

Spis treści

| | |
|---|----|
| Przedmowa | 17 |
| 1. Wstęp | 19 |
| <i>Jerzy Silberring</i> | |
| 2. Krótka historia spektrometrii mas | 23 |
| <i>Marek Smoluch, Jerzy Silberring</i> | |
| 3. Podstawowe pojęcia | 27 |
| 4. Aparatura | 33 |
| 4.1. Metody jonizacji | 33 |
| 4.1.1. Jonizacja elektronami | 33 |
| <i>Piotr Suder, Anna Bodzoń-Kulakowska</i> | |
| 4.1.1.1 Budowa źródła jonów typu EI | 33 |
| 4.1.1.2. Wprowadzanie próbki | 34 |
| 4.1.1.3. Derywatywacja | 35 |
| 4.1.1.4. Zasada formowania jonów w źródle typu EI | 35 |
| 4.1.1.5. Fragmentacja w źródle jonów typu EI | 36 |
| 4.1.1.6. Podstawy interpretacji widm EI | 37 |
| 4.1.2. Jonizacja chemiczna | 56 |
| <i>Anna Bodzoń-Kulakowska, Piotr Suder</i> | |
| 4.1.2.1. Zasada działania | 56 |
| 4.1.2.2. Jony o ładunku ujemnym | 59 |
| 4.1.2.3. Jonizacja elektronami a jonizacja chemiczna | 60 |
| 4.1.3. Techniki jonizacji pod ciśnieniem atmosferycznym (API) | 61 |
| 4.1.3.1. Jonizacja chemiczna pod ciśnieniem atmosferycznym (APCI) | 61 |
| <i>Piotr Suder</i> | |
| 4.1.3.2. Electrospray (ESI) | 66 |
| <i>Piotr Suder</i> | |
| 4.1.3.3. Nanoelectrospray (nanoESI) | 80 |
| <i>Piotr Suder</i> | |
| 4.1.3.4. <i>Desorption electrospray ionization</i> (DESI) | 83 |
| <i>Anna Bodzoń-Kulakowska</i> | |
| 4.1.3.5. <i>Laser ablation electrospray ionization</i> (LAESI) | 88 |
| <i>Anna Bodzoń-Kulakowska</i> | |

| | | |
|-----------|--|-----|
| 4.1.4. | Techniki oparte na jonizacji plazmą niskotemperaturową | 90 |
| | <i>Marek Smoluch</i> | |
| 4.1.4.1. | <i>Direct Analysis in Real Time (DART)</i> | 92 |
| 4.1.4.2. | <i>Flowing Atmospheric Pressure Afterglow (FAPA)</i> | 95 |
| 4.1.4.3. | <i>Dielectric Barrier Discharge Ionization (DBDI)</i> | 98 |
| 4.1.5. | Jonizacja/desorpcja laserowa wspomagana matrycą (MALDI) | 101 |
| | <i>Przemysław Mielczarek, Agnieszka Kraj, Jerzy Silberring</i> | |
| 4.1.5.1. | Rola matrycy | 103 |
| 4.1.5.2. | Interpretacja widm uzyskanych za pomocą jonizacji MALDI ... | 103 |
| 4.1.5.3. | Jonizacja/desorpcja na porowatym krzemie (DIOS) | 105 |
| 4.1.5.4. | Jonizacja/desorpcja z wykorzystaniem modyfikowanych powierzchni (SELDI) | 106 |
| 4.1.5.5. | Jonizacja/desorpcja laserowa wspomagana nanostrukturami (NALDI) | 107 |
| 4.1.6. | Jonizacja plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-MS) | 108 |
| | <i>Małgorzata Iwona Szyrkowska, Aleksandra Pawlaczyk</i> | |
| 4.1.6.1. | Wprowadzenie | 108 |
| 4.1.6.2. | Optyczna spektrometria emisyjna | 110 |
| 4.1.6.3. | Plazma | 110 |
| 4.1.6.4. | Mechanizm powstawania plazmy sprzężonej indukcyjnie (ICP) | 112 |
| 4.1.6.5. | Sposoby obserwacji plazmy | 112 |
