نویسندگان
مریم یوسفی[۱و۴*]، مرضیه رضائی[۲و۴]
محمودنادری[۳و۴]
*m.yousefi@avicenna.ac.ir

بخش دوم

اصول و مفاهیم کروماتوگرافی مایع - طیف‌سنج جرمی

چکیده

کروماتوگرافی مایع - طیف‌سنج جرمی[۵] برای بسیاری از کاربردها از توسعه ترکیبات دارویی گرفته تا آنالیزهای محیط زیستی، روش مناسبی است. توانایی شناسایی گستره وسیعی از ترکیبات، این روش را برای دانشمندان در بسیاری از زمینه‌ها به یک روش عمومی و متداول تبدیل ساخته است. زمینه‌های کاربرد LC-MS بسیار متنوع است که دستگاه‌ها و روش‌های بسیار زیادی را شامل می‌شود. ارائه لیست کاملی از کاربردهای LC-MS عملا غیرممکن است. انعطاف‌پذیری این روش، استفاده از آن را در زمینه‌های بسیاری جذاب و کارآمد ساخته است. برخی از کاربردهای جالب توجه این روش در مقاله حاضر فهرست شده‌است.

واژه‌های کلیدی
کروماتوگرافی مایع – طیف‌سنج جرمی (LC-MS)، آشکارسازها، کاربردها.

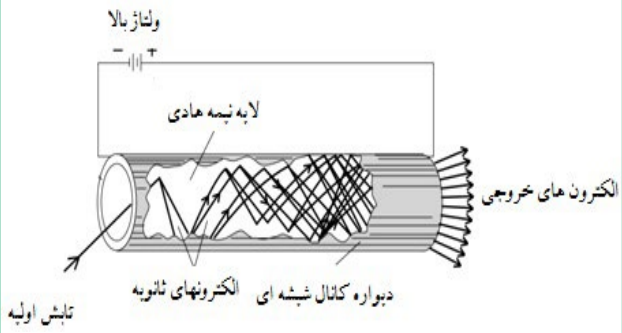
مقدمه

کروماتوگرافی مایع یکی از روش‌های کلیدی در رشته‌های مختلف شیمی و علوم زیستی است؛ برخلاف کروماتوگرافی گازی که برای ترکیبات غیرفرار و ناپایدار از نظر حرارتی مناسب نیست، کروماتوگرافی مایع می‌تواند گستره وسیعی از ترکیبات آلی از مولکول‌های کوچک دارو گرفته تا پپتیدها و پروتئین‌ها را جدا کند. طیف‌سنجی جرمی می‌تواند داده‌های طیف جرمی را به‌دست دهد که اطلاعات ارزشمندی در رابطه با وزن مولکولی، ساختار، ماهیت، مقدار و خلوص نمونه فراهم می‌آورد. همان‌گونه که در مقاله اصول و مفاهیم کروماتوگرافی مایع - طیف‌سنج جرمی (قسمت اول)، ذکر شد کروماتوگرافی مایع - طیف‌سنجی جرمی از کشش ذاتی ماده به فاز متحرک و فاز ساکن بهره می‌گیرد. در هنگام عبور نمونه با جریان حلال، نمونه از یک ستون تجزیه‌ای عبور کرده و در طول آن، ترکیبات مختلف از یکدیگر جدا می‌شوند. ترکیبات جداسازی شده سپس از یک آشکارساز جرمی عبور می‌کنند. سه نوع از متداول‌ترین روش‌های یونیزاسیون برای یونش نمونه‌ها عبارتند از: یونیزاسیون الکترو اسپری[۶]، یونیزاسیون شیمیایی در فشار اتمسفری[۷] و فوتویونیزاسیون در فشار اتمسفری[۸]. از متداول‌ترین تجزیه‌گرهای جرمی می‌توان به چهار قطبی، تله یونی و زمان پرواز اشاره کرد که در طی دهه گذشته برای سازگاری با منابع یونش پیشرفت‌های چشمگیری داشته‌اند. در مقاله قسمت اول، اصول و مفاهیم اولیه و دستگاهوری (شامل منابع یونی و تجزیه‌گرهای جرمی) در LC-MS مورد بحث قرار گرفت و در بخش دوم به انواع آشکارسازها و کاربردهای این روش در شاخه‌های مختلف علوم پرداخته می‌شود.

