



microflexTM

Uživatelský manuál



Bruker **Daltonics**

Copyright

©Copyright 2008
Bruker Daltonik GmbH
All Rights Reserved.

Obsah

Copyright	ii
Technická podpora	iv
Tabulka změn	iv
1 Úvod.....	5
1.1 Rozměry a hmotnosti	5
1.2 Bezpečnost.....	7
1.2.1 Bezpečnostní Symboly	7
1.2.2 Konvence a symboly	8
1.2.3 Předběžná opatření.....	9
1.2.4 Uspořádání.....	10
1.2.5 Elektrická bezpečnost	11
1.3 Podmínky prostředí	12
2 Instalace a nastavení	13
2.1 Požadavky na zařízení a elektřinu	13
2.2 Rozbalení	14
2.3 Vstupní a výstupní připojení microflexu	14
2.4 Nastavení	15
3 Verze přístroje	17
3.1 Schema hmotnostního spektrometru	17
3.1.1 Ovládací panel	17
3.1.2 Zadní panel	19
3.1.3 Vakuový systém	21
3.1.4 Reflektor	26
3.1.5 Detektor	28
3.1.6 Digitizer	29
3.1.7 Systém laseru	29
3.1.8 Kamera.....	29
3.2 Konfigurace počítače	30
3.3 Servis přes vzdálenou plochu	30
4 Obsluha	33
4.1 Zapnutí a vypnutí přístroje	33
4.2 Kontrola funkčnosti přístroje.....	33
4.3 Vložení terčíku	34
4.4 Vyjmutí terčíku	34
4.5 Kontrola přístroje v průběhu měření	34
5 Udržba přístroje.....	35
6 Index	36

Technická podpora

V případě poruchy přístroje kontaktujte:

Bruker Daltonik GmbH

Permoserstr. 15

04318 Leipzig

Germany

Tel.: +49 (341) 2431 395

Fax: +49 (341) 2431 343

E-mail: maldi.support@bdal.de

E-mail (software support):
maldi.sw.support@bdal.de

Internet: <http://www.bdal.de/>

Bruker Daltonics s.r.o.

Zdráhalova 10

61300 Brno

Česká republika

Tel.: +420 544 526 988

Service Center: +420 733 351 541

servis@bdal.cz

Fax: +420 544 526 989

Internet: <http://www.bdal.com/>

Nebo zastoupení firmy Bruker ve Vaší zemi.

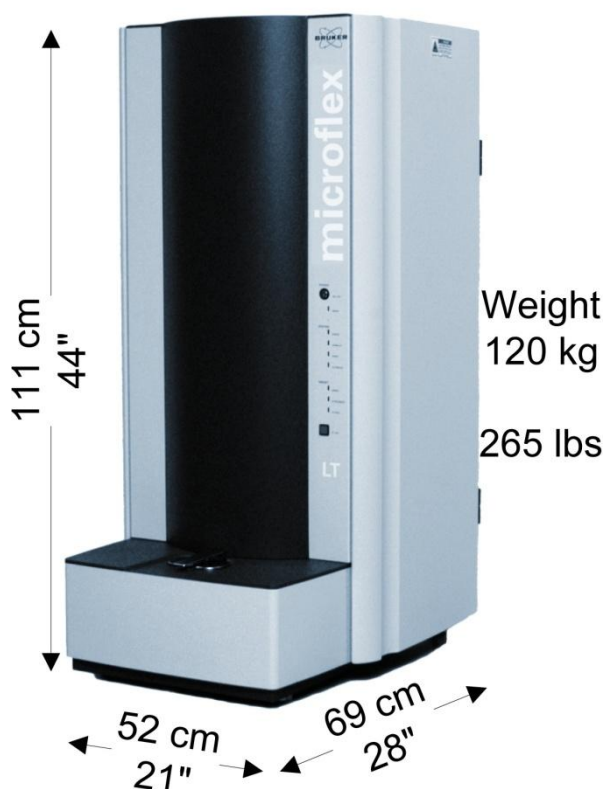
Tabulka změn

Verze	Datum	Změny
1.0	2004-07-21	První vydání
1.1	2008-06-24	Redakční revize
1.2	2008-08-29	Redakční revize pro mircoflex a microflex LT

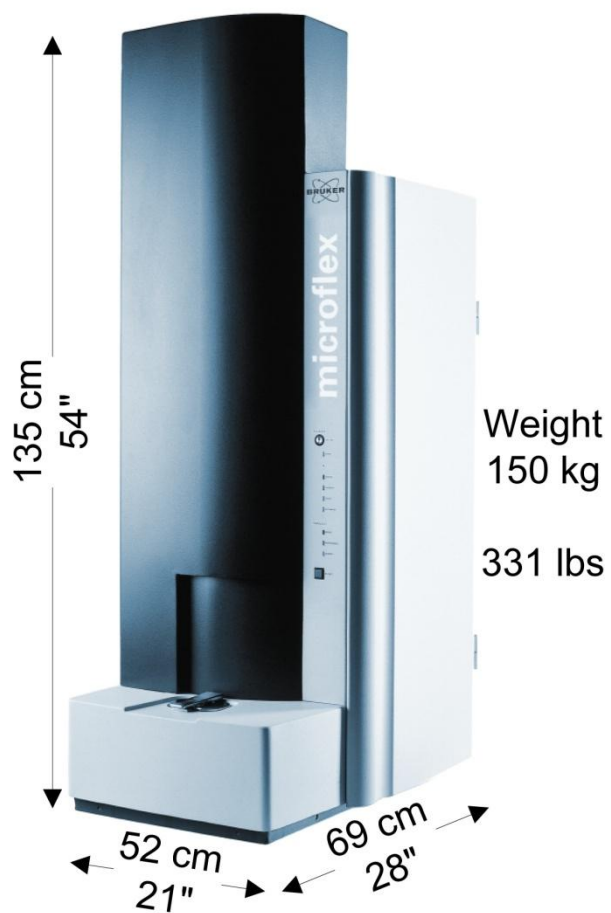
1 ÚVOD

Přístroj řady **microflex** je **hmotnostní spektrometr** typu **MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization)** s iontovým zdrojem Bruker microSCOUT, analyzátozem doby letu TOF ve vertikálním uspořádání, který obsahuje laditelný reflector a duální detector typu microchannel plate. Tento přístroj je navržen pro automatizovanou identifikaci a charakterizaci proteinů, detekci biomarkerů, kvalitativní kontrolu oligonukleotidů.

1.1 Rozměry a hmotnosti



Obrázek 1-1 Hmotnost a rozměry přístroje microflex LT



Obrázek 1-2 Hmotnost a rozměry přístroje microflex

1.2 Bezpečnost





Bezpečnostní ohledy na spektrometr typu microflex zahrnují:




- Microflex - bezpečnostní symboly (sekce 1.2.1)
- Konvence a symboly (sekce 1.2.2)
- Předběžná opatření (sekce **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**)
- Nařízení (sekce **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**)
- Elektrická bezpečnost (sekce 1.2.5)

1.2.1 Bezpečnostní Symboly

Následující symboly se nacházejí na přístroji nebo na jeho součástech:

Tabulka 1-1 Bezpečnostní Symboly

Symboly	Popis
	Označuje, že některé operace či manipulace s přístrojem by mohly způsobit jeho poškození, pokud nejsou opatření dodržována. Může to být jakýkoliv druh nebezpečí. Pokud je pozorován tento symbol, poukazují na bezpečnostní strážníky v příručce pro další informace.
	Označuje nebezpečí úrazu elektrickým proudem v důsledku přítomnosti vysokého napětí, pokud nejsou dodržována bezpečnostní opatření.
	Označuje možnou přítomnost laserového světla. Microflex s uzavřeným ochranným krytem patří do laserových produktů I. třídy. S otevřeným bezpečnostním krytem se řadí do laserových produktů třídy III B.
	Označuje buď příjem nebo poskytnutí střídavého proudu nebo napětí.

