

Dostáváte do ruky první svazek nově vzniklé edice nazvané *Historie instrumentálních technik*, která si vzala za úkol uchovat písemné svědectví o zavádění důležitých technik instrumentální analytické chemie v bývalém Československu. První díl vychází společným úsilím České společnosti pro hmotnostní spektrometrii a firmy Thermo Fisher Scientific. Je věnován hmotnostní spektrometrii, tedy technice, která se od metody na „hledání izotopů“ vyvinula během jednoho sta let v zásadní analytickou techniku důležitou ve fyzice, chemii a nejnověji i v biologických a medicínských vědách.

Ze stránek knihy na čtenáře promluví hned dvanáct pamětníků, kterými jsou pánové *Zdeněk Herman, Zdeněk Dolejšek, Vladislav Kubelka, Pavel Matoušek, Miroslav Ryska, Vladimír Kováčik, Tibor Jakubík, Robert Mistrík, Karel Ubík, Petr Verner, František Tureček a Vladimír Havlíček.*

Věříme, že si publikace nalezne své čtenáře všech věkových kategorií a že zejména u mladších odborníků dále podpoří zájem o historii oboru. Příjemné čtení.

ISBN 978-80-905045-2-3



9 788090 504523 >

Vydáno Českou společností
pro hmotnostní spektrometrii
www.czechms.org

Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého
17. listopadu 1192/12
771 46 Olomouc

POČÁTKY A HISTORIE ČESKOSLOVENSKÉ
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE



POČÁTKY A HISTORIE ČESKOSLOVENSKÉ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Thermo
SCIENTIFIC



CZECH MS
Czech Society for Mass Spectrometry

Foto na úvodní obálce:

Novinový snímek vědců, kteří sestrojili první československý hmotnostní spektrometr. Jejich práce byla vyznamenána Státní cenou. Zleva Dr. V. Hanuš, Dr. Č. Jech, Dr. J. Cabicar, Dr. V. Čermák.



Věnováno památce Vladimíra Čermáka (1920–1980) a Vladimíra Hanuše (1923–2009)

POČÁTKY A HISTORIE ČESKOSLOVENSKÉ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Copyright © 2012 Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii
All rights reserved.

Vydala Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii,
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého
17. listopadu 1192/12, Olomouc 771 46, IČ: 22858938.

Vydání první

Editoři: Jaroslav Pól a Michael Volný

Autorům zůstávají práva k jednotlivým kapitolám.

Úvod © 2012 Jaroslav Pól a Michael Volný

Logo edice © 2012 Martin Strohalm

Logo společnosti © 2012 Martin Strohalm

Ilustrace © 2012 Zdeněk Herman

Ilustrace a loga publikovány se svolením.

ISBN 978-80-905045-2-3

Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii

PRAHA 2012

Redakce

Editoři:

Jaroslav Pól (Thermo Fisher Scientific, Praha)

Michael Volný (University of Washington, Seattle)

Odborní konzultanti:

Vladimír Havlíček (Mikrobiologický ústav, AV ČR, Praha)

František Tureček (University of Washington, Seattle)

Tato kniha vznikla za vzájemné spolupráce České společnosti pro hmotnostní spektrometrii a české pobočky firmy Thermo Fisher Scientific. Vydání bylo realizováno za sponzorského příspěví Thermo Fisher Scientific.



Thermo
S C I E N T I F I C

Vydání této knihy dále podpořili:



OBSAH

1. Úvod	9
2. Zdeněk Herman: Začátky hmotnostní spektrometrie u nás a hmotnostní spektrometrie v Ústavu fyzikální chemie Akademie věd.....	13
3. Zdeněk Dolejšek: Přesmyky iontů a má spolupráce s Vladimírem Hanušem v Ústavu fyzikální chemie ČSAV (1957-1964).....	43
4. Vladislav Kubelka: První kombinovaný přístroj GC- MS v Česku.	51
5. Pavel Matoušek: Počátky hmotnostní spektrometrie v Pardubicích	57
6. Miroslav Ryska: Hmotnostní spektrometrie – můj osud.....	87
7. Vladimír Kováčik: História hmotnostnej spektrometrie v Slovenskej Akadémii vied.	111
8. Tibor Jakubík: História hmotnostnej spektrometrie na Fakulte chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave	119
9. Robert Mistrík: MS story	127
10. Karel Ubík: Historie hmotnostní spektrometrie v Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR.....	137
11. Petr Verner: Hmotová spektrometrie ve Fakultní nemocnici Univerzity Karlovy	149
12. František Tureček: Pohledy zpět na dění kolem hmotové spektrometrie v Ústavu fyzikální chemie a elektrochemie ČSAV v 70.-80. letech	157
13. Vladimír Havlíček: Molekulární struktura v Mikrobiologickém ústavu.....	171

PŘEDMLUVA

Pro společnost Thermo Scientific je velkou výsadou a potěšením podílet se jako sponzor na vydání této knihy, která se vám dostává do rukou.

Podobně, jako tato kniha přibližuje historii hmotnostní spektrometrie (MS) v Čechách a na Slovensku, tak je historie firmy Thermo součástí světové historie MS. Součástí skupiny Thermo jsou výrobci jako Finnigan (první kvadrupólový GCMS, první kompletně počítačově řízený MS, první komerční iontová past), MAT (sektorové MS systémy pro organickou i anorganickou a izotopovou analýzu, první z nich v roce 1948 sektorový CH1 s magnetem usazeným na dřevěném rámu) nebo Proxeon (zařízení pro nano-ESI a proteomiku). Každá z těchto firem byla u toho, když se psaly dějiny MS.

Ovšem i Thermo, jako jednotlivý prvek, je společností veskrze historickou. Vzniká krátce po 2. světové válce, kdy zakladatel firmy pan Hatsopoulos, který získal první podnikatelské zkušenosti výrobou rádiových přijímačů se zakázanou frekvencí VKV na území Německem okupovaného Řecka, přesídlil do USA kde založil firmu Thermo. Firma potom prošla různými peripetemií vývoje, aby vznikla globální skupina, zahrnující tak rozdílné komerční aktivity, jako je vývoj, prodej a podpora hmotnostních spektrometru na jedné straně, dodávky rozsáhlých technologických celků pro testování kvality na straně druhé a výroba a dodávky reagentů, rozpouštědel či drobných laboratorních potřeb.

Přes tento globální rozměr mateřské firmy si česká pobočka zachovala filozofii malé, téměř rodinné firmy Spectronex, ze které vznikla. Filosofii orientace na zákazníka a jeho potřeby, na dodávky kompletních řešení, zahrnujících často i subdodávky třetích firem, a na doplnění nabídky o aplikační podporu na počátku a spolehlivý servis po celou dobu provozu dodaného systému.

Jsme rádi, že jsme mohli být, osobně i jako firma, u toho, když se historie MS tvořila. Jsme rádi, že i dnes jsme u toho, když se píše její nové stránky, například stránky o analyzátoru FTMS Orbitrap. A mů-

žeme jen popřát čtenářům, aby jim tato kniha přiblížila kořeny, ze kterých MS v Čechách a na Slovensku vyrostla do současné podoby. Jak říká Cicero: Historie je učitelkou života. A jak dodává Indira Ghandi ...Učitelkou nejlepší s obzvlášť nepozornými žáky.

Ať jsme těmi pozornými.

Ing. Petr Verner, CSc.

jednatel firmy Thermo Fisher Scientific (Praha) s.r.o.

1. ÚVOD

Pokud jste měli v té době něco znamenat v oblasti reakcí iontů s molekulami, museli jste být podepsáni na jisté stěně v Praze

R. Graham Cooks
Purdue University

Díky spolupráci nedávno založené České společnosti pro hmotnostní spektrometrii a lokální pobočky firmy Thermo Fisher Scientific se podařilo připravit publikaci složenou z přímých výpovědí žijících účastníků raného vývoje hmotnostní spektrometrie v Česku i na Slovensku.

Hlavní poděkování za vznik publikace patří především zbývajícím pamětníkům, kteří se převedení svých vzpomínek do psané podoby zhostili s velkým nadšením a zodpovědností. Nutno také podotknout, že nápad uspořádat takovouto kompilaci příspěvků zajiskřil poprvé nad sklenicí dobrého ležáku mezi elektrodami hlav Petra Vernerera a Jaroslava Póla. Původní idea byla shromáždit žijící koryfeje československé hmotnostní spektrometrie do jedné uzavřené místnosti o známé teplotě a tlaku, do které by se kontrolovaně zaváděly alkoholické nápoje, a nechat je reagovat. V čase T_0 by se potom debata začala zaznamenávat. Experiment byl plánován jako celonoční a výsledky se měly následně přepsat a opublikovat. Tato nesmírně originální (Petrova) myšlenka byla ale později zavržena a nahrazena více konzervativní *off-line* technikou při které byli pamětníci osloveni, aby sami připravili vlastní text formou kapitoly o libovolném stylu. Seznam oslovených pamětníků, kteří působili vesměs na pracovištích v Praze, v Bratislavě a v Pardubicích, navrhl na naši žádost František Tureček a doplnil jej Vladimír Havlíček, oběma tedy patří ještě zvláštní poděkování. Rádi bychom také poděkovali Helence a Pavlovi Řehulkovým, kteří ochotně pomohli s konečnou jazykovou úpravou textu.

Příspěvků se nám nakonec sešlo od dvanácti pamětníků. Ty předkládáme tak, jak jsme je obdrželi, pouze s minimální pravopisnou korekturou, abychom nechali plně zaznít originalitu autorova výraziva.

Příspěvky autorů z Bratislavy jsme ponechali ve slovenském jazyce. Na závěr knihy jsme zařadili kresby známých postav světové hmotnostní spektrometrie od Zdeňka Hermana, které podle našeho názoru nejen symbolicky dotvářejí obraz provázanosti československé a světové hmotnostní spektrometrie. Pomyslný most, po kterém bude čtenář kráčet, vede od 50. let minulého století až do současnosti a poskytne příležitost nahlédnout do dění a vývoje v hmotnostně-spektrometrické komunitě.

Československá hmotnostní spektrometrie vděčí za svůj vznik nadhledu a světovosti Jaroslava Heyrovského. Byl to on, kdo mladé talentované aspiranty svého ústavu vyzval k tomu, aby se namísto elektrochemii, která v té době pochopitelně tvořila hlavní náplň ústavu, začali věnovat zcela jinému výzkumnému směru. Schopnost dohlédnout dále než ke dveřím vlastní laboratoře, katedry či ústavu je známkou vědecké osobnosti, jaké se v naší malé zemi nevyskytují ve vysokých koncentracích. Právě takový byl ale Jaroslav Heyrovský, který umožnil vznik československé hmotnostně-spektrometrické školy v rámci svého pracoviště. Podrobnosti může laskavý čtenář nalézt v samotném textu publikace, především pak v kapitole napsané Zdeňkem Hermanem. I přesto ale považujeme za správné i v této předmluvě zdůraznit, že některé práce hmotnostně-spektrometrické skupiny na Heyrovského ústavu, například jedno z prvních zařízení pro ionizaci málo těkavých látek, patřily ve své době k naprosto průlomovým a nijak nezaostávaly za výzkumem v nejlepších světových laboratořích své doby, a dokonce ho v některých oblastech předbíhaly. O tom svědčí i výše uvedený výrok Graham Cookse, který se vztahuje ke stěnám laboratoře v Heyrovského ústavu, na které se podepisovali světově významní představitelé oboru při četných návštěvách tohoto vědeckého pracoviště. (Původní sbírka podpisů z let 1966-1988 existovala na stropě staré laboratoře v Máchově ulici. Ta ale zanikla při stěhování ústavu a dnes existuje již jen na fotografiích).

Vzpomínky jsou zároveň výpovědí o vědě ve zcela jiné době a za zcela jiných podmínek. Nejmladším čtenářům z řad studentů mohou zmínky o poválečném využití kořistného materiálu na stavbu hmotnostního spektrometru v padesátých letech či o problémech s cestováním do zahraničí, znít stejně jako vzpomínky na chronický nedostatek

banánů či dokonce na dobu kamennou. Základní popis vědecké práce v oboru hmotnostní spektrometrie ovšem zůstává stejný. Z tohoto hlediska by nás všechny mohli Vladimír Čermák či Vladimír Hanuš rozhodně učít i dnes.

V současnosti zažívá česká, a věříme že i slovenská, hmotnostní spektrometrie období velkého rozvoje, který v podstatě kopíruje vítězné tažení hmotnostní spektrometrie všude ve světě. Díky přílivu peněz do výzkumu se dnes na českých a slovenských pracovištích již zavedly, nebo v současnosti zavádějí, nejmodernější hmotnostní spektrometry, které slouží v celé řadě aplikačních odvětví. Ovládnání hmotnostních spektrometrů se naprosto zásadním způsobem zjednodušilo a na hmotnostních spektrometrech dnes pracují nejen specialisté, ale třeba i biologové, farmaceuti a v některých oblastech i lékaři. I z tohoto hlediska je zajímavá exkurze do doby, kdy byla hmotnostní spektrometrie instrumentálně náročnou disciplínou a doménou expertů, ne-li přímo mágů. Ne náhodou vzniklo vysvětlení zkratky MS jako magické signály. Rostoucí popularita hmotnostní spektrometrie v naší zemi budiž také doložena odborně-společenskými akcemi jako je již tradiční Škola hmotnostní spektrometrie a, nedávno vzniklá, Česká konference hmotnostní spektrometrie.

Jsouce pouhými juniory nemůžeme se k minulosti našeho oboru sami vyjadřovat. S radostným úsilím, se kterým jsme se do práce na této knize zakousli, si pouze dovolujeme vzdát obrovskou úctu zakladatelům naší hmotnostní spektrometrie, ať již to byli Češi nebo Slováci. Ti často pracovali v obtížných podmínkách daných nejen situací v tehdejší ČSSR, ale i situací v hmotnostní spektrometrii obecně. Stojí za zmínku, že v době, o níž publikace pojednává, řada instrumentálních konceptů, které dnes v hmotnostní spektrometrii používáme a které považujeme za samozřejmé, buď vůbec neexistovala, nebo byla ve svých počátcích. Naopak se používala řada technik, které jsou dnes zapomenuty. Líčení Františka Turečka o jeho soubojích s pyrolýzní sondou, vyrobenou dnes již legendárním panem Protivou, nechť hovoří za vše.

Přijměte tedy prosím tento poněkud neobvyklý nakladatelský počin jako snahu uchovat písemný a obrazový doklad o snažení celé

řady nadšených výzkumníků, díky které máme dnes v České i Slovenské republice na co navazovat.

Příjemné čtení.

Jaroslav Pól (Thermo Fisher Scientific, Praha)

Michael Volný (University of Washington, Seattle)

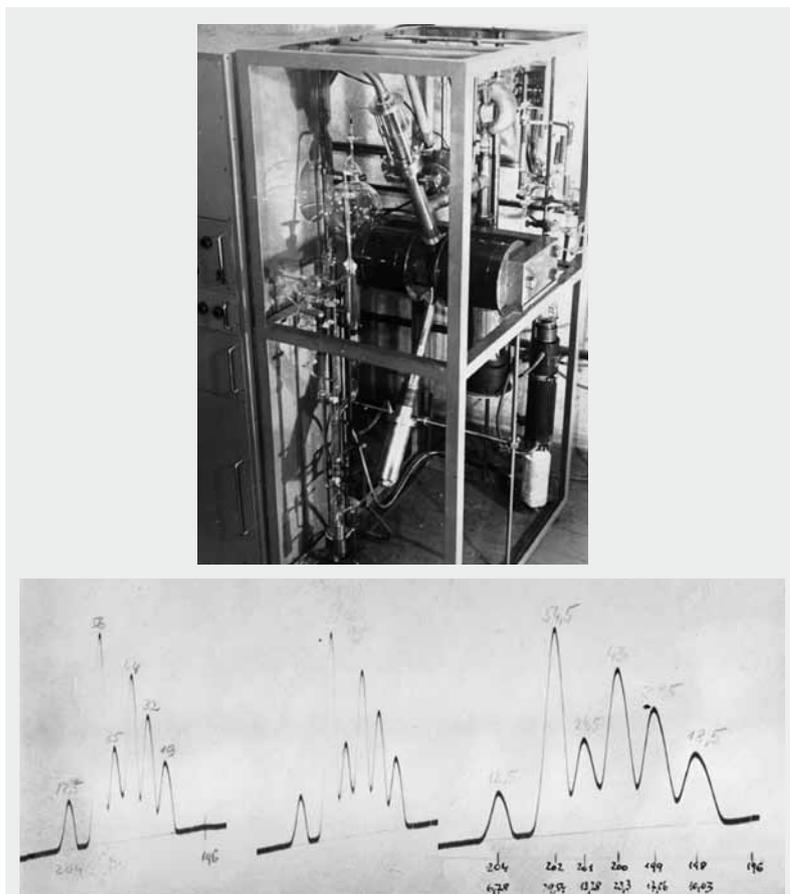
2. ZDENĚK HERMAN

ZAČÁTKY HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE U NÁS A HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE V ÚSTAVU FYZIKÁLNÍ CHEMIE AKADEMIE VĚD



Zdeněk Herman se narodil 24. března 1934 v Libušině u Kladna. Absolvent matematicko-fyzikální fakulty University Karlovy, obor fyzikální chemie a radiochemie. V Ústavu fyzikální chemie Akademie věd pracuje od r. 1957. Zabývá se hmotnostní spektrometrií a kinetikou a dynamikou iontových srážek, v těchto oborech publikoval přes 220 prací. Zavedl k nám metodu molekulových paprsků, aplikovanou na tento výzkum, zvláště pak na výzkum dynamiky chemických reakcí iontů metodou rozptylu ve zkřížených paprscích částic. Působil také v zahraničí, v USA na Yaleově universitě (1964-65, hostující vědecký pracovník 1966) a jako hostující profesor na University of Colorado (1968-69) a JILA (Joint Institut for Laboratory Astrophysics, Boulder, 1980, 2001) a na University of Chicago (1993-97) jakož i na řadě institucí v Německu, Rakousku, Francii, Británii a Japonsku. Jeho práce byla oceněna v Německu udělením Ceny Alexandra von Humboldta (1992) a u nás hlavní cenou České hlavy za celoživotní dílo (2003). Mezinárodní odborné časopisy mu věnovaly speciální čestná čísla k šedesátým (J. Phys. Chem. 99, No.42, 1995) a 75. narozeninám (Int. J. Mass Spectrom., Vol. 280, 2009). Po roce 1990 se stal u nás profesorem fyzikální chemie na VŠCHT Praha (1996) a je čestným profesorem iontové fyziky na Universitě v Innsbrucku (1993), kde mu byl také udělen čestný doktorát (2009).

Příběh hmotnostní spektrometrie u nás začíná počátkem padesátých let v okruhu žáků prof. Jaroslava Heyrovského (1890-1967) v ústavu fyzikální chemie University Karlovy a v Polarografickém ústavu. Všichni vyrůstali v oblasti této české školy elektrochemie, ale jak prof. Heyrovský tak jeho žák, prof. Rudolf Brdička, je měli k tomu, aby svou samostatnou práci orientovali do nových vznikajících oborů chemie. Se založením Československé akademie věd v r. 1952 vznikla



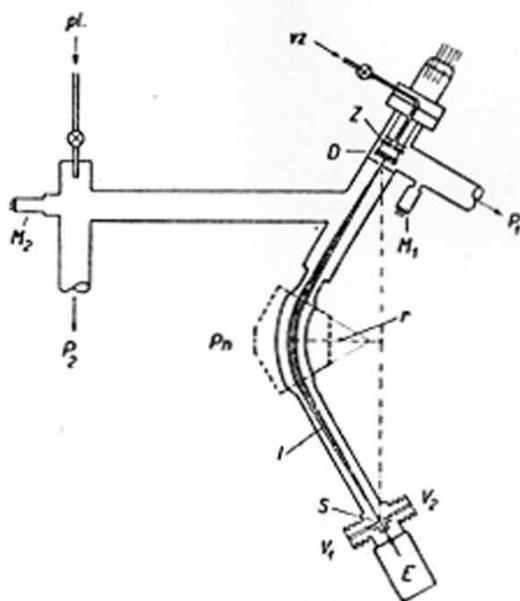
Obrázek 1: První hmotnostní spektrometr v ČSR a záznam prvního spektra rtuti (prosinec 1953)

i Laboratoř fyzikální chemie ČSAV (rozšířená od r. 1955 na Ústav fyzikální chemie ČSAV) a vedením byl pověřen prof. Rudolf Brdička (1906-1970). Čtyři mladí pracovníci tohoto ústavu, Vladimír Čermák (1920-1980), Vladimír Hanuš (1923-2009), Josef Cabicar (1923-1998) a Čestmír Jech (1925-2002), kteří zde právě končili aspiranturu (1949-52) a získali nový titul CSc., zvolili pro svou další práci konstrukci hmotnostního spektrometru, prvního takového přístroje u nás. Tři z nich jako fyzikální chemici, Čestmír Jech se připojil jako radiofyzik od prof. Běhounka. Patřili vesměs ke generaci, která byla ovlivněna uzavřením vysokých škol za války, a Karlovu universitu mohli začít studovat až jako více než dvacetiletí. Tento návrat do školních lavic v dospělém věku vyžadoval jistě značnou motivaci a bezpochyby právě proto z této generace vzešlo tolik významných vědců.

Konstrukce velkého vakuového přístroje nebyla lehkým úkolem v poválečné nedostatkové době a v zemi, která byla po r. 1948 ve značné izolaci od dění v západní Evropě. Na všechno bylo třeba shánět složitě materiál, jak mechanické tak vakuové části i elektroniku (velkou část zdrojů tvořil německý kořistný materiál) bylo třeba zhotovit vlastními silami, s přispěním ústavních sklářů a mechaniků.

Po necelých dvou letech byl přístroj uveden do chodu, první spektrum rtuti v prosinci 1953 bylo zaznamenáno ještě pomocí polarografické metody galvanometru a fotografické kazety (Obrázek 1). Ústav fyzikální chemie ČSAV se tak stal prvním a na delší dobu hlavním pracovištěm v oblasti hmotnostní spektrometrie v ČSR.

Přístroj byl magnetický hmotnostní spektrometr Nierova typu (Obrázek 2) s jednoduchou fokusací a 60° magnetickým polem o poloměru 152 mm [1]. Přístroj byl čerpaný kovovou rtuťovou difuzní pumpou Leybold (čerpací rychlost byla pouhých 15 l/s), která byla spojena se skleněnou vymrazovačkou, chlazenou směsí tuhého oxidu uhličitého s alkoholem. Stroj měl měděnou trubici, olovem těsněný Nierův zdroj, ale napouštěcí systém a ostatní části přístroje byly skleněné, jak ostatně tehdy bývalo zvykem. Základní elektroniku tvořil elektronkový stabilizátor emise vlákna, postavený V. Čermákem, a elektrometrický obvod pro měření velmi malých proudů, zkonstruovaný V. Hanušem. Zdrojem urychlovacího napětí 2 keV byla soustava anodových baterií. Měření vakua obstarával vakuometr Penningova typu.



Obr. 1. Schéma trubice hmotového spektrometru.

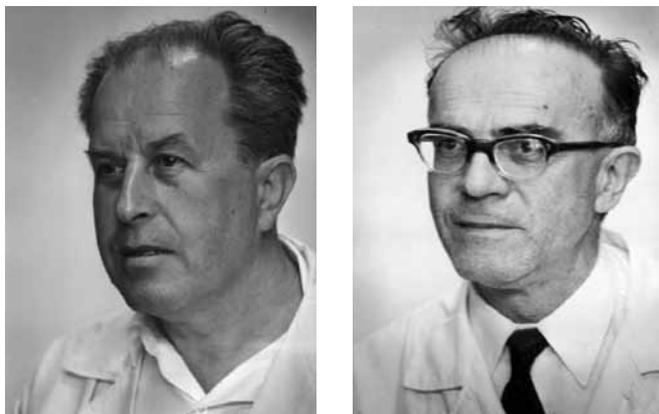
Z - zdroj iontů, S - sběrač iontů, P_1, P_2 - přívody k difúzním vakuovým, M_1, M_2 - vakuové měrky, D - diafragma, P_n - pólové nástavce, E - část s elektrometrickou tetradou a vysokohomovými odpory, I - iontový svazek fokusovaný směrově, V_1, V_2 - vlnovce pro přenos posuvů štěrbin, vz - přívod vzorků do zdroje, pl - přívod plynů do trubice pro studium disociační srážkou, r - poloměr dráhy centrálního paprsku rovný 162 mm.

Obrázek 2: Schema přístroje

Konstrukce prvního hmotnostního spektrometru v zemi byla mimořádným počinem, který byl v r. 1954 oceněn udělením Státní ceny (Obrázek 3). Potom se však Dr. Cabicar vrátil ke své práci v oblasti difúze a irreversibilní termodynamiky (po několika letech odešel na jadernou fakultu ČVUT) a Dr. Jech ke své radiofyzice a radiochemii, u spektrometru zůstali ti dva, kteří do konstrukce přinesli největší vklad, V. Čermák a V. Hanuš (Obrázek 4).



Obrázek 3: Novinový snímek vyznamenané skupiny



Obrázek 4: Dr. Vladimír Čermák (1920–1980) a Dr. Vladimír Hanuš (1920–1980)

Dr. Vladimír Čermák pocházel z jižních Čech a těsně před válkou začal studovat na Karlově universitě, ale krátce potom došlo k uzavření vysokých škol. V. Čermák pak pracoval během války v chemickém průmyslu. Na jeho zdraví se silně podepsalo asi roční věznění (za urážku vlajky Velkoněmecké říše). Po válce studoval chemii na Karlově universitě a na své disertaci z oblasti elektrochemie (polarografie kyseliny dithionitové a siřičité) pracoval v okruhu prof. Heyrovského. Čermák byl osobností i mimo oblast odbornou, měl rád přírodu a myslivost, měl velký kulturní rozhled a rozsáhlé znalosti literatury, obdivoval Francii, její kulturu i jazyk, a mezi přáteli byl znám jako „arbitr elegantiarum“. Dr. Vladimír Hanuš, východočech z Bílé Třemešné, vystudoval gymnasium v Dvoře Králové a na počátku války abiturientský kurs chemické průmyslovky v Kolíně. Pak pracoval ve Fragnerově měcholupské továrně na léčiva v prostředí mezi lidmi, jež pro něho – podle jeho vlastních slov – bylo výbornou školou v oblasti organické a analytické chemie. Po skončení války začal studovat chemii na Karlově universitě, stal se brzy asistentem na katedře fyzikální chemie a respektovaným příslušníkem skupiny elektrochemiků kolem prof. Heyrovského a prof. Brdičky. Jeho disertační práce z oblasti polarografických kinetických proudů byla zcela výjimečná rozsahem i kvalitou a při její obhajobě mu komise navrhla, aby práci poněkud rozšířil a podal ji jako práci doktorskou. Byl by se tak stal vůbec prvním doktorem věd v ČSR. Hanuš však tuto nabídku odmítl s tím, že nepovažuje za morální použít stejné nebo podobné výsledky k získání dvou titulů, a až do smrti zůstal kandidátem věd. Vladimír Hanuš byl mimořádnou osobností ústavu, jeho encyklopedické vědomosti z celé oblasti chemie byly legendární, říkávalo se, že se ho člověk může zeptat na cokoli a že to bude buď vědět, nebo z něj vypadne citace.

Čermák i Hanuš věděli, že další vývoj metody budou muset zabezpečit zkušeným elektrotechnikem a zkušeným mechanikem. V obou případech měli velmi šťastnou ruku: v polovině padesátých let se ke skupině připojil Ing. Miroslav Pacák (1911-1988) a pan Josef Protiva (1914-2004), (Obrázek 5). Ing. Pacák, další významná individualita skupiny hmotnostní spektrometrie, vystudoval pražskou techniku ve třicátých letech a potom pracoval jako elektrotechnik v slánské továrně Palaba, jejíhož majitele, továrníka Pály, si mimořádně vážil. Byl

nadšeným divákem Osvobozeného divadla, kde nevynechal snad jedinou hru. Byl pak vedoucím redaktorem předválečného elektrotechnického časopisu „Radioamatér“, vydávaného Orbisem a známého tehdy i v zahraničí (jak jsme se mnohem později dozvěděli v Jugoslávii) a tady pracoval také během války a po ní (časopis v té době vycházel pod názvem „Elektronik“) až do r. 1951, kdy byl časopis zrušen. Ing. Pacák byl neobyčejně zkušený elektronik, který se krátce po nástupu do ústavu habilitoval jako docent ČVUT, kde přednášel slaboproudou elektrotechniku a měřicí techniku. Jeho specialitou byly stabilizátory a měření malých proudů, přesně to, co hmotnostní spektrometrie potřebovala. Nikdy se nespokojil se známými postupy, ale stále vymýšlel nové metody řešení obvodů a především dovedl postavit elektronické obvody přesně podle požadavků, které mu chemici stanovili. Jeho činnost se v šedesátých letech rozšířila i do fyzikálního ústavu na univerzitě v Bonnu, do skupiny kolem příštího nositele Nobelovy ceny prof. Wolfganga Paula (m.j. otce kvadrupólového analyzátoru), kde si jeho elektronické invence neobyčejně vážili a kde jeho přístroje zanechaly vysoce respektovanou českou stopu.

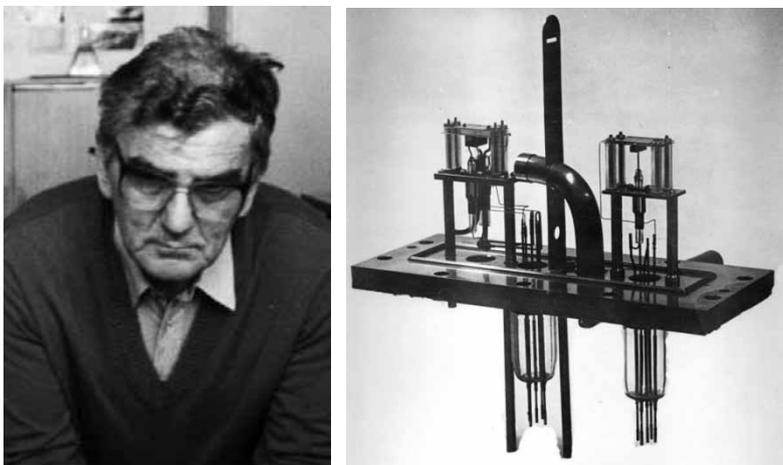


Obrázek 5: Technické zázemí provozu hmotnostního spektrometru v ÚFCH ČSAV: Doc. Miroslav Pacák (1911–1988), Ing. Ladislav Hládek (1933–), elektronika, a pan Josef Protiva (1914–2005), jemná mechanika.

O zlatých rukou pana Protivy bylo už řečeno hodně: byl to zcela výjimečný jemný mechanik, pro něhož žádná práce nebyla nemožná, byť to byla veleúzká štěrbin, nebo molekulová tryska sestavená z desítek

tenkých folií, nebo jemná hodinářská oprava. Iontové zdroje, analyzátoři energie, zpomalovací čočky, postavené jeho rukama, pracovaly na mnoha místech ve světě v laboratořích kolegů, kteří takové štěstí na mechanika neměli. Pan Protiva přišel do ústavu z elektronických dílen Čs. rozhlasu a po několika letech přivedl z těchto dílen i mladšího mechanika Antonína Popeláka.

V r. 1955 začal v laboratoři pracovat na své diplomové práci končící student fyzikální chemie Zdeněk Dolejšek (*1932). Námětem jeho diplomky bylo dokončení konstrukce malého hmotnostního analyzátoru Dempsterova typu, t.j. magnetického hmotníku s odklonem paprsku 180° v poli permanentního magnetu (Obrázek 6). Z. Dolejšek přístroj dovedl do funkční formy a v r. 1957 obhájil diplomovou práci s tímto námětem.



Obrázek 6: Dr. Zdeněk Dolejšek a výsledek jeho diplomové práce – malý hmotnostní spektrometr Dempsterova typu

Koncem padesátých let byly u nás ve stavbě ještě jiné hmotnostní spektrometry. Fungující magnetický stroj s jednoduchou fokusací postavil v tehdejším VÚVETu ing. Ondráček, do laboratoře v ÚFCH docházel někdy ostravský ing. Monuš, který usiloval o stavbu průletového spektrometru Bennettova typu pro analýzu důlních plynů, ale zdálo se, že přístroj nikdy pořádně nefungoval.

V roce 1957 přijala laboratoř hmotnostní spektrometrie v ÚFCH ČSAV do zaměstnaneckého poměru dva končící studenty fyzikální chemie, Zdenka Dolejška (který ve skupině už pracoval na své diplomové práci) a Zdeňka Hermana (*1934). Kromě toho si ing. Pacák přivedl jako posilu elektroniky svého končícího studenta Ladislava Hládka (*1933). Celý Ústav fyzikální chemie ČSAV byl v té době stěsnán v několika místnostech chemických ústavů University Karlovy na Albertově. Hmotníku byla k dispozici velká, temná místnost v suterénu s klenutým stropem a okny u stropu. Do místnosti se museli vejít všichni ze skupiny, včetně první laborantky Jitky Fleischhansové-Jegorové, jen ing. Pacák měl k dispozici koutek v jiné místnosti v přízemí.

Rok 1957 byl pro ústav velmi důležitý, protože se mohl přestěhovat ze stísněných prostor univerzitních ústavů na Albertově do budovy zrušeného Úřadu pro věci církevní v Máchově ulici. Budovu sice několik let sdílel s Fyzikálním ústavem ČSAV, jemuž patřilo několik pater, ale místa bylo podstatně více. Hmotník se stěhoval jako poslední až v prosinci roku 1957 do místností ve 3. patře na podium, vyztužené dvěma kolejnicemi. Po odstěhování hmotníku se objevila pod stojany elektroniky sklepní místnosti Albertova velká kaluž rtuti, zřejmě pozůstatek dávného prasknutí McLeodova manometru. V Máchově ulici v místnosti se strojem seděli „mladší“, Zdeněk Dolejšek a Zdeněk Herman, a laborantka Jitka Jegorová, „šéfové“ Hanuš a Čermák sdíleli úzkou „nudli“ vedle. Časem se prostor ještě zvětšil, po odstěhování fyziků a nárůstu přístrojového vybavení.

Zpočátku – na podzim ještě na Albertově – pracovali všichni společně. Hmotník byl používán k řešení speciálních analytických úkolů zvenčí, jako byla analýza čistoty vzácných plynů pro jejich výrobce Moravské chemické závody, analýza znečištěnin ve vzácných plynech, analýza vzorků s ^{15}N po izotopických experimentech biologů a biochemiků, analýza poměru izotopů Ar pro geology, nebo první organické analýzy, jako byla analýza methylovaných příměsí v kaprolaktamu pro Moravské chemické závody [2,3]. Postupně vznikal ale vlastní, čistě hmotnostně spektrometrický program. Od počátku bylo zvykem sledovat všechny publikace z oblasti hmotnostní spektrometrie (tehdy to ještě šlo), psát si o separáty a ty nebo fotokopie

prací z časopisů ukládat do knihovničky laboratoře. Po létech se tento soubor rozrostl na tisíce prací. Rok 1957 byl i v tomto ohledu dost zlomový: vyšla kniha Fielda a Franklina „Electron Impact Phenomena“. Field, Franklin a Lampe publikovali první práce o reakcích iontů s molekulami, známa byla i starší izolovaná práce Talrozeho z r. 1952 o tvorbě „neklasického“ iontu CH_5^+ , předmětem častých diskusí byla kvazi-rovnovážná teorie hmotnostních spekter, pocházející ze skupiny Henryho Eyringa (Henry Rosenstock 1952). Meyerson s Rylanderem publikovali velmi zásadní práci o přesmyku iontů toluenu na sedmičlenný kruh tropyliu C_7H_7^+ [4]. Byla to právě tato práce, která Hanuše a Čermáka inspirovala nejprve ke studiu spekter substituovaných alkylthiofenů a k návrhu analogického přesmyku iontů z pětičlenného kruhu na šestičlenný kruh se zabudovanou nejnižší skupinou CH [5], později Hanuše a Dolejška k několika pracím o přesmyku řady ionizovaných isomerů C_7H_8 na tropyliový ion [6].

Práce v laboratoři se pak začala specializovat. Zdeněk Dolejšek více spolupracoval s Hanušem a oba se čím dále tím více zabývali hmotnostními spektry organických látek a přesmyky iontů, Čermák a Herman se zabývali od konce 50. let srážkovými procesy mezi ionty a molekulami. V měření na jediném stroji se obě pracovní skupiny pravidelně po několika měsících střídali.

Čermák s Hermanem také přístroj upravili tak, že prostor iontového zdroje bylo možno diferenciálně čerpat silnější pumpou. Byla to skleněná rtuťová difuzní pumpa o čerpací rychlosti asi 60 l/s, „majstrštyk“ ústavních sklářů Šaňka a Černého, spojená se skleněnou vymrazovačkou, chlazenou kapalným dusíkem. Pro sledování reakcí s alkalickými kovy později neváhali ještě jednou trubici navrtat, aby se do prostoru iontového zdroje dala přes skleněný zábrus nasunout pícka. Také jednoduchý elektronkový zesilovač iontových proudů byl nahrazen zesilovačem na principu vibračního kondenzátoru, zhotovený na zakázku v Ústavu přístrojové techniky ČSAV v Brně ing. Vavrouchem. Zesílení iontových proudů pomocí násobiče bylo ještě v nedohlednu. Přístroj rozhodně nepůsobil příliš elegantně, původní měděná trubice s mosaznými přírubami a olověným těsněním byla zašlá, kromě cínových spojů kovových částí se některé netěsnosti opravovaly také černým piceinem. V polovině šedesátých let navštívil laboratoř jeden

z čelních amerických spektrometrů, Vernon Dibeler, starší laskavý pán, jehož všichni velmi obdivovali - pod jeho vedením začaly v National Bureau of Standards fotoionizační experimenty. Podíval se úkosem na záplatovaný stroj a řekl jenom: „Hm, tak na tomhle vy děláte ty své experimenty.“

Posledním společným podnikem celé laboratoře byla stavba dvou speciálních spektrometrů pro přesné stanovení deuteria ve vodíku v oblasti přirozených koncentrací, tak zvaných „vodíkáčů“ počátkem šedesátých let (Obrázek 7). S tímto zadáním přišlo tehdy Ministerstvo chemického průmyslu. Účel zakázky byl trochu nejasný, ale v kompenzaci za jejich zhotovení měla laboratoř dostat vakuovou pájecí pec (o finančním vyrovnání nebyla v té době řeč). Taková pec byla výborným zlepšením konstrukčních možností, protože umožnila nahradit „měkké“ cínové spoje daleko kvalitnějším „tvrdým“ vakuovým pájením mědí. Oba stroje s permanentním magnetem, současným záznamem m/z 2 (H_2^+) a m/z 3 (HD^+) s řádově odlišnými citlivostmi, speciálními zdroji a vlastní vyvinutou elektronikou byly během jednoho roku postaveny a odladěny [7]. Jejich přesnost (0,3% v oblasti přírodních koncentrací deuteria) byla lepší než u nejlepších komerčních strojů té doby od firmy Atlas. Pak se však ukázalo, že na ministerstvu se vyměnili úředníci, nikdo o zakázce po roce nevěděl a nikdo o stroje neměl zájem, takže oba přístroje zůstaly v laboratoři. Pec pro vakuové pájení však byla dodána a používána a na „vodíkáče“ nějaký čas jezdil měřit balneolog Dr. Konopáč, který se na nich pokoušel hledat pomoci rozdílů v koncentracích deuteria spojení mezi minerálními prameny karlovarské a teplické oblasti.

Značnou posilou pro laboratoř a zvláště pro organickou hmotnostní spektrometrii Hanuše a Dolejška se stal rok 1962, kdy Akademie věd konečně poskytla finanční prostředky na nákup prvního komerčního hmotnostního spektrometru. Byl to ruský přístroj pro chemickou analýzu MCH 1303 lenigradského závodu SKB (Speciální konstrukční byro Akademie věd, Leningrad). V té době už bylo v zemi několik strojů sovětské provenience pro izotopickou nebo chemickou analýzu (např. od konce 50. let v Ústavu jaderného výzkumu nebo v některých průmyslových podnicích), ale publikací odtud vycházelo velmi málo, pokud stroje vůbec fungovaly.

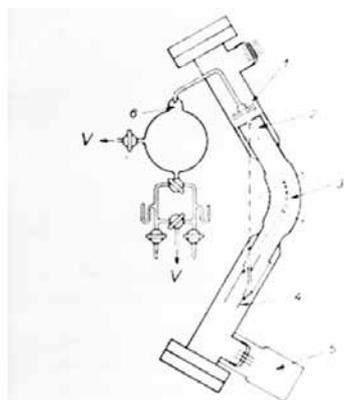


Fig. 1
Schematic Drawing Showing Mass Spectrometer Tube and Gas Handling System
1 Ion source, 2 diffusion pump lead, 3 pole pieces, 4 mass ion collector, 5 part containing electrometer tubes and high resistors, 6 molecular leak, V connection to vacuum system.

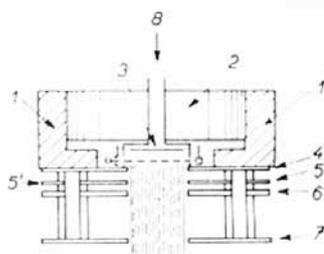


Fig. 2
Schematic Diagram of the Ion Source
1 Pole pieces, 2 one of two semicircular segments of the permanent source magnet, 3 repeller plate, 4 plate 0.6 mm thick with a slit 1.5 × 10 mm, 5, 5' pair of plates 0.3 mm thick 4 mm apart, 6 plate 1 mm thick with a slit 2 × 10 mm, 7 plate 0.6 mm thick with a slit 1.5 × 10 mm, 8 gas inlet. Spacing between plates 4 and 5 is 2 mm, between plates 5 and 6 is 1 mm and between plates 6 and 7 is 8.7 mm.

Obrázek 7: Schema přístrojů pro přesnou analýzu malých množství deuteria ve vodíku, postavených v ÚFCH ČSAV počátkem sedesátých let.

Tento „Ivan“ (jak byl stroj okamžitě pokřtěn, aby se odlišil od původního „Dědka“) byl magnetický stroj s jednoduchou fokusací, velkým poloměrem a rozlišovací schopností nad 600 hm. j. Hanuš z něj ovšem dokázal vytáhnout mnohem více, s hrdostí ukazoval rozlišené hmotnosti iontů $C_3H_7^+$ a $C_2H_3O^+$, což vyžadovalo rozlišovací schopnost okolo 1200 hm. j. Přístroj byl celokovový s horizontální trubicí, se rtuťovými difuzními pumpami a typickými uzavíracími ventily, používanými SKB, s kovovým napouštěcím systémem a kombinovanou lampovou a polovodičovou elektronikou, nad jejíž komplikovanou koncepcí Doc. Pacák trochu kroutil hlavou. Uvést do chodu jej přijeli dva bodří montěři z Leningradu. Na samém počátku jej proslavily dvě pozoruhodnosti. Za prvé, přístroj přišel v bednách s místem určení „Čechoslovackaja sovětskaja socialističeskaja respublika“, jak si leningradští odesilatelé zřejmě vysvětlili zkratku ČSSR. Za druhé, montěři měli na počátku velké problémy s předvakuumem, až do okamžiči-

ku, kdy nakonec otevřeli kovový předvakuový reservoár a odstranili z něj lístek z leningradského metra. Nicméně byl tu další fungující stroj, který Hanuš během doby dále upravil chytrým zavedením napouštění malých množství pevných organických látek ze zahřívání kapiláry přímo do zdroje a nahrazením klasického detektoru vlastním detektorem typu Bernhard-Schütze, z dílny velkého přítele laboratoře, berlínského prof. F. Bernharda. A tím se také uvolnilo na „Dědkovi“, kterého mohli teď Čermák s Hermanem používat a přestavovat podle libosti pro výzkum srážkových procesů iontů.

Instalace „Ivana“ vedla i k dalším novinkám: prof. Šorm, ředitel ÚOCHB ČSAV, poslal do laboratoře na dlouhodobé zaškolení v hmotnostní spektrometrii Dr. Ladislava Dolejše a jeho spolupracovníci. Jeho cílem bylo koupit pro potřeby ÚOCHB hmotník a Dr. Dolejš měl být zakladatelem této skupiny. Dolejš byl vynikající syntetický organik a jedna z ozdob Šormova ústavu v oblasti přírodních látek, vrstevník Hanušův a prostě prima člověk po všech stránkách. S Hanušem pak začali s analýzou a určováním struktury přírodních látek, zvláště alkaloidů. V té době vznikla u nás skutečná hmotnostní spektrometrie organických látek, obor, který právě ve světě začal bujet. Odtud se počíná Hanušova práce, které se pak věnoval celý zbytek života a kterou označoval jako „objasňování struktury organických a bioorganických látek metodami hmotnostní spektrometrie“. Se Zdeňkem Dolejškem se věnoval ještě interpretaci spekter adamantanů [8] a řady terminálních substituovaných acetylenů (pentyňů – oktynů) [9], až do Dolejškova odjezdu k Fredu Lossingovi do Kanady v r. 1964. Hanušova hlavní pozornost se však soustřeďovala na vztah struktury molekul a monomolekulové disociace iontů, včetně přesmyků iontů – oblast, v níž byl vysoce respektován po celém světě. Dlouhá řada asi sedmdesáti prací vycházela z jeho spolupráce s Ladislavem Dolejšem [10], Karlem Machem [11], Jiřím Miterou a řadou organiků, biologů, a lékařů. Týkala se uplatnění hmotnostní spektrometrie v organické chemii, biochemii, biologii, medicíně, forenzní medicíně a řadě dalších oborů [10,11]. Když byla u nás založena v r. 1972 Dr. Chundelou laboratoř pro sledování dopingu ve sportu, pomáhal Vladimír Hanuš spolu se Zdeňkem Dolejškem a s technickým přispěním L. Hládka v jejím zavedení. Hanušova účast v okamžitém a úspěšném řešení případů otrav

zachránila řadu životů. Čestmír Jech o něm jednou po právu napsal: „jeho práce bohatě naplnila a překonala požadavky společenské užitečnosti“. Podrobný popis toho, co všechno Vladimír Hanuš za ta léta udělal, nelze ani dost dobře poskytnout. Stojí za to ale poznamenat, že Vladimír vždycky trval na tom, že zákazníci za analýzy nebudou nic platit, protože „poskytovat bezplatný servis společnosti je povinností pracovníků Akademie věd“.

V roce 1967 svolala laboratoř schůzku všech pracovníků v oboru hmotnostní spektrometrie. Schůzka se konala v kinosále Technického musea dne 13. dubna 1967 a řídil ji Dr. Čermák. Ze záznamu, který jsem objevil ve svých poznámkách a který je patrně jediným zachovalým písemným svědectvím o tomto setkání, vyplývá, jak podstatně se hmotnostní spektrometrie rozvinula v Československu během něco málo více než deseti let od konstrukce prvního spektrometru u nás. V následujícím textu uvádím přehled tehdejších pracovišť se jmény a náměty práce podle těchto poznámek s omluvou, že některá data (na př. křestní jména pracovníků) jsou neúplná.