آشکارسازها

آشکارساز افزاینده الکترونی

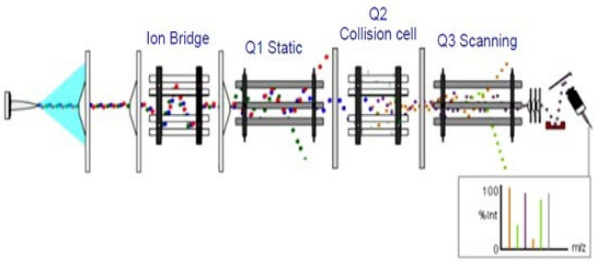
یون‌هایی که از تجزیه‌گرهای جرمی عبور می‌کنند باید آشکارسازی شده و به پیام‌های مفید تبدیل شوند به همین دلیل آشکارسازها یکی از مهمترین بخش‌های طیف‌سنج‌های جرمی محسوب می‌شوند. از معروف‌ترین این آشکارسازها می‌توان به افزاینده الکترونی[۹] اشاره کرد. سطح داخلی این آشکارسازها با ماده‌ای پوشش داده شده که در اثر برخورد یون‌ها با آن، الکترون آزاد می‌کند و الکترون‌های آزاد شده در اثر برخورد با سطح داخلی آشکارساز الکترون‌های بیشتری آزاد می‌کنند، همچنین وجود یک اختلاف پتانسیل این امر را تسهیل می‌کند و موجب تقویت پیام حاصل از یک یون خواهد شد [۱]. نمایی از یک افزاینده الکترون در شکل (۱) نشان داده شده‌است.



شکل ۱: نمایی از آشکارساز افزاینده الکترونی [۱]

طیف‌سنجی متوالی

MS/MS ترکیبی از دو یا بیش از دو آزمایش طیف‌سنج جرمی متوالی را نشان می‌دهد که هدف از این طیف‌سنجی‌های متوالی، به‌دست آوردن اطلاعات ساختاری با استفاده از شکستن یون‌های فیلتر شده حاصل از طیف‌سنجی اول و یا افزایش حساسیت و انتخاب‌پذیری در آنالیزهای کمی با انتخاب یون آنالیت خاص و شکست‌های خاص حاصل از آن است. آنالیزهای MS/MS به‌وسیله جفت بستن چندین تجزیه‌گر جرمی (از یک نوع و یا متفاوت) و انجام شکست‌های پیاپی یون‌های به دام افتاده انجام می‌شود، MS^n مخففی است برای تولید یون‌های متعدد و فیلتر کردن آنها با تجزیه‌گر جرمی که اغلب با قرار دادن ترکیبی از کوادراپل‌ها ایجاد می‌شوند؛ به‌طور مثال، در MS/MS آنالیز به این صورت انجام می‌گیرد که یون‌های فیلتر شده ناشی از کوادراپل اول قبل از ورود به فیلتر جرمی ثانویه (کوادراپل سوم) در کوادراپل دوم که فقط محفظه‌ای برای شکستن یون‌هاست و فیلتر جرمی در آن صورت نمی‌گیرد، با استفاده از یک گاز بی‌اثر شکسته می‌شوند و یون‌های ناشی از این شکست برای آنالیز جرمی وارد کوادراپل سوم می‌شوند. روندهای شکست یون‌های تولیدی و آنالیز یون‌های حاصل از شکست به‌صورت متوالی می‌تواند دنبال شود و یک MS^n را تولید کند [۲]. از تجزیه‌گرهای جرمی مختلف می‌توان به‌صورت ترکیبی و یا با هم استفاده نمود که عبارتند از کوادراپل و زمان پرواز، البته یکی از پرکاربردترین آنها در طیف‌سنجی‌های متوالی، استفاده از تجزیه‌گر جرمی کوادراپل به‌صورت متوالی است که با توجه به چگونگی فیلتراسیون و عملکرد این کوادراپل‌ها انواع متعددی از سیستم‌های پایش یون به وجود می‌آیند که می‌توانند حساسیت و انتخاب‌پذیری آنالیزها را ارتقاء دهند که در ادامه به آنها اشاره خواهد شد. نمایی از یک سیستم MS/MS در تصویر (۲) نشان داده شده‌است.

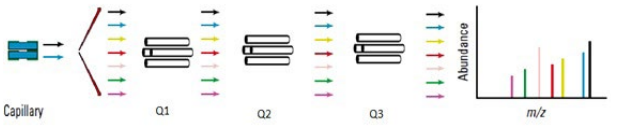


شکل ۲: نمایی از یک سیستم MS/MS [۲]

انواع پایش

پایش کامل[۱۰]

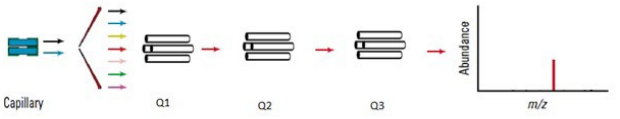
در این نوع پایش، تمامی m/zهای موجود در نمونه مورد پایش قرار می‌گیرند. کوادراپل اول تمامی m/zهای موجود در نمونه را تفکیک می‌کند و دو کوادراپل دیگر فقط محل عبور محسوب می‌شوند (شکل ۳) [۳].



شکل ۳: نمایی از چگونگی پایش کامل [۳]

پایش به روش نظارت کردن یک یون خاص[۱۱]

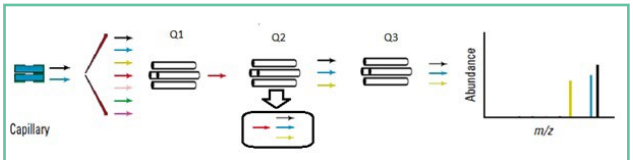
در این روش از پایش که برای شناسایی یک یون خاص با m/z خاص به کار می‌رود، کوادراپل اول روی یک ولتاژ خاص برای عبور دادن یک یون خاص تنظیم می‌شود و بقیه یون‌ها در اثر برخورد با الکترودها حذف می‌شوند؛ کوادراپل دوم و سوم فقط محل عبور هستند (شکل ۴).



