

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

## امکان‌سنجی طیف‌سنجی جرمی زمان پرواز آمینواسیدها به روش جدید لیزری

پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیمی فیزیک

نقیسه پناهی اصفهانی

استاد راهنما

پروفسور محمود تبریزی

استاد مشاور

دکتر حسین فرخ پور



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی فیزیک نفیسه پناهی اصفهانی

تحت عنوان

**امکان سنجی طیف سنجی جرمی زمان پرواز آمینواسیدها به روش جدید لیزری**

در تاریخ ۱۳۹۲/۱۱/۱ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

پروفسور محمود تبریزی

۱- استاد راهنمای پایان نامه

دکتر حسین فرخ پور

۲- استاد مشاور پایان نامه

پروفسور سید حسن قاضی عسگر

۳- استاد داور

دکتر محمد محسن مؤمنی

۴- استاد داور

دکتر علیرضا نجفی چرمهینی

سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده

سایش برای خداست؛ آن نخستین بی آغاز و آن واپسین بی انجام. او که دیده‌ی بینندگان از دیدنش فرماند، و اندیشه‌ی وصف‌کنندگان ستودنش نتواند. آفریدگان را به قدرت خود آفرید، و به خواست خویش بر آنان جامه‌ی هستی پوشید. ای آنکه گره کارهای فرو بسته به سرانگشت تو گشوده می‌شود، و ای آن که دشواری‌ها با تو آسان می‌گردد، و ای آن که راه‌گزین به سوی ربانی و آسودگی را از تو باید خواست.

خدایا، چنان کن که رغبت من به درخواست کردن از تو، همچون رغبت اولیای تو باشد. بخواهم خواهش، و آن گونه از تو بسمناک باشم که دوستان تو از تو بسمناک اند، و مراد راه خشودی خود چنان به کار دار که چیزی از احکام دین تو را به سبب ترس از آفریدگانت فرو نگذارم. خدایا، اعتماد و امید من در همه‌ی کارها به توست. پس برای من چیزی را مقدر کن که سرانجامش از همه نیکوتر است، و مرا از قضاة‌های گمراه‌کننده ربانی بخش، ای مهربان‌ترین مهربانان.

خدایا، چنان کن که فرمانبرداری از پدر و مادر و نیکی کردن من در حق ایشان، برای من از خواب در چشم خواب آلودگان شادی آورتر، و از آب خنک در کام تشنگان کوارتر باشد، تا خواهش ایشان را بر خواهش خود ترجیح دهم، و خرنندی آنان را بر خرنندی خود مقدم دارم، و نیکی آن دو در حق خودم را بسیار بینم، اگر چه اندک باشد، و نیکی خود در حق آنان را اندک بینم، اگر چه بسیار بود.

خدایا، راسبی ساگرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصیب ساخته تا در سید درخت پر بار و جودشان بیاسیم و از ریشه آنها شاخ و برگ کسیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش استفاده نمایم. والدینی که بود نشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم، زیرا این دو وجود، پس از پروردگار، یایه هستی ام بوده اند. دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند. آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند.

و جود اقدس الهی را پاس می‌گویم که نعمت، همسری عزیز، فداکار و مهربان را به من منت نهاد. همدلی که محطی سرشار از سلامت، امنیت، آرامش و آسایش برایم فراهم آورده است.

از معبودم به خاطر وجود برادر عزیز و کرامت‌مردم و خواهران مهربان و خانواده گرامی، بمسرم که مشوق را هم بودند. مشکرم می‌نمایم.

خدایا، بزرگ را ساگرم که توفیق درس آموزی و کسب علم و معرفت را به بنده حقیر عطا نمود تا در محضر اساتید بزرگوارم، پر وفور تمبری‌چی و دکتر فرخ پور کسب فیض نمایم چرا که تجربیات و دانسته‌هایشان را سخاوتمندانه چراغ راهم قرار دادند و بارها بهانی‌های بی‌دیانتان سختی‌ها را برایم هموار نمودند. لذا از خداوند سبحان برایشان موفقیت روز افزون طلب می‌نمایم.

در پایان از تمام دوستانم در آزمایشگاه لیزر و آزمایشگاه تحقیقاتی شیمی فیزیک به ویژه سرکار خانم آبیار کمال مشکرم را می‌نمایم.

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات  
و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه  
متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به:

شهدای راه حق و حقیقت

که جان آن ها ضامن بقای معنوی باشد

واسطوره های ایثار و فداکاری

پدر و مادر مهربانم

و

همسر عزیزم

که همه موفقیت هایم را مدیون حمایت ها و دعا های ایشان هستم.

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فهرست مطالب.....	هشت
چکیده.....	۱
<b>فصل اول: مقدمه</b>	
۱-۱- طیف سنجی جرمی.....	۲
۱-۱-۱- منابع یونش.....	۴
۱-۱-۲- تجزیه گر جرمی.....	۷
۱-۱-۳- آشکارساز یونی و پردازنده.....	۹
۲-۱- طیف سنجی جرمی زمان پرواز.....	۹
۱-۲-۱- تاریخچه.....	۹
۲-۲-۱- اصول اساسی طیف سنجی جرمی زمان پرواز.....	۱۰
۳-۲-۱- کالیبراسیون جرمی.....	۱۱
۳-۱- طیف سنجی جرمی اتصال یون.....	۱۲
۳-۱-۱- طیف سنجی جرمی یونش شیمیایی و اتصال یون لیتیم به مولکول استون.....	۱۳
۳-۱-۲- طیف سنج جرمی پشت سرهم و اتصال یون لیتیم به پلی گلیکول.....	۱۴
۳-۱-۳- مطالعه تئوری برهم کنش کاتیون های فلزات قلیایی با گلايسين.....	۱۴
۳-۱-۴- تعیین انرژی اتصال کاتیون لیتیم به آمینواسیدها در فاز گازی.....	۱۵
۳-۱-۵- منبع نشر کاتیون قلیایی توسط ترکیبات بین لایه سازی شده گرافیت.....	۱۶
۳-۱-۶- طیف سنجی جرمی MALDI و شناسایی فسفولیپیدها.....	۱۷
۳-۱-۷- طیف سنجی جرمی اتصال یون $Li^+$ فشرده.....	۱۹
۴-۱- هدف از این پایان نامه.....	۲۰
<b>فصل دوم: دستگاهوری</b>	
۱-۲- اجزای اصلی طیف سنج جرمی زمان پرواز.....	۲۱
۱-۱-۲- ناحیه یونیزاسیون.....	۲۳
۲-۱-۲- لوله پرواز.....	۲۳
۳-۱-۲- آشکارساز.....	۲۵

