

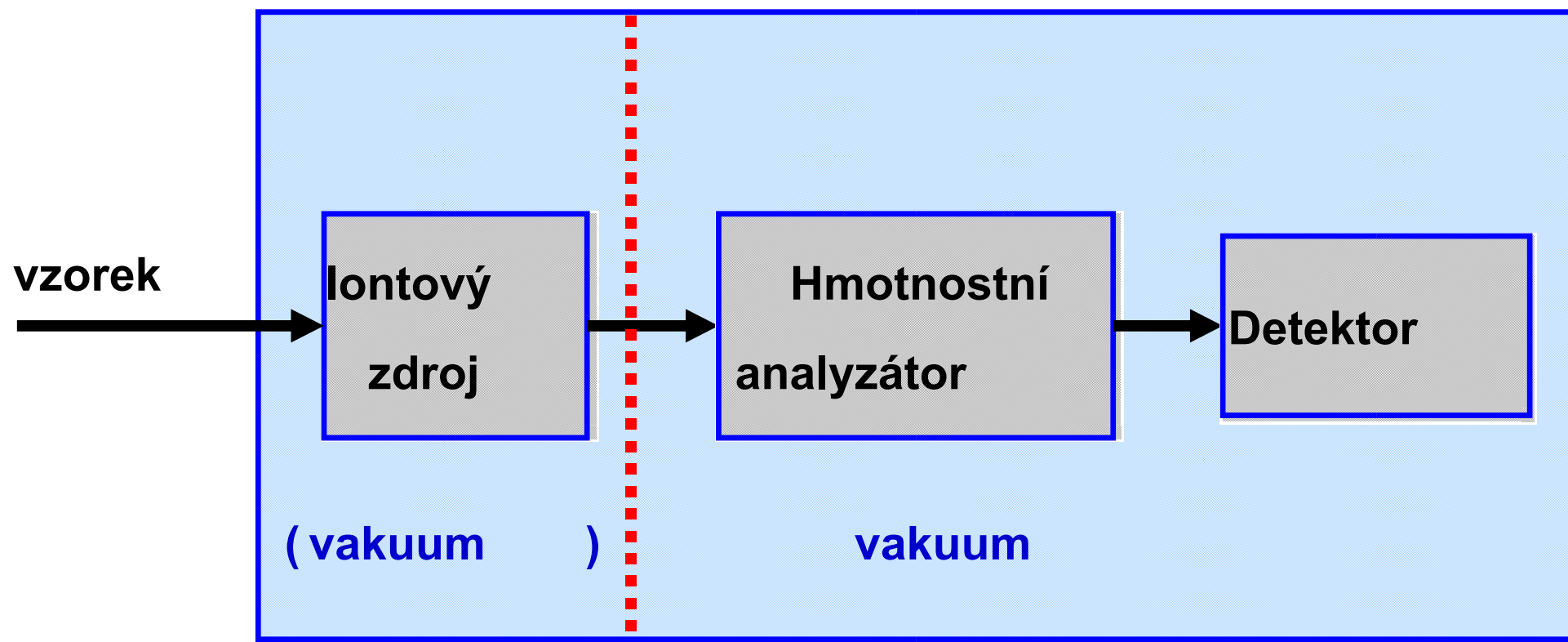
základy hmotnostní spektrometrie

prof. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., DABCC

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 relativních intenzit jednotlivých iontů
- **Hmotnostní spektrometr** je iontově-optické zařízení, které rozlišuje ionty podle poměru jejich m/z
 - + vysoká citlivost
 - + kvalitativní analýza - určení M_R a dalších strukturních informací
 - + kvantitativní analýza - odezva je závislá na koncentraci
 - + minimální spotřeba vzorku
- je to destruktivní metoda, tzn. z analyzovaného materiálu nic nezůstane

hmotnostní spektrometr



- iontový zdroj: převede neutrální molekuly analytu na ionty, tj. !! bez ionizace není hmotnostní spektrometrie!!

