

TARTU ÜLIKOOL  
Loodus- ja täppisteaduste valdkond  
Keemia instituut  
Analüütilise keemia õppetool

Martin Leissoo

## **Laser-APCI-FT-ICR-MS süsteemi arendus**

Füüsika, keemia ja materjaliteaduse õppekava, materjaliteaduse eriala  
Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendajad: kaasprofessor Signe Vahur, PhD  
teadur Anu Teearu-Ojakäär, PhD

Tartu 2023

## Sisukord

KASUTATUD LÜHENDID .....	3
1. SISSEJUHATUS.....	4
2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE .....	6
2.1 Massispektromeetria.....	6
2.1.1 APCI ionallikas.....	7
2.1.2 FT-ICR-MS ja selle tööpõhimõte .....	8
2.2 Laser .....	10
2.2.1 Nd:YAG laser .....	12
2.2.2 Kiudoptiline kaabel.....	12
2.2.3 Laserablatsioon .....	14
3. EKSPERIMENTAALNE OSA.....	15
3.1 Testproov .....	15
3.1.1 Vaskresinaadi proovilahuse ettevalmistus APCI-FT-ICR-MS-iga analüüsimiseks	15
3.1.2 Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga vaskresinaadi analüüs.....	16
3.2 Laser-APCI-FT-ICR-MS süsteemi ülesehitus.....	17
3.2.1 Lasersüsteem.....	17
3.2.2 Kollimaatori ja ülekandeliini seadistus optilisel laual .....	18
3.2.3 Uuringuteks kasutatud massispektromeeter .....	19
3.2.4 Ülekandeliin.....	20
4. TULEMUSED JA ARUTELU.....	21
4.1 Laser-APCI-FT-ICR-MS seadistus hea massispektri saamiseks .....	21
4.1.1 Optiline laud ja asendid .....	22
4.1.2 FT-ICR-MS ja laseri juhtimisprogrammide ühendamine .....	25
4.1.3 Ülekandeliini optimeerimine .....	25
4.1.4 Laser-APCI-FT-ICR-MS parameetrite optimeerimine.....	30
4.2 Laser-APCI-FT-ICR-MS ja APCI-FT-ICR-MS võrdlus.....	31
4.2.1 APCI-FT-ICR-MS-iga lahusest mõõdetud vaskresinaadi massispektri interpretatsioon .....	33
4.2.2 Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõdetud vanandatud vaskresinaadi massispektri interpretatsioon .....	33
4.3 Järeldused ja soovitused tulevikuks.....	36
5. KOKKUVÕTE.....	37
6. SUMMARY .....	38
7. KASUTATUD KIRJANDUS .....	39
8. LISAD .....	41

## KASUTATUD LÜHENDID

**AIMS** (*ambient ionisation mass spectrometry*) – ümbritseva keskkonna tingimustes toimuva ionisatsiooni massispektromeetria

**APCI** (*atmospheric pressure chemical ionisation*) – atmosfäärirõhuline keemiline ionisatsioon

**DART** (*direct analysis in real time*) – reaajas otsene analüüs

**DESI** (*desorption electrospray ionisation*) – desorptsioon elektropihustus ionisatsioon

**DCM** (*dichloromethane*) – diklorometaan

**EI** (*electron ionisation*) – elektronionisatsioon

**ESI** (*electrospray ionisation*) – elektropihustus-ionisatsioon

**FT** (*Fourier transform*) – Fourier' teisendus

**GC** (*gas chromatography*) – gaasikromatograafia

**HPLC** (*high performance liquid chromatography*) – kõrgefektiivne vedelikkromatograafia

**ICR** (*ion cyclotron resonance*) – ioonsüklotronresonants

**LA** (*laser ablation*) – laserablatsioon

**ICP** (*inductively coupled plasma*) – induktiivplasma

**LDI** (*laser desorption ionisation*) – laserdesorptsioon-ionisatsioon

**MALDI** (*matrix-assisted laser desorption/ionisation*) – abimaatriksiga laserdesorptsioon-ionisatsioon

**MS** (*mass spectrometry*) – massispektromeetria

**NA** (*numerical aperture*) – numbriline apertuur

**PEEK** – polüeeter-eeter-ketoon

**ppm** (*parts per million*) – miljondik osa

**PTFE** – polütetrafluoroetüleen

**Q** (*quadrupole*) – kvadrupool (massianalüsaator)

**TOF** (*time of flight*) – lennuaja (massianalüsaator)

**TotInt** (*total intensity*) – ioonide koguintensiivsus

**YAG** (*yttrium aluminum garnet*) – ütrium alumiinium granaat (kristall)

## 1. SISSEJUHATUS

Kultuuriväärtuslike objektide (nt maalid, skulptuurid, altarid, tekstiilesemed jne) valmistamiseks kasutatud materjalid (nt värvid, lakid, liimid jne) on keemiliselt keerulise koostisega mitmekomponendilised segud. Nende koostis on veelgi muutunud materjali vananemisega, kus on toimunud erinevad oksüdeerumis-, lagunemis- ja polümeriseerumisprotsessid. Selliste segude orgaaniliste materjalide keemilise koostise analüüsimine on keeruline ja on väljakutseks mitmetele analüütilistele tehnikatele.

Massispektromeetria (MS) on võimas analüütiline tehnika, mis võimaldab saada väärtuslikku informatsiooni materjali koostise ja komponentide kohta. Kultuuriväärtuslike materjalide uurimisel on MS tihtipeale ühendatud kromatograafiaga, näiteks gaasikromatograafia-massispektromeetria (GC-MS) või kõrgefektiivne vedelikkromatograafia - massispektromeetria (HPLC-MS). Kasutatakse ka otsese sisestusega massispektromeetreid (*direct-MS*), näiteks elektropihustus-ionisatsiooni (ESI), abimaatriksiga laserdesorptsioon-ionisatsiooni (MALDI) või atmosfäärirõhulise keemilise ionisatsiooni (APCI) massispektromeetreid. Need meetodid nõuavad analüüsiks väikest proovitükikest, spetsiifilist proovide ettevalmistust (nt solvendi ekstraktsioon, derivatiseerimine, maatriksmaterjali kasutamine jms) või ka proovi viimist vaakumkeskkonda. Suur osa kultuuriväärtuslikest materjalidest on aga raskesti lahustuvad ega pruugi taluda vaakumit.

Tänapäeval on olemas ka mitmeid ümbritseva keskkonna tingimustes toimuva ionisatsiooni massispektromeetria (AIMS - *ambient ionisation mass spectrometry*) tehnikaid, näiteks laserablatsioon-atmosfäärirõhuline keemiline ionisatsioon (LA-APCI) MS, desorptsioon elektropihustus ionisatsioon (DESI - *desorption electrospray ionisation*) MS, reaalaajas otsene analüüs (DART - *direct analysis in real time*) MS jt. LA-APCI-MS puhul ei kasutata aga enamasti kiudoptilise kaabliga lasereid, DESI-MS kasutamise tagajärjel märgub uuritav materjal solvendiga ning DART-MS-i kasutamine võib nõuda proovi pinna töötlemist kuumutatud gaasiga (sõltuvalt sellest kui lenduv on uuritav materjal) ja see on destrukttiivne. AIMS tehnikate puhul on proov enamasti massispektromeetri sisendi (*inlet*) lähedal, sest puuduvad sobivad ülekandeliini lahendused.

Käesolev bakalaureusetöö teostatakse personaalse uurimisprojekti PRG 1198 „Laseril põhineva pliiatsi-tüüpi mõõtepea-MS süsteemi väljatöötamine kultuuriväärtuslike objektide analüüsimiseks“ raames. PRG projekti põhieesmärgiks on välja töötada käes hoitav laseril põhinev pliiatsi-tüüpi mõõtepea-MS süsteem orgaaniliste kultuuriväärtuslike materjalide analüüsimiseks mittedestruktiivselt, ümbritseva keskkonna tingimustes, otse tahke objekti või materjali pinnalt, proovi ette valmistamata.

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks on töötada välja lahendused kiudoptilise kaabliga laser-APCI-FT-ICR-MS (atmosfäärirõhuline keemilise ionisatsiooni Fourier' teisendusega ioonsüklotronresonants-massispektromeeter) mõõtesüsteemi seadistamiseks, mis võimaldaks teostada analüüse lokaalselt välja valitud alalt otse tahke materjali pinnalt.

Arendustöö sisaldab järgmisi etappe:

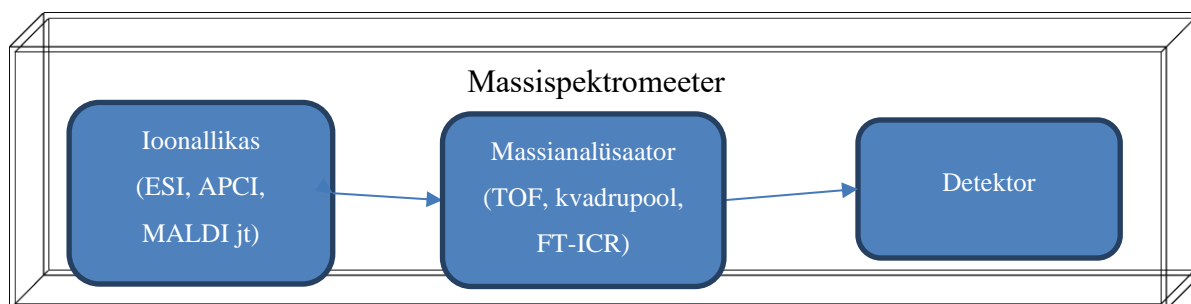
1. Kiudoptilise kaabliga laseri ja ülekandeliiniga APCI-FT-ICR-MS-i ühtse süsteemina tööle panemine, mille tulemuseks on näidisproovist (vaskresinaat) kvaliteetse massispektri saamine. Töö hõlmab näiteks ülekandeliini otsa ja kiudoptilise kaabli otsas olevast kollimaatorist proovile langeva laseri kiire omavahelise asendi fikseerimist,ioonallikas sobiva alarõhu tekitamist ja laseri kiire energia leidmist, massispektromeetri juhtprogrammis parameetrite optimeerimist ning sobivast materjalist ja sobiva kapillaari sisediameetriga ülekandeliini valimist.
2. Näidisproovina kasutatava vaskresinaadi analüüsimine nii APCI-FT-ICR-MS-i (proov on lahustatud kujul) kui ka arendatud laser-APCI-FT-ICR-MS-iga (proov on tahkel kujul) ning saadud spektrite interpreteerimine ja omavaheline võrdlemine.

## 2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

### 2.1 Massispektrometria

Massispektrometria (MS) on kõrge selektiivsusega, tundlik ja võimas analüüsimeetod. See annab palju olulist informatsiooni proovi komponentide ja struktuuri kohta ning võimaldab nii kvantitatiivset kui ka kvalitatiivset analüüsi. MS põhineb materjalist saadud ionide analüüsimisel. Massispektrometriga registreeritakse proovi komponentidest tekitatud ionide massi ja laengu ( $m/z$ ) suhet, võimaldades uurida madalate kontsentratsioonidega proove ja keerukaid segusid. Lisaks saab massispektromeetreid kombineerida teiste tehnikatega (nt kromatograafia) või kasutada otse (*direct MS*). [1]

Massispektromeetrid koosnevad tavaliselt kolmest põhikomponendist: ionallikast, massianalüsaatorist ja detektorist (vt Joonis 1). Ioonallikas ioniseeritakse analüüsitavaid molekule (või aatomeid) ja suunatakse need massianalüsaatorisse. Massianalüsaatoris eraldatakse ionid nende  $m/z$  suhte alusel elektri- või magnetvälja abil. Ioonide poolt tekitatud signaal mõõdetakse detektori abil. Tulemuseks saadakse massispekter ehk signaali suhtelise intensiivsuse sõltuvus (kus 100% on kõige tugevama signaali andnud iooni piik)  $m/z$  väärtuse suhtes. [2,3]



Joonis 1. Massispektromeetri üldehitus [3].

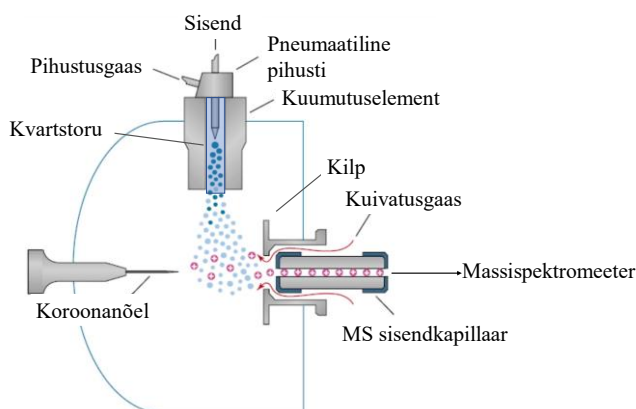
On olemas mitmeid ionallikaid, näiteks atmosfäärirõhuline keemiline ionisatsioon (APCI), elektropihustus-ionisatsioon (ESI), abimaatriksiga laserdesoptsoon-ionisatsioon (MALDI), elektronionisatsioon (EI) jt. Erinevaid ionallikaid on võimalik kombineerida erinevate massianalüsaatoritega, näiteks lennuaja (TOF), kvadrupooli (Q) või Fourier' teisendusega-ioonotsüklotronresonantsi (FT-ICR) massispektrometriga. Paljudes massispektrometrites kasutatakse ka mitmeid massianalüsaatoreid korraga, et teostada tandemmassispektrometria. [1,3]

Käesoleva uurimistöös raames kasutatakse APCI ionallikat ja FT-ICR massispektrometrit. Järgnevat peatükki kirjutatakse APCI ionallikast ja FT-ICR-MS-ist lähemalt.

## 2.1.1 APCI ionallikas

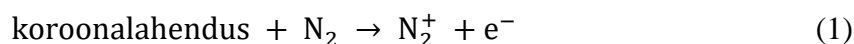
Atmosfäärirõhuline keemiline ionisatsioon (APCI) on meetod ionide saamiseks atmosfäärirõhul. APCI puhul sisestatakse esmalt proovilahus ionallikasse läbi peene kapillaari (pneumaatilise pihusti), mille otsast väljub see aerosoolina (pihustumine toimub lämmastiku gaasi abil). See kapillaar asub kuumutatud kvartstorus (300–500 °C), millesse juhitakse veel ka kuivatusgaasi (N<sub>2</sub>). Kuivatusgaasi ja kõrge temperatuuri toimel aurustub proovilahuse aerosool ja edasi liiguvad nii proovi kui ka lahusti osakesed ionallikas aurufaasis. Ioniseerimine toimub koroonalahenduse abil. Koroonanõel on ionallikas kõrge pinge all ja selle tipu ümber tekib plasma, millest läbi liikudes osakesed ioniseeruvad. Sellised ioonid on ebastabiilsed ja reageerivad peatselt järgmiste ühenditega. Ioniseeruda saavad kõik, sealhulgas proovi enda molekulid, kuid kuna allikas on ülekaalus kuivatusgaasi (N<sub>2</sub>) ja lahusti komponendid, ioniseeruvad algul pigem need ja hiljem annavad oma laengu edasi proovile. [1,3]

APCI allikas koosneb pneumaatilisest pihustist, kuumutuselemendist, kvartstorust, koroonanõelast, sisendkapillaarist ja kilbist (vt Joonis 2).

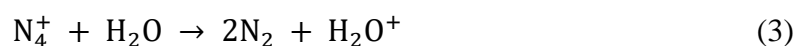


Joonis 2. Üldine APCI ehitus [4].

Positiivse APCI režiimi puhul tekivad N<sub>2</sub><sup>+</sup> ja N<sub>4</sub><sup>+</sup> laetud osakesed, mis kergelt teisi gaasifaasis olevaid osakesi ioniseerima hakkavad [1,5]:



Ümbritsevast keskkonnast tuleneva õhuniiskuse (või lahusti) tõttu tekivad ioniseeritud vee kobarad [1,5]:



Seejärel ioniseerib [(\text{H}\_2\text{O})<sub>n</sub> + H]<sup>+</sup> ioon analüüdi molekuli M [1]:



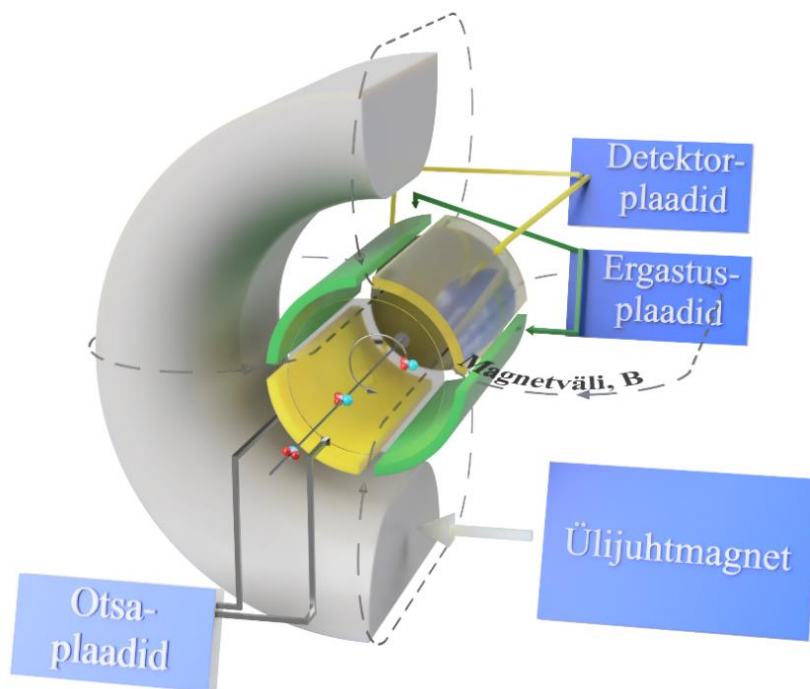
Enamasti kasutatakse APCI-t lahuste uurimiseks. Vanemate APCI allikate puhul infuseeritakse prooviioonallikasse voolukiirusega 200–1000 µl/min, uuemate APCIioonallikate puhul piisab aga 5–20 µl/min voolukiirusest [1]. Proovi infuseerimise tagajärjel tekib analüüdi- ja solvendimolekulide aerosool, mis ioniseeritakse valemite 1–6 toodud mehhanismi järgi. Seejärel suunduvad ioonid väikese ava poole, millest teisel pool on vaakum ja massispektromeeter.

APCIioonallikas on sobivam pigem vähempolaarsete (nt pestitsiidid, ravimid) kuni mittepolaarsete (nt steroidid, rasvhapped) ühendite suhtes [6]. See on kasulik omadus kultuuriväärtuslike materjalide puhul, sest enamus selles valdkonnas uuritavaid proove on pigem orgaanilised ja vähempolaarsed ning seega ioniseeruvad APCIioonallikas paremini. Lisaks on käesoleva lõputöö kontekstis tähtis, et kuigi APCIioonallikat kasutatakse traditsiooniliselt pigem lahusest sisestatud proovide ioniseerimiseks, on võimalik seda kasutada ka gaasifaasis sisestatud proovide puhul. [7]

### **2.1.2 FT-ICR-MS ja selle tööpõhimõte**

Fourier' teisendusega-ioonotsüklotronresonants-massispektromeeter (FT-ICR-MS) võimaldab analüüsida aineid väga kõrge lahutusvõimega ( $R > 100\,000$ ) ja  $m/z$  täpsusega ( $< 1$  ppm – *parts per million* ehk miljondik osa) ning see on kasutatav erinevateioonallikatega. See võimaldab eristada ja identifitseerida laias vahemikus sarnase koostisega ühendeid. Selleks, et saadud massispektri resolutsioon oleks võimalikult kõrge, on vaja kõrgvaakumit (umbes  $10^{-8}$  Pa), et ioonide kogumikud ei hajuks oma trajektoorilt neutraalse gaasiga põrgates. Lisaks on vaja suuri magnetvälja tugevusi (3–21 T), mille saavutamiseks kasutatakse ülijuhtmagneteid. Kuna tugeva magnetvälja säilitamiseks vajab ülijuhtmagnet madalat temperatuuri, hoitakse seda veeldatud heeliumi temperatuuril  $-269$  °C. [1,3]

FT-ICR-MS-is viiakse ioonid kõigepealt mõõterakku, mis koosneb lisaks otsaplaatidele ka kahest detektorplaadist ja kahest ergastusplaadist, mis kõik asetsevad homogeenses magnetväljas, omavahel paralleelselt (vt Joonis 3).



Joonis 3. FT-ICR-MS instrumendi skeem [8].

Seejärel kasutatakse ionide seal hoidmiseks ülijuhtmagneti poolt tekitatud magnetvälja ja mõõteraku otstes olevaid plaate (otsaplaate), milledele on rakendatud rakus olevate ionidega võrreldes samamärgiline potentsiaal. Ergastusplaadid edastavad ionide suurema raadiusega trajektorile viimiseks raadiosageduslikke laineid ning detektorplaatide ülesanne on detekteerida ergastatud ionide poolt tekitatud signaal. Olenevalt ergastamiseks kasutatud sagedusest ja selle võimsusest on võimalik kindla  $m/z$  väärtuse vahemikuga ioone detekteerimise eesmärgil ergastada või viia nende raadius nii suureks, et nad rakust välja lendavad. [1]

FT-ICR-MS-i põhimõte seisneb ionide liikumisel magnetväljas mööda kruijoone (ruumilise spiraali) trajektoori ehk tsüklotron-liikumisel. Järgnevalt kirjeldatakse lihtsustatult selle põhimõtet. Tsüklotron-liikumisel tiirlevad ioonid neile iseloomuliku sagedusega, seda sagedust nimetatakse tsüklotroonimise ringsageduseks ( $\omega_t$ ) ning see sõltub otseselt iooni massist ( $m$ ), selle laengust ( $q$ ) ning magnetvälja tugevusest ( $B$ ). [3]

$$\omega_t = \frac{qB}{m} \quad (7)$$

Valemist (7) ilmneb, et mida väiksem on iooni mass ja mida suurem on tema laeng, seda suurem on selle iooni karakteristik tsüklotroonimise ringsagedus. Selleks, et mõõteraku abil saaks ioone detekteerida, suurendatakse ionide ringliikumise raadiust [3]. See saavutatakse neile kompleksse raadiosagedusliku impulsi rakendamise, mis on võimeline mõjutama kõiki rakus olevaid ioone korraga. Kui laetud osake neelab õige sagedusega laine, suureneb selle arvelt tema kineetiline energia, kiirus ja ühtlasi ka trajektoori raadius. Seda saab illustreerida, kui võtta

valem (7) ning asendada ringsagedus  $\omega_t$  kinemaatikast tuntud valemiga, iooni kiiruse  $v$  ja ringliikumise raadiuse  $r$  jagatisega:

$$\omega_t = v/r \quad (8)$$

ning avaldada tulemist raadius:

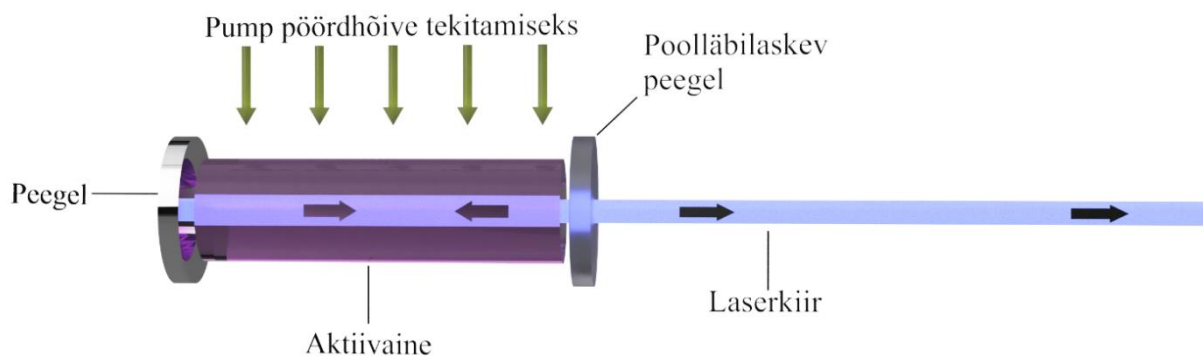
$$r = \frac{mv}{qB} \quad (9)$$

Valemist (9) on näha, et trajektoori raadius sõltub iooni kiirusest. Seega, andes ioonile energiat sobiva sagedusega elektromagnetlainega, neelab ioon laine energia ning selle joonkiirus ja ringliikumise raadius kasvavad samaaegselt, kuid kuna tsüklotroonimise sagedus sõltub neist mõlemast (valem (8)), jääb see (tsüklotroonimise sagedus) muutumatuks ning ühtlasi säilib võimalus saada teada, mis iooniga on tegemist selle massi ja laengu suhte kaudu. [1]