۲۵	۲-۲- منبع یونیزاسیون .....
۲۷	۳-۲- سیستم خلأ .....
۲۷	۲-۳-۱- پمپ چرخشی مکانیکی .....
۲۸	۲-۳-۲- پمپ توربو مولکولار .....
۲۹	۴-۲- منبع تغذیه .....
۳۰	۵-۲- سیستم ثبت داده‌ها .....
۳۱	۶-۲- فوتودیود .....
۳۲	۷-۲- صفحه مخصوص نمونه .....
۳۲	۸-۲- آماده‌سازی نمونه .....
۳۳	۹-۲- تشکیل طیف‌های زمان پرواز .....
	<b>فصل سوم: نتایج تجربی</b>
۳۵	۳-۱- روش جدید یونش لیزری .....
۳۵	۳-۲- طیف جرمی صفحه ژلیت (استیل) .....
۴۰	۳-۳- طیف جرمی نمک سدیم فلوراید .....
۴۳	۳-۴- طیف جرمی آمینواسید فنیل آلانین و نمک سدیم فلوراید .....
۵۲	۳-۵- طیف جرمی آمینواسید فنیل آلانین و نمک لیتیم کلراید .....
۵۶	۳-۶- طیف جرمی آمینواسید والین و نمک لیتیم کلراید .....
۵۹	۳-۷- طیف جرمی آمینواسید آلانین و نمک لیتیم کلراید .....
۶۲	۳-۸- طیف جرمی آمینواسید پرولین و نمک لیتیم کلراید .....
۶۵	۳-۹- بحث و نتیجه‌گیری .....
۶۶	۳-۱۰- پیشنهادات و آینده‌نگری .....
۶۷	<b>مراجع</b> .....



## چکیده

طیف‌سنجی جرمی یکی از حساس‌ترین روش‌ها در آنالیز مواد است. در این روش مولکول‌ها و اتم‌های خنثی یونیزه می‌شوند. سپس در میدان الکتریکی، مغناطیسی و یا الکترومغناطیسی جداسازی و توسط آشکارساز، شناسایی می‌شوند. طیف‌سنج جرمی زمان پرواز یکی از ساده‌ترین، پرکاربردترین و سریع‌ترین دستگاه‌های تجزیه‌گر جرمی است. در این پایان‌نامه از طیف‌سنج جرمی زمان پرواز ساخته شده در آزمایشگاه لیزر دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی اصفهان برای بررسی طیف جرمی آمینواسیدهای فنیل‌آلانین، آلانین، والین و پرولین استفاده شده است. در طیف‌سنج جرمی زمان پرواز مورد استفاده در این تحقیق، از لیزر Nd:YAG با طول موج 1064 nm به عنوان منبع یونیزاسیون استفاده شده است. در این تحقیق، از روش جدیدی که برای اولین بار در آزمایشگاه لیزر دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی اصفهان معرفی شد استفاده شد. در این روش نور لیزر به پشت صفحه استیلی حاوی اسید آمینه و نمک قلبایی تابانده شد و به دلیل عدم برهمکنش مستقیم نور و نمونه، قطعه قطعه شدن مولکول اسید آمینه به حداقل رسیده یا اصلاً مشاهده نگردید. با تابش لیزر به پشت صفحه، مولکول اسید آمینه به همراه نمک قلبایی از سطح تبخیر شده و کاتیون‌های قلبایی به اسید آمینه متصل می‌شوند. در این تحقیق ابتدا طیف صفحه از جنس استیل نازک (1/1 mm) بدون نمونه ثبت شد که شامل یون‌های  $K^+$ ،  $Cr^+$ ،  $Mn^+$  و  $Fe^+$  بود که از این یون‌ها برای کالیبراسیون جرمی استفاده شد. همچنین طیف دو نمک سدیم فلوراید و لیتیم کلراید بر روی صفحه استیل نیز، هر کدام جداگانه ثبت گردید و یون‌های  $Na^+$ ،  $Na(NaF)^+$ ،  $Li^+$  و  $Li(LiCl)^+$  مشاهده شدند. سپس فنیل آلانین و سدیم فلوراید بر روی صفحه گذاشته شدند و طیف آن ثبت شد. در این طیف گونه  $[Phe+2Na-H]^+$  مشاهده شد. آزمایش با نمک لیتیم کلراید نیز تکرار شد و این نتیجه بدست آمد که لیتیم بهتر از سدیم به اسید آمینه‌ها متصل می‌شود. از این رو راندمان یونش بیشتری دارد. همچنین طیف فنیل آلانین، آلانین، والین و پرولین با نمک لیتیم کلراید ثبت شد. در این روش یون‌هایی مشابه یون‌های مشاهده شده در روش MALDI مشاهده شدند. تمام اسیدهای آمینه یون‌هایی به فرم  $[Amino\ Acid+2Li-H]^+$  تشکیل دادند.