Ústav fyzikální chemie ČSAV (V. Čermák, V. Hanuš, Z. Dolejšek, Z. Herman)
(hmotnostní spektrometry vlastní konstrukce, MCH 1303, MI 1305)

- vývoj spektrometrů a elektronických součástí
- hmotnostní spektra a struktura organických molekul
- studium volných radikálů
- srážkové procesy iontů a vzbuzených částic

Východočeské chemické závody Pardubice (Horák, Novák)
(MCH 1303)

- výzkum hoření
- servis: kvantitativní stanovení perm. plynů

Chemický ústav SAV, Bratislava (Kováčik)
(MCH 1306)

- strukturální otázky: štěpy polysacharidů, alkaloidy
- studium antioxidantů fenolového typu (spolupráce s VŠ chemickou v Bratislavě, skupina ropy)

Prirodovědecká fakulta Komenského university Bratislava (katedra jaderné chemie) (Drienovský, Macášek)
(MCH 1303)

- studium acetonacetátových systémů

Ústav experimentální botaniky ČSAV (Králová)
(MI 1305)

- analýza plynů: isotopická analýza N₂ (biochemické a biologické pokusy – živočišný a zemědělský výzkum)

Ústav jaderného výzkumu ČSAV (Z. Prášil, E. Klosová)
(2 stroje MI 1305)

- běžná analýza plynů z radiačních procesů
- teoretické otázky: vznik hmotn. spekter a radiolytické procesy
- (Matoušová: isotopické složení Li z různých zdrojů)

Výzkumný ústav uhelný, Ostrava (Petráš)
(Atlas GD 50 – v instalaci)

- analytika plynů

Výzkumný ústav sdělovací techniky, Praha (Kutil)

- (JEOL JMS 01)
stopová analýza pevných látek

Dusíkárný Ostrava (Hejda)

(MCH 2002, JMS 02A, 2 spektrometry z VÚ vakuové elektrotechniky)

- analýza vzácných plynů
- organická analýza (JMS: stanovení molekulové váhy, identifikace chromatografických frakcí)

Výzkumný ústav vakuové elektrotechniky Tesla-VÚVET, Praha (Pecha)

- konstrukce spektrometrů (do r. 1960 3 stroje – 2× Ostrava, VŠ Báňská pro petrochemii)
- souč. stavba velkého stroje
- konstrukce násobiče Schutze-Bernhardt
- omegatron

Výzkumný ústav geologický, Praha (Šmejkal)
(MI 1305, Atlas M-86)

- isotopické složení olova (pro geochem. datování)
- analýza plynů

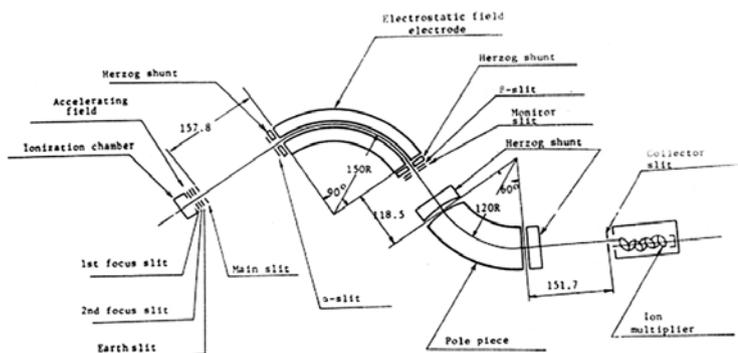
(12. Vysoká škola báňská, Ostrava (Kubička))

(13. Thomayerova nemocnice Krč, Praha (Tlustý))

- HS Atlas pro respirační analýzu

Poslední dvě pracoviště byla teprve ve stavu zakládání, proto jsou uvedena v závorce.

Tato schůzka vedla k užší spolupráci mezi pracovníky oboru u nás a vedla posléze k ustavení odborné skupiny pro hmotnostní spektrometrii Československé společnosti spektroskopické v létě r. 1971 s Dr. V. Čermákem v čele (podle záznamů ČSSS). V r. 1973 převzal vedení skupiny Zdeněk Herman, který s ní připravil především účast na konferenci XX. Colloquium Spectroscopicum Internationale, pořádaném v r. 1977 ČSSS v Praze. Hmotnostní spektrometrie měla na tomto jubilejním symposiu samostatnou sekci s bohatou mezinárodní účastí. V r. 1977 se stal vedoucím odborné skupiny Miroslav Ryska.



Obrázek 8: Schema přístroje JEOL JMS-D100, používaného Dr. Hanušem od 70 let pro objasňování struktury organických a bioorganických látek

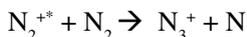
Dalším významným mezníkem v oddělení hmotnostní spektrometrie Ústavu fyzikální chemie ČSAV a v práci Vladimíra Hanuše se stal rok 1973. Toho roku získal za výhodných podmínek od japonské firmy JEOL hmotnostní spektrometr JMS-D100 (Obrázek 8). Konečně tady byl přístroj s dvojitou fokusací a rozlišovací schopností nad 10 000 hm. j. a také s počítačovým datovým systémem, sice ne nejmodernějším, ale zařízením, které představovalo značné zjednodušení a zrychlení práce (Vladimír ovšem choval k tomuto „hučáku“ – jak si datový systém s hlučnými ventilátory překřtil – dlouho nedůvěru a luštil raději fotozánamy spekter ručně). Téhož roku začíná Hanušova plodná spolupráce s mladým studentem Františkem Turečkem (Obrázek 9) [12], která trvala až do Frantova odchodu do zahraničí v r. 1987. Do laboratoře pak přišel další výborný student organiky, Martin Smrčina, s nímž Hanuš spolupracoval několik let, zase až do doby jeho odchodu do USA. Strojový park organické spektrometrie byl dále rozhojněn v r. 1995, kdy ze Synthesie Pardubice přišel darem starší spektrometr s dvojitou fokusací VG 7070E (rok výroby 1984), který je dodnes používán Jiřím Kubištou ke studiu komplexů přechodových kovů v homogenní katalýze ve spolupráci s Dr. K. Machem. Po Martinovi Smrčinovi si Vláda Hanuš přivedl z univerzity jako mladšího spolupracovníka Miroslava Poláška. V r. 2000 pak německá firma na doporučení Helmuta Schwarze nabídla pouze za cenu odvozu starší hmotnostní spektrometr s dvojitou fokusací ZAB (podobný stroj už delší dobu fungoval v Ústavu organické chemie a biochemie AVČR), který byl uveden brzy do provozu.



Obrázek 9: František Tureček, doktorand a spolupracovník Dr. Hanuše v 70. letech

Zdeněk Dolejšek zpočátku spolupracoval s Vladimírem Hanušem, jeho nezávislé působení se začalo odvíjet od r. 1964 a je předmětem jiného článku.

Vladimír Čermák a Zdeněk Herman studovali od konce padesátých let systematicky především srážkové procesy mezi ionty a molekulami. Začali kinetikou reakcí iontů s molekulami v jednoduchých plynech (N_2 , CO, CO_2 atd.) a hned napoprvé měli štěstí, že našli reakce, v nichž – aby reakce se stala exotermickou – reagovaly jen elektronicky vzbuzené ionty [13]. V té době to bylo bráno jako první důkaz něčeho, co nyní považujeme za velmi triviální – že totiž elektronická excitační energie je účinná při překonání energetické bariéry reakce. Příkladem může být reakce



v níž reaktivním stavem byl vzbuzený kvartetní stav molekulového iontu (do té doby předpověděný jen na základě výpočtů).

Sledování srážkových procesů se zvýšeným tlakem ve zdroji vyžadovala časté měření energií vzniku iontových reaktantů i produktů. Při tom si všimli, že i pod ionizačním prahem zůstává malý signál iontového proudu, který už dále neklesal při snížení energie elektronů. Brzy jev vysvětlili: elektrony s příliš nízkou energií (5-6 eV) procházely iontovou komůrkou aniž ionizovaly molekuly, pak byly urychleny k lapáčku elektronů a až v prostoru lapáčku vyvolaly ionizaci. Takto vzniklé kladné ionty byly stejným elektrickým polem urychleny zpět do iontové komůrky a tam přenosem náboje vytvářely pomalé ionty, které mohly být vytaženy kolmo z komůrky do spektrometru. Měli tak k dispozici jednoduché zařízení pro obtížné studium procesů přenosu náboje, aniž bylo třeba stavět speciální aparaturu (Obrázek 10). Pokud napustili do iontového zdroje směs velkého přebytku např. vzácného plynu s malým množstvím polyatomové molekuly, získali hmotnostní spektrum produktů přenosu náboje mezi ionty vzácného plynu a oné molekuly. Obvyklé sledování reakcí iontů s molekulami v ionizační komůrce spektrometru dovolovalo měření produktů reakce většinou jen tehdy, byla-li hmotnost produktu větší než hmotnost reaktantu, iontové produkty o menší hmotnosti než hmotnost iontové-

ho reaktantu byly překryty řádově silnějšími signály fragmentových iontů z elektronové ionizace. A zde pouhou změnou energie elektronů, letících přes ionizační komůrku, se nabízela jedinečná možnost výzkumu v běžném spektrometru jinak těžko sledovatelného procesu. A dále: hned bylo jasné, že přenosem náboje lze na terčovou molekulu přenést jenom jednu specifickou energii – rekombinační energii iontového projektilu a tedy dodat vzniklému molekulovému iontu určitou specifickou energii nad jeho ionizační energii. Něco takového nebylo možné ani ionizací elektrony ani fotoionizací, kde část energie může odnést uvolněný elektron. Přenos náboje tedy umožnil přímou cestu k získání rozpadových křivek polyatomových molekulových iontů („break-down curves“, t.j. závislost koncentrací molekulového a fragmentových iontů na vnitřním vzbuzení molekulového iontu po reakční době asi jedné mikrosekundy). K dispozici byla tehdy poměrně mladá kvazi-rovnovážná teorie hmotnostních spekter (QET, Rosenstock, Eyring aj., 1952) a bylo jasné, že výsledky studií přenosu náboje mohly nabídnout prakticky první srovnání s Rosenstockovými výpočty. Když porovnali výsledky přenosu náboje mezi vzácnými plyny a propanem s čistě teoretickými výpočty Henryho Rosenstocka pro propan [14], dostali zásadní shodu mezi výsledky experimentu a osm let starými, čistě teoretickými výpočty, spočívajícími na obrovských, tehdy dost kritizovaných, zjednodušených (monomolekulový rozpad, kvazi-kontinuum stavů atd.). Tenhle typ jednoduchého využití iontového zdroje s pozměněným urychlením elektronů k studiu přenosu náboje byl svého času nazýván „Čermákův-Hermanův experiment“ a byl dost populární ve světě. Používalo jej hodně lidí, protože skoro každý hmotník se dal otočením knoflíku k němu použít. Arnim Henglein pomocí tohoto experimentu poprvé popsal mechanismus „stripping“ v reakcích iontů s molekulami. Experiment byl ale brzy vytlačen konstrukcí speciálních strojů se dvěma kolnými iontovými paprsky. Jeden takový speciální stroj měl v té době už k dispozici Einar Lindholm ve Stockholmu, ale jako fyzik jej používal ke studiu malých biatomických molekul, jejichž rozpady interpretoval správně pomocí molekulových orbitalů a izolovaných křivek potenciální energie. Teprve později se vrhl na polyatomové soustavy, jejichž ionty se v rámci Rosenstockovy teorie chovaly jako statistický soubor. Začal měřit rozpadové křivky

řady molekulových iontů daleko lépe, než jsme mohli my, a bylo načase vyklidit pole lepší metodě. Konečně po několika letech se staly zdrojem nejpřesnějších rozpadových křivek koincidenční fotoionizační experimenty, ale prvopočátek úspěšného ověření teorie QET byl v experimentech s přenosem náboje.

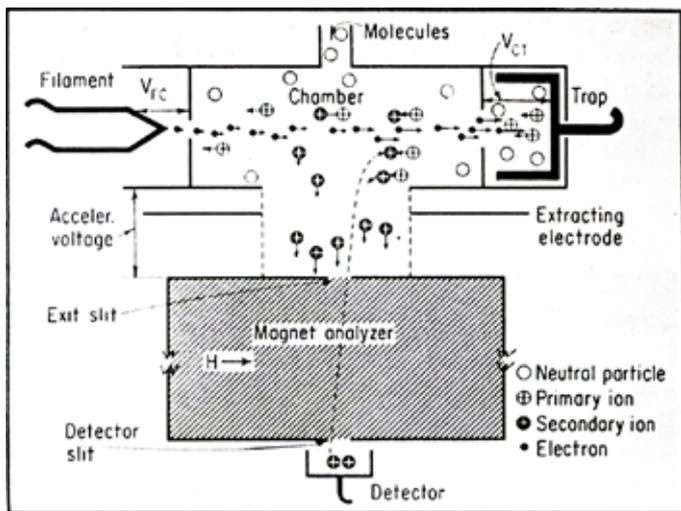
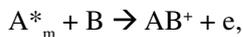


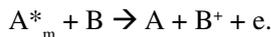
FIG. 1. MASS SPECTRUM ANALYSIS of secondary ions created in charge-transfer collisions with monoatomic primary ions. Voltages in ion source of conventional mass spectrometer are adjusted so that primary ions are created only in region of trap and charge-transfer reactions occur in ion source chamber

Obrázek 10: Schema využití iontového zdroje Nierova typu při studiu procesů přenosu náboje

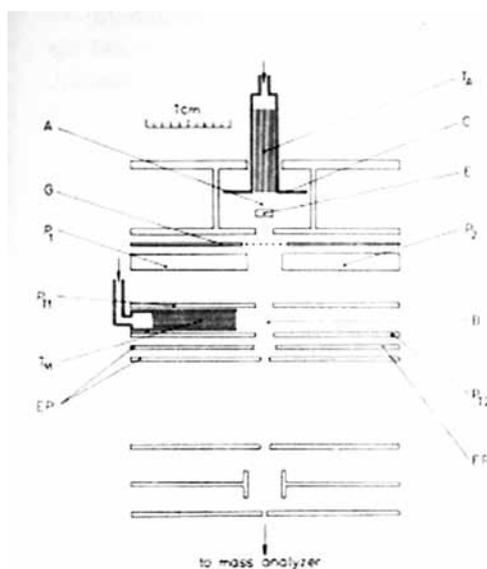
Dalším námětem výzkumu chemických reakcí iontů se stala kinetika reakcí iontů ve směsích plynů s parami rtuti a alkalických kovů, která tvořila základ kandidátské práce Zdeňka Hermána (1963). Proměřil několik tuctů reakcí, určil iontové reaktanty podle energie vzniku produktu i průřezy reakcí. V některých případech energie vzniku produktu (ArHg^+ , HeLi^+ , ArC_2H_2^+) odpovídala energii vzniku metastabilního neutrálního atomu vzácného plynu. To vedlo k popisu reakcí asociativní ionizace typu



v nichž přebývající energii odnesl uvolněný elektron [15]. Protože excitační energie byla vyšší než ionizační energie druhého z partnerů, bylo jasné, že může existovat také paralelní proces tzv. Penningovy ionizace, v němž vzbuzený atom ionizuje a případně fragmentuje molekulovou částici B



Pomocí zvláštního iontového zdroje s molekulovými trystkami (Obrázek 11), v němž byly ionty elektrickým polem odkloněny, byl získán paprsek neutrálních vzbuzených částic a to umožnilo sledovat stupeň fragmentace polyatomových molekulových iontů a pomocí rozpadových křivek příslušného molekulového iontu odvodit energii absorbovanou molekulou při Penningově ionizaci [16]. Byl také zpracován jednoduchý model, který pomocí křivek potenciální energie dával do vzájemné souvislosti Penningovu ionizaci, asociativní ionizaci

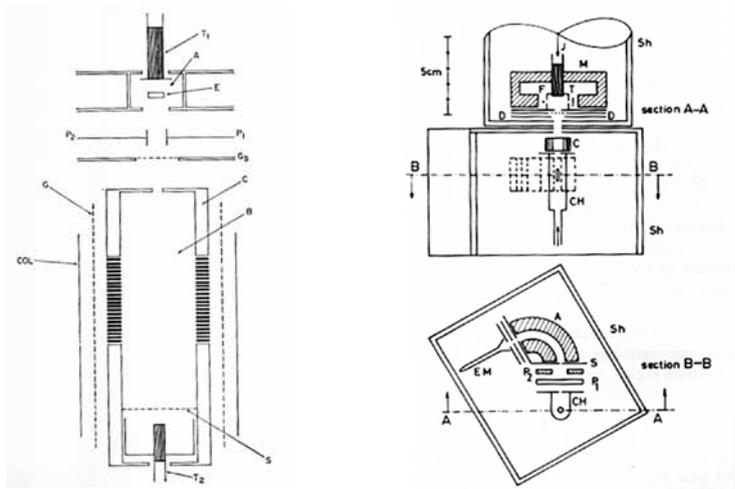


Obrázek 11: Iontový zdroj s molekulovými paprsky pro výzkum iontových produktů Penningovy ionizace

a chemiionizaci [17]. Výsledkem společné práce v této oblasti v letech 1966-68 byla ještě řada publikací o asociativní ionizaci a chemiionizaci i poslední společná práce, studium elektronové spektroskopie Penningovy a asociativní ionizace rtuť [18].

Od počátku bylo jasné, že významnou informací o procesu nese uvolněný elektron, a že důležité by bylo měřit přesně jeho energii. K tomu měla sloužit jednoduchá Lozierova trubice, kterou autoři postavili během roku 1963 a kterou si V. Čermák vzal v r. 1964 na stipendijní pobyt do USA jako jeden z prvních hostujících vědců Ústavu laboratorní astrofyziky univerzity v Coloradu v Boulderu (velmi prestižní stipendium JILA Visiting Fellowship) a na dobudovaném přístroji tam zahájil období výzkumu elektronové spektroskopie Penningovy ionizace (PIES) (Obrázek 12). Vladimír Čermák se vrátil koncem roku 1965 z USA s výborným deflekčním analyzátozem pro měření energie elektronů v kapse. Postavil jej Art Schmeltekopf, který se ve skupině Eldona Fergusonu v NBS v Boulderu chystal k měření uvolněných elektronů v reakci $H + H$, a prostě zhotovil jeden analyzátor pro Čermáka navíc. Byl to 127° analyzátor, zhotovený speciálně z molybdenu, a Čermák kolem něho postavil spolehlivou aparaturu s pěkným rozlišením. Čermák se pak systematicky věnoval až do své předčasné smrti v r. 1980 elektronové spektroskopii Penningovy ionizace, oboru, který založil, a který se pak stal stabilní součástí mezinárodních konferencí fyziky srážkových procesů. Proměřil elektronová spektra spousta látek [19,20], vytyčil rozdíly mezi excitací vzbuzenými částicemi a fotony, popsal řadu specifických vlastností látek s různými funkčními skupinami, popsal autoionizované stavy řady částic [21]. Je považován za zakladatele tohoto oboru (jediné spektroskopie, která u nás vznikla) a jeho práce byla vysoce respektována po celém světě [22].

V r. 1964 odjel Zdeněk Herman na post-doktorální pobyt do USA a na Yaleově Univerzitě ve skupině prof. Richarda Wolfganga začal stavět přístroj pro výzkum reakční dynamiky reakcí iontů ve zkřížených paprscích částic. Tento směr práce byl odrazem vzrušujících prvních výsledků výzkumu chemických reakcí neutrálních částic v molekulových paprscích za podmínky jedné srážky mezi reaktanty z prvních poloviny šedesátých let a snahou bylo získat odpovídající informace



Obrázek 12: Čermákovy přístroje pro výzkum elektronové spektroskopie Penningovy ionizace (PIES): Lozierova trubice (vlevo) defleční analyzátor energie elektronů (vpravo).

o mechanismu a dynamice reakcí iontů. První úhlové rozdělení produktů reakce iontu s molekulou (Turner, Fineman, Stebbings 1965) a rozdělení translační energie produktů (Henglein, Lacmann 1965) neposkytly plný obraz o dynamice reakce, ukázalo se, že je třeba kombinovat obě měření, jak rozptylového úhlu, tak translační energie produktů. Přístroj EVA I („Electron-Volt Apparatus“) byl stavěn právě s tímto cílem, kombinace paprsku iontů reaktantu s přesně definovanou translační energií a křížujícího kolimovaného molekulového paprsku neutrálního reaktantu a možností měřit jak úhlové rozdělení tak profilů energie iontového produktu u různých rozptylových úhlů. Jiné přístroje z té a pozdější doby (např. skupina B. Mahana v Berkeley) kombinovaly častěji iontový paprsek s rozptylovou komůrkou se směrově neuspořádanými molekulami neutrálního reaktantu. Přístroj EVA I poskytl řadu dat o reakcích iontů a jejich mechanismech, především o charakteristikách reakcí přímých a reakcích probíhajících s tvorbou meziproduktu, komplexu s dlouhou dobou života [23-26]. Hermanovu spolupráci se skupinou Richarda Wolfganga v reakč-

ní dynamice z let 1964–69 (Obrázek 13) přetřela posrpnová omezení v cestování z konce roku 1969 a Wolfgangova tragická smrt v r. 1970. (Při poslední návštěvě na Yaleově universitě v r. 2010 mi bylo potěšením vidět, že kolegové v oddělení uchovávají horní, pod vakuem otočné víko přístroje EVA I jako vzácný historický předmět a počítají s ním jako s exponátem do chystaného musea oddělení.)



Obrázek 13: Richard Wolfgang a Zdeněk Herman u přístroje EVA I (Boulder, Colorado, 1969)

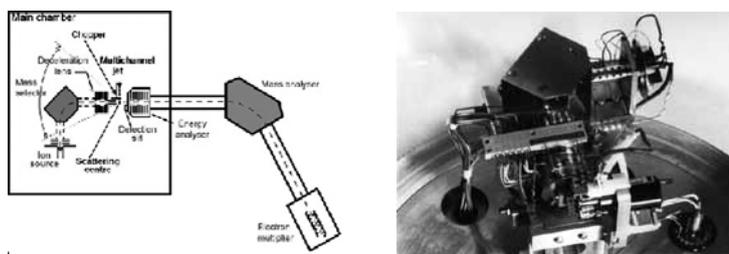
Od r. 1969 stavěl Herman s aspirantem Vojtěchem Pacákem (Obrázek 14) v Ústavu fyzikální chemie ČSAV vylepšenou verzi prvního aparátu EVA I se zkříženými paprsky iontových a neutrálních reaktantů s vylepšeným hmotnostně spektrometrickým analyzátozem iontů reaktantu a lepším poměrem signálu a šumu. Začátek této stavby znamenal definitivní konec „Dědka“, který byl rozebrán, ale velký magnet byl použit dále jako magnet detekčního spektrometru nového přístroje. Základem aparatury (Obrázek 15) byla poměrně velká rozptylová komora, svařená z nerez a opatřená víkem, otočným pod vakuem. Na něm byly namontovány zdroje paprsků, analyzátor energie byl umístěn na pevném detekčním hmotnostním spektrometru, na jehož konci seděl za oddělujícím deskovým ventilem násobič. Obě tyto části, stej-

ně jako spoustu u nás ještě neznámého materiálu (teflonem potažené dráty do vakua, teflonové pásky, motorek do vakua, bor-nitridové izolátory, jemné mřížky atd.) byly darem Richarda Wolfganga. Jako zdroj křížujícího molekulového paprsku sloužila dobře vyzkoušená mnohokanálová tryska pana Protivy, a stroj byl čerpán velkými olejovými difuzními pumpami z Tesly Opočno (2000 l/s a 250 l/s) s náplní konvalexu. Elektronické obvody zhotovili prakticky „na míru“ Doc. Pacák a ing. Hládek, včetně doma postaveného modulovaného zesilovače pro oddělení stejnosměrné a frekvenčně zamknuté složky signálu proudů produktu z překřížení paprsků, o pět řádů menšího než signál iontového reaktantu. S mechanickou částí pomohl dočasně v ústavu působící ing. Hánečka a výborní mechanici ústavu, v čele s panem Protivou.

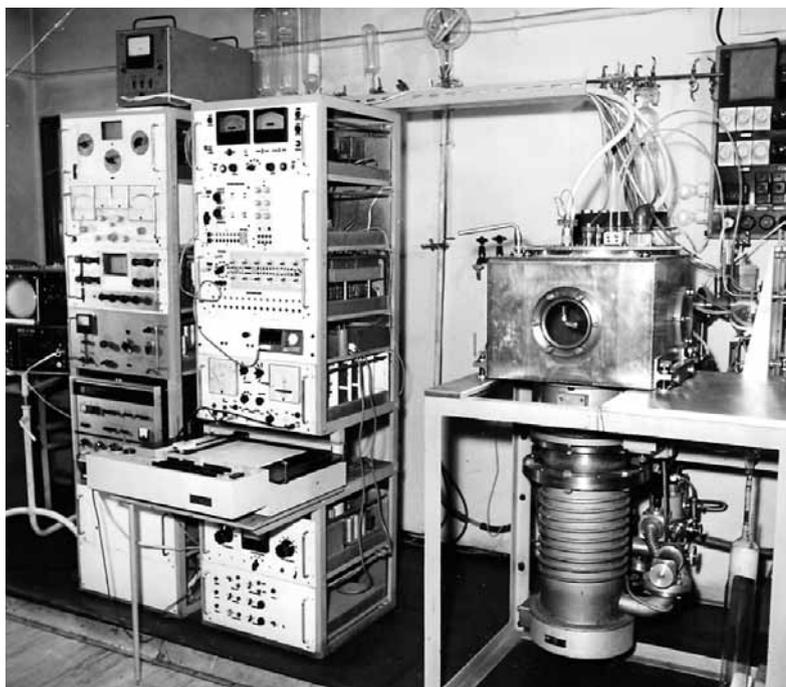


Obrázek 14: Vojtěch Pacák a Zdeněk Herman po letech

Přístroj EVA II byl spuštěn asi po roce konstrukční a kalibrační práce a v Praze tak začal výzkum reaktivního rozptylu iontů. Po roce 1970 bylo ovšem cestování kamkoliv skoro vyloučené. Herman s Wolfgangem ještě stačili na dálku dokončit kapitolu do knihy Joe Franklina o reakcích iontů s molekulami, ale přímé kontakty s kolegy v USA byly prakticky znemožněny. Naštěstí se našly spřízněné



Obrázek 15a: Pražský přístroj EVA II pro výzkum dynamiky chemických reakcí iontů s molekulami, schema a pohled na vnitřní uspořádání zdrojů paprsků



Obrázek 15b: Celý přístroj EVA II v r. 1973

duše v oblasti „socialisticky“ dostupné: v Liblicích na Zahradníkově kvantově-chemické konferenci došlo k setkání s Lutzem Zülicke z východoberlínského Centrálního ústavu fyzikální chemie Akademie věd NDR a k rychlé domluvě na spolupráci. V Berlíně měli velký ruský počítač, na němž mohli počítat trajektorie částic – něco o čem v Praze nebylo zatím ani řeči – a brzy byla došlo i k dohodě o vhodné reakci pro společné teoreticko-experimentální pojednání: šlo o tvorbu HeH^+ v reakcích iontu H_2^+ s He. Byla to jedna z prvních reakcí iontů s molekulou pojednána „z obou stran“, jak teoreticky (výpočet trajektorií částic v potenciálním poli reaktantů a produktů a sumace výsledků) tak experimentálně (rozptyl v paprscích částic) se srovnáním získaných dynamických veličin (úhlového rozdělení, rozdělení translační energie produktů atd.) [27].



Obrázek 16: Spolupracovníci v r. 1985: Břetislav Friedrich, Zdeněk Herman, Jan Vančura

Práce se v Praze rozvíjela docela pěkně, cesty z Prahy na západ byly sice vyloučeny, ale do Prahy přijížděli v rámci dohod kolegové z USA i jiných zemí na dostatečně dlouhé návštěvy, aby pracovali na spolehlivě fungujícím přístroji pro výzkum reaktivního rozptylu

iontů a tak vznikaly společné publikace. Postupně tak autoři popsali pomocí rozptylových experimentů dynamiku přenosu náboje (s anglickým stipendistou Keithem Birkinshawem a s V. Pacákem a P. M. Hierlem, 1977 [28]), konkurenci různých mechanismů v jedné reakci (1989 [29]), tvorbu komplexu v reakcích iontů s molekulami [30], rozptyl v reakcích přenosu náboje atomových dikationtů [31,32] (Obrazek 16), dynamiku přenosu hydridového iontu [33,34], chemické reakce dikationtů [35,36] a v poslední době i interakce iontů s povrchy pevných látek [37], kde použili ke sledování rozptylu iontů po srážce s povrchem modifikovanou aparaturu EVA II s křížujícím paprskem nahrazeným destičkou z nerez, uhlíku, wolframu, berylia apod.

To už ovšem dávno nebyla čistá hmotnostní spektrometrie a také mezinárodní setkání hmotnostní spektrometrie se tematicky začala s touto prací rozcházet, byť reakce iontů a metodika používaných hmotnostních spektrometrů udržovala obor stále na obzoru. Pokud byly součástí konferencí hmotnostní spektrometrie sekce jako fundamentální procesy nebo chemie iontů, bylo vhodné podle možností usilovat o účast na nich. Takové byly starší americké konference ASTM (později ASMS) z let 1964 – 1969 jakož i poslední, na níž byl Herman pozván k přednášce v r. 1975, nebo evropská konference o hmotnostní spektrometrii v Berlíně v r. 1967, ale postupem času fundamentální srážkové procesy se přesouvaly do speciálních konferencí (Gordonovy konference o reakční dynamice nebo chemii iontů, ICPEAC, MOLEC apod.), zatímco těžiště rychle rostoucích hmotnostně spektrometrických konferencí se posouvalo do oblasti přístrojové, analytické, organické a bioorganické. Hlavně však tvrdá cestovní omezení nebo dlouhodobé zákazy cest do zahraničí vyžadovaly soustředění jen na velmi malý počet těch nejužitečnějších setkání. Smutnou dlouhodobou bilancí bylo, že z četných pozvání na konferenční přednášky s plně hrazenou účastí ze strany pořadatelů (takže českou stranu by to nestálo ani vindru) se v sedmdesátých a osmdesátých letech uskutečnilo méně než jedno z osmi. To byla hodně zlá omezení kontaktu se zahraničím, ale tak zle zase nebylo, neboť – jak už zmíněno výše – naši kolegové ze Západu přijížděli do Prahy na krátké návštěvy i delší pobyty, aby v Praze na speciálním přístroji měřili a společně publikovali, případně přednášeli společné příspěvky na konferencích, na

nichž pražským kolegům byla účast znemožněna (Keith Birkinshaw, Jean Futrell, Andy Yench, Peter Hierl, Michael Henschman a další). Situace se zásadně změnila až po r. 1989 a pak už bylo všechno snazší.

Literatura

1. Čermák V., Hanuš V., Pacák M.: *Slaboproudý obzor* 20, 603 (1959).
2. Čermák V.: *Chem. prům.* 7, 8 (1957).
3. Čermák V., Hanuš V.: *Chem. prům.* 34, 235 (1959).
4. Rylander P. N., Meyerson S., Grubb H. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 79, 901 (1957).
5. Hanuš V., Čermák V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 24, 1602 (1959).
6. Hanuš V.: *Nature*, 184, 1796 (1959).
7. Čermák V., Hanuš V., Hládek L., Herman Z., Pacák M., Schulz L.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 27, 1633 (1962).
8. Dolejšek Z., Hála S., Hanuš V., Landa S.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 31, 435 (1966).
9. Dolejšek Z., Hanuš V., Vokáč K.: *Adv. Mass Spectrom.* 3, 503 (1964).
10. Dolejš L., Hanuš V.: *Tetrahedron* 23, 2997 (1967).
11. Mach K., Varga V., Hanuš V., Sedmera P.: *J. Organomet. Chem.* 415, 87 (1991).
12. Tureček F., Hanuš V.: *Mass Spectrom. Rev.* 3, 85 (1984).
13. Čermák V., Herman Z.: *J. Chim. Phys.* 87, 717 (1960).
14. Čermák V., Herman Z.: *Nucleonics* 19, 106 (1961).
15. Herman Z., Čermák V.: *Nature* 199, 588 (1963).
16. Čermák V., Herman Z.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 169 (1965).
17. Herman Z., Čermák V., *Coll. Czech Chem. Commun.* 31, 649 (1966)

18. Čermák V., Herman Z.: *Chem. Phys. Lett.* 2, 359 (1968).
19. Čermák V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 33, 2739 (1968).
20. Čermák V., Ozenne J. B., *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* 7, 399 (1971).
21. Čermák V.: *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* 3, 329 (1974).
22. *J. Electron. Spectrosc. Relat. Phenom.* 23, 329 - 456 (1981). (číslo věnované památce V. Čermáka)
23. Herman Z., Kerstetter, J. D., Rose T. L., Wolfgang R.: *Rev. Sci. Instr.* 40, 538 (1969).
24. Herman, Z., Kerstetter J. D., Rose T.L., Wolfgang R.: *Discus. Faraday Soc.* 44, 123 (1967).
25. Hierl P., Herman Z., Kerstetter J., Wolfgang R.: *J. Chem. Phys.* 48, 4319 (1968).
26. Herman Z., Lee A., Wolfgang R.: *J. Chem. Phys.* 51, 452 (1969).
27. Schneider F., Havemann U., Zülicke L., Pacák V., Birkinshaw K., Herman Z.: *Chem. Phys. Lett.* 37, 323 (1976).
28. Hierl P.M., Pacák V., Herman Z.: *J. Chem. Phys.* 67, 2678 (1977).
29. Herman Z., Henchman M., Friedrich B.: *J. Chem. Phys.* 93, 4916 (1990).
30. Sadílek M., Herman Z.: *J. Phys. Chem.* 97, 2147 (1993).
31. Friedrich B., Herman Z.: *Chem. Phys. Lett.* 107, 389 (1984);
32. Herman Z., *Int. Rev. Phys. Chem.* 15, 229 (1996).
33. Žabka J., Fárník M., Dolejšek Z., Polách J., Herman Z.: *J. Phys. Chem.* 99, 15595 (1995).
34. Herman Z.: *Int. J. Mass. Spectrom.* 212, 413 (2001).
35. Herman Z., Žabka J., Dolejšek Z., Fárník M.: *Int. J. Mass Spectrom.* 192, 191 (1999).
36. Roithová J., Žabka J., Hrušák J., Thissen R., Herman Z.: *J. Phys. Chem. A* 107, 7347 (2003).
37. Herman Z., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 14, 1360 (2003).

3. ZDENĚK DOLEJŠEK

PŘESMYKY IONTŮ A MÁ SPOLUPRÁCE S VLADIMÍREM HANUŠEM V ÚSTAVU FYZIKÁLNÍ CHEMIE ČSAV (1957-1964)



Zdeněk Dolejšek se narodil 21. dubna 1932 v Praze. Je absolventem matematicko-fyzikální fakulty Univerzity Karlovy v Praze, obor fyzikální chemie (1952-57). Od r. 1957 je zaměstnán v Ústavu fyzikální chemie ČSAV (nyní Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.), kde také vypracoval diplomovou práci z oboru hmotnostní spektrometrie. Věnoval se hmotnostní spektrometrii organických molekul a přesmykům iontů (s Dr. Hanušem). Během stipendijního pobytu v National Research Council v Kanadě (1964-66) se zabýval u Dr. Lossinga hmotnostní spektrometrií volných radikálů. Po návratu do Prahy se jeho práce týkala využití hmotnostní spektrometrie ve studiu katalýzy. Později se účastnil také prací na dynamice chemických reakcí iontů a interakcí iontů s povrchy pevných látek.

Do laboratoře hmotnostní spektrometrie tehdejšího Ústavu fyzikální chemie ČSAV jsem přišel v roce 1956 jako diplomant, končící studium fyzikální chemie. Chemické studium bylo tehdy součástí Matematicko-fyzikální fakulty University Karlovy. Námětem mé diplomové práce bylo dokončení konstrukce malého hmotnostního spektrometru Dempsterova typu. Laboratoř byla tehdy umístěna ve sklepě budovy chemických ústavů UK na Albertově, v poměrně velké klenuté místnosti, kterou sdíleli všichni, kdo tehdy ve skupině pracovali: Dr. Vladimír Čermák, Dr. Vladimír Hanuš, laborantka Jitka Fleischhansová-Jegorová a občas z dílny přicházel i pan Josef Protiva, vynikající jemný mechanik. Hlavním objektem v laboratoři byl ovšem hmotnostní spektrometr Nierova typu, první hmotník postavený v zemi krátce před tím.

Diplomová práce [1] na uvádění do chodu Dempstera pokračovala dobře. Jádro tohoto přístroje, nazývaného někdy spektrometr Dempsterova-Siriho typu, byl magnetický hmotnostní spektrometr s úhlem odklonu paprsku 180° , poloměrem $R=50$ mm a rozlišovací schopností okolo $m/\Delta m$ asi 30. Celá mosazná komora byla zanořena do permanentního magnetu (Obrázek 1). Po dalších malých úpravách sloužil přístroj k měření vzorků izotopicky značkovaných látek z katalytických experimentů, až do dovozu sovětských malých hmotnostních spektrometrů v šedesátých letech.

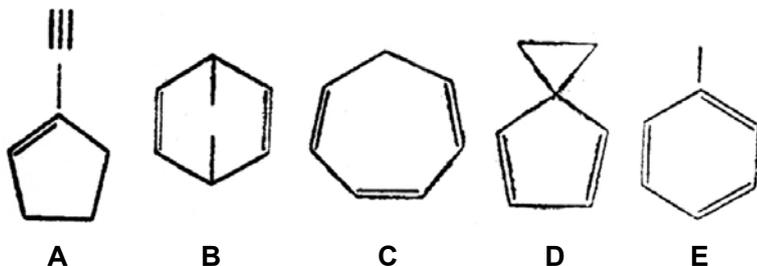
V r. 1957 bylo hotovo, diplomovou práci jsem obhájil, složil závěrečné zkoušky a v létě 1957 jsem byl přijat, spolu se Zdeňkem Hermanem, jako inženýr-asistent do ústavu a do oddělení hmotnostní spektrometrie. Pracovali jsme tehdy všichni společně na hmotníku a na jeho využití ve speciálních analýzách. To byla na příklad analýza vzácných plynů z Moravských chemických závodů na čistotu a příměsi vzduchu, izotopická analýza výsledků biologických experimentů se vzorky značkovanými ^{15}N na poměr $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$, první analýzy par organických látek (kaprolaktám pro Ústav makromolekulární chemie ČSAV) a podobně.

Laboratoř tehdy pozorně sledovala vše co se ve světě v hmotnostní spektrometrii dělo a fotokopie všech dostupných publikací, případně vyžádané separáty se pečlivě ukládaly v budované laboratorní knihov-

ně. Dnes to zní neuvěřitelně, ale tehdy bylo opravdu možno registrovat prakticky vše podstatné, co se v celé oblasti hmotnostní spektrometrie publikovalo.

V roce 1957 upoutala Vládu Hanuše serie článků amerických autorů Meyersona, Rylandera a spolupracovníků o přesmyku iontů alkybenzenů na ion tropyliu [2]. Autoři na základě intenzit iontů ve spektrech, srovnáním se spektrem cykloheptatrienu, metastabilních přechodů a výsledků izotopického značení navrhli, že uhlíkový cyklus benzenu se rozšíří na sedmičlenný zabudováním uhlíku z CH_2 skupiny bočního alkylového řetězce v – poloze a vzniklý ion má strukturu tropyliu C_7H_7^+ , energeticky stabilnějšího než ion bezyliu $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2^+$. Obrovský rozhled Vládi Hanuše po celé chemii a organické chemii zvláště jej hned přivedl na myšlenku organické podobnosti benzenu a thiofenu a k nápadu, že podobně by se mohly chovat sloučeniny substituovaných thiofenů. Spolu s Vladimírem Čermákem pak změřili hmotnostní spektra thiofenu a řady alkyl-substituovaných thiofenů a skutečně ukázali, že ve spektrech substituovaných thiofenů byl zvláště intenzivní ion $\text{C}_5\text{H}_5\text{S}^+$, který naznačoval, že všechny se při ionizaci chovaly podobně a přesmykovaly se na šestičlenný kruh relativně stabilního thiopyriliového kationtu, obsahující síru se zabudovaným uhlíkem z postranního řetězce, v analogii s tvorbou tropyliu [3].

Později se naše práce v laboratoři začala specializovat, Čermák s Hermanem se stále více věnovali studiu srážkových procesů iontů, a já jsem začal spolupracovat blíže s Vládou Hanušem na měření spekter organických molekul a otázkách přesmyku iontů. V jedné z prvních studií jsme se vrátili k hmotnostním spektrům molekul, při nichž by mohlo docházet k tvorbě tropyliového iontu. Šlo o sérii izo-



merů metylbenzenu C_7H_8 , které vedle této látky (A) zahrnovaly ještě, spiro(2,4)-heptadien-(1,3) (B), cykloheptatrien (C), a bicyklo-(2,2,1)-heptadien-(2,4) (D) a ethinylcyklopenten-(1) (E).

Spektra všech těchto molekul si byla velmi podobná, s výraznou největší intenzitou iontu $C_7H_7^+$ a to naznačovalo, že při ionizaci všech těchto izomerů C_7H_8 docházelo k přesmyku na tropyliový ion [4,5]. Také metastabilní přechody ve spektrech potvrzovaly, že hlavní posloupnost rozpadu molekulových iontů probíhá převážně řadou m/z 92($C_7H_8^+$) 91($C_7H_7^+$) 65 ($C_5H_5^+$) 39 ($C_3H_3^+$). U látky E byl nadto přesmyk molekulového iontu na $C_7H_7^+$ potvrzen izotopickým značkováním. Všechny experimenty jsme tehdy prováděli na Dědkovi, v té době jediném spektrometru v laboratoři, na němž jsme se po ukončení uzavřené serie měření střídali s Čermákem a Hermanem.

Později jsme tuto práci doplnili měřením ještě dalších izomerů C_7H_8 [6]. Tehdy už byl v laboratoři k dispozici komerční hmotník sovětské výroby MCH 1303, který dorazil z Leningradu a na nějž jsme se s Hanušem plně přestěhovali s organickou hmotnostní spektrometrií a uvolnili Dědka pro práci na srážkových procesech. Na tomto stroji jsme také uskutečnili naši další práci o hmotnostních spektrech adamantanů [7] i poslední společnou práci o fragmentačních mechanismech ve spektrech deuteriem značených vyšších 1-alkynů (1-butyn až 1-heptyn). Ta byla jádrem našeho příspěvku [8] na Mezinárodní konferenci o hmotnostní spektrometrii v Paříži r. 1964, odkud jsem pak odejel na dvouletý stipendijní pobyt v Kanadě v National Research Council v laboratoři Freda Lossinga.

Krátce po zveřejnění našich výsledků o přesmyku izomerů C_7H_8 jsme dostali dopis od Dr. Meyersona s žádostí o separát a se zájmem o naši práci. Odtud se vyvinulo dlouholeté přátelství se Seymourem Meyersonem a bohatá korespondence s ním. Jeho celá vědecká kariéra byla spojena s laboratořemi Standard Oil Company (později Amoco Corporation), kde pracoval 37 let až do svého odchodu do důchodu v roce 1986. V r. 1993 byl jeho významný přínos k rozvoji hmotnostní spektrometrie oceněn Cenou F.H. Fielda a J.L. Franklina, kterou uděluje Americká chemická společnost. Dlouholeté styky s ním vyvrcholily jeho návštěvou v Praze v roce 1993. To byla vzácná příležitost jak pro Vládu Hanuše tak pro mne. Setkat se s ním a jeho manželkou konečně i u nás (Obrázek 2, Obrázek 3).



Obrázek 1: Celá sestava hmotnostního spektrometru Dempsterova typu v naší laboratoři



Obrázek 2: Dr. Meyerson a autor během návštěvy v Praze v r. 1993



Obrázek 3: Dr. Seymour Meyerson (vlevo), autor a Dr. Vladimír Hanuš (vpravo).

Děkuji kolegovi Zdeňku Hermanovi za vydatnou pomoc při osvětlování paměti.

Literatura

1. Z. Dolejšek, Diplomová práce, MFF UK, 1957
2. P.N. Rylander, S. Meyerson, H.M. Grubb, J. Am. Chem. Soc. 79 (1957) 842.
3. V. Hanuš, V. Čermák, Collection Czech. Chem. Commun. 24 (1959) 1602.
4. V. Hanuš, Z. Dolejšek, Kernenergie 3 (1960) 836.
5. Z. Dolejšek, V. Hanuš, H. Prinzbach, Angew. Chemie 74 (1962) 902.
6. V. Hanuš, Z. Dolejšek, Collection Czech. Chem. Commun. 28 (1963) 652.
7. Z. Dolejšek, S. Hála, V. Hanuš, S. Landa, Collection Czech. Chem. Commun. 31 (1966) 435.
8. Z. Dolejšek, V. Hanuš, K. Vokáč, Advances in Mass Spectrometry, Vol. 3, p. 503, The Institute of Petroleum, London, 1966.

4. VLADISLAV KUBELKA

PRVNÍ KOMBINOVANÝ PŘÍSTROJ GC-MS V ČESKU.



Vladislav Kubelka, narozen 22.7.1940 v Praze, absolvoval Přírodovědeckou fakultu UK tamtéž v roce 1962 obhajobou diplomové práce s názvem „Změny výstupní práce vybraných přechodových kovů v důsledku preadsorbce cyklopropanu. V roce 1967 obhájil na ÚTZCHT ČSAV kandidátskou práci s názvem „Výměna vodíků některých aromatických látek katalyzovaná paladiem. V prosinci 1967 nastoupil na VŠCHT do Centrálních laboratoří, kde vedl laboratoř hmotnostní spektrometrie. V roce 1998 přešel do VÚFB a od roku 2000 do 2012 byl zaměstnán v Zentivě v laboratoř hmotnostní spektrometrie. Je autorem nebo spoluautorem 121 publikací a 62 patentů.

Na VŠCHT Praha v roce 1967 byla hojně rozvíjena myšlenka, že je nutné zlepšit stávající analytické vybavení školy a tak zkvalitnit diplomové a kandidátské práce popřípadě i publikace pracovníků školy. Nejvíce tuto potřebu pociťovaly katedry, které ve svém výzkumném programu měly především za úkol charakterizovat směsi látek. Byly to katedry organická chemie, ropa a petrochemie, chemie zkoušení potravin a to nejsou zdaleka všechny, ale určitě ty nejvýznamnější. Díky společnému úsilí a hlavně za vydatné intervence prof. Mosteckého tehdy náměstka ministerstva chemického průmyslu byly zajištěny devisové prostředky a tím se otevřelo zcela jiné pole uvažování, než doposud bylo, při nákupu přístrojů. Po dlouhých diskusích bylo rozhodnuto o zakoupení kombinovaného přístroje GC-MS i přes odpor některých funkcionářů, kteří prosazovali jen zařízení ze zemí RVHP. Samotný výběr vhodného GC-MS nebyl zdaleka tak jednoduchý, jak je tomu v současné době.

Tehdy na trhu existovaly tyto přístroje, ale byly vyráběny americkými nebo japonskými firmami, ale ty byly pro nás vzhledem k embargu zcela nepřístupné. Jediným možným a pro nás v té době dostupným byl přístroj švédské firmy LKB pod typovým označením LKB-9000. Tento přístroj měl tu „výhodu“, že neměl žádné embargované komponenty (např. zdroje vysokého napětí byly zcela založeny na elektronkách a nebyly zde ani použity transistory a další elektrické součástky považované za progresivní). Jedinou výjimku představoval zápis hmotnostního spektra, pomocí Honeywell recorder, který byl založen na citlivém galvanometru a záznamu jím odraženého UV světla na citlivý fotografický papír. Po určitém papírovém úsilí byla i tato překážka odstraněna a přístroj byl v lednu 1968 instalován na VŠCHT.

Vzhledem k významné zásluze prof. Mosteckého byl tento přístroj plně v gesci katedry ropy a petrochemie a první analýzy, které na něm byly dělány byly analýzy různých typů benzínů a motorové nafty. Tenkrát totiž převládala v odborných kruzích idea, že musí existovat korelace mezi detailním složením benzínové frakce a jeho výkonnostními parametry při spalovacím procesu v motoru. Výsledky studií ve světových laboratořích však poměrně brzy prokázaly, že pokud nějaká korelace vůbec je, pak zdaleka není přímočará tak jak bylo původně doufáno. V době nákupu přístroje už pomalu začínala převládat myšlenka, že

ne detailní analýza individuálních uhlovodíků přítomných v benzínech a motorových naftách, ale tak zvané jejich skupinové složení (vyjádřené procenty obsahu parafinu cyklánů a aromátů v dané frakci) je tím správným informativním parametrem. Proto bylo požadováno, aby přístroj měl zařízení pro přímé dávkování vzorků benzinů do iontového zdroje a to bez analytické diskriminace (co do bodu varu a molekulové hmotnosti) jednotlivých složek. Byl to vyhřívaný (do teploty přes 200°C) rezervoár jehož stěny byly z katalyticky neaktivní ocele, bylo jej možno evakuovat, jak nízkým, tak i vysokým vakuem. V místě, kde byla připojena k němu transfer trubka, převádějící páry vzorku do iontového zdroje byl adjustován molekulární lak vyrobený ze zlata, který nediskriminovaný nátok vzorku do iontového zdroje zaručoval.

Vlastní hmotnostní spektrometr byl jedno-fokusační, s magnetickým rozvojem hmotové škály. Magnet byl tvořen cívkami, kterými protékal proud a kovovým jádrem, děleným z plechů a vybavený Hallovou sondou, umožňující odečíst hodnotu m/z iontu v zaznamenaném spektru s přesností na jednotku. Iontový zdroj byl běžného typu, ionizace elektrony, za vzniku převážně pozitivních iontů. Svou konstrukcí a kvůli použitým napájecím zdrojům nedovoloval jiné typy ionizace např. chemickou ionizaci atd. Detektorem iontů byl elektro-nový násobič, schopný zaznamenat jen kladné ionty.

K iontovému zdroji byly kromě rezervoáru, jako dávkovacího zařízení připojen i plynový chromatograf a vakuový závěr umožňující pomocí vyhřívané sondy dávkovat pevné a málo těkavé kapalné látky přímo do iontového zdroje.

