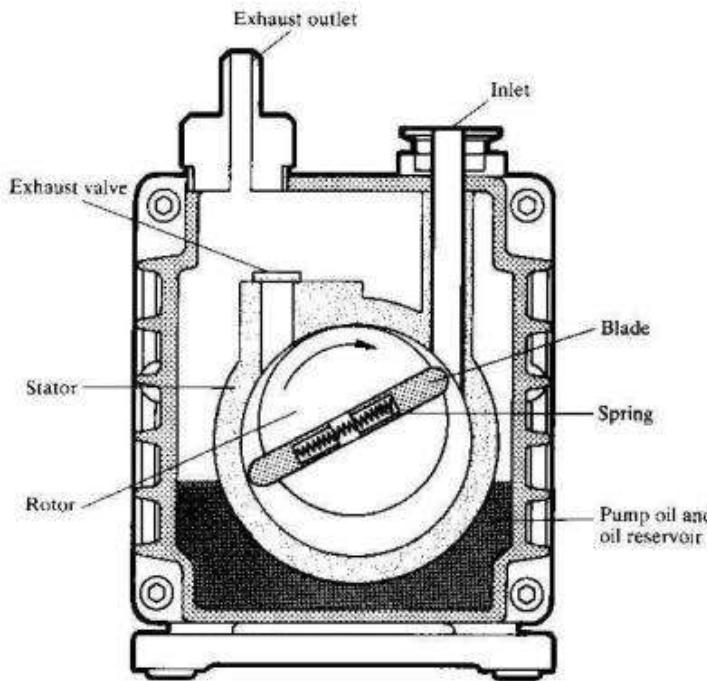
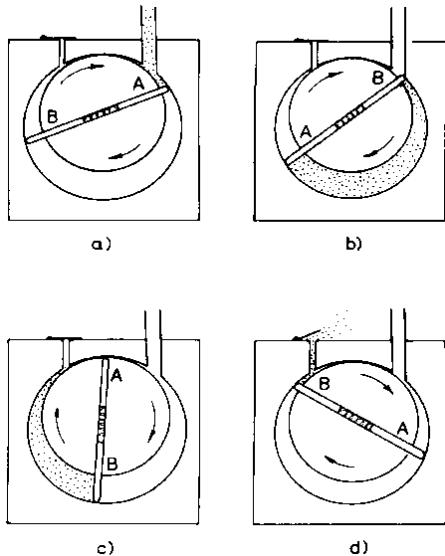
Vakuová technika

- různé požadavky na hodnotu vakua v různých částech hmotnostního spektrometru
 - **iontový zdroj** - za atmosférického tlaku (API - ESI, APCI, APPI) nebo vakua (EI, CI, MALDI)
 - **hmotnostní analyzátor** - vždy pracuje **za vysokého vakua**, hodnota vakua se liší podle typu analyzátoru ca. 10^{-3} až 10^{-12} Pa
 - **detektor** - vakuum
- k získání vysokých hodnot vakua je obvykle potřeba dvou- nebo třístupňové čerpání velmi výkonnými vakuovými pumpami
 - **1. stupeň** čerpání - rotační olejové, spirálové a membránové pumpy (výkon 80 l/s)
 - **2. stupeň** čerpání - turbomolekulární nebo difúzní pumpy (výkon 250 l/s)
- proč vysoké vakuum? ionty musí mít dostatečně dlouhou střední dráhu a nesmí docházet ke kolizním srážkám s neutrálními atomy

$$1 \text{ Pa} \approx 0.01 \text{ mbar} \approx 0.008 \text{ Torr} \approx 10^{-5} \text{ atm}$$

Vakuová technika – předvakuum (jemné vakuum)