Peale ergastamist on sama  $m/z$  suhte väärtusega ioonid faasis. Kui ioonide liikumise raadius on muutunud piisavalt suureks, hakkavad need mõjutama vabu elektrone detektorplaatides. See tekitab omakorda plaatidega seotud detekteerimisahelas elektrivoolu, mis võimendatakse. Saadud signaalist koostatakse Fourier' teisenduse abil sagedusspekter ning seejärel  $m/z$  suhte ja signaali intensiivsuse vaheline massispekter. [3]

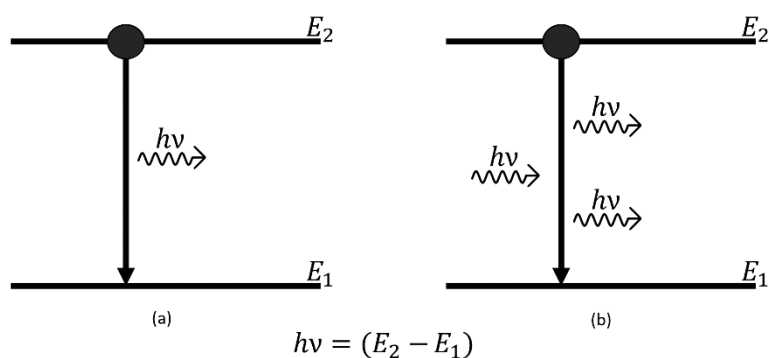
## 2.2 Laser

Laser (*light amplification by stimulated emission of radiation*) ehk valguskvantgeneraator on seade, mis tekitab koherentset, monokromaatilist elektromagnetkiirgust [9]. Laseri leiutas 1960. aastal Theodore Maiman, kasutades aktiivainena rubiini, mis ergastati impulsslambi abil [10]. Tänapäeval kasutatakse lasereid näiteks telekommunikatsioonis, meditsiinis, krüoogenikas, infotalletuses, termotuumasünteesis, füüsikas, keemias ja ka paljudes teistes valdkondades. Laseri ehitus põhineb aktiivainel, pumbal ja kahel peeglil, millest üks on poolläbilaskev (vt Joonis 4). Peegleid ja aktiivainet kutsutakse koondnimetusega ka optiliseks resonatoriks. Aktiivaineks võib olla nii gaas (nt CO<sub>2</sub>, Ar, He-Ne), tahkis, näiteks rubiin, neodüüm ütrium-alumiinium-granaat (Nd:YAG), erbium ütrium-alumiinium-granaat (Er:YAG) või ka mõni orgaaniline ühend (värvuslaserites, nt fluorestsein, rodamiin 6G jt). Aktiivaine osakeste (aatomite või molekulide) ergastamiseks kasutatakse pumpamise protsessis erinevaid energiaallikaid, tihtipeale elektrilisi või optilisi. Optilise pumpamise puhul tuleneb energia näiteks valgusdiodlambist, sobiva lainepikkusega laserist või mõnest muust kõrge energiaga valgusallikast. Elektrilise pumpamise puhul kasutatakse elektrilahendust, mis sobib hästi pooljuht- ja gaaslaseritele. Pumpamiseks kasutatakse veel näiteks röntgenkiirgust, eksotermilisi keemilisi reaktsioone ja ka muid energiaallikaid. [9–11]



Joonis 4. Laseri tööpõhimõte [11].

Olgu osakesel kaks energiataset  $E_1$  ja  $E_2$ , kus  $E_2 > E_1$ . Kui energiat juurde saanud, ergastunud seisundis (tasemel  $E_2$  olev) osake relakseerub ja kiirgab footoni, on selle footoni energia võrdne orbitaalide energiatega vahel ( $E_2 - E_1$ ) (vt Joonis 5, a). Sel viisil tekkinud kiirgust nimetatakse spontaanseks kiirguseks, kuna relakseerumine toimub iseeneslikult. Saadud valguskiirgus võib levida ükskõik millises suunas. Kui aga juba ergastatud aktiivaine aatomile mõjub valguskvant, mille energia vastab selle kahe orbitaali vahelisele energiatasemete vahele, on võimalik kiirgust ka esile kutsuda. Kusjuures selles olukorras kiiratakse lõpptulemusena kaks sama energiaga footonit (stimuleeriv footon ja relaktsiooni käigus tekkiv footon). Kirjeldatud nähtust nimetatakse stimuleeritud kiirgumiseks. Sel viisil tekkinud elektromagnetlained on koherentsed ning liiguvad samas suunas (vt Joonis 5, b). [9,11,12]



Joonis 5. Spontaanne (a) ja stimuleeritud (b) kiirgus [9].

Laseri tööpõhimõte põhineb optilises resonaatoris, peeglite vahel, pöördhõive tekitamises. Pöördhõive on olukord, kus süsteemis on ergastunud olekus olevate aatomite osakaal suurem põhiolekus viibivate omast. Välise mõjutuseta on aatomid pigem põhiolekus (tavahõives) ning seetõttu kasutataksegi näiteks optilist pumpamist, mis seisneb süsteemile elektromagnetlainete abil lisaenergia andmisel, et aktiivaines olevad aatomid saaksid footoneid neelata ning ergastuda. Spontaanse ja stimuleeritud kiirguse abil tekkinud footonid peegelduvad optilises resonaatoris, stimuleerides üha enam aatomeid ning tekitades rohkem footoneid. Kuna

stimuleeritud kiirguse puhul on tekkivad footonid sama suunaga kui stimuleeriv footon, väljuvad „vale“ suunaga elektromagnetlained süsteemist ega jää peeglite vahel pörkuma. Kui on saavutatud piisav energia, väljub elektromagnetlaine kiirte kimp läbi poolläbilaskva peegli ning on tekkinud laserkiir. [9,11]

### 2.2.1 Nd:YAG laser

Neodüüm ütrium-alumiinium-granaat (Nd:YAG) laserid on tahkislasereid, mille aktiivaineks on ütrium-alumiinium-granaadi (YAG) kristall, milles osad  $Y^{3+}$ -ioonid on asendatud  $Nd^{3+}$ -ioonidega. Legeerimata YAG kristallid on läbipaistvad ja värvuseta, kuid kristallvõresse neodüümioonide lisamisel muutub kristalli värvus lillakaks. Enamasti legeeritakse YAG kristalle nii, et  $Nd^{3+}$ -ioonid moodustaks kõikidest kristallis olevatest ioonidest umbes 1%, sest need on umbes 13% suuremad kui asendatavad  $Y^{3+}$ -ioonid ning suuremate aatomprotsentide puhul tekiksid kristallis sisepinged [9]. Nd:YAG tüüpi laserid on laialdaselt levinud ning leiavad kasutust paljudes valdkondades, näiteks meditsiinis silmaoperatsioonides ja naharavis, tööstuses pinnatöötlemiseks, keevituseks või lõikamiseks ning massispektromeetrias [9,12,13]. Ka käesolevas lõputöös kasutatav laser töötab Nd:YAG kristalli abil.

Kui pidevlasereid puhul väljub optilisest resonatorist pidev laserkiir, on Nd:YAG laserite eeliseks võimalus energiat resonatoris koguda ning hiljem lühikese, kuid võimsa laineimpulsina kiirata. Selliseid lasereid kutsutakse väkelasereiteks. Nd:YAG laseri puhul tekib põhiline elektromagnetlaine lainepikkus on 1064 nm. Seda lainepikkust on võimalik aga mittelineaarsete kristallide abil kas kaks (*second harmonic generation*), kolm (*third harmonic generation*), neli (*fourth harmonic generation*) või isegi viis (*fifth harmonic generator*) korda vähendada. Selliseid mittelineaarseid kristalle kutsutakse ka sageduskordistiteks, sest kui lainepikkus poole väiksemaks muuta, suureneb sagedus kaks korda. Nii on võimalik 1064 nm lainepikkusega laserkiirest saada kas 532 nm, 355 nm või 266 nm lainepikkusega laserkiiri. [9,14]

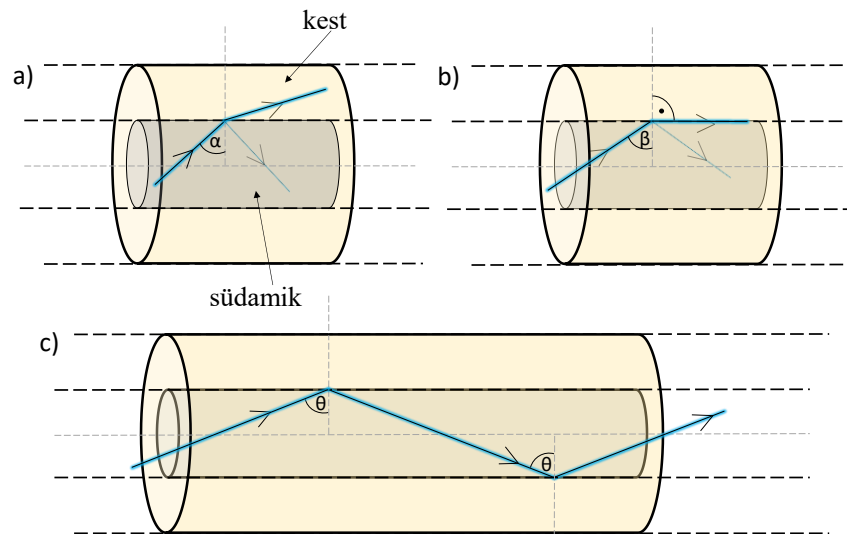
Selles lõputöös kasutatavas lasersüsteemis on olemas võimekus esialgse laserkiire sagedust nii kahe- kui ka kolmekordistada.

### 2.2.2 Kiudoptiline kaabel

Kiudoptilise kaabli ehk valguskaabli põhiline otstarve on valguse edastamine minimaalsete kadudega. Seda kasutatakse näiteks telekommunikatsioonis, endoskoopias, meditsiinis või laserpuhastuses. Valguskaabli struktuur koosneb südamikust ja seda ümbritsevast kestast. Südamik koosneb enamasti ränidioksiidist või plastikust valmistatud kiust/kiududest. Kest

hõlmab endas üht või mitut kihti materjale, mille ülesanne on nii südamikku kaitsta kui ka efektiivset valgusülekannet võimaldada. [15]

Kui tahta kiudoptilise kaabli abil valguskiiri edasi kanda, peab toimuma selles täielik sisepeegeldumine. Selleks peab olema kesta murdumisnäitaja väiksem südamiku omast, sest kui valgus liigub optiliselt tihedamast keskkonnast hõredamasse, murdub see pinnanormaalist eemale, piirpinna suunas (vt Joonis 6, a). Liikudes vastupidiselt, optiliselt hõredamast keskkonnast tihedamasse, toimub murdumine aga piirpinnast eemale. Sellist nurka, kus valguskiire murdumine toimub paralleelselt piirpinnaga, nimetatakse kriitiliseks nurgaks (vt Joonis 6, b). Seega, täieliku sisepeegeldumise tekkimiseks peab kiire langemisnurk südamiku ja kesta piirpinnal olema suurem kriitilisest nurgast. [15]



Joonis 6. Kiudoptilises kaablis valguskiire käitumine sõltuvalt langemisnurgast: (a) kiir langeb südamiku ja kesta piirpinnale kriitilisest nurgast väiksema nurga all, (b) kiir langeb piirpinnale kriitilise nurga all, (c) kiir langeb piirpinnale kriitilisest nurgast suurema nurga all. [16]

Valguse edastamise efektiivsus läbi optiliste kiudude sõltub mitmetest parameetritest: neeldumisest, hajumisest, valguslekkest ja kadudest valgusallika sidestamisel optilise kaabliga [15]. Neeldumine valguskaablis sõltub suurelt sellest, mis materjalist on selle kiud tehtud, kuid ka sellest kui puhas antud materjal on. Kiu struktuuri sattunud lisandid neelavad valgust ning põhjustavad edastatava energia langust, kuid ka kiud ise neelavad väikese osa edastatavast valgusenergiast. Valgusleke tekib, kui aatomid kius hajutavad neile langenud elektromagnetlaineid ja põhjustavad nende levimise suuna muutuse. Tulemusena väljub valguskiir südamikust. Valgusleket võib põhjustada ka liiga järsk valguskaabli paine, mistõttu kiire peegeldumisnurk muutub kriitilisest nurgast väiksemaks [17]. Kadude vältimiseks on tähtis ka valgusallika ja optilise kaabli korrektne ühendamine [18]. Südamikule langev kiir

peab olema optilise kaabli teljega sellise nurga all, mis võimaldab täielikku sisepeegeldumist. Sellist nurka iseloomustavat suurust kutsutakse numbriliseks apertuuriks (NA). [15,17,18] Käesolevas töös võimaldab kiudoptiline kaabel laserimpulsi ülekandmist statsionaarselt laserilt proovini. Kiudoptilise kaabli otsas kasutatakse kollimaatorit, mis muudab temani jõudnud laserkiired läätsede süsteemiga esmalt paralleelseks ning seejärel fokusseerib need ühte punkti.

### **2.2.3 Laserablatsioon**

Käesolevas töös kasutati laserit proovist materjali eemaldamise (ablatsiooni) eesmärgil. Laserablatsiooni kasutatakse näiteks kihtide tekitamiseks pinnale (*pulsed laser deposition*) või induktiivsidestatud plasma massispektromeetrias (LA-ICP-MS) [19,20]. Kuigi täpsed toimemehhanismid ei ole selle protsessi kohta veel lõplikult teada, toimib põhimõte järgnevalt: valgusenergia neeldub sihtmärgi aatomites ning paneb need kiiremini võnkuma, mille tulemusena proov kas sublimeerub, aurustub või muutub plasmaks. Selle tagajärjel tekib pinnast eemalduv osakeste kogum, mis koosneb nii elektronidest, ioonidest kui ka neutraalsetest molekulidest ja ühenditest [14,21]. Osakeste pilv liigub tavaliselt kiirusega 10–20 km/s [21]. Erinevatel materjalidel on ablatsiooni tekkimiseks vajalik erinev energiatihedus. Seega sõltub protsessi efektiivsus proovi enda omadustest, kus materjalid, mis suudavad energiat kiiresti laiemal ruumala peale jaotada (nt metallid), ei soojene niivõrd ruttu kui näiteks dielektrikud, ning osakeste irdumiseks vajaminev energia on sama ajaühiku kohta suurem. Ühtlasi, proovid milles kindel lainepikkus neeldub paremini vajavad ablatsiooni jaoks väiksemat energiatihedust, kui proovid milles sel lainepikkusel laineid nii hästi ei neeldu, sest laserimpulss levib hea neelduvusega proovis vähem sügavamale ning peab seega mõjutama väiksemat ruumala. [22,23]

### 3. EKSPERIMENTAALNE OSA

#### 3.1 Testproof

Käesolevas töös valiti testprooviks vaskresinaat. Valituks osutus see just seetõttu, et antud materjal sarnaneb reaalsele kultuuriväärtuslikele proovidele oma raske lahustuvuse ja reaalse ajaloolise kasutatavuse poolest. Ühtlasi oli sarnaseid (vaigulisi) proove varem juba töögrupi poolt MALDI- ja LDI-FT-ICR-MS-iga (laserdesorptsioon ionisatsioon-FT-ICR-MS) uuritud ning seega oli ettekujutus, millises  $m/z$  vahemikus võiksid massispektris komponentide piigid ja nende klastrid esineda. Lisaks teati, et ühend ioniseerub APCI allikas võrdlemisi kergesti, sest töögrupis on selle materjaliga sarnaseid proove APCI-FT-ICR-MS-iga uuritud.

Üldiselt kutsutakse vaskresinaadiks koondnimena vaikhapete vasesoolasid, millel on omapärane, rohekas värvus. Vaskresinaat oli peamiselt kasutusel 15. ja 16. sajandil, mil seda kanti maalides teiste värvide peale toonimise eesmärgil. Selle kasutamine lõpetati tõenäoliselt seepärast, et vananemise käigus muutuvad vaskresinaadi kihid UV-kiirguse ja õhuhapniku toimel tumepruuniks [24]. Ajalooliselt valmistati vaskresinaati okaspuude, näiteks lehise (*Larix decidua*) vaigu utmisel ehk kuivdestilleerimisel saadud destillaadi (lehise vaigu ja selle õli) ja vaserohelise pigmendi ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{Cu}(\text{OH})_2$ ) segamisel [25]. Kuna abietiinhape ( $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{COOH}$ ) on okaspuude vaigus kõige enam esinev hape, on sel viisil valmistatud vaskresinaadi peamiseks koostisosaks just abietiinhappe vasesoolad. [24–27]

Käesolevas töös kasutati katseseadme arendamiseks Kremer Pigmente GmbH & Co. KG-st soetatud vaskresinaati.

##### 3.1.1 Vaskresinaadi proovilahuse ettevalmistus APCI-FT-ICR-MS-iga analüüsimiseks

Selleks, et oleks võimalik teostada APCI-FT-ICR-MS-iga mõõtmisi, tuli esmalt valmistada vaskresinaadi proovilahused. Proovilahused valmistati ligikaudu 60 °C juures, analüütilise keemia õppetooli õppelaboris kuivatuskapis 661 päeva vanandatud (vanandama pandud 17.02.2021, välja võetud 09.12.2022) vaskresinaadist (vt Lisa 1, Joonis 1). Sellistes tingimustes vanandatud vaskresinaat on van't Hoffi reegli järgi hinnanguliselt umbes 146 a vana.

Vanandatud proovi üritati esialgu lahustada diklorometaanis (DCM) (Sigma-Aldrich Pty Ltd LiChrosolv®, puhtusega  $\geq 99,9\%$ ). Selleks kraabiti vananenud vaskresinaati Petri tassilt skalpelliga viaali 50,8 mg, millele lisati automaatpipetiga 5,05 ml DCM-i. Kuna proov ei lahustunud, katsetati teisi lahusteid ja nende segusid: etüülatsetaati (Honeywell International Inc. CHROMASOLV™, puhtusega  $\geq 99,7\%$ ), tolueni (Honeywell International Inc. CHROMASOLV™, puhtusega  $\geq 99,9\%$ ), tolueni ja heksaani (Honeywell International Inc. CHROMASOLV™, puhtusega  $\geq 97,0\%$ ) segu (vahekorras 1:1), DCM ja tolueni segu

(vahekorras 1:1), DCM ja metanooli (Honeywell International Inc. CHROMASOLV™, puhtusega  $\geq 99,9\%$ ) segu (vahekorras 1:1) ning diklorometaani, isopropanooli (Honeywell CHROMASOLV™, puhtusega  $\geq 99,9\%$ ), heksaani ja atsetonitriili (Sigma-Aldrich Pty Ltd LiChrosolv®, puhtusega  $\geq 99,8\%$ ) segu (vahekorras 1:1:1:1, nn nelja lahusti segu). Neist kõigist töötas kõige paremini nelja lahusti segu (vt Lisa 1, Joonis 2), mida tavaliselt töögrupis kasutati APCI allika ja ülekandeliini kapillaaride puhastamiseks. Umbes 60 °C juures vanandatud proovi kanti spaatli abiga Petri tassist klaasviaali 54,1 mg, millele lisati 5,4 ml nelja lahusti segu ning saadi 10,02 mg/ml kontsentratsiooniga lahus. Saadud lahusest valmistati kümnekordne lahjendus, võttes automaatpipetiga 1,5 ml esialgset lahust ning lisades 13,5 ml nelja lahusti segu. Saadi 1 mg/ml kontsentratsiooniga lahus.

### 3.1.2 Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga vaskresinaadi analüüs

Selleks, et oleks võimalik laser-APCI-FT-ICR-MS-iga tahket proovi analüüsida, valmistati uuringuteks võimalikult ühtlase kihipaksusega vaskresinaadi testplaadid. Enne uuringuid laser-APCI-FT-ICR-MS-iga olid testplaadid eelnevalt kuivatatud ja klaasplaadil oli õhuke, läbipaistev, ühtlane tahke vaskresinaadi kiht.

Kuna värske vaskresinaat on üsna viskoosne materjal ja seda polnud võimalik ühtlase õhukese kihina kanda klaasplaadile, siis tuli see eelnevalt lahustada. Kuna vaskresinaadi lahustamine on keeruline, katsetati taas erinevaid solvente: diklorometaani (DCM), diklorometaani ja etanooli 1:1 suhtega segu ning nelja lahusti segu (DCM:isopropanool:heksaan:atsetonitriil, 1:1:1:1 suhtega). Parimaks osutus nelja lahusti segu, sest nii jäi klaasplaadile selge ja ühtlane vaskresinaadi kiht. Proovi lahuse valmistamiseks lahustati umbes 3,5 g vaskresinaati 2 ml nelja lahusti segus. Lahuste ühtlaseks pinnale kandmiseks kasutati Füüsika Instituudist pärit vurrkatturit (vt Lisa 1, Joonis 3), kuhu sisestati eelnevalt atsetooniga puhastatud 10 × 10 cm mõõdus klaasplaat. Seejärel pandi vurrkatturile peale kaas, mille keskel on auk. Läbi augu kanti keerlevale klaasplaadile Pasteur'i pipetiga ligikaudu 2 ml proovilahust. Lisas 1, Joonisel 4 on toodud vurrkatturiga saadud ühtlase õhukese vaskresinaadikihiga klaasplaadid.

Kokku valmistati kaheksa prooviplaati, mis kuivasid kaks nädalat toatingimustel ning millest seejärel pandi neli kuivatuskappi ligikaudu 60 °C juurde vananema. Kaheksast valminud plaadist valiti analüüsimiseks üks kuivatuskapis vandandatud prooviga klaasplaat. See proov oli 60 °C juures vanandatud 68 päeva ning edaspidi (peale selle välja võtmist ja ka analüüside ajal) hoiti seda toatingimustel. Vanandatud proovi värvus oli peale vananemist muutunud tunduvalt tumedamaks (vt Lisa 1, Joonis 4). Et hinnata, kui pikale ajale toatemperatuuril vastab 68 päeva umbes 60 °C juures vanandamist, kasutati van't Hoffi reeglit. Selle kohaselt kasvab 10 °C temperatuuri tõusu korral reaktsiooni kiirus 2–4 korda. Kui võtta keskväärtuseks, et

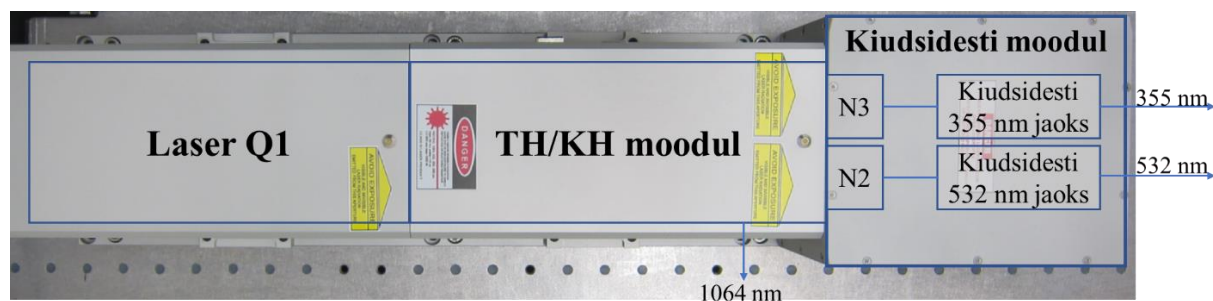
reaktsiooni kiirus tõuseb 10 °C temperatuuritõusu puhul 3 korda ning keskmine toatemperatuur, mille juures toimuks tavapärase vananemine on 20 °C, saadakse et reaktsioon kulges kuivatuskapis 60 °C juures 81 korda kiiremini ning see vastab umbes 15 aastale tavatemperatuuri juures vananemisele. Arvutus annab väga umbkaudse väärtuse ning tuleb arvestada, et ka toatemperatuuril mõjutavad reaktsiooni kiirust erinevad faktorid (näiteks UV-kiirgus, niiskus jne). Sellegipoolest on nii võimalik saada ülevaade sellest, kuidas käituvad proovid aja möödudes ning vanandamine on kultuuriväärtuslike materjalide uuringute juures vajalik protsess.