Spojení plynového chromatografu, který byl původně navržen pro pouze plněné chromatografické kolony s iontovým zdrojem, bylo přes separátor nosného plynu (typu Becker-Riehege), zaručující dobré vakuum v iontovém zdroji a současně odpovídající tlakové poměry na chromatografické koloně. Použití kapilárních kolon na tomto zařízení vyžadovalo v místě výstupu z kapilární kolony přidávek nosného plynu paralelní větví. Vakuový systém přístroje se sestával ze dvou rotačních pump a dvou difusních pump. Rotační pumpy byly od firmy Edwards a to 250 l a 180 l. Jedna difúzní pumpa byla rtuťová a druhá měla olejovou náplň – konvalex.

Na VŠCHT, která byla vždy citlivá na vymezování kompetencí a vlivu, začaly po nákupu přístroje diskuse, kam nově vzniklou laboratoř hmotnostní spektrometrie začlenit v rámci existujících struktur. Logika věci by napovídala, že bude součástí útvaru centrálních laboratoří, jako stroj s celoškolskou analytickou působností. Stalo se tak sice, ale pouze formálně.

Od samého začátku bylo však dáno, že za odbornou činnost a i faktickou existenci laboratoře bude odpovídat téměř výhradně vedoucí katedry ropy a petrochemie prof. Mostecký. Tato dominance vlivu se projevila i v personálním obsazení laboratoře. Vedoucím byl ustanoven Julius Eyem, dlouholetý pracovník katedry, jeho zástupcem Naděžda Holubová, bývalá vedoucí oddělení na ministerstvu chemického průmyslu, další pracovníci Jiří Mitera a Vladislav Kubelka byli už na VŠCHT zcela noví bez jakýchkoliv vazeb.

Na začátku řešila laboratoř problematiku určování struktury uhlovodíků ve vybraných frakcích ropy. Hlavně v počátcích jsme dost často konsultovali naše návrhy s Dr. Hanušem. Postupně se přidávala i problematika z jiných kateder a začala i spolupráce s průmyslem. Spolupráce s průmyslem byla totiž naplněním představ prof. Mosteckého k čemu taková laboratoř vůbec je. V letech 1969 a 1970 emigrovali do zahraničí jak Eyem, tak i Holubová a v laboratoři zbyli pouze Mitera a Kubelka. Během sedmdesátých let se laboratoř rozrostla o další pracovníky a to Janu Šetsovou, Irenu Faloutovou, Radmilu Sbolovou, Jaromíra Nováka a Pavla Zachaře. S vzrůstajícím počtem pracovníků se rozšiřovala i problematika, kterou se laboratoř zabývala.

Práce pro řadu pracovišť školy se stala běžnou a promítla se i v řadě publikací uveřejněných nejen v českých, ale i též v mezinárodních odborných časopisech. Jako příklad lze uvést publikace v *Journal of Chromatography*, *Organic Mass Spectrometry*, *Chemical Letters*, *Angewante Chemie* atd.

Na začátku druhé poloviny sedmdesátých let byl koupen pro laboratoř další hmotnostní spektrometr od firmy Kratos a to MS-9, kvůli nedostatku peněz bohužel již jako použitý a jeho instalace v laboratoři než dosáhl specifikovaných parametrů trvala více než rok, ale i pak měl značné výpadky kvůli závadám. Změřit spektrum nebo provést

jednoduchý MS/MS experiment vyžadovalo veliké úsilí a pořádnou dávku štěstí. V druhé polovině sedmdesátých let se podstatnou měrou rozšířila spolupráce s průmyslem.

Pod taktovkou prof. Mosteckého portfolio firem, které s laboratoří hmotnostní spektrometrie spolupracovalo podstatně narostlo i o firmy strojírenské, stavební, hutě, sklářské, podniky vyrábějící porcelán a keramiku atd. Smyslem bylo zanalyzovat chemické přípravky používané při výrobních procesech, které byly z dovozu a nahradit je přípravky z tuzemských surovin. V řadě případů se to zdařilo a v některých závodech, pokud nebyly zrušeny fungují dodnes.

Jako nejúspěšnější lze bezesporu považovat nahrazení dovozního veterinárního přípravku cloprostenol, který sloužil k synchronizaci řije hlavně u hovězího dobytka a prasat. Velkochovy těchto zvířat šetřily značné finanční prostředky jeho aplikací, ale dovoz přípravku od firmy ICI představoval přitom pro tehdejší hospodářství značné devizové zatížení. Více než rok trvající spolupráce pracovníků VŠCHT (včetně laboratoře hmotnostní spektrometrie) a Spolany Neratovice vyústila v nalezení patentově čistého originálního způsobu přípravy a následně i výroby identické látky se stejnými fyziologickými účinky. Udělení státní ceny Klementa Gottwalda pro řešitelský kolektiv nejlépe vystihuje význam, který byl tehdy přisuzován.

Byly i prohry na tomto poli. Jednou z nejmarkantnějších byla studie silážního konzervačního přípravku allylisokyanátu a jeho degradačních produktů, která i přes pozitivní výsledky odmítla zcela jednoznačně odmítla zemědělská i veterinární odborná veřejnost.

Novou personální akvizicí koncem sedmdesátých let do laboratoře byl Ivan Viden, který však pracoval na katedře zkoušení potravin, jako odborný asistent, takže se běžného života laboratoře zúčastňoval jen sporadicky.

Významnou událostí v životě laboratoře v osmdesátých letech byl nákup tentokrát nového dvou-fokusačního hmotnostního spektrometru od firmy Jeol. Tento stroj s typový označením Jeol DX-9, využívající Matsuda geometrii dráhy iontů, byl velice spolehlivý, měl iontový zdroj nejen pro přímou elektronovou ionizaci, ale dovoloval získat spektra za podmínek chemické ionizace. Pro tehdy přísné podmínky

embarga na výpočetní techniku byl jeho data systém značně i na tehdejší dobu obsoletní a poměrně poruchový. Neopravitelná porucha data systému byla příčinou likvidace celého stroje. Japonská firma Jeol sice nabídla řešení formou kompletní inovace celého datového systému, ale cena byla tak nekřesťanská, že se blížila téměř ceně na trhu dostupného nového přístroje.

Devadesátá léta nebyla, lze-li to tak říci šťastnou dobou laboratoře postupně odcházeli její kmenoví zaměstnanci nejdříve J. Novák následovaný J. Miterou, I. Faloutovou, R. Sbolovou a v závěru pak i P. Zachař a V. Kubelka. Laboratoř se úplně rozpadla a z celého původního osazenstva zbyl pouze I. Viden.

5. PAVEL MATOUŠEK

POČÁTKY HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE V PARDUBICÍCH



Pavel Matoušek (nar. 7.12.1938 v Pardubicích) studoval v l. 1956-1961 na VŠCHT Pardubice se specializací Analytická chemie technická. V r. 1961 nastoupil do Výzkumného ústavu organických syntheses (VÚOS) Pardubice-Rybitví, kde pracoval 20 let. Nejprve v odd. Automatizace, a od r. 1962 v odd. Afyla (Analytické a fyzikální laboratoře), kde se zabýval vývojem a aplikacemi plynové chromatografie pro analytické metody hlavně v oblasti katalytické chemie a chemie organických barviv. V této oblasti působil i po r. 1974, kdy se začal věnovat hmotnostní spektrometrii a její kombinaci GC/MS při identifikaci, konstituční a strukturní analýze zejména organických barviv a meziproduktů. V oboru Moderní metody instrumentální analýzy absolvoval v r. 1979 postgraduální studium na UK v Praze. Od r. 1981 pracoval ve Výzkumném ústavu syntetických pryskyřic a laků (VÚSPL Pardubice, dnešní Synpo a.s.), kde zavedl metodiku a vybudoval pracoviště GC/MS pro analytiku v oboru chemie a technologie syntetických polymerů a nátěrových hmot, lakařských pojiv, technických pryskyřic, rozpouštědlových a pomocných systémů, pracovního ovzduší a odpadních látek a kde vedl po 10 let Oddělení. separačních metod až do r. 1992, kdy z kardiologických důvodů musel odejít do důchodu. V l. 1965- 67 byl jmenován stálým oponentem analytických částí výzkumných projektů v oblasti finálních úprav textilií, v letech 1967-70 byl recenzentem a členem lektorského sboru při chemické redakci SNTL, v l. 1982-85 byl řešitelem a vedoucím řešitelského týmu úkolu Vývoj analytických metod pro akrylátové, polyesterové a fenolické pryskyřice. Spolupracoval na tvorbě analytických norem oborových, celostátních i mezinárodních. Byl aktivním členem odborných skupin chemických a vědec-

ko-technických společností, zúčastnil se několika zahraničních kurzů a konferencí, je autorem či spoluautorem více než dvou desítek publikací, přes 50 samostatných a dílčích výzkumných zpráv, 4 patentů a řady přednášek a sdělení na odborných akcích doma i v zahraničí.

Několik slov úvodem

Ve svých vzpomínkách se pokouším zobrazit začátky hmotnostní spektrometrie (MS) v Pardubicích, potažmo ve východočeském regionu a v působnosti tehdejšího Generálního ředitelství Unichem, tak jak jsem je tehdy zažil a cítil a to nejen v odborných ale i společenských souvislostech. Tento pohled – a obzvláště s odstupem téměř 40 let – je nutně subjektivní a jako takový může v některých okamžicích zahrnovat (a bezpochyby se tak občas stalo) nepřesnosti ať časové či věcné. A to tím spíše, že skoro nikdo z tehdejších aktérů, zejména z první poloviny 70. let, kteří by mé paměti pomohli a opravili zmíněné nepřesnosti, již nežije, oficiální archivní materiály byly údajně skartovány nebo jinak zlikvidovány. Zachránilo mě několik sešitů a složek, které mi kdysi z nostalgie bylo líto vyhodit a které jsem nyní našel zabalené a převázané papírovým motouzem ve sklepech.

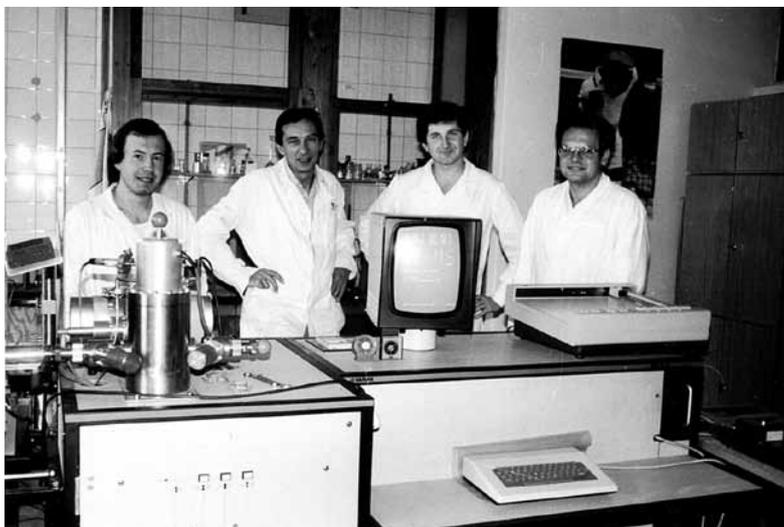
Pro zachování historické autentičnosti používám v těchto vzpomínkách jména tehdejších přímých aktérů či spolupracovníků. S řadou z nich jsme byli kamarádi až přátelé. U těch, se kterými jsem si tykal, rozuměl, spolupracoval či přátelil, nepoužívám v textu jejich tituly ale zdůrazňuji jejich křestní jména. U jiných, ke kterým jsem pohlížel s úctou a obdivem, ať kvůli jejich věku, odborným znalostem či lidským vlastnostem, a u kterých bych si tento druh familiérnosti nedovolil, ponechávám v textu úmyslně tituly i vědecké hodnosti. V několika málo případech předchází dvě kritéria neplatí a pozornější čtenář zajisté pochopí proč. Pro jistotu a abych někomu neubral či neukřivdil, na konci uvádím seznam všech jmen a funkcí, které se tu vyskytly, se všemi tehdejšími – a pokud je mi známo i s pozdějšími – tituly.

Snažil jsem se ze všech sil, abych se držel faktů a vyhnul fabulacím. Pokud se mi to přesto někde nepodařilo, prosím laskavé čtenáře o shovívavost a toleranci při čtení a kritice tohoto textu.

I. 1970–1980 ve VÚOS Rybitví

Ač na první pohled nepravděpodobné, začátky a historie MS v Pardubicích začaly v souvislosti s kosmickým výzkumem NASA. Jak?

Jako absolvent VŠCHT Pardubice (u Prof. Dr. Ing. M. Jurečka DrSc na Katedře analytické chemie) jsem po voj. službě v r. 1962 začal pracovat v oboru plynové chromatografie ve skupině Organická analýza I. u Prof. Dr. Ing. Miroslava Večeři DrSc. (spolupracovníka a následovníka prof. Jurečka v oblasti elementární a obecné organické analýzy a spoluautora obsáhlé české monografie o organické analýze) v rámci oddělení Analyticko-fyzikálních laboratoří (zkr. Afyla) Výzkumného ústavu organických syntéz (VÚOS) Pardubice-Rybitví. Jako „plynový“ chromatografista jsem si nemohl v odborné literatuře 60. let nepovšimnout prudce rostoucího množství publikací o pokusech, výsledcích a možnostech kvalitativní analýzy (identifikace) složek směsí, separovaných plynovou chromatografií (GC), pomocí jejich hmotových (držím se úmyslně tehdejšího názvosloví) spekter, po spolehlivém vyřešení přechodu (tlakového spádu) mezi vysokotlakou GC a subatmosferickou MS. Tedy spojení, které později, v r. 1986 na Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry, nazval C.G.Enke z Michigan State University v názvu své přednášky velice trefně jako „Chromatography and Mass Spectrometry: A marriage of opposites.“ Začal jsem tuto literaturu sledovat pozorněji, protože jsem si začal uvědomovat možnosti, které MS nabízela pro širokou paletu výzkumných témat, kterými se VÚOS zabýval. A pak – tuším v r. 1969 – na mne obzvláště zapůsobila publikace (možná to bylo jen předběžné sdělení, marně vzpomínám zda v Anal. Chem. či Research & Development, dalo by se to jistě dohledat v Chem.Abstr.) o dokonce miniaturní kombinaci GC/MS vyvinuté v NASA pro analýzu atmosféry Marsu s meziplanetární sondou Viking I vypuštěnou v r. 1975. Tady přišel hlavní impuls, který v mé hlavě zasel představu, že GC/MS je věc, kterou VÚOS potřebuje a které bych se chtěl věnovat. Zaujetí pro tuto myšlenku se prohloubilo po exkurzi na myslím že u nás první komerční, čerstvě instalovaný švédský GC/MS System LKB 9000 na Katedře paliv VŠCHT v Praze (kolegové mě jistě laskavě opraví ve svých vzpomínkách, pokud si číslo modelu nepamatují správně).



Obrázek 1: Prof. Večeřa nahoře první zleva, autor je mladíček uprostřed

Takže jsem začátkem 70. let začal při každé příležitosti provokovat ústavní výzkumné chemiky i (opatrně) své vyšší nadřízené poukazováním na potenciál GC/MS metodiky, z počátku myšlenkou spolupráce s jiným pracovištěm MS a posléze (ještě opatrněji) myšlenkou pořízení vlastního GC/MS do VÚOS. Opatrnost byla na místě, protože v tomto období začátků tuhé normalizace jakákoliv moje iniciativa, jakožto krajně politicky nespolehlivého, v r. 68 silně „angažovaného nestraníka“ znamenala podezření a varovně zdvižený prst bdělých soudruhů od stranických skupin přes vedení ústavu až po kádrové oddělení.

Nicméně někteří, pro ústav významní chemikové brzy pochopili nabízený potenciál a tuto myšlenku podporovali. A světe div se! Tehdejší, v roce 1970 nově instalovaný soudruh ředitel Dr. J. Zvěřina CSc. ucítil možnost se – jak se dnes říká – zviditelnit a za použití svých stranických funkcí a politických známostí v České národní radě zařídil přidělení devizových finančních prostředků (buď přímo z fondů Ministerstva chemického průmyslu nebo prostřednictvím Generálního

ředitelství Unichem) a někdy v r. 1972/1973 dal pokyn k zahájení přípravy nákupu. Protože bylo třeba jednat mimo jiné se zástupci firem z kapitalistických států a šlo na tehdejší dobu o velké peníze, k této fázi jsem z dříve uvedených důvodů nesměl být připuštěn a sledoval jsem ji jen přes zprostředkované informace. Jelikož – jak jsem již uvedl – z tehdejších aktérů nikdo nežije, zápisy z jednání či faktury a jiné písemnosti podle sdělení současných příslušných pracovníků VÚOS neexistují, musí se čtenář spolehnout v popisu tohoto období pouze na mou paměť.

Výběrem typu a dodavatele přístroje byl pověřen dlouholetý vedoucí skupiny spektrální analýzy na odd. Afyla, RNDr. D. Šnobl CSc. Musím zdůraznit, že volba nemohla být lepší – Dr. Šnobl byl excelentní chemik a fyzik, širokého obecného rozhledu, odborných horizontálních vědomostí z mnoha oborů, obdivuhodné paměti, k tomu navíc



Obrázek 2: Autor – chromatografista u GC Carlo Erba někdy v polovině 60. let

příjemného basbarytonu, životních zkušeností a lidských vlastností, z nichž vynikala zejména jeho skromnost a ohleduplnost. Výstižné bylo jeho křestní jméno – jmenoval se totiž Dobroslav. Realizaci nákupu po investiční a administrativní stránce zajišťoval zkušený harcovník po kancelářích ministerských a oborových úředníků Jirka Polák z oddělení investic VÚOS.

Možná trochu pod vlivem toho, že dr. Šnobl měl vlastní zkušenosti se zástupci japonské firmy JEOL, že v té době již sám pracoval na přístroji NMR této firmy a pro rok 1973 zařizoval od nich dovoz elektronového mikroskopu, rozhodl se pro hmotový spektrometr JEOL JMS-01-SG2. Pro mne jako chromatografistu, s představou GC/MS směsí těkavých látek, to bylo zpočátku poněkud zklamání, ale brzy jsem pochopil a s odstupem doby to vidím zcela jasně, že to bylo správné rozhodnutí vzhledem k tehdejší oblastem výzkumného zaměření ústavu.

Dovoz se uskutečnil v prosinci 1973. Šlo v té době o přístroj silného kalibru a to nejen jeho vlastnostmi ale i rozměry a vahou. Vzhledem k váze musela být koncem r. 1973 a v lednu 1974 adaptována v přízemí budovy Ry12 místnost po bývalém skladu knihářské dílny několik desítek metrů za hlavní vrátnicí uvnitř Východočeských chemických závodů VCHZ Rybitví. Kromě stěhování to představovalo přivedení vody, dostatečného zdroje el. energie apod. Vzhledem k rozměrům dvoufokusační iontové optiky, uspořádané v horizontální geometrii typu Mattauch-Herzog, se hlavní část přístroje musela zvenčí pomocí jeřábu dostat do místnosti jedině po vybourání velkého (cca 3×2m) okna a otevření této stěny směrem k budově Ry 12. Celou stěhovací akci včetně dispozičního řešení místnosti a usazení přístroje řídil Pepa Parýzek, jinak elektroinženýr pro spektrální skupinu, zejména pro pracoviště NMR a posléze i pro pracoviště MS.

Montáž a instalaci prováděl v únoru 1974 technik fy JEOL – a to jméno si pamatuji dodnes – Yichiro Ohtsuka. Byl to mladičkový, malý a subtilní Japonec, kterého firma zřejmě vyslala, aby se tu ostřílel, protože při montáži občas zjevně improvizoval a potřeboval telefonické konzultace. Jak se přiznal, poprvé v životě se ocitl mimo rodné Japonsko a jeho znalost angličtiny při konverzaci se omezovala na neustálé

používání miniaturního kapesního japonsko-anglického slovníčku. Potřebné posunutí rotační vývěvy, uložené na kovovém rámu, byl pro něj silácký výkon provázený obrovským hekáním a supěním. Záběh, první zácvik v obsluze a zkušební testy proběhly v březnu a začátkem dubna 1974.

Tohoto období, tedy od února 1974, jsem se již zúčastnil osobně jako převedený z plynové chromatografie skupiny Organická analýza I do skupiny Spektrální analýzy k Dr. Šnoblovi s určením pro práci v laboratoři hmotové spektrometrie. Domnívám se, že mne podpořil a jistou zásluhu na tom měl vzhledem ke svému postavení Josef Vencl, tehdy čerstvý zástupce vedoucího a následně vedoucí oddělení Afyla. I tvrdému jádru soudruhů totiž nezbývalo, než s těžkým srdcem souhlasit s tím, že s přístrojem bude pracovat osoba tak politicky nespolehlivá, protože jsem byl tehdy jediný, který měl kolem této metodiky z vlastního zájmu přece jen něco z literatury nastudováno, a nikomu



Obrázek 3: Jedna z návštěv. Zleva: cizinec, autor a doprovod.

jinému v ústavu se v novém oboru začínat nechťelo. Pamatuji si, že se to však neobešlo bez blahovlnného kázání od stranických sloupů ústavu, konkrétně ředitele a kádrováka, v tom smyslu (vybavuji si dosti přesně) „...soudruhu, musíš si uvědomit, že strana a dělnická třída ti, ač nestraníkovi s tvou minulostí, svěčuje do rukou tak nákladnou investici a je na tobě a ve tvém zájmu, abys tuto důvěru nezklamal ...“ Pro mladší kolegy, kteří to nepamatují – to byla tzv. normalizace. Bylo mi sice laskavě dovoleno s přístrojem pracovat, ale do styku např. s návštěvou z kapitalistické země jsem bez přítomnosti předem určeného doprovodu přijít nesměl.

Na předchozím obrázku (nejasně si vzpomínám ale i podle složení doprovodu usuzuji že šlo o jakéhosi profesora z SSSR) cizince doprovázejí uprostřed s. ing. Hajda, CSc. za SČSP, vedle něho zástupce vedoucího odd Afyla ing. J. Vencl CSc. a úplně vpravo jakýsi zcela mimoústavní pracovník... Dnes už s úsměvem vzpomínám na příhodu, kdy se jednou doprovodu jakousi organizační chybou ztratil v budově devizový cizinec, kterému kdosi na jeho dotaz ukázal cestu do laboratoře MS (ostatně byla nedaleko pánských WC). Jen co po krátké návštěvě ode mne odešel, přičítal se tehdejší vedoucí oddělení Afyla s dotazem „Kde jsou?“. Po mé odpovědi „Už tady byl, ale sám...“ doslovně (nepřeháním) zesinal se slovy „To je průšvih, já se osobně zaručil, že s ním nebudete mluvit!“ Na druhé straně když se s ředitelem jako člen ČNR chtěl pochlubit ústavem, přivedl do laboratoře herečku s. „Jiřinku“ Švorcovou. K té jsem hovořit směl, byl jsem k tomu dokonce vyzván, ale bylo vidět, že vůbec nechápe proč tam je a o čem je řeč. I to byla normalizace.

Až do září 1974 jsem s přístrojem pracoval sám v součinnosti se zmíněným Pepou Parýzkem, v září mi byla přidělena laborantka, která se vrátila z mateřské dovolené. Byla to paní Ivanka Nádherná, trpělivá, šikovná, spolehlivá a pečlivá s předchozími lety praxe v laboratoři infračervené spektroskopie u precizního až pedantského Jardy „Kaštana“ Knižka. V listopadu 1978 k nám do laboratoře nastoupil po ukončení aspirantury Ivan Kolb, který jako čistý organický chemik nebyl zatížen jako já analytickou minulostí, stal se posilou zejména při interpretaci hmotových spekter a po mém odchodu z ústavu v r. 1981 se stal mým nástupcem a pokračovatelem. Pod jeho vedením se pra-

coviště hmotové spektrometrie v 80. letech zmodernizovalo, rozšířilo zaměřením, přístrojově i personálně a on sám se později stal vedoucím analyticko-fyzikálních laboratoří. Z jeho pera by měl pocházet popis novodobější historie hmotnostní spektrometrie v 80. a 90. letech minulého století ve VÚOS.

Jak jsem již naznačil, přístroj JEOL JMS-01-SG2 byl hmotový spektrometr s dvojitou fokusací geometrie Mattauch-Herzog a vyplňoval (kromě 2 až 3 kancelářských stolů pod oknem) prakticky celou 3x6m místnost. Byl vybaven kalibrační jednotkou Mass Marker pro zaznamenávání stupnice (podle tehdejších zvyklostí) m/e při elektrické registraci spekter pomocí tříkanálového galvanometrického zapisovače Visigraph se rtuťovými výbojkami na speciální UV-citlivý papír, dále jednotkou Peak Matching Unit, která umožňovala kromě kalibrace hlavně přesné měření hodnot m/e při vysokém rozlišení a to na obrazovce osciloskopu superpozicí měřeného píku se zvoleným pikem perfluorokerosinu (PFK) jako standardní látky a konečně komparátorem JMC-1A pro proměřování čárových spekter registrovaných po vyvolání na skleněných fotografických deskách. Tuto fotodetekci jsme pro pracnost a časovou náročnost ale prakticky nepoužívali.

Přístroj pracoval pouze s EI ionizací. Byl k němu přes vyhřívány dvoustupňový tryskový molekulový separátor typu Ryhage připojen plynový chromatograf JEOL JGC-20KFP s dvěma náplňovými kolonami s možností lineárního teplotního programu na kolonách v rozmezí 0,5–15 °C/min. Nosným plynem bylo helium. Chromatogram se registroval běžným potenciometrickým zapisovačem jako záznam celkového iontového proudu při ionizační energii 20-23 eV. V průběhu elučnicích vln se spektra separovaných složek snímala při 75eV a rozlišení R10% obvykle mezi 500-1000. Celý GC/MS systém nebyl tehdy ještě konstruován pro práci s kapilárními kolonami.

Vysokovakuovou část spektrometru obstarávaly difusní vývěvy chlazené vodou a kapalným dusíkem, hrubé čerpání a předvakua pro difusní vývěvy zajišťovaly olejové rotační vývěvy, poháněné přes klínové řemeny pomocí elektromotorů. Uvolňované teplo a hluk, vyvíjený zejména rotačními vývěvami, nelze s šepotem dnešních přístrojů vůbec srovnávat, kdo nezažil, neuvěří. (Teprve v r. 1976 se podařilo

pro laboratoř získat klimatizátor Calex, který však i při plném výkonu srazil teplotu v laboratoři pouze o 1–2 °C a velice záhy mu stejně odešla ložiska.)

Teoreticky měřitelný rozsah byl 1–4000 amu při detekci na fotografickou desku a 3–2900 amu při elektrické detekci a urychlovacím napětí 2 kV. Dlužno podotknout, že v praxi jsme těchto hodnot nikdy nedosáhli. Deklarovaná rozlišovací schopnost R10% byla až 25000. Protože pochopitelně závisela na způsobu detekce iontů a dostatečné intenzitě signálu, v praxi jsme se při (tehdy) vysokém rozlišení pohybovali většinou mezi 10000–15000, výjimečně do 20000, chyba měření bývala do 5 ppm. Maximální rychlost snímání spektra při elektrické detekci byla 5 sekund na spektrum např. v rozsahu do 800 amu při urychlovacím napětí 10 kV.

Vložení pevného vzorku do iontového zdroje bylo realizováno přímým vstupem, tzv. direct inlet systémem, při kterém se miniaturní skleněná mikrozkumavka o rozměrech 20×2 mm se vzorkem vložila do speciálního držáku, který se zasunul do ionizační komory iontového zdroje. Systém nebyl konstrukčně dobře vyřešen – pero přidržující mikrozkumavku v držáku ji vychylovalo z osy a při zasouvání do ionizační komory byla buď rozdrčena nebo se vzorek nevypařoval tam kam měl. Navíc za každou takovou mikrozkumavku (na jedno použití) si JEOL účtoval poměrně nehoráznou cenu 2.4 USD, což bylo tenkrát pro Japonce poměrně typické – základní přístroj nabídli ve srovnání s konkurencí relativně levně, ale při provozu nás ždímalí na náhradních dílech a spotřebním materiálu. Tento problém byl časem elegantně vyřešen tak, že jsme drahé mikrozkumavky z dovozu nahradili tvarově upravenými haléřovými odpadními kapilárkami stejného průměru ze skláren v Desné. Tento zlepšovací návrh se umístil v ústavní soutěži na 2. místě (první být podle soukromých informací nesměl – opět normalizace), ušetřil ústavu cca \$1.200 (tehdy přes 22.000 Kčs) ročně a obdržel jsem za něj odměnu 300 Kčs.

Pro vstup plyných vzorků a vzorků s dostatečnou tenzí par byl přístroj opatřen skleněným reservoárem, ze kterého se plyn nebo páry vzorku přivedly systémem mazaných skleněných kohoutů do iontového zdroje. Další, menší reservoár sloužil k připouštění par perfluoro-

kerosinu (PFK) pro kalibraci stupnice m/e a jako standardu pro měření při vysokém rozlišení.

Provoz přístroje byl nezbytně provázen občasnými poruchami a nutnými odstávkami ať už byly způsobeny vnějšími vlivy nebo pramenily z povahy a konstrukce systému. V prvním případě šlo o to, že laboratoř se nacházela v areálu těžkých chemických výrob VCHZ Rybitví, kde kromě prašnosti, občas sebou nesoucí barevné částice z mísirny barviv, nebyla nouze o únik agresivních par a plynů (od nitróznych plynů přes SO_2 až třeba po fosgen), výkyvy a výpadky elektrické energie, nehlášená odpojení vody pro chlazení difuzních vývěv atd atd. Mezi nejčastější patřily havárie v přívodu a rozvodu vody. Kvalita tovární vody byla taková, že mechanické filtry se ucpávaly, to co jimi prošlo, se usazovalo na vnitřních stěnách hadic a potrubí rozvodu chladicí vody v přístroji do té míry, že musely být vyměňovány. Stalo se, že přívod vody v noci praskl a ráno, když jsme přišli, stál spektrometr ve vodě a musel se sušit. Jindy byla voda do objektu bez předchozího upozornění zastavena a pumpy se přehřívaly. O tom, co všechno bylo v této fabrice možné, svědčí případ, kdy po odstavení přístroje z jiného důvodu a zastavení přívodu chladicí vody po dobu 14 dnů byl na koncových měděných trubičkách zavedených do odpadu zjištěn stříbrně lesklý nálet včetně miniaturních lesklých kapiček. Že šlo o amalgam vzniklý parami rtuti, která se někde dostala do odpadního potrubí, potvrdila snadno a rychle emisní spektrální analýza. Problémy s vodou způsobovaly odstavení přístroje v průměru 2× ročně. Podobná situace byla s elektrickou energií odebíranou z VCHZ – kolísání napětí, poruchy jističů v síti, havarijní vypínání proudu pro celé tovární bloky atd. Chemické prostředí továrny se podepisovalo na zkrácené trvanlivosti a zhoršené kvalitě fotocitlivých registračních papírů, slepnutí a nezbytném čištění zrcátek galvanometrů v UV-zapisovači či korozi a z toho plynoucí nutné výměně některých potenciometrů.

Pokud jde o vlastní přístroj, dohledal jsem, že poruch či závad v důsledku jeho konstrukce bylo v letech 1974–1980 kolem 40. Byly to různé netěsnosti, přepálená emisní vlákna v iontovém zdroji či topná tělíska a spirály v molekulovém separátoru a v difuzních pumpách, svody na elektrických izolátorech, nesprávná funkce Peak Matching

Unit, nelinearita Mass Markeru, snížení a kolísání urychlovacího napětí, nízká životnost rtuťových výbojek v UV-zapisovači, časté praskání klínových řemenů a opravy rotačních vývív (ložiska, přítlačná pera vnitřních excentrů). Pravdou je, že každou chvíli bylo něco a že jsme se nenudili...

Z povahy metodiky a analyzovaných vzorků plynula nutnost časté údržby, hlavně tzv. vypékání iontového zdroje pro odstranění usazených a interferujících zbytků vzorků a tam kde to nepomohlo, přišlo na řadu rozebrání a čištění iontového zdroje, někdy i elektrostatického sektoru. Pro tehdejší dobu bylo též charakteristické, že jsme měli potíže s obsahem vody a kyslíku v nosném plynu heliu, které kvůli šetření a devizám zásobovači přes naše protesty urputně zajišťovali z SSSR, nebo že skoro celý rok 1977–8 nedokázali obstarat UV-registrační papír, který nám po celou dobu trpělivě půjčovali lépe zásobovaní kolegové-hmotníkáři.



Obrázek 4: Přední ovládací část a vpravo vzadu zdroje hmot. spektrometru Jeol JMS-01-SG2

Je mou povinností, abych na tomto místě v souvislosti se zmiňovanými problémy zvláště v letech, kdy jsem – a posléze jsme – v tomto oboru byli začátečníky a občas jsme si nevěděli rady, ocenil a poděkoval za přátelskou a nezištnou spolupráci a zejména podporu odbornou, morální i materiální, tehdy již mnohem zkušenějším kolegům, zejména Karlovi Ubikovi z ÚOCHAB ČSAV Praha a Mirkovi Ryskovi a jeho spolupracovníkům z VÚFB Praha. Velmi cenné byly pro nás kontakty získané v rámci akcí Čs. spektroskopické společnosti a umožnění návštěv zavedených pracovišť hmotnostní spektrometrie at už na VŠCHT Praha tak hlavně na pracovištích ÚOCHAB a UFCH ČSAV. Všem díky.

Měření a analýzy prováděné na našem hmotovém spektrometru odrážely hlavně širokou strukturu výzkumných témat řešených ve VÚOS, nicméně našly uplatnění v rámci celého tehdejšího VHJ GŘ Unichem od VCHZ Synthesia Rybitví přes Urxovy závody ve Valašském Meziříčí až po Spolek pro chemickou a hutní výrobu v Ústí n/L. Shrnu-li využití hmotové spektrometrie ve VÚOS v období 1974 až do mého odchodu v r. 1981, šlo především o spolupráci při řešení výzkumu organických derivátů aromatické řady a určování, objasňování případně potvrzování konstituce desítek, spíše více než stovky organických barviv a pigmentů zahraniční proveniencie ke získání podkladů pro možné obejití patentů a náhradu těchto barviv z vlastní československé výroby. Byla to barviva antrachinonová, disperzní, metalokomplexní (ftalocyaniny mědi, niklu, železa, chromu a jejich chlorované a bromované deriváty), chromoftalová (po chemickém štěpení), azopigmenty řady substituovaných acetoacetarylidů, barviva odvozená od dimeru kyseliny perylentetrakarbonové, barviva pro fotomateriály atd. V souvislosti s tím šlo o využití při identifikaci vedlejších produktů, obsažených v barvivech a pigmentech, např. aromatických azosloučenin, azometinů, derivátů antrachinonu, perylenu, chinoftalonu, pyrazolonu a dalších) či např. při určování stupně chlorovanosti ftalocyaninových modří. Tyto výsledky našim syntetikům často hodně napověděly o použité technologii výroby. Jednalo se totiž o oblast barvářské chemie, v níž aplikace hmotové spektrometrie nebyla tehdy předmětem hojného počtu publikací, jak jsme tomu byli v té době svědky např. v biochemii nebo v analytice životního prostředí. Z hlediska počtu uveřejněných sdělení (nepočítáme-li první

sporadické a průzkumné práce v tomto oboru, pocházející z Japonska a Itálie začátkem 70. let) se v literatuře objevovaly v podstatě pouze jednak práce sovětských autorů, pocházející ze spolupráce akademie věd a moskevského výzkumného ústavu organických produktů a barviv NIOPIK a jednak – a to zvláště – serie prací z Indické národní laboratoře v Pooně. Kromě toho však existovaly neklamné známky i spolehlivé informace, že hmotová spektrometrie je velice pilně využívána při výzkumu organických barviv v chemických koncernech jako americký DuPont, japonská Toyo Ink, francouzský Francolor, švýcarská Ciba-Geigy nebo Sandoz, britská I.C.I. se specializovaným ústavem pro barvářský výzkum na univerzitě v Bradfordu, západoněmecká BASFB či Hoechst., nicméně výsledky prací z těchto laboratoří zůstávaly z obchodních důvodů nepřístupné nebo začaly být zveřejňovány až po letech, po vypršení ochranných lhůt příslušných patentů.

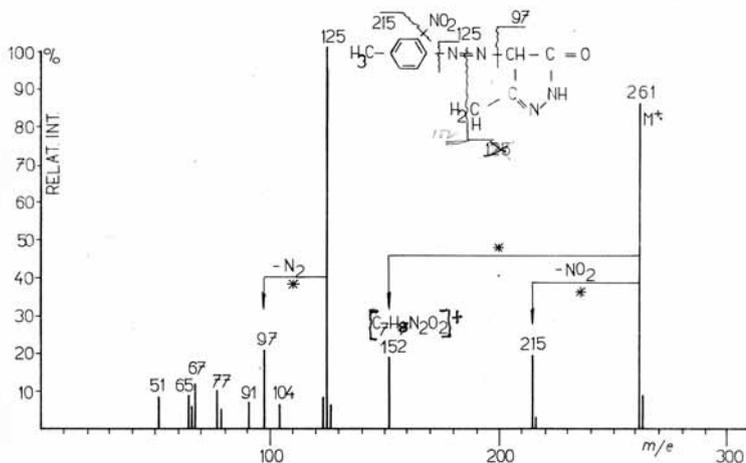
Dále to bylo využití MS při identifikaci hlavních i nežádoucích produktů nejrůznějších reakcí z oblasti těžké a katalytické chemie (např. nitro-, chlor- a aminoderiváty), při studiu průběhu vedlejších reakcí a vzniku sirných sloučenin v surovinách pro umělé pryskyřice, při identifikaci vedlejších látek provázejících výrobu Dianu (tj. Bisfenolu A) pro epoxidové pryskyřice, látek vznikajících při výrobě ftalanhydridu (Urx) či alfa-naftolu ve VCHZ, při analýze odpadních látek z chemických výrobn (např. hexachlorbenzenu ve Spolku Ústí nad Labem), vícesložkových směsí při výzkumu a vývoji chemie silikonů, došlo i na využití MS v případech pro nás poněkud kuriózních, např. v otázce proč dávají arabští šejkové přednost střelivu s mosaznými nábojnicemi ze Západu a ne z Vlašimi nebo při základním výzkumu neobsazených vakancí v atomových mřížkách některých polovodičů. Několik, podle mého soudu zajímavých příkladů využití MS ve VÚOS bude uvedeno posléze.

Ještě před tím však chci zopakovat důležitou, byť starou a známou zkušenost, totiž že nejlepších pozitivních výsledků (být někdy i negativní výsledek je cenný) bylo v mnoha, možná většině případů dosaženo spoluprací s jinými analytickými metodami zavedenými na Afyle a dovolím si připomenout jména nečastějších spolupracovníků. Byly to chemické metody identifikace organických látek zejména ve skupině Konstituční analýzy (Ing. Gasparič CSc. a jeho spolupracovníci, zejména Aleš Cee), metody separační, zejména papírová, tenkovrstvá ale

i sloupcová chromatografie v již jmenované skupině Konstituční analýzy a dále plynová a později i vysokotlaká kapalinová chromatografie ve skupině Organická analýza I (Jana Horská-Parýzková, Pepa Královský), či metody spektrální (NMR dr. Šnobl CSc., IČ-spektroskopie Jarda Knížek). Tito lidé pokud přinesli vzorky věděli co chtějí a vyslechli, co od nás mohou chtít, neskrbili informacemi o povaze a původu vzorku, možných interferencích, čistotě atd. Jeden z nejlepších spolupracovníků v tomto smyslu, a nebyla náhoda, že byl vůbec první, kdo za mnou přišel se vzorkem, byl analytik s velkým A, Ing. Jiří Gasparič CSc, pozdější docent, profesor a přednosta katedry fyziky na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové, výborně se spolupracovalo i s Alešem Cee a Jardou Knížkem, z VCHZ nemohu opomenout výborného organického analytika ing. Latiňáka CSc. Jiná byla občas situace s některými chemiky-syntetiky, kteří z obavy ze ztráty priority nebo někdy i z neschopnosti až lenosti neřekli nebo nevěděli o vzorku skoro nic, takže jsme v řadě případů analyzovali vzorky označené tajemně „vzorek H573/32“ nebo „barevný produkt 493/112-1“ (Ing. Gasparič o těchto zákaznících říkal, že vezmou technickou směs jako surovinu, skleněnou rouru omotají odporovým drátem, zahřejí, surovinu nahoře nalejí, co dole vyteče, to přinesou a chtějí vědět co tam je a čeho kolik. Poté, co jim to analytik řekne, sednou, sepíší to a podají jako disertační práci.) Byly mezi nimi ovšem mimořádně světlé výjimky, se kterými se spolupracovalo skvěle. Z nich bych chtěl vyzdvihnout alespoň např. Jardu Horynu, Jirku Marhana či Líbu Havlíčkovou z laboratoří organické technologie odd. Otela.

Podrobnější výčet uskutečněných analýz a výsledků zde nemá smysl a není předmětem této kapitoly, a proto uvedu jen několik příkladů. Ještě před tím bych chtěl připomenout, že jsme tehdy, zvláště v prvních letech, na našem pracovišti neměli ani atlasy spekter pro srovnání s námi ručně nakreslenými spektry a z toho plynoucí možnou identifikaci, ani off-line počítač natož on-line jak je tomu dnes a že k převedení elektricky registrovaného analogového záznamu spektra na normalizovaný formát (base-pík = 100 %), který umožňoval srovnání s literaturou, jsme měli k dispozici pouze tužku, pravítko, milimetrový papír, bulharskou stolní kalkulačku a vlastní hlavu pro interpretaci naměřeného spektra pomocí vědomostí, získávaných postupně studiem literatury. Obávám se, že pro dnešní generaci kolegů-hmotníků věc obtížně představitelná.

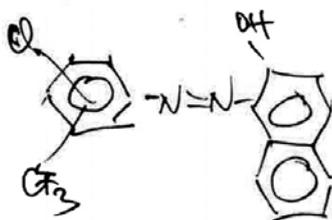
Jako první ze slíbených příkladů využití MS ve VÚOS je spektrum barviva Disperse Yellow 8, které potvrdilo, že jde o 2-nitro-4-metylbenzenazo-3-methylpyrazol-5-on (Obrázek 5).



Obr. 2 Hmotové spektrum 2-nitro-4-metylbenzenazo-3-methylpyrazol-5-onu.

Obrázek 5: Spektrum 2-nitro-4-metylbenzenazo-3-methylpyrazol-5-onu bylo překresleno z milimetrového papíru, normalizováno z analogovéhop záznamu na fotopapíře.

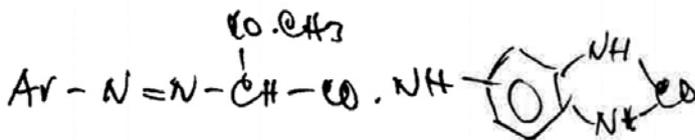
U barviva Sandorinscharlach se pomocí MS podařila rychlá identifikace aktivní komponenty, kterou byl trifluorometyl-chloranilin.



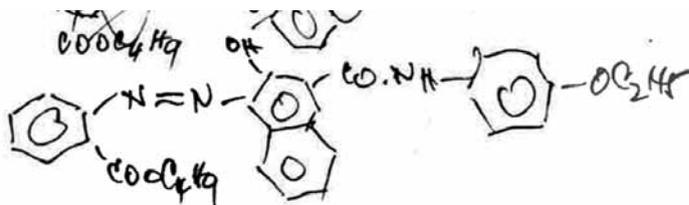
Obr. Sandorinscharlach

Obrázek 6: Strukturální vzorec Sandorinscharlach.

Nalezení určitých obecných závislostí ve spektrech syntetizovaných arylazo-acetoacetarylidů např. odvozených od bezimidazolidonu posléze výrazně pomohlo při určování konstituce barviv řady Hostaperm.



Obrázek 7: Strukturní vzorec barviva Hostaperm.

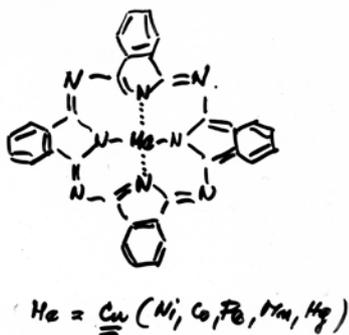


Obrázek 8: Barvivo

Při analýze barviva s navrženou konstitucí bylo kromě předpokládaných a MS potvrzených nečistot pocházejících ze surovin (fenetidid kys. oxynaftoové, butylester kys. o-aminobenzoové, fenetidid) nalezeno něco, co nikdo nečekal a to pentachlorfenol!

Jindy jsme k analýze dostali modrou složku antrachinonového barviva s třemi navrženými konstitucemi a MS všechny vyloučila. Proto bylo syntetizováno barvivo (I) jehož spektrum bylo velmi podobné spektru vzorku ale při jiné teplotě. Podezření, že jde o odlišné polohy substituentů, podporovalo to, že koloristicky bylo toto syntetizované barvivo hodnoceno jako „zelenější“. Proto bylo připraveno další modré barvivo (II), které poskytlo spektrum za stejných podmínek shodné se spektrem původní modré složky.

Vzorek barviva označený Pigment Blue 65 (jindy Vat Blue 20) poskytl po vyčištění ukázkové spektrum s jednoduchou interpretací a snadnou identifikací jako violanthron (dibenzanthron).

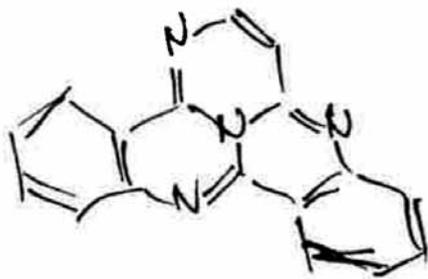


Obrázek 11: Barvivo ftalocyaninové modří

musel otevřít a vyčistit. Přesto šlo snadno identifikovat vedle sebe monochlor- až oktachlorftalocyaniny mědi v těchto barvivech za přebytku nechlorovaného FTC-Cu nebo přítomnost příměsí ftalocyaninů Fe, Ni, Cr a Ag na základě charakteristického zastoupení těžších izotopů, jak v molekulárních iontech tak i z dubletů na stupnici m/e v místech odpovídajících atomovým hmotnostem těchto kovů. V některých případech FTC modří se nám podařilo pomocí metastabilních iontů, vznikajících v tzv. 1. oblasti bez pole, s použitím plynové chromatografie a manuálně improvizované fragmentometrie identifikovat vyextrahované chromatografovatelné příměsi. Byly to směsi dimethyl-n-alkylaminů s alkyly C10-C18, metyl-benzyl-C10-C18 alkylaminů (tzv. inverzní mýdla), C10-C14 N-alkylpyrolidonů a benzylchloridu. Jindy jsme v extraktech FTC barviv prokázali přítomnost polychlorovaných bifenylů, které vznikají při výrobě barviva rozpouštědlovou technologií.

Výhodně se MS uplatnila při identifikaci stopových zbytků rozpouštědel, reakčních směsí, pomocných látek apod. v zahraničních pigmentech a barvivech. Tyto zbytky se neuvolňují při normálních teplotách technologického sušení ale ve vakuu iontového zdroje ano a z jejich MS spekter bylo posléze možno usuzovat na technologii použitou při výrobě (např. dichlorbenzen u některých žlutí, trichlorbenzen u FTC modří či směsi uhlovodíků u některých černí pro tisk a inkousty).

Při výzkumu technologie výroby o-aminobenzonitrilu vznikala oranžová sloučenina, která po izolaci a překrystalování poskytla spektrum ukazující na kondenzovanou aromatickou strukturu se sumárním vzorcem $C_{21}H_{12}N_4$ a s počtem nenasyceností DBA = 18. Konzultace s Chemical Abstracts přinesla štěstí ve formě publikovaného identického spektra. Takže během půl dne jsme věděli, že se jedná o tricyklochiazolin což mělo za následek zastavení syntetických prací tímto směrem vzhledem ke karcinogenitě této sloučeniny.