Symboly	Popis
	Označuje, že ochranné zemnicí zakončení musí být připojeno k zemi dříve, než jakékoliv jiné elektrické spoje.
	Označuje, že hlavní vypínač je v poloze vyp <u>OFF</u> .
	Označuje, že hlavní vypínač je v poloze zapnuto <u>ON</u> .

1.2.2 Konvence a symboly

Následující text grafických formátů a symbolů používaných k nastavení (kromě důležitých informací o bezpečnosti):

Poznámka: Označuje důležité informace týkající se provozu nebo popisu.

Varování: Označuje operaci, která by mohla způsobit poškození přístroje, pokud nejsou dodržena předepsaná opatření.

Upozornění: Označuje operaci, která by v případě nedodržení předepsaných opatření mohla způsobit zranění.



Vysoké napětí: Označuje operaci, která by v případě nedodržení předepsaných opatření mohla způsobit zranění.



1.2.3 Předběžná opatření

Chcete-li být chráněni před nebezpečím a předcházet selhání systému, dodržujte následující pokyny:

- Před použitím přístroje si pečlivě přečtěte upozornění uvedeno v úvodu této příručky.
- Při přípravě vzorků a práci s přístrojem používejte vhodný ochranný oděv včetně rukavic a ochranných brýlí.
- Dodržujte správná bezpečnostní opatření a doporučení výrobce při používání rozpouštědel.
- Čistěte vnější povrch přístroje měkkým hadříkem namočeným v čisticím prostředku ředěným vodou. Nepoužívejte abrazivní čisticí prostředky nebo rozpouštědla.
- Buďte opatrní při zvedání hmotnostního spektrometru Microflex, váží 125 kg a může způsobit zranění zad. Noste vhodné oblečení a podporu zařízení při nošení nebo přemisťování přístroje.
- Hmotnostní spektrometr Microflex obsahuje pulzní laser ultrafialového záření patřící do třídy III B (150 μ J při 337 nm). Používejte vhodné ochranné brýle a pokud je některý z ochranných krytů odstraněn, nikdy se nedívejte přímo do laseru. V průběhu měření je paprsek laseru zaměřen přímo na terčík se vzorkem v analyzační komoře. Kryt, který zajišťuje vakuovou integritu v analyzační komoře zároveň zajistí, aby laserový paprsek z prostoru analyzační komory nepronikl ven. Pokud selže vacuum a systém umožní otevření vstupního bloku, laser automaticky přestane střílet.

Varování: Při přepravě přístroje je důležité, aby terčík zůstal v poloze OUT. Pokud se tak neučiní, dojde k poškození přístroje.

Varování: Neomezujte přívod vzduchu na zadní straně přístroje sloužící k větrání ani výfukové zařízení v horní části přístroje.

Aby byla zajištěna řádná funkce odvětrávání, kontrolujte každé tři měsíce vzduchový filtr na zadní straně přístroje a je-li to nezbytné, vyměňte jej podle návodu, jak je uvedeno v kapitole 5 (Údržba přístroje) .

1.2.4 Uspořádání

Čtěte tuto kapitolu před pokračováním dalších kapitol.

Klasifikace přístroje

Spojené státy americké:

Tento produkt je klasifikován jako digitální zařízení používané výhradně jako průmyslové, obchodní nebo lékařské zkušební zařízení. Je osvobozen od technických norem stanovených v části 15 FCC pravidel a předpisů, na základě § 15.103 (c).

Evropa:

Veškeré informace týkající se EMC norem jsou v prohlášení o shodě a tyto normy se budou měnit, neboť Evropská unie přidává nové požadavky.

Microflex hmotnostní spektrometr je určen pro použití v průmyslových a obchodních místech. EN 55011, skupina 1, třída A, ISM limity rádiové frekvence nemusí být vhodné v určitých situacích např. kde je zařízení používané v sítích s napájením nízkého napětí, které poskytují budovy používané pro domácí účely.

Shoda

Přístroj vyhovuje požadavkům:

- EN55011, 1991, skupina 1, třída A
- EN61000-3-2, 2001, sekce 2, třída A
- EN61000-3-3, 1995, sekce 3, s A1(2001)
- EN61326(2002)
 - EN61000-4-2, ESD
 - EN61000-4-3, vyzářeno
 - EN61000-4-4, EFT
 - EN61000-4-5, přepětí
 - EN61000-4-6, provedeno
 - EN61000-4-11, poklesy a výpadky
- EN61010-1:03.94 a změna 1:07.95
- EN 60825- 1:1994, radiační bezpečnost laserových zařízení

Registrovaný na:

21 CFR 1040.10 a 1040.11 - CDRH Laserový produkt.

1.2.5 Elektrická bezpečnost

Bezpečnost při práci s elektřinou se skládá z následujících kroků:

- Obecná bezpečnost: Před instalací nebo před zahájením provozu hmotnostního spektrometru microflex, si přečtěte následující informace týkající se nebezpečí a potenciálního rizika. Ujistěte se, že osoba zabývající se instalací a provozem přístroje, je znalá obecných bezpečnostních postupů při práci v laboratoři a rovněž bezpečnostních postupů týkajících se hmotnostního spektrometru. Před instalací a použitím přístroje se poraďte se svým bezpečnostním inženýrem, průmyslovým hygienikem, specialistou v oblasti životního prostředí nebo bezpečnostním manažerem.
- Hmotnostní spektrometr microflex by měl být umístěn v čistém prostoru, který je bez prachu, kouře, otřesu, korozního dýmu, mimo přímé sluneční světlo a také v místnosti bez topného tělesa, chladicí jednotky či potrubí.
- Ověřte, zda je zdroj energie dostatečný a stabilní pro všechny součásti systému.
- Ověřte, zda je napájecí kabel ten správný pro vaši laboratoř a že splňuje pokyny dané vnitrostátní agenturou pro bezpečné používání.

Upozornění: Hmotnostní spektrometr microflex obsahuje prvky s vysokým napětím (až 20kV)!



Upozornění: NEPOUŽÍVEJTE přístroj, pokud mu chybí kryt nebo jakákoliv část!



Upozornění: Při odstranění krytu vždy vypněte přístroj ze zásuvky elektrického proudu.



Upozornění: Nepokoušejte se provádět žádné úpravy, nahrazení ani opravy tohoto přístroje. Opravy může provádět pouze servisní technik společnosti Bruker Daltonics nebo podobně vyškolená a oprávněná osoba.



Upozornění: Pokud je pravděpodobné, že elektrická ochrana hmotnostního



spektrometru microflex byla narušena:

1. Vypněte hmotnostní spektrometr microflex.
2. Odpojte kabel ze zásuvky elektrického proudu.
3. Zajistěte přístroj před neoprávněným používáním.

Upozornění:



Hmotnostní spektrometr microflex a analýzy MALDI-TOF využívají velmi vysoké napětí. Při běžném provozu, přístroj nevyžaduje žádný vstup uživatele do vnitřní části přístroje. Nikdy nepracujte s hmotnostním spektrometrem microflex, pokud jsou odstraněny ochranné panely, protože tím uživatel vystavuje závažnému riziku elektrického proudu a škodlivém ultrafialovému záření laseru.