| 4.1.6.6. | Wprowadzanie próbki do plazmy | 113 |
| 4.1.6.7. | Proces nebulizacji próbki | 113 |
| 4.1.6.8. | Proces wzbudzania plazmą sprzężoną indukcyjnie | 114 |
| 4.1.6.9. | Pomiar metodą ICP-OES | 115 |
| 4.1.6.10. | Pomiar metodą ICP-MS | 116 |
| 4.1.6.11. | Interferencje | 118 |
| 4.1.6.12. | Granica wykrywalności i precyzja metody | 123 |
| 4.1.6.13. | Analizatory w spektrometrach ICP-MS | 124 |
| 4.1.7. | Spektrometria mas jonów wtórnych z analizatorem czasu przelotu (TOF-SIMS) | 126 |
| | <i>Małgorzata Iwona Szyrkowska, Jacek Rogowski</i> | |
| 4.1.7.1. | Zasada działania metody TOF-SIMS | 127 |
| 4.1.7.2. | Proces rozpylania powierzchni próbki (ang. <i>sputtering process</i>) | 128 |
| 4.1.7.3. | Jonizacja (powstawanie jonów wtórnych) | 129 |
| 4.1.7.4. | Budowa spektrometru TOF-SIMS | 129 |
| 4.1.7.5. | Możliwości analiz TOF-SIMS | 130 |
| 4.1.7.6. | Przykłady badań metodą TOF-SIMS, interpretacja wyników ... | 131 |
| 4.2. | Analizatory | 142 |
| 4.2.1. | Analizator czasu przelotu (TOF) | 142 |
| | <i>Anna Bodzoń-Kulakowska, Anna Bierczyńska-Krzysik</i> | |
| 4.2.1.1. | Zasada działania analizatora typu TOF | 143 |
| 4.2.1.2. | Liniowy tryb pracy analizatora TOF | 145 |

| | | |
|----------|---|-----|
| 4.2.1.3. | Rozrzut energii kinetycznej dla jonów o tej samej masie | 146 |
| 4.2.1.4. | Opóźniona ekstrakcja jonów | 147 |
| 4.2.1.5. | Tryb pracy z odbiciem | 149 |
| 4.2.1.6. | Analizator ortogonalny (ang. <i>orthogonal acceleration TOF analyzer</i>) | 150 |
| 4.2.1.7. | Podsumowanie | 151 |
| 4.2.2. | Analizator ruchliwości jonów (IM) | 152 |
| | <i>Anna Bodzoń-Kulakowska</i> | |
| 4.2.2.1. | Zasada działania analizatora IM | 152 |
| 4.2.2.2. | <i>Drift time IMS</i> | 153 |
| 4.2.2.3. | FAMIS (ang. <i>high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometer</i>) | 153 |
| 4.2.2.4. | TWIG (ang. <i>travelling wave ion guides</i>) | 155 |
| 4.2.2.5. | Widmo IM | 156 |
| 4.2.2.6. | Zastosowania | 157 |
| 4.2.3. | Analizator kwadrupolowy (Q) | 157 |
| | <i>Anna Bodzoń-Kulakowska</i> | |
| 4.2.3.1. | Budowa i zasada działania analizatora kwadrupolowego | 157 |
| 4.2.3.2. | Zachowanie się jonu wewnątrz kwadrupola | 160 |
| 4.2.3.3. | Zmiany U i V , czyli jak tworzy się widmo | 162 |
| 4.2.3.4. | Od czego zależą parametry widma? | 162 |
| 4.2.3.5. | Zastosowania analizatorów kwadrupolowych | 163 |
| 4.2.3.6. | Kwadrupole, heksapole i oktapole jako elementy ogniskujące (ang. <i>ion guides</i>) | 164 |
| 4.2.4. | Pałapka jonowa (IT) | 165 |
| | <i>Anna Bodzoń-Kulakowska</i> | |
| 4.2.4.1. | Budowa i zasada działania pałapki jonowej | 165 |