### 3.2 Laser-APCI-FT-ICR-MS süsteemi ülesehitus

Käesolevas töös tuli kokku panna mõõtmissüsteem, kus kiudoptilise kaabliga ühendatud laseriga oleks võimalik tahkelt pinnalt proovi komponendid eraldada ning seejärel ülekandeliini abil APCI allikasse ja sealt edasi FT-ICR-MS-i toimetada (kirjeldatud Peatükis 4, vt Joonis 10).

#### 3.2.1 Lasersüsteem

Laser-APCI-FT-ICR-MS süsteemi jaoks kasutati Quantum Light Instruments, Ltd (Leedu) Nd:YAG laserit Q1-D10-1064, millel on lisaks laserile järgnevad moodulid: teise- ja kolmanda sageduskordisti moodulid (*harmonic generator module*) TH/KH, millega on võimalik algne 1064 nm lainepikkusega laserkiir muuta nii 532 nm kui ka 355 nm lainepikkusega laserkiireks ning kiudsidesti moodul, mis hõlmab endas kaht nõrgendit (*attenuator*) N2 ja N3 (teise ja kolmanda sageduskordisti väljundite jaoks) ja kiudsidesteid (*fiber coupler*) (vt Joonis 7). Kiudsidesti mooduli külge saab SMA-HP tüüpi otsikuga ühendada 2 m pika, kvartsklaasist kiudoptilise kaabli (CeramOptec® GmbH, numbriline apertuur 0,22, sisediaameeter 0,8 mm, minimaalne painderaadius (*bending radius*) 200 mm), mille teises otsas on laserkiiri koondav kollimaator. Kiudoptilist kaablit 1064 nm lainepikkusega laserkiirega ühendada ei saa, kuna hetkel puudub selleks võimekus.



Joonis 7. Laser Q1-D10-1064 skeem koos moodulitega.

Laser Q1-D10-1064 puhul on tegemist Nd:YAG kristalliga, valgusdiodi abil pumbatud välkelaseriga, mille laserkiire impulsside kestvus on väiksem kui 7 ns ning maksimaalne

impulsside kordamise sagedus 10 Hz. Laseri põhiliseks lainepikkuseks on 1064 nm, mille juures on maksimaalseks energiaks 35 mJ. Töö käigus kasutati enamasti sageduskordisti mooduli abiga kolmekordselt suurendatud sagedusega laserkiirt 355 nm juures. Sellel lainepikkusel on laseri maksimaalne impulsi energia 10 mJ, kuid kiudoptilise kaabli kaitsmiseks seati maksimaalseks energiaväärtuseks 6,9 mJ. Proovini jõuab sellest maksimaalselt 5 mJ energiaga impulss, kuna osa energiast kaob kiudoptilise kaabli ja kollimaatori läbimisel. Kollimaatori fookuskaugus on 20 mm, kuid reaalsuses tuli kollimaatorit proovile lähemale viia, kuna sellele paigaldati ka kvartsklaasist läätsekaitse. Kvartsklaasi hoidja teeb kollimaatori pikemaks ja seetõttu on see pinnale lähedamal ning sellega manööverdamine ka keerukam. Lasert juhatakse arvutiga, mis on sellega läbi laseri juhtpaneeli ühendatud ning kuhu on paigaldatud juhtimisprogramm (vt Lisa 2, Joonis 5). Laserimpulsi poolt proovile tekitatud jälgi uuriti Leica optilise stereomikroskoobiga (M165 FC), et teada saada umbkaudne energiatihedus proovil. Mikroskoobi juhtprogrammi abil määrati tekkinud ellipsi pindalaks umbes 2,4 mm<sup>2</sup> (vt Lisa 2, Joonis 6), mille põhjal arvutati umbkaudne energiatihedus 1,5 mJ/cm<sup>2</sup> (arvestusega, et proovile jõudis 3,6 mJ).

### **3.2.2 Kollimaatori ja ülekandeliini seadistus optilisel laual**

Algul kasutati laser-APCI-FT-ICR-MS-i katsete teostamiseks robustset seadistust, kus kollimaatori ja ülekandeliini asendit oli keeruline muuta ja täpset asetust raske määrata. Saadi aru, et konfiguratsiooni täpsemaks paika seadmiseks ning katsete kontrollitavamalt läbi viimiseks on vaja stabiilset ja kontrollitavat tööpinda. Selleks valmistati spetsiaalne laud, mille peale soetati alumiiniumist keermetega optiline lauaplaat (*Aluminum Optical Breadboard*, 1B-A-60-90-015-BL, Standa Ltd.). Peale selle lisati lauale ka kaks tõstuklauda (*Linear Translation Stage*, 7T38XYZ – XYZ, Standa Ltd.), mis võimaldavad ülekandeliini kapillaari otsa ja kollimaatorit liigutada igas suunas 10 µm täpsusega 15 mm vahemikus. Kollimaatori täpseks pööramiseks lisati pöörlev komponent (*Rotation Stage*, 7R150, Standa Ltd.). Proovi liigutamiseks XY suundades (piki lauaplaadi telgesid) lisati veel kaks ühesuunalist translatsioonilava (*Stable Steel Translation Stage*, 7T67-25, Standa Ltd.) teineteise peale. Töö neljandas peatükis on kirjeldatud, kuidas täpsemalt erinevad osad laual asetsevad.

### 3.2.3 Uuringuteks kasutatud massispektromeeter

Massispektrite saamiseks kasutati Varian 910-FT-ICR-MS (7 T ülijuhtmagnetiga) seadet APCI ionallikaga (vt Joonis 8). Ülijuhtmagneti jahutamiseks kasutati vedelat lämmastikku ja heeliumit. Lisaks on instrumendil kolmekordse kvadruupooliga madalresolutsiooniline massispektromeeter Varian J-320. Töötades FT-ICR-MS-iga kasutatakse madalresolutsioonilise massispektromeetri kolme kvadruupooli ionide transpordimiseks FT-ICR-MS mõõterakku. Varian 910-FT-ICR-MS suudab saavutada massilahutusvõime kuni  $10 \cdot 10^{-6}$  aatommassiühikut. Instrumendile on võimalik ühendada nii APCI kui ka ESI ionallikaid, kuid antud töös kasutatakse ainult APCI allikat, kuna see võimaldab proovi ionallikasse sisestada nii lahuse kujul kui ka gaasifaasis. 910-FT-ICR massispektromeetrit juhiti Varian “Omega” 9.1.21. programmi abil. Instrumenti kasutati kahel viisil: ühendatud lasersüsteemiga, tehes mõõtmisi otse tahke proovi pinnalt ning infuseerimissüsteemi abi kasutades, et lahustatud proove analüüsida.



Joonis 8. Varian 910-FT-ICR-MS ja Varian J-320 (vasakul), APCI allikaga ühendatud vaakumpump laser-APCI-FT-ICR-MS katsete jaoks (paremal).

#### Lahustatud proovi mõõtmine APCI-FT-ICR-MS-iga

APCI-FT-ICR-MS-iga analüüsiti vaskresinaadi lahust, mille valmistamist kirjeldati alapeatükis 3.1.1. Selleks, et vanandatud vaskresinaadist registreeritud massispektris olevad  $m/z$  väärtused oleks võimalikult täpsed kasutati massispektri  $m/z$  telje kalibreerimiseks sisekalibrantide abi. Selleks valmistati lisaks proovilahusele ka sisekalibrantide lahus. Sisekalibrantidena kasutati viit fosfaseeni- ja üht bromiidi ühendit,  $m/z$  vahemikus 139,12297 kuni 916,57611 (vt Lisa 3, Tabel 1). Mõõtmiste teostamiseks võeti kalibratsioonilahust 100  $\mu$ l, millele lisati 900  $\mu$ l metanooli. Sisekalibrantide ja proovi lahuseid sisestati ionallikasse samaaegselt, eraldi süstaldest (Hamilton 1000, vahetatava nõelaga 1 ml süstlad) KD Scientific Inc. Gemini 88

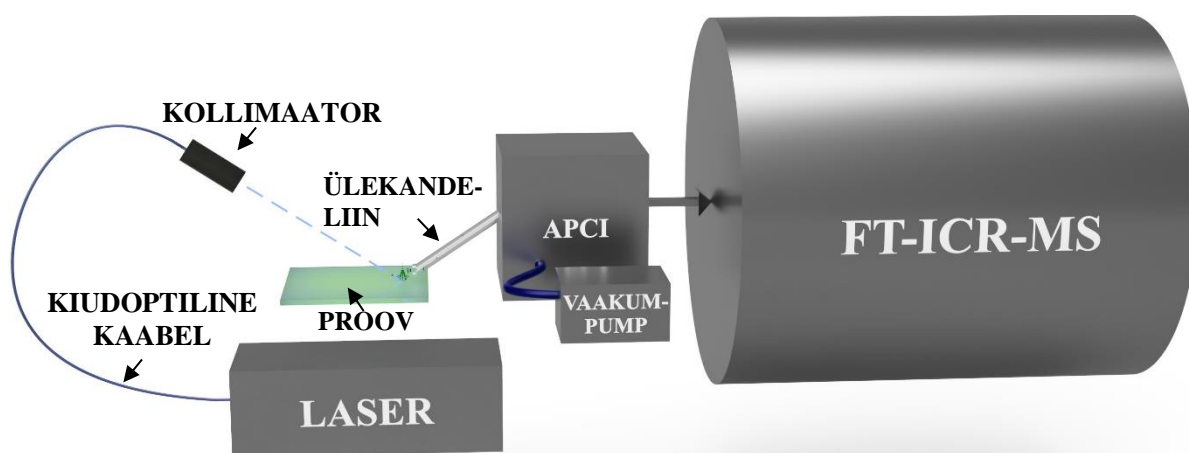
infuseerimispumba abil (vt Lisa 3, Joonis 7). Lahuste infuseerimisel kasutati maksimaalselt summaarset voolukiirust 60 µl/min ning sõltuvalt sellest, kui prominentsed olid kalibrantide piigid, süstiti proovi- ja sisekalibrantide lahuseid vastavalt 30 µl/min ja 30 µl/min või 40 µl/min ja 20 µl/min voolukiirustel. Lahuses olevate proovide mõõtmisel varieeriti APCI allika kapillaarpinget vahemikus 60–80 V, FT-ICR-MS rakus ioonidele energiat andva impulsi amplituudi (*arbitrary waveform amplitude*) vahemikus 100–150 V ningioonjuhi raadiosagedusliku pinge amplituudi (*ion guide radio frequency burst amplitude*) vahemikus 150–200 V. Lisaks muudeti ioone FT-ICR-MS mõõterakku laskva pingepulsi (*trapping quadrupole*) kestvust vahemikus 3,2–3,8 ms. Lahusest mõõtmise puhul puhastati APCI allikat iga 2 ml proovi (2 süstlatäie) infuseerimise tagant ning koroonanõela iga mõõtmispäeva alguses ja lõpus. Ioonallikat puhastati nelja lahuse seguga (DCM:isopropanool:heksaan:atsetonitriil, 1:1:1:1 suhtega), vatitikkude ja pabersalvrätiku abiga. Koroonanõela puhastamiseks ja selle otsa teritamiseks kasutati sama lahust, alumiiniumoksiidi pulbrit (Agilent Technologies) ja vatitikke.

### 3.2.4 Ülekandeliin

Laseriga proovi pinnalt eraldatud komponentide transportimiseks APCI-FT-ICR-MS-i kasutati ülekandeliini. Selleks testiti nii metallist (inertse sisepinnaga roostevabast terasest) kui ka polütetrafluoroetüleenist (PTFE) kapillaare välisdiameetriga 1,6 mm, mis sobisid polüeteer-eeter-ketoonist (PEEK) keermestatud ühendustega. Testitud kapillaaride sisediameetrid olid metallkapillaaride puhul 0,5 mm (Entech Instruments, Inc, DEACTIVATED HARDSC TUBING, 01-15-87120D), 0,75 mm (Agilent Technologies UltiMetal Plus Stainless Steel Capillary Tubing, CP6573) ja 1 mm (Entech Instruments, Inc, DEACTIVATED SC HALF-HARD TUBING, 01-15-87140D) ning PTFE-st kapillaaride puhul 0,5 mm (Bohlender GmbH, S1810-09), 0,8 mm (Bohlender GmbH, S1810-10) ja 1 mm (Bohlender GmbH, S1810-12). Vaakumi tekitamiseks ja proovi komponentide transpordiks proovilt APCI-FT-ICR-MS-i kasutati ILMVAC GmbH membraanapumpa MPC 201T (vt Joonis 8, parempoolne pilt, all vasakul). APCI allikasse tekitatud alarõhu jälgimiseks ühendati sellega manomeeter. Kapillaaride kuumutamiseks kasutati Hillesheim GmbH H300 kuumutustoru (vt Lisa 3, Joonis 8), millega on võimalik kuumutada kuni 250 °C, sest kuumutustoru sisu on PTFE-st valmistatud ning hakkab lagunema umbes 260 °C juures [28]. Kapillaaride kuumutamist katsetati põgusalt, kapillaare ei kuumutatud kõikide mõõtmiste puhul.

#### 4. TULEMUSED JA ARUTELU

Käesolev bakalaureusetöö on osa suuremast PRG projektist, mille lõppeesmärgiks on laseril põhineva pliiatsi-tüüpi mõõtepea-MS süsteemi väljatöötamine, mis võimaldaks otse tahkelt kultuuriväärtuslikult objektilt (nt maal, skulptuur) analüüsida orgaanilisi komponente. Lõputöö raames tehti esimesed sammud antud eesmärgi saavutamiseks: seadistati sobiva nurga all ja kauguses omavahel laserkiirt juhtiva kiudoptilise kaabli otsas olev kollimaator ja APCI-FT-ICR-MS-iga ühendatud ülekandeliini ots, leiti APCI ionallikasse tekitatava alarõhu optimaalne vahemik, mis tõmbaks laseriga proovilt eraldatud komponendid ionallikasse, optimeeriti APCI allika ja FT-ICR-MS parameetreid vaskresinaadist hea massispektri saamiseks (vt Joonis 9).



Joonis 9. Laser-APCI-FT-ICR-MS üldine skeem.

Selleks, et oleks mugavam teostada arendatava laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõtmisi, seadistati ka omavahel sobituma FT-ICR-MS-i juhtprogramm „Omega“ ja laseri juhtimisprogramm. Peale selle uuriti põgusalt ka ülekandeliinina kasutatavaid erineva sisediameetriga metallist ja PTFE kapillaare ja nende kuumutamise vajalikkust näidisproovi (vaskresinaat) analüüsimisel.

Alljärgnevalt võetakse kokku saadud tulemused, mis hõlmavad endas laser-APCI-FT-ICR-MS süsteemi arendusetappe ja viimase versiooni detailset kirjeldust.

##### 4.1 Laser-APCI-FT-ICR-MS seadistus hea massispektri saamiseks

Alljärgnevatel punktides kirjeldatakse kogu arendustegevust, alates optilisele lauale detailide seadistamisest kuni vaskresinaadist saadud kvaliteetse (hea) massispektri interpreteerimiseni. Hea massispekter defineeriti kui vaskresinaadi spekter, mille: (1) signaali koguintensiivsuse

(TotInt) väärtus on suurem kui 25 ning (2) nii esimest klastrit ( $m/z$  315 ümbruses) kui ka teist klastrit ( $m/z$  630 ümbruses) on näha.

#### 4.1.1 Optiline laud ja asendid

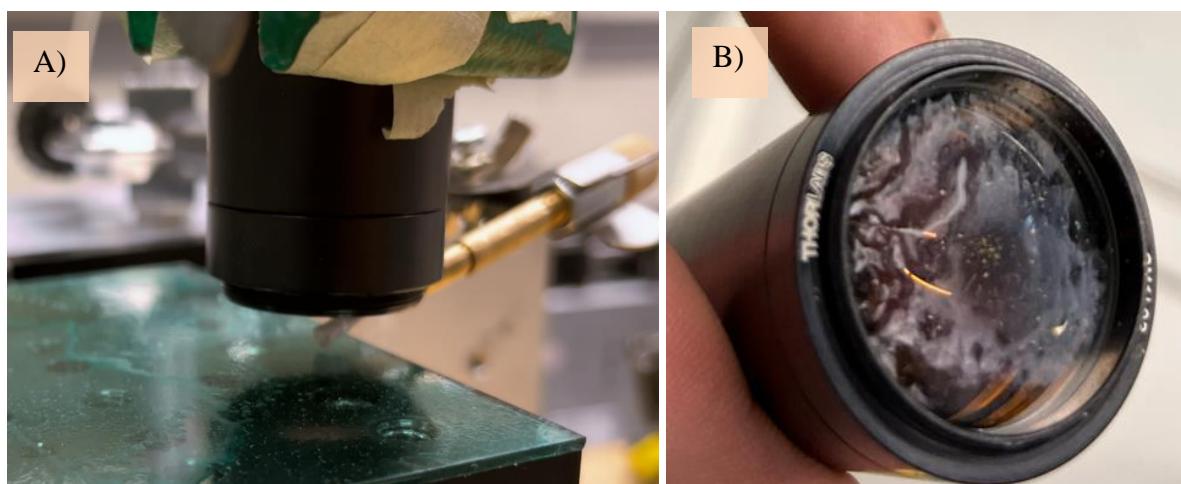
Laser-APCI-FT-ICR-MS-i idee põhineb laseri energia abil proovilt komponentide eraldamisel ja seejärel nende läbi ülekandeliini massispektromeetrisse suunamisel. Selleks peab kiudoptilise kaabli otsas oleva kollimaatori ots olema proovi pinnale üsna lähedal ja ülekandeliini ots sobival kaugusel ja sobiva nurga all, et püüda võimalikult palju laserablatsiooniga proovilt eraldatud komponente, suunates need seejärel MS-i. Selleks, et komponendid saaksid ülekandeliinis liikuda tekitatakse APCI allikasse alarõhk. Alarõhu tekitamiseks kasutatakse vaakumpumpa, mis on kinnitatud APCIioonallika külge. Kuna süsteem koosneb paljudest detailidest ja liikuvatest osadest, peavad need olema laual korralikult fikseeritud. Tuli saavutada olukord, kus ülejäänud osad on paigal ning liigutatakse ainult prooviplaati, et uurida sellelt huvipakkuvat ala. Seda ideed ja töögrupi varasemaid katsetusi silmas pidades hakati optilisel laual sättima kollimaatorit ja 1,3 m pikkust ülekandeliini (mis võib olla ka kuumutatud). Laserit kasutati lainepikkusel 355 nm.

Alguses oli kogu süsteem robustne, komponentide omavahelisi kaugusi ja nurkasid oli keeruline täpselt muuta. Kollimaator oli kinnitatud statiivi, käpa ja muhvi abil (vt Joonis 10, A). Proovilt massispektri saamiseks tuli laseri ja APCI-FT-ICR-MS-i sisselülitamist kahe seadme juhtarvutite vahel käsitsi ajastada. Nii oli keeruline proovilt signaali kätte saada. Lisaks oli sobiva asetuse seadmisel asendit keeruline hoida.

Mõõtmisel katsetati kõigepealt asendit, mis sarnanes eelnevalt töögrupi poolt katsetatud meetodile, kus laserkiir peegeldati prisma abil  $90^\circ$  nurga all proovile ja 0,8 mm sisediameetriga PTFE-st ülekandeliiniga oli ühendatud peenike metallist silinder, mis ulatus terava nurga all laserkiire ja proovi kokkupuutepunktini. Seega seati kollimaator proovipinna suhtes  $90^\circ$  nurga all risti ja ülekandeliini kapillaari ots umbes  $10^\circ$  nurga alla, laserkiire fookusele võimalikult lähedale (Joonis 10, A). Selgus, et sellise asetusega on keerukas korralikku spektrit saada (vt vaskresinaadi massispektrit Lisas 4, Joonisel 9). Kuigi saadud massispektritel oli signaalitugevus umbes võrdne müraga, võis sellegipoolest saadud spektrites näha piike, mis võisid kuuluda vaskresinaadile (nt  $m/z$  301.21534, protoneeritud dehüdroabietiinhape,  $C_{20}H_{29}O_2^+$ ), kuid selles ei saanud kindel olla, sest sellist massispektrit usaldatavalt kalibreerida ei saa.

Kiudoptilise kaabli otsas olevale kollimaatorile paigaldati ka sobiv kvartsklaasist kate. Antud asetusega määrisisid aga proovilt eraldunud komponendid seda kaitseklaasi, mis tõenäoliselt vähendas ka laseri poolt proovile langevat energiahulka (vt Joonis 10, B). Paigaldatud

kaitsekate on vajalik, et kollimaatoris olevaid läätsesid kaitsta, kaitsekatte miinuseks on aga mõningane laserkiire energia kadu kvartsklaasi pealt peegeldumisel (umbes 8%).



Joonis 10. Esialgne kollimaatori ja ülekandeliini asend (A) ja määratud kollimaatori kaitseklaas (B).

Mõisteti, et esialgse asetusega head massispektrit saada on keeruline ning otsustati kollimaatori ja ülekandeliini kapillaari otsa omavahelist asendit muuta. Kollimaator seati proovipinna suhtes umbes  $45^\circ$  nurga alla ning ülekandeliini kapillaari ots umbes  $20^\circ$  nurga alla. Lisaks lõigati PTFE kapillaari ots nii, et see oleks proovipinnaga paralleelne (lõigati teravaks ligikaudu  $20^\circ$  nurga all). Muudatuste eesmärgiks oli seada langeva laserkiire fookuspunkt võimalikult täpselt kapillaari otsa alla nii, et kapillaari ots kataks laserablatsiooni tsentri kohal võimalikult suure ala (vt Joonis 11). Kapillaari otsa kõrgus proovist oli 0,5–1 mm. Kollimaatori kaugus proovist oli nii kaugel, et langev laserkiir oleks proovile jõudes võimalikult hästi fookuses.

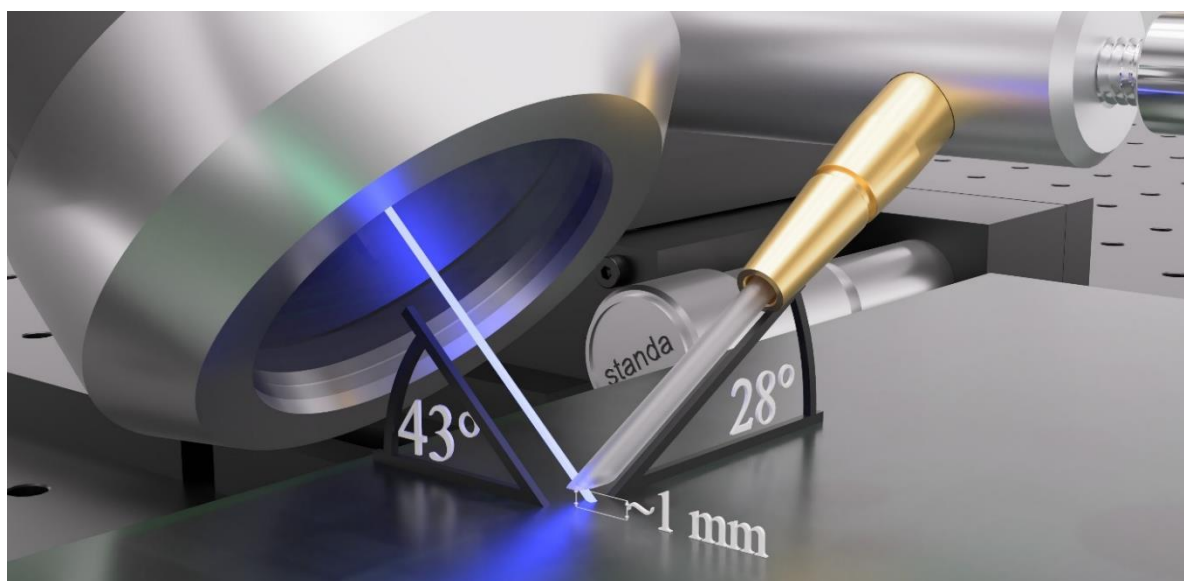


Joonis 11. Muudetud kollimaatori ja ülekandeliini asend.