Varování:

K výměně používejte pouze vhodný typ pojistek pro požadované napětí a proud.

Varování:

Používejte přístroj podle pokynů uvedených v tomto návodu. Je-li přístroj použit jinak, může být narušena jeho ochrana.

Varování:

Připojte přístroj k napájení do zásuvky, která má ochranné uzemnění. Aby se zajistilo uspokojivého a bezpečného provozu přístroje, je nezbytné, aby ochranný zemnicí vodič (zelený / žlutý kabel) z kabelu byl správně připojen k uzemnění. Jakékoliv přerušení ochranného zemnicího vodiče uvnitř nebo vně přístroje či jeho odpojení, může poškodit přístroj.

1.3 Podmínky prostředí

Hmotnostní spektrometr microflex je určen pro vnitřní použití. Správného fungování je dosaženo za těchto okolních podmínek:

Tabulka 1-2 Podmínky prostředí

	Provozní podmínky	Skladovací podmínky
Teplota	10 - 30 °C	-20 - 60°C
Relativní vlhkost	15-85% nekondenzující	15-85% nekondenzující

2 INSTALACE A NASTAVENÍ

Instalace a nastavení se skládá z:

- Požadavky na zařízení a elektřinu (sekce **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**).
- Rozbalení (sekce **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**).
- Zapojení (sekce 2.3).
- Nastavení (sekce **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**).

2.1 Požadavky na zařízení a elektřinu

Zařízení musí poskytovat:

- ~100 to 230 V / 3-1.5 A / 50–60 Hz. Zadní panel přístroje je vybaven IEC320-C14 síťovým příívodem (obr. 3 3). Tento přístroj je dodáván s 3 m dlouhým kabelem IEC320 a napájecím kabelem, vhodným pro použití ve vaší zemi.
- Hmotnostní spektrometr microflex vyžaduje plochu na stole nebo jiném povrchu o velikosti přibližně 51 cm x 68 cm (20 "x 27"), který bezpečně unese celý přístroj o hmotnosti 125 kg (275 lbs).
- Aby bylo zajištěno dostatečné větrání a přístup k hlavnímu vypínači, je nutné na zadní straně přístroje udržovat prostor o velikosti 20 cm.

Upozornění: Hlavní napájení musí poskytovat dostačné uzemnění.



Ikdyž je plynové zatížení stroje nízké do té míry, že odvětrávání výfukových plynů není nutné, přesto má stroj zabudovaný ventil pro odvětrávání. Tento ventil je umístěn na zadní straně přístroje. Jednotlivá zařízení mohou mít bezpečnostní pokyny vyžadující větrání. Odpovědností uživatele potom je, aby dodržoval požadavky kladené na tato zařízení.

2.2 Rozbalení

Seznam obsahu balení je vytvořen pro každou objednávku a umístěn v bedně s přístrojem.

Poznámka: Záruka se nevztahuje na škody vyplývající z nesprávného zacházení zákazníka. Neotvírejte přepravní kontejner, pokud není přítomen zástupce společnosti Bruker. Otevření obalu bez oprávněných osob povede ke zrušení záruky na přístroj. Naši servisní technici nastaví přístroj v laboratoři zákazníků.

Plocha, na které je přístroj umístěn, musí bezpečně unést plnou hmotnost 125 kg (275 lbs) včetně počítače, monitoru a tiskárny.

Ponechte přístroj na paletě a vyčkejte na zástupce společnosti Bruker, kteří zajistí přesun přístroje na požadované místo!

K přemístění přístroje jsou potřeba nejméně čtyři osoby!

2.3 Vstupní a výstupní připojení microflexu

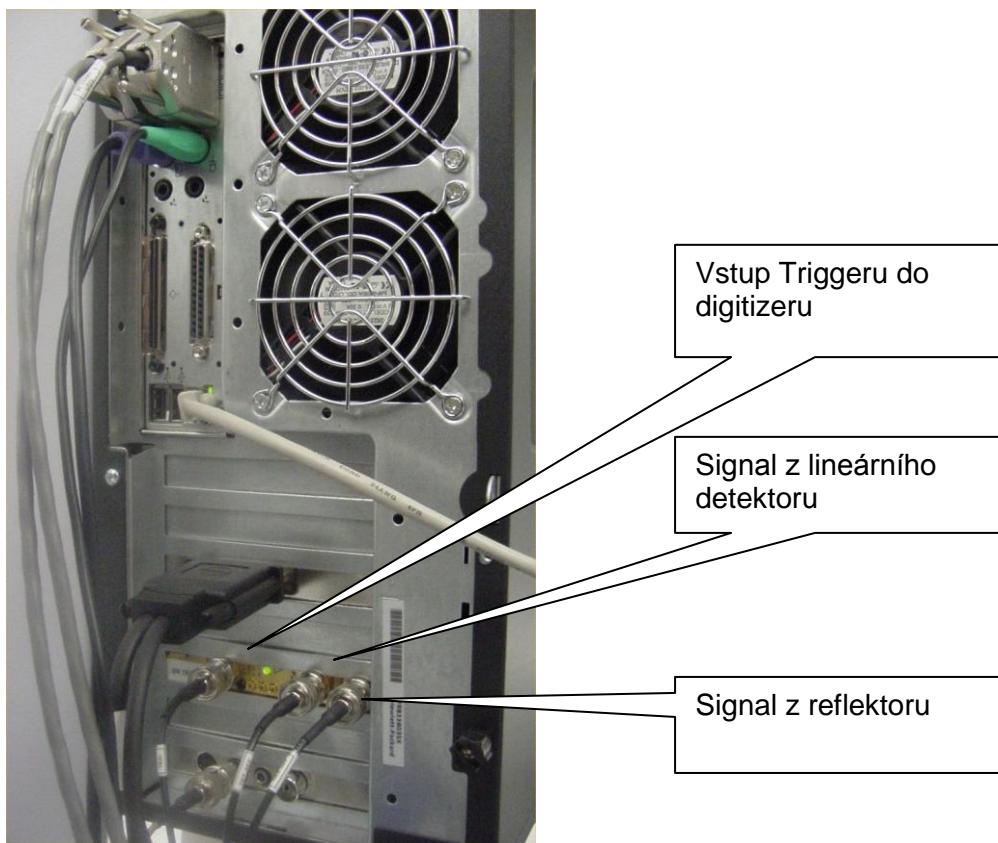
Viz bod 3.1.2

2.4 Nastavení

K nastavení je třeba:

1. Na zadní straně přístroje, připojte tyto kabely do odpovídajících zásuvek (Obrázek 3-3):
 - a. Linkový kabel.
 - b. Kabel s devíti piny.
 - c. Signální kabel.
2. Zapojte druhý konec kabelu AC linky do vhodné zásuvky.

Pozor: Čtěte a dodržujte všechny elektrické a bezpečnostní pokyny uvedené v bodě 1.2.
3. Připojte systémový datový kabel do příslušného zapojení (Obrázek 2-1).



Obrázek 2-1 Zapojení na zadní straně počítače.

4. Zapojte systémový kabel s devíti piny do portu COM-1 na počítači.
5. Sepněte hlavní vypínač do polohy “**ON**”.
6. Ujistěte se, zda svítí kontrolka POWER (Obrázek 3-2).

Po prvním zapnutí by se měl přístroj nechat 12 hodin stabilizovat, než na něm bude provedeno měření (Obrázek 3-2).