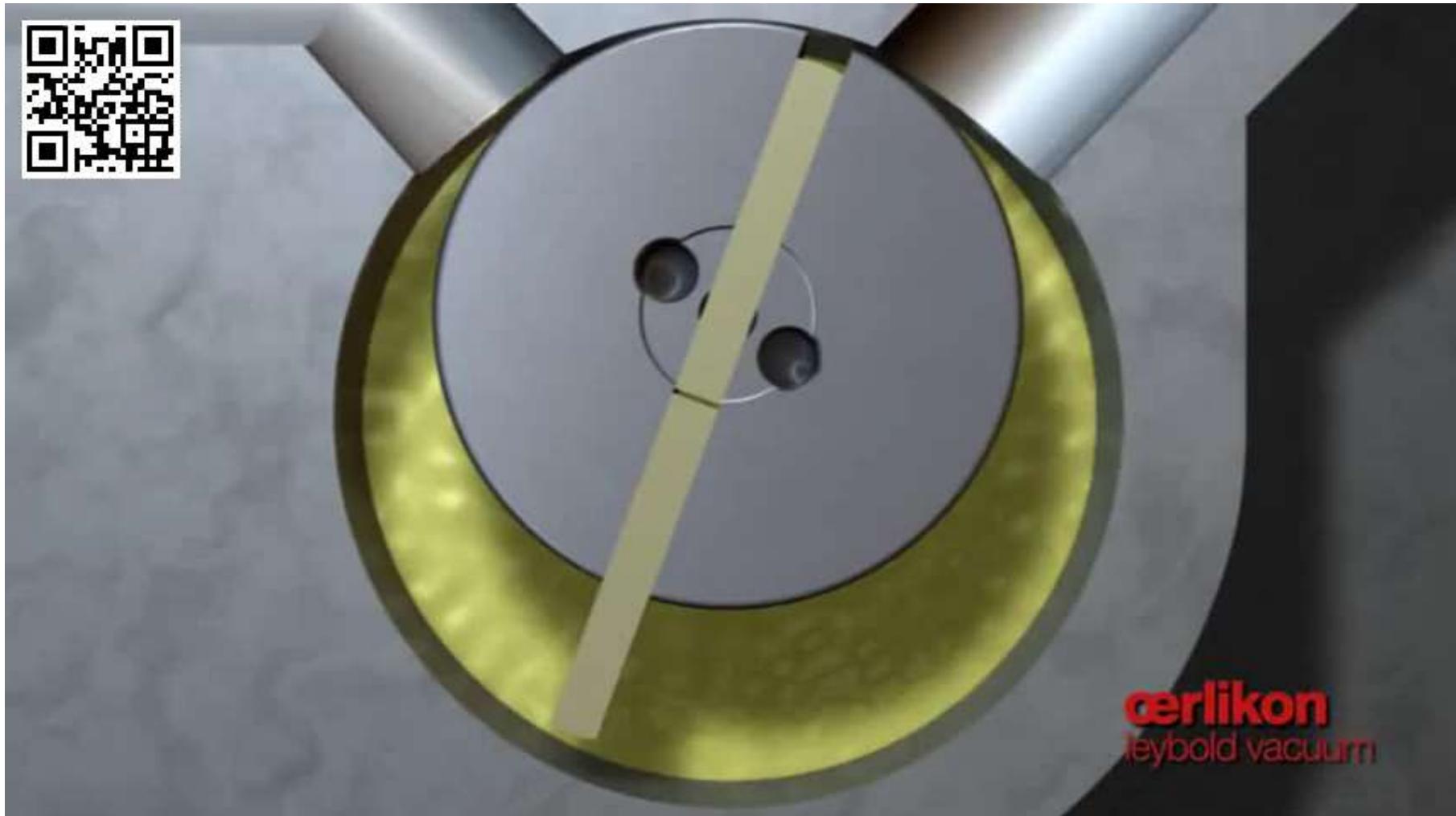
Rotační olejová vývěva



**Mezní tlak až 10^{-2} Pa
(do 1500 ot/min)**

- nejčastěji používaný typ čerpadla pro výrobu jemného vakua
- čerpadlo s rotujícími lamelami (rotor excentricky umístěný ve válcovitém statoru, rotor v těsném kontaktu se statorem)
- plyn postupně stlačován – odchází pružinovým ventilem
- nevýhoda: páry oleje v čerpaném prostoru, vibrace

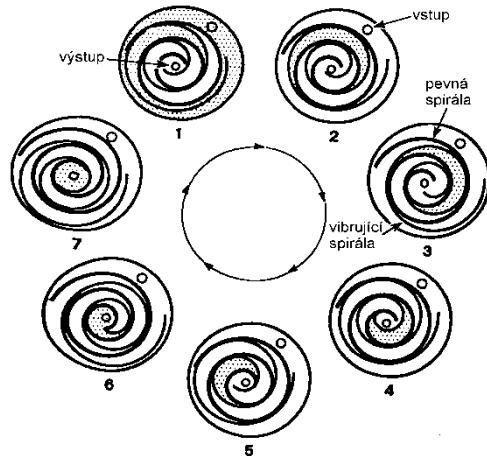
Rotační olejová vývěva



Zdroj - <https://www.youtube.com/watch?v=IIKOx0JqE08>

Vakuová technika – předvakuum (jemné vakuum)

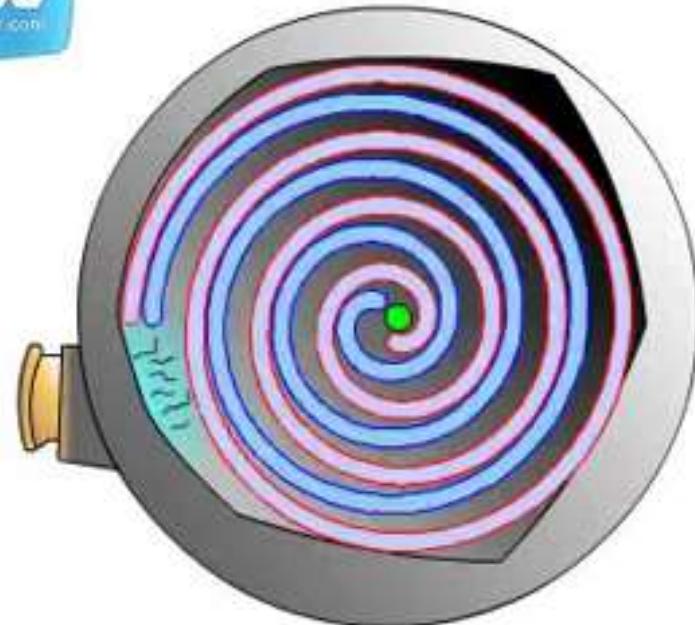
Spirálová vývěva



Mezní tlak 1 Pa
(do 2000 ot/min)