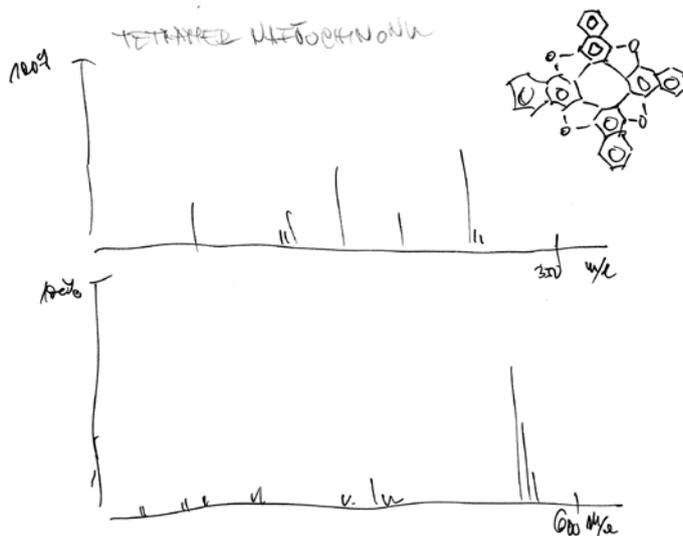


Obrázek 12: Tricyklochiazolin

Mezi příklady využití MS ve VÚOS a současně spolupráce s kolegy, zde konkrétně s Karlem Ubikem, bych rád uvedl případ, kdy jsme obdrželi vzorek neznámé stopové látky, vyizolované chemicky v malém množství ze ftalanhydridu. Spektrum kromě výrazného molekulárního iontu obsahovalo ionty hovořící o 4 atomech kyslíku v molekule a ionty se 2 a 3 kladnými náboji. HRMS při rozlišení 20.000 jsme provedli na pracovišti u Karla Ubika na ÚOCHAB ČSAV. Z elementárního složení pro molekulární iont $C_{40}H_{16}O_4$ a z něho plynoucího neobvykle vysokého počtu nenasyceností DBA = 33 si nikdo z oslovených MS matadorů nedovedl představit a navrhnout strukturu molekuly. I zde nám přálo štěstí – Karla napadlo podívat se do rejstříku sumárních vzorců v Chemical Abstracts a zjistil, že naše spektrum se shoduje s publikovaným spektrem syntetizované sloučeniny, kterou byl zkráceně tetra-naftylenotetra-furan, čili tetramer naftochinonu.

Protože jsme my ve VÚOS ještě neměli k dispozici počítač, ale Karel tehdy už ano, poslal mi později zde uvedené spektrum, nakreslené pomocí jejich počítače, a přidal k němu počítačový obrázek s věnováním.

Jiným příkladem byla identifikace nečistot v α -naftolu, kdy byla zjištěna přítomnost aromatických uhlovodíků od binaftylu přes dinaftylen, naftyl-dinaftylen, trinaftyl až po více-naftyly a jejich kyslíkaté deriváty.

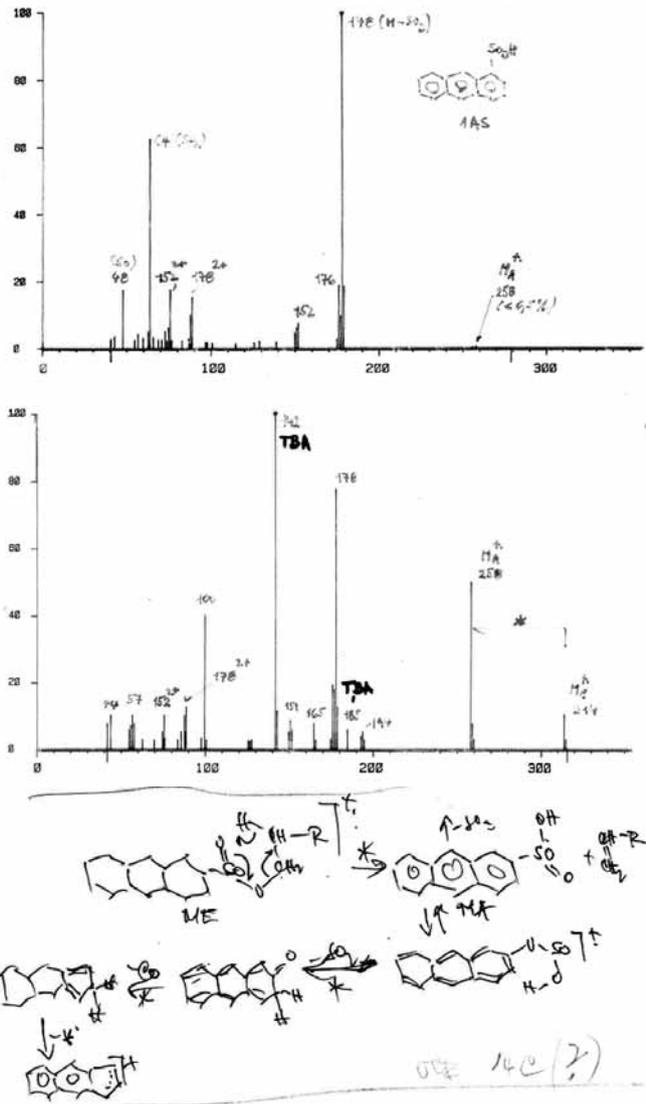


Obrázek 13: Vzorec a spektrum tetra-naftalenotetrafuranu.

Možností GC/MS, HRMS a improvizované fragmentometrie u našeho přístroje jsme využili při analýze látek, izolovaných z odpadního hexachlorbenzenu (HCB), který mj. vzniká jako vedlejší produkt při výrobě chlorovaných rozpouštědel či některých herbicidů. Akutní toxicita HCB je poměrně nízká, nebezpečná je jeho výrazná schopnost bioakumulace a pomalý metabolismus v živém organismu se závažnými zdravotními následky. V 70. letech byl jeho obsah v některých potravinách u nás 2,5-9x vyšší než obsah DDT. V důsledku poznatků z katastrofických otrav dobytka

i lidí v USA a Turecku byl zařazen na seznam nebezpečných odpadů i seznam sloučenin představujících významné riziko pro lidské zdraví. Důvodem k identifikaci složek odpadního HCB bylo, že technologické podmínky vedoucí ke vzniku HCB byly příznivé pro vznik řady dalších již známých, toxických chlorovaných sloučenin ale i sloučenin, o jejichž ekologických důsledcích a vlivech na živý organismus ještě nebylo nic známo. Zjistili jsme, že námi analyzovaný odpadní HCB obsahuje více než 50 chlorovaných složek v koncentracích od desítek % po zlomky ppm. Z toho bylo 7 složek obsahujících kyslík nepočítaje nalezené ftaláty. Jednoznačně jsme identifikovali 14 látek, velmi pravděpodobně (nebyly srovnávací látky ani jiné údaje) 20 látek. Z nich bych pro zajímavost zmínil hexachlorbutadien (údajně nejjedovatější z chlorovaných nocyklických uhlovodíků), hexachlorcyklopentadien, oktachlorcyklopenten, hexa- až oktachlorostyreny, oktachlordibenzofuran, polychlorované indeny, indanony a indenony, bifenyly, naftaleny, difenyly, fluoreny, dodekachlorodihydropyren, přítomny byly pravděpodobně i výšemolekulární polychlorované dusíkaté sloučeniny. Výzkumná zpráva mající 95 stran a 50 obrázků byla označena oponenty za základní dílo v této problematice u nás a pravděpodobně položila základ k pozdějšímu rozvoji a využití této techniky pro identifikaci a stanovení polychlorovaných látek ve VÚOS.

Z tehdejšího hlediska považuji za zajímavý a nadějný náš návrh na metodu MS identifikace aromatických sulfonových kyselin a jejich solí, které jsou důležitými komponentami v barvářské chemii. Ty totiž, kromě nejjednodušších členů této skupiny látek, mají nízkou tensi par, která neumožňuje přímé měření jejich MS spekter na přístrojích s EI ionizací. Byly publikovány postupy převedení na těkavější deriváty (např. trimetylsilyl- nebo metylestery) s dostatečnou tensí pro EIMS. Společnou nevýhodou těchto postupů však mj. bylo, že tyto deriváty neposkytovaly molekulární iont kyseliny a informace o molekulové hmotnosti i struktuře a fragmentaci byly získávány nepřímo z iontů, na něž se molekula připraveného derivátu po ionizaci rozpadala. Podle naší metody se alkalická sůl kyseliny převedla přes ionex na volnou kyselinu, ta po ztitrování tetrabu-



Obrázek 14 a, b, c: Spektra antracensulfonové kyseliny, antracensulfonokys. TBA esteru a McLaf. přesmyk?

tylamoniumhydroxidem poskytla příslušnou sůl, která se zahřátím v iontovém zdroji rozkládá za vzniku butylesteru kyseliny. Ten za podmínek EI ionizace podléhá klasickému McLaffertyho přesmyku a vzniká výrazný (pseudo)molekulární iont původní kyseliny, který např. u antracensulfonové kyseliny měl relativní intenzitu kolem 50 % ve srovnání s 0,5 % při MS samotné volné kyseliny, která navíc nad 150 °C v iontovém zdroji degradovala za vzniku SO₂.

Osobně jsem si považoval toho, že jsem tuto práci mohl věnovat zakladateli hmotové spektrometrie u nás Dr. V. Hanušovi CSc. a přednést ji mezi ostatními vyzvanými přednáškami na počest jeho 65. narozenin v r. 1988 na ÚFCHEJH ČSAV při příležitosti celostátního semináře Československé spektroskopické společnosti „35 let hmotnostní spektrometrie v Československu“.

Možná za jistou raritu z té doby lze dnes považovat použití výsledků MS při řešení složité otázky bodových poruch a možné interkalace jodu v neobsazených vakancích v krystalové mřížce jodoteluridu bizmutitého BiTeI. V tomto případě to byla spolupráce na základním výzkumu s Mirkem Horákem z Katedry anorganické chemie VŠCHT Pardubice. Zahřívání jsme v iontovém zdroji vypěstovaný krystal BiTeI až do 450 °C, za snížené ionizační energie sledovali vývoj celkového iontového proudu, zaznamenávali spektra a sestrojili teplotní závislost intenzit vybraných iontů. Výsledky a jejich interpretace posloužily jako podpůrné argumenty pro vyslovené závěry o tepelné disociaci BiTeI na BiJ3 a hlavně o nestechiometrickém složení tohoto ternárního krystalu. Bylo zajímavé pozorovat ve spektrech vedle iontů složených z monoizotopických anorganických atomů (Bi a I) ionty s polyizotopickým Te i Te₂, ionty jodidů Na, K, Zn, Fe, Mn a Ag a ionty se složením pro nás nezvyklým jako např. Na₂I, NaCuI, Cu₂I, Cu₃I₂ nebo Cu₃I₃.

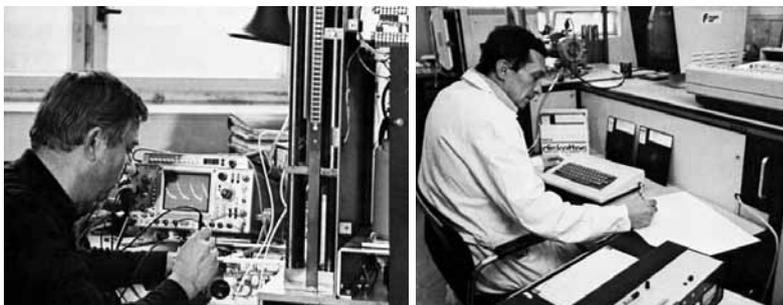
II. GC/MS ve VÚSPL Pardubice po r. 1981

Protože se z historického hlediska nejedná o začátky ale o novodobější pokračování historie MS v Pardubicích, budu v této kapitole stručnější.

Jedním ze zákazníků během mého působení ve VÚOS byl můj dlouholetý známý a kolega z branže plynové chromatografie ve Výzkum-

ném ústavu syntetických pryskyřic a laků (VÚSPL) v Pardubicích, Olda Dufka. V r. 1980 se mu naskytla možnost povýšit na vedoucího celého analyticko-fyzikálního odboru za podmínky, že za sebe najde náhradu na svoje dosavadní místo vedoucího Oddělení separačních metod. Nabídl mi toto místo s tím, že jedním z mých úkolů bude zavedení metodiky GC/MS ve VÚSPL. Vzhledem k tomu že jsem byl původem chromatografista a protože ve VÚOS jsem neměl za tehdejších podmínek perspektivu služebního ani finančního postupu, přiliš jsem neváhal a nabídku přijal s nástupem od 1.1.1981.

Na základě znalostí firemní literatury a po průzkumu nabídky, informacích a zkušenostech, získaných u kolegů Mirka Rysky a Ivana Koruny ve VÚFB Praha se stejným přístrojem, padla volba na tehdy moderní GC/MS System MAT 44S (vyvinutý ve firmě Varian, v době našeho nákupu již prodávaný pod firmou Finnigan). Byl to kvadrupolový přístroj, jako jeden z prvních řízený počítačem, spektra byla on-line digitalizována a normalizována, sledována na obrazovce s možností okamžitého záznamu na diskety, off-line porovnávání se spektry ve vlastní knihovně případně s možností překreslení pomocí X-Y zapisovače, maximální rychlost záznamu byla 1 spektrum za sekundu, zdroj ionizace mohl být EI i CI, vedle GC měl možnost teplotně regulovaného přímého vstupu vzorku (direct inlet DI), chromatograf i spojení GC s MS byly uzpůsobeny pro práci s kapilárními kolonami, vakuum obstarávaly turbomolekulární vývěvy... prostě něco úplně jiného než ve VÚOS, nicméně podrobnější výčet parametrů a technických podrobností zde nepovažuji za potřebný.



Obrázek 15: Foto z brožury VÚSPL.

Přístroj byl do ústavu pořízen formou leasingu od Služby výzkumu, účelové organizace Státní komise pro vědecký investiční rozvoj (SK VTIR), což mělo své výhody i nevýhody. Výhodou bylo, že jsme nemuseli shánět devizové investiční a provozní prostředky a platili nájem v korunách, nevýhodou bývala jistá nepružnost organizace při zajišťování servisu a náhradních dílů. Instalace proběhla v září až listopadu 1981. Kvůli zdůvodnění leasingu bylo třeba vykazovat maximální využití přístroje a proto byl v r. 1982 zaveden dvousměnný provoz i když je třeba přiznat, že nezřídka se jednalo o provoz formální. V srpnu 1988 v laboratoři během noci došlo ke zkratu v klimatizačním zařízení umístěném nad příruční knihovnou, vznikl požár, který zničil téměř celý náš tehdejší knižní fond včetně svazků Eight Peak Indexu hmotových spekter a vsudypřítomné saze proměnily laboratoř v temnou kobku. Přístroj bez úhony přežil, ale osazenstvu oddělení trvalo několik týdnů dát laboratoř do původního stavu.

Oblasti aplikace GC/MS v 80. letech ve VÚSPL při výzkumu a vývoji syntetických pryskyřic a polymerních pojiv např. pro nátěrové hmoty, lepidla, technické pryskyřice apod. lze rozdělit do pěti skupin.

1. Analýzy vstupních surovin, tuzemských i zahraničních, pro všechny studované polymerní báze, většinou s cílem identifikace nečistot. Nejčastěji byla analyzována rozpouštědla (např. lakové benziny, alkylacetáty, pomocná rozpouštědla a ředidla), monomery (alkylakryláty, dikarbonové kyseliny a jejich anhydridy, nenasyčené alifatické kyseliny, glykoly a jejich deriváty, epichlorhydrin a jeho deriváty a další), modifikátory a aditiva (např. filmotvorné látky tzv. koalescenty) nebo průmyslové odpady jako druhotná suroviny (např. tallové pryskyřice z papíren).

2. Sledování průběhu syntézy v laboratorním a později v poloprovozním a provozním měřítku. Šlo o vzorky reakčních směsí s časem (kinetika), destiláty, recykláty, zádrže v aparatuře, promývací a reakční vody apod. při syntéze polyesterových, fenolformaldehydových, epoxidových a akrylátových pojiv a pryskyřic.

3. Analýza konečného polymerního produktu syntézy, většinou nevytvrzeného, čištěného a upraveného k použití u zpracovatele, např. identifikace stopových látek, rušících stanovení zbytkových mono-

meru v akrylátových pojivech nebo obecně identifikace zbytkových těkavých látek v netěkavé polymerní matici.

4. Analýza technologických odpadů, jednak kapalných – jednak z hlediska látkových bilancí případně další využitelnosti (např. regenerace rozpouštědel ze směsi odpadních nátěrových hmot ve výrobním závodě), ale i z hlediska pracovní hygieny u zpracovatele a ochrany životního prostředí při likvidaci (např. odpadní solanka z epoxidů či klasické odpadní vody z alkydových pryskyřic), jednak různých odplynů zpravidla po jejich zachycení nebo čištění sorpcí (např. za louhovou pračkou při výrobě roztokových polyakrylátů).

5. Analýza různých vzorků, pocházejících od spolupracujících organizací, výrobních závodů při zavádění technologií nebo od uživatelů při aplikaci polymerních látek na bázi pojiv vyvinutých ve VÚSPL. Typickými příklady jsou třeba identifikace složek, svědčících o porušení nebo změně výrobní technologie nebo aplikačního postupu, složek hromadících se jako zádrž ve výrobní aparatuře nebo látek extrahovatelných z laminátových nádrží pro potravinářské účely.

Náš – jak jsme tomu říkali – „GC/MS team“ tvořili nejprve jeden, postupně tři až čtyři mladí (mne mezi mladé už nepočítaje) vysokoškolační, kteří se hmotnostní spektrometrii museli učit od začátku a nějaký čas nejprve získávat a absorbovat praktické poznatky. Nedílnou a významnou součástí mé činnosti v tomto týmu byla snaha o jejich odborný růst (2 aspirantury), hledání prostoru v rámci ústavu pro vývoj analytických metod za použití metodiky GC/MS i prosazování publikace výsledků a jejich prezentace ať už formou přednášek, krátkých příspěvků či posterů na odborných akcích nejen specializovaných na polymerní materiály (např. série Makrotestů, ISPAC apod.) ale samozřejmě i v rámci odborné skupiny hmotnostní spektrometrie na sjezdech a seminářích Čs. spektroskopické společnosti. Koncem 80. let to byl už poměrně zkušený a produktivní tým a později jsem někde náhodou zaslechl, že prý se tehdy v této souvislosti hovořilo o „pardubické škole MS“. Vytvořili jsme vlastní knihovnu referenčních EI a CI spekter, která měla koncem r. 1988 téměř 600 položek. Byla téměř s určitostí v republice ojedinelá, protože obsahovala spektra látek, která tehdy nebyla v katalogizovaných sbírkách spekter ani ve

velkých, komerčních počítačových knihovnách, některá nebyla ani do té doby publikována (např. nečistoty v glycidylmetakrylátu). To představovalo v té době know-how obtížně vyjádřitelné hodnoty. V r. 1986 jsme stáli i při uskutečnění 1. Celostátní letní školy MS a tím založení tradice, která ve dvouletých intervalech pokračuje dodnes a o které jistě napíše na jiném místě její tehdejší zakladatel, vůdčí organizátor a předseda odborné skupiny hmotnostní spektrometrie Mirek Ryska. V letech 1989-91 jsem se snažil zapojit naše GC/MS pracoviště i do řešení problematiky životního prostředí na úrovni celé, tehdy čerstvě rozdělované republiky, protože s aplikací GC, zvláště v analytice pracovního ovzduší, jsme již v našem oddělení separačních metod měli určité zkušenosti. Byl jsem dokonce přizván do Rady tehdy vznikajícího a ambiciózního celostátního a mezinárodního projektu TOCOEN (Toxic Organic Compounds in the Environment). Bohužel po reorganizačních a personálních změnách na vedoucích postech VÚSPL včetně změn v analytickém odboru Afyla v r. 1990 jsem nenacházel podporu pro aktivní účast na tomto projektu, neměl jsem projektu co nabídnout a iniciativu v analytice organických látek v ovzduší převzal VÚOS Rybitví, který se dokázal prosadit na příslušném odboru Ministerstva životního prostředí. Pokud vím, po mém odchodu se ve VÚS-PL nikdo ve snaze o spolupráci na tomto projektu již neangažoval.

Epilog

V r. 1992 jsem odešel do invalidního důchodu, tým GC/MS se v průběhu privatizace a reorganizace VÚSPL na Synpo a.s. v 90. letech rozpadl a tím moje kariéra i vzpomínky na začátky a rozvoj hmotnostní spektrometrie v Pardubicích končí.

Abecední seznam citovaných osob

Ing. Aleš Cee CSc.

Ing. Oldřich Dufka

Prof. Ing. Jiří Gasparič DrSc.

RNDr. Vladimír Hanuš CSc.
Prof. Dr. Jaromír Horák DrSc.
Ing. Libuše Havlíčková CSc.
Ing. Jaroslav Horyna
Prof. Dr. Ing. Miroslav Jureček DrSc.
Ing. Ivan Kolb CSc.
Ing. Ivan Koruna CSc.
Ing. Jaroslav Knížek
Ing. Josef Královský CSc.
Ing. Jaroslav Latiňák CSc.
Ing. Jiří Marhan CSc.
Ivanka Nádherná
Ing. Josef Parýzek
Ing. Jana Parýzková CSc.
RNDr. Miroslav Ryska CSc.
RNDr. Dobroslav Šnobl CSc.
Ing. Karel Ubik CSc.
Prof. Dr. Ing. Miroslav Večeřa DrSc.
Ing. Josef Vencel CSc.

6. MIROSLAV RYSKA

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

– MŮJ OSUD



Miroslav Ryska se narodil 2. února 1938 v Novém Domě, v okrese Rakovník. Studium chemie zahájil v roce 1955 na přírodovědecké fakultě UK u profesora Běhouňka, známého českého radiochemika a spisovatele, a v letech 1956-1961 pobýval jako student na Lomonosově univerzitě (Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова), dnes v různých žebříčcích kvality nejlépe hodnocené univerzitě bývalého socialistického bloku. Jeho diplomová práce o hydrogenaci cyklohexenu na palladiu vznikla ve skupině slavného sovětského chemika a nositele Nobelovy ceny N.N. Semjonova. Zde se také poprvé setkal s hmotnostní spektrometrií, která se mu stala osudnou. Po návratu do Prahy působil jako aspirant (doktorand) na Ústavu makromolekulární chemie, kde pracoval u Otto Wichterleho na kinetice heterogenní polymerizace vinylchloridu. Po obhájení dizertační práce v roce 1966 absolvoval postdoktorální stáž u profesora Hummela v Kolíně nad Rýnem (Universität zu Köln) a zároveň měl příležitost spolupracovat s jedním z nejvýznamnějších evropských hmotnostních spektrometrů té doby, kterým byl Hans-Dieter Beckey v Bonnu. Od roku 1969 vedl nově vzniklou laboratoř hmotnostní spektrometrie na ÚMCH, kde měl k dispozici přístroj MS 902 firmy AEI, což byl ve své době jediný hmotnostní spektrometr s dvojitou fokusací v Československu. Po odstranění akademika Wichterleho z vedení se ovšem situace v ÚMCH stala těžko únosnou, takže v roce 1978 přešel Miroslav Ryska do tehdejšího Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii. VÚFB však v důsledku privatizace de facto zanikl, takže Miroslav Ryska se svými kolegy byl nucen operativně založit v roce 1996 soukromou firmu Quinta-Analytica, která je dnes zdárně prosperující společností specializující se na analytiku v oblasti analytického a klinického testování léků.

Připraveno redakcí dle Eur. J. Mass Spectrom. 14, v-vi (2008)

Moskevská státní univerzita můj první krůček do oboru hmotnostní spektrometrie

Když jsem v září 1955 přijal po krátké poradě se svým oblíbeným profesorem chemie na gymnáziu nabídku rektorátu VŠCHT studovat v Sovětském svazu, netušil jsem, že toto mé rozhodnutí bude mít osudový vliv na celoživotní spojení mé vědecké a výzkumné kariéry s oborem hmotnostní spektrometrie. Měl jsem studovat v Moskvě radiochemii, obor, který v tu dobu „letěl“. U nás byla tehdy právě nově založena Fakulta technické a jaderné fyziky UK, abychom udrželi krok s okolním světem. V jaderné velmoci Sovětském svazu však již byl tento obor v pokročilejším stavu. Studium na Chemické fakultě Moskevské státní university jsem zahájil druhým semestrem v únoru 1956, když 1. semestr jsem absolvoval na UK v Praze. Velmi brzy již v 5. semestru v r. 1957 jsme se s kamarádem Karlem Vackem rozhodli „mločit“ na některé z kateder fakulty a vybrali jsme si katedru chemické kinetiky, kterou vedl laureát Nobelovy ceny akademik N.N. Semjonov. Snad jeho jméno a dobrá pověst této katedry byly hlavním motivačním faktorem při našem rozhodování začít ještě jako studenti 3. semestru právě na této katedře získávat první zkušenosti v budoucí vědecké kariéře. Tímto rozhodnutím jsme se pomalu ale jistě odpoutali od původního plánu studovat radiochemii. Na katedře chemické kinetiky byly 2 směry: reakční kinetika v plynné fázi a reakční kinetika ve fázi kapalná. Moc jsem tomuto rozdělení nerozuměl, ale já jsem dostal přiděleno místo pomocné vědecké síly (pomvěda) v laboratoři katedry zabývající se kinetikou reakcí ve fázi plynné, zatímco Karel v laboratoři kinetiky ve fázi kapalná. Vedoucím mé skupiny byl Gruzín R.E. Mardalejšvili. Při mé první návštěvě jeho laboratoře mne zaujal mohutný přístroj uprostřed o rozměrech asi 250x100x180 cm, který působil impozantně, v paměti mi utkvěla hlavně jeho velická hlučnost. Bylo mi vysvětleno, že se jedná o hmotnostní spektrometr MS4 Nierova typu, který je ve značných seriích v SSSR vyráběn. Později jsem se mohl s tímto přístrojem setkat též v posluchačských laboratořích. Byla to vlastně kopie anglického přístroje MS2 firmy Metropolitan Vickers. U přístroje seděl maďarský aspirant Lájoš, jehož znalosti jsem po celou dobu mého působení na katedře velmi obdivoval. Z hlediska mého

zakotvení v oboru hmotnostní spektrometrie byla pro mne návštěva této laboratoře osudová.

Začal jsem laboratoř pravidelně navštěvovat. Již při druhé návštěvě jsem dostal praktický úkol vyčistit iontový zdroj. Nebyl to úkol v té době jednoduchý, pečlivě jsem si poznamenal zapojení všech elektrických vodičů, jednotlivé elektrody a izolátory jsem důkladně očistil smirkovým papírem a promyl čistým ethylalkoholem a jal jsem se zdroj sestavit do původního stavu. Když už se zdálo, že své dílo úspěšně završím, použil jsem při upevňování poslední elektrody malým šroubkem poněkud více síl, než bylo žádoucí a nerezovému šroubku jsem při utahování ukroutil hlavičku. V obavách, že můj pobyt v laboratoři je tím zpečetěn mne polil studený pot. K mému překvapení však můj šéf zachoval naprostý klid, zavolał jemného mechanika katedry a ten můj přečin napravit tím, že v elektrodě vyvrtal nový otvor, který opatřil závitem pro nový šroubek. Nový šroubek sám vysoustružil z nerezového drátu.

Můj technický malér byl dosti rychle zapomenut, naučil jsem se svařovat skleněné části celoskleněného vstupního systému přístroje, který jsem byl pak schopen sám opravovat. Svoji technickou dovednost jsem mohl napravit o několik měsíců později, kdy jsem dostal úkol mnohem složitější, pokusit se spojit tento hmotnostní spektrometr s kolonou plynového chromatografu (tehdy byly známy pouze plněné kovové). Kdybych byl býval byl tak schopný a erudovaný jako Gohlke a McLafferty, asi bych byl slavný, vždyť můj pokus byl přibližně ve stejnou dobu jako jejich. Ten můj pokus však skončil naprostým fiaskem. Přechod mezi vysokým vakuem hmotnostního spektrometru a atmosferickým výstupem kovové plněné kolony o průměru 4 mm jsem řešil tím nejjednodušším způsobem a to obyčejným kovovým ventilem, který nebyl ani jehlový. Vůbec mě nenapadlo, že bych měl spojení řešit pomocí nějakého separátoru nosného plynu, což bylo v pozdějších letech naprosto běžné. Ten ventil byl těžko regulovatelný a můj druhý pokus skončil náhlým zavzdušněním přístroje a jeho totální kontaminací rtutí z difusních vývěv. Ta při tom mém pokusu pronikla až do rotačních vývěv a do laboratoře. Dekontaminace přístroje, vývěv i laboratoře trvala téměř celý týden a více jsem se již o spojení plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem nepokoušel.

Jak jsem se již zmínil, 2 difusní vývěvy hmotnostního spektrometru byly rtuťové a byly opatřeny při vstupu velkými vymrazovacími plněnými kapalným dusíkem. Ty měly snížit tenzi par rtuťi a zabránit jejich pronikání do zdroje a analyzátoru. Jedna vývěva vytvářela vakuum iontového zdroje a analyzátoru, druhá celoskleněného (nevyhřívávaného) rezervoárového vstupu. Analyzátor byl magnetický 60° sektor. Detektorem byla Faradayova klec s velmi vysokou časovou konstantou zesilovače, jehož výstup byl připojen k liniovému zapisovači. Skenování magnetu bylo od nižších hmot k vyšším, zpětná vazba napájení zesilovače zdroje magnetu byla zajišťována lineárním zvyšováním napětí mechanicky skenovaného potenciometru na principu Kohlrauschova bubnu. Jeden sken v hmotnostním rozsahu 100 m.u. trval kolem 15 minut. Rozlišovací schopnost $m/\Delta m$ přístroje byla asi 100. Nastavení analyzátoru na určitou hmotu bylo možné i ručně pomocí potenciometru. Rtuťové vývěvy měly jedinou výhodu. Vždy v iontovém zdroji přítomné páry rtuťi umožňovaly orientovat se v každém hmotnostním spektru na základě přítomnosti rtuťového multipletu izotopů ^{198}Hg , ^{199}Hg , ^{200}Hg , ^{201}Hg , ^{202}Hg a ^{204}Hg ve spektrech. Na spodní části spektra píky iontů vody, dusíku a kyslíku byly spolu s izotopy rtuťi jedinými značkami, které umožňovaly správné přiřazení hmotností jednotlivým píčkám spektra. I tak bylo jednoznačné značkování hmot ve spektrech nepříliš jednoduchou záležitostí, vždyť ve spektrech se objevovaly i píky iontů s více náboji nebo píky metastabilních iontů, které snadno vedly k omylům při určování správné hmotnosti. Byl to však obecný přístup vyhodnocování spekter, resp. správného přisuzování hmotností jednotlivým iontům, který např. ještě v šedesátých letech používal na svém přístroji též Dr. Hanuš a vždy mě udivoval svou neomylností.

Na katedře akademika N.N. Semjonova jsem se zabýval kinetikou a mechanismem hydrogenačních reakcí na paladiovém katalyzátoru. Konkrétně se jednalo o hydrogenaci cyklohexenu při pokojové teplotě. To bylo i později náplní mé diplomové práce. Páry cyklohexenu spolu s vodíkem při tlaku několika málo torrů se přiváděly do reaktoru s paladiovým katalyzátorem. Paralelně s touto hydrogenační reakcí však i v nepřítomnosti vodíku probíhala i reakce disproportionační, kdy z 3 molekul cyklohexenu vznikala 1 molekula benzenu a 2 mole-

kuly cyklohexanu. Použitím deuteria místo vodíku bylo možné rozlišit tvorbu cyklohexanu jako produktu přímé hydrogenace cyklohexenu a jako produktu reakce disproporcionační vedle cyklohexanu deuterovaného do různého stupně jako produktu přímé hydrogenace.

Návštěva Hanušova a Čermákova pracoviště – můj druhý milník

Asi v dubnu 1958 mě vedoucí mé práce Dr. Mardalejšvili informoval o skupině Hanuše a Čermáka, kteří v Praze zkonstruovali první československý hmotnostní spektrometr. Jejich práci vysoko hodnotil a doporučil mi, abych je v Praze navštívil. Čermákovu a Hanušovu laboratoř v proslulém činžovním domě v Máchově ulici jsem poprvé navštívil v době mých prázdnin v létě 1958. Byl jsem překvapen, jakých vynikajících výsledků tato skupina ve velice stísněných podmínkách činžovního domu dosáhla. Oproti nim byly naše podmínky na Chemické fakultě Moskevské státní univerzity přímo královské. Oni ale byli mistři, zkonstruovali svůj vlastní přístroj a já se mohl pochlubit jen tím, že pracuji na přístroji komerčním. Vědecká atmosféra v této skupině byla přímo fantastická a připomínala mi atmosféru na slavných evropských a amerických univerzitách v 30. letech minulého století a posléze v Los Alamos, popsanou Jungkem v jeho slavné knize Jasnější než tisíce sluncí. Od té doby jsem Čermákovu a Hanušovu laboratoř při každé mé návštěvě Československa navštěvoval. Vzpomínám, jak kdykoliv mne Dr. Čermák spatřil ve dveřích, vítal mě zpravidla se slovy „Pane Rysko, mám tu problém, jak byste to řešil?“. A já vedle něho prakticky učedník jsem něco nesourodého ze sebe soukal, abych nevypadal příliš hloupě. On se ale vždy živě zajímal o to, co na univerzitě právě dělám.

Wichterleho Ústav makromolekulární chemie ČSAV – třetí milník

Mým snem, který mne nikdy neopustil, bylo dostat se do skupiny Čermáka a Hanuše, jichž jsem si nesmírně vážil. Tento sen se mi, bohužel nikdy nesplnil. Přímou jsem je oslovil po mém návratu ze studií

z Moskvy v březnu 1961. Dr. Hanuš mi sdělil, že bohužel v Ústavu fyzikální chemie a elektrochemie ČSAV, jak se tehdy tento ústav jmenoval, žádné volné místo není a doporučil mi, abych se ucházel o místo u prof. Wichterleho, který právě založil Ústav makromolekulární chemie ČSAV (ÚMCH). ÚMCH měl tehdy asi 4 detašovaná pracoviště, sekretariát se nacházel v Chotkově ulici, pod hradem.



Obrázek 1: Pánov, Čoupek, Ryska a Wichterle

Poprvé v životě jsem se setkal s tak významnou naší přední vědeckou osobností. Aniž bych se předem ohlásil, byl jsem vřele přivítán v jeho provizorní ředitelně v Chotkově ulici. Náš rozhovor začal na téma, co jsem na univerzitě dělal. Diskuze byla velice obšírná, především pokud se týkalo tématu chemické kinetiky. I když jsem měl velice dobrou přípravu v oboru chemické kinetiky, byl jsem poněkud zklamán, že nemohu přímo navázat na obor hmotnostní spektrometrie, který jsem si již předtím na univerzitě oblíbil. Byl mi však dán příslib, že jakmile bude rozhodnuto hmotnostní spektrometr zakoupit, určitě se s mými zkušenostmi (pokud se to dalo tak nazvat) bude počítat. Byl jsem nejen poněkud zklamáný, ale i skeptický k tomu, že hmotnostní spektrometrie bude někdy v ÚMCH vůbec zavedena. Vždyť hlavním tématem, pokud se fyzikálně-chemických metod týkalo, bylo v ústa-

vu sledování struktur polymerů a to, že by hmotnostní spektrometrie mohla být vůbec někdy použitelná pro přímé měření makromolekul, to nikoho v té době a tím spíše ani mně nemohlo ani napadnout. A tak jsem se více než 4 roky věnoval kinetice heterogenní polymerizace vinylchloridu a o hmotnostní spektrometrii jsem si mohl nechat jen zdát. Na jaře r. 1966 jsem na toto téma obhájil svoji dizertační práci. Záhy poté si mě nechal zavolat profesor Wichterle do své pracovny. Sděлил mi, že na ústav přišly ze Západního Německa první 2 nabídky na postdoktorátní stáž: jedna na univerzitu v Mohuči a jedna na univerzitu v Kolíně nad Rýnem. Řekl mi, že mě vybral na postdoktorát v Ústavu fyzikální chemie Univerzity v Kolíně nad Rýnem, a to proto, že na tomto pracovišti se zabývají pyrolytickými rozklady polymerů a kopolymerů a jejich sledování pomocí hmotnostní spektrometrie. Až se vrátím, měl bych těchto zkušeností využít pro vybudování vlastní laboratoře hmotnostní spektrometrie v ÚMCH ČSAV. Toto rozhodnutí prof. Wichterleho mi doslova vlilo novou krev do žil. Nyní jsem již pevně věřil, že se k hmotnostní spektrometrii vrátím. To, že přístroj, byť finančně nesmírně náročný, zakoupen bude, bylo zcela reálné. Již v tu dobu měl ústav vlastní dolarové konto, na které přibývaly z patentů prof. Wichterleho registrovaných v zahraničí nemalé devizové částky a to i přesto, že byly jen zlomkem zisku, které získávala akademie a stát.

V září 1966 jsem odjel na roční stáž (která byla později prodloužena na 16 měsíců) v Ústavu fyzikální chemie Univerzity v Kolíně nad Rýnem. V oddělení makromolekulární chemie, kde se nacházela i laboratoř hmotnostní spektrometrie byla řada spektrálních přístrojů, především IČ, Ramanův spektrometr a další. V laboratoři hmotnostní spektrometrie byl jediný hmotnostní spektrometr Krupp MAT CH4. Na něm pracoval doktorand Horst Dieter Shüddemage. Hned jsme se spřátelili a přáteli jsme zůstali dodnes. Horst prováděl rozklady polymerů přímo ve vyhřívaném přímém vstupu iontovém zdroje a metodou ionizace polem analyzoval plynné pyrolytické produkty. Bylo to pro mne fascinující. MAT CH4 byl sektorový magnetický přístroj s jednoduchou fokusací s poměrně velkou rozlišovací schopností (5000 na 10% údolí píků). Na přístroji mne vedle neklasického iontového zdroje ionizací polem zaujal pro mne na tu dobu neobvykle

rychlý liniový zapisovač, který byl schopný zaznamenat 1 hmotnostní pík za 1 sekundu. Vedoucí oddělení prof. Hummel byl odborníkem na IČ spektrometrii, vydával rozsáhlý atlas IČ spekter polymerů a mým úkolem bylo připravit celou řadu kopolymerů styrenu s vinylchloridem, které pak budou použity nejen pro sledování produktů pyrolýzy hmotnostní spektrometrií, ale jejich IČ spektra, jako spektra nových neznámých kopolymerů, měla být použita též k publikaci v jeho monografii. Z hlediska rozdílnosti kopolymeračních parametrů byla myšlenka přípravy kopolymerů styrenu a vinylchloridu, natož pak jejich možného využití více než pošetilá. Kopolymery nutně musely mít blokový charakter s delšími styrenovými i vinylchloridovými sekvencemi. Z hlediska charakteru pyrolytických produktů však byly tyto kopolymery vcelku zajímavé. Z polystyrenových sekvencí (bloků) při tepelném rozkladu vznikaly fakticky 3 produkty: monomer, dimer a trimer styrenu. Degradace polyvinylchloridových sekvencí (bloků) byla složitější, ale sekvence 3 sousedících monomerních jednotek vinylchloridu poskytovala po dehydrochloraci v dobrých výtěžcích benzen. Bylo tedy možné na základě semikvantitativního stanovení benzenu, monomeru, dimeru a trimeru styrenu celkem úspěšně alespoň semikvantitativně charakterizovat až 3 sousedící monomerní jednotky vinylchloridu. K tomu účelu byla ionizace polem, poskytující převážně molekulové ionty všech 4 komponent velice vhodnou metodou. Náročná však byla příprava platinových emitorů pro ionizaci polem. Byly to tenké platinové drátky o průměru 2 μm , které se připravovaly z Wollastonových drátků, zbavením jejich vnější vrstvy stříbra rozpuštěním v kyselině dusičné. Poté se tenký platinový emitor aktivoval několik hodin v iontovém zdroji v parách acetonu při tlaku kolem 10^{-4} torru za postupného zvyšování napětí až na 11 kV. Tenké platinové emitory byly nesmírně citlivé jednak vůči mechanickým otřesům, jednak vůči elektrickým výbojům. Pokud elektrické výboje nastaly, došlo vždy k jejich celkovému zničení. Později se používaly platinové drátky o průměru až 10 μm a ty vykazovaly již větší odolnost jak mechanickou tak i vůči výbojům. Příprava a aktivace emitorů byla velmi náročná. Pokud se prováděla přímo ve zdroji hmotnostního spektrometru, byl přístroj prakticky vyřazen z používání. Často jsme jezdili do nedalekého Bonnu na univerzitu k profesoru Beckeyovi, au-

torovi metody používání aktivovaných tenkých platinových drátků při ionizaci polem. Ten nám nejen předával své bohaté zkušenosti, ale nechávali jsme si i v jeho laboratoři připravovat emitory mimo zdroj hmotnostního spektrometru na zařízení, které on vyvinul. Později pak byla aktivace prováděna v benzonitrilu místo v acetonu. Tím byly získávány mnohem aktivnější emitory. Setkání s prof. Beckeyem byla vždy velmi zajímavá a podnětná.

Záhy po návratu ze stáže na Univerzitě v Kolíně nad Rýnem mě profesor Wichterle pověřil výběrem vhodného hmotnostního spektrometru pro ÚMCH ČSAV a byl jsem rovněž pověřen vybudováním laboratoře hmotnostní spektrometrie na tomto pracovišti. V roce 1968 jsem podniknul cestu do Anglie a do Spolkové republiky Německo, navštívil jsem několik firem, výrobců hmotnostních spektrometrů a vyjednával případné podmínky koupě přístroje. Bylo to v tu dobu zcela neobvyklé již z toho důvodu, že jakákoliv jednání s dovozci přístrojů byla zcela v kompetenci podniku zahraničního obchodu KOVO a pracovníkům výzkumných ústavů a akademie věd nebylo dovoleno taková jednání vůbec vést. To jsem však nevěděl a neuvědomoval jsem si, že mohu svým jednáním pro ústav způsobit nepříjemnosti. Naopak v zahraničí jsem nabyl takové zkušenosti v tvrdých obchodních jednáních s firmami-dodavateli přístrojů, že se mi podařilo vyjednat u firmy A.E.I. v Manchesteru velmi výhodné podmínky na zakoupení tehdy špičkového přístroje typu MS-902, s dvojí fokusací s geometrií Nierra-Jonsona s vysokou rozlišovací schopností. Navíc byl přístroj kromě klasického EI zdroje vybaven zdrojem kombinovaným FI/EI. Na rozdíl od přístrojů firmy MAT zde byly jako emitory používány brity připravované ze speciálních žiletek fy Willkinson. Ty byly sice mechanicky odolnější než tenké drátky, ale jejich nevýhoda byla v tom, že se nedaly přímo elektricky vyhřívat. Přístroj takového typu se dosud v Československu nevyskytoval a jeho přímý dovoz z Anglie do zemí východního bloku nebyl vzhledem k embargu možný. Embargu podléhaly tehdy všechny hmotnostní spektrometry, jejichž poloměr magnetického analyzátoru převyšoval určitou předepsanou mez (její přesnou hodnotu si již nepamatuji). Kvůli embargu by musel být přístroj dovezen přes třetí zemi a to nejlépe přes Lichtenštejnsko. Byl jsem na sebe hrdý, že se mi podařilo dojednat vskutku velmi výhodné podmínky

a dostal jsem i pochvalu od prof. Wichterleho, což mě velice potěšilo. Záhy se však ukázalo, že jsem svým samostatným jednáním způsobil obrovské problémy nejen sobě, ale celému ústavu. PZO KOVO tvrdě zaútočil, že jsem překročil své vlastní kompetence, s dovozci přístrojů do Československa jsem v žádném případě neměl oprávnění jednat. Záležitost se napravila tím, že KOVO požádalo firmu A.E.I. v Manchesteru o zaslání nové nabídky s cenou o 15 % vyšší, než jsem dojednal já, a Kovu se pak „podařilo snížit“ ji na stejnou úroveň, kterou jsem předtím dojednal. 15 % šlo ve prospěch úspěšného obchodního jednání PZO KOVO, takže ÚMCH musel zaplatit o 15 % více, než se mi podařilo dojednat. Konec dobrý, všechno dobré, dobrá věc se podařila, do Československa byl z Anglie přes Lichtenštejnsko dodán první hmotnostní spektrometr s dvojí fokusací a rozlišovací schopností 40 000 (při 10% údolí překryvu píků). Pro přístroj jsem vybudoval ve 2. suterénu speciální laboratoř. Do nadzemních podlaží nebylo možné přístroj pro jeho hmotnost umístit (jen magnet vážil 1,5 t). V té době to bylo skutečně špičkové zařízení. Veškerá elektronika byla sestavena na elektronkách, difusní vývěvy byly olejové, oddělené od vysokovakuaového prostoru vymrazováky s automatickým doplňováním kapalného dusíku ze 120 litrové Dewarovy nádoby. Iontový zdroj byl opatřen celkem 4 vstupy, nevyhříváným skleněným vstupem pro zavádění par referenční látky pro kalibraci hmotnostní škály a zároveň referenční látky pro měření přesných hmotností iontů metodou srovnávání “peak matching“. Důležitý byl celoskleněný vyhříváný systém pro zavádění látek s nižší tenzí par při normálních teplotách. Další vstup byl určen pro spojení s plynovým chromatografem resp. s výstupem ze separátoru helia (separátor byl Biemannův). Spojení separátoru s výstupem z plynového chromatografu bylo prostřednictvím elektricky vyhříváné kapiláry. Nejdůležitějším byl pak přímý vstup a to buď s elektrickým regulovaným výhřevem, nebo vstupem nevyhříváným. U vyhříváného vstupu se pevné látky vkládaly do skleněné kapilárky, která se zasouvala do skleněné kapsičky sondy přímého vstupu vyplněné skleněnou vatou. Kapsička pak byla ovinuta elektrickou spirálou a elektricky vyhřívána, buď manuálně, nebo plynule se zvyšující automatickou regulací teploty. Konstrukce takto vyhříváného přímého vstupu byla však dosti nedokonalá a vstup měl poměrně značnou poruchovost.

Proto byla dávána přednost spíše nepřímému nevyhřívávanému vstupu, jenž byl opatřen křemennou mikrozkušavkou zasazenou přes izolátor do kovového tága. Průměr mikrozkušavky odpovídal průměru otvoru v ionizační komůrce, takže vzorek bylo možné pomocí magneticky ovládaného posunu tága vkládat do bezprostřední blízkosti proudu elektronů. Tím bylo možné docílit vysoké iontové výtěžky a citlivost zdroje byla nesrovnatelně vyšší v porovnání s jinými typy přístrojů. Teplota vzorku pak odpovídala teplotě iontového zdroje, kterou bylo možné poměrně snadno měnit, nebo ji nastavit na požadovanou hodnotu před vlastním zasunutím vzorku do ionizační komůrky zdroje. Hmotnostní spektra byla snímána skenováním intenzity magnetického pole magnetického analyzátoru od vyšších hodnot k nižším, když počáteční vysoká hodnota byla nastavována nabitím kondenzátoru na počáteční hodnotu ve zpětné vazbě zesilovače zdroje napájení magnetu. Rychlost skenů pak byla dána rychlostí vybíjení kondenzátoru přes odpory a byla určována velikostí těchto odporů. Hmotnostní sken byl tedy nelineární vzhledem k základní kvadratické funkci závislosti poměru m/z na intenzitě magnetického pole, ale i na nelineární závislosti napětí zpětné vazby zesilovače jako časové funkce napětí přes odpor vybíjeného kondenzátoru. Orientace ve spektrech byla tedy nadmíru obtížná. Její usnadnění umožňoval značkovač hmot, který snímal intenzitu magnetického pole pomocí cívky umístěné mezi jeho póly. Kalibrace takového značkovače hmot však nebyla jednoduchá. Pomocí sady asi 18-ti potenciometrů bylo nutné značkovač kalibrovat pomocí charakteristických iontů perfluorotributylaminu, který sloužil jednak jako kalibrant pro značkovač, jednak jako referenční látka pro stanovení přesné hmotnosti iontů analytu metodou "peak matching". Výhoda perfluorotributylaminu spočívala jednak v příznivé tenzi jeho par při laboratorní teplotě, jednak v poskytování charakteristických pík spektra na každých 100 hmotnostních jednotek (rozdíl C_2F_4), počínaje píkem iontu m/z 1066. Stabilita nastavení značkovače hmot nebyla valná. Zpětná vazba zesilovače urychlujícího napětí iontů (540 V) byla napájena sadou sériově zapojených baterií suchých článků (1,5 V). Jejich kontinuální vyčerpávání a pokles napětí způsobovaly i nepřetržitý posun hmotnostní škály. Tento posun mohl být kompenzován pomocí dalších potenciometrů, ale i tak kompenzace dalších

vlivů byla obtížná. V optimálním případě bylo nutné značkovač překalibrovávat několikrát denně. Přesto byl tento značkovač významným pomocníkem při orientaci ve spektrech. Skenování magnetického pole analyzátoru bylo možné až rychlostí 1 hmotnostní dekáda za 2 vteřiny. Hmotnostní rozsah m/z 500 - 50 bylo tedy možné pokrýt i za 2 vteřiny. Tato rychlost byla dostatečná i pro GC/MS spojení, i když toto spojení mohlo být považováno jen jako doplňkové a nevyrovnalo se jiným přístrojům v té době, jako byl např. LKB 8000 či nastupující přístroje kvadrupólové. Detektorem iontů byl 32 stupňový dynodový násobič sekundárních elektronů a spektra iontů byla zapisována pomocí 4 kanálového galvanometrického smyčkového zapisovače na fotografický papír, citlivý vůči UV. Galvanoměry byly schopny věrně zapisovat rychlý průběh skenů v pásmu do 10 kHz. Jeden kanál zesilovače byl připojen na značkovač hmotností iontů. Každá 5. hodnota m/z byla označena krátkou ryskou, každá 20 ryskou střední a nejdelší ryska patřila pak hodnotě m/z 200. Při vší své nedokonalosti z dnešního pohledu digitálních záznamů spekter byl značkovač hmotností velmi významným pomocníkem pro rychlou orientaci ve spektrech.

