



UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNO-PRZYRODNICZY
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH
W BYDGOSZCZY

ROZPRAWY NR 142

Andrzej J. Gorączko

MODELOWANIE PASM IZOTOPOMEROWYCH W INTERPRETACJI WIDM MASOWYCH – METODA I JEJ APLIKACJE

BYDGOSZCZ – 2010

REDAKTOR NACZELNY
prof. dr hab. inż. Janusz Prusiński

REDAKTOR DZIAŁOWY
dr hab. Jacek A. Szymura, prof. UTP

OPINIODAWCY
dr hab. Piotr Cysewski, prof. UMK
prof. dr hab. Maciej Stobiecki

OPRACOWANIE REDAKCYJNE I TECHNICZNE
mgr Michał Górecki, mgr inż. Daniel Morzyński

© Copyright
Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego
Bydgoszcz 2010

ISSN 0209-0597

Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, tel. 52 3749482, 3749426
e-mail: wydawucz@utp.edu.pl <http://www.wu.utp.edu.pl>

Wyd. I. Nakład 120 egz. Ark. aut. 11,0. Ark. druk. 13,5.
Oddano do druku i druk ukończono w maju 2010 r.
Zakład Poligraficzny ARGONEX S.J.
ul. Przemysłowa 34, 85-758 Bydgoszcz, tel. 052 348 93 11

Spis treści

1. Wstęp. Cel pracy	7
2. Izotopomery i izotopomeria.....	11
2.1. Geneza pojęcia <i>izotopomer</i>	11
2.2. Izotopologi	13
2.3. Izotopomery	13
2.4. Rodzaje izotopomerów.....	16
2.5. Molekularne pasmo izotopomerowe	19
2.6. Szerokość izotopomerowa pasma (WIC)	21
2.7. Położenie sygnału głównego pasma izotopomerowego (LAPIC).....	23
2.8. Izotopomeria – konsekwencja izotopomerowej koncepcji związków ...	24
3. Izotopomery, a kształt pasma jonu w widmie mas	26
3.1. Struktura izotopomerowa klastrów w widmach masowych	27
3.2. Klaster izotopomerowy w widmach masowych wysokiej rozdzielczości (widmach dokładnych mas).....	29
3.3. Wyznaczanie pasma widma niskorozdzielczego na podstawie modelu dokładnej masy	32
3.4. Modelowanie klastrów izotopomerowych.....	35
3.4.1. Dokładne położenia pików w widmie związku organicznego 3-metylo-1-fenyl-1H-pyrazolo[3,4-b]chinoksaliny	35
3.4.2. Obliczenie pasma molekularnego związku metaloorganicz- nego difenyl-cynk(II) $C_{12}H_{10}Zn$	37
3.4.3. Obliczenie pasma molekularnego związku o złożonym składzie izotopomerowym tris(benzo[b]selenofeno) [2,3:2',3':2'',3''']benzen $C_{24}H_{12}Se_3$	39
3.5. Transformacja pasma dokładnych mas w klaser niskorozdzielczy	42
4. Pasma izotopomerowe agregatu monopierwiastkowego, relacje pomiędzy składem jonu, a położenie pików głównego pasma.....	45
4.1. Pasma izotopomerowe jonu masowego	45
4.1.1. Położenie sygnału głównego pasma, a masa jonu.....	45
4.1.2. Agregaty monopierwiastkowe.....	46
4.2. Agregaty pierwiastków podstawowych dla związków organicznych	47
4.2.1. Przesunięcia głównego pików pasma, współczynnik korekcji izotopowej (ICF) dla agregatów monopierwiastkowych	49

4.2.2. Możliwości aplikacji współczynnika korekcji izotopowej (ICF) w interpretacji widm mas związków organicznych.....	52
4.3. Agregaty pozostałych pierwiastków poliiizotopowych.....	52
4.3.1. Analiza wartości LAPIC agregatów monopierwiastkowych występujących w związkach koordynacyjnych i metalo-organicznych	56
4.3.2. Różnice pomiędzy wartościami LAPIC a masami jonów masowych związków metaloorganicznych i koordynacyjnych	61
5. Modelowanie niskorozdzielczych pasm izotopomerowych jonów (MMIP)	63
5.1. Metody interpretacji pasm.....	64
5.2. Bezpośrednie wyznaczanie pasma widma niskorozdzielczego	65
5.3. Opis metody modelowania multiizotopomerowego pasm jonów masowych (MMIP).....	66
5.4. Przykłady modelowania klastrów izotopomerowych	69
5.4.1. Bis(dietyloditiofosforan)-kadmu(II) [(C ₂ H ₅ O) ₂ PS ₂] ₂ Cd.....	69
5.4.2. Tetrachloro-borofalocyanina BCl (CNCNC ₆ H ₃ Cl) ₃	70
5.4.3. π-Pentadieno-trikarbonylo-trietylogermylo-molibden (C ₅ H ₅)(CO) ₃ MoGe(C ₂ H ₅) ₃	71
6. Pasma złożone w widmach mas.....	74
6.1. Klastery pochodzące z nakładania pasm jonów różniących się liczbą atomów wodoru	74
6.1.1. Deformacja pasma jonu molekularnego wskutek procesów dehydrogenacji	75
6.1.2. Modelowanie struktury pasma <i>quasi</i> -molekularnego.....	78
6.1.3. Przykłady rekonstrukcji pasm molekularnych	82
6.2. Pasma <i>quasi</i> -molekularne germanowodorów.....	88
6.3. Nakładanie pasm jonów fragmentacyjnych o zasadniczo różnych składach elementarnych.....	91
6.4. Modelowanie pasm złożonych – podsumowanie	93
7. Izotopomerowa rekonstrukcja widma masowego – weryfikacja hipotezy fragmentacyjnej	96
7.1. Założenia modelu	96
7.2. Modelowanie pasm.....	97

7.2.1. Proste pasma odpowiadające pojedynczemu jonowi fragmentacyjnemu	98
7.2.2. Pasma złożone odpowiadające sumie kilku jonów fragmentacyjnych	99
7.3. Modelowanie widma	101
7.4. Weryfikacja hipotezy fragmentacyjnej – ocena modelowania	108
8. Identyfikacja klastrow jonów dwudodatnich za pomocą analizy izotopomerowej	110
8.1. Jony dwudodatnie w widmie masowym	112
8.2. Opis analizy izotopomerowej jonów dwudodatnich (D–CIIA)	114
8.2.1. Pasma modelowe i pasma doświadczalne	114
8.2.2. Testowanie relacji pasm	116
8.3. Testowanie metody identyfikacji izotopomerowej jonów dwudodatnich (D–CIIA)	121
8.3.1. Tris(benzo[b]selenofeno)[2,3:2',3':2'',3''']benzen $C_{24}H_{12}Se_3$	121
8.3.2. Tris(cyklooktateetraeno)-diwolfram $C_{24}H_{24}W_2$	126
8.3.3. Di(chloro-(η -5)-pentametylo-cyklopentadienylo)-chrom $C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2$	129
8.3.4. 1,3,5,7-Tetrametylo-2,4,6,8-tetraseleno-adamantan, $C_{10}H_{16}Se_4$	132
8.3.5. Bis[bis(η -5-cyklopentadienylo)-bis(μ -propynylo)-cyrkon], $C_{26}H_{26}Zr_2$	134
8.4. Testowanie hipotezy obecności jonu dwudodatniego – podsumowanie	136
9. Upraszczenie widm masowych związków koordynacyjnych i metaloorganicznych metodą analizy profilu pasma	139
9.1. Sposoby upraszczania widm masowych	140
9.2. Metoda analizy profilu pasma (CPA)	141
9.3. Przykłady zastosowania metody analizy profilu pasma	144
9.3.1. Dichloro-bis-(2,4-pentanodioniano-O,O')-cyna (acetyloacetonian dichlorocyny) $(C_5H_7O_2)_2SnCl_2$	144
9.3.2. Hexa- <i>t</i> -butyloselenotrisiletan, $(C_4H_9)_6SeSi_3$	148
9.4. Ocena efektywności metody uproszczenia widma	149

10. Podsumowanie i wnioski	152
Terminy stosowane w pracy	157
Streszczenia	166
Uzupełnienie.....	171
Literatura	197
Programy	211
Adresy	213

1. Wstęp. Cel pracy

Wiele pierwiastków w stanie naturalnym występuje w postaci izotopów o zróżnicowanych masach atomu. Izotopy pierwiastka różnią się wartościami masy atomowej, a także bezwładnością i właściwościami magnetycznymi [1], co uwidacznia się w wynikach np. magnetycznego rezonansu jądrowego [2], spektrometrii mas [3] i widmach rotacyjnych [4]. Pierwiastki tworzące związki organiczne są w większości monoizotopowe¹ [5] (F, I, P) lub niemal monoizotopowe (C, H, N, O, S, Si), tzn. takie, których dominantem składu izotopowego jest izotop najlżejszy, którego rozpowszechnienie przekracza 95% [6]. Istotne zawartości różnych izotopów naturalnych w związkach organicznych wnosi jedynie obecność B, Br i Cl. Widma masowe prostych związków organicznych są więc dość ubogie i zawierają niewielką liczbę pików izotopowych. Fakt ten umożliwił opracowanie tablic korelacyjnych [7], ułatwiających interpretację składu pierwiastkowego jonów masowych i określenie ich wzorów sumarycznych.

Najbardziej istotnymi dla spektrometrii mas są różnice masy związków wynikające z obecności izotopów. Analizę układu sygnałów pasma izotopowego jonu molekularnego, wynikającego z obecności izotopów pierwiastków podstawowych dla związków organicznych (C, H, N, O, Cl, Br, S, Si, P, F, I) [3a] stosuje się do ustalenia wzoru sumarycznego związku. Odrębne zagadnienie stanowi wykorzystanie metod wzbogacenia izotopowego (isotopic enrichment) [8] trwałym izotopem pierwiastka, cięższym od dominującego (np. D, ¹⁵N, ¹⁸O), czy też znakowanie izotopem promieniotwórczym [9]. Szczególne znaczenie w badaniu procesów wzbogacania wiąże się z wykorzystaniem spektrometrii mas w tych badaniach, ponieważ istotą metody spektrometrii jest pomiar ilości jonów o zdefiniowanej masie².

Obecność izotopów jest przyczyną grupowania sygnałów widma masowego w pasma³. Uważać można, że badanie układu pików w klasterach⁴ widma masowego pozwala uzyskać znacznie więcej informacji analitycznych niż to jest do tej pory. Fakt występowania w widmie masowym pasm jonów, choć zwykle zauważany i poprawnie przyjmowany jako skutek występowania izoto-

¹ Pierwiastek monoizotopowy = pierwiastek występujący w postaci jednego izotopu naturalnego, w odróżnieniu od pierwiastka poliizotopowego – występującego w kilku izotopach naturalnych i di-izotopowego – dwa izotopy.

² Dokładniej m/z relacji masy i ładunku jonu.

³ Pasma, klaster, zespół pików – część widma, dobrze oddzielona od pozostałych (dolina = 0%) zawierająca szereg sygnałów, zwykle w odstępach 1 u (m/z).

⁴ W literaturze polskiej stosuje się termin *klaster*, choć można też używać słowa *pasma*, a w materiałach obcojęzycznych stosowane są określenia angielskie „pattern”, „cluster” czy „band”. We wszystkich tych przypadkach oznacza to zespół sąsiadujących ze sobą sygnałów odległych o 1 lub 2 u.

pów pierwiastków [3], także nie znajduje właściwego wykorzystania w szczególowej interpretacji widma i określaniu dróg fragmentacji związków.

W przypadku związków koordynacyjnych i metaloorganicznych zawierających zwykle atomy pierwiastków poliiizotopowych⁵ ich obecność wpływa w istotnym stopniu na właściwości fizykochemiczne substancji. Obserwowane różnice uzasadniają traktowanie obecnego w cząsteczce związku izotopu pierwiastka jako odrębnego podstawnika.

Rozwojowi chemii supramolekularnej i nanotechnologii towarzyszy wzrost zainteresowania złożonymi związkami metaloorganicznymi i koordynacyjnymi, zawierającymi często w swym składzie elementarnym pierwiastki występujące w postaci izotopów naturalnych. Badania np. porfiryn, ftalocyjanin i metaloporfiryn, kaliksarenów, rezorcynoarenów i ich kompleksów z kationami metali wyznaczają obecnie wiodące kierunki naukowe. Nanomateriały, w tym dendrymery czy też tak istotne w elektronice monoelementarne struktury 3-D (analogi kubanu, pryzmanu, tetrahydranu itp.) stanowią aktualne pole badań współczesnej chemii nieorganicznej. Pomimo dużej liczby prac na ten temat, spektrometrię mas wykorzystuje się w nich rzadko. Związki te są trudne do badania z powodu swojej labilności i złożonego składu izotopowego. Problem ich trwałości został już w znacznym stopniu opanowany. Jonizacja nisko energetyczna, przeprowadzona metodami „miękkimi” (np. jonizacja szybkimi atomami – FAB, jonizacja przez desorpcję laserową z matrycy stałej – MALDI, spektrometria mas jonów wtórnych w ciekłej matrycy – LSIMS, elektrosprej – ESI) [10 – 13] umożliwia uzyskanie jonu molekularnego i jednocześnie ograniczenie dalszego rozpadu cząsteczki. Interpretacja widm masowych takich związków jest bardzo utrudniona nie tylko z powodu możliwych reakcji matrycowych. Bardzo istotną trudnością dodatkową jest złożony skład jonów masowych wynikający ze złożonego składu izotopowego występujących w analizie pierwiastków poliiizotopowych. Złożoność widm masowych związków koordynacyjnych i metaloorganicznych powoduje istotne utrudnienia interpretacji, ponieważ nie mogą być stosowane reguły przyjęte dla typowych związków organicznych.

Interpretację widma masowego opiera się zazwyczaj na kilku lub kilkunastu wybranych sygnałach, pomijając pozostałe. Rozwiązanie takie wydaje się być słuszne jedynie w przypadku identyfikacji związków. Rozwój technik spektrometrii mas był podporządkowany badaniom jonów molekularnych. Zastosowanie komputerowych metod identyfikacji związków opierających się na widmach masowych nie zmieniło sytuacji. Badania procesów fragmentacji były prowadzone mniej intensywnie, właściwie jedynie „przy okazji”. A przecież fragmentacja dostarcza istotnych informacji o budowie cząsteczki, trwałości wiązań itp. Tak więc widmo masowe może zatem być wykorzystane bardziej efektywnie niż obecnie.

⁵ Pierwiastek poliiizotopowy = pierwiastek występujący w postaci kilku izotopów naturalnych (Poly-Isotopic Element – PIE; definicja wg doLago).

Istotą pracy było założenie, że złożoność widma masowego może być źródłem dodatkowych informacji weryfikujących hipotezy interpretacyjne. Hipotetyczny wzór elementarny jonu wyznacza się w oparciu o wybrane sygnały widma i na tej podstawie wylicza się model pasma jonu obejmujący szereg sygnałów tworzących klaster jonu mas. Podobieństwo obu pasm – doświadczalnego i teoretycznego weryfikuje poprawność hipotezy wzoru jonu. Takie sposob postępowania powoduje, że w badaniach identyfikacyjnych związków spektrometria mas wykazuje cechy metody samosprawdzalnej. W rozumieniu autora – spektrometria mas daje możliwość zaproponowania wzoru jonu opierając się na sygnale wybranym z pasma doświadczalnego, a także potwierdza poprawność takiego przyporządkowania. Porównanie położenia i intensywności pozostałych pików pasma eksperymentalnego z odpowiadającymi im składnikami klastra wyznaczonego teoretycznie na podstawie tego wzoru umożliwia weryfikację proponowanego jonu. Zgodność obliczonego teoretycznie modelu z wynikami uzyskanymi doświadczalnie nie tylko może stanowić istotną pomoc w interpretacji, ale także daje wskazówki odnośnie mechanizmów tworzenia pasm widma, dysocjacji cząsteczki oraz pozwala na identyfikację badanego związku.

Założenie takie stanowiło podstawę opracowania metody weryfikującej hipotezy interpretacyjne poprzez modelowanie obrazu widma mas. W pierwszym etapie określono przedmiot badań – izotopomery (izomery izotopowe), jako konsekwencję występowania w związkach pierwiastków poliizotopowych. Istotne znaczenie miało rozróżnienie rodzajów izotopomerów, ich klasyfikacja i wpływ na obraz widma mas. Opis metody modelowania pasma izotopomerowego jonów masowych i opracowane dotychczas jej aplikacje stanowią istotę prezentowanej pracy.

Na pracę składa się szereg zrealizowanych zagadnień badawczych:

1. Określenie wpływu składu izotopomerowego jonu na kształt pasma.
2. Opracowanie hipotezy powstawania widma mas, zwłaszcza relacji pomiędzy widmami wysokiej a niskiej rozdzielczości.
3. Ustalenie wpływu składu monoelementarnego na kształt pasma, wyznaczenie współczynników korekcji izotopowej dla agregatów wszystkich pierwiastków poliizotopowych (do X_{10}).
4. Opracowanie programu wyznaczającego model pasma reprezentujący jon masowy w zależności od składu elementarnego jonu.
5. Określenie mechanizmu tworzenia pasm złożonych i opracowanie metody oznaczania składu pasma złożonego.
6. Opracowanie sposobu weryfikacji hipotezy fragmentacyjnej poprzez porównanie modelu widma z widmem doświadczalnym.
7. Opracowanie sposobu upraszczania widma masowego w celu wyboru (ekstrakcji) sygnałów istotnych dla poprawności interpretacji
8. Sporządzenie programu identyfikacji jonów dwudodatnich w widmie mas.

Wszystkie wymienione cele mogły być zrealizowane dzięki stosowaniu modelowania pasm izotopomerowych odnoszących się do jonów mas, zwłaszcza związków metaloorganicznych i koordynacyjnych.

Podstawowym materiałem badawczym były widma masowe (głównie EI) zgromadzone w komercyjnych bazach widm, głównie ITDS [14], Wiley (75k i 138) [15, 16] oraz bazach NIST-68 [17], NIST-2000 [18] i NIST-08 [19]. Metodyczny charakter pracy wykluczał nieomal możliwości syntezy substancji do badań, podobnie zresztą jak i ich zakup. Jednak w szczególnie uzasadnionych przypadkach wykonywano widma doświadczalne.

Opracowane metody odnoszą się zwłaszcza do związków metaloorganicznych i koordynacyjnych jako zawierających zwykle pierwiastki poliizotopowe, których obecność warunkuje występowanie pasma izotopomerowego i możliwość jego modelowania.

Opracowana metoda analizy widm masowych wykorzystująca analizę składu izotopomerowego jonu i weryfikację hipotezy składu jonu wydaje się być nowym, wartościowym narzędziem wspomagającym interpretację widm mas. Tematyka ta jest na tyle nowa, że stale pojawiają się nowe możliwości jej stosowania i rozszerzania wachlarza metod szczegółowych, wykorzystujących analizę izotopomerową.

Nowość zagadnienia spowodowała konieczność opracowania szeregu nowych terminów wykorzystywanych w niniejszym opracowaniu i publikacjach. W większości przypadków zachowano zasady, które jako kanon wprowadził w swojej terminologii Sparkman [20] i Encyclopedia of Mass Spectrometry [21]. Propozycje w języku polskim (z powodu braku odpowiednich określeń) będą zapewne powodem owocnych dyskusji, które doprowadzić mogą do wzbogacenia polskiej terminologii.

Opinie nieopatrzone odsyłaczami literaturowymi są własnymi spostrzeżeniami autora, wynikającymi z jego doświadczeń, obliczeń i przemyśleń. Odnosiłki literaturowe oznaczone wytłuszczonym drukiem dotyczą prac autora.

2. Izotopomery i izotopomeria

Fakt występowania izotopów w przypadku większości pierwiastków (52) obecnych w cząsteczce jako heteroatomy (rys. 2.1) powoduje, że rzadko który związek metaloorganiczny lub koordynacyjny nie zawiera analogów lub izomerów izotopowych. Związki takie wykazują istotne różnice mas cząsteczkowych, bezwładności czy właściwości magnetycznych, co znajduje potwierdzenie w wynikach analizy instrumentalnej, jak np. magnetyczny rezonans jądrowy, spektrometria mas czy widma rotacyjne (tab. 2.1). Wydaje się także, że należy traktować izotop (lub grupę, w której on występuje) za odrębny podstawnik.

Tabela 2.1. Wybrane właściwości naturalnych nuklidów Sn [1a]

Masa nuklidu	Rozpowszechnienie	Dokładna masa atomowa	Spin jądra	Jądrowy moment magnetyczny
u.	%	u.		μ
112	0,97	111,904826	0	0
114	0,65	113,902176	0	0
115	0,36	114,903348	½	-0,918
116	14,53	115,901747	0	0
117	7,68	116,902956	½	-1,000
118	24,22	117,901609	0	0
119	8,58	118,903310	½	-1,046
120	32,59	119,902220	0	0
122	4,63	121,903440	0	0
124	5,79	123,905274	0	0

2.1. Geneza pojęcia *izotopomer*

Terminy *izotopomer* i *izotopolog* pojawiły się na początku lat 90. XX w. w kręgu badaczy wykorzystujących deuterowanie w swoich pracach [22, 23]. W wyniku dyskusji J.I. Seemana z J.B. Paine III [24] rozgraniczono dwa terminy – *izotopolog* (skrót określenia *izotopowy analog*) i *izotopomer* (skrót określenia *izotopowy izomer*). Zgodnie z propozycjami Paine'a III zalecenia nomenklaturowe IUPAC określają:

- izotopolog – cząstka molekularna różniąca się tylko składem izotopowym (liczbą podstawień izotopowych), np. CH₄, CH₃D, CH₂D₂ [25],
- izotopomer – izomer posiadający taką samą liczbę każdego z atomów izotopowych, lecz różniących się ich położeniem [25, 25a]. Izotopomerami mogą być zarówno izomery strukturalne (np. CH₂DCH=O i CH₃CD=O) lub stereoizomery izotopowe [np. (R)- i (S)- CH₃CHDOH lub (Z)- i (E)-z CH₃CH=CHD] [26].

Symbol		liczba izotopów		układ graficzny izotopów pierwiastka		szerokość izotopowa		masa głównego izotopu	
H	1	1	1						
Li	2	7	1						
Na	1	23	3						
K	3	39	9						
Rb	2	85	5						
Cs	1	133	9						
Fr	1	223	3						
Be	1	9	1						
Mg	1	24	3						
Ca	6	40	9						
Sr	4	88	5						
Zr	5	90	7						
Hf	6	113	9						
Ta	1	181	7						
Nb	1	93	1						
Mo	7	98	5						
Tc									
Ru	7	101	5						
Rh	1	103	1						
Pd	6	106	3						
Ag	2	107	1						
Cd	8	114	3						
In	2	115	13						
Sn	10	120	3						
Sb	2	121	11						
Te	8	130	1						
Po									
At									
Bi	4	208	1						
Pb	2	209	5						
Tl	2	205	3						
Pu									
Am									
Cm									
Bk									
Cf									
Es									
Fm									
Mn	4	55	1						
Fe	4	56	1						
Co	1	59	1						
Ni	5	63	3						
Cu	2	65	2						
Zn	5	68	7						
Ga	2	69	3						
Ge	5	74	7						
As	1	75	1						
Se	6	79	3						
Br	2	80	9						
Kr	6	84	1						
Xe	9	132	1						
Ra	4	138	2						
Ac									
Th	4	140	7						
Pa	1	141	1						
U	7	142	9						
Np	1	144	1						
Pm	1	147	1						
Sm	7	152	11						
Eu	2	153	3						
Gd	7	158	9						
Tb	1	159	1						
Dy	7	164	9						
Ho	1	165	1						
Er	6	166	9						
Tm	1	169	1						
Yb	7	174	2						
Lu	2	175	2						

Sporządzono na podstawie
 WWW Chart of the Nuclides 2004 – Rosman K.J.R., Taylor P.D.P.,
 Pure Appl. Chem. 2005, 70(1), 217-235.
www.ndc.jaea.jp/CN03/index.html

Organizacja pola pierwiastkowego

2.2. Izotopologi

Zgodnie z podaną definicją [25] związkiem macierzystym szeregu izotopologów jest połączenie odpowiednich liczb dominujących izotopów pierwiastków tworzących dany związek chemiczny. Izotopologi różnią się od siebie liczbą atomów izotopu i rodzajem izotopu, a różnica może wynikać zarówno z obecności izotopów różnych pierwiastków, jak i występowania różnych izotopów tego samego pierwiastka.

dla CH_4

{ CH_4 , CH_3D , CH_2D_2 , CHD_3 , CD_4 i $^{13}\text{CH}_4$, $^{13}\text{CH}_3\text{D}$, $^{13}\text{CH}_2\text{D}_2$, $^{13}\text{CHD}_3$, $^{13}\text{CD}_4$ }
--

lub dla CH_3NH_2

{ CH_3NH_2 , CH_2DNH_2 , CHD_2NH_2 , CD_3NH_2 ; CH_3NHD , CH_2DNHD , CHD_2NHD , CD_3NHD ; CH_3ND_2 , CH_2DND_2 , CHD_2ND_2 , CD_3ND_2 ; $\text{CH}_3^{15}\text{NH}_2$, $\text{CH}_2\text{D}^{15}\text{NH}_2$, $\text{CHD}_2^{15}\text{NH}_2$, $\text{CD}_3^{15}\text{NH}_2$; $\text{CH}_3^{15}\text{NHD}$, $\text{CH}_2\text{D}^{15}\text{NHD}$, $\text{CHD}_2^{15}\text{NHD}$, $\text{CD}_3^{15}\text{NHD}$; $\text{CH}_3^{15}\text{ND}_2$, $\text{CH}_2\text{D}^{15}\text{ND}_2$, $\text{CHD}_2^{15}\text{ND}_2$, $\text{CD}_3^{15}\text{ND}_2$; $^{13}\text{CH}_3\text{NH}_2$, $^{13}\text{CH}_2\text{DNH}_2$, $^{13}\text{CHD}_2\text{NH}_2$, $^{13}\text{CD}_3\text{NH}_2$; $^{13}\text{CH}_3\text{NHD}$, $^{13}\text{CH}_2\text{DNHD}$, $^{13}\text{CHD}_2\text{NHD}$, $^{13}\text{CD}_3\text{NHD}$; $^{13}\text{CH}_3\text{ND}_2$, $^{13}\text{CH}_2\text{DND}_2$, $^{13}\text{CHD}_2\text{ND}_2$, $^{13}\text{CD}_3\text{ND}_2$; $^{13}\text{CH}_3^{15}\text{NH}_2$, $^{13}\text{CH}_2\text{D}^{15}\text{NH}_2$, $^{13}\text{CHD}_2^{15}\text{NH}_2$, $^{13}\text{CD}_3^{15}\text{NH}_2$; $^{13}\text{CH}_3^{15}\text{NHD}$, $^{13}\text{CH}_2\text{D}^{15}\text{NHD}$, $^{13}\text{CHD}_2^{15}\text{NHD}$, $^{13}\text{CD}_3^{15}\text{NHD}$; $^{13}\text{CH}_3^{15}\text{ND}_2$, $^{13}\text{CH}_2\text{D}^{15}\text{ND}_2$, $^{13}\text{CHD}_2^{15}\text{ND}_2$, $^{13}\text{CD}_3^{15}\text{ND}_2$ }

Jak ilustrują przedstawione przykłady termin *izotopolog* właściwie dotyczy „pokrewieństwa izotopowego”, tzn. przynależności do pewnego zbioru związków (w przykładach zbioru CH_4 , czy zbioru CH_3NH_2). Fraza *-log* oprócz zamierzonego powiązania ze słowem *analog* kojarzyć się może także z określeniem *homolog*, co jest zapewne przyczyną, dla której wydaje się, że termin *izotopolog* jest w chwili obecnej używany dość rzadko, a w podstawowym zbiorze terminów spektrometrii mas Sparkmana [20a] słowo to nie występuje. Dał temu wyraz Ben-Li Zhang na II Międzynarodowym Sympozjum Izotopomerów (ISI-2003, Stresa, Włochy) [27]. Pierwotna nazwa *izotopolog* [25] obecnie jest zastępowana stopniowo terminem *izotopomer masy*.

2.3. Izotopomery

Zgodnie z pierwotną definicją [25a] *izotopomery* są związkami o takim samym składzie zarówno pierwiastkowym, jak i izotopowym. Konsekwencją jest taka sama masa wszystkich izotopomerów należących do jednej grupy. Określenie to w ostatnim czasie przeszło istotną transformację. Rozwój proteomiki [28], a zwłaszcza prace grupy Hellersteina [29–31] doprowadziły do modyfikacji definicji polegającej na rozszerzeniu pojęcia *izotopomer* na związki z atomami znaczonymi (isotopically enriched analogs [20b]). Prawdziwy prze-

wrót nastąpił po zaprezentowaniu pracy Zhanga⁶ – What is ‘isotopomer’ [27], w której zaproponował on wycofanie określenia *izotopolog*, a w miejsce tego stosowanie terminu *izotopomer* w bardziej uniwersalnym znaczeniu. Zgodnie z tym izotopomerami są związki o takiej samej strukturze i konfiguracji, lecz różniące się podstawieniem izotopami. Różnice te mogą dotyczyć:

- pierwiastków zastąpionych izotopami,
- izotopów występujących w cząsteczce,
- liczby atomów izotopów,
- położenia (miejsca) podstawienia.

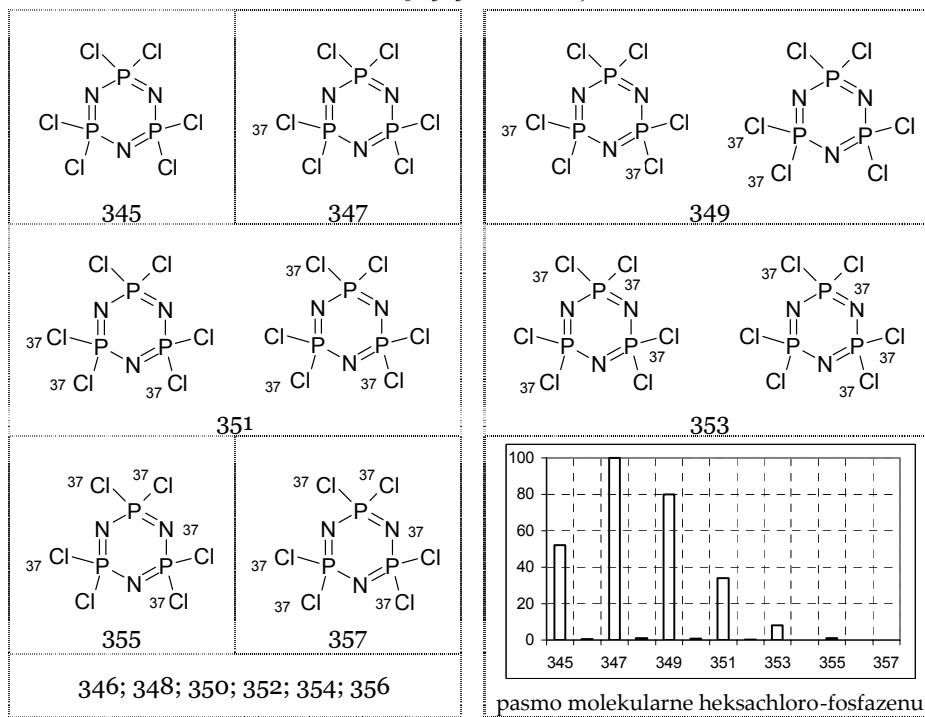
Pomimo tak istotnych zmian w stosowanej terminologii treść zaleceń IUPAC pozostała niezmienniona [25, 25a]. American Society of Mass Spectrometry proponuje stosowanie definicji opisanych przez Sparkmana [20a], wykorzystywanych także w badaniach biopolimerów [32] i mechanizmów reakcji metabolicznych [30]. Definicja Zhanga jest niewątpliwie najlepszą do stosowania

w badaniach związków metaloorganicznych i koordynacyjnych z racji występowania w nich wielu pierwiastków poliiizotopowych [33]. Definicja taka jest użyteczna dla związków wzbogaconych izotopowo, niezależnie czy proces dotyczy izotopów naturalnych, czy też sztucznych.

W przypadku związków naturalnych, zawierających pierwiastki poliiizotopowe, skład substancji może być bardzo złożony, a występujące izotopomery i izotopologi (IUPAC) są ze sobą powiązane poprzez związek macierzysty, utworzony z dominujących izotopów naturalnych pierwiastków zawartych w cząsteczce.

Fakt ten można zilustrować na przykładzie heksachloro-fosfazenu $\text{Cl}_6\text{N}_3\text{P}_3$. Związek ten składa się ze składników o masach cząsteczkowych pomiędzy 345 a 356 u. Głównymi składnikami mieszaniny fosfazenów są związki o masach 345, 347, 349, 351 i 353 u. Nieparzyste wartości m/z wynikają z obecności 3 atomów azotu w cząsteczce (reguła azotu [10, 20c]). Nieznaczna zawartość (ok. 1%) izotopomerów o parzystych masach molowych jest skutkiem występowania trwałego izotopu azotu ^{15}N . Obecność w cząsteczce chloru, który należy do grupy pierwiastków $X + 2$ [20d], powoduje przemienność intensywności sygnałów, co jest wyróżnikiem tej obecności. Główne składniki mieszaniny różniące się między sobą masami cząsteczkowymi powodują powstanie klasteru molekularnego. Intensywność pojedynczego sygnału pasma jest miernikiem sumarycznej ilości jonów o zdefiniowanej wartości m/z , niezależnie od ich składu izotopowego.

⁶ Tekst angielskiego zapisu podstawowych tez pracy Zhanga znajduje się w Uzupełnieniu

Schemat 2.1. Heksachlorofosfazen $\text{Cl}_6\text{N}_3\text{P}_3$ MW: 345, CAS#: 940-71-6

W toku syntezy otrzymuje się niekiedy bardzo złożoną mieszaninę produktów (izotopomerów). Składniki mieszaniny nie wykazują zwykle istotnych różnic właściwości chemicznych i z uwagi na ich zbliżone właściwości fizyczne często mieszanina taka jest traktowana jako substancja jednorodna. Otrzymanie czystego izotopowo związku w przypadku występowania w cząsteczce kilku atomów pierwiastków poliizotopowych jest niezwykle trudne i kosztowne (o ile w ogóle wykonalne). Spektrometria mas jest metodą, za pomocą której można udowodnić izotopomerową złożoność związku.

Szczegółowa analiza następstw występowania izotopów w spektrometrii mas związków koordynacyjnych i metaloorganicznych wskazuje na konieczność zrewidowania dotychczasowej zalecanej definicji izotopomeru, ponieważ słabo określa ona przypadki występowania pierwiastków w kilku izotopach o zbliżonej częstości rozpowszechnienia. W przypadku niskocząsteczkowych związków organicznych rzadko występują izotopy inne niż dominanty. Złożony skład izotopowy w związkach metaloorganicznych i kompleksowych jest niemal regułą [34]. Rozwój chemii polimerów [11] i chemii supramolekularnej [35] również wywołuje konieczność uwzględniania następstw złożoności składów izotopowych związków. Z powyższych powodów zasadność koncepcji Zhanga wydaje się być niewątpliwą i dlatego w niniejszym opracowaniu stosowano termin *izotopomer* w myśl jego propozycji [27]. Bieżące publikacje wskazują na rzeczywiste stosowanie propozycji Zhanga, tj. zmniejszoną stosował-

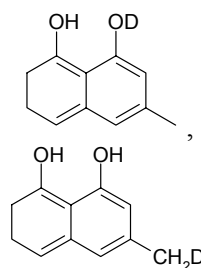
ność określenia *izotopolog* i nadanie terminowi *izotopomer* znaczenia ogólnego, choć jak dotąd definicje podane przez IUPAC nie zostały zmienione. Wydaje się, że stosowne zmiany nomenklaturowe są chyba kwestią czasu.

2.4. Rodzaje izotopomerów

Problem szczegółowego określenia związków zaliczanych do grupy izotopomerów i podziału izotopomerów na rodzaje jest jeszcze otwarty. Terminologia tych związków powinna uwzględniać występowanie w cząsteczce jednego lub wielu pierwiastków poliizotopowych, jednego lub wielu atomów tych pierwiastków i ich rozłożenie w strukturze uwzględniające wszystkie teoretyczne możliwości. Powszechnie stosowana, choć nieformalna definicja określa, że izotopomery są substancjami, które charakteryzują się takim samym składem pierwiastkowym i taką samą budową strukturalną. Różnice tkwią zarówno w składzie, jak i układzie izotopowym związku. Poniżej przedstawiono przykłady izotopomerów wraz z proponowanym słownictwem w celu wykazania istoty problemu. Opis ten nie jest kompletnym, ponieważ nie to jest celem tego opracowania. Biorąc pod uwagę cechy istotne w spektrometrii mas można izotopomery podzielić na kilka sposobów, zależnie od ocenianej właściwości. Podział wg Zhanga obejmuje [27]:

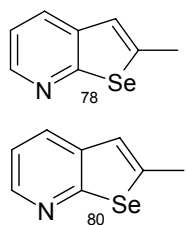
a) różnice mas cząsteczkowych izotopomerów i umiejscowienia izotopu w cząsteczkach:

izotopomery położenia
(monomasowe)



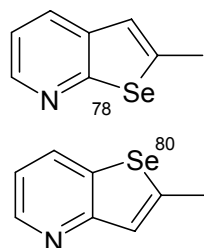
Są to związki chemiczne o stałym składzie izotopowym [25a] różniące się od siebie położeniem określonego izotopu pierwiastka w cząsteczce. Obecności izotopomerów położenia nie daje się bezpośrednio zaobserwować ani w widmach niskiej, ani wysokiej rozdzielczości, mają jedynie wpływ na intensywności sygnałów. Fakt ich występowania można jednak przewidzieć na podstawie struktury związku i abundancji naturalnej występujących w nim pierwiastków.

izotopomery masy
(polimasowe)



Są to związki chemiczne mające taką samą masę nominalną [20e], lecz różniące się od siebie wyłącznie składem izotopowym tworzących je pierwiastków przy stałej lokalizacji izotopów w cząsteczce. Obecność izotopomerów masy obserwuje się zarówno w widmach niskiej, jak i wysokiej rozdzielczości. Wszystkie są wyodrębniane w widmie masowym wysokiej rozdzielczości, a w widmie niskiej rozdzielczości jedynie dominujące intensywnością.

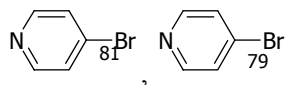
izotopomery położenia i masy (polimasowe)



Są to związki o tej samej budowie, jednakowej masie nominalnej i tej samej lub nieco różnej masie monoizotopowej [20e], różnym składzie izotopowym, a także różnym położeniu atomów izotopowych. Występują w przypadku związków metaloorganicznych i koordynacyjnych oraz innych o bardzo złożonym składzie izotopowym. W widmie obserwowane jedynie jako izotopomery masy. Obecność izotopomerów położenia i masy można zaobserwować w widmach wysokiej rozdzielczości. Stosowana dokładność określania położenia pików pozwala na rozróżnienie blisko położonych sygnałów. Możliwość taka pozostaje jedynie teoretyczną, ponieważ zwykle dokładne badania ogranicza się do jednego, wybranego z pasma sygnału.

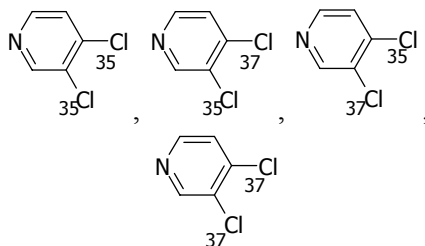
b) różnice liczby pierwiastków poliizotopowych występujących w cząsteczce związku i różnice liczby atomów tych pierwiastków

Monoizotopomery



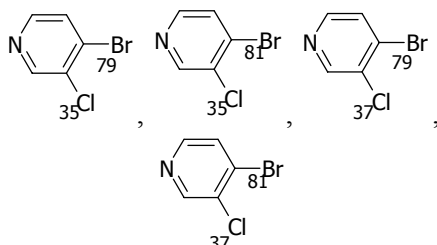
Są to izotopomery zawierające jeden atom pierwiastka o zróżnicowanym składzie izotopowym.

Homoizotopomery = Poliizotopomery



Związki te stanowią izotopomery zawierające kilka atomów pierwiastka o zróżnicowanym składzie izotopowym.

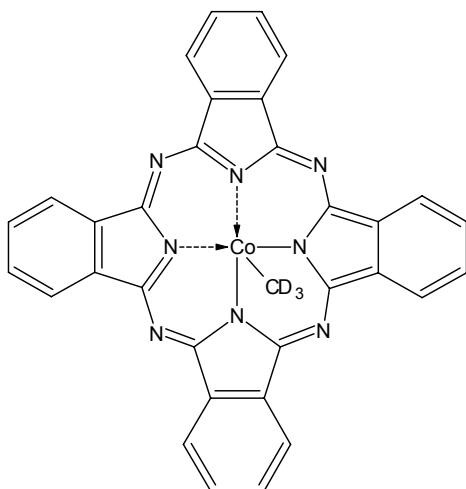
Heteroizotopomery



Są to izotopomery zawierające więcej niż jeden pierwiastek o zróżnicowanym składzie izotopowym.

c) różnice wywodzące się z genezy substancji (grupa nie uwzględniona przez Zhanga):

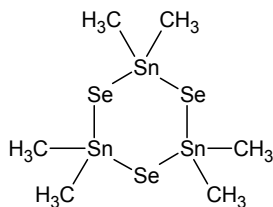
izotopomery sztuczne



trideuterometylo-ftalocyjanina-kobaltu(III)

Są to związki do celów specjalnych, syntetyczne, zwykle wzbogacane izotopowo, niekiedy zawierające izotopy promieniotwórcze. W tej grupie występują przeważnie tylko niektóre z możliwych izotopomerów. Można przewidzieć skład izotopowy na podstawie mechanizmów reakcji. Skład ten jest niezgodny z naturalnymi zawartościami izotopów.

izotopomery naturalne



niska rozdzielczość – 36 związków [36]

wysoka rozdzielczość - ponad 6600 związków

2,2,4,4,6,6-heksametylo-1,3,5-triseleno-
2,4,6- -tristannacykloheksan

Są to związki naturalne zawierające trwałe izotopy. Skład izotopowy można przewidzieć na podstawie zawartości naturalnych, trwałych izotopów. Wśród tych związków mogą występować wszystkie formy izotopomerów.

W przypadku wzbogaconych związków o złożonym składzie izotopowym efekty wzbogacenia nakładają się na skład izotopomerowy wynikający z naturalnego rozkładu izotopów.

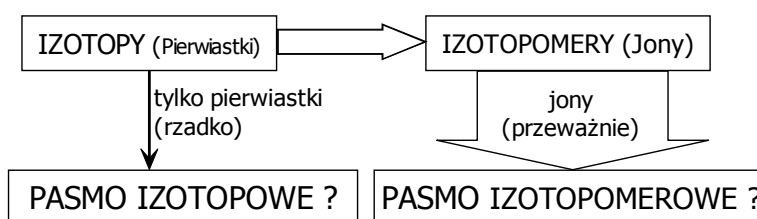
Szeroki zasięg wpływu występowania izotopów naturalnych na budowę związków i zjawiska istnienia izotopomerów zostanie zapewne wykorzystany w kompleksowych badaniach strukturalnych. Różnice właściwości izotopomerów dotyczące ich masy, właściwości magnetycznych czy bezwładności mogą być źródłem istotnych informacji badawczych.

Praca niniejsza jest poświęcona wyłącznie wpływowi obecności izotopomerów na widmo masowe i jego interpretację.

2.5. Molekularne pasmo izotopomerowe

Złożoność pasm jonów molekularnych w widmach masowych jest powszechnie znana i przypisywana istnieniu izotopów. Dowodem tego może być termin „*pasmo izotopowe*” (Isotopic Pattern, Isotopic Cluster) zalecany do stosowania przez IUPAC [37]. Wydaje się jednak, że obserwowane w widmie masowym zespoły sygnałów winny być raczej nazywane „*pasdami izotopomerowymi*”. Termin „*izotop*” odnosi się do pierwiastków chemicznych, a zatem określenie „*pasmo izotopowe*” dotyczyć powinno wyłącznie pierwiastków, które są dość rzadko badane za pomocą spektrometrii mas.

Schemat 2.2. Izotopy a izotopomery [47]



Akceptacja tego terminu (Isotopomeric Pattern) w wydanej niedawno encyklopedii spektrometrii mas [38] pozwala przypuszczać, że określenie „*pasmo izotopomerowe*” lub „*klaster izotopomerowy*” stopniowo przyjmie się w literaturze.

Terminy „*isotopomer*” i „*isotopomeric cluster*” są stosowane w badaniach procesów fizjologicznych [39], kosmochemii [40], chemii atmosfery [41], badaniach reakcji deuterowania [42] i znaczenia izotopami promieniotwórczymi [43] (NMR). Zastanawiającym jest, że określenia te dość rzadko występują w pracach dotyczących spektrometrii mas. Dopiero w 2001 roku w ramach III konferencji Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej (IAEA) poświęconej wpływowi zastosowania technik izotopowych na środowisko (Wiedeń, 23÷27. 04. 2001) odbyło się pierwsze mikrosymposium dotyczące izotopomerów i problemów związanych z ich badaniem. Zgłoszony do prezentacji bogaty materiał badawczy przekroczył założenia organizatorów, co spowodowało, że w lipcu jeszcze tegoż roku japońska Korporacja Nauki i Technologii (JST) zor-

ganizowała pierwsze międzynarodowe sympozjum izotopomerów (ISI-2001, Jokohama, 24÷27.07.2001). Dotyczyło ono:

- metodologii oznaczania izotopomerów (głównie związków organicznych, deuterowanych lub wzbogaconych izotopowo) za pomocą spektrometrii mas, analizy przepływowej, FT-IR, specjalnych technik NMR,
- syntezy i wydzielania izotopomerów organicznych jako materiału do standaryzacji i kalibracji,
- obserwacji zmian zawartości izotopomerów w atmosferze, oceanach, środowisku lądowym i biosferze,
- rozważań teoretycznych i symulowanych doświadczeń dotyczących równowag izotopomerowych oraz efektów kinetycznych w istotnych procesach i mechanizmach.

II Międzynarodowe Sympozjum Izotopomerów, ISI-2003, odbyło się w listopadzie 2003 roku w Stresa we Włoszech. Zaprezentowano na nim ocenę rzeczywistej stosowalności terminologii związanej z izotopomerami i zaproponowano nową definicję pojęcia *izotopomer* [27]. Trzecią konferencję z tej dziedziny zorganizował Uniwersytet San Diego i odbyła się ona w La Jolla w Kalifornii w dniach 27÷31 sierpnia 2006 [44]. Pomimo tego w pracach z zakresu spektrometrii mas pojęcia *izotopomer* używa się niezbyt często i nadal jego główne zastosowania literaturowe dotyczą gazów [45, 46], biopolimerów [47] i badań metabolizmu [48].

Prawie wszystkie widma masowe zarejestrowane w bazach dotyczą typowych związków chemicznych, a obserwowana złożona struktura klasterów wynika z obecności izotopomerów związków. Układ izotopów pierwiastków poliizotopowych (PIE) tworzących jon ma istotny wpływ na kształt pasma – większy niż „organiczna” część cząsteczki związku:

$$\text{Klaster} = \text{PIE}_x + \text{Org}_x \quad [38]$$

Z racji szczególnie dużej zawartości izotopów dominujących pasmo części organicznej związku jest relatywnie ubogie. Obecność pierwiastków $X + 2$ powoduje charakterystyczny, grzebieniowy kształt klastera, w którym sygnały o dużej intensywności przeplatają się z małymi pikami. Obecność pierwiastka poliizotopowego w cząsteczce niejednokrotnie jest zauważalna w pasmach wszystkich jonów, także fragmentacyjnych, w których pierwiastek występuje. Zjawisko takie ma miejsce, gdy część organiczna związku (podstawniki czy ligandy) jest niezbyt rozbudowana i jej wpływ na sumaryczny obraz pasma jest niewielki. Szerszy opis znajduje się w dalszych częściach pracy.

Izotopomerowy charakter pasma jonów masowych wymaga pewnych dodatkowych parametrów opisujących rozkład sygnałów w klasterze. Proponuje się użyć wielkości określającej szerokość pasma i położenie głównego sygnału pasma.

2.6. Szerokość izotopomerowa pasma⁷ (WIC) [49]

Pasmo izotopomerowe widma masowego jest charakteryzowane przez rozkład zespołu cech izotopowych (intensywności pików i położenia pików). Precyzyjny opis klastru, oprócz wymienionych parametrów wymaga dodatkowo znajomości zakresu wartości m/z , tzn. różnicy położenia skrajnych pików pasma, co stanowi szerokość pasma izotopowego WIC_i (WIC – Width of the Isotopomeric Cluster) [38] określoną zależnością:

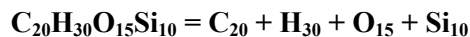
$$WIC_i = m_{max} - m_{min} + 1 \quad (2.1)$$

gdzie m_{max} i m_{min} oznaczają odpowiednio położenie pierwszego (najlżejszego) i ostatniego (najcięższego) sygnałów klastru. Wartość ta odpowiada teoretycznej liczbie izotopomerów masy tworzących pasmo, określonych tym samym wzorem sumarycznym, lecz różniących się między sobą składem izotopowym.

Szerokość izotopomerowa pasma (WIC) ma wpływ zasadniczy na sposób upraszczania widma masowego metodą analizy profilu pasma [49], prowadzącego do selekcji sygnałów najistotniejszych w interpretacji widma i w określaniu dróg fragmentacji związków. Parametr WIC jest raczej mało istotny w interpretacji związków organicznych (zawierających C, H, N*, O*, S*, Si*, P*, F* i I*), ponieważ związki te i pochodzące od nich jony fragmentacyjne charakteryzują się zwykle niewielką szerokością pasma $WIC_i \leq 3$. Wartość ta wzrasta dla związków polimerycznych. Obecność w cząsteczce atomów pierwiastków poliizotopowych często powoduje istotny wzrost wartości parametru WIC, ponieważ szerokość izotopowa pasma pierwiastków multiizotopowych mieści się w zakresie od 2 dla boru do 13 dla cyny.

Widma masowe związków metaloorganicznych i kompleksów zasadniczo różnią się od widm związków organicznych. Obecność ciężkiego heteroatomu (zwykle metalu), a zwłaszcza skład izotopowy tego pierwiastka jest powodem wyraźnie zaakcentowanej złożoności widma. W takim przypadku rośnie liczba pików izotopomerowych w widmie. Spośród 74 pierwiastków chemicznych rzadko występujących w typowych związkach organicznych około 40 występuje w postaci 3 i więcej izotopów [1a]. Dla przykładu Dy, Gd, Hg, Mo, Nd, Ru, Sm, Sn, Te, Xe i Yb mają 7 lub więcej izotopów naturalnych [1a]. Zjawisko to w połączeniu z obecnością ligandów lub podstawników o strukturach alifatycznych owocuje szczególnie złożonością widm masowych obserwowaną w przypadku związków koordynacyjnych i metaloorganicznych.

Jeśli przyjąć, że związek chemiczny składa się z agregatów monopierwiastkowych, to np.



W takim przypadku dla jonu masowego można wyznaczyć teoretyczną wartość parametru WIC_Z korzystając ze wzoru [38]:

⁷ Width of Isotopomeric Cluster

* i/lub.

$$WIC_{\Sigma} = \sum_{i=1}^m [k_i(WIC_i - 1) + 1] - m \quad (2.2)$$

w którym k_i oznacza liczbę atomów w agregacie monopierwiastkowym, a WIC_i szerokość izotopową pasma pierwiastka tworzącego ten agregat.

Prognozowanie szerokości izotopowej pasma jest trudne, ponieważ wartość doświadczalna WIC jest zwykle mniejsza niż ta wyznaczona teoretycznie. Zgodność wartości przewidywanych i eksperymentalnych obserwuje się jedynie dla prostych związków, jak np. acetyloacetoniany, oceny, czy proste pochodne alkilowe. Doświadczalna szerokość izotopowa pasma zależy od trzech zasadniczych cech:

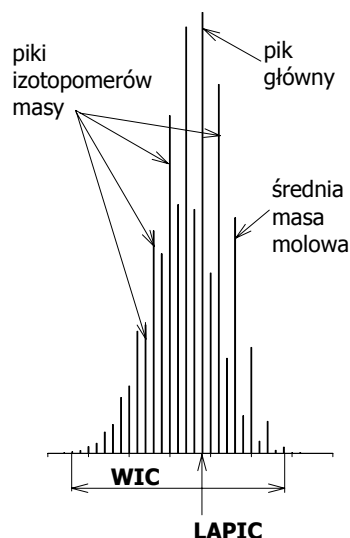
- a) ogólnej intensywności pasma; niska intensywność pasma izotopowego prowadzi do zaniku słabych pików izotopowych, co może powodować, że nie wszystkie pozycje w paśmie położone pomiędzy minimum i maksimum muszą być obsadzone. Brak sygnału może także być spowodowany brakiem odpowiedniego izotopu naturalnego pierwiastka.
- b) stopnia fragmentacji; wartość WIC_i pasm jonów fragmentacyjnych jest na ogół mniejsza od szerokości pasma jonu molekularnego z powodu istotnych różnic w składzie pierwiastkowym.
- c) składu izotopowego pierwiastków tworzących jon; wartość WIC związków metaloorganicznych czy koordynacyjnych zależy od obecności atomu/mów pierwiastka multiizotopowego w cząsteczce, ponieważ każda zwiększa szerokość izotopową pasma, a często wywiera istotny wpływ na kształt pasma.

Jak powszechnie przyjmuje się w spektrometrii mas, piki o intensywnościach $I < 1\%$ uważa się za nieużyteczne do interpretacji [20b]. Pomimo tego, że dla prostego związku można wyznaczyć liczbę indywidualnych kombinacji izotopowych, to jednak na tej podstawie nie daje się przewidzieć rzeczywistej szerokości izotopowej pasma [38]. Najlepsze wyniki uzyskuje się ze wzoru (2.2), jeśli m_{max} i m_{min} określa piki o intensywności względnej $I > 1\%$. Dokładna wartość szerokości izotopowej pasma związku lub jonu może być wyznaczona podczas modelowania pasma.

Parametr WIC jest istotny, zwłaszcza w przypadku bardzo złożonych widm masowych o pasmach zaburzonych przez nałożenie się pasm sąsiednich. Pasm takich nie można interpretować bez stosowania programów wspomagających. Wartość WIC może także być pomocna w wyborze hipotezy przypisania pasma konkretnemu jonowi, jeśli istnieje kilka potencjalnych możliwości. Parametr szerokości pasma pozwala również dokonywać selekcji najistotniejszych sygnałów z widma, przeznaczonych do dalszej interpretacji [31]. Szerokość izotopowa pasma i intensywności pików izotopowych wchodzących w jego skład stanowią istotne parametry obrazu pasma.

2.7. Położenie sygnału głównego pasma izotopomerowego⁸ (LAPIC) [51]

Położenie głównego pików pasma izotopomerowego – LAPIC (Location of the most Abundant Peak of Isotopic Cluster) – oznacza położenie m/z sygnału o największej intensywności w rozpatrywanym paśmie “centroidalnym” aglomeratu [51].



Rys. 2.2. Typowy kształt pasma izotopomerowego z oznaczeniami jego zasadniczych parametrów

Wyznaczenie wartości tego parametru wykorzystujące sposoby obliczania masy molowej oparte na nominalnych lub średnich masach atomowych zawodzi całkowicie. Przedstawiony problem jest o tyle ważny, że najczęściej położenie głównego sygnału pasma stanowi podstawę hipotezy o masie analizowanego jonu. Poprawność takiego założenia warunkuje prawidłowość dokonanej interpretacji. Liczbę atomów pierwiastków kompletuje się do uzyskania równości przypuszczalnej masy jonu i położenia najsilniejszego sygnału klastru [51]. Zauważone rozbieżności kompensuje się zwykle poprzez odpowiednią zmianę liczby atomów wodoru występujących we wzorze jonu. Takie postępowanie prowadzi niekiedy do błędów w prognozowaniu wzorów strukturalnych (w rozłożeniu atomów i wiązań), a w konsekwencji poważnie komplikuje interpretację widma.

Lokalizacja głównego pików teoretycznego pasma izotopomerowego może być wyznaczona opierając się na abundancjach naturalnych izotopów pierwiastków i składzie elementarnym jonu, lecz wymaga wymodelowania całego klastru. Obliczenia oparto na zalecanych przez IUPAC wartościach rozpowszechnienia naturalnych izotopów pierwiastków [52] i ostatniej ich aktualizacji [26]. Pasma centroidalne (rys. 2.2) [53, 54] wyznacza się stosując metodę multiizo-

⁸ Location of the most Abundant Peak of Isotopic Cluster

topowego modelowania pasma izotopomerowego MMIP (Multiisotopic Modeling of Isotopomeric Pattern [55, 56]), opisaną w rozdziale 5.

Położenie pików głównego wyliczonego klastra odpowiedniego aglomeratu (jonu) złożonego z k sygnałów przedstawia się jako: $LAPIC = (m_i/z)$, gdy $P_i = \max$ w zakresie $i = 1 - k$.

Położenie pików głównego wyliczonego pasma odpowiedniego aglomeratu przedstawia się jako wartość $LAPIC$ w m/z : $LAPIC = (m_i/z)$, gdy $P_i = \max$ w zakresie $i = 1 \div k$.

Zmienność parametru lepiej przedstawia graficznie forma pochodnej:

$$\Delta LAPIC = f(n), \text{ przy czym } \Delta LAPIC = \frac{d(LAPIC)}{dn} \quad (2.3)$$

lub prościej:
$$\Delta LAPIC = LAPIC_{(n)} - LAPIC_{(n-1)} \quad (2.4)$$

2.8. Izotopomeria – konsekwencja izotopomerowej koncepcji związków⁹

Uznanie izotopu pierwiastka za odrębny podstawnik (lub powodujący różnicowanie podstawników) prowadzi do rozszerzenia pojęcia izomerii o „izotopomerię = izomerię izotopową” jako logicznej konsekwencji takiego założenia. Izotopomeria jest skutkiem występowania naturalnych lub sztucznych izotopów pierwiastków w związkach chemicznych zarówno syntetycznych, jak i naturalnych, i stanowi zjawisko zbliżone do izomerii. Fakt istnienia takiej „równoległej izomerii” wiąże się z daleko idącymi zmianami w nomenklaturze związków chemicznych.

Powstawanie izomerów jest procesem zwykle określonym warunkami reakcji, jej mechanizmem, rodzajem reagentów. Właściwości izomerów są zwykle podobne, lecz przeważnie można je izolować stosując fizyczne metody rozdzielania. Istnieją także reguły pozwalające na kontrolowanie procesu tworzenia izomerów.

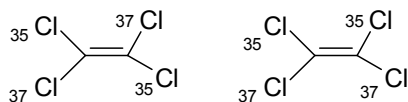
Wydaje się, że w przypadku izotopomerii sposoby te zawodzą. Rozkład izotopomerów naturalnych jest procesem stochastycznym, całkowicie niesterowalnym, podporządkowanym jedynie regułom rachunku prawdopodobieństwa [36]. Rozdział izotopomerów jest niezwykle utrudniony ze względów technicznych, o ile w ogóle możliwy, a we większości przypadków na pewno nieopłacalny ekonomicznie. Przykładem mogą być wysokie koszty technologii separacji ciężkiej wody D₂O od H₂O – izotopomerów różniących się masami aż o 11%. Tylko w tym przypadku różnica mas składników izotopomerowych jest tak duża. Rozdział na składniki próbek wzbogacanych izotopowo również wymaga stosowania szczególnych technik separacji.