شکل ۴: نمایی از چگونگی مونیتور کردن یک یون خاص [۳]

پایش به روش یون محصول

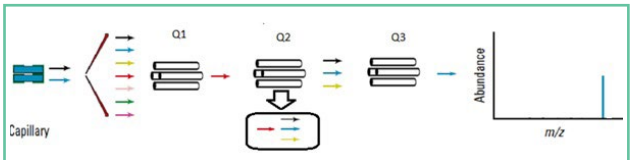
در این نوع از پایش، یون‌های حاصل از شکست یک یون خاص مورد بررسی قرار می‌گیرند، به این صورت که کوادراپل اول فقط یون خاص ما را عبور داده و در کوادراپل دوم با استفاده از یک گاز بی‌اثر مانند نیتروژن، این یون شکسته می‌شود؛ کوادراپل سوم به‌صورت پایش کامل عمل کرده و کلیه جرم‌های حاصل از شکست یون اولیه را تفکیک می‌کند (شکل ۵).



شکل ۵: نمای پایش به روش یون محصول [۳]

پایش یون‌ها با روش نظارت یک واکنش مشخص[۱۲]

در این نوع از پایش، شکست‌های خاص ترکیبات، اساس شناسایی آنها قرار می‌گیرند. کوادراپل اول برای یون مورد نظر ما تنظیم شده که به‌صورت نظارت یک یون مشخص SIM عمل می‌کند، در کوادراپل دوم یون مورد نظر، با استفاده از نیتروژن شکسته می‌شود و در کوادراپل سوم شکست شاخص حاصل از آن را عبور داده و بقیه یون‌های حاصل از شکست حذف می‌شوند (شکل ۶).



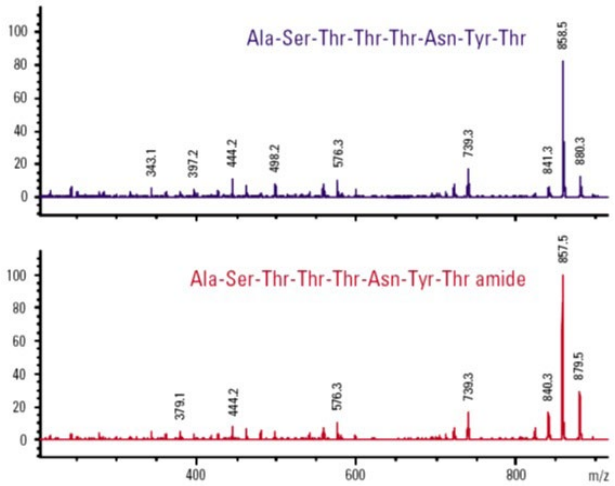
شکل ۶: نمایی از پایش یون‌ها با روش SRM [۳]

کاربردهای روش LC-MS

انعطاف‌پذیری LC-MS منجر به جذابیت در بسیاری از زمینه‌ها می‌شود. روش مذکور از زمینه محیط زیستی گرفته تا دارویی کاربرد دارد و توانایی آن در شناسایی گستره وسیعی از ترکیبات، منجر به حساسیت و ویژگی بالا می‌شود که آن را در بسیاری از زمینه‌ها به یک روش عمومی تبدیل ساخته است. از آنجا که این کاربردها بسیار متنوع هستند در ادامه به فهرستی از آنها اشاره خواهد شد [۵و۶].

تعیین وزن مولکولی

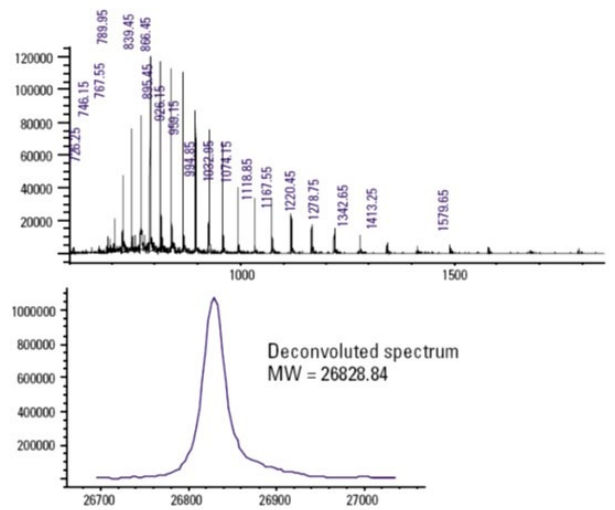
یکی از اساسی‌ترین کاربردهای LC-MS، تعیین وزن مولکولی است. اطلاعات مربوط به وزن مولکولی برای تعیین ماهیت ترکیبات بسیار کلیدی هستند. شکل (۷) طیف دو پپتید را نشان می‌دهد که نسبت جرم به بار آنها تنها m/z ۱ با هم متفاوت است. تنها تفاوت در انتهای کربن است که در یکی ترئونین و در دیگری ترئونین آمید است. پیک‌های مربوط به قطعات کوچک‌تر در هر دو طیف مشابه هستند که نشان می‌دهد بخش بزرگی از دو پپتید بسیار شبیه هم هستند. اما قطعات بزرگتر حاوی پپتیدهای متمایز کننده هستند.