- „suchá“ vývěva bez oleje (příprava „čistého předvakua), jednoduchá údržba, bez vibrací, nízký hluk
- dvě spirály – pohyblivá a nepohyblivá, pohybem dochází k opakované komprezi a dekomprezi, která zajišťuje přečerpávání plynu nebo výpar
- mezi spirály se kontinuálně uzavírají kapsy plynu - kapsy se směrem ke středu postupně stlačují a plyn odchází střední části

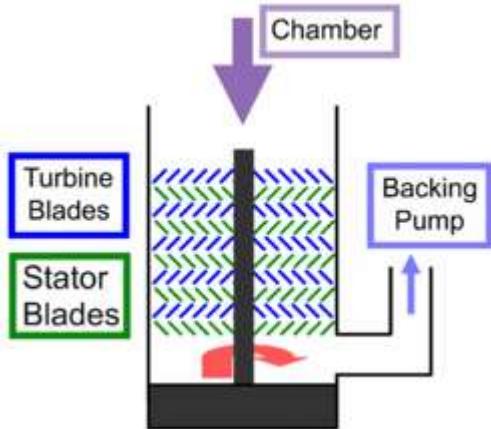
Spirálová vývěva



zdroj - <https://www.youtube.com/watch?v=s3xuICRrjos>

Vakuová technika (vysoké vakuum)

Turbomolekulární pumpa



- mezní tlak až 10^{-9} Pa, vysoká rychlosť otáčení (60 000 otáček/min)
- stator i rotor se skládá z lopatek – molekuly plyny postupně strhávány do spodních pater čerpadla

Turbomolekulární vývěva



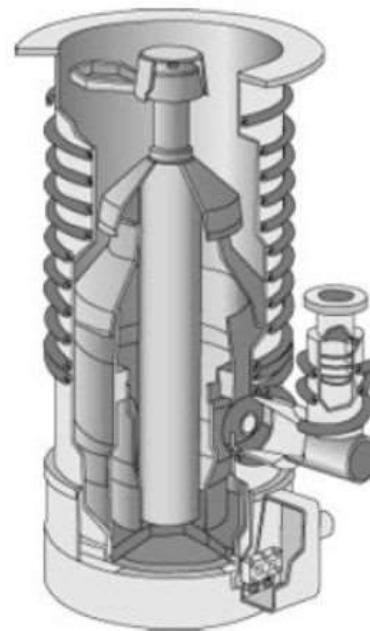
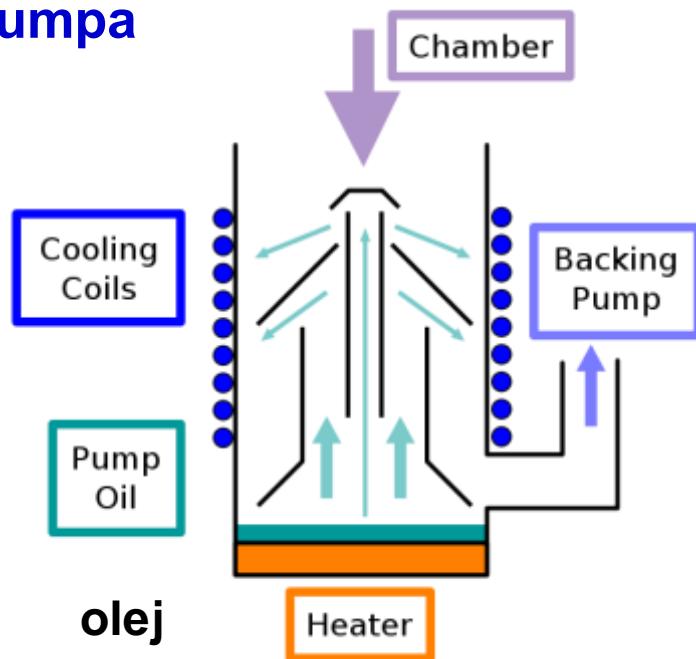
COMPACT FOOTPRINT

Edwards nEXT85 turbomolecular pump

Zdroj - <https://www.youtube.com/watch?v=8gNDDltrlBc>

Vakuová technika (vysoké vakuum)

Difúzní pumpa



- ohřívač odpařuje olej, jehož páry proudí zpět velkou rychlostí
- molekuly plynu jsou pak strhávány proudem par směrem k výfuku
- olej kondenzuje v důsledku chlazení (vodou) na stěnách a vrací se zpět
- mezní tlak 10^{-7} Pa
- vývěva neobsahuje pohyblivé části – dlouhá životnost