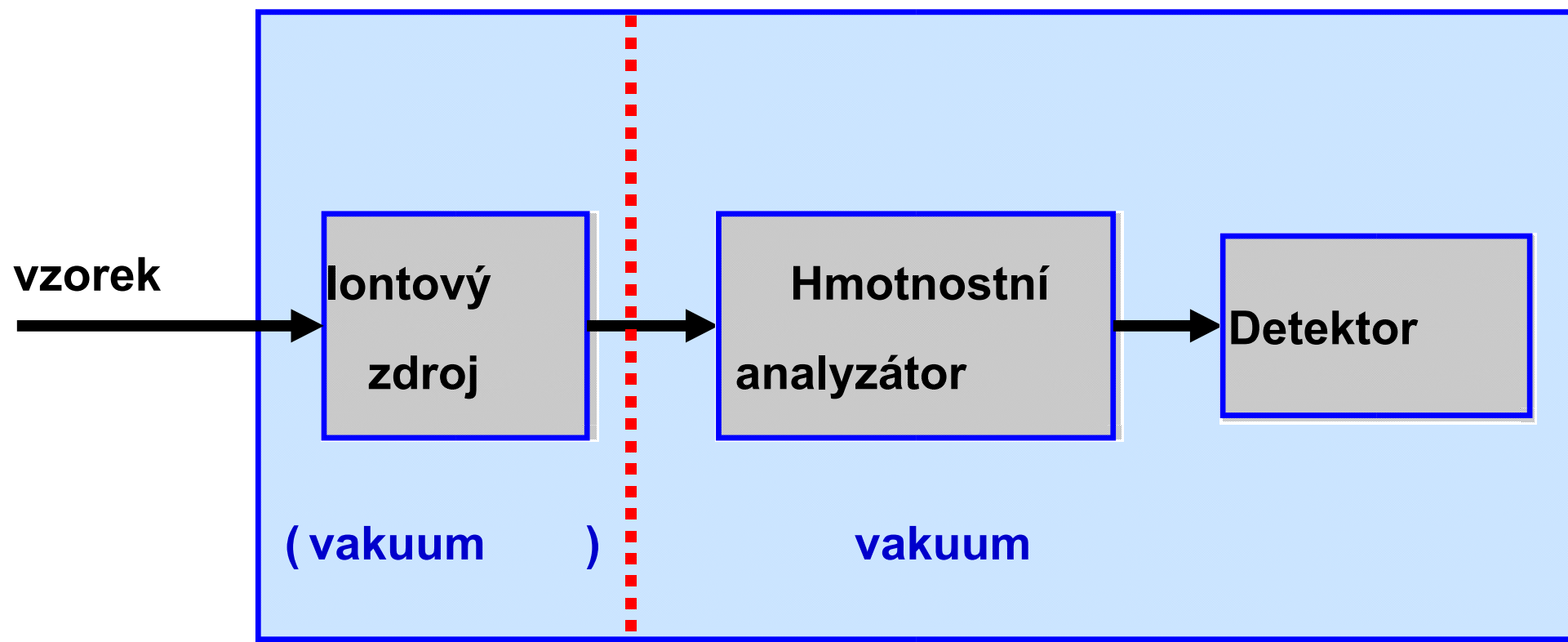
základní pojmy

- hmotnostní spektrometr - zařízení, které měří m/z hodnoty a zaznamenává jejich intenzitu
- m/z - bezrozměrná veličina získaná vydělením hmotnosti iontu nábojovým číslem (počtem elementárních nábojů, bez ohledu na polaritu)
- hmotnostní spektrum - graf závislosti intenzity iontů (absolutní/relativní) na jejich m/z - ne chromatogram

- 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 "dceřinný ion"
- fragmentový ion - produktový ion vzniklý disociací iontu prekurzoru
- 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 $1 \text{ u} = 1 \text{ Da} = 1.6605402(10) \times 10^{-27} \text{ kg}$