**کلمات کلیدی:** طیف‌سنج جرمی زمان پرواز، آمینواسید، یونیزاسیون لیزری، طیف‌سنج جرمی

## فصل اول

### مقدمه

#### ۱-۱ طیف‌سنجی جرمی<sup>۱</sup>

طیف‌سنج جرمی، یک ابزار حیاتی برای تحقیق در همه زمینه‌های علمی از جمله زمین‌شناسی، فیزیک، مواد، شیمی، بیوشیمی و شیمی دارویی می‌باشد. این تکنیک در گستره وسیعی از جمله آنالیز عنصری<sup>۲</sup>، آنالیز سطح (با اصلاح و تغییر در روش)، اندازه‌گیری جرم مولکولی، شناسایی ساختار مولکولی، بررسی واکنش پذیری فازگازی و برای تعیین غلظت اجزای یک نمونه به کار گرفته می‌شود. این روش تقریباً برای شناسایی تمام عناصر موجود در جدول تناوبی کاربرد دارد. اساساً هر اتم یا مولکولی که توانایی یونیزه شدن و انتقال به فازگازی را داشته باشد، می‌تواند توسط این تکنیک مورد تجزیه قرار گیرد. اساس کار این دستگاه جداسازی یون‌های متحرک از یکدیگر بر اساس نسبت جرم به بار ( $m/z$ ) است.

---

<sup>1</sup> Mass Spectrometry

<sup>2</sup> Elemental Analysis

اجزای اصلی دستگاه طیف سنج جرمی شامل موارد زیر می شود [۱]:

- سیستم ورود نمونه<sup>۱</sup>:

نقش این قسمت، وارد کردن مقداری از نمونه به درون منبع یونش است که می تواند مستقیماً یا از طریق واسطه های دستگاه کروماتوگرافی (مانند کروماتوگرافی مایع یا گاز یا الکتروفورزموئینه) صورت گیرد. در مورد دوم، ترکیبات شیمیایی که در دستگاه های کروماتوگرافی یا الکتروفورز جدا سازی شده اند، به ترتیب وارد طیف سنج جرمی شده و اطلاعات تجزیه ای مختلفی از آن ها به دست می آید.

- منبع یون<sup>۲</sup>:

اجزای نمونه بوسیله بمباران با الکترون ها، فوتون ها، یون ها یا مولکول ها به یونهای گازی تبدیل می شوند یا اینکه یونش بوسیله انرژی گرمایی یا الکتریکی انجام می شود. خروجی منبع یون جریانی از یونهای گازی مثبت یا منفی است که سپس به درون تجزیه گر جرمی شتاب داده می شود. اکثر یونهای ایجاد شده تک بارند و بنابراین نسبت  $m/z$  به سادگی برابر با جرم یون است.

- تجزیه گر جرمی<sup>۳</sup>:

مسئول جداسازی یون ها بر اساس  $m/z$  است که مشابه تکفام ساز در طیف سنج نوری عمل می کند، با این تفاوت که به جای جداسازی طول موج های یک طیف نوری، یون ها براساس نسبت  $m/z$  جداسازی می شود.

- آشکارساز یون<sup>۴</sup>:

این قسمت هر یک از یونهای جدا شده توسط تجزیه گر جرمی را به یک سیگنال الکتریکی تبدیل می کند.

- پردازشگر سیگنال:

داده ها پردازش شده و در حافظه یک رایانه ذخیره می شوند. داده های به دست آمده در نهایت ثبت یا نمایش داده می شوند.

---

<sup>1</sup> Sample Inlet

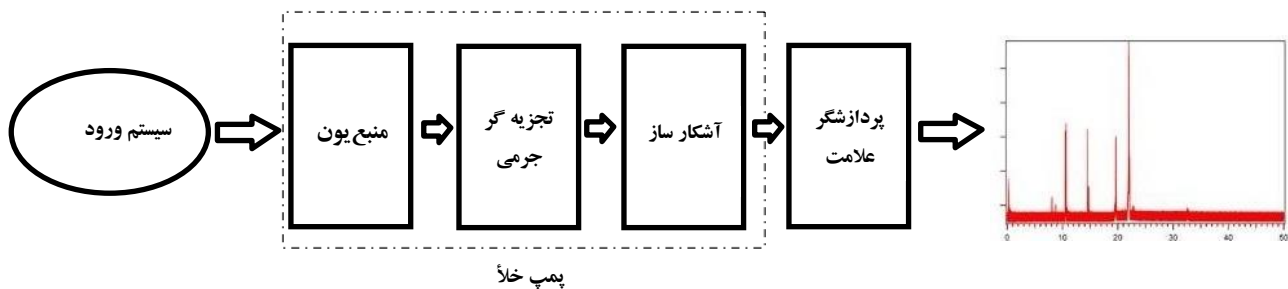
<sup>2</sup> Ion Source

<sup>3</sup> Mass Analyzer

<sup>4</sup> detector

• سیستم خلأ:

به خاطر واکنش پذیری بسیار بالای یون‌های تولید شده، انجام عملیات بر روی آنها باید در خلأ بسیار بالا انجام شود. منبع یون، تجزیه گر جرمی و آشکارساز، در شرایط خلأ بالا ( $10^{-8}$  -  $10^{-5}$ ) میلی متر جیوه قرار دارند. اجزای دستگاه طیف سنج جرمی به طور شمایی در شکل ۱-۱ نمایش داده شده است.



شکل ۱-۱ اجزای اصلی یک طیف سنج جرمی.

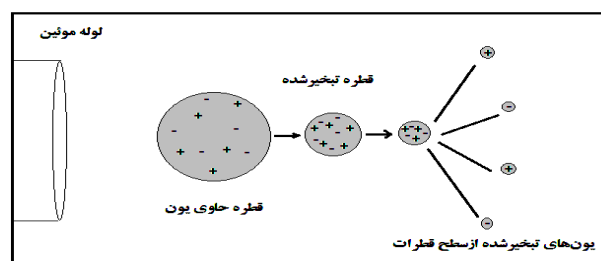
در ادامه انواع و اصول حاکم بر هر یک از اجزا ذکر شده به طور مختصر مورد بررسی قرار می گیرد.