Poznámka: Pokud se rozsvítí kontrolka ohlašující vady systému (obr. 3 2) a systém přejde do pohotovostního režimu, obraťte se na autorizované servisní pracovníky.

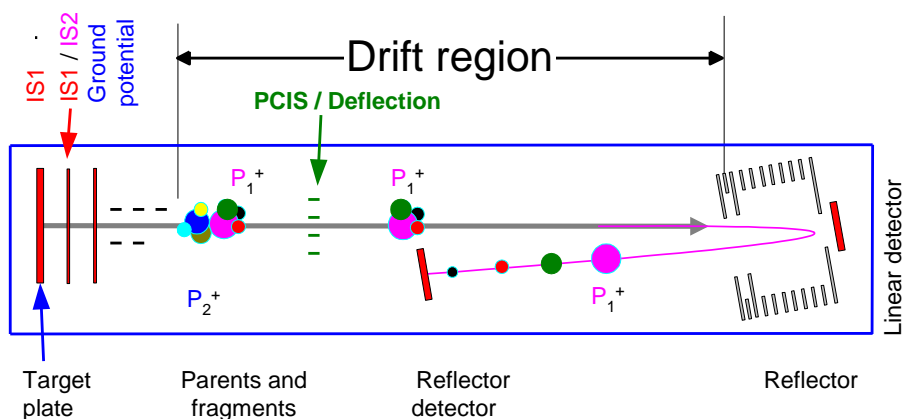
3 VERZE PŘÍSTROJE

Microflex MALDI-TOF společnosti Bruker se skládá ze dvou hlavních částí:

1. Hmotnostního spektrometru a
2. Datového systému (kapitola **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**).

3.1 Schema hmotnostního spektrometru















Schematické znázornění na obrázku Obrázek 3-1 představuje princip hmotnostního spektrometru **microflex**.



Obrázek 3-1 Schematické znázornění přístroje

3.1.1 Ovládací panel

Pokud je přístroj připraven k měření, musejí na něm svítit zeleně tři kontrolky (**Mains**, **Ready** a **Access**) jak znázorňuje obrázek 3-2.

	Klíčový spínač: Vypíná vakuum přístroje.
	Trvale svítící: Hlavní vypínač je v poloze "ON".
	Trvale svítící: Porucha, vyžaduje zásah uživatele nebo servisního technika, podrobnosti jsou uvedeny v nápovědě v PC (flexControl™) Bliká (kombinováno s chybou pro terčik): v servisním módu nebo při updatu firmware.
	Trvale svítící: systém ještě není připraven k měření, např. ještě probíhá dokovací řízení, je vypnuté vysoké napětí, atd. Tento proces probíhá krátce i po té, co jsou všechny parametry v souladu s požadavky. Tento stav se odráží současně na obrazovce PC a poskytuje informace prostřednictvím flexControl™.
	Bliká: pokud nastala porucha, kterou musí uživatel odstranit, např. otevřené víko.
	Trvale svítící: Připraveno získat spektra, tj. Uzavřená dokovací stanice, dostatečné vakuum, vysoké napětí je zapnuté, atd.
	Vypnuto "Off": v průběhu dokování.
	Trvale svítící: Tato kontrolka svítí neustále pokud běží program Xecute™. Během tohoto procesu nemůže být terčik zasunut za použití tlačítka.
	Trvale svítící: Porucha, vyžaduje zásah uživatele nebo servisního technika, podrobnosti jsou uvedeny na PC (flexControl™).
	Bliká (v kombinaci se systémovou chybou): Vyžaduje "Service mode" nebo "firmware update".
	Trvale svítící: Trvá tak dlouho, dokud probíhá dokovací proces (Target in/out).
	Trvale svítící: Když je terčik buď uvnitř nebo vně přístroje v konečné poloze.
	Vypnuto "Off": v průběhu dokovacího procesu.
	In/Out: uvádí dokovací proces.

Obrázek 3-2: Kontrolní panel na přední straně přístroje.

3.1.2 Zadní panel

Na zadní straně přístroje (obr. 3 3), jsou tyto spoje:



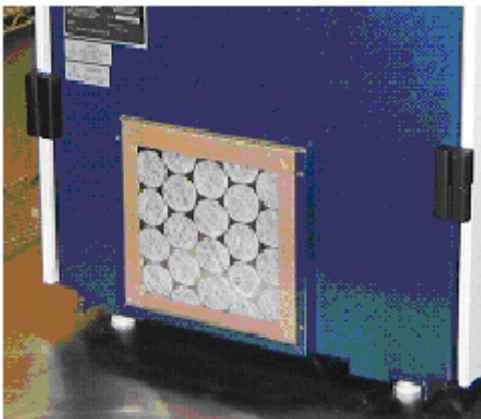
Obrázek 3-3: Zapojení na zadní straně přístroje

- **Otvor výfuk:** Vyžaduje plastovou hadici o průměru 6 mm pro rychlé uvolnění. Interní čerpací systém výfukových plynů. Je namontován se

zařizemím pro tlumení zvuku již ve výrobním závodě. Plynové zatížení systému je dostatečně nízké, není tedy nutné odvětrávání. Jednotlivá zařízení však mohou mít bezpečnostní pokyny, které vyžadují větrání. Odpovědností uživatele je, aby dodržoval požadavky příslušných zařízení.

- **Otvor pro sání:** Vyžaduje plastovou hadici o průměru 6 mm pro rychlé uvolnění. Přívod pro odvětrání vnitřního vakuového systému. Použít jen v případě servisu!
- **Síťový přívod:** Přístroj je vybaven síťovým přívodem IEC320-C14.

Pod zadním panelem je umístěn vzduchový filtr, který by měl být vyměněn každé tři měsíce (Obrázek 3-4).



Obrázek 3-4 Umístění vzduchového filtru na zadní straně přístroje.

Pozor: Tento přístroj obsahuje laser **třídy III B** emitující UV záření o vlnové délce 333 nm. Kryt obklopující přístroj je vytvořen k ochraně uživatele před vystavením přímému kontaktu s neviditelným zářením.

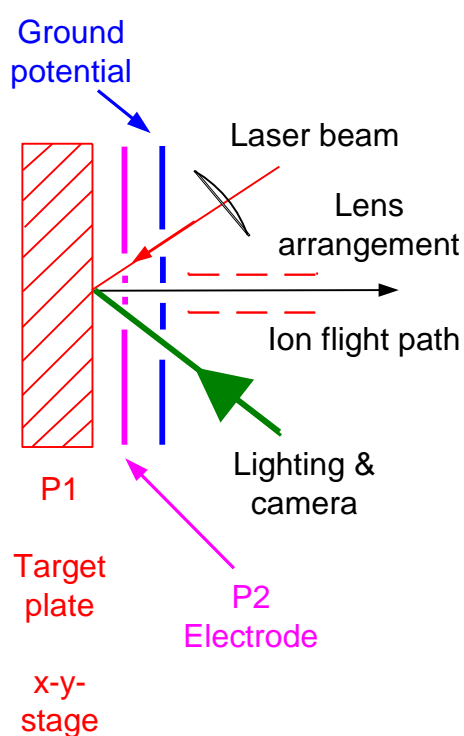


Pokud má přístroj při provozu otevřený ochranný kryt, je uživatel vystaven škodlivému laserovému záření, které může vést ke slepotě. Nikdy se nedívejte přímo do laserového paprsku! Před otevřením bočního panelu vždy používejte ochranné brýle. Ujistěte se, že jiné osoby nejsou vystaveny laserovému záření. Vyhněte se použití nástrojů, které silně odrážejí světelné paprsky (šroubováky, hodinky, prsteny), mohou totiž odrážet viditelné i neviditelné světlo, které při zasažení může způsobit jeho nevratné zranění!