Wszystkie typy izomerii mogą mieć swe odpowiedniki izotopomeryczne [36]. Oprócz podziału izotopomerów ze względu na rodzaje, liczbę i lokalizację

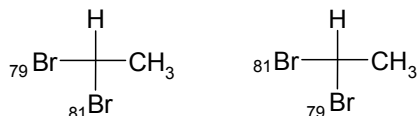
⁹ Treść tego podrozdziału jest osobistą prognozą autora, opartą na dotychczasowych obserwacjach.

w cząsteczce atomów izotopów, traktowanie izotopu jako podstawnika (lub grupy funkcyjnej) powoduje zasadność wyodrębnienia rodzajów związków różniących się położeniem izotopu wobec podwójnego wiązania, a także obecnością „izotopomerowych” atomów asymetrycznych:

Izotopomery cis–trans



Izotopomery optyczne



Fakt występowania izomerów izotopowych w postaci szkieletowej, geometrycznej, strukturalnej, cis-trans, a nawet w formie enancjomerów wskazuje na szeroki zasięg wpływu występowania izotopów naturalnych na budowę związków. Wydaje się, że istotna ranga zjawiska istnienia izotopomerów będzie przyczyną przyszłych kompleksowych badań instrumentalnych. Analogia następstw obecności izotopów do zjawiska izomerii wydaje się być dość oczywista, a jednak dotąd nie zaproponowano dla tego zjawiska żadnej nazwy. Można jednak przypuszczać, że zjawisko izotopomerii szybko doczeka się właściwych, szczegółowych opracowań teoretycznych.

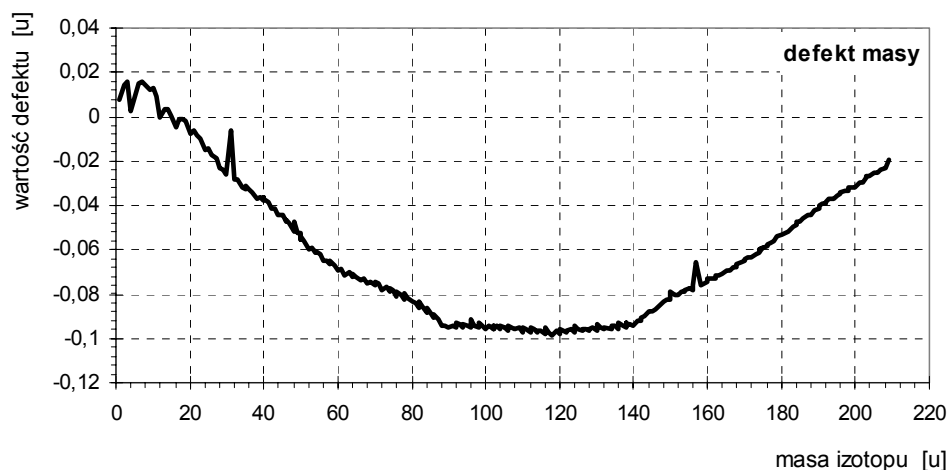
Fakt istnienia izotopomerów wprowadza istotne zmiany do interpretacji wyników analizy instrumentalnej. Świadomość, że każdy niemal analit (zawierający w swoim składzie pierwiastek poliizotopowy) nie jest substancją czystą, a obserwowane efekty są wynikami uśrednionymi dla mieszaniny izotopomerów może zmienić sposoby interpretacji. Szczególny postęp może być dokonany w przypadku interpretacji widm masowych. Wykorzystanie w interpretacji faktu istnienia izotopomerów w istotnym stopniu zwiększa ilość informacji uzyskiwanej z widma masowego i może umożliwić np.:

- wyjaśnienie mechanizmu powstawania widma,
- weryfikację hipotez przyporządkowujących pasmo konkretnemu jonowi,
- ustalenie relacji pomiędzy widmami masowymi niskiej a wysokiej rozdzielczości,
- interpretacji pasm złożonych,
- sprawdzenie poprawności hipotezy fragmentacji związku.

Obecność izotopomerów jest łączona ze znaczną rozbudową klasterów obecnych w widmie masowym. W spektrometrii mas związków organicznych jest od dawna powszechnie zauważana, ale ma małe znaczenie, ponieważ szerokość pasm związków organicznych jest zwykle niewielka.

3. Izotopomery, a kształt pasma jonu w widmie mas

Fakt występowania pierwiastków poliizotopowych w postaci dwu lub więcej izotopów powoduje, że związek chemiczny nie stanowi jednorodnego tworzywa, lecz jest mieszaniną cząsteczek o jednakowej strukturze i jednakowym składzie elementarnym, lecz różniących się między sobą składem izotopowym. Występujące niejednokrotnie różnice mas molowych są wynikiem różnych ciężarów atomowych izotopów pierwiastków tworzących związek. Masy izotopów, choć najczęściej stosowane jako liczby całkowite, w wersji dokładnej [57] różnią się jednak od całości o wartość defektu masy [3b] (Uzupełnienie tab. 3.A). Defekt masy przyjmuje wartości ujemne (częściej) i dodatnie (rzadziej), zawierając się w zakresie od $-0,0984$ (^{118}Sn) do $+0,016$ (^3He , ^7Li), jak to przedstawiono na rysunku 3.1.



Rys. 3.1. Zależność wartości defektu masy od masy izotopu dla izotopów naturalnych [3c]

Wartość położenia wybranego sygnału w widmie masowym jest proporcjonalna do masy odpowiadającemu temu sygnałowi jonowi. Wyznaczając doświadczalnie wartość dokładną masy (do $0,0001$ u) wybranego jonu można ustalić jego skład pierwiastkowy, zwłaszcza w przypadku jonów wywodzących się ze związków organicznych. Zasada ta jest podstawą oznaczania dokładnej wartości masy jonu¹⁰ w spektrometrii mas [3d].

Uwzględniając fakt występowania substancji (i jonów) w postaci izotopomerów można wyznaczyć dokładne wartości położenia sygnałów w widmie masowym zarówno wysokiej, jak i niskiej rozdzielczości. Obliczenie położenia sygnału wysokiej rozdzielczości wymaga jedynie znajomości składu izotopowego związku (jonu) i dokładnych mas nuklidów, uwzględniających defekt masy. Masa izotopomeru

¹⁰ Accurate mass, nieprawidłowo nazywana wysoką rozdzielczością

zależy wyłącznie od obecności izotopów w cząsteczce związku (izotopomery masy). Lokalizacja izotopu nie ma wpływu na masę izotopomeru (izotopomery położenia). Sposób jonizacji próbki nie odgrywa istotnej roli. Co prawda najczęściej skatalogowanych widm masowych uzyskano dzięki jonizacji elektronami, ale stosując innych metod również obserwuje się te prawidłowości [58÷60].

Przyjmując, że dokładna masa m_e agregatu monopierwiastkowego ($Elem$)_n wynosi:

$$m_e = \sum_{i=1}^{n_e} k_{e,i} \cdot m_{e,i} \quad (3.1)$$

gdzie $k_{e,i}$ – liczba atomów izotopu, $m_{e,i}$ – dokładna masa izotopu, a n_e – liczba form izotopowych pierwiastka, to dokładna wartość położenia pików jest sumą wartości m_e dla wszystkich f pierwiastków tworzących związek, jak to określa wzór:

$$m_z = \sum_{e=1}^f \sum_{i=1}^{n_e} k_{e,i} \cdot m_{e,i} \quad (3.2)$$

Zakładając, że każdy rodzaj nuklidu będzie traktowany indywidualnie, zależność upraszcza się do postaci:

$$m_z = \sum_{i=1}^g n_i \cdot m_i \quad (3.3)$$

gdzie g – sumaryczna liczba nuklidów, n_i – liczba atomów konkretnego nuklidu, a m_i – masa nuklidu.

3.1. Struktura izotopomerowa klastrów w widmach masowych [38, 61]

Występowanie pierwiastków poliizotopowych, PIE (Poly-Isotopic Elements [33]) w cząsteczce związku powoduje powstanie klastrów złożonych z mniejszych grup pików (subklastrów¹¹). Prosty przykład takiego subklastru można przedstawić dla pirydyny (C₅H₅N). Sygnał A przedstawia izotopomer złożony wyłącznie z dominujących izotopów pierwiastków C₅H₅N. Pik A + 1 odpowiada jonom ¹³CC₄H₅N⁺, C₅H₅¹⁵N⁺ i C₅H₄DN⁺ i reprezentuje ich sumę. Sygnał A + 2 jest związany ze złożoną mieszaniną izotopomerów, ale obecność dwóch niedominujących izotopów znacznie zmniejsza intensywność tego sygnału. Subklaster jonu zawierającego kilka atomów pierwiastków poliizotopowych (PIE) może mieć bardzo złożony skład, ponieważ na jego postać mają wpływ izotopomery masy charakteryzujące się różnym składem izotopowym, lecz taką samą masą nominalną, np. C₆H₄³⁵Cl⁸¹Br i C₆H₄³⁷Cl⁷⁹Br. Z defektu masy wynikają pewne różnice mas obu tych jonów, lecz stwierdzić to można dopiero badając widmo wysokiej rozdzielczości [62].

¹¹ Subklaster, subpasmo – w widmie wysokiej rozdzielczości jest to wyraźnie oddzielona część widma zawierająca kilka sygnałów położonych w zakresie ±0,05 u.

Tabela 3.1. Teoretyczny skład izotopomerowy CH₂Cl₂ i wyliczone [55] intensywności pików pasma izotopomerowego

m/z [u]	Wzory Prawdopodobieństwo ($\sum P_i = 1$)			Intensywność względna [%]
84	$^{12}\text{C}^1\text{H}^1\text{H}^{35}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ 0,56765			100,00
85	$^{12}\text{C}^2\text{H}^1\text{H}^{35}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $8,516 \cdot 10^{-5}$	$^{13}\text{C}^1\text{H}^1\text{H}^{35}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $6,313 \cdot 10^{-3}$		1,14
	$^{12}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{35}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $8,516 \cdot 10^{-5}$			
86	$^{13}\text{C}^2\text{H}^1\text{H}^{35}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $9,471 \cdot 10^{-7}$	$^{12}\text{C}^1\text{H}^1\text{H}^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ 0,1815	$^{12}\text{C}^2\text{H}^2\text{H}^{35}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $1,278 \cdot 10^{-8}$	63,96
	$^{13}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{35}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $9,471 \cdot 10^{-7}$	$^{12}\text{C}^1\text{H}^1\text{H}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ 0,1815		
87	$^{12}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $2,723 \cdot 10^{-5}$	$^{13}\text{C}^1\text{H}^1\text{H}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $2,019 \cdot 10^{-3}$	$^{13}\text{C}^2\text{H}^2\text{H}^{35}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $1,421 \cdot 10^{-10}$	0,73
	$^{12}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $2,723 \cdot 10^{-5}$	$^{13}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $2,019 \cdot 10^{-3}$		
	$^{12}\text{C}^2\text{H}^1\text{H}^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $2,723 \cdot 10^{-5}$			
	$^{12}\text{C}^2\text{H}^1\text{H}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $2,723 \cdot 10^{-5}$			
88	$^{13}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $3,029 \cdot 10^{-7}$	$^{12}\text{C}^2\text{H}^2\text{H}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $4,085 \cdot 10^{-9}$	$^{12}\text{C}^1\text{H}^1\text{H}^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ 0,05805	10,23
	$^{13}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $3,029 \cdot 10^{-7}$	$^{12}\text{C}^2\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $4,085 \cdot 10^{-9}$		
	$^{13}\text{C}^2\text{H}^1\text{H}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $3,029 \cdot 10^{-7}$			
	$^{13}\text{C}^2\text{H}^1\text{H}^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $3,029 \cdot 10^{-7}$			
89	$^{13}\text{C}^2\text{H}^2\text{H}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $4,544 \cdot 10^{-11}$	$^{12}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $8,708 \cdot 10^{-6}$	$^{13}\text{C}^1\text{H}^1\text{H}^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $6,456 \cdot 10^{-4}$	0,12
	$^{13}\text{C}^2\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$ $4,544 \cdot 10^{-11}$	$^{12}\text{C}^2\text{H}^1\text{H}^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $8,708 \cdot 10^{-6}$		
90	$^{13}\text{C}^1\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $9,696 \cdot 10^{-8}$	$^{12}\text{C}^2\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $1,316 \cdot 10^{-9}$		$3,44 \cdot 10^{-5}$
	$^{13}\text{C}^2\text{H}^1\text{H}^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $9,696 \cdot 10^{-8}$			
91	$^{13}\text{C}^2\text{H}^2\text{H}^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ $1,453 \cdot 10^{-11}$			$3,0 \cdot 10^{-9}$

W typowym widmie niskorozdzielczym nie można rozdzielić obu sygnałów, obserwuje się jedynie pik wypadkowy, będący sumą obu sygnałów [63]. Pasma izotopomerowe widma wysokorozdzielczego i widma niskiej rozdziel-

ności są tak dalece różne, że wymagają szczegółowego, odrębnego omówienia. Powodem takiego stanu jest wpływ obecności izotopomerów położenia (izotopomerów o dokładnie takich samych masach) na rozkład izotopomerów jonu. Problem można zilustrować na przykładzie dichlorometanu CH_2Cl_2 (tab. 3.1), dla którego można wyznaczyć 32 możliwe struktury izotopomerowe o masach w zakresie 84+91u. Intensywności wyliczone dla trzech pików położonych przy największych masach są bardzo małe ($I < 0,2\%$), zatem zrozumiałe staje się, dlaczego doświadczalne pasmo izotopomerowe CH_2Cl_2 składa się od 3 do 5 pików [64, 65]. Przedstawiony przykład obrazuje (tab. 3.1) trudności towarzyszące modelowaniu (i interpretacji) pasm w widmach mas. Trudności te zwiększają się znacznie w przypadku złożonej struktury badanego pasma.

3.2. Klastery izotopomerowe w widmach masowych wysokiej rozdzielczości (widmach dokładnych mas) [66]

Jony organiczne są reprezentowane przez pojedyncze, izolowane sygnały lub zespoły wąskich subklastarów, niezależnie od ich mas molekularnych [67]. Izotopomery masy występują w nich zdecydowanie rzadziej niż izotopomery położenia.

Widmo masowe wysokiej rozdzielczości pozwala na rozróżnienie izotopomerów masy dzięki dużej dokładności ustalania położenia pików. Dokładność ta wynosząca 0,0001 u jest już wystarczająca, aby nie następowały nałożenia sąsiadujących ze sobą sygnałów [68]. Zatem precyzyjnie określona masa izotopomeru definiuje położenie pików w widmie, tzn. charakterystyczną dla niego wartość m/z [69]. Izotopomery masy odgrywają szczególną rolę w lokalizacji pików, każdy z nich ma określone położenie w klastrze izotopomerowym. W taki to właśnie sposób izotopomery masy, warunkując liczbę sygnałów składowych, wpływają na kształt pasma, ponieważ przy uzyskiwanej doświadczalnie dokładności lokalizacji pików nałożenie sygnałów różnych izotopomerów masy praktycznie nie może mieć miejsca. Izotopomery położenia nie różnią się masami, gdyż mają jednakowy skład izotopowy, dlatego też ich sygnały w widmie masowym ulegają nałożeniu. Spektrometria mas różnicuje jony pod względem ich ciężaru i wartości ładunku, a to nie daje możliwości doświadczalnego określenia relacji składu izotopomerów położenia. Wszystkie jony o takiej samej wartości m/z składają się na intensywność pików [70], zatem w przypadku izotopomerów położenia układ analizujący i detektory spektrometrów mas działają jako moduły o charakterystyce całkowitej.

Na intensywność określonego sygnału izotopomeru masy składają się stężenia wszystkich izotopomerów położenia odpowiadających tej właśnie masie:

$$I_p = f \left(\sum_{i=1}^n A_{pi} \right)_{m/z = \text{const}} \quad (3.4)$$

Wydaje się, że liczności poszczególnych izotopomerów położenia o danej masie powinny być równe, ponieważ matematycznie prawdopodobieństwo za-

stapienia atomu dominanta innym izotopem tego pierwiastka jest takie samo, niezależnie od lokalizacji [71]. Niektóre położenia izotopów mogą być jednak uprzywilejowane sterycznie lub kinetycznie – jest to problem oczekujący zbadania. Szczegółową genezę powstawania pasma wysokorozdzielczego omówiono w dalszej części pracy.

Widmo wysokiej rozdzielczości¹² umożliwia badanie składu i rozkładu izotopomerów masy w paśmie, nie daje jednak informacji o szerokości izotopomerowej pasma (WIC [49]). Klaster izotopomerowy można wyznaczyć opierając się na dokładnych masach [72, 73] (uwzględniających defekt masy) i abudancjach [74, 75] naturalnych izotopów pierwiastków. Klaster¹³ składa się z kilku (kilkunastu) subpasm, które tworzą sygnały położone bardzo blisko siebie (o bardzo zbliżonej wartości m/z). Szerokość tych subpasm nie przekracza zwykle 0,005 u [76].

Jeżeli wzór jonu można zapisać izotopowo jako: $(E_1)_{n_1}(E_2)_{n_2}(E_3)_{n_3} \cdots (E_z)_{n_z}^+$, to położenie każdego z pików izotopomerowych można wyliczyć jako sumę dokładnych mas wszystkich izotopów składających się na ten właśnie izotopomer, zgodnie ze wzorem:

$$m_j = \sum_{i=1}^z (n_i \cdot m_{E_i}) \quad (3.5)$$

w którym: n_i – liczba atomów izotopu, m_E – dokładna masa izotopu.

Abudancja¹⁴ cząstkowa izotopomeru masy jest równa:

$$A_j = \prod_{i=1}^z A_i^{n_i} \quad (3.6)$$

Izotopomery położenia charakteryzowane są przez takie same wartości m_j i dlatego nie są bezpośrednio zauważane w widmie mas, mają jednak wpływ na ilość jonów o danej wartości m/z . Intensywności sum sygnałów o tych samych wartościach m_j można wyznaczyć ze wzoru:

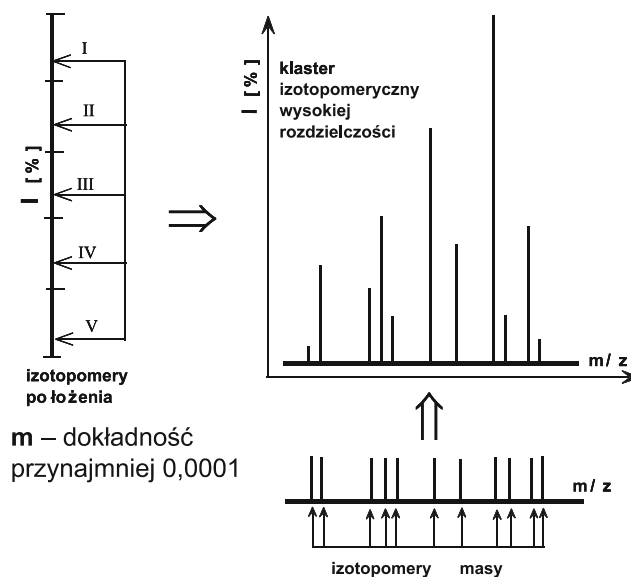
$$A_j = \sum_{k=1}^p \left(\prod_{i=1}^z A_i^{n_i} \right)_{m_i = \text{const}} \quad (3.7)$$

Zasady powstawania pasma widma masowego wysokiej rozdzielczości przedstawiono na rysunku 3.2.

¹² Widmo mas, w którym położenia pików są określone z dokładnością do 10^{-4} u.

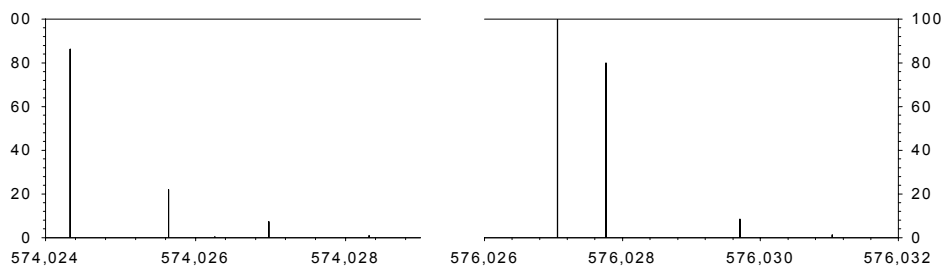
¹³ Klaster zarejestrowany w (lub odnoszący się do) warunkach wysokiej rozdzielczości jest dalej nazywany pasmem wysokiej rozdzielczości. Położenie pików określa się z uwzględnieniem defektu masy.

¹⁴ Umownie przeniesiono właściwość izotopu (abudancja) na prawdopodobieństwo wystąpienia konkretnego izotopomeru.



Rys. 3.2. Geneza klastra wysokorozdzielczego widma masowego (piki przy dokładnie określonych położeniach m/z) [38]

Klaster izotopomerowy wysokiej rozdzielczości powstaje jako kombinacja izotopomerów masy i izotopomerów położenia (rys. 3.3). O liczbie obserwowanych sygnałów decyduje liczba izotopomerów masy. Położenie pików określają wartości m/z izotopomerów masy (wzór 3.5), a intensywność każdego z sygnałów jest wielkością addytywną i zależy od liczby izotopomerów położenia (wzór 3.6).



Rys. 3.3. Przykładowe 2 subklastery z teoretycznego¹⁵ pasma wysokiej rozdzielczości jonu $C_{16}H_{16}W_2^+$ [77]

Z uwagi na wysoką dokładność rejestracji położenia sygnałów ($<0,0001$ u), każdy izotopomer masy może być zaznaczony w paśmie. Liczba sygnałów klastra odpowiada zatem liczbie izotopomerów masy. Wysokość sygnału reprezentuje izotopomery położenia, przy czym można przyjąć, że udział każdego

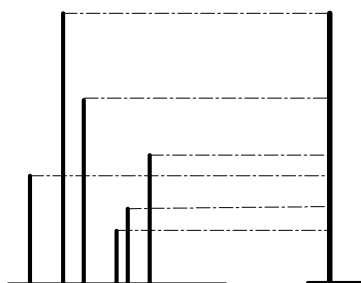
¹⁵ Przedstawiono klaster teoretyczny, ponieważ w praktyce nie wykonuje się widma masowe wysokiej rozdzielczości dla całego pasma (z reguły dla 1 – 3 wybranych pików).

z izotopomerów położenia przynależnego do jednakowej wartości m/z teoretycznie powinien być taki sam. W klastrze wysokiej rozdzielczości nie występują izotopomery masy i położenia.

Należy przypuścić, że trudno byłoby uzyskać odpowiednią prezentację graficzną widma masowego dokładnych mas¹⁶ uwzględniającego dokładne położenia sygnałów. Wysoki stopień skondensowania skali na osi x spowoduje, że subklastr będzie reprezentowany przez pojedynczy, dominujący pik:

$$P_i = \underset{j=1}{\overset{n_i}{MAX}}(P_{i,j}) \quad (3.8)$$

a pozostałe sygnały będą niewidoczne (rys. 3.4).



Rys. 3.4. Rzutowa forma prezentacji modelu subklastra wysokiej rozdzielczości pasma izotopomerycznego [66]

Model pasma wysokiej rozdzielczości jest ilustrowany przez zbiór sygnałów dominujących intensywnością. Z racji niewielkiej rozdzielczości graficznej, każdy z subklastrów jest prezentowany przez jeden tylko pik o największej intensywności. Pozostałe sygnały są pomijane¹⁷ i nie mają wpływu na postać graficzną pasma. Trudno jest zweryfikować model pasma wysokiej rozdzielczości, ponieważ nie wykonuje się badań lokalizacji dla wszystkich składowych pasma, lecz jedynie dla wybranych, pojedynczych pików.

3.3. Wyznaczanie pasma widma niskorozdzielczego na podstawie modelu dokładnej masy [66]

Pasmo widma masowego niskiej rozdzielczości zawiera piki zwykle odległe¹⁸ od siebie o 1 u (przyjmując, że ładunek jonu jest ± 1) [78]. Położenie poszczególnych sygnałów pasma jest podawane zwykle w liczbach całkowitych. Każdy z pików jest związany ze wszystkimi izotopomerami masy określonymi

¹⁶ Położenie sygnału ustala się z dokładnością do 10^{-4} u; accurate mass spectrum (potocznie, niepoprawnie nazywane widmem wysokiej rozdzielczości).

¹⁷ „Pozostają w jego cieniu”.

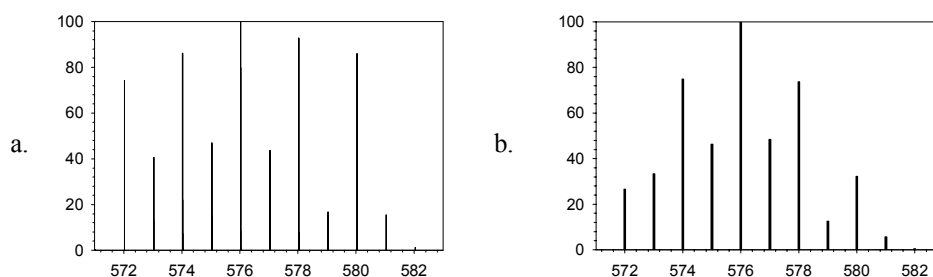
¹⁸ Zasada taka dotyczy większości widm znajdujących się w bazach mas i dlatego ten przypadek jest omawiany. Obecnie widma masowe niskiej rozdzielczości rejestruje się z dokładnością położenia pików 0,1 u, co zostało uwzględnione w dalszej części tego punktu.

tą samą wartością m/z . Intensywność sygnału zaś jest proporcjonalna do sumy abundancji cząstkowych izotopomerów położenia i izotopomerów masy A_{pi} tworzących ten pik (wzór 3.4).

Pasmo niskiej rozdzielczości można wyznaczyć na podstawie modelu wysokiej rozdzielczości sumując intensywności wszystkich pików występujących w odpowiednim zakresie W trakcie obliczania pasma niskiej rozdzielczości niektóre izotopomery masy przekształcają się w izotopomery położenia i masy¹⁹. Są to izotopomery różniące się masami, lecz zlokalizowane w przedziale $\left[\frac{m}{z} - 0,5; \frac{m}{z} + 0,5 \right)$, co powoduje, że ich intensywności są sumowane. Każdy sygnał widma niskiej rozdzielczości położony przy określonej wartości m/z przedstawia sumę wszystkich izotopomerów z tego zakresu, a jego intensywność wynika z sumy abundancji cząstkowych wszystkich izotopomerów składających się na ten właśnie pik:

$$I_{l-r} = \sum_{i=\left(\frac{m}{z}-0,5\right)}^{\left(\frac{m}{z}+0,5\right)} I_p \quad (3.9)$$

Istotne różnice w obrazach pasm wysokorozdzielczego i niskorozdzielczego (rys. 3.5a, b) mogą wynikać z odrębnych mechanizmów powstawania widm nisko- i wysokorozdzielczych.



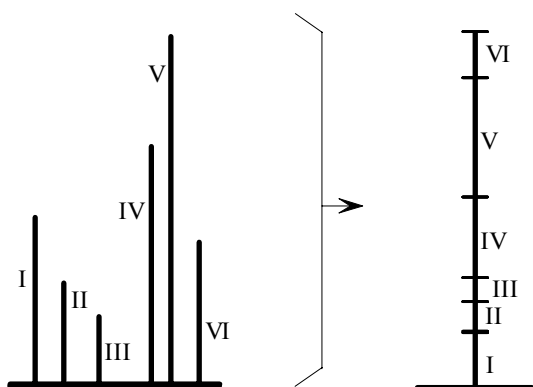
Rys. 3.5. Teoretyczne pasmo molekularne jonu bis(cykllooktateetraeno)di-wolframu, $C_{16}H_{16}W_2^+$: a – model pasma dokładnych mas (0,0001u), b – klaster niskiej rozdzielczości (1u)

Wydaje się, że pasmo wysokorozdzielcze może powstawać zgodnie z modelem składającym się z dominant subklasterów tworzących to pasmo (wzór 3.8). Mechanizm powstawania sygnału widma niskiej rozdzielczości wydaje się być znacznie bardziej skomplikowany, ponieważ pik taki jest złożony z sygnałów wszystkich izotopomerów reprezentowanych w subklasterze wysokiej rozdzielczości i stanowi odpowiednik ich sumy (wzór 3.9), zatem tworzeniu pasma niskorozdzielczego towarzyszy proces całkowania sygnałów.

¹⁹ Określenie takie jest słuszne wyłącznie dla widm o rozdzielczości średniej i niskorozdzielczych.

Klaster izotopomerowy niskorozdzielczego widma masowego można wyliczyć na podstawie pasma wysokiej rozdzielczości określonego dla dokładnie ustalonych położenia sygnałów. Piki pasma dzieli się na grupy zlokalizowane w obszarach o szerokości 1 u, określonych przedziałami $l - 0,5 < m/z < l + 0,5$.

Reprezentacją każdej z takich grup jest sygnał wypadkowy, którego wysokość jest sumą intensywności jego składowych (rys. 3.6).



Rys. 3.6. Model znormalizowanej sumy subpasma niskiej rozdzielczości [66]

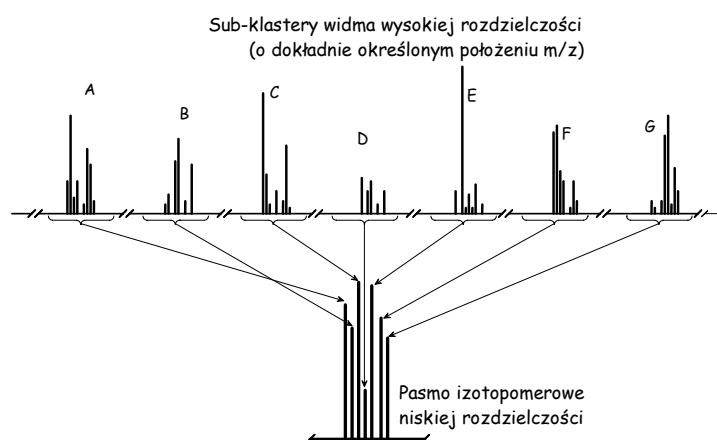
Zatem intensywność pików wypadkowych jest sumą prawdopodobieństw występowania wszystkich izotopomerów znajdujących się w rozpatrywanym przedziale

$$I_l = \sum_{i=l-0,5}^{l+0,5} I_i \quad (3.9)$$

Przebieg transformowania pasma wysokorozdzielczego w pasmo niskorozdzielcze zilustrowano na rysunku 3.7. Zgodność obliczonych wyników z pasmem doświadczalnym weryfikuje poprawność postawionej hipotezy.

Proces modelowania może być przeprowadzony dla każdego z klasterów i jest powtarzany tak długo, aż w każdym z subklasterów pasma wysokiej rozdzielczości zostaną zsumowane intensywności wszystkich sygnałów składowych. Wydaje się, że procedura jest najbardziej efektywna w przypadku pasma jonu molekularnego.

Modelowanie pasm jonów fragmentacyjnych może być mniej skuteczne, ponieważ klaster zlokalizowane przy mniejszych wartościach m/z częściej bywają zakłócone niż pasma molekularne. Normalizacja widma doświadczalnego niskiej rozdzielczości wprowadza dodatkowe zakłócenie. Poprawność takiej procedury można zweryfikować przez porównanie modelu z widmem eksperymentalnym. Można przyjąć, że zgodność na poziomie 95% jest zadowalająca, ponieważ jest przeprowadzana na danych obciążonych błędem doświadczalnym, który utrudnia interpretację widma.



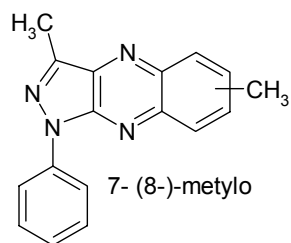
Rys. 3.7. Model transformacji widma masowego dokładnych mas w widmo niskorozdzielcze [66]

3.4. Modelowanie klastarów izotopomerowych

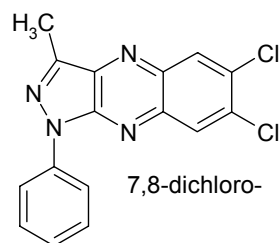
Przedstawione powyżej zasady poddano weryfikacji na reprezentatywnych przykładach związków tworzących mieszaniny izotopomerowe: typowego związku organicznego, dwóch prostych związków metaloorganicznych.

3.4.1. Dokładne położenia pików w widmie związku organicznego [80] pochodne 3-metylo-1-fenyl-1H-pyrazolo[3,4-b]chinoksaliny

Obliczenie położenia wybranych pików w widmie wysokiej rozdzielczości przeprowadzono dla pochodnych 3-metylo-1-fenyl-1H-pyrazolo[3,4-b]chinoksaliny:



I - $C_{17}H_{15}N_4$ [81]



II - $C_{16}H_{10}Cl_2N_4$ [82]

Masy izotopów pierwiastków tworzących badane jony przyjęto zgodnie z [83]:

1H	^{12}C	^{13}C	^{14}N	^{35}Cl	^{37}Cl
1,0078	12,0000	13,0034	14,0031	34,9689	36,9659

Na podstawie powyższych danych obliczono dokładne wartości położenia pików obserwowanych w widmie związku i porównano je z położeniami wyzna-

czonymi doświadczalnie. Uzyskano bardzo wysoką zgodność wartości, co świadczyć może o poprawności przyjętego modelu. Analizowano tylko izotopomery zawierające dominujące izotopy każdego z pierwiastków (pomijając ^{13}C i ^{37}Cl), ponieważ tylko one zostały objęte prognozowaniem. Pełne zestawienie obliczonych wyników dla wszystkich analizowanych jonów przedstawiono w tabeli 3.2.

Tabela 3.2. Dokładna lokalizacja wybranych jonów fragmentacyjnych pochodnych 3-metylo-1-fenylo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinoksaliny

masa	313 $\text{C}_{15}\text{H}_7\text{N}_4^{35}\text{Cl}_2$	287 $\text{C}_{14}\text{H}_7\text{N}_3^{35}\text{Cl}_2$	274 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_4$	259 $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{N}_4$	232 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_3$	205 $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_2$	180 $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}$	143 $\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_2$
dośw ²⁰	313,0025	287,0021	274,1212	259,0972	232,0856	205,0735	180,0799	143,0604
oblicz.	313,0048	287,0017	274,1216	259,0982	232,0873	205,0764	180,0811	143,0608

Jonom o składzie typowo organicznym odpowiadają teoretyczne pasma izotopowe, w których położenia pików różnią się od siebie o wartość wynikającą głównie z różnicy mas izotopów ^{12}C i ^{13}C (1,0034), zgodnie zresztą z poglądami Lochmullera [84]. Obecność atomów pierwiastka poliizotopowego o znacznej zawartości izotopu pobocznego (np. Cl) powoduje, że wśród wyznaczonych położenia sygnałów obserwuje się także sygnały o wartościach położenia na tyle zbliżonych, że w widmie niskorozdzielczym (1u) zostaną przedstawione jako jeden pik o intensywności będącej sumą wielkości pików składowych.

Dokładne określenie położenia sygnału może być cechą identyfikującą skład jonu związanego z tym pikiem. Skład ograniczony do kilku pierwiastków, które na ogół wykazują pojedynczą, silną dominantę izotopową powoduje, że izotopomery masy są wyraźnie oddzielone od siebie (różnice położenia ok. 1 u), a przez to łatwo identyfikowalne. Izotopomery położenia, zgodnie z definicją, mają wpływ na intensywność sygnałów, a nie na lokalizację pików; np. masy związków AABBA, ABABA są takie same:

$$I_{HR} = \sum_{e=1}^f \prod_{i=1}^{n_e} a_i \quad (3.10)$$

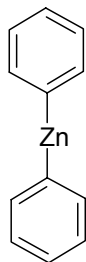
gdzie a_i – abundancja izotopu naturalnego

Izotopomery położenia wpływają na kształt pasma jonu zmieniając intensywność sygnałów, lecz interpretacja wyników wysokiej rozdzielczości obejmuje głównie położenia pików. Inaczej jest w przypadku związków polimericznych [58]. Multiplikacja klastrów, nawet tych z wybitną dominantą,

²⁰ Dwu sektorowy spektrometr mas – AMD 402 (Intectra, Niemcy), jonizacja EI (70 eV, 0,5 mA), napięcie przyspieszające 8 kV, temperatura źródła 200°C, temperatura wlotu 80÷120°C, przemiatanie $m/z > 51$ u.

proceedzi do rozbudowy pasma izotopomerowego (poszerzenie i ewolucja w kierunku osiągnięcia rozkładu normalnego).

3.4.2. Obliczenie pasma molekularnego związku metaloorganicznego difenylo-cynk(II) $C_{12}H_{10}Zn$ [85]



Obecność w cząsteczce pierwiastka poliiizotopowego powoduje rozbudowanie składu izotopomerowego związku. Prosty przykładem takiego związku może być difenylocynk o wzorze sumarycznym $C_{12}H_{10}Zn$ [86]. Wzór związku można przedstawić jako sumę części organicznej i fragmentu metalicznego – $C_{12}H_{10}Zn = C_{12}H_{10} + Zn$.

Szerokość izotopowa fragmentu organicznego i monoatomowego fragmentu metalicznego wynoszą odpowiednio

- $WIC_{org} = 3 - 154,0780 (100); 155,0814 (13,5); 156,0848 (0,84); 157,0882 (0,03); 158,0916 (0,00)$,
- $WIC_{Zn} = 7 - 63,9291 (100); 65,9260 (57,41); 66,9271 (8,44); 67,9248 (38,68); 69,9253 (1,23)$.

Obliczenia wykonane za pomocą równań (3.1÷3.4) pozwalają wyznaczyć parametry teoretyczne pasma molekularnego związku w postaci zespołu pików wyszczególnionych w tabeli 3.3. Sposób obliczenia modelowej postaci widma przedstawiono w Uzupełnieniu (tab. 3B). W oparciu o tak obliczone wartości wyznaczono wektor graficzny pasma i klaster niskorozdzielczy; ich porównanie wskazuje na wyraźne różnice pomiędzy nimi.

Zgodność intensywności pików obu klasterów niskiej rozdzielczości, tzn. pasma wyznaczonego przez transformację pasma wysokiej rozdzielczości (kolumna 7) i klastera obliczonego metodą MMIP [55, 56] (kolumna 8), świadczyć może o poprawności przyjętego modelu powstawania pasma niskorozdzielczego. Tezę taką potwierdza zbieżność wyników obliczeń modelowych z wartościami doświadczalnymi [85] (tab. 3.3 i Uzupełnienie tab. 3B).

Obraz pasma wysokorozdzielczego odzwierciedla jedynie dominujące intensywnością spośród blisko siebie położonych izotopomerów masy (po jednym na subpasmo), pozostałe izotopomery są pomijane. W klasterze widma niskorozdzielczego ujawnia się natomiast całkowita charakterystyka detektora niskorozdzielczego [83]. Blisko siebie położone izotopomery masy nie są odróżniane. Podczas transformacji klasteru traktuje się je łącznie, jako pojawiające się izotopomery położenia i masy. Sumowanie ich intensywności powoduje podwyższenie sygnałów pasma niskorozdzielczego w stosunku do ich graficznych odpowiedników w paśmie wysokorozdzielczym.

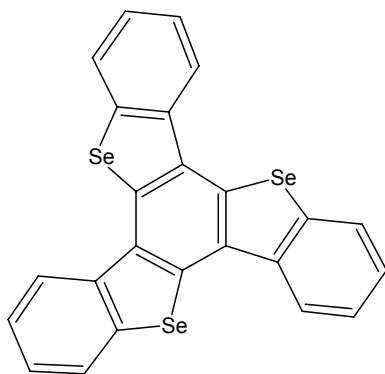
Tabela 3.3. Pasma molekularne difenylcyнку w widmach wysoko- i niskorozdzielczym [85]

Widmo wysokorozdzielcze					Widmo niskorozdzielcze			
Pasma obliczone			Obraz pasma		Pasma obliczone			dośw.
1	m/z	I_{norm}	m/z	I_{norm}	m/z	$\Sigma I = I_{norm}$	Program [55, 56]	I_{norm}
	2	3	4	5	6	7	8	9
	[u]	[%]	[u]	[%]	[u]	[%]	[%]	[%]
$C_{12}H_{10}^{64}Zn$	218,0071	100,000	218,0071	100,000	218	100,00	100	100
$C_{12}^{13}CH_{10}^{64}Zn$	219,0105	13,500	219,0105	13,500	219	13,50	13,50	14,31
$C_{12}H_{10}^{66}Zn$	220,0040	57,407	220,0040	57,407	220	58,25	58,24	58,22
$C_{10}^{13}C_2H_{10}^{64}Zn$	220,0139	0,840						
$C_{10}H_{10}^{67}Zn$	221,0051	8,436	221,0051	8,436				
$C_{10}^{13}CH_{10}^{66}Zn$	221,0074	7,750			221	16,22	16,22	16,44
$C_9^{13}C_3H_{10}^{64}Zn$	221,0173	0,030						
$C_{12}H_{10}^{68}Zn$	222,0028	38,683	222,0028	38,683				
$C_{11}^{13}CH_{10}^{67}Zn$	222,0085	1,139			222	40,30	40,30	39,46
$C_{10}^{13}C_2H_{10}^{66}Zn$	222,0108	0,482						
$C_8^{13}C_4H_{10}^{64}Zn$	222,0207	0,000						
$C_{11}^{13}CH_{10}^{68}Zn$	223,0062	5,222	223,0062	5,222				
$C_{10}^{13}C_2H_{10}^{67}Zn$	223,0119	0,078			223	5,31	5,31	5,03
$C_9^{13}C_3H_{10}^{66}Zn$	223,0142	0,017						
$C_{12}H_{10}^{70}Zn$	224,0033	1,235	224,0033	1,235				
$C_{10}^{13}C_2H_{10}^{68}Zn$	224,0096	0,325			224	1,56	1,56	1,55
$C_9^{13}C_3H_{10}^{67}Zn$	224,0153	0,003						
$C_8^{13}C_4H_{10}^{66}Zn$	224,0176	0,000						
$C_{11}^{13}CH_{10}^{70}Zn$	225,0067	0,167	225,0067	0,167				
$C_9^{13}C_3H_{10}^{68}Zn$	225,0130	0,012			225	0,18	0,18	0,19
$C_8^{13}C_4H_{10}^{67}Zn$	225,0187	0,000						
$C_{10}^{13}C_2H_{10}^{70}Zn$	226,0101	0,010	226,0101	0,010	226	0,01		
$C_8^{13}C_4H_{10}^{68}Zn$	226,0164	0,000						
$C_9^{13}C_3H_{10}^{70}Zn$	227,0135	0,001	227,0135	0,001	227	0,001		
$C_8^{13}C_4H_{10}^{70}Zn$	228,0169	0,000	228,0169	0	228	0		

Zjawisko to nie wystąpiło w poprzednim przykładzie, ponieważ szerokość izotopomerowa związków organicznych o niskich masach cząsteczkowych jest niewielka [84]. Zgodność modelu całkowego z wynikami doświadczalnymi świadczy o całkowitym mechanizmie tworzenia niskorozdzielczego widma mas. Obecność w cząsteczce choćby jednego atomu pierwiastka poliizotopowego może powodować trudności w interpretacji pasm izotopomerowych.

3.4.3. Obliczenie pasma molekularnego związku o złożonym składzie izotopomerowym

tris(benzo[b]selenofeno) [2,3:2',3':2'',3'']benzen [66] C₂₄H₁₂Se₃



Przeprowadzono obliczenia dla tris(benzo-[b]selenofeno) [2,3:2',3':2'',3'']benzenu, o wzorze C₂₄H₁₂Se₃ [89]. Skład elementarny związku można przedstawić jako sumę fragmentu metaloidalnego i części organicznej: C₂₄H₁₂Se₃ = Se₃ + C₂₄H₁₂. Szerokości izotopowe fragmentu organicznego (C₂₄H₁₂) i agregatu heteroatomowego (Se₃) są różne i wynoszą:

- WIC_{org} = 5 – 300 ÷ 304 u (5 izotopomerów masy),
- WIC_{3Se} = 25 – 222 ÷ 246 u (54 izotopomery masy, 675 izotopomerów położenia, co daje w sumie 729 izotopomerów).

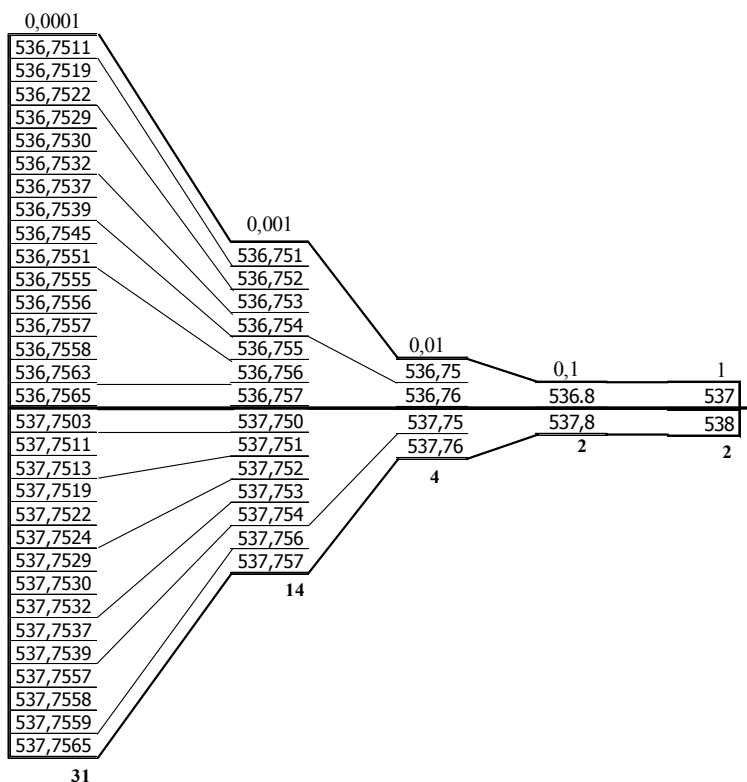
Połączenie obu tych fragmentów prowadzi do niezwykle rozbudowanego pasma molekularnego o szerokości 28 u. Pasma to teoretycznie składać się może z ponad 3500 izotopomerów. Większość stanowią izotopomery położenia, a niektóre teoretyczne wartości m/z nie są obsadzone, tzn. znormalizowana intensywność teoretyczna odpowiedniego sygnału jest bardzo mała ($I < 0,001\%$). Dzięki temu zjawisku liczba sygnałów pasma odpowiadających izotopomerom masy tris(benzo[b]selenofeno)[2,3:2',3':2'',3''] benzenu jest znacznie mniejsza i wynosi 218 (Uzupełnienie tab. 3C).

Pasma molekularne wysokiej rozdzielczości przypomina kształtem niskorozdzielcze pasmo molekularne, dopiero odpowiednie rozciągnięcie skali pozwala ujawnić szczegółową strukturę klasteru. Operację taką przeprowadzono w zakresie m/z 536,75 ÷ 537,76 u. Postać graficzna pasma przedstawia 10 pików zgrupowanych w dwa zespoły położone w okolicach 536,75 u i 537,75 u. Zestawienie wartości wskazuje, że te zespoły składają się z 13 sygnałów o intensywnościach powyżej 1%. Odległość tych dwu grup wynosi niemal 1u.

Przeprowadzono symulację przekształcania pasma wysokorozdzielczego w pasmo niskorozdzielcze, sukcesywnie zmniejszając dokładność określenia położenia pików. Przyjęto, że detektor działa całkująco, co oznacza, że przy zmniejszaniu dokładności rejestracji m/z sumuje on intensywności wszystkich sygnałów zawartych w przedziale $(I_{\nu} - 0,5 \cdot 10^{-\nu}, I_{\nu} + 0,5 \cdot 10^{-\nu})$, gdzie I – jest wartością m/z podaną z dokładnością ν miejsc dziesiętnych wg zależności, będącej rozszerzeniem równania (3.9):

$$I_{l_v} = \sum_{i=(l-0,5 \cdot 10^{-v})}^{(l+0,5 \cdot 10^{-v})} I_i \quad (3.11)$$

Na rysunku 3.8 przedstawiono transformację pasma postaci dokładnej masy, prowadzącą do formy niskorozdzielczej w wyniku zmniejszenia dokładności lokalizacji pików dla sygnałów z zakresu 536÷538²¹ u. Pomimo redukcji liczby sygnałów w dwu sąsiadujących grupach, odległość tych grup pozostaje niemal stała, aby w konsekwencji doprowadzić do dwóch zaledwie pików w niskorozdzielczej postaci widma, różniących się lokalizacją o 1 u. Intensywności obu finalnych sygnałów odpowiadają sumom wszystkich pików zawartych w ich wysokorozdzielczych grupach macierzystych.

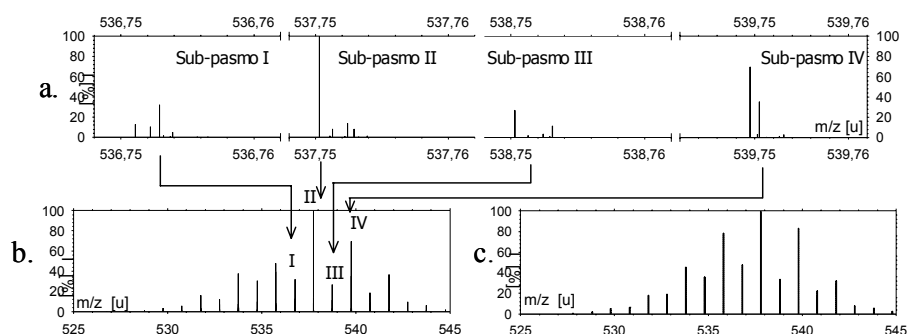


Rys. 3.8. Wpływ dokładności lokalizacji pików na liczbę sygnałów składowych pasma [66]

Graficzne postaci pasm wykazują wyraźną zmienność intensywności pików. Sygnały znajdujące się w obszarze dokładności pomiaru m/z są sumowane. Tak wyznaczone piki sumaryczne położone w obrębie rozdzielczości ok. 0,05 u reprezentowane są przez jeden sygnał, którego intensywność ma

²¹ Zakres ten jest przedstawiony wytłuszczonym drukiem w Uzupełnieniu, tab. 3C-F.

największą wartość. Pozostałe piki można obserwować tylko w rozciągniętej formie pasma. Jeśli dokładność pomiaru masy jest mniejsza niż szerokość serii, zostaje ona zredukowana do jednego piku o intensywności będącej sumą wszystkich sygnałów składowych całej serii. Opisane zjawisko jest przyczyną zmian formy pasma w zależności od dokładności pomiaru m/z . Szczególnie znaczenie ma modelowanie pasma o dokładnościach położenia pików 0,01 u. W tym przypadku zachodzi konieczność normalizacji wyliczanego klastra (intensywność teoretyczna głównego piku przekracza 135%). Transformacja taka w istotnym stopniu zaburza obraz pasma i wprowadza znaczne zmiany intensywności pików. Ostatnia z normalizacji (przy dokładności $m/z = 0,1$ u) formuje ostateczną postać niskorozdzielczego pasma molekularnego. Obraz pasma wyliczonego dla dokładności 0,1 u jest taki sam jak dla dokładności 1 u. Szczegółowe dane przedstawiono w Uzupełnieniu w tab. 3C÷F, odrębnie dla każdego z przybliżeń. W każdej z tabel zaznaczono sygnały położone w omawianym zakresie (536÷538 u). Mechanizm transformacji przedstawiono na rysunku 3.8 oraz w Uzupełnieniu w tabeli 3G. Efekty uzyskiwane podczas transformacji widma masowego przedstawiono na rysunku 3.9.



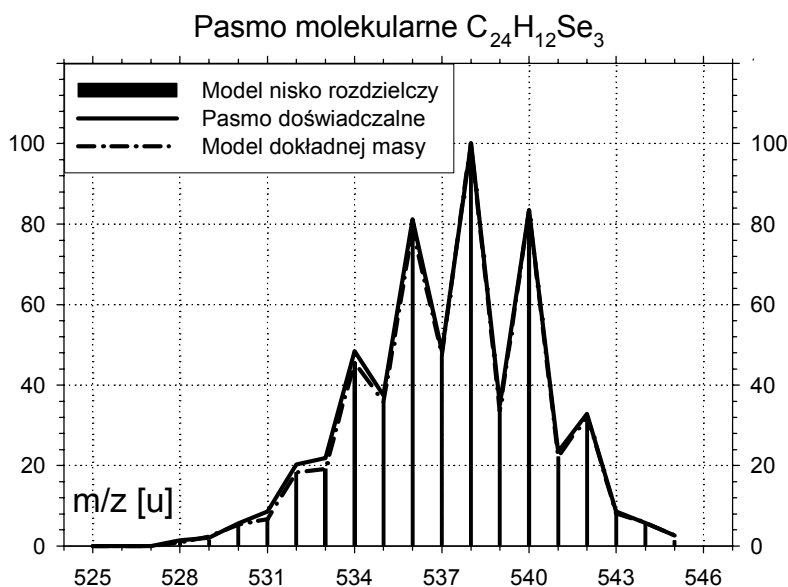
Rys. 3.9. Pasma jonu molekularnego tris(benzo[*b*]selenofeno)[2,3:2',3':2'',3''] benzenu $C_{24}H_{12}Se_3$: a – fragment rzeczywistego modelu widma dokładnych mas; b – model „wysokiej rozdzielczości”; c – pasmo niskiej rozdzielczości [89]

Porównanie wyliczonych klastrów jonu $C_{24}H_{12}Se_3^+$ i pasma doświadczalnego przedstawiono na rysunku 3.9. Zgodność intensywności sygnałów pasma wyznaczonego na podstawie klastra dokładnej masy i pasma doświadczalnego jonu $C_{24}H_{12}Se_3^+$ jest niewątpliwa, o czym świadczy wartość wariancji $s^2 = 2,08$ wyznaczona ze wzoru [90]:

$$s^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (I_{i(dosw)} - I_{i(obl)})^2 \quad (3.12)$$

dla 18 punktów wspólnych dla obu porównywanych serii. Dla porównania wyznaczono także pasmo niskiej rozdzielczości. Wyliczone wartości intensywności sygnałów pasma [66] są niemal równe wynikom uzyskanym metodą MMIP

wyznaczania niskorozdzielczego pasma izotopomerowego jonu [56], co wskazuje na poprawność przyjętej metody obliczeniowej [66]. Wysoki stopień dopasowania pików obu obliczonych klasterów modelowych przedstawionych na rysunku 3.10 wskazywać może na przypuszczalny mechanizm powstawania pasma niskorozdzielczego. W wyniku jonizacji powstają jony izotopomerów o dokładnie określonych wartościach m/z . Jony te są całkowane działaniem analizatora i detektora spektrometru, co prowadzi do uzyskania klastra niskiej rozdzielczości. Dalsze badania na większej liczbie związków pozwolą zapewne na zweryfikowanie tej hipotezy.



Rys. 3.10. Modelowanie pasma molekularnego $C_{24}H_{12}Se_3$

3.5. Transformacja pasma dokładnych mas w klaster niskorozdzielczy [66]

W omawianym przykładzie zmniejszenie dokładności lokalizacji sygnału z 0,0001 u do 0,001 u nie powoduje istotnych zmian w widmie i służyć może pewnemu jego uproszczeniu, bez pogorszenia jakości interpretacyjnej. Co prawda zmniejsza się zarówno całkowita liczba pików, jak i liczba pików istotnych ($I > 1\%$), ale zachowanie wartości ich sumy ($\Sigma I_{1\%}$) wskazuje, że miała miejsce jedynie eliminacja słabych sygnałów o nikłym zapewne znaczeniu analitycznym. Szczegółowy układ pików wskazuje, że powodem jest skład najbliższego otoczenia pików głównego, zawierającego jedynie słabe sygnały towarzyszące.

Zmniejszenie dokładności położenia pików o następny rząd wielkości (od 0,001 do 0,01 u) prowadzi do zmniejszenia liczby sygnałów do 38, a także powoduje, że piki pasma muszą być normalizowane, ponieważ intensywność sygnału głównego przekracza 135%. Zmniejsza się także wartość sumy intensywności istotnych pików ($\Sigma I_{1\%}$) i ich udział w widmie, ale stopień pomniejszenia obu parametrów odpowiada współczynnikowi normalizacji widma η :

$$\frac{\sum_{0,001} I_{1\%}}{\sum_{0,01} I_{1\%}} = \eta \quad (3.13)$$

Następny etap przekształcenia (z 0,01 do 0,1 u) nie wnosi istotnych zmian, oprócz dalszego zmniejszenia liczby pików do 27. Normalizacja pasma jest minimalna ($\eta = 1,00143$), zatem i $\Sigma I_{1\%}$, jak i udział istotnych pików w widmie całkowitym jest niemal taki sam. Ostatnie przejście (z 0,1 do 1 u) do niskorozdzielczej postaci pasma nie powoduje już żadnych zmian. Wartości wszystkich parametrów pozostają takie same, jak dla dokładności 0,1 u. Porównanie wyliczonego modelu niskorozdzielczego pasma molekularnego $C_{24}H_{12}Se_3$ z danymi doświadczalnymi [98] przedstawiono na rysunku 3.9.

Doświadczalne widmo masowe niskiej rozdzielczości nie dostarcza informacji o dokładnym rozkładzie izotopomerów (zarówno masy, jak i położenia) o określonej wartości m/z. Nie umożliwia także wyznaczenia rzeczywistej liczby izotopomerów masy tworzących dane pasmo, ponieważ liczba pików w klastrze jest uzależniona jedynie od stopnia obsadzenia konkretnych, całkowitych wartości m/z. Doświadczalnie można jednak obliczyć szerokość izotopomerową pasma, która obrazuje liczbę nominalnych (całkowitych) poziomów wartości m/z, które są możliwe do wypełnienia. Zaskakującym wydaje się być fakt, że modelowanie pasma wysokorozdzielczego jest znacznie prostsze niż pasma niskiej rozdzielczości, co jest przeciwieństwem trudności towarzyszących eksperymentowi.

Przedstawione wywody i obrazujące je przykłady pozwalają na dokonanie podsumowania spostrzeżeń:

- Skład izotopomerowy pasm występujących w widmach masowych związków organicznych jest dość ubogi z powodu wybitnych dominant izotopowych tworzących je pierwiastków. Obserwowane izotopomery masy zdecydowanie różnią się od siebie wartościami m/z. Widma wysokorozdzielcze typowych związków organicznych są przez to dość proste i nie stwarzają problemów w interpretacji. Dlatego też dokładne określenie położenia sygnału (0,0001 Da) pozwala przypisać pik wyłącznie jednemu jonowi masowemu.
- Obecność nawet jednego atomu pierwiastka poliiizotopowego w cząsteczce związku w istotnym stopniu zmienia układ izotopomerów masy jonu molekularnego i jonów fragmentacyjnych. Powoduje ona zwiększenie liczby sygnałów w pasmach jonów. Wykorzystanie interpretacyjne widm

wysokiej rozdzielczości jest w istotnym stopniu utrudnione przez obserwowane nałożenia pików z powodu bliskiego ich sąsiedztwa. A jednak zwiększona liczba sygnałów w paśmie jest dodatkową informacją analityczną dla tych, którzy potrafią ją wykorzystać w interpretacji widma masowego. Rozwiązaniu tego problemu poświęcona jest dalsza część pracy.

- Obecność kilku atomów pierwiastków poliiizotopowych (takich samych lub różnych) powoduje powstanie tak złożonego spektrum izotopomerów masy, że interpretacja widma wysokorozdzielczego może być bardzo trudna. W takim przypadku pewniejsze rezultaty można uzyskać na podstawie interpretacji widm niskorozdzielczych. Jednocześnie ilość uzyskanej informacji jest większa. Zwykle interpretuje się pojedyncze sygnały widma wysokiej rozdzielczości. Analiza niskorozdzielczego pasma izotopomerowego pozwala identyfikować skład izotopomerowy jonu, a nie tylko dominujący pik. Oznacza to, że stosując analizę izotopomerową mniejszym nakładem finansowym uzyskuje się więcej informacji analitycznych.
- Obserwowane różnice lokalizacji izotopomerów masy pozwalają przypuszczać, że ustalenie położenia pików z dokładnością do 0,0001 Da jest wystarczające do określenia składu elementarnego badanego jonu. W przypadku typowych związków organicznych, nawet dokładność 0,001 Da położenia pików wydaje się być wystarczającą do wyznaczenia wzoru sumarycznego jonu.
- Zależnie od szerokości zakresu sumowania (tzn. dokładności położenia sygnału) zmienia się także forma wynikowa pasma wskutek zmian w podlegającej całkowaniu grupie izotopomerów masy i położenia.
- Normalizacja jest operacją, która najbardziej deformuje obraz pasma (lub widmo), ponieważ w istotnym stopniu zmienia kształt klastru.
- Widma masowe EI zawarte w bazach widm cechuje charakterystyka całkowita detekcji, tzn. sygnały położone w obrębie zakresu dokładności pomiaru są sumowane przez detektor.