شکل ۷: طیف جرمی متمایز کننده دو اکتا پپتید بسیار شبیه به هم [۴]

تعیین وزن مولکولی پروتئین سبز فلوئورسنت

پروتئین سبز فلوئورسنت[۱۳] پروتئینی با ۲۳۸ آمینو اسید و ۲۷۰۰۰ دالتون است. این پروتئین زمانی که در معرض نور ماورای بنفش قرار می‌گیرد رنگ سبزی از خود ساطع می‌کند. در هنگام یونیزاسیون الکترواسپری، GFP چند بار به‌دست می‌آید و همین باعث می‌شود بتوان آن را با طیف‌سنج جرمی که گستره محدودی از جرم به بار را نشان می‌دهد، آنالیز کرد. در این گونه موارد واپیچیدگی طیف جرمی برای تعیین وزن مولکولی پروتئین انجام می‌شود. بخش بالایی شکل (۸) طیف جرمی، پایش کامل طیف GFP را نشان می‌دهد. الگوی پیک‌های طیف جرمی از ویژگی‌های یک آنالیت دارای بار چند گانه است. هر پیک، نشانگر مولکولی با تعداد بارهای مختلف است. بخش پایینی، طیف واپیچیده شده‌ای است که توسط سیستم داده برای آنالیتی با یک تک بار ایجاد شده‌است.



شکل ۸: تعیین وزن مولکولی پروتئین GFP از طریق LC-MS با سیستم الکترواسپری [۴]

تعیین ساختار

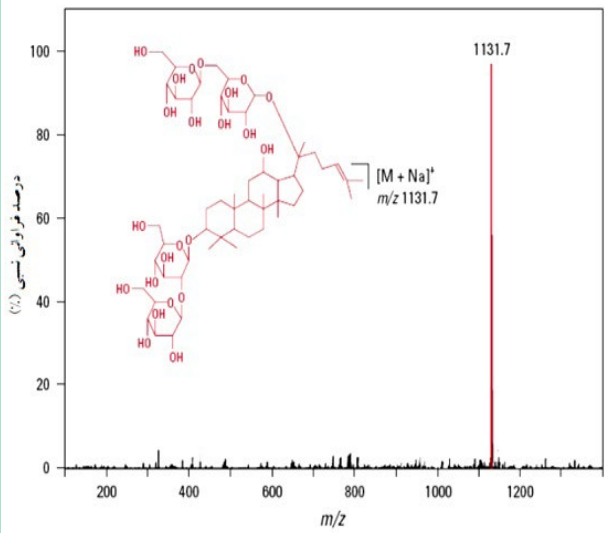
یکی دیگر از کاربردهای LC-MS به دست آوردن اطلاعاتی در مورد ساختار مولکولی است و این علاوه بر اطلاعاتی است که در مورد وزن مولکولی و یا ماهیت در مقایسه با یک ترکیب شناخته شده به‌دست می‌آید.

تعیین ساختار جینسنگ

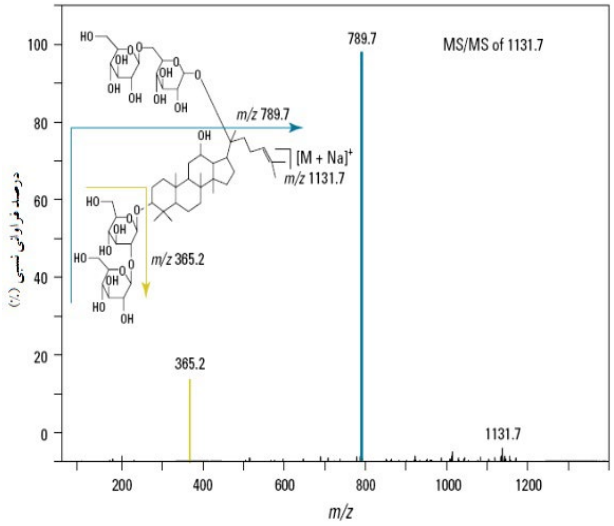
ریشه جینسنگ یک گیاه درمانی در طب سنتی چین است که حاوی تعداد زیادی از ساپونین‌های فعال بیولوژیکی است که جینسنوییدها نامیده می‌شوند. از آنجا که بیشتر جینسنوییدها حاوی زنجیره‌های الیگوساکاریدی متعددی هستند که در موقعیت‌های مختلف مولکول اتصال یافته‌اند، تعیین ساختار چنین ترکیباتی بسیار پیچیده است. آنالیز طیف جرمی در یک طیف‌سنج جرمی تله یونی این امکان را فراهم می‌آورد که مراحل متعدد جداسازی یون‌ها و قطعه قطعه شدن انجام شود. این قطعه قطعه شدن مرحله به مرحله، اجازه تشکیل مسیرهای قطعه قطعه شدن مجزا و منحصر به فرد را می‌دهد که اطلاعات ساختاری بسیار ارزشمندی فراهم می‌آورند.