Difusní vývěva

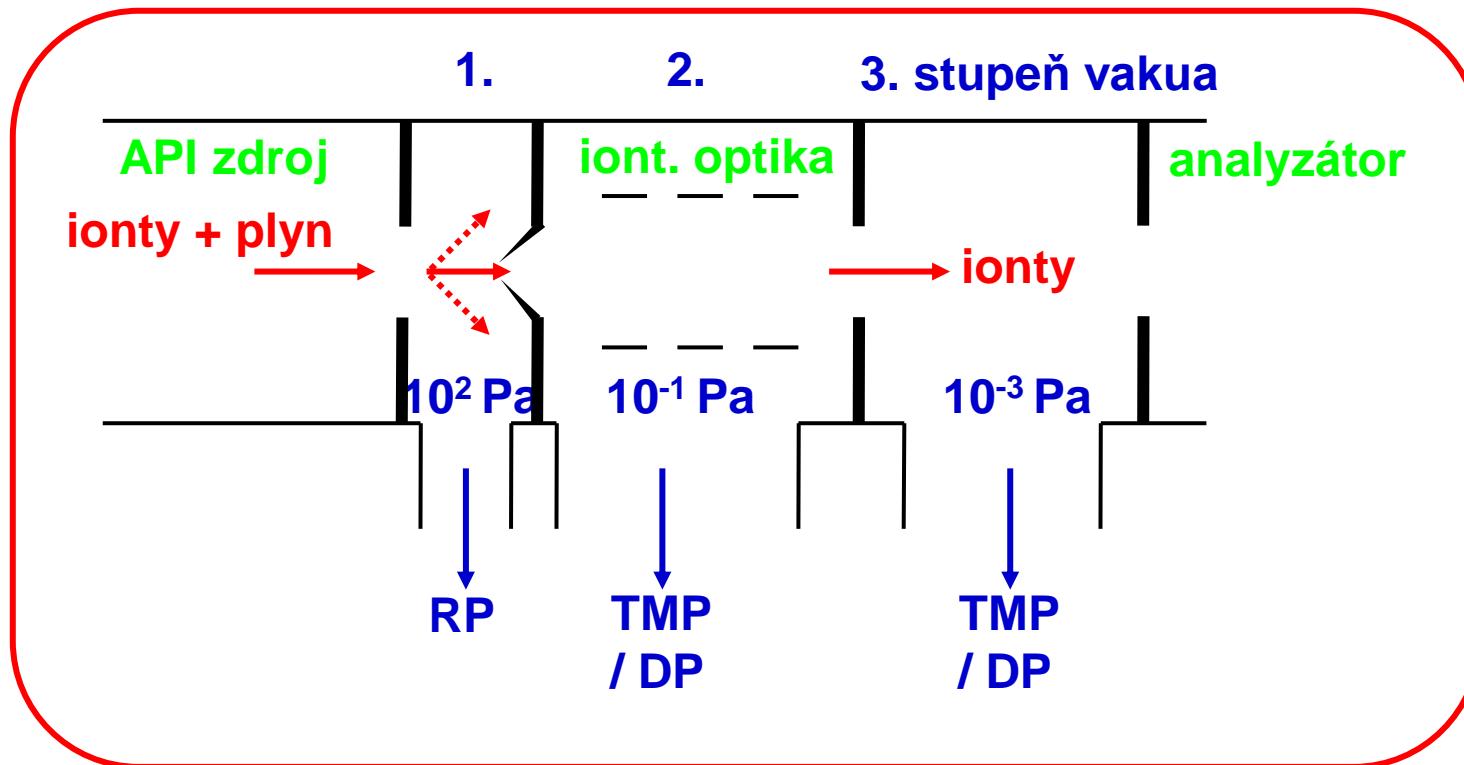


Oil Diffusion Pumps DIP

- High pumping speed 3.000 to 50.000 l/s
- No revolving parts - no wear
 - Simple operation
 - Long maintenance intervals
 - Innovative power efficiency controller