4. Pasma izotopomerowe agregatu monopierwiastkowego, relacje pomiędzy składem jonu a położeniem pików głównego pasma

Wzór związku i masa molowa są zasadniczymi cechami badanymi zarówno dla wyizolowanych substancji naturalnych, jak i otrzymanych syntetycznie. Wielkości te można wyznaczyć precyzyjnie za pomocą spektrometrii mas. Intensywności i położenia pików składających się na pasmo molekularne pozwalają na wyznaczenie masy molowej i wzoru elementarnego związku. Aktualnie bardzo intensywnie prowadzone są badania widm masowych, zwłaszcza związków metaloorganicznych i koordynacyjnych [91÷93]. Wydaje się jednak, że oprócz trudności natury technicznej wykonania widma masowego istnieje także istotny problem interpretacji uzyskanych wyników.

4.1. Pasma izotopomerowe jonu masowego [37, 94]

Jon powstający w wyniku jonizacji substancji często jest reprezentowany w widmie masowym przez zespół pików. Z całego pasma wybiera się jeden sygnał (zwykle dominujący) i wykorzystując jego lokalizację (m/z) przypisuje się jemu określony skład elementarny. Pozostałe piki pasma z reguły są pomijane, choć relacje intensywności pików tworzących klaster są charakterystyczne dla układu izotopomerowego jonu (co wynika ze składu izotopowego pierwiastków tworzących dany jon). Układ sygnałów izotopomerowych stanowi istotną informację analityczną, na podstawie której można ustalić wzór cząsteczki związku lub wzór badanego jonu.

Szczególnie istotnymi są relacje pomiędzy intensywnościami pików molekularnego M^+ i pików izotopomerowych $(M+1)^+$ i $(M+2)^+$. Stanowią one podstawę do wyznaczenia wzoru sumarycznego związków organicznych złożonych z C, H, N, O, F, I i P [65a, 95÷96]. Obliczenia teoretyczne przeprowadzone przez Beynona [7a, 64a, 97] określają relacje intensywności tych sygnałów i zawartości C, H, N i O. Wpływ obecności B, S, i Si (do 10 atomów), a także Br i Cl (do 8 atomów osobno i w kombinacji) został w tych pracach także uwzględniony, co pozwala interpretować widma masowe większości prostych związków organicznych.

4.1.1. Położenie sygnału głównego pasma, a masa jonu

Wyznaczanie wzoru cząsteczkowego jest najważniejszym elementem interpretacji izotopomerycznego pasma molekularnego [52a]. Położenie głównego pików pasma jest zwyczajową podstawą hipotezy o masie jonu, a w konsekwencji punktem wyjścia do ustalenia wzoru sumarycznego jonu.

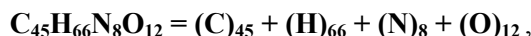
Izotopy mało rozpowszechnione nie odgrywają istotnej roli w przypadku związków o niskiej masie molowej. Mogą one jednak wywierać istotny wpływ

przy interpretacji widm związków o średnich i wysokich wartościach masy molowej. Nieznajomość wpływu naturalnej abundancji izotopowej na skład izotopomerowy może być przyczyną błędnej hipotezy składu pierwiastkowego cząsteczki (zwykle błędnej liczby atomów wodoru w cząsteczce) i źródłem poważnych trudności w określaniu struktury związku, np. ^{13}C stanowi w przyrodzie zaledwie 1,1% w porównaniu z izotopem ^{12}C [1b]. W jonie molekularnym styrenu, C_8H_8 , najbardziej intensywnym pikiem jest sygnał przy $m/z = 104$ u i zawierający jedynie atomy ^{12}C . Izotopomery C_8H_8 zawierające jeden atom ^{13}C stanowią 8,8% głównego piksu pasma, ale dla polistyrenu o stopniu polimeryzacji 100 ($\text{C}_{804}\text{H}_{810}$), pik izotopomerów zawierających jeden atom ^{13}C jest 9-krotnie większy od piksu odpowiadającego izotopomerowi zawierającemu tylko atomy ^{12}C . Pik główny pasma molekularnego polimeru jest położony przy $m/z = 10467$ u, co sugerowałoby wzór $\text{C}_{804}\text{H}_{819}$. Liczba atomów wodoru w takim związku jest nieprawidłowa, gdyż poprawny wzór związku winien być $^{12}\text{C}_{795} \text{ }^{13}\text{C}_9 \text{ }^1\text{H}_{810}$ [55, 98].

Parametry proponowane przez Yergey'a [54], takie jak *masa nominalna*²², albo *masa monoizotopowa*²³ nie są odpowiednie dla związków o średnich i wysokich masach molowych, które tworzą z reguły szerokie pasma izotopomerowe [29]. Inne, jak *masa najbardziej prawdopodobna*²⁴ (*most abundant mass*) czy też *masa średnia*²⁵ charakteryzują raczej położenie centroidu²⁶ niż masę jonu, czy też efekty złożonej koincydencji izotopomerów. Żaden z wymienionych parametrów nie jest odpowiednim do określania relacji pomiędzy parametrami centroidalnego pasma jonu a wzorem sumarycznym tego jonu.

4.1.2. Agregaty monopierwiastkowe

Wzór sumaryczny każdego związku organicznego można przedstawić w postaci sumy agregatów monopierwiastkowych np. wzór estru metylowego kwasu etamycynowego [99] jest adduktem 4 aglomeratów²⁷:



a dodekakarboxylo-tri-triangulo-osm [100] (MW = 912) może być zapisany jako suma trzech składników monopierwiastkowych:

²² Masa nominalna, obliczona na podstawie głównego izotopu każdego z pierwiastków tworzących ten jon, bez z pominięciem defektu masy.

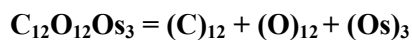
²³ Masa monoizotopowa, wyliczona na podstawie najczęściej występujących izotopów każdego z pierwiastków jonu, z uwzględnieniem defektu masy.

²⁴ Masa najbardziej prawdopodobna (Most abundant mass) oznacza masę jonu obliczoną opierając się na występujących izotopach naturalnych.

²⁵ Masa, obliczona na podstawie średnich mas atomowych pierwiastków, wyznaczonych na podstawie rozpowszechnienia izotopów naturalnych..

²⁶ Centroid, (pasma centroidalne, Centroid cluster) – termin oznaczający szerokie pasmo izotopomerowe jonu, niekiedy zbliżone do rozkładu normalnego.

²⁷ Aglomerat = agregat



Wzór może składać się z agregatów pierwiastków monoizotopowych, np. F, I, Bi, Ta, Nb oraz aglomeratów pierwiastków poliizotopowych, jak C, S, Br, Cl, Si, Pd, Br, Cr, Ru itp. Pierwiastki pierwszej grupy nie wpływają na postać pasma jonu mas, klaster ten jest jedynie przesunięty o wartość równą wartości m/z agregatu monoizotopowego. Obecność w cząsteczce (jonie) pierwiastków izotopowych (drugiej grupy) prowadzi do powstania bardziej złożonej postaci pasma jonu. Aglomeraty pierwiastków izotopowych w istotnym stopniu wpływają na wartości dwu grup parametrów pasma izotopomerowego:

- ◆ parametry położenia: dotyczy to położenia m/z pików głównego i pozostałych sygnałów pasma,
- ◆ parametry formy: szerokość izotopowa pasma WIC [49], liczba pików składających się na klaster i intensywności poszczególnych sygnałów.

Parametry te stanowią istotną informację, lecz ich wyznaczenie wymaga zastosowania metod analizy izotopomerowej. Interpretując widmo masowe związku, którego cząsteczka zawiera atomy pierwiastków poliizotopowych, natrafia się na trudności wynikające z obecności tych atomów, a spowodowane złożonym składem izotopomerowym pasm jonów.

Modelowanie izotopomerowe pozwala określić, które z pierwiastków tworzących badany związek mają większy wpływ na postać pasma jonu mas, a które mniejszy. Analizie poddano pierwiastki tworzące typowe związki organiczne (w ilościach występujących w związkach o niskich i średnich masach molekularnych). Odrębnie zbadano pozostałe pierwiastki, w tym szczególnie pierwiastki poliizotopowe [101], jako istotne składniki związków koordynacyjnych i metaloorganicznych. Rozważania objęły wyłącznie izotopy trwałe o naturalnym rozkładzie występowania opisanym w materiałach IUPAC [83]. Przedstawiono zależność położenia głównego pików pasma od liczby atomów w agregatach monopierwiastkowych dla pierwiastków występujących w typowych związkach organicznych, metaloorganicznych i koordynacyjnych.

Charakterystykę izotopomerową pasma agregatu wyznaczano metodą multiizotopowego modelowania pasma izotopomerowego MMIP (Multiisotopic Modeling of Isotopomeric Pattern) [55, 56, 102], opierając się na zalecanych przez IUPAC wartościach naturalnych abundancji izotopów [103].

4.2. Agregaty pierwiastków podstawowych dla związków organicznych

Postać pasma izotopomerowego może być podstawą wyznaczenia wzoru jonu, choć nie zawsze jest to proste [30, 104, 105]. Zwłaszcza interpretacja widma związku o wyższej masie cząsteczkowej stwarza realne trudności, ponieważ obserwuje się przesunięcia pików podstawowego pasma od wartości przewidywanej.

Położenie m/z pików o największej intensywności w paśmie (parametr *LAPIC*) jest istotne w przyporządkowaniu interpretowanego pasma określone-
mu jonowi. Jeśli klaster zawiera k pików o intensywnościach P_i , wówczas wartość *LAPIC* definiuje następująca zależność:

$$LAPIC = (m_i/z), \text{ gdy } P_i = \max \text{ w zakresie } i = 1 \div k \quad (4.1)$$

Zwykle przyjmuje się, że położenie głównego pików pasma wskazuje na masę jonu, którego to pasmo jest obrazem.

Tabela 4.1. Porównanie pasma izotopowego pojedynczego atomu z centroidalnym klasterem agregatu monopierwiastkowego (podano wartości *LAPIC*)

Bor		Brom		Węgiel		Chlor		Siarka		Krzem	
B	11	Br	79	C	12	Cl	35	S	32	Si	28
B₅₀	540	Br₂₀	1600	C₅₀₀	6005	Cl₂₀	710	S₅₀	1604	Si₅₀	1405

Klaster izotopowy pojedynczego atomu i odpowiadające mu pasmo agregatu różnią się zasadniczo. Masa głównego izotopu pierwiastka nie daje możliwości prognozowania wartości *LAPIC* agregatu, np. przewidywane położenie głównego pików pasma aglomeratu S_{50} wynosi 1600 u, a wartość rzeczywista m/z jest o 4 u wyższa. Świadczy to o obecności w agregacie izotopów siarki o masach wyższych niż dominanta. Wartość położenia pików głównego pasma nie zawsze jest wielkością addytywną, jak to przedstawiono w tabeli 4.1, w której:

$$B_{50} \neq 50 \cdot B, Br_{20} \neq 20 \cdot Br, C_{500} \neq 500 \cdot C, Cl_{20} \neq 20 \cdot Cl, S_{50} \neq 50 \cdot S \text{ i } Si_{50} \neq 50 \cdot Si$$

Dla każdego z agregatów położenie głównego pików centroidu jest przesunięte o kilka jednostek w porównaniu z położeniem przewidywanym na podstawie masy głównego izotopu pierwiastka: -10 dla boru, +20 dla bromu, +5 dla węgla, +10 dla chloru, +4 dla siarki i +5 dla krzemu. Zatem *LAPIC* nie jest parametrem addytywnym, a jego wartość należy traktować jako swoistą dla rozpatrywanego agregatu:

$$(Elem)_i \neq i \cdot Elem$$

właściwość agregatu \neq liczba atomów pierwiastka \bullet właściwość pierwiastka

Proste pasmo składające się z kilku zaledwie pików przekształca się w centroid złożony z wielu sygnałów, którego obrys przypomina krzywą Gaussa. Układ ten jest widoczny dla B_{50} , Br_{20} , C_{500} i Cl_{20} . W przypadku Br_{20} i Cl_{20} piki pasma położone są przy co drugiej, całkowitej wartości m/z. Klaster agregatu S_{50} wykazuje charakter złożony z dwu składowych, różniących się intensywnościami i przesuniętych względem siebie o 1 u, a pasmo Si_{50} wykazuje asymetryczność kształtu.

Znajomość cech aglomeratu może mieć zasadniczy wpływ na interpretację, np. widma mas. Położenie głównego pików ($LAPIC$) jest parametrem istotnym do wyznaczania wzoru badanego jonu (molekularnego lub fragmentacyjnego), a obserwowane przesunięcie głównego pików pasma bywa przyczyną błędów w wyznaczaniu masy cząsteczkowej i wzoru sumarycznego badanego jonu masowego [106, 107]. Modelowanie pasma izotopomerowego jest metodą, która umożliwia dokładne prognozowanie cech charakterystycznych aglomeratu poprowadzając efekty interpretacji widm.

4.2.1. Przesunięcia głównego pików pasma, współczynnik korekcji izotopowej (ICF)²⁸ dla agregatów monopierwiastkowych [51]

Określenie wpływu występowania pierwiastków izotopowych na położenie pików głównego pasma izotopomerowego przedstawiono na przykładzie węgla, jako podstawowego składnika związków organicznych. Obliczenia pasma izotopomerowego [51] prowadzone dla każdej, kolejnej wartości n spełniają zależność: $LAPIC_{C_n} \neq n \cdot LAPIC_{C_1}$, gdy $n > 92$ (dla $n = 91$ wynosi 1092 u, a dla $n = 92$ wynosi 1105 u zamiast 1104 u). Wykonano obliczenia dla wszystkich punktów w zakresie $n = 1-1000$ i stwierdzono obecność jeszcze 9 takich odstępstw, układających się w szereg arytmetyczny ($n = 90, 181, 272, 363, 454, 545, 636, 727, 818, 909$ i 1000) dający opisać się wyrażeniem $90 + a \cdot 91$. Funkcja rosnąca, będąca obrazem graficznym zależności $LAPIC_C = f(n)$ nie akcentuje wspomnianych odstępstw, dlatego też zdecydowano się na przedstawienie zależności w formie pochodnej:

$$\Delta LAPIC_C = \frac{d(LAPIC_C)}{dn} \quad (4.2)$$

lub prościej: $\Delta LAPIC = LAPIC_{(n)} - LAPIC_{(n-1)}$ (4.3)

Wartość ta w badanym zakresie wynosi 12 u, lecz w wymienionych punktach osiąga 13 u. Wartość parametru $LAPIC_C$ dla agregatów węgla można zatem wyznaczyć ze wzoru:

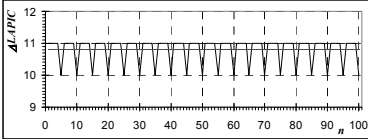
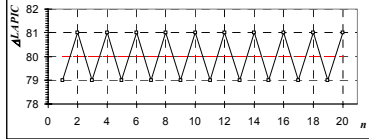
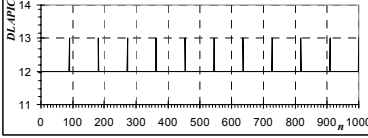
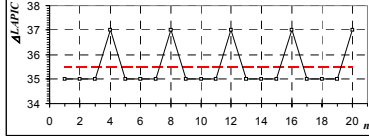
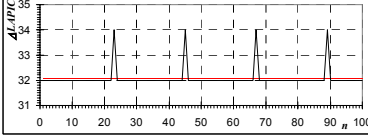
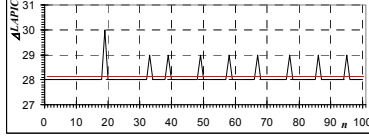
²⁸ Isotopomeric Correction Factor

$$LAPIC_C = 12 \cdot n + INT\left(n + \frac{1}{91}\right)^{29} \quad (4.4)$$

Zależność ta zawiera dwa człony – pierwszy dotyczy obliczeń monoizotopowych, drugi zaś współczynnik korekcyjny izotopowości, **ICF** – Isotomeric Correction Factor (obliczany jako liczba całkowita) [50]:

$$LAPIC_C = 12 \cdot n + ICF_C \quad (4.5)$$

Tabela 4.2. Położenia pików głównych w pasmach izotopomerowych agregatów ($Elem)_n$ dla pierwiastków tworzących typowe związki organiczne

<p>Bor 10,811</p>  <p>różnice $n =$ każdy 5^{ty}</p> $ICF_B = -INT\left(\frac{n}{5}\right) \quad (4.6)$	<p>Brom 79,904</p>  <p>różnice $n =$ każdy 2^{gi}</p> $ICF_{Br} = +2 \cdot INT\left(\frac{n}{2}\right) \quad (\text{wzór 4.7})$
<p>Węgiel 12,011</p>  <p>różnice $n = 90$ i dalej każdy 91^{szy}</p> $ICF_C = +INT\left(\frac{n+1}{91}\right) \quad (4.8)$	<p>Chlor 35,4527</p>  <p>różnice $n =$ każdy 4^{ty}</p> $ICF_{Cl} = +2 \cdot INT\left(\frac{n}{4}\right) \quad (4.9)$
<p>Azot 14,0067</p> $ICF_N = +1_{(\text{if } n > 272)} \quad (4.10)$	<p>Tlen 15,9994</p> $ICF_O = +2_{(\text{if } n > 490)} \quad (4.11)$
<p>Siarka 32,066</p>  <p>różnice $n = 23, 45, 67$ i 89</p> $ICF_S = +2 \cdot INT\left(\frac{n-1}{22}\right) \quad (4.12)$	<p>Krzem 28,0855</p>  <p>różnice $n = 19$ (2), 33 (1), 39(1), 49(1), 58(1), 67(1), 77 (1), 86 (1) i 95 (1) (nieregularnie)</p> $ICF_{Si} = +2_{(\text{if } n > 18)} + 1_{(\text{if } n > 32)} + 1_{(\text{if } n > 38)} + 1_{(\text{if } n > 48)} + 1_{(\text{if } n > 57)} + 1_{(\text{if } n > 66)} + 1_{(\text{if } n > 76)} + 1_{(\text{if } n > 85)} + 1_{(\text{if } n > 94)} \quad (4.13)$

Aglomeraty innych pierwiastków, zasadniczych dla związków organicznych przeliczono w taki sam sposób. $\Delta LAPIC$ wyznaczone dla poszczególnych pierwiastków przybierają następujące wartości:

- ◆ bor (do **B**₁₀₀, wartości 10 i 11 u),
- ◆ brom (do **Br**₂₀, wartości 79 i 81 u),
- ◆ węgiel (do **C**₁₀₀₀, wartości 12 i 13 u),

²⁹ *INT* – integer = całkowita część liczby

- ◆ chlor (do Cl_{20} , wartości 35 i 37 u),
- ◆ siarka (do S_{100} , wartości 32, 33 i 34 u),
- ◆ krzem (do Si_{100} , wartości 28, 29 i 30 u).

W tabeli 4.2 zamieszczono średnie masy atomowe [1c], wykresy zależności $\Delta LAPIC = f(n)$, położenia punktów, w których występują odchylenia i równania pozwalające na wyliczenie położenia głównego pików w paśmie izotopomerowym przy różnych wartościach n . Funkcję $\Delta LAPIC = f(n)$ przedstawia linia prosta $\Delta LAPIC = \text{const}$, od której odbiegają jedynie niektóre punkty. Szczególnym przypadkiem jest wykres dla $(\text{Br})_n$, który ma kształt „zębów piły”, przybierając na przemian wartości 79 i 81 u. Równania opisujące zależności $ICF = f(n)$ przedstawiono w dolnej części pola każdego z pierwiastków. Oddzielnie potraktowano agregaty $(\text{N})_n$ i $(\text{O})_n$, ponieważ różnice położenia występują przy bardzo dużych wartościach n ($n_{\text{N}} = 272$, $n_{\text{O}} = 490$), pierwiastki te można zatem traktować jako monoizotopowe.

Wszystkie przedstawione przykłady agregatów monopierwiastkowych wykazują wyraźne regularności, które pozwalają na wyznaczenie wzoru $ICF = f(n)$. Wyjątkiem jest krzem, dla którego nie udało się określić odpowiedniej relacji pomiędzy liczbą atomów w agregacie a położeniem głównego pików w paśmie izotopomerowym.

Znając wartość ICF można wyliczyć położenie korzystając z zależności:

$$LAPIC_e = m_d \cdot n_e + ICF_e \quad (4.14)$$

gdzie m_d oznacza masę dominującego izotopu pierwiastka (dla Br $m_d = 79$ u), a n_e jest liczbą atomów pierwiastka e w agregacie.

Forma klastrów agregatów mieszanych chloru i bromu (Br_mCl_n) została wyliczona (do 8 atomów każdego z halogenów) już w pracach Beynona [64b]. Ze względu na szczególne znaczenie organicznych chloro- i bromopochodnych obliczono szczegółowo położenia pików głównych dla agregatów zawierających do 20 atomów każdego z tych pierwiastków.

Większość z wyliczonych wartości można wyznaczyć z następujących zależności empirycznych:

$$LAPIC_{\text{Br+Cl}} = 79 \cdot n_{\text{Br}} + 35 \cdot n_{\text{Cl}} + 2 \cdot \text{INT} \left(\frac{n_{\text{Br}}}{2} + \frac{n_{\text{Cl}}}{4} \right) \quad (4.15)$$

$$\text{i } ICF_{\text{Br+Cl}} = 2 \cdot \text{INT} \left(\frac{n_{\text{Br}}}{2} + \frac{n_{\text{Cl}}}{4} \right) \quad (4.16)$$

gdzie $n_{\text{Br}} = 0 \div 20$, a $n_{\text{Cl}} = 0, 2, 4, 6, 8, 10 \div 20$.

4.2.2. Możliwości aplikacji współczynnika korekcji izotopowej (ICF) w interpretacji widm masowych związków organicznych

Związki organiczne o średnich i wysokich masach molekularnych cechują istotne różnice pomiędzy doświadczalną a przewidywaną postacią pasma jonu. Problem ten ma swoje źródło w fakcie występowania jonu w postaci mieszaniny izotopomerów. Położenie pików głównego pasma jonu ma zasadnicze znaczenie dla interpretacji widma mas, ponieważ stanowi ono podstawę sformułowania hipotezy dotyczącej wzoru tego jonu. Przesunięcie położenia głównego pików prowadzi często do błędnego określenia masy jonu, jak i jego wzoru [106, 107]. Można przyjąć, że wartość parametru $LAPIC$ dla monopierwiastkowego agregatu jest określona wzorem:

$$LAPIC_e = m_d \cdot n_e + ICF_e \quad (4.17)$$

gdzie m_d masa dominującego izotopu pierwiastka (dla Br $m_d = 79$ u) a n_e liczba atomów pierwiastka e w agregacie.

Oznacza to, że wartość położenia jest obliczana jako suma dwóch składników:

- komponentu monoizotopowego ($m_d \cdot n_e$ – dla dominującego izotopu),
- współczynnika korekcyjnego izotopowości (ICF_e).

Wartość globalną parametru $LAPIC_{\Sigma}$ można wyznaczyć ze wzoru uwzględniającego agregaty wszystkich pierwiastków tworzących cząsteczkę związku:

$$LAPIC_{\Sigma} = \sum_{i=1}^k (m_{d_i} \cdot n_{e_i}) + ICF_{\Sigma} \quad (4.18)$$

Pierwsza część wzoru dotyczy monoizotopowego obliczenia opartego na masie dominującego izotopu każdego z występujących pierwiastków. Ta część wzoru jest addytywna. Drugim składnikiem parametru jest całkowity współczynnik korekcyjny izotopowości ICF_{Σ} . Pomimo iż wartość współczynnika zależy od występujących agregatów pierwiastkowych, nie jest ona właściwością addytywną:

$$ICF_{\Sigma} \neq \sum ICF_e$$

Pierwiastki takie jak wodór, jod, fluor czy fosfor zaliczane są do monoizotopowych (tzn. $ICF = 0$). Na podstawie przedstawionych wyników do tej grupy można także zaliczyć azot i tlen ($ICF = 0$), których wartość współczynnika korekcji izotopowej zmienia się dopiero przy $n > 272$ (dla N) i $n > 490$ (dla O). Tak duże liczby atomów tlenu i azotu mogą występować, np. w biopolimerach [29].

4.3. Agregaty pozostałych pierwiastków poliizotopowych

Obecność ciężkiego heteroatomu, (zazwyczaj metalu) w widmach masowych związków metaloorganicznych i kompleksów a zwłaszcza szczególnie zawartość izotopów naturalnych powoduje złożoność widma mas, co je różni od

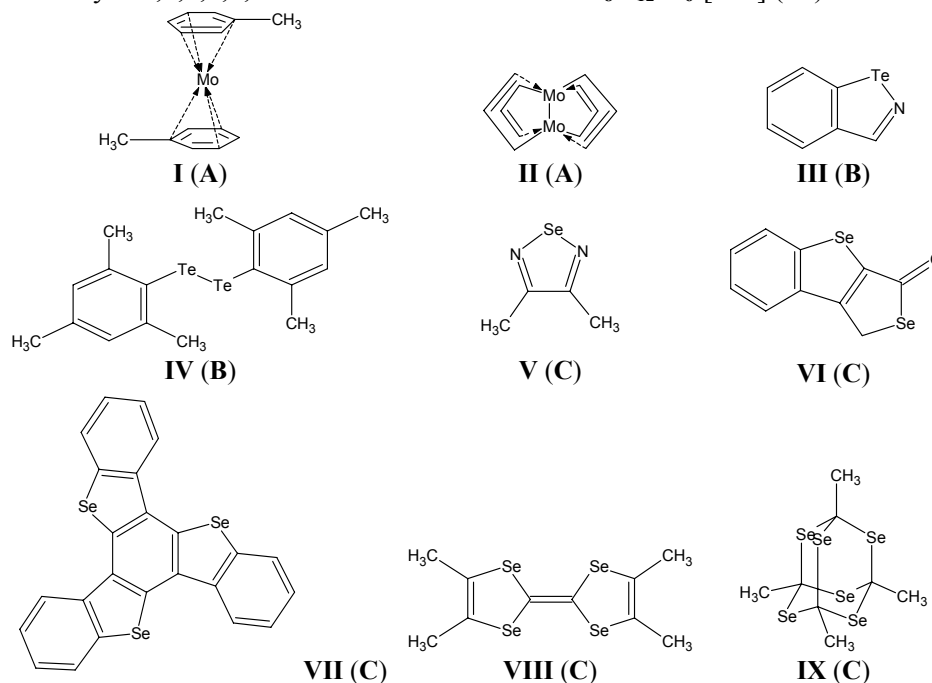
widm związków organicznych. Na 74 pierwiastki, które nie tworzą typowych związków organicznych około 40 występuje w postaci 3 lub więcej trwałych izotopów [26]. Pierwiastki takie jak: Dy, Gd, Hg, Mo, Nd, Ru, Sm, Sn, Te, Xe i Yb mają 7 więcej izotopów naturalnych, a szerokość ich profili izotopowych osiąga 13 Da [36]. Fakt ten w połączeniu z obecnością ligandów czy też podstawników organicznych powoduje szczególnie złożony układ sygnałów w pasmach jonów masowych związków metaloorganicznych i koordynacyjnych.

Podczas analizy widm masowych związków zawierających w cząsteczce atomy pierwiastków izotopowych często obserwuje się rozbieżności pomiędzy położeniem głównego piku pasma molekularnego a deklarowaną literaturowo masą molową. Zjawisko to przedstawiono na poniższych przykładach:

Przykład A. Związki molibdenu: bis[(1,2,3,4,5,6-eta.)-metylo-benzo-molibden $C_{14}H_{16}Mo$ [108] (I) i tetrakis-(eta.3-2-propenylo)-dimolibden $C_{12}H_{20}Mo_2$ [109] (II)

Przykład B. Związki telluru: benzoizotellurazol C_7H_5NTe [110] (III) i ditellurek bis(2,4,6-trimetylofenylowy) $C_{18}H_{22}Te_2$ [111] (IV)

Przykład C. Związki selenu: dimetylo-1,2,5-selenadiazol $C_4H_6N_2Se$ [112] (V), selenolo[3,4-b][1]benzoselenofen-3(1H)-on $C_{10}H_6OSe_2$ [113, 114] (VI), tris(benzo[b]selenofeno)[2,3:2',3':2'',3'']benzen $C_{24}H_{12}Se_3$ [89] (VII), tetrametylo-tetraselena-fulwalen $C_{10}H_{12}Se_4$ [115] (VIII) i 1,3,5,7-tetrametylo-2,4,6,8,9, 10-heksaselena-adamantan $C_8H_{12}Se_6$ [116] (IX)



Przykład A dotyczy związków molibdenu o różnych liczbach atomów Mo w cząsteczce. Dla $C_{14}H_{16}Mo$ (I) położenie pików głównych jest zgodne z masą molową opisaną w literaturze. Dla $C_{12}H_{20}Mo_2$ obie te wartości różnią się o +4 u, tzn. masa molowa jest większa i na wykresie nie wiąże się z pikami głównymi, lecz z innym sygnałem pasma o znacznie mniejszej intensywności. Takie samo zjawisko obserwuje się w przypadku związków telluru w przykładzie B; różnica wynosi +4 u. Przykład C dotyczy związków seleno-organicznych, różnica m/z wynosząca 2 u występuje dla $C_{24}H_{12}Se_3$ i $C_{10}H_{12}Se_4$ a nawet 4 w przypadku $C_8H_{12}Se_6$. Doświadczalne pasma molekularne opisanych związków przedstawiono w tabeli 4.3. Wzory rozpatrywanych związków można przedstawić w postaci sumy dwóch składników, tzn. składowej organicznej (agregat złożony z pierwiastków tworzących podstawowe związki organiczne) i składowej multiizotopowej (agregat złożony z atomów pozostałych pierwiastków):

$$\text{Związek} = (\text{Org}) + (\text{Elem})_n \quad (4.19)$$

Tabela 4.3. Doświadczalne pasma molekularne przykładowych związków molibdenu, telluru i selenu [89, 108 ÷ 116]

Związek M [u]	$C_{14}H_{16}Mo$ 282	$C_{12}H_{20}Mo_2$ 360	C_7H_5NTe 233	$C_{18}H_{22}Te_2$ 498	
Pasma molekularne					
Położenie pików głównego m/z	282	356	233	494	
	Przykład A		Przykład B		
Związek M [u]	$C_4H_6N_2Se$ 162	$C_{10}H_6OSe_2$ 302	$C_{24}H_{12}Se_3$ 540	$C_{10}H_{12}Se_4$ 452	$C_8H_{12}Se_6$ 588
Pasma molekularne					
Położenie pików głównego m/z	162	302	538	450	584
	Przykład C				

Konsekwencje takiego rozwiązania pozwalają znaleźć przyczynę obserwowanych rozbieżności pomiędzy deklarowaną masą molową związku a położeniem

zeniem głównego pikę jego izotopomerowego pasma molekularnego (tab. 4.4). Odpowiednie wartości (Org) , $(Elem)_1$ i $(Elem)_n$ zostały obliczone metodą MMIP – modelowania pasma izotopomerowego [54].

We wszystkich przypadkach masa molowa jest równa wartości znajdującej się w kolumnie Σ_i , a położenie pikę głównego jest takie samo, jak wartości w kolumnie Σ . Wartości w kolumnie Σ_i obliczono z zależności:

$$\Sigma_i = (Org) + n \cdot (Elem) \quad (4.20)$$

a wartość w kolumnie Σ :

$$\Sigma = (Org) + (Elem)_n \quad (4.21)$$

Tabela 4.4. Relacje masy molowej i położenia głównego pikę pasma molekularnego przykładowych połączeń molibdenu, telluru i selenu

Związek	Wzór	Masa		Położenie					Położenie pikę
		M^{30}	M_{sr}^{31}	$(Org)^{32}$	$n(Elem)_i^{33}$	Σ_i^{34}	$(Elem)_n^{35}$	Σ^{36}	głównego
		u	u	m/z	m/z	m/z	m/z	m/z	<i>LAPIC</i>
I	$C_{14}H_{16}Mo$	282	280,2210	184	98	282	98	282	282
II	$C_{12}H_{20}Mo_2$	360	356,1708	164	196	360	192	356	356
III	C_7H_5NTe	233	234,7234	103	130	233	130	233	233
IV	$C_{18}H_{22}Te_2$	498	493,5727	238	260	498	256	494	494
V	$C_4H_6N_2Se$	162	161,0651	82	80	162	80	162	162
VI	$C_{10}H_6OSe_2$	302	300,0770	142	160	302	160	302	302
VII	$C_{24}H_{12}Se_3$	540	537,2393	300	240	540	238	538	538
VIII	$C_{10}H_{12}Se_4$	452	448,0453	132	320	452	318	450	450
IX	$C_8H_{12}Se_6$	588	581,9433	108	480	588	476	584	584

Niewielka liczba atomów węgla, azotu i tlenu nie wpływa na przesunięcie położenia głównego pikę pasma [20b, 20f, 117] poza wartość oczekiwaną³⁷. Zgodność wartości Σ i *LAPIC* dowodzi, że ustalając relację pomiędzy położeniem głównego pikę pasma a masą molową należy uwzględnić agregat pier-

³⁰ Mw (Molecular weight) – wartość masy molowej opisana w bazie widm mas

³¹ Mw_{sr} – masa molowa wyznaczona na podstawie średnich mas atomowych zalecanych przez IUPAC.

³² (Org) – agregat “organiczny” – część składowa cząsteczki związku.

³³ $(Elem)_i$ – masa pojedynczego atomu pierwiastka izotopowego występującego w cząsteczce.

³⁴ $\Sigma_i = (Org) + n \cdot (Elem)_i$

³⁵ $(Elem)_n$ – położenie pikę głównego pasma agregatu pierwiastka izotopowego występującego w cząsteczce.

³⁶ $\Sigma = (Org) + (Elem)_n$

³⁷ Wartość oczekiwana położenia głównego pikę pasma – wartość wyliczona na podstawie mas dominujących izotopów, bez uwzględnienia defektu masy.

wiastka monoizotopowego, ponieważ skład izotopomerowy nie podlega regułom addytywności, podobnie jak to stwierdzono dla związków organicznych (podrozdział 4.2).

4.3.1. Analiza wartości LAPIC agregatów monopierwiastkowych występujących w związkach koordynacyjnych i metaloorganicznych [117]

Dalsze rozważania dotyczą ustalenia różnic pomiędzy masą jonu a położeniem głównego pików w paśmie tego jonu, a zwłaszcza w paśmie molekularnym. Obliczono przypadki monopierwiastkowych aglomeratów (*Elem*)_n (*n* = 1÷10), 46 pierwiastków izotopowych (PIE): Ag, Ba, Ca, Cd, Ce, Cr, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Hf, Hg, Ir, K, Kr, Li, Lu, Mg, Mo, Nd, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rb, Re, Ru, Sb, Se, Sm, Sn, Sr, Te, Ti, Tl, V, W, Xe, Yb, Zn i Zr.

Wzór elementarny jonu mas jest zwykle ustalany wykorzystując położenie pików głównego pasma (*LAPIC*) w m/z. Liczbę atomów pierwiastków we wzorze kompletuje się do uzyskania równości prognozowanej masy jonowej i położenia najsilniejszego sygnału. Ewentualne rozbieżności kompensuje się poprzez odpowiednią zmianę liczby atomów wodoru występujących we wzorze jonu. Błędy takiego rozwiązania ujawniają się dopiero w trakcie ustalania struktury cząsteczki, powodując problemy, np. w rozmieszczeniu wiązań. Wydaje się, że modelowanie pasma izotopomerowego umożliwi rozwiązanie tego problemu.

Wykonano obliczenia dla agregatów selenu od **Se** do **Se**₁₀ (tab. 4.5) i porównano je z danymi doświadczalnymi [118], dostępnymi w bazie NIST-2000³⁸. Wykonano także widmo masowe par selenu Se₈³⁹ (Uzupełnienie, rys. 4A). Obliczone wartości *LAPIC* są równe położeniom pików głównych, wyznaczonym doświadczalnie na podstawie widma masowego selenu Se₈ [118]. Obliczone wartości *LAPIC* nie są addytywne, np. pik główny pasma Se jest położony przy 80 m/z, ale *LAPIC* dla trzech Se (Se₃) jest równy m/z 238 (nie 240, jak byłoby przy 3•Se). Różnice dla monopierwiastkowych agregatów Se_{1÷10} przedstawiono w tabeli 4.5. Wzrostowi liczby atomów w aglomeracie towarzyszy ewolucja formy pasma od naturalnego składu izotopowego dla Se poprzez układy pośrednie do wyraźnie ukształtowanego centroidu, o kształcie zbliżonym do symetrycznego dla Se₁₀. Wyniki doświadczalne wykazują wystarczającą zgodność z wartościami wyliczonymi teoretycznie.



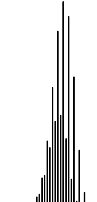
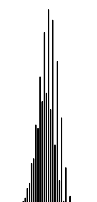

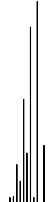

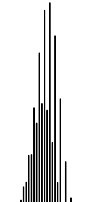
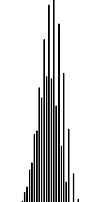

Obraz tego zjawiska jest łatwiej interpretowalny w postaci pierwszej pochodnej (*ΔLAPIC*)⁴⁰ (rys. 4.1).

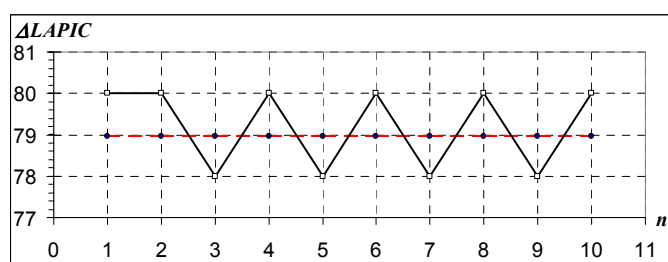
³⁸ ACD/Spec DB ver. 4.09/ 21 Sep. 1999.

³⁹ Dwusektorowy spektrometr mas AMD 402 (Intectra, Niemcy), jonizacja EI (70 eV, 0,5 mA), napięcie przyspieszające 8 kV, temperatura źródła 200°C, temperatura wlotu 80÷120°C, przemiatanie m/z > 51 u.

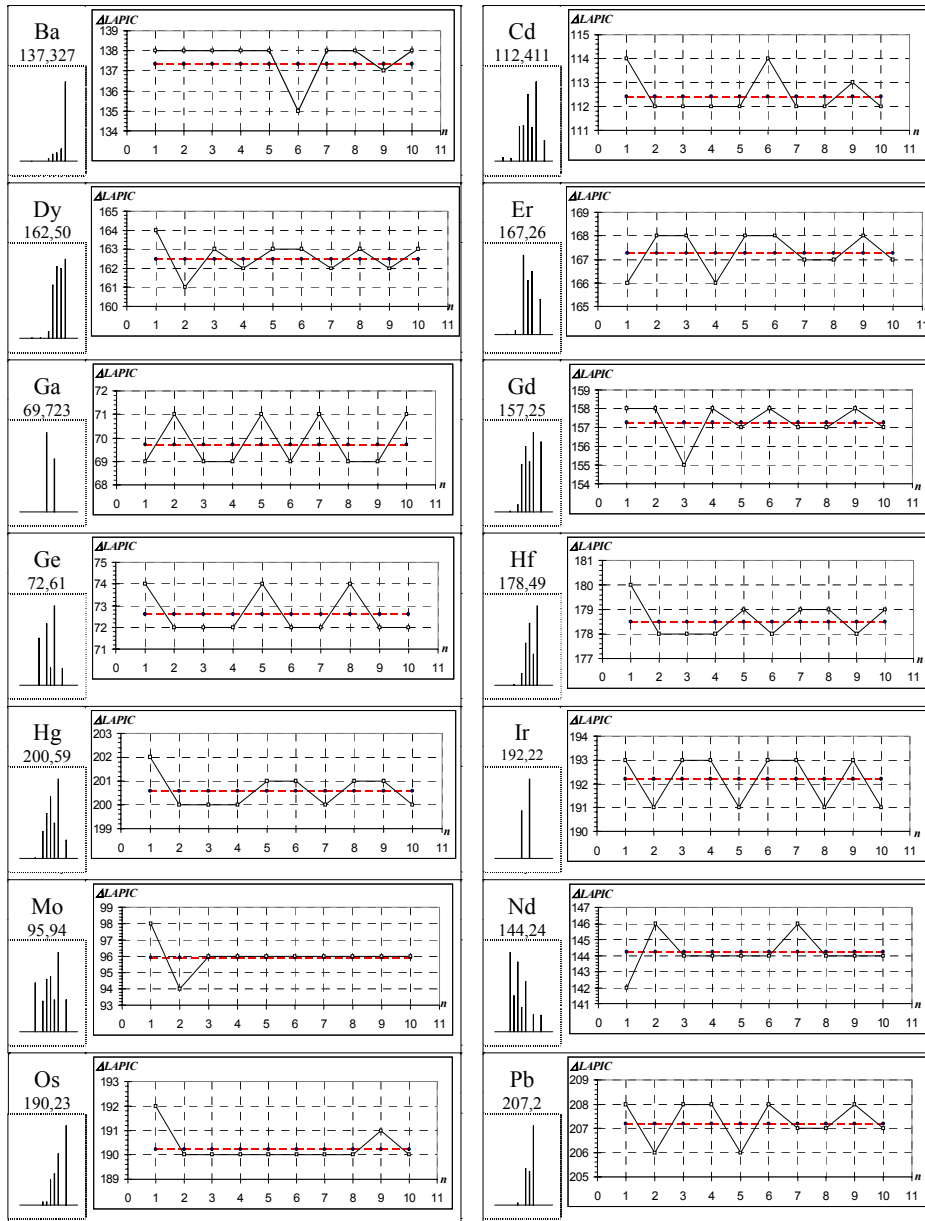
⁴⁰ *ΔLAPIC* – przedstawia różnicę w m/z pomiędzy wartościami dwóch sąsiednich agregatów.

Tabela 4.5. Pasmo izotopomerowe i położenie głównego pików obliczone dla agregatów Se_n ($n = 1 \div 10$)

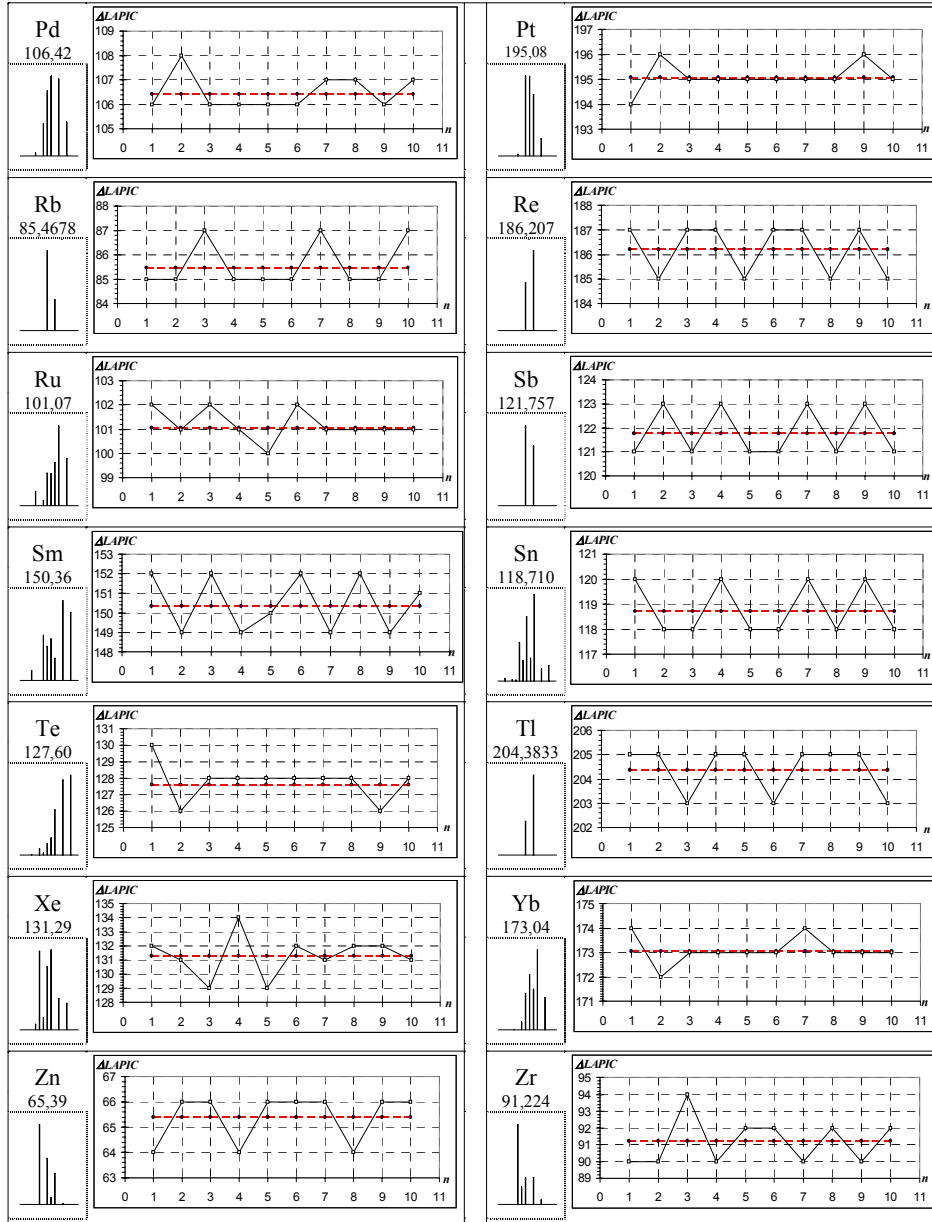
agregat	Se	Se ₃	Se ₅	Se ₇	Se ₉
Pasmo molekularne					
LAPIC m/z	80	238	396	554	712
Δ LAPIC [m/z]	Se	Se ₃ -Se ₂	Se ₅ -Se ₄	Se ₇ -Se ₆	Se ₉ -Se ₈
	80	78	78	78	78
agregat	Se ₂	Se ₄	Se ₆	Se ₈	Se ₁₀
Pasmo molekularne					
LAPIC m/z	160	318	476	634	792
Δ LAPIC [m/z]	Se ₂ -Se	Se ₄ -Se ₃	Se ₆ -Se ₅	Se ₈ -Se ₇	Se ₁₀ -Se ₉
	80	80	80	80	80

Rys. 4.1. Obraz graficzny różnic położenia pików głównych agregatów Se_n w zależności od liczby atomów w klastrze (Δ LAPIC = $f(n)$)

Linia przerywana odnosi się do średniej masy atomowej pierwiastka [34]. Liczba n atomów pierwiastka tworzącego agregat zawiera się pomiędzy 1 a 10, co charakteryzuje chyba większość badanych związków metaloorganicznych i koordynacyjnych pierwiastków występujących w postaci kilku naturalnych izotopów. Uzyskane wyniki przedstawiono w formie graficznej w tabeli 4.6.

Tabela 4.6. Różnice położenia głównych pików w pasmach agregatów $(Elem)_n$ pierwiastków izotopowych

cd. tabeli 4.6



Spośród przebadanych 46 PIE stwierdzono, że w 9 przypadkach $ICF = 0$; dotyczy to Li (2)⁴¹, K (3), Ca (6), Ti (5), V (2), Cr (4), Fe (4), Kr (6) i Lu (2). Powodem tego jest zdecydowana dominacja jednego z izotopów (Ca, K, Li, Lu, V) lub układ symetryczny wartości abundancji izotopów wokół głównego izotopu (Cr, Fe, Kr, Ti). Wartości $LAPIC$ dla agregatów tych pierwiastków opisują następujące równania:

$$LAPIC_{Ca} = 40 \cdot n \quad (4.22), \quad LAPIC_{Cr} = 52 \cdot n \quad (4.23),$$

$$LAPIC_{Fe} = 56 \cdot n \quad (4.24), \quad LAPIC_K = 39 \cdot n \quad (4.25),$$

$$LAPIC_{Kr} = 84 \cdot n \quad (4.26), \quad LAPIC_{Li} = 7 \cdot n \quad (4.27),$$

$$LAPIC_{Lu} = 175 \cdot n \quad (4.28), \quad LAPIC_{Ti} = 48 \cdot n \quad (4.29),$$

$$LAPIC_V = 51 \cdot n \quad (4.30).$$

Innych 9 pierwiastków wykazuje prawidłowości ICF dające się przedstawić równaniem:

$$ICF_{Ag} = +2 \cdot INT\left(\frac{n+1}{2}\right) \quad (4.31), \quad ICF_{Ce} = +2 \cdot INT\left(\frac{n}{9}\right) \quad (4.32),$$

$$ICF_{Cu} = +2 \cdot INT\left(\frac{n}{3}\right) \quad (4.33), \quad ICF_{Eu} = -2 \cdot INT\left(\frac{n+1}{2}\right) \quad (4.34),$$

$$ICF_{Mg} = +2 \cdot INT\left(\frac{n}{6}\right) \quad (4.35), \quad ICF_{Ni} = +2 \cdot INT\left(\frac{n}{3}\right) \quad (4.36),$$

$$ICF_{Se} = -2 \cdot INT\left(\frac{n-1}{2}\right) \quad (4.37), \quad ICF_{Sr} = -2 \cdot INT\left(\frac{n}{8}\right) \quad (4.38),$$

$$ICF_W = -2 \cdot INT\left(\frac{n}{10}\right) \quad (4.39).$$

W tych przypadkach pierwszym członem wzoru na $LAPIC$ jest $n \cdot (Elem)_1$. Pozostałe pierwiastki nie wykazywały regularności wartości $LAPIC_E$ czy też ICF_E , dlatego też zaprezentowano je w formie wykresów zależności $LAPIC_E = f(n)$, które przedstawiono w tabeli 4.6. Każde z pól tabeli zawiera następujące dane:

- ◆ w lewej części pola – średnią masę atomową [12] i kształt pasma izotopowego pojedynczego atomu pierwiastka,
- ◆ w prawej części pola – wykres przedstawiający zależność wartości $\Delta LAPIC$ w funkcji liczby atomów pierwiastka w agregacie (linia ciągła) i średnią masę atomową (linia przerywana).

⁴¹ W nawiasie podano liczbę trwałych izotopów pierwiastka.

4.3.2. Różnice pomiędzy wartościami LAPIC a masami jonów masowych związków metaloorganicznych i koordynacyjnych

Obliczone wartości $\Delta LAPIC$ agregatów tego samego pierwiastka różnią się od siebie od 2 do 5 u. Największą grupą pierwiastków (28) jest ta, w której zmienność ($Elem_n$ i $Elem_{n+1}$) nie przekracza 2 u m/z. Dla czterech pierwiastków (Ba, Dy, Gd i Sm) zmienność wartości $\Delta LAPIC$ wynosi 0÷3 u, a dla czterech (Mo, Nd, Te i Zr) wartość największa osiąga 4 u. Najwyższą wartość różnicy (5 u) obliczono dla Xe. Dla 22 pierwiastków ICF_E jest funkcją monotonicznie malejącą: Ba, Cd, Dy, Eu, Gd, Ge, Hf, Hg, Ir, Mo, Os, Pb, Re, Ru, Se, Sm, Sn, Sr, Te, Tl, W i Yb. W przypadku 11 pierwiastków osiąga on wartości mniejsze od -10 u. Wśród wartości ujemnych najmniejszą wartość wyznaczono w przypadku Te ($Te_{10} -22$ u), a najwyższą dla W ($W_{10} -2$ u). Dla Xe funkcja ICF , choć ogólnie malejąca, nie jest jednak monotoniczna. Zależność $ICF_E = f(n)$ ma charakter monotonicznie rosnący w przypadku 14 pierwiastków – Ag, Ce, Cu, Er, Ga, Mg, Nd, Ni, Pd, Pt, Rb, Sb, Zn, Zr. Najmniejsze odchylenie stwierdzono dla Ce ($Ce_{10} + 2$ u), różnice przekraczające wartość 10 u obliczono dla 7 pierwiastków, przy czym największą wartość wykazuje Nd ($Nd_{10} +22$ u). Wartość średniej masy atomowej zwykle odbiega od środka przedziału zmienności LAPIC. Fakt ten tłumaczy trudności ustalenia wzoru jonu wykorzystując wartości średnie mas.

Występujący brak regularności przesunięć głównego piksu pasma izotopomerowego powoduje, że próby wyznaczenia współczynnika korekcji izotopowej (ICF) wydają się bezzasadne. Fakt ten różni pierwiastki izotopowe „nieorganiczne” od „organicznych”, dla których można wyliczyć wartość współczynnika.

Hipoteza o wzorze jonu odpowiadającemu badanemu pasmu jest zasadniczym elementem interpretacji widma mas. Poprawność dalszego postępowania zależy od prawidłowości tego etapu. Sytuację komplikuje powszechne stosowanie w interpretacji masy monoizotopowej lub średniej masy jonowej [20f]. Położenie głównego piksu pasma wynika ze składu pierwiastkowego jonu, a ściślej z jego układu izotopomerowego [51]. Interpretacja nieuwzględniająca przesunięcie głównego piksu pasma prowadzi zwykle do braku zgodności masy jonu i jego wzoru sumarycznego [117]. Zjawisko takie bywa częstą przyczyną istotnych trudności w interpretacji widm mas, zwłaszcza w badaniach związków metaloorganicznych i koordynacyjnych. Obserwowane różnice kompensuje się liczbą atomów wodoru, co fałszuje skład pierwiastkowy związku i utrudnia określenie jego budowy. Problem dotyczy wszystkich pierwiastków występujących w postaci izotopów, ale w tym opracowaniu ograniczono się do pierwiastków, które występują w postaci izotopów naturalnych. Zjawisko prześledzono na przykładzie monopierwiastkowych agregatów $(Elem)_n$, w zakresie $n = 1÷10$.

Parametr $LAPIC$ może być istotną pomocą w interpretacji widm mas, szczególnie związków koordynacyjnych i metaloorganicznych. Sprawdzenie

lub obliczenie jego wartości pozwala na właściwe postawienie hipotezy wzoru sumarycznego związku. Interpretowanie związku (czy jonu) jako sumy aglomeratów pozwala na wykrycie ewentualnych odchyłeń pomiędzy położeniem pików głównego a postulowaną masą jonu bez konieczności stosowania metod modelowania izotopomerowego. Zwykle jednak agregat „organiczny” ma niewielki wpływ na kształt pasma – F i I są monoizotopowe, O i N praktycznie też, C wykazuje swoją izotopowość ok. C_{100} , S powyżej S_{22} , a Si za Si_{18} [85]. Zatem szczegółowa analiza agregatu $(Elem)_n$ wystarcza na poprawną interpretację pasma. Wartości *LAPIC* układają się nieregularnie dla większości z 46 opisanych pierwiastków, występujących w postaci kilku izotopów naturalnych, a sąsiadujące wartości różnią się od 2 do 5 u. Obserwowane różnice położenia pików głównego pasma agregatu i jego masy zawierają się w zakresie $-22 \div +22$ u, co wskazuje, jak istotny jest to problem. W przypadku występowania w cząsteczce jonu atomów kilku różnych pierwiastków izotopowych koincydencja układów izotopomerowych może uniemożliwić użycie prostych rozwiązań (*LAPIC*) i modelowanie pasma izotopomerowego może okazać się niezbędne [119÷122].

Przedstawiona analiza wpływu wielkości aglomeratu monoelementarnego i rodzaju pierwiastka umożliwia prognozowanie parametrów charakterystycznych pasma izotopomerowego, a zwłaszcza szerokości klasteru i położenia głównego jego pików. Pozwala także ocenić rangę agregatu na kształt pasma, dzięki czemu można uniknąć poważnych błędów interpretacyjnych.

5. Modelowanie niskorozdzielczych pasm izotopomerowych jonów (MMIP)

Większość jonów powstających w spektrometrze mas jest reprezentowana przez zespół (pasmo) pików. Przyczyną tego jest obecność różniących się masami izotopomerów jonu. Intensywności poszczególnych sygnałów wynikają ze składu izotopowego pierwiastków tworzących jon. Zależność kształtu pasma od składu izotopomerowego jonu przedstawiono w poprzednich rozdziałach.

Pasmo izotopomerowe w widmie masowym niskiej rozdzielczości jest zwykle określane jako zespół pojedynczych pików izotopowych. Każdy z sygnałów może być przypisany *de facto* nieokreślonej sumie jonów charakteryzujących się jednakową masą nominalną. Średnia masa jonu jest zwykle różna od sumy mas nominalnych pierwiastków, składających się na rozpatrywany jon. Różnica ta nie jest związana z obserwowanym defektem masy. Znajomość teoretycznego rozkładu jonów może być konieczna do identyfikacji pasma izotopomerowego, tzn. przyporządkowania pasma określonemu jonowi.

Interpretacja widma oparta na najwyżej 10% obserwowanych w widmie pików może budzić wątpliwości. Oprócz niewielkiego wykorzystania informacji analitycznych, metoda taka wymaga wsparcia innymi technikami instrumentalnymi. Interpretacja całego pasma jonu uwzględnia zarówno skład pierwiastkowy jonu, jego budowę strukturalną, jak też charakterystyczny skład izotopowy. Nie należy zatem ograniczać się jedynie do wykorzystania dominujących sygnałów pasma (lub pików), których położenie jest zgodne z pierwotną hipotezą interpretatora.

Najlepiej jest oprzeć interpretację na pikach głównych widma i wspomóc ją pikami izotopomerowymi tworzącymi pasma opisywanych jonów mas. Względne intensywności pików izotopomerowych pasma dają się wyznaczyć na podstawie składu jonu (wzoru sumarycznego) [123] wykorzystując rozkład naturalnych izotopów [124] pierwiastków tworzących dany jon. Obliczenia mogą być oparte na rachunku wielomianowym, przy czym pojedynczy wielomian początkowy przedstawia skład izotopowy pierwiastka występującego w badanym związku. Skład izotopomerowy agregatu monoelementarnego reprezentuje odpowiednia potęga wielomianu podstawowego, której wykładnik odpowiada liczbie atomów w agregacie. Obliczenie składu izotopomerowego jonu wymaga zastosowania rachunku prawdopodobieństwa i kombinatoryki [125]. Złożoność składu pierwiastkowego – obecność pierwiastków poliiizotopowych [126] (PIE) czy wysoka wartość masy molowej znacznie utrudniają przyporządkowanie pasma jonowi o właściwym składzie elementarnym, niemniej rozwiązanie tego problemu jest całowicie wykonalne.

5.1. Metody interpretacji pasm

Już w 1966 roku Brauman [127] zastosował metodę najmniejszych kwadratów do korekcji składu izotopowego. Zaproponowana przez niego procedura zmniejszała efekt błędu w pomiarach intensywności, lecz każdemu z pików należało przyporządkować znany wzór uwzględniający tylko jeden skład izotopowy. Sposób Braumana zmodyfikował Crawford, przystosowując go do traktowania pików jako związanych z większą liczbą składów izotopowych [119]. Niektóre kombinacje, pomimo dobrej zgodności, były usuwane z modelu, tuż przed przedstawieniem ostatecznego rozwiązania, jako mało prawdopodobne. Oba programy, zarówno Braumana, jak i Crawforda, wymagały, aby wszystkie sygnały widma zostały przypisane odpowiednim jonom. Fakt ten prowadził niekiedy do stanu, w którym było więcej niewiadomych niż równań. Deming i Morgan [128] przedstawili zastosowanie metody simplexu do optymalizacji zmiennych określanych statystycznie. Następnie Hilmer i Taylor [70] połączyli simplex z metodą najmniejszych kwadratów. Pierwsze programy wykorzystujące skład izotopowy pierwiastków do interpretacji widm masowych powstały w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku. Rozkład naturalnych izotopów pierwiastków [129] był wykorzystywany do obliczenia pasm jonów molekularnych od czasu prac Dombka [120] i Carricka [126]. Dobre wyniki relacji składu elementarnego jonu i przyporządkowanego mu pasma izotopowego uzyskał Varmusa [121] dla wybranych związków metaloorganicznych, ale późniejsze prace jego grupy są całkowicie poświęcone organizacji spektroskopowych banków wiedzy [125, 130]. Brownbell [122] i Mattson [131] opracowali specjalizowane programy narzędziowe.

