

Oponentský posudek

Uchazeč: Mgr. Timotej Strmeň

Název práce: Hmotnostní spektrometrie s chemickou ionizací za atmosférického tlaku při nízkých průtocích: konstrukční řešení a využití

Předložená disertační práce se, kromě teoretického úvodu a nezbytných formalit, skládá ze dvou hlavních částí. V první z nich se Mgr. Strmeň věnuje srovnávání vlastností otevřeného a uzavřeného iontového zdroje pro APCI MS. Pomocí řady pečlivě navržených experimentů s různými typy analytů, různými rozpouštědly a nebulizačními plyny dokumentuje výhody a nedostatky obou variant. V druhé části práce je popsáno testování tří různých konstrukcí APCI zdrojů určených pro nízké průtoky vzorku: mikročipový zdroj, zdroj s otevřeným trubicovým zmlžovačem a tzv. GDVN zdroj.

Přílohu práce tvoří 4 publikace. Na dvou je Mgr. T. Strmeň uveden jako první autor s deklarovaným podílem 80 %. Na dalších dvou byl jeho podíl 10%. Vlastní text disertace shrnuje výsledky zejména dvou prvoautorských publikací, z nichž první se věnuje studiu rozdílů mezi uzavřeným a otevřeným APCI zdrojem a druhá popisuje autorovu vlastní konstrukci nízkoprůtokového APCI zdroje s trubicovým zmlžovačem. Mikročipovému APCI zdroji, který byl použit ve dvou příložených neprvoautorských člancích jsou v textu věnovány pouze ca dvě strany.

Text disertace však navíc obsahuje také dosud nepublikované pasáže týkající se konstrukce a studia vlastností GDVN-APCI zdroje zhotoveného ve spolupráci s vývojovým centrem ÚOCHB. Tuto část práce považuji za nejzajímavější a doufám, že bude v brzké době také publikována.

Předložená práce je, dle mého názoru, přiměřeného rozsahu a za její největší klad považuji skutečnost, že se jedná o práci, jejíž podstatnou částí je experimentální vývoj instrumentace pro hmotnostní spektrometrii a snaha, aspoň částečně pochopit, jak ta instrumentace vlastně funguje. To bohužel v tomto oboru, i přes jeho masivní rozšíření v ČR, nebývá příliš časté, a proto jsem velmi rád, že tato práce vznikla.

I přes její nesporný přínos, však musím konstatovat, že předložené disertační práce má i své nedostatky. Na prvním místě nemohu nezmínit, to co je na první pohled nejpatrnější, totiž velké množství gramatických chyb, například různých vyšinutí z větné vazby apod. Z části lze tyto chyby jistě přičíst faktu, že čeština není autorovým mateřským jazykem, nicméně, dobrý dojem z textu to každopádně kazí. Např. věta „...dochází k rozmanitým reakcím, z kterých bude při popisu jednotlivých reakcí vždy *uvedených* jen několik příkladů.“, je ukázkový slovakizmus, s jakými se setkávám i u svých vážených kolegů v laboratoři. Ovšem za vážný stylistický poklesek považuji formulace typu „...kde *se* jako ionizační prvek *použil* radioaktivní zářič...“. Je velká škoda, že finální verze práce neprošla pečlivou jazykovou korekturou.

Hned v první větě teoretického úvodu je zmíněno, že APCI „...využívá elektrony o nízké energii. Tyto elektrony se mohou generovat některými radioaktivními zářiči β^- , nebo v korónovém výboji.“ Tak především, všechny zářiče β^- produkují elektrony, a pak je zde otázka, co je myšleno nízkou energií. Elektrony z ^{63}Ni mají průměrnou energii 17 keV (67 keV max.). Z pohledu jaderné fyziky je to jistě nízká energie, ale z pohledu chemie je to naopak energie velmi vysoká.

V teoretickém úvodu mi trochu chybí citace práce D. I. Carroll et al. Anal. Chem. 47 (1975) 2369, v níž byl ^{63}Ni v APCI zdroji poprvé nahrazen korónovým výbojem a tento iontový zdroj se tak stal předobrazem všech současných komerčních APCI zdrojů. Je také

škoda, že nepadla alespoň krátká zmínka o dalších variantách chemické ionizace za atmosférického tlaku, které jsou sice méně komerčně úspěšné a nemají ono „CI“ ve svém názvu, ale rozhodně jsou zajímavé a do rodiny APCI každopádně patří. Jen namátkou lze uvést např. DART (Direct Analysis in Real Time), nebo Ambient Flame Ionization.