| 4.2.4.2. | Jak jony zachowują się w pałapce? | 166 |
| 4.2.4.3. | Analiza jonów | 167 |
| 4.2.4.4. | Tryb selektywnej destabilizacji jonów (ang. <i>mass selective instability mode</i>) | 167 |
| 4.2.4.5. | Tryb opróżniania pałapki przy częstotliwości rezonansowej (ang. <i>resonant ejection mode</i>) | 169 |
| 4.2.4.6. | Tryb selektywnej destabilizacji jonów z modulacją osiową (ang. <i>axial modulation</i>) | 170 |
| 4.2.4.7. | Tryb rezonansów nieliniowych (ang. <i>nonlinear resonances</i>) | 171 |
| 4.2.4.8. | Liniowa pałapka jonowa | 171 |
| 4.2.4.9. | Zastosowania | 172 |
| 4.2.5. | Analizator cyklotronowy (ICR) | 173 |
| | <i>Piotr Stefanowicz, Zbigniew Szewczuk</i> | |
| 4.2.5.1. | Częstotliwość cyklotronowa | 174 |
| 4.2.5.2. | Zasada działania spektrometrów mas ICR | 175 |
| 4.2.5.3. | Wprowadzanie jonów do komory | 176 |
| 4.2.5.4. | Płytki pałapkujące | 176 |
| 4.2.5.5. | Płytki wzbudzające | 176 |

| | | |
|-----------|--|-----|
| 4.2.5.6. | Płytki detekcyjne i transformacja Fouriera..... | 177 |
| 4.2.5.7. | Właściwości FT-ICR jako analizatora m/z | 180 |
| 4.2.6. | Analizator typu Orbitrap | 182 |
| | <i>Piotr Stefanowicz, Zbigniew Szewczuk</i> | |
| 4.2.6.1. | Zasada działania, historia, podstawy fizyczne..... | 182 |
| 4.2.6.2. | Budowa i schemat Orbitrapu | 182 |
| 4.2.6.3. | Ruch ładunków w analizatorze mas | 183 |
| 4.2.6.4. | Właściwości Orbitrapu jako analizatora m/z | 184 |
| 4.2.6.5. | Zastosowania proteomiczne i analityczne Orbitrapu | 185 |
| 4.2.7. | Spektrometry mas z sektorem magnetycznym i elektrostatycznym (B i E)..... | 186 |
| | <i>Anna Bodzoń-Kulakowska</i> | |
| 4.2.7.1. | Zasada działania analizatora magnetycznego (B) | 187 |
| 4.2.7.2. | Sektor elektrostatyczny (E) | 189 |
| 4.2.7.3. | Spektrometry mas z sektorami: elektrostatycznym i magnetycznym | 191 |
| 4.3. | Detektory jonów..... | 192 |
| | <i>Piotr Suder</i> | |
| 4.3.1. | Powielacz elektronowy | 193 |
| 4.3.2. | Detektor mikrokanalikowy..... | 193 |
| 4.3.3. | Detektory typu Medipix/Timepix..... | 194 |
| 4.3.4. | Detekcja w analizatorach ICR i Orbitrap | 196 |
| 5. | Metody połączone | 198 |
| 5.1. | Chromatografia gazowa w połączeniu ze spektrometrią mas (GC-MS)..... | 198 |
| | <i>Anna Drabik, Agnieszka Kraj</i> | |
| 5.1.1. | Podstawy chromatografii gazowej | 198 |
| 5.1.2. | Modyfikacje chemiczne (derywatywacja)..... | 202 |
| 5.1.3. | Dwuwymiarowa chromatografia gazowa..... | 205 |
| 5.2. | Chromatografia cieczowa w połączeniu ze spektrometrią mas (LC-MS)..... | 207 |
| 5.2.1. | Podstawy chromatografii cieczowej..... | 207 |
| 5.2.2. | Detekcja w chromatografii cieczowej | 209 |