Sellisel asendil on mitu eelist: kollimaatori kaitseklaas ei määrdu nii kergesti, laseri fookuspunkti on kergem leida (kollimaator ei ole vaateväljal ees) ja ühtlasi on ülekandeliini kapillaari otsa fookuspunkti järgi lihtsam paika panna. Asendi puuduseks on seadme

ülesseadmisel tekkinud olukord, kus kollimaatori ots läheb vastu proovilauda ning proovi saab uurida vaid äärtest (vt Joonist 11). Olukorra parandamiseks saaks kasutada näiteks kaugema fookuskaugusega kollimaatorit.

Nagu eelnevalt mainitud, oli kollimaatori asetuse paika seadmisel käppa ja muhvi kasutades seatud asendit keeruline hoida. Seega soetati firmalt Standa Ltd. alumiiniumist, keermetega optiline lauaplaat, mis kinnitati roostevabast terasest lauaraami külge. Keermed alumiiniumist lauaplaadil võimaldasid sellele kruvidega fikseerida kaks Standa Ltd. tõstuklauda, mille külge monteeriti omakorda hoidjad nii kollimaatori kui ka ülekandeliini fikseerimiseks. Kollimaatorit hoidva tõstuklauda külge kinnitati ka pöörlev osis, millega sai kollimaatorit kindla nurga alla pöörata. Tõstuklauda saab kõikides (X,Y,Z) suundades edasi-tagasi liigutada 10  $\mu\text{m}$  täpsusega, 15 mm vahemikus. Lisaks seati teineteise peale risti kaks ühes suunas liikuvat translatsioonilava, millega saab täpselt liigutada prooviplaati. Kirjeldatud osade ülesseadmise tulemusena pandi paika lasermoduli asetuse viimane versioon. Optilisel laual olevatest asenditest tehti nende illustreerimiseks ja tulevikus lihtsamaks reprodutseerimiseks programmi Autodesk Fusion 360 abil kolmemõõtmeline mudel (vt Joonis 12 ja Lisa 4, Joonised 10 ja 11). Joonisel 12 on toodud laser-APCI-FT-ICR-MS lõppversiooni puhul kasutatav ülekandeliini kapillaari ja proovi vaheline nurk  $28^\circ$  ning laserkiire ja proovi vaheline nurk  $43^\circ$ . Kapillaari otsa kaugus proovist on ligikaudu 1 mm. Laserkiire pinnale langemise nurka varieeriti  $\pm 2^\circ$  vahemikus, vastavalt sellele, kui täpselt saadi paika ülekandeliini ots proovi suhtes. Eesmärgiks oli paigutus seada nii, et fookuses laserkiir langeks võimalikult täpselt kapillaari otsa alla, et proovilt irdunud komponendid otse ülekandeliini kapillaari siseneksid. Lisaks kasutati lõppversiooni puhul uut, lühemat kollimaatori kaitseklaasi ümbrist, et kollimaator proovipinnast kaugemal oleks.



Joonis 12. Kolmemõõtmeline mudel ülekandeliini ja kollimaatori vahelisest lõppasendist.

#### 4.1.2 FT-ICR-MS ja laseri juhtimisprogrammide ühendamine

Algul ajastati proovilt spektri saamiseks laseri ja FT-ICR-MS-i sisselülitamist kahe seadme juhtarvutite vahel käsitsi. Sel viisil proovi analüüsimine ei olnud mugav ega soosinud korratavate tulemuste saamist.

Seega ühendati Varian “Omega” programm Q1 laseri juhtprogrammiga, et oleks võimalik juhtida nii laserit kui ka FT-ICR massispektromeetrit ühest arvutist. Varian 910-FT-ICR massispektromeetril on juba varasemalt võimekus ühenduda IRMPD (*Infrared multiple photon dissociation*) laseriga, eesmärgiga mõõterakus olevaid ioone fragmenteerida, et saada uuritavate ühendite kohta rohkem informatsiooni. Kuna ka Q1-D10-1064 laseril on võimekus välisele sisendile (*external mode*), tekkis idee seadmed omavahel ühendada: Q1 laser aktiveeritakse selle enda juhtpaneeli abil, mis on koaksiaalkaabliga (BNC otsiku abil) ühendatud 910-FT-ICR-MS seadmega. Juhtme kaudu antakse juhtpaneelile pingepulss, mille amplituud on piisav laseri käivitamiseks. Q1 laseri impulsi käivitamiseks on manuaali kohaselt vaja pingepulssi keskvusega  $300 \pm 5 \mu\text{s}$  ning amplituudiga 3–5,3 V. Selleks määrati massispektromeetrist tuleva päästiksignaali pingeväärtus koaksiaalkaabli otsas: “Omega” programmis vastas 3,5 V pingele 25% laseri energiaväärtus. Selleks, et mitte ületada laseri spetsifikatsioonis määratud 10 Hz maksimaalset sagedust, seati laseri pingepulsside vahele jäävaks ajaks 101 ms. Tehtu võimaldab tekitada sobiva arvu laseriimpulsse, mida on võimalik vastavusse viia näiteks ionide mõõterakku toimetamise ajaga ning laseri enda juhtarvutis määratakse ära vaid laserimpulsi energia. Alustades “Omega” programmis massispektri mõõtmist, hakkab automaatselt tööle ka laser.

#### 4.1.3 Ülekandeliini optimeerimine

Selleks, et saada laser-APCI-FT-ICR-MS-iga vaskresinaadi proovilt head spektrit, sooviti optimeerida proovilt komponentide eraldamise ja nende APCI ionallikani toimetamisega seotud ülekandeliini parameetrid. Kuna APCI ionallikaga on ühendatud nii ülekandeliini kapillaar kui ka vaakumpump, mis ionallikasse alarõhku tekitab (vt Jooniseid 8 ja 9), uuriti hea massispektri saamiseks seda, kuidas mõjutavad saadud massispektrit süsteemi järgnevad aspektid: alarõhu väärtus APCI ionallikas, kapillaaride sisediaameetrid (0,5 mm, 0,75 mm, 0,8 mm, 1 mm), kapillaaride materjal (metall/PTFE) ja ülekandeliini kuumutamine kasutades spetsiaalset kuumutustoru. Selleks, et kapillaarid APCI ionallika sisendi ja keermestatud PEEK kapillaaridega sobituksid, soetati kõik kapillaarid välise diameetriga 1,6 mm. Kapillaarid olid kõik ka 1,3 m pikkused, et need läbi 1 m pikkuse kuumutustoru ulatuksid.

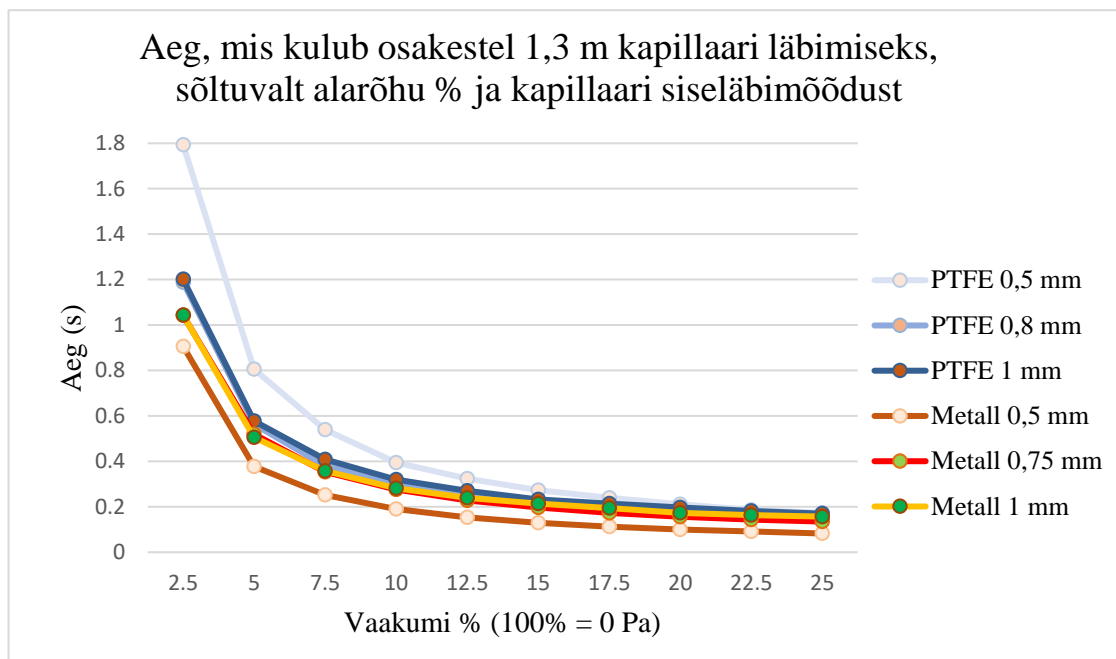
Esmalt otsustati leida optimaalne alarõhk proovi komponentide APCI ionallikasse (läbi ülekandeliini kapillaari) toimetamiseks. Tehti mõõtmiste seeria, kus tahkelt vanandatud vaskresinaadi pinnalt analüüsimiseks kasutati 70% (umbes 3,5 mJ) laseri pulsienergiat, ülekandeliinina 0,5 mm sisediameetriga PTFE-st kapillaari (kuumutamata) ning alarõhu väärtusi varieeriti 5% sammuga vahemikus 2,5%–12,5%. APCI ionallikasse tekitatud alarõhku jälgiti manomeetri abil ja iga alarõhu väärtuse juures tehti 30 mõõtmist. Tulemuste keskmistamisel leiti, et mida madalam on alarõhk, seda kõrgem on signaalitugevus (TotInt) väärtus (vt Tabel 1).

Tabel 1. 30 mõõtmise keskmine signaalitugevus (TotInt) erinevatel APCI ionallikasse tekitatud alarõhu väärtustel.

Alarõhu väärtus (100% = 0 Pa)	Alarõhk 2,5%	Alarõhk 7,5%	Alarõhk 12,5%
<b>30 mõõtmise keskmine TotInt väärtus</b>	20,46	15,94	6,47

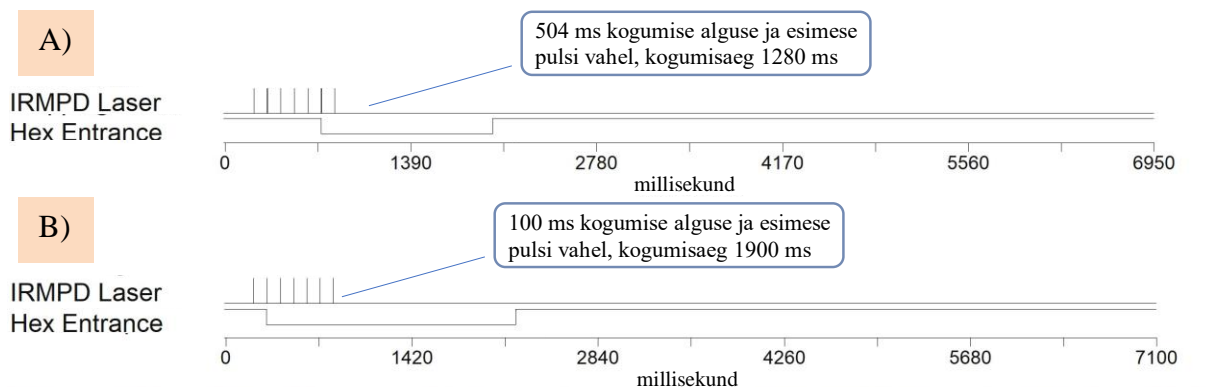
Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõtmisseeriates tuleb arvestada, et tulemusi võivad mõjutada paljud muutujad (proovikihi paksus, kui palju osakesi proovilt ülekandeliini jõuab, kui efektiivselt APCI ionallikas proovi komponente ioniseerib jne). Sellegipoolest saab selliste mõõtmisseeriade abil jälgida suuremaid tendentse. Saadud tulemus ei tundunud aga loogiline ning hakati kahtlustama nihkes ajastust FT-ICR-MS mõõteparameetrite ja proovi komponentide massispektrisse jõudmise vahel. Arvati, et proovilt jõuavad komponendid massispektromeetris liiga kiiresti ning FT-ICR-MS hakkab ioone koguma peale seda, kui ioonid on juba kogumisrakust möödunud. See seletaks, miks madalamatel alarõhu väärtustel, ehk väärtustel, mil komponendid aeglasemini massispektromeetris jõuavad, on kõrgem signaalitugevus (TotInt).

Selleks, et teada saada, kui kiiresti komponendid ülekandeliinis liiguvad, mõõdeti mõõteseadmega Alltech Digital Flow Check HR erinevatel vaakumite väärtustel erinevate kapillaaride puhul neid läbiv gaasi vooluhulk. Mõõtmiseks ühendati kapillaari üks ots APCI ionallikaga, kuhu oli vaakumpump alarõhu tekitanud ning teine ots gaasi vooluhulga mõõteseadmega. Ühenduskohtade õhukindlaks tegemisel kasutati parafilmi ja keermeteipi. Vooluhulga mõõteseadme andis tulemi,  $\text{cm}^3/\text{min}$ , mis teisendati joonkiiruseks vastava läbimõõduga ja pikkusega kapillaaris. Saadud tulemustest koostati graafik selle kohta, kui kaua aega kulub osakestel 1,3 m kapillaari läbimiseks (vt Joonis 13).



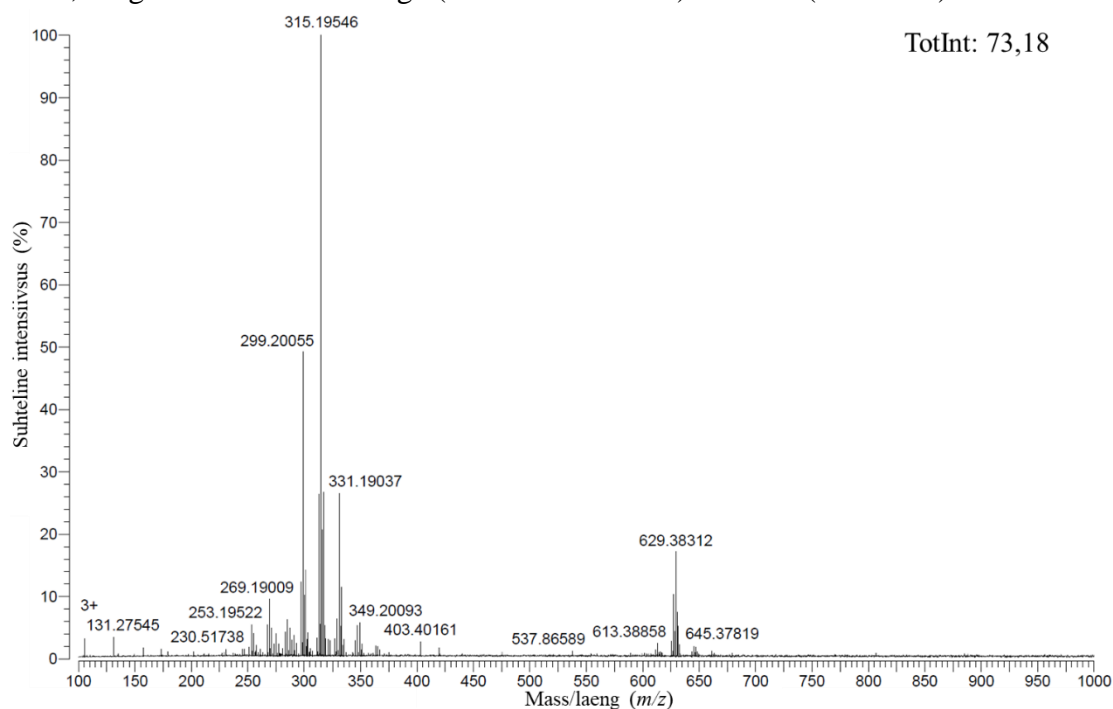
Joonis 13. Graafik sellest, kuidas alarõhu väärtus APCI ionallikas (100% = 0 Pa) mõjutab osakeste massispektromeetri jõudmise aega.

Joonisel 13 toodud graafikult on näha, et osakesed jõuavad massispektromeetri võrdlemisi kiiresti (15% vaakumi puhul keskmiselt umbes 200 ms jooksul). Lähtudes sellest otsustati muuta “Omega” programmis FT-ICR-MS sätteid. Põhiliselt keskenduti laseri impulsside (IRMPD laser) ja FT-ICR-MS-i ionide kogumise heksapooli (*hex entrance*) vahelisele ajalisele suhtele. Ionide kogumise heksapool kogub määratud ajavahemiku jooksul sinna jõudnud ionid „lõksu“ ning peale ette antud ajavahemikku suunab nad FT-ICR-MS mõõterakku. Kui vaadata seadistust, mida kasutati varem (vt Joonis 14, A), on näha et laseri esimese impulsi (215 ms peale massispektri registreerimise algust) ja ionide kogumise alguse (719 ms peale massispektri registreerimise alustamist) vahel on 504 ms. Kui kasutada 12,5% vaakumi väärtust kulub komponentidel kapillaari läbimiseks keskmiselt ligikaudu 280 ms. Seega võiks seletada Tabelis 1 olevaid mõõtmistulemusi põhjendusega, et esimeste laserimpulsside poolt proovist välja paisatud komponendid jõudsid kõrgemate vaakumi väärtuste juures massispektromeetrisse ja ühtlasi ka ionide kogumise heksapoolini liiga kiiresti ning heksapool ei jõudnud neid veel koguma hakata. See võis põhjustada kõrgemate vaakumi väärtuste juures madalamat signaalitugevust ja vastupidi, madalamate vaakumi väärtuste juures kõrgemat signaalitugevust.



Joonis 14. Laseri impulsside ja ionide kogumise aja seaded FT-ICR-MS juhtprogrammis "Omega". (A): Esimese arvestatava spektri puhul (vt Lisa 4, Joonis 12) ja (B): peale seadete muutmist, hea spektri puhul (vt Joonis 15).

Peale tehtud järeltund muudeti sätteid "Omega" programmis nii, et laseri esimese impulsi (ajal 210 ms) ja ionide heksapooli kogumise alustamise vahele (ajal 310 ms) jäi vaid 100 ms (vt Joonis 14, B). Lisaks muudeti heksapoolis ionide kogumise aega 1280 ms pealt 1900 millisekundini. Edaspidiselt kasutati neid sätteid. Selle tulemusena saadi esmakordselt signaal ka teisest, kõrgemate  $m/z$  väärtustega ( $m/z$  630 ümbruses) klastrist (Joonis 15).



Joonis 15. Vanandatud tahkest vaskresinaadist (proov klaasplaadil) saadud esimene laser-APCI-FT-ICR-MS spekter, kus on teist klastrit näha. (APCI ionallika kapillaarpinge oli 20 V, komponente tõmbav alarõhk 20% ning kasutati laseri energiat umbes 3,6 mJ).

Kuna esialgsed optimaalse alarõhu määramise mõõtmiste tulemused osutusid pärast eelnevalt kirjeldatud muudatusi ebausaldusväärseteks (vt Tabel 1), tehti APCI allika optimaalse alarõhu

katsed uuesti. Katsetes kasutati PTFE kapillaari (sisediameetriga 0,5 mm), APCI kapillaarpinge väärtust 20 V, laseri impulsi energia väärtust 3,6 mJ ning mõõdeti vanandatud tahket vaskresinaati (proov klaasplaadil). Mõõtmisi tehti alarõhu väärtuste vahemikus 1–30%, alarõhu väärtusi muudeti madalamate väärtuste korral sammuga 2,5% (välja arvatud väärtustel 1%–2,5%) ja alates 20% alarõhu väärtusest muudeti seda sammuga 5%. Väärtusi vaadati manomeetri pealt. Igal alarõhu % väärtusel tehti vähemalt kaks mõõtmist. Saadud spektritest järeldati, et arvestatava spektri saab juba alarõhu väärtusel 5–10%, kuid optimaalseks vahemikuks leiti olevat 12,5–20% (vt Lisa 4, Joonis 13). Nendest suuremate alarõhu väärtuste puhul hakkasid signaali tugevus ja teise klatri prominentsus langema.

Käesolevas töös katsetati ülekandeliinina nii metallist kui PTFE materjalist ja erinevate sisediameetritega kapillaare (0,5 mm, 0,75 mm ja 1 mm metalli puhul ning 0,5 mm, 0,8 mm ja 1 mm PTFE puhul). Kuna arvati, et laseriga eemaldatud proovikomponendid võivad kergelt ülekandeliinina kasutatava kapillaari pinnale adsorbeeruda ja seetõttu järgnevate osakeste edasiliikumist takistada ning mõõtmistulemusi mõjutada, otsustati katsetada ka kapillaaride kuumutamist kuumutustoruga. Kuumutustoruga katsetati temperatuure vahemikus 35–180 °C. Vaskresinaadi testprooviga saadi kõikide erineva sisediameetriga PTFE-st ülekandeliini kapillaaride puhul häid massispektreid, samas kõikus signaalitugevus (TotInt) kõikide kapillaaride puhul suurel määral üsnagi samas vahemikus (1–100). Korrelatsiooni ülekandeliini diameetrite ja saadud massispektri signaalitugevuse vahel ei täheldatud. Metallkapillaaridega ei saadud nii häid tulemusi kui PTFE-st kapillaaridega. Kuna töö käigus saadi PTFE-st kapillaaridega häid tulemusi, siis testiti sellest materjalist kapillaare ka rohkem kui metallkapillaare. PTFE-st ülekandeliini puhul saadi näiteks kapillaari ots kergemini laserablatsiooni tsentri kohale kui metallkapillaaride puhul, sest PTFE kapillaarid on osaliselt läbipaistvad ja nende puhul on paremini näha, kus asub laseri fookuspunkt proovil. Metallkapillaari ots ka määrdus kergemini kui PTFE-st kapillaari ots. Lisaks oli suurema sisediameetriga (1 mm PTFE kapillaar) paremini käsitletav kui väiksema sisediameetriga kapillaarid: suurema ava diameetri tõttu oli ava keskpunkti kergem täpselt laserablatsiooni tsentri kohale seada.

Vaskresinaadi testproovi uuringute põhjal leiti, et kõige paremaid tulemusi andis 1 mm sisediameetriga PTFE-st valmistatud kapillaar ning hea kvaliteediga spekter saadi ka ilma kuumutamata. Kuigi vaskresinaadi puhul polnud ülekandeliini vaja kuumutada, võib see vajalik olla mõne teise materjali (nt õlivärvide) analüüsimisel. Kindlasti tasub nii metallist kui PTFE-st erineva sisediameetriga kapillaare põhjalikumalt edasi uurida ning välja selgitada, kas ja milliste materjalide puhul ning mis temperatuuril oleks vaja ka ülekandeliini kuumutada.

#### 4.1.4 Laser-APCI-FT-ICR-MS parameetrite optimeerimine

Selleks, et laser-APCI-FT-ICR-MS-iga head spektrit saada oli vajalik nii Q1 laseri, APCI ionallika kui ka FT-ICR-MS-i juhtimisprogrammides kasutatavad parameetrid optimeerida. Terve töö vältel kasutati sama laseri impulsside arvu (seitse), sagedust (10 Hz) ja sama laseri lainepikkust (355 nm).

