Analytická chemie II:
Úvod do hmotnostní spektrometrie

Jan Preisler

312A14, Ústav chemie PřF MU, UKB, tel.: 54949 6629

preisler@chemi.muni.cz

- Specializovaný kurz: C7895 Hmotnostní spektrometrie biomolekul
  http://bart.chemi.muni.cz/courses.htm

- Prezentace s využitím:
  - Daniel C. Harris: Quantitative Chemical Analysis, 7th Edition, 2007, Chapter 22: „Mass Spectrometry“, W. H. Freeman and Company
  - Gary D. Christian, Purnendu K. Dasgupta, Kevin A. Schug: Analytical Chemistry, 7th Edition, 2014, Chapter 22: „Mass Spectrometry“, Wiley

Obsah

I. Základní koncepty MS

II. Hmotnostní analyzátory vzorku

III. Ionizační metody a aplikace MS

IV. Seminář

Základní koncepty

Mass spectrometry, **MS**
Stručná historie
Hmotnostní spektrum
Definice rozlišení
Izotopové vzory
Interpretace spekter
Fragmentace

Stručná historie hmotnostní spektrometrie

1803 Daltonova atomová teorie
“hmota se skádá z atomů; všechny atomy maji stejnou hmotu”
… ne tak docela: izotopy

Důkaz izotopů:
- spektroskopie: nepatrný posun čar
  ... vyžaduje kvalitní přístroj
- MS: snadné stanovení

Stručná historie hmotnostní spektrometrie

První hmotnostní spektrometr
1911 J. J. Thomson: Parabola MS (*Phil Mag.* 1911, 21, 225)
“Paprsky pozitivní elektřiny” 1913 http://antoine.frostburg.edu/chem/senese/101/atoms/faq/how-does-mass-spec-work.shtml

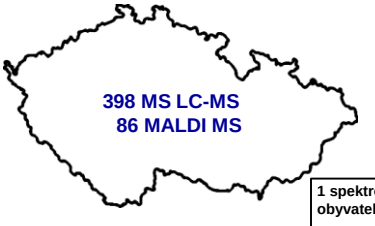
Magnetický sektor s energetickým analyzátorem
1919 F. W. Aston: Mass Spectrograph (*Phil. Mag.* 1919, 38, 209)

Elektronová ionizace
1940 C. Berry: Struktura organických sloučenin

Nové ionizační techniky (FAB, PD, ESI a MALDI)
1980+ Analýza těžkých a velmi těžkých molekul

2014 Kvalitativní, strukturní i kvantitativní analýzu anorganických organických a biologických molekul, často ve spojení s chromatografií; široká škála komerčních hmotnostních spektrometrů

Zpráva o stavu MS v ČR



1 spektrometr/22 tis. obyvatel

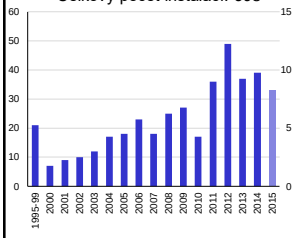
1 spektrometr/163 km²

Počet instalací do září 2015:

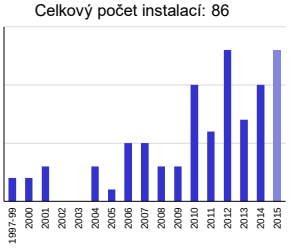
- Nezahrnuje GC-MS (≈500), ICP-MS (nepočítaně)
- Jde pouze o odhad instalovaných, nikoli funkčních přístrojů

Přehled instalací přístrojů LC-MS a MALDI MS
(do září 2015)

Celkový počet instalací: 398



Celkový počet instalací: 86

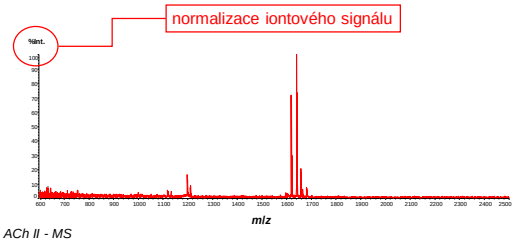


- počet za rok 2015 je o cca ¼ nižší; loni v září instalováno 28 LC-MS, do konce roku 39
- počet LC-MS instalovaných od r. 2006: 304
- vliv nasazení MALDI MS pro identifikaci mikroorganismů v klinické praxi
- počet MALDI MS instalovaných od r. 2006: 75

Hmotnostní spektrum

Iontový signál vs. *m/z*

Iontový signál, intenzita
libovolné jednotky (counts, arbitrary units, a.u.)
normalizace signálu: intenzita nejvyššího píku = 100%



Hmotnostní spektrum

Hmotnost, *m*
a.m.u., u, Da (Dalton), počet atomových hmotnostních jednotek
číselně rovný molární hmotnosti

m/z - účinná hmotnost, Th (Thomson)

Počet nábojů, *z*
počet elementárních nábojů iontu
obvykle ±1
výjimky, např. elektrosprej: |*z*| >> 1

Ionty: pozitivní a negativní, ne kationty a anionty

Hmotnostní spektrometrie, ne spektroskopie

Vybrané veličiny v hmotnostní spektrometrii

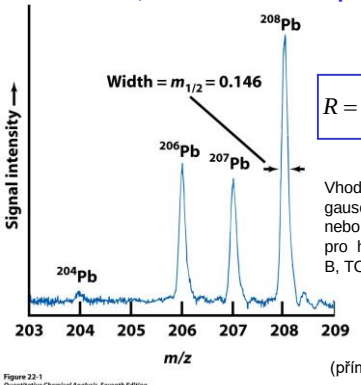
Hmotnostní rozlišení (***Mass Resolution, Resolving Power***)
...Míra separace dvou přilehlých píků.

Definice:
1. FWHM (full width at half maximum), $R = m/m_{1/2}$
2. Nejmenší rozdíl hmotností (Δm), při kterém lze ještě rozlišit sousední píky s definovaným údolím (10 - 90%) mezi píky.
3. Max. hmotnost, při které lze ještě rozlišit píky s jednotkovým rozdílem hmotností.

Energie iontu
- Joule, J
- **elektronvolty, eV**
  atomy misto molů ... elektronVolty místo Joulů. 1 eV = 1.6 x 10^{-19} J
  jednoduchost: urychlovací napětí = 100 V, náboj = 1 ... E = 100 eV
  vhodné pro srovnání s energií ionizační, vazebnou, s energií fotonu atd.