| 5.2.3. | Rodzaje kolumn chromatograficznych..... | 211 |
| 5.2.3.1. | Chromatografia w układzie odwróconych faz (ang. <i>reversed phase</i> , RP)..... | 214 |
| 5.2.3.2. | Chromatografia w normalnym układzie faz (ang. <i>normal phase</i> , NP)..... | 215 |
| 5.2.3.3. | Chromatografia jonowymienna (ang. <i>strong cation exchange SCX, weak cation exchange WCX, weak anion exchange WAX i strong anion exchange SAX</i>) | 216 |
| 5.2.3.4. | Chromatografia par jonowych (ang. <i>ion pair chromatography</i> , IPC) | 217 |
| 5.2.3.5. | Chromatografia powinowactwa (ang. <i>affinity chromatography</i> , AC)..... | 218 |
| 5.2.3.6. | Sączenie molekularne (ang. <i>size exclusion chromatography</i> , SEC)..... | 219 |

| | | |
|-----------|--|-----|
| 5.2.3.7. | Chromatografia chiralna (ang. <i>chiral chromatography</i>) | 219 |
| 5.2.3.8. | Kolumny monolityczne (ang. <i>monolithic columns</i>) | 220 |
| 5.2.3.9. | Chromatografia oddziaływań hydrofilowych (ang. <i>hydrophilic interaction liquid chromatography</i> , HILIC)..... | 220 |
| 5.2.3.10. | Ultrawysokosprawną chromatografię cieczą (ang. <i>ultra high performance liquid chromatography</i> , UHPLC)..... | 220 |
| 5.2.3.11. | Wielowymiarową chromatografię cieczą (ang. <i>multi-dimensional liquid chromatography</i> , <i>coupled-column chromatography</i>) | 221 |
| 5.3. | Elektroforeza kapilarna w połączeniu ze spektrometrią mas (CE-MS) | 222 |
| | <i>Przemysław Mielczarek, Jerzy Silberring</i> | |
| 5.3.1. | Podstawy teoretyczne | 222 |
| 5.3.2. | Rodzaje technik elektroforetycznych | 224 |
| 5.3.3. | Elektroforeza kapilarna połączona z jonizacją typu electrospray | 225 |
| 5.3.3.1. | Połączenie z przepływem osłonowym (ang. <i>sheath flow interface</i>)..... | 225 |
| 5.3.3.2. | Połączenie bez przepływu cieczy osłonowej (ang. <i>sheathless interface</i>) | 226 |
| 5.3.3.3. | Połączenie z kontaktem w cieczy (ang. <i>liquid junction interface</i>) | 227 |
| 5.3.4. | Jonizacja laserowa wspomagana matrycą w połączeniu z elektroforezą kapilarną | 228 |
| 5.3.4.1. | Off-line CE-MALDI-TOF | 228 |
| 5.3.4.2. | Direct CE-MALDI-TOF | 229 |
| 5.3.4.3. | Bezpośrednie połączenie CE-MALDI-TOF (ang. <i>on-line CE-MALDI-TOF</i>) | 230 |
| 5.3.5. | Podsumowanie | 230 |
| 6. | Metody obrazowania powierzchni | 232 |
| | <i>Anna Bodzoń-Kulakowska</i> | |
| 6.1. | Techniki analityczne..... | 234 |
| 6.1.1. | SIMS..... | 234 |
| 6.1.2. | MALDI-IMS | 234 |
| 6.1.3. | DESI..... | 236 |
| 6.2. | Analiza skrawków tkanek za pomocą technik MSI | 236 |
| 6.3. | Analiza pojedynczych komórek i hodowli komórkowych za pomocą technik MSI..... | 238 |