۱-۱-۱ منابع یونش

بسته به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه، روش‌های متفاوتی برای یونیزه کردن نمونه به کار می رود. یکی از فاکتورهای اساسی در این انتخاب، پایداری گرمایی نمونه است [۲]. به طور کلی از چهار روش برای یونیزاسیون استفاده می شود:

• یونیزاسیون افشانه‌ای<sup>۱</sup>

این روش بیشتر در مورد نمونه‌های ناپایدار در برابر گرما به کار می رود. اعمال ولتاژ الکتریکی بین بخش ورودی نمونه (مانند لوله‌ی موئینه) و الکتروود کمکی<sup>۲</sup>، موجب تولید مستقیم قطره‌های باردار از محلول نمونه می شود. مولکول‌های باردار شده، از سطح قطره‌های اسپری واجذب شده و مسیر باقیمانده در طیف سنجی جرمی را طی می کنند. بار یون مولکول‌های تولید شده (مثبت یا منفی) به علامت پتانسیل اعمالی وابسته است.



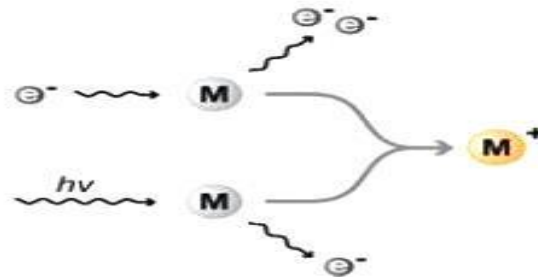
شکل ۱-۲ نمایی از یونیزاسیون افشانه الکترونیکی.

<sup>۱</sup> Spray Ionization

<sup>۲</sup> Counter Electrode

- یونیزاسیون برخورد الکترون<sup>۱</sup>

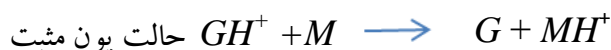
در این مورد از یونیزاسیون، مولکول‌های نمونه در حالت بخار توسط پرتویی از الکترون‌های پر انرژی (۷۰eV) بمباران می‌شود. در برخی از روش‌ها نیز، از پرتوهای پرنرژی تابش الکترومغناطیس استفاده می‌شود. در نتیجه این برخورد، الکترونی از بالاترین تراز الکترونی خارج شده و فرم یونی گونه تولید می‌گردد. به دلیل انرژی زیاد موجود در این فرایند، یون مولکول<sup>۲</sup> تولید شده می‌تواند به یون مولکول‌های کوچکتر تبدیل شده یا دچار نوآرایی شود. یون مولکول عبارت از یونی است که جرم مولکولی ماده اولیه را داشته و لذا (به جز باردار بودن) تفاوت ساختاری با مولکول‌های ماده اولیه ندارد. این روش را در مورد ترکیبات فرار می‌توان استفاده کرد.



شکل ۱-۳ نمایی از یونیزاسیون برخورد الکترون [۲].

- یونیزاسیون شیمیایی<sup>۳</sup>

یون مولکول گونه مورد نظر، در اثر واکنش مولکول‌های گازی نمونه (M) با یون مولکول‌های گازی واکنشگر (معمولاً آمونیاک، متان و ایزوبوتان) حاصل می‌شود. این واکنش در حقیقت یک واکنش انتقال یون هیدروژن در فاز گازی است که در دو حالت زیر صورت می‌گیرد:



یون مولکول‌های حاصله ( $MH^+$ ،  $MH$ ) برخلاف یونیزاسیون برخورد الکترون به یون مولکول‌های کوچکتر تبدیل نمی‌شوند. تمایل برای جذب پروتون برای انجام این واکنش یک پارامتر تعیین کننده است. بطور مثال در حالت یون مثبت باید تمایل برای جذب پروتون M از مولکول‌های گازی واکنشگر بیشتر باشد.

<sup>1</sup> Electron Impact Ionization - EI

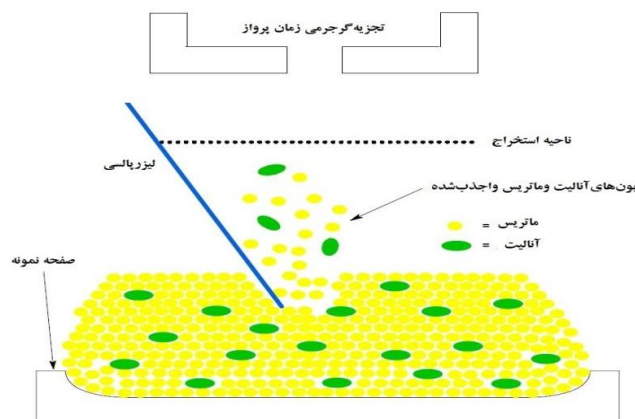
<sup>2</sup> Molecular Ion

<sup>3</sup> Chemical Ionization - CI

به طور خلاصه می توان گفت، از آن جهت که در روش یونیزاسیون شیمیایی، نمونه به جای پرتوهای پراثری با یون ها (که مسلماً انرژی برخوردی کمتری دارند) برخورد می کند، یونیزاسیون ملایم تر خواهد بود. لذا برخلاف روش برخورد الکترون، اجزای ساختاری نمونه ی اصلی دچار شکست شدیدی نمی شوند. از آنجا که ساختار اولیه زیاد تخریب نمی شود، آنالیزهایی جهت شناسایی کیفی و ساختاری نمونه معمولاً بر پایه این روش یونیزاسیون صورت می پذیرد.