Tlak, p
1 atm = 760 Torr = 101 325 Pa = 1,01325 bar = 14,70 PSI

Rozlišení, Rozlišovací schopnost, *R*(FWHM)



$$R = \frac{m}{\Delta m} = \frac{208}{0.146} \cong 1400$$

Vhodné pro píky s gausovským, lorentzovským nebo trojúhelníkovým profilem, pro hmotnostní spektrometry B, TOF, FT ICR, O

(příměs Pb v mosazi)

Figure 22-1
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Rozlišovací schopnost

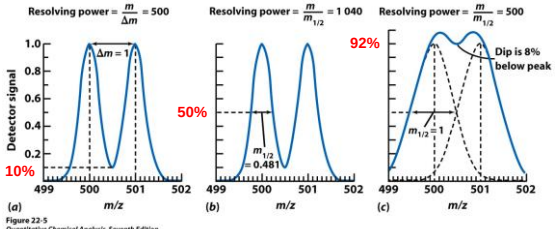


Figure 22-5
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Table 22-1 Isotopes of selected elements

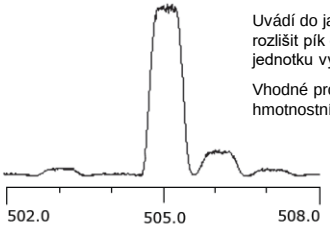
Element	Mass number	Mass (Da)[a]	Abundance (atom%)[b]	Element	Mass number	Mass (Da)[a]	Abundance (atom%)[b]
Proton	1	1.007 276 467	—	Cl	35	34.968 85	75.78
Neutron	1	1.008 664 916	—		37	36.965 90	24.22
Electron	—	0.000 548 580	—	Ar	36	35.967 55	0.336
H	1	1.007 825	99.988		38	37.962 73	0.063
	2	2.014 10	0.012		40	39.962 38	99.600
B	10	10.012 94	19.9	Fe	54	53.939 61	5.845
	11	11.009 31	80.1		56	55.934 94	91.754
C	12	12(exact)	98.93		57	56.935 40	2.119
	13	13.003 35	1.07		58	57.933 28	0.282
N	14	14.003 07	99.632	Br	79	78.918 34	50.69
	15	15.000 11	0.368		81	80.916 29	49.31
O	16	15.994 91	99.757	I	127	126.904 47	100
	17	16.999 13	0.038	Hg	196	195.965 81	0.15
	18	17.999 16	0.205		198	197.966 75	9.97
F	19	18.998 40	100		199	198.968 26	16.87
Si	28	27.976 93	92.230		200	199.968 31	23.10
	29	28.976 49	4.683		201	200.970 29	13.18
	30	29.973 77	3.087		202	201.970 63	29.86
P	31	30.973 76	100		204	203.973 48	6.87
S	32	31.972 07	94.93	Pb	204	203.973 03	1.4
	33	32.971 46	0.76		206	205.974 45	24.1
	34	33.967 87	4.29		207	206.975 88	22.1
	36	35.967 08	0.02		208	207.976 64	52.4

a. 1 dalton (Da) = 1/12 of the mass of ^{12}C = 1.660 538 86 (28) × 10^{-27} kg (from http://physics.nist.gov/constants, June 2004). Nuclide masses from G. Audi, A. H. Wapstra, and C. Thibault, Nucl.Phys. ***2003,*** *A729, 337, found at www.nndc.bnl.gov/masses/ June 2004. This source provides more significant figures for atomic mass than are cited in this table.*

b. Abundance is representative of what is found in nature. Significant variations are observed. For example, ^{18}O in natural substances has been found in the range 0.188 to 0.222 atom%. The latest list of isotope abundances, which is slightly different from this table, is found in J. K. Böhlke et al., "Isotopic Compositions of the Elements, 2001," J. Phys. Chem. Ref. Data ***2005,*** *34, 57.*

Table 22-1
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Jednotkové rozlišení



Flat-topped peaks, roughly unit resolution at m/z 500

Uvádí do jaké hmotnosti lze rozlišit pík od píku o jednotku vyšší

Vhodné pro kvadrupólové hmotnostní spektrometry

©2006 JEOL USA, Inc.

http://www.jeolusa.com/DesktopModules/Bring2mind/DMX/Download.aspx?Command=Core_Download&EntryId=283&PortalId=2&TabId=337

Izotopy

... atomy stejného prvku lišící se hmotností
Vede k „jemné“ izotopové struktuře píků

Např. izotopy uhlíku: 99% **^{12}C**, 1% **^{13}C**
Výsledná kombinace je funkcí počtu uhlíkových atomů v molekule:

C: 99% **^{12}C** 1% **^{13}C**
C_2: 98% **$^{12}C^{12}C$** 2% **$^{12}C^{13}C$** 0.01% **$^{13}C^{13}C$**
C_3: 97% **$^{12}C^{12}C^{12}C$** 3% **$^{12}C^{12}C^{13}C$** 0.04% **$^{12}C^{13}C^{13}C$** 10^{-4} % **$^{13}C^{13}C^{13}C$**

Relativní výskyt molekul v %:

C_{60}:	$^{12}C_{60}$	100	**C_{100}:**	$^{12}C_{100}$	100
	$^{12}C_{59}{}^{13}C$	66		$^{12}C_{99}{}^{13}C$	110
	$^{12}C_{58}{}^{13}C_2$	21		$^{12}C_{98}{}^{13}C_2$	60
	$^{12}C_{57}{}^{13}C_3$	4.6		$^{12}C_{97}{}^{13}C_3$	22

Izotopy vybraných prvků

Table 22-2 Isotope abundance factors (%) for interpreting mass spectra

Element	X+1	X+2	X+3	X+4	X+5	X+6
H	0.012*n*					
C	1.08*n*	0.005 8*n*(*n* − 1)				
N	0.369*n*					
O	0.038*n*	0.205*n*				
F	0					
Si	5.08*n*	3.35*n*	0.170*n*(*n* − 1)	0.056*n*(*n* − 1)		
P	0					
S	0.801*n*	4.52*n*	0.036*n*(*n* − 1)	0.102*n*(*n* − 1)		
Cl	—	32.0*n*	—	5.11*n*(*n* − 1)	—	0.544*n*(*n* − 1)(*n* − 2)
Br	—	97.3*n*	—	47.3*n*(*n* − 1)	—	15.3*n*(*n* − 1)(*n* − 2)
I	0					

EXAMPLE: For a peak at m/z = X containing n carbon atoms, the intensity from carbon at x + 1 is n × 1.08% of the intensity at X. The intensity at X + 2 is n(n − 1) × 0.005 8% of the intensity at X. Contributions from isotopes of other atoms in the ion are additive.