Efektywny sposób obliczeń przedstawił w swej publikacji Hsu [98]. W metodzie swej wykorzystał równania diofantyny [132] do obliczeń intensywności względnych pików pasma izotopowego uwzględniających wszystkie możliwe kombinacje izotopów tworzących rozpatrywane pasmo. Dzięki opublikowaniu tekstu programu obliczeniowego działającego w środowisku DOS stał się on dość szeroko znany. Niezależnie od tego autor rozsyłał (na życzenie) dyskietki z nieskompilowanym programem źródłowym.

Widma wykonane za pomocą analizatora pentakwadropolowego zostały opisane przez do Lago i współpracowników z Uniwersytetu Sao Paulo [133]. Dotyczyły one układu sygnałów widma masowego jako konsekwencji występowania pierwiastków poliizotopowych i wyjaśniały model pasma M jonu molekularnego [33, 101] oraz klastra złożonego, zawierającego jon M-H [134]. Jako przykłady użyto prostych związków organicznych.

Bardzo aktywną działalność prowadzono w grupie Rockwooda na Uniwersytecie Brigham Younga, Provo, Utah, USA. Jej efektem był szereg oryginalnych publikacji dotyczących obliczeń i modelowania rozkładu izotopów [123, 135], nawet w złożonych układach aparaturowych MSⁿ [136], które były przez pewien czas kanonem zasad metodycznych w interpretacji klasterów jonów mas.

Zagadnienie modelowania pasma izotopowego widm masowych są opisywane w Polsce dość rzadko. Pierwsza praca na ten temat została zaprezentowana na III Międzynarodowej Konferencji „Computers in Chemistry” w 1994 roku we Wrocławiu [137]. Na następnej konferencji „Komputery w chemii '96” (Polanica 19÷21.09.1996) przedstawiono dwie niezależne od siebie prace. Prezentacja Kapały [138] dotyczyła zastosowania analizy izotopowej w ICP-MS. Prezentowała rozwiązanie doraźne, oparte na diofantynie, opracowane do bieżących, własnych potrzeb. Temat ten nie był kontynuowany [140]. Praca Gorączko [139] dotyczyła modelowania pasma jonu masowego na podstawie naturalnej abundancji izotopów pierwiastków. W 2003 roku ukazała się praca Lamkiewicza i Szymury [141], stanowiąca przystosowane do pracy w systemie Windows rozwinięcie narzędziowe koncepcji wielomianowej [55].

W praktyce kształt pasma jonu masowego określa się zwykle stosując komercyjne programy obliczeniowe [142÷144], wykorzystujące skład pierwiastkowy jonu i naturalne abundancje izotopów pierwiastków. Programy te niejednokrotnie stanowią procedury wchodzące w skład firmowego oprogramowania spektrometru. Ich stosowanie jest tak powszechne, że niekiedy kwestionuje się zasadność opracowania nowych rozwiązań.

Konferencyjne prezentacje Gorączko [137, 139] zapoczątkowały szereg jego publikacji z zakresu zastosowania modelowania pasma izotopomerowego w spektrometrii mas związków koordynacyjnych i metaloorganicznych. W prezentowanej pracy przedstawiono ideę izotopomerowej analizy widma mas. Wykonywano także badania mające na celu rozwijanie interpretacyjnych zastosowań tej metody. Ich ukoronowaniem było opracowanie hasła „Isotopic patterns” w encyklopedii spektrometrii mas [38]. Część uzyskanych wyników została przedstawiona i szczegółowo omówiona w niniejszym opracowaniu.

5.2. Bezpośrednie wyznaczanie pasma widma niskorozdzielczego

Model pasma izotopomerowego jonu masowego w widmie niskiej rozdzielczości wyznacza się stosując obliczenia wielomianowe wykorzystując skład elementarny jonu (wzór sumaryczny) i naturalną zawartość trwałych izotopów pierwiastków w przyrodzie. Wyznaczanie względnych intensywności pików jest oparte na rozkładzie statystycznym izotopów naturalnych każdego pierwiastka. Niektóre metody obliczania pików pasma izotopowego związków organicznych wykorzystywały rachunek wielomianowy do wyznaczania rozkładu izotopowego związku o znanym wzorze sumarycznym (tzn. związku o znanym składzie pierwiastkowym i ustalonej liczbie atomów poszczególnych pierwiastków) [7b, 97].

Każde wyrażenie wielomianowe odpowiada innemu z pierwiastków, tworzących badany związek. Każdy z wyrazów podniesiony do odpowiedniej potęgi przedstawia udział agregatu monoelementarnego $(Elem)_m$ zawierającego m atomów tego samego pierwiastka w klasterze izotopomerowym:

$$(a_0 + a_1 + a_2 + \dots + a_{k_A})^m \quad (\text{schemat 5.1})$$

w którym parametry $a_0, a_1, a_2, \dots, a_k$ *etc.* są naturalnymi abundancjami izotopów pierwiastka E_A . Jeśli agregat dotyczący kolejnego pierwiastka E_B charakteryzuje się odpowiednimi oznaczeniami, np. b , a rozkład naturalnych izotopów wielomianem $(b_0 + b_1 + b_2 + \dots + b_k)$, w końcu z_0, \dots, z_j odpowiadają pierwiastkowi E_Z , to iloczyn tych wielomianów podniesionych do właściwych potęg tworzy finalny, wielomianowy czynnik obliczeń:

$$(a_0 + a_1 + a_2 + \dots + a_{k_A})^m \square (b_0 + b_1 + b_2 + \dots + b_{k_B})^n \square \dots \square (z_0 + z_1 + z_2 + \dots + z_{k_Z})^q \quad (\text{schemat 5.2})$$

Kombinacja wszystkich agregatów monopierwiastkowych występujących w związku pozwala na wyznaczenie intensywności pików składających się na pasmo izotopomerowe jonu. Wkład każdego z pierwiastków w rozkład pików pasma jest wyliczany na podstawie składu izotopowego pierwiastków. Hipoteza wzoru sumarycznego jonu umożliwia wyznaczenie składu i kształtu pasma odpowiadającego temu jonowi.

Poniżej przedstawiono procedurę wielomianowego obliczenia sygnałów składowych pasma widma masowego jonu o składzie określonym hipotezą startową. Obliczenia prowadzono wykorzystując zawartości trwałe, naturalnych izotopów pierwiastków określonych we wzorze badanego związku. Na bazie tej procedury oparto program komputerowy do identyfikacji związków metaloorganicznych i koordynacyjnych, a także badania składu jonów powstałych w wyniku fragmentacji tych związków [145÷148]. Metoda ta stanowiła podstawę, na bazie której opracowano kilka innych programów narzędziowych, wspomagających interpretację widm mas. Będzie o nich mowa w dalszej części pracy. Wydaje się, że możliwości aplikacyjne podstawowego programu nie zostały wyczerpane i pozwoli on na rozwiązywanie złożonych interpretacyjnie przypadków, zwłaszcza dotyczących związków koordynacyjnych i metaloorganicznych.

5.3. Opis metody modelowania multiizotopomerowego pasm jonów masowych (MMIP) [55]

Skład izotopowy pierwiastka występującego w związku jest reprezentowany przez prawdopodobieństwo naturalne wystąpienia jego izotopów. Całkowitą charakterystykę izotopową pierwiastka przedstawia wektor o zakresie od m_{min} do m_{max} , zawierający prawdopodobieństwa znalezienia każdego z izotopów tego pierwiastka. Dla przykładu: chlor reprezentowany przez 2 izotopy można przedstawić jako trójmian [0,7577, 0, 0,2423]. Najlżejszym izotopem chloru jest ^{35}Cl (75,77% rozpowszechnienia), izotop ^{36}Cl nie występuje jako naturalny (częstość występowania = 0), a najcięższy z izotopów ^{37}Cl uzupełnia wartość dostępności do 100%. Prawdopodobieństwo wynoszące „0” jest przypisywane izotopom, które nie występują w przyrodzie.

Pasmo izotopowe jonu powstaje w wyniku złożonych obliczeń zawierających elementy rachunku prawdopodobieństwa i kombinatoryki. Każdy z pierwiastków jest reprezentowany przez symbol atomowy, szerokość izotopową WIC, masy izotopów i ich rozpowszechnienie w przyrodzie zgodnie z zaleceniami IUPAC [83, 103]. Częstkowa intensywność pików jest dla każdego jonu miarą sumy częstości występowania wszystkich kombinacji izotopów pierwiastków tworzących dany jon o określonym wzorze sumarycznym i konkretnej masie. Dla jonu o wzorze $(E_1)_{n_1}(E_2)_{n_2}(E_3)_{n_3}\dots(E_z)_{n_z}^+$ wszystkie jony o masie:

$$m_j = \sum_{n=1}^{n_z} \sum_{i=1}^z ({}^I m_{E_i}) \quad (5.1)$$

są podstawą wyliczenia intensywności pików:

$$A_j = \sum_{n=1}^{n_z} \sum_{i=1}^z ({}^I E_i) \quad (5.2)$$

Zwykle stosuje się intensywności względne $P_j = \frac{A_j}{100}$, które są proporcjonalne do prawdopodobieństwa znalezienia jonu o określonej masie. Suma prawdopodobieństwa występowania wszystkich jonów odnoszących się do danego wzoru jonu jest pewnością:

$$\sum_{i=1}^z P_j = 1$$

Pierwszym etapem obliczeń jest mnożenie dwóch wektorów (różnych lub takich samych). Mnożenie, np. czteroelementowego Wektora A z Wektorem B złożonym z pięciu wyrazów prowadzi do utworzenia 20-elementowej maczyzy złożonej z pięciu kolumn i czterech wierszy.

(schemat 5.3)

$$\begin{array}{c} \left[\begin{array}{c} {}^1P_A \\ {}^2P_A \\ {}^3P_A \\ {}^4P_A \end{array} \right] \cdot \left[\begin{array}{ccccc} {}^1P_B & {}^2P_B & {}^3P_B & {}^4P_B & {}^5P_B \end{array} \right] \Rightarrow \left[\begin{array}{ccccc} {}^1P_A \cdot {}^1P_B & {}^1P_A \cdot {}^2P_B & {}^1P_A \cdot {}^3P_B & {}^1P_A \cdot {}^4P_B & {}^1P_A \cdot {}^5P_B \\ {}^2P_A \cdot {}^1P_B & {}^2P_A \cdot {}^2P_B & {}^2P_A \cdot {}^3P_B & {}^2P_A \cdot {}^4P_B & {}^2P_A \cdot {}^5P_B \\ {}^3P_A \cdot {}^1P_B & {}^3P_A \cdot {}^2P_B & {}^3P_A \cdot {}^3P_B & {}^3P_A \cdot {}^4P_B & {}^3P_A \cdot {}^5P_B \\ {}^4P_A \cdot {}^1P_B & {}^4P_A \cdot {}^2P_B & {}^4P_A \cdot {}^3P_B & {}^4P_A \cdot {}^4P_B & {}^4P_A \cdot {}^5P_B \end{array} \right] \\ \text{Wektor A} \quad | \quad \text{Wektor B} \end{array}$$

$$\left[\begin{array}{ccccc} {}^1P_A * {}^1P_B & {}^1P_A * {}^2P_B & {}^1P_A * {}^3P_B & {}^1P_A * {}^4P_B & {}^1P_A * {}^5P_B \\ {}^2P_A * {}^1P_B & {}^2P_A * {}^2P_B & {}^2P_A * {}^3P_B & {}^2P_A * {}^4P_B & {}^2P_A * {}^5P_B \\ {}^3P_A * {}^1P_B & {}^3P_A * {}^2P_B & {}^3P_A * {}^3P_B & {}^3P_A * {}^4P_B & {}^3P_A * {}^5P_B \\ {}^4P_A * {}^1P_B & {}^4P_A * {}^2P_B & {}^4P_A * {}^3P_B & {}^4P_A * {}^4P_B & {}^4P_A * {}^5P_B \end{array} \right] \Rightarrow \left[\begin{array}{c} {}^1P_A * {}^1P_B \\ {}^2P_A * {}^1P_B + {}^1P_A * {}^2P_B \\ {}^3P_A * {}^1P_B + {}^2P_A * {}^2P_B + {}^1P_A * {}^3P_B \\ {}^4P_A * {}^1P_B + {}^3P_A * {}^2P_B + {}^2P_A * {}^3P_B + {}^1P_A * {}^4P_B \\ {}^4P_A * {}^2P_B + {}^3P_A * {}^3P_B + {}^2P_A * {}^4P_B + {}^1P_A * {}^5P_B \\ {}^4P_A * {}^3P_B + {}^3P_A * {}^4P_B + {}^2P_A * {}^5P_B \\ {}^4P_A * {}^4P_B + {}^3P_A * {}^5P_B \\ {}^4P_A * {}^5P_B \end{array} \right]$$

Elementy maczyzy sumowane diagonalnie dają Wektor Σ

Uogólniając – dwa wektory odpowiadają składowi izotopowemu dwóch pierwiastków. Wektor E_A zawiera n_A wyrazów stosownie do składu izotopowego pierwiastka A , a Wektor E_B dotyczy pierwiastka B i zawiera n_B wyrazów. W wyniku mnożenia obu wektorów uzyskuje się macierz złożoną z n_A wierszy i n_B kolumn (lub odwrotnie). Finalny klaster izotopomerowy połączenia $A-B$ (Wektor Σ) odpowiada wynikowi mnożenia obu wektorów.

(schemat 5.4)

$$\begin{array}{c} \begin{bmatrix} {}^1P_A \\ {}^2P_A \\ \vdots \\ {}^{n_A-1}P_A \\ {}^{n_A}P_A \end{bmatrix} \\ \text{Wektor } E_A \end{array} \cdot \begin{array}{c} \begin{bmatrix} {}^1P_B & {}^2P_B & \dots & {}^{n_B-1}P_B & {}^{n_B}P_B \end{bmatrix} \\ \text{Wektor } E_B \end{array} \Rightarrow \begin{array}{c} \begin{bmatrix} N = n_A + n_B - 1 \\ \text{elementów} \\ \text{0 wzorze} \\ \text{ogólnym} \\ \sum_{i=1}^k {}^iP_A \cdot {}^{k-i}P_B \end{bmatrix} \\ \text{Wektor } \Sigma \end{array}, \text{ gdzie } k = \text{numer wiersza} + 1$$

Wszystkie wyrazy Wektora Σ mniejsze od limitu intensywności określonego jako $0,001 \cdot P_{max}$ są zerowane. Wyzerowane wartości brzegowe są eliminowane z Wektora Σ . Wartość limitu jest oparta na powszechnie przyjętej [7b] dokładności wyznaczania intensywności względnej sygnałów w widmach masowych (0,01% pików podstawowego). Następnie dokonuje się zastąpienia wektorów **Wektor $E_A =$ Wektor Σ** , a wektor sumaryczny jest zerowany (**Wektor $\Sigma = 0$**) i procedurę się powtarza. Procedura ta wykonywana jest „krok po kroku”, aż do uwzględnienia wszystkich atomów występujących w związku. Następnie dokonuje się normalizacji (do 100% lub 9999) wyrazów finalnego Wektora Σ , jako końcowej operacji obliczeń.

Przedstawiona procedura jest przeprowadzana sukcesywnie, aż zostaną uwzględnione wszystkie atomy pierwiastków tworzących badany jon. Tak wyliczony wektor finalny normalizuje się (do 100% lub 9999) zgodnie ze wzorem:

$$I_{i(obl.)} = P_i \cdot \frac{I_{\max(dosw.)}}{P_{\max}} \quad (5.3)$$

Stopień dopasowania danych doświadczalnych (opublikowanych w literaturze) i obliczonych, według podanego sposobu, można ocenić na podstawie wartości wariancji:

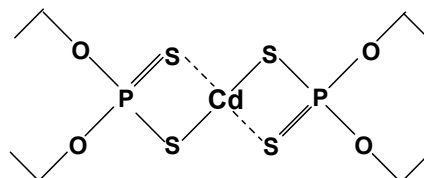
$$s^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (I_{i(dosw.)} - I_{i(obl.)})^2 \quad (5.4)$$

Tak wyznaczony klaster teoretyczny można porównać z odpowiadającym jemu pasmem doświadczalnym, przy czym bierze się pod uwagę tylko te odpowiadające sobie wyrazy, które występują w obu porównywanych pasmach ($I_{i(exp.)} > 0$ i $I_{i(calc.)} > 0$). Wzór ten, proponowany przez Hertza do oceny zgodności wartości prognozowanych i eksperymentalnych, został zaadaptowany przez Biemanna [90] do oceny prognoz w spektrometrii mas.

5.4. Przykłady modelowania klasterów izotopomerowych

Przedstawiony program modelowania przetestowano na kilkuset widmach mas głównie związków metaloorganicznych i koordynacyjnych. Zaprezentowano wyniki uzyskane dla na trzech przykładowych związków, które zostały już wcześniej wykorzystane przez innych autorów w publikacjach do przedstawienia metod wyznaczania pasma jonów masowych. Są to: bis(dietyloditiofosforan)-kadm(II), tetrachloro-boroftalocyanina i pentadieno-trikarbonylotrietylogermiolo-molibden, substancje o złożonych składach pierwiastkowych i skomplikowanej budowie cząsteczek. Wszystkie zawierają w swym składzie atomy pierwiastków poliiizotopowych, co powoduje złożony skład pasma jonu. Wybrano widma sygnowane przez wiarygodnych autorów. Wszystkie przypadki były wcześniej interpretowane innymi metodami, co pozwalało dodatkowo ocenić efekty uzyskane metodą MMIP. Badania dotyczyły pasm jonów molekularnych, które zwykle są klasterami „czystymi”, tzn. pozbawionymi zanieczyszczeń. Wyniki przedstawiono w tabeli 5.1, a modele pasm molekularnych przedstawiono na rysunku 5.1.

5.4.1. Bis(dietyloditiofosforan)-kadm(II) $[(C_2H_5O)_2PS_2]_2Cd$



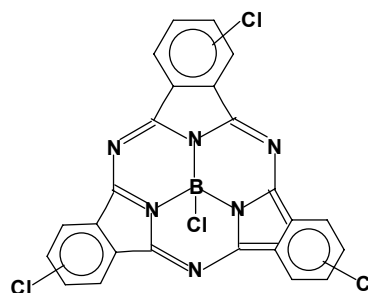
Doświadczalne widmo mas bis(dietyloditiofosforanu)-kadm(II) pochodzi z prac Płaziaka [148] i zawiera intensywne pasmo molekularne w zakresie 480÷489 u. Porównano intensywności pasma doświadczalnego (8 pików) z pasmem obliczonym (zawierającym 10 pików); wyliczona wartość wariancji wynosi $s^2 = 1,26$, co świadczy o dobrej zgodności modelu z danymi doświadczalnymi.

Tabela 5.1. Identyfikacja izotopomerowa pasm molekularnych:

a – bis(dietyloditiofosforanu)-kadm(II); b – tetrachloro-boroftalocyaniny;
c – pentadieno-trikarbonylo-trietylogermiolo-molibdenu

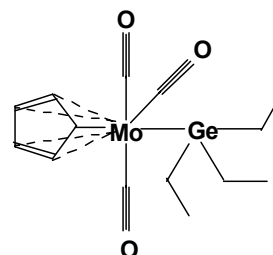
a – $[(C_2H_5O)_2PS_2]_2Cd$			b – $BCl(CNCNC_6H_3Cl)_3$			c – $(C_5H_5)(CO)_3MoGe(C_2H_5)_3$		
m/z	Intensywność względna [%]		m/z	Intensywność względna [%]		m/z	Intensywność względna [%]	
[u]	obliczona	zmierzona [144]	[u]	obliczona	zmierzona [123]	[u]	obliczona	zmierzona [97]
480	19,00	20,00	531	17,58	17,05	398	17,53	18,28
481	21,55	19,00	532	75,88	74,80	399	2,80	2,95
482	42,17	43,00	533	43,75	43,22	400	34,08	35,26
483	26,94	26,00	534	100,00	100,00	401	30,61	30,68
484	53,00	53,00	535	38,25	38,38	402	68,25	70,32
485	10,03	10,00	536	50,33	51,00	403	50,44	50,15
486	20,50	20,00	537	15,68	16,00	404	93,21	92,83
487	2,70	–	538	11,75	12,06	405	68,22	68,59
488	2,87	2,00	539	3,13	3,23	406	100,00	100,00
489	0,33	–	540	1,19	1,24	407	51,52	52,22
Wariancja 1,26			541	0,27	0,27	408	77,45	78,45
			542	0,03	0,04	409	20,07	20,57
			Wariancja 0,185			410	31,86	32,84
						411	4,93	5,13
						412	4,53	4,77
						413	0,68	0,73
						414	0,07	0,08
						Wariancja 0,524		

5.4.2. Tetrachloro-boroftalocyanina $BCl(CNCNC_6H_3Cl)_3$



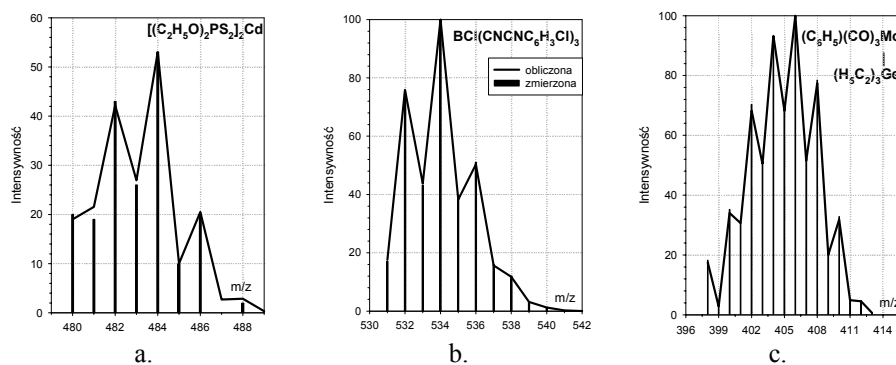
Tetrachloro-boroftalocyaninę otrzymali Meller i Ossko [146] w ramach badań prowadzonych na Politechnice Wiedeńskiej nad syntezą związków organicznych boru. Widmo mas interpretował Varmuza [121] w pracy prezentującej nowatorski (w owym czasie) sposób obliczeń pasma jonu mas. Dane doświadczalne, wykorzystane w tej pracy, zostały użyte do testowania przedstawianego programu MMIP. W tym przypadku uzyskano wysoką zgodność danych doświadczalnych i wyników obliczeń, a wyliczona wartość wariancji jest szczególnie niska (0,185).

5.4.3. π -Pentadieno-trikarbonylo-trietylogermiolo-molibden $(C_5H_5)(CO)_3 MoGe(C_2H_5)_3$



Substancja ta była badana na Uniwersytecie Durham, a następnie została opisana w cytowanej już, klasycznej pracy Hsu [98]. Program Hsu był pierwszym, który był szeroko rozpowszechniony, ponieważ jego autor przeznaczył go do bezpłatnego wykorzystania.

Intensywności pików wyliczone metodą MMIP były takie same, jak uzyskane przez Hsu [98], a wariancja obliczona dla 17 sygnałów tworzących pasmo jonu molekularnego wyniosła $s^2 = 0,524$. Obliczeń dokonano w 1994 r. za pomocą programu komputerowego napisanego w języku TURBO-BASIC na komputer kompatybilny z IBM-PC [137] i w formie źródłowej jest on operatywny i dostępny do dziś. Program wymaga znajomości wzoru sumarycznego jonu; liczba atomów i liczba pierwiastków nie są limitowane. Dodatkowe dane pasma (szerokość izotopowa pierwiastków, skład izotopowy pierwiastka) są zawarte w bloku DATA programu. Program pozwala wyznaczyć względne intensywności pików pasm jonów fragmentacyjnych i przedstawić te pasma podobnie jak w widmie mas. Na rysunku 5.1 porównano pasmo obliczone teoretycznie (linia łamana) i sygnały widma rzeczywistego (histogram).



Rys. 5.1. Modelowanie pasm molekularnych: a – bis(dietyloditiofosforanu)-kadmu(II), b – tetrachloro-boroftalocyaniny, c – pentadieno-trikarbonylo-trietylogermiolo-molibdenu

Modelowanie pasma MMIP można stosować zarówno do interpretacji widm masowych, jak i ustalania składu elementarnego związków.

Zasadniczą zaletą prezentowanej metody modelowania jest możliwość wyznaczenia intensywności pików i ich rozkładu w klasterze na podstawie hipotezy

tycznego wzoru sumarycznego jonu masowego. Zgodność modelu z doświadczalnie zarejestrowanym pasmem jonu weryfikuje postawioną hipotezę składu jonu masowego. Rozwiązanie takie dotyczy zarówno jonów molekularnych, jak i fragmentacyjnych. Wystarczy dysponować zapisem cyfrowym widma niskorozdzielczego, a z jednego widma można dokonać analizy wszystkich jonów, jakie w nim występują. Przyporządkowanie obliczonego wzoru sumarycznego do określonego pasma widma mas jest całkowicie pewne, ponieważ dowód opiera się zwykle na równoczesnej zgodności relatywnych intensywności wielu punktów pomiarowych.

Uważa się zwykle, że wiarygodny skład jonu masowego można uzyskać jedynie wyznaczając położenie sygnału z wysoką dokładnością (accurate mass, 10^{-4} u lub lepszą). Badanie takie wymaga odpowiednio precyzyjnej kalibracji spektrometru i dlatego też jest wykonywane jedynie dla jonów o kluczowym znaczeniu interpretacyjnym. Modelowania pasma izotopomerowego można dokonać na podstawie zwykłego widma niskiej rozdzielczości, a wyznaczenie składu elementarnego jonu na podstawie pasma izotopomerowego nie wymaga szczególnych warunków eksperymentu (w odróżnieniu od oznaczania dokładnej masy jonu). Testowane widma masowe w większości zostały uzyskane przez jonizację elektronami, bowiem widma tego typu stanowią zdecydowaną większość zawartości baz widm mas. Badania aplikacyjne wykazały, że interpretacja oparta na metodzie modelowania pasma izotopomerowego może być stosowana z dobrym skutkiem także i dla innych metod jonizacji próbki.

Obecność w cząsteczce elementów mineralnych (np. metali) nie stanowi przeszkody w interpretacji (w odróżnieniu od klasycznej analizy elementarnej wykonywanej zwykle tylko w przypadku związków organicznych). Program MMIP [55, 56] jest oparty na rzeczywistych zasadach dokonywania pomiarów niskorozdzielczego widma mas i poprawnie modeluje zasadę działania detektora mas. Późniejsze badania [66] wykazały, że metoda MMIP pozwala wyznaczać pasmo jonu zgodne z klasterem opartym na transformacji widma wysokorozdzielczego do postaci niskorozdzielczej.

W przypadku związków organicznych wybitne dominanty lekkich izotopów tworzących je pierwiastków powodują występowanie w widmie masowym pasm jonów charakteryzujących się niewielką szerokością, co zmniejsza precyzję interpretacji. Najlepsze efekty modelowania uzyskać można w przypadku związków koordynacyjnych i metaloorganicznych, traktowanych dotychczas jako trudne interpretacyjnie. Obecność występujących w nich zwykle pierwiastków poliiizotopowych powoduje poszerzenie pasm jonów (WIC), co sprzyja dokładności analizy.

Warunkiem koniecznym uzyskania zadowalających rezultatów modelowania pasma izotopomerowego jest brak zakłóceń analizowanego pasma. Obecność jonów protonowanych lub dehydrogenowanych wymaga zastosowania odrębnych procedur. Szczególnej ostrożności wymaga interpretacja widm pochodzących od takich metod generowania jonów, w których jonizacji towarzyszą złożone procesy zachodzące w fazie ciekłej lub gazowej (np. jonizacja

szybkimi atomami – FAB). Zasadniczą trudność powoduje znaczne rozbudowanie tych widm, w których wszystkie możliwe położenia sygnałów zwykle bywają wypełnione. Istotnych trudności interpretacyjnych można także oczekiwać w przypadku elektrorozpyłowych metod jonizacji (np. ESI). Zasadniczym źródłem problemu jest generowanie istotnych ilości jonów o ładunkach $z \neq \pm 1$. Przypadki te będą w najbliższej przyszłości przedmiotem dalszych badań aplikacyjnych metody MMIP. Zastosowanie programu nie obejmuje związków wzbogacanych izotopowo (w tym deuterowanych) z powodu sztucznego rozkładu izotopów.

Modelowanie pasma izotopomerowego zapoczątkowało program wieloletnich prac nad interpretacją widm mas. Program MMIP był podstawą opracowania kilku modyfikacji. Najwcześniejsza z nich [141] stanowiła wersję dostosowaną do pracy w środowisku Windows, umożliwiając obliczenia jednoczesne dla 10 jonów. Na bazie MMIP opracowano także odrębne programy⁴²:

- interpretacji złożonych pasm izotopomerowych [150],
- modelowania widm masowych [102],
- weryfikacji hipotez fragmentacyjnych [102],
- modelowania pasm izotopomerowych jonów o ładunku $z = \pm 2$ [151].

Możliwości aplikacyjne metody MMIP pozwalają na tworzenie nowych procedur i należy oczekiwać, że program oraz jego obecne i przyszłe modyfikacje będą cennymi narzędziami wspomagania interpretacji widm mas. Metody modelowania izotopomerowego umożliwiają szczegółowe badania procesów fragmentacji, a także śledzenie przebiegu procesów towarzyszących jonizacji cząsteczki ze szczególnym uwzględnieniem wiązań metal–ligand w związkach koordynacyjnych lub heteroatom–podstawnik organiczny w związkach metaloorganicznych.

Metodę modelowania przetestowano na kilkuset związkach, głównie metaloorganicznych i koordynacyjnych. Dotychczasowe doświadczenia wskazują, że metoda MMIP, przy odpowiednim spopularyzowaniu, winna mieć istotny wpływ na rozwój spektrometrii mas. Ujęcie jej wśród aktualnego kanonu wiedzy w encyklopedii spektrometrii mas (2006) jest może pierwszym tego etapem.

⁴² Udostępniane na życzenie, podobnie jak i sam program macierzysty.

6. Pasma złożone w widmach mas

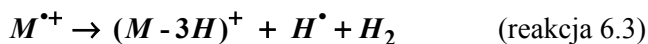
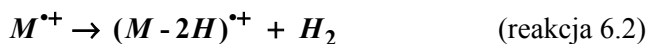
Wzór sumaryczny związku można ustalić porównując doświadczalne pasmo jonu molekularnego z klastrem wyznaczonym teoretycznie [152]. Znajomość pochodzenia związku, właściwości określone innymi metodami instrumentalnymi są dodatkowymi informacjami ułatwiającymi postawienie hipotezy wzoru badanego związku. Zgodność wyników doświadczalnych z teoretycznie obliczonym modelem jest dowodem słuszności postawionej hipotezy. Czasami jednak zauważa się występowanie wyraźnych niezgodności pomiędzy wynikami obliczeń modelowych a danymi uzyskanymi doświadczalnie. Fakt ten występuje pomimo drobiazgowo wykonanego doświadczenia lub też precyzyjnie przeprowadzonych obliczeń. Można przypuścić, że powodami niedopasowania mogą być:

- różnice pomiędzy naturalnym składem izotopowym pierwiastka zalecanym przez IUPAC [124, 153] a składem występującym lokalnie. Najczęściej nie są zbyt wielkie i dotyczą jednego pierwiastka [154],
- rozbieżności mające źródło w silnym tle widma [6a]. Dobrze przeprowadzone oczyszczanie próbki i właściwy dobór warunków wykonania widma mas, a zwłaszcza minimalizacja tła rozwiązuje zwykle ten problem,
- nałożenie się pasm jonów o zbliżonych masach [155]. Lokalizacja kilku pasm w tym samym zakresie m/z powoduje sumowanie intensywności sygnałów, co może być przyczyną bardzo wyraźnych niezgodności modelu i doświadczenia. Normalizacja widma, dokonywana zawsze jako procedura standardowa, dodatkowo zniekształca obraz.

Spośród wymienionych powodów najważniejszym jest ten ostatni, bo jest on najczęściej obserwowany. Koniecznym jest zatem rozważenie pojawienia się zakłóceń widma mas i uwzględnienia w obliczanym modelu procesów nakładania pasm związanych z jonami o zbliżonych masach.

6.1. Klasterzy pochodzące z nakładania pasm jonów różniących się liczbą atomów wodoru

Niektóre z jonów fragmentacyjnych mają bardzo zbliżone masy, co może być spowodowane np. różnicami w składzie elementarnym o jeden lub kilka atomów wodoru. Zjawisko to dotyczy związków, które łatwo odszczepiają wodór podczas jonizacji cząsteczki, jak np. alkohole, fenole, aminy. Stosowane przeważnie określenie „utrata wodoru – hydrogen loss” [3d] sugeruje, że proces ten jest dobrze poznany i odszczepieniu ulega wodór, choć reakcja ta może dotyczyć zarówno rodnika wodorowego, protonu, jak i wodoru cząsteczkowego. Eliminacja wodoru z cząsteczki podczas jej jonizacji może przebiegać jako proces prosty lub złożony. Proces dehydrogenacji może składać się z kilku etapów, ale dwa pierwsze z nich występują najczęściej. W ich wyniku powstają jony $(M-H)^+$, $(M-2H)^+$ i podobne, zgodnie z równaniami reakcji [156, 157]:



Jony takie tworzą w widmach masowych pasma złożone, a ich klasterzy izotopomerowe nakładają się z racji zbliżonych mas. Stopień nałożenia zależy od różnicy masy pomiędzy jonami oraz od kształtu indywidualnych pasm. W takim przypadku powstały złożony klaster wymaga szczególnie drobiazgowej interpretacji. Wydaje się, że termin „dehydrogenacja” [150] może być w tym przypadku użyty, ponieważ określa, co jest eliminowane, a jednocześnie nie precyzuje formy odszczepianego wodoru.

6.1.1. Deformacja pasma jonu molekularnego wskutek procesów dehydrogenacji [150]

Jony fragmentacyjne o zbliżonych masach, różniące się od siebie jedynie obecnością jednego lub kilku atomów wodoru, dość często występują w widmach masowych EI i stwarzają zwykle istotne trudności w wyznaczaniu wzoru jonu [3e].

Reakcje dehydrogenacji obserwuje się w przypadku niektórych związków organicznych, które podczas jonizacji łatwo tracą wodór, np. alkohole, aminy, kwasy karboksylowe lub fenole [156]. Niewielka szerokość pasma izotopowego WIC [49] typowa dla związków zawierających głównie pierwiastki, których rozpowszechnienie głównego izotopu przekracza 95% [158] dodatkowo utrudnia interpretację. Dla większości związków organicznych o niskich i średnich masach cząsteczkowych oraz o typowym składzie elementarnym symptomem dehydrogenacji jest obecność sygnału przy $m/z = m_{min} - 1$.

Reakcje (6.1-6.3) generują pasma zdehydrogenowane, które nakładając się na klaster molekularny deformują go w stopniu uniemożliwiającym typową, prostą interpretację. W przypadku jonu molekularnego sytuacja taka może prowadzić do istotnych błędów we wzorze sumarycznym badanego związku, polegających na zawyżaniu (bądź zaniżaniu) liczby wodorów związku, co z reguły prowadzi do błędnych hipotez dotyczących układu wiązań w cząsteczce. Pasma jonu $(M-H)^+$ zawiera piki o takich samych relacjach intensywności jak pasmo molekularne, lecz jest przesunięte o 1 u w kierunku mniejszych wartości m/z . Odpowiednio pasmo $(M-2H)$ jest również analogiczne do pasma molekularnego, lecz przesunięte względem niego o 2 u. Każdy z wymienionych jonów, tzn. M^+ , $(M-H)^+$ i $(M-2H)^+$ ma swój udział w klasterze sumarycznym (paśmie *quasi*-molekularnym⁴³). W widmach doświadczalnych, w których pasmo molekularne

⁴³ Pasma *quasi*-molekularne, pasma pseudo-molekularne – oznaczają złożony klaster położony w obszarze pasma molekularnego widma, lecz różniący się od pasma teoretycznego obliczonego na podstawie wzoru związku i rozpowszechnienia izotopów naturalnych, (termin nie zalecany przez Sparkmana, ale użyteczny).

jest intensywne, dość często układ sygnałów nie jest zgodny z przewidywanym wzorem sumarycznym (składem pierwiastkowym). Pasma sumaryczne wyraźnie różni się od pojedynczych składników. Otrzymany klaster *quasi*-molekularny jest szerszy o 2 u od pasma wyjściowego obliczonego na podstawie rozpowszechnienia naturalnych izotopów.

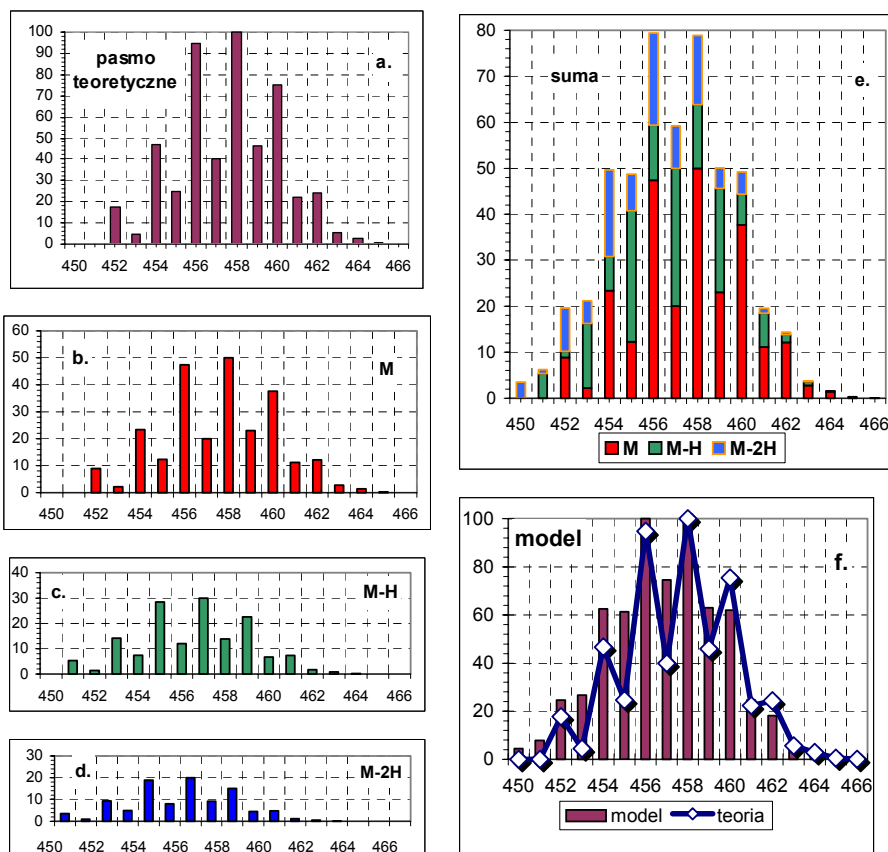
Położenie pików o największej intensywności ulega przesunięciu, zwykle w kierunku mniejszych wartości m/z . Obraz powstającego klastera złożonego zależy od liczby nakładających się pasm, ich położenia i abundancji poszczególnych izotopomerów jonów zawierających się w paśmie. Jest to zwykły rezultat dehydrogenacyjnego zaburzenia procesu jonizacji cząsteczki. Występujące różnice pomiędzy przewidywanym a rzeczywistym kształtem pasma molekularnego mogą jednak być źródłem istotnych informacji analitycznych. Skład pasma *quasi*-molekularnego można ustalić dzięki zastosowaniu modelowania pasma izotopomerowego [55, 56] na podstawie rozpowszechnienia naturalnych izotopów pierwiastków [129] i przyjętego mechanizmu dehydrogenacji.

Obecność w cząsteczce związku atomów pierwiastków multiizotopowych pozwala na wykorzystanie rozkładu izotopomerów mas w celu oznaczenia składowych pasma *quasi*-molekularnego. Fakt ten świadczyć może o trwałości wiązań i otwiera nowe możliwości analizy widm masowych związków metaloorganicznych i koordynacyjnych.

Teoretyczny model powstawania pasma *quasi*-molekularnego przedstawiono na przykładzie 1,1,5,5-tetraabutylo-1,5-digermacyklooktanu, $C_{22}H_{48}Ge_2$. Metodę modelowania pasma ilustrują rysunki 6.1. a-f. Pasma wyjściowe, obliczone na podstawie zawartości naturalnych izotopów pierwiastków [80] przedstawiono na rysunku 6.1 a. Odpowiednie pasmo *quasi*-molekularne jest tworzone jako suma trzech składowych:

- 50% teoretycznego pasma molekularnego M , położonego pomiędzy 486 a 493 u,
- 30% pasma ($M-H$) przesuniętego o 1 u w kierunku mniejszych mas (485–492 u)
- 20% pasma ($M-2H$) przesuniętego o 2 u (484–491 u).

Kończową, znormalizowaną postać pasma *quasi*-molekularnego (histogram) w porównaniu z obrazem wyjściowym pasma (krzywa łamana) prezentuje rysunek 6.1f. Pasma *quasi*-molekularne jest o 2 u szersze od teoretycznego, obliczonego z zawartości izotopów naturalnych. Najbardziej intensywny pik (100%) w modelu znajduje się przy wartości $m/z = 488$ u i w stosunku do danych wyjściowych jest przesunięty o 2 jednostki w kierunku mniejszych mas. Rysunek obrazuje zasadnicze różnice pomiędzy modelem pasma złożonego a teoretycznym pasmem początkowym.



Rys. 6.1. Modelowanie pasma pozornego jonu molekularnego 1,1,5,5-tetrabutyl-1,5-digermacyklooktanu, $C_{22}H_{48}Ge_2$ (CAS 56437-93-5): a – pasmo teoretyczne obliczone na podstawie wzoru sumarycznego i naturalnego rozkładu izotopów; b – komponent molekularny pasma **M** (50%); c – komponent (**M-H**) (30%); d – komponent (**M-2H**) (20%); e – suma trzech wymienionych komponentów pasma (b, c i d), f – porównanie wymodelowanego klastra (e) z pasmem wyjściowym (a)

Przykład pokazuje, jak dalece pasmo molekularne może być zdeformowane w skutek procesów dehydrogenacji. W przypadkach stwierdzenia rozbieżności pasma doświadczalnego i modelu izotopomerowego należy zatem uwzględnić możliwość zakłócenia właściwego obrazu pasma przez procesy utraty wodoru. Dotyczy to zwłaszcza związków zawierających grupy funkcyjne łatwo tracące wodór [156], jak np. $-COOH$, $-OH$, $-NH_2$.

Modelowanie obszaru pasma molekularnego jest niezbędnym elementem interpretacji widma mas, jeśli obserwuje się zakłócenia w obrazie tego pasma spowodowane procesami dehydrogenacji (np. utratą rodnika H, protonu lub cząsteczki H_2 względnie ich multiplikacją) zachodzącymi w źródle jonów. Pro-

ponowana metoda oparta jest na prostych obliczeniach, uwzględniających powszechną w analizie chemicznej zasadę addytywności. Wyniki modelowania uzyskuje się za pomocą metody najmniejszych kwadratów [159] i wykorzystując optymalizację Hooke'a-Jeevesa [160]. Dobór parametrów przebiega z wizualizacją uzyskanego efektu przybliżenia. Procedura wymaga przeprowadzania zmian dla dwóch zaledwie parametrów. Modelowanie stosuje się w przypadkach istnienia istotnych różnic pomiędzy pasmem teoretycznym a klasterem doświadczalnym. Procedurę wyznaczania udziałów składowych pasma molekularnego ułatwia graficzna prezentacja pasm: teoretycznego, modelowego i eksperymentalnego. O jakości uzyskanego przybliżenia świadczy niska wartość wariancji modelowej określającej różnicę pomiędzy pasmem modelowym a pasmem doświadczalnym. Dodatkowym kryterium poprawności modelowania jest uzyskanie wartości współczynnika dopasowania α zbliżonej do 100%. Fakt ten dowodzi przebiegu procesów dehydrogenacji, które są powodem złożoności doświadczalnego pasma molekularnego. Dobre efekty modelowania można obserwować, gdy klaster eksperymentalny zawiera przynajmniej 5 pików. Dokładność 1% wyników wydaje się być wystarczającą dla badania składu pasm złożonych.

Opisana metoda modelowania pozwala na oznaczenia udziału pasm (**M-H**) i (**M-2H**) w doświadczalnym klasterze molekularnym. Prezentowana procedura może być także zastosowana do modelowania pasm jonów fragmentacyjnych. Jednak w przypadku tych jonów wzrasta prawdopodobieństwo zakłócenia pasma jonami pochodzącymi z innych procesów niż dehydrogenacja, a także może zachodzić konieczność eliminacji sygnałów tła.

6.1.2. Modelowanie struktury pasma *quasi*-molekularnego [150]

Założono, że izotopomerowe pasmo *pseudo*-molekularne tworzą, oprócz niezakłóconego składnika **M**, także składowe zakłócające (**M-H**) i (**M-2H**) powstające w następstwie reakcji 6.1-6.3, których przebieg obserwuje się w spektrometrii mas dość często. Metoda dotyczy zwłaszcza widm masowych związków multiizotopowych.

Dane doświadczalne porównuje się z wynikami obliczeń pasma molekularnego [55] dokonanych na podstawie wzoru sumarycznego związku i zawartości (rozkładu) izotopów naturalnych [26]. Klaster molekularny wyznaczony w ten sposób zawiera sygnały o intensywnościach $P_{calc,i}$, usytuowanych w zakresie m/z od m_1 do m_n . Piki doświadczalnego pasma molekularnego **M** o intensywnościach $P_{exp,i}$ ustawia się w odpowiadającym zakresie m/z od m_1 do m_k .

$$\begin{array}{c} m_1 \\ m_2 \\ m_3 \\ \vdots \\ m_{k-2} \\ m_{k-1} \\ m_k \end{array} \begin{bmatrix} P_{exp.1} \\ P_{exp.2} \\ P_{exp.3} \\ \vdots \\ P_{exp.k-2} \\ P_{exp.k-1} \\ P_{exp.k} \end{bmatrix} \Leftrightarrow \begin{bmatrix} P_{calc.1} \\ P_{calc.2} \\ P_{calc.3} \\ \vdots \\ P_{calc.n-2} \\ P_{calc.n-1} \\ P_{calc.n} \end{bmatrix} \begin{array}{c} m_1 \\ m_2 \\ m_3 \\ \vdots \\ m_{n-2} \\ m_{n-1} \\ m_n \end{array} \quad (\text{schemat 6.1})$$

Stopień zgodności obu pasm ustala się na podstawie wyliczonej wartości wariancji teoretycznej⁴⁴ s_{teor}^2 określonej na podstawie pików mających odpowiedniki zarówno w paśmie doświadczalnym, jak i teoretycznym [86]:

$$s_{teor.}^2 = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k (P_{exp.i} - P_{calc.i})^2 \quad (6.1)$$

Wartość s_{teor}^2 wskazuje na różnice pomiędzy intensywnościami pików eksperymentalnych $P_{exp.i}$ a odpowiadających im wartościom obliczonym teoretycznie $P_{calc.i}$. Wysoka wartość s_{teor}^2 (> 20) wskazuje na konieczność dalszych badań zakresu pasma molekularnego.

Modelowanie pasma złożonego opiera się na następujących założeniach:

- a) liczba składników klastra nie przekracza trzech:
 - właściwe pasmo molekularne **M** (takie samo, lub bardzo zbliżone do pasma wyznaczonego na podstawie wzoru i rozkładu izotopów,
 - pierwsze pasmo dehydrogenacji (**M-H**) – powstałe wskutek eliminacji rodnika wodorowego,
 - drugiego pasma dehydrogenacji (**M-2H**), związanego z utratą cząsteczki wodoru.
- b) suma parytetów wszystkich trzech komponentów wynosi 100%, a udział komponentu jest stały dla każdego z pików modelowanego pasma pseudo-molekularnego,
- c) pasmo sumaryczne zawierające wszystkie trzy komponenty jest normalizowane w typowy sposób do 100%.

Kolejnym krokiem obliczeń jest utworzenie maczy początkowej złożonej z 3 kolumn przyporządkowanych odpowiednio pasmom **M**, (**M-H**) i (**M-2H**) oraz $n + 2$ wierszy odpowiednio do liczby pików w modelowanym klastrze:

- każda z kolumn odpowiada jednemu pasmu, tzn. pierwsza – **M**, druga – (**M-H**), a trzecia (**M-2H**),

⁴⁴ ”Teoretyczny” – dotyczy parametrów związanych z pasmem molekularnym związku wyliczonym w oparciu o zawartość izotopów naturalnych.

- wiersze od 3 do $n + 2$ zawierają piki pasma teoretycznego znajdujące się w zakresie mas pomiędzy m_1 a m_n ,
- wiersze 1 i 2 odpowiadają masom $m_1 - 2$ i $m_1 - 1$ występującym jedynie w pasmach dehydrogenacji (M-H) i (M-2H).

Matrycę wypełnia się danymi pasma teoretycznego. Intensywności pików wyznaczonego teoretycznie pasma **M** wpisuje się do matrycy trzykrotnie w sposób wyjaśniony poniżej:

- od miejsca trzeciego do ostatniego w kolumnie **M** (zakres m/z od m_1 do m_n),
- od miejsca drugiego do przedostatniego w kolumnie (M-H) – m/z od $m_1 - 1$ do m_{n-1} ,
- od początku do miejsca drugiego od końca w kolumnie (M-2H) – m/z od $m_1 - 2$ do m_{n-2} .

Puste miejsca wypełnia się „0”. Matrycę taką przedstawiono na schemacie 6.2.

$$\begin{array}{c}
 \begin{array}{ccc}
 & \text{M} & \text{M - H} & \text{M - 2H} \\
 m_1 - 2 & \left[\begin{array}{ccc}
 0 & 0 & P_{calc.1} \\
 0 & P_{calc.1} & P_{calc.2} \\
 P_{calc.1} & P_{calc.2} & P_{calc.3} \\
 P_{calc.2} & P_{calc.3} & P_{calc.4} \\
 \vdots & \vdots & \vdots \\
 P_{calc.(n-3)} & P_{calc.(n-2)} & P_{calc.(n-1)} \\
 P_{calc.(n-2)} & P_{calc.(n-1)} & P_{calc.n} \\
 P_{calc.(n-1)} & P_{calc.n} & 0 \\
 P_{calc.n} & 0 & 0
 \end{array} \right] & \Rightarrow & \left[\begin{array}{c}
 z \cdot P_{calc.1} \\
 y \cdot P_{calc.1} + z \cdot P_{calc.2} \\
 x \cdot P_{calc.1} + y \cdot P_{calc.2} + z \cdot P_{calc.3} \\
 x \cdot P_{calc.2} + y \cdot P_{calc.3} + z \cdot P_{calc.4} \\
 \vdots \\
 x \cdot P_{calc.(n-3)} + y \cdot P_{calc.(n-2)} + z \cdot P_{calc.(n-1)} \\
 x \cdot P_{calc.(n-2)} + y \cdot P_{calc.(n-1)} + z \cdot P_{calc.n} \\
 x \cdot P_{calc.(n-1)} + y \cdot P_{calc.n} \\
 x \cdot P_{calc.n}
 \end{array} \right] \\
 x & y & z & (x + y + z = 1 \text{ or } x + y + z = 100\%) \\
 & & & \text{(schemat 6.2)}
 \end{array}
 \end{array}$$

Współczynniki proporcji kolumn **M**, (M-H) i (M-2H) wynoszą odpowiednio x , y i z . Transformacja matrycy przebiega przez sumowanie wszystkich wyrażeń znajdujących się w danym wierszu zgodnie ze wzorem:

$$P_{h,i} = x \cdot P_{calc.(i-2)} + y \cdot P_{calc.(i-1)} + z \cdot P_{calc.i} \quad (6.2)$$

Wynikiem tej operacji jest wektor:

$$\begin{bmatrix} z \cdot P_{calc.1} \\ y \cdot P_{calc.1} + z \cdot P_{calc.2} \\ x \cdot P_{calc.1} + y \cdot P_{calc.2} + z \cdot P_{calc.3} \\ x \cdot P_{calc.2} + y \cdot P_{calc.3} + z \cdot P_{calc.4} \\ \vdots \\ x \cdot P_{calc.(n-3)} + y \cdot P_{calc.(n-2)} + z \cdot P_{calc.(n-1)} \\ x \cdot P_{calc.(n-2)} + y \cdot P_{calc.(n-1)} + z \cdot P_{calc.n} \\ x \cdot P_{calc.(n-1)} + y \cdot P_{calc.n} \\ x \cdot P_{calc.n} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} P_{h.1} & P_{h.2} & P_{h.3} & \cdots & P_{h.(n-2)} & P_{h.(n-1)} & P_{h.n} \end{bmatrix} \quad (6.3)$$

Wyrazowi o najwyższej wartości intensywności $P_{h.max}$ przypisuje się wartość 100%.

$$P_{h.max} = \max(P_{h.1}, P_{h.2}, P_{h.3}, \dots, P_{h.(n-2)}, P_{h.(n-1)}, P_{h.n}) \quad (6.4)$$

Wszystkie wyrazy wektora normalizuje się zgodnie ze wzorem (6.5), co prowadzi do wyliczenia końcowego wektora modelującego złożone pasmo pseudo-molekularne.

$$\begin{bmatrix} P_{H.1} & P_{H.2} & \cdots & P_{H.(n-1)} & P_{H.n} \end{bmatrix} = \frac{100\%}{P_{h.max}} \cdot \begin{bmatrix} P_{h.1} & P_{h.2} & \cdots & P_{h.(n-1)} & P_{h.n} \end{bmatrix} \quad (6.5)$$

Dane doświadczalne porównuje się z intensywnościami odpowiednich sygnałów modelu:

$$\begin{matrix} m_1 - 2 \\ m_1 - 1 \\ m_1 \\ \vdots \\ m_{k-2} \\ m_{k-1} \\ m_k \end{matrix} \begin{bmatrix} P_{exp.1} \\ P_{exp.2} \\ P_{exp.3} \\ \vdots \\ P_{exp.(k-2)} \\ P_{exp.(k-1)} \\ P_{exp.k} \end{bmatrix} \Rightarrow \begin{bmatrix} P_{H.1} \\ P_{H.2} \\ P_{H.3} \\ P_{H.4} \\ \vdots \\ P_{H.(n-3)} \\ P_{H.(n-2)} \\ P_{H.(n-1)} \\ P_{H.n} \end{bmatrix} \begin{matrix} m_1 - 2 \\ m_1 - 1 \\ m_1 \\ m_2 \\ \vdots \\ m_{n-3} \\ m_{n-2} \\ m_{n-1} \\ m_n \end{matrix} \quad (\text{schemat 6.3})$$

Stopień zgodności obu pasm ustala się na podstawie wyliczonej wartości wariancji modelowej⁴⁵ s_{model}^2 , określonej na podstawie pików mających odpowiedniki zarówno w paśmie doświadczalnym, jak i teoretycznym [86]:

⁴⁵ "Model" – dotyczy obliczonego teoretycznie pasma pseudo-molekularnego złożonego z klasterów **M**, **(M-H)** i **(M-2H)**.

$$s_{model}^2 = \frac{1}{k+2} \sum_{i=1}^k (P_{exp.i} - P_{H.i})^2 \quad (6.6)$$

Wartość s_{model}^2 wskazuje na różnice pomiędzy intensywnościami pików eksperymentalnych $P_{exp.i}$ a odpowiadających im wartościom obliczonym teoretycznie $P_{H.i}$. Parametry y i z pasma *quasi*-molekularnego zmienia się do uzyskania minimum wartości s_{model}^2 . Zasadniczym parametrem obliczeń jest współczynnik α określający stopień dopasowania modelu i danych doświadczalnych. Wartość jego może także świadczyć o słuszności (bądź niesłuszności) hipotezy obecności pasm **(M-H)** i **(M-2H)** w doświadczalnym klastrze molekularnym. Wartość współczynnika wyznacza się ze wzoru:

$$\alpha = \frac{s_{teor.}^2 - s_{model}^2}{s_{teor.}^2} \cdot 100\% \quad (6.7)$$

Obliczenia kontynuuje się do uzyskania możliwie najwyższej wartości współczynnika dopasowania α i najlepszego „nałożenia” pasma doświadczalnego i pasm modelowego oraz kontroluje na bieżąco na wykresie. Wartość α zbliżona do 100% wskazuje, że model w znacznym stopniu opisuje klastr doświadczalny. Fakt ten wskazuje na najwyższy, możliwy poziom zgodności modelu z danymi doświadczalnymi. Niezadowolający wynik modelowania może świadczyć o przebiegu innych jeszcze procesów podczas jonizacji związku. Oznaczać to może zatem, że rozpad jonu molekularnego przebiega innymi drogami niż te, które uwzględnił model dehydrogenacyjny.

Zwykle zadowolające wyniki uzyskuje się już po kilku (4–10) iteracjach. W praktyce uznano, że dokładność wyznaczania współczynników x , y i z na poziomie $\pm 2\%$ jest wystarczająca. Taki sposób prowadzenia obliczeń eliminuje problem minimum lokalnego i upraszcza oznaczenie składowych pasm *quasi*-molekularnego.

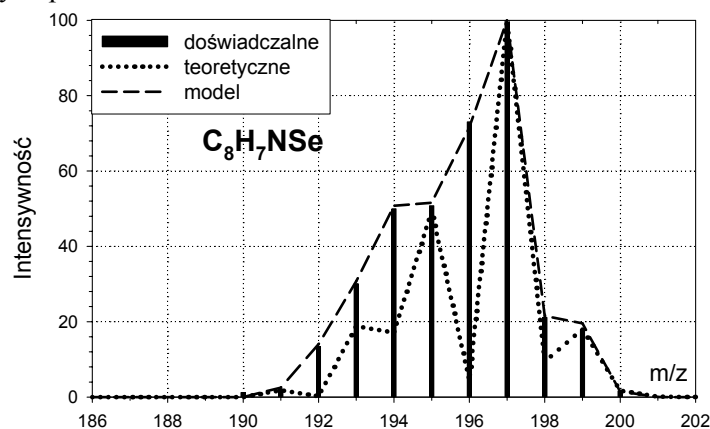
6.1.3. Przykłady rekonstrukcji pasm molekularnych

Zastosowania opisanej metody przedstawiono na przykładach widm masowych trzech wybranych związków. Każdy z nich zawiera pierwiastek multiizotopowy w cząsteczce, tzn. selen, german lub rtęć. Pasma molekularne każdego z nich odbiega od postaci wyznaczonej teoretycznie.

2-metylo-selenolo[2,3-b]-pirydyna C_8H_7NSe

Szczegółowe wyniki modelowania przedstawiono w tabeli 6.1 oraz na rysunku 6.2. Pasma doświadczalne przedstawiono w formie histogramu, a model i początkowe pasmo teoretyczne i model są zaznaczone w postaci linii łamanych, kropkowanej dla pasma teoretycznego i przerywanej dla modelu.

Teoretyczne pasmo molekularne jest położone w zakresie 191+201 u. Najbardziej intensywne piki obu pasm, tzn. zarówno doświadczalnego, jak i teoretycznego są położone przy 197 u. Jednak pasmo doświadczalne [161] wyraźnie odbiega od pasma wyznaczonego na podstawie zawartości izotopów naturalnych. Sygnały przy 195 u i 199 u mają podobne intensywności w obu klasterach, lecz wszystkie pozostałe piki wykazują istotne różnice. Szczególnie istotne jest zestawienie wysokości pików przy 196 u. Wyliczona wartość wariancji teoretycznej, wynosząca $s_{teor}^2 = 611,8$, wskazuje na złożoność pasma doświadczalnego spowodowaną zapewne procesami dehydrogenacji (reakcjami utraty wodoru). Komponenty **M**, **(M-H)** i **(M-2H)** wyznaczone w wyniku obliczeń modelowych przedstawiono w tabeli 6.1.