- molekulární ion - ion vzniklý odebráním nebo přidáním jednoho a více elektronů za vzniku kladného nebo záporného iontu
- protonovaná molekula - ion vzniklý interakcí molekuly s protonem, $[M+H]^+$
- deprotonovaná molekula - ion vzniklý odštěpením protonu, $[M-H]^-$
- celkový iontový proud - suma iontových proudů všech m/z ve spektru
- celkový iontový chromatogram - závislost sumy iontových proudů všech m/z ve spektru na čase
- extrahovaný iontový chromatogram - závislost vybrané m/z na čase
- záznam vybraného iontu - měření vybrané m/z v závislosti na čase

hmotnostní spektrometr



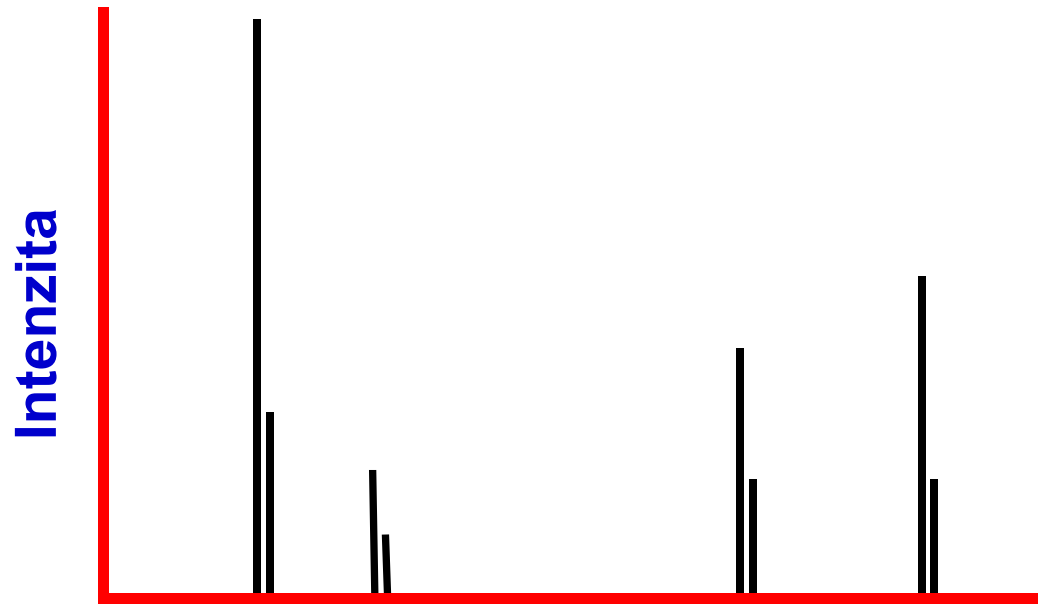
- iontový zdroj: převede neutrální molekuly analytu na ionty, tj. !! bez ionizace není hmotnostní spektrometrie!!

detekce iontů

- ionty po rozdělení v hmotnostním analyzátoru dopadají na detektor iontů, který generuje signál z dopadajících iontů
 - tvorba sekundárních elektronů, které se následně zesilují
- indukce proudu po dopadu iontů
- používají se různé detektory

hmotnostní spektrum

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



- měří se intenzita iontů v závislosti na m/z (osa x):

dnešní využití hmotnostní spektrometrie v klinické laboratoři

- zásadní technika pro analýzu nízkomolekulárních látek, léčiv a metabolitů léčiv, steroidních hormonů a mnoha dalších
- zásadní aplikace MALDI TOF v mikrobiologii při typizacích
- rozvíjí se aplikace zaměřené na analýzy proteinových komponent biologických vzorků, obdobně i lipidových komponent

-vysvětlení elektrokinetických jevů, ale hodně matematiky
- <https://www.youtube.com/watch?v=vuLrmgmJ54E>
-přehledové video Shimadzu
- <https://www.youtube.com/watch?v=L0io0p55msk>
-sciex, komplexní video
- <https://www.youtube.com/watch?v=uvn6fg9id3Q>

MS a laboratorní automatizace

- v současné době se vyvíjí technologie, které umožní spojit hmotnostní spektrometrii s analytickými linkami automatických analyzátorů
- tj. pro proces hmotnostní analýzy uplatnit jinak běžný princip pacient-selektivní analýzy
- podmínkou takového rozvoje je vysoce robustní, spolehlivé MS zařízení, které nebude vyžadovat specificky proškolenou obsluhu v klinické laboratoři