##### **Laseri impulsienergia**

Laseri impulsienergia mõjutab seda, kui palju proovi materjalist ablatsiooni käigus eraldub ning seega otseselt ka saadud massispektri signaalitugevust. Otsustati teha katseid leidmaks sobivaim laseri impulsienergia klaasplaadil oleva vanandatud vaskresinaadi analüüsimiseks. Uuringuteks kasutati alarõhu väärtust 12,5%, 1 mm sisediameetriga PTFE kapillaari ning mõõtmisi tehti laseri impulsienergia vahemikus 25–100% (1,25–5 mJ) 5%-lise sammuga, registreerides iga väärtuse juures kaks massispektrit. Kindlaid tulemusi sellest eksperimentist ei saadud, kuna massispektrite summeeritud signaali tugevus (TotInt) varieerus sama laseri impulsienergia puhul suures ulatuses (nt laseri energia 2,3 mJ juures muutus TotInt 35,65 kuni 103,20). Sellegipoolest saadi spektreid kätte tihedamini, kui kasutati laseri impulsienergiad vahemikes 60–100% (3–5 mJ). Arvestatavaid massispektreid, kus esines vaskresinaadi piike, oli võimalik kätte saada ka 30%-lise ja üle selle impulsienergiaga, kuid need spektrid olid madala intensiivsusega. Impulsienergiatega 25% (1,25 mJ) ja alla selle saadi kehvad massispektrid, kus piikide intensiivsused olid võrreldavad müraga. Edaspidi kasutati laserit impulsienergiaga 70% (umbes 3,6 mJ). Tuleb meeles pidada, et erinevad proovid neelavad erinevatel lainepikkustel laseri impulsienergiat erineval määral. Käesolevas bakalaureusetöös kasutatud vanandatud vaskresinaadi puhul oli võimalik 355 nm lainepikkusega laseriga võrdlemisi lihtsasti komponente materjali pinnalt eraldada, kuid saadud tulemused poleks tõenäoliselt samad, kui kasutada teistsugust proovi.

##### **APCI ionallika kapillaarpinge**

APCI ionallika kapillaarpinge on Joonisel 2 toodud massispektromeetri sisendkapillaarile rakendatav pinge, mis aitab ionallikas tekitatud ioonid massispektromeetrisse juhtida. APCI-FT-ICR-MS-iga vaskresinaadi lahust mõõtes kasutati kapillaarpinge väärtust 60–80 V. Kasutades seda sama kapillaarpinget tahkelt proovilt laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõtmiseks leiti, et sellise väärtusega kapillaarpinge (60–80 V) kasutamisel on suuremate  $m/z$  väärtustega piikide ( $m/z$  600 ümbruses) intensiivsused madalad.

Seega tuli laser-APCI-FT-ICR-MS-iga proovist hea massispektri saamiseks leida APCI ionallikas olevale massispektromeetri sisendkapillaarile sobiv pinge väärtus. Katsete jaoks kasutati vanandatud vaskresinaati klaasplaadil, laseri energiaväärtust 3,6 mJ ning alarõhu

väärtust 5%. APCI kapillaarpinget muudeti vahemikus 0–90 V, mõõtes iga väärtuse juures kaks spektrit. Pinget tõsteti 10 V kaupa. Saadud massispektritest järelitati, et madalad APCI kapillaarpinge väärtused (10–30 V) annavad kõrgema summeeritud signaalitugevuse väärtuse (TotInt) ja prominentsema teise klasteri (vt Lisa 4, Joonis 14). Alates 50 V hakkas teine klaster kaduma ning 80 V juures ei olnud seda enam näha. Ilmselt võis liiga kõrge pinge suuremate  $m/z$  väärtustega ühendeid väiksemateks osadeks fragmenteerida. Edaspidiselt kasutati kapillaarpinge väärtust 20 V.

### Laser-APCI-FT-ICR-MS-i parameetrid

Tabelis 2 on toodud kõik parameetrid, mida eelnevalt peatükis 4.1 optimeeriti ja mida laser-APCI-FT-ICR-MS-iga hea massispektri saamiseks (vt Joonis 16, B) kasutati.

FT-ICR-MS-i juhtprogrammis kasutati laser-APCI-FT-ICR-MS-iga hea spektri saamiseks sarnaseid parameetreid, mis APCI-FT-ICR-MS-i korral (vt peatükki 3.2.3 ja Joonist 16, A). Muudeti vaid eelnevalt kirjeldatud heksapoolis ionide kogumise algusaega ja selle aja kestvust ning lisati laserit käivitavad impulsid (7 impulssi). Kollimaatori nurk oli proovi suhtes  $43^\circ$ , ülekanaliini otsa nurk proovi suhtes  $28^\circ$  ja kapillaari otsa kaugus proovist oli 1 mm. Selliste parameetritega töötades jäi proovi pinnale väikeste mõõtmetega auk (umbes  $0,24 \text{ mm}^2$ , vt Lisa 2, Joonis 6), mis on oluline kultuuriväärtuslike proovide analüüsiseisukohalt.

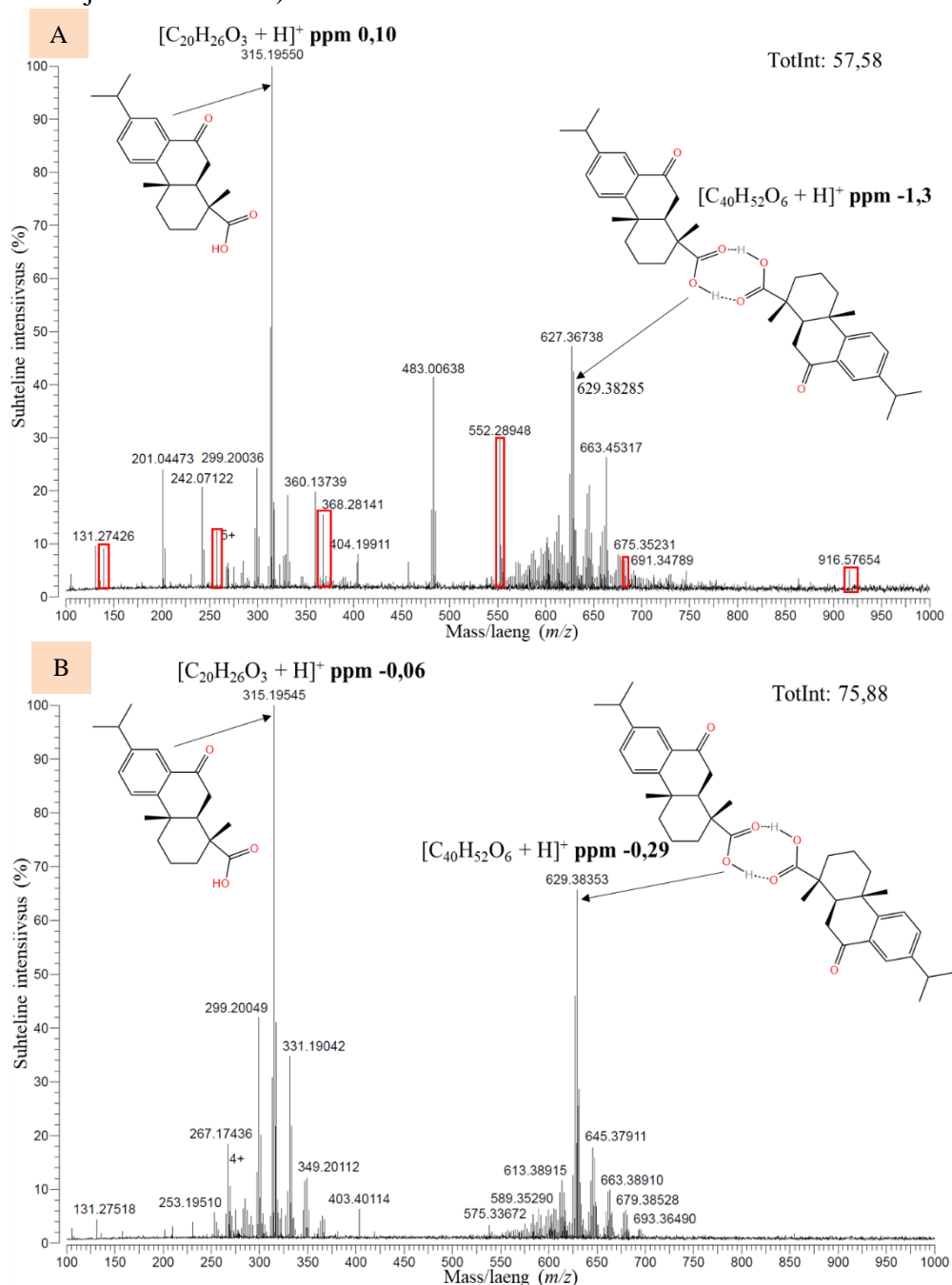
Tabel 2. Mõõtmisparameetrid, mida kasutati laser-APCI-FT-ICR-MS-iga vanandatud vaskresinaadist hea massispektri saamiseks.

Parameeter	Väärtus
Laseri lainepikkus	355 nm
Laseri impulsienergia	3,6 mJ
Laseri impulsside arv	7
Esimese laseri impulsi algusaeg	210 ms
Alarõhk APCIioonallikas	20%
APCI allika kapillaarpinge	20 V
Ioonjuhi raadiosagedusliku pingepulsi amplituud ( <i>ion guide radio frequency burst amplitude</i> )	180 V
Ioonidele energiat andva impulsi amplituudi ( <i>arbitrary waveform amplitude</i> )	150 V
Ioonide FT-ICR-MS mõõterakku laskva pingepulsi ( <i>trapping quadrupole</i> ) kestvus	3,8 ms
Heksapoolis ionide kogumise algusaeg	310 ms
Heksapoolis ionide kogumise aja kestvus ( <i>Hex Entrance</i> )	1900 ms

### 4.2 Laser-APCI-FT-ICR-MS ja APCI-FT-ICR-MS võrdlus

Töö üheks eesmärgiks oli võrrelda omavahel vanandatud vaskresinaadi massispektreid, mis olid mõõdetud lahuse kujul proovist APCI-FT-ICR-MS-iga ja laser-APCI-FT-ICR-MS-iga otse klaasplaadil olevalt tahkelt vaskresinaadi kihilt. Võrdlusesse valiti APCI-FT-ICR-MS-iga lahusest mõõdetud hea massispekter (vt Joonis 16, A) ja peatükis 4.1 toodud parameetrite optimeerimise tulemusena, laser-APCI-FT-ICR-MS-iga saadud hea massispekter (vt Joonis 16, B), mille mõõtmisparameetrid on toodud Tabelis 2. Oluline on välja tuua, et võrreldavate

proovide vanused on erinevad (klaasplaadil tahke proovi hinnanguline vanus on ligikaudu 15 aastat ja lahuses oleva, Petri tassil vanandatud proovi hinnanguline vanus on umbes 146 aastat). Sellest võivad olla tingitud mõningased erinevused massispektrites, kuid nende omavahelist võrdlemist see ei takista, kuna erinevast vanusest olulisem on see, et proovi on üldse vanandatud, sest vananemisel toimuvad proovi komponentidega sarnased protsessid (nt dimerisatsioon ja oksüdatsioon).



Joonis 16. APCI-FT-ICR-MS-iga vanandatud vaskresinaadi lahusest saadud massispekter (A) (punaste kastidega on märgitud sisekalibrandid, vt Lisa 3, Tabel 1) ja arendatud laser-APCI-FT-ICR-MS-iga vanandatud vaskresinaadist saadud parim spekter (B)

Järgnevalt on kirjeldatud saadud massispektreid.

#### 4.2.1 APCI-FT-ICR-MS-iga lahusest mõõdetud vaskresinaadi massispektri interpretatsioon

Kõigepealt analüüsiti APCI-FT-ICR-MS-iga vanandatud vaskresinaadi lahust (lahustatud DCM:isopropanool:heksaan:atsetonitriil segus 1:1:1:1 suhtega), et tuvastada täpsed proovis sisalduvad komponendid ja nende  $m/z$  väärtused, mis aitasid interpreteerida laser-APCI-FT-ICR-MS-iga tahkelt vaskresinaadi pinnalt saadud massispektrites esinevad piigid. Lisas 5, Joonisel 15 on toodud analüüsitava vaskresinaadi massispekter kalibreerimata (A) ja kalibreeritud (B) kujul. Lisas 5, Tabelis 2 on toodud analüüsitava vaskresinaadi massispektri interpreteerimistabel.

Vanandatud vaskresinaadi massispektris võib näha kahte suuremat klastrit  $m/z$  vahemikus 200 kuni 750 (vt Joonis 16, A). Tekkinud ioonid esinevad kõik protoneeritud kujul. Nii esimeses kui ka teises klastris toimus tihti protsess, kus alkomponendist lahkus karbonüülrühm ja vesi (nt  $C_{19}H_{25}^+ = m/z$  253.19508 puhul, kui kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhapest,  $C_{20}H_{26}O_2$ , lahkusid karbonüülrühm ja vesi  $[M-CO-H_2O+H]^+$ , vt Lisa 5, Tabel 2). Selline protsess on atmosfäärirõhulisel keemilisel ionisatsioonil tavaline, eriti kui ioniseeritav komponent sisaldab karboksüülrühma [29]. Täheldati ka oksüdeerumist (+O või +O-2H) ja dehüdraatumist (-H<sub>2</sub>O). Esimeses klastris kuuluvad piigid proovis esinevatele komponentidele ja nende derivaatidele (nt oksüdeerumisel tekkinud ühenditele) ja fragmentidele. Näiteks, esimese klatri ( $m/z$  200–425) kõige intensiivsem piik  $m/z$  väärtusel 315.19550 kuulub protoneerunud 7-oksodehüdroabietiinhapele  $[C_{20}H_{26}O_3+H]^+$ . See on ilmselt tekkinud vananemise käigus, oksüdeerumise tagajärjel abietiinhapest ( $C_{20}H_{30}O_2$ ). Lisaks võib näha esimeses klastris intensiivset piiki  $m/z$  väärtusel 299.20036, mis kuulub protoneerunud didehüdroabietiinhapele ( $[C_{20}H_{26}O_2+H]^+$ ). Teine klaster sisaldab enamjaolt esimeses klastris olevate piikide dimeere ja nende muundunud vorme. Näiteks, teises klastris on prominentsem piik dehüdrogeenitud 7-oksodehüdroabietiinhape dimeer ( $C_{40}H_{51}O_6^+$ ,  $m/z=627.36738$ ). Klaster, mis asub  $m/z$  483.00638 juures ei suudetud tuvastada ning hiljem laser-APCI-FT-ICR-MS-iga saadud spektris seda klastrit enam näha ei olnud (vt Joonis 16). Seega eeldati, et antud klaster pärineb tõenäoliselt proovilahusega koos infuseeritud kalibrantide lahusest.

#### 4.2.2 Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõdetud vanandatud vaskresinaadi massispektri interpretatsioon

Järgnevalt analüüsitakse klaasplaadilt, tahkelt vanandatud vaskresinaadilt laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõdetud massispektrit (vt Joonis 16, B). Analüüsitava massispekter saadi peatükis 4.1 kirjeldatud laser-APCI-FT-ICR-MS-i parameetrite optimeerimise tulemusena (vt Tabelit 2).

Lisas 5, Joonisel 16A on toodud analüüsiv massispekter kalibreerimata ja Lisas 5, Joonisel 16B kalibreeritud kujul. Lisas 5, Tabelis 3 võib näha analüüsitava massispektri interpreteerimistabelit.

Varakult mõisteti, et laser-APCI-FT-ICR-MS-iga vaskresinaadist saadud spektreid on kalibreerimata kujul keeruline interpreteerida. Massispektromeetrias määratakse masside mõõtmise täpsust ( $\Delta m/z$ ) ppm-ides (*parts per million*) ehk miljondik osades. FT-ICR-MS-i puhul peetakse üldjuhul mõõdetud täpsust heaks, kui  $\Delta m/z$  väärtus jääb alla ühe ppm-i või sinna lähedusse. Kalibreerimata massiteljega vaskresinaadi massispektrites kõikusid piikide  $m/z$  väärtused aga  $\pm 15$  ppm-i võrra võrreldes eeldatavate komponentide täpsete  $m/z$  väärtustega (vt Lisa 5, Joonis 16A). Sellest tulenevalt ei andnud massispektrite interpreteerimisprogramm (Varian FTDocViewer) täpseid vasteid ning ühele piigile pakutud võimalike ühendite arv oli kõrge (kuni 16), mis muutis massispektri interpreteerimist keerulisemaks. Selleks, et laser-APCI-FT-ICR-MS-iga saadud massispektrite massitelgesid kalibreerida, kasutati varasemalt APCI-FT-ICR-MS-iga lahusest mõõdetud kalibreeritud massispektrit, millelt valiti juba interpreteeritud, täpsete  $m/z$  väärtustega vaskresinaadi komponendid (kalibreerimiseks kasutatud komponendid on toodud Lisas 5, Tabelis 4).

Selleks, et analüüsida laser-APCI-FT-ICR-MS-i ja APCI-FT-ICR-MS-i meetodite täpsust enne ja peale kalibreerimist, vaadeldi saadud massispektrites kaht piiki (vt Lisa 5, Joonised 15 ja 16). Tulemused olid kummagi mõõtmismeetodi puhul üsna sarnased: enne kalibreerimist olid laser-APCI-FT-ICR-MS-i intensiivseimatele piikidele vastavate ühendite, 7-oksodehüdroabietiinhappe ( $m/z$  315.19547,  $C_{20}H_{27}O_3^+$ ) ja selle dimeeri ( $m/z$  629.38367,  $C_{40}H_{53}O_6^+$ )  $\Delta m/z$  väärtused vastavalt -7,07 ppm ja -12,60 ppm (vt Lisa 5, Joonis 16A). Vaskresinaadi lahusest, APCI-FT-ICR-MS-iga mõõdetud massispektris nende samade piikide, 7-oksodehüdroabietiinhappe ( $m/z$  315.19547,  $C_{20}H_{27}O_3^+$ ) ja selle dimeeri ( $m/z$  629.38367,  $C_{40}H_{53}O_6^+$ )  $\Delta m/z$  väärtused vastavalt 7,30 ppm ja 15,22 ppm (vt Lisa 5, Joonis 15A). Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõdetud vaskresinaadi spekter kalibreeriti, valides kindlad piigid lahusest APCI-FT-ICR-MS-iga mõõdetud, juba kalibreeritud massispektrist. Selle tulemusena langesid vaadeldavad  $\Delta m/z$  väärtused vastavalt -0,06 ja -0,29 ppm-i peale. Seega võib väita, et laser-APCI-FT-ICR-MS-iga on võimalik saada samas täpsusklassis massispektreid kui APCI-FT-ICR-MS-i kasutades.

Võrreldes Joonisel 16 toodud eri meetoditega saadud kalibreeritud massispektreid, võib näha, et need on üsna sarnased. Ka laser-APCI-FT-ICR-MS-i spektris on sarnaselt lahusest saadud massispektrile kõik ioonid protoneeritud kujul ning esines ka fragmente (CO ja H<sub>2</sub>O ära minek), oksüdeerumist (+O või +O-2H) ning dehüdraatumist (H<sub>2</sub>O ära minek). Võrreldavate spektrite

klastrid  $m/z$  vahemikus 200–750 pole omavahel nihkes ning suur osa piikidest kattuvad omavahel. Erinevustena võib märgata, et laser-APCI-FT-ICR-MS-i massispektril puudub klaster  $m/z$  483.00638 ümbruses ning see võib olla tulenev APCI-FT-ICR-MS-i puhul kasutatavast kalibrantide lahusest. Lisaks on laser-APCI-FT-ICR-MS-i massispektri madalamas  $m/z$  vahemikus ( $m/z$  200–400) paiknev klaster rohkem esile tulnud ning seal on rohkem komponente, mis võib olla tingitud näiteks sellest, et klaasplaadilt mõõdetud tahke vaskresinaat oli kuivatuskapis vähem aega kui APCI-FT-ICR-MS-iga lahusest mõõdetud proov. Seega jõudis tahke proovi puhul vähem dimeere ja oksüdatsiooniprodukte tekkida. Põhjuseks võib ühtlasi olla ka see, et laser võis kõrge energiaga fragmenteerida tahke proovi ablatsioonil suuremate  $m/z$  väärtustega ühendeid, põhjustades esimese klatri intensiivsuse tõusu. Tabelis 3 on analüüsitavatest vanandatud vaskresinaadi APCI-FT-ICR-MS-i ja laser-APCI-FT-ICR-MS-i massispektritest võrdlevalt välja toodud mõned peamised komponentide  $m/z$  ja nende  $\Delta m/z$  väärtused. Tabelist 3 on näha, et põhilised komponendid on nii APCI-FT-ICR-MS kui ka laser-APCI-FT-ICR-MS puhul sarnased. Seega võib väita, et laser-APCI-FT-ICR-MS ei ole oluliselt fragmenteerivam tehnika kui APCI-FT-ICR-MS.

Tabel 3. APCI-FT-ICR-MS-i ja laser-APCI-FT-ICR-MS-iga saadud vanandatud vaskresinaadi massispektrite tulemuste võrdlus.

APCI-FT-ICR-MS (lahusest)		Laser-APCI-FT-ICR-MS (tahkelt proovilt)		Katioonvalem	Ioonvalem	Arvatav algne komponent
Mõõdetud $m/z$	$\Delta m/z$ (ppm)	Mõõdetud $m/z$	$\Delta m/z$ (ppm)			
301.21631	0,33	301.21630	0,30	$C_{20}H_{29}O_2^+$	$[C_{20}H_{28}O_2+H]^+$	dehüdroabietiinhape
315.19550	0,10	315.19545	-0,06	$C_{20}H_{27}O_3^+$	$[C_{20}H_{26}O_3+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape
331.19047	0,24	331.19042	0,09	$C_{20}H_{25}O_4^+$	$[C_{20}H_{26}O_4+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape
627.36738	-1,02	627.36784	-0,29	$C_{40}H_{51}O_6^+$	$[2(C_{20}H_{26}O_3)-2H+H]^+$	$2 \times [7\text{-oksodehüdro-abietiinhape}]$
629.38285	-1,30	629.38353	-0,22	$C_{40}H_{53}O_6^+$	$[2(C_{20}H_{26}O_3)+H]^+$	$2 \times [7\text{-oksodehüdro-abietiinhape}]$
645.37859	0,02	645.37911	0,82	$C_{40}H_{53}O_7^+$	$[2(C_{20}H_{26}O_3)+O+H]^+$	$2 \times [7\text{-oksodehüdro-abietiinhape}]$

Töö käigus täheldati, et laser-APCI-FT-ICR-MS-i kasutades määrduv APCI ioonallikas vähem kui APCI-FT-ICR-MS-i puhul. Lahustatud vaskresinaadi APCI-FT-ICR-MS-iga mõõtmise puhul puhastati APCI allikat iga 2 ml proovilahuse infuseerimise tagant ning koroonanõela iga mõõtmispäeva alguses ja lõpus. Mõõtes tahket proovi võis laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõta terve päeva, ilma et APCI allikas silmnähtavalt mustem oleks. Ka mõõtmispäeva lõpuks olid ioonallikas ja koroonanõel puhtamad kui lahusega mõõtes. Laser-APCI-FT-ICR-MS puhul pidi iga mõõtmispäeva lõpus puhastama ülekandeliini, milleks tuli mõõtmiste jooksul paika saadud kapillaari asetus lahti ühendada.

Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga katseid tehes kulub suurim osa ajast kollimaatori nurga ja ülekandeliini kapillaari otsa paika seadmisele ning laserkiire fookuse leidmisele (umbes 30 minutit). APCI-FT-ICR-MS-i puhul võttis aga kõige kauem aega proovilahuse tegemine ja

APCI ionallika puhastamine. Mõõtes massispektreid lahusest, said kindla aja tagant proovi- ja kalibrantide lahused otsa ning infuseerimiseks kasutatavaid süstlaid pidi taas täitma. Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga tahkelt proovipinnalt mõõtes oli laserablatsiooni tõttu proovil kahjustada saanud ala väga väike ja seega sai prooviplaadil erintevatest kohtadest mõõta pikka aega, ilma et proovipind oleks otsa saanud. Üldiselt töötas laser-APCI-FT-ICR-MS vaskresinaadi proovi uurimisel hästi, peale seda kui peatükis 4.1 kirjeldatud parameetrid paika saadi.

### **4.3 Järeldused ja soovitused tulevikuks**

Bakalaureusetöö käigus õnnestus seadistada töötav laser-APCI-FT-ICR-MS süsteem, mis andis väärtusliku sisendi ja teadmised süsteemi edasiseks arendamiseks. Kuna käesolev töö on osa suuremast projektist, on see alles algus ning on mitmeid suundi, kuhu edasi liikuda.