#### • یونیزاسیون واجذبی<sup>۱</sup>

یونیزاسیون واجذبی بر اثر تابش پرتو پراثری به سطح و در نتیجه واجذب شدن یون از سطح نمونه فراهم می آید. می توان با توجه به نوع پرتو انتخابی (لیزر، یون و الکترون) روش هایی برای یونیزاسیون واجذبی، ذکر کرد. اگر از لیزر به عنوان پرتوی پراثری استفاده شود، این روش یونیزاسیون، یونیزاسیون لیزری به کمک زمینه<sup>۲</sup> نامیده می شود (شکل ۱-۴). در این روش، آنالیت (گونه مورد تجزیه) در شبکه ی بلوری ماده آلی (بعنوان زمینه یا ماتریکس) قرار داده شده و تحت تابش اشعه لیزر قرار می گیرد. ماتریکس توانایی جذب اشعه لیزر (معمولاً ۳۳۷ nm) را دارا می باشد. لیزر باعث واجذب و یونیزاسیون نمونه و زمینه می شود که در نتیجه ی آن یون های گازی با بار مثبت (برای مثال پروتون دار شدن یا کاتیون دار شدن) یا یون هایی با بار منفی (برای مثال پروتون زدایی) تولید می شود. البته هنوز مکانیسم دقیق واجذب و یونیزاسیون در این روش مشخص نیست. نمونه در این نوع یونیزاسیون به صورت جامد است. به دلیل ماهیت پالسی تابش لیزر و محدوده جرمی مورد آنالیز، معمولاً در هنگام استفاده از این تکنیک، از تجزیه گر جرمی زمان پرواز (TOF) استفاده می شود. در مورد آنالیت های با جرم مولکولی بالا، MALDI، یون مولکول های تک بار و ESI یون مولکول هایی با چند بار تولید می کند [۲].



شکل ۱-۴ نمایی از یونیزاسیون واجذبی توسط لیزر.

<sup>۱</sup> Desorption Ionization

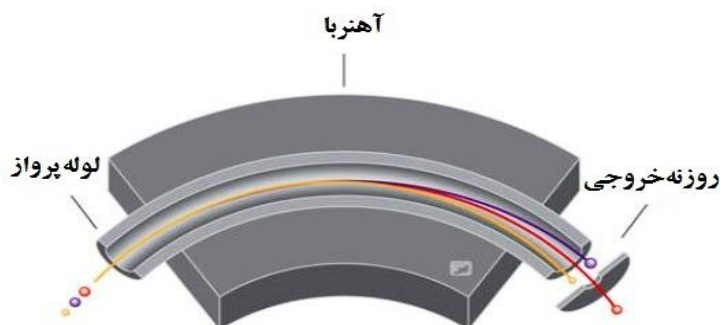
<sup>۲</sup> Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - MALDI

## ۱-۱-۲ تجزیه گر جرمی<sup>۱</sup>

برای جداسازی یون مولکول‌های تولید شده در منبع یون براساس نسبت  $m/z$ ، از اصول فیزیکی متفاوتی می‌توان استفاده کرد. انواع متداولی از تجزیه گر جرمی در طیف‌سنج جرمی استفاده می‌شود که شامل تجزیه گر جرمی قطاع مغناطیسی<sup>۲</sup>، چهارقطبی<sup>۳</sup>، زمان پرواز<sup>۴</sup> و تله یون<sup>۵</sup> می‌باشند. در ادامه به توضیح مختصری راجع به سه تجزیه گر اولی می‌پردازیم.

### • تجزیه گر جرمی قطاع مغناطیسی

در این دستگاه، یون‌های حاصل از منبع یون، در ابتدا از یک میدان الکتروستاتیکی خمیده ESA عبور می‌کنند. این میدان با استفاده از دو صفحه فلزی با انحنای ملایم که به یک پتانسیل DC متصل است فراهم می‌آید. اثر این پتانسیل محدود کردن انرژی جنبشی یون مولکول‌های خروجی از این قسمت به مرحله‌ی بعد (قطاع مغناطیسی) می‌باشد. یون‌های با انرژی بیشتر و کمتر از مقدار میانگین به ترتیب به بالا و پایین شکاف برخورد کرده و حذف می‌شوند (مثل یک صافی عمل می‌کند). باریکه یون مولکولی خارج شده از ESA با انرژی جنبشی یکسان، سپس وارد قطاع مغناطیسی می‌شود و یون‌ها براساس جرمشان جدا می‌شوند. مسلماً یون‌های سنگین‌تر با سرعت کمتر و یون‌های سبک‌تر با سرعت بیشتر در میدان مغناطیسی حرکت می‌کنند. بنابراین یون‌ها در این تجزیه گر ابتدا توسط انرژی جنبشی (بار) و سپس توسط جرمشان جدا می‌شوند [۱].



شکل ۱-۵ نمایی از تجزیه گر قطاع مغناطیسی [۲].

### • تجزیه گر جرمی چهار قطبی

قلب این تجزیه گر، چهار میله موازی است که به عنوان الکتروود بکار می‌رود. میله‌های مقابل بصورت الکتریکی به هم متصل هستند. یک زوج به پایانه مثبت و زوج دیگر به پایانه منفی یک منبع DC متغییر

