

## Spis treści

<b>Przedmowa</b> .....	17
<b>1. Wstęp</b> .....	19
<i>Jerzy Silberring</i>	
<b>2. Krótka historia spektrometrii mas</b> .....	23
<i>Marek Smoluch, Jerzy Silberring</i>	
<b>3. Podstawowe pojęcia</b> .....	27
<b>4. Aparatura</b> .....	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 <i>m/z</i> .....	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 <i>m/z</i> .....	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
<b>5.</b>	<b>Metody połączone.....</b>	<b>198</b>
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.	Ultrawysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. <i>ultra high performance liquid chromatography</i> , UHPLC).....	220
5.2.3.11.	Wielowymiarowa chromatografia cieczowa (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
<b>6.</b>	<b>Metody obrazowania powierzchni</b> .....	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
<b>7.</b>	<b>Tandemowa spektrometria mas</b> .....	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
<b>8.</b>	<b>Wysokorozdzielcza spektrometria mas.....</b>	<b>273</b>
	<i>Zbigniew Szewczuk, Piotr Stefanowicz</i>	
8.1.	Zastosowania.....	274
<b>9.</b>	<b>Analiza wielowymiarowego zbioru danych uzyskanego na podstawie widm masowych.....</b>	<b>281</b>
	<i>Aleksandra Pawlaczek, Paulina Chęsy, Małgorzata Iwona Szykowska, 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

<b>10. Przykłady zastosowań spektrometrii mas</b> .....	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>	
<b>11. Internetowe bazy danych</b> .....	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
<b>12. Dodatki</b> .....	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
<b>Wykaz skrótów</b> .....	353
<b>Indeks rzeczowy</b> .....	357