شکل (۹) طیف جرمی پایش کامل جینسنوییدRb1 را نشان می‌دهد. مهم‌ترین جنبه طیف، یونی است که سدیم به آن افزوده شده $[M+Na]^+$ که در ۱۱۳۱/۷ m/z دیده می‌شود [۴].

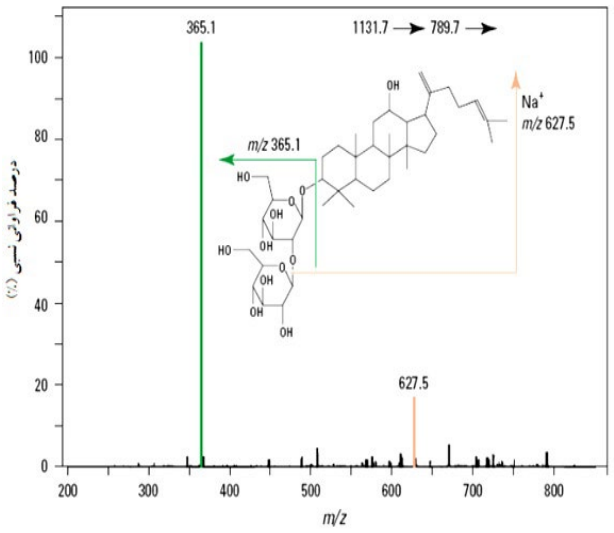
MS/MS مربوط به ۱۱۳۱/۷ m/z یک یون در ۷۸۹/۷ m/z مربوط به شکست یک پیوند ساده گلیکوزیدی است (شکل ۱۰). جداسازی و قطعه قطعه شدن‌های ۷۸۹/۷ m/z (شکل ۱۱) دو محصول به‌دست می‌دهد: یک یون با فراوانی بیشتر در m/z ۳۶۵/۱ که مربوط به از دست دادن یک زنجیره الیگوساکاریدی (Glc 2-Glc-) است و یون دیگر با فراوانی کم‌تر در m/z ۶۲۷/۵ مربوط به از دست دادن یک قند داکسی هگزوز است.



شکل ۹: طیف جرمی پایش کامل جنسنوییدRb1 که یون سدیم افزوده شده اولیه را نشان می‌دهد [۴]



شکل ۱۰: پایش کامل یون محصول، طیف (MS/MS) از یون سدیم افزوده شده در m/z ۱۱۳۱/۷ [۴]



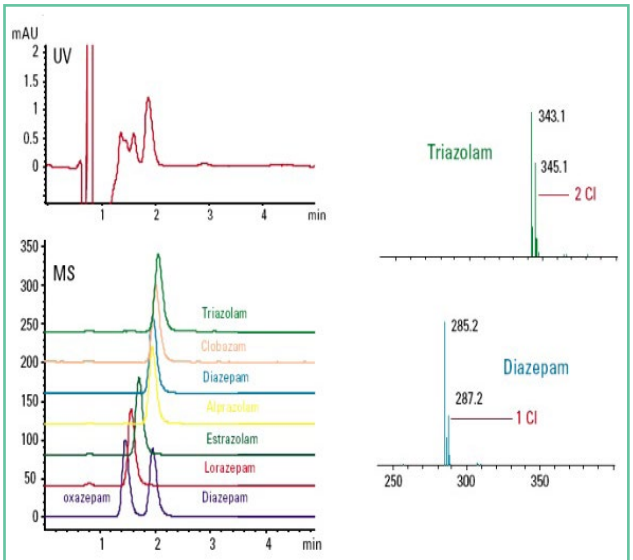
شکل ۱۱: طیف یون محصول پایش کامل از یون m/z ۷۸۹/۷ [۴]

کاربردهای دارویی

کروماتوگرافی بنزودیازپین‌ها

اطلاعات موجود در طیف جرمی این اجازه را می‌دهد که برخی ترکیبات را اگر چه از لحاظ کروماتوگرافی از هم تفکیک نشده‌اند ولی از هم جدایشان نمود. در این مثال یک سری از بنزودیازپین‌ها از طریق هر دو آشکارسازهای UV و MS آنالیز شدند. کروماتوگرام UV نمی‌تواند برای کمی‌سازی به کار گرفته شود اما یون کروماتوگرام حاصل از MS را می‌توان بدین منظور به کار برد.