Největší předností přístroje MS 902 však byla jeho vysoká rozlišovací schopnost a snadné rutinní měření přesných hmotností iontů metodou „peak matching“. Rozlišení 10000/10% údolí bylo zpravidla méně než minutovou záležitostí a to pouhým mechanicky ovládaným snížením šířky obou štěrbin, výstupní z iontového zdroje a vstupní do magnetického analyzátoru. Běžný režim při tzv. nízké rozlišovací schopnosti (1000/10%) při plně otevřených obou štěrbinách byl používán při záznamech skenů plyných spekter. Maximální rozlišení 40000/10% bylo možné získat optimalizací polohy magnetu a zúžením tzv. z-štěrbin, které omezovaly šířku píků v souřadnici z , tj. kolmo k rovině dráhy iontů. Systém pro stanovování přesné hmotnosti iontů srovnáváním píků „peak matching“ byl ruční s alternujícím promítáním píků analytu a referenční látky. Zatímco pík iontu o nižší hmotě byl promítán na oscilografickém displeji při plném akcelerujícím napětí 8kV, pík iontu o hmotnosti vyšší byl promítán o napětí nižším tak, aby došlo geometricky při jejich alternujícím promítání k vzájemnému překrytí. Dvoukanálový zesilovač umožňoval dokonalé porovnávání píků lišících se velikostí až o 3 řády. Systém byl natolik praktic-

ký, že umožňoval stanovování hmotností iontů pro zručného operátora s přesností lepší než 10 ppm. Rychlost stanovení přesné hmotnosti 1 stanovení za minutu, případně i vyšší byla z praktického hlediska vynikající. Použití vysokého rozlišení s přesným stanovením hmotností iontů znamenalo zcela revoluční a jednodušší přístup při řešení otázky složení a struktury jednotlivých iontů. Často mě navštěvoval Dr. Hanuš v případech, kdy potřeboval jednoznačné potvrzení složení a struktury iontů při řešení strukturních problémů složení iontů. Zde jsem vždy obdivoval jeho neomylnost v návrzích, se kterými přicházel. On byl pak přímo nadšen možnostmi vysokého rozlišení a bylo to pro něho i důležitým podnětem k pozdějšímu pořízení jeho vlastního přístroje s vysokým rozlišením.

Přístroj MS-902 umožňoval i snímání spekter metastabilních iontů ke zvolenému iontu mateřskému metodou defokusace. V tomto případě bylo magnetické pole nastaveno na fokusaci zvoleného mateřského iontu při nižším akcelerujícím napětí, zpravidla při polovičním, tj. 4 kV a skenováním akcelerujícího napětí do maximální hodnoty 8 kV byla získávána spektra metastabilních iontů.

Standardním vybavením byl zdroj s elektronovou ionizací. Ve snaze navázat na zkušenosti s ionizací polem, které jsem získal na Univerzitě v Kolíně nad Rýnem, byl přiohledněn k přístroji též kombinovaný zdroj s ionizací elektronovou a ionizací polem EI/FI. Na rozdíl od přístroje MAT CH4 emitory iontů zde byly bříty připravené ze žiletek na holení fy. Willkinson, jež byly speciálně upravené. Jejich cena byla poměrně vysoká. Při ionizaci polem bylo na emitory aplikováno separátním zdrojem dodatečné napětí -4 kV, takže celkové jejich napětí vůči ionizační komůrce při potenciálu akcelerujícího napětí (8kV) bylo 12 kV. Bříty bylo nutné aktivovat v parách acetonu při tlaku 10^{-5} torru po dobu asi 12 hodin při postupně se zvyšujícím napětí od 6 kV až na maximálních 12 kV. Během aktivace se zvýšil signál molekulárního iontu acetonu m/z 58 o více než 2 řády. Napadlo mě vyzkoušet místo břitů Willkinson bříty připravené z běžných žiletek ASTRA československé výroby, jež byly běžně dostupné v obchodech. Ty však již pouhým svým vzhledem byly velmi odlišné od dodávaných emitortů Willkinson. Ochrana před korozí těchto žiletek byla pomocí silné vrstvy vaseliny. Bříty jsem pečlivě před vlastní aktivací umyl v ace-

tonu, dalších rozpouštědlech a opakovaně v acetonu, abych je zbavil tuků. Ani mě moc nepřekvapilo při takto zjednodušeném přístupu, že po zahájení aktivace v acetonu jsem nebyl schopen najít vůbec žádné molekulární ionty acetonu a ani žádné jiné ionty v oblasti do m/z 100. Tím jsem považoval takový pokus za nezdařený. Nedalo se nic dělat, výrobce asi dobře věděl, proč pečlivě vybírat materiál pro emitoru. Navíc jsem měl podezření, že asi v důsledku elektrického výboje došlo k poškození elektrického obvodu pro monitorování celkového iontového proudu. Ručička miliampérmetru na výstupu zesilovače monitoru celkového iontového proudu byla od počátku aktivace zaseknutá na konci škály při všech jeho měřících rozsazích. Snažil jsem se usilovně po 2 dny závadu zesilovače najít a odstranit, ale bez sebelepšího úspěchu. Všechny elektrické obvody zesilovače se jevily být v pořádku. Náhle jsem nedopatřením zapnul magnetický sken, jehož počáteční hodnota byla nastavena někde v oblasti m/z 1000 a k mému velkému překvapení oscilografický zapisovač visicorder začal v oblasti m/z 400 – 700 zapisovat velice intenzivní spektra molekulárních iontů uhlovodíků z konzervačních antikoročních mazadel. Nebýt asi rok staré publikace Beckeye o ionizaci desorbci polem, byl by to asi významný objev ionizace v pevné fázi tedy desorpce polem. Iontový proud byl velice stálý a zůstával konstantní po dobu několika dnů, než byl přerušen náhlým elektrickým výbojem. Experiment se mi pak již nepodařilo zopakovat.

V ÚMCH jsem obstarával jednak servis pro syntetické chemiky, jednak jsem se zabýval analýzami degradačních produktů některých polymerů a snažil jsem se najít čas pro experimenty s ionizací polem, metoda mne zaujala už při mém působení na Univerzitě v Kolíně nad Rýnem. Práce s brity však nebyla tak jednoduchá jako s emitory platinovými předpřipravenými z Wollastonových drátků. Ve spolupráci s ing. Kurašem z katedry paliv VŠCHT jsme začali zkoumat, chování jednoduchých uhlovodíků počínaje alkany, alkeny, alkyny až po jednoduché uhlovodíky aromatické. Naším cílem bylo vyvinout jednoduchou metodu kvantitativního nebo alespoň semikvantitativního stanovení uhlovodíků v nižších ropných frakcích. Zjistili jsme, že ionizační účinnost se značně mění s rostoucí délkou řetězce zejména u alkanů a že účinnost ionizace jednotlivých uhlovodíků ve směsích se značně

liši od ionizační účinnosti uhlovodíků individuálních v čistém stavu. Toto původní zjištění v nás vyvolalo velké pochybnosti, zdali bude ionizace polem pro kvantitativní složení uhlovodíkových směsí vůbec použitelná. Nejvyšší ionizační průřez se ukázal u benzenu a obávali jsme se, že vzhledem ke značně nižší citlivosti ostatních, zejména alkanů, nebudeme moci tyto ve směsi s benzenem či jinými aromatickými uhlovodíky vůbec spolehlivě detegovat, natož kvantitativně stanovit. K našemu překvapení však v přítomnosti benzenu ionizační účinnost alkanů, ale i alkenů se několikanásobně zvýšila. Navíc při dostatečném množství benzenu ve směsi se i vyrovnaly ionizační průřezy jednotlivých alkanů tak, že se prakticky s rostoucí délkou řetězce vůbec neměnily. Toto zjištění bylo pro nás natolik významné, že jsme navrhli metodu kvantitativního stanovení alkanů a alkenů s přidávkou asi 30% benzenu do jejich směsí. Za těchto podmínek iontové výtěžky byly prakticky nezávislé na délce uhlíkového řetězce všech sledovaných uhlovodíků alkanů, alkenů i alkenů. Již toto zjištění v nás vyvolalo pochybnosti o dosavadní teorii monomolekulárního mechanismu ionizace polem v plynné fázi.

Potvrzením těchto pochybností pak bylo zjištění významného ovlivnění ionizace alkanů v přítomnosti alkenů. Po tomto zjištění jsme sledovali ionizaci polem binárních směsí n-dekanu v přítomnosti 1-oktynu a to jednak n-dekanu lehkého, jednak $n\text{-C}_{10}\text{H}_{22}$ t.j. perdeuterovaného n-dekanu. Při těchto pokusech byl pozorován vznik velice intenzivních píků iontů $[\text{C}_{10}\text{H}_{21}]^+$, tj. $[\text{M}-1]^+$, v případě perdeuterovaného dekanu $[\text{M}-2]^+$, které v nepřítomnosti oktynu prakticky nebyly přítomné. V přítomnosti 30% alkeny dosahovala intenzita píků těchto fragmentů intenzitu molekulárních iontů, případně i vyšší. Dalším významným pozorováním byl vznik poměrně intenzivně zastoupených fragmentů ethylových iontů n-dekanu. V případě perdeuterovaného n-dekanu však kromě fragmentů $\text{C}_{22}\text{H}_5^+$ vznikaly neméně intenzivní $\text{C}_{22}\text{H}_4\text{H}^+$ a $\text{C}_{22}\text{H}_3\text{H}_2^+$, tedy jednoznačný důkaz o složitějším bimolekulárním mechanismu ionizace polem.

V ÚMCH pracoval jako technik pan Slaviček, který dálkově studoval zoologii na Přírodovědecké fakultě UK. Tématem jeho diplomové práce bylo sledování kontaminace hrabošů a jejich jater, ledvin, svalů a tuků DDT. Bylo to krátce poté co výroba DDT byla zakázána pro

jeho karcinogenní vlastnosti. Pod vedením mého kolegy, velmi zkušeného chemika ing. Karla Bouchala diplomant Slavíček syntetizoval deuteriem značené DDT, které jsme pak použili jako vnitřní analytický standard. Po přidání vnitřního standardu do extraktů jednotlivých orgánů hrabošů při rozlišovací schopnosti přístroje 10000 s použitím jednotky peak matching jsme úspěšně měřili obsah DDT nejen v jednotlivých orgánech hrabošů, ale v půdách v jednotlivých oblastech v Čechách. Extrakty orgánů hrabošů a půd z různých oblastí Čech byly analyzovány přímo po odpaření rozpouštědla (hexanu) rychlým náněvem přímého vstupu. Myslím, že se jednalo o první kvantitativní stanovení pomocí hmotnostní spektrometrie metodou izotopického zředění v zemích východní Evropy. Díky vysokému rozlišení a značnému negativnímu hmotnostnímu defektu molekulárního iontu DDT bylo možné DDT kvantifikovat bez předběžného přečistění extraktu a bez chromatografické separace. Bylo to možné i díky vysoké kontaminaci DDT prakticky všeho na celé zeměkouli. Následkem milionů tun DDT, které byly na celém světě po 2. světové válce vyrobeny a aplikovány jako insekticid především v zemědělství mohlo být DDT detegováno prakticky všude, dle některých údajů i v ledovcích na severním pólu. Díky mimořádné rezistenci vůči degradaci se s tímto dědictvím střetáváme v environmentální analýze dodnes, i když samozřejmě na mnohem menší úrovni. Naše výsledky byly přímo šokující. Nebylo možné najít prakticky nikde půdu nebo obilí prosté DDT.

V ÚMCH jsem prováděl též servis pro syntetické chemiky, kteří byli zvyklí obracet se na mne s otázkou přítomnosti žádaného produktu syntézy přímo s reakčními směsmi po provedení reakce. Díky vysokému rozlišení a elementárnímu stanovení molekulárních iontů na základě jejich přesné hmotnosti to bylo možné a většinou jednoznačné okamžitě po ukončení syntézy ať již meziproductu či produktu konečného. Pro syntetické chemiky bylo takové zjištění velice cenné a těchto služeb si velice vážili.

Samozřejmě určování produktů degradace polymerů bylo neodmyslitelnou činností.

V ÚMCH jsem v druhé polovině sedmdesátých let prováděl analýzy na základě smlouvy též pro Výzkumný ústav pro farmacii a bio-

chemii (VÚFB), který hmotnostní spektrometr nevladnil a musel řešit řadu problémů, bez hmotnostní spektrometrie prakticky neřešitelných. Ať již se jednalo o stanovení struktury produktů syntézy, či o stanovení struktury metabolitů po jejich izolaci z biologických materiálů. Postupně jsem si připravoval ve VÚFB půdu pro změnu svého působení. V ÚMCH byly podmínky po odvolání profesora Wichterleho z funkce ředitele, a poté co řada z nás byla označována za kontrarevolucionáře neúnosné.

Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii - můj čtvrtý milník

Prvního ledna 1978 jsem na plný úvazek zahájil svoji činnost ve VÚFB. Hmotnostní spektrometr ústav sice nevladnil, ale v tu dobu byly již objednány 2 přístroje: sovětský MCH 1320 na oddělení fyzikální chemie a GC/MS Varian MAT 44S na oddělení farmakokinetiky. Zpočátku mi tato politika ústavu nebyla jasná a tohoto rozdělení jsem se obával. Později jsem se dozvěděl, že pro zakoupení a získání peněžních prostředků na přístroj západní proveniencí MAT 44S bylo politicky nezbytné zakoupení též přístroje sovětského. Získání finančních prostředků na sovětský přístroj nebylo, na rozdíl od získání západní valuty problémem a podnik zahraničního obchodu KOVO si tím zlepšil u vlády politický profil a důvěryhodnost. Obě oddělení však organizačně spadala do farmaceuticko-analytické sekce, jejíž vedoucí Dr. Kakáč a zejména pak ředitel Dr. Němeček se zasloužili o to, že politicky neúnosná osobnost v podobě mé maličkosti mohla změnit proti vůli některých soudruhů v ÚMCH své působíště. Mnozí včetně mě samotného to v té době považovali prakticky za naprosto nemožné. Díky statečnosti a autoritě Dr. Němečka se nemožné stalo skutkem. Dnes se toto mé líčení bude jevit pro řadu čtenatelů těchto řádků, zejména těch mladších, nepochopitelné a irelevantní. Taková však byla doba a pro mne význam nového působíště ve VÚFB byl nejen v tom, že jsem tam našel důležitý a potřebný politický azyl, ale zejména v tom, že významně ovlivnilo i celou moji další životní dráhu a kariéru v oboru hmotnostní spektrometrie, včetně pozdějšího rozhodnutí založit vlastní firmu. VÚFB ve srovnání s ÚMCH byl v tomto ohledu politickou

oázou klidu, pro mne tolik nezbytnou pro vědeckou a odbornou činnost. Ukázalo se, že i dislokace obou přístrojů ve 2 odděleních bylo dosti formální. Ve VÚFB jsem našel významného spolupracovníka a kolegu ing. Ivana Korunu a myslím, že jsme se oba vzájemně synergicky velmi ovlivňovali a výsledkem byla velice plodná tvůrčí spolupráce ne-li přímá součinnost po dobu 11 let až do listopadové revoluce 1989. Rád na toto období vzájemné spolupráce vzpomínám.

Sovětský MCH 1320 byl nově vyvinutý sektorový přístroj s geometrií Niera-Johnsona. V té době však byl jasnou ilustrací značného zastávání sovětské technologie a produkce hmotnostních spektrometrů za Západem. Zdaleka nedosahoval úrovně o více než generaci staršího MS 902, který byl v ÚMCH. Nedosahoval jeho úrovně nejen v rozlišení, ale především ve snadnosti ovládnání a při praktických měřeních. Snad pouze elektronika byla modernější (tranzistorová), ale absolutně nesrovnatelná s novější generací přístrojů západní provenience. Říkali jsme mu Aljoša. MAT 44S německé provenience pak dostal jméno Berta. MAT 44S byl kvadrupólový GC/MS systém nižší střední kategorie s plynovým chromatogramem VARIAN a vlastním malým počítačem (64 kB vnitřní paměť) jako řídicí jednotkou. Chromatografické kolony plněné se připojovaly pomocí otevřeného spojení ke vstupu iontového zdroje pomocí tenké vyhřívané platinové kapiláry. Spektra byla v průběhu analýzy zapisována rychlostí 1 spektrum/sec na disketu o průměru 10", s kapacitou maximálně 52 spekter se záznamy podmínek analýzy. Z diskety byla spektra přepisována na papír formátu A3 x/y souřadnicovým zapisovačem. Dalším pro nás velice cenným vstupem byl vyhřívaný přímý vstup. Do výhřevné elektrické spirálky se vzorky vkládaly v miniaturních hliníkových tyglících. Iontový zdroj byl kombinovaný EI/CI. I když teoreticky mechanicky ovládané přepínání mezi režimy EI a CI mohlo být prováděno v průběhu jedné analýzy, prakticky to nebylo příliš vhodné a používané. Chemická ionizace byla možná jak v pozitivním, tak i negativním módu. Dá se říci, že jsme byli první, kdo rutinně používali chemickou ionizaci při analýzách a dosahovali jsme její pomocí i dobrých výsledků. Často jsme měřili spektra chemické ionizace i Dr. Hanušovi, kterého jsme jako konzervativního zastávce čistě monomolekulárních ionizačních mechanismů přesvědčili o užitečnosti tohoto, pro něho velmi nestan-

dardního a zpočátku jím i zpochybňovaného způsobu nemonomolekulárního způsobu ionizace.

Kromě běžného servisu chemikům z oddělení syntézy jsme se zabývali převážně stanovením struktury metabolitů léčiv. Identifikace metabolitů ve složitých extraktech krve a zvláště moči nebylo často jednoduché, uvědomíme-li si, že vzhledem k nízké kapacitě disket nebylo možné zapisovat spektra všech látek v průběhu GC/MS analýzy. Vyvinuli jsme a používali metodu umělého vytváření izotopických klastrů tím, že zvířeti v případě studia metabolitů na zvířatech byla experimentálně podána směs léčiva a jeho analogu obsahujícího např. 3 atomy deuteria v poměru 1:1. Analýza byla vizuálně sledována na monitoru a objevila-li se látka obsahující klastr iontů v poměru 1:1 s rozdílem hmotností 3 m.u., pak pouze tato spektra jsme zapisovali na disketu.

Vysoké (vlastně středně vysoké) rozlišení s přesným stanovením hmotností iontů (ne lepší než 10 ppm) s pomocí Aljoši jsme používali jen doplňkově v případě skutečně naléhavé potřeby. Jak jsem se již zmínil, nebylo to zdaleka tak jednoduché a jednoznačné jako na MS902.

Po celou dobu mého působení ve VÚFB jsem usiloval a snažil jsem se přesvědčit své vedoucí o nutnosti zakoupení přístroje vyšší kategorie, než byl MAT 44S, nemluvě o Aljošovi. V tomto směru jsem však neuspěl. Vyžadovalo to získat pro tento záměr vlivný politický tlak. V případě mé osoby to bylo vyloučené a podporu ostatních jsem nezískal, neboť v tomto směru VÚFB nebyl natolik agilní jako vedení jiných ústavů. Nikdy jsem se této myšlenky nevzdal a podařilo se mi ji postupně realizovat až po založení vlastní soukromé firmy (viz níže).

Odborná skupina hmotnostní spektrometrie a ostatní činnost v oboru

VÚFB mně umožňoval též cestovat do zahraničí, pokud jsem na takovou cestu neměl žádné finanční požadavky. Pro dnešní čitatele těchto řádek, zejména pro mladé jsou tyto řádky nepochopitelné a patrně nudné. Považuji však přesto se o tom zmínit. Cestování do

zahraničí, zejména na Západ však bylo v ÚMCH vzhledem k mému zařazení jako osoby nežádoucí z hlediska politického naprosto nemyšlitelné. Ve VÚFB mi též nebylo bráněno v ostatních aktivitách. Ještě jako zaměstnanec ÚMCH jsem se po Dr. Hermanovi stal vedoucím skupiny odborné skupiny hmotnostní spektrometrie Československé spektroskopické společnosti J. M. Marci. Odborná skupina hmotnostní spektrometrie byla v rámci společnosti početně jedna z nejmenších. Celkový počet hmotnostních spektrometrů a tudíž samotných pracovišť hmotnostní spektrometrie v celém tehdejší Československu nedosahoval ani čísla 10. Odborná skupina hmotnostní spektrometrie nepořádala žádné vlastní kurzy, semináře či školy jako je tomu dnes. Na našem tradičním pionýrském pracovišti v oboru v Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského zůstal činný v oboru klasické organické hmotnostně spektrometrické analýzy prakticky pouze Dr. Hanuš a jeho žák Dr. Tureček, Dr. Čermák a jeho žák Dr. Herman se věnovali procesům bimolekulárních ionizačních reakcí, kde oba dosáhli vynikajících výsledků a stali se renomovanými světovými vědeckými kapacitami: Dr. Čermák v oblasti Penningové ionizace molekulami plynů (helium) ve vzbuzeném stavu, Dr. Herman pak v topologii reakcí ion-molekula. Jako vedoucí odborné skupiny hmotnostní spektrometrie jsem byl jmenován do Mezinárodního vědeckého výboru mezinárodních hmotnostně spektrometrických konferencí (International Mass Spectrometry Conference). Stanovy, složení a náplň činnosti tohoto výboru byly dílem prof. Beynona, vůdčí osobnosti nejen evropské hmotnostně spektrometrické komunity. V r. 1985 jsem se zúčastnil jako představitel skupiny československé hmotnostní spektrometrie 10. Mezinárodní hmotnostně spektrometrické konference ve Swansea. Díky finanční podpoře prof. Beynona jsme se mohli zúčastnit dva: já spolu s kolegou ing. Korunou, když od VÚFB i jiných organizací doma jsme žádnou finanční podporu nezískali. Legální výměna vlastních úspor na západní měnu, což bychom i přivítali, nebyla v té době prakticky možná. Dávno před zahájením konference jsem vynaložil obrovské úsilí, abych získal podporu k účasti na této konferenci pro ostatní členy málo početné odborné skupiny hmotnostní spektrometrie Československé spektroskopické společnosti J. M. Marci. Žádal jsem písemně dokonce předsedu tehdejší SK VTIR (Státní komise pro

vědeckotechnický a investiční rozvoj) Obzinu, který v té době byl též ministrem vnitra a tedy politicky velmi vlivnou osobností. Bohužel můj pokus byl neúspěšný. Žádost jsem opakoval o 3 roky později pro účast na 11. Mezinárodní hmotnostně spektrometrické konferenci v Bordeaux. Bohužel opět marně. Neměl a nezískal jsem zřejmě k mé minulosti působení ve Wichterleho ústavu žádnou politickou podporu. Konference jsme se opět zúčastnili s kolegou Korunou. Finanční podpora, kterou jsem od místních organizátorů získal, stačila nám oběma ke skromnému ubytování a ještě skromnějšímu stravování během konference. Snil jsem o tom, aby jednou byla některá z příštích těchto konferencí v Praze. Věděl jsem, že tehdy to byla ještě naprostá utopie. Společnými silami se nám, zástupcům zemí východního bloku, podařilo alespoň prosadit v tajném hlasování rozhodnutí o konání 13. Mezinárodní konference v Budapešti a podpořit tak našeho maďarského kolegu, přítele dr. Hanuše Dr. Cornidese. Sen o konferenci v Praze se podařilo uskutečnit až v r. 2006 mému nástupci, mému prvnímu doktorandovi ing. Vladimíru Havlíčkovi.

Mezinárodní kontakty mi však významně pomohly k získání pomoci zahraničních kolegů při organizaci menších akcí u nás. V r. 1985 jsem s významnou pomocí kolegy Koruny zorganizoval 1. Školu hmotnostní spektrometrie v rekreačním středisku Elektropragy Hlinsko Dlouhý. Jako lektory jsme pro školu získali prakticky všechny kdo aktivně tehdy ve hmotnostní spektrometrii působili a měli na svém pracovišti hmotnostní spektrometr, včele s Dr. Hanušem, Dr. Turečkem a dalšími. Celkový počet účastníků školy byl asi 23, když téměř polovina byli lektori. Program školy byl velmi obšírný, přednášelo se a diskutovalo od časného rána do pozdního večera. Přednášky byly publikovány ve zvláštním vydání Bulletinu Československé spektroskopické společnosti.

Další škola hmotnostní spektrometrie se konala v Klučenicích na Orlické přehradě a jako lektori byla pozvána celá řada zahraničních hmotnostních spektrometristů: Prof. Gelpi, Prof. Przybylski, Prof. Schmid, Dr. Bruins, Prof. Dube. Stále více významných osobností jsme zvali na přednášky, semináře. O československé skupině hmotnostní spektrometrie se postupně více a více vědělo v zahraničí. Dá se říci, že naše skupina hmotnostní spektrometrie byla nejaktivnější ze všech skupin východoevropských zemí.

Odměnou bylo snad i to, že jsem se postupně stal evropským editorem dvou nejvýznamnějších světových časopisů: *International Journal of Mass Spectrometry* a *Rapid Communications in Mass Spectrometry*.

Hmotnostní spektrometrie v soukromé společnosti QUINTA-ANALYTICA, s.r.o. – závěr

Po listopadové revoluci po r. 1989 nebyla situace VÚFB jednoduchá. Ústav, který v minulosti sloužil jako výzkumný ústav pro všechny podniky tehdejší SPOFy, (SPOFA sjednocovala veškerý farmaceutický průmysl Československa včetně výzkumu do jednoho společného koncernu), se dostal do situace, kdy řada farmaceutických podniků zanikla a ty, které zůstaly, neprojevovaly o výzkum sebemenší zájem. Sama struktura VÚFB byla ve světě ojedinělá a svým způsobem jedinečná díky tomu, že zahrnovala výzkum léčiv ve všech fázích jejich vývoje. Jedinečná struktura ústavu byla do budoucna dobrým předpokladem úspěšného pokračování za předpokladu, že se podaří překonat krizové období několika let po r. 1989 či najít významnějšího strategického partnera. Obrovský majetek ústavu, zejména nemovitostí v Praze i mimo Prahu se však ve fázích intenzivní tzv. privatizace ukázal být spíše nevýhodou a hlavním objektem zájemců o privatizaci významného a v minulosti úspěšného výzkumného ústavu, než o výzkum sám. V této nejisté fázi historie ústavu jsem se pokusil již jako vedoucí analytického oddělení pozvednout jeho prestiž zavedením masivnějšího nasazení analytiky v oblasti klinického zkoušení léků, zejména při tzv. bioekvivalenčních studiích. Průlomem byla první studie, kterou však nebylo možné uskutečnit bez získání nového GC/MS systému. Podařilo se mi přesvědčit ředitele ústavu ing. Dohnala a prosadit v r. 1994 zakoupení GC/MS přístroje firmy Finnigan ITD s analyzátozem na principu iontové pasti. Pokud se nemýlím, byla to první iontová past v Československu a přes svoji tehdejší nedokonalost ve srovnání s pastmi dnešními, se pomocí tohoto přístroje podařilo úspěšně vyřešit první projekt tohoto druhu, což bylo předpokladem pro získání projektů nových. Analytické oddělení se tak rychle stalo nejúspěšnějším oddělením ústavu z hlediska ekonomického s velmi pozitivními výsledky.

Nicméně koncem roku 1996 bylo více než jasné, že dny VÚFB jsou sečteny. Bylo mi líto započatého celkem úspěšného díla a vedení snahou zachovat kontinuitu činnosti a zachránit práci alespoň pro 20 analytiků, oslovil jsem 3 kolegy, analytické chemiky svého oddělení a založili jsme vlastní soukromou společnost QUINTA-ANALYTICA, s.r.o. V pronajatých prostorách Polikliniky Litochleby jsme mohli bez nepřekonatelných problémů díky na základě předchozího úspěchu zajištěnému marketingu a díky obětavosti a nasazení všech pokračovat v dosavadní činnosti v oblasti analytiky při klinickém zkoušení léků. Prvním přístrojem, který jsme pro tyto účely na leasing pořídili byl GC/MS systém Finnigan MAT GCQ v r. 1997. O rok později pak první LC/MS Finnigan MAT LCQ a postupně pak další. Firma dosáhla významných úspěchů ve vývoji a komerčním využití analytických metod ve farmacii obecně. Díky těmto úspěchům jsme vybudovali a v r. 2006 zprovoznili areál QUINTA-ANALYTICA celkovým nákladem 250 mil. Kč, který tvoří 2 budovy s celkovou plochou laboratoří více než 8000 m².

Laboratoř hmotnostní spektrometrie je jen malou, ale o to významnější částí tohoto komplexu. V současné době má firma 1 GC/MS systém, 6 trojitých kvadrupólů LC/MS/MS, 1 lineární past LTQ Finnigan, 1 QTOF a 1 nejnovější Orbitrap Elite. Laboratoř hmotnostní spektrometrie společnosti QUINTA-ANALYTICA s.r.o. se tak řadí mezi nejlépe vybavené laboratoře nejen v České republice, ale i v Evropě. Pomocí trojitých kvadrupólů je prováděno ročně více než 100000 kvantitativních stanovení léčiv a jejich metabolitů v biologických materiálech, zejména v krevní plazmě. Nikdy dříve jsem si neuměl představit nepřetržitý 24 hodinový zcela automatický provoz tolika přístrojů současně. V době mého působení v ÚMCH nebo ve VÚFB bych takovou prognózu vývoje oboru hmotnostní spektrometrie považoval za ryzí utopii. Můj sen vlastnit a být soběstačný v moderních přístrojích, bez domáhání se podpory u nadřízených či dokonce u politiků se mi tak splnil. Bohužel povinnosti a úlohy spojené s vedením firmy a zajištěním marketingu jako nejdůležitějšího předpokladu pro zdárný chod firmy mě postupně zcela odloučily od mého oblíbeného oboru, se kterým jsem byl životně spjat. Pozorování mladších spolupracovníků a jejich výsledky ve mně však vyvolávají nejen pocity

sebeuspokojení a zadostiučinění za křivdy minulosti, ale i pocity jisté hrdosti nejen na přístrojové vybavení firmy, ale především na kolektiv pracovníků a kolegů, jejichž přičiněním se můj celoživotní sen stal skutkem.

7. VLADIMÍR KOVÁČIK

HISTÓRIA HMOTNOSTNEJ SPEKTROMETRIE V SLOVENSKEJ AKADÉMII VIED.



Nar. 28.1.1938 v Turzovke. Po absolvovaní základnej školy študoval na Priemyselnej škole celulóžno-papiernickej v Ružomberku. Po maturite bol prijatý na Chemickú fakultu SVŠT, zvolil si odbor chémie dreva, celulózy a papiera v Bratislave. Po ukončení s červenným indexom bol vybraný za interného ašpiranta Chemického ústavu SAV. Ústavu venoval celoživotnú prácu i ďalšie študijné aktivity cez ašpiranta CSc po doktora chemických vied DrSc, ktoré obhajoval na Ústave organickej chémie ČSAV v Prahe. Od roku 1964 sa venoval hmotnostnej spektrometrii. Jeho doménou bolo štúdium sacharidov v rôznych formách, publikoval 120 pôvodných vedeckých prác. Zúčastnil sa Alexander von Humboldt Stiftung Nadácie, študijných pobytov na Akademii Nauk ZSSR, Univerzít v Hamburgu, Bielefelde, National Institute of Health v Bethesde i na Univerzite v Utrechte. V rámci vedeckých konferencií prezentoval asi 120 výsledky ústavu alebo medzinárodnej spolupráce. Od r. 2008 je v dôchodku.

Hmotnostná spektrometria ako prostriedok k stanoveniu štruktúry organických zlúčenín a ich častí bola využívaná už v začiatkoch šesťdesiatych rokov minulého storočia. V tomto období niektorí naši vedeckí pracovníci začali študovať výhody a využitie metódy hmotnostnej spektrometrie a prípadne dávali si merať hmotnostné spektrá študovaných organických zlúčenín vo vyspelejších pracoviskách v zahraničí. Táto metóda sa uplatňuje v analýze rôznorodých organických látok, v izotopickej analýze plynov a tuhých anorganických látok. Postupne na Chemickom ústave SAV, kde boli najviac sústreďení pracovníci v organickej chémii a bioorganických odvetviach, začali rozprávať o zakúpení vlastného organického hmotnostného spektrometra a vyškolení pracovníka (-ov). Vedením kolektívu bol poverený doktorant V.Kováčik, ašpirantúru robil i J. Leško z Chemickej fakulty STU.

Vedenie Chemického ústavu SAV poverilo V.Kováčika absolvovaním trojmesačného študijného pobytu na Institute prirodnych sojedinenij Akademii nauk ZSSR v Moskve. Na tomto ústave sa nachádzalo školiace pracovisko hmotnostnej spektrometrie pod vedením profesora a dvoch skúsených asistentov. Počas môjho pobytu sa školení zúčastňovalo asi 20 ašpirantov nielen z rôznych ústavov Akadémie Nauk ZSSR, napr. aj z Novosibirska a okrem mňa i dvaja Indovia. Prekvapilo ma prísne štúdium literatúry z hmotnostnej spektrometrie pod heslom „Djerassi ne spit!“ i praktických cvičení z meraní i interpretácie hmotnostných spektier. Merania sa cvičili na prototypoch, vyvinutých v AN ZSSR. Po nameraní spektra na 8 mm film sa tento vyvolal, ustálil a po vypraní sušil zavesený na prádlovej šnúre. Z absolventov rokmi vyrástli známi vedeckí pracovníci, odborníci z hmotnostne spektrometrickej analýzy, včetně profesora a akademika.

Úsilie CHÚ získať vlastný prístroj prinieslo úspech v r. 1964, kedy sa začalo s inštaláciou hmotnostného spektrometra. Keďže nákup bol v období provýchodnej politiky, zakúpil sa sovietsky prístroj MCh 1306, výrobok Specialno konstrukcionno byra Akademii Nauk ZSSR. Pre porovnanie s novšími prístrojmi, bol dlhý asi 2,5 m, o váhe cca 3t. Bol pôvodne vyrobený pre analýzu ropy a ropných produktov, mal objemný zavádzací systém prostredníctvom ampúl a tzv. ampulolamately. Nakoľko my sme chceli pracovať s pevnými látkami v zdroji iónov, vyradili sme komerčný systém a vymysleli sme systém záva-

dzania vzorky priamo do zdroja iónov. Keďže bolo možné inštalovať systém iba nad zdroj iónov, vznikol takto unikátny vertikálny systém, ktorý nemá analógiu v žiadnych hmotnostných spektrometroch. Prednú časť tvoril tzv. MS systém, zdroj iónov s magnetickým analyzátorom ťažkým asi 1000 kg. Dvojstupňový vákuový systém tvorili rotačné čerpadlá a difúzne čerpadlá, plnené ortuťou. Difúzne čerpadlá chladené vodou, boli uzatvárané tzv. lovuškami, ktoré bolo potrebné pravidelne naplňať tekutým dusíkom. Tento bol príležitostne využívaný na prípravu „vodky po mass spektrometrijsky“ (voda + alkohol + tekutý dusík) pri návšteve ruských konštruktérov. Analytickú časť bolo potrebné niekoľko hodín vyhrievať. Produktivita spektrometra vyrástla na 2-4 spektrá za 24 hodín, pričom neraz bolo potrebné pracovať v dvoch smenách. Tretiu časť prístroja tvoril zapisovač na báze vymeniteľných ozubených koliesok. Záznam MS tvoril pás dlhý 2 - 2,5 m, široký 30 cm, vhodný na uloženie na zemi, s nasledujúcou kalibráciou pomocou pravítka a vyhodnotenie spektier logaritmickým pravítkom.

Prístroj bol využívaný pri štúdiu fragmentácie po úderoch elektrónov derivátov sacharidov. V našom laboratóriu boli študované deriváty sacharidov, prvý raz hlavne deriváty urónových kyselín, metyl ester metyl glykozidov urónových kyselín, aldobiurónových kyselín, aldotriurónových kyselín ako i acetylovaných aldobi- a triurónových kyselín, majúcich 4-O-metyl-D-glukurónovú kyselinu ako kyslý komponent. Vďaka rozdielom hmotností a relatívnych intenzít bolo možné identifikovať jednotlivé jednotky oligomérov. Takmer všetky deriváty sacharidov a ich konjugátov syntetizoval P. Kováč, náš doktorant a od r. 1982 DrSc. vedecký pracovník National Institute of Health, v Bethesda USA. Deriváty často syntetizoval podľa našich požiadaviek novými často mnohostupňovými postupmi. Naša spolupráca prebiehala komplexne od prípravu projektu, po korekcie pri príprave publikácií. Do r. 1989 sme používali rôzne formy komunikácie, pomoc nám priniesol rozvoj internetu.

Uvedené príklady z merania a interpretácie elektrónových MS, získané na prístroji MCh 1306 svedčia, že oblasti štúdia zahŕňali výskumné úlohy Chemického ústavu SAV. Rovnako i v ďalších štúdiách zahŕňajú prevážne projekty domáceho pracoviska. Výsledky boli využité napr k identifikácii metyl O-metyl-D-xylofuranozidov pomo-

cou MS, MS stanoveniu β - eliminačných produktov vyskytujúcich sa pri metylačnej analýze glykokonjugátov, napr. furylidénderivátov sacharidov, S-obsahujúcich derivátov sacharidov, metyl glukopyranozid uronamidov, štúdium β -eliminačných reakcií derivátov metyl 3,4-O-izopropyliden- β -D-galakturonatov, monosacharid hydrazónov monosacharidov, fragmentáciu metylderivátov metyl-4-deoxy- β -L-treo-hex-4-enopyranozid urónových kyselín ako i identifikáciu metyl O-acetyl-hexopyranozid uronátov, identifikáciu plne metylovaných aldobiurónových a pseudoaldobiurónových kyselín a mnoho iných podobných derivátov. Pritom sme zistili, že v prípade monomerických derivátov a ich β -eliminačných produktov, rovnako per-O-metylovaných aldobiurónových a pseudoaldobiurónových kyselín, rovnako ako ich 4,5-nenasýtených analogov, nízkoenergetické 12 eV spektrá sú značne jednoduchšie ako konvenčné 70 eV spektrá. Navyše, štruktúrne signifikantné píky sú výraznejšie v nízkoenergetických spektrách, zatiaľ čo píky, vznikajúce sekundárnymi a vyššími štípeniami sú nižkej intenzity. Z tohoto dôvodu sme prešli pri meraní MS na energiu 12 eV.

Originálne štúdiá poskytli aj modelové látky lignínu. Rozkladné lignínové látky majú fenolický charakter a sú vynikajúco využiteľné v meraní konvenčných i nízkoenergetických 12 eV hmotnostných spektier. Štúdiá monomérnych a oligomérnych fenylpropánových jednotiek sú využiteľné k stanoveniu štruktúry a spôsobu väzieb medzi stavebnými jednotkami lignínu. Elektrónové spektrá boli tiež užitočne využité i pri štúdiu štruktúry alkaloidov z *Vinca minor* L. Pri ich štúdiu boli užitočne využité spektrá deutero analógov eburnaminových alkaloidov.

S prístrojom MCh1306 sme zažili ešte jednu doteraz utajenú „príhodu“. V prvej polovici sedemdesiatych rokov sa objavila ionizácia vysokým poľom FI. Máloskúsení členovia nášho tímu sme sa rozhodli náš prístroj MCh 1306 prebudovať na FI techniku. Zapožičali sme si 24 kV zdroj vysokého napätia a pozapájali na prívodný kábel k zdroju iónov. Po zapnutí ovládli prístroj prudké blesky. Našťastie sa nikomu nič nestalo a prístroj sme dali do pôvodného stavu.

Prístroj MCh 1306 ukončil svoju činnosť na CHÚ SAV v r. 1979. V tomto roku sme zakúpili JGC -D 100 K (JEOL), hmotnostný spekt-

rometer kombinovaný s plynovým chromatografom JGC 20K s plne nou kolonou OV-17. Ako plynový nosič sa používalo helium. Prístroj mal prídavné zariadenie na meranie metastabilných prechodov MS-MT-01. Pred plynový chromatograf mohol byť pripojený pyrolyzér s voliteľnou teplotou pyrolýzy alebo spaľovania až do 2000 °C. Vzniklá kombinácia Pyr-GC/MS umožňuje sledovať priebeh technologických procesov alebo ich environmentálne dôsledky. Súčasné využívanie plynových chromatogramov a nízkovoltových elektrónových a chemicko-ionizačných hmotnostných spektier s eventuálnou pomocou meraní metastabilných prechodov urýchlilo riešenie štruktúr organických zlúčenín. Konkrétne príklady: Hmotnostná spektrometria lignínových modelových látok, určovanie štruktúry dimérov. Kinetika a mechanizmus kyselinami-katalyzovaných reakcií metylovaných trióz. Štrukturálna MS analýza oligosacharidov obsahujúcich 6-deoxyhexózy a príspevok k sekvenčnej analýze oligosacharidov. Štúdie štruktúry polysacharidov z *Populus alba*, izolácia a charakterizácia xyloglukánov. Identifikácia metyl-O-trifluoracetyl β -D-xylopyranozidov pomocou GC-MS. Metylačná analýza sacharidov pomocou pyridínu ako činidla v chemicko-ionizačnej MS. Elektron impakt a chemická ionizácia MS β -glycopyranosylnitrometánov, EI a CI MS acetálov α -D-glycopyranosylnitrometánov. Z nesacharidických prác ako príklad uvádzam: Reakčná plynová chromatografia zásaditých alkoxy karbanilátov pomocou trimetylanilinium hydroxydu. Termická degradácia zásaditých alkoxy karbanilátov v plynovom chromatografe. Hmotnostná spektrometria zásaditých alkoxy karbanilátov majúcich lokálne anestetické vlastnosti. Stanovenie pentakainu a in vitro metabolitov v biologických vzorkách pomocou GC-MS.

Posledné štyri práce vznikli ako súčasť externej kandidátskej dizertačnej práce pracovníka Farmakologického Ústavu SAV (M. Š.) na našom pracovisku.

Od vzniku pracoviska hmotnostnej spektrometrie v r. 1964 bolo uznávané ako školiace pracovisko SAV s možnosťou obhajovať titul Kandidát chemických vied, CSc. neskoršie PhD. Za zhruba 50 ročné obdobie, zahrnuté v tomto článku, boli vyškolení nasledujúci doktori: Vladimír Kováčik, Ján Leško(†), Vincent Mihálov(†), Milan

Štefek, Vladimír Pätoprstý a Slávka Bekešová. Vladimír Kováčik obhájil v r. 1986 titul DrSc. za prácu „Hmotnostná spektrometria sacharidov“.

V prvej polovici osemdesiatych rokov sme museli prerušiť dlhodobý výskum. Z príkazu „vyššej moci“ a vedenia ústavu sme pracovali na výskumnom projekte MNO ČSSR. Našou úlohou bolo zladíť hmotnostné spektrá bojových chemických látok a jedovatých látok do spoločnej práce. Niektoré látky, pripravené na CHÚ sme merali po priamom zavádzaní. Plní strachu sme sa tešili, že nebolo potrebné použiť „antidota“, pripravené pri meraní. V ďalšom sme si pomohli. Z Univerzity v Helsinkách, kde podobné merania robili pre potreby OSN sme „tajne“ pravidelne dostávali hmotnostné spektrá a upravovali podľa našich požiadaviek do „utajených správ“ a neskôr diskiet.

V druhej polovici osemdesiatych rokov a na prechode milénia došlo k brutálnym zmenám v konštrukcii hmotnostných spektrometrov. Požiadavka dostatočnej prchavosti zlúčenín pre EI a CI MS prestala byť dominantnou pre získavanie hmotnostných spektier. Nakoľko na Chemickom ústave sme mali k stanoveniu molekulárnych hmotností iba prístroj MALDI, nemali sme možnosť získavania kompletných hmotnostných spektier polárnych zlúčením typu sacharidov. Preto sme v bohatej miere využívali medzinárodnú spoluprácu, ktorú sme nadväzovali s pracoviskami, vlastníacimi potrebnú techniku počas stáží ako i početných medzinárodných konferencií, na ktorých sme sa aktívne zúčastňovali. Ako príklad uvediem stáže v Nemecku, Holandsku, USA a Veľkej Británii, z početných konferencií Taliansko, Maďarsko, Rakúsko, Fínsko, Poľsko, Česká republika ale i Slovensko (Smolenice). Pripravované projekty so zlúčeninami, syntetizovanými na našom ústave boli pripravené korešpondenčne a prinesené vzorky merané na zahraničnom pracovisku. Autori prác sú uvedení spoločne z oboch pracovísk. Tak oligosacharidy príbuzné xylánom boli merané pomocou fast atom bombardment a kolíznou aktiváciou. Výsledné spoločné publikácie obsahujú autorov zúčastnených krajín. FAB MS hmotnostne analyzovaná kinetická energia (MIKE) a kolízne indukovaná disociácia (CID) klasterov acetylovaných xylo-oligoasacharidov s protonizovaným amoniakom a metyl aminom boli ďalšou skúšanou technikou. Vysoko energetická CID sodíkom kationizovaných alditol

disacharidov je ďalšou metódou stanovenia väzieb medzi jednotkami. Zaujímavá bola štúdia Fourier transform ion cyklotron resonancia, reakcie $[M - \text{metyl}]^+$ iónov permetylovaných hexopyranozidov s amoniakom. Výhodnú sequenčnú analýzu poskytuje tiež skenovanie B/E píkovo z fast atom bombardmet MS. Priama DCI MS poskytla tiež vhodnú alternatívnu sekvenčnú analýzu oligosacharidov. FAB MS poskytuje diskrimináciu medzi pentózovými oligosacharidmi obsahujúcimi D-xylopyranózu alebo L-arabinofuranózu ako neredukujúcu terminálnu jednotku.

Ako vidieť z príkladov štruktúru oligosacharidov včetně väzieb medzi jednotkami je možné charakterizovať pomocou viacerých metód bez totálnej derivatizácie vzoriek. Všeobecne je uznávané, že odštiepovanie oligosacharidu začína na glykozidickej krajnej jednotke. Štúdiom oligosacharidov o rôznych hmotnostiach jednotiek sme však zistili, že prebieha aj odbúranie vnútorných monosacharidových jednotiek (internal residue loss). S možnosťou vnútorného odbúrania treba počítať pri konečnom vyhodnocovaní štruktúry celého reťazca. Napriek tomu u sodíkom kationizovaných oligosacharidov metódami CID-MS/MS (matrix asistovaná laserová desorpcia a elektrosprej) IRL nebol pozorovaný.

Uvedieme príklady prác s použitím moderných prístrojov bez plnej derivatizácie vzoriek.

MALDI IV – Protonizované per-O-acetyl indolové glukozidy

MALDI ToF/ToF V ďalšom pozitívnom tandem MS – Syntetické analógy O-špecifického polysacharidu z *Vibrio cholerae* O:1.

Positive ESI MS – Positívna ES Ion Trap multistage MS fragmentácia of syntetických analógov sacharidickej časti lipopolysaccharidov *Vibrio cholerae* O:1

MALDI ToF IV – Negatívna ion trap násobná MS syntetických fragmentov O-PS *Vibrio cholerae*.

MALDI ToF/ToF – Negatívna matricami asistovaná Tandem MS fragmentácia syntetických analógov *Vibrio cholerae* v prítomnosti anionických dopantov

SSQ 710 a VG Autospec MS – EI MS štúdium monomerických modelov O-PS *Vibrio cholerae* O:1 serotypov Ogawa a Inaba.

SSQ 710 Mass Frontier – EI MS štúdium monomerických modelov *Vibrio cholerae* O:1. Pri kationizovaných VCh možno úspešne využiť mass frontier softvér, čo v značnej miere urýchli identifikáciu antigénov.

Ako vidieť z posledných prác, identifikácii monomerických modelov *Vibrio cholerae* VCh O:1 sa venovala systematická pozornosť.