3.1.3 Vakuový systém

Vakuový systém tohoto přístroje se skládá ze dvou sektorů nízkého vakua a jednoho sektoru s vysokým vakuem. Vakuová komora a výfuk turbomolekulární pumpy jsou spojeny T-rozdělovačem. V závislosti na stavu systému, např. při vyjmutí terčičku (Obrázek 3-6), oba prostory hrubého vakua mohou být uzavřeny zvlášť prostřednictvím ventilů řízených softwarem. Vstup turbo molekulární pumpy je připojen přímo k oblasti vysokého vakua zahrnující iontový zdroj a letovou trubici. Přístroj pracuje při tlaku hlubokého vakua v oblasti kolem $2 \cdot 10^{-6}$ mbar. Oblast tlaku nízkého vakua se pohybuje kolem 2 mbar.

3.1.3.1 Iontový zdroj microSCOUT



Obrázek 3-5 Schéma iontového zdroje microSCOUT

Iontový zdroj (Obrázek 3-5) je částí hmotnostního spektrometru, kde se technikou MALDI tvoří ionty. Tento zdroj se skládá ze tří hlavních komponent.

1. The x-y-stage accommodates the target plate, transportuje terčik do iontového zdroje, kde s ním hýbe v polohách x a y podle vybraných pozic pro střílení.
2. Tzv. vakuový zámek uvádí terčik z oblasti atmosferického tlaku do vysokého vakua.
3. Iontová optika se skládá z pozitivně nebo negativně nabitého terčíku (P1), druhé napěťové desky (P2). Když laser vystřelí na směs vzorku s matricí, vytvořené ionty jsou ještě před opuštěním iontového zdroje urychlovány aplikovaným elektrickým polem a zaostřeny systémem čoček.



Obrázek 3-6: Vstupní port s terčikem typu Micro SCOUT

3.1.3.2 Pulzní iontová extrakce

Hmotnostní spektrometrie MALDI je omezena distribucí energie tvořených iontů, což je způsobeno procesem ionizace. Protože ne všechny ionty jsou desorbovány a ionizovány ve stejném čase a na stejném místě vyskytují se zde nepřesnosti související s energií, umístěním a časem. Odpudivé elektrické síly také způsobují počáteční distribuce energie iontů. V souhrnu všechny tyto nepřesnosti, které se dějí v průběhu procesu iontové formace způsobí, že **ionty stejné hmotnosti** nemají po průchodu zrychleným elektrickým polem stejnou kinetickou energii, ale opouští zdroj s určitou energií šíření a ve výsledku dorazí ionty na detektor v mírně odlišných časech. To má vliv na zvětšení šířky píku a tím snížení rozlišovací schopnosti.

Pulzní iontová extrakce (PIE) je technikou, která zvyšuje rozlišení i citlivost hmotnostního spektrometru TOF.

Po desorpci jsou ionty extrahovány se zpožděním (fáze 2 a 3, diskutováno níže). Výhodou této metody je:

1. Jemnější akcelerační proces, protože ionty neprojdou shlukem molekul matrice,
2. Díky zaostřovacímu efektu se docáhne správných parametrů

Na procesu PIE se podílejí tři složky, tj.

1. Terčík (P1) na který se aplikuje vzorek,
2. Druhá napěťová destička (P2) což je elektroda umístěná na protější straně ke vzorku a také
3. Uzeměná akcelerační elektroda (Obrázek 3-1, Obrázek 3-5).

Uspořádání PIE funguje takto:

Phase 1:

Terčík P1 s analytem je vždy připojen k potenciálu IS/1. Nejprve je na P2 plate aplikován stejný potenciál. Analyt tedy ještě není vystaven žádnému vnějšímu účinku laseru. Tato fáze je přechodem,

Phase 2:

kde jsou molekuly a ionty uvedeny do pohybu (od P1 k P2) pomocí ionizace / desorpce laserem s typickou rychlostí 700 m/s. Mezitím je vzorek ionizován. Stále zde není elektický potenciál, kterému by byly ionty vystaveny. V tomto případě způsobí pohyb iontů pouze kinetická energie dodávaná při MALDI procesu., kde jsou částice extrémně

urychleny z důvodu odpařování povrchu analytu. Během několika set nanosekund se analyt pohybuje směrem k P2.

Avšak ne všechny ionty startují s počáteční energií 700 m/s. Některé (ty rychlejší) létají dál, jiné naopak urazí jen kousek (ty pomalejší). Bez použití PIE se vlivem snížené distribuce energie snižuje i rozlišení hmotnostního spektrometru v lineárním módu.

Phase 3:

Poté na konci doby zpoždění v místě, kde je potenciál P2 pulzován z IS/1 do IS/2, dochází ke generování elektrického pole, jehož síla nutí všechny nabitě částice k pohybu směrem k P2

To znamená, že ionty s vysokým obsahem energie, které byly schopné letět do P2 ještě před zapnutím napětí, jsou vystaveny nižšímu elektrickému potenciálu než ostatní ionty v blízkosti P1. Z tohoto důvodu pomalejší ionty startují s vyšším potenciálem než rychlejší ionty. Proto pomalé budou létat rychleji v oblasti volného regionu, zatímco rychlé z nich budou létat pomaleji.

Pomocí správného potenciálového spádu mezi P1 a P2 dorazí ionty s nižší startovací energií na detector ve stejnou dobu.

3.1.3.3 Terčíky

Terčíky používané pro instrument microflex se nazývají MSP terčíky. Mívají k dispozici 96 pozic pro nasazení vzorku (Obrázek 3-7). Velikost a poměr stran má rozměr přesně ¼ velikosti mikrotitrační destičky. Přestože má MSP terčík zredukovanou velikost, může být vzorek zpracován robotem, jako je např: MAPII.

Z tohoto důvodu je každý terčík typu Micro SCOUT umístěn do adapteru, který vyhovuje pouze jednomu terčíku Micro SCOUT. Tyto adaptory terčíků jsou vybaveny nastavitelným polovodičovým čipem, zvaným transponder. Tento robot umí přečíst transponder a identifikovat terčík, který je uvnitř adapteru. .

Po přípravě vzorku je adapter a terčík umístěn do odděleného prostoru (**Read/Write Transponder Station** (manual PN 212 308) vedle spektrometru ke čtení informací transpondéru. Poté je terčík z adapteru vyjmut a umístěn ručně do spektrometru. Stanice transpondéru je k počítači připojena pomocí RS 232/485.