Table 22-2
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

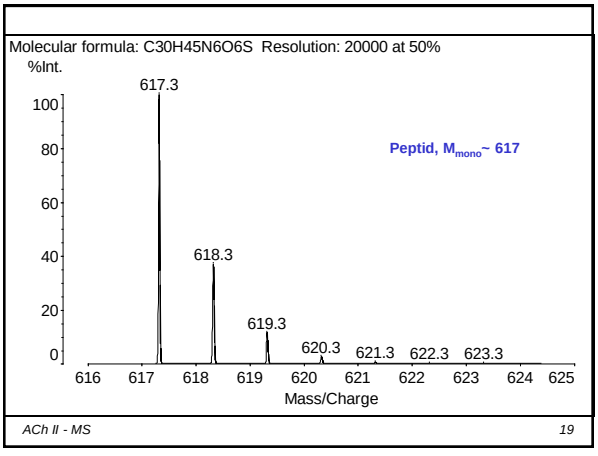
Kalkulátory izotopových profilů; např.:
http://www.sisweb.com/mstools/isotope.htm

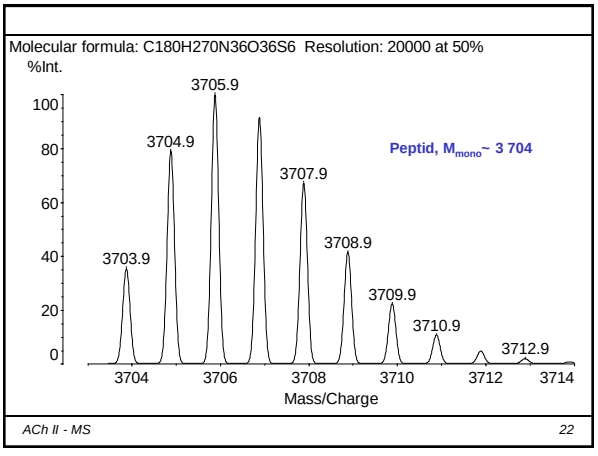
Praktické důsledky výskytu izotopů

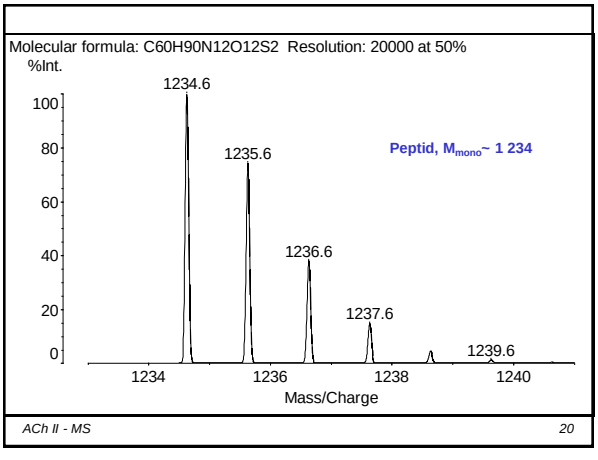
+ Objasňování struktury
+ Použití izotopových vnitřních standardů

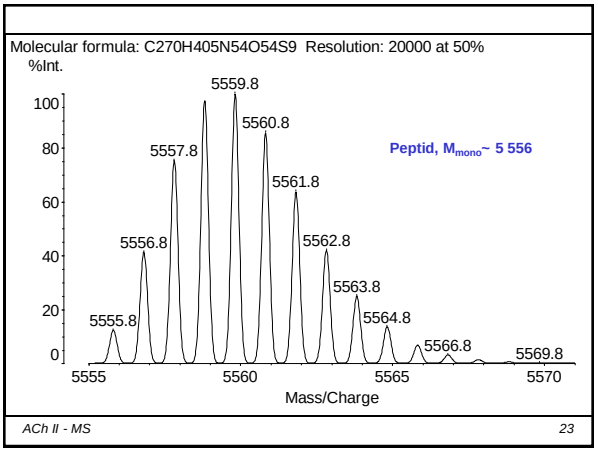
- Snížení citlivosti u těžších molekul
- Nutnost vysokého *R* při vysoké *m/z* pro správné stanovení *m/z*

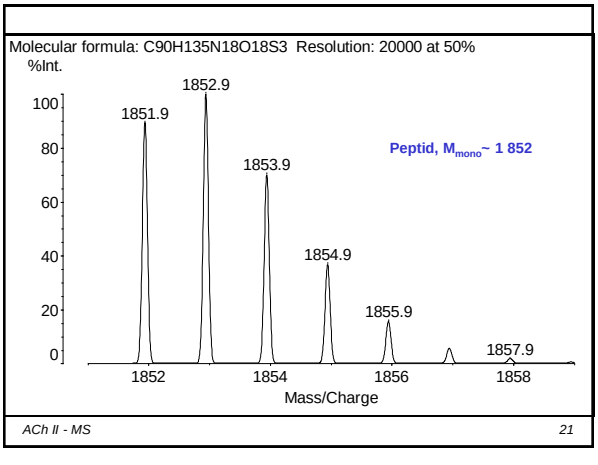
Se stoupajícím *n* přestává být monoizotopická forma dominantní a intenzity různých forem jsou porovnatelné (široká obálka) ... viz příklad dále.

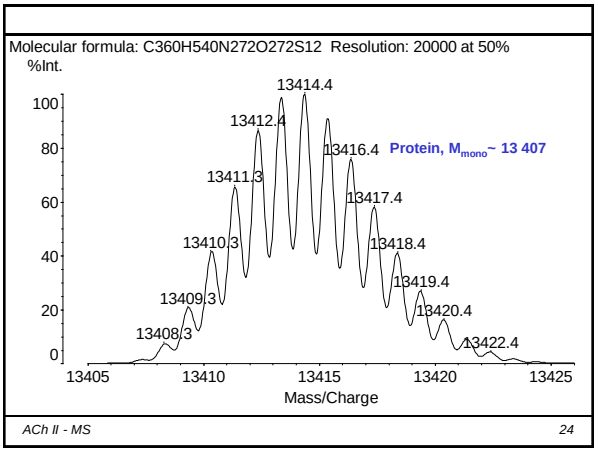

Molecular formula: C30H45N6O6S Resolution: 20000 at 50%
%Int.
617.3
618.3
619.3
620.3
621.3
622.3
623.3
Peptid, M$_{mono}$~ 617
Mass/Charge
ACh II - MS
19