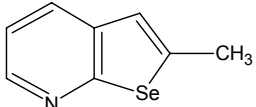
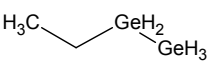
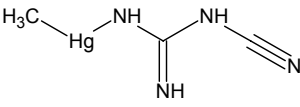
Rys. 6.2. Porównanie pasma modelowego, klastera teoretycznego i danych doświadczalnych dla obszaru pasma jonu molekularnego w widmie masowym 2-metylo-selenolo[2,3-b]-pirydiny, C_8H_7NSe

Poszczególne udziały wynoszą $y_{(M-H)} = 42\%$ i $z_{(M-2H)} = 1\%$, co oznacza, że pasmo teoretyczne C_8H_7NSe wyznaczone w oparciu o skład izotopowy pierwiastków stanowi zaledwie w $x_M = 57\%$ w wyznaczonym doświadczalnym paśmie molekularnym związku. Wartość wariancji modelowej wynosi $s_{model}^2 = 0,69$, a stopień dopasowania $\alpha = 99,88\%$. Obliczenia przeprowadzono dla 10 pików znajdujących się zarówno w paśmie doświadczalnym, jak i modelowym. Wartości obu parametrów s_{model}^2 i α świadczą o poprawności przeprowadzonych obliczeń i wysokiej precyzji uzyskanego opisu zjawiska dehydrogenacji. Jest to także dowód na całkowitą poprawność przyjętej hipotezy, tłumaczącej trudności w interpretacji spowodowanej dehydrogenacją. Reasumując, doświadczalne pasmo quasi-molekularne jest pasmem złożonym, na które składają się trzy elementy:

- 57% **M** "czystego" pasma molekularnego C_8H_7NSe ,
- 42% pasma **(M-H)**, utworzonego w wyniku eliminacji rodnika H^*
- 1% klastera **(M-2H)** związanego z utratą cząsteczki wodoru.

Zestawienie to dowodzi szczególnej roli, jaką odgrywa proces utraty H (reakcja 6.1), co w konsekwencji złożoności pasma molekularnego (pseudo-molekularnego) w istotnym stopniu utrudnić może interpretację widma masowego C_8H_7NSe .

Tabela 6.1. Modelowanie doświadczalnych pasm pseudo-molekularnych wybranych związków poliizotopomerowych

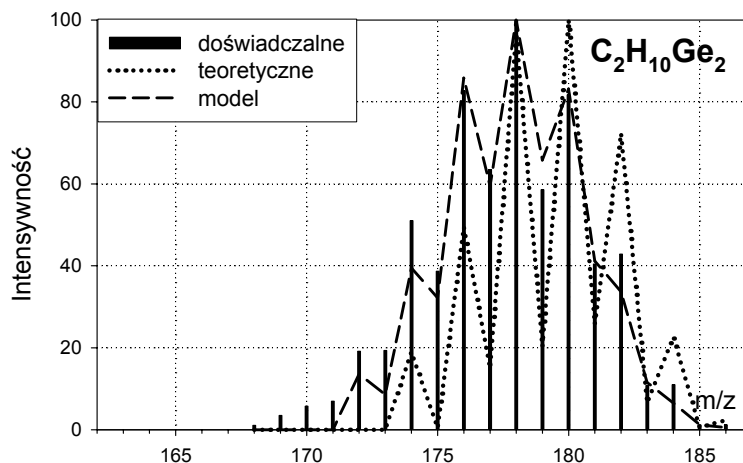
2-Metylo-selenolo[2,3-b]-pirydyna				Etylo-digerman				Metylo-merkuro-dicyandiamid			
m/z		C_8H_7NSe		m/z		$C_2H_{10}Ge_2$		m/z		$C_3H_6HgN_4$	
u	model	teoret.	dośw. [185]	u	model	teoret.	dośw. [186]	u	model	teoret.	dośw. [187]
189	0,03	-	-	172	19,16	0	13,59	189	0,03	-	-
190	1,24	-	-	173	19,34	0	8,53	190	1,24	-	-
191	2,12	1,80	2,50	174	51,05	18,98	39,46	191	2,12	1,80	2,50
192	13,38	0,20	14,01	175	38,68	0,45	32,22	192	13,38	0,20	14,01
193	30,09	18,80	30,73	176	82,77	49,47	85,84	193	30,09	18,80	30,73
194	49,96	17,10	50,75	177	63,43	15,00	59,44	194	49,96	17,10	50,75
195	50,79	49,40	51,55	178	100,00	96,83	100,00	195	50,79	49,40	51,55
196	73,06	4,50	71,57	179	58,54	20,30	65,80	196	73,06	4,50	71,57
197	100,00	100,00	100,00	180	81,71	100,00	83,18	197	100,00	100,00	100,00
198	21,16	9,40	21,52	181	40,43	25,77	41,17	198	21,16	9,40	21,52
199	17,95	18,00	19,52	182	42,85	72,31	33,70	199	17,95	18,00	19,52
200	1,65	1,70	1,50	183	10,80	6,55	11,51	200	1,65	1,70	1,50
201	0,09	0,10	-	184	10,98	22,65	6,49	201	0,09	0,10	-
202	0,00	-	-	185	1,13	0,54	1,16	202	0,00	-	-
				186	1,21	2,33	0,5				
											
M	M-H	M-2H		M	M-H	M-2H		M	M-H	M-2H	
57%	42%	1%		18%	32%	50%		75%	0	25%	
$\alpha = 99,78\%$				$\alpha = 96,0\%$				$\alpha = 98,83\%$			

Etylo-digerman $C_2H_{10}Ge_2$

Oba pasma molekularne, zarówno teoretyczne, jak i doświadczalne [162], zawierają piki o dużej intensywności przeplecione ze słabymi sygnałami. Intensywności poszczególnych pików w obu pasmach zasadniczo różnią się od siebie. Wysoka wartość wariancji teoretycznej $s_{teor}^2 = 898,8$ wskazuje na złożony charakter pasma doświadczalnego w obszarze pasma molekularnego widma masowego etylo-digermanu.

Przeprowadzone obliczenia modelowe doprowadziły do następujących rezultatów:

- udziały składników pasma: $x_M = 18\%$, $y_{(M-H)} = 32\%$ i $z_{(M-2H)} = 50\%$,
- wariancja modelowa $s_{model}^2 = 35,4$, a współczynnik dopasowania modelu $\alpha = 96,0\%$.

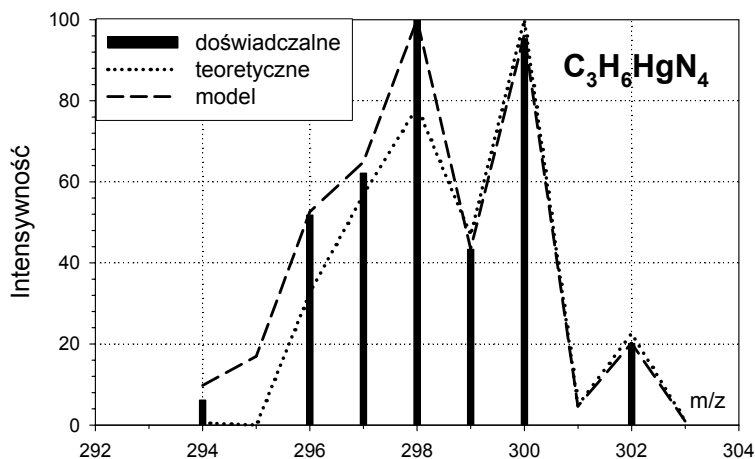


Rys. 6.3. Porównanie pasma modelowego, klastra teoretycznego i danych doświadczalnych dla obszaru pasma jonu molekularnego w widmie masowym etyldigermanu $C_2H_{10}Ge_2$

Obliczenia przeprowadzono dla 13 pików obecnych zarówno w paśmie doświadczalnym, jaki i klastrze modelowym (rys. 6.3). Głównym komponentem pasma *quasi*-molekularnego jest jon powstały z jonu molekularnego w wyniku eliminacji cząsteczki H_2 . Powstający jon molekularny odszczepia także rodnik H^* podczas jonizacji. Oba wymienione procesy zachodzą w tak dużym stopniu, że właściwe pasmo molekularne jest najslabszym składnikiem (18%) złożonego pasma pseudo-molekularnego. Obliczona wartość wskaźnika zgodności 96% czyni wiarygodnymi otrzymane rezultaty.

Metylo-merkuro-dicyjandiamid $C_3H_6HgN_4$

W przypadku $C_3H_6HgN_4$ położenie najbardziej intensywnego pików doświadczalnego pasma molekularnego [163] i pasma teoretycznego różnią się o 2 jednostki (rys. 6.4). Obliczona wartość wariancji teoretycznej $s_{teor}^2 = 90,9$ wskazuje na wyraźne różnice pomiędzy wymienionymi pasmami, lecz po modelowaniu wariancja zmniejsza się do wartości $s_{model}^2 = 1,06$ (rys. 6.4). Można zatem przypuszczać, że analizowane pasmo tworzone jest przez dwie składowe: $x_M = 75\%$ i $z_{(M-2H)} = 25\%$, a $y_{(M-H)} = 0\%$ (brak trzeciego składnika). Współczynnik zgodności osiąga wartość $\alpha = 98,83\%$, co świadczy o poprawności modelowania. Obliczone wyniki oparto na 6 punktach pomiarowych, tworzących badane pasmo. Pasma pseudo-molekularne $C_3H_6HgN_4$, składa się z dwu komponentów: **M** – 75% i **(M-2H)** – 25%.



Rys. 6.4. Porównanie pasma modelowego, klastra teoretycznego i danych doświadczalnych dla obszaru pasma jonu molekularnego w widmie masowym metylo-merkuro-dicyjanodiamidu $C_3H_6HgN_4$

Przykładowe wyniki modelowania niektórych związków koordynacyjnych i metaloorganicznych przedstawiono w tabeli 6.2. Zestawione rezultaty dotyczą głównie związków selenu. Obliczone współczynniki dopasowania zawierają się w dość szerokim przedziale wartości (od 51,4 do 99,4%).

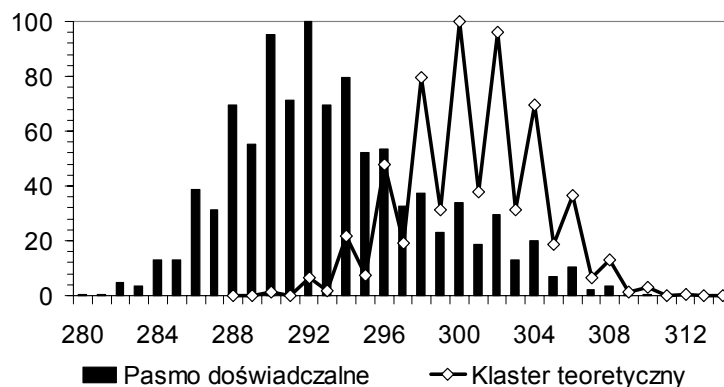
Uzyskane wysokie wartości α wskazują na prawidłowy dobór modelu. Średnia lub niska wartość współczynnika świadczy, że testowany model, uwzględniający wyłącznie procesy dehydrogenacji, jest niepełny lub zgoła niewłaściwy. Sytuacja taka może mieć miejsce, gdy deformacja pasma molekularnego została spowodowana innymi procesami niż utrata wodoru. W takim przypadku należy zmienić prognozę reakcji towarzyszących jonizacji związku i podjąć testowanie stosownej hipotezy. Wartości przedstawione w tabeli 6.2 wskazują jednak, że w przypadku wszystkich prezentowanych związków procesy dehydrogenacji były zasadniczą przyczyną deformacji pasm molekularnych związków.

Tabela 6.2. Modelowanie obszarów pasm molekularnych przykładowych związków metaloorganicznych i koordynacyjnych

Nr	Związek	Wzór molekularny	M x[%]	M-H y[%]	M-2H z [%]	S_{teor}^2	S_{model}^2	Piki	α [%]
1	selenolo[2,3-b]pirydyna [164]	C_7H_5NSe	82	7	11	5,3	5,28	10	85,04
2	selenek 1-metylo-1-penten-3-ynylo etylowy [165]	$C_8H_{12}Se$	96	4	0	4,5	1,06	7	76,51
3	3-metylo-1,2-benzizoselenazol [166]	C_8H_7NSe	95	5	0	5,94	1,56	7	73,80
4	5-amino-benzo[b]selenofen [167]	C_8H_7NSe	95	4	1	3,86	0,84	7	78,15
5	3-metylo-selenolo[2,3-b]pirydyna [168]	C_8H_7NSe	54	44	2	719,3	0,62	10	99,91
6	2,3-dihydro-4H-1-benzoselenin-4-on [169]	$C_{10}H_7NOSe$	77	11	12	66,09	6,31	10	90,45
7	1,1,2,2-tetrametylo-1,2-digermacyklopentan [170]	$C_7H_{18}Ge_2$	88	12	0	44,43	12,04	10	72,90
8	2-fenylo-benzoselenazol [171]	$C_{13}H_9NSe$	66	34	0	362,6	6,66	9	98,16
9	fenantrol[1,2-c][1,2,5]selena-diazol [172]	$C_{14}H_8N_2Se$	75	25	0	179,1	8,04	7	95,51
10	9-fenantrenoseleno-karboksamid [173]	$C_{15}H_{11}NSe$	63	30	7	1824	23,8	6	98,69
11	selenolo[2,3-b][1]benzoselenofen [113]	$C_{10}H_6OSe_2$	94	2	4	3,56	1,30	13	63,50
12	3-bromo-2-karbonylo-benzo[b]selenofen [174]	C_9H_5BrOSe	60	40	0	723,4	14,73	10	97,96
13	3-metyloseleno-2-(1,3-dioxolano-2-yl)-benzo[b]tiofen [175]	$C_{12}H_{12}O_2S_2Se$	92	8	0	20,59	6,57	7	68,11
14	bis[(1,2,3-eta.)-2-butenylo-platyna [176]	$C_8H_{14}Pt$	68	9	23	232,0	50,60	16	78,18
15	2,2-dibutylo-1,2-selenagermolan [177]	$C_{11}H_{24}GeSe$	86,5	13,5	0	77,96	34,85	8	55,29
16	[μ -(1,2,3,4,5- η :1,5,6,7,8- η)-1,3,5,7-cykllooktataetraeno]bis(η -5-2,4-cyklopentadienylo-1-yl)-dichrom [178]	$C_{18}H_{18}Cr_2$	89	0	11	20,27	1,59	10	92,15
17	jodometylo-rteć [179]	CH_3IHg	96	2	2	2,01	0,72	7	63,98
18	N,N-bis(di-heksylo-ditiokarbaminian)cynku [180]	$C_{18}H_{36}N_2S_4Zn$	80	0	20	41,5	20,15	7	51,40
19	bis(2-butylo-8-chinoliniano-)-kadm [181]	$C_{26}H_{28}CdN_2O_2$	95,5	4,5	0	4,96	1,65	12	66,79

6.2. Pasma *quasi*-molekularne germanowodorów [182]

Niekiedy proces utraty wykracza poza eliminację H lub/i 2H, którą określają reakcje 6.1–6.3. Powstający klaster wypadkowy jest szerszy niż można prognozować (wzór 2.1), a w skrajnych przypadkach różnice pomiędzy pasmem eksperymentalnym i wyliczonym mogą być zasadnicze. Przykładem tego zjawiska mogą być klaster molekularny tetragermanowodoru Ge_4H_{10} (rys. 6.5) [183].



Rys. 6.5. Izotopomerowy klaster molekularny tetragermanowodoru Ge_4H_{10}

Obliczenia modelowe wykazują, że pasmo doświadczalne pochodzi z nałożenia klasterów izotopomerowych różnych fragmentów powstałych wskutek utraty atomów wodoru. Podobne zjawisko stwierdzono w przypadku innych germanowodorów. Przeprowadzono modelowanie pasm jonów masowych położonych przy najwyższych wartościach m/z dla serii germanowodorów: Ge_2H_6 , Ge_3H_8 , Ge_4H_{10} i Ge_5H_{12} . Położenie tych klasterów w widmach masowych zdecydowanie odbiega od przewidywanych pasm molekularnych. We wszystkich przypadkach obserwuje się istotne przesunięcia w kierunku mniejszych wartości m/z i zmiany kształtu klasterów doświadczalnych w porównaniu z odpowiednimi pasmami teoretycznymi. Przesunięcia te są większe niż te opisywane reakcjami dehydrogenacji 6.1÷6.3.

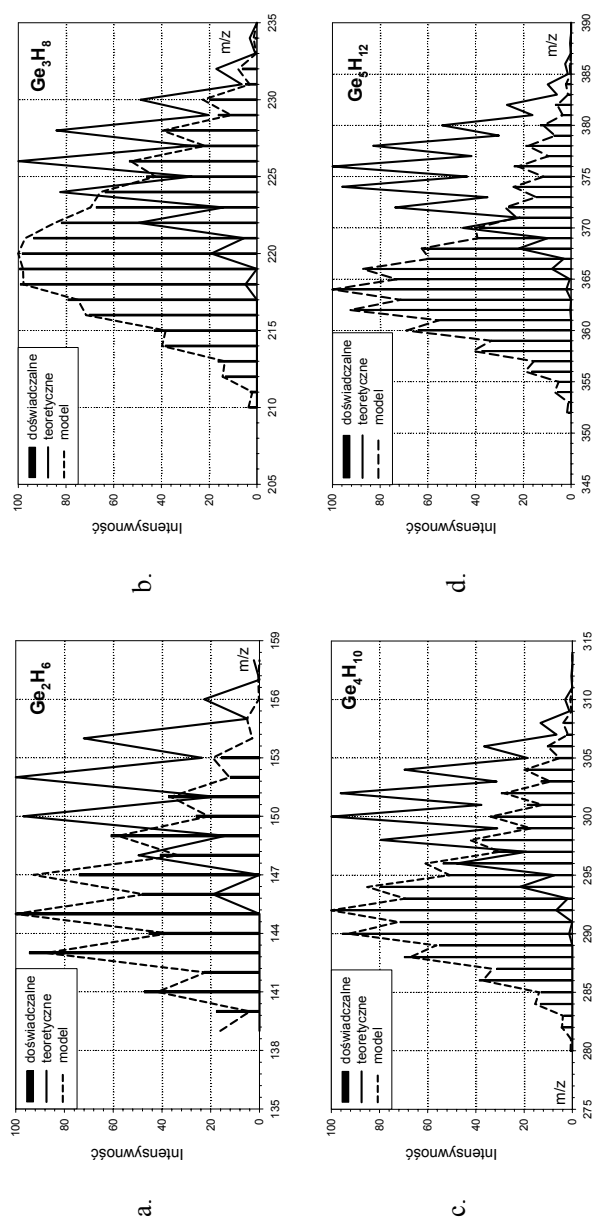
Dla digermanu Ge_2H_6 wartość LAPIC pasma doświadczalnego [184] wynosi 146 u zamiast 152 u, jak wskazywałyby obliczenia wykonane na podstawie składu elementarnego związku. Relacja pasma doświadczalnego i modelu zawierającego 3 składowe wykazuje stopień dopasowania $\alpha = 96,6\%$. W przypadku trigermanowodoru Ge_3H_8 wartość LAPIC pasma doświadczalnego [185] wynosi 219 u, wobec przewidywanego teoretycznie 226 u. Stopień dopasowania modelu 3-składnikowego jest wysoki i wynosi 98,2%. Prognoza obliczona dla tetragermanowodoru Ge_4H_{10} wykazuje położenie głównego pików pasma molekularnego przy 300 u, w porównaniu z doświadczalnie określoną wartością LAPIC wynoszącą 292 u [183]. Stopień dopasowania modelu jest bardzo wyso-

ki i wynosi $\alpha = 99,4\%$. Położenie głównego sygnału pasma pseudo-molekularnego w widmie masowym pentagermanowodoru Ge_5H_{12} [186] również znacznie odbiega od prognozowanej wartości LAPIC (odpowiednio 364 i 376 u). Dokładność dopasowania modelu 3-składnikowego i wyników pomiarowych jest doskonała ($\alpha = 99,7\%$). Zatem we wszystkich omawianych przypadkach obserwuje się znaczne przesunięcia wartości LAPIC eksperymentalnego pasma *quasi*-molekularnego w relacji do prognozy teoretycznej. Pomimo tego obliczenie modelu pasma i wyznaczenie jego składowych jest efektywne. Wyniki modelowania przedstawiono w tabeli 6.3 i na rysunku 6.6.

Tabela 6.3. Wyniki modelowania pasm pozornych jonów molekularnych n-germanowodorów

$\text{Ge}_n\text{H}_{2n+2}$	M ($\text{Ge}_n\text{H}_{2n+2}$)	A+H (Ge_nH)	A (Ge_n)	α
Ge_2H_6	22 ...	21	57	96,56
Ge_3H_8	25 ...	38	37	98,16
Ge_4H_{10}	21 ...	27	52	99,40
Ge_5H_{12}	17 ...	28	55	99,86
	M ...	A+H	$A_{\text{H}=0}$	α

Pasmo *quasi*-molekularne w zasadniczym stopniu odbiega od postaci dającej się przewidzieć teoretycznie [187], co bardzo utrudnia jego interpretację. W tym przypadku postawienie hipotezy opisującej doświadczalny klaster izotopomerowy jest niezwykle trudne. We wszystkich przypadkach klaster pseudo-molekularny odpowiadać może mieszaninie 3 składników głównych: jonu molekularnego $\text{Ge}_n\text{H}_{2n}^+$ (M), Ge_nH^+ (A+H) i Ge_n^+ ($A_{\text{H}=0}$). Obecność jonów Ge_n^+ i Ge_nH^+ wydaje się nonsensowna, ale w świetle możliwości występowania w związkach dwuwartościowego germanu [188, 189] obserwowane deformacje pasma molekularnego zdają się potwierdzać obecność układu $-\text{Ge}-$. Cecha taka może tłumaczyć powstawanie jonów tworzonych przez łańcuch atomów germanu (bez wodoru lub z minimalną liczbą jego atomów) i powodować ich trwałość wystarczającą do zarejestrowania obecności w widmie mas.



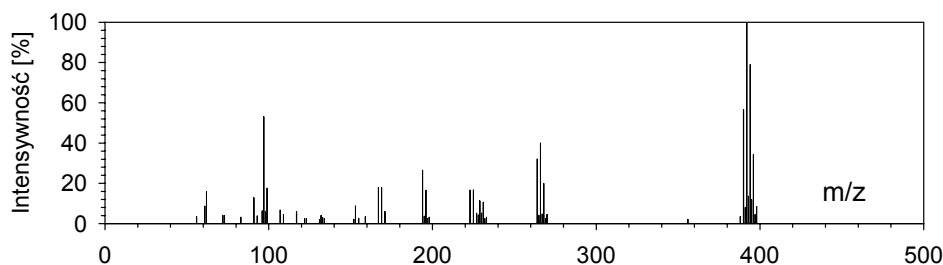
Rys. 6.6. Pasma *quasi*-molekularne germanowodorów: a – digermanowodoru Ge_2H_6 ; b – trigermanowodoru Ge_3H_8 ; c – n-tetragermanowodoru Ge_4H_{10} ; d – n-pentagermanowodoru Ge_5H_{12}

6.3. Nakładanie pasm jonów fragmentacyjnych o zasadniczo różnych składach elementarnych [56]

Obszar widma masowego odnoszący się do jonów fragmentacyjnych może być zaburzony także wskutek nałożenia klasterów izotopomerowych różnych jonów, często różniących się w istotnym stopniu składem pierwiastkowym i mających zasadniczo różne wzory jonowe [3f, 190]. W miarę zmniejszania się wartości LAPIC klastera, nałożenie na siebie kilku pasm jonów staje się bardziej prawdopodobne. Przykłady interpretacji klasterów powstałych wskutek nałożenia kilku blisko położonych pasm jonów przedstawiono na przykładzie heksachloroferrocenu.

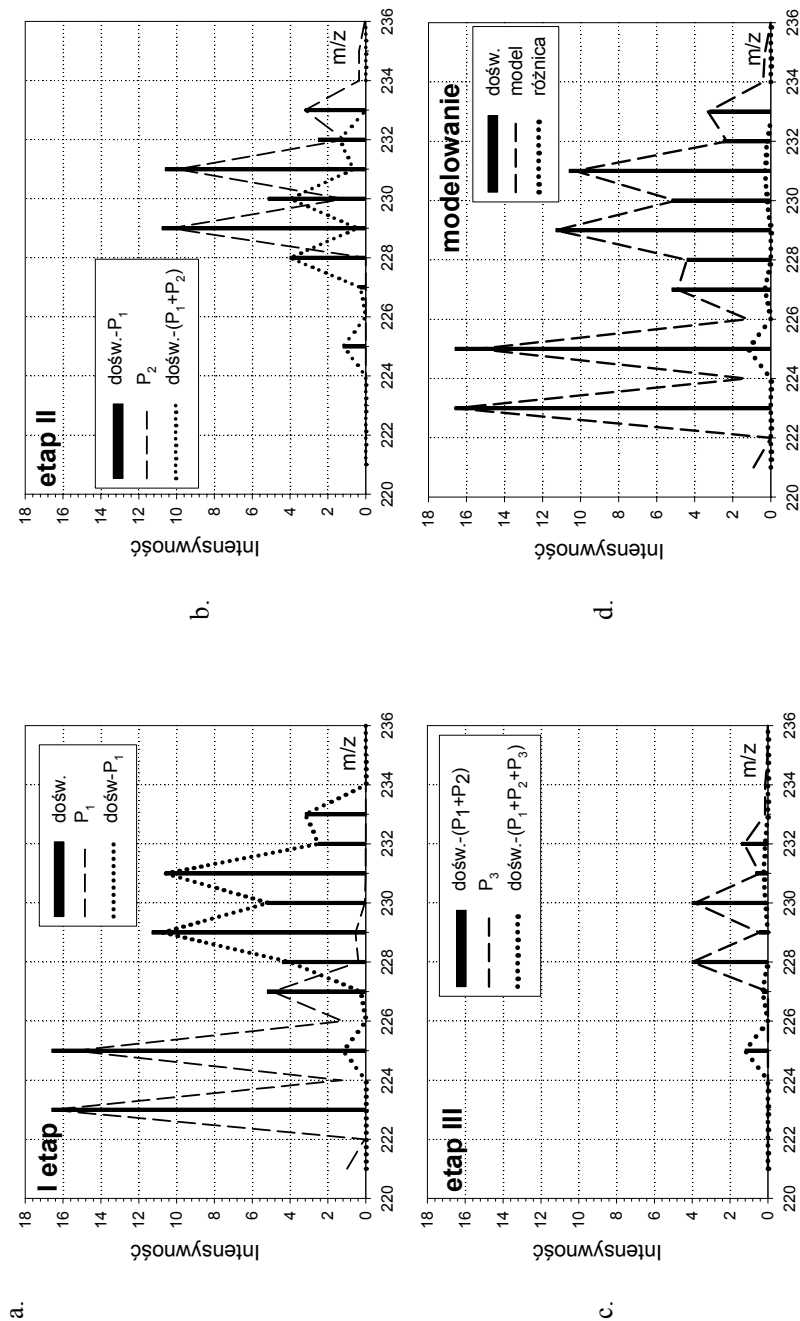
1,1',2,2',3,3'-Heksachloroferrocen, $C_{10}H_4Cl_6Fe$ (pasmo 223-229 u)

Widmo masowe 1,1',2,2',3,3'-heksachloroferrocenu (EI) [191] składa się z 60 pików o średniej intensywności (rys. 6.7). Piki są zgrupowane w kilku dobrze rozdzielonych pasmach. Dane fragmentacji wskazują na obecność 8 jonów o masach $m/z > 62$ u. Kształt pięciu klasterów wskazuje na obecność chloru w strukturze jonu. Najbardziej intensywne, szerokie pasmo, położone w zakresie $m/z = 388\div 398$ u jest, zdaniem autorów [192], związane z jonom molekularnym o wzorze $[C_{10}H_4Cl_6Fe]^+$. Pik główny widma znajduje się przy $m/z = 392$ u – w paśmie molekularnym.



Rys. 6.7. Widmo masowe 1,1',2,2',3,3'-heksachloroferrocenu, $C_{10}H_4Cl_6Fe$ [191]

Dokonano obliczeń szerokiego pasma zlokalizowanego w zakresie m/z pomiędzy 223 a 233 u testując hipotezę Smithsona [192], że klaster ten jest związany z kationem trichloro-pentadienylo-żelaza $[C_5H_2Cl_3Fe]^+$ (223 u). Wysoka wartość wariancji teoretycznej $s_{teor}^2 = 1164,37$ przeczy słuszności takiego założenia. Dwukomponentowy model ($P_1 = [C_5H_2Cl_3Fe]^+ - 60\%$ i $P_2 = [C_{10}H_4Cl_3]^+ - 40\%$) analizowanego pasma pozwala na uzyskanie klastera o kształcie bardziej zbliżonym do danych doświadczalnych. Wyraźne zmniejszenie wariancji ($s_{model}^2 = 147,63$) i wartość współczynnika dopasowania $\alpha = 87,32\%$ wskazują na poprawność działań, lecz ich efekt jest nadal niezadowolający.



Rys. 6.8. Obraz graficzny modelowania pasma 223–233 u w widmie masowym heksachloroferrocenu: a – porównanie pasma doświadczalnego i pasma teoretycznego ($[C_5H_2Cl_3Fe]^+$), b – uwzględnienie jonu fulwalonowego ($[C_5H_2Cl_3Fe]^+ + [C_{10}H_4Cl_3]^+$), c – model trójskładnikowy ($[C_5H_2Cl_3Fe]^+ + [C_{10}H_4Cl_3]^+ + [C_{10}H_3Cl_3]^+$), d – obraz końcowy modelowania

Szczegółowa analiza wykazała, że badane pasmo jest bardziej skomplikowane i może zawierać jeszcze jeden składnik – $[\text{C}_{10}\text{H}_4\text{Cl}_3]^+$. Zatem na pasmo 223÷233 u składają się trzy jony: ($P_1 = [\text{C}_5\text{H}_2\text{Cl}_3\text{Fe}]^+ - 53\%$, $P_2 = [\text{C}_{10}\text{H}_4\text{Cl}_3]^+ - 34\%$ i $P_3 = [\text{C}_{10}\text{H}_3\text{Cl}_3]^+ - 13\%$). Niska wartość wariancji modelowej $s_{model}^2 = 8,61$ i wysoki współczynnik dopasowania $\alpha = 99,26\%$ świadczy o poprawności takiego rozwiązania. Przebieg modelowania badanego pasma przedstawiono na rysunkach 6.8 a÷d. Podsumowując można stwierdzić, że obliczenia modelowe doprowadziły do następujących wyników:

- etap I model jednokomponentowy – kation trichloro-pentadienylu-żelaza
 $[\text{C}_5\text{H}_2\text{Cl}_3\text{Fe}]^+$ (223 u), $s_{teor}^2 = 1164,37$,
- etap II model dwukomponentowy ($P_1 = [\text{C}_5\text{H}_2\text{Cl}_3\text{Fe}]^+ - 60\%$
i $P_2 = [\text{C}_{10}\text{H}_4\text{Cl}_3]^+ - 40\%$), $s_{model}^2 = 147,63$; $\alpha = 87,32\%$,
- etap III model trójkomponentowy
($P_1 = [\text{C}_5\text{H}_2\text{Cl}_3\text{Fe}]^+ - 53\%$, $P_2 = [\text{C}_{10}\text{H}_4\text{Cl}_3]^+ - 34\%$
i $P_3 = [\text{C}_{10}\text{H}_3\text{Cl}_3]^+ - 13\%$), $s_{model}^2 = 8,61$; $\alpha = 99,26\%$.

Pasmo położone w zakresie 223÷229 u widma masowego heksachloroferrocenu może zatem być złożone z trzech składowych: $[\text{C}_5\text{H}_2\text{Cl}_3\text{Fe}]^+$ (54%), $[\text{C}_{10}\text{H}_3\text{Cl}_3]^+$ (13%) i $[\text{C}_{10}\text{H}_4\text{Cl}_3]^+$ (33%). Ostatnie dwa z wymienionych jonów mają związek z jonem chlorofulwalenowym, charakterystycznym dla fragmentacji heteroanularnych chloroferrocenów [193]. Układ fulwalenowy może powstać z jonu molekularnego w wyniku eliminacji krótkożyciowego jonu $[\text{FeCl}_2]^+$ i Cl. Wartości liczbowe klasterów tworzących trójskładnikowy model pasma przedstawiono w tabeli 6.4.

6.4. Modelowanie pasm złożonych – podsumowanie

Obliczenia oparte na zasadach analizy izotopomerowej pasm mogą być pomocnym narzędziem w wyjaśnianiu natury złożonych klasterów jonów masowych i ustalaniu ich składu. W rozdziale 6 zastosowanie analizy w badaniach klasterów złożonych, a w tym:

- Interpretację pasm pseudo-molekularnych utworzonych z jonów różniących się liczbą atomów wodoru w cząsteczce.

Poprawna identyfikacja klastera molekularnego ma podstawowe znaczenie dla całej interpretacji widma mas. Niepoprawne przypisanie wzoru generuje dalsze błędy w ustalaniu dróg fragmentacji. Pasma molekularne wielu substancji, także organicznych, wykazują wyraźne sygnały **M-1** czy **M-2** będące wskazówką o konieczności uwzględnienia procesów dehydrogenacji. Oprócz uwiarygodnienia interpretacji widma, istotną korzyścią może być także możliwość porównania trwałości wiązania R-H różnych związków. Można mieć nadzieję na ustalenie korelacji pomiędzy trwałością tych wiązań a strukturą cząsteczek. Zjawiska dehydrogenacji mogą wystąpić również w pasmach jonów fragmentacyjnych, lecz te przypadki nie mają tak kluczowego znaczenia jak dla klasterów molekularnych.

Tabela 6.4. Modelowanie pasma złożonego z klastrów trzech jonów: $P_1 = [C_5H_2Cl_3Fe]^+$ (53%), $P_2 = [C_{10}H_4Cl_3]^+$ (34%) i $P_3 = [C_{10}H_3Cl_3]^+$ (13%)

Położenia pików [u]	Intensywności pików [%]										Pasma doświadczalne [216]
	Składniki modelowanego pasma										
	$[C_5H_2Cl_3Fe]^+$		$[C_{10}H_3Cl_3]^+$		$[C_{10}H_4Cl_3]^+$		teoretyczny		znormalizowany		
	2	3	4	5	6	7	suma	model			
221	5,96	0,99						0,99		0,9	
222	0,33	0,06						0,06		0	
223	100,00	16,60						16,60		16,60	16,6
224	7,85	1,30						1,30		1,30	0
225	92,81	15,41						15,41		15,40	16,6
226	7,35	1,22						1,22		1,20	0
227	29,63	4,92						4,92		4,90	5,2
228	2,34	0,39						4,4		4,40	4,4
229	3,25	0,54						11,30		11,30	11,3
230	0,25	0,04						5,07		5,00	5,2
231	0,02	0,00						10,39		10,30	10,6
232	0	0						2,36		2,30	2,5
233								3,36		3,30	3,2
234								0,49		0,40	
235								0,37		0,30	
236								0,04		0	
237								0,00		0	
238								0		0	
	P₁ (53%)		P₂ (13%)		P₃ (34%)						

- Badanie pasm złożonych jonów o zasadniczo różnych składach elementarnych

Modelowanie izotopomerowe pasma złożonego może także wyjaśnić budowę pasma, którego składowe różnią się w istotnym stopniu, np. wykazują różne jakościowo składy elementarne. Sama procedura nie różni się zbyt od sposobu stosowanego do modelowania dehydrogenacji. Jeśli stosowany model jest dość prosty, można oczekiwać dobrej zbieżności wyników doświadczalnych z rezultatami obliczeń teoretycznych.

Szczególną uwagę należy zwrócić na dokonaną interpretację pasm *quasi*-molekularnych germanowodorów i podobieństwo ich składników. Udział jonu molekularnego $\text{Ge}_n\text{H}_{2n+2}$ i pozbawionych wodoru jonów Ge_nH i Ge_n w doświadczalnym paśmie molekularnym germanowodorów jest nieoczekiwany. Wyniki modelowe nie pozostawiają jednak wątpliwości. Potwierdza je jednak udowodniona doświadczalnie zdolność germanu do występowania w związkach jako pierwiastek dwuwartościowy [187], a także skłonność do łączenia się atomów Ge wiązaniami podwójnymi [188]. Dzięki zastosowaniu modelowania pasma izotopomerowego z typowego widma EI uzyskano wyniki dostępne dotychczas przy użyciu wyrafinowanych technik pomiarowych [149÷195]. Zagadnienie to jest tematem pracy przygotowanej do publikacji.

Praktyka wykaże, czy możliwe są jeszcze inne powody złożoności pasm jonów masowych i czy można je rozwiązywać za pomocą modelowania pasma izotopomerowego.

7. Izotopomerowa rekonstrukcja widma masowego – weryfikacja hipotezy fragmentacyjnej

Doświadczalne widmo masowe zwykle składa się z oddzielonych od siebie pasm, które wywodzą się od jonów powstałych z jonu molekularnego. Jony te, zebrane w tablicy fragmentacyjnej, stanowią obraz rozpadu cząsteczki i zespół cech charakterystycznych badanego związku. Każdy z klasterów dotyczy jonu fragmentacyjnego, wymienionego w tablicy fragmentacji, w której wzór jonu jest powiązany z jednym charakteryzującym go pikiem. Tablica ta zawiera wartość m/z jonu, jego wzór sumaryczny i intensywność (%) głównego pików każdego pasma [196]. Znajomość wzoru jonu i dane o zawartości izotopów naturalnych [57] pozwalają na teoretyczne obliczenie obrazu klasteru, tzn. położenia i intensywności pików. Przeanalizowanie i wymodelowanie pasm wszystkich jonów obserwowanych w widmie masowym umożliwia skonstruowanie widma teoretycznego jako graficznej prezentacji hipotezy fragmentacyjnej. Zgodność tak obliczonego modelu z wynikami uzyskanymi doświadczalnie, tzn. z zarejestrowanym widmem, umożliwia weryfikację postawionej hipotezy w postaci oceny poprawności interpretacji widma mas.

7.1. Założenia modelu

Tablica fragmentacyjna zawiera dane jonów fragmentacyjnych takie, jak: wzór sumaryczny lub strukturalny jonu oraz intensywność $P_{fr,i}$ i położenie⁴⁴ $m_{fr,i}$ głównego pików pasma fragmentacyjnego. Parametry pików stanowią fakty doświadczalne, ale ich relacje wymagają sprawdzenia. Testowano wszystkie jony, których struktury lub wzory sumaryczne zostały uwzględnione w tablicy fragmentacji. Przedstawiona koncepcja multiizotopowego modelowania pełnego widma masowego jest efektywna zwłaszcza dla przykładów związków metaloorganicznych i koordynacyjnych.

Zasadnicze obliczenia prowadzono za pomocą wielomianowej metody przewidywania pasma [55], stosowanej „krok po kroku” dla wszystkich jonów wymienionych w tablicy fragmentacji. Widmo modelowe składa się z pików wszystkich wymodelowanych pasm. Klaster rozmieszcza się w widmie stosownie do wartości m/z pików składowych. Parametrami początkowymi modelowania widma są następujące wielkości:

- dane fragmentacji, w których każdy z interpretowanych jonów jest opisany wzorem sumarycznym, intensywnością pików głównego pasma $P_{fr,i}$ (%) i położeniem tego pików $m_{fr,i}$ (m/z),

⁴⁴ Oznaczenie „ m ” określa wartość ilorazu masy i ładunku (m/z).

- widmo doświadczalne związku, zawierające sygnały położone przy $m_{exp,i}$ (m/z) o intensywnościach $P_{exp,i}$ (%) (jeśli to możliwe, bez selekcji czy uproszczeń).

Pierwsza grupa danych stanowi podstawę obliczenia modelowego widma teoretycznego. Druga zaś, zwykle zawierająca dane opublikowane w literaturze, umożliwia określenie jakości modelowania i ustalenia stopnia zgodności modelu i danych eksperymentalnych.

7.2. Modelowanie pasm

„Czysty” klaster jonu fragmentacyjnego, tzn. niezakłócony przez sygnały tła lub nakładające się pasmo sąsiednie może być modelowany prosto i bardzo skutecznie, np. za pomocą metod wielomianowych [121]. W odróżnieniu od takich prostych przypadków modelowanie pasma złożonego jest zwykle operacją skomplikowaną. Niektóre jony fragmentacyjne mają bardzo zbliżone masy, co powoduje nałożenie się na siebie odpowiadających tym jonom klasterów izotopomerowych. Zjawisko takie związane jest z dehydrogenacją, tzn. procesem generującym jony różniące się liczbą atomów wodoru (zwykle 1 lub 2). Rzadziej występuje zjawisko nakładania się klasterów jonów o istotnie różnych wzorach sumarycznych, a jednak zbliżonych masach. W obu tych przypadkach dochodzi do sumowania nakładających się ich sygnałów, przez co ich interpretacja wymaga aplikacji specjalnego programu obliczeniowego. Niejednokrotnie w pasmach izotopomerowych piki o dużych intensywnościach przeplatają się z pikami mało intensywnymi. Zjawisko takie dotyczy zwłaszcza jonów zawierających pierwiastki multiizotopowe, np. chlor, cyrkon, cynę czy german, których charakterystyka izotopowa przypomina formę grzebień. Nałożenie sąsiadujących pasm często prowadzi do zaburzenia lub nawet zaniku formy grzebieniowej pasma. Niejednokrotnie także ulega przesunięciu położenie głównego sygnału klastera (LAPIC) [49]. Zmiana położenia głównego piku o więcej niż 1 u obserwuje się dość często i zwykle jest ona związane z protonowaniem lub dehydrogenacją jonu. Zjawisko to powoduje istotne utrudnienia w interpretacji widma.

Widma masowe związków metaloorganicznych i związków koordynacyjnych zawierają zarówno pasma niezakłócone, jak i pasma złożone. Klaster złożony zawierać mogą dwa lub więcej (zwykle do czterech) pasm przyległych lub w różnym stopniu nakładających się na siebie. Wybór jednego z dwóch możliwych sposobów modelowania jest uzależniony od charakteru modelowanego pasma. Pojedyncze, nie zakłócone pasmo może być modelowane w prosty sposób. Modelowaniu pasma złożonego należy poświęcić znacznie więcej uwagi i zastosować bardziej skomplikowaną procedurę.

7.2.1. Proste pasma odpowiadające pojedynczemu jonowi fragmentacyjnemu [102]

Cechą charakterystyczną „czystego” pasma jest jego wyraźne oddzielenie od klasterów innych jonów fragmentacyjnych. W tablicy fragmentacji wzór jonu jest powiązany z jednym, charakteryzującym go pikiem o intensywności $m_{fr.i}$, położonym przy $m_{fr.i}$. W takim przypadku można obliczyć pasmo teoretyczne [55] opierając się na zawartości naturalnych izotopów pierwiastków (schemat 7.1). Najczęściej położenia głównych sygnałów pasma doświadczalnego i klastera obliczonego są jednakowe – $m_{fr.i} = m_k$, gdzie m_k oznacza położenie pików o intensywności $P_{calc.k}$ w paśmie teoretycznym. Najczęściej $P_{calc.k}$ jest też najsilniejszym pikiem w klasterze teoretycznym. Współczynnik proporcjonalności b , stosowany do normalizacji, oblicza się ze wzoru (7.1). Intensywności pików teoretycznych pasma odpowiadającego jonowi zawartemu w tablicy fragmentacji przelicza się odpowiednio (7.2) tworząc znormalizowany wektor pasma (Normalised Pattern Vector – NPV), którego strukturę przedstawiono na schemacie 7.2.

$$b = \frac{P_{fr.i}}{P_{calc.k}} \quad (7.1)$$

$$P_{NPV.i} = INT(b \cdot P_{calc.i}) \quad (7.2)$$

Wektory pasma: teoretyczny i znormalizowany

$$\begin{matrix} m_1 \\ m_2 \\ m_3 \\ \vdots \\ m_{z-2} \\ m_{z-1} \\ m_z \end{matrix} \begin{bmatrix} P_{calc.1} \\ P_{calc.2} \\ P_{calc.3} \\ \vdots \\ P_{calc.z-2} \\ P_{calc.z-1} \\ P_{calc.z} \end{bmatrix} \quad \text{schemat 7.1}$$

Teoretyczny wektor pasma

$$\begin{matrix} m_1 \\ m_2 \\ m_3 \\ \vdots \\ m_{z-2} \\ m_{z-1} \\ m_z \end{matrix} \begin{bmatrix} P_{NPV.1} \\ P_{NPV.2} \\ P_{NPV.3} \\ \vdots \\ P_{NPV.z-2} \\ P_{NPV.z-1} \\ P_{NPV.z} \end{bmatrix} \quad \text{schemat 7.2}$$

Znormalizowany wektor pasma (NPV)

Wartości określające położenie pików przedstawionych na schematach 7.1 i 7.2, a także na następnych, prezentowanych w dalszej części pracy występują w następującej relacji:

$$m_1 < m_2 < m_3 < \dots < m_{z-2} < m_{z-1} < m_z$$

Modelowanie pojedynczych, nie zakłóconych pasm jest proste i łatwe. W przypadku interpretacji widm masowych prostych związków organicznych ta

procedura jest najczęściej stosowana z racji niewielkiej szerokości izotopowej pasm (WIC).

7.2.2. Pasma złożone odpowiadające sumie kilku jonów fragmentacyjnych [102]

Obecność w widmie pasm jonów o zbliżonych masach stanowi bardzo istotny problem. Bliska lokalizacja klastrów powoduje ich nałożenie w taki sposób, że niektóre piki są sumą sygnałów należących do różnych pasm. Powstające w konsekwencji pasmo złożone może mieć kilka pików głównych (o zbliżonych intensywnościach), a obecność pasm składowych najpewniej daje się stwierdzić jedynie metodami obliczeniowymi. Najczęstszym przypadkiem jest efekt procesów dehydrogenacji [134, 150] polegający na nałożeniu pasm różniących się od siebie liczbą wodorów, tzn. przesuniętych o 1 lub/i 2 u. Przykład przedstawiony na rysunku 6.1 wskazuje, jak dalece nałożenie pasm zmienia obraz wypadkowego klastra w porównaniu z jego formą pojedynczą. Dzieje się tak, pomimo że składniki są takie same, jedynie przesunięte względem siebie. Postać pasma złożonego zależy od: liczby jego składników i ich udziałów w paśmie doświadczalnym, położenia i intensywności głównych sygnałów składników, a także od intensywności pików w klastrach. Najczęściej wszystkie parametry potrzebne do modelowania pasm złożonych są dostępne bądź w danych doświadczalnych, bądź w tablicy fragmentacji.

Matryca robocza (schemat 7.3), stosowana w obliczeniach, składa się z czterech kolumn (dla pasma złożonego z co najwyżej czterech komponentów). Taka liczba składników zabezpiecza większość możliwych przypadków i jest najbardziej odpowiednia do uzyskania właściwej dokładności modelowania. Pasma zawierające więcej niż cztery składniki nie może być badane tą metodą, gdyż uzyskane wyniki obarczone byłyby zbyt dużym błędem. W takim zatem przypadku prezentowany sposób jest nieprzydatny.

$$\begin{array}{c}
 \mathbf{m}_1 \\
 \mathbf{m}_2 \\
 \vdots \\
 \vdots \\
 \vdots \\
 \vdots \\
 \vdots \\
 \vdots \\
 \mathbf{m}_{w-1} \\
 \mathbf{m}_w
 \end{array}
 \begin{array}{cccc}
 \text{I} & \text{II} & \text{III} & \text{IV} \\
 \left[\begin{array}{cccc}
 P(1)_{calc.1} & 0 & 0 & 0 \\
 P(1)_{calc.2} & 0 & 0 & 0 \\
 \vdots & P(2)_{calc.1} & 0 & 0 \\
 P(1)_{calc.j-1} & P(2)_{calc.2} & P(3)_{calc.1} & 0 \\
 P(1)_{calc.j} & \vdots & P(3)_{calc.2} & 0 \\
 0 & P(2)_{calc.k-1} & \vdots & P(4)_{calc.1} \\
 0 & P(2)_{calc.k} & P(3)_{calc.l-1} & P(4)_{calc.2} \\
 0 & 0 & P(3)_{calc.l} & \vdots \\
 0 & 0 & 0 & P(4)_{calc.m-1}
 \end{array} \right]
 \end{array}
 \quad \text{schemat 7.3}$$

Matryca robocza

Matryca robocza jest wypełniana sukcesywnie od kolumny I do IV. Każdej z kolumn przyporządkowuje się jeden z przypuszczalnych składników pasma. Intensywności pików każdego z komponentów wprowadza się do odpowiedniej kolumny i zgodnie z położeniem pików m/z. W pustej matrycy pierwsze dane umieszcza się w kolumnie I, a jeśli ta kolumna jest już wypełniona, to w następnej wolnej. Liczba wierszy matrycy jest równa liczbie sygnałów pasma modelowego. Bierze się pod uwagę piki położone pomiędzy m_1 i m_w . Rozpatruje się wszystkie piki położone pomiędzy pierwszym „najlżejszym” a ostatnim „najcięższym” pikiem złożonego klastra modelowego.

Matrycę roboczą przekształca się w tzw. „sumaryczny wektor pasma” (schemat 7.4) „krok po kroku”, dodając wartości znajdujące się w tym samym wierszu (tzn. położone przy tym samym m/z) zgodnie ze wzorem (7.3):

$$P_{sum.i} = INT \left(\sum_{f=1}^4 P(f)_{calc.i} \right) \quad (7.3)$$

$$\begin{array}{l}
 m_1 \\
 m_2 \\
 m_3 \\
 m_4 \\
 \vdots \\
 m_{w-3} \\
 m_{w-2} \\
 m_{w-1} \\
 m_w
 \end{array}
 \left[\begin{array}{cccc}
 P(1)_{calc.1} & 0 & 0 & 0 \\
 P(1)_{calc.2} & 0 & 0 & 0 \\
 \vdots & P(2)_{calc.1} & 0 & 0 \\
 P(1)_{calc.j-1} & P(2)_{calc.2} & P(3)_{calc.1} & 0 \\
 P(1)_{calc.j} & \vdots & P(3)_{calc.2} & 0 \\
 0 & P(2)_{calc.k-1} & \vdots & P(4)_{calc.1} \\
 0 & P(2)_{calc.k} & P(3)_{calc.l-1} & P(4)_{calc.2} \\
 0 & 0 & P(3)_{calc.l} & \vdots \\
 0 & 0 & 0 & P(4)_{calc.m-1}
 \end{array} \right] \Rightarrow \left[\begin{array}{c}
 P_{sum1} \\
 P_{sum2} \\
 \vdots \\
 P_{sumw-1} \\
 P_{sumw}
 \end{array} \right]$$

schemat 7.4

Sumaryczny wektor pasma

Każde pasmo teoretyczne jest normalizowane zgodnie z intensywnością pików ujętego w tablicy fragmentacji i znajdującego się w klastrze doświadczalnym. Położenie pików z tablicy fragmentacji winno odpowiadać położeniu głównego sygnału w obliczonym paśmie ($m_{k,l} = m_{fr,l}$). Różnica tych lokacji wskazuje zazwyczaj na błąd znajdujący się w tablicy fragmentacji lub na niedokładności w modelowaniu pasma. Intensywności pików pasma teoretycznego winny równoważyć odpowiadające im wartości danych fragmentacyjnych. Wszystkie pozostałe sygnały pasma teoretycznego przelicza się według wzorów (7.4) i (7.5) i przekształca w wektor wypadkowy określony jako znormalizowany wektor pasma (Normalised Pattern Vector – NPV), przedstawiony na schemacie 7.5.

$$P_{max} = \max \begin{bmatrix} P_{sum.1} \\ P_{sum.2} \\ \vdots \\ P_{sum.(z-1)} \\ P_{sum.z} \end{bmatrix} \quad (7.4)$$

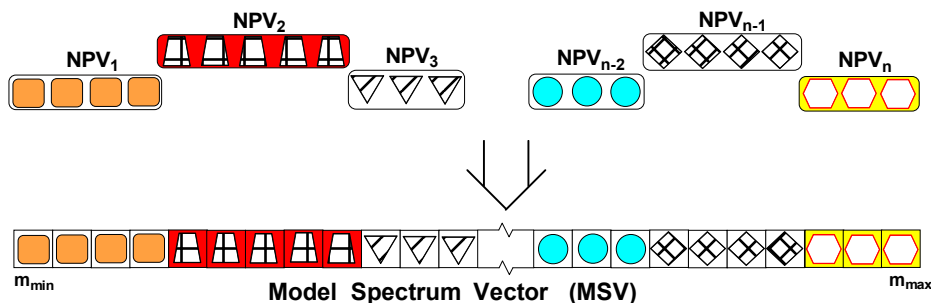
$$\begin{bmatrix} P_{NPV.1} \\ P_{NPV.2} \\ \vdots \\ P_{NPV.w-1} \\ P_{NPV.w} \end{bmatrix} = \frac{P_{fra.i}}{P_{max}} \cdot \begin{bmatrix} P_{sum1} \\ P_{sum2} \\ \vdots \\ P_{sum w-1} \\ P_{sum w} \end{bmatrix} \quad (7.5)$$

$$\begin{matrix} m_1 \\ m_2 \\ m_3 \\ \vdots \\ m_{w-2} \\ m_{w-1} \\ m_w \end{matrix} \begin{bmatrix} P_{NPV.1} \\ P_{NPV.2} \\ P_{NPV.3} \\ \vdots \\ P_{NPV.w-2} \\ P_{NPV.w-1} \\ P_{NPV.w} \end{bmatrix} \quad \text{schemat 7.5}$$

Znormalizowany wektor pasma (NPV)

7.3. Modelowanie widma [102]

Zarówno w przypadku pasma prostego, jak i złożonego stosuje się równania (7.2) lub (7.5) odpowiednio dla wszystkich zinterpretowanych jonów, zawartych w tablicy fragmentacji. Obliczenia doprowadzają do znormalizowanego wektora pasma (odpowiednio schemat 7.2 lub 7.5). Wszystkie wyliczone wektory NPV służą do utworzenia modelowego wektora widma (Model Spectrum Vector – MSV), jak to pokazano na schemacie 7.6. Tablica teoretycznego widma masowego jest sukcesywnie wypełniana przez obliczone wektory pasm, odpowiadające wszystkim uwzględnianym jonom fragmentacyjnym. Każdy obliczony wektor pasma (NPV) jest uwzględniany jako element składowy całości wektora widma (MSV), który to wektor odpowiada całości zarejestrowanego widma doświadczalnego.



schemat 7.6

Obliczone w taki sposób widmo składa się z modeli pasm prostych i złożonych (NPV) zebranych w jeden modelowy wektor widma, uporządkowany w kolejności położenia pików (m/z). Zakres od m_{min} do m_{max} może zawierać $m_{max} - m_{min} + 1$ sygnałów, przy czym ich intensywności są dostosowane do istniejących danych doświadczalnych. Oznaczenie m_{min} określa najmniejszą wartość m/z pierwszego klastra (pierwszy pik w widmie „pik najlżejszy”), a parametr m_{max} dotyczy największej wartości m/z pasma molekularnego (ostatni pik widma „pik najcięższy“).

Dane zawarte w tablicy fragmentacji, a także inne dostępne sygnały widma doświadczalnego porównuje się z odpowiadającymi im wielkościami modelowymi. Z reguły widmo modelowe jest bardziej obszerne niż eksperymentalne. Powodem jest fakt, że widmo masowe publikuje się zwykle po jego uproszczeniu [197], zatem liczba pików doświadczalnych jest mniejsza niż by być mogła. Niektóre z sygnałów zawartych w widmie modelowym nie mają swoich odpowiedników w opublikowanym spektrum, zatem w dalszym postępowaniu związana z tym wartość m/z jest opuszczana przy porównywaniu, ponieważ pozycja ta w widmie doświadczalnym pozostaje nieobsadzona. Oba widma – doświadczalne i modelowe są wykorzystywane do dalszych obliczeń w pełnej postaci (wyjawszy pozycje m/z wspomniane powyżej). Sposób porównywania widm przedstawia schemat 7.7, przy czym postępowanie dotyczy tylko tych pików, które mają swe odpowiedniki w drugim spektrum.

$$\begin{array}{c} m_1 \\ m_2 \\ m_3 \\ \vdots \\ m_{v-2} \\ m_{v-1} \\ m_v \end{array} \begin{array}{c} P_{exp.1} \\ P_{exp.2} \\ P_{exp.3} \\ \vdots \\ P_{exp.v-2} \\ P_{exp.v-1} \\ P_{exp.v} \end{array} \Leftrightarrow \begin{array}{c} P_{MSV.1} \\ P_{MSV.2} \\ P_{MSV.3} \\ \vdots \\ P_{MSV.z-2} \\ P_{MSV.z-1} \\ P_{MSV.z} \end{array} \begin{array}{c} m_1 \\ m_2 \\ m_3 \\ \vdots \\ m_{z-2} \\ m_{z-1} \\ m_z \end{array} \quad \text{schemat 7.7}$$

Wektory widma – Doświadczalny i Modelowy (MSV)

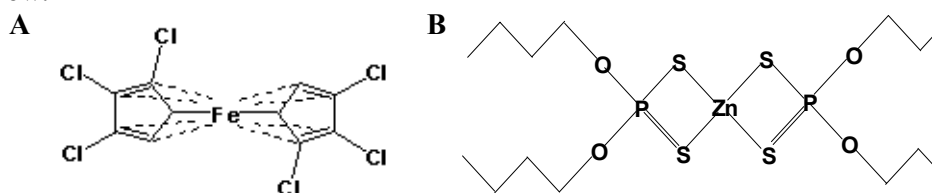
Stopień zgodności (dopasowania) obu widm oznacza się za pomocą „wariancji widma” s_{spec}^2 obliczanej z równania [90]:

$$s_{spec}^2 = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n (P_{exp.i} - P_{SMV.i})^2 \quad (7.6)$$

dla n par punktów, które odpowiadają sobie w obu widmach: doświadczalnym i modelowym (przy tej samej wartości m/z). Wartość s_{spec}^2 określa zatem różnicę pomiędzy widmem doświadczalnym (piki o intensywnościach $P_{exp.i}$) a obliczonym widmem modelowym (piki o intensywnościach $P_{MSV.i}$). Ogólny sche-

mat całej procedury modelowania widma przedstawiono na rysunku 7.1. Specjalizowany program narzędziowy łączy ze sobą obliczenia i wizualizację postępowania.

Możliwości stosowania modelowania widma przedstawiono na dwóch przykładach związków koordynacyjnych zawierających w cząsteczce żelazo (A) lub cynk (B) jako pierwiastki multiizotopowe. W widmach eksperymentalnych obserwuje się obecność zarówno prostych pasm, jak i złożonych klastarów.