Vakuová technika

- příklad 3 stupňového vakuového čerpání



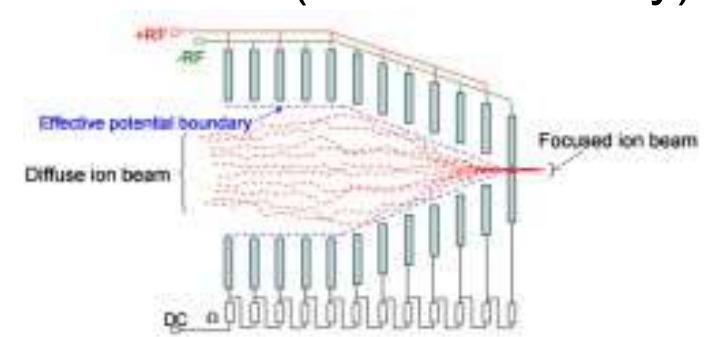
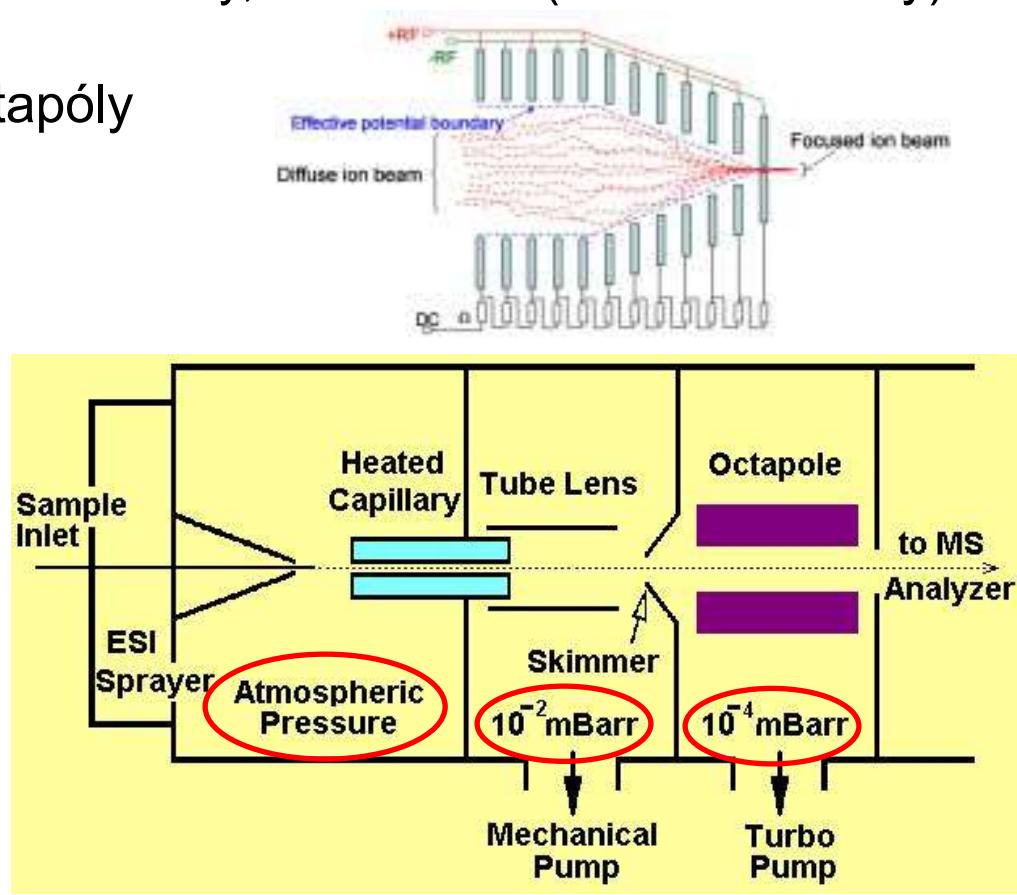
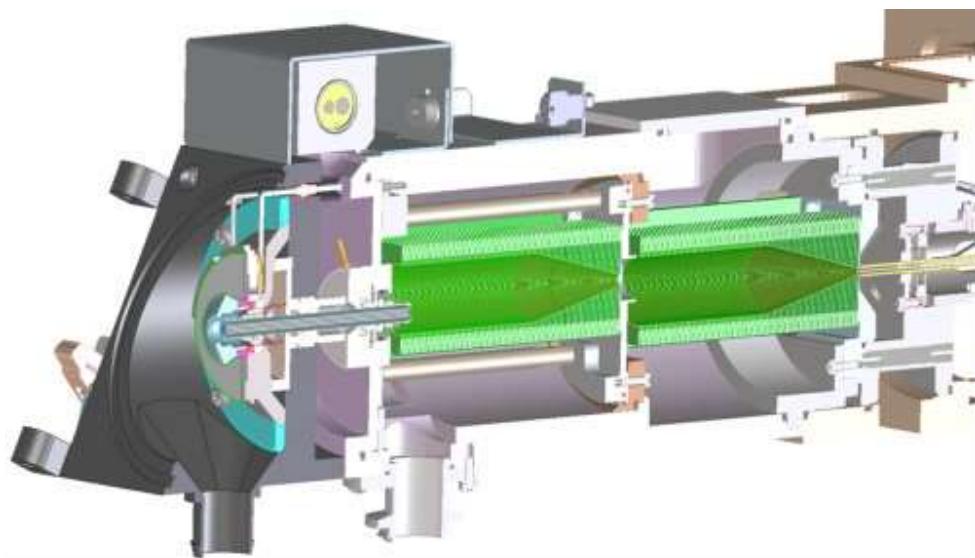
RP ... rotační pumpa