Problém vidím také v používání některých termínů. V pasážích o fyzikálních principech zmlžování autor používá několik pojmů, způsobem, který vyvolává dojem, že se jedná o synonyma: atomizace, zmlžování, rozprašování kapaliny, sprej, rozpad sloupce kapaliny... Např. na straně 22 je název kapitoly „Fyzikální principy zmlžování (atomizace)“ a o několik řádků níže je uvedeno, že „Rozpad sloupce kapaliny se nazývá primární atomizace, zatímco případný rozpad velkých kapek na menší se nazývá sekundární atomizace“.

Obecně nemusí být posouvání významu slov vždy na závadu, nemám např. výhrady k pojmu *atomizace společnosti*, i když se poněkud vzdaluje od původního významu řeckého atomos (= nedělitelný). Používání tohoto slova v chemii, kde je pojem atom zcela jednoznačně definován, pro proces přeměny kapaliny na malé kapičky, které, nejen že nejsou dále nedělitelné, ale navíc jsou tvořeny molekulami a nikoli atomy, pak považuji za zcela nepatřičné a zavádějící. A to i přesto, že tento termín v tomto významu je pravděpodobně hojně používán v literatuře. Za jediný správný termín považuji *zmlžování*, popřípadě český ekvivalent anglického slova *nebulization*, tedy *nebulizace*.

Přehodnocení by si, dle mého názoru, zasloužilo také používání slova *rozprašování*. Ona kapalina v nebulizéru se jistě nemění v prach.

Za problematický považuji rovněž termín *přenos náboje*. Ve skutečnosti se jedná o přenos elektronu. K přenosu náboje dochází i u řady jiných reakcí, např. při přenosu protonu při iontově-molekulové reakci také současně dojde k přenosu náboje.

V kapitole 1.1.1.3. jsou diskutovány reakce v negativním módu. Za problematický zde považuji termín *deprotonace*. Doporučuji používat i zde termín *přenos protonu*, nebo kombinaci *deprotonace přenosem protonu*, protože to je přesně to, o čem tam běží - o přenos protonu při iontově-molekulové reakci $AH + B^- \rightarrow A^- + BH$. K deprotonaci, tedy doslova k odstranění protonu z molekuly/iontu, totiž může docházet i jinými mechanismy, např. disociací a formálně vzato i následkem v této kapitole také zmiňovaného záchytu elektronu, kdy např. z karboxylové kyseliny vzniká karboxylát, tj. její deprotonovaná forma. Pro přenos náboje, tentokrát záporného, který je v této kapitole (1.1.1.3.) také uveden, platí stejná námitka jako v případě přenosu náboje kladného.

Do kategorie nepřesných formulací bych zařadil také větu na straně 29 „V plazmě koronového výboje se generují elektrony o termální energii, které ionizují molekuly přítomných plynů a ...“. Poměry v koronovém výboji jsou mnohem složitější a je třeba rozlišovat pojmy *ionizace/ionizovat* a *vznik iontů/generovat ionty*. Ano, ve výboji vznikají elektrony, které mají energii v řádu jednotek eV, ty jsou však schopny „ionizovat“, tedy přesněji vytvářet ionty, pouze mechanismem záchytu elektronu. Tyto elektrony jsou však přítomným elektrickým polem urychlovány a pak mohou skutečně ionizovat, tj. vytvářet ionty mechanismem elektronové ionizace. V koronovém výboji jsou navíc také generovány UV fotony, které rovněž mohou ionizovat, eventuálně elektronicky excitovat přítomné atomy či molekuly.

Pro úplnost bych ještě dodal, že Český komitét pro chemii (IUPAC) doporučuje pro reakce iontů s molekulami termín *iontově-molekulová reakce*, že zmiňovaný ruský chemik se nejmenoval Markovnik, ale Markovnikov a že věcně je vhodnější adjektivum *matricový* a ne *matriční* - to bych ponechal k užívání pouze v souvislosti s příslušným úřadem státní správy, a to i přesto, že z kontextu je zřejmé, že *matriční efekt* nemá nic společného s matrikou.