Molecular formula: C180H270N36O36S6 Resolution: 20000 at 50%
%Int.
3705.9
3704.9
3707.9
3708.9
3703.9
3709.9
3710.9
3712.9
Peptid, M$_{mono}$~ 3 704
Mass/Charge
ACh II - MS
22

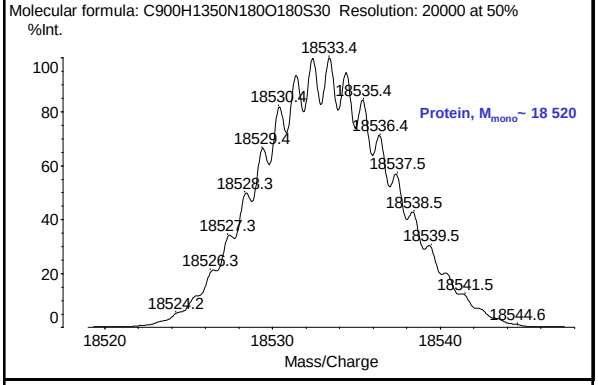

Molecular formula: C60H90N12O12S2 Resolution: 20000 at 50%
%Int.
1234.6
1235.6
1236.6
1237.6
1239.6
Peptid, M$_{mono}$~ 1 234
Mass/Charge
ACh II - MS
20


Molecular formula: C270H405N54O54S9 Resolution: 20000 at 50%
%Int.
5559.8
5560.8
5557.8
5561.8
5556.8
5562.8
5563.8
5555.8
5564.8
5566.8
5569.8
Peptid, M$_{mono}$~ 5 556
Mass/Charge
ACh II - MS
23

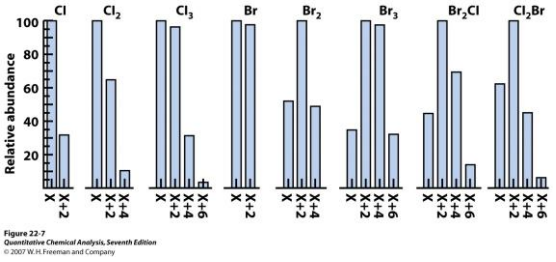

Molecular formula: C90H135N18O18S3 Resolution: 20000 at 50%
%Int.
1852.9
1851.9
1853.9
1854.9
1855.9
1857.9
Peptid, M$_{mono}$~ 1 852
Mass/Charge
ACh II - MS
21


Molecular formula: C360H540N272O272S12 Resolution: 20000 at 50%
%Int.
13414.4
13412.4
13416.4
13411.3
13417.4
13410.3
13418.4
13419.4
13409.3
13420.4
13408.3
13422.4
Protein, M$_{mono}$~ 13 407
Mass/Charge
ACh II - MS
24

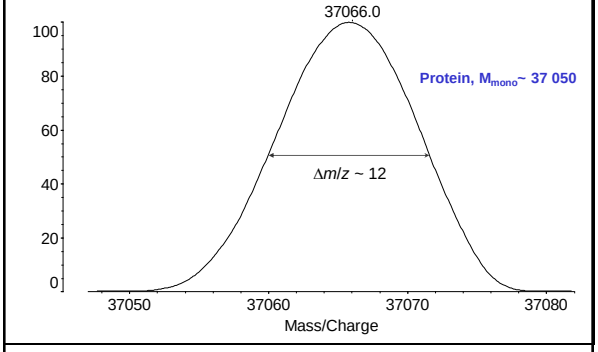
Molecular formula: C900H1350N180O180S30 Resolution: 20000 at 50%



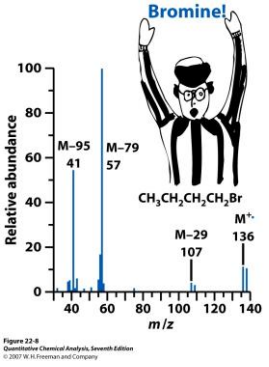
Izotopy: objasňování struktury



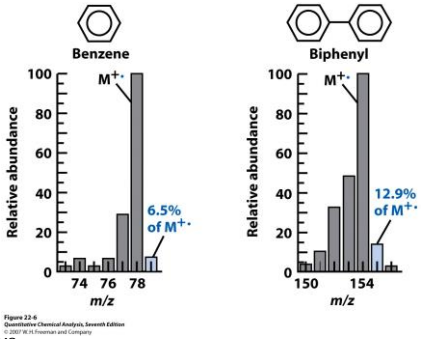
Molecular formula: C1800H2700N360O360S60 Resolution: 20000 at 50%



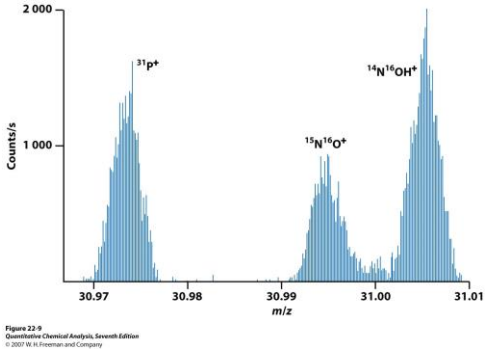
Izotopy: objasňování struktury



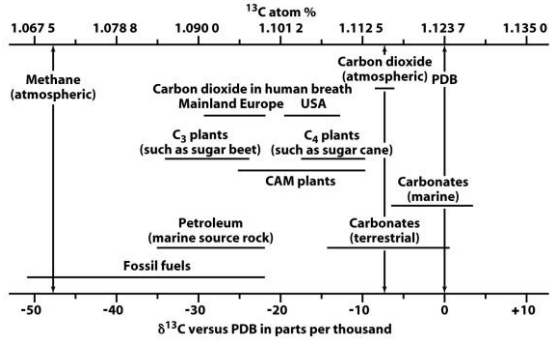
Izotopy: objasňování struktury



MS s vysokým rozlišením (R = 10^4 – 10^5)



Stanovení izotopových poměrů



Unnumbered figure pg 482
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Interpretace hmotnostních spekter

Reakce v plynné fázi – fragmentace, přesmyky ...