اطلاعات طیف جرمی تایید بیشتری را برای شناخت ماهیت ترکیب‌ها ارائه می‌دهند. کلر به دلیل فراوانی نسبی دو ایزوتوپ خود الگوی منحصر به فرد خود را دارد. در شکل (۱۲)، طیف تریازولوم نشان‌گر آن است که این ترکیب دو اتم کلر دارد و طیف دیازپام نشان می‌دهد که این ترکیب یک اتم کلر دارد.



شکل ۱۲: شناسایی MS و تعیین مقدار کمی بنزودیازپین‌ها از مخلوطی که به خوبی از هم تفکیک نشده‌است [۴].

◗ شناسایی متابولیت‌های بایل اسید

توانایی طیف‌سنج جرمی تله یونی آن را به ابزاری مناسب برای آنالیز ساختاری ترکیبات پیچیده مبدل می‌سازد. روش‌های جمع‌آوری داده هوشمند، کارایی و سودمندی تله یونی را افزایش می‌دهد و امکان شناسایی متابولیت‌هایی که مقدار آنها اندک است را در فراوانی‌های پایین با یک بار آنالیز فراهم می‌سازد.

مثال دیگر در مورد انکوباسیون بایل اسید داکسی کولیک اسید با میکروزوم‌های کبد موش صحرایی برای شبیه‌سازی یک دارو است. از روش جمع‌آوری داده هوشمند برای انتخاب فراوان‌ترین یون‌ها در هر اسکن جرمی استفاده شد. این یون‌ها به‌صورت خودکار قطعه قطعه شده و محصولات با اسکن کامل تهیه شدند.

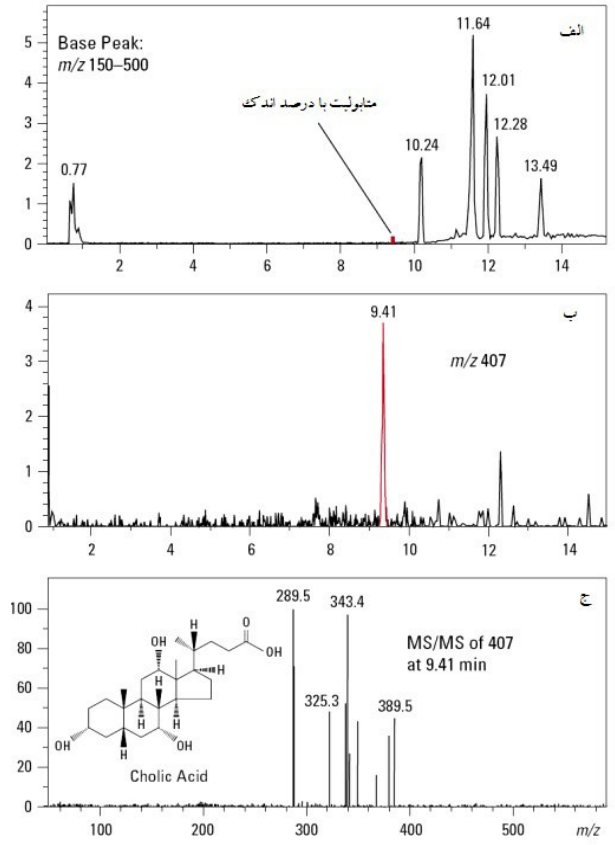
شکل (۱۳-الف) کروماتوگرام پیک‌های اصلی را نشان می‌دهد. شکل (۱۳-ب) کروماتوگرام یون‌های استخراج شده در m/z ۴۰۷ که مربوط به متابولیت با کم‌ترین درصد است (کولیک اسید با زمان شویش ۹ دقیقه و ۴۱ ثانیه) را نشان می‌دهد. طیف پایش کامل MS/MS (شکل ۱۳-ج) از یون با m/z ۴۰۷ ماهیت ترکیب را تایید می‌کند.

زمان قابل توجهی در این روش ذخیره می‌شود، چرا که محصول MS/MS به‌صورت خودکار در همان زمانی که طیف پایش کامل MS ثبت شد به‌دست می‌آید.

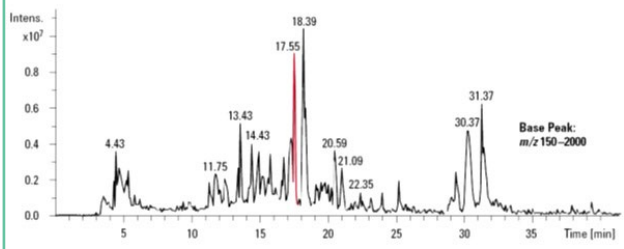
○ کاربردهای بیوشیمیایی

◗ شناسایی سریع پروتئین با LC/MS/MS مویینه و جستجو در بانک اطلاعاتی

روش‌های متداول شناسایی پروتئین به‌صورت عموم نیاز به جداسازی تک تک پروتئین‌ها با استفاده از ژل الکتروفورز دوبعدی دارند. تلفیق LC/MS/MS مویینه و روش جمع‌آوری داده هوشمند، کارایی و جستجو در بانک اطلاعاتی براساس درصد احتمال، امکان شناسایی سریع بیش از صد پروتئین را در یک آنالیز فراهم می‌آورد. در این مثال LC مویینه و طیف‌سنج جرمی تله یونی برای جمع‌آوری داده از یک مخلوط حاوی پنج پروتئین مختلف که هر کدام ۱ mol/lμ غلظت دارند (شکل ۱۴) مورد استفاده قرار گرفت. تمام داده‌های MS و MS/MS در یک تک آنالیز به‌دست آمد.