Tulevased uuringud peaksid hõlmama erinevate proovide ja erinevate laseri lainepikkuste testimist, mis aitaksid süsteemi toimimist erinevate materjalide puhul paremini mõista. Kuna käesolevas töös teostati laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõtmised ainult positiivses režiimis, tasuks katsetada süsteemi ka negatiivses režiimis. Oluline oleks välja töötada ka viis, kuidas tahkele proovile lisada sisekalibrante ilma, et need proovi kahjustaks. Sisekalibreerimist on vaja selleks, et saada massispektrite massiteljed täpsemaks, et massispektrites proovikomponente suurema kindlusega tuvastada saaks. Lisaks võiks mõelda kiiremale meetodile ülekandeliini kapillaari puhastamiseks (praegu ühendati kapillaar APCI ionallika küljest lahti ja pesti süstlaga nelja solvendi seguga läbi, see võttis aga kaua aega – umbes 30 minutit. Rohkem süvitsi tuleks uurida ka ülekandeliini kuumutamist ja metallkapillaaride kasutamist, sest praeguses töös tehti kõige rohkem katseid PTFE-st ülekandeliini kapillaaridega. Erinevate proovide puhul tasuks kaaluda ka erinevate laseri impulsi arvude kasutamist (töös kasutati kõikides katsetes seitset laseri impulssi). Seitsme laseri impulsienergia ei pruugi aga kõikide proovide puhul olla piisav energiahulk, et sügavamalt proovikihtidelt materjali eraldada.

Varian 910-ICR-MS kasutamine on näidanud, et antud süsteemi puhul on korratavate tulemuste saavutamine keeruline isegi samade tingimuste korral. Lisaks ei saanud mitmel mõõtmispäeval praeguse süsteemiga ühtegi massispektrit kätte ja masinat tuli tihti hooldada. Seega tasuks kaaluda ka uuema APCI allikaga kõrglahutusega massispektromeetri (nt Orbitrap) soetamist.

## 5. KOKKUVÕTE

Käesoleva bakalaureusetöö põhieesmärgiks oli välja töötada lahendused kiudoptilise kaabliga laser-APCI-FT-ICR-MS mõõtesüsteemi seadistamiseks, mis võimaldaks orgaaniliste ühendite tuvastamist ilma proovi eelneva lahustamiseta otse tahke materjali pinnalt, välja valitud alalt. Töös kasutati testproovina vaskresinaati.

Eesmärgi saavutamiseks pandi esmalt ühtse süsteemina töötama kiudoptilise kaabliga laser ja ülekandeliiniga APCI-FT-ICR-MS. Selleks leiti ja fikseeriti kõigepealt optimaalne ülekandeliini otsa ja kiudoptilise kaabli otsas olevast kollimaatorist proovile langeva laseri kiire vaheline asend. Seejärel ühendati FT-ICR-MS juhtprogramm "Omega" laseri juhtpaneeliga, mis võimaldas mõõtmisi juhtida ühest arvutist. Lõpuks tehti mitmeid katsetusi optimeerimaks alarõhu ja kapillaarpinge väärtuseid APCI allikas, mille tulemusena leiti optimaalsete väärtuste vahemik (12,5–20% alarõhu puhul ja 10–30 V kapillaarpinge puhul). Tehti esmased katsetused ka ülekandeliini kuumutamiseks. Täheledatai, et vaskresinaadi analüüsimiseks pole ülekandeliini kapillaari kuumutada vaja ning hea spekter saadi ka ilma kuumutamata. Samas ei saa kindlalt väita, et ülekandeliini kuumutamine poleks vajalik mõne teise materjali uurimise puhul ning seda tuleks tulevikus rohkem testida.

Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga vanandatud vaskresinaadist saadud massispektrit võrreldi ka APCI-FT-ICR-MS-iga vaskresinaadi lahusest saadud massispektriga. Kuigi mõlemad süsteemid andsid võrreldavaid tulemusi, tõi laser-APCI-FT-ICR-MS süsteemi kasutamine kaasa märkimisväärseid eeliseid, määrades näiteks APCI allikat vähem kui lahustatud kujul proovide mõõtmine ja luues võimaluse proovi otse tahkelt pinnalt ilma proovi eelneva lahustamiseta analüüsida, mis on oluline eelis kultuuriväärtuslike objektide uurimisel. Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga proovi uurimisel tekitati proovi pinnale väikeste mõõtmetega auk ( $0,24 \text{ mm}^2$ ), mida on palja silmaga raske märgata.

Bakalaureusetööga saadi püstitatud põhieesmärk täidetud ning töötati välja vaskresinaadi näitel toimiv laser-APCI-FT-ICR-MS süsteem. Käesoleva lõputöö käigus tehtud töö on edusamm laseril põhineva pliatsi-tüüpi mõõtepea-MS süsteemi arendamisel, võimaldamaks kultuuriväärtuslikke objekte ja raskesti lahustuvaid proove kergemini kõrge täpsusega uurida.

## 6. SUMMARY

The main objective of this bachelor's thesis was to develop solutions for configuring a laser-APCI-FT-ICR-MS measurement system, which would enable the detection of organic compounds directly from the surface of solid materials, from a selected area, without prior sample dissolution. In this work, copper resinate was used as a test sample.

To achieve the goal, the initial step involved integrating the laser with an optical fibre, with the transfer line connected to APCI-FT-ICR-MS. For this, the optimal alignment between the laser beam incident on the sample from the collimator at the end of the optical fibre and the tip of the transfer line was established and fixed. Subsequently, the FT-ICR-MS control program, "Omega", was connected to the laser control panel, allowing measurements to be initiated using a single computer. Finally, several experiments were carried out to optimise the values of vacuum and capillary voltage in the APCI source, resulting in the identification of an optimal range of values (12.5–20% for vacuum and 10–30 V for capillary voltage). Preliminary tests were also performed to assess the heating of the transfer line. It was observed that heating of the transfer line capillary was not necessary for analysing copper resinate, as satisfactory mass spectra were obtained even without heating. However, it cannot be stated with certainty that heating the transfer line would not be necessary when studying other materials and this aspect should be further addressed in the future.

The mass spectrum obtained from aged copper resinate using laser-APCI-FT-ICR-MS was also compared with the mass spectrum obtained from copper resinate solution using APCI-FT-ICR-MS. Although both systems yielded comparable results, using the laser-APCI-FT-ICR-MS system brought significant advantages, such as reduced contamination of the APCI source compared to measurements using dissolved samples and creating the possibility to analyse samples directly from a solid surface without prior dissolution, which is an important advantage when studying cultural heritage objects. When examining a sample with laser-APCI-FT-ICR-MS, a small hole (0.24 mm<sup>2</sup>) was created on the surface of the sample, which is difficult to notice with the naked eye.

The main objective of the bachelor's thesis was achieved and a functioning laser-APCI-FT-ICR-MS system was developed with the example of copper resinate. The work carried out during this thesis represents a step forward in developing a pen-type measuring head-MS system, facilitating the high-precision analysis of cultural heritage objects and difficult-to-dissolve samples.

## 7. KASUTATUD KIRJANDUS

1. J. H. Gross, *Mass Spectrometry* (Springer International Publishing, 2017).
2. *Mass Spectrometry: A Foundation Course* (Royal Society of Chemistry, 2007).
3. E. de Hoffmann and V. Stroobant, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, 3rd ed (J. Wiley, 2007).
4. P. Cronan, "Introduction to Mass Spectrometry," <https://www.agilent.com/Library/slidepresentation/Public/Introduction%20to%20LCMS.pdf>.
5. F. J. Andrade, J. T. Shelley, W. C. Wetzel, M. R. Webb, G. Gamez, S. J. Ray, and G. M. Hieftje, "Atmospheric Pressure Chemical Ionization Source. 1. Ionization of Compounds in the Gas Phase," *Anal. Chem.* **80**, 2646–2653 (2008).
6. E. M. Thurman, I. Ferrer, and D. Barceló, "Choosing between Atmospheric Pressure Chemical Ionization and Electrospray Ionization Interfaces for the HPLC/MS Analysis of Pesticides," *Anal. Chem.* **73**, 5441–5449 (2001).
7. P. E. Görs, P. Wittenhofer, J. F. Ayala-Cabrera, and S. W. Meckelmann, "Potential of atmospheric pressure ionization sources for the analysis of free fatty acids in clinical and biological samples by gas chromatography-mass spectrometry," *Anal. Bioanal. Chem.* **414**, 6621–6634 (2022).
8. Y. Qi and P. B. O'Connor, "Data processing in Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: FT-ICR DATA PROCESSING," *Mass Spectrom. Rev.* **33**, 333–352 (2014).
9. O. Svelto, *Principles of Lasers* (Springer US, 2010).
10. T. H. Maiman, "Stimulated Optical Radiation in Ruby," *Nature* **187**, 493–494 (1960).
11. G. Purohit, "Overview of Lasers," 193–203 (2020).
12. A. F. Borkenstein, E. M. Borkenstein, P. Omidi, and A. Langenbacher, "Evaluating impact of Nd: YAG laser associated defects on optical quality of hydrophilic and hydrophobic intraocular lenses using visualization of light propagation and USAF test targets," *BMC Ophthalmol.* **22**, 494 (2022).
13. K. K. Murray, C. A. Seneviratne, and S. Ghorai, "High Resolution Laser Mass Spectrometry Bioimaging," *Methods San Diego Calif* **104**, 118–126 (2016).
14. M. Stafe, A. Marcu, and N. N. Puscas, *Pulsed Laser Ablation of Solids: Basics, Theory and Applications*, Springer Series in Surface Sciences (Springer, 2014), Vol. 53.
15. J. Hecht, *Understanding Fiber Optics* (Jeff Hecht, 2015).
16. N. I. Zanoon, "The Phenomenon of Total Internal Reflection and Acceleration of Light in Fiber Optics," *Int. J. Comput. Appl.* **107**, 19–24 (2014).

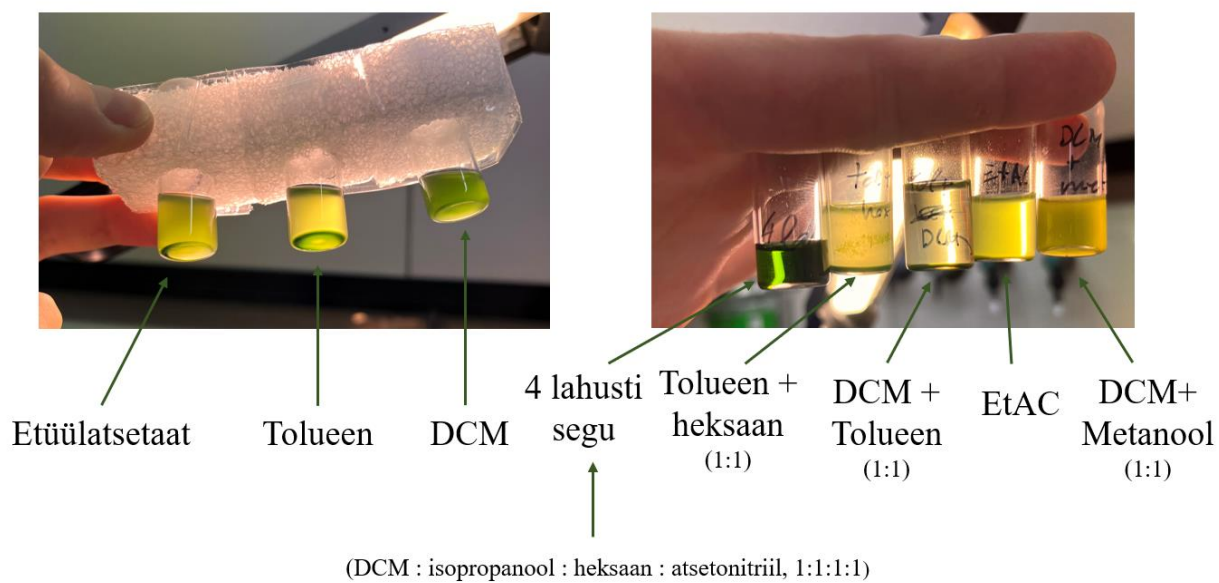
17. S. Savović, A. Djordjevich, and I. Savović, "Theoretical investigation of bending loss in step-index plastic optical fibers," *Opt. Commun.* **475**, 126200 (2020).
18. S. Campbell, O. Blomster, and M. Pålsson, "Comparison of small fiber connectors for high-power transmission," in W. A. Clarkson, N. Hodgson, and R. K. Shori, eds. (2010), p. 75781R.
19. J. A. Grant-Jacob, S. J. Beecher, T. L. Parsonage, P. Hua, J. I. Mackenzie, D. P. Shepherd, and R. W. Eason, "An 11.5 W Yb:YAG planar waveguide laser fabricated via pulsed laser deposition," *Opt. Mater. Express* **6**, 91–96 (2016).
20. L. Wang, Y. Zhang, R. Han, and X. Li, "LA-ICP-MS analyses of trace elements in zoned sphalerite: A study from the Maoping carbonate-hosted Pb-Zn(-Ge) deposit, southwest China," *Ore Geol. Rev.* **157**, 105468 (2023).
21. C. Phipps, ed., *Laser Ablation and Its Applications*, Springer Series in Optical Sciences (Springer US, 2007), Vol. 129.
22. A. H. Hamad, "Effects of Different Laser Pulse Regimes (Nanosecond, Picosecond and Femtosecond) on the Ablation of Materials for Production of Nanoparticles in Liquid Solution," in *High Energy and Short Pulse Lasers* (IntechOpen, 2016).
23. P. Vanraes and A. Bogaerts, "Laser-induced excitation mechanisms and phase transitions in spectrochemical analysis – Review of the fundamentals," *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* **179**, 106091 (2021).
24. M. P. Colombini, G. Lanterna, A. Mairani, M. Matteini, F. Modugno, and M. Rizzi, "Copper resinate: preparation, characterisation and study of degradation," *Ann. Chim.* **91**, 749–757 (2001).
25. S. Švarcová, D. Hradil, J. Hradilová, and Z. Čermáková, "Pigments—copper-based greens and blues," *Archaeol. Anthropol. Sci.* **13**, 190 (2021).
26. S. W. C. Horn, M. Lewis, M. R. Palmer, and C. A. Bayse, "Examination of the composition and mechanism of discoloration of the fugitive pigment copper resinate," *Inorganica Chim. Acta* **504**, 119407 (2020).
27. K. P. G. & C. KG, "Copper Resinate Pigments," <https://www.kremerpigmente.com/en/shop/pigments/12200-copper-resinate.html>.
28. M. Sajid and M. Ilyas, "PTFE-coated non-stick cookware and toxicity concerns: a perspective," *Environ. Sci. Pollut. Res.* **24**, 23436–23440 (2017).
29. M. Holčapek, R. Jirásko, and M. Lída, "Basic rules for the interpretation of atmospheric pressure ionization mass spectra of small molecules," *J. Chromatogr. A* **1217**, 3908–3921 (2010).

## **8. LISAD**

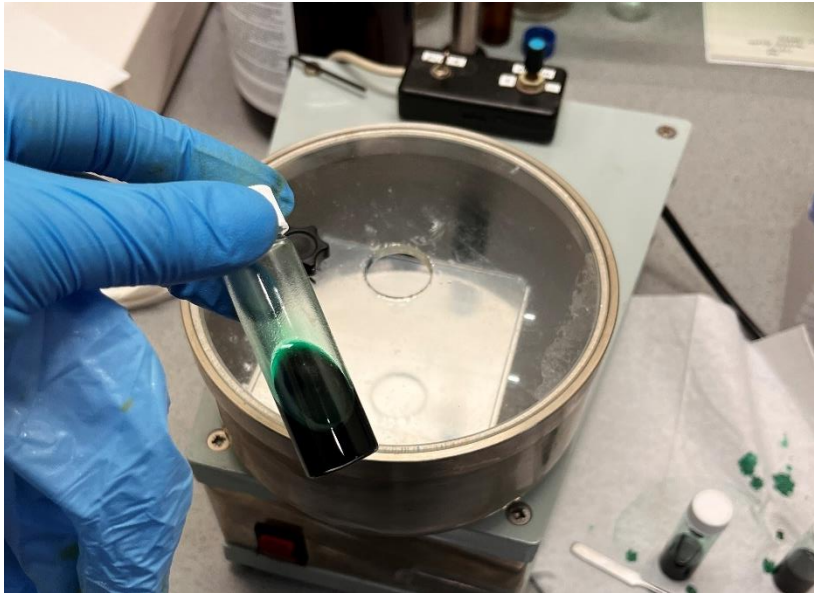
## Lisa 1



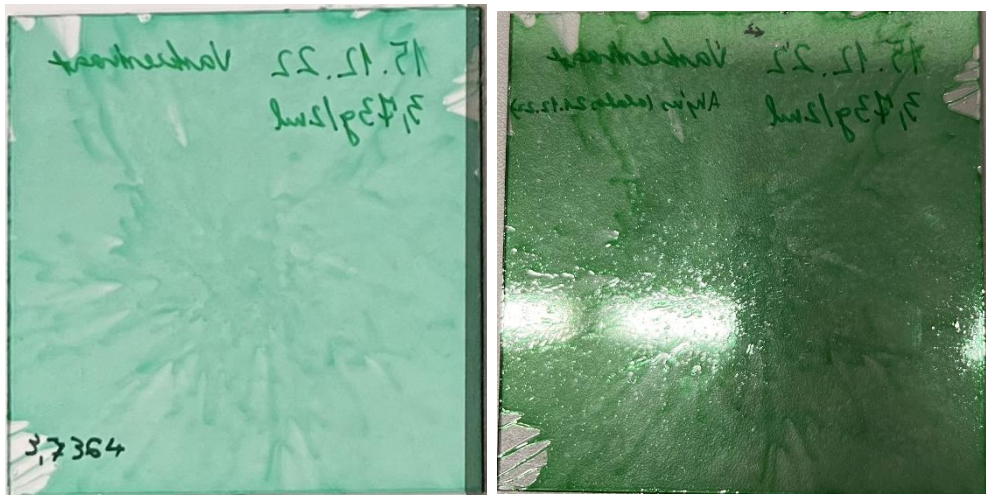
Joonis 1. 60 °C juures kuivatuskapis vanandatud vaskresinaat, millest valmistati lahus APCI-FT-ICR-MS analüüsi jaoks.



Joonis 2. Vanandatud vaskresinaadi lahustamiskatsed erinevate solventidega APCI-FT-ICR-MS analüüsi jaoks.

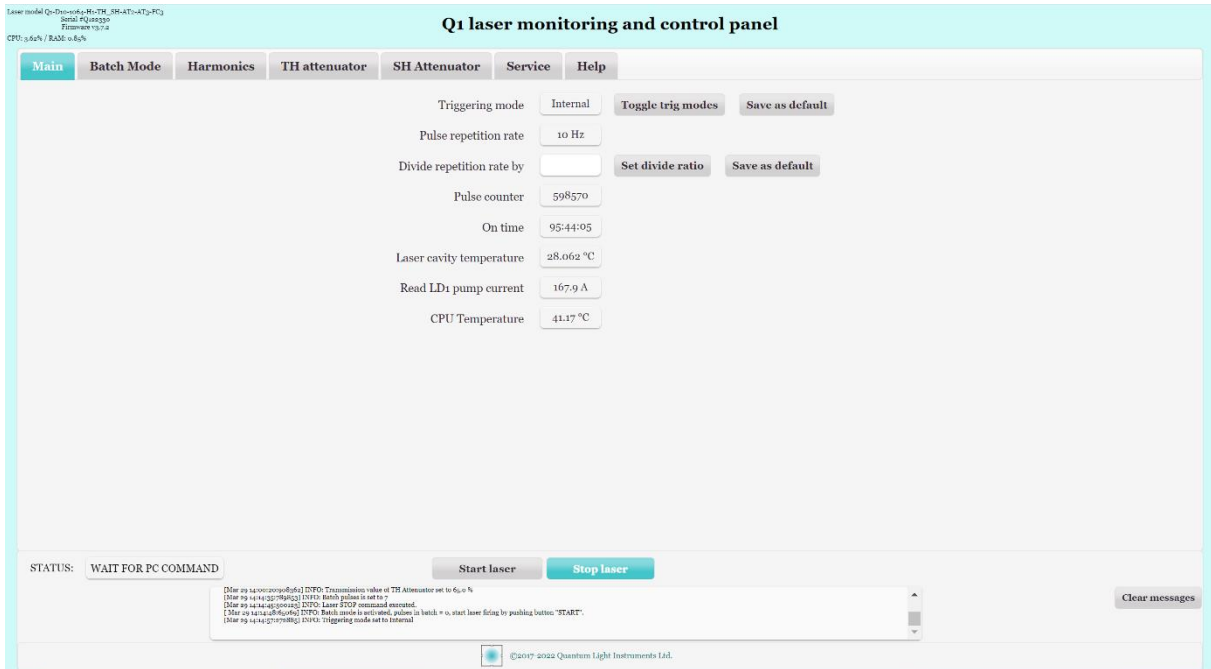


Joonis 3. Vurrkattur ja vaskresinaadi lahus (lahustatud nelja lahusti segus).

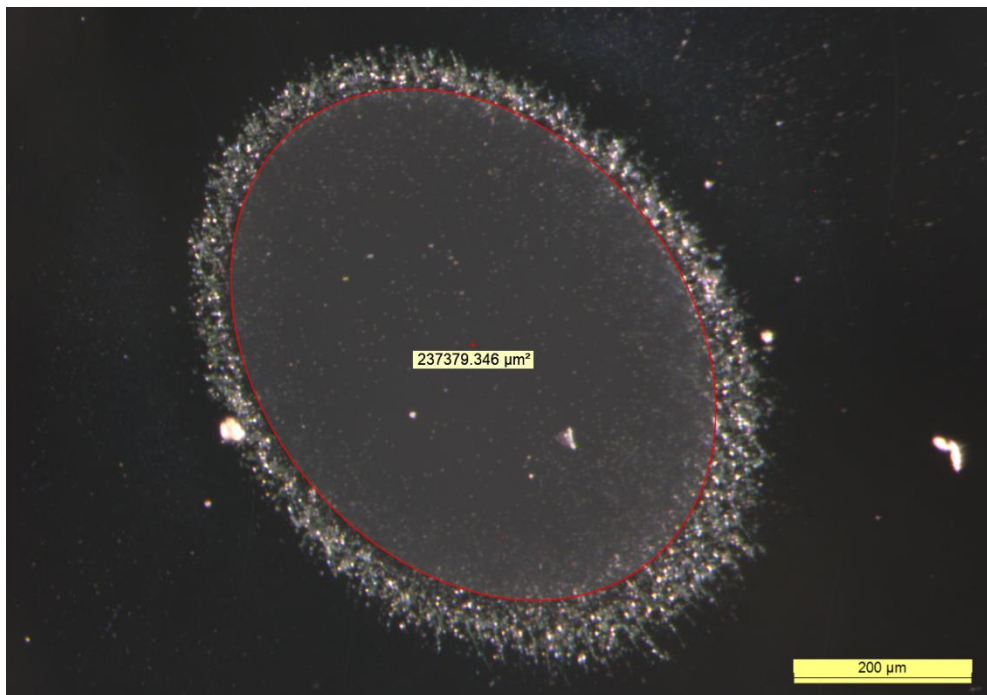


Joonis 4. Värske vaskresinaat (vasak) ning 68 päeva 60 °C juures vanandatud vaskresinaat (parem) laser-APCI-FT-ICR-MS katsete jaoks.

## Lisa 2



Joonis 5. Laseri juhtimisprogrammi esileht.



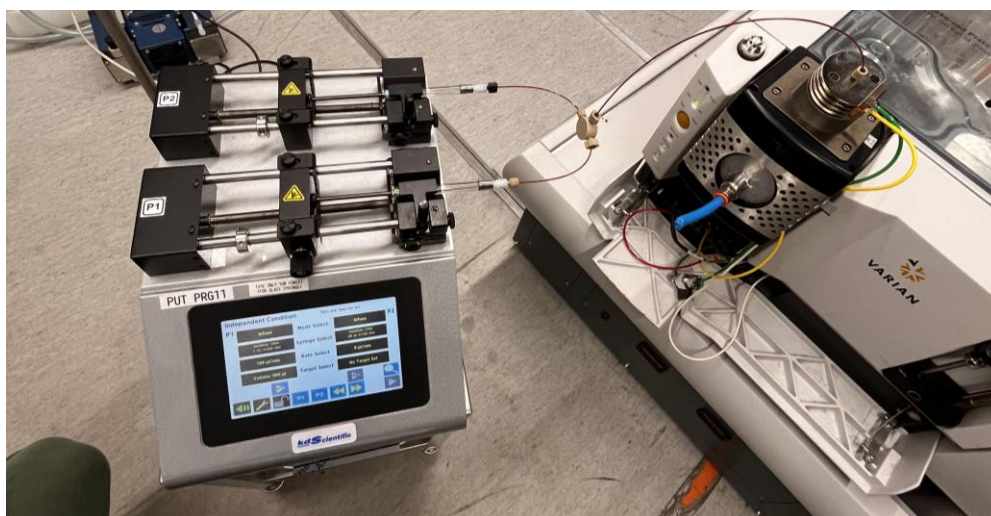
Joonis 6. Leica optilise stereomikroskoobiga (M165 FC) tehtud pilt 3,6 mJ energiaga laseri impulsi poolt klaasplaadil vanandatud vaskresinaadile tekitatud august ja selle määratud pindala.