V r. 2006 zakúpili do Virologického ústavu SAV moderný viacúčelový prístroj Q-ToF Premier™ hmotnostný spektrometer ACQUITY UPLCTM (Waters)

Pomocou spolupráce sme riešili fragmentačný mechanizmus analógov fytoalexínu, elimináciu izokyanátu a izotiokyanátu pomocou electrosprej ion trap ionizácie quadrupólového ToF a MALDI time-of-flight tandem MS sodíkom kationizovaného brassitinu, brassinínu a ich glykozidov.

Od r. 2008 prevzal vedenie laboratória hmotnostnej spektrometrie vedúci Oddelenia analytickej chémie Chemického ústavu SAV Ing. Vladimír Pätoprstý PhD. Ako hlavný cieľ práce si vytýčil získanie nových moderných hmotnostných prístrojov, ktoré by umožnili posunutie výskumnej i servisnej činnosti do ďalších vývojových sfér. Zložitá manažérska práca, zahrňovala získavanie veľkého množstva peňazí, intenzívnu spoluprácu s nadriadenými orgánmi a vedením ústavu a upravovanie priestorov, určených k inštalácii prístrojov, rovnako ako prípravu pracovníkov na prácu s hmotnostnými spektrometrami.

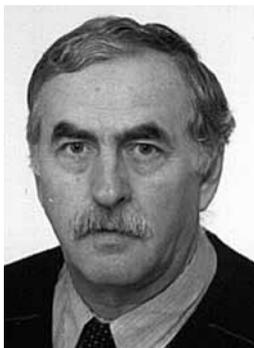
Úsilie prinieslo očakávaný výsledok. Chemický ústav od r 2012 bude inštalovať a testovať tri moderné hmotnostné spektrometre :

MALDI ToF/ToF (Bruker), Orbitrap (Thermo) a GC-LC kvadrupól

Začína sa teda nová etapa hmotnostnej spektrometrie na SAV. Prajem Ing. Pätoprstému PhD a celému tímu okolo hmotnostnej spektrometrie a analytickej chémie veľa úspechov, trpezlivosti a veľa nápadov do vedeckej práce v budúcom období.

8. TIBOR JAKUBÍK

HISTÓRIA HMOTNOSTNEJ SPEKTROMETRIE NA FAKULTE CHEMICKEJ A POTRAVINÁRSKEJ TECHNOLÓGIE STU V BRATISLAVE



Ing. Tibor Jakubík, CSc. sa narodil vo Veľkých Uherciach v r. 1944. Po absolvovaní Strednej priemyselnej školy chemickej v Bratislave r. 1962 pracoval vo Výskumnom ústave pre ropu a uhľovodíkové plyny (VÚRUP). V rokoch 1963-1968 absolvoval Chemicko-technologickú fakultu SVŠT v Bratislave na Katedre chémie a technológie ropy. Od r.1969 do r. 1973 bol interným ašpirantom Prof. Ing. Václava Veselého, DrSc. V r. 1973 nastúpil na Fakultné pracovisko hmotnostnej spektrometrie na Chemisko-technologickú fakultu SVŠT, kde pod vedením Doc. Ing. Jána Leška, CSc. ukončil vedeckú ašpirantúru na tému „Problematika delenia a hmotnostnospektrometrickej analýzy hydrogenovaných olejov“. Od r. 2002 je poverený vedením Laboratória hmotnostnej spektrometrie na Oddelení NMR a hmotnostnej spektrometrie na Ústave analytickej chémie FCHPT. Je spoluautorom a autorom cca. 100 odborných publikácií, prednášok a posterov.

Prvopočiatky hmotnostnej spektrometrie na Chemickej fakulte SVŠT iniciovali v roku 1971 pri Katedre chémie a technológie ropy (KCHTP) Prof. Ing. Václav Veselý, DrSc. a Ing. Ján Leško, CSc.

Prvým prístrojom na KCHTP bola kombinácia plynového chromatografu s hmotnostnospektrometrickým detektorom GC-MS MAT 111 od firmy VARIAN, inštalovaného v júni roku 1971. Prístroj vzhľadom na pomerne nízku citlivosť hmotnostného spektrometra bol vybavený plynovým chromatografom s kovovými náplňovými kolónami čo malo výhodu (ekonomickú), že sme si pripravovali kolóny sami. Niekoľko pokusov s použitím nerezových kapilárnych kolón „vďaka“ nedostatočnej citlivosti hmotnostnospektrometrického detektora nebolo úspešných. Napriek tomu bolo na tomto prístroji odmeraných a čiastočne vyhodnotených takmer 3000 vzoriek zmesí organických látok. Spektrá sa zapisovali na fotografický papier citlivý na ultrafialové svetlo. V rokoch 1972 až 1992 sa na našom pracovisku sledovali zdroje pitných vôd celého Žitného ostrova, ako aj ďalších zdrojov pitnej vody na území Slovenska – čo predstavovalo 50 – 70 vzoriek pitných vôd ročne, ktoré sú dodnes zásobárňou kvalitnej pitnej vody pre celý Západoslovenský kraj. Prístroj bol už pre nedostupnosť náhradných dielov ako aj z dôvodov nízkej citlivosti vyradený z prevádzky v r. 1994.

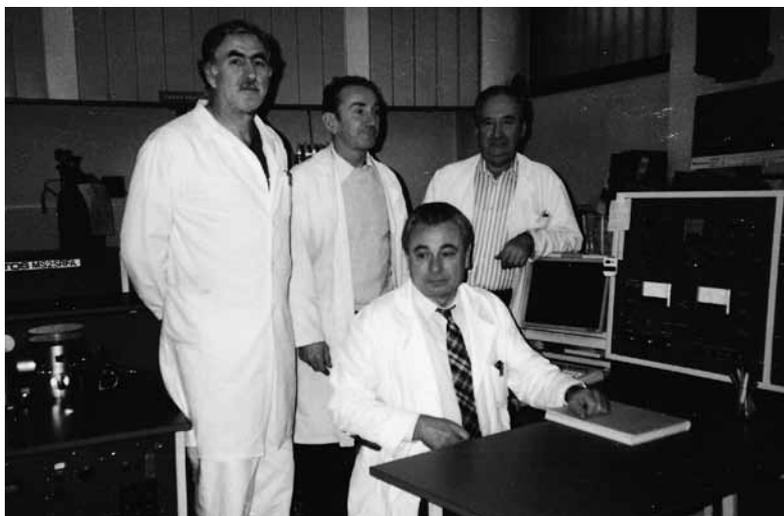
V r. 1972 bol nainštalovaný vysokorozlišovací hmotnostný spektrometer MS902S od firmy AEI, Manchester. Inštalácia za účasti 2 servismanov fy. AEI začala v máji toho roku. Pretože firma pre tento prístroj garantovala rozlišovaciu schopnosť $RP = 100\ 000$ a doc. Leško to striktno vyžadoval a chcel to na prístroji vidieť a až potom podpísať preberací protokol. Servismani AEI prichádzali a odchádzali. A pretože okolo fakulty premávali električky a trolejbusy, hádzali vinu za problémy s dosiahnutím garantovaných parametrov na túto skutočnosť a navrhovali nainštalovať do laboratória Faradayovu klieťku na odtienenie blúdivých prúdov, ktoré mohli ovplyvňovať parametre prístroja. Tomuto návrhu sme z ekonomických, ale tiež v tom čase z technických dôvodov odolali. Nakoniec garantované parametre boli dosiahnuté v utorok 5. decembra 1972 o 3-tej hod. ráno, keď premávka mestskej elektrickej dopravy (trolejbusy, električky) v okolí našej fakulty bola nulová. Preberací protokol prístroja bol podpísaný

6.12.1972, vo vtedy známej a populárnej bratislavskej „inštitúcii“ - viede „Vysoká 44“.

Prvými operatérmi tohoto, v tom čase špičkového prístroja, boli Ing. Ján Leško, CSc. a Ing. Štefan Holotík, CSc. – obaja členovia Katedry ropy a uhľovodíkových plynov. V r. 1973 rozšírili rady tejto dvojčlennej „gruppy“ elektrotechnik Ing. Walter Weis, ktorý prišiel zo Slovenskej požičovne filmu (v r. 1968 člen čl. výpravy na Svetovej výstave v Montreáli) a Ing. Tibor Jakubík - ašpirant Prof. V. Veselého, DrSc. na Katedre ropy a uhľovodíkových plynov.

Laboratórium hmotnostnej spektrometrie postupne prekročilo rámec Katedry ropy a uhľovodíkových plynov a v roku 1974 bolo z nej vyčlenené a ustanovené ako pracovisko s celofakultnou pôsobnosťou s názvom Fakultné pracovisko hmotnostnej spektrometrie (FPHS).

Pri tejto príležitosti nedá mi nespomenúť, že v tom čase už v Prahe na Akademii vied (Ústav organickej chémie u Dr. Dolejša – ak si dobre pamätám) bol nainštalovaný vysokorozlišovací hmotnostný spektro-



Obrázek 1: Základná zostava Laboratória hmotnostnej spektrometrie (z r. 1988) pri prístroji GC-MS MS25RFA (zľava – T. Jakubík, Š. Holotík, W. Weis a sediaci J. Leško).

meter MS902, čo nám v začiatkoch veľmi pomohlo pri riešení počítačných problémov s prevádzkou nášho prístroja. Za nezištné rady a konzultácie patrí vďaka práve Dr. Dolejšovi. Nezanedbateľnou oporou pre nás boli tiež možnosti konzultácií s Dr. Vladimírom Hanušom, CSc., Dr. Miroslavom Ryskom, CSc. a našim v tom čase vysokoškolským partnerom Dr. Ládom Kubelkom, CSc.

V laborantských pozíciách sa postupne striedali Gizka Szalayová, Jana Kovárová a Soňa Ernstová.

V období tzv. normalizácie na priamy príkaz vedenia fakulty, „vysokú ideologickú úroveň“ prevádzky oboch prístrojov, ako aj merania a interpretácie hmotnostných spektier zabezpečoval Ing. Ctibor Hudák.

Laboratórium hmotnostnej spektrometrie spolupracovalo vo vedeckovýskumnej činnosti s Katedrou organickej chémie pri dôkaze štruktúr najmä novosyntetizovaných heterocyklických organických zlúčenín, Katedrou technológie ropy a petrochémie pri analytickom hodnotení ropných produktov, Katedrou analytickej chémie GC/MS analýzami najmä so zameraním na stopové analýzy a s Katedrou sacharidov a konzervácie potravín pri identifikácii látok v zložitých zmesiach extraktov použitím GC/MS. V oblasti aplikovaného výskumu Laboratórium spolupracovalo s poprednými priemyselnými podnikmi a inštitúciami, kde sa zameriavalo najmä na stopové GC/MS analýzy organických látok v rôznych matriciach. Externými užívateľmi prístroja MS902S boli pracovníci z Chemického ústavu SAV (Dr. Vladimír Kováčik, DrSc.) a Výskumného ústavu liečiv v Modre (Ing. Ondřej Gattnar, CSc.).

Záznam spektier sa robil rovnako ako na GC-MS MAT 111, na fotografický papier citlivý na ultrafialové svetlo. Po vyvolaní hmotnostnospektrometrického záznamu bolo potrebné správne (manuálne) odpočítať na osi x v tom čase používané hodnoty m/e, (dnešné m/z) a to z dôvodu, že stupnica na zázname bola nelineárna. Kontrolou na osciloskope bolo treba tiež nastaviť iónový tok analyzovanej zlúčeniny v iónovom zdroji tak, aby na najmenej citlivej stope (stopy boli 3), bolo jasne vidieť vrchol tzv. basepeaku.*

*Poznámka autora - toto uvádzam pre čitateľov, ktorých rodný list bol datovaný po r. 1980.

Na prístroji MS902S bolo do jeho „administratívneho“ vyradenia v r. 2004 odmeraných viac ako 10.000 spektier organických zlúčenín, okolo 200 metastabilných prechodov a takmer 100 meraní presných hmotností novosyntetizovaných organických zlúčenín ako aj zlúčenín izolovaných z prírodných materiálov pri RP od 10000 do 40000. Napriek našej snahe nie každé z uvedených meraní pri vysokej rozlišovačke viedlo k zostaveniu jednoznačnej štruktúry analyzovanej vzorky. Vzhľadom k rozmanitosti u nás analyzovaných vzoriek, pred meraním presných hmotností bolo nevyhnutné celý systém dokonale termicky vyčistiť, čo vyžadovalo neraz aj trojdňové (spravidla cez víkend) čistenie.

Za obdobie takmer 32 rokov sme striedavo používali 2 iónové zdroje a použili 2 dynódové násobiče. Druhý násobič sme boli nútení použiť (koncom r. 1996) po zvláštnej havárii, keď chladiaca voda (používali sme chlórovanú vodu z mestskej siete – v tom čase ešte lacnú) v analyzátorovej difúznej pumpe prederavila vnútornú stenu pumpy za vzniku tzv. „hrachovej kaše“, ako to Walter nazval, v olejovej časti difúzky a celý systém bol „nasýtený“ vodnou parou a parami difúzkového oleja. Našťastie sme mali rezervnú difúznu pumpu a tak po dôkladnom vyčistení celého systému, ktorý trval asi 14 dní, výmene násobiča a iónového zdroja sme aspoň mohli merať rutinné nízkorozlišovacie (RP = 1000) hmotnostné spektrá v slušnej kvalite. V r. 1988 bol v Centrálnych laboratóriách nainštalovaný prístroj GC-MS MS25RFA od firmy KRATOS, Manchester (bývalé AEI, Manchester) s chromatografom Carlo Erba zaopatreným viacerými nástrikovými zariadeniami (split/splitless, oncolumn). Krátko po nás boli rovnaké prístroje nainštalované v Prahe na Vodních zdrojoch (Dr. Vít Valenta) a v Pardubicích (Ing. Ivan Kolb) a znovu bola vynikajúca spolupráca a výmena skúseností medzi našimi tromi pracoviskami. Prístroj umožňoval už na túto dobu rýchle skeny (0,3s/dekádu – občas aj použiteľné) v GC/MS móde – čo v dnešnej dobe napr. TOF-ov by sme to mohli nazvať aj ako – „zdržovanie hry“, ďalej meranie metastabilných prechodov a maximálnu rozlišovaciu schopnosť do $RP \leq 8000$ – čo bolo už vtedy o ničom, ani ryba ani rak, aj keď treba priznať, že síru to od dvoch kyslíkov v štruktúre organickej zlúčeniny odlišilo. Tento prístroj už bol riadený po-

čítačom DG-DG30 a zaopatrený databázou hmotnostných spektier NIST, čo pri rutinných analýzach uľahčilo robotu, i keď v nejednom prípade z ponuky databázy nám bolo „dopopuku“ napriek 95% pravdepodobnosti „zhody“ spektier, nehovoriac o lenivosti-pomalosti samotného počítača. Prvé roky sme data ukladali na magnetické pásky, čo umožňoval „streamer“ počítača, ale časom sa objavil software na konverziu našich nameraných dát do PC-čka a australský soft „WSEARCH“ Franka Antolasica nám veľmi zrýchlil interpretáciu nameraných analýz. Mimochodom tento software vie prečítať data z mnohých GC/MS prístrojov a je skutočne „userfriendly“ a dokonca základná verzia bola zadarmo. Po 20-tich rokoch intenzívneho využívania MS25RFA (v r. 2008) však definitívne „kľakol“ počítač DG30 a tak napriek výbornému stavu hmotnostnospektrometrickej časti systému šiel na zaslúžený odpočinok.

O rok neskôr (1989) v našom laboratóriu pribudla kombinácia plynového chromatografu s hmotnostnospektrometrickou detekciou iónovou pascou ITD-800 od firmy Finnigan MAT. Naše nadšenie z viac ako 10-násobne vyššej citlivosti oproti MS25RFA bolo namieste do času, keď sme narazili na zmesi s kyslíkatými organickými zlúčeninami – dobrovolne a bez mučenia musím priznať, že dodnes nie som si istý, či to bolo nastavením parametrov stroja (ktoré sme exploatovali), alebo to bola „prírodná“ vlastnosť tejto mašiny, ale že som častokrát nedokázal vidieť molekulový ión takýchto zlúčenín – tak to ma sr..o. „Naprieč“ vyššie uvedenému, využitie vynikajúcej citlivosti tohoto stroja bolo veľmi užitočné v našich aplikáciách hlavne pri stopových analýzach. Na odľahčenie mojej čiastočne osobnej averzie, musím sa priznať k mojej neresti ako občasného fajčiara (mimochodom, tejto neresti som podľahol aj „vdaka“ bývalému tabačkárovi – Leškovi, ktorý včas prestal, ale ja som ešte chvíľu vydržal), keď som občas vstúpil do laboratória s „aktívanou“ cigaretou, kde som nastrekoval do ITD800 vzorku, neraz na chromatograme sa objavil malý, ale jasne identifikovateľný pík nikotínu – to len na ilustráciu citlivosti vyššie-omenovaného inštrumentu. Čas dozrel a iónová pasca vypovedala poslušnosť – a tak v r. 2010, keďže už nebolo možné v blízkom okolí získať „spareparts“ na iónový zdroj – odpálené kontakty držiaka katódy – prístroj bol vyradený.

Toľko o prístrojovej, personálnej a pracovnej histórii nášho hmotnosťnospektrometrického laboratória.

Záverom ešte krátko o nedávnej minulosti siahajúcej do súčasnosti.

Reštrukturalizácia fakulty v r. 2006 „spáchala“ fúziu Centrálnych laboratórií NMR a HS s Katedrou analytickej chémie za vzniku Ústavu analytickej chémie. Malo to určitú logiku, ale to je všetko čo sa k tomu dá povedať. Prekonať dlhoročnú autonómiu a do určitej miery aj priestorovú kompaktnosť Centrálnych laboratórií (HS a NMR) chvíľu trvalo. Riadením osudu a za podpory Min. školstva SR do nášho laboratória pribudol v januári r. 2009 nový prístroj GCxGC-MSTOF zvaný Pegasus 4D od fy. LECO, vybavený MultiPurpose-Samplerom MPS 2XL (GERSTEL).

Donedávna, (do r. 2008) široký záber analyzovaných substancií sa v súčasnej dobe zúžil na oblasť potravinárskych produktov (syry, medy, alkoholické nápoje a pod.) s cieľom ich autentifikácie a identifikácie ich zložiek.

Dramatické zmeny v personálnom obsadení započali náhlým odchodom Doc. Ing. Jána Leška, CSc. v r. 2002 na pravdu Božiu. Ing. Štefan Holotík, CSc. odišiel do dôchodku v r. 2004 a Ing. Walter Weis v júni r. 2010. A tak ako „kôl v plote“, z dlhoročného tímu Laboratória hmotnostnej spektrometrie zostal do dnešného dňa len autor tohoto stručného pohľadu do histórie hmotnostnej spektrometrie na Fakulte chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave.

9. ROBERT MISTRÍK

MS STORY



Robert Mistrík je absolventom inžinierskeho štúdia analytickej chémie na Chemicokotechnologickej fakulte Slovenskej technickej univerzity v Bratislave a doktorandského štúdia na Univerzite Viedeň v Rakúsku. Po ukončení štúdií pracoval tri roky v Mass Spectrometry Data Centre v Národnom Inštitúte Štandardov a Technológií (NIST) v Gaithersburgu, MD, USA. Po návrate na Slovensko v roku 1998 založil a dodnes vedie firmu HighChem, s.r.o., zaberajúcu sa vývojom vedeckého softvéru a špecializovaných databázových systémov v oblasti hmotnostnej spektrometrie a metabolomiky. Je otcom softvéru Mass Frontier, ktorý bol inštalovaný vo viac ako tisícke environmentálnych, kriminalistických a farmaceutických laboratórií sveta. V roku 2009 sa stal laureátom ceny Hlava roka, udelenej za najvýznamnejšiu vedcko-technickú inováciu na Slovensku. V rokoch 2011 a 2012 pôsobil vo funkcii predsedu dozornej rady spoločnosti Slovenské elektrárne a.s., prevádzkujúcej 34 vodných, 2 tepelných a 2 atómových elektrární. V roku 2012 bol členmi medzinárodnej Metabolomickej spoločnosti zvolený do Board of Directors.

Keď som niekedy v polovici 80-tych rokov ako študent Chemicko-technologickej fakulty v Bratislave prišiel prvý krát do kontaktu s hmotnostným spektrometrom, prvé čo mi napadlo, že prívlastok hmotnostný je odvodený od obrovskej hmotnosti prístroja. Spektrometer ma zrejme pre svoju veľkosť a neformnosť vôbec nenadchol, naša generácia už vtedy prišla do kontaktu s „mikro-počítačmi“ a ich štíhle tvary boli intuitívnym kritériom modernosti. Vtedy som ani len netušil, nikto nám to nepovedal, že hmotnostný spektrometer vo veľkosti kufríka už 10 rokov predtým analyzoval atmosféru a pôdu Marsu. Vďaka túto zaujímavosť, možno by moju letargiu porazila zvedavosť. Aj spracovanie dát z hmotnostného spektrometra bolo pre nás ranných počítačových nadšencov dosť archaické. Výstupom bola numerická tabuľka m/z hodnôt a intenzít, a úlohou nás študentov bolo preniesť tieto údaje do grafickej podoby hmotnostného spektra, ktoré sme potom vizuálne porovnávali s referenčnými spektrami vyobrazenými v ťažkých a hrubých knihách. Jedinou možnosťou ako zúžiť množinu prehľadávaných spektier bolo zamerať sa na spektrá s rovnakou m/z hodnotou najintenzívnejšieho píku. Už vtedy sa problém identifikácie ukázal ako komplikovaná vec, lebo viaceré knižničné spektrá boli tomu neznámemu často veľmi podobné. O nejakom jednoznačnom výsledku bolo v nejednom prípade nemožné hovoriť, nehovoriac o prípadoch, keď mala neznáma látka dva najintenzívnejšie píky porovnateľnej veľkosti. V tom prípade sa okruh prehľadávaných spektier ešte rozšíril, čo nie len predurčovalo k chybám, ale v očiach študentov ešte viac ubralo z atraktívnosti, lebo tento postup pripomínal viac nudnú administratívu ako zaujímavú vedu. Uvedený postup bol značne limitovaný, umožňoval identifikáciu len bežných prírodných a priemyselných látok. Ten korpulentný hmotnostný spektrometer však poskytoval podobný rozsah informácií o chemickej štruktúre aké sú nám dnes schopné poskytnúť hojne rozšírené EI prístroje s nízkym rozlíšením, prebiehali v ňom úplne rovnaké fragmentačné procesy ako v dnešných prístrojoch a hmotnostné spektrum dodnes v sebe ukrýva rovnako zakódovanú informáciu o chemickej štruktúre ako tomu bolo kedysi. Na potrebu pochopenia fragmentačných dejov sa ani v druhej dekáde 21. storočia nič nezmenilo. Okrem hardvéru sa ale zmenilo aj niečo iné.

Na našej fakulte som postupne zažil tri revolúcie. Prvá bola politická v roku 1989 a druhá hmotnostno-spektrometrická, keď na Katedre dre-

va a celulózy pribudol na tú dobu skvelý prístroj GC-MS Chemstation od firmy Hewlett-Packard. Bol to prístroj, ktorý predznamenal revolúciu tretiu a to dátovú. Nielenže umožňoval počítačové ovládanie prístroja, ale bol schopný skenovať chromatografické píky a zobrazovať výsledky na tú dobu v nevidane nádhernom grafickom prostredí. Všetky dáta boli odrazu k dispozícii v digitálnej forme. Tento moment mnohým z nás zmenil život a mne predurčil profesionálnu dráhu. Už počas štúdia na Katedre analytickej chémie ma profesor Ján Mocák (1940-2012) naučil nazeráť na chémiu z celkom iného uhla, cez digitálne spracovaniu analytických dát, čo mi otvorilo dvere na renomované pracovisko profesora J. F.K. Hubera (1925-2000), jedného z otcov modernej kvapalinovej chromatografie na Inštitúte analytickej chémie Viedenskej univerzity. Ocitol som sa v skupine doktora Gregora Reicha, ktorý ma nadchol na dodnes nevyriešený problém plne automatickej interpretácie hmotnostných spektier neznámych látok. My sme sa od prvého momentu nezapodievali malicherným vylepšením existujúceho analytického postupu, či programovaním užitočnej softvérovej procedúry, ale vrhli sme sa na svätý grál kvalitatívnej analytickej chémie – vzorka -> prístroj -> dáta -> štruktúra.

V tom čase žila Viedeň čulým hmotnostno-spektrometrickým životom z čoho profitovala aj Bratislava. Konali sa tam podnetné mítingy, kolokviá, ale i menšie semináre. Jednou z najznámejších akcií bolo Forum Analytik, ktorú organizovala a hostila firma Hewlett Packard. Boli to prestížne stretnutia, spojené s predstavovaním nových HP prístrojov, so všetkým čo k tomu patrí, teda veľa kvalitného jedla, pitia a neodmysliteľných malých darčiekov pre účastníkov. Všetko zadarmo, patričný bol aj nával, kto sa včas nezaregistroval miesto sa mu neušlo. Bola to ešte doba hojností, toľko pohostinnosti som zažil už len raz, o pár rokov neskôr v USA, ale aj tam už je s okázalými firemnými akciami koniec. S veľkou slávou bol na Forum Analytik tuším v roku 1992 predstavený LC-MS prístroj s názvom MS Engine. Nenašiel sa tam snáď účastník, ktorý by netúžil mať tento prístroj vo svojom laboratóriu, aj Gregor Reich sa všemožne snažil získať ho pre náš inštitút. Jeho cena bola ale aj na dobu univerzitnej hojnosti trochu privysoká.

Forum Analytik vo Viedni bolo príležitosťou na združovanie sa aj slovenských vedcov. Zoznámil som sa tu s nestorom slovenskej hmotnostnej spektrometrie Vladimírom Kováčikom a jeho spolupracovní-

kom Vladimírom Pätoprstým zo Slovenskej akadémie vied, s ktorými s menšími či väčšími prestávkami spolupracujem dodnes. Stretával som tu aj Petra Juráška, aspiranta z mojej bratislavskej alma mater, ktorý vyvíjal zaujímavé algoritmy, schopné matematickou analýzou izotopických píkovo filtrovať z GC-MS dát komponenty obsahujúce chlór.

Ale späť na univerzitu. V našom snažení automatickej interpretácie spektier sme vo Viedni neboli jediní. Zdatnou konkurenciou nám bol profesor Kurt Varmuza z Technickej univerzity, ktorý spolu s jeho tímom vyvíjal podobné nástroje. Konceptuálne sme na vec išli podobne, klasifikáciou spektier pomocou multivariačných alebo takzvaných pattern recognition metód. No kým my sme učili algoritmy klasifikovať viac ako 11 tisíc subštruktúr pomocou binárnych klasifikátorov, Varmuzova skupina klasifikovala spektrá s využitím množiny spektier vybranej na základe štruktúrnych parametrov (structural features), ktorých bolo rádovo menej ako počet našich subštruktúr. My sme potrebovali masívnu výpočtovú silu, pričom viac ako rok bežal výpočet na výkonnom počítači v univerzitnom výpočtovom stredisku, Varmuzova skupina si vystačila s PC-čkom. Náš konkurenčný boj nemal víťaza, ukázalo sa totiž, že nízko rozlíšené knižničné spektrá, ktoré obidve skupiny používali, neposkytovali dostatočnú selektivitu m/z hodnôt a izobarické fragmenty znižovali presnosť klasifikácie. Aj keď medián úspešnosti klasifikácie neznámych spektier bol medzi 80-90%, aj tých pár nesprávne klasifikovaných podštruktúr výrazne zhoršovalo celkový výsledok. V tej dobe neexistovali databázy vysokorozlíšených spektier, a aj jednotlivé spektrá boli viac či menej vzácnosťou. Keby aj existovali, spracovanie spektier s exaktnými m/z hodnotami si vyžaduje úplne iné nástroje, ktoré sme vtedy nemali k dispozícii. Nám vo firme HighChem trvalo takmer 10 rokov kým sme sa k ním dopracovali a vývoj sme ešte ani z ďaleka neskončili.

Na univerzite vo Viedni som spoznal skvelého človeka, profesora Alexeja Nikiforova, priekopníka hmotnostní spektrometrie prírodných látok, dnes sa tomu hovorí aj metabolomika. Asi aj pre neho muselo byť prekvapením, keď na sklonku svojej úspešnej profesionálnej dráhy prvý krát započul názov vedného oboru, ktorému sa celý život venoval. Jeho tím analyzoval rôzne prírodné látky, klasifikovali vône

a chute, zisťovali spôsob vzájomného rozpoznávania priateľských a nepriateľských mravcov a mnohé iné zaujímavé aplikácie. V jeho tíme to vždy žilo, asi všetci jeho študenti sa stali jeho priateľmi a mnohí aj trvalí spolupracovníci, aj keď už pôsobili inde. A aj mňa ešte po desiatich rokoch od ukončenia štúdií niekoľkokrát sprevádzal na amerických konferenciách a veľtrhoch ako ASMS či PITTCON. Snažil sa vytvárať príjemné, neformálne pracovné prostredie, niečo podobné ako to dnes poznáme vo firmách v Silicon Valley (napr. Google). Jeho nesporný vedecký prínos a mnoho úspešných absolventov potvrdzujú, že je to jedna z ingrediencií tvorivosti a cestou k úspechu. Profesorovi Nikiforovi vďačím za mnohé, v neposlednom rade mi sprostredkoval posdoktorandskú sťaž na Národnom Inštitúte Štandardov a Technológií (NIST) v Gaithersburgu, USA.

V NISTe som pracoval v tíme Dr. Steva Steina, vynikajúceho hmotnostného spektrometra a otca najznámejšej databázy EI spektier. Z univerzitného prostredia, kde panovala bezstarostná tvorivá a metodologická voľnosť som sa zrazu ocitol v prostredí, kde vládla do všetkých detailov premyslená precíznosť. Spôsob, ako bola zostavovaná, kontrolovaná a do softvéru implementovaná NIST knižnica pripomínal procesy v japonskej automobilke. Vo všetkom bol systém, každý vedel kde je jeho miesto, a na rozdiel od iných tvorcov databáz, v NISTe mala kvalita vždy absolútnu prednosť pred kvantitou. V Mass Spectrometry Datacenter, tak sa naša skupina oficiálne volala, som pochopil pre môj ďalší profesionálny život jednu dôležitú vec. Vyvinúť metódu, napísať článok, či urobiť analýzu je bezpochyby dôležité činiť s náležitou poctivosťou, dôkladnosťou a presnosťou, inak postupne hrozí strata kredibility. Vytvárať ale vedecký produkt, ktorý bude používaný v tisíckach laboratórií a testovaný veci znalými odborníkmi po celom svete, vyžaduje maximálny dôraz na poctivosť, dôkladnosť a presnosť, a to tak vo výskumnej ako aj realizačnej fáze, pretože akákoľvek chyba bude mnohonásobne multiplikovaná. Použité dáta, metódy, chemická inteligencia musia byť nepriestrelné. Mnoho vedeckých článkov nikto bezprostredne nepreverí, vedecký produkt, za ktorý si ľudia zaplatia je pod drobnohľadom tisícov očí.

Podobne ako americké technologické firmy, aj Steve Stein lovil mozgy vo východoeurópskych vodách. V centre vychýrenej americkej inštitúcie som sa ocitol v prostredí ruskej hmotnostno-spektrometric-

kej školy, ktorá bola podobne ako v iných vedných oboroch teoreticky mimoriadne zdatná. Ak sa zhodneme, že medzi najúspešnejšie produkty v oblasti hmotnostnej spektrometrie za posledné dve dekády patria aj NIST databáza spektier a Orbitrap, potom musíme s uznaním vyzdvihnúť kvality ruských vedcov a inžinierov, ktorí sa na vývoji oboch produktov významne podieľali. V tvorivom a kvalitou vedcov nabitom prostredí som pokračoval na vývoji matematických metód štruktúrnej analýzy a podieľal sa na tvorbe softvérového modulu MS Interpreter, ktorý je dodnes v nezmenenej podobe dodávaný s MS Search softvérom.

V roku 1996 som sa po prvý krát zúčastnil konferencie ASMS v Portlande, OR a o rok na to Pittcon v Atlante, GA. Tu som pochopil, že hmotnostná spektrometria je nie len úžasná vedná disciplína ale aj veľký biznis. Pri pohľade na honosné stánky renomovaných vystavovateľov mi skrsla myšlienka skúsiť preraziť s vlastným softvérom na interpretáciu hmotnostných spektier, teda niečo viac ako ponúkal aktuálny NIST softvér. Veľmi mi nahrával fakt, že NIST vyvinul DLL modul s takmer kompletnou funkcionalitou ich softvéru a za nevelký poplatok ponúkal jeho licenciu, čo umožňovalo tretím stranám zabudovať do vlastného softvéru ich rozsiahlu funkcionalitu. Nebolo preto potrebné namáhavo imitovať funkcionalitu, stačilo licencovať. NIST DLL sa stal základom aj môjho budúceho softvéru a na ich osvedčenej technológii som postavil databázový systém s prehľadávaním spektier. O pol roka po Atlante som už doma spriadal plány vlastného podnikania a v roku 1998 som založil jednoosobovú s.r.o. s názvom HighChem, ktorú vediem a vlastným dodnes. Meno vymyslela moja manželka, ktorá neváhala ani minútu ísť so mnou do tohto dobrodružstva.

Softvér, ktorý dostal meno Mass Frontier som začal vyvíjať v pascalovskom prostredí Delphi od firmy Borland, čo bol na tú dobu o generáciu lepší a pohodlnejší vývojový nástroj ako ostatné konkurenčné produkty. Kým v Delphi mohol človek vyvinúť windowsovský modul s bohatou grafikou za týždeň dva, niečo podobné trvalo mojím bývalým kolegom v NISTe v prostredí jazyka C od Microsoftu aj mesiace. No mojím hlavným komerčným žolíkom bola predikcia fragmentačných mechanizmov z chemickej štruktúry, ktorú si užívateľ mohol nakresliť v štruktúrnom editore. Bol to natoľko unikátna funkcionalita,

že asi väčšina užívateľov si ho dodnes preto aj kupuje. Začiatočníci ju obľubujú preto, lebo sami by fragmentačný mechanizmus nikdy navrhnutí nedokázali, experti zase preto, lebo im šetrí čas a námahu, nemusia sa pracne dostávať k výsledku, ktorý im v priebehu pár sekúnd, či minút ponúkne softvér. Dôležitou črtou pre užívateľa je, aby si mohol skontrolovať každú jednu unimolekulárnu reakciu, každú rezonanciu, každý pohyb elektrónu, čo softvér vďaka vyspelej grafike od prvej verzie umožňoval.

V počiatočných verziách používal Mass Frontier na predikciu mechanizmov výlučne všeobecné fragmentačné pravidlá, ktoré boli odvodené z mechanizmov publikovaných v známej knihe *Interpretation of Mass Spectra*, od autorov Fred McLafferty a František Tuřeček. Keďže tieto pravidlá nepokrývajú mnohé reakcie prebiehajúce v hmotnostnom spektrometre, rozhodli sme sa pre veľký projekt elektronizácie fragmentačných reakcií publikovaných v relevantných peer review žurnáloch. Niekoľko rokov sme zbierali, dešifrovali, opravovali a do softvéru ukladali mechanizmy, a dnes máme v našej databáze okolo 150 000 fragmentov, viac ako 100 000 individuálnych mechanizmov a viac ako 30 000 fragmentačných schém. Bola to sisyfovská robota, ktorá umožnila funkcionality nemajúcu obdobu v hmotnostnej spektrometrii. Pri tejto práci sme sa žiaľ stretli s obrovskou nekvalitou publikovaných mechanizmov v renomovaných žurnáloch, v niektorých prípadoch by sa dalo hovoriť skôr o značnej fušerine. Vlastníme rozsiahlu zbierku chybných a nezmyselných mechanizmov, ktoré zaplňajú desiatky zakladačov. I keď je pomerne veľký rozdiel v kvalite medzi žurnálmi, v priemere každý tretí publikovaný peer review článok obsahuje aspoň malú chybu. Dnes si ešte nebudeme robiť nepriateľov, ale keď si raz nájdeme čas a naberieme odvahu, všetko to podrobne opublikujeme a patrične okomentujeme.

Získané mechanizmy sme softvér naučili nie len ukladať, ale im aj rozumieť a to tak, aby dokázal aplikovať vhodný mechanizmus na vhodnú štruktúru alebo fragment. Plne pritom podporujeme izotopy, čo umožňuje správnu interpretáciu vodíkových a skeletálnych prešmykov. Reakčný editor umožňuje uložiť aj vlastný mechanizmus a cez virtuálne značkovanie izotopmi je možné ho aj

„natrénovať“. Aby sme to ešte vylepšili, Ernst Pittenauer z Technickej univerzity pre nás manuálne vysvetlil stovky mechanizmov zo spektier farmaceutík, ktoré sa dodávajú s Mass Frontierom. Tým sme čiastočne uzavreli takzvané medzery chemických tried, na ktoré trpia všetky databázy. V chemickej literatúre je často dominantná stádovitosť vo vzťahu k študovaným štruktúram alebo chemickým triedam, ľudia sa vrhajú na módne zlúčeniny a zabúdajú aj na podstatne rozšírenejšie alebo biologicky, či toxikologicky relevantnejšie látky.

Od založenia firmy sme sa postupne rozrastali, po dvoch rokoch ma doplnil Juraj Lutišan, môj spolužiak z vysokej školy, a o ďalšie dva roky k nám prišiel Miloš Suchý, ďalší absolvent Chemicko-technologickej fakulty v Bratislave. Dnes nás je dokopy 8 ľudí a plánujeme ďalší rast.

S pribúdajúcimi ľuďmi rástla chuť na väčšie veci. Nechceli sme zostať len pri predikcii fragmentov, prehľadávaní spektier, či detekcii a dekonvolúcii chromatografických záznamov, chceli sme konečne pohnúť s hlavným problémom kvalitatívnej analýzy a to identifikáciou neznámych látok, ak sa ich spektrá nenachádzajú v databáze. Už od 80-tych rokov minulého storočia pravidelne vychádzali články rôznych autorov o „automatickej interpretácii hmotnostných spektier“, niektoré sebavedome prezentovali postupy na hranici zázraku. Logickým vyústením týchto „zázračných“ metód by mal byť použiteľný softvér, po ktorom by dozaista siahli tisíce užívateľov, frustrovaných z komplikovanej interpretácie spektier neznámych látok. Nič také sa ale nekonalo, dôvod je zrejmy.

Niekoľko rokov som nosil v hlave myšlienku interpretácie spektier pomocou tandemovej MS. Takmer všetky predchádzajúce „automatické“ metódy sa snažili so spektra odvodiť jednu alebo viac podštruktúr, a tie následne pospájajú do konečného štruktúrneho vzorca. Pretože ale píky pochádzajúce z podštruktúry sú v spektre zmiešané s píkami iných podštruktúr, nie je možné jednoznačne určiť topológiu podštruktúry. Situácia je ale iná v tandemovej MS, kde možno izolovať jeden ión a následne z neho získať jeho spektrum. To je presne to, čo potrebujeme pre automatickú identifikáciu látok. Na princípe „otlačkov prs-

ta“ iónov som vyvinul metódu s názvom Precursor Ion fingerprinting (PIF), ktorú som v roku 2004 patentoval pod názvom Determination of Molecular Structures Using Tandem Mass Spectrometry, ktorý mi bol o tri roky neskôr priznaný. Táto metóda využíva desaťročia známy fakt, že produktové spektrum fragmentu závisí na jeho štruktúre, vnútornej energii a energii vynaloženej na fragmentáciu, ale nezávisí na štruktúre pôvodnej látky. Inak povedané, fragmenty nemajú historickú pamäť, nepamätajú si rodičov. Tento fakt možno využiť na identifikáciu podštruktúr, keď sa jednotlivým fragmentom priradí referenčné tandemové spektrum, teda produktové spektrum môže slúžiť ako odťahok prsta fragmentu.

Naivne som si myslel, že týmto sa nám otvoril nový svet, no problémom bola neexistencia rozsiahlych databáz tandemových spektier. Vytvorili sme síce databázu tandemových spektier obsahujúcu viac ako 1200 látok, do ktorej prispeli Ernst Pittenauer a Petr Šimek, no databáza je pre účely PIF veľmi malá. Navyše spektrá sú v jednotkovom rozlíšení, čo sťažuje presné určenie štruktúr iónov-prekursorov, v niektorých prípadoch priam znemožňovalo. Niekoľko rokov som obchádzal univerzity, firmy, konferencie, s Timom Croley z USA sme publikovali zaujímavú aplikáciu, snažil som sa presvedčať o potrebe vytvorenia veľkej spoločnej databázy vysokorozlíšených tandemových spektier vo formáte spektrálnych stromov, ktorá by napríklad v metabolomike umožnila identifikovať dosiaľ neznáme látky, ale aj látky známe, ktorých spektrá sa nenachádzajú v žiadnej databáze. Mnohí uznali inovatívnosť myšlienky, no do spolupráce sa nikto nehrnul. Pretože bez rozsiahlej databázy metóda PIF nefunguje, postupne som stratil vieru a nádej, a rozvíjali sme iné metódy.

Prešlo 6 rokov a na scéne sa udomácnil prevratný Orbitrap od geniálneho inžiniera Alexandra Makarova z firmy Thermo Fisher. Postupne sme si uvedomili, že dozrel čas oprášiť pôvodnú myšlienku a pokúsiť sa vytvoriť rozsiahlu databázu HR-MSn. Tentoraz sa to stretlo z tak intenzívnou odozvou, že sme neboli na ňu ani poriadne pripravení. Okamžite sme začali vyvíjať internetový systém na manažment tandemových spektier s profesionálnym databázovým riešením. Projekt sme nazvali *m/z Cloud* a momentálne intenzívne finišujeme na jeho dokončení. Jednou z absolútnych noviniek bude určenie štruktúr iónov

prekursorov, ktoré bude prebiehať trojstupňovo – manuálne, pomocou Mass Frontieru, a nakoniec budú všetky ióny prepočítavané kvantovo-chemickými metódami. To si bude vyžadovať enormný výpočtový výkon, ktorý nám poskytne malý superpočítač vlastnej proviencie. Po oboznámení sa s našimi plánmi viacero renomovaných prispievateľov spektier prisľúbilo spoluprácu, niektorí z nich plánujú vyčleniť ľudí a zdroje len na meranie spektier pre tento projekt. Čas ukáže, či a ako dokážeme identifikovať podštruktúry neznámych látok bez toho, aby pôvodná látka bola zastúpená v databáze. Ak by sa to podarilo, môže to mať ďalekosiahle dôsledky pre celú plejádu aplikácií. Nebudem ale predbiehať, sľubov a veľikášskych vízií bolo v tomto smere publikovaných za posledných 30 rokov neúrekom.

Podobný príbeh ako s PIF a m/z Cloud zažívame momentálne s metódou FISH (Fragment Ion Search). Je to vynikajúca metóda na identifikáciu metabolitov či už liečiv, toxických látok, environmentálnych kontaminantov, ale aj drog. Pomocou nej sme jednoznačne identifikovali metabolity známych liečiv, ktoré neboli nikdy publikované a to bez toho, aby sme poznali konkrétne mechanizmy biotransformácie. Metódu považujeme za prevratnú, no záujem je zatiaľ vlažný. Nevzdávame sa, pripravujeme s jednou nemenovanou americkou inštitúciou takzvanú killer application, ktorá skončí snáď ako happy end.

10. KAREL UBIK

HISTORIE HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE V ÚSTAVU ORGANICKÉ CHEMIE A BIOCHEMIE AV ČR



Karel Ubik pochází z Moravy a Vysokou školu chemicko-technologickou absolvoval v Pardubicích v roce 1962. Jeho vědecká kariéra je úzce spjata s Ústavem organické chemie a biochemie AV ČR Praha, kde v roce 1965 nejprve nastoupil na studijní pobyt v laboratoři analytické chemie a kandidátskou disertační práci obhájil v roce 1969. S hmotnostní spektrometrií začal v roce 1971 po přechodu do laboratoře HS, kterou později přes 20 let vedl. Věnoval se především aplikacím hmotové spektrometrie pro řešení struktur přírodních látek jako např. terpenoidů, steroidů, saponinů, flavonoidů, alkaloidů, mastných kyselín, polypeptidů aj. Absolvoval řadu zahraničních cest a stáží, jako např. v USA, Mexiku, Velké Británii, Švédsku, Bulharsku aj., kde spolupracoval s předními organickými chemiky. V rámci pedagogické činnosti přednášel na českých a zahraničních univerzitách a sympozii, na postgraduálních kurzech a pravidelně (až do roku 2010) na školách hmotnostní spektrometrie v rámci Spektroskopické společnosti J.M. Marci. Je autorem přes 120 odborných prací a napsal několik přehledných skript, ve kterých kladl důraz na interpretaci spekter. Od roku 2006 je v důchodu.

Historie hmotnostní spektrometrie v ÚOCHB AV ČR (tehdy ČSAV, tj. Československé akademii věd) a potažmo v Československé republice začala začátkem 60-let 20. století kdy zásluhou prof. Františka Šorma, v té době ředitele ústavu a generálního sekretář akademie, byly ze Sovětského svazu zakoupeny dva hmotnostní spektrometry MCh-1303. Oba spektrometry byly tehdy umístěny v Ústavu fyzikální chemie ČSAV v Máchově ulici v Praze. Na jednom přístroji měřil Vladimír Hanuš a na druhém, určeném pro potřeby ÚOCHB, měřil Ladislav Dolejš, který absolvoval půlroční stáž v USA u jednoho ze největších hmotnostních spektrometrů té doby prof. Carla Djerassiho.

Spektrometry MCh-1303 měly elektronovou ionizaci, hmotnostní rozsah 600 Da a rozlišovací schopnost 450. Byly vybaveny rtuťovými difusními vývěvami, které byly chlazené kapalným dusíkem a přes noc se vypínaly, takže evakuace začínala každé ráno. Spektra, jejichž píky měly typický Gaussovský tvar, se zaznamenávala na papír chromatografickým zapisovačem velmi špatné kvality a proto byl vyměněn za zapisovač Honey-Well. Poměrně značnou nevýhodou byla relativně dlouhá katoda (asi 15 mm), která když se zahřátím prodloužila se někdy prohnula, emitované elektrony nesměřovaly přímo do dráhy ionizovaných molekul a citlivost klesla na tolik, že musel být drátek emitoru vyměněn. Vzorky se zaváděly skleněnou sondou s kovovou přírubou, kterou bylo při každé výměně vzorku nutno 4 šrouby odšroubovat, vložit vždy nové hliníkové těsnění a zase přišroubovat. Efektivita práce byla nízká, protože bylo možno za den změřit spektra dvou až tří látek.

Přes řadu technických nedostatků byla na spektrometru MCh-1303 změřena celá řada látek. Z přírodních látek to byla zejména identifikace alkaloidů, o nichž byly publikovány kvalitní a dosud citované práce. Vůbec první hmotově spektrometrická práce autorů z Československé republiky byla publikována již v roce 1963 o steroidních alkaloidech – L.Dolejš, V.Hanuš, V.Černý, F.Šorm: On Steroids LXXVIII. Mass Spectra of *Holarrhena* Alkaloids, *Coll. Czech.Chem.Comm.* **28**, 1584-1592 (1963).

Později, když se ukázal velký význam hmotnostní spektrometrie pro problematiku řešenou v ústavu, byl spektrometr MCh-1303 v roce 1967 přestěhován přímo do ústavu na Flemingově náměstí v Praze 6

a stal se tak základem hmotově-spektrometrické laboratoře, kterou vedl Ladislav Dolejš. Na přístroji se měřilo až do roku 1972 kdy byl demontován na větší celky a věnován Přírodovědecké fakultě KU v Praze, kde ale nebyl nikdy znovu sestaven.

Kvalitativním skokem bylo v roce 1969 zakoupení anglického spektrometru MS902 (původně AEI - Associated Electric Industry, později KRATOS a nakonec Shimadzu, Manchester, UK), který byl ve své době nejlepším komerčně vyráběným spektrometrem na světě. Spektrometr měl dvojí fokusaci s tzv. přímou geometrií, tj. uspořádání analyzátorů EB a kromě přímých vstupů také umožňoval analýzy GC/MS. Používala se jenom elektronová ionizace s elektronovou energií 70 eV, kterou bylo možno snižovat, a při základním urychlovacím napětí 8 kV byl rozsah přístroje 1000 Da. Maximální rozlišovací schopnost byla 70000 a pro většinu měření při vysoké rozlišovací schopnosti, kdy postačovalo rozlišení 10000, byla přesnost měření do 3 ppm. Spektrometr měl vynikající optiku, takže při přechodu z rozlišení 1000 na 10000 se snížila intenzita píků jenom 7x. Měření přesných hmotností se provádělo ručně srovnáváním hmotností píků (ang. peak matching), kdy se pík standardu se známou přesnou hmotností překrýval na obrazovce osciloskopu píkem měřené látky tím, že se pomocí dekády snižovalo urychlovací napětí jednoho z píků.