K metodice mám jen jednu námitku, nebo spíše radu pro eventuální budoucí studium vlastností APCI zdrojů. Připisovat rozdíly ve složení iontů vytvářených v APCI zdroji při použití dusíku a syntetického vzduchu jako nebulizačního plynu jednoduše kyslíku se zdá na první pohled logické, a možná i správné, ale mé zkušenosti s ionizačními technikami a iontově-molekulovými reakcemi za atmosférického tlaku nabádají k ostražitosti. Ionty za těchto podmínek při transportu na vzdálenost 1 cm prodělají $n \times 10^5 - 10^6$ srážek, takže i stopové množství nějakého reaktantu (např. H_2O), může výsledek dramaticky ovlivnit pokud je jeho reaktivita dostatečně vysoká. Této problematice se týkají první dvě z mých otázek.

Přes všechny uvedené nedostatky závěrem s potěšením konstatuji, že cíle práce, tak jak jsou deklarovány na straně 37, tj. „1) prostudovat vliv konstrukčního řešení zdroje na ionizaci vybraných analytů při nízkých průtocích vzorků (mikrolitry za minutu), a to zejména vliv vnějšího krytu zdroje, 2) navrhnout zmlžovač pro nízké průtoky vzorků a porovnat ho s existujícím řešením založeným na mikročipu a 3) otestovat virtuální trysku, jakožto generátor neutrálních kapiček pro zavádění vzorku do APCI zdroje“ byly splněny. Dle mého názoru Mgr. Timotej Strmeň dostatečně prokázal vědeckou erudici a tvůrčí schopnosti a že jeho disertační práce splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci v oboru analytické chemie.

V Praze dne 11.9.2020

Miroslav Polášek

Otázky:

1) Na str. 3 je uvedeno, že „Po přeměření čistého acetonitrilu bez analytu se vzduchem jako nebulizačním plynem se ukázalo, že acetonitril v přítomnosti kyslíku tvoří radikalkationty typu $(CH_3CN)_n^{+}$ (obrázek 15 c,d), které se v čistě dusíkové atmosféře netvoří a mají na svědomí přenos náboje na analyt.“ To je, podle mého názoru odvážné, nepřesné a nejednoznačné tvrzení, které jsem na základě předložených dat ochoten akceptovat pouze jako hypotézu. Máte nějakou představu o mechanismu tvorby a struktuře těchto iontů? Pokusil jste se např. o CID autentických sl., teoretické výpočty, experiment s CD_3CN , s kyslíkem jako nebulizačním plynem, iontově-molekulové reakce vybraných iontů, atd?

2) Kapitola 4.1.5., pasáže na str. 45. jsou dle mého názoru nedostatečně podpořeny experimenty, teorií, nebo citacemi. Jak víte, že ionty $(M-17)^-$ zmiňovaných dvou kyselin vznikají záchytem elektronu a ionty $(M-1)^-$ „deprotonací“ (tj. přenosem protonu)? Argumentace analogií mezi methanolovým roztokem v otevřeném zdroji a chloroformovým roztokem v uzavřeném zdroji je na mě příliš odvážná. Zkuste mě přesvědčit, že hlavní roli v potlačení iontů $(M-17)^-$ skutečně hraje kyslík, nebo alespoň navrhněte experimenty, které by to mohly dokázat.

3) Jakou technologií a z jakého materiálu byl vyroben centrovací prvek pro váš GDVN zmlžovač?

4) V kapitole 4.1.6. je zmínka o měření teploty proudu plynu v otevřeném a uzavřeném zdroji ($130^\circ C$ vs. $170^\circ C$). Jakým způsobem to bylo měřeno a jaká hodnota teploty sondy při tom byla nastavena.

5) Kde přesně v daném APCI zdroji probíhá ta „in-source“ fragmentace zmiňovaná na Obrázku 20c, a potenciály kterých prvků iontové optiky v tom hrají roli?

6) Máte experimentálně potvrzeno elementární složení iontu m/z 109, který vzniká při „in-source“ fragmentaci iontu $(\text{TEMPO} + \text{H})^+$ (obrázek 20c) a že tento ion vzniká monomolekulárním rozpadem iontu m/z 142 jak naznačuje popisek?