TMP ... turbomolekulární
pumpa

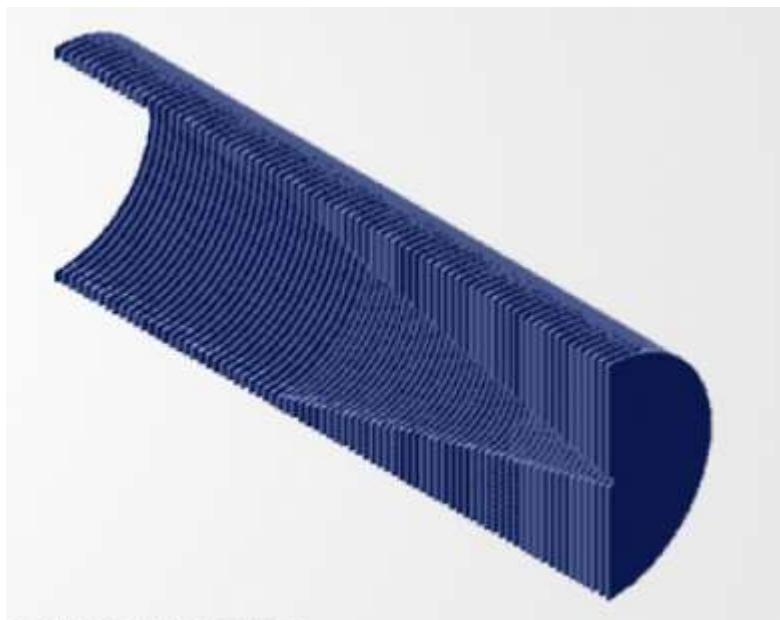
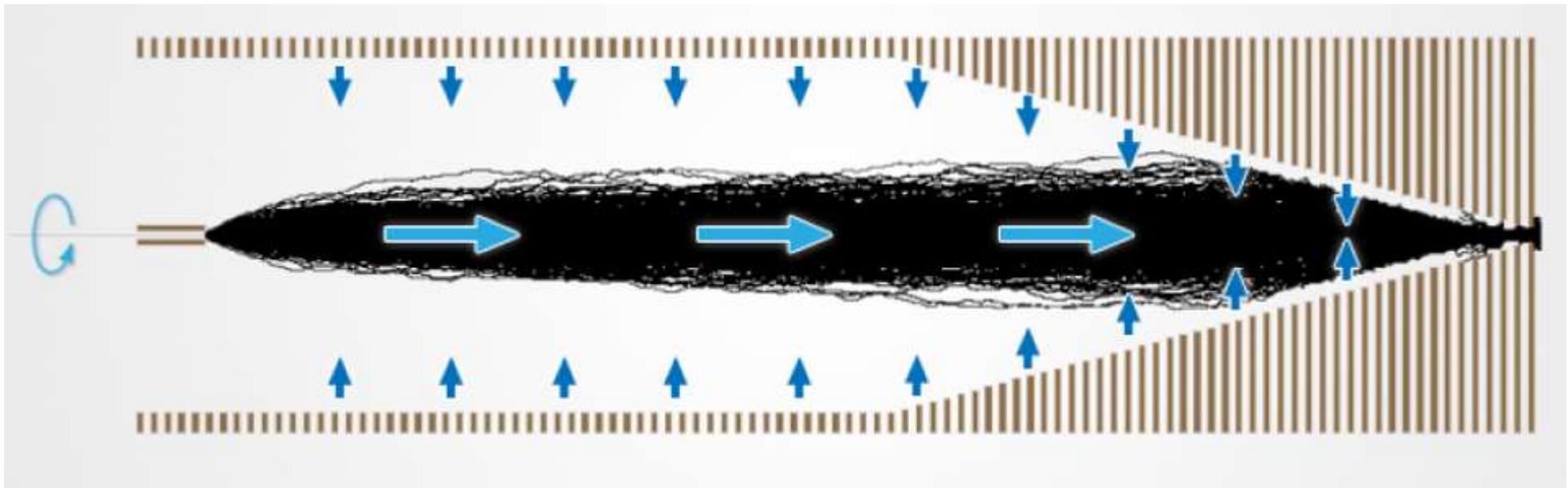
DP ... difúzní pumpa

Iontová optika

- volba vhodného napětí na elektrických elementech pro zajištění transportu a zaostření (odklonění) iontů (odstranění neutrálních nenabitých molekul)
- výrazně ovlivňují výsledky měření - citlivost, rozlišovací schopnost, přesnost
- pracují za různých tlaků
 - přechod mezi atmosférickým tlakem a vakuem - skleněné kapiláry
 - přechody mezi různými stupni vakua - skimmery, ion funnels (iontové nálevky)
 - usměrňování iontů ve vakuu
- urychlení a transport iontů - hexapóly, oktapóly
- zaostření (fokusace) iontů - ion funnels