Vakuum bylo zajištěno dvěma rotačními a dvěma difusními pumpami s parafinovým olejem chlazeným kapalným dusíkem. I když se mohla spektra měřit při různém tlaku přepínáním řádů vakua od 10^{-4} do 10^{-7} tak se výhradně měřilo při 10^{-7} torr, tj v rozsahu jednoho řádu. Hlavním důvodem tohoto opatření byla skutečnost, že docházelo k minimální kontaminaci iontového zdroje, který tak stále udržoval vysoké parametry, zejména pak rozlišení.

Spektra se zapisovala na UV zapisovači a měla kromě stopy pro škálu hmotností ještě další 3 stopy. Základní, pro citlivost zvýšenou 10x a pro citlivost zvýšenou 100x. Škála hmotností byla nepřesná, protože byla vytvářena snímáním magnetického pole jenom smyčkou (pozn. Hallovy sondy se ještě nepoužívaly) a proto musela být obvykle čárkována ručně. Spektrum se snímalo od vyšších hmotností k nižším a vzhledem k tomu, že má magnetické pole exponenciální průběh,

tak vzdálenosti mezi jednotlivými píky byly oblasti velkých hmotností velmi malé a při snímání spektra se postupně zvětšovaly až několika-násobně. Aby se délka zapsaného spektra zbytečně neprodlužovala, tak byla rychlost záznamového UV-citlivého papíru během záznamu několikrát přepnutím snižována. Přístroj měl i možnost použít lineární škálu hmotností, ale ta byla také nepřesná.

Pro normalizaci spekter bylo nutno intenzitu píků měřit ručně měřítkem a sestavit tabulku m/z / mm. Tato tabulka byla ručně převedena do prvního a jediného ústavního počítače Hewlett-Packard, ke kterému byl připojen inkoustový plotter.

Pro zavádění vzorků do iontového zdroje sloužily 4 vstupy. Přímý vstup pro málo těkavé, většinou pevné, látky (přibližně od 250 Da), nevyhřívaný skleněný zásobník (objem cca 1 l), vyhřívaný skleněný zásobník (objem cca 2 l) a vstup pro látky z plynového chromatografu. Na přímém vstupu pro málo těkavé látky bylo vynikající to, že se vzorek v křemenné kapiláře na kovové tyčce zasouval pomocí magnetu přímo do bloku iontového zdroje. To mělo nesmírnou výhodu pro kvalitu spektra v tom, že se teplota vzorku zvyšovala současně se zvyšováním teploty iontového zdroje a byla proto pro změření spekter vždy naprosto optimální. Nedocházelo ke zkreslování spekter vlivem přehřátého iontového zdroje, jak se to stává u většiny dnešních spektrometrů pro EI.

Skleněné zásobníky byly od iontového zdroje odděleny hustými kovovými fritami, které udržovaly rozdílné hodnoty vakua v zásobnících (rotačkové vakuum) a v iontovém zdroji (difusní vakuum). Nevyhřívaný zásobník se používal pro standardy na kalibraci a měření při vysoké rozlišovací schopnosti.

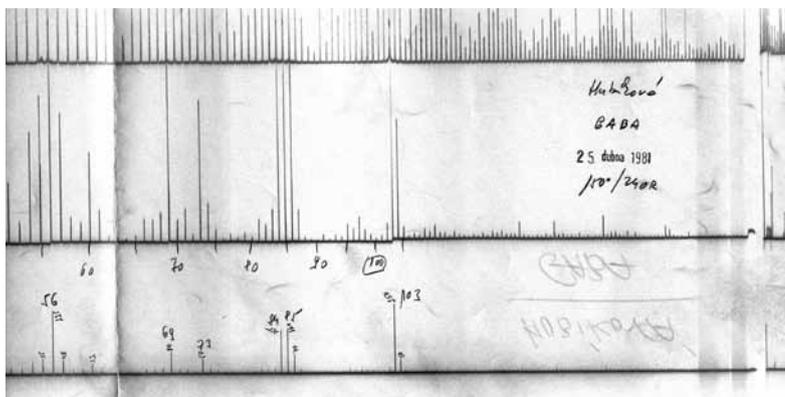
Vynikající vlastnosti, které nemá žádný ze současně používaných tzv. septum inletů, měl sofistikovaný vyhřívaný zásobník, jenž byl opatřen čtyřmi skleněnými ventily s kovovými jádry ovládanými magnety. Tento systém umožňoval měřit vzorek za tepelně optimálních podmínek a ještě po měření získat vzorek ze zásobníku zpět na další použití, např. změření IČ spektra. Pro analýzu nesmírně malých množství přírodních látek, např. těkavých látek z hmyzu, to bylo velmi užitečné. Při zavádění vzorku do iontového zdroje se vzorek vlo-

žil do speciální upravené minizkumavky, která se ochladila kapalným dusíkem a rotačním vakuem se přisála k zásobníku. Otevřel se vstup do iontového zdroje ze zásobníku a odstranilo se chlazení. Teplota vzorku nejprve stoupla na úroveň laboratorní teploty, a pokud nezačal vzorek vstupovat do zásobníku a tím do iontového zdroje, tak se začala zkumavka spolu se zásobníkem zahřívat až na optimální teplotu kdy se na obrazovce osciloskopu objevilo spektrum. Vzorek i zásobník se zahřívaly maximálně na 250 ° C. Pokud ani při této teplotě nebylo získáno spektrum, tak byl vzorek po ochlazení na laboratorní teplotu zaveden do spektrometru přímým vstupem pro méně těkavé látky. Po změření spektra byl vzorek ze zásobníku odstraněn vyčerpáním rotační vývěvou a nebo, při potřebě ho získat zpět, byla dávkovací zkumavka ochlazena kapalným dusíkem. Vzorek potom nadestiloval zpět do minizkumavky a mohl být dále použit.

Pro techniku GS/MS, v té době s pouze náplňovými kolonami, byl spektrometr MS902 on-line spojen s plynovým chromatografem PYE 104 prostřednictvím Watson-Biemannova efusního separátoru. Separátor odstranil většinu nosného plynu (He, průtok cca 15 ml/sec), zvýšil koncentraci vzorků v plynovém toku a zabránil výpadku přístroje, který by způsobilo neúměrné zvýšení tlaku v iontovém zdroji. Chromatogram se získal zapisováním celkového iontového proudu chromatografickým zapisovačem při elektronové energii 20 eV, tj. pod ionizační energií He (24 eV). Rychlost snímání spektra byla nastavena na 2 nebo 3 sekund za dekádu což bylo postačující, protože látka se z náplňové kolony eluuje přibližně 20 sekund. Během vlastního měření spektra se elektronová energie automaticky zvýšila na 70 eV. Snímání spekter bylo prováděno manuálně v oblasti kolem maxim píků, kde se koncentrace látek málo mění. Ukázalo se, že 20 sekund eluování látky postačuje na to, aby se za tu dobu u vybraných píků provedlo měření přesných hmot. Před měřením byl přístroj seřízen na rozlišovací schopnost 5000, na osciloskop nastaven magnetem pík standardu a na dekáde urychlovacího napětí připravena přibližná hodnota přepočítávacího faktoru.

I když byl spektrometr MS902 se dvojitou fokusací a velkým urychlovacím napětím i rozlišením primárně určen pro standardní měření a měření při vysoké rozlišovací schopnosti byly technikou GS/MS

změřeny stovky spekter a to zejména spekter těkavých přírodních látek z rostlin a hmyzu. Na tomto přístroji byly také poprvé v Československu technikou GC/MS identifikovány hmyzí feromony a nalezena přírodní nitrolátka, která byla desátou nitrolátkou celkově v přírodě identifikovaných (pozn. do současné doby jich bylo identifikováno celkem 11) – J.Vrkoč, K.Ubik, L.Dolejš., I.Hrdý: On the chemical composition of frontal gland secretion in termite of the genus *Nasutitermes* (*N.costalis* and *N.rippertii*; *Isoptera*) : *Acta.entomol.bohem.* **70**, 74–80 (1973), J.Vrkoč, K.Ubik: 1-Nitro-*trans*-1-pentadecene as the Defensive Compounds of Termites, *Tetraheron Lett.* No.15, 163-164 (1974).



Obrázek 1: Dobový záznam hmotnostního spektra na uv-citlivý papír.

Po zakoupení spektrometru MS902 pracovaly v laboratoři současně spektrometry dva a počet pracovníků se rozrůstal. Statut hmotově-spektrometrická laboratoře se v průběhu let několikrát změnil. Nejprve byla jako skupina součástí Oddělení organické syntézy, potom součástí Oddělení přírodních látek a nejdelší období byla samostatným oddělením jako Centrální laboratoř hmotnostní spektrometrie. K této laboratoři byla také na několik let jako skupina přičleněna Centrální analytická laboratoř. V laboratoři se studovaly struktury celé řady přírodních i syntetických látek jako např. steroidů vč fytoosterolů, alkaloidů, saponinů, fenolických látek, kutikulárních vosků z rostlin a hmyzu, terpenoidů, arylhydrazonů, dusíkatých heterocyklů, alkoholů aj.

Přestože byla změřena a studována hmotnostní spektra stovek látek, hlavním omezujícím faktorem přístroje však zůstávala jeho výlučná použitelnost pro elektronovou ionizaci, takže mohly být měřeny jenom relativně stabilní látky do hmotnosti přibližně 1 Da. Jako největší peptidická látka byl změřen permetrylovaný hexapeptid. Permetrylovaný saponin s hmotností 1274 Da byl látkou s největší hmotností na přístroji změřenou a bylo na to třeba snížit elektronovou energii na 40 eV a urychlovací napětí na 6 kV.

Revoluci v organické hmotnostní spektrometrii přinesl objev nových způsobů ionizace, především ionizace rychlými neutrálními částicemi (angl. FAB – Fast Atom Bombardment) a primárními ionty (angl. SIMS – Secondary Ion Mass Spectrometry). (Pozn. Technika SIMS se již dříve používala v anorganické hmotnostní spektrometrii, ale použitelná pro ionizaci organických látek se stala až po objevu matric.)

Nástup nových technik se podařilo včas zachytit. V roce 1984 se stal vedoucím laboratoře Karel Ubik a již v roce 1987 byl značným nákladem zakoupen hmotnostní spektrometr ZAB-EQ (VG Analytical, později Fisons a nyní Micromass, Manchester, UK). Dodavatel měl náročné podmínky na umístění citlivého přístroje, a proto musela být laboratoř znovu vybudována včetně nově udělané podlahy přímo se nedotýkající stěn. Pod celým spektrometrem ve tvaru L byl na odstranění vibrací vystavěn 20 cm vysoký blok skládající se z vrstev betonu, korku, olova a plastu. Náročné také bylo dovozní schvalovací řízení ze strany západních zemí, které prodej špičkové techniky do východního bloku omezovaly. Získání speciální licence musela schválit americká organizace COCOM. Rovněž byly problémy se schválením řídicího počítače DIGITAL, který měl na současnou dobu směšnou pevnou paměť jen 70 MB.



Obrázek 2: Fotoseriál (I) z úpravy laboratoře pro hmotnostní spektrometr ZAB-EQ.



Obrázek 3: Fotoseriál (II) z úpravy laboratoře pro hmotnostní spektrometr ZAB-EQ.



Obrázek 4: Fotoseriál (III) z úpravy laboratoře pro hmotnostní spektrometr ZAB-EQ.



Obrázek 5: Karel Ubik u hmotnostního spektrometru ZAB-EQ.

ZAB-EQ byl hybridní spektrometr s reverzní geometrií a konfigurací BEQQ, přičemž první Q označuje kvadrupól používaný jako kolizní cela. Ke spektrometru byl přímým vstupem připojen plynový chromatograf Hewlett-Packard 5890, který již používal křemenné kapilární kolony. Pro spojení s kapalinovým chromatogramem byl také k dispozici systém pohyblivého polyimidového pásu s elektronovou ionizací, který se ale kvůli nestabilitě nanášení vzorků na pás neosvědčil.

Při základním urychlovacím napětí 8 kV měl spektrometr při dvojitě fokusaci (BE) rozsah 10 kDa a kvadrupól měl rozsah 3 kDa. Jako ionizační techniky byly k dispozici elektronová ionizace, chemická ionizace (ionizační plyny amoniak, metan, isobutan), ionizace rychlými neutrálními částicemi (argon při 8 kV), ionizace primárními ionty (Cs^+ při 40 kV), termosprej pro spojení LC/MS. Nejpoužívanější byla elektronová ionizace a ionizace rychlými neutrálními částicemi. U obou jmenovaných způsobů ionizace se rutinně používalo měření při vysokém rozlišení na změření přesných hmot a tím elementárního složení vybraných iontů.

Pro zavádění vzorků k iontovým zdrojům se pro méně těkavé látky používal přímý vstup, přičemž kapaliny se dávaly do skleněných kapilár se zúženým koncem. Dávkování vzorku za pomoci malého rezervoáru (cca 70 ml) opatřeného septovým uzávěrem se používalo téměř výhradně pro standardní látky (perfluorokerosen, heptakoso-fluortributylamin), protože pokud by se méně těkavá kapalina v rezervoáru nevypařila nebyla možnost ji odstranit.

Spektrometr byl vybaven 4 kolizními celami a deflektorem. První kolizní cela byla v první oblasti bez pole. Dvě kolizní cely a mezi nimi deflektor (pro techniku neutralizace-reionizace) byly ve druhé oblasti bez pole. Čtvrtou celou tvořil kvadrupól na něhož bylo vloženo jenom vysokofrekvenční napětí a byl ve třetí oblasti bez pole. Spektrometr měl 3 detektory. První byl ve druhé oblasti bez pole za kolizními celami, druhý ve druhé oblasti bez pole před kvadrupólovou kolizní celou a třetí detektor byl na konci celého systému. Bylo tedy možno používat MS/MS techniku jak výběrem iontů magnetem, kolizí ve druhé oblasti bez pole a měřením produktů ve třetí oblasti bez pole tak při vysokém rozlišení za použití výběru iontů magnetem a elektrosta-

tickým analyzátořem, provést kolize v kvadrupólové cele a produkty separovat kvadrupólem. Na spektrometru se měřila spektra všech tří typů, tj. spektra produktových iontů, spektra prekurzorů produktových iontů a spektra prekurzorů neutrálních ztrát. Kromě toho se měřila energetická spektra technikou MIKES – Mass Analyzed Ion Energy Spectroscopy.

Spojení GC/MS s kapilárními kolonami se používalo standardně a to i při vysokém rozlišení kdy byla doba snímání spektra nastavena na 1 sec za dekádu.

Po změně politického systému v zemi v roce 1989 přestaly západní země dovoz špičkové techniky ztěžovat a tak byl zastaralý řídicí počítač vyměněn za řídicí stanici Alpha Station. Pozoruhodné bylo, že firma VG Analytical provedla výměnu počítačových systému za půl dne. Nový hardware i software neobyčejně zvýšili efektivitu práce a kvalitu výstupů, nicméně byl systém stále udělán tak, že se ručně nastavily všechny parametry vč. rozlišení, parametrů iontového zdroje a fokusace a potom počítač převzal kontrolu vlastního měření. Řadu základních měření, ale ne všechna, bylo možno dělat manuálně a v případě poruch počítače, což se v případě původního počítače několikrát stalo, bylo možno spektra registrovat na UV-světlo citlivý papír.

Spektrometr ZAB-EQ a jeho příslušenství otevřelo ve hmotnostní spektrometrii novou dimenzi pro strukturní analýzy. Bylo to např. měření netěkavých látek až do hmotnosti cca 6 kDa, které se jinak v EI zdrojích teplem rozkládají, zatímco při FAB a SIMS se dostávají do plynného stavu až ve formě iontů, dále rutinní používání kolizí indukovaných spekter stejně tak jako různých MS/MS technik a měření při vysokém rozlišení i pro FAB měření. Byly tedy studovány struktury takových látek jako jsou např. nukleosidy a jejich modifikace, glykosidy přírodních látek jako jsou např. saponiny a flavonoidy, ekdysteroidy, kobaltové sendviče substituovaných karboranů (cosany) a zejména pak byly měřeny volné peptidy a to až do inzulínů s hmotností kolem 5800 Da.

I když spektrometr ZAB-EQ svými parametry hmotnostní spektrometrii v ústavu významně posunul dopředu, přesto zůstávala řada organických látek tímto přístrojem neanalyzovatelná. Proto byla v roce

2002 zakoupena komplexní hmotově spektrometrická jednotka. Základní částí je hmotnostní reflexní spektrometr REFLEX IV (Bruker Daltonics, Leipzig, D) pracující na principu pulzní ionizace laserem a separace iontů na základě měření jejich doby letu, tj. MALDI/TOF. Způsob ionizace a měřicí rozsah hmotností v řádu desítek až stovek Da umožňuje studium primární struktury proteinů a měření vysokomolekulárních látek jako jsou oligonukleotidy, či sacharidy.

Součástí jednotky jsou dále vyřezávač gelů (angl. spot picker) a štěpící stanice pro analýzu proteinů (Proteiner DP). Oba tyto pomocné přístroje mají svoje řídicí stanice a stanice všech tří přístrojů jsou propojeny. Analýza probíhá tak, že ve vyřezávači se na gelu z dvourozměrné elektroforézy nejprve vyberou proteiny, které je zájem identifikovat a gely se v paměti počítače označí. Toto označení zůstává pro každý protein totožné až do změření ve spektrometru. Následuje automatické vyřezání gelů s proteiny a přenesení do mikroskopu nosiče. Nosiče s vyřezanými gely s proteiny se umístí do štěpící stanice kde je sada chemikálií pro štěpení (štěpící činidlo je obvykle trypsin) a na pozdější měření (matrice) a také nosič s terčíky připravenými na nanesení matrice s jednotlivými proteiny. Štěpení probíhá automaticky po dobu asi 8 hodin. Při enzymatickém štěpení se proteiny štěpí na peptidy s hmotností do 3 kDa. Na konci štěpení jsou směsi peptidů spolu s maticí automaticky naneseny na terčíky nosiče vzorků. Nosič vzorků se umístí do iontového zdroje spektrometru, nastaví se parametry a spustí automatické skenování, které probíhá několik hodin. Získaná spektra se ručně nebo automaticky porovnávají se spektry známých proteinů v různých databázích. Pokud se objeví zcela neznámý protein tak je možno k získání fragmentových iontů použít techniku disociace iontů po opuštění iontového zdroje (angl. PSD – Post-Source Decay) příp. získat větší množství fragmentových iontů zpožděnou extrakcí iontů z iontového zdroje (angl. ISD – In Source Decay) a tím umožnit aby ionty disociovaly již ve zdroji.

Časem se při analýze proteinů ukázalo, že srovnávání spekter peptidů vzniklých štěpení proteinů s databázemi není postačující, protože i rozdílné proteiny mohou poskytnout podobnou směs peptidů. A tak nastupuje Orbitrap.

11. PETR VERNER

HMOTOVÁ SPEKTROMETRIE VE FAKULTNÍ NEMOCNICI UNIVERZITY KARLOVY



Petr Verner se narodil 22. 1. 1953 v Praze a část svého dětství prožil s rodiči v Čínské lidové republice. V Praze absolvoval nejprve SPŠCH, následně obor Analytická chemie na VŠCHT v Praze a konečně obor Farmaceutická chemie na VUFB v Praze. Spolu s MUDr. Hyánkem stál u vzniku Diagnostického centra dědičných metabolických vad VFN Praha kde byl instalován první kompletně počítačové řízený GC-MS Finnigan 1020. V roce 1992–1993 pracoval jako výzkumný pracovník Medical Research Council v Harrow u Londýna. Brzy po návratu nastupuje do komerční sféry kde je u firmy Spectronex (dnes Thermo Fisher Scientific Praha) nejprve zodpovědný za oblast hmotové spektrometrie, později se stává jejím jednatelem.

Oddělení klinické biochemie (OKB) tehdejší FN2 s FP (nyní je součástí VFN Praha) vedl v osmdesátých letech osvěcený lékař Prof. MUDr. Josef Hyánek, DrSc. Původem dětský lékař založil Diagnostické centrum dědičných metabolických poruch (DC DMP) které bylo součástí OKB a sídlilo v budově polikliniky na Karlově náměstí, tzv. kachlíkárně. Prvními analýzami v tomto centru byly analýzy aminokyselin v krvi a moči papírovou chromatografií jako prostředek k určení tzv. aminoacidurií (např. fenylketonurie).

Prof. Hyánek měl v té době řadu kontaktů na podobná pracoviště v zahraničí, zvláště v Holandsku (prof. Wadman, Dr. Duran a Dr. Dorland, Utrecht, prof. Schutgens, Amsterdam) Velké Británii (prof. Chalmers, Londýn, Dr. Fowler, Manchester) a mnoho dalších a sledoval tedy jak se v této oblasti začíná prosazovat hmotová spektrometrie ve spojení s kapilární plynovou chromatografií. Pro ty, kterým HRGC-MS připadá jako rutinní metoda na které není co objevovat připomenu, že v té době se zkoušely rozličné sorbenty pro plněné kolony, zapékaly se stacionární fáze pro zvýšení inertnosti a podomácku vytahovaly první skleněné kapilární kolony. Křemenná kapilára potažená polyimidem, pružná a inertní, byla takovou novinkou, že když jsme



Obrázek 1: MUDr. Josef Hyánek

první z nich pro pracoviště zakoupili a dovezli z kapitalistické ciziny (připomenu i dvouleté objednávací lhůty v plánovaném hospodářství) byl jsem osobně povolán na celní úřad kde na mě rázná celnice drahnou chvíli hulákala jak že si to dovoluji objednat z USA za 300 USD kus měděného drátu.

Prof. Hyánek tedy začal působit na různé státní orgány a vyvíjet snahu instrumentaci HRGC-MS získat. Podařilo se mu to. Pro vysvětlení jen uvedu další důležitou skutečnost – pan profesor pocházel z oblasti

Vizovic a jednou z rodinných tradic bylo pálení vynikající slivovice a její dlouhodobé zrání v sudech zakopaných do země. Dodnes si myslím, že tato rodinná tradice hrála nemalou úlohu v pozdějším instrumentálním vybavení DC DMP.

HRGC-MS instrumentace

Výběr GC-MS byl mezi dvěma kandidáty – výrobci, firmami Finnigan a Hewlett-Packard. Zakoupen byl přístroj Finnigan 1020 (OWA) po důkladném výběru, který probíhal střídavě na pracovišti v Praze a na chatě v Jizerských horách, kde jsem v té době pečoval o svého čerstvě narozeného syna Jonathana. Spojku mezi oběma místy dělala doktorka Běla Stárková, absolventka PŘF UK, která však zastávala na tehdejší dobu velice zásadové postoje vůči lidskému i politickému dění kolem nás, což nemohlo skončit jinak než emigrací. Její stopy se mi ztrácejí kdesi v Austrálii ...

Finnigan 1020 byl prvním komerčním kompletně počítačově řízeným systémem GCMS. Byl to kvadrupolový systém jehož analyzátor byl tvořen cca 20 cm kvadrupolem s kruhovými tyčemi uzavřeným v krásném svařovaném manifoldu, který byl čerpán velkou turbomolekulární pumpou výkonu 330 L/s. Systém dosahoval úctyhodných rozměrů, srovnatelných s menšími sektorovými stroji, a to hlavně díky elektronice a řídicímu počítači. Citlivé technologie obsahoval dvě. Jednak datový disk, který byl kombinací pevného disku (10 MB) a vyjímatelného disku (5 MB) o průměru cca 40 cm (kapacity nad 10 MB tehdy podléhaly embargu). Druhou citlivou technologií byla zobrazovací jednotka – monitor. Monitor Tektronix měl tak jemné rozlišení, že ho kromě GCMS bylo možné použít i v monitorech radarů a v dalších vojenských zařízeních. Schválení prodeje se díky těmto technologiím prodloužilo minimálně o tři měsíce, kdy tajné služby zainteresovaných zemí zkoumaly, zda budou skutečně diagnostikovány nemocné děti a zda Prof. Hyánek není současně plukovník pracující na vojenských projektech. Zkoumání dopadlo dobře a systém dorazil na Karlovo náměstí 32, kde se laboratoře DC DMP nacházely. Z doby instalace si pamatuji pouze stěhování cca 400 kg těžkého přístroje po schodech do prvního patra (výtah byl malý a neměl dostatečnou nos-

nost) a to, že při přípravě laboratoře bylo nutné přestěhovat Pulfrichovy fotometry, které se zde dosud používaly k analýze moči. Větší kontrast mezi technikou historickou a moderní není lehké si představit.

Systém vybavený GC Perkin Elmer umožňoval práci na kapilárních i plněných kolonách, kdy kapilární byly zavedeny přímo do EI iontového zdroje, zatímco plněné využívaly tzv. JET interface. Počítačový systém umožňoval kvantitativní analýzu integrací zaznamenaných píků v rekonstruovaném iontovém chromatogramu (RIC) i identifikaci hledáním v knihovnách. Pro pochopení čím to bylo v té době vyjmečně zmíním, že ještě v té době se píky „integrovaly“ vystřížením záznamu na papíru zapisovače a zvážením tohoto „výstřížku“ a firma Spectra-Physics teprve uváděla na trh jeden z prvních integrátorů, typ 8080, o němž snili chromatografisté mnoha laboratoří, ale hlavně počítačovní nadšenci mezi nimi, neboť umožňoval vytváření jednoduchých programků v jazyce BASIC. Rovněž knihovny MS spekter byly ještě převážně v tištěné podobě.

Knihovnu MS spekter pro náš GC-MS jsme si vytvářeli sami. Měli jsme už sice NIST knihovnu, ale ta měla v té době cca 40 000 spekter a minimum z nich bylo z oblasti biomedicínské analýzy. Díky spolupráci s prof. Chalmersem z Londýna jsme získali MS spektra cca 500 látek, které jsme doplnili vlastními spektry standardů na zhruba 700 látek. Takto získanou knihovnu jsme později poskytli kolegům dál na východ – do Polska a Bulharska, kde se o několik let později rovněž snažili diagnostiku dědičných poruch metabolismu zavést.

Dohnat světovou špičku nebylo v době budování reálného socialismu nikterak lehké. Pro ilustraci uvedu vzpomínku na „studijní cestu“ na spolupracující pracoviště v UK a v Holandsku. Klasická cesta na západ nebyla díky systému povolení a devizových příslibů možná, bylo tedy nutné využít cesty na školení pro nový přístroj v Hemel Hempstead v UK. Školení hradila firma Finnigan, takže ji Ministerstvo zdravotnictví povolilo (nic ho nestála) a abych nejel úplně bez peněz, vybavilo mě na cestu vratnou zálohou ve výši zhruba 5 liber. Školení proběhlo v pořádku, navštívil jsem prof. Chalmerse v Londýně a zamířil po zpáteční cestě vlakem přes Holandsko. Plán byl jednoduchý – návštěva v Utrechtu u prof. Wadmana, následně v Am-

sterodamu u prof. Schutgense. Obhlédnu metodiku GCMS, naučím se co je nového a přivezu to domů s cílem zdokonalit diagnostiku dědičných poruch i u nás. Praktické provedení narazilo na dvě potíže. Jednak jsem měl pouze tranzitní vízum (pro později narozené zdůrazňuji, že i do Holandska se tehdy muselo s vízem) a tedy vízum pouze pro nezbytnou dobu k průjezdu zemí z jednoho konce na druhý. Současně jsem měl v kapse pouze zmíněných 5 liber a za takový obnos ani v Holandsku té doby nebylo možné přenocovat např. ve studentském hostelu. S prvním problémem jsem si hlavu nelámал a jak se později ukázalo, holandský policista byl skutečně někdo zcela jiný než československý policista stejného období. Jedno ze studijních nocování bylo na nádraží v Utrechtu. Bohužel jsem nedocenil skutečnost, že se nádraží v době mezi 1 a 4 hodinou ranní zavírá a místní policisté nádraží kontrolují. Přišli, prohlédli pas i tranzitní vízum, prohlédli mladého vědeckého pracovníka ze socialistické země směřující ke světlým zítřkům – a zavedli mě do policejní kantýny, kde mě nechali zbytek noci dospat a ráno napojili horkou kávou. Se slovy „nejbližším vlakem odjedete domů“ mě pak nechali stát na nádraží samotného a rozhodovat o své nejbližší budoucnosti. Zvážil jsem morální závazek odjet na jedné misce vah proti budoucnosti diagnostiky dědičných chorob v Československu a aplikované hmotové spektrometrie v biomedicíně vůbec na druhé misce vah a připadalo mi, že se váhy výrazně vychylují jedním směrem. Vrátil jsem se tedy do laboratoře prof. Wadmana a pokračoval v získávání zkušeností. Druhá noc, tentokrát v parku, byla bez dramatických okamžiků a nikdo, kromě psů na vycházce, si mne nevšiml. Nabit zkušenostmi jsem se rozjel zpět do vlasti „roztáčet kola pětiletky“ a kromě nepříjemného setkání s podstatně tvrdšími německými policisty na nádraží ve Frankfurtu nad Mohanem (opět přespání na nádraží) se již nic dramatického nestalo.

Mezinárodní kontakty

Hmotová spektrometrie aplikovaná v biomedicíně se v DC DMP brzy dostala na úroveň srovnatelnou s obdobnými pracovišti v zahraničí. Určitě k tomu přispívaly kontakty s komunitou „hmotníků“ v zahraničí. Již v roce 1988 (před revolucí) se díky kontaktům Dr. Rysky podařilo získat finanční podporu k účasti na IMSC v Bordeaux

ve Francii, které jsem se zúčastnil spolu s Dr. Ryskou, ing. Korunou a několika dalšími zástupci Československa. Tato účast pak bez přerušení pokračovala dále, tj. 1991 Amsterdam, 1994 Budapešť, 1997 Tampere, 2000 Barcelona, 2003 Edinburg, 2006 Praha a 2009 Brémy.

Kromě odborných novinek, zkušeností a kontaktů si člověk domů přivážel i nezapomenutelné zážitky, z každé konference jiný. V Bordeaux dominovaly, jak jinak, zážitky spojené s vínem. Součástí konference byl kurz degustace vína a vystavující firmy se předháněly v tom, kdo vybere lepší vinařský zámeček pro společenský večer. Z Amsterdamu se mi do paměti vryly dvě vzpomínky. Jednak zahajovací večírek v Rijks muzeu, kdy hmotoví spektrometristé z celého světa popíjeli víno a ukusovali slané tyčinky pod důstojným pohledem významných historických postav, jejichž obrazy v nadživotní velikosti zdobí vstupní halu muzea, kde večer probíhal. Druhou vzpomínkou je nezapomenutelný pohled, který bylo možné vidět každé ráno v amsterodamském kempu, kde jsme s několika dalšími účastníky z Československa bydleli ve stanech (na hotel v té době ještě nebylo). Nad kempem svítalo, všude se válela mlha a do ranního oparu se ze stanů vynořilo několik postav v černých oblecích s kravatou a odebralo se na vědeckou konferenci.

Významnou byla i Budapešťská IMSC – myslím tím ale to, že blízka Praha (krátce po tzv. sametové revoluci) byla pro mnohé zahraniční účastníky takovým lákadlem, že na neformálním setkání po konferenci hostil Novoměstský pivovar v Praze takové množství špičkových hmotových spektrometristů, jaké do té doby naše končiny nepoznaly, mj. F. McLaffertyho, G. Cookse, E. Gelpiho, N. Nibberinga a řadu dalších, celkem více než 25 zahraničních MS špiček.

Edinburg překvapil zcela jiným zážitkem, který se pochopitelně týkal místní whisky. Ing. Novák právě v době konference slavil své narozeniny a za důstojnou oslavu považoval ochutnávku rozličných druhů whisky, které nabízela jedna z místních restaurací. Česká výprava však místní překvapila – když jsme po oslavě z restaurace odcházeli, zela vitrína, kde byly lahve whisky vystaveny, prázdnotou a personál restaurace nás vyprovázel úklonami a obdivem. Nejsem si však dodnes jist, zda nás nepovažovali za ruské bohatýry.

Samostatnou kapitolou byly firemní akce, pořádané výrobci MS instrumentace. Bordeaux – večírky s ochutnávkami vína, Amsterdam – společenské akce na lodích, Tampere – jak jinak než sauna, Brémy – muzeum vědy. I to dotvářelo kolorit těchto konferencí a přispívalo k jejich oblibě. Je dobře, že stejný důraz na společenskou stránku věci kladou i pořadatelé škol MS u nás.

12. FRANTIŠEK TUREČEK

POHLEDY ZPĚT NA DĚNÍ KOLEM
HMOTOVÉ SPEKTROMETRIE V ÚSTAVU
FYZIKÁLNÍ CHEMIE A ELEKTROCHEMIE ČSAV
V 70.–80. LETECH



František Tureček (nar. 14. 4. 1950 v Praze) studoval organickou chemii na Přírodovědecké fakultě UK (1968-1973), kde pak pokračoval v aspirantském studiu dokončeném obhajobou kandidátské práce v r. 1977. Po absolvování vojenské služby v témže roce nastoupil jako vědecký pracovník do Ústavu fyzikální chemie a elektrochemie Jaroslava Heyrovského ČSAV. Oborem jeho vědecké práce byla fyzikální organická chemie a hmotnostní spektrometrie s aplikacemi na objasňování struktur přírodních látek a syntetických organických molekul, přípravu vysoce reaktivních molekul a studium fragmentačních mechanismů iontů v plynné fázi. V r. 1981 absolvoval roční post-doktorandskou stáž na Cornell University v laboratoři prof. McLaffertyho a v r. 1984 strávil 4 měsíce na Ecole Polytechnique ve švýcarském Lausanne. V r. 1987 emigroval s rodinou a po 10-měsíčním pobytu v rakouském uprchlickém táboře dorazil na Cornell University jako post-doktorand a posléze lektor. Od r. 1990 je profesorem chemie na University of Washington ve Seattlu, kde 15 let vedl katedru analytické chemie. Obor jeho vědeckých zájmů sahá od chemické fyziky a studia reakčních mechanismů přes vývoj přístrojové techniky až po lékařskou diagnostiku vrozených metabolických poruch u dětí. Publikoval přes 360 vědeckých prací, 3 knihy a je držitelem několika patentů. Je organizačně činný v Americké společnosti pro hmotnostní spektrometrii (ASMS) a čestným členem České společnosti pro hmotnostní spektrometrii.

V době, kdy jsem se seznamoval s hmotovou spektrometrií, nebyla tato metoda v tehdejší Československu ještě velmi rozšířena. Nutno předeslat názvoslovně, že v tu dobu nebylo ještě slovo hmota vyčleněno pro striktně filosoficko-marxistické používání a novotvar “hmotnost” se snad ještě ani nezačal klubat v hlavách sykofantů režimu. Je proto na místě v tomto vyprávění používat historicky platný výraz hmotový spektrometr, hmotová spektrometrie a tak podobně.

Počet pracovišť, která měla “hmotník” či “hmoťák” na organickou analýzu, byl v časných 70. letech 20. století omezen. V Praze byly hmotové spektrometry na ústavech ČSAV a na Vysoké škole chemicko-technologické, v Bratislavě pak na technice a posléze i v Chemickém ústavu Slovenské akademie věd. Tím byl omezen i počet vědců, kteří se hmotovou spektrometrií zabývali a používali ji k vlastnímu výzkumu. Snad neuškodí podat malý, byť nejspíše neúplný výčet.

Na Ústavu fyzikální chemie a elektrochemie J. Heyrovského ČSAV to byli Dr. Vladimír Hanuš, zakladatel československé hmotové spektrometrie, jeho žák Dr. Zdeněk Dolejšek a dále pak chemičtí fyzikové Dr. Vladimír Čermák a jeho žák Dr. Zdeněk Herman. Hanuš tehdy provozoval sektorový spektrometr sovětské provenience, model MCH-1303. Byl to stroj s magnetickým analyzátozem a jednoduchou fokusací, jenž Hanuš velmi podstatně vylepšil a opatřil napouštěcím systémem pro přímý vstup málo těkavých vzorků do iontového zdroje. Dalším vylepšením byl fotonásobič typu Bernhardt-Schütze a perový zapisovač Honeywell s přeběhem škály za 0,2 vteřiny, kterým se zaznamenávala spektra. Tento stroj byl umístěn v poměrně malé laboratoři, kterou prakticky úplně zaplňoval. Stroj obsluhoval Hanuš a jeho laborantka, milá paní Yveta Peřinová. O ÚFCHE JH bude ještě mnohem více řečeno v dalším, takže tolik zatím jen na úvod.

Ústav organické chemie a biochemie měl v tu dobu špičkový hmotový spektrometr AEI MS-902S, což byl sektorový stroj s dvojitou fokusací a vysokou rozlišovací schopností hmot. Stroj sloužil vesměs k analytickým účelům a objasňování struktury přírodních látek. Oddělení hmotové spektrometrie na ÚOCHB vedl ing. Ladislav Dolejš, jemuž sekundoval ing. Karel Ubik. Stroj byl zakoupen v r. 1969 nebo

1970, údajně jako jeden z posledních ředitelských počínů akademika Františka Šorma, než byl zbaven funkce.

Další sektorový stroj s dvojí fokusací, AEI MS-9, byl na Ústavu makromolekulární chemie, kde do poloviny semdesátých let vládl hmotově-spektrometrické laboratoři Dr. Miroslav Ryska. Podobný stroj byl i na Vysoké škole chemicko-technologické, kde tehdy působili ing. Vladimír Kubelka s ing. Jiřím Míterou. Další stroj s dvojí fokusací a obráceným pořadím elektromagnetu, který předcházela elektrostatičkému analyzátoru, typ Varian MAT-311A, byl na Mikrobiologickém ústavu ČSAV, kde ho provozoval Dr. Jindřich Vokoun. Koncem 70. let pak Dr. Ryska přešel na Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii, kde založil nové oddělení hmotové spektrometrie, které provozoval spolu s ing. Ivanem Korunou. Tato laboratoř byla tuším vybavena strojem s kvadrupólovým analyzátozem hmot, až o pár let později si pořídila sektorový spektrometr sovětské proveniencie a nevalné kvality, zvaný "Ivan".

Pokud se nemýlím, mezi Prahou a Bratislavou se organická hmotová spektrometrie v podstatě neprovozovala s výjimkou pardubického ing. Matouška, který měl hmotový detektor na plynovém chromatografu. V Bratislavě na Vysokém učení technickém měli sektorový stroj s dvojí fokusací, AEI MS-902, kterému šéfoval ing. Ján Leško a kde pracoval ing. Tibor Jakubík. O pár let později dorazila hmotová spektrometrie i na SAV, kde pracoval ing. Vlado Kováčik na japonském stroji s dvojí fokusací od firmy JEOL, typ D-300. Ještě zmíním, že o pár let později zásluhou ing. Petra Vernera dorazila hmotová spektrometrie i do klinické laboratoře 1. fakultní nemocnice v Praze.

Mé seznámení s hmotovou spektrometrií bylo, jako ostatně řada jiných věcí, zcela nahodilé. Na přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy, kde jsem studoval chemii a pracoval na diplomové práci, hmotová spektrometrie zavedena nebyla a ani se v podstatě na katedře organické chemie nevyučovala v rámci kurzu o metodách strukturní analýzy. Hmotová spektrometrie a interpretace spekter s fragmentací iontů tam měla pověst jakési zázračné černé magie. Měla-li tuto pověst mezi chemiky, je snadné a humorné si představit, jakou pověst asi požívala mezi biology na MBÚ a jinde. K mému seznámení s hmotovou spektrometrií

tedy došlo díky tomu, že spolupracovník Dr. Hanuše, jistý ing. Šilínek, se blížil důchodovému věku a Hanuš hledal náhradu mezi organickými chemiky. Podnětem bylo i to, že se Hanušovi podařilo prosadit koupi nového hmotového spektrometru s dvojí fokusací a tím zdůvodnit potřebu další kvalifikované síly na obsluhu. Ježto se ale vědců s potřebnou kvalifikací nedostávalo, bylo potřeba někoho vyškolit v rámci doktorského, nebo jak se to tenkrát nazývalo, aspirantského studia. Zádrhel byl v tom, že Hanuš byl v bolševické klatbě, takže nemohl být oficielním školitelem a také ČSAV tehdy neměla statut školícího pracoviště. Hanuš se proto obrátil na prof. Aloise Vystřčila, kterého znal již od dob 2. světové války, kdy oba pracovali ve Frágnerově továrně na léčiva. Hanuš tam byl jako elév v laboratoři vedené Dr. Karlem Wiesnerem, kde jako první izolovali český penicilin. V době tohoto příběhu byl Vystřčil vedoucím katedry organické chemie na přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy a jeho šefovská kancelář sousedila s laboratoří, kde jsem provozoval diplomovou práci pod vedením doc. Miloše Procházky. Obě místnosti nejen že sousedily, ale byly i spojeny nepřítli těsníci dveřmi, které byly zrádně zastavěny skříněmi. Má diplomová práce vyžadovala přípravu značného množství těkavých thiolů od methylmerkaptanu po tert.-butylmerkaptan, které se daly jen těžko utajit, hlavně pak při likvidaci zbytků po reakci. Tím docházelo k častým kontaktům s prof. Vystřilem, který při každém závanu thiolu rozlíceně vrazil do naší laboratoře, aby mi, stále v běhu a s nejméně jednou kouřící cigaretou v ruce či ústech, vynadal a pak rychle zmizel, neboť koncentrace thiolu v naší laboratoři byla obvykle ještě vyšší než u něj v kanceláři. Tím se asi stalo, že když se na něj obrátil Hanuš, vzpomněl si Vystřčil na mne a Hanušovi mne doporučil. Byl jsem tedy přijat na vědeckou aspiranturu na PřFUK v oboru organická chemie pod vedením prof. Vystřčila. Téma kandidátské práce vybral Hanuš a já si vyprosil, že budu pracovat nadále v laboratoři doc. Procházky, kde tehdy vládl laskavý Dr. Miloš Paleček. Do laboratoře hmotové spektrometrie v Máchově ulici jsem tehdy docházel za měření vzorků, které jsem syntetizoval na PřFUK.

První kontakty s Dr. Hanušem byly ohromující. Hanuš znal mnoho z hmotové spektrometrie, a to jak z fyzikálních principů, tak i z přístrojové techniky, vždyť v padesátých letech postavil spolu s kolegy první hmotový spektrometr ve střední Evropě. Navíc měl Hanuš

ohromné znalosti z elektrochemie a klasické fyzikální chemie. Byl to výsledek jeho skvělého intelektu, vynikajících učitelů jako byli Heyrovský, Brdička, fyzik Trkal a další, a nesmírné zvědavosti o vědeckém dění v okolí. Je třeba připomenout, že v 60. letech byl tehdejší Ústav fyzikální chemie vědeckou institucí skutečně světové úrovně. V letech 1968-69 sice řada špičkových vědců emigrovala, ale tvořivý duch vědeckého bádání žil v Máchovce nadále i v 70. a až do 80. let a vytvářel z tohoto bývalého útulku pro přestárlé slečny unikátní místo s výrazným geniem loci, neseným lidmi jako byl Hanuš, Čermák, Herman, Mach, Antropiusová, Zahradník, Pancíř, Čárský, Tomášek, Fingerland, Erdős, Knor, Jírů, Wichterlová a další.

Konec epochy spektrometru MCH-1303

Vzorky se do r. 1974 měřily na spektrometru MCH-1303, zvaném rovněž Ivan. V malé laboratoři vedle vrátnice se musel směstnat Ivan, který vyplňoval většinu místnosti, s paní Peřinovou a peripatetickým Hanušem, kteří se pohybovali v necelý metr široké uličce mezi konzolou stroje a psacími stoly se skříněmi. Ivan měl výše zmíněný přímý vstup do iontového zdroje, který byl první svého druhu a umožňoval měření hmotových spekter málo těžkých organických látek. Tento "direct inlet" sestrojil Hanuš již začátkem 60. let a patřilo mu tedy světové prvenství. Bohužel měl ale Hanuš značnou nechuť k psaní vědeckých publikací, jak jsem se měl záhy přesvědčit. Díky této nechuti byl Hanušův direct inlet publikován pozdě a, pro mne zcela nepochopitelně, ve velmi obskurním sovětském časopisu, takže zůstal vědecké veřejnosti utajen. Přímý vstup byla malá pícka, do které se vkládala skleněná kapilára se vzorkem. Pevné vzorky se dávaly do kapiláry na jednom konci otevřené, ale daly se tak dávkovat i poměrně těžké kapaliny, pokud se kapilára v mikrokahánku vytáhla do velmi tenkého fousu, který omezoval rychlost vypařování. Pícka s kapilárou byla umístěna na vakuové přírubě, která se musela k plnění vzorku odpojit od iontového zdroje, takže bylo nutné zavzdušnit velkou část vakuového systému a pak ho zase před měřením vyčerpát na vysoké vakuum. Takto se daly udělat zhruba 2 vzorky denně, což na tehdejší průstup stačilo.

Počátek epochy spektrometru JEOL D-100

V r. 1974 tedy měl dorazit nový hmotový spektrometr, výrobek japonské fy JEOL, model D-100. Pro stroj byla vyčleněna sklepní místnost pod ústavní knihovnou, kterou bylo nutno přebudovat, prorazit okna, zavést proud, položit podlahu, atd. Vzhledem k tomu, že tehdejší zednictvo nebylo zrovna pracovité a práce se vlekly, Hanuš a občas i já jsme vypomáhali jako pomocní dělníci, hlavně při vynášení stavebního odpadu ven na ulici, což bylo dokumentováno fotografií Hanuše, takto bývalého ředitele ústavu, s putnou odpadních cihel na zádech. V nové místnosti s hmotovým spektrometrem nebylo dost místa pro jističe proudu, které byly proto umístěny ve sklepě vedlejšího obytného domu v Máchově ulici č. 5. Naneštěstí se ten sklep často zaplavoval spodní vodou a musel být opatřen vodoměrem a sacím čerpadlem. Výpady proudu byly časté.

Nový JEOL D-100 měl výrobní číslo 003, dnes by se řeklo beta verze, a byl pořízen se značnou slevou. Instalace stroje v Máchovce byla velká událost, na kterou se chodila dívat řada kolegů ze všech pater ústavu. Zároveň to byl konec zaměstnanosti paní Peřinové, která se s novým strojem nespřátelila a brzy z ústavu odešla. JEOL D-100 byl sektorový stroj s dvojitou fokusací a velmi zajímavou iontovou optikou tzv. virtuálního obrazu, navrženou v Japonsku prof. Matsudou. Tato optika sestávala z toroidního elektrostatického analyzátoru, který poskytoval velmi neobvyklou fokusaci iontů v rovině kolmé na rovinu pole. Volbou rozdílných poloměrů křivosti toroidních pólů pak analyzátor fungoval jako rozptylka, čímž vytvářel virtuální předmět pro kompenzaci rychlostního rozptylu iontů vstupujících do magnetického analyzátoru. Virtuální předmět byl předsunut hluboko do elektrostatického analyzátoru, čímž se podstaně zkrátila optická dráha a zlepšila transmise iontů. Přes své malé rozměry měl tento spektrometr specifikovanou rozlišovací schopnost okolo 10000, kterou jsme občas překonali, byl-li jak stroj tak, operátor dobře naladěný. Stroj byl nadto opatřen plynovým chromatografem s plněnými kolonami a tryskovým separátorem typu Becker-Ryhage. Neměl ale vakuové pumpy s dostatečnou čerpací kapacitou k tomu, aby zvládl iontový zdroj s chemickou ionizací, takže spektra se měřila výhradně po ionizaci nárazem elektronu.