- Identifikace píku molekulového iontu
- Stanovení počtu dvojných vazeb a aromatických jader
- Objasnění píků fragmentů a fragmentačních reakcí

Fragmentace

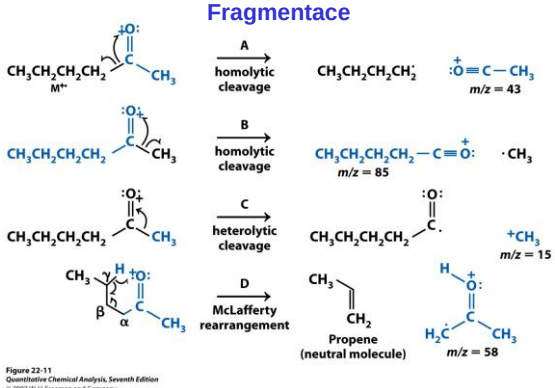


Figure 22-11
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

MS izobarů, izomerů

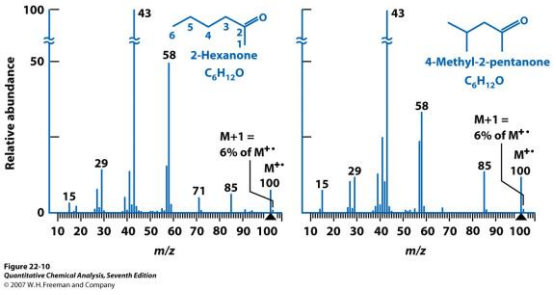
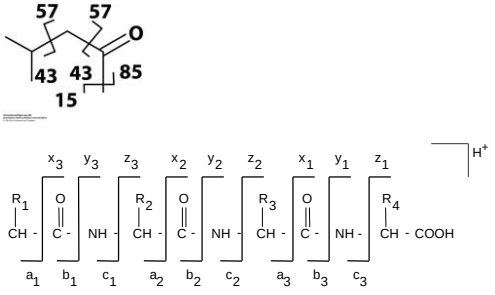


Figure 22-10
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Značení fragmentace



Hmotnostní spektrometry

Hmotnostní spektrometr ... přístroj, který z analyzované látky produkuje ionty a stanovuje jejich hmotnost, přesněji poměr hmotnosti a náboje

Součásti spektrometru

1. Iontový zdroj (zařízení na zavádění vzorku, iontová optika)
2. Hmotnostní analyzátor (iontová optika, magnet, detektor)
3. Vakuové pumpy (nízké, vysoké a ultra vysoké vakuum)
4. Řídící a vyhodnocovací elektronika, software

Magnetický sektor
Kvadrupólový analyzátor
Iontový cyklotron (FT-ICR-MS)
Time-of-flight hmotnostní spektrometr (TOFMS)
Iontová past (IT)
Orbitrap

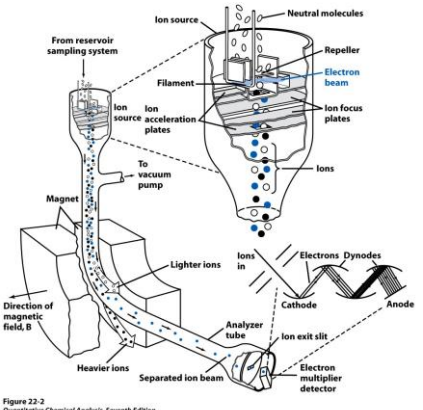
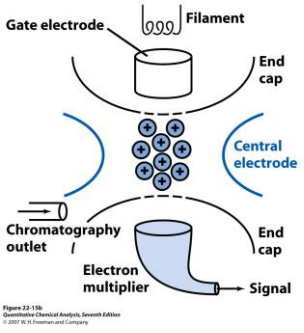
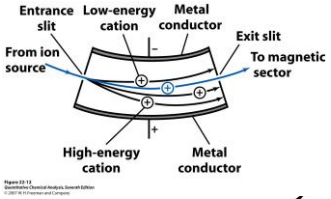


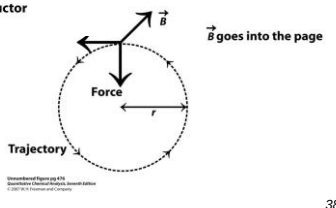
Figure 22-2
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Kvadrupólová iontová past (Ion Trap, IT)



Magnetický sektor, B





Průletový analyzátor (Time-of-flight MS, TOFMS)

s iontovým zrcadlem (reflektor, reflektron)

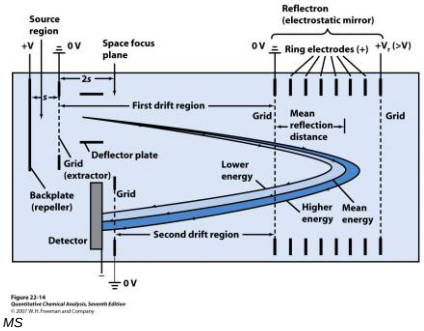


Figure 22-14
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Kvadrupólový filtr, Q

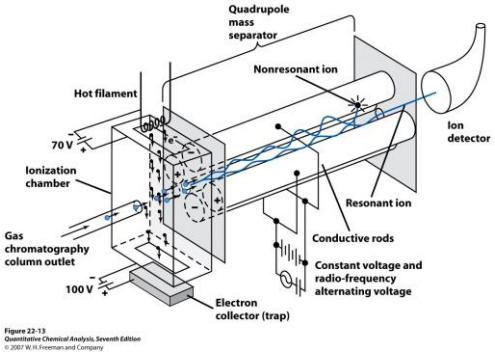


Figure 22-13
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

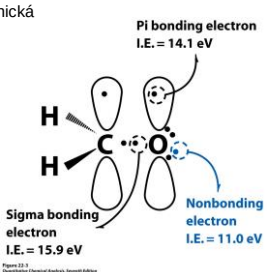
Ionizační techniky a aplikace

Doutnavý výboj (GD)
Elektronová ionizace (EI)
Chemická ionizace (CI)
Indukčně vázané plazma (ICP)
Ionizace rychlými atomy (FAB)
MS sekundárních iontů (SIMS)
Termosprej (TSI)
Iontový sprej (IS)
Elektrosprej (ESI)
Plazmová Desorpce (PD)
Laserová Desorpce (LD)
Laserová desorpce za účasti matrice (MALDI)
atd. atd.

Ionizace

Tvorba iontů: ztráta elektronu, H^+
zachycení elektronu, H^+, Na^+, Ag^+ ...