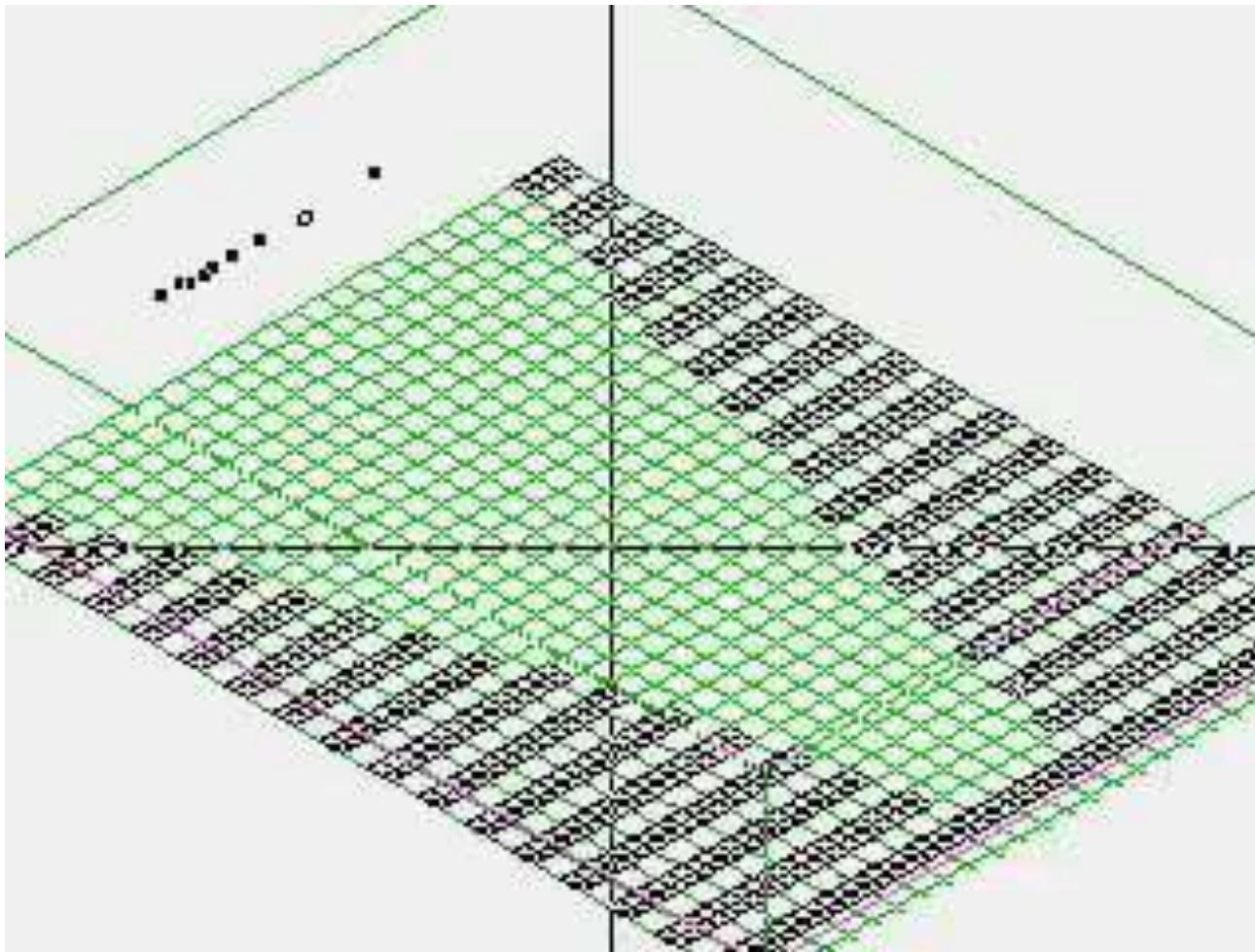


Iontová nálevka („ion funnel“)



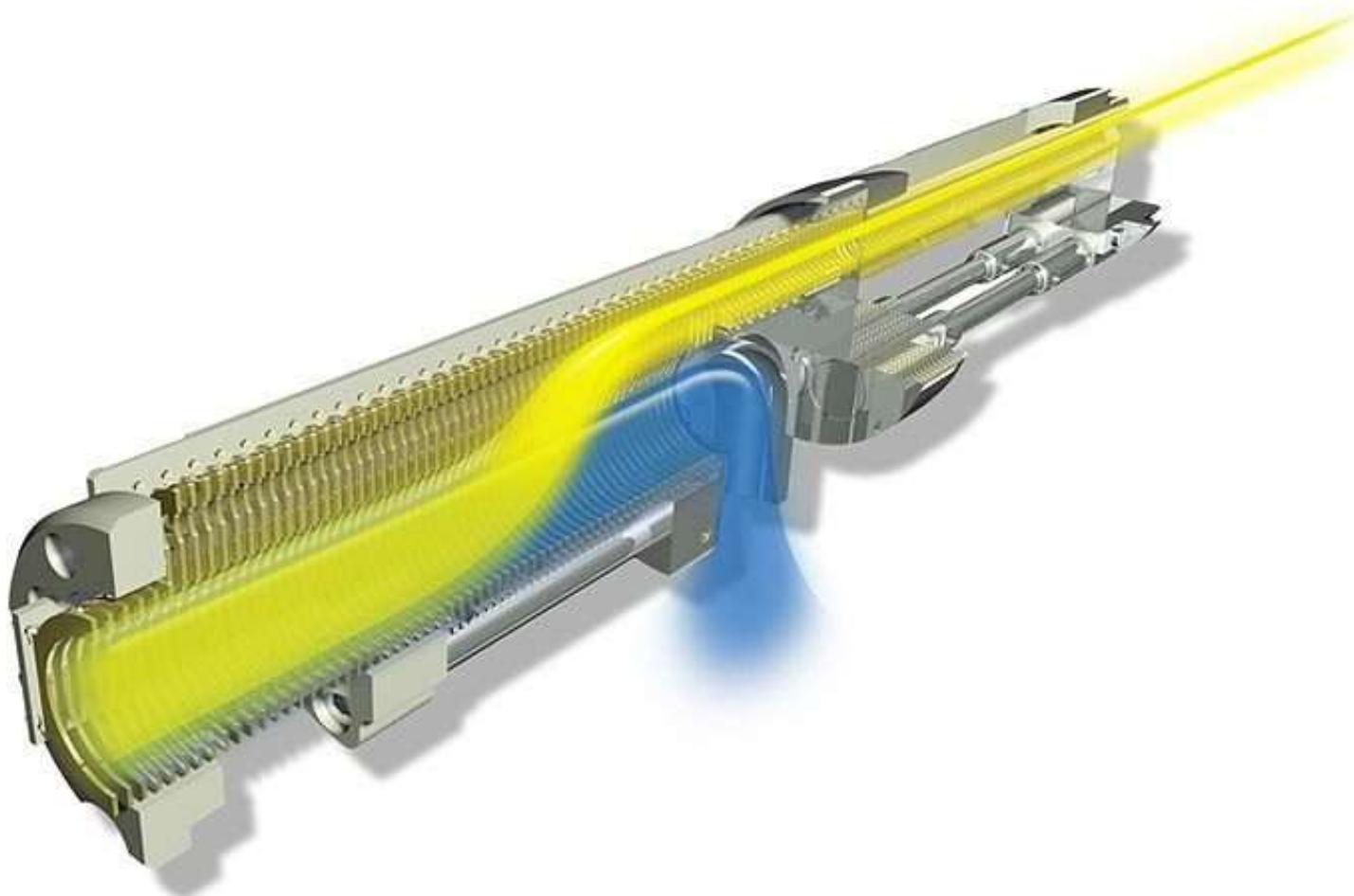
- koaxiální systém kroužkových elektrod s rozdílným vnitřním průměrem
- stejnosměrné napětí (gradient napětí žene ionty dopředu)
- pulsy vhodného střídavého napětí na kroužkových elektrodách ionty zaostřují radiálně do středu