<sup>1</sup> Mass Analyzer

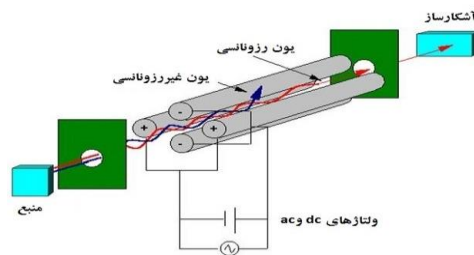
<sup>2</sup> Magnetic Sector

<sup>3</sup> Quadrupole

<sup>4</sup> Time of Flight - TOF

<sup>5</sup> Ion Trap

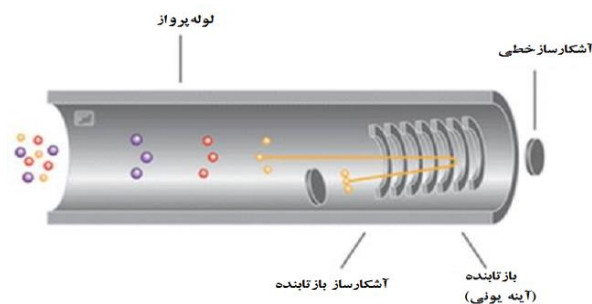
متصل است. علاوه بر پتانسیل DC، به هر زوج از میله‌ها، پتانسیل‌های AC، با فرکانس رادیویی که ۱۸۰ درجه خارج از فازند، اعمال می‌شود. در این نوع تجزیه‌گر، یون‌ها با پتانسیل (V ۱۰-۵) به فضای درونی میله‌ها، شتاب داده می‌شوند. اعمال و افزایش همزمان ولتاژهای AC و DC روی میله‌های الکترونی، باعث می‌شود روی مسیر حرکت یون‌ها بین چهار میله تأثیر بگذارد و بنابراین تمام یون‌ها بجز آنهایی که مقدار مشخص  $m/z$  دارند، به میله‌ها برخورد کنند و به مولکول‌های خنثی تبدیل شوند (حذف شوند). بنابراین طیف وسیعی از یون‌ها با نسبت  $m/z$ ، یون‌هایی با گستره محدودی از  $m/z$  به آشکارساز می‌رسند. طیف‌سنج‌های جرمی چهار قطبی ارزاتر و مقاومتر از مشابه‌های قطاع مغناطیسی هستند. این دستگاه‌ها نسبت به قطاع مغناطیسی دارای سرعت پویا بالا و بنابراین زمان آنالیز کمی هستند [۱].



شکل ۱-۶ نمایشی از تجزیه‌گر چهار قطبی [۳].

#### • تجزیه‌گر جرمی زمان پرواز

یون مولکول‌های تولید شده از یک منبع یون پالسی، توسط میدان الکتریکی قوی در منبع یون، شتاب داده می‌شوند. آنگاه یون مولکول‌های شتابدار از داخل یک لوله عاری از میدان الکتریکی بطول حدوداً یک متر عبور می‌کنند. از آنجایی که تمام یون‌های وارد شده به لوله، بطور ایده‌آل دارای انرژی جنبشی یکسان هستند سرعت حرکت آنها در لوله نسبت عکس با جرم دارد. ذرات سبکتر زودتر و ذرات سنگین‌تر دیرتر به آشکارساز می‌رسند. از نقطه نظر تفکیک و تکرارپذیری، دستگاه‌هایی برپایه تجزیه‌گر جرمی زمان پرواز نسبت به تجزیه‌گرهای جرمی قطاع مغناطیسی و چهار قطبی دارای رضایت بخشی کمتری هستند. اما عواملی همچون سادگی، مقاوم بودن، دسترسی راحت و گستره جرمی نامحدود تا حدودی این نارضایتی را جبران می‌کند.



شکل ۱-۷ نمایشی از تجزیه‌گر جرمی زمان پرواز بازتاب کننده [۲].



### ۳-۱-۱ آشکارساز یونی و پردازنده

بعد از جداسازی یون مولکولها بر اساس نسبت  $m/z$ ، بر اثر برخورد این ذرات با آشکارساز، سیگنال الکتریکی ایجاد می‌شود. تکثیرکننده الکترون<sup>۱</sup> و فنجان فارادی<sup>۲</sup> از این دسته‌اند [۲]. در این آشکارسازها، پس از برخورد یون به یک سطح حساس تابش کننده الکترون، الکترون‌های اولیه ایجاد می‌شوند. در ساختار یک تکثیرکننده الکترون، الکترون‌های اولیه به صورت متوالی با الکترودهای تکثیرکننده<sup>۳</sup> برخورد نموده و سیگنال تقویت می‌شود. سیگنال خروجی در نهایت به پردازنده و از آنجا به صفحه نمایش گر یا دستگاه ثبت<sup>۴</sup> منتقل می‌شود [۱].

### ۲-۱ طیف‌سنجی جرمی زمان پرواز<sup>۵</sup>

#### ۱-۲-۱ تاریخچه

اولین دستگاه طیف‌سنج جرمی زمان پرواز با یک نمایشگر طیف جرمی، در سال ۱۹۴۸ توسط کامرون<sup>۶</sup> و اگرز<sup>۷</sup> ساخته شد [۴]. این دستگاه تمام اجزای یک دستگاه ساده زمان پرواز را دارا بود اما تفکیک پذیری<sup>۸</sup> پایینی داشت به گونه‌ای که یون‌های  $Hg^+$ ،  $Hg^{2+}$  و  $Hg^{3+}$  قابل آشکارسازی نبودند [۵].

اولین مطالعات در مورد یک طیف‌سنج جرمی TOF با تفکیک پذیری قابل قبول (بالای ۵۰) در سال ۱۹۵۳ انتشار یافت. در ادامه مطالعاتی بر روی طیف‌سنجی جرمی با تفکیک پذیری بالای ۱۰۰ صورت پذیرفت که در تمام آنها ایزوتوپ‌های زنون به خوبی تشخیص داده می‌شدند. این مطالعات با هدف بهبود تفکیک پذیری دستگاه‌های TOF توسط وایلی<sup>۹</sup> و مک لارن<sup>۱۰</sup> انتشار یافت. برای افزایش تفکیک پذیری TOF بسیاری از دانشمندان در سال‌های ۱۹۶۰-۱۹۵۰ برای طراحی منابع یونی با پخش کمتر انرژی تلاش کردند اما هیچ پیشرفت اساسی در این زمینه صورت نپذیرفت [۵ و ۶ و ۷].