### Lisa 3

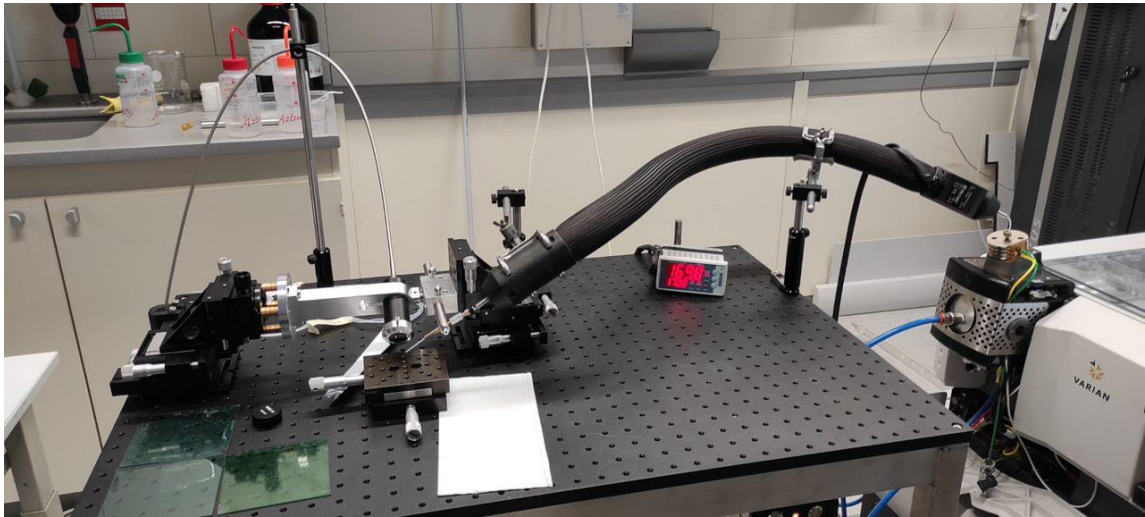
Tabel 1. Kasutatud kalibrandid APCI-FT-ICR-MS-i puhul.

Täpne $m/z$	Katiooni valem	Neutraalne ühend	Esialgse lahuse kontsentratsioon (mg/ml)	Lahusti, mida kasutati esialgses lahuses	Kui palju võeti esialgset lahust kalibratsiooni-lahusesse ( $\mu\text{l}$ )	Kontsentratsioon kalibratsiooni-lahuses ( $\mu\text{g/ml}$ )*
139.12297	$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_2^+$	$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_2\text{Br}$	12,6	Metanool	50	630,0
257.18896	$\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{P}^+$	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{P}$ * $\text{HBF}_4$	13,65	Atsetonitriil: $\text{H}_2\text{O}$ (1:1)	50	682,5
368.28149	$\text{C}_{14}\text{H}_{40}\text{N}_7\text{P}_2^+$	$\text{C}_{14}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{P}_2$ * $\text{HBF}_4$	3,3	Atsetonitriil: $\text{H}_2\text{O}$ (1:1)	30	99,0
552.28947	$\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{N}_7\text{ClP}_2^+$	$\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{N}_7\text{ClP}_2$ * $\text{HPh}_4$	5,35	Atsetonitriil	5	26,8
682.43526	$\text{C}_{26}\text{H}_{64}\text{N}_{13}\text{P}_4^+$	$\text{C}_{26}\text{H}_{63}\text{N}_{13}\text{P}_4$ * $\text{HBF}_4$	5,07	Atsetonitriil	20	101,4
916.57611	$\text{C}_{44}\text{H}_{82}\text{N}_{13}\text{P}_4^+$	$\text{C}_{44}\text{H}_{81}\text{N}_{13}\text{P}_4$ * $\text{HBF}_4$	6,95	Atsetonitriil	50	347,5

\*peale 795  $\mu\text{l}$  metanooli lisamist oli sisekalibrantide lahust 1ml

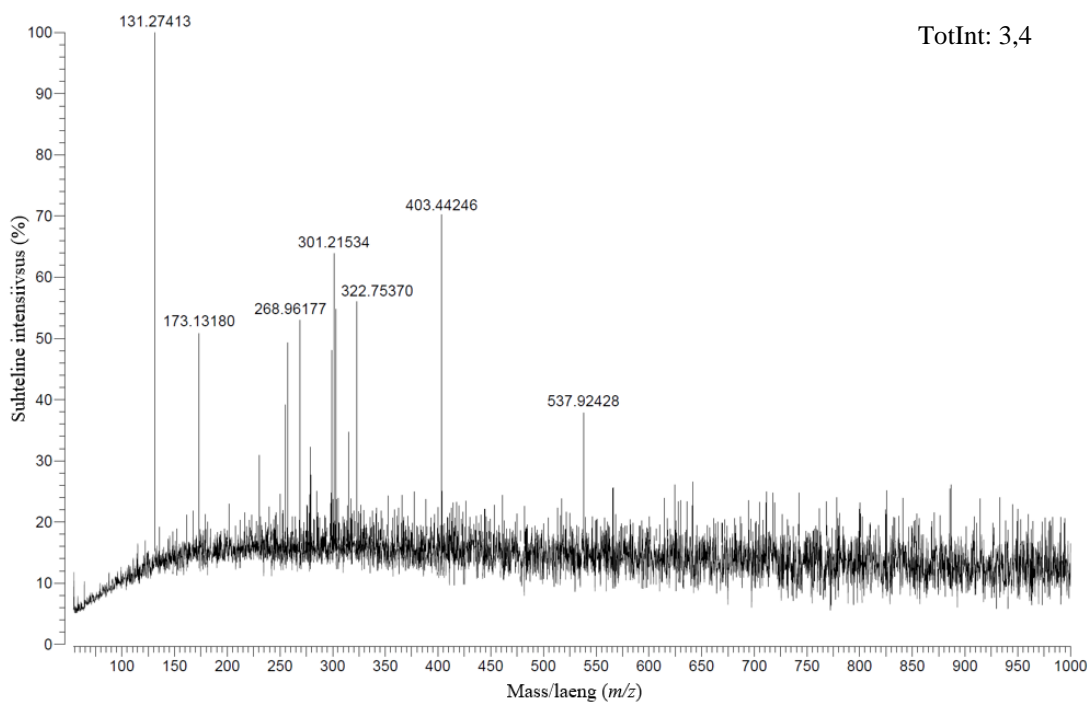


Joonis 7. Kahe süstlaga infuseerimissüsteem KD Scientific Gemini 88, mida kasutati APCI-FT-ICR-MS mõõtmiste jaoks.

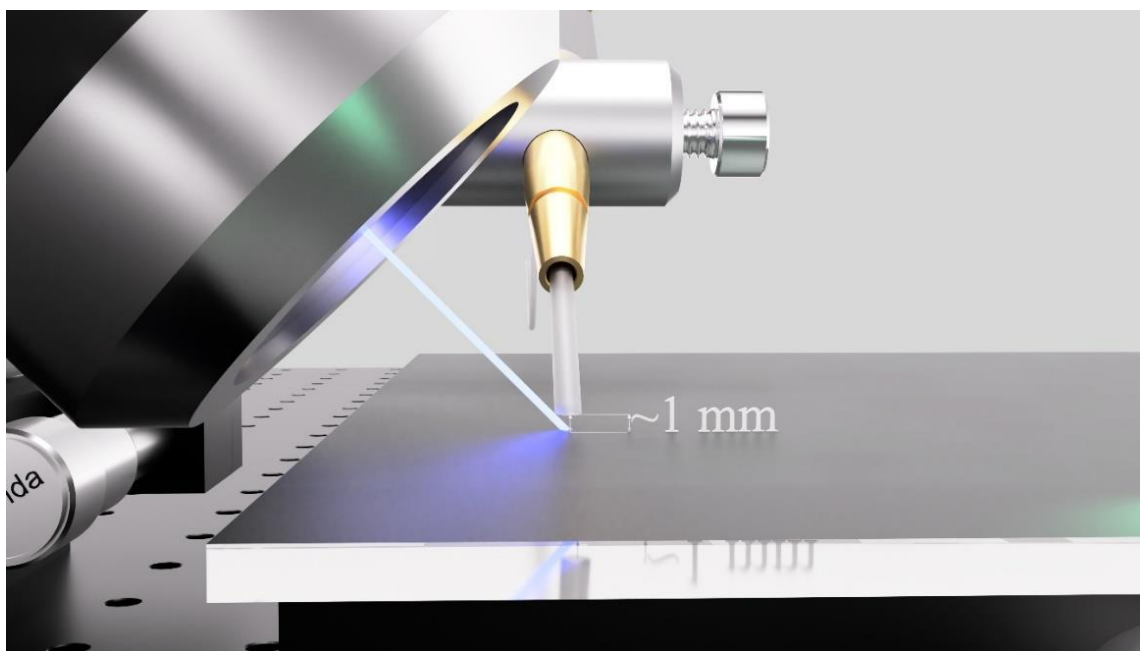


Joonis 8. Kuumutustoru (Hillesheim GmbH H300) ümbritseb teflonist ülekanaliini, mis on ühenduses APCI allikaga.

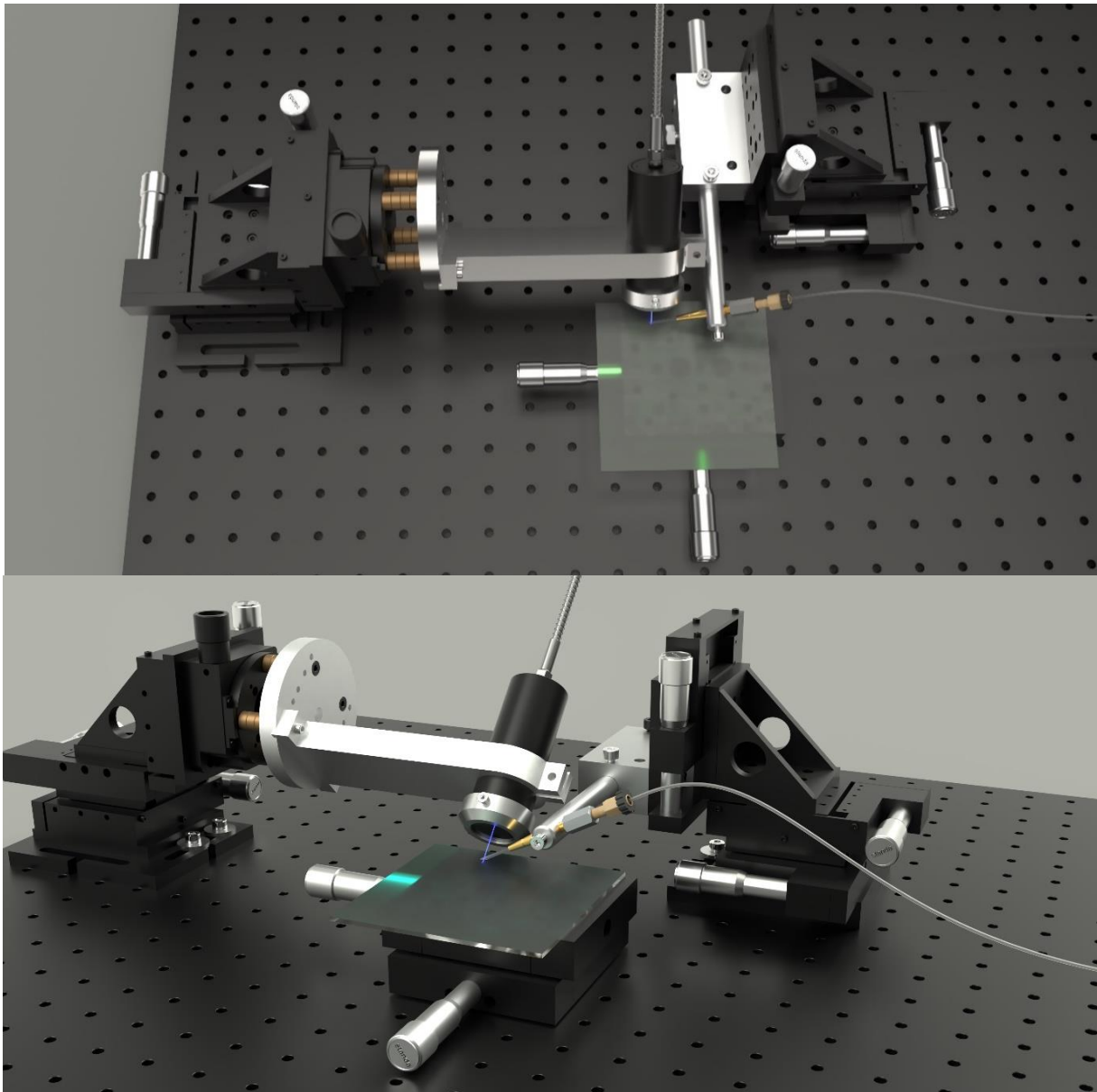
## Lisa 4



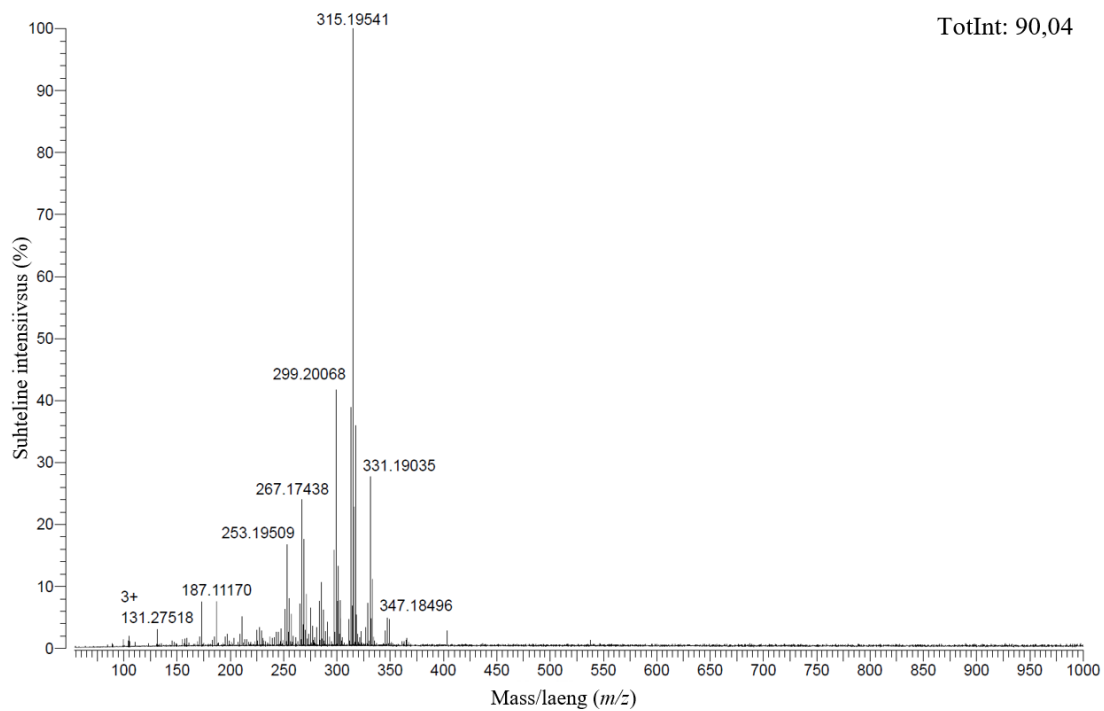
Joonis 9. Esialgse asetusega vanandatud vaskresinaadist saadud laser-APCI-FT-ICR-MS spekter.



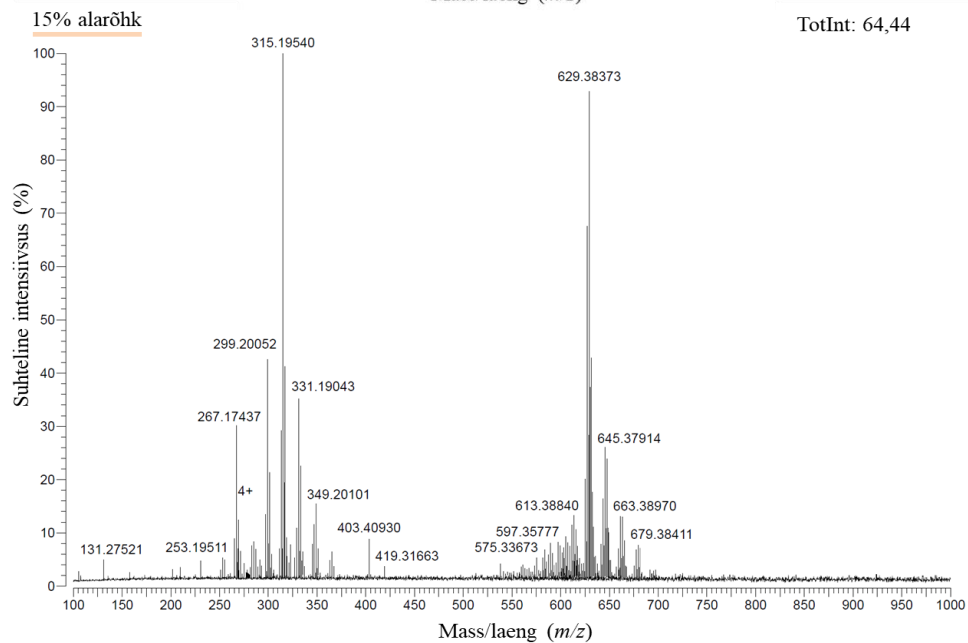
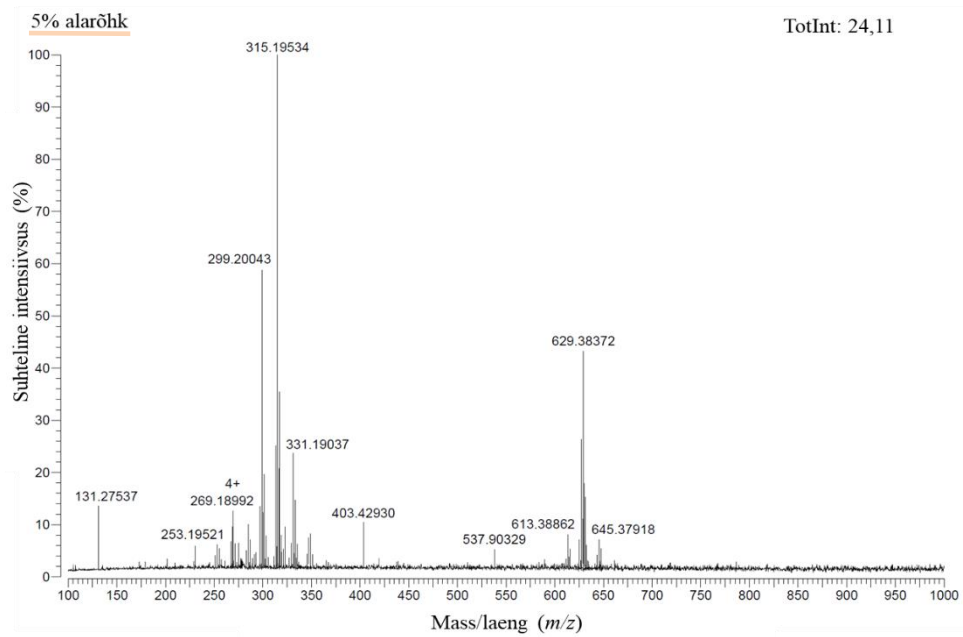
Joonis 10. Ülekandeliini PTFE-st kapillaari asetuse suhte lõppversiooni puhul (sisediameeter 1 mm, välidiameeter 1,6 mm).



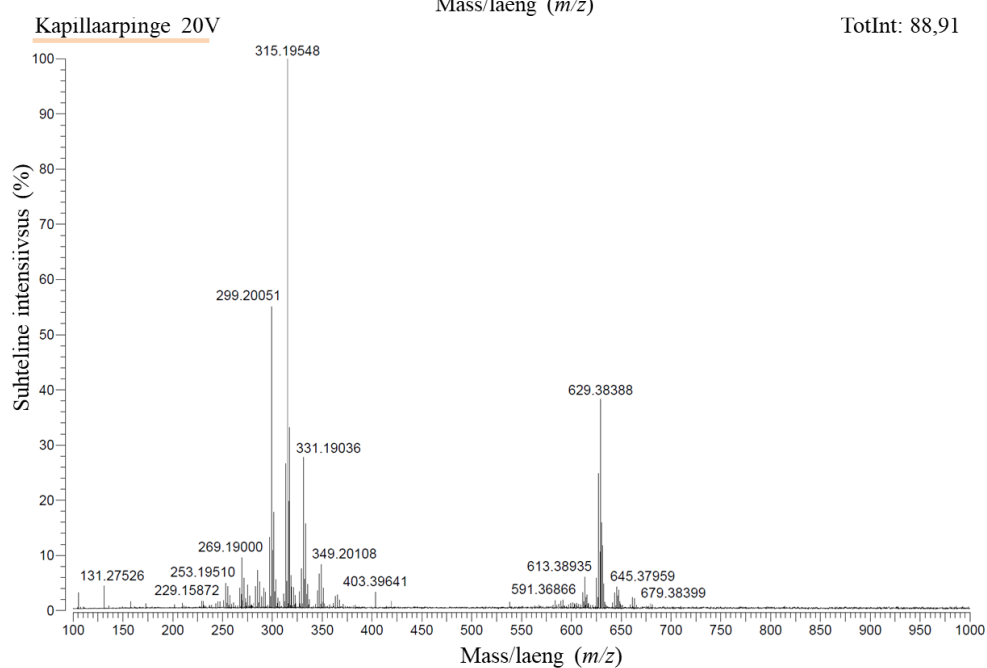
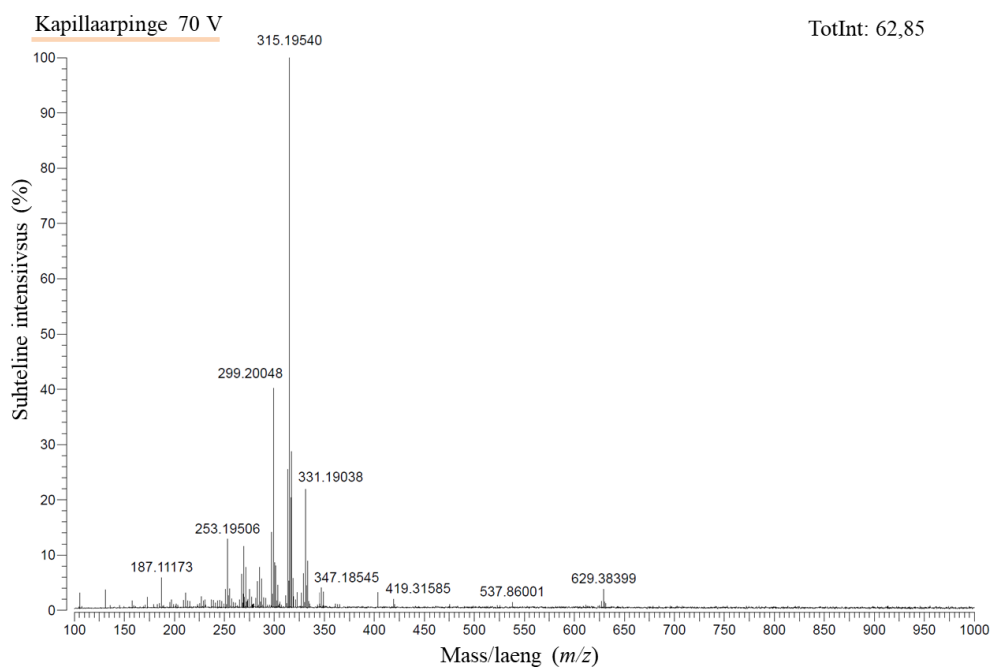
Joonis 11. Optilisel laual olevate proovi, ülekanaliini kapillaari, kollimaatori ja nende asetuse kontrollitavat muutmist võimaldavate seadmete asetuse lõppversioon pealt- (üleväl) ja külvaates (all).