Použití adaptérů ve spojení s transpondérem také umožňuje použití AnchorChip technologie. AnchorChip terčíky jsou vybaveny speciální vrstvou zlepšující proces krystalizace vzorků MALDI. Tato technika má výhody:

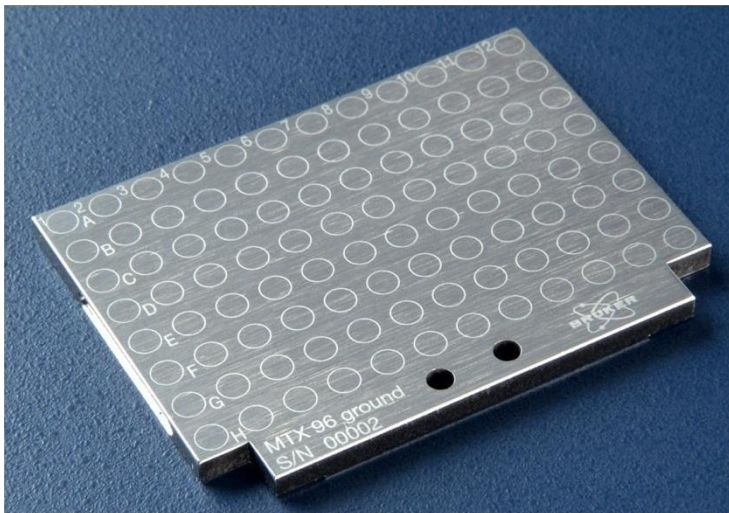
:

- 10 až 100 násobné zvýšení citlivosti z důvodu zvýšené koncentrace analytu

- Zlepšená automatizace z důvodu redukce hledání tzv. "sweet spots".

Komplexní informace lze získat z manuálu AnchorChip™ Technologie, (manuální PN 215 344).

Videokamera CCD a videokarta uvnitř počítače umožňují vysoké rozlišení při pozorování vzorku.



Obrázek 3-7 Ilustrace terčiku Micro SCOUT s 96 pozicemi

3.1.3.4 Selektor iontových prekurzorů

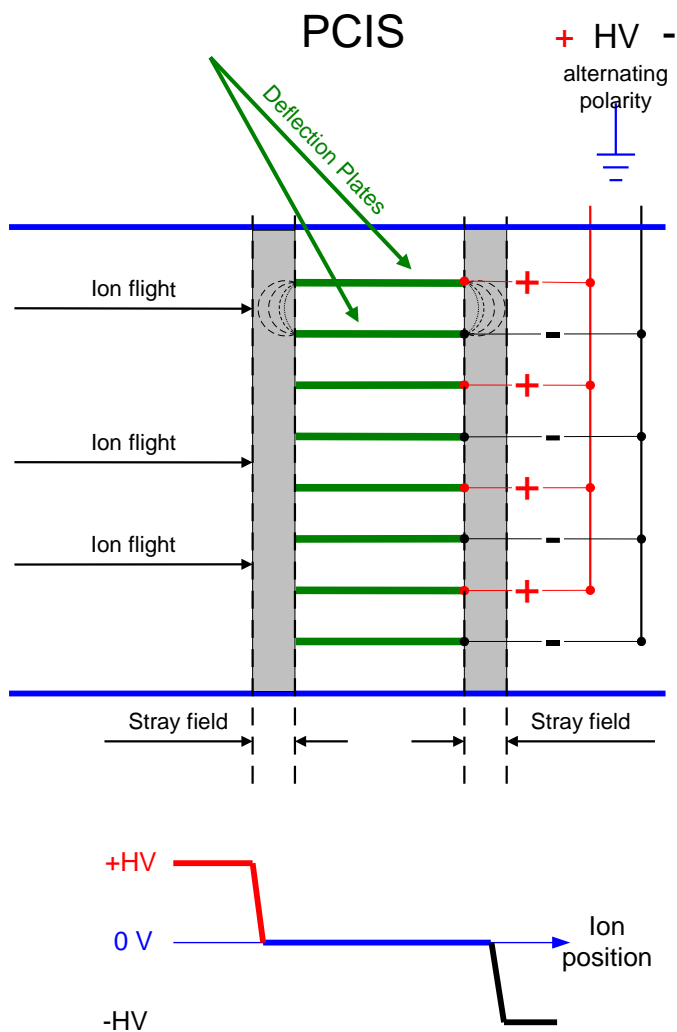
Selektor iontových prekurzorů (PCIS), jak je vidět na obrázku Obrázek 3-8, pracuje jako hmotnostní filtr separující parentální ionty a příslušné fragmenty pro MS/MS analýzu od všech ostatních iontů.

Je složen z desek deflektoru uspořádaných ve svislých vrstvách pod sebou. Po sobě jdoucí elektrody jsou připojeny k vysokému napětí střídavé polarizace, podle Bradburyho-Nielsenova principu. Potenciálový rozdíl mezi deskami vytváří elektrostatické pole kolmé ke směru letu iontů. Toto pole vychyluje všechny ionty vstupující tohoto elektrodového uspořádání.

Přestože jsou desky připojené k napětí podle Bradburyho-Nielsenova principu, iontový selektor pracuje jako vylepšený Baworskyho selektor iontových prekurzorů, aby se využilo výhod tohoto selekčního modu.

Právě v okamžiku, kdy vybrané ionty vstupují do deflekčního pole, je toto pole vypnuto. Dokud ionty neopustí deflector, potenciál mezi deskami je držen na nulové

hodnotě. V tomto okamžiku je deflektce opět zapnuta, avšak s opačnou polaritou. Tento režim má za následek kompenzaci částečné deflektce, která se vyskytuje v oblastech na obou předních stranách elektrod. Tato technika umožňuje využití mimořádně krátké seleční doby, což má za následek zlepšení rozlišovací schopnosti.



Obrázek 3-8: Princip fungování selektoru iontových prekurzorů.

3.1.4 Reflektor

Hlavním úkolem reflektoru je kompenzovat letové časy iontů s různými energiemi.

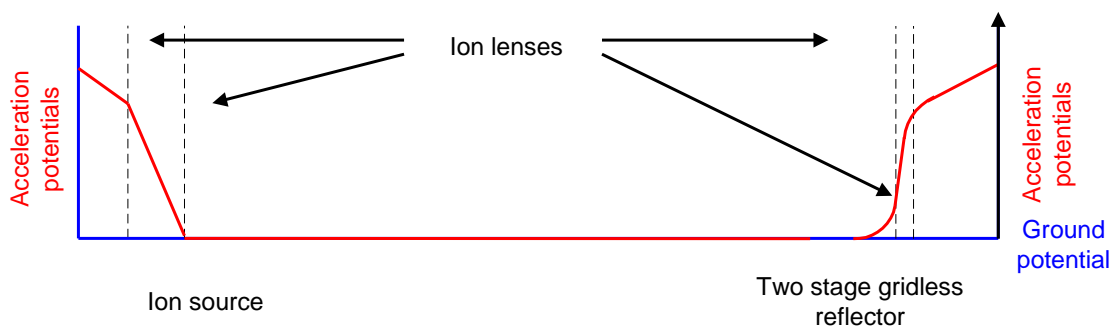
Metastabilní rozpad iontů je způsoben přebytkem energie získané během komplexního procesu MALDI. Protože rodičovské ionty i fragmenty pokračují v cestě stejnou rychlostí, narazí na lineární detektor současně, nevidíme tedy žádný fragment spektra, ale jediný vrchol. Pro separaci hmot fragmentů lze do hmotnostního spektrometru začlenit reflector, který dokáže oddělit metastabilní ionty. Ion různých hmot mají odlišnou kinetickou energii a pronikají do různých míst elektrického pole předtím, než v různých časech narazí na reflektor detektor.

K získání dobrého hmotnostního spektra s rozumným poměrem signál-šum, musí geometrie reflektoru splňovat specifické elektrické a velikostní požadavky, a to zejména s ohledem na rozměry letové trubice, typ a velikost použitého reflektor-detektoru.

Microflex a další TOF hmotnostní spektrometry z řady "flex" používají bezmřížkový reflektor s iontovými čočkami (Obrázek 3-9). Fragmenty, které by vznikly uvnitř reflektoru místo během jejich letu v oblasti driftu, by tvořily vysoké nežádoucí chemické pozadí.