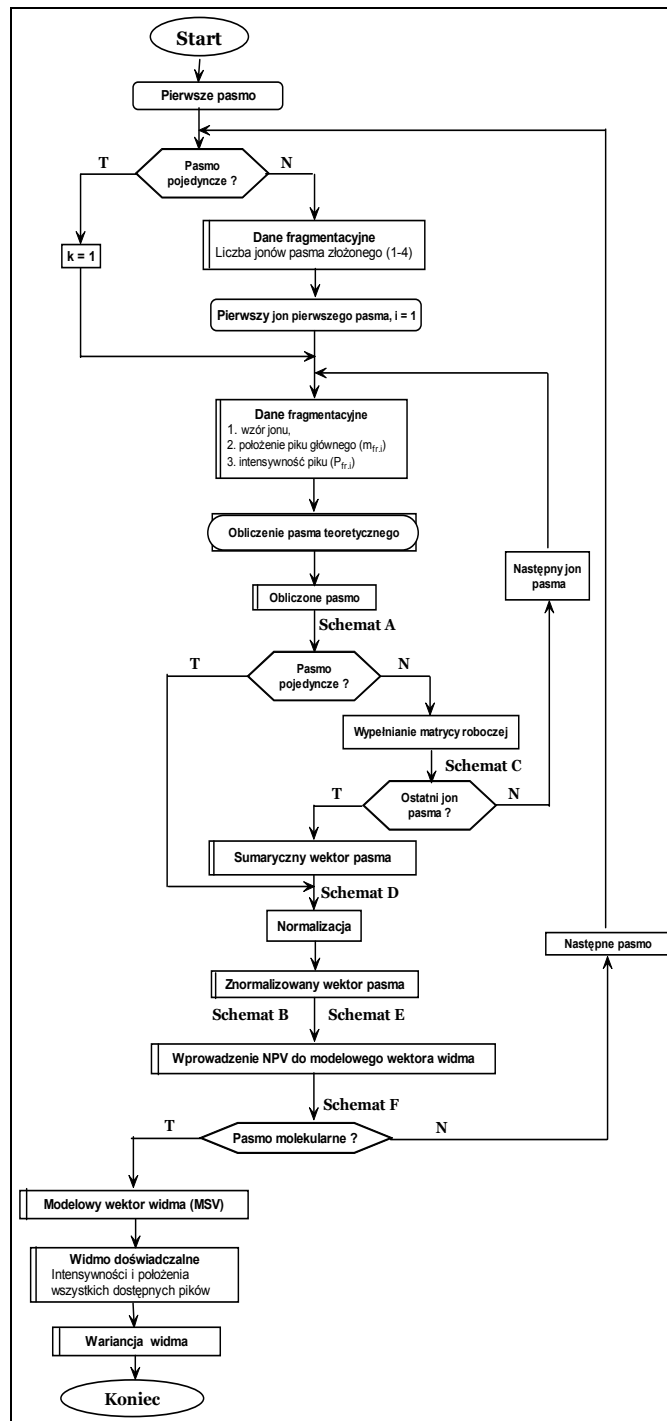


1,1',2,2',3,3'-Heksachloro-ferrocen $C_{10}H_4Cl_6Fe$

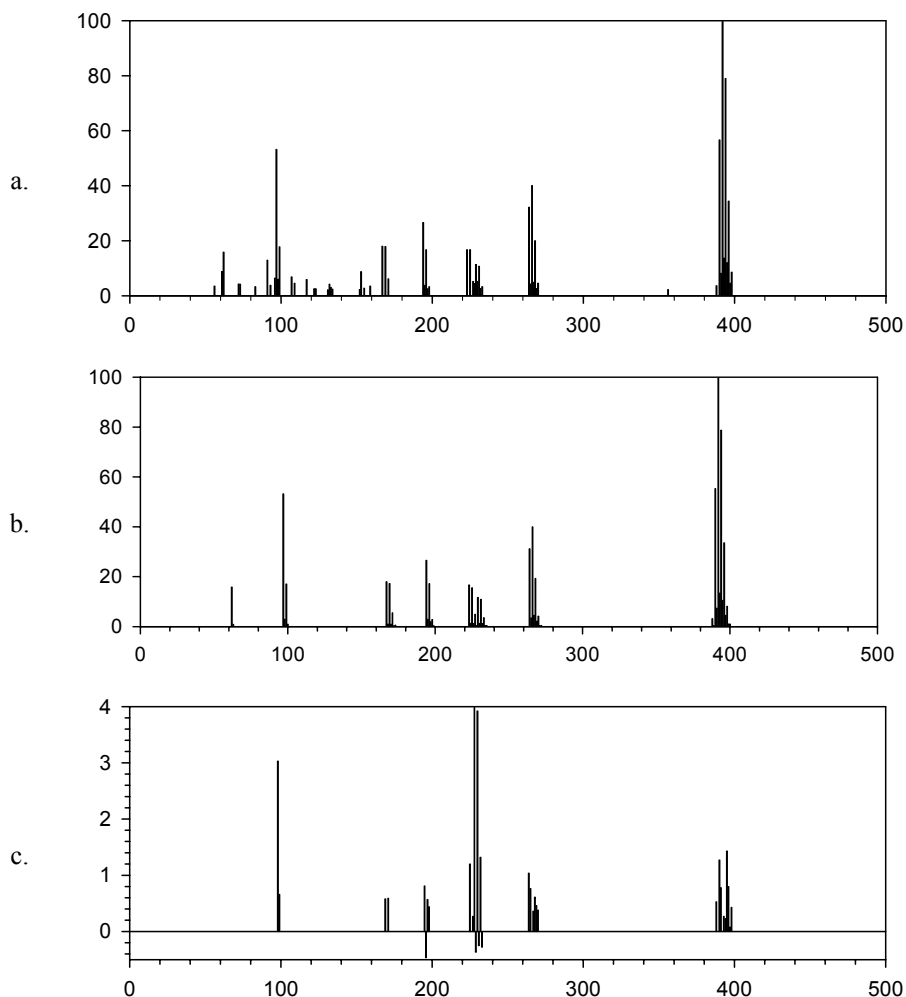
Widmo doświadczalne 1,1',2,2',3,3'-heksachloro-ferrocenu, wykonane po jonizacji EI [191, 192], zawiera 60 pików (rys. 7.2a) w postaci izolowanych pików i kilku dobrze oddzielonych pasm. Tablica fragmentacyjna (tab. 7.1) zawiera 8 jonów fragmentacyjnych o m/z większych od 60 u.

Tabela 7.1. Fragmentacja 1,1',2,2',3,3'-heksachloro-ferrocenu $C_{10}H_4Cl_6Fe$ [191]

Pik m/z	Wzór sumaryczny	Intensywność [%]	Pik m/z	Wzór sumaryczny	Intensywność [%]
392	$[C_{10}H_4Cl_6Fe]^+$	100,00	194	$[C_{10}H_4Cl_2]^+$	16,60
266	$[C_{10}H_4Cl_4]^+$	40,03	167	$[C_5H_2Cl_3]^+$	17,99
229	$[C_{10}H_4Cl_3]^+$	11,34	97	$[C_5H_2Cl]^+$	53,19
223	$[C_5H_2Cl_3Fe]^+$	16,69	62	$[C_5H_2]^+$	15,85



Rys. 7.1. Schemat blokowy modelowania widma



Rys. 7.2. Widmo masowe 1,1',2,2',3,3'-heksachloro-ferrocenu $C_{10}H_4Cl_6Fe$, a – doświadczalne, b – modelowe, c – różnica pomiędzy a i b. Wszystkie widma ilustrują intensywności pików P [%] i ich położenie (m/z)

Pasma składowe widma w przypadku 7 jonów wykazują obecność chloru. Pasma molekularne jest położone pomiędzy $m/z = 388$ a 398 i jest pasmem głównym. Dzięki temu łatwo i dokładnie można ustalić wzór molekularny jako $C_{10}H_4Cl_6Fe$. Jon 1',2,2',3,3'-tetrachlorofulwalenowy $[C_{10}H_4Cl_4]^+$ powstał zapewne z jonu molekularnego w wyniku eliminacji $FeCl_2$. Reakcja ta jest charakterystyczną dla widm masowych chloroferrocenów [192]. Obszar m/z pomiędzy 223 a 232 u można przyporządkować jonom fragmentacyjnym $[C_5H_2Cl_3Fe]^+$ i $[C_{10}H_4Cl_3]^+$. Sygnały tworzące oba klaster są mało intensywne (5÷15%). Pasma teoretyczne tych jonów stykają się ze sobą, nie nakładają, a zatem modelowanie i interpretacja nie następują trudności. Pozostałe klaster

ry stanowią dobrze rozdzielone, indywidualne pasma. Sygnały tworzące widmo są mało intensywne ($5\div 15\%$), pasma teoretyczne jonów stykają się ze sobą, nie nakładają, a zatem modelowanie i interpretacja nie nastęrczają trudności. Spósb postępowania opisany w podrozdziałach 7.2.1 i 7.2.2 powtarza się dla wszystkich zinterpretowanych jonów, aż zostanie skompletowane pełne widmo modelowe (rys. 7.2b). Piki o intensywnościach mniejszych niż 0,5% eliminuje się z widma teoretycznego (MSV). Teoretycznie wyznaczone widmo zawiera 47 pików, a 37 z nich ma swoje odpowiedniki w widmie doświadczalnym (rys. 7.2a, b), co obejmuje zdecydowaną większość sygnałów o intensywnościach wyższych niż 5%. Obrazy obu widm są bardzo podobne. Widmo różnicowe (rys. 7.2c) przedstawia zauważone rozbieżności ($-0,6\div 4\%$).

Podstawą obliczeń wartości współczynnika dopasowania były intensywności pików występujących zarówno w widmie modelowym, jak i eksperymentalnym. Obliczona wartość wariancji widma s_{spec}^2 wynosząca 1,42 wskazuje na dużą zbieżność danych doświadczalnych i wyliczonego modelu.

Bis(dibutylditiofosforan)-cynku(II) [(C₄H₉O)₂PS₂]₂Zn

Doświadczalne widmo bis(dibutylditiofosforanu)-cynku(II) otrzymane w wyniku desorpcji polem (FD)[169, 223] składa się z 103 pików (rys. 7.3a) w postaci dobrze rozdzielonych klasterów i pojedynczych pików. Pasma molekularne położone jest w zakresie m/z 546 do 551 u. Piki pasma molekularnego mają średnią intensywność ($4\div 22\%$). Główny sygnał widma, położony przy m/z = 131 jest związany z obecnością jonu fragmentacyjnego o wzorze [H₄O₂PS₂].

Tablica fragmentacji (tab. 7.2) zawiera 28 jonów o wartościach m/z większych od 131. Interpretacja wykazuje obecność 2 klasterów składających się z trzech składowych ($321\div 323$ i $239\div 243$ m/z) i 3 pasm złożonych, dwuskładnikowych ($490\div 491$, $434\div 435$ i $378\div 379$ m/z), których sygnały nakładają się z przypuszczalnym przesunięciem rzędu 1 u. Modelowanie tych pasm jest utrudnione z racji obserwowanej złożoności klasterów. Wykonane obliczenia umożliwiły jednak oznaczenie składowych badanych pasm i sporządzenia modelu widma (tab. 7.2, rys. 7.3).

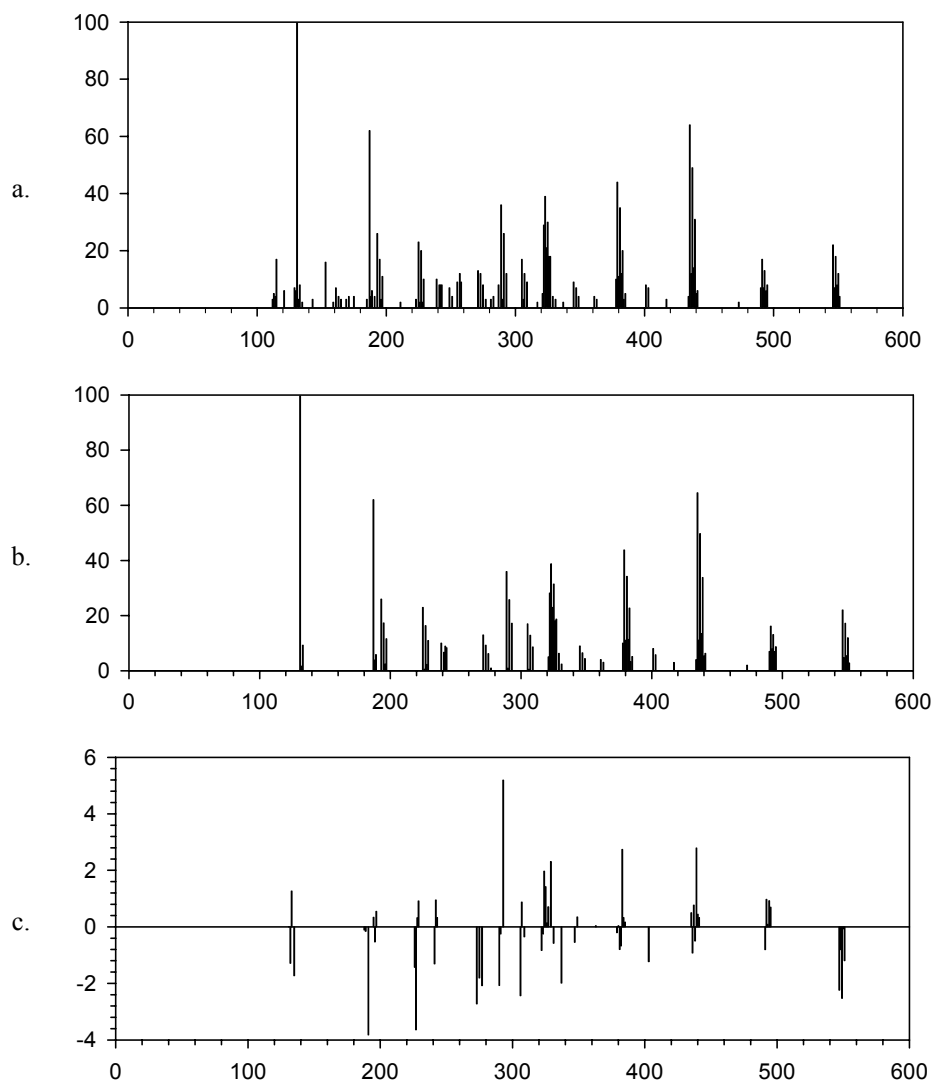
Obecność cynku w jonie powoduje poszerzenie pasma izotopomerowego, osiagającego dla pasma molekularnego 9 sygnałów o relatywnych intensywnościach $> 0,5\%$. Modelowanie widma wprowadza pewne zmiany do tablicy fragmentacji. Zmiany te dotyczą składników pasm złożonych. Reguły addytywności [199] zastosowane do pasm złożonych prowadzą do zmian intensywności składowych niektórych pasm ($490\div 491$, $378\div 385$, $322\div 329$ i $242\div 243$ m/z). Najistotniejsza korekta w interpretacji widma dotyczy sygnału 441 m/z i związanego z nim pasma. Modelowanie dowodzi, że piku tego nie należy przypisywać jonowi [C₁₂H₂₇O₃P₂S₃Zn]⁺. Jest on bowiem sygnałem izotopomerowym odnoszącym się do jonu [C₈H₂₁O₄P₂S₄Zn]⁺ (435 m/z).

Tabela 7.2. Fragmentacja bis(dibutyloдитiofosforanu)-cynku(II) [(C₄H₉O)₂PS₂]₂Zn

Pik [m/z]	Wzór sumaryczny	Intensywność		Pik [m/z]	Wzór sumaryczny	Intensywność	
		dośw. [223]	model			dośw. [223]	model
		[%]				[%]	
546	[C ₁₆ H ₃₆ O ₄ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	22	22	329	[C ₄ H ₁₁ O ₃ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	4	3
491	[C ₁₂ H ₂₉ O ₄ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	16	15	323	[H ₅ O ₄ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	39	34
490	[C ₁₂ H ₂₈ O ₄ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	7	7	322	[H ₄ O ₄ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	29	28
473	[C ₁₂ H ₂₇ O ₃ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	2	2	321	[H ₃ O ₄ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	5	5
441	[C ₁₂ H ₂₇ O ₃ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	6	0	305	[H ₃ O ₃ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	17	17
435	[C ₈ H ₂₁ O ₄ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	64	64	289	[H ₃ O ₄ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	36	36
434	[C ₈ H ₂₀ O ₄ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	4	4	271	[HO ₃ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	13	13
417	[C ₈ H ₁₉ O ₃ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	3	3	243	[C ₈ H ₂₀ O ₂ PS ₂] ⁺	8	3
401	[C ₈ H ₁₉ O ₄ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	8	8	242	[C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂] ⁺	8	8
385	[C ₈ H ₁₉ O ₃ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	5	1	239	[HO ₃ P ₂ S ₂ Zn] ⁺	10	10
379	[C ₈ H ₁₃ O ₃ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	44	43	225	[H ₂ O ₂ PS ₃ Zn] ⁺	23	23
378	[C ₈ H ₁₂ O ₃ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	10	10	193	[H ₂ O ₂ PS ₂ Zn] ⁺	26	26
361	[C ₄ H ₁₁ O ₃ P ₂ S ₄ Zn] ⁺	4	4	187	[C ₄ H ₁₂ O ₂ PS ₂] ⁺	62	62
345	[C ₄ H ₁₁ O ₄ P ₂ S ₃ Zn] ⁺	9	9	131	[H ₄ O ₂ PS ₂] ⁺	100	100

- I** – [C₁₂H₂₉O₄P₂S₄Zn]⁺ i [C₁₂H₂₈O₄P₂S₄Zn]⁺
II – [C₈H₂₁O₄P₂S₄Zn]⁺ i [C₈H₂₀O₄P₂S₄Zn]⁺
III – [C₄H₁₃O₄P₂S₄Zn]⁺ i [C₄H₁₂O₄P₂S₄Zn]⁺
IV – [H₅O₄P₂S₄Zn]⁺, [H₄O₄P₂S₄Zn]⁺ i [H₃O₄P₂S₄Zn]⁺
V – [C₈H₂₀O₂PS₂]⁺, [C₈H₁₉O₂PS₂]⁺ i [HO₃P₂S₂Zn]⁺.

Zespolenie wszystkich obliczonych klasterów prowadzi do wyznaczenia widma modelowego, które przedstawiono na rysunku 7.3b. Widmo modelowe składa się ze 148 sygnałów. Obrazy obu widm przedstawiają się jako bardzo podobne. Wariancja widma s_{spec}^2 obliczona dla 80 pików obecnych jednocześnie w obu widmach ma wartość 1,85. Świadczy to o dobrej zgodności modelu i danych doświadczalnych, choć daje się zauważyć i pewne różnice (rys. 7.3c).



Rys. 7.3. Widmo masowe bis(dibutyloditiofosforanu)-cynku(II) $[(C_4H_9O)_2PS_2]_2Zn$
 a – doświadczalne, b – modelowe, c – różnice pomiędzy a i b. Wszystkie widma przedstawiają zależności intensywności sygnałów P [%] i ich położenia (m/z)

7.4. Weryfikacja hipotezy fragmentacyjnej – ocena modelowania

Modelowanie widma jest użytecznym narzędziem weryfikacji hipotezy fragmentacyjnej zawartej w tablicy fragmentacji, zawierającej wzory i masy jonów fragmentacyjnych. Pozwala ono na określenie relacji pomiędzy kształtem

widma mas a jego interpretacją w postaci określonych dróg fragmentacji i w konsekwencji umożliwia efektywne poszukiwanie ewentualnych błędów bądź to w widmie mas, bądź w jego interpretacji. Szczególnie dogodną grupą związków dla zastosowania modelowania widma są związki koordynacyjne i metaloorganiczne, tzn. te, w których cząsteczkach występują atomy pierwiastków multiizotopowych. Kompatybilność widma doświadczalnego i obliczonego modelu świadczy zarówno o poprawności eksperymentu, jak i właściwej interpretacji uzyskanych doświadczalnie wyników.

Różnice intensywności odpowiadających sobie pików obu widm, obliczonego i eksperymentalnego, są łatwo zauważalne. Wielkość parametru wariancji widma s_{spec}^2 określa stopień dopasowania pomiędzy modelem a widmem doświadczalnym. Niska wartość ($s_{spec}^2 < 3$) tego współczynnika dowodzi dokładności proponowanej hipotezy fragmentacji. Wszystkie inne, obserwowane różnice mogą wynikać ze zjawisk, które pominięto przy interpretacji. Niekiedy, istotne trudności mogą być spowodowane przebiegiem pewnych niekonwencjonalnych procesów lub nałożeniem się kilku różnych przyczyn. Metoda modelowania pozwala także ocenić, jak istotne znaczenie ma określony jon w całym obrazie fragmentacji badanego związku. Przedstawiona metoda może być wykonywana za pomocą zaadaptowanego arkusza kalkulacyjnego (np. Excel®), wzbogaconego o procedury wizualizacyjne, co pozwala na kontrolę każdego z etapów modelowania.

8. Identyfikacja klasterów jonów dwudodatnich⁴⁵ za pomocą analizy izotopomerowej

Widmo masowe może być traktowane jako funkcja całkowitego prądu jonowego względem masy m i ładunku jonu $z - I = f\left(\frac{m}{z}\right)$. Różne wartości ładunków jonów z powodują, że jony o tej samej masie, lecz różniące się ładunkiem znajdują się w różnych obszarach widma. Jonizacja elektronami generuje zwykle jony o pojedynczym ładunku dodatnim⁴⁶ ($z = 1$) [200]. Niekiedy jednak powstające jony mogą mieć ładunek podwójny, potrójny i większy [10a]. W widmach EI jony takie występowały niezbyt licznie, dlatego też były traktowane marginalnie i zwykle pomijano je w interpretowaniu widma. Niewielka szerokość izotopomerowa ($WIC = 3$), charakterystyczna dla mniej złożonych związków organicznych [61], dodatkowo utrudnia detekcję jonów wielokrotnie naładowanych, np. pasmo jonu dwudodatniego zawierać będzie w tym przypadku zaledwie 1-2 sygnałów. Dlatego też hipotezę o ładunku jonu większym niż +1 w widmach EI rozpatruje się zwykle dopiero w przypadku niepowodzenia wyjaśnienia wzoru jonu jednododatniego [3g] i na ogół pozostaje ona nieweryfikowalna.

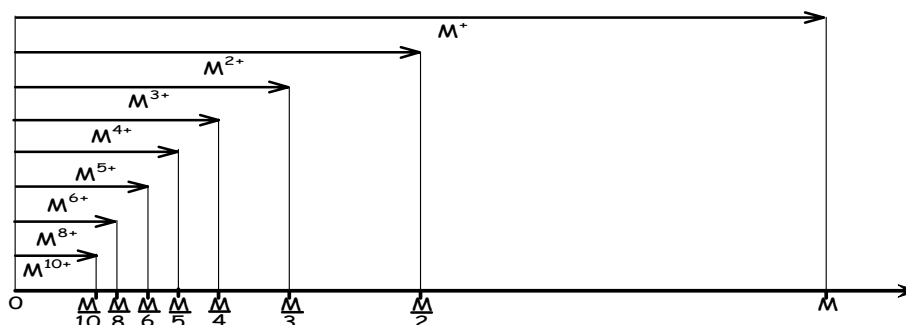
Postęp w dziedzinie metod jonizacji umożliwił zastosowanie spektrometrii mas do badań związków o złożonych strukturach i znacznej masie molowej, których jonizacja elektronami prowadziła do głębokiej destrukcji cząsteczki. Stosowanie „łagodnych” metod jonizacji, takich jak ESI-MS [201, 202], MALDI [196] czy FAB [203, 204] sprzyja powstawaniu jonów masowych o ładunkach innych niż ± 1 .

Pewien wpływ na częstsze występowanie w widmie jonów o ładunku $|z| > 1$ może mieć także rodzaj i struktura badanych substancji. Obecność wiązań wielokrotnych, zwłaszcza sprzężonych, zdolność do tworzenia wiązań wodorowych, obecność wolnych par elektronowych sprzyja trwałości form rezonansowych dzięki rozmyciu ładunku w obrębie struktury [205]. Multiplikacja takich cech może tłumaczyć występowanie jonów o ładunku różnym od ± 1 zwłaszcza w widmach masowych, np. białek i polipeptydów [206], pochodnych fulerenów [207], dendrymerów [208] czy pochodnych porfiryny [209, 210]. Złożoność cząsteczki związku zwiększa również trwałość powstających jonów wielokrotnie naładowanych [211]. Klasyczny przegląd stanu wiedzy o występowaniu w widmach masowych jonów wielokrotnie naładowanych przedstawił Vekey [212] i od tego czasu nie było odrębnego opracowania poświęconemu temu tematowi.

⁴⁵ Jon dwudodatni – jon masowy o ładunku $z = + 2$.

⁴⁶ W spektrometrii mas EI bada się najczęściej kationy i dlatego też praca dotyczy jonów dodatnich.

Położenia klasterów jonów wielokrotnie naładowanych (jon masowy o ładunku $|z| \neq 1$) różnią się znacznie z racji różnic wielkości ładunku z . Jonów wielokrotnie naładowanych należy szukać w zakresie $[0 - M/z]$.



Rys. 8.1. Obszary występowania pasm jonów wielokrotnie naładowanych w widmie mas

Interpretacja klasterów jonów wielonaładowanych jest utrudniona z powodu ich specyficznych właściwości, takich jak:

- zawężony obszar występowania ($m/z \leq M/z$) (rys. 8.1),
- zmniejszona szerokość izotopomerowa pasma (WIC/z), co wiąże się ze zmniejszeniem liczby sygnałów w interpretowanym paśmie,
- mniejsza liczba pików tworzących w widmach masowych pasmo niskiej rozdzielczości (eliminacja sygnałów położonych przy ułamkowych wartościach m/z),
- zmniejszona intensywność sygnałów wynikająca z małego prawdopodobieństwa utworzenia takich jonów.

Obszary występowania w widmie jonów wielokrotnie naładowanych pokrywają się z mocno zazwyczaj obsadzonymi zakresami występowania produktów daleko posuniętej fragmentacji (rys. 8.1). Fakt ten ogromnie utrudnia interpretację klasterów jonów o ładunku $|z| > 1$ i jest przyczyną ich nieuwzględniania w interpretacji widm.

„Miękkie” metody jonizacji generują jony wielonaładowane, ale stosowanie relatywnie niskiej energii jonizacji pozwala zminimalizować procesy fragmentacji, dzięki czemu uzyskuje się widmo masowe zawierające niemal wyłącznie klaster jony molekularnych. Dzięki temu klaster jony o ładunkach $|z| > 1$ nie są zakłócane sygnałami jonów fragmentacyjnych.

Jony jedno- jak i wielokrotnie dodatnie występują w widmie w postaci zespolonych pików. W przedstawionych w literaturze widmach masowych klaster jony o ładunkach różnych od 1 (o ile są uwzględnione) reprezentują tylko izotopomery o masach podzielnych przez z (np. dla $z = 2$ – tylko parzystych), sygnały o ułamkowych wartościach m/z są zazwyczaj pomijane. Zjawisko to w istotnym stopniu utrudnia interpretację pasm odpowiadających jonom wielo-

krotnie naładowanym. Istotne problemy interpretacji powoduje lokalizacja pasma takiego jonu. Obserwuje się zagęszczanie sygnałów tych jonów w obszarze niskich wartości m/z (rys. 8.1, rys. 8.2), w którym występują klaster jonów eliminowanych w wyniku fragmentacji. Nakładanie pasm różnych jonów może całkowicie uniemożliwić interpretację takiego złożonego klastera. Wymienione przyczyny powodują, że pasma jonów wielokrotnie naładowanych są rzadko wykorzystywane do interpretacji widm masowych EI. Dokładność lokalizacji sygnałów 0,1 u ułatwia identyfikację jonów także tych wielokrotnie naładowanych w widmach masowych niskiej rozdzielczości. Umożliwia ona dokładniejsze określenia położenia sygnałów w przypadkach $z > 1$. Połówkowa wartość m/z świadczyć może o obecności w widmie sygnału jonu dwudodatniego o nieparzystej masie. Możliwość ta jest jednak na ogół bagatelizowana, a wyznaczone położenie sygnału z reguły bywa zaokrąglane do całkowitej wartości m/z .

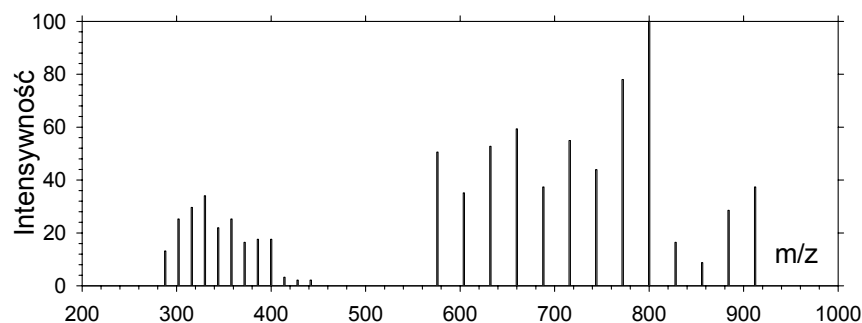
8.1. Jony dwudodatnie w widmie masowym

Widma niskiej rozdzielczości EI stanowią przeważającą zawartość baz widm masowych [14÷16] i dlatego są one podstawą tej pracy. W tych bazach znajdują się tysiące widm o położeniach pików zapisanych przy całkowitych wartościach m/z [17÷19]. Źródła literaturowe zwykle nie zawierają wskazań obecności jonów wielokrotnie naładowanych, wskutek niedoceniań ich wartości informacyjnej lub z powodu trudności interpretacyjnych.

Widmo masowe utworzone przez jonizację elektronami składa się zwykle z pasm jonów jednododatnich. Jony dwudodatnie występują w bazach skatalogowanych widm rzadziej z powodu:

- relatywnie dużej energii wewnętrznej i destrukcyjnym właściwościom strumienia jonizujących elektronów,
- rejestracji sygnałów położonych tylko przy całkowitych wartościach m/z ,
- możliwych zakłóceń w wyniku nakładania się sygnałów o różnej genezie.

Dalszy ciąg rozważań będzie dotyczył jonów dwudodatnich, ponieważ spośród jonów wielokrotnie naładowanych występują one w skatalogowanych widmach masowych najczęściej. Położenie ich klasterów w obszarze widma o umiarkowanej częstości zakłóceń sprzyja również ich interpretacji. Założono, że piki zlokalizowane przy ułamkowych wartościach m/z zostały pominięte, w tym także piki związane z jonami o masach nieparzystych. Pasma dotyczące jonów o ładunku +2 zawierają potencjalnie największą liczbę sygnałów spośród innych jonów o $|z| > 1$, ponieważ klaster izotopomerowy [49] jonu dwudodatniego jest tylko dwukrotnie węższy od pasma odpowiadającego mu jonu jednododatniego.



Rys. 8.2. Widmo masowe triangulo-dodekakarbonylotri-osmu $C_{12}O_{12}Os_3$ [100]

Z tych to powodów zdecydowano ograniczyć rozważania do jonów dwudodatnich jako przypadku potencjalnie najprostszego do wyjaśnienia.

Widma masowe związków metaloorganicznych i koordynacyjnych mogą zawierać kilka jonów wielokrotnie naładowanych, przykładem może być widmo triangulo-dodekakarbonylotri-osmu $C_{12}O_{12}Os_3$ [100] przedstawione na rysunku 8.2. Piki izotopomerowe zostały całkowicie usunięte z widma.

Tabela 8.1. Postać numeryczna widma masowego triangulo-dodekakarbonylo-triosmu $C_{12}O_{12}Os_3$ [100]

	m/z I		m/z I		m/z I		m/z I		m/z I		m/z I		m/z I	
	[u]	[%]	[u]	[%]	[u]	[%]	[u]	[%]	[u]	[%]	[u]	[%]	[u]	[%]
	I		II		III		IV		V		VI		VII	
L ⁴⁷	288	13,1	302	25,2	316	29,6	330	34,0	344	21,9	358	25,2	372	16,4
H ⁴⁸	576	50,5	604	35,1	632	52,7	660	59,3	688	37,3	716	54,9	744	43,9
L	386	17,5	400	17,5	414	3,2	428	2,1	442	2,1	–	–	–	–
H	772	78,0	800	100	828	16,4	856	8,7	884	28,5	912	37,3	–	–
	VIII		IX		X		XI		XII					

Wersja numeryczna wyraźnie wskazuje na obecność jonów dwudodatnich w zjonizowanej próbce związku. Każdy niemal sygnał z obszaru „wyższych mas” ($M/2 \leq m/z \leq M$) widma ma swój odpowiednik w zakresie „niskomasowym” ($m/z \leq M/2$). Można zatem przypuszczać, że w widmie występuje 12 jonów dwudodatnich, co znaczy, że wszystkie jony o masach przekraczających 500 u mają swoje dwudodatnie odpowiedniki (tab. 8.1). Wyjątek stanowi jon molekularny, którego dwudodatniego odpowiednika brak jest w widmie. Wartości położenia i odległości pików w „niskomasowej” części widma (288÷480 u) są dwukrotnie mniejsze niż w „wysokomasowej” jego zakresie (576÷912 u). Niestety, uproszczona postać widma uniemożliwia udowodnienie takiej hipotezy, choć logicznie

⁴⁷ Zakres „niskomasowy” (Low mass area)

⁴⁸ Zakres „wysokomasowy” (High mass area)

wydaje się ona bardzo prawdopodobna. W tym przypadku widmo wymaga powtórzenia i ponownej analizy bez eliminacji sygnałów izotopomerowych.

Przykład triangulo-dodekakarbylotri-osmu wyraźnie ilustruje, jak istotnym problemem jest upraszczanie widm polegające na eliminowaniu sygnałów. Dokonywanie eliminacji pików według nieznanego dziś klucza częściowo dyskwalifikuje wartości informacji pewnej liczby skatalogowanych widm. Można jedynie przypuszczać, że dokonano eliminacji pików, których nie dało się zinterpretować lub tych, które uznano za zbędne. Pomimo tego bazy widm masowych EI mogą być źródłem danych do badań jonów dwudodatnich, zwłaszcza w przypadku związków zawierających pierwiastki poliiizotopowe. Izotopomerowa struktura widma obserwowana w przypadku związków metaloorganicznych i koordynacyjnych ułatwić może detekcję i identyfikację jonów wielokrotnie naładowanych, nawet w widmach archiwalnych. Treść tego rozdziału dotyczy takich właśnie przypadków i ma wykazać, że analiza izotopomerowa widm masowych EI daje możliwość uzyskania dodatkowych informacji o charakterze badanych związków.

8.2. Opis analizy izotopomerowej jonów dwudodatnich (D-CIIA)⁴⁹ [151, 211]

Analiza opiera się na ustaleniu relacji pomiędzy eksperymentalnymi dwoma pasmami jonów a ich teoretycznymi odpowiednikami. Położenia badanych klasterów doświadczalnych są określone zależnością $m_1 \cong 2m_2$. Na klasterach tych nie przeprowadza się operacji matematycznych z wyjątkiem normalizacji sygnałów (do 100%). Pasma teoretyczne mogą być obliczone jako jednoskładnikowe bądź modelowane jako kilkuskładnikowe. Obliczenia prowadzono metodą MMIP [55] opisaną dokładnie w rozdziale 5. Wykorzystano także późniejszą jej modyfikację, NMIB, opracowaną przez Lamkiewicza i Szymurę [141]. Modele pasm złożonych obliczano uwzględniając składowe hydrogenacyjne i dehydrogenacyjne [150]. Ten sposób modelowania został przedstawiony szczegółowo w rozdziale 6. Wynikiem obliczeń lub modelowania są zawsze znormalizowane klastera teoretyczne, co zaostrza kryteria podobieństwa pasm, przez to czyni wyniki bardziej wiarygodnymi.

8.2.1. Pasma modelowe i pasma doświadczalne

Analiza dotyczy widma masowego zawierającego pasma izotopomerowe dwóch jonów:

⁴⁹ Doubly-Charged Ion Isotopomeric Analysis

- pasma **D** (doświadczalne „wysokomasowe”⁵⁰), w którym pik o największej intensywności jest położony przy $\frac{m_1}{z_1}$,
 - pasma **d** (doświadczalne „niskomasowe”⁵¹), w którym pik o największej intensywności jest położony przy $\frac{m_2}{z_2}$,
- przy czym pomiędzy położeniami obu klasterów zachodzi związek:

$$\frac{m_1}{z_1} = 2 \cdot \left(\frac{m_2}{z_2} \right) \quad (9.1)$$

Przedstawiana metoda ma na celu weryfikację dwóch alternatywnych hipotez:

$$d^+ = D^{2+}$$

jon dwudodatni

Pasma przypisywane jonowi d^+ w istocie odpowiada jonowi D^{2+} , a z racji ładunku +2 znajduje się w miejscu widma odpowiadającym jednododatniemu jonowi d^+ o masie dwukrotnie mniejszej od masy jonu D^+ .

$$D^+ = d_1^+ + d_2^+, \text{ przy czym}$$

$$(m/z)_{d_1} = (m/z)_{d_2} \text{ lub } (m/z)_{d_1} \cong (m/z)_{d_2}$$

fragmentacja „symetryczna”

Jon D^+ ulega fragmentacji, w wyniku której powstaje jon d^+ (bezpośrednio lub etapami). W przypadku powstania jonu d^+ jako efektu fragmentacji etapowej, pasmo jonu d^+ powinno być zgodne z modelem. W przeciwnym przypadku należy oczekiwać, że będzie ono złożone.

Oba warianty można określić w jednym toku postępowania, które jest oparte na porównaniu składów izotopomerowych dwóch pasm doświadczalnych.

Zgodność mas $m_1 = m_2$ może oznaczać relację ładunków jonów $z_2 = 2z_1$, co stanowi podstawę hipotezy występowania w widmie masowym pasma jonu dwudodatniego. Oznacza to, że jon d^+ może być w istocie jonem dwudodatnim D^{2+} ($d^+ = D^{2+}$), zwłaszcza jeśli obserwuje się podobieństwo postaci graficznych obu klasterów.

Alternatywą może być „fragmentacja symetryczna” cząsteczki ($D = d_1 + d_2$), a $z_1 = z_2$, co oznacza, że $m_1 \approx 2m_2$, lub w których wartości m_1 i $2m_2$ nie różnią się więcej niż o 1 u. W ramach fragmentacji symetrycznej możliwe są 3 warianty:

⁵⁰ Jon (klaster) „wysokomasowy” - jon (lub jego obraz) położony w obszarze $M/2 < m/z < M$ widma mas.

⁵¹ Jon (pasmo) „niskomasowy” - jon (lub jego obraz) położony w obszarze $m/z < M/2$ widma mas.

- $d_1 = d_2$ lub $d_1 \approx d_2$ – jon \mathbf{D} rozpada się na dwie części jednakowe lub prawie jednakowe (np. $d_2 = d_1 \pm H$) co do składu,
 $d_1 \neq d_2$ – jon \mathbf{D} rozpada się na dwie części o różnych składach, lecz o bardzo zbliżonych (jednakowych) masach,
 $d_2 = 0$ – jon d_1 powstaje w następstwie sukcesywnej fragmentacji jonu \mathbf{D} , a relacja mas jonów \mathbf{D} i d_1 jest przypadkowa.

Problemy związane z fragmentacją „symetryczną” można także rozwiązać opierając się na modelowaniu pasma izotopomerowego [55, 104]. Istotę rozwiązania stanowią porównania pasm rzeczywistych i pasm przetworzonych jonów doświadczalnych i teoretycznych:

	Jony doświadczalne	Jony modelowe
Rzeczywiste	\mathbf{D}^+ – „wysokomasowy” (D_i, A_i) d^+ – „niskomasowy” (d_i, a_i)	T^+ – „wysokomasowy” (T_i, J_i) t^+ – „niskomasowy” (t_i, j_i)
Przetworzone	$(D/2)^+$ – jon połówkowy ($D_i/2, A_i$) $(2d)^+$ – jon dublowany ($2d_i, a_i$)	$(T/2)^+$ – jon połówkowy ($T_i/2, J_i$) $(2t)^+$ – jon dublowany ($2t_i, j_i$)

Jonami doświadczalnymi są te, których pasma są obecne w widmie mas. Jonom doświadczalnym $\mathbf{D}^+(D_i, A_i)$ i $d^+(d_i, a_i)$ odpowiadają właściwe jony modelowe $T^+(T_i, J_i)$ i $t^+(t_i, j_i)$, których pasma izotopomerowe wyznaczono teoretycznie za pomocą metody modelowania MMIP [56] na podstawie założonych dla tych jonów wzorów sumarycznych.

Pasma przetworzone wyznacza się na podstawie pasm rzeczywistych i stanowią one:

- $(D/2)$ i $(T/2)$ – pasma połowione jonów \mathbf{D}^+ i T^+ jako odpowiedniki „niskomasowych” jonów doświadczalnego d^+ i teoretycznego t^+ ;
- $(2d)$ i $(2t)$ – pasma dublowane jonu d^+ i t^+ , jako odpowiedniki „wysokomasowych” jonów doświadczalnego \mathbf{D}^+ i teoretycznego T^+ .

Do kompresji pasma w klaster połowiony używa się tylko sygnałów zlokalizowanych przy parzystych wartościach m/z. Dokonując ekspansji klastera „niskomasowego” do pasma dublowanego wszystkim sygnałom położonym przy nieparzystych wartościach m/z klastera przetworzonego przypisuje się zerowe intensywności.

Sposób obliczeń klasterów przetworzonych ilustrują schematy 8A÷D (Uzupełnienie).

8.2.2. Testowanie relacji pasm

Po obliczeniu czterech klasterów przetworzonych dalszej analizy dokonuje się za pomocą wszystkich ośmiu pasm jonów (4 rzeczywistych i 4 przetworzonych).

Relacje pomiędzy pasmami teoretycznymi jonów (tab. 8.2) pozwalają określić potencjalną możliwość odróżnienia klasterów jonu jednododatniego od

dwudodatniego. W tym celu porównuje się pasmo teoretyczne pasma „wysokomasowego” (T^+) z przetworzonym pasmem $(2t)^+$ (dublowanym, wywodzącym się z „niskomasowego” pasma t^+). Alternatywnie określa się relację pomiędzy teoretycznym pasmem „niskomasowym” t^+ a przetworzonym pasmem $(T/2)^+$ (połowionym, wywodzącym się z „wysokomasowego” pasma T^+).

Tabela 8.2. Relacje pomiędzy pasmami teoretycznymi

Relacja	Wniosek
$T^+ \approx (2t)^+$	Prawda
	1. Pasma teoretyczne jonu T^+ jest zgodne z dublowanym pasmem $(2t)^+$.
	2. Nie jest możliwe wykrycie jonu dwudodatniego.
	Falsz
	1. Pasma teoretyczne jonu T^+ jest niezgodne z dublowanym pasmem $(2t)^+$.
	2. Wykrycie jonu dwudodatniego jest możliwe.
$t^+ \approx (T/2)^+$	Prawda
	1. Pasma teoretyczne t^+ jonu jest zgodne z pasmem połowionym $(T/2)^+$.
	2. Nie jest możliwe wykrycie jonu dwudodatniego.
	Falsz
	1. Pasma teoretyczne t^+ jonu jest niezgodne z połowionym pasmem $(T/2)^+$.
	2. Wykrycie jonu dwudodatniego jest możliwe.

Oba warunki są równocenne, tzn. zgodność dotycząca którejkolwiek z tych dwóch relacji oznacza brak możliwości rozróżnienia pasm z powodu braku istotnych różnic w składzie izotopomerowym obu pasm teoretycznych T^+ i t^+ . Jedynie istotne różnice izotopomerowe $T^+ \neq (2t)^+$ i $t^+ \neq (T/2)^+$ pozwalają na rozróżnienie pasm teoretycznych T^+ i t^+ , a w konsekwencji klasterów jonów jedno- i dwudodatniego. Pasma teoretyczne są pasmami niezakłóconymi. Jakakolwiek złożoność któregoś z nich nie wchodzi w rachubę, zatem nie ma potrzeby dopasowywania klasterów. W przypadku stwierdzenia możliwości odróżnienia od siebie pasm teoretycznych (rzeczywistych i przetworzonych) można przejść do porównywania pasm doświadczalnych. Testowanie eksperymentalnych klasterów izotopomerowych ma na celu identyfikację składu elementarnego obu jonów (tab. 8.3).

Tabela 8.3. Identyfikacja pasm doświadczalnych

Relacja	Wniosek
$D^+ \approx T^+$	Prawda
	1. Pasma eksperymentalne D^+ jonu odpowiada pasmu teoretycznemu T^+ .
	2. Pasma jonu D^+ nie jest zakłócone.
	3. Wyznaczono wzór jonu doświadczalnego D^+ .
	Falsz
	1. Pasma eksperymentalne jonu D^+ jest różne od pasma teoretycznego T^+ .
2. Pasma jonu D^+ może być zakłócone.	
3. Określić skład pasma D^+ przez modelowanie.	
$d^+ \approx t^+$	Prawda
	1. Pasma eksperymentalne d^+ jonu odpowiada pasmu teoretycznemu t^+ .
	2. Pasma jonu d^+ nie jest zakłócone.
	3. Wyznaczono wzór jonu d^+ .
	Falsz
	1. Pasma eksperymentalne jonu d^+ jest różne od pasma teoretycznego t^+ .
2. Pasma jonu d^+ może być zakłócone.	
3. Określić skład pasma d^+ przez modelowanie.	

Zgodność pasm „wysokomasowych” ($D \approx T$) świadczy o poprawności przypisanego pasmu jonu D^+ wzoru sumarycznego (T). Obserwowane różnice świadczą o złożoności pasma jonu doświadczalnego, zwykle wskutek dehydrogenacji [150], co wymaga wyznaczenia składu pasma D zgodnie z zależnością:

$$D^+ = \sum w_i \cdot D_i^+ \quad (9.2)$$

jako sumą iloczynu pasma składnika i udziału tego składnika w sumie, przy czym $\sum w_i = 1$. W takim przypadku podstawą dalszych rozważań jest składnik dominujący analizowanego pasma. Złożoność interpretowanych pasm w istotnym stopniu utrudnia realizację procedury testującej.

Analogiczny test jest przeprowadzany również i dla pasm „niskomasowych” d i t . Obserwowane odchylenia interpretuje się podobnie jak dla poprzedniej relacji. Należy mieć na uwadze, że im mniejsza jest wartość m/z położenia analizowanego pasma, tym bardziej wzrasta możliwość natrafienia na pasmo zakłócone [37].

Oba warunki są komplementarne, choć od siebie niezależne. Pozytywny wynik obu testów $D^+ \approx T^+$ i $d^+ \approx t^+$ świadczy, że udało się trafnie przewidzieć wzory obu badanych jonów; modele pasm obu jonów są zgodne z odpowiednimi klasterami doświadczalnymi. Taki wynik obliczeń przeczy hipotezie występowania w widmie pasma jonu dwudodatniego, a dowodzi fragmentacji jonu D^+ . Analiza złożonych pasm „niskomasowych” może prowadzić do wniosku, że rozpad jonu D^+ może powodować powstanie dwóch jonów o zbliżonych masach ($D^+ = d_1^+ + d_2^+$). Nie jest wykluczony także przypadek, fragmentacja symetryczna względem masy gdy $(m/z)_{d_1} = (m/z)_{d_2}$. W tej sytuacji wzory elementarne obu jonów będą różne.

Dane doświadczalne do opracowania zaczerpnięto z opublikowanych prac lub z baz danych, np. bazy widm NIST Mass Spectra Library [18, 19].

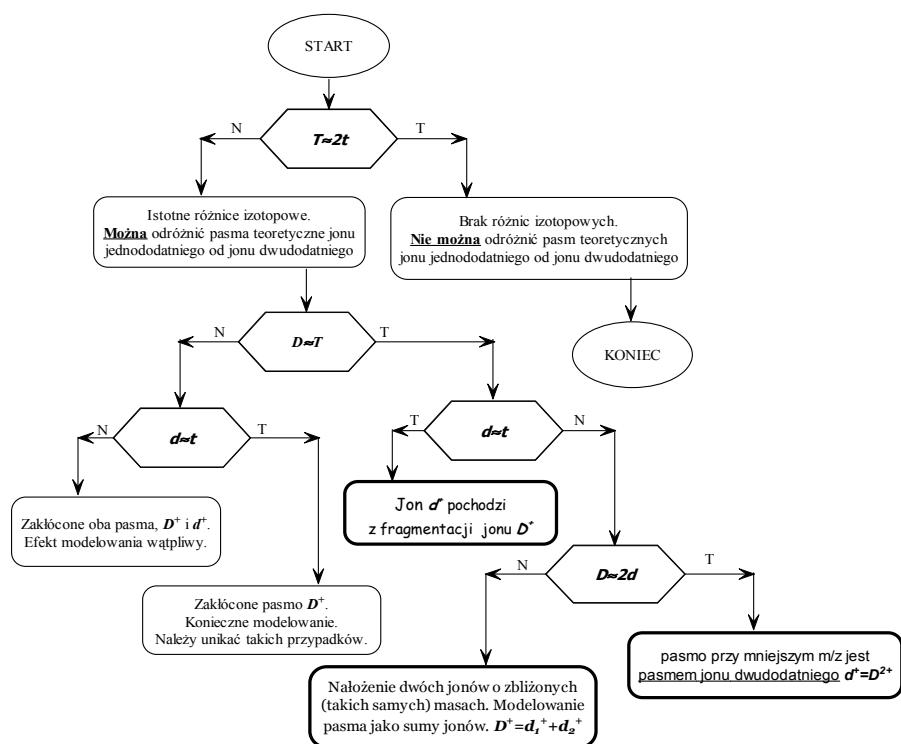
Relacje pomiędzy pasmami doświadczalnymi jonów (tab. 8.4) pozwalają wykryć obecność jonu dwudodatniego (jeśli umożliwiają to różnice klasterów teoretycznych). W tym celu należy porównać pasmo doświadczalne pasma „wysokomasowego” (D^+) z przetworzonym pasmem $(2d)^+$ (dublowanym, wywodzącym się z „niskomasowego” pasma d^+).

Tabela 8.4. Relacje pomiędzy pasmami doświadczalnymi

Relacja	Wniosek
$D^+ \approx (2d)^+$	Prawda
	1. Pasma eksperymentalne jonu D^+ jest zgodne z dublowanym pasmem $(2d)^+$.
	2. d^+ jest jonem dwudodatnim pochodzącym od jonu D^+ .
	Falsz
	1. Pasma doświadczalne jonu D^+ nie jest zgodne z dublowanym pasmem $(2d)^+$.
	2a. d^+ nie jest jonem dwudodatnim pochodzącym od jonu D^+ .
	2b. Jedno (lub oba) z analizowanych pasm jest zakłócone – zastosować modelowanie pasm złożonych.
$d^+ \approx (D/2)^+$	Prawda
	1. Pasma eksperymentalne jonu d^+ jest zgodne z połówkowym pasmem $(D/2)^+$.
	2. d^+ jest jonem dwudodatnim pochodzącym od jonu D^+ .
	Falsz
	1. Pasma doświadczalne d^+ jonu nie jest zgodne z połówkowym pasmem $(D/2)^+$.
	2a. d^+ nie jest jonem dwudodatnim pochodzącym od jonu D^+ .
	2b. Jedno (lub oba) z analizowanych pasm jest zakłócone – zastosować modelowanie pasm złożonych.

Alternatywnie określa się relację pomiędzy doświadczalnym pasmem „niskomasowym” d^+ a przetworzonym pasmem $(D/2)^+$ (połowionym, wywodzącym się z „wysokomasowego” pasma D^+). Układ izotopomerów w pasmach każdej z porównywanych par jonów powinien być podobny. Oba warunki są równocenne, tzn. odpowiedź pozytywna na którekolwiek z dwóch pytań oznacza możliwość występowania w widmie pasma jonu dwudodatniego, którym to pasmem jest analizowany klaster „niskomasowy”. Kryterium zgodności jest warunkiem wymagającym, ponieważ pasmo to może być złożone. Wiadomo, że w rozbudowanych widmach masowych pasma położone przy mniejszych wartościach m/z (około $M/2$ i poniżej) często są zakłócone wskutek wielokierunkowości procesów fragmentacji [3h]. Z tego też powodu badanie złożoności pasma [102] jonu d^+ jest elementem uzupełniającym III etap badania relacji. Procedura ta została opisana w rozdziale 6.

W paśmie złożonym jon dwudodatni D^{2+} powinien być składnikiem dominującym. Niepowodzenie w modelowaniu pasma złożonego prowadzi do odrzucenia hipotezy o obecności w widmie klastra odpowiadającego jonowi dwudodatniego.

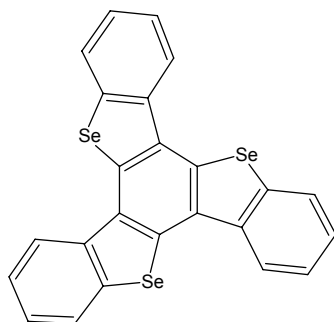


Rys. 8.3. Schemat postępowania przy identyfikacji jonów dwudodatnich i fragmentacji symetrycznej cząsteczek [151]

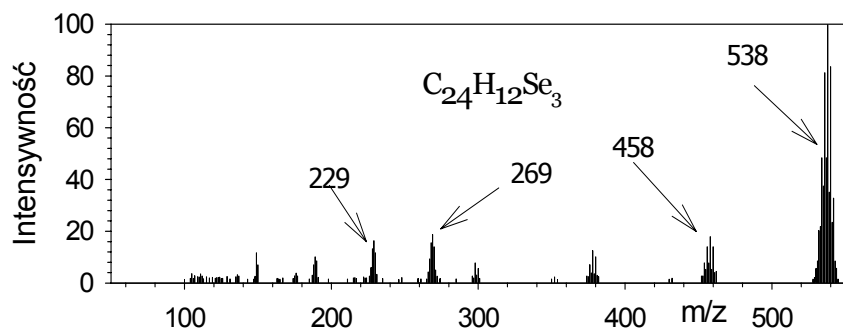
8.3. Testowanie metody identyfikacji izotopomerowej jonów dwudodatnich (D-CIIA)

Do prezentacji możliwości aplikacyjnych metody D-CIIA (Doubly-Charged Ion Isotopomeric Analysis) wybrano widma masowe przykładowych związków zawierających atomy PIE w cząsteczce. W takich przypadkach szerokość pasm badanych jonów pozwala na uzyskanie wystarczającej dokładności obliczeń. Niewielkie wartości WIC jonów w widmach związków organicznych uniemożliwiają rzetelną weryfikację obecności jonów dwudodatnich. Z drugiej strony to widma masowe związków koordynacyjnych, metaloorganicznych i zawierających w cząsteczce pierwiastki poliiotopowe są tak złożone, że stwarzają poważne trudności interpretacyjne.

8.3.1. Tris(benzo[b]selenofeno)[2,3:2',3':2'',3'']benzen $C_{24}H_{12}Se_3$



Widmo związku składa się z 121 sygnałów [89] o niewielkiej intensywności, pogrupowanych w kilkanaście pasm (rys. 8.4). Rozbudowane pasmo jonu molekularnego jest położone w obszarze wokół wartości 538 Da, która odpowiada średniej masie molowej związku. Pasmem podstawowym jest zespół pików jonu molekularnego położony w zakresie 528÷545 Da.



Rys. 8.4. Widmo masowe tris(benzo[b]selenofeno)-benzenu $C_{24}H_{12}Se_3$ [89]

Widmo tris-(benzo[b]selenofeno)-benzenu [89] zawiera cztery wyodrębnione pasma, które mogą być powiązane parami ze sobą:

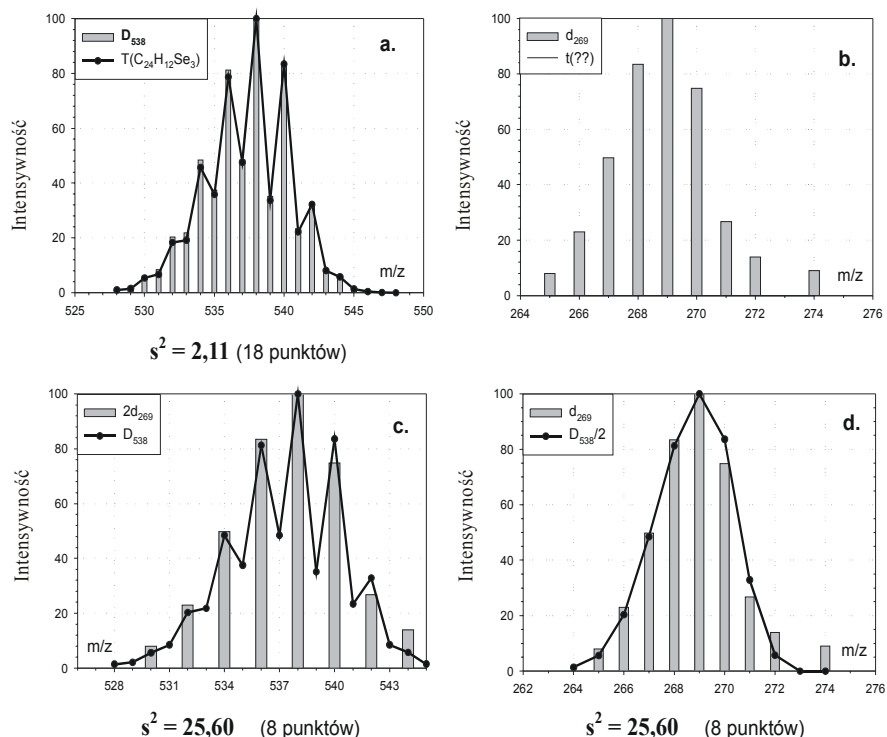
- 528÷545 Da i 265÷272 Da,
- 452÷462 u i 226÷231 u.

Klaster molekularny (528÷545 u) jest obszerny i wszystkie wartości m/z w tym przedziale są obsadzone. W widmie masowym tris(benzo[b]selenofeno)-

benzenu obserwuje się też pasmo 265÷272 m/z, które może pochodzić od dwudodatniego jonu molekularnego M^{2+} . Przeprowadzono szczegółową analizę obu klastrów. Rozważania modelowe winny wskazać poprawną odpowiedź na pytanie:

$[C_{24}H_{12}Se_3]^+$	$P_{538} = 2 \cdot P_{269}$	czy też	$P_{538} = P'_{239} + P''_{239}$
jon dwudodatni $[C_{24}H_{12}Se_3]^{2+}$?			jon fragmentuje symetrycznie?

Modelowanie pasma izotopomerowego jonu molekularnego (MMIP [56]) potwierdza poprawność przyporządkowania pasma jonu 538 jonowi molekularnemu $[C_{24}H_{12}Se_3]^+$. Zgodność sygnałów (rys. 8.5a) i niska wartość wariancji $s^2 = 2,11$ świadczą o wysokim stopniu dopasowania danych doświadczalnych i teoretycznych, a także dowodzą braku zakłóceń modelowanego zespołu pików. Na tej podstawie można mieć pewność, że analizowany klasterek dotyczy jonu $[C_{24}H_{12}Se_3]^+$.



Rys. 8.5. Identyfikacja pasma jonu dwudodatniego w widmie masowym tris(benzo[b]selenofeno)-benzenu: a – identyfikacja pasma doświadczalnego D_{538} , b – identyfikacja pasma doświadczalnego d_{269} , c – dopasowanie pasm doświadczalnych – d_{269} względem D_{538} , d – dopasowanie pasm doświadczalnych – D_{538} względem d_{269}

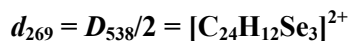
Pasmo „niskomasowe” ($m/z = 269$) składa się z 8 sygnałów odległych od siebie o 1 u. Intensywność pików pasma jest niewielka, intensywność względna najsilniejszego sygnału nie przekracza 19%. Skład stechiometryczny jonu molekularnego wyklucza obliczenie pasma teoretycznego jonu $M/2$ z racji nieparzystej liczby atomów Se w cząsteczce. Poszukiwanie wzoru sumarycznego wykorzystujące procedurę opracowaną przez Lamkiewicza [214] prowadzi do uzyskania czterech propozycji – $C_{22}H_5$, $C_{15}H_9Se$, C_9HSe_2 , $C_2H_5Se_3$. Żadna z nich jednak nie wydaje się prawdopodobną i dlatego wszystkie one zostały odrzucone. Zatem nie udaje się znaleźć propozycji dla wzoru jonu 269 u.

Dokonano porównania pasm doświadczalnych z teoretycznymi. Wyniki przedstawiono na rysunku 8.5 a-d. Obraz uzyskany dla porównania pasm jonu $m/z = 229$ jest nieprzydatny z powodu braku odpowiedniego klastrera modelowego. Wyjaśnienie tego przykładu trzeba więc oprzeć na relacjach pomiędzy pasmami doświadczalnymi jonów D_{538} a d_{269} (rys. 8.5 c, d). Dużą zgodność pomiędzy oboma klastrami doświadczalnymi potwierdza niska wartość obliczonej wariancji $s^2 = 25,60$.