Ionizace: měkká/tvrdá
anorganická/organická
on-line/of-line
kontinuální/pulzní



Měkké a tvrdé ionizační techniky

Tvrdá: vysoký stupeň fragmentace, tvorba molekulárních iontů
Měkká: tvorba protonovaných molekul (pseudomolekulárních iontů)

Elektronová ionizace
$M + e^- \rightarrow M^{+\cdot} + 2e^-$

Chemická ionizace
$M + RH^+ \rightarrow MH^+ + R$

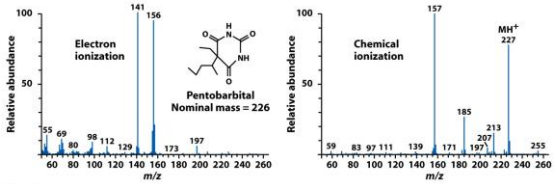


Figure 22-4
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Elektrosprej (*Electrospray Ionization*, ESI)

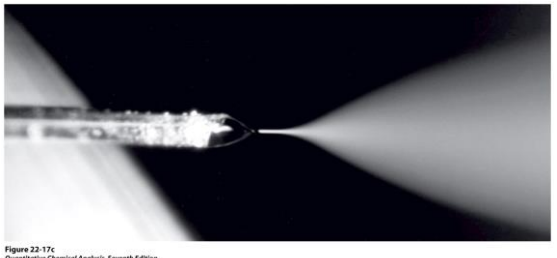


Figure 22-17c
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Elektrosprej

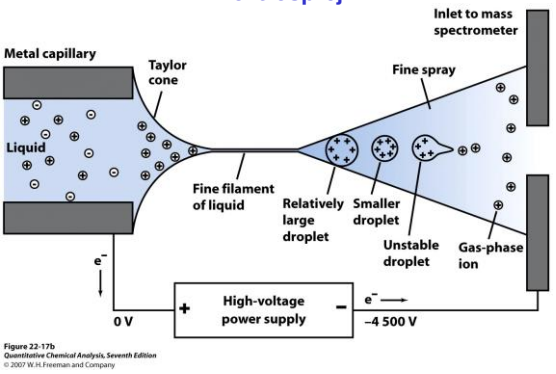


Figure 22-17b
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Elektrosprej

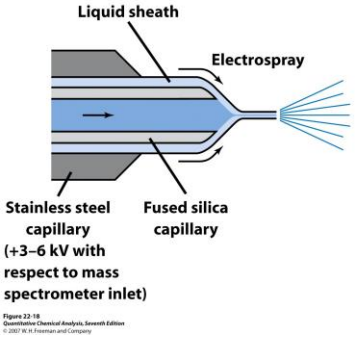


Figure 22-18
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Hmotnostní spektrum ESI cytochromu c

Tvorba vícenásobně nabitých iontů $[M+zH]^{z+}$s „obálkou" ve tvaru zvonu.
Odstupy mezi píky nejsou stejné (narozdíl od izotopového vzoru).

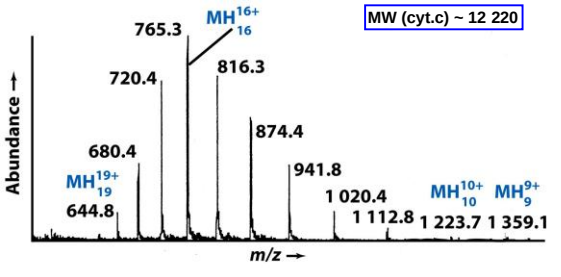


Figure 22-23
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Table 22-3 Analysis of electrospray mass spectrum of cytochrome c in Figure 22-23

Observed $m/z = m_n$	$m_{n+1} - 1.008$	$m_n - m_{n+1}$	Charge $= n = \frac{m_{n+1} - 1.008}{m_n - m_{n+1}}$	Molecular mass $= n \times (m_n - 1.008)$
1 359.1	1 222.7	135.4	9.03 ≈ 9	$1.222_3 \times 10^4$
1 223.7	1 111.8	110.9	10.03 ≈ 10	$1.222_7 \times 10^4$
1 112.8	1 019.4	92.4	11.03 ≈ 11	$1.223_0 \times 10^4$
1 020.4	940.8	78.6	11.97 ≈ 12	$1.223_3 \times 10^4$
941.8	873.4	67.4	12.96 ≈ 13	$1.223_0 \times 10^4$
874.4	815.3	58.1	14.03 ≈ 14	$1.222_7 \times 10^4$
816.3	764.3	51.0	14.99 ≈ 15	$1.222_9 \times 10^4$
765.3	719.4	44.9	16.02 ≈ 16	$1.222_9 \times 10^4$
720.4	679.4	40.0	16.98 ≈ 17	$1.223_0 \times 10^4$
680.4	643.8	35.6	18.08 ≈ 18	$1.222_9 \times 10^4$
644.8			19	$1.223_2 \times 10^4$
			mean = 1.222_9 (±0.000 3) × 10_4	

*SOURCE: Data from T. Wachs and J. Henion, "Electrospray Device for Coupling Microscale Separations and Other Miniaturized Devices with Electrospray Mass Spectrometry," Anal. Chem. **2001**, 73, 632. See also M. Mann, C. K. Meng, and J. B. Fenn, "Interpreting Mass Spectra of Multiply Charged Ions," Anal. Chem. **1989**, 61, 1702.*

Table 22-3
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Zobrazovací hmotnostní spektrometrie *Mass Spectrometry Imaging*, MSI

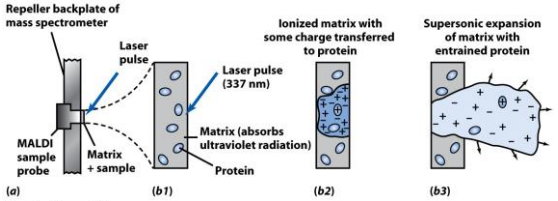
Např. MALDI MSI

- vizualizace prostorového rozložení látek v tkáních
- bez derivatizace
- distribuce léčiv a metabolitů

MALDI

Laserová desorpce/ionizace za účasti matrice

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization



Unnumbered figure pg 494a
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Chemická ionizace za atmosferického tlaku, APCI

Atmospheric pressure chemical ionization

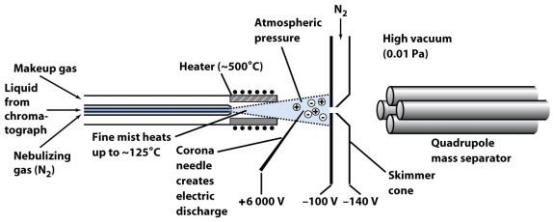
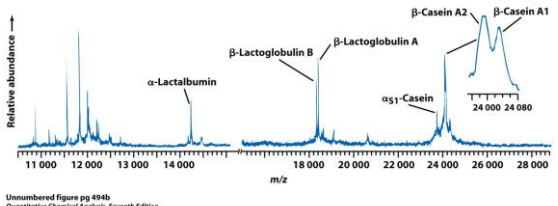