Iontová nálevka („ion funnel“)



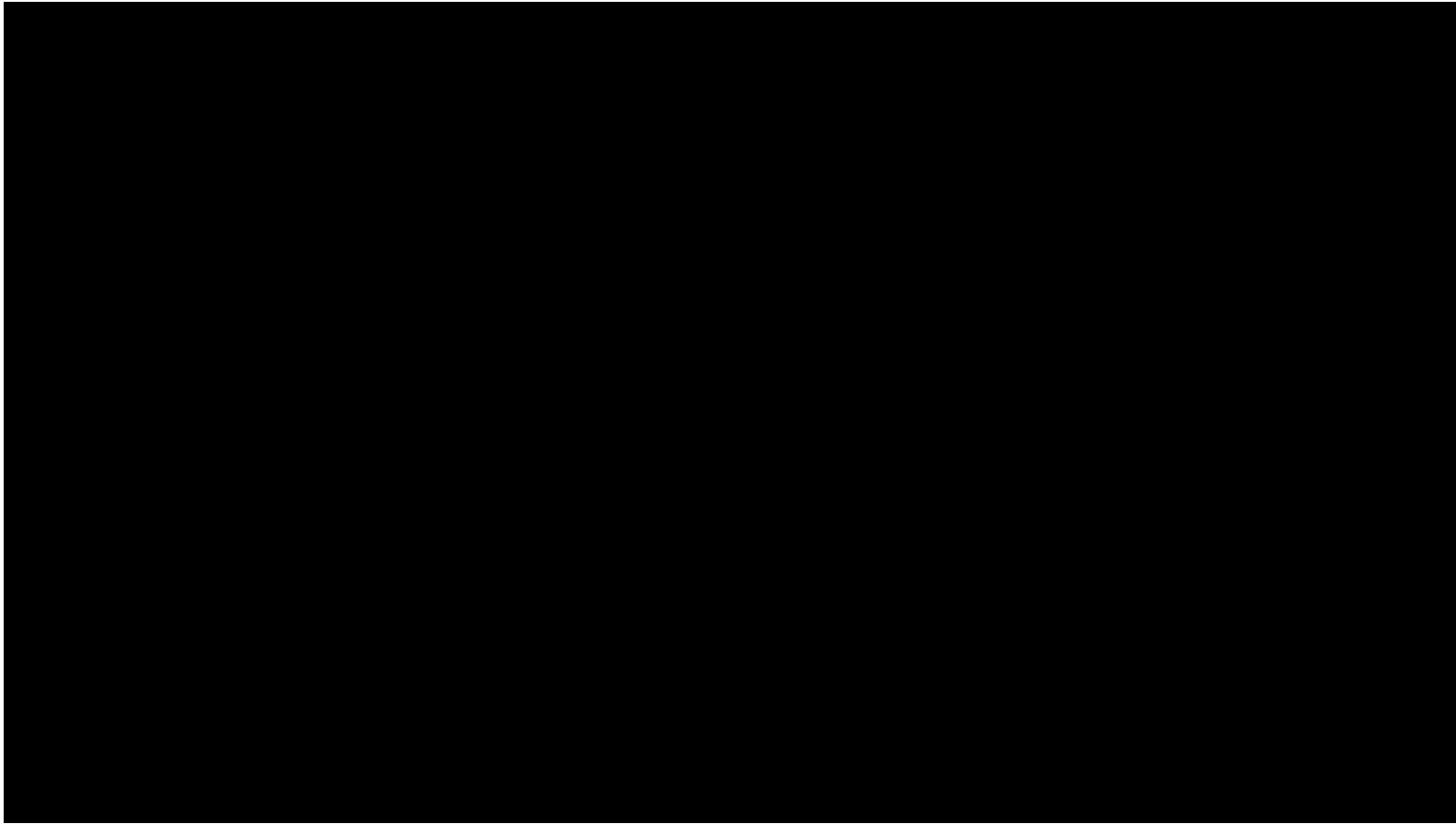
<https://www.youtube.com/watch?v=e5EhfbltE1U>

„Step wave“ iontová optika



- 2 stupně systémů elektrod - vzájemně jsou mimo osu (RF iontový tunel)
- Ionty projdou do horního stupně – rozpouštědlo a neutrální molekuly neprojdou

„Step wave“ iontová optika



- 2 stupně systémů elektrod - vzájemně jsou mimo osu (RF iontový tunel)
- Ionty projdou do horního stupně – rozpouštědlo a neutrální molekuly neprojdou