Aby se minimalizovalo zdržení iontů uvnitř reflektoru, jsou zde umístěna dvě prostředí, z nichž první má silnější intenzitu pole. V důsledku toho je reflektor kratší a oblast volného proudění je ve srovnání s jednostupňovými reflektory delší. Toto uspořádání tedy odvádí všechny menší fragmenty iontů, které jinak přispívají k šumu v pozadí. Kromě toho bezmřížkové vstupní čočky reflektoru vytváří tzv. zaostřovací efekt, který zvyšuje intenzitu.

Reflektor pracuje při potenciálu, který přesahuje urychlovací napětí iontového zdroje o dva kV.



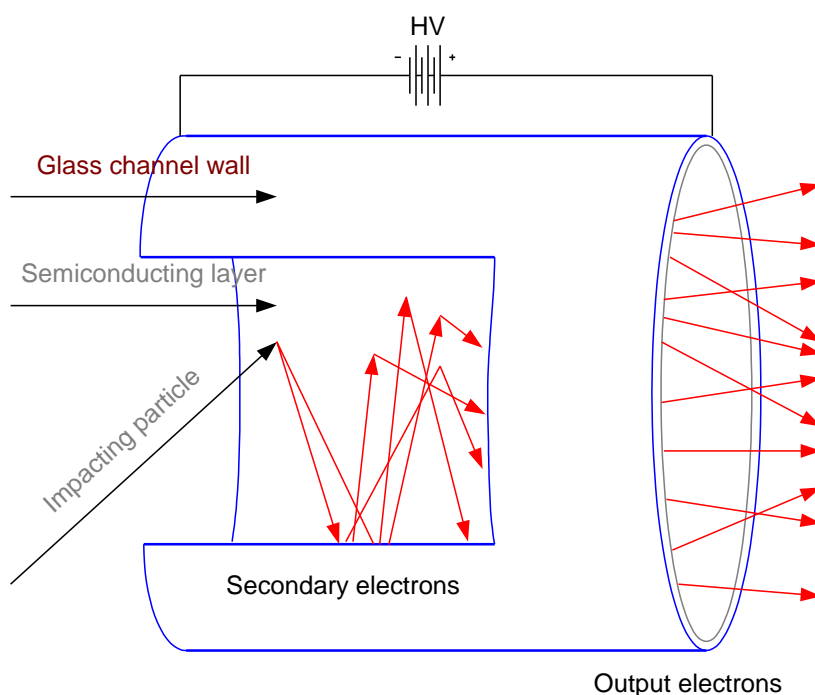
Obrázek 3-9 Distribuce potenciálu v dvojstapňovém reflektoru.

3.1.5 Detektor

Detektor konvertuje proud iontů na elektrický proud, který je pak digitalizován a doručen do počítače.

Moderní detektory používané pro hmotnostní spectrometry s TOF analyzátozem jsou vyráběny jako MCP detektory (Obrázek 3-10). MCP Porézní pevné jádro opatřené miliony malých kanálků ($\varnothing = 5-10\mu\text{m}$, délka = 0.5-0.8 mm), které jsou uvnitř pokryty polovodivou vrstvou. Každý mikrokanálek pracuje jako elektronový násobič, nezávisle na těch ostatních. K získání maximálního výnos elektronů, jsou všechny tyto kanálky paralelně elektricky zapojeny.

Multiplikační procesy probíhající v mikrokanálu jsou znázorněny níže.



Obrázek 3-10 Princip mikrokanálu

Za běžného provozu je na mikrokanál aplikováno napětí až 1000 V. Tento klidový proud jdoucí přes polovodivé vrstvy dodává elektrony nezbytné pro proces násobení. Dalším důležitým parametrem je doba odezvy detektoru, důležitá zejména pro rozlišení.

MCP detektory dodávají výstupní napětí s dobou náběhu (<1ns) až desetkrát rychleji ve srovnání s ostatními konfiguracemi detektorů, jako je např. diskretní dynodový multipól nebo channeltron.

Každý detektor u **microflexu** obsahuje dva MCP detektory spojené v sérii. Lineární detektor je vybaven možností uzavírání vstupu, aby se zabránilo tzv. saturačnímu efektu, který může být způsoben matricí materiálu.

3.1.6 Digitizer

Při laserových impulzech digitizer zaznamenává analogové signály z detektoru a přeměňuje je na digitální informace. Karta digitizéru je schopna dosáhnout vzorkovací frekvence až 2 GS / sec. Tato sestava je součástí PC. Nastavení přístroje se provádí pomocí nastavení parametrů detektoru ve flexControl.

3.1.7 Systém laseru

Laserový systém pracuje při maximální opakovací frekvenci 20 Hz. Tento systém dodává pulsní laserové světlo na malé místo terčíku. Laserový systém se skládá z pulzního UV laseru¹, atenuátoru, který umožňuje jemné nastavení laseru, systému čoček pro zaměření laserového paprsku a zrcadlový systém přímého paprsku do zdroje iontů na terčíku.

Nastavení přístroje se provádí ve **flexControl**.

3.1.8 Kamera

Kamera dodává obraz polohy vzorků na cílovém manipulačním segmentu v grafickém uživatelském rozhraní FlexControl.

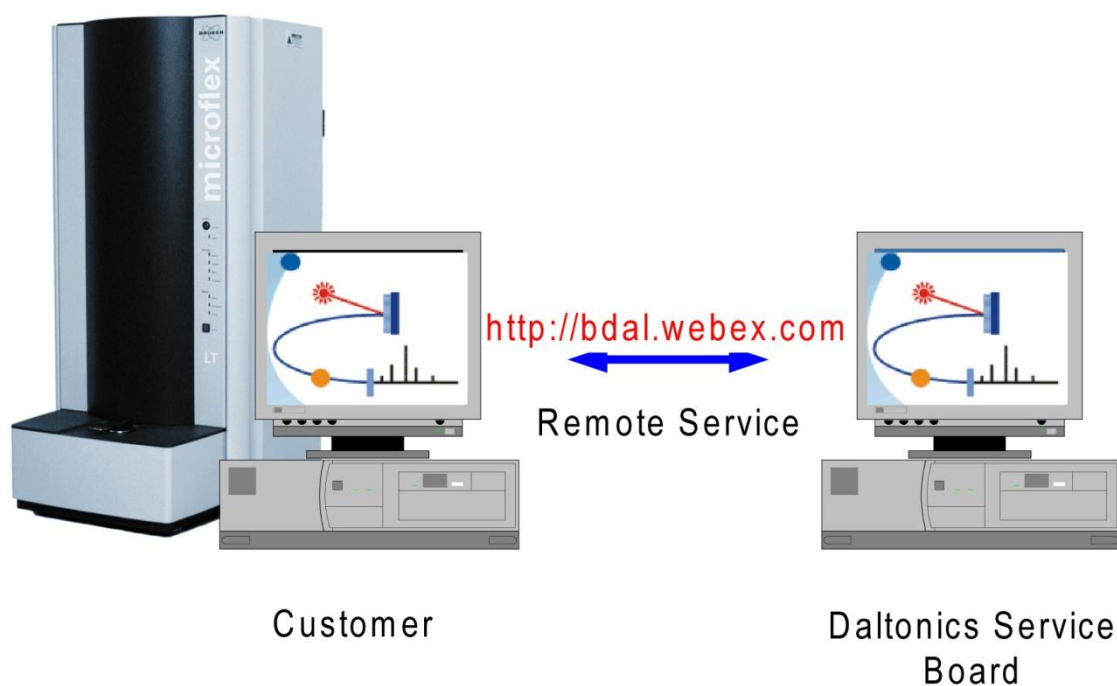
¹ Standardem je N2 laser s vlnovou délkou 337 nm (pulzní energií 150μJ) a šířkou pulzu 2ns pro použití matrice absorbující světlo této vlnové délky (product třídy III B)

3.2 Konfigurace počítače

Počítač kontroluje hmotnostní spektrometr, získává a ukládá data. Toto zařízení odpovídá požadované konfiguraci pro dodání, např. 18" LCD monitor, rozlišení 1280 x 1024, skutečné barvy;

- Laserová tiskárna;
- Operační systém Windows 2000;
- Softwarový balík **flexControl** / **flexAnalysis**.