Figure 22-19a
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Hmotnostní spektrum MALDI

MALDI MS směsi proteinů kravského mléka



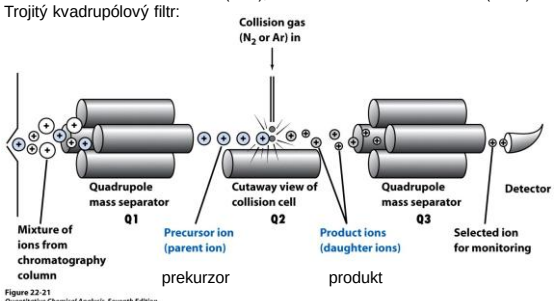
Unnumbered figure pg 494b
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Příklady aplikací

1. Tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS, MS^n)
   Kolizně indukovaná disociace (CID)
2. Separace – MS
3. Hmotnostní spektrometrie iontové mobility, IMMS

Tandemová hmotnostní spektrometrie

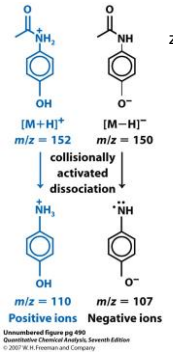
MS/MS, MS^n
Kolizně indukovaná disociace (CID), kolizně aktivovaná disociace (CAD)
Trojitý kvadrupólový filtr:



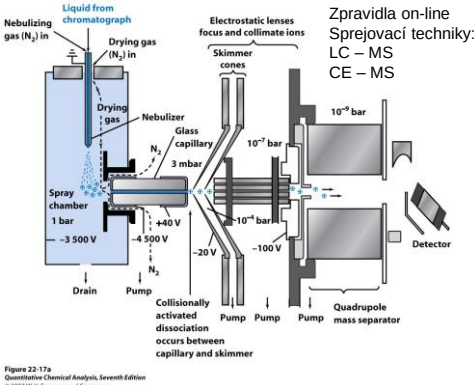
prekurzor produkt

Kolizně indukovaná disociace

kladně nabité ionty záporně nabité ionty

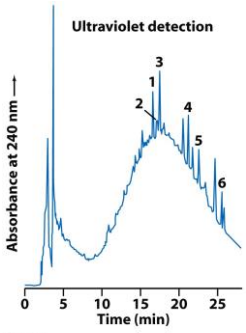


Spojení separace - MS



Zpravidla on-line
Sprejovací techniky: ESI, API...
LC – MS
CE – MS

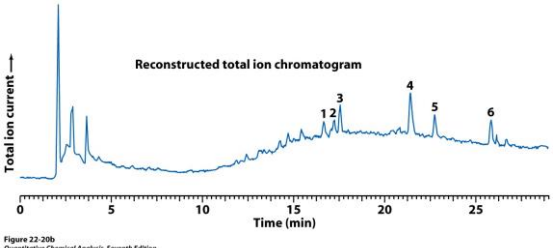
HPLC – UV herbicidů



Směs 6 herbicidů,
c = 1 ppb

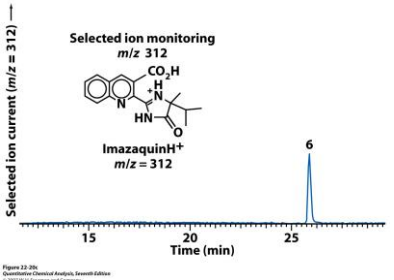
HPLC – MS herbicidů

Celkový iontový proud (Total Ion Current, TIC)
… integrovaný iontový signál (proud) přes celý měřený rozsah *m/z*
… vhodný pro celkový obrázek o chromatografii a nalezení nových píků
… nevhodný při analýze komplexních směsí



HPLC – MS herbicidů

Monitorování vybraného iontu (Selected Ion Monitoring, SIM)
… detekce při vybrané *m/z*
… pro experiment navržený pro monitorování pouze vybraného iontu
… pro více iontů **peak switching**



Analýza estrogenu v odpadních vodách

... 17α-ethinylestradiol, antikoncepce, negativní vliv na ryby již v koncentracích ~ppt

... velmí nízké koncentrace, složitá matrice vzorku

MS/MS estrogenu

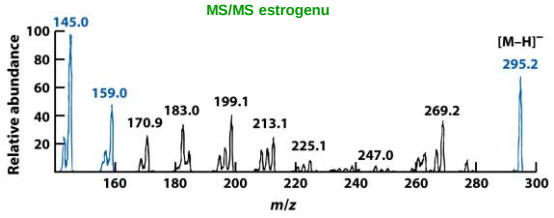


Figure 22-22a
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

IMMS

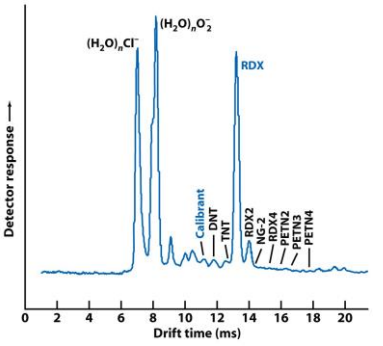


Figure 22-16b
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Analýza estrogenu v odpadních vodách

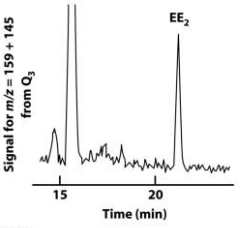
Monitorování vybrané reakce (Selected reaction monitoring, SRM)

… analogie SIM s využitím tandemové MS

… pro více rekcí **multiple reaction monitoring, MRM**

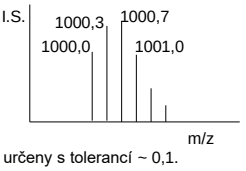
Vzorek: estrogen v odpadních vodách po prekoncentraci; 3,6 ng/l

HPLC – MS/MS (MRM)
295,2 → 145,0
295,2 → 159,0



Seminář

1. Pík iontu o *m/z* = 100 má položířku 0,25. Jaké dva ionty lišící se o 1 a.m.u. bude ještě schopen rozlišit? (Předpoklad: *R* nezávisí na *m/z*.)
2. Jaká rozlišovací schopnost je třeba k separaci $CH_3CH_2^{+\cdot}$ od $HCO^{+\cdot}$?
3. Poměry *m/z* 2503, 2002, 1668, 1430, 1251, 1112 a 1001 patří píkům téže látky v jediném spektru ESI MS. Jaká je MW této látky?
4. Co můžete říci o hmotnostním spektru organické sloučeniny:



Hodnoty *m/z* byly určeny s tolerancí ~ 0,1.