Joonis 12. Vanandatud tahkest vaskresinaadist (proov klaasplaadil) saadud esimene arvestatav spekter laser-APCI-FT-ICR-MS-iga.

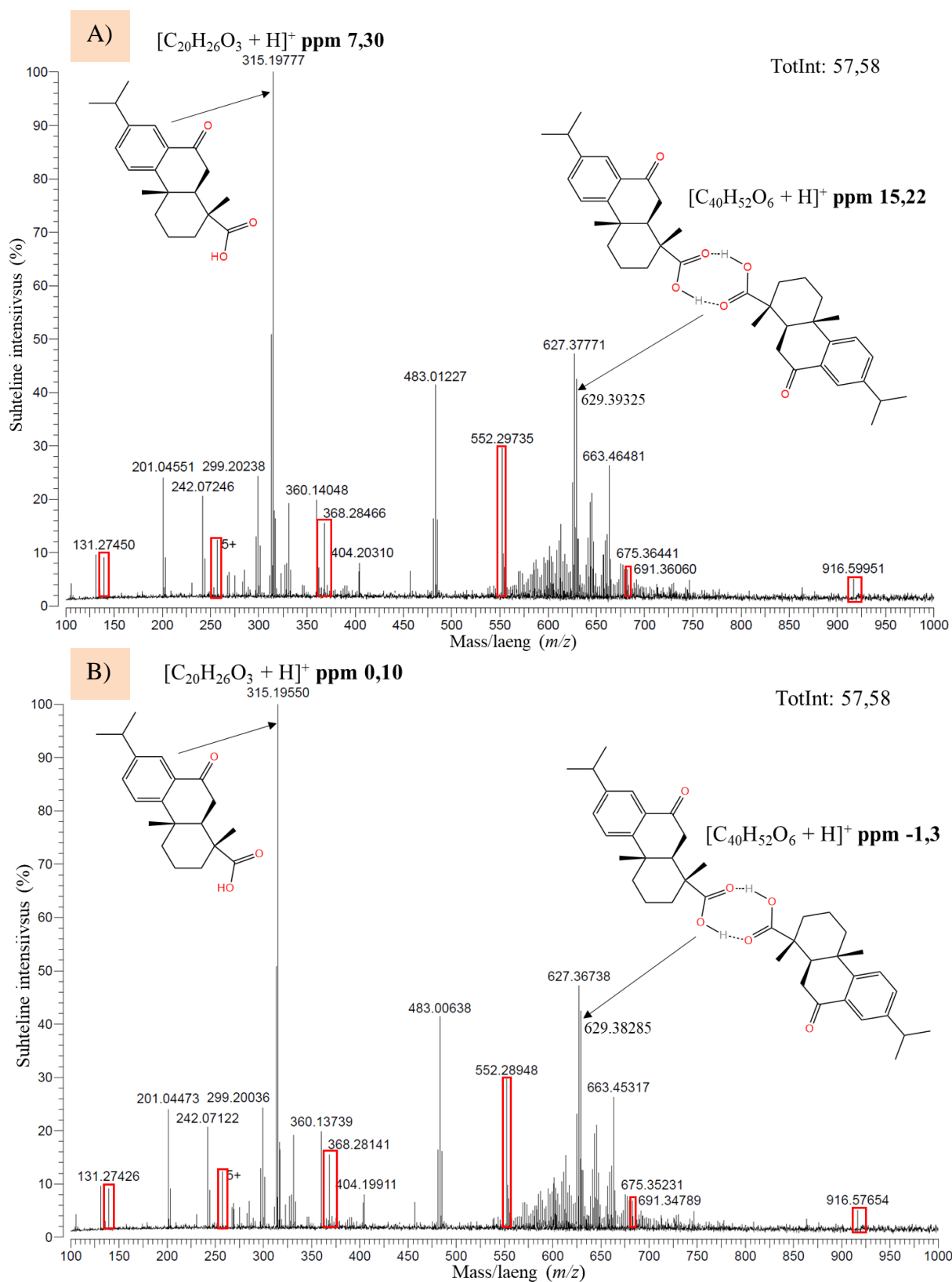


Joonis 13. Vanandatud tahkest vaskresinaadist (proov klaasplaadil) laser-APCI-FT-ICR-MS-iga erinevatel APCI allika alarõhkudel registreeritud massispektrid.



Joonis 14. Vanandatud vaskresinaadist laser-APCI-FT-ICR-MS-iga erinevatel APCI ioonallika kapillaarpingetel saadud spekterid. On näha, et kõrgematel kapillaarpinge väärtustel (ülemine massispekter) kaovad piigid teisest klastrist.

## Lisa 5



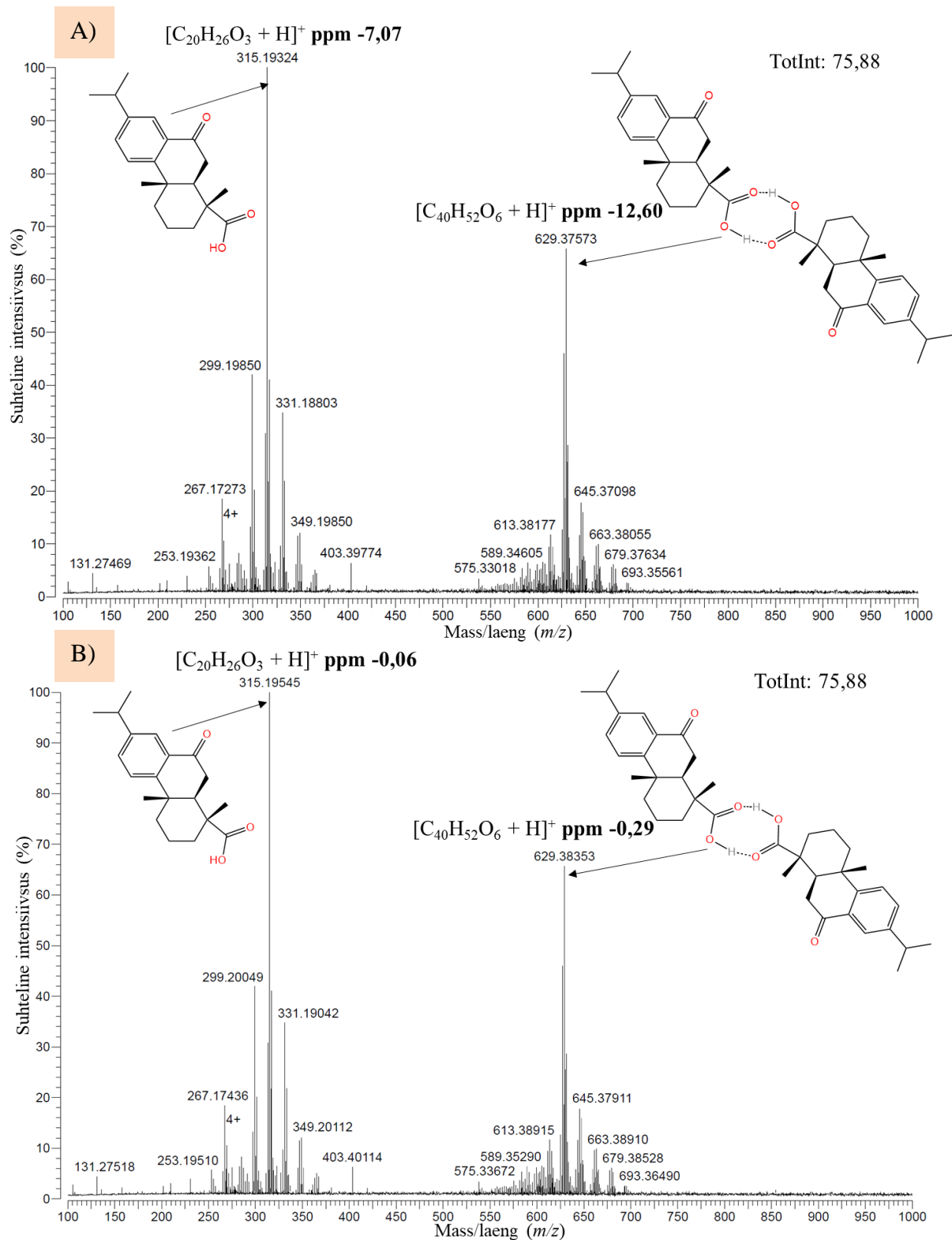
Joonis 15. APCI-FT-ICR-MS-iga vanandatud vaskresinaadi lahusest saadud spekter enne kalibreerimist (A) ja peale kalibreerimist (B). Punase kastiga on märgitud sisekalibrandid.

Tabel 2. APCI-FT-ICR-MS-iga saadud vanandatud vaskresinaadi massispektri interpretatsioon (vt Lisas 5 Joonisel 15, B toodud massispektrit).

Mõõdetud m/z	Täpne m/z	$\Delta m/z$ (ppm)	Katiooni valem	Toimunud protsess	Arvatav algne komponent M (brutovalem)
139.12297	139.12297	0,00	$C_8H_{15}N_2^+$		kalibrant, vt Lisa 3, Tabel 1
201.04473					tundmatu komponent
242.07122					tundmatu komponent
257.18895	257.18896	-0,04	$C_{12}H_{26}N_4P^+$		kalibrant, vt Lisa 3, Tabel 1
267.17417	267.17434	-0,64	$C_{19}H_{23}O^+$	$[M-CO-H_2O-2H+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
269.18992	269.18999	-0,26	$C_{19}H_{25}O^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
283.16920	283.16926	-0,21	$C_{19}H_{23}O_2^+$	$[M-CO-H_2O-2H+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
285.18490	285.18491	-0,04	$C_{19}H_{25}O_2^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
297.18492	297.18491	0,03	$C_{20}H_{25}O_2^+$	$[M-H_2O+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
299.20036	299.20056	-0,67	$C_{20}H_{27}O_2^+$	$[M+H]^+$	kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )
301.21631	301.21621	0,33	$C_{20}H_{29}O_2^+$	$[M+H]^+$	dehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{28}O_2$ )
313.17981	313.17982	-0,03	$C_{20}H_{25}O_3^+$	$[M-H_2O+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
315.19550	315.19547	0,10	$C_{20}H_{27}O_3^+$	$[M+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
317.21131	317.21112	0,60	$C_{20}H_{29}O_3^+$	$[M+H]^+$	lambertiaanhape ( $C_{20}H_{28}O_3$ )
329.17498	329.17474	0,73	$C_{20}H_{25}O_4^+$	$[M+O-2H+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
331.19047	331.19039	0,24	$C_{20}H_{27}O_4^+$	$[M+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
333.20584	333.20604	-0,60	$C_{20}H_{29}O_4^+$	$[M+H]^+$	7,15-dihüdroksüdehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{28}O_4$ )
368.28141	368.28149	-0,22	$C_{14}H_{40}N_7P_2^+$		kalibrant, vt Lisa 3, Tabel 1
483.00638					tundmatu komponent
552.28948	552.28947	0,02	$C_{26}H_{45}N_7ClP_2^+$		kalibrant, vt Lisa 3, Tabel 1
579.34577	579.34689	-1,93	$C_{39}H_{47}O_4^+$	$[2M-CO-H_2O-4H+H]^+$	$2 \times [7\text{-oksodehüdroabietiinhape } (C_{20}H_{26}O_3)]$
581.36301	581.36254	0,81	$C_{39}H_{49}O_4^+$	$[2M-CO-H_2O-2H+H]^+$	$2 \times [7\text{-oksodehüdroabietiinhape } (C_{20}H_{26}O_3)]$
583.37727	583.37819	-1,58	$C_{39}H_{51}O_4^+$	$[2M-CO-H_2O+H]^+$	$2 \times [7\text{-oksodehüdroabietiinhape } (C_{20}H_{26}O_3)]$
609.32061	609.32107	-0,75	$C_{39}H_{45}O_6^+$	$[2M-CO-H_2O-6H+H]^+$	$2 \times [15\text{-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape } (C_{20}H_{26}O_4)]$

Tabel 2 jätkub

609.35534	609.35745	-3,46	$C_{40}H_{49}O_5^+$	$[2M-H_2O-2H+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
611.33706	611.33672	0,56	$C_{39}H_{47}O_6^+$	$[2M-CO-H_2O-4H+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
611.37285	611.3731	-0,41	$C_{40}H_{51}O_5^+$	$[2M-H_2O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
613.35179	613.35237	-0,95	$C_{39}H_{49}O_6^+$	$[2M-CO-H_2O-2H+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
613.38838	613.38875	-0,60	$C_{40}H_{53}O_5^+$	$[2M-O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
615.36737	615.36802	-1,06	$C_{39}H_{51}O_6^+$	$[2M-CO-H_2O+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
617.38382	617.38367	0,24	$C_{39}H_{53}O_6^+$	$[2M-CO_2+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
627.36738	627.36802	-1,02	$C_{40}H_{51}O_6^+$	$[2M-2H+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
629.38285	629.38367	-1,30	$C_{40}H_{53}O_6^+$	$[2M+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
645.37859	645.37858	0,02	$C_{40}H_{53}O_7^+$	$[2M+O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
659.35718	659.35784	-1,00	$C_{40}H_{51}O_8^+$	$[2M-2H+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
661.37312	661.37349	-0,56	$C_{40}H_{53}O_8^+$	$[2M+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
663.45317					Tundmatu ühend
675.35231	675.35276	-0,67	$C_{40}H_{51}O_9^+$	$[2M-2H+O+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
677.36863	677.36841	0,32	$C_{40}H_{53}O_9^+$	$[2M+O+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
682.43342	682.43526	-2,70	$C_{26}H_{64}N_{13}P_4^+$		kalibrant, vt Lisa 3, Tabel 1
691.34789	691.34767	0,32	$C_{40}H_{51}O_{10}^+$	$[2M-2H+2O+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
916.57654	916.57611	0,47	$C_{44}H_{82}N_{13}P_4^+$		kalibrant, vt Lisa 3, Tabel 1



Joonis 16. Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga vanandatud vaskresinaadist saadud spekter enne kalibreerimist (A) ja peale kalibreerimist (B).

Tabel 3. Laser-APCI-FT-ICR-MS-iga mõõdetud vanandatud proovi massispektri interpretatsioon. (vt Lisas 5 Joonisel 16, B toodud massispektrit)

\*värviliselt on märgitud komponendid, mida kasutati sisekalibreerimiseks

Mõõdetud $m/z$	Täpne $m/z$	$\Delta m/z$ (ppm)	Katiooni valem	Toimunud protsess	Arvatav algne komponent M (brutovalem)
253.19510	253.19508	0,08	$C_{19}H_{25}^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )
255.21078	255.21073	0,20	$C_{19}H_{27}^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	dehüdroabietiinhape, ( $C_{20}H_{28}O_2$ )
257.22622	257.22638	-0,62	$C_{19}H_{29}^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	abietiinhape ( $C_{20}H_{30}O_2$ )
267.17436	267.17434	0,07	$C_{19}H_{23}O^+$	$[M-CO-H_2O-2H+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
269.19002	269.18999	0,11	$C_{19}H_{25}O^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
271.20571	271.20564	0,26	$C_{19}H_{27}O^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	lambertiaanhape ( $C_{20}H_{28}O_3$ )
281.15367	281.15361	0,21	$C_{19}H_{21}O_2^+$	$[M-CO-H_2O-4H+2O+H]^+$	kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )
283.16928	283.16926	0,07	$C_{19}H_{23}O_2^+$	$[M-CO-H_2O-H_2+O+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
285.18499	285.18491	0,28	$C_{19}H_{25}O_2^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
287.20066	287.20056	0,35	$C_{19}H_{27}O_2^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	7,15-dihüdroksüdehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{28}O_4$ )
297.18506	297.18491	0,50	$C_{20}H_{25}O_2^+$	$[M-H_2O+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
299.16411	299.16417	-0,20	$C_{19}H_{23}O_3^+$	$[M-CO-H_2O-H_2+O+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
299.20049	299.20056	-0,23	$C_{20}H_{27}O_2^+$	$[M+H]^+$	kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )
301.18007	301.17982	0,83	$C_{19}H_{25}O_3^+$	$[M-CO-H_2O-H_2+O+H]^+$	7,15-dihüdroksüdehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{28}O_4$ )
301.21630	301.21621	0,30	$C_{20}H_{29}O_2^+$	$[M+H]^+$	dehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{28}O_2$ )
303.19558	303.19547	0,36	$C_{19}H_{27}O_3^+$	$[M-CO+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
303.23208	303.23186	0,73	$C_{20}H_{31}O_2^+$	$[M+H]^+$	abietiinhape ( $C_{20}H_{30}O_2$ )
313.17982	313.17982	0,00	$C_{20}H_{25}O_3^+$	$[M-H_2O+H]^+$	15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )

Tabel 3 jätkub

315.19545	315.19547	-0,06	$C_{20}H_{27}O_3^+$	$[M+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
317.21115	317.21112	0,09	$C_{20}H_{29}O_3^+$	$[M+H]^+$	lambertiaanhape ( $C_{20}H_{28}O_3$ )
329.17478	329.17474	0,12	$C_{20}H_{25}O_4^+$	$[M+O-2H+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
331.19042	331.19039	0,09	$C_{20}H_{27}O_4^+$	$[M+H]^+$	15-hüdroksü-7- oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
333.20608	333.20604	0,12	$C_{20}H_{29}O_4^+$	$[M+H]^+$	7,15- dihüdroksüdehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{28}O_4$ )
345.16973	345.16965	0,23	$C_{20}H_{25}O_5^+$	$[M+2O-2H+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
347.18532	347.18530	0,06	$C_{20}H_{27}O_5^+$	$[M+2O+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
349.20112	349.20095	0,49	$C_{20}H_{29}O_5^+$	$[M+H_2O+H]^+$	15-hüdroksü-7- oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
361.16487	361.16456	0,86	$C_{20}H_{25}O_6^+$	$[M+-2H+2O+H]^+$	15-hüdroksü-7- oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
363.18012	363.18021	-0,25	$C_{20}H_{27}O_6^+$	$[M+2O+H]^+$	15-hüdroksü-7- oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )
581.36190	581.36254	-1,10	$C_{39}H_{49}O_4^+$	$[2M-CO-H_2O-2H+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
583.37880	583.37819	1,05	$C_{39}H_{51}O_4^+$	$[2M-CO-H_2O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
595.37812	595.37819	-0,12	$C_{40}H_{51}O_4^+$	$[2M-2H+H]^+$	2×[kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )]
597.39430	597.39384	0,77	$C_{40}H_{53}O_4^+$	$[2M+H]^+$	2×[kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )]
611.33521	611.33672	-2,47	$C_{39}H_{47}O_6^+$	$[2M-CO-H_2O-4H+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7- oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
611.37292	611.37310	-0,29	$C_{40}H_{51}O_5^+$	$[2M-H_2O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
613.35298	613.35237	0,99	$C_{39}H_{49}O_6^+$	$[2M-CO-H_2O-2H+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7- oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
613.38915	613.38875	0,65	$C_{40}H_{53}O_5^+$	$[2M+O+H]^+$	2×[kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )]
				$[2M-O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
615.36822	615.36802	0,33	$C_{39}H_{51}O_6^+$	$[2M-CO-H_2O+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7- oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]

Tabel 3 jätkub

615.40486	615.40440	0,75	$C_{40}H_{55}O_5^+$	$[2M+H_2O+H]^+$	2×[kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )]
619.39988	619.39932	0,90	$C_{39}H_{55}O_6^+$	$[2M-CO-H_2O+4H+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
627.36784	627.36802	-0,29	$C_{40}H_{51}O_6^+$	$[2M-2H+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
629.38353	629.38367	-0,22	$C_{40}H_{53}O_6^+$	$[2M+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
633.41610	633.41497	1,78	$C_{40}H_{57}O_6^+$	$[2M+H]^+$	2×[lambertiaanhape ( $C_{20}H_{28}O_3$ )]
641.34670	641.34728	-0,90	$C_{40}H_{49}O_7^+$	$[2M-4H+O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
645.37911	645.37858	0,82	$C_{40}H_{53}O_7^+$	$[2M+O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
647.39464	647.39423	0,63	$C_{40}H_{55}O_7^+$	$[2M+H_2O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
659.35927	659.35784	2,17	$C_{40}H_{51}O_8^+$	$[2M-2H+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
661.37327	661.37349	-0,33	$C_{40}H_{53}O_8^+$	$[2M+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
675.35211	675.35276	-0,96	$C_{40}H_{51}O_9^+$	$[2M-2H+O+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
677.36905	677.36841	0,94	$C_{40}H_{53}O_9^+$	$[2M+O+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]
679.38528	679.38406	1,80	$C_{40}H_{55}O_9^+$	$[2M+H_2O+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]

Tabel 4. Kalibreeritud vaskresinaadi APCI-FT-ICR-MS massispektrist valitud piigid, mida kasutati laser-APCI-FT-ICR-MS-i spektrite kalibreerimiseks.

Täpne $m/z$	Ioonvalem	Toimunud protsess	Algne komponent
253.19508	$C_{19}H_{25}^+$	$[M-CO-H_2O+H]^+$	kahekordselt dehüdrogeenitud abietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_2$ )
315.19547	$C_{20}H_{27}O_3^+$	$[M+H]^+$	7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )
317.21112	$C_{20}H_{29}O_3^+$	$[M+H]^+$	lambertiaanhape ( $C_{20}H_{28}O_3$ )
611.37310	$C_{40}H_{51}O_5^+$	$[2M-H_2O+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
629.38367	$C_{40}H_{53}O_6^+$	$[2M+H]^+$	2×[7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_3$ )]
657.34219	$C_{40}H_{49}O_8^+$	$[2M-4H+H]^+$	2×[15-hüdroksü-7-oksodehüdroabietiinhape ( $C_{20}H_{26}O_4$ )]

### **Laser-APCI-FT-ICR-MS süsteemi arendus**

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks on töötada välja lahendus kiudoptilise kaabliga laser-APCI-FT-ICR-MS mõõtesüsteemi seadistamiseks, mis võimaldaksid teostada analüüse lokaalselt väljavalitud alalt otse tahke materjali pinnalt. Töös optimeeriti selleks järgnevad parameetrid: asend proovile langeva laserkiire ja proovikomponente APCIioonallikasse toimetava ülekandeliini vahel, ionallikasse tekitatava alarõhu väärtus, kasutatav laseri energiaväärtus ning massispekromeetri parameetrid. Töö tulemusena töötati välja laser-APCI-FT-ICR-MS süsteem materjalide uurimiseks otse tahkelt proovilt, vaskresinaadi näitel.

**Märksõnad:** laserablatsioon, APCI-FT-ICR-MS, vaskresinaat, kultuuriväärtuslikud objektid

### **Development of Laser-APCI-FT-ICR-MS system**

This bachelor's thesis aims to develop solutions for configuring a fiber-optic cable-utilising laser-APCI-FT-ICR-MS measurement system, which would enable analyses to be conducted locally on a specifically chosen area directly from the surface of a solid material. The work involved the optimisation of the following parameters: the positioning of the laser beam incident on the sample and the transfer line transferring sample components to the APCI source, the subatmospheric pressure value established in the ion source, the utilised laser energy value, and the settings of the mass spectrometer. As a result, a Laser-APCI-FT-ICR-MS system was developed, enabling direct analysis on the solid sample surfaces, exemplified by the case of copper resinate.

**Keywords:** laser ablation, APCI-FT-ICR-MS, copper resinate, cultural heritage objects

CERCS: P300 Analüütiline keemia / Analytical chemistry

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Martin Leisoo,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose

### **Laser-APCI-FT-ICR-MS süsteemi arendus**

mille juhendajad on kaasprofessor Signe Vahur ja teadur Anu Teearu-Ojakäär,

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, alates **23.08.2025** kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

*Martin Leisoo*  
**16.08.2023**