Analýza životního prostředí

Jedním z důvodů pro vyčlenění fondů na koupi stroje bylo to, že bude sloužit aplikacím v analýze znečišťování životního prostředí. To bylo v tu dobu opravdu ořesné, jak v kvalitě ovzduší tak i vod. Zvláště kritická a neutajitelná situace se vyvinula v ústecké kotlině, kde za určitých klimatických podmínek docházelo k tvorbě žlutavě-zelených par tzv. ústeckého smogu. Ten navíc měl výrazně slzotvorné účinky, které vadily i tam sídlícímu krajskému výboru KSČ. Podezřelým původcem smogu byl Spolek pro chemickou a hutní, což byl konglomerát továren vyrábějících produkty těžké chemie jako chlor, chlorované organické sloučeniny, ethylenoxid a další. Spolek byl historicky umístěn přímo ve středu Ústí nad Labem a zčásti na ostrově v Labi. Hanuš si tedy dal za úkol použít nový hmotový spektrometr s plynovým chromatografem (GCMS) a s jeho pomocí analyzovat emise z fabriky a určit tu slzotvornou složku, v čemž mu pomáhal Zdeněk Dolejšek. Nechali si u ústavního sklářského velmistra Josefa Šaňka vyrobit cyklonové lapače a vypravili se do Ústí pro vzorky atmosférických zplodin. GCMS odhalilo, že nalapané vzorky byly vesměs divokou směsí chlorovaných olefinů, etherů, epoxidů a dalších látek. Pomáhal jsem s interpretací spekter, kde se jako jedna, byť i jen málo zastoupená složka ukázal chlorid kyseliny chlorakrylové, Cl-CH=CH-COCl nebo $\text{CH}_2=\text{CClCOCl}$. Ty jsem dobře znal z dob své diplomové práce a věděl jsem, že jsou to velmi účinné lachrymátory. Tato složka byla nalezena v lapači umístěném v blízkosti jednoho z provozů a Hanuš jako správný vědec nelenil a chystal se vydat zpět do Ústí, aby získal nové vzorky, reprodukoval měření a napsal závěrečnou zprávu. Předtím ale kontaktoval činovníky v Ústí, kteří, když se dozvěděli předběžné výsledky naší analýzy, tak promptně Hanušovi a Dolejškovi zakázali přístup do objektu. Hanuš napsal obširnou zprávu o našich analýzách, která se pak ztratila někde na ministerstvu. To byla tedy první a poslední aplikace našeho GCMS k analýze životního prostředí.

Jak se měřila hmotová spektra

Na tomto místě bude myslím zajímavé popsat, jakým způsobem se v tu dobu měřila hmotová spektra. JEOL D-100 měl, jako snad první hmotový spektrometr v Československu, počítačový systém pro automatický sběr dat. Celý systém byl ale značně nešikovný. Sestával z centrální procesní jednotky (CPU) od fy Texas Instruments, která měla závratnou paměť o 16 kilobitech (to “kilo” není překlep). Problém byl v perifériích, jejichž dovoz do zemí RVHP byl tehdy embargován. Vstup softwaru byl tedy z magnetofonové kazety a driver převodníku se musel ručně nabootovat v hexadecimálním kódu pomocí přepínačů umístěných přímo na CPU. Výstup byl pak na řádkovou tiskárnu, která chrllila záplavy papíru. CPU a převodníky byly instalovány ve dvou skříňových konzolách o rozměru dnešního superpočítače Cray. Celé zařízení mělo dosti značnou spotřebu proudu, takže vyžadovalo složitý rozvod chladicího vzduchu. Chlazení bylo zřejmě poddimenzováno a větráky byly hlučné, takže si od Hanuše vysloužily pohrdlivou přezdívku “hučák”. Ovládání celého systému bylo svěřeno ing. Ladislavu Hládkovi, který do tajů tohoto zařízení s elánem pronikl a udělal nám instruktážní kurs. Hanuš rychle usoudil, že počítač pro něj není, takže “hučák” snad ani jednou nepoužil a starostlivě se mračil, když jsem ho později používal na měření ionizačních potenciálů. Spektra se tedy zaznamenávala na role suchého fotografického papíru, kde byly stopy zapsány paprsky ultrafialového světla ze tří galvanometrických zrcátek. Papír se vyvolával expozicí v tlumeném světle, takže laboratoř většinu času tonula v přítmí, aby se zaznamenaná spektra nekazila.

Další specialitou bylo, že škálu hmot bylo nutno přiřadit manuálně, t.j. začít od pozadových píků vody, dusíku a kyslíku při m/z 18, 28 a 32 a pak dobře nabroušenou tužkou odškrtnat hmoty po jedné, až se člověk dopravoval do několika set podle potřeby. To se muselo dělat v každém naměřeném spektru. JEOL měl sice kvadratickou funkci pro skenování magnetického pole, $B \approx \sqrt{t}$, tak aby škála hmot byla lineární v čase, ale tato závislost byla jen přibližná a nedala se spolehlivě extrapolovat. Fotografický papír byl z dovozu, což šetrného Hanuše vedlo k tomu, že se spektra zaznamenávala co možná nejhustěji, asi tak 100 hmotových jednotek na 5 cm. Dnes už je těžké si představit, že jedno

měření GCMS atmosférických vzorků či jiných komplikovaných směsí obnášelo desítky spekter, jimž bylo nutno jednotlivě a manuálně přiřadit škálu hmot. Ostření tužek bylo tedy v laboratoři častou činností.

Zákazníci a vlastní výzkum

Provoz laboratoře sestával ze dvou činností. Jednou, a to u Hanuše hlavní činností, bylo měření spekter vzorků dodaných kolegy a spolupracovníky. To byl v tu dobu dost obvyklý způsob provozu, neboť hmotových spektrometrů bylo málo, jejich ovládání vyžadovalo, aby operátor byl dobře vyškolen, a chemická veřejnost nebyla erudovaná v interpretaci spekter. Hanuš měl ohromnou reputaci, což se projevovalo zástupy “zákazníků”, kteří dodávali vzorky, občas nevalné kvality, ke změření a interpretaci spekter. O každé analýze se psala podrobná zpráva pro zákazníka a průklepové kopie se archivovaly. Nutno říci, že měření byla zdarma a pokud se vyvinula ve spolupráci, občas z toho byla společná publikace. Okruh zákazníků byl vskutku široký, některé jsme s Hanušem sdíleli, jiní měli spolupráci jen s jedním z nás. Asi nejtrvalejší a nejplodnější spolupráci jsme měli se skupinou Dr. Karla Macha v ÚFCHE JH, která se zabývala homogenní katalýzou a proslavila se objevy několika nových cyklizačních reakcí olefinů. Měření pro Karla sestávala často z analýz GCMS. Kromě toho se zajímal o titanové hydridové katalyzátory typu Ziegler-Natta, které ale byly extrémně citlivé na kyslík a muselo se s nimi pracovat buď ve vakuu nebo v inertní atmosféře. Hanuš proto vymyslel systém, jak takové vzorky dávkovat přímým vstupem z atmosféry do hmotového spektrometru. Z mnoha dalších mimoústavních spoluprací vzpomenu na ing. Jana Kopeckého, který se zabýval fotochemií, toxikologa doc. Bedřicha Chundelu, skupinu doc. Sovové z farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové, kde se zabývali izolací přírodních látek z rostlin, a ing. Jana Světlíka z Bratislavy, který se zabýval organickou syntézou heterocyklických sloučenin. Moje spolupráce se formovaly většinou generačně z okruhu organických chemiků, se kterými jsem se seznámil na konferencích “Pokroky v organické a farmaceutické chemii”, jež se konaly každý podzim na zámku v Liblicích. Tak se vyvinula dlouhodobá spolupráce s ing. Pavlem Kočovským a posléze i s další-

mi členy týmu chemie steroidů na ÚOCHB, jako byli Pavel Drašar, Ivan Černý, Vladimír Pouzar a senioři Václav Černý, Jiří Joska a Jiří Fajkoš. Další spolupráce byly s kolegy z Výzkumného ústavu farmacie a biochemie (Josef Hájíček a Jan Trojáněk), z resortního ústavu hygieny a epidemiologie (Jaroslav Mráz) a s mnoha dalšími.

Vlastní výzkum v Hanušově laboratoři byl v době, kdy jsem tam nastupoval, veden pod názvem “Objasňování struktury organických sloučenin”, což spočívalo ve výše uvedených spolupracích. To se změnilo mou disertací, která se zabývala mechanismem retro-Diels-Alderova štěpení iontů v plynné fázi, t.j. v hmotovém spektrometru. Tento výzkum se později rozvinul do obecnějšího tématu stereochemie rozpadů organických iontů, kde jsme zavedli pojem stereoelektronických efektů jako řídicího reakčního principu. Tam se záhy ukázalo, že experimentální výsledkům a měření prahových energií by velice prospěla kvantově-chemická interpretace. Bylo velikým štěstím, že tento projekt zaujal ing. Jiřího Pancíře, což byl žák doc. Rudolfa Zahradníka a jeden z nejtalentovanějších teoretických chemiků té doby. S Jiřím jsme vypracovali mechanistickou teorii iontových rozpadů, která se opírala o výsledky jeho nové výpočetní metody, tzv. topologické molekulární orbitální teorie. Velkým přínosem pro tento základní výzkum byla i nová elektronika, kterou v polovině 80. let vyvinul a postavil další člen týmu hmotové spektrometrie doc. ing. Miroslav Pacák. Byl to jednak nový napájecí vysokonapěťový zdroj, který umožňoval detekci tzv. metastabilních iontů, a dále pak přesný digitální voltmeter, který umožňoval kalibrovaná měření nízkých a prahových potenciálů v iontovém zdroji udržovaném na vysokém napětí.

Zázrační technici pánové Josef Protiva, Josef Šaněk a František Zahradník

Začátkem 80. let jsem zahájil nový výzkumný program na generování a detekci vysoce reaktivních meziproductů chemických reakcí. To si vyžádalo konstrukci nových zařízení, což zde budiž dobrým důvodem, abych se zmínil o úžasné technické podpoře, které se nám dostávalo od našich kolegů z dílen. Pan Josef Protiva byl nesporná a uznávaná hvězda mechanické dílny v Máchovce. V době, kdy jsem

nastupoval, už nejspíše přesluhoval, ale byl ctěn všemi v oddělení hmotové spektrometrie a právem považován za nenahraditelného. Ocituji volně výrok Dr. Hermana, “pane Protivo, kéž by Vám Pán Bůh ruce pozlatit ráčil...” Ruce pana Protivy se přitom vůbec nepodobaly rukám eskamotéra, prsty měl spíše jako takové buřtíky. Ale uměl! Jako příklad uvedu konstrukci mikropícky, kterou jsem si vymyslel pro nový výzkumný projekt. Byla to napouštěcí a pyrolýzní sonda, která používala ke vstupu vakuovou propust spektrometru JEOL. Pan Protiva nejenže perfektně vysoustružil a svařil vakuové součástky a sestavil kompletní sondu, ale i navinul bifilární topné vlákno platinového drátku o průměru 0,04 mm na křemennou kapiláru a pokryl ji několika vrstvami slídové izolace. Když mi to přinesl do laboratoře, tvářil se trochu nasupeně a radil mi, abych to hned nerozbil, že už to nechce vzít do rukou. To bylo významné, protože pan Protiva byl velice hodný člověk veselé mysli a jeho nepřiliš dobrá nálada v tu chvíli signalizovala, že mu ta věc dala zabrat. Pícku jsem záhy a pak ještě několikrát opakovaně spálil, ale to už jsem se neodvážil jít za panem Protivou a naučil jsem se ji převinovat sám. Nejhorší krok celého i jinak obtížného postupu bylo napojení tenkého topného platinového drátku, který byl sotva vidět pouhým okem, na silnější platinové přívody. Nakonec jsem to, po poradě s panem Protivou, vyřešil tak, že jsem ze zlatého drátku vytepal tenký plíšek asi 2×2 mm velký, který jsem přeložil do V jako jakousi stříšku, kterou se překryl ten tenký drátek omotaný okolo toho silnějšího. Pak to člověk vzal a mikrokaňkem nasazeným na sklářskou pistoli s kyslíkovým plamenem to zlato opatrně roztavil tak, aby spojilo platinu, ale aby se přitom nespálil ten tenký drátek. Muselo se to dělat s hodinářskou lupou vsazenou v jednom oku zaostřeném na to pájené místo, zatímco druhým okem člověk musel kontrolovat hloubku obrazu, aby do pícky nevrátil kaňkem, což by znamenalo jistou katastrofu. V případě neúspěšného pokusu končícího spálením drátku se musela pícka rozdělat a znovu převinout, což zabralo celý den mravenčí práce.

Křemenné pícky vyráběl na zakázku sklář pan Zahradník na hostivařském pracovišti ústavu. Byly to tlustostěnné křemenné kapiláry o vnitřním průměru jednoho milimetru, které byly v jednom místě

zúžené na vnitřní průměr jedné desetiny milimetru, přičemž vnější průměr musel zůstat zhruba stejný, asi tak 3 mm. Pan Zahradník vyrobil asi 10 kousků kapilár, jednu jak druhou, a pyšně mi předváděl, že to zúžení opravdu bylo na 0,1 mm. Do tlusté stěny pak pan Protiva zvenku vyfrézoval mělkou spirálovou drážku, do které se pak bifilárně navinul již zmíněný drátek. Po vyfrézování drážky a před vinutím náš sklář pan Šaněk křemennou součástku natavil přes přechody na skleněnou trubici s vakuovým kohoutem pro napouštění vzorku. Jak nesmírně obtížná byla celá tato výrobní procedura jsem docenil až o něco později, když jsem požádal mistra skláře na švýcarské EPFL, aby mi vyrobil podobnou křemennou kapiláru na náhradní píčku. Podíval se na nákres a prohlásil, že je to technicky neproveditelné. Pánové Protiva, Šaněk a Zahradník byli mistři svých profesí, kteří nejenže dokázali nemožné, ale často přispěli zlepšeními, která byla kriticky důležitá pro úspěch pokusu. Přístroje zhotovené jejich pomocí pak sloužily základnímu výzkumu o vysoce reaktivních intermediátech a měření prahových energií skoro celá 80. léta.

Styky s okolím a zahraničím

V laboratoři hmotové spektrometrie byl živý denní provoz. Jednak přicházeli zákazníci, ohlášení i ti neohlášení. Hanuš navíc měl silnou potřebu verbálně komunikovat a několikrát denně zval lidi z ústavu na čaj a táčky v laboratoři. Styky s ostatními pražskými laboratořemi hmotové spektrometrie byly méně časté. Zpočátku se Hanuš snažil o pravidelné pracovní schůzky, kde by se neformálně diskutovalo o posledních výsledcích ze zúčastněných pracovišť. To ale dlouho nevydrželo, hlavně pro nezájem ostatních, a schůzky ustaly. Měli jsme ovšem častý a přátelsky čilý styk s ostatními členy skupiny hmotové spektrometrie v Máchovce, ke kterým přibyli doktorandi Břěfa Friedrich a Honza Vančura. Skupina byla ovšem oslabena už v r. 1980 předčasným odchodem Dr. Čermáka. Přátelsky kolegiální styky byly rovněž s laboratoří na MBÚ, kde působili Dr. Jindřich Vokoun a ing. Petr Sedmera a kam jsem docházel pro měření metastabilních iontů na spektrometru Varian MAT 311A.

V té době se hmotová spektrometrie začala šířit a do laboratoře hmotové spektrometrie na ÚFCHE JH přijížděli na zaučenou stážisté

z Maďarska, Slovenska a obou německých států. Ještě čilejší styky se zahraničím měla laboratoř Dr. Hermana, takže jsme během těch let v Praze uvítali vědce jako byli prof. Yenchu, Futrell, Pople, Schwarz, Gäumann, Beynon, Talroze a další.

Výjezdy do zahraničí byly v tu dobu velmi omezené. Hanuš navíc cestoval nerad a měl vždy připravené výmluvy i pro cesty na Slovensko, takže jsem za něj zaskočil. V r. 1979 se spojeným úsilím Hanuše, Zahradníka a snad i dalších kolegů podařilo schválit mou cestu na mezinárodní konferenci o hmotové spektrometrii v norském Oslu. Tam jsem opravdu dorazil, ale při registraci mi sdělili, že má platba konferenčního poplatku byla úřadem ČSAV zrušena a místo mne měl přijet někdo jiný, který se ale vůbec neukázal. Situace to byla překérní, protože jsem neměl na zaplacení, ale norští pořadatelé se laskavě slitovali a poplatek mi odpustili, takže jsem se mohl konference zúčastnit. Na konferenci jsem se seznámil s řadou lidí, jejichž jména jsem znal z literatury, namátkou to byli prof. McLafferty, Budzikiewicz, Mandelbaum, Gross, Lifshitz, Meyerson, Nibbering, Harrison, tehdy mladý Dietmar Kuck a další. Mé další cesty do zahraničí v 80. letech byly poněkud méně dramatické, i když měly někdy nepříjemné dohry po návratu, kdy docházelo ke konfliktům s mocí. Ještě zmíním, že v zimě r. 1986 jsme s Hanušem a Mirkem Ryskou cestovali do východoněmeckého Stolbergu na Mass Spektrometrische Tagung pořádané tamnější odbornou skupinou hmotové spektrometrie. Hanuš se nejprve vzpíral jet, ale zahráli jsme s Mirkem na jeho germanofilství, takže si dal říci. Naši němečtí kolegové původně plánovali, aby se konference konala na hradě Stolbergu, ale v poslední chvíli byli vytlačeni místní stranickou buňkou, která se rozhodla si na hradě udělat merendu. Konference a ubytování bylo tedy narychlo zorganizováno v podhradí v malebně zasněženém Hartzu. Zasedalo se a přednášky se konaly v tanečním sále místní hospody. Konference měla moc hezkou kolegiální atmosféru a pro mne byla oknem do minulosti, protože se jí zúčastnilo několik atomových fyziků, kteří byli po 2. světové válce deportováni do SSSR a teprve nedávno, po odchodu do penze, jim bylo dovoleno se vrátit do Německa, ovšem východního. Seděli jsme s Hanušem s nimi u jednoho stolu a byli to nesmírně laskaví gentlemani, kteří toho museli v Rusku mnoho zažít. Bohužel se mi jejich

jména vytratila z paměti a Hanuš, který se s nimi znal, už také nežije. Podle Oleynikova (*German Scientists in the Soviet Atomic Project, The Nonproliferation Review* Volume 7, Number 2, 1 – 30 (2000)) bylo jen v sovětském výzkumném lágru v Sinopu přes 300 německých fyziků a inženýrů.

Závěrem

Z mého pohledu byla 70. a 80. léta v československé hmotové spektrometrii obdobím obnoveného základního výzkumu. Z všeobecně vědeckého pohledu se 70. léta vyznačovala nedostatkem prostředků a materiálu a arogancí moci. Tomuto zlu se postavila intelektuální síla a pospolitost vědců a techniků, kteří za mizerných podmínek vytvářeli zázraky, na které tu vzpomínám. V 80. letech se pak postupně navázaly vědecké styky se zahraničím, které byly přerušeny tzv. normalizací konce 60. a začátku 70. let. Velkou celkovou změnou pak bylo přestěhování ÚFCHÉ JH do nové budovy na Mazance, ale to už jsem nezažil.

13. VLADIMÍR HAVLÍČEK

MOLEKULÁRNÍ STRUKTURA V MIKROBIOLOGICKÉM ÚSTAVU

Vladimír Havlíček za přispění Oldřicha Benady



Vladimír Havlíček, nar. 2. 6. 1967 v Praze, absolvoval VŠCHT tamtéž v roce 1990 obhajobou diplomové práce s názvem „Využití analytického systému GC/MS pro identifikaci vonných a chuťových látek“. Po krátké praxi v průmyslu (Aroma Praha) nastoupil do Mikrobiologického ústavu AV ČR, v.v.i., kde nyní vede Laboratoř charakterizace molekulární struktury (<http://ms.biomed.cas.cz>). V průběhu kariéry měl štěstí na instalace v té době moderních technik hmotnostní spektrometrie (1995: ESI, 1997: MALDI, 2004: FTICR, 2007: DESI, 2008: MSI), ale především na vynikající a schopné kolegy a kamarády, kteří z pracoviště v Krči vytvořili silnou biologickou analytickou baštu. V současnosti V. Havlíček rovněž působí jako profesor na katedře analytické chemie University Palackého v Olomouci.

V dosavadní padesátileté historii MBÚ ČSAV zanechaly instrumentální analytické techniky výraznou čtyřicetiletou stopu. Současná skladba Laboratoře charakterizace molekulární struktury nyní sice zahrnuje tři více či méně provázané skupiny (hmotnostní spektrometrie, jaderná magnetická rezonance a mikroskopie), jejich počáteční vývoj nicméně začal zcela nezávisle a v sedmdesátých i osmdesátých letech běžel paralelně.

1963–1970

Počátek laboratoře skupiny elektronové mikroskopie (EM) je spojen s J. Ludvíkem (*1924), který byl v roce 1963 požádán akademikem I. Málkem, aby vybuodoval v nové budově Mikrobiologického ústavu ČSAV v Krči pracoviště EM. Samotná Laboratoř EM byla založena v roce 1964 jako samostatná metodická laboratoř s výzkumným programem a současně jako referenční a školící pracoviště elektronové mikroskopie v ČSSR. Prvními pracovníky laboratoře byli J. Ludvík, J. Čáslavská (aspirantura), V. Pokorný (technik) a E. Kollárová (laborantka). Do laboratoře dále přibyli I. Trebichavský (aspirantura), J. Martínková (specialistka na ultratenké krájení) a A. Bunterová (technička). Vědecký program laboratoře byl zaměřen na životní cyklus grampozitivních bakterií rodu *Bacillus*, později i streptomycet a hub (*Claviceps*) a studium ultrastruktury toxoplasem a sarkosporidií. Práce na struktuře spor a sporulace bacilů jsou spojeny i s významným objevem „mikrocyklu“ V. Vintra. Přístrojové vybavení bylo založeno na transmisních elektronových mikroskopech brněnské produkce nejprve Tesla BS 242 a později, na tehdejší dobu vynikajícím přístrojem Tesla BS 613 a ultramikrotomech TESLA a později LKB.

Ve stejné době, kdy J. Ludvík zakládal v nově otevřených krčských budovách (podle projektu ing. arch. Ivo Vacíka) laboratoř EM, založil jinou skupinu Zdenko Vaněk, a to Oddělení biogenese přírodních látek. Z. Vaněk byl aspirantem akademika I. Mála a po obhajobě své aspirantury (1956) navštívil některé zahraniční university (mj. v Manchesteru, Clevelandu), kde se seznámil i se spektrálními technikami. Nebylo tedy s podivem, když Z. Vaněk v rámci Oddělení biogenese inicioval vznik fyzikálně chemické laboratoře, která ve svých počát-

cích sdružovala pouze základní spektroskopické absorpční techniky UV a IČ. Každé použití pH metru v těch dobách bylo podmíněno zápisem do pracovního deníku. Laboratoř vedl Jan Suchý a získávání valut na nákup zahraničních přístrojů bylo nesmírně obtížné. Po roce 1968 se vydal Z. Vaněk s tehdejšími nechvalně známými řediteli ústavu Zalabákem k ministrovi zdravotnictví Prokopcovi a žádal ho o finanční příspěvek na nákup japonského spektrometru jaderné magnetické rezonance Jeol FX-60. Ministr po delším vyjednávání souhlasil s jedním milionem korun, ale když na něj Zalabák (řečený Loupežník) vybafl "dej jim dva", tak mu uvolnil dva.

1971–1980

Do laboratoře EM přibyl V. Šnejdar (aspirantura) se specializací na metody mrazového lámání a leptání, a biochemik J. Voříšek se specializací na streptomycety, houby a ultracytochemii. Laboratoř rovněž získala výborný elektronový mikroskop JEOL 100B. Významnou událostí roku 1977 byla 15th Czechoslovak Conference on Electron Microscopy with International Participation, kde byl J. Ludvík generálním sekretářem konference a laboratoř se spolupodílela na organizaci. Portfolio metod laboratoře zahrnovalo i zobrazování plasmidových a řetězových molekul DNA (O. Benada). Koncem sedmdesátých let laboratoř disponovala prakticky všemi klasickými metodami transmisní elektronové mikroskopie a i špičkovým transmisním elektronovým mikroskopem. To logicky vedlo k jejím školicím aktivitám. Významné byly celostátní kurzy, věnované specifickým metodologickým aspektům přípravy preparátů a interpretace dat. Tyto kurzy byly organizovány pod hlavičkou Československé vědeckotechnické společnosti a pokračovaly i v 80. letech. Laboratoř se podílela na kurzech UNESCO pro zahraniční studenty a byla zapojena do projektu „Chlorella“ v rámci mezinárodního výzkumu Interkosmos.

V sedmdesátých letech se paralelně začala rozvíjet skupina strukturních metod pro analýzu přírodních látek, jejímž vedením byl po J. Suchém pověřen Petr Sedmera. Ten přišel z Ústavu organické chemie a biochemie ČSAV v roce 1971 a specializoval se na techniku jaderné magnetické rezonance. Prvním instalovaným zahraničním NMR

spektrometrem byl Jeol FX-60, na kterém se řešily struktury zvláště polyketidů, alkaloidů, mastných kyselin, terpenoidů, steroidů, sacharidů a peptidů. P. Sedmera současně občas obsluhoval i hmotnostní spektrometr Varian MAT311, což v dnešních podmínkách oborové specializace je již nepředstavitelné. Hlavním operátorem hmotnostního spektrometru MAT311 byl ovšem Jindřich Vokoun. Jeho pilotní práce na peptidových námelových alkaloidech se staly klasikou a ukázaly, že i ionizace elektrony se dá s úspěchem použít na některé polárnější látky („jen je potřeba to pořádně ohřát“). Z. Vaněk chápal význam vycestování vědeckých pracovníků, J. Vokouna poslal mj. na stáž do Swansea k prof. Cedricu Hassalovi, zatímco budoucího ředitele Vladimíra Krumphanzla vyslal podívat se na přístroje do Tübingenu, což bylo velmi významné pro získávání další instrumentace. Sektor biogeneze přírodních látek měl v té době již několik desítek kandidátů věd.



Obrázek 1: Jindřich Vokoun se spektrometrem Varian MAT-311 (1972). Foto: Václav Fanta

Petr Sedmera měl při příchodu na MBÚ připravenou kandidátskou disertační práci na téma “Stínící efekty polárních skupin v NMR”, kte-

rou mu však nebylo dovoleno obhájit pro jeho angažovanost v roce 1968. Mezi mikrobiology přišel jako kovaný chemik (měl za sebou i předchozí působení v Ústavu anorganické chemie v Řeži), a to hledači různých „faktorů“ dost potřebovali. Jeho požadavky na čistotu preparátu („sádlo, všude samý sádlo“) možná doháněly některé méněschopné spolupracovníky k šílenství, ale především k odstranění všudypřítomných ftalátů a uhlovodíků. Občas se stávalo, že z unikátního „faktoru“ s nebývalým biotechnologickým významem se vyklubala glukóza nebo poněkud znečištěný síran amonný. Instalované spektrometry Jeol FX-60 i Varian MAT311 dobře charakterizovaly a předvíдалy obecnou ústavní podporu nákladnému přístrojovému vybavení do budoucna. To ovšem bylo využíváno i k propagandistickým účelům (Obrázek 2), což P. Sedmera při exkurzích řešil výkladem „vpravo přístroje, vlevo přístroje, postupujte po koberci dále...“. Petr si to ovšem mohl dovolit. Byl velmi uznávanou a respektovanou osobností, přímočarý, říkal bez obalu, co si myslí, což se řadě lidí kolem nelíbilo. Pro tyto spolupracovníky byl typem přísného a odměřeného člověka hodnotícího nevalnou kvalitu měřených vzorků. Jeho nejbližší ho ovšem znali jako příjemného, vtipného, obětavého rádce, a moc dobře věděli, že jeho přátelské hodnocení „not too bad“ znamenalo „výborně“.

1981–1990

Pro elektronovou mikroskopii tato léta orientovala laboratoř na studium imobilizovaných buněčných systémů (kvasinky, bakterie i houby), ultracytochemická studia enzymatických drah kvasinkových i houbových modelů, ultrastrukturu streptomycet a studium přesmyků plasmidových molekul DNA a interakci specifických ligandů s DNA. Do laboratoře přišel fyzik V. Starý a také O. Kofroňová (aspirantura), která se zpočátku podílela na studiu struktury ribozómů a následně imobilizovaných systémů. Laboratoř rozšířila obor využívaných metod o studium biologických povrchů zakoupením rastrovacího elektronového mikroskopu TESLA BS 300, který obsluhovala právě O. Kofroňová. V polovině 80. let přišel do laboratoře Z. Žižka, který rozšířil vědeckou orientaci laboratoře o studium entomoparazitických organismů a následně pře-

vzal vedení laboratoře po J. Ludvíkovi. V polovině 80. let se pro laboratoř podařilo získat další kvalitní transmisní elektronový mikroskop Philips CM12/STEM s EDAX 9900 EDS analyzátozem. Laboratoř tak byla schopna provádět i prvkovou analýzu preparátů biologického původu.

V paralelní fyzikálně chemické laboratoři nastal instrumentální zlom v roce 1987, kdy ředitel V. Krumphanzl sehnal 1 milion USD a následně byly instalovány spektrometr NMR Varian VXR400 a sektorový hmotnostní spektrometr s dvojitou fokusací Finnigan MAT90, které představovaly v době pořízení skutečnou absolutní špičku a jejichž servis zajišťoval vynikající elektronik Vilém Schön. Ten působil v Mikrobiologickém ústavu od jeho samotných krčských počátků (1964). Pro přístroje byly upraveny nové místnosti v přízemí budovy C, analytický tým opustil Jindřich Vokoun, ke hmotnostním spektrometrům přišli Jiří Zima (v MBÚ od r. 1983) a Jaromír Novák. Nastoupil další NMR operátor (Jan Němeček), byla velmi silná i skupina HPLC separace (Marián Beran, v ústavu od roku 1980).



Obrázek 2: Zaměstnanci MBÚ se sovětskou delegací (1982). Zcela vzadu zleva V. Schön a J. Vokoun. Ve druhé řadě J. Voldřichová, J. Tychtlová, první zprava M. Podojil. V popředí P. Sedmera (třetí zprava), vpravo od něj A. Křemen. Foto: Antonín Volf

O mém zařazení mezi hmotníkáře vlastně rozhodl vedoucí diplomové práce Libor Červený (VŠCHT v Praze), který měl dlouhodobou spolupráci s tehdejší státním podnikem Aroma, do kterého byl pořízen kolem roku 1987 stolní hmotnostní spektrometr HP 5970. Jednalo se o kombinaci plynového chromatografu s kvadrupólem a stroj byl určen k analýze vonných a chuťových látek. Mými konzultanty byly rovněž nesmírně zajímavé osobnosti, jednak Jaromír Novák a Jiří Skalický (budoucí senátor a dvojnásobný ministr). Charisma těchto třech lidí a rovněž velmi specifické zkušenosti z průmyslu, které jsem získal během nestandardních služebních cest do děčínského závodu Aromy a pobytu v pobočkách v Karlíně a Vysočanech, rozhodly o tom, že místo organické technologie, kterou jsem vystudoval, se dál budu věnovat strukturní analýze.

Mezi jiné hmotníkáře jsem poprvé přišel v roce 1990, bylo to na Škole hmotnostní spektrometrie, kterou pořádal Miroslav Ryska v Klučenicích, a to za podpory nezapomenutelné paní Pavly Vampolové ze Spektroskopické společnosti, rtuťovité, pracovité, přísné a noblesní dámy. Nyní ale zpět k Mirkovi: právě díky němu a jeho odborným a společenským aktivitám v té době jsem jako čerstvý absolvent měl možnost poznat řadu jeho kamarádů a předních evropských hmotníkářů osobně (Nico Nibberinga, André Bruinse, Michaela Przybylského, Emilia Gelpího, aj.) a samozřejmě poznat i československou špičku včetně různých plavců-expertů, které tehdy na Slapech na člunech hledal říční oddíl Veřejné bezpečnosti. Taky jsem obdivně sledoval tehdejší mladší vědce (mj. Jana Maláta a Tomáše Vaisara z Ústavu organické chemie a biochemie, kteří mluvili o moderních reionizačních technikách) a s pokorou vstřebával prezentaci Petra Šimka (Entomologický ústav ČSAV) o porovnávání spekter těže látky měřených na několika strojích. V Klučenicích jsem měl i svoji první prezentaci v angličtině, bylo to o ladění HP MSD detektoru a byla to katastrofa: obecně se celou dobu decentně hihňalo, údajně pouze proto, že když jsem nudně popisoval funkci jednotlivých kroků ladícího makra, na zpětném projektoru se po bláně procházela moucha, která fungovala místo laserového ukazovátka.

1991–2000

Počátkem devadesátých let prošla Akademie restrukturalizací a konkrétně MBÚ opustila polovina zaměstnanců. Z elektronové mikroskopie odešel V. Starý na ČVUT. Vedoucím laboratoře EM se stal O. Benada. Kromě personální krize byla první polovina devadesátých let charakterizována i krizí přístrojovou, kdy několik závažných havárií v důsledku stárání strojového parku prakticky zastavilo na téměř dva roky transmisní elektronovou mikroskopii.

K personálnímu propadu došlo i u laboratoře strukturní analýzy, kde odešel J. Novák do firmy Spectronex AG (nyní Thermo), M. Beran později spoluzaložil společnost Quinta, J. Zima odešel (přes zastávku v pražském HPST) do německé pobočky Agilent. Rovněž odešli J. Němeček (po kratším expoze ve firmě Shimadzu zakotvil v Thermo) a MBÚ zakládající pracovník V. Schön (působil v Tesle Ecimex). Právě v době masivního propouštění mě na interní konkurs na místo hmotníkáře pozval P. Sedmera, který nedbal nátlaku některých vedoucích pracovníků („my propouštíme a ty nabíráš“) a získal pro mě smlouvu na dobu určitou, která se pak každoročně prodlužovala. V roce 1991 jsem tedy nastoupil k opuštěnému sektorovému spektrometru s BE geometrií Finnigan MAT90 a z toho, co reálně „zbylo“, vedl P. Sedmera Laboratoř fyzikálně-chemických a matematických metod (Obrázek 3). V laboratoři panovala velmi přátelská nálada, možná proto do ní ráda docházela na návštěvy i řada spolupracovníků z jiných oddělení, a to přesto, že polystyrenové krabice s nápisem „-20°C“, ve kterých vzorky kolegyně přinášely, byly zhusta komentovány, např. slovy jednoho vysokého kolegy „ta teda musí být chladná“, zatímco jiný odborník se omezil na pouhé konstatování o dobře rozlišených dubletech (mumláno do šedivých vousů).

V roce 1991 bylo konečně P. Sedmerovi umožněno obhájit jeho kandidátskou disertační práci. Na té jsem začal pracovat i já a Mirek Ryska se později stal mým školitelem v rámci postgraduálního studia, během kterého mě vůbec nešetřil. Jeho klasické věty byly: „Doktorand ve dne pracuje a v noci studuje. O prázdninách doktorand ve dne pracuje a v noci spí“. K šílenství mě přiváděl škrtáním ne jednotlivých odstavců, ale celých stránek a kapitol „mých“ ruko-

pisů a to mě poznamenalo natolik, že jsem totéž později začal s oblibou dělat svým mladším kolegům, kteří se teď „mstí“ svým vlastním doktorandům. Tehdejší zásahy do rukopisů (ať už od M. Rysky, P. Sedmery nebo V. Hanuše) jsem vnímal jako každý ambiciózní vlčák velmi citlivě (byly to přece Moje publikace a Moje myšlenky). Až s časovým odstupem mi došlo, že prapůvodní myšlenky často chodily právě od mentorů a lidí, kteří mě do svých fungujících skupin nebo jimi vybudovaných laboratoří vzali. Takže v současnosti zažívám spokojené pocity, když vidím, jak se historie opakuje, a slyším, jak si začínající doktorand stěžuje na svého lenivého postdoka, který nejenže málo pipetuje a povětšinou jen kliká myší, navíc chodí do práce později a odchází dřív než on, o víkendových a nočních směnách už vůbec nemluvě.



Obrázek 3: Rozšířené zasedání laboratoře spektrálních metod (1991). Zleva: Veronika Machurová, Jan Němeček, Vilém Schön, Věra Přikrylová, Petr Sedmera, Marián Beran a Miroslav Flieger. Foto: V. Havlíček

Druhá vzpomínka na Mirka Rysku se váže na státní rigorózní zkoušku v roce 1995. Tehdy jsem ho potkal v metru, společně jsme šli na VŠCHT a já během cesty taktně zjišťoval, jaká otázka by tak mohla

padnout. Mírek mi tehdy prozradil, že se zeptá na principy metody PEPICO, na což jsem vykulil oči a Mírek pochopil, že během zkoušky bude stačit, když bude mlčet a o moje znemožnění se už postarají jiní, což se taky stalo. Rigorózní zkouškou rovněž skončilo velmi spokojené období vlastního svobodného bádání a spokojeného měření pro druhé, období, kdy člověk byl zodpovědný jenom sám za sebe a svůj stroj.

V polovině devadesátých let se díky ředitelské podpoře (Jaroslav Spížek, který laboratoř společně se svým vynikajícím tajemníkem Miroslavem Nohýnkem velmi podporoval) instrumentální situace výrazně zlepšila. Byl pořízen elektronový mikroskop střední třídy Philips CM100, který byl již vybaven digitálním záznamem obrazu. V této souvislosti se podařilo opravit i starší Philips CM12/STEM a nahradit nefunkční analyzátor EDAX 9900 novým EDAX DX4. Paralelně byl obnoven hmotnostní spektrometr MAT90 a upgradován na verzi MAT95 (řídící elektronika, kolizní cela pro FFR2, elektrosprej, APCI, nano-ESI). V té době byla laboratoř EM začleněna jako skupina EM do Laboratoře fyzikálních a matematických metod vedené P. Sedmerou. Později, v roce 1997, bylo u VXR-400 NMR spektrometru vyměněno vše kromě magnetu a z přístroje se stala Unity Inova 400. V roce 1997 byl díky podpoře PřF UK (K. Bezouška) pořízen úplně první hmotnostní spektrometr MALDI-TOF do České republiky, jeho operátorem se stal P. Halada, který rozjel jedny z prvních proteomických aplikací. V roce 1999 nastoupil na NMR M. Kuzma, současný vedoucí NMR skupiny. Ukázková spolupráce mezi AV a UK byla dále doložena společnou investicí do iontové pasti Finnigan LCQ-DECA (2000). V témže roce byl proveden upgrade digitálního záznamu elektronového mikroskopu Philips CM100 o moderní slow-scan kameru a laboratoř se tak stala průkopníkem digitálního záznamu v TEM. V témže roce byl Mikrobiologický ústav obdarován Nadací Preciosa jednoduchým rastrovacím elektronovým mikroskopem Aquasem (TeScan, Brno).

Na začátku milénia byl další rozvoj proteomiky umožněn nástupem P. Nováka, M. Šulce a P. Mana. Někteří pracovníci nastupovali na náhradní vojenskou službu, z čehož si utahoval Petr Sedmera komentáři, že v rámci MBÚ jsme laboratoř s nejvyšším počtem modrých

knížek. V roce 2000 tito skoro záložníci uspořádali Informal Meeting on Mass Spectrometry (Hotel Pyramida, Praha). Ten zaujal Grahama Cookse, který se ke konci konference pozeptal, zdali bychom si nechtěli zorganizovat akci ještě jednu, větší. A náhradní vojenští služebníci souhlasili.

2001–2011

Díky ohromné podpoře tehdejší ředitelky Blanky Říhové byla otevřena nově rekonstruovaná ústavní budova U. V ní byl v roce 2004 spuštěn iontový cyklotron Bruker APEX-Q (Obrázek 4) a byly instalovány veškeré mikroskopy, které se do té doby provozovaly v nevhovujících podmínkách suterénu hlavní budovy A. Instalace magnetu nebyla vůbec jednoduchá: první magnet vypadl Lufthanse na letištní plochu (zatímco bedna celá praskla, nákloně a nárazové detektory na bedně vydržely). Při instalaci druhého magnetu postavila specializovaná firma v místnosti lešení, které bylo fixováno mezi betonovou podlahou a stropem. Trochu jsme se báli, že střechu při zvedání odklopíme, ale nakonec došlo jen k prostému hroucení celého lešení (i s magnetem) do strany.

Laboratoři dále prošla řada dalších osobností, z nichž některé založily vlastní významné skupiny (např. doc. P. Kačer, VŠCHT v Praze, prof. M. Holčapek, VŠCHT v Pardubicích). Na institucionální místo nastoupil další proteomik Petr Pompach. Počet zaměstnanců s křestním jménem Petr byl tedy již astronomický, čehož si všimli i zahraniční spolupracovníci. Např. LeeAnn Higgins (tehdy University of Washington) se občas zasněně ptala „How many Peters you actually have?“. Rovněž se zvýšil počet nositelů Wichterleho prémie a převýšil počet modrých knížek. To byla a je zásadní deviza laboratoře, jejíž věkový průměr byl tehdy kolem 30 let.

V roce 2006 se drtivá část členů laboratoře podílela na organizaci 17th International Mass Spectrometry Conference, která proběhla v pražském kongresovém centru za účasti 1900 delegátů. Organizační výbor rovněž tvořila řada předních národních hmotnostních spektrometristů (prof. Z. Herman jako předseda, jako členové pak např. J. Chmelík, J. Hrušák, K. Lemr, M. Holčapek, Z. Zdráhal), akce byla díky ČT me-

dializována a snad vzbudila zájem dalších studentů o obor. Nutnou daní byl dočasný, nicméně markantní, laboratorní publikační propad.



Obrázek 4: Instalace iontového cyklotronu v krčském areálu (2004, foto: V. Havlíček)

Větší provázání a projektová spolupráce s Univerzitou Palackého začala nástupem prof. K. Lemra na částečný úvazek do laboratoře v roce 2007. V témže roce následovala díky podpoře P. Šeba instalace spektrometru Bruker Ultraflex TOF-TOF a dva roky nato byly instalovány NMR spektrometry Bruker Avance III, 400 a 600 MHz. Zde se nabíjení většího z magnetů stalo oblíbenou zábavou celé laboratoře: vědělo se, že při určité proudové hodnotě se šestistovkový magnet neřízeně vybijí (s příslušnými zvukovými a jinými efekty). To se stalo celkem pětkrát, někdy za sledování velkého počtu diváků. Myslím, že v té době měla jaderná magnetická rezonance vůbec nejvyšší počet příznivců z řad poučené laické veřejnosti.

V roce 2008 do laboratoře nastoupil M. Volný, který společně s J. Pólem rozhýbal do té doby stagnující oblasti ambientních technik a hmotnostně-spektrometrického zobrazování. Jejich přínos byl vý-

znamný: vlastním příkladem motivovali ostatní členy laboratoře zasílat příspěvky do lepších časopisů, než bylo doposavad standardní.

Konec páté ústavní dekády byl zkalen odchodem vedoucího laboratoře, analytické legendy a vynikajícího chemika P. Sedmery (zemřel v roce 2010). Konec dekády byl také charakterizován i zhoršeným klimatem v celé instituci. Úředníci měli nepřiměřený vliv manifesto- vaný nárůstem byrokracie, kdy důležitější než vědecký výkon se stalo vypisování denních výkazů práce, kdo kde bydlel a kudy kam jel na služební cestě a komu telefonoval. Servisní aparát se dokonce snažil ovlivňovat projednávání vědeckých otázek v Radě instituce včetně rozhodování o získávání účelové podpory. Naproti tomu ústav i laboratoř solidně obstály v mezinárodním hodnocení.

V roce 2011 se Marek Kuzma stává projektovým manažerem nového projektu operačního programu Praha-konkurenceschopnost, projektu, kde získání příslibu účelové dotace od poskytovatele (Magistrát hl. m. Prahy) byl snad ten nejsnazší úkon. Pokud ale vše dobře dopadne, bude od roku 2013 v krčském areálu uživatelům k dispozici nový spektrometr 700 MHz NMR, 12T FT-ICR i kombinace HPLC-NMR-MS. Budou nadále řešeny proteomické problémy, plánuje se započítí metabolomických experimentů. Stále se avšak nedaří získat dotaci pro nový elektronový skenovací mikroskop s prvkovou analýzou.

Co říci závěrem? Proteomicky se laboratoř během posledních pěti let posouvá od generování prostých seznamů bílkovin k technikám MS3D, rutinně jsou nyní využívány vodík-deuteriová výměna (P. Man), chemické síťování (P. Novák) i biomolekulární NMR s molekulárním modelováním (J. Chmelík). Utvrdil jsem se v názoru, že kvalitu laboratoře netvoří kvalita strojů, ale schopnosti kolegů, kteří pracují na problémech, které si sami vybrali, sami si je řeší a publikačně dokončují. A je jedno, zda se v analytické laboratoři staví nová zařízení (M. Volný), vyvíjí programy (M. Strohalm, D. Kavan), řeší struktury mikrobiálních produktů (M. Kuzma, H. Pelantová), zobrazují tkáň (V. Vidová) nebo provádí základní onkologický výzkum (K. Vališ). Platí ovšem, že dobrá instrumentace více láká zájemce o akademickou práci. Budeme a chceme do budoucna podporovat spolupracující experimentální skupiny a poskytovat jim analytickou

koncovku. Instrumentální techniky tedy v laboratoři ještě chvíli zůstanou společným jmenovatelem. A pokud v rámci toho všeho (Obrázek 5) bude v laboratoři působit aspoň pět docentů, budu jenom rád.

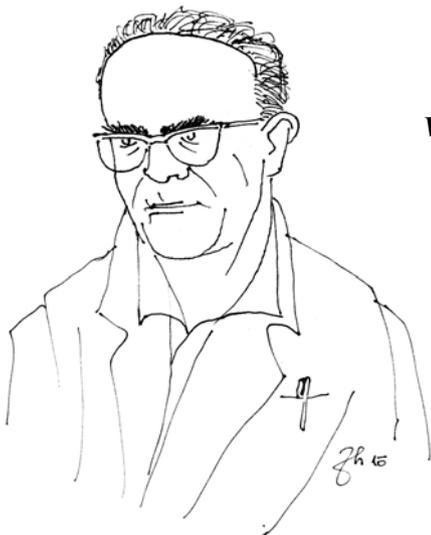


Obrázek 5: Laboratoř charakterizace molekulární struktury (2010, foto V. Koblíha)

ZDENĚK HERMAN

KOLEGOVÉ A PŘÁTELE
V CHEMII A FYZICE

VÝBĚR Z LET 1969–2005

***Vladmír Hanuš******Vladimír Čermák***



Rudolf Brdicka



Čestmír Jech



František Tureček dříve (1976) a nyní

Zlaté ruce pana Josefa Protivy



***Šedesát let Miroslava Pacáka
a nekonečné řady jeho elektronických
přístrojů s ochrannou známkou M.P.***

Karel Mach**Rudolf Zahradník**



Josef Pacák



***Joe L. Franklin
(USA)***



***Frank H. Field
(USA)***



**John Herbert Beynon
(UK)**



**John Fenn
(USA)**

William Chupka
(USA)



Fred McLafferty
(USA)



Eldon E. Ferguson
(USA)

Fred W. Lampe
(USA)





Tino Gäumann
(Švýcarsko)

Paul Kebarle
(Kanada)





**Chuck DePuy
(USA)**



**Keith Jennings
(UK)**



Jean Futrell
(USA)

Joe Berkowitz
(USA)





David Smith
(UK)



Mike Henchman
(USA)



Nico Nibbering
(Nizozemsko)

John Brauman
(USA)



**Chava Lifshitz
(Izrael)**



**Pietro Traldi
(Itálie)**

Jack Beauchamp
(USA)



Mike Bowers
(USA)



Michael Gross
(USA)



Graham Cooks
(USA)



Tilmann D. Märk
(Rakousko)



Alan Marshall
(USA)



***Ed Gran
(USA)***



***Helmut Schwarz
(Německo)***

Erich Schmid
(Rakousko)

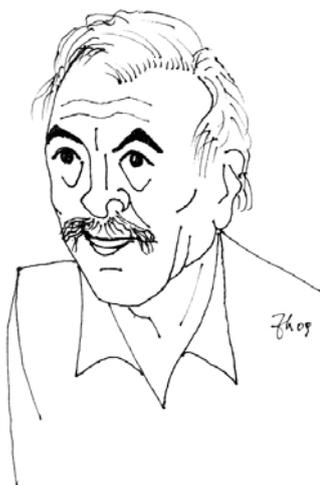


Werner Lindinger
(Rakousko)



**John Monaghan
(UK)**

**Peter Derick
(UK-NZ)**



Jürgen Grotemeyer
(Německo)



Jan Vink
(Nizozemsko)



John Traeger
(Austrálie)



Emilio Gelpi
(Španělsko)

Johan Terlouw
(Kanada)

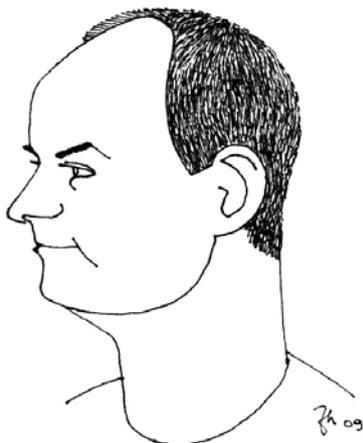


Peter Armentrout
(USA)

Antti Hesso
(Finsko)



Renato Zenobi
(Švýcarsko)



Vladimír Havlíček
(Česká republika)



Einer Uggerud
(Nizozemsko)