Hmotnostní spektrometrie iontové mobility (Ion Mobility Mass Spectrometry, IMMS)

... na pomezí mezi hmotnostní spektrometrií a elektroforézou

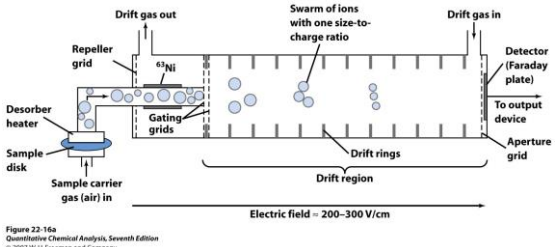
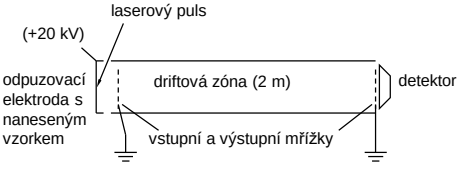


Figure 22-16a
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2007 W.H.Freeman and Company

Seminář

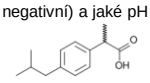
5. Odhadněte dobu letu iontu koňského cytochromu c (MW = 12 384) v TOF MS na obrázku.



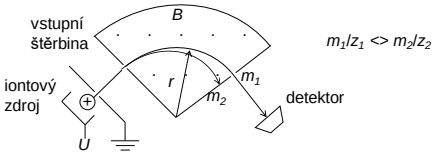
6. Jaký bude poměr intenzit píků benzenu $C_6H_6^+$ při m/z = 79 a 78?
7. Jaký bude poměr intenzit píků hexanu $C_6H_{14}^+$ při m/z = 87 a 86?

Seminář

8. Jaký mod (pozitivní, negativní) a jaké pH vzorku byste zvolili k detekci
   a) ibuprofenu
   b) peptidu
   c) fosfopeptidu
   d) nukleové kyseliny



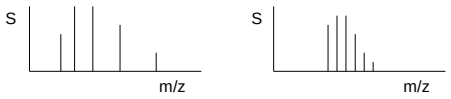
9. Pokuste se odvodit vztah pro *m*/*z* jako funkci *B*, *U* a *r* v magnetickém sektoru.



1. What are the six main components of a mass spectrometer instrument?
2. What is the difference between monoisotopic mass and average mass?
3. How are resolution and mass accuracy connected to one another?
4. What is the molecular ion?
5. What is the nitrogen rule?
6. What ion sources are commonly used for GC–MS?
7. What ion sources are commonly used for LC–MS?
8. Describe how ions are generated by electrospray ionization.
9. The discovery of what aspect of electrospray ionization won John Fenn a portion of the 2002 Nobel Prize in Chemistry?
10. What is the difference between atmospheric pressure chemical ionization (APCI) and conventional chemical ionization (CI)?
11. What is mean free path, and why is it an important consideration for different mass analyzers?
12. What is the Lorentz force?
13. Compare and contrast the capabilities offered by single quadrupole vs. ion trap instruments.
14. Why is the upper limit of an FT–ICR instrument dependent on the strength of its magnet?
15. How can a triple quadrupole be used to perform quantitative and qualitative analysis experiments?

Seminář

10. Co můžete říci o 2 různých spektrech téhož peptidu? (Počátek osy *m*/*z* nezačíná v nule, měřítka os jsou různá.)



11. Pro 2 sousední píky téže látky v hmotnostním spektru ESI byly změřeny tyto hodnoty: $(m/z)_1$= 1000,3 a $(m/z)_2$ = 1500,1. Určete nominální *m* analytu.

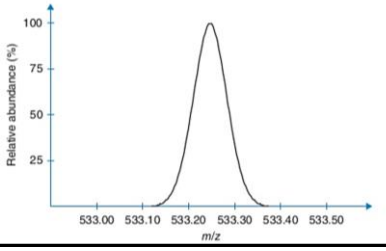
12. Proč je v hmotnostním spektrometru vakuum?

MASSES AND ISOTOPES

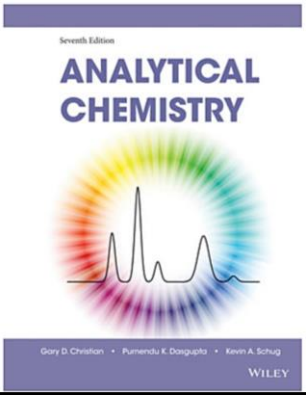
16. Calculate the monoisotopic mass for the protonated and sodiated ion forms of caffeine.
17. What ion signals (*m*/*z*), and at what relative intensities, would you expect to observe the deprotonated ion form of 2-chloro-benzoic acid?

RESOLUTION AND MASS ACCURACY

18. What resolution is needed to resolve an ion of *m*/*z* 432.1124 from an ion of *m*/*z* 432.1186?
19. Calculate the resolution (FWHM) exhibited by the ion signal below. What mass analyzers are capable of achieving this resolution?



Další otázky (Christian a kol.: Analytical Chemistry)



20. A 34,525 Da protein is ionized by electrospray ionization. What is the resolution needed for the signals of the +34 and +35 charge states (assuming all charges are obtained by protonation) to be completely resolved. Consider only the signal for the most abundant isotopes of each ion.
21. A standard when protonated should have a monoisotopic mass of 1234.1223 Da. When the compound is measured on a time-of-flight mass analyzer, the recorded mass of the ion is 1234.1198 Da. What is the error in mass accuracy for this measurement?

IONS IN ELECTRIC AND MAGNETIC FIELDS

22. What is the velocity (*m*/*s*) of a singly protonated ion with a *m*/*z* ratio of 324.9, which has been accelerated to a kinetic energy of 0.75 MeV? What is the radius of curvature for this ion, when it experiences a homogeneous magnetic field of 7 T?
23. What would be the difference in arrival time at the detector for two singly charged ions in a time-of-flight mass analyzer; one with *m*/*z* = 1252.054 and one with *m*/*z* = 1253.138, accelerated by a potential of 20 kV in a 1.750 m flight tube?