$D_{538} = T_{538} \quad s^2 = 2,11$	Prawda	Pasmo D_{538} jest pasmem jonu $[C_{24}H_{12}Se_3]^+$.
$d_{269} \Leftrightarrow ?? \quad t_{269}$	Falsz	Pasmo doświadczalne d_{269} nie ma odpowiednika teoretycznego.
$T_{538} \Leftrightarrow ?? \quad 2t_{269}$	Falsz	Nie można wyznaczyć klastrera teoretycznego t_{269} .
$D_{538} = 2d_{269} \quad s^2 = 25,60$	Prawda	$t_{269}^+ = T_{538}^{2+}$ – jon d_{269} jest jonem dwudodatnim, pochodzącym od jonu D_{538} .

Przeprowadzone obliczenia wykazały, że jon molekularny ma wzór $C_{24}H_{12}Se_3$. Stwierdzono także wyraźną zgodność klastrów doświadczalnych badanych jonów D_{538} i d_{269} . Względne intensywności pasm mogą być zgodne (jednakowe lub prawie jednakowe) jedynie w obrębie tego samego zespołu izotopomerów, zatem różnica ich lokalizacji może być spowodowana wyłącznie przez różne ładunki obu jonów. W tej sytuacji jedynym poprawnym wnioskiem może być:

Jon 269 jest dwudodatnim jonem wywodzącym się od jonu 538.



Fakt istnienia dwudodatniego jonu $[C_{24}H_{12}Se_3]^{2+}$ można wiązać z obecnością w cząsteczce trzech atomów selenu, których energia jonizacji jest relatywnie niewielka z powodu dużej odległości elektronów walencyjnych od jądra atomu. Rozbudowany układ aromatyczny związku podwyższa zapewne trwałość tego jonu w stopniu umożliwiającym zarejestrowanie go w widmie mas.

Widmo tris-(benzo[b]selenofeno)-benzenu [89] zawiera jeszcze dwa pasma, które mogą być powiązane ze sobą:

- w części „wysokomasowej“ pasmo w obszarze 452÷462 u (główny pik 458 u), składające się z 11 sygnałów,
- w części „niskomasowej” klaster w zakresie 226÷231 u (pik główny 229 u) zawierające 6 sygnałów.

Intensywność obu pasm jest niewielka i wynosi odpowiednio 17,9 i 16,4%. Pasma 458 u charakteryzuje jon fragmentacyjny i może dotyczyć dwóch wzorów: $[C_{18}H_4Se_3]$ oraz $[C_{24}H_{10}Se_2]$ [213]. Wzór $C_{24}H_{10}Se_2$ wydaje się być bardziej prawdopodobny, ponieważ jon ten może powstawać z jonu molekularnego w wyniku eliminacji selenowodoru:

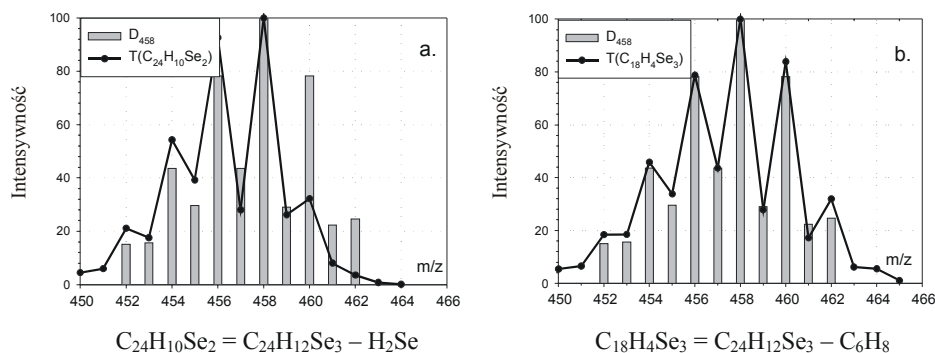


Teoretycznie obliczone postaci pasm [66] wyglądają podobnie, ale przetestowane zostały obie alternatywy. Okazało się, że najlepszą zgodność danych doświadczalnych uzyskano dla $C_{18}H_4Se_3$ ($s^2 = 14,21$); w przypadku $C_{24}H_{10}Se_2$ wynik był wyraźnie gorszy ($s^2 = 315,36$). Trudno jest wyjaśnić, jak jest możliwa eliminacja pierścienia z układu o rozległym sprzężeniu elektronów π , ale porównanie wyników przedstawione na rysunku 8.6 wydaje się być jednoznaczne. Niska wartość wariancji dla $C_{18}H_4Se_3$ wskazuje także, że pasmo doświadczalne nie jest zakłócone i nie wymaga dodatkowego modelowania.

Przeprowadzono szczegółową analizę obu klasterów: „wysoko-” i „niskomasowego”. Obliczenia modelowe winny wskazać poprawną odpowiedź na pytanie:

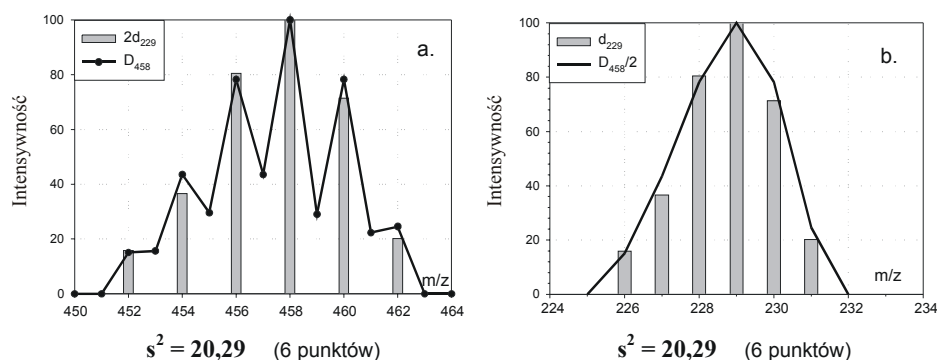
$[C_{18}H_4Se_3]^+$	$P_{538} = 2 \cdot P_{269}$	lub	$P_{458} = P'_{229} + P''_{229}$
jon podwójnie naładowany $[C_{18}H_4Se_3]^{2+}$?			jon fragmentuje symetrycznie?

Nie udało się określić wzoru jonu t_{229} , którego skład byłby zgodny ze wzorem jonu T_{458} , (tzn. $C \geq 18$, $H \geq 4$ i $Se \geq 3$), a miał średnią masę 229 u, zatem porównywanie klasterów teoretycznych jest bezcelowe. Pozostaje zatem ustalenie podobieństwa pasm doświadczalnych.



Rys. 8.6. Identyfikacja wzoru jonu fragmentacyjnego D_{458} widma masowego tris(benzo[b]seleno-feno)-benzenu

Kształty obu testowanych pasm i wynik porównania D_{458} i d_{229} przedstawiono na rysunku 8.6. Biorąc pod uwagę, że porównywane klastera składają się z 6 wspólnych sygnałów, a intensywność obu pasm nie przekracza 20%, wartość $s^2 = 20,29$ można uznać za wystarczający dowód podobieństwa. Obraz graficzny obu pasm potwierdza istnienie powiązania między nimi.



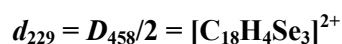
Rys. 8.7. Identyfikacja jonu dwudodatniego w widmie masowym tris(benzo[b]selenofeno)-benzenu pasmo D_{458} i d_{229}

Podsumowując powyższe rozważania:

$D_{458} = T_{458}$ $s^2 = 14,21$	Prawda	Pasmo D_{458} jest pasmem jonu $[C_{18}H_4Se_3]^+$.
$d_{229} \Leftrightarrow ?? t_{229}$	Falsz	Pasmo doświadczalne d_{229} nie ma odpowiednika teoretycznego.
$T_{458} \Leftrightarrow ?? 2t_{229}$	Falsz	Nie można wyznaczyć klastera teoretycznego t_{229} .
$D_{458} = 2d_{229}$ $s^2 = 20,29$	Prawda	$d_{229}^+ = D_{458}^{2+}$ – jon d_{229} jest jonem dwudodatnim, pochodzącym od jonu D_{458} .

Względne relacje intensywności pasm mogą być zgodne jedynie w obrębie tego samego zespołu izotopomerów, zatem różnica ich lokalizacji może być spowodowana wyłącznie przez różne ładunki obu jonów. W takim przypadku jedynym, poprawnym wnioskiem może być:

Jon 229 jest dwudodatnim jonem wywodzącym się od jonu 458.

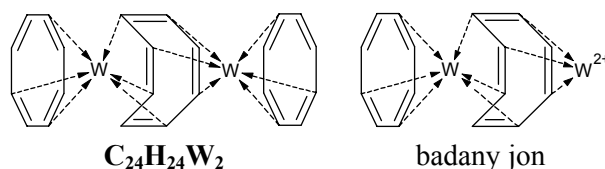


Fakt istnienia dwudodatniego jonu $[C_{18}H_4Se_3]^{2+}$ można wiązać z obecnością w cząsteczce trzech atomów selenu, a trwałość tego jonu pozwalającą na zarejestrowanie go w widmie masowym z istnieniem w cząsteczce związku rozbudowanego układu aromatycznego.

Jak wynika z powyższych obliczeń w widmie masowym tris(benzo[b]selenofeno)-[2,3:2',3':2'',3''] benzenu występują jony o pojedynczym ładunku –

$[\text{C}_{24}\text{H}_{12}\text{Se}_3]^+$ i $[\text{C}_{18}\text{H}_4\text{Se}_3]^+$ oraz odpowiadające im jony dwudodatnie – $[\text{C}_{24}\text{H}_{12}\text{Se}_3]^{2+}$ i $[\text{C}_{18}\text{H}_4\text{Se}_3]^{2+}$.

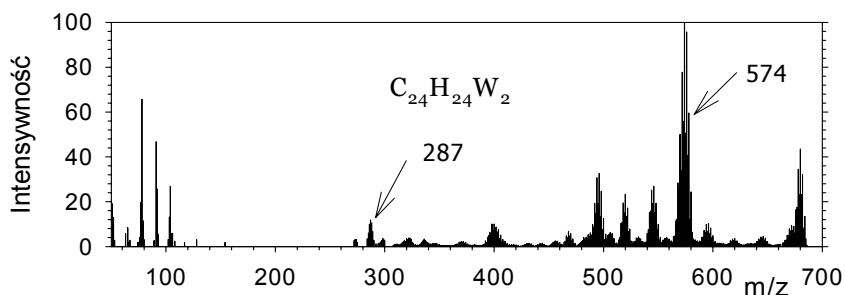
8.3.2. Tris(cyklooktateetraeno)-diwolfram $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{W}_2$



Widmo związku [215] składa się z 434 średniej intensywności sygnałów, pogrupowanych w kilkanaście pasm (rys. 8.8). Rozbudowane pasmo jonu molekularnego jest położone w obszarze wokół wartości 680 Da, która odpowiada średniej masie molowej związku. Pasmem podstawowym jest zespół pików w zakresie 564÷583 Da. Klaster ten jest obszerny i wszystkie wartości m/z w tym przedziale są obsadzone. W widmie masowym tris(cyklooktateetraeno)-diwolframu obserwuje się dwa pasma, które mogą być skorelowane:

- pasmo „wysokomasowe” w zakresie 564÷583 u (największy pik przy 574 Da),
- pasmo „niskomasowe” w zakresie 284÷290 u (największy pik przy 287 Da),

Przeprowadzono szczegółową analizę obu klasterów. Różnica m/z dla pasma molekularnego i badanego pasma „wysokomasowego” wynosząca 106 u może odpowiadać eliminacji cząstki cyklooktateetraenu o wzorze C_8H_8 , w wyniku czego może powstać jon $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{W}_2$ ($s^2 = 595,72$).



Rys. 8.8. Widmo masowe tris(cyklooktateetraeno)-diwolframu $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{W}_2$ [215]

Jednak obliczona wysoka wartość wariancji teoretycznej s^2 wskazuje na złożoność klastera doświadczalnego jonu \mathbf{D}_{574} . Obliczenia modelowe [145], wykonane zgodnie z procedurą opisaną w rozdziale 6, pozwoliły ustalić, że pasmo \mathbf{D}_{574} jest złożone z dwóch składników o równych niemal udziałach ($\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{W}_2$ – 55% i $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{W}_2$ – 45%). Efekty modelowania pasma przedstawiono na rysunku 8.8. Klaster \mathbf{D}_{574} odnosi się do jonu fragmentacyjnego i z tego powodu jest zakłócony przez sąsiedni, nakładający się zakresowo jon. Biorąc

pod uwagę stopień złożoności widma (ponad 400 sygnałów zlokalizowanych na niespełna 600 wartościach m/z) wartość wariancji modelowej wynoszącą $s^2 = 41$ i współczynnik dopasowania modelu na poziomie $\alpha = 93\%$ należy uznać za wystarczające potwierdzenie hipotezy:

$$D_{574} = [C_{16}H_{16}W_2] (55\%) + [C_{16}H_{12}W_2] (45\%).$$

Traktując wzór związku jako W_2L_3 (gdzie L = cyklooktateń, C_8H_8) można określić, że pasmo podstawowe jest związane z jonom $W_2L_2^+$.

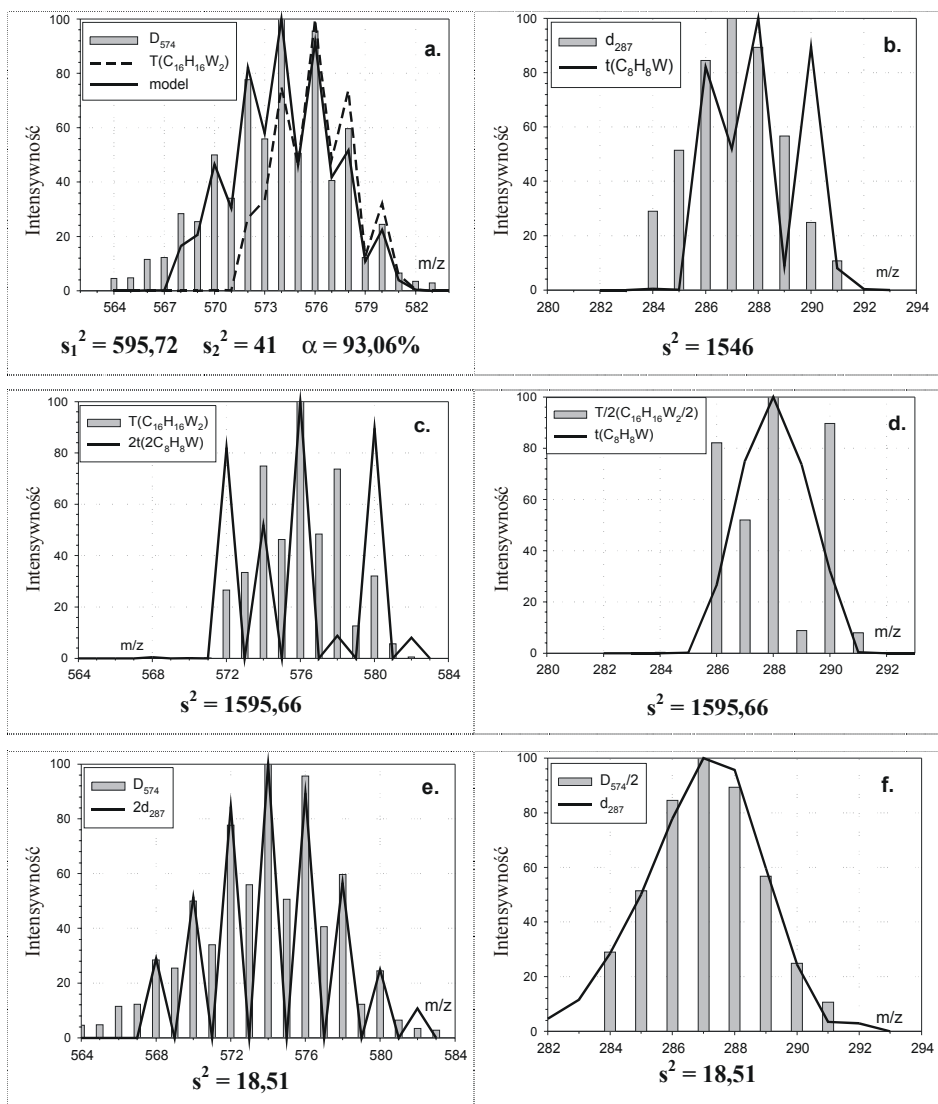
Pasmo niskomasowe składa się z 7 sygnałów odległych od siebie o 1 u. Intensywność pików pasma jest niewielka, najsilniejszy sygnał nie przekracza 12%. Badanie modelowe klastra „niskomasowego” polega na określeniu charakteru jonu 287 u. Może ono dowieść obecności jonu dwudodatniego w widmie lub symetrycznej fragmentacji jonu 574 Da.

Rozważania modelowe winny wskazać poprawną odpowiedź na poniższe pytania:

$[C_{16}H_{16}W_2]^+$	$P_{574} = 2 \cdot P_{287}$	czy	$P_{574} = P'_{287} + P''_{287}$
jon dwudodatni $[C_{16}H_{16}W_2]^{2+}$?	też	jon fragmentuje symetrycznie?	

Wymodelowano pasma teoretyczne jonów $[C_{16}H_{16}W_2]^+$ i $[C_8H_8W]^+$. Przeprowadzono szczegółową analizę obu klastrów.

Weryfikując podobieństwo pasm teoretycznych w pierwszej kolejności uwzględniono jony dominujące, tj. $[C_{16}H_{16}W_2]$ i $[C_8H_8W]$, a następnie pozostałe składowe. Obraz uzyskany dla porównania pasm „niskomasowych” (rys. 8.9b) wykazuje brak związku pomiędzy klastrami teoretycznym i doświadczalnym. Różnice są tak zasadnicze, że żadne modelowanie nie doprowadzi do zgodności obu pasm. Podobny wniosek można wysnuć z porównania pasm teoretycznych – „wysokomasowego” T ($C_{16}H_{16}W_2$) i dublowanego, „niskomasowego” $2t$ ($2C_8H_8W$) (rys. 8.9c, d). Wyraźne, istotne różnice obserwuje się także przy porównaniu klastrów teoretycznych – połowionego, „wysokomasowego” $T/2$ ($C_{16}H_{16}W_2/2$) i „niskomasowego” t (C_8H_8W) (rys. 8.8d). Badania porównawcze klastrów doświadczalnych „wysokomasowego” D_{574} i dublowanego, „niskomasowego” $2d_{287}$ (rys. 8.9e) wykazują istotną zgodność obu pasm. Podobny efekt obserwuje się dla klastrów doświadczalnych: „niskomasowego” d_{287} i połowionego, „wysokomasowego” $D_{574}/2$ (rys. 8.9f).



Rys. 8.9. Identyfikacja pasma jonu dwudodatniego w widmie masowym tris(cyklo-oktatetraeno)-diwolframu: a – identyfikacja pasma doświadczalnego D_{574} , b – identyfikacja pasma doświadczalnego d_{287} , c – dopasowanie pasm doświadczalnych – d_{287} względem D_{574} , d – dopasowanie pasm doświadczalnych – D_{574} względem d_{287} .

Reasumując:

$D_{574} = T_{574}$ $s_1^2 = 595,72$	Falsz	Pasma „wysokomasowe” jest pasmem złożonym. $D_{574} = [C_{16}H_{16}W_2] (55\%) + [C_{16}H_{12}W_2] (45\%)$.
$s_2^2 = 41$	Prawda	
$d_{287} \neq t_{287}$ $s^2 = 1546$	Falsz	„Niskomasowe” pasmo doświadczalne różni się zasadniczo od teoretycznego, co pozwoli odróżnić jon dwudodatni od jonu z fragmentacji symetrycznej.
$T_{574} \neq 2t_{287}$ $s^2 = 1595$	Falsz	„Wysokomasowe” pasmo teoretyczne różni się zasadniczo od dublowanego niskomasowego pasma teoretycznego.
$D_{574} = 2d_{287}$ $s^2 = 18,51$	Prawda	$d_{287}^+ = D_{574}^{2+}$ – jon 287 jest jonem dwudodatnim, pochodzącym od jonu 574.

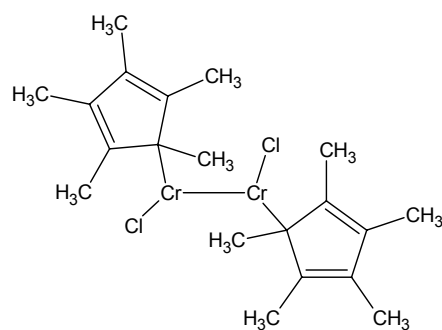
Pomimo wykazanej złożoności pasma D_{574} , zgodność tego klastera z dublowanym pasmem $2d_{287}$ wskazuje na powiązania obu pasm. Względne relacje intensywności pasm mogą być podobne jedynie w obrębie tego samego zespołu izotopomerów, zatem różnica ich lokalizacji może być spowodowana wyłącznie przez różne ładunki obu jonów. W tej sytuacji jedynym słusznym wnioskiem może być:

Jon 287 jest dwudodatnim jonem wywodzącym się od jonu 574.

$$d_{287} = D_{574}/2 = [C_{16}H_{16}W_2]^{2+}$$

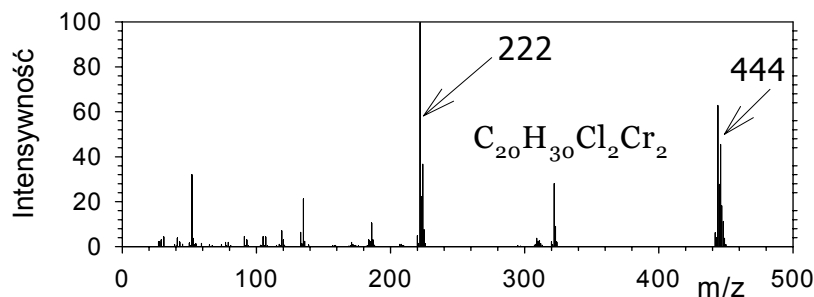
Jon 574 nie ulega rozpadowi na dwa jony $[C_8H_8W]^+$, pomimo swojej symetrycznej budowy. Widocznie obecność rozległego układu sprzężonego dwu pierścieni oktatetraenowych i dwóch atomów ciężkiego pierwiastka d-elektroнового – wolframu sprzyja tworzeniu jonów dwudodatnich i zwiększa trwałość tak, że możliwe jest ich wykrycie w widmie mas. Zgodność pasm doświadczalnych D^+ i d^+ w zestawieniu z niedopasowaniem do siebie klasterów D^+ i T^+ oraz d^+ i t^+ może świadczyć, że zakłócenie składu izotopomerowego powstaje podczas procesów jonizacji i nie ma wpływu na ładunek powstającego jonu.

8.3.3. Di(chloro-(η -5)-pentametylocyklopentadienylo)-chrom $C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2$



Widmo masowe zawiera 191 pików [216] pogrupowanych w kilka klasterów (rys. 8.10). Pasma główne jest położone pomiędzy 219 a 228 u i klaster ten może być powiązany z pasmem molekularnym znajdującym się około $m/z = 444$ u. Wartość położenia tego klastera odpowiada masie cząsteczkowej związku. Oba pasma charakteryzują się dużą intensywnością, wszystkie możliwe położenia

w nich są obsadzone. Sprawdzenie warunku pozwoli na określenie, czy pasmo 222 odpowiada jonowi dwudodatniemu M^{2+} lub też pochodzi ono z fragmentacji symetrycznej i określa jon $(M/2)^+$.



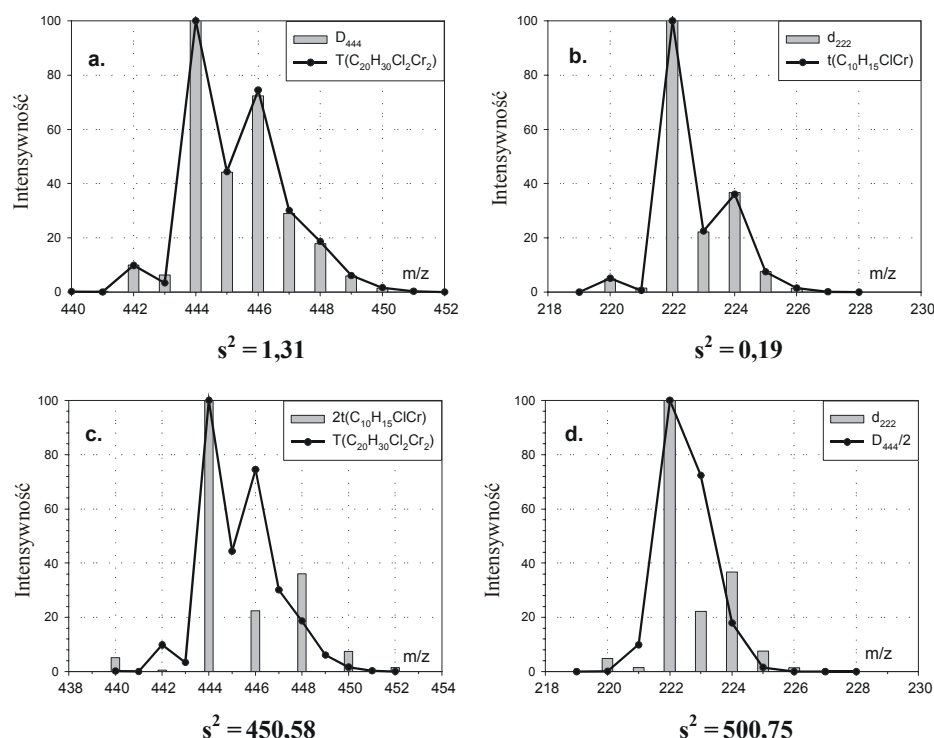
Rys. 8.10. Widmo masowe di(chloro-(η -5)-pentametylocyklopentadienyl)-chromu $C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2$ [216]

Na podstawie parzystości liczb atomów pierwiastków we wzorze sumarycznym można spodziewać się, że jon 222 wywodzi się z fragmentacji jonu molekularnego, choć nie wyklucza to obecności jonu o ładunku +2.

$[C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2]^+$	$P_{444} = 2 \cdot P_{222}$	$P_{444} = P'_{222} + P''_{222}$
jon podwójnie naładowany $[C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2]^{2+}$?	lub	jon fragmentuje symetrycznie?

Wzór związku wskazuje na możliwość dysocjacji cząsteczki na dwa jednakowe fragmenty wskutek rozpadu wiązania Cr-Cr. Porównanie klasterów doświadczalnych z teoretycznymi „nisko-” i „wysokomasowymi” umożliwi weryfikację pochodzenia pasma 222 u.

Porównanie pasma jonu $C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2^+$ i D_{444} (rys. 8.11a) wskazuje na istotną zgodność obu pasm. Niska wartość wariancji ($s^2 = 1,31$) potwierdza wysoki poziom dopasowania obu form. Podobny efekt przedstawia rysunek 8.11b, obrazujący porównanie pasma d_{222} i klastera $C_{10}H_{15}ClCr$ ($s^2 = 0,19$). Test taki jednoznacznie identyfikuje oba pasma doświadczalne, wskazując na ich prawdopodobne wzory teoretyczne. Porównanie teoretycznych form klasterów izotopomerowych $C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2$ i $2 \cdot C_{10}H_{15}ClCr$ wykazuje obecność zasadniczych różnic ($s^2 = 450,58$; rys. 8.11c), podobnie jak i dla klasterów $C_{10}H_{15}ClCr$ i $(C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2)/2$. Brak zgodności obserwuje się i w przypadku pasm doświadczalnych D_{444} i $2d_{222}$ ($s^2 = 500,75$; rys. 8.11d), a także d_{222} i $D_{444}/2$.



Rys. 8.11. Identyfikacja pasma jonu dwudodatniego w widmie masowym dimeru chloro-(η -5)-pentametylocyklopentadienylu-chromu: a – identyfikacja pasma doświadczalnego D_{444} , b – identyfikacja pasma doświadczalnego d_{222} , c – relacje klastrow modelowych – t_{222} vs. T_{444} , d – relacje klastrow eksperymentalnych D_{444} vs. d_{222} .

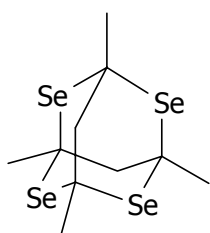
$T_{444} = D_{444}$ $s^2 = 1,31$	Prawda	Zgodność klastrow świadczy o zidentyfikowaniu wzoru jonu D_{444} .
$t_{222} = d_{222}$ $s^2 = 0,19$	Prawda	Zgodność klastrow świadczy o zidentyfikowaniu wzoru jonu d_{222} .
$T_{444} = 2 \cdot t_{222}$ $s^2 = 450,58$	Falsz	Istotne różnice pomiędzy klastrow teoretycznymi jonu molekularnego a jonu dublowanego wskazują na możliwość identyfikacji jonu dwudodatniego.
$D_{444} = 2 \cdot d_{222}$ $s^2 = 500,75$	Falsz	$d_{222} \neq D_{444}^{2+}$ – jon położony przy 222 u nie jest jonem dwudodatnim, związanym z pasmem jonu 444 u.

Fakty te świadczą jednoznacznie, że jon d_{222} nie jest jonem dwudodatnim, wywodzącym się z jonu D_{444} , lecz podczas fragmentacji cząsteczka tego jonu ulega fragmentacji symetrycznej, która powoduje powstanie jonu $C_{10}H_{15}ClCr$.

Przeprowadzona analiza jednoznacznie wskazuje, że jonizacji cząsteczki $C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2$ towarzyszy fragmentacja „symetryczna” i powstanie pojedynczo naładowanego jonu $C_{10}H_{15}ClCr$.

$$D_{444} = d'_{222} + d''_{222} \quad d'_{222} = d''_{222} \quad d_{222} = \left(\frac{D_{444}}{2} \right)^+$$

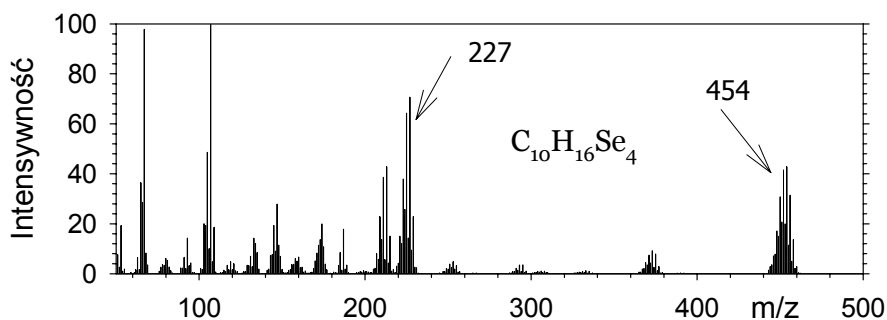
8.3.4. 1,3,5,7-Tetrametylo-2,4,6,8-tetraseleno-adamantan, $C_{10}H_{16}Se_4$



Widmo masowe zawiera 340 pików [217] pogrupowanych w kilka rozdzielonych klasterów (rys. 8.12). Najbardziej intensywne pasmo widma jest położone w obszarze pomiędzy 105 a 111 u. Pasma molekularne znajduje się około $m/z = 454$ u, co odpowiada średniej masie molowej związku. Dwoma interesującymi pasmami są klaster molekularny i pasmo położone w zakresie 219÷233 u (dominanta 227 u). Lokalizacje obu klasterów wskazują, że mogą być ze sobą powiązane. Wyjaśnienie genezy pasma „niskomasowego” d_{227} może dać weryfikacja alternatywy:

$[C_{10}H_{16}Se_4]^+$	$P_{454} = 2 \cdot P_{227}$	$P_{454} = P'_{227} + P''_{227}$
jon podwójnie naładowany	lub	jon fragmentuje symetrycznie?
$[C_{10}H_{16}Se_4]^{2+}$?		

Liczba atomów pierwiastków we wzorze badanego jonu są parzyste, co wskazuje, że obie możliwości są realne – zarówno obecność jonu dwudodatniego, jak i fragmentacji „symetrycznej”.



Rys. 8.12. Widmo masowe 1,3,5,7-tetrametylo-2,4,6,8-tetraseleno-adamantanu, $C_{10}H_{16}Se_4$ [217]

Weryfikacji tych hipotez można dokonać opierając się na doświadczalnych i obliczonych klasterach „nisko-“ i „wysokomasowych”. Liczby atomów pierwiastków we wzorze elementarnym związku są parzyste, co nie wyklucza żadnej z możliwości. Modelowanie metodą MMIP [55] klastera o sygnale dominującym przy $m/z = 454$ u wykazuje, że pasmo doświadczalne D_{454} odpowiada

jonowi molekularnemu $[C_{10}H_{16}Se_4]^+$ o czym świadczy niska wartość wariancji – $s^2 = 3,50$ (rys. 8.13a).

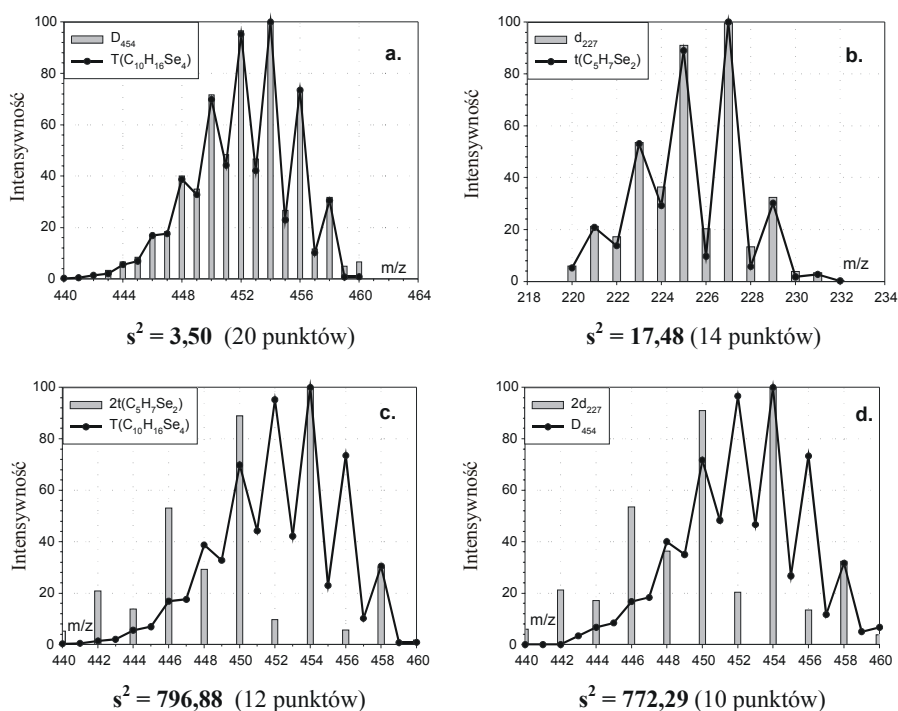
Pasmo d_{227} w istotnym stopniu odbiega od klastra wyliczonego dla jonu $T/2$ ($[C_5H_8Se_2]^+$). Satisfakcjonujący efekt uzyskano po uwzględnieniu deprotonizacji [145] jonu $M/2$ ($[C_5H_7Se_2]^+$) (rys. 8.13b, $s^2 = 17,48$). Porównanie klastrów teoretycznych T_{454} i $2t_{227}$ wykazuje istotne ich różnice (rys. 8.13d, $s^2 = 729,29$). W przypadku pasm doświadczalnych D_{454} i $2d_{227}$ obserwuje się podobny brak zgodności (rys. 8.12c, $s^2 = 796,88$).

$T_{454} = D_{454}$ $s^2 = 3,50$	Prawda	Doświadczalne pasmo „wysokomasowe” jest takie samo jak teoretyczne $D_{454} = T(C_{10}H_{16}Se_4)$.
$t_{228} = d_{227}$ $s^2 = 1851,48$	Falsz	Doświadczalne pasmo „niskomasowe” zasadniczo różni się od teoretycznego $d_{227} \neq t(C_5H_8Se_2)$.
$t_{227} = d_{227}$ $s^2 = 17,48$	Prawda	Klaster doświadczalny d_{227} wykazuje istotne podobieństwo do pasma $[M/2 - H]$ $d_{227} = t(C_5H_7Se_2)$.
$T_{454} \neq 2 \cdot t_{227}$ $s^2 = 796,88$	Falsz	Modelowe pasma izotopomerowe odpowiadające klastrów „wysokomasowemu” i „niskomasowemu” są różne $T(C_{10}H_{16}Se_4) \neq 2 \cdot t(C_5H_7Se_2)$. Istnieje zatem teoretycznie możliwość identyfikacji pasma jonu dwudodatniego.
$D_{454} \neq 2 \cdot d_{227}$ $s^2 = 772,29$	Falsz	Doświadczalne pasma izotopomerowe odpowiadające klastrów „wysokomasowemu” i „niskomasowemu” są różne $D_{454} \neq 2 \cdot d_{227}$. Jon d_{227} nie jest jonem dwudodatnim wywodzącym się z jonu molekularnego D_{454} , zatem $d_{227}^+ \neq D_{454}^{2+}$.

Zgodność klastra doświadczalnego d_{227} z teoretycznym t_{227} wyjaśnia problem ostatecznie.

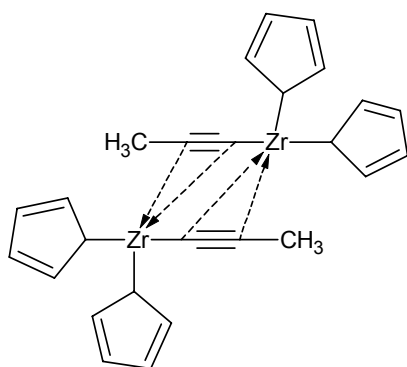
Jon $m/z = 227$ u jest pojedynczo naładowanym jonem $[C_5H_7Se_2]^+$ pochodzącym z fragmentacji jonu molekularnego ($[C_{10}H_{18}Se_4]^+$, $m/z = 452$ u).

$$D_{454} = d'_{227} + d''_{227} \quad d'_{227} = d''_{227} \quad d_{227} = \left(\frac{D_{518}}{2} - H \right)^+$$



Rys. 8.13. Modelowanie klasterów widma masowego 1,3,5,7-tetrametylo-2,4,6,8-tetraseleno-adamantanu: a – identyfikacja pasma doświadczalnego D_{454} ($T^+ = [C_{10}H_{16}Se_4]^+$), b – identyfikacja pasma doświadczalnego d_{227} ($t^+ = [C_5H_7Se_2]^+$), c – zestawienie klasterów teoretycznych jonów $T^+ = [C_{10}H_{16}Se_4]^+$ i $2t^+ = 2[C_5H_7Se_2]^+$, d – porównanie pasm doświadczalnych D_{454} z $2d_{227}$

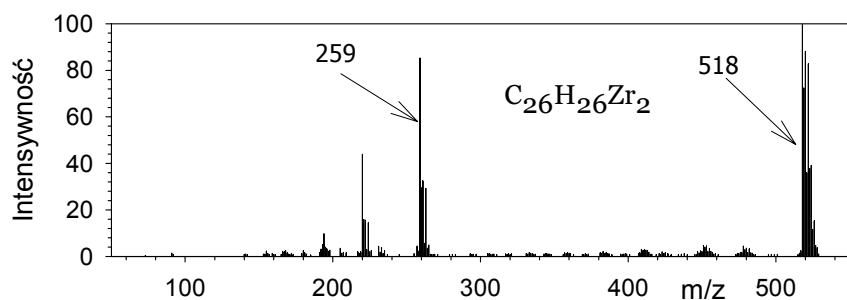
8.3.5. Bis[bis(η-5-cyklopentadienyl)-bis(μ-propynylo)-cyrkon, $C_{26}H_{26}Zr_2$



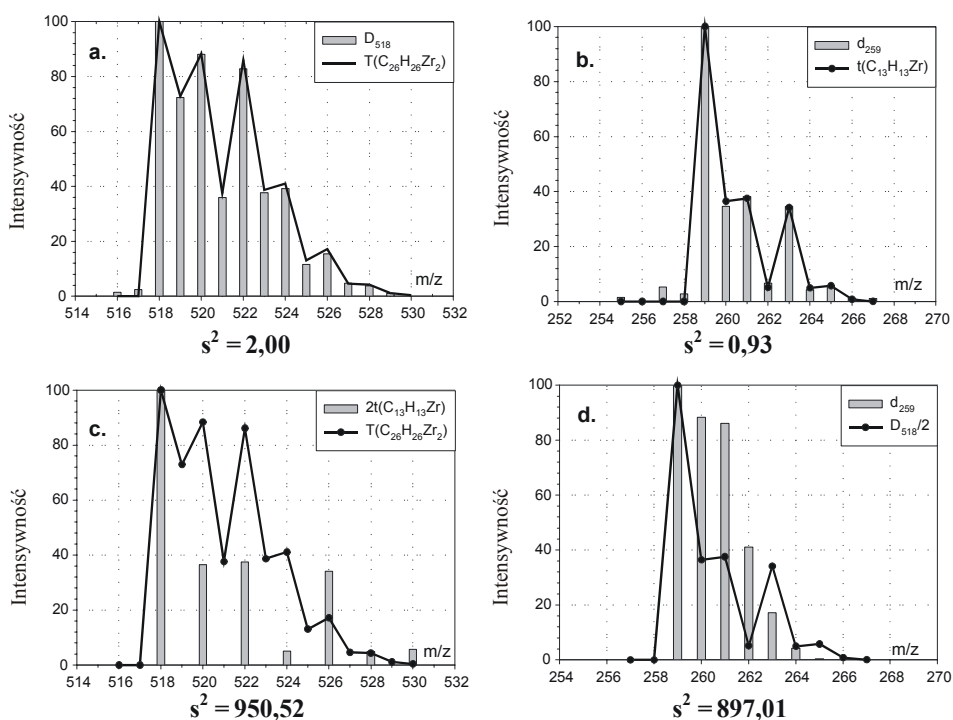
Widmo masowe zawiera 204 pików [218] pogrupowanych w kilka rozdzielonych klasterów (rys. 8.14). Pasma molekularne jest położone około $m/z = 518$ u, co odpowiada średniej masie molowej związku. Dwoma interesującymi pasmami (przypuszczalnie powiązany ze sobą) są klaster molekularny i pasmo położone w zakresie 284÷290 u (pik główny 289 u). Oba pasma są intensywne i wszystkie wartości m/z są wypełnione.

Pomiędzy wymienionymi pasmami może zachodzić jedna z poniższych zależności:

$[C_{26}H_{26}Zr_2]^+$	$P_{518} = 2 \cdot P_{259}$	lub	$P_{518} = P'_{259} + P''_{259}$
jon podwójnie naładowany $[C_{26}H_{26}Zr_2]^{2+}$?	jon fragmentuje symetrycznie?		



Rys. 8.14. Widmo masowe bis[bis(η -5-cyklopentadienyl)-bis(μ -propynyl-cyrkonu)] $C_{26}H_{26}Zr_2$ [218]



Rys. 8.15. Identyfikacja pasma jonu dwudodatniego w widmie masowym bis[bis(η -5-cyklopentadienyl)-bis(μ -propynyl-cyrkonu)]: a – identyfikacja pasma doświadczalnego D_{518} , b – identyfikacja pasma doświadczalnego d_{259} , c – relacje klasterów modelowych – $2t_{259}$ vs. T_{518} , d – relacje klasterów eksperymentalnych $D_{518}/2$ vs. d_{259}

Na podstawie parzystości liczb atomów pierwiastków we wzorze można spodziewać się, że jon 259 wywodzi się z fragmentacji jonu molekularnego, choć nie wyklucza to drugiej alternatywy. Wzór związku wskazuje na potencjalną łatwość dysocjacji cząsteczki na dwa jednakowe fragmenty wskutek rozpadu wiązania Zr-Zr. Porównanie klasterów doświadczalnych z teoretycznymi „nisko-” i „wysokomasowymi” umożliwi ustalenie genezy d_{259} .

Porównanie pasma jonu $[C_{26}H_{26}Zr_2]^+$ i klastera 518 u (rys. 8.15a) wskazuje na istotną zgodność obu pasm. Niska wartość wariancji ($s^2 = 2,00$) potwierdza wysoki poziom dopasowania obu form. Podobny efekt przedstawiono na rysunku 8.15b obrazującym porównanie pasma 259 i klastera $[C_{13}H_{13}Zr]^+$ ($s^2 = 0,93$). Test ten jednoznacznie identyfikuje oba pasma doświadczalne, wskazując na ich wysoce prawdopodobne wzory teoretyczne. Porównanie teoretycznych form klasterów izotopomerowych jonów $[C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2]^+$ i $[2^*C_{10}H_{15}ClCr]^+$ wykazuje obecność zasadniczych różnic ($s^2 = 950$, rys. 8.15c), podobnie jak i dla klasterów $[C_{13}H_{13}Zr]^+$ i $[C_{26}H_{26}Zr_2/2]^+$. Podobny brak zgodności obserwuje się i w przypadku pasm doświadczalnych D_{518} i $2d_{259}$ ($s^2 = 857$, rys. 8.15d), a także $D_{518}/2$ i d_{259} .

Wymienione fakty świadczą jednoznacznie, że jon d_{259} nie jest jonem dwudodatnim wywodzącym się z jonu D_{518} , lecz podczas fragmentacji cząsteczka tego jonu ulega fragmentacji symetrycznej, która powoduje powstanie jonu $[C_{13}H_{13}Zr]^+$.

$T_{518} = D_{518}$	$s^2 = 2,0$	Prawda	Zgodność klasterów świadczy o zidentyfikowaniu wzoru jonu.
$t_{259} = d_{259}$	$s^2 = 0,93$	Prawda	Zgodność klasterów świadczy o zidentyfikowaniu wzoru jonu.
$T_{518} = 2 \cdot t_{259}$	$s^2 = 950,52$	Falsz	Istotne różnice pomiędzy klasterami teoretycznymi jonu molekularnego a jonu dublowanego wskazują na możliwość identyfikacji jonu dwudodatniego.
$D_{518} = 2 \cdot d_{259}$	$s^2 = 897,01$	Falsz	$d_{259} \neq D_{518}^{2+}$ – jon położony przy 259 u nie jest jonem dwudodatnim, związanym z pasmem jonu 518 u.

Przeprowadzona analiza jednoznacznie wskazuje, że jonizacji cząsteczki $C_{26}H_{26}Zr_2$ towarzyszy fragmentacja „symetryczna” i powstanie pojedynczo naładowanego jonu $C_{13}H_{13}Zr$.

8.4. Testowanie hipotezy obecności jonu dwudodatniego – podsumowanie

Identyfikacja obecności pasm jonów dwudodatnich w widmie masowym ma istotne znaczenie w interpretacji widma. Świadczyć może o mechanizmie jonizacji cząsteczki, a także wskazywać na obecność elementów struktury sprzyjających wielokrotnej jonizacji i zwiększających trwałość jonów wielokrotnie naładowanych, np. w wyniku oddziaływania rozległego układu sprzężo-

nych wiązań wielokrotnych. Możliwym jest rozróżnienie pasma jonu dwudodatniego od złożonego klastera jonów powstających przez symetryczny rozpad cząsteczki. W przypadku, jeśli wzór związku zawiera parzyste liczby atomów pierwiastków, można oczekiwać utworzenia dwóch fragmentów o tym samym składzie elementarnym – rozpad symetryczny względem składu. Jeśli wzór sumaryczny substancji zawiera nieparzyste liczby atomów pierwiastków, możliwym jest rozpad cząsteczki na dwie składowe o zróżnicowanych składach izotopomerowych i różniące się wzorami sumarycznymi, lecz o jednakowych lub bardzo zbliżonych masach. Takie zjawisko można nazwać rozpadem symetrycznym względem masy. Oba procesy rozkładu mogą przebiegać jednoetapowo, ale jon zweryfikowany jako efekt rozpadu symetrycznego może też być produktem ciągu reakcji fragmentacji [213]. W takich przypadkach relacje pomiędzy jonem „wysokomasowym” a odpowiednim „niskomasowym” będą miały charakter niebezpośredni. Rozpad symetryczny nie jest zatem jednoznacznym pojęciem i wymaga zwykle doprecyzowania określającego genezę pasma jonu „niskomasowego”. A zatem dokładna analiza relacji klasterów odpowiadających sobie jonów stanowić może istotną informację analityczną o strukturze badanych związków i o procesach ich fragmentacji.

Schemat postępowania (D-CIIA) jest oparty na sprawdzeniu 4 relacji pomiędzy 8 pasmami izotopomerowymi rzeczywistymi i przetworzonymi.

Zgodność obu klasterów teoretycznych („nisko-” i „wysokomasowego”) uniemożliwia dalsze testowanie, zatem jako pierwszą cechę sprawdza się teoretyczną możliwość rozróżnienia pasm powiązanych ze sobą jonów jedno- i dwudodatnich. W przypadku spełnienia tego warunku istnieje możliwość wykrycia obecności jonu dwudodatniego. O obecności takiego jonu świadczy zgodność klasterów doświadczalnych („nisko-,,, i „wysokomasowego”). Alternatywą istnienia pasma jonu dwudodatniego jest rozpad jonu D^+ na dwa jony d_1^+ i d_2^+ . Taką ewentualność udowadnia zgodność pasm teoretycznego i doświadczalnego dla każdego z rozpatrywanych jonów. Mogą to być jednakowe jony ($d_1^+ = d_2^+$), albo jony różniące się strukturą lub składem, lecz charakteryzujące się takimi samymi (bądź bardzo zbliżonymi) masami $(m/z)_{d1} \approx (m/z)_{d2}$. W takim przypadku testowanie jest bardziej skomplikowane, wymaga bowiem uzupełnienia postępowania o dodatkowe procedury modelowania pasma złożonego, co można wykazać zgodnie z procedurą opisaną w rozdziale 6 [66]. O efektywności modelowania pasma izotopomerowego, którego składową może być jon dwudodatni, dowodzą przedstawione przykłady obejmujące zarówno detekcję pasma jonu dwudodatniego, jak i oba przypadki rozpadu symetrycznego cząsteczek.

Złożoność interpretowanych klasterów nie stanowi istotnej przeszkody w obliczeniach. Pasma zlokalizowane w obszarze $m/z < M/2$ mogą zawierać zarówno składowe różniące stopniem zdehydrogenowania [150], jak i jony o istotnie różnych strukturach (wzorach). Możliwość nałożenia się jonów o istotnie różnych strukturach (wzorach) wydają się mniej prawdopodobne.

Pasma złożone znajdujące się w zakresie $[M/2, M]$ mogą zawierać składowe różniące się stopniem zdehydrogenowania (wzory różnią się liczbą wodorów). W takich przypadkach obliczenia wymagają rozszerzenia o modelowanie klastrów, jak to zaprezentowano na przykładach.

Przedstawione treści nie wyczerpują możliwości stosowania analizy izotopomerowej w identyfikacji pasm jonów dwudodatnich. Obecnie nie można jeszcze określić granicy zastosowań badawczych tej metody. Wiadomo już, że metoda modelowania pasma izotopomerowego może być stosowana także do interpretacji pasm złożonych, w których występują składowe odnoszące się do jonów dwudodatnich.

9. Upraszczenie widm masowych związków koordynacyjnych i metaloorganicznych metodą analizy profilu pasma

Pomimo stosowania innych technik jonizacji, jonizacja strumieniem elektronów jest najczęściej stosowaną metodą w spektrometrii mas, zwłaszcza w aparatach wyposażonych w chromatograficzny separator próbki (gazowy lub cieczowy). Wysoka energia wiązki powoduje, że naświetlane cząsteczki w znacznym stopniu ulegają rozpadowi [3i, 219].

Typowe widmo masowe wykonane przez jonizację elektronami zawiera szereg sygnałów (pików), które mogą być podzielone na cztery podstawowe grupy:

- piki istotne dla interpretacji widma, ustalenia masy molekularnej badanej substancji, składu pierwiastkowego, czy też określenia dróg fragmentacji związku,
- inne sygnały o mniejszej wadze interpretacyjnej, powstałe w wyniku rozpadu cząsteczki,
- piki izotopowe, wywodzące się z naturalnych izotopów pierwiastków, szczególnie istotne w badaniu związków zawierających Cl, Br lub pierwiastki multiizotopowe, np. Cd, Hg, Sn etc.,
- sygnały tła, całkowicie nieprzydatne w interpretacji.

Każde widmo doświadczalne zawiera piki należące do wszystkich, wymienionych grup. Ich proporcje ilościowe są zmienne i mogą zależeć od typu spektrometru, możliwości technicznych aparatu, doświadczenia operatora itp. Z tego też powodu widmo masowe jest postrzegane jako „system źle zorganizowany” [79].

Pierwszym etapem interpretacji widma masowego musi być zwykle selekcja sygnałów o potencjalnie największej wartości informacyjnej. Od poprawnie dokonanej selekcji zależy zarówno sposób interpretacji, jak i jej wiarygodność:

1. Interpretacja za pomocą książkowych bibliotek widm masowych [220] lub specjalistycznych monografii [6b, 96, 221] wymaga największego stopnia uproszczenia. Widmo do badań musi być zredukowane do kilku lub kilkunastu sygnałów (ich liczba zwykle nie przekracza 20). Szczególnym rozwiązaniem jest zastosowanie skomputeryzowanych, interaktywnych baz wiedzy [222, 223], których użycie w istotnym stopniu ułatwia badania.
2. Interpretacja wykorzystująca wspomaganą komputerowo analizę obrazu [222 – 226] opartą na przeszukiwaniu bibliotek komputerowych może służyć do badania bardziej złożonych widm. W tym przypadku również wymagane jest uproszczenie widma doświadczalnego, zwłaszcza usunięcie sygnałów tła. Komercyjne biblioteki widm masowych (ITDS [14], INCOS [227], SIDAR [228] etc.) wykorzystują wielkie bazy widm (100000 i więcej związków), zawierające głównie opublikowane dane doświadczalne. Niestety, sposób taki ma istotne wady, ponieważ bazy danych zawierają widma

wykonane na różnych aparatach, w różnych warunkach, przez różnych operatorów o różnym doświadczeniu i różnym stylu pracy. Dodatkowo często publikuje się widma już uproszczone, a powód selekcji i kryteria wyboru zazwyczaj nie są opisywane.

3. Najbardziej efektywnym jest sposób interpretacji oparty na wykorzystaniu interakcyjnych, komputerowych programów wspomagających, pozwalający operatorowi na kontrolowanie każdego etapu interpretacji [229, 230]. Jednocześnie, program dokonuje wszystkich skomplikowanych operacji związanych z obliczeniami matematycznymi, przetwarzaniem dużej liczby sygnałów lub generuje możliwe rozwiązania, ale to operator decyduje o sposobie interpretacji. Rozwiązanie takie zachowuje zasady ludzkiej logiki i ludzkich sposobów wyboru. Sposób ten zaleca się do przetwarzania widm o średniej złożoności. Wymaga on także pewnej selekcji danych wyjściowych, lecz eliminacja pików izotopowych i sygnałów tła stanowi nieznaczną ingerencję w widmo.

Wszystkie trzy opisane metody interpretacji wymagają uproszczenia widma przez wyselekcjonowanie sygnałów o istotnej wartości informacyjnej.

9.1. Sposoby upraszczania widm masowych

Złożoność widma masowego (zawierającego niekiedy 100 i więcej sygnałów) uniemożliwia prosty wybór pików według ich wielkości. Piki położone przy wyższych wartościach m/z charakteryzują się często niewielkimi intensywnościami, a jednocześnie ich przydatność informacyjna jest duża, ponieważ jony, którym odpowiadają, zawierają duże partie struktury cząsteczki. Publikowane widma są na ogół upraszczane, ale sposób selekcji i kryteria wyboru są zwykle nieznane.

Znana metoda simplifikacji (właściwie „czyszczenia”) widma masowego opracowana przez Rindfleischa i współpracowników [231] jest zalecana raczej do dynamicznych badań MS (np. GC-MS) niż do klasycznych technik.

Najczęściej stosowanym sposobem ekstrakcji pików z widma masowego jest metoda Billera-Biemanna (B-B) [90, 232]. Widmo jest upraszczane poprzez wyselekcjonowanie dwu pików o największej intensywności z przedziału m/z o szerokości 14 u. Wartość taka odpowiada masie różnicy homologicznej alkanów CH_2 . Metodę B-B opracowano najpierw dla analizy produktów naftowych, a następnie zastosowano do innych związków organicznych. Rozwiązanie takie prowadzi do 85% uproszczenia (tzn. ok. 85% sygnałów zostaje usuniętych z widma). W rzeczywistości efekt simplifikacji jest niższy, ponieważ nie wszystkie możliwe wartości m/z widma masowego są obsadzone.

W alternatywnej metodzie Lebiedieva [233] wyjściowe widmo masowe też jest upraszczane w przedziałach o szerokości 14 u, lecz zależnie od położenia z przedziału wybiera się:

- trzy piki w zakresie 20÷117 u (79% uproszczenia),
- dwa sygnały w obszarze m/z 118÷299 u (86% ekstrakcji),
- jeden pik w zakresie powyżej 300 u (93% symplifikacji).

Żadnej z powyżej wspomnianych metod nie można zalecać do tak złożonych widm mas, jakimi są widma związków metaloorganicznych czy też koordynacyjnych, zawierających duże liczby pików izotopomerowych z racji składu elementarnego cząsteczki. Obecność w cząsteczce pierwiastka multiizotopowego powoduje występowanie związku w postaci szeregu izotopomerów, co ma wpływ na kształt widma. Niekiedy układ pików w paśmie jest tak charakterystyczny, że jak „odcisk palca” wskazuje na obecność pierwiastka multiizotopowego w odpowiednim jonie. Typową właściwością pasm pików w widmie MS jest obserwowana zmienność ich szerokości, co powoduje, że zastosowanie 14 u przedziału selekcyjnego nie może mieć zastosowania w upraszczaniu widm związków koordynacyjnych i metaloorganicznych.

Poniżej przedstawiono metodę upraszczania widma masowego uwzględniającą cechy charakterystyczne widma, dostosowaną do nakładających się pasm o zmiennej szerokości, a także uwzględniających pojedyncze piki obecne w widmie. Z racji wymienionych cech opisywany sposób nadaje się do obróbki widm związków metaloorganicznych i koordynacyjnych, szczególnie zawierających w swym składzie pierwiastki multiizotopowe.

9.2. Metoda analizy profilu pasma (CPA)⁵² [49]

Pasmo jest zbiorem blisko położonych sygnałów, w którym sąsiadujące piki odległe są zwykle o 1 u od siebie. W dalszej części użyte będzie także określenie „zespół pików”. W dużym paśmie złożonym z dużej liczby sygnałów (np. 50÷200) można zwykle wyróżnić pewne grupy składowe o mniejszej liczbie pików – subpasma (subklastery lub podzespoły pików; w literaturze *sub-cluster*, *sub-pattern*, *sub-band* lub *strip*).

Każde bardziej złożone widmo zawiera sygnały pogrupowane w pasma. Szerokości tych pasm bywają różne, ale selekcja pików (uproszczenie) jest niezbędna dla pasm o szerokości 14 u i większej. Niektóre klastery są wyraźnie wyodrębnione od pozostałych części widma (przestrzenie pozbawione sygnałów), inne słabo oddzielone, stwarzają realne trudności przy automatycznych metodach separacji pasm. Takie zespoły pików składają się zwykle z subpasm o różnej intensywności. Intensywność „doliny” pomiędzy składowymi pasmami może niejednokrotnie być większa niż któregoś z subpasm tworzących ten klaster. Opisane zjawisko występuje z różną częstotliwością.

Każdy subklaster (dobrze oddzielony, czy też nie) może składać się z trzech charakterystycznych obszarów:

⁵² Cluster Profile Analysis

- obszaru początkowego, wzrastającego – rosna intensywności kolejnych pików,
- obszaru plateau (nie zawsze obserwowanego) – sygnały mają podobne, duże intensywności,
- obszaru końcowego, malejącego – zawierający piki o kolejno malejących intensywnościach.

Ze względów praktycznych najważniejsze są obszary, w których intensywności sygnałów wzrastają, jak i te, w których maleją. Różnice intensywności kolejnych pików (następnego i poprzedniego) w subpaśmie winny być najpierw dodatnie (część wzrastająca), następnie zbliżone do zera (plateau), a wreszcie ujemne (część malejąca). Taka zasada stanowi podstawę metody analizy profilu pasma. Szczegóły metody analizy profilu (CPA) przedstawiono na rysunku 9.1.