3.3 Servis přes vzdálenou plochu



Obrázek 3-11 Princip přes vzdálenou plochu

Pro získání maximální provozní doby je microflex vybaven službou připojení vzdálené plochy (obr. 3-11). Tato funkce umožňuje řešení problémů prostřednictvím internetu.

Takové problémy mohou být vyřešeny efektivně se zákazníkem, jehož PC je plně řízeno servisním technikem, např. je možné provést update softwaru i firmwaru.

Navíc může tato služba výrazně urychlit servis z toho důvodu, že servisní technik může dorazit na místo již s příslušným náhradním dílem.

Předpoklad: zákazník musí mít přístup k internetu na PC řídicím microflex.

Příklad, jak získat servis přes vzdálenou prochu v Evropě:

1. Vyberte <http://bdal.webex.com>. Obrázek 3-12.
2. Vyberte **Join** na webové stránce. Obrázek 3-13.



Obrázek 3-12 Webová stránka společnosti Bruker.

Poznámka: "http"-připojení se změní na "https"-připojení, označené kódem 128-bit poskytující nejvyšší možnou úroveň bezpečnosti!

Home | Navigator | Contact

BRUKER

Welcome Meeting Center Support Center My WebEx Log In

Pre-Session Form

In order to provide a higher quality of service, we ask that you fill in the following information:

* denotes a required field

Support session number:

First name:

Last name:

Email:

Company:

Submit

BRUKER DALTONIK

POWERED BY **WebEx**

Copyright © 2003 [WebEx Communications, Inc.](#)
[Privacy](#) | [Terms of Service](#)

Obrázek 3-13 Zadání požadovaných údajů

Prosím, zadejte požadované informace.

Volání Bruker služeb na **+49 (341) 2431 395**, vám poskytne podporu číslo relace.

Stiskněte tlačítko "Odeslat" a postupujte podle pokynů pro úspěšné připojení vzdálené služby svého microflexu.

4 OBSLUHA

4.1 Zapnutí a vypnutí přístroje

Zapnutí přístroje je řízeno klíčovým přepínačem na předním panelu a síťovým vypínačem (obr. 3 3), kde:

- 0 = Off.
- I = On.

Na předním panelu svítí kontrolka „Power“ (obr. 3 2), pokud je přístroj řádně zapnut.

Poznámka: Přístroj se vypne sepnutím síťového vypínače do polohy 0!

4.2 Kontrola funkčnosti přístroje

Na předním panelu kontrolka „Ready“ (obr. 3 2) svítí, pokud je přístroj připraven ke spuštění. Pokud kontrolka „Ready“ nesvítí, znamená to, že terčík není ve správné poloze nebo hodnota tlaku uvnitř analyzátoru je příliš vysoká.

4.3 Vložení terčiku

Pro vložení terčiku:

1. Otevřít víko prostoru pro vkládání terčiku (Obrázek 3-6) a umístit MSP-terčik do platformy
2. **Poznámka:** Pokud se neotevře víko snadno, může být nosič terčiku v poloze uvnitř „IN“. Proveďte nejprve vysunutí terčiku do polohy „OUT“.
3. **Upozornění:** Dávejte pozor, aby se do prostoru vkládání terčiku nebo na tesnící kroužek nedostala žádná nečistota, jinak se může zabránit správné funkci.
6. Zavřít víko.
7. Zmáčknout krátce tlačítko “TARGET IN/OUT” (Obrázek 3-2).

Počkejte, až se před začátkem akvizice rozsvítí kontrolka “READY”. Celkový čas pohybu terčiku po stisknutí tlačítka (tj .když se rozsvítí kontrolka “READY”) by neměl přesáhnout pět minut. Obvykle trvá méně než dvě a půl minuty.

4.4 Vyjmutí terčiku

K vyjmutí terčiku:

1. Zmáčkněte krátce tlačítko “TARGET IN/OUT”.
2. Otevřete víko, vyjměte terčik a zavřete víko.

Poznámka: Vyjměte terčik pouze v případě, že při připraven k vložení nový terčik! Pokud není připraven k vložení nový terčik, zasuňte platform terčiku zpět (bez terčiku) a vysuňte jej, pokud je připraven nový terčik. Zavřete víko hned, jak je to možné.

Upozorňujeme, že nedodržení tohoto návodu nezpůsobí poškození přístroje, avšak výměna terčiku může trvat až 30 minut!

4.5 Kontrola přístroje v průběhu měření

Jak kontrolovat hmotnostní spektrometr v průběhu měření je popsáno v uživatelském manuálu **flexControl**.

5 UDRŽBA PŘÍSTROJE

Jednou za tři měsíce zkontrolujte větrací vzduchový filtr. Pro zajištění řádné funkce přístroje vyměňte filtr, pokud je viditelně zanesený prachem. Filtr musí být vyměněn (# 555841).

Vyměňte starý filtr zvednutím směrem nahoru a zasuňte do držáku nový filtr (obr. 3 4).

6 INDEX

A			
<i>AnchorChip Technologie</i>	25	P	
<i>Asistence</i>	iv	<i>Předběžná opatření</i>	9
B		<i>Podmínky prostředí</i>	12
<i>Bezpečnost</i>	7	<i>Požadavky na zařízení a elektřinu</i>	13
<i>Bezpečnostní symboly</i>	7		
C		R	
<i>Copyright</i>	ii	<i>Rozměry a hmotnosti</i>	5
D		S	
<i>Detektory</i>	28	<i>Schéma iontového zdroje</i>	22
<i>Digitizer</i>	29	<i>Selektor iontových prekurzorů (PCIS)</i>	25
E		<i>Servis přes vzdálenou plochu</i>	30
<i>Elektrická bezpečnost</i>	11	T	
I		<i>Tabulka změn</i>	iv
<i>Instalace a nastavení</i>	13	<i>Technická podpora</i>	iv
K		<i>Transpondér</i>	24
<i>Kamera</i>	30	<i>Terčík typu Micro SCOUT</i>	25
<i>Kontrola funkčnosti stroje</i>	33	U	
<i>Konvence a symboly</i>	8	<i>Údržba přístroje</i>	35
L		<i>Uspořádání</i>	10
<i>Laserový systém</i>	29	<i>Úvod</i>	5
N		V	
<i>Napětí detektoru</i>	29	<i>Vakuový systém</i>	21
<i>Nastavení</i>	15	<i>Verze přístroje</i>	17
O		<i>Vložení terčíku (in)</i>	34
<i>Obsah</i>	iii	<i>Vypnutí a zapnutí přístroje (On/OFF)</i>	33
<i>Ovládací panel</i>	18	<i>Vyjmutí terčíku (out)</i>	34
		Z	
		<i>Zadní panel PC</i>	16