| 6.4. | Przykłady analiz z użyciem technik MSI..... | 239 |
| 6.5. | Łączenie różnych technik obrazowania | 241 |
| 6.6. | Podsumowanie | 242 |
| 7. | Tandemowa spektrometria mas | 244 |
| | <i>Piotr Suder, Marek Noga</i> | |
| 7.1. | Zasada działania | 244 |
| 7.2. | Strategie eksperymentów MS/MS | 246 |
| 7.2.1. | Fragmentacja rozdzielona w przestrzeni | 246 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 7.2.2. | Fragmentacja rozdzielona w czasie..... | 247 |
| 7.2.3. | Fragmentacja wielokrotna..... | 248 |
| 7.3. | Techniki fragmentacji..... | 249 |
| 7.3.1. | Dysocjacja zderzeniowa (CID)..... | 250 |
| 7.3.2. | Wysokoenergetyczna dysocjacja zderzeniowa (HCD)..... | 250 |
| 7.3.3. | Technika PQD..... | 251 |
| 7.3.4. | Rozpad z wychwytem elektronu (ECD)..... | 252 |
| 7.3.5. | Rozpad z przeniesieniem elektronu (ETD)..... | 252 |
| 7.3.6. | Rozpad z oderwaniem elektronu (EDD)..... | 254 |
| 7.3.7. | Rozpad anionów z przeniesieniem elektronu (NETD)..... | 254 |
| 7.3.8. | Fotodysocjacja wywołana promieniowaniem podczerwonym (IRMPD)..... | 255 |
| 7.3.9. | Fotodysocjacja wywołana energią termiczną (BIRD)..... | 255 |
| 7.3.10. | Rozpad jonów metastabilnych..... | 255 |
| 7.3.11. | Dysocjacja indukowana kolizją z powierzchnią (SID)..... | 256 |
| 7.3.12. | Rozpad indukowany odległym ładunkiem..... | 256 |
| 7.3.13. | Fragmentacja wspomagana chemicznie (CAF)..... | 257 |
| 7.3.14. | Reakcja przeniesienia protonu (PTR) jako technika towarzysząca fragmentacji ETD..... | 257 |
| 7.4. | Praktyczne aspekty fragmentacji w typowych spektrometrach masowych..... | 258 |
| 7.4.1. | Fragmentacja w źródle jonów..... | 258 |
| 7.4.2. | Fragmentacja w potrójnym kwadrupolu..... | 259 |
| 7.4.3. | Pułapki jonów..... | 262 |
| 7.4.4. | Analizatory czasu przelotu..... | 264 |
| 7.4.5. | Połączone analizatory czasu przelotu (tzw. TOF-TOF)..... | 265 |
| 7.4.6. | Instrumenty hybrydowe..... | 266 |
| 7.4.7. | Instrumenty z analizatorem typu Orbitrap..... | 267 |
| 7.5. | Zastosowania w naukach biologicznych..... | 267 |
| 7.6. | Fragmentacja typu SWATH..... | 270 |
| 8. | Wysokorozdzielcza spektrometria mas..... | 273 |
| | <i>Zbigniew Szewczuk, Piotr Stefanowicz</i> | |
| 8.1. | Zastosowania..... | 274 |
| 9. | Analiza wielowymiarowego zbioru danych uzyskanego na podstawie widm masowych..... | 281 |
| | <i>Aleksandra Pawlaczyk, Paulina Chęsy, Małgorzata Iwona Szyrkowska, Andrzej Parczewski</i> | |
| 9.1. | Metody chemometryczne pomocne przy wizualizacji podobieństwa między próbkami..... | 281 |