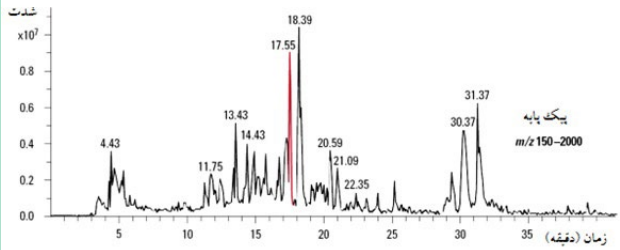


شکل ۱۳: شناسایی متابولیت داکسی کولیک اسید با درصد فراوانی اندک از طریق MS/MS [۴]



شکل ۱۴: کروماتوگرام پیک‌های پایه حاصل از ترکیبات پروتئینی با غلظت ۱ mol/lμ تزریق شده به ستون [۴]

شناسایی پروتئین با استفاده از نرم‌افزار MASCOT داده‌های MS/MS را با کمک بانک داده پردازش می‌کند. شکل (۱۵) همخوانی خوبی میان طیف MS/MS یونی که بیشترین فراوانی را دارد (m/z ۸۰۷/۲) (در زمان بازداری ۱۷٫۵۵ دقیقه در کروماتوگرام اصلی) و سری‌های یون-y پیش‌بینی شده مربوط به یک تریپتیک پپتید پروتئین انسانی (یکی از پروتئین‌های موجود در مخلوط) نشان می‌دهد.

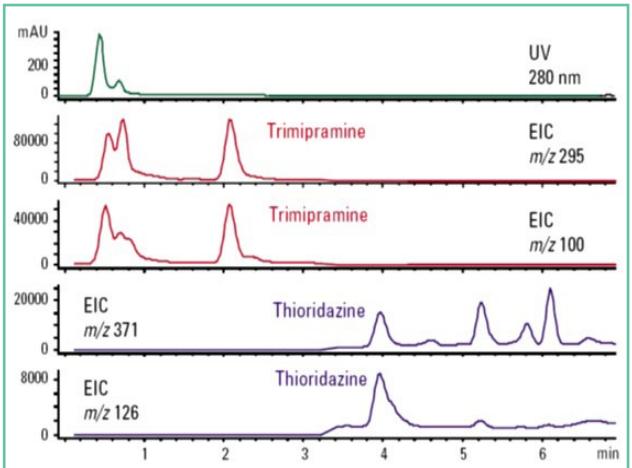


شکل ۱۵: طیف پایش کامل MS/MS از یون مادر در m/z ۸۰۷/۲ و طیف مقایسه‌ای [۴]

کاربردهای کلینیکی

تشخیص با حساسیت بالای تریمیپرامین و تیوریدازین

برای اغلب ترکیبات، آشکارساز جرمی بسیار حساس‌تر از سایر آشکارسازهای LC است. تریمیپرامین یک داروی ضدافسردگی سه حلقه‌ای است که خواص آرام‌بخش دارد. تیوریدازین هم یک آرام‌بخش است. شکل (۱۶) این ترکیبات را در ادرار نشان می‌دهد و مقدار آنها هم به حدی است که با آشکارساز UV قابل شناسایی نیست. برای رسیدن به بیشترین حساسیت، از یک طیف‌سنج جرمی چهار قطبی و آنالیز با مونیتور کردن یون‌های منتخب انجام شد.

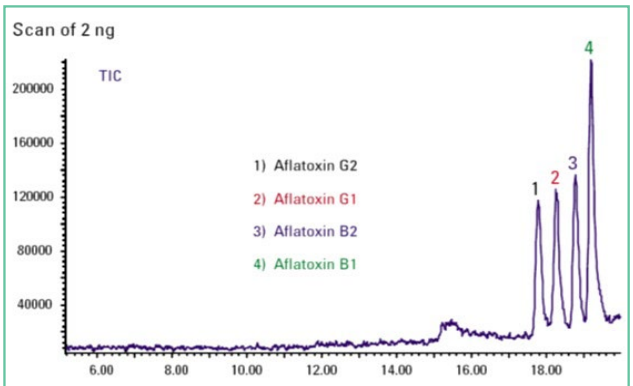


شکل ۱۶: تریمیپرامین و تیوریدازین در نمونه ادرار [۴]