دهه ۱۹۷۰ به دلیل رشد سریع دستگاه‌های TOF بازتابنده<sup>۱۱</sup> و معرفی تکنیک‌هایی بر پایه لیزر برای آنالیز مولکول‌های زیستی بزرگ و ناپایدار حرارتی مورد اهمیت می‌باشد. منبع [۸] ویژگی‌های اولین دستگاه TOF بازتابنده و طیف جرمی رنیوم برماید که با تفکیک پذیری ( $R_{50\%} \sim 5000$ ) بدست آمده را شرح می‌دهد. در سال ۱۹۸۰ شرکت دستگاه‌های علمی (آکادمی علوم روسیه)، دستگاه‌های TOF بازتابنده MX 5302 را

<sup>1</sup> Electron Multiplier

<sup>2</sup> Faraday Cup

<sup>3</sup> Dynode

<sup>4</sup> Recorder

<sup>5</sup> Time of Flight Mass Spectrometry (TOF-MS)

<sup>6</sup> A.E. Cameron

<sup>7</sup> D.F. Egger

<sup>8</sup> resolution

<sup>9</sup> W.C. Wiley

<sup>10</sup> I.H. McLaren

<sup>11</sup> Reflectron TOF

برای تحلیل مولکول‌های آلی با  $R \sim 5600$  ساخت. بعد از آن شرکت بروکر<sup>۱</sup>، دستگاه TOF بازتابنده‌ای با قدرت تفکیک جرمی  $R=10000$  را تولید کرد [۶ و ۹].

به هر حال بیشترین پیشرفت در طیف‌سنجی جرمی TOF در دهه‌های ۱۹۸۰ و ۱۹۹۰ رخ داد. یعنی سال‌هایی که پیشرفت ناگهانی در تحقیقات بیوشیمیایی و بیوفیزیکی، همراه با پیشرفت‌های ژنتیک، داروسازی نوین و سنتز ترکیبات بیوارگانیک پیچیده از خوشه‌های دارای چندین اتم صورت پذیرفت. این پیشرفت‌ها مستلزم افزایش محدوده جرمی تا هزاران و میلیون‌ها دالتون بود که توسط دستگاه طیف‌سنجی TOF مورد پوشش قرار گرفت [۶].

اگرچه طیف‌سنج جرمی زمان پرواز خطی<sup>۲</sup> (بدون بازتاب‌کننده)، تفکیک‌پذیری کمی دارد اما در تحقیقات اواخر دهه ۱۹۵۰ بسیار مورد استفاده قرار گرفت. زیرا این دستگاه امکان گرفتن طیف جرمی کاملی از یون‌هایی که در محفظه یونیزاسیون به وجود می‌آمد را داشت. این خصوصیت این امکان را فراهم می‌آورد تا از این طیف‌سنج جرمی در مطالعات فرایندهای جذب و واجذب استفاده کرد. همچنین از این دستگاه به منظور مطالعه بر روی تخریب پلیمرها در مواجهه با فشارهای گرمایی و مکانیکی می‌توان استفاده کرد [۶].

نخستین دستگاه تجاری زمان پرواز خطی که توسط بندیکس<sup>۳</sup> ساخته شد برای آنالیز سریع گاز در بسیاری از فرایندها مانند باز ذوب فلزات، مورد استفاده قرار گرفت [۱۰]. لازم به ذکر است با استفاده از یک ولتاژ شتاب‌دهنده بالا در یک دستگاه TOF خطی می‌توان به تفکیک‌پذیری‌های بیشتر از ۴۰۰۰ دست یافت.

### ۱-۲-۲ اصول اساسی طیف‌سنجی جرمی زمان پرواز

دستگاه طیف‌سنج جرمی زمان پرواز دارای یکی از ساده‌ترین تجزیه‌گرهای جرمی می‌باشد. بر خلاف تجزیه‌گرهای قطاع مغناطیسی و چهارقطبی که یون‌ها را بر اساس مکانشان جدا می‌کنند، در تجزیه‌گر جرمی زمان پرواز یون‌ها بر اساس زمان رسیدنشان به آشکارساز جداسازی می‌شوند.

به طور کلی طیف‌سنج جرمی زمان پرواز دارای سه ناحیه اصلی می‌باشد که عبارت است از: ناحیه یونش<sup>۴</sup>، ناحیه شتاب<sup>۵</sup> و ناحیه میدان آزاد<sup>۶</sup>. در ناحیه یونش، یون‌ها در فاز گازی توسط منبع یونش ایجاد می‌شوند. سپس یون‌های حاصل با اعمال ولتاژ به صفحات شتاب به سمت لوله پرواز (ناحیه میدان آزاد) شتاب می‌گیرند و در آنجا بر حسب نسبت  $m/z$  جدا شده و در زمان‌های متفاوت به آشکارساز می‌رسند.

<sup>1</sup> BRUKER

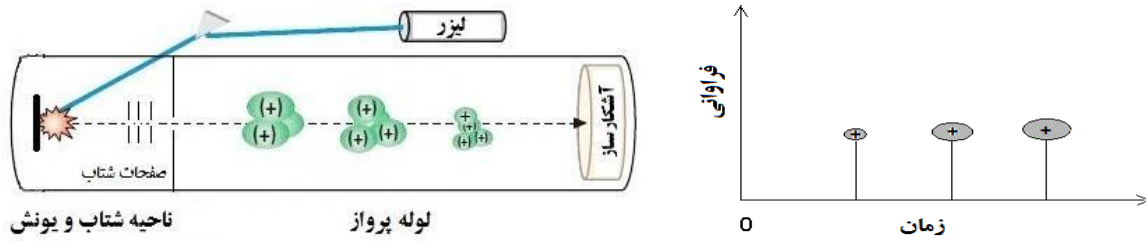
<sup>2</sup> Linear Time of Flight Mass Spectrometry