| 9.2. | Zastosowanie wybranych metod chemometrycznych na przykładzie analizy porównawczej aerozoli do nosa pochodzących od różnych producentów..... | 283 |
| 9.2.1. | Opis badanych próbek..... | 283 |
| 9.2.2. | Metodyka badań..... | 284 |
| 9.2.3. | Interpretacja uzyskanych wyników..... | 284 |
| 9.2.4. | Wnioski i podsumowanie..... | 288 |

| | |
|--|-----|
| 10. Przykłady zastosowań spektrometrii mas | 291 |
| 10.1. Proteomika | 291 |
| <i>Anna Drabik, Tomasz Dyląg, Joanna Ner-Kluza</i> | |
| 10.1.1. Strategia <i>top-down</i> | 292 |
| 10.1.2. Strategia <i>bottom-up</i> | 293 |
| 10.1.3. Strategia <i>shotgun</i> | 293 |
| 10.1.4. Podstawy sekwencjonowania peptydów | 293 |
| 10.1.5. Sekwencjonowanie <i>de novo</i> | 295 |
| 10.1.6. Analiza ilościowa w proteomice | 296 |
| 10.1.6.1. Odczynniki iTRAQ | 297 |
| 10.1.6.2. ICAT | 299 |
| 10.1.6.3. SILAC | 301 |
| 10.1.6.4. SILAM | 303 |
| 10.1.6.5. MCAT | 303 |
| 10.1.6.6. Techniki <i>label-free</i> | 304 |
| 10.2. Spektrometria mas jako narzędzie stosowane w kryminalistyce i w przeciwdziałaniu terroryzmowi | 305 |
| <i>Anna Drabik, Piotr Suder</i> | |
| 10.3. Ochrona środowiska..... | 312 |
| <i>Piotr Suder</i> | |
| 10.4. Metabolomika | 317 |
| <i>Grzegorz Schroeder, Piotr Młynarz, Michał Ciborowski</i> | |
| 10.4.1. Biomarkery chorób..... | 318 |
| 10.4.2. Metabolom mikroorganizmów | 322 |
| 10.4.3. Żywnościomika | 323 |
| 10.5. Badania kosmosu | 325 |
| <i>Anna Drabik, Piotr Suder</i> | |
| 10.5.1. Badania eksploracyjne..... | 325 |
| 10.5.2. Monitoring warunków życia..... | 327 |
| 10.6. Datowanie izotopowe..... | 328 |
| <i>Anna Drabik, Piotr Suder</i> | |
| 10.7. Miniaturyzacja w spektrometrii mas..... | 330 |
| <i>Marek Smoluch</i> | |
| 11. Internetowe bazy danych | 334 |
| 11.1. Literaturowe bazy danych..... | 334 |
| 11.2. Czasopisma naukowe..... | 335 |
| 11.3. Bioinformatyczne bazy danych..... | 336 |
| 11.3.1. Białkowe bazy danych..... | 336 |
| 11.3.2. Bazy struktur i funkcji białek | 337 |
| 11.3.3. Inne bazy danych..... | 337 |
| 11.3.4. Narzędzia bioinformatyczne..... | 337 |
| 12. Dodatki | 339 |
| 12.1. Jednostki ciśnienia | 339 |
| 12.2. Najczęściej występujące fragmenty w jonizacji elektronami (EI)..... | 339 |
| 12.3. Produkty autolizy trypsyny | 343 |

| | |
|--|------------|
| 12.4. Enzymy stosowane w analizie białek | 344 |
| 12.5. Masy cząsteczkowe i struktury reszt aminokwasowych występujących w białkach | 345 |
| 12.6. Masy cząsteczkowe i struktury reszt aminokwasów niebiałkowych..... | 347 |
| 12.7. Masy wybranych monosacharydów i ich pochodnych | 349 |
| 12.8. Analiza próbki zanieczyszczonej keratynami | 350 |
| Wykaz skrótów | 353 |
| Indeks rzeczowy | 357 |