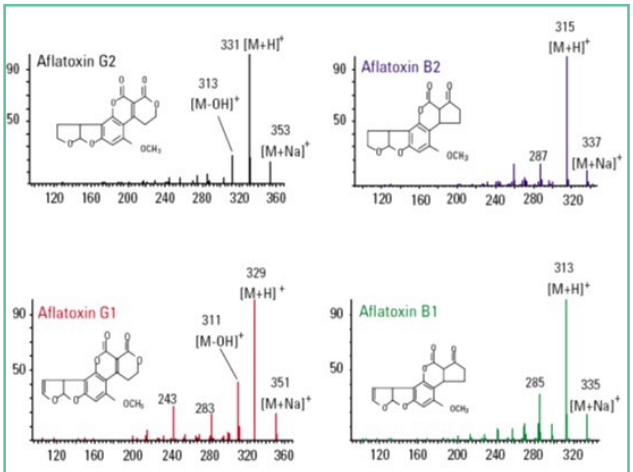
آنالیز مواد غذایی

شناسایی آفلاتوکسین در غذا

آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های سمی هستند که به‌وسیله قارچ‌ها در مواد غذایی تولید می‌شوند. شکل (۱۷) یون کروماتوگرام کلی مخلوط چهار آفلاتوکسین را نشان می‌دهد. اگر چه ساختار آنها بسیار به هم شبیه است ولی هر آفلاتوکسینی را می‌توان به‌طور جداگانه از روی طیف جرمی آن شناسایی کرد (شکل ۱۸).



شکل ۱۷: یون کروماتوگرام کلی مخلوط آفلاتوکسین‌ها [۴]



شکل ۱۸: طیف‌های جرمی مختص هر ترکیب، امکان شناسایی آفلاتوکسین‌هایی که ساختار مشابه دارند را می‌دهد [۴].

نتیجه‌گیری

با نگاهی کلی به کاربران دستگاه، بر حسب چگونگی استفاده از LC-MS می‌توان آنها را به سه گروه کلی تقسیم نمود [۷و۸]:

۱- کاربرانی که عمده اطلاعاتی که از طیف‌سنج جرمی می‌خواهند اطلاعات جرمی است (وزن مولکولی و یا قطعات حاصل از شکست مولکول). جنبه‌های کمی در این گونه موارد اهمیت کمی دارد و یا به‌طور کلی بی‌اهمیت است. به‌صورت عمده این کاربران تمایل دارند سنتز ترکیبات آلی را مونیتور و یا تایید نمایند، با استفاده از جمع‌آوری ترکیباتی که از ستون خارج می‌شوند، بررسی می‌کنند که آیا پیک کروماتوگرام یک متابولیت است و یا محصول حاصل از تخریب یک ترکیب مادر است و یا وزن مولکولی و اطلاعات ساختاری ترکیب را مشخص کنند.

۲- کاربرانی که هدف عمده آنها آشکارسازی گزینشی و بسیار حساس است. این کاربران مولکول ویژه‌ای را هدف قرار می‌دهند. جنبه‌های کمی اهمیت زیادی دارد و اطلاعات جرمی در درجه دوم اهمیت قرار دارد.

۳- کاربرانی که مولکول‌های خاصی را مورد هدف قرار می‌دهند و تعیین کمی و تعیین ماهیت ترکیبات، مورد نظر آنهاست. وزن مولکولی و حضور قطعات خاصی که فراوانی آنها از اهمیت زیادی برخوردار است در این حالت ارزیابی می‌شود.

پی‌نوشت

۱. دکتری شیمی آلی، مرکز تحقیقات ریز فناوری زیستی، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی ابن‌سینا
۲. کارشناس مهندسی شیمی، گروه پژوهشی آنالیزی کیمیازی
۳. کارشناس ارشد شیمی آلی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
۴. عضو کارگروه تخصصی کروماتوگرافی شبکه آزمایشگاهی فناوری‌نانو

5. Liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS)
6. Electrospray ionization (ESI)
7. tmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)
8. Atmospheric Pressure Photo Ionization (APPI)
9. Electron multiplayer
10. Full scan
11. Single ion monitoring (SIM)
12. Selected reaction monitoring (SRM)
13. Green fluorescent protein (GFP)

مراجع

[1] De Hoffmann, J. Charette, and V. Strooban t. “Mass Spectrometry. Principles and Applications.” John Wiley and Sons. Pp 91-97, 1996.

[2] Barker, J., Mass Spectrometry, 2nd Edn, ACOL Series, Wiley, Chichester, UK, 1999.

[3] http://www.agilent.com/cs/library/support/documents/a05296.pdf

[4] http://www.ecs.umass.edu/eve/background/methods/chemical/Openlit/Chromacademy%20LCMS%20Intro.pdf

[5] Russell, D. H. (Ed.), Experimental Mass Spectrometry, Plenum Press, New York, 1989.

[6] Siuzdak, G., Mass Spectrometry for Biotechnology, Academic Press, San Diego, CA, 1996.

[7] McLafferty, F. W. and Turecek, F., Interpretation of Mass Spectra, 4th Edn, University Science Books, Mill Valley, CA, 1993.

[8] Trainor, J. and Derrick, P. J., ‘Sectors and tandem sectors’, in Mass Spectrometry in the Biological Sciences: A Tutorial, Gross, M. L. (Ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1990, pp. 3–27.