W pierwszym etapie obliczeń wyznacza się szerokość rzeczywistą pasma jako liczbę obserwowanych w paśmie pików (położonych z odstępem wynoszącym 1 u). Początek klasteru jest odnajdywany przez wyznaczenie zależności: $\Delta_i = P_i - P_{i-2}$, gdzie $3 \leq i \leq n$.

Wartość „ $\Delta_i = 2$ ” świadczy o obecności pasma zawierającego co najmniej 3 piki. Jeśli wartość ta powtórzy się r -krotnie, oznacza to, że liczba sygnałów w paśmie (szerokość zespołu pików) wynosi:

$$n = r + 2 \quad (9.1)$$

W przypadku, gdy szerokość pasma przekracza 14 u, dokonuje się podziału pasma na podzespoły pików i każda z części jest upraszczana oddzielnie.

Profil pasma jest przedstawiany jako obszar pod linią łączącą wierzchołki wszystkich pików klasteru. W wielu widmach obserwuje się przemienne ułożenie pików o dużej intensywności z sygnałami o intensywnościach niewielkich. Zjawisko to jest spowodowane układem izotopów naturalnych niektórych pierwiastków, np. chloru, bromu, selenu, cyrkonu, cyny, germanu.

Zastosowanie w obliczeniach różnicy intensywności sygnałów Δ_i , zdefiniowanej jak wyżej, pozwala zneutralizować niekorzystny wpływ tego zjawiska. Znak różnicy intensywności jest określany jako:

$$F_i = \text{SIGN}(I_i - I_{i-2}), \text{ gdzie } 3 \leq i \leq n, F_i < -1, 0, +1 > \quad (9.2)$$

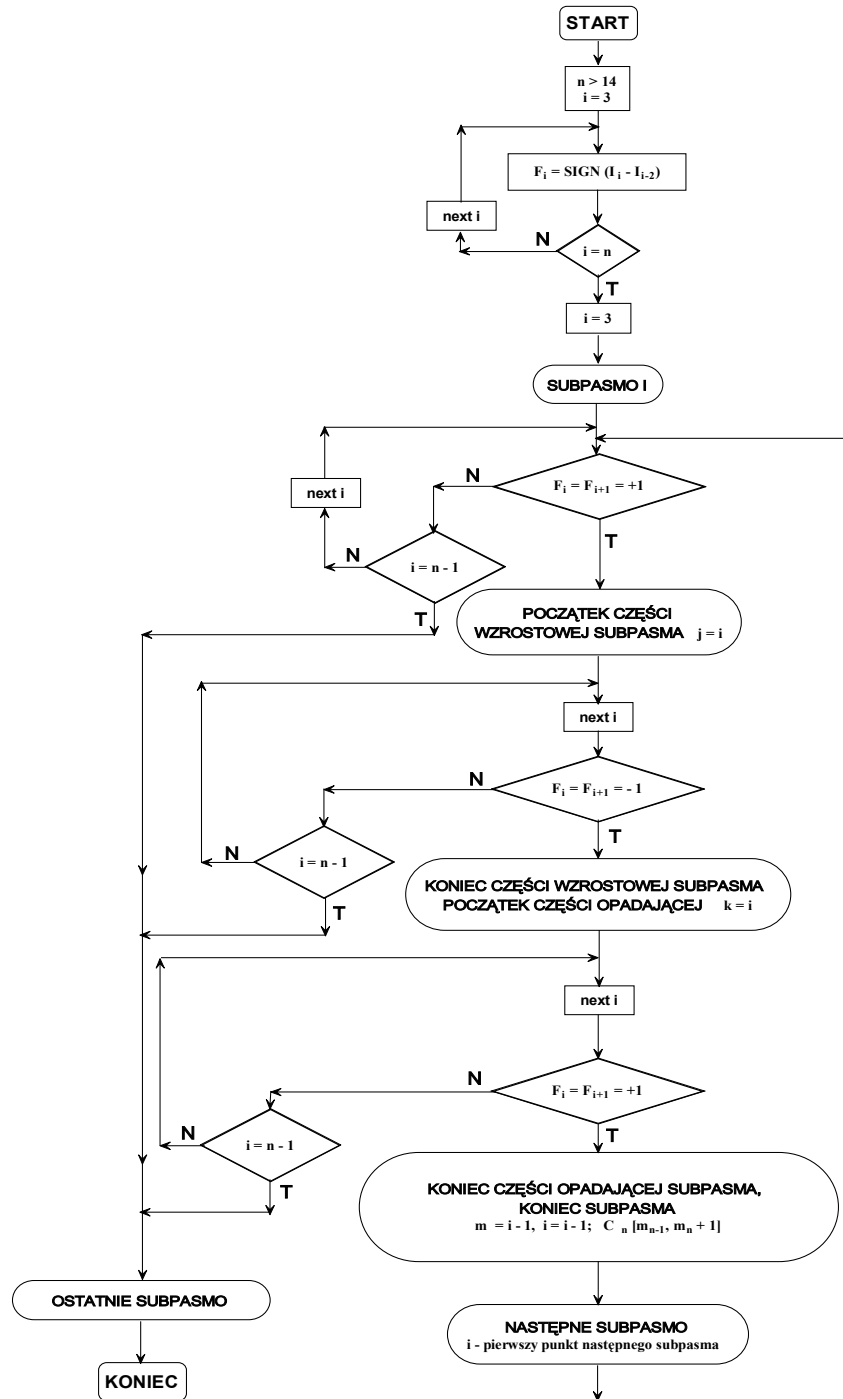
i stosuje się jako marker do detekcji subpasm.

W tym celu porównuje się dwie sąsiadujące wartości funkcji F_i :

- $F_i = F_{i+1} = -1$ część wzrastająca subpasma (początek),
- $F_i = F_{i+1} = 0$ obszar plateau,
- $F_i = F_{i+1} = +1$ część malejąca subpasma (koniec).

Na granicy dwóch subklasterów obserwuje się następujący układ wartości:

$$F_{i-2} = +1, F_{i-1} = +1, F_i = -1, F_{i+1} = -1, F_{i+2} = -1.$$



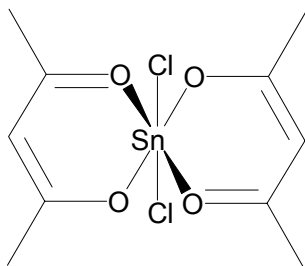
Rys. 9.1. Schemat upraszczania widm masowych metodą analizy profilu pasma (CPA)

Pierwsze subpasmo jest położone w zakresie $\langle 1, m_1 - 1 \rangle$, następne $\langle m_{n-1}, m_n - 1 \rangle$, a ostatnie w obszarze określonym przedziałem $\langle m_n, \text{ostatni pik} \rangle$. Ostatni podzespół jest zwykle zdeformowany. Z każdego znalezionej subklasteru wybiera się po dwa sygnały o największych intensywnościach do dalszej interpretacji. Pozostałe piki (mniejsze) są pomijane w dalszej interpretacji, jako mniej wartościowe informacyjnie.

9.3. Przykłady zastosowania metody analizy profilu pasma

Do testowania metody CPA upraszczania widma użyto widm masowych związku koordynacyjnego (acetyloacetonian dichlorocyny) i związku metaloorganicznego (heksabutylseleno-trisiletanu). Oba związki zawierają kilka atomów pierwiastków multiizotopowych, co powoduje obecność wielu pików izotopomerowych w widmie. Obserwowane pasma są bardzo szerokie, praktycznie nierozdzielone z powodu ich dużych szerokości izotopowych, co poważnie utrudnia interpretację widma. Pasma jonów fragmentacyjnych nie są oddzielone od siebie. Efekty symplifikacji metodą analizy profilu stopnia porównano z wynikami stosowania uproszczenia Billera-Biemanna [90, 232] (jako najczęściej stosowanym sposobem).

9.3.1. Dichloro-bis-(2,4-pentanodioniano-O,O')-cyna (acetyloacetonian dichlorocyny) $(C_5H_7O_2)_2SnCl_2$



Najszerze, przewidywane pasmo dla tego związku może składać się z 21 sygnałów i dotyczyć jonu molekularnego. Nie wszystkie wartości pomiędzy minimalną a maksymalną wartością m/z mogą być obsadzone. Uwzględniając składy izotopowe pierwiastków pasma izotopomerowe jonów składać się mogą z następujących składników:

- jednego atomu cyny przedstawianego przez 10 pików w paśmie o szerokości 13 sygnałów,
- 2 atomów chloru teoretycznie reprezentowanych przez 5 sygnałów,
- pozostałych pierwiastków (C, H i O) tworzących klastery z 3 pików.

Teoretyczna szerokość izotopomerowa *WIC* subklasterów jest zatem zeterminowana do kilku zaledwie możliwości:

3 piki (C, H, N i O),

5 pików (Cl_2),

6 (C, H, N i O) + Cl,

8 (C, H, N i O) + Cl_2 ,

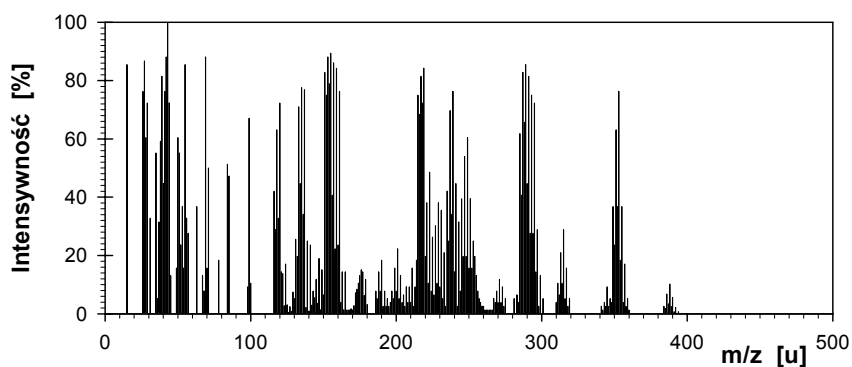
16 (C, H, N i O) + Sn,

19 (C, H, N i O) + Cl + Sn,

21 pików – pasmo zawierające wszystkie pierwiastki tworzące związek.

W widmie masowym związku winny występować podzespoły pików tylko o 7 różnych szerokościach izotopomerowych spośród 19 możliwych pomiędzy $W_{min} = 3$ u a $W_{max} = 21$ u. Zatem subpasma obserwowane w widmie mogą składać się z 3, 5, 6, 8, 16, 19 i 21 pików. Trzy ostatnie możliwości przekraczają szerokością stosowany w metodzie Billera-Biemanna przedział 14 u jako podstawowej jednostki podziału widma. Będą zatem reprezentowane w widmie uproszczonym przez podwójną liczbę sygnałów.

Widmo masowe EI dichloro-bis-(2,4-pentanodionianu-O,O')-cyny [234] charakteryzuje się znaczną liczbą bardzo intensywnych sygnałów położonych w zakresie do 394 u (rys. 9.2). Tak intensywne widma obserwuje się dość rzadko, a zwłaszcza w przypadku jonizacji EI.

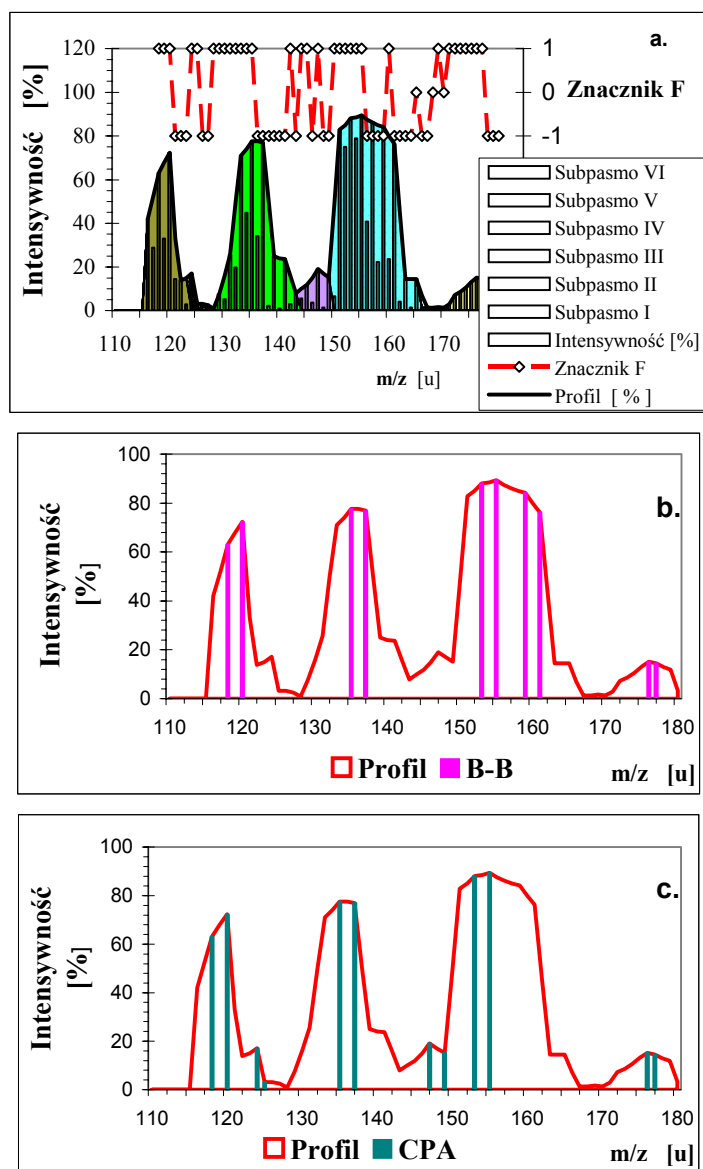


Rys. 9.2. Widmo masowe dichloro-bis-(2,4-pentanodionianu-O,O')-cyny ($C_5H_7O_2)_2SnCl_2$) [234]

Widmo zawiera dwa szerokie pasma. Pierwsze z nich jest położone w zakresie 116÷180 u i zawiera 65 pików. Drugie zaś, znajdujące się pomiędzy 186 a 275 u, składa się z 90 sygnałów. Za pomocą tabel i rysunków poglądowych przedstawiono szczegóły analizy profilu pasma (CPA) dla pierwszego pasma (116÷180 u) (rys. 9.3 a).

Analizowane szerokie pasmo wygląda jak kombinacja słabo rozdzielonych trzech podzespołów o dużej intensywności i dwóch mało intensywnych składowych. W przykładzie wartość obliczeniowa $\Delta_i = 2^n$ powtarza się $r = 63$ -krotnie, zatem liczba pików w klasterze musi być równa $n = 65$.

Dość często w widmach masowych obserwuje się przeplatanie pików o dużych intensywnościach z sygnałami znacznie słabszymi. Zjawisko to występuje również w rozpatrywanym przykładzie i jest spowodowane układem izotopomerowym cyny i chloru. Rozpatrywanie co drugiego sygnału, tzn. porównywanie pików o położeniach różniących się o 2 u pozwala na ominięcie problemu i uzyskanie poprawnych efektów.



Rys. 9.3. Pasmo 116–180 u widma masowego dichloro-bis(2,4-pentanodioniano-O,O')-cyny ($C_{10}H_{14}Cl_2O_4Sn$): a – rozdział subpasm, b – selekcja metodą Billaera-Biemanna [232], c – pasmo uproszczone metodą CPA (analizy profilu pasma)

Subpasma wyznacza się na podstawie wartości markera dla dwóch sąsiednich punktów według opisanych wcześniej warunków, a uzyskane wyniki są porównywane z profilem pasma. Pierwsze subpasmo jest położone w zakresie $\langle 1, 8 \rangle$, następne $\langle m_{n-1}, m_n - 1 \rangle$, a ostatnie w obszarze określonym przedzia-

łem <56, 65>. Oprócz czterech subpasem wyraźnie stwierdzalnych, na obrazie widma metoda CPA znajdują się dwa dodatkowe, mało intensywne i słabo oddzielone podzespoły pików w zakresach odpowiednio 124÷130 u i 144÷149 u.

Ostateczny rezultat uproszczenia widma za pomocą analizy profilu pasma (CPA) porównano z rezultatami symplifikacji za pomocą metody Billera-Biemanna (rys. 9.3). Z każdego subpasma (lub każdego przedziału 14u) wybrano po dwa sygnały o największej intensywności, pozostałe zaś odrzucono. Pasma zawiera 6 podzespołów pików – 3 o dużej intensywności i 3 słabsze, zatem wyselekcjonowano 12 pików do interpretacji. W przypadku metody B-B (ekstrakcja przy stałym przedziale wynoszącym 14 u [230]) uzyskuje się zaledwie 10 sygnałów, przy czym subklaster 150÷170 u, traktowany jako dwa subpasma, jest reprezentowany przez 4 piki, a 2 mniej intensywne subpasma (124÷127 u i 144÷149 u) nie mają odpowiedników wyselekcjonowanych do dalszego przetwarzania. Sprawność upraszczania metodą CPA wynosi 81,5% (tzn. 81,5% sygnałów odrzucono) i jest zbliżona do rezultatu metody B-B (84,6%).

Analiza profilu pasma wykonana zgodnie z opisanymi już regułami identyfikuje 8 subklasterów (5 słabych i 3 bardzo intensywne). Po wyselekcjonowaniu dwóch pików o największej intensywności z każdego subpasma uzyskuje się 16 sygnałów do dalszej interpretacji (tab. 9.1). Wszystkie zauważalne subpasma są reprezentowane przez sygnały wybrane do dalszej interpretacji. Uzyskano wysoką efektywność uproszczenia widma, po zastosowaniu metody CPA wyeliminowano z widma 82,2% pików jako informacyjnie nieprzydatnych.

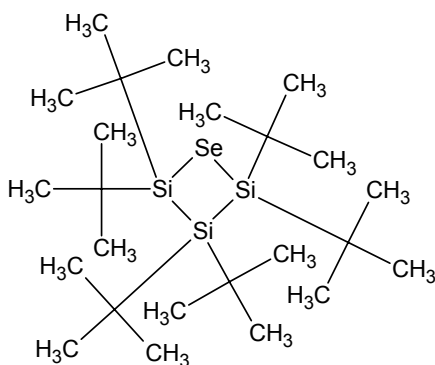
Tabela 9.1. Piki wyselekcjonowane metodą CPA z widma dichloro-bis(2,4-pentano-diono-O,O')-cyny ($C_{10}H_{14}Cl_2O_4Sn$)

Pasma 116÷180 u.							
Sub-pasmo	Zakresy u	Wybrane piki u (%)		Sub-pasmo	Zakresy u	Wybrane piki u (%)	
I	116÷123	118(63,16)	120(72,37)	IV	144÷149	147(19,08)	149(15,13)
II	124÷127	124(17,11)	125(3,16)	V	150÷170	153(88,16)	155(89,47)
III	128÷143	135(77,63)	137(76,97)	VI	171÷180	176(15,13)	177(14,47)
Pasma 186÷275 u							
Sub-pasmo	Zakresy u	Wybrane piki u (%)		Sub-pasmo	Zakresy u	Wybrane piki u (%)	
VII	186÷196	188(14,47)	190(18,42)	XI	227÷234	229(38,16)	231(35,53)
VIII	197÷206	199(15,79)	201(22,37)	XII	235÷243	237(69,74)	239(76,32)
IX	207÷213	207(9,21)	211(15,79)	XIII	244÷266	247(53,95)	249(60,53)
X	214÷226	217(81,58)	219(84,21)	XIV	267÷275	271(11,84)	273(9,21)

Następne pasmo widma acetyloacetonianu dichlorocyny składa się z 90 pików położonych w zakresie 186÷275 u. Podobnie jak w przypadku omawianego wcześniej klasteru podzespoły pików są bardzo słabo rozdzielone. Profil pasma przedstawia kombinację silnych i słabych składowych.

Zastosowanie metody B-B o stałej szerokości przedziału (14 u) daje inne rezultaty. Subpasmo położone w zakresie 227÷234 u nie jest odnotowane, subklaster znajdujący się pomiędzy 207 a 213 u jest reprezentowane przez tylko jeden pik, za to z podzespołu pików 244÷266 u zostają wybrane trzy sygnały.

9.3.2. Hexa-*t*-butylo-selenotrisiletan, $(C_4H_9)_6SeSi_3$



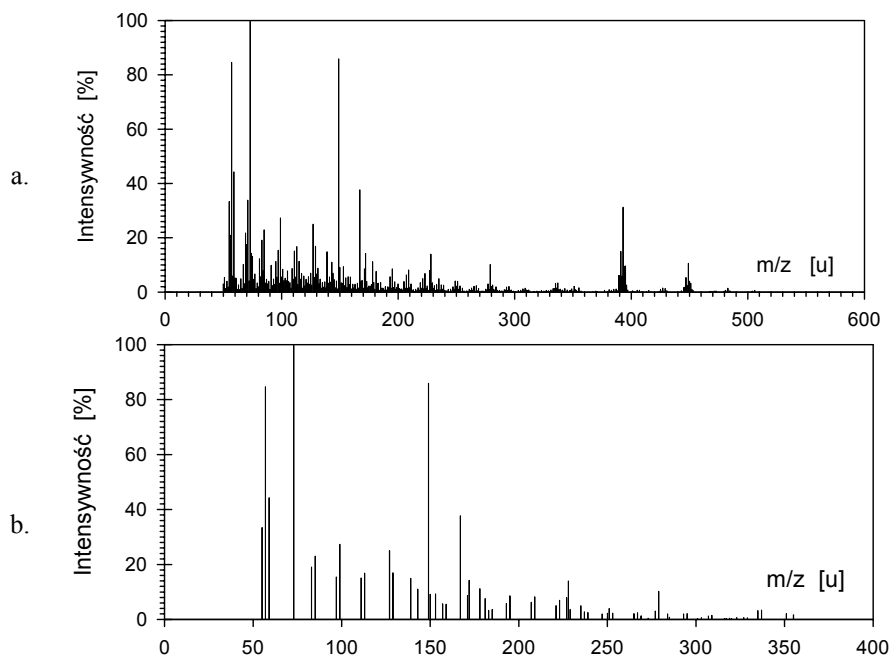
Widmo masowe EI hexa-*t*-butylo-selenotrisiletanu $SeSi_3(t-Bu)_6$ zawiera 361 pików [235] (rys. 9.4a). Występuje w nim pasmo złożone z 294 sygnałów, położone w zakresie 50÷357 u. Niemal wszystkie możliwe położenia tego pasma są wypełnione pikami.

Skład elementarny wskazuje na 7 prawdopodobnych szerokości izotopomerycznych pasm:

3 u – (C i H),	4 u – 3 Si,
7 u – 3 Si + (C i H),	8 u – Se,
11 u – Se + (C i H),	12 u – Se + 3 Si,
15 u – Se + 3 Si + (C i H).	

Przeprowadzenie analizy profilu pasma prowadzi do wykrycia 29 subpasm i 9 izolowanych pików. Po selekcji pozostaje 67 pików (piki izolowane + piki z subklasterów) do dalszej interpretacji. Upraszczenie metodą CPA dokonuje się z wydajnością 77,2% (rys. 9.4b), przy 84,7% sprawności symplifikacji metodą Billera-Biemanna. Na obniżenie sprawności analizy profilu wpływ zasadniczy ma fakt włączenia pików izolowanych do wyselekcjonowanego widma. Metoda B-B [90, 232] na ogół odrzuca izolowane sygnały, zwłaszcza, gdy ich intensywność nie jest znacząca.

Przeprowadzenie pełnej selekcji całego obszaru widma (50÷506 u) metodą CPA uzyskuje się 98 sygnałów do dalszego przetwarzania, co oznacza 72,9% sprawności selekcji. W tych warunkach 81,1% jest eliminowanych pików metodą B-B.



Rys. 9.4. Wynik upraszczania widma masowego hexa-*t*-butylo-selenotrisiletanu ($(C_4H_9)_6SeSi_3$): a – widmo pełne [235], b – widmo po eliminacji metodą CPA

9.4. Ocena efektywności metody uproszczenia widma

Obecność w cząsteczce związku pierwiastka multiizotopowego powoduje konieczność stosowania specyficznych zasad upraszczania widma masowego związku. Analiza profilu pasma (CPA) jest rozwiązaniem opartym na separacji graficznie zdefiniowanych składowych (subpasm) w klasterach o dużej szerokości. Profil pasma jest przedstawiony jako obszar znajdujący się pod linią łamaną, łączącą szczyty każdego pików klasteru. Linia ciągła oddziela części pasma. Rozpatrywanie pików w kolejności „co drugi” pozwala na zminimalizowanie problemu przemienne występowania silnych i słabych sygnałów, spowodowanego właściwościami izotopowymi niektórych pierwiastków.

Pierwszym etapem upraszczanie pasm metodą analizy profilu jest określenie składowych zespołu pików. Każdy z wyodrębnionych tą drogą subklasterów jest przetwarzany oddzielnie. Szerokość przedziału selekcyjnego jest zmienna i ustala się ją w zależności od parametrów subpasm (profilu pasma). Dodatkowymi parametrami, stosowanymi w opisanej metodzie są: lokalna różnica położenia pików Δ_i pozwalająca ustalić szerokość pasma i marker subklasterów F_i , służący do identyfikacji i rozdziału podzespółów pików. Szczególna definicja markera pozwala zneutralizować problem przeplatania silnych i słabych pików,

a wynikający z nieregularności składów izotopomerycznych jonów. Porównanie wartości markera odnoszących się do dwóch sąsiednich punktów pozwala na wykrycie subpasm, nawet przy małej ich intensywności, czy też słabo oddzielonych od pozostałych podzespołów. Intensywność czy szerokość subklaserów nie odgrywa zasadniczej roli, chociaż niezawodność detekcji subpasma uzyskuje się, jeśli składa się ono z co najmniej 4 sygnałów. Oddzielone subpasma zawsze zawierają punkty stanowiące lokalne ekstrema na profilu pasma. Składowe oparte o punkty przegięcia profilu lub całkowicie przesłonięte przebiegiem linii profilu mogą być nie wykryte przez procedurę CPA. W obu tych przypadkach subklaster zapewne nie będzie reprezentowany w widmie uproszczonym. W pozostałych dwa najbardziej intensywne piki subpasma zostaną wybrane do dalszej interpretacji, a wszystkie inne zostaną uznane za zbędne, z racji przypisanej im niewielkiej wagi informacyjnej, i w konsekwencji usunięte z widma.

Procedura eliminacji pików nadmiarowych w metodzie CPA pozostawia w widmie finalnym sygnały izolowane. Co prawda, taki sposób zmniejsza efektywność uproszczenia, ale jednocześnie zwiększa prawdopodobieństwo, że w widmie po symplifikacji znajdują się wszystkie istotne sygnały.

Tabela 9.2. Porównanie metody Billera-Biemanna i analizy profilu pasma

Właściwość	Metoda Billera-Biemanna [232]	Metoda profilu pasma (CPA)
Szerokość analizowanego przedziału widma	stała (14 u)	zmienna, dostosowująca się do kształtu pasma
Stopień złożoności metody	prosta	złożona
Typ metody	mechaniczna, narzędziowa	automatyczna, kontrolowana
Zastosowanie komputera	nie konieczne, możliwa „praca ręczna”	konieczne
Uwzględnianie pojedynczych pików	na ogół niemożliwe	możliwe
Wykrywalność pików izolowanych	niektóre są akceptowane	wszystkie są akceptowane
Szerokie pasma ($n > 14$)	piki nadmiarowe	wynik selekcji niezależny od szerokości pasma, brak pików nadmiarowych
Wąskie, nie rozdzielone pasma	nie wykrywane i nie reprezentowane	reprezentowane przez 2 piki
Efektywność selekcji (% pomijanych pików)	81-86%	72-82%

Każdy z prezentowanych przykładów zawiera pierwiastek multiizotopowy (jeden lub więcej) i charakteryzuje się dużą szerokością izotopomerową pasm tak jonu molekularnego, jak i jonów fragmentacyjnych (cyna – 10 izotopów, selen – 6 izotopów). Procedura automatycznego uproszczenia przebiega efektywnie (ok. 80%) niezależnie od małej intensywności widma lub słabego rozdzielania podzespołów pików. W drugim przykładzie efektywność jest mniejsza, ponieważ metoda zakłada włączenie izolowanych sygnałów do uproszczonego widma bez dokonywania wśród nich selekcji, a zatem bez względu na ich położenie, czy też intensywność.

Najczęściej stosowanym sposobem upraszczania widm masowych jest metoda Billera-Biemanna, dlatego też z nią właśnie porównano efekty uzyskane za pomocą analizy profilu pasma. Zestawienie obu metod (tab. 9.2) dowodzi, że dla widm prostych związków, zwłaszcza organicznych, wygodniej i prościej jest stosować „mechaniczną” metodę B-B. Interpretacja widm związków metaloorganicznych i koordynacyjnych wymaga jednak bardziej precyzyjnego narzędzia do selekcji sygnałów i w tych przypadkach stosowanie metody analizy profilu pasma (CPA) wydaje się być niezbędne.

Metoda analizy profilu pasma nie nadaje się do stosowania “ręcznego”. Procedura CPA może być realizowana za pomocą specjalizowanego programu, bądź też opierając się na komercyjnych arkuszach kalkulacyjnych.

Proponowany sposób upraszczania widm masowych jest w szczególności przeznaczony do przetwarzania bardzo złożonych widm, w których obserwuje się obecność szerokich pasm. Procedurę sprawdzono na widmach EI. Można przypuszczać, że będzie przydatna także w interpretacji widm masowych wykonanych za pomocą „miękkich” metod jonizacji, choć fakt ten wymaga jeszcze weryfikacji.

10. Podsumowanie i wnioski

Fakt istnienia izotopomerów wprowadza istotne zmiany do podstawowych reguł chemii i fizyki. Obserwowane różnice właściwości uzasadniają traktowanie obecnego w cząsteczce izotopu pierwiastka jako odrębnego podstawnika. Świadomość, że każdy niemal związek zawierający w swoim składzie pierwiastek poliizotopowy nie jest substancją czystą (tzn. składa się z izomerów izotopowych), może wiele zmienić w analizie instrumentalnej, zwłaszcza w sposobach interpretacji wyników. Typowe widmo masowe składa się z szeregu sygnałów pogrupowanych w pasma zawierające od kilku do kilkunastu (i więcej) sygnałów. Sygnały te można podzielić na dwie kategorie:

- piki odnoszące się do dominant izotopowych pierwiastków tworzących jon – zwykle podstawowych dla interpretacji widma lub określania dróg fragmentacji,
- sygnały „izotopowe” powstałe z izotopów naturalnych, rzadko wykorzystywanych w interpretacji widma.

Ta druga grupa pików odpowiada składowi izotopomerowemu jonu, możliwemu do wyznaczenia na podstawie naturalnego rozkładu izotopów. Pasma izotopomerowe stanowi istotną informację analityczną dotyczącą składu jonów i ich molekularnych prekursorów. Zrozumienie właściwości pasma izotopomerowego może istotnie ułatwić efektywną interpretację widma masowego.

Obserwowane właściwości i efekty są wynikami uśrednionymi dla mieszaniny izotopomerów. Charakterystyczną cechą są różnice mas izotopomerów, a zatem szczególnie postęp może być dokonany w przypadku interpretacji widm mas.

Skład izotopomerowy jonów występujących w widmach masowych związków organicznych jest dość ubogi z powodu dominant izotopowych tworzących te związki pierwiastków. Na postać klastra izotopomerowego składają się:

- izotopomery położenia – charakteryzujące się tym samym składem izotopowym, lecz różniące się rozkładem izotopów w cząsteczce,
- izotopomery masy – izomery izotopowe pogrupowane raczej według wspólnej masy nominalnej niż składu izotopowego.

Obserwuje się zdecydowane różnice wartości m/z występujących izotopomerów masy. Zjawisko to umożliwiło określenie dokładnej masy jonu, a przez to wyznaczenie wzoru sumarycznego jonu. Widma wysokorozdzielcze typowych związków organicznych są przez to dość proste i nie stwarzają problemów w interpretacji.

Obecność w cząsteczce kilku atomów pierwiastków poliizotopowych (takich samych lub różnych) powoduje powstawanie tak dalece złożonego spektrum izotopomerów masy, że interpretacja widma może być bardzo utrudniona. A przecież w paśmie jonu masowego rozszczepionym na wiele sygnałów tkwią istotne informacje. Układ sygnałów w paśmie izotopomerowym jest cechą cha-

rakterystyczną dla jonu mas i zależną od składu elementarnego (wzoru sumarycznego) jego jonu. Można przyjąć, że wzór związku koordynacyjnego lub metaloorganicznego składa się z agregatu pierwiastków poliizotopowych i aglomeratu organicznego:

$$\text{Związek} = \text{PIE}_{\Sigma} + \text{Org}_{\Sigma}$$

Wykonano obliczenia wskazujące na wpływ aglomeratów pierwiastkowych na parametry klasterów i stwierdzono szereg odstępstw od zasad addytywności. Przeliczono wpływ pierwiastków poliizotopowych na kształty pasm dla szeregu agregatów pierwiastkowych, aż do **(Elem)₁₀**. Jednocześnie przedstawiono sposób tworzenia widma masowego wysokiej rozdzielczości i możliwą jego transformację w widmo masowe niskiej rozdzielczości.

Interpretację widma masowego opiera się na wybranych sygnałach, którym przypisuje się wzory odpowiadających im jonów. Zestawienie tych wzorów w logiczny ciąg wyznacza drogę fragmentacji. Sygnały pochodzące od izotopomerów interpretowanych jonów z reguły nie są wykorzystywane. A przecież pasmo stanowi pewną całość i to właśnie całe pasmo jest obrazem złożonej często mieszaniny izotopomerów, która składa się na jon. Piki izotopomerowe rzadko bywają wykorzystywane w interpretacji widm masowych. W metodzie modelowania pasma izotopomerowego i wszystkich narzędziach wywodzących się z tej metody przyjęto, że sygnały te są ważne, ponieważ na ich podstawie można udowodnić lub obalić hipotezę, określając wzór sumaryczny jonu. Do opracowania hipotez wystarczy niewielka liczba sygnałów, należy je jednak umiejętnie wyseparować. Efektywną selekcję zapewnia metoda badania profilu pasma, rozpatrująca również słabo rozdzielone lub mało intensywne pasma. Pozostałe sygnały są podstawą dalszej analizy i weryfikacji postawionych hipotez.

Program modelowania izotopomerowego pasma (MMIP – Multisotopic Modeling of Isotopomeric Pattern) stanowi narzędzie wykorzystujące złożoność klasterów jonów w celu uwiarygodnienia interpretacji widma mas. Wyznacza się skład izotopomerowy, a ściślej jego obraz, na podstawie rozpowszechnienia naturalnych, trwałych izotopów pierwiastków i hipotetycznego wzoru jonu masowego. Zgodność przewidywanego obrazu z formą pasma doświadczalnego potwierdza tę hipotezę. Modelowanie pasma izotopomerowego może być efektywną metodą ustalania wzoru sumarycznego jonu, alternatywną do sposobu polegającego na dokładnym oznaczeniu masy jonu (accurate mass). Wyniki uzyskiwane obiema metodami są zbliżone, lecz sposób oparty na modelu umożliwia identyfikację większej liczby jonów na podstawie jednego widma, a pomiar dokładnej masy dotyczy jedynie pojedynczych sygnałów. Obliczenia oparte na zasadach analizy izotopomerowej pasm mogą być pomocnym narzędziem w wyjaśnianiu natury złożonych klasterów jonów masowych i ustalaniu ich składu. Program modelowania pasma izotopomerowego MMIP i jego pochodne zostały utworzone jako programowe usprawnienie czynności, które można dokonać za pomocą tablic korelacyjnych wykorzystując zasady kombinatoryki i rachunku prawdopodobieństwa. Takie założenie powoduje, że na każdym etapie

obliczeń istnieje możliwość ich odtworzenia, np. za pomocą arkusza kalkulacyjnego, co umożliwi dydaktyczne wykorzystanie procedur. Widmo niskiej rozdzielczości zawiera wiele sygnałów, których można efektywnie użyć w interpretacji, zwłaszcza sumarycznego wzoru jonu, wyznaczanego równie precyzyjnie jak za pomocą określenia dokładnego położenia pików. Istotną zaletą metody modelowania jest fakt, że poprawne wyniki uzyskać można, nawet w przypadku zakłóceń w analizowanym klastrze. Jest to tym ważniejsze, że wyznaczanie składu elementarnego na podstawie dokładnej masy jonu wymaga danych niezakłóconych.

Program MMIP był bazą do opracowania procedur pochodnych, których kilka zaprezentowano w niniejszej pracy.

- Szczególną uwagę zwrócono na interpretację pasm zakłóconych, przypisując je nakładaniu klastrów.
 - Najważniejszym problemem była interpretacja złożonych pasm pseudomolekularnych tworzonych przez nałożenie się obrazów jonów różniących się liczbą atomów wodoru w cząsteczce. Poprawna identyfikacja klastrów molekularnych ma podstawowe znaczenie dla całej interpretacji widma mas. Niedopatrzenie poprawności przypisania wzoru generuje dalsze błędy w ustalaniu dróg fragmentacji.
 - Badanie złożonych pasm jonów fragmentacyjnych jest także poważnym problemem. Zjawiska dehydrogenacji mogą wystąpić również w pasmach jonów fragmentacyjnych, lecz te przypadki nie mają tak kluczowego znaczenia jak dla klastrów molekularnych. Także i w tym przypadku zastosowanie modelowania pasma izotopomerowego dostarcza dodatkowych informacji analitycznych.
 - Rozwiązano szczególnie trudny problem obserwowanej rozbieżności lokalizacji klastrów molekularnych germanowodorów spowodowany zakłóceniami pasma generowanymi przez jony Ge_n^+ i jony podobne.
 - Opracowano także sposób interpretacji klastrów złożonych, których składniki różnią się w sposób zasadniczy składem elementarnym. Przypadki te mogą występować jako fragmentacja symetryczna pod względem masy.
- Izotopomerowa rekonstrukcja widma na podstawie wzorów i mas jonów okazała się użytecznym narzędziem weryfikacji hipotezy fragmentacyjnej. Pozwala ona na określenie relacji pomiędzy kształtem widma masowego a jego interpretacją do postaci dróg fragmentacji traktowanych jako supozycja. Oprócz tego rekonstrukcja w konsekwencji umożliwia skuteczne wyszukiwanie ewentualnych błędów bądź to w widmie mas, bądź w jego interpretacji. Szczególnie dogodną grupą związków dla zastosowania modelowania widma są związki koordynacyjne i metaloorganiczne, tzn. takie, w których cząsteczkach występują atomy pierwiastków poliiizotopowych. Kompatybilność widma doświadczalnego i obliczonego modelu świadczy zarówno o poprawności eksperymentu, jak i właściwej interpretacji uzyskanych doświadczalnie wyników.

- Na bazie MMIP oparto także izotopomerową analizę pasm jonów podwójnie naładowanych (Doubly-Charged Ion Isotopomeric Analysis - D-CIIA). Możliwość wykrycia obecności jonu dwudodatniego jest uzależniona od istnienia różnic pomiędzy teoretycznymi klasterami badanych jonów. Alternatywą istnienia pasma jonu dwudodatniego jest rozpad jonu większego na dwa mniejsze. Mogą to być jednakowe jony, albo jony różniące się strukturą lub składem, lecz o takich samych (bądź bardzo zbliżonych) masach. Testowanie takiego przypadku wymaga modelowania pasma złożonego, co dzięki wcześniej opisanym procedurom nie stanowi istotnej przeszkody w obliczeniach. Pasma zlokalizowane w obszarze $m/z < M/2$ mogą zawierać składowe różniące się stopniem zdehydrogenowania. Możliwość nałożenia się jonów o istotnie różnych strukturach (wzorach), choć niewykluczone, wydaje się mniej prawdopodobna. Przedstawione treści nie wyczerpują możliwości stosowania analizy izotopomerowej w identyfikacji pasm jonów dwudodatnich. Obecnie nie można określić granicy zastosowań badawczych tej metody. W najbliższej przyszłości podjęte zostaną prace nad genezą pasm jonów dwudodatnich a także ich występowaniem w widmach ftalocyjanin, porfiryn i ich kompleksów.
- Izotopomerowa struktura pasma jonu masowego była także podstawą opracowania sposobu wyszukiwania sygnałów potencjalnie najbardziej istotnych dla interpretacji widma mas. Metoda analizy profilu pasma (Cluster Profile Analysis – CPA) wydaje się być niezbędna, zwłaszcza w przypadku rozbudowanych widm związków metaloorganicznych i koordynacyjnych. Uwzględnienie zmiennej szerokości pasma powoduje, że jest ona lepiej dopasowana do charakteru widma niż stosowana dotąd metoda Billera-Biemanna. Proponowany sposób upraszczania widm masowych jest w szczególnym stopniu przeznaczony do przetwarzania bardzo złożonych widm, w których obserwuje się obecność szerokich pasm. Procedurę sprawdzono na widmach EI. Rozszerzenie zakresu metod jonizacji może być zadaniem perspektywnym pod warunkiem, że będzie możliwy dostęp do właściwych baz widmowych lub uda się zgromadzić odpowiednie widma eksperymentalne. Można przypuszczać, że będzie przydatna także w interpretacji widm ESI, MALDI, FAB lub podobnych, choć fakt ten wymaga jeszcze weryfikacji.

Opracowana metoda analizy widm masowych wykorzystująca analizę składu izotopomerowego jonu i weryfikację hipotezy składu jonu wydaje się być nowym, wartościowym narzędziem wspomagającym interpretację widm mas. Określono i przetestowano niektóre jej zastosowania, lecz możliwości aplikacyjne MMIP nie zostały wyczerpane i można oczekiwać, że nadal program i jego aktualne oraz przyszłe modyfikacje będą cennymi narzędziami, które w kontrolowany sposób pozwolą na interpretację widm mas.

Metody jonizacji spektrometrii mas tak rozwinęły się do dziś, że jest możliwe stało się wykonanie widma wielu nietrwałych związków. Jednocześnie

potęgująca się złożoność widm masowych stwarza istotne trudności interpretacyjne. Pomimo tego naukowcy-praktycy, wykorzystujący w swoich pracach identyfikację związków na podstawie spektrometrii mas (w odróżnieniu od programistów i konstruktorów), są mało zainteresowani szczegółami aparatu matematycznego, stosowanego do przewidywania i wyjaśniania budowy pasm jonów. Izotopomerowa metoda interpretacji widm masowych może być cennym narzędziem we współczesnej spektrometrii. Należy oczekiwać, że uwzględnienie problemu izotopomerów i analizy izotopomerowej w encyklopedii spektrometrii mas będzie istotnym krokiem popularyzacji tej metody.

Modelowanie pasma izotopomerowego należy traktować jako otwarcie nowej drogi analizy widm masowych poprawiającej efektywność badań spektroskopowych. Na podstawie wybranych sygnałów tworzy się hipotezę dotyczącą wzoru sumarycznego jonu molekularnego lub jonów fragmentacyjnych. Weryfikacji dokonuje się na podstawie pozostałych pików widma, których obecność jest związana z występowaniem izotopomerów badanych związków. Zasadniczą jej zaletą jest fakt, że nie generuje konieczności komplikacji konstrukcji spektrometru, ponieważ wszystkie potrzebne dane są zawarte w typowym niskorozdzielczym widmie masowym. Za pomocą standardowego spektrometru mas można otrzymać znacznie więcej informacji analitycznych niż wykorzystuje się obecnie. Istotą proponowanego rozwiązania jest znaczący postęp w sposobach przetwarzania widma. Rozwój konstrukcji generuje zwiększone koszty aparatury, często też prowadzi do znacznego podwyższenia kosztów eksploatacji. Stosując rozwiązania oparte na modelowaniu pasma izotopomerowego zwiększa się rolę operatora i jego cech intelektualnych. Koszt przetwarzania wyników jest relatywnie bardzo niski, co winno sprzyjać renesansowi spektrometrii mas, jako precyzyjnej i wartościowej metody analizy instrumentalnej. Pomimo iż bazy widm masowych zawierają charakterystyki setek tysięcy związków, wiele informacji obejmuje jedynie kilka pojedynczych sygnałów, co było związane z oprogramowaniem przeszukującym biblioteki widm w celu identyfikacji widm doświadczalnych lub wydawanych atlasów widm masowych. Tak przetworzone widma są nieprzydatne do analizy izotopomerowej. Szersze badania, wykorzystujące nowo zarejestrowane nieupraszczane widma, pozwolą na znalezienie relacji pomiędzy strukturami związków metaloorganicznych i koordynacyjnych a ich widmami masowymi.

Metoda modelowania pasma izotopomerowego jest nowym sposobem interpretacji widma masowego. Niektóre zastosowania tej metody zaprezentowano w pracy, lecz lista możliwości jest nadal otwarta. Stosowanie metody nie rodzi dodatkowych, istotnych kosztów, ponieważ dotyczy ono rozwoju oprogramowania, które jest relatywnie tańsze niż wprowadzanie zmian konstrukcyjnych aparatury spektrometrycznej.

Terminy stosowane w pracy*

	literatura
(Elem)₁ – pojedynczy pierwiastek poliizotopowy występujący w cząsteczce	[38, 51]
(Elem)_n – agregat pierwiastka poliizotopowego zawierający <i>n</i> atomów w cząsteczce	[38, 51]
ΔLAPIC – przedstawia różnicę w <i>m/z</i> pomiędzy wartościami dwóch sąsiednich agregatów	[38, 51]
(Org) – agregat „organiczny” – część składowa cząsteczki związku stanowiąca fragment organiczny jego struktury (złożona z C, H, N, O)	[51]
addukt jonowy (M+H)⁺, MH⁺ jon powstający w wyniku protonowania cząsteczki związku	[20g]
aglomerat = agregat – zespół kilku lub więcej atomów tego samego pierwiastka	[38, 51]
analiza izotopomerowa jonów dwudodatnich – D-CIIA – (Doubly-Charged Ion Isotopomeric Analysis) – detekcja i interpretacja pasma jonu dwudodatniego w widmie mas	
centroid – centrum masy pasma, przedstawia pik (izotopomerowy) reprezentatywny dla jonu, pik odpowiadający średniej masie jonu	[20h]
cząsteczka deprotonowana – jon utworzony w fazie gazowej lub roztworze w wyniku deprotonowania cząsteczki (M-H)⁺, (M-1)⁺	[20i]
CPA – Cluster Profile Analysis – metoda analizy profilu pasma, służąca do uproszczenia widma	[48]
cząsteczka protonowana – addukt powstały w wyniku rekombinacji cząsteczki i protonu (M+H)⁺, (M+1)⁺	[38]
defekt masy – różnica pomiędzy dokładną masą atomu (cząsteczki/jonu) a jego całkowitą masą	[20j]
dehydrogenacja – proces polegający na przesunięciu klastra izotopomerowego o 1÷3 u w kierunku mniejszych wartości <i>m/z</i> , zapewne może być związany z eliminacją H, H ₂ lub (H ₂ + H)	[102, 150]
dekonwolucja – separacja, (rozdzielenie) widma (pasma) złożonego z kilku składników	[20k]
doświadczalny wektor widma – wektorowa postać doświadczalnego widma mas	[56]
D-CIIA – (Doubly-Charged Ion Isotopomeric Analysis) – analiza izotopomerowa jonów dwudodatnich – detekcja i interpretacja pasma jonu dwudodatniego w widmie mas	

* Terminy, które nie mają odnośników literaturowych, nie zostały ujęte w zaleceniach ASMS czy IUPAC i zostały użyte po raz pierwszy w tej pracy.

- heteroizotopomery** – izotopomery zawierające więcej niż jeden pierwiastek o zróżnicowanym składzie izotopowym (PIE)
- homoizotopomery** – izotopomery zawierające jeden pierwiastek o zróżnicowanym składzie izotopowym (PIE)
- ICF (Isotopic Correction Factor)** – współczynnik korekcyjny [51]
izotopowości, poprawka określająca przesunięcie pików głównego agregatu monoelementarnego w stosunku do położenia wynikającego z masy dominującego izotopu (obliczany jako liczba całkowita)
- izotopologi** – związki o tym samym składzie pierwiastkowym i tej samej budowie, lecz różniące się składem izotopowym, np. CH_3NH_2 , CH_3NHD , $^{13}\text{CH}_3\text{NH}_2$ i $\text{CH}_3^{15}\text{NH}_2$ lub CH_4 , CH_3D , CH_2D_2 , CHD_3 , CD_4 ; aktualnie częściej nazywane izotopomerami masy (*Isotopologue – A molecular entity that differs only in isotopic composition (number of isotopic substitutions), e.g. CH_4 , CH_3D , CH_2D_2*) [24, 54, 236]
- izotopomery** – związki chemiczne o tym samym składzie pierwiastkowym, różniące się od siebie składem izotopowym lub układem izotopowym tworzących je pierwiastków; aktualnie częściej nazywane izotopomerami położenia. (*Isotopomer – Isomers having the same number of each isotopic atom but differing in their positions. The term is a contraction of "isotopic isomer". Isotopomers can be either constitutional isomers (e.g. $\text{CH}_2\text{DCH}=\text{O}$ and $\text{CH}_3\text{CD}=\text{O}$) or isotopic stereoisomers [e.g. (R)- and (S)- CH_3CHDOH or (Z)- and (E)- $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHD}$].)*) [24, 54, 236]
- izotopomery** – 1. związki chemiczne różniące się liczbą izotopu jednego z tworzących je pierwiastków [20j]
2. analogi wzbogacone izotopowo
- izotopomery masy** – związki chemiczne o tym samym składzie pierwiastkowym, różniące się od siebie wyłącznie składem izotopowym tworzących je pierwiastków; obecność izotopomerów masy obserwuje się zarówno w widmach niskiej, jak i wysokiej rozdzielczości [38]
- izotopomery naturalne** – związki naturalne, bądź powstające (mimochemem) w trakcie syntezy związków z surowców zawierających izotopy naturalne (przeważnie trwałe, nie promieniotwórcze) w ilościach określonych naturalną abundancją izotopów pierwiastków; możliwe są wszystkie typy izotopomerów, a ich rozkład można przewidzieć opierając się na naturalnym rozkładzie izotopów

- izotopomery położenia** – związki chemiczne o tym samym składzie pierwiastkowym i izotopowym, różniące się od siebie wyłącznie położeniem określonego izotopu pierwiastka w cząsteczce; obecności izotopomerów położenia nie daje się zaobserwować ani w widmach niskiej ani wysokiej rozdzielczości [38]
- izotopomery położenia i masy** – związki chemiczne o tym samym składzie pierwiastkowym, różniące się od siebie zarówno położeniem izotopu, jak i składem izotopowym (masą związku); obecność izotopomerów położenia i masy winna być brana pod uwagę w widmach niskiej rozdzielczości
- izotopomery sztuczne** – związki do specjalnych celów, syntetyczne, wzbogacone w sposób zamierzony w ciężkie izotopy naturalne (związki znaczone rzadkimi izotopami naturalnymi, np. ^{18}O , deuterowane) lub znaczone izotopami promieniotwórczymi; w tej grupie występują jedynie niektóre rodzaje izotopomerów; rozkład izotopomerów nie jest możliwy do przewidzenia, bo nie wiąże się z naturalnym rozkładem izotopów, ale daje się prognozować na podstawie znajomości mechanizmów i kinetyki reakcji wzbogacania
- izotopowy jon molekularny** – jon molekularny zawierający co najmniej jeden naturalny izotop (nie dominant) [20l]
- jon (klaster lub pasmo) „niskomasowy”** – jon (lub jego obraz) położony w obszarze $m/z < M/2$ widma mas
- jon (klaster lub pasmo) „wysokomasowy”** – jon (lub jego obraz) położony w obszarze $M/2 < m/z < M$ widma mas
- jon dwudodatni** – jon masowy o ładunku $z = +2$
- jon dwunaładowany** – jon o ładunku $z = \pm 2$ [20m]
- jon izotopowy** – jon zawierający co najmniej jeden naturalny izotop (nie dominant) [20l]
- jon jednonaładowany** – jon o ładunku $z = \pm 1$ [20l]
- jon klasterowy** – jon powstały z produktu połączenia siłami niekwalencyjnymi dwóch lub więcej cząsteczek, zwykle w fazie gazowej [20i]
- jon molekularny** – jon powstały z cząsteczki w wyniku odłączenia elektronu M^+ lub poprzez przyłączenie elektronu M^- [20n]
- jon monoizotopowy** – jon składający się z dominujących izotopów naturalnych
- jon multinaładowany (jon wielonaładowany)** – jon o ładunku $|z| > 1$ [20m]
- jon pseudomolekularny** – termin niezalecany – addukt molekularny, jon molekularny, którego pasmo tworzy kilka nakładających się jonów o zbliżonych składach [20m]

- jon quasi-molekularny** – termin niezalecany – addukt molekularny, jon molekularny, którego pasmo tworzy kilka nakładających się jonów o zbliżonych składach [20m]
- jon rodnikowy, jon nieparzysto elektronowy** – określenie jonu posiadającego niesparowany elektron, np. M^+ [20o]
- klaster izotopowy** – grupa pików reprezentujących jony o tym samym składzie pierwiastkowym, lecz różniące się składem izotopowym [20p]
- klaster teoretyczny** – wyliczony na podstawie hipotezy wzoru jonu opierając się na zawartości izotopów naturalnych
- klaster wypadkowy** – pasmo będące sumą kilku nakładających się całkowicie lub częściowo klastrów, np. w wyniku dehydrogenacji
- kongenery** – związki o takiej samej budowie, zbudowane z takich samych pierwiastków, lecz różniące się składem; izotopolog jest właściwie kongerem izotopowym [20q]
- kongenery izotopowe** – związki o takiej samej budowie i takim samym składzie pierwiastkowym, lecz różniące się składem izotopowym (izotopologi)
- LAPIC (Location of the most Abundant Peak of Isotopic Cluster)** – położenie głównego pików pasma izotopomerowego (oznacza położenie m/z sygnału o największej intensywności w rozpatrywanym paśmie “centroidalnym” aglomeratu) [38, 51]
- m/z** – poprawna nazwa osi odciętych w widmie mas [20l]
- masa monoizotopowa** – masa odpowiadająca jonowi składającemu się z najczęściej występujących izotopów każdego z pierwiastków tworzących jon, z uwzględnieniem defektu masy [20r, 54]
- masa najbardziej prawdopodobna (Most abundant mass)** – 1. masa reprezentowana przez pik o największej intensywności w paśmie (neologizm nie do przyjęcia); 2. oznacza masę pasma jonu obliczoną wykorzystując izotopy naturalne [20r, 54, 237]
- masa nominalna** – masa jonu obliczona na podstawie masy głównego izotopu każdego z pierwiastków tworzących ten jon, z pominięciem defektu masy [20s, 237]
- masa średnia** – masa obliczona za pomocą średnich mas pierwiastków [54, 238]
- metoda Biemannia dopasowania pasma** – sposób porównywania widm masowych lub klastrów jonów [90]
- metoda Biemannia eliminacji** – metoda upraszczania widma masowego polegająca na selekcji 2 pików o największej intensywności z każdego przedziału widma o szerokości 14 u [20t]
- metoda profilu stopnia** – metoda upraszczania polegająca na podziale widma masowego na subklastry o zmiennej szerokości [49]

- MMIP (Multiisotopic Modeling of Isotopomeric Pattern)** – [55, 102]
multiizotopowe modelowanie pasma izotopomerowego – sposób modelowania pasma jonu na podstawie wzoru sumarycznego i rozpowszechnienia izotopów naturalnych
- model dehydrogenacyjny** – klaster modelowy wyliczony na podstawie hipotezy składu pasma złożonego (np. pseudomolekularnego złożonego z klastrów **M**, **(M-H)** i **(M-2H)** [150]
- model nisko rozdzielczy pasma** – model pasma izotopomerowego jonu, w którym położenia pików określono z jednostkową dokładnością
- model pasma dokładnej masy** – model pasma izotopomerowego jonu, w którym położenia pików określono z dokładnością przynajmniej 0,0001 u w oparciu o wartości defektów masy nuklidów
- modelowy wektor widma (Model Spectrum Vector – MSV)** – [56]
wektorowa postać obliczonego teoretycznie widma mas
- monoizotopomery** – izotopomery zawierające jeden atom pierwiastka o zróżnicowanym składzie izotopowym
- MSV (Model Spectrum Vector)** – modelowy wektor widma – [56]
wektorowa postać widma masowego obliczonego teoretycznie po dokonaniu normalizacji
- multiizotopowe modelowanie pasma izotopomerowego** – [55, 102]
MMIP (Multiisotopic Modeling of Isotopomeric Pattern) – sposób modelowania pasma jonu na podstawie wzoru sumarycznego i rozpowszechnienia izotopów naturalnych
- najczęściej obserwowana masa** – oznacza masę jonu wyznaczoną na podstawie rozpowszechnienia naturalnych izotopów pierwiastków [54, 239]
- naturalna abundancja izotopowa** – rozpowszechnienie w przyrodzie trwałych izotopów pierwiastka
- NPV – (Normalized Pattern Vector)** – znormalizowany wektor pasma – wektorowa postać pasma jonu masowego obliczonego teoretycznie po normalizacji intensywności pasma doświadczalnego [56]
- pasmo centroidalne (Centroid cluster)** – rozbudowane pasmo izotopomerowe jonu, zawierające szereg pików Yerger [54]
- pasmo fragmentacyjne** – efekt rozpadu jonu prekursora [20u]
- pasmo, klaster, zespół pików** – część widma, wyraźnie oddzielona od pozostałych części widma (dolina = 0%), zawierająca szereg sygnałów, zwykle odległych od siebie o 1 lub 2 u (m/z); w materiałach obcojęzycznych stosowane są określenia angielskie „pattern”, „cluster” czy „band”. [51, 56]

- pasmo modelowe** – klaster wyliczony na podstawie hipotezy składu pasma złożonego, np. pseudo-molekularnego, złożonego z klasterów M, (M-H) i (M-2H) lub kilku różnych pasm o zbliżonych położeniach
- pasmo niskiej rozdzielczości** – pasmo, którego sygnały są przypisane całkowitym wartościom m/z, a położenia pików nie uwzględniają defektu masy
- pasmo przetworzone** – pasmo powstałe przez przekształcenie (dzielenie lub dublowanie) klastera doświadczalnego lub teoretycznego
- pasmo quasi-fragmentacyjne (pseudo-fragmentacyjne)** – pasmo złożone z kilku klasterów jonów fragmentacyjnych, tj. pasmo jonu fragmentacyjnego zakłócone obecnością klastera innego jonu o bardzo zbliżonej masie (powstałego w wyniku np. dehydrogenacji lub równoległych dróg fragmentacji); *termin niezalecany przez Sparkmana*
- pasmo quasi-molekularne (pseudo-molekularne)** – złożony [219a]
klaster położony w obszarze pasma molekularnego widma, lecz różniący się od pasma teoretycznego obliczonego na podstawie wzoru związku i rozpowszechnienia izotopów naturalnych; jest to pasmo jonu molekularnego zakłócone obecnością klastera innego jonu o bardzo zbliżonej masie (powstałego w wyniku np. dehydrogenacji); *termin niezalecany przez Sparkmana*
- pasmo wysokiej rozdzielczości** – klaster zarejestrowany w warunkach wysokiej rozdzielczości (lub odnoszący się do nich); położenie pików jest określone z uwzględnieniem defektu masy
- pasmo zdehydrogenowane** – klaster odpowiadający jonom (M-H) [150]
lub (M-2H) albo (M-3H), powstałych w wyniku reakcji:

$$M^{*+} \rightarrow (M - H)^{*+} + H, \quad M^{*+} \rightarrow (M - 2H)^{*+} + H_2$$
lub
$$M^{*+} \rightarrow (M - 3H)^{*+} + H^{\bullet} + H_2$$
- PIE – Poly-isotopic element** – pierwiastek poliizotopowy – pierwiastek występujący w przyrodzie w postaci dwu lub więcej izotopów naturalnych (w odróżnieniu od pierwiastków monoizotopowych) [33]
- pierwiastek monoizotopowy** – pierwiastek występujący w przyrodzie w postaci jednego izotopu [20v]
- pierwiastek poliizotopowy (