<sup>3</sup> Bendix

<sup>4</sup> Ionization region

<sup>5</sup> Acceleration region

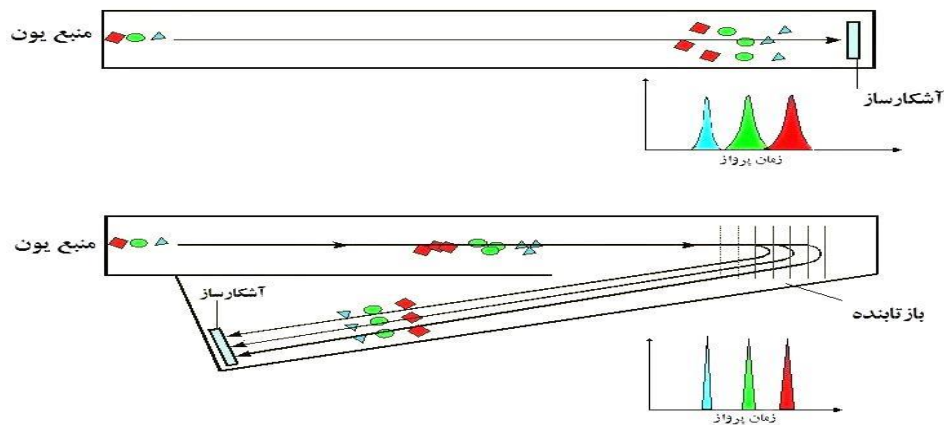
<sup>6</sup> Free field region



شکل ۸-۱ نمایی از دستگاه طیف‌سنج جرمی زمان پرواز خطی و طیف زمانی یون‌های شناسایی شده.

قدرت تفکیک جرمی دستگاه زمان پرواز خطی به دلیل انرژی‌های متفاوت یک یون خاص، کم است. برای رفع این مشکل دستگاه زمان پرواز بازتاب‌کننده طراحی شد.

در این دستگاه یون‌هایی که انرژی جنبشی بیشتری دارند، در میدان وارون بیشتر نفوذ می‌کنند و مسافت بیشتری را طی می‌نمایند. در نتیجه یون‌های با انرژی بالاتر، در زمان طولانی‌تر و یون‌های با انرژی پایینتر، در زمان کمتر مسیر پرواز را طی می‌کنند. در نتیجه بازتاب‌کردن یون‌ها باعث تصحیح در زمان پرواز و اصلاح قدرت تفکیک دستگاه می‌شود [۱۱].



شکل ۸-۱ نمایی از دستگاه زمان پرواز خطی (بالا) و دستگاه زمان پرواز بازتابنده (پایین).

### ۱-۲-۳ کالیبراسیون جرمی<sup>۱</sup> در طیف‌سنجی جرمی زمان پرواز

برای تفسیر طیف‌های زمان پرواز یون‌ها، باید داده‌های زمانی را به داده‌های جرمی تبدیل کنیم. برای این کار چندین یون با جرم مشخص و قابل آشکارسازی به عنوان استانداردهای جرمی برای کالیبراسیون استفاده می‌شود. به کمک این استانداردها می‌توان یک نمودار کالیبراسیون جرمی ایجاد کرد و طیف زمان پرواز را به طیف جرمی تبدیل نمود.

<sup>1</sup> Mass calibration

اگر یون بعد از شتاب گرفتن با یک ولتاژ  $U$  مسافت  $S$  را در زمان  $t$  طی کند، با اندازه گیری زمان  $t$  می توانیم به جرم یون پی ببریم. بدین صورت که:

$$t = \frac{S}{V} \quad (1-1)$$

که در آن  $V$  سرعت یون می باشد. بر اساس قانون بقای انرژی، انرژی جنبشی یون با انرژی که از میدان الکتریکی کسب می کند برابر است. بنابراین طبق معادله زیر داریم:

$$E_{el} = ezU = \frac{1}{2} m V^2 = E_{kin} \quad (2-1)$$

که در آن  $Z$  بار یون و  $m$  جرم آن می باشد. نسبت جرم به بار گونه هایی که به آشکارساز می رسند با زمان پرواز آن ها رابطه دارد که معادله آن به صورت زیر بیان می شود:

$$\frac{m}{z} = \frac{2eUT^2}{D^2} \quad (3-1)$$

از این معادله مشخص است که زمانی که یون ها منطقه بدون میدان با طول  $S$  را طی می کنند، با مجذور  $m/z$  رابطه دارد. در این روش از طریق رسم ریشه دوم جرم یون های مشخص، بر حسب زمان پرواز، معادله ای به دست می آید که می توان توسط آن جرم پیک های نامعلوم را مشخص کرده و یون را شناسایی نمود [۱۱ و ۱۲].

### ۳-۱ طیف سنجی جرمی اتصال یون<sup>۱</sup>

طیف سنجی جرمی اتصال یون، یکی از انواع طیف سنجی جرمی می باشد که در آن از تکنیک یونیزاسیون نرم استفاده کرده تا قطعه قطعه شدن به حداقل برسد و نمونه به همراه کاتیون مورد نظر به صورت یک پیک شدید قابل شناسایی باشد. یکی از بزرگترین مزیت های IAMS این است که مستقیماً برای آنالیز ترکیبات گازی استفاده می شود. همچنین از این تکنیک برای شناسایی و تعیین کیفیت ترکیبات و مخلوط های تحت فشار پلاسما [۱۳ و ۱۴] و گرماکافت<sup>۲</sup> [۱۵ و ۱۶] می توان استفاده نمود.

در تکنیک اتصال یون عموماً از کاتیون فلزهای قلیایی استفاده می کنند. کاتیون های قلیایی از نقطه نظر بیولوژیکی اثرات مهمی دارند و در بسیاری از سیستم های زنده مانند: تعادل اسمزی سلول ها، تحریک پذیری اعصاب و ماهیچه ها، انتقال فعال گلوکوسیدها و آمینو اسیدها و سپس اتصال آن ها به پروتئین ها شرکت می کنند. علوم بسیاری برای تفسیر طیف های جرمی کمپلکس های یون قلیایی - پپتید حائز اهمیت هستند.

<sup>1</sup> Ion Attachment Mass Spectrometry- IAMS

<sup>2</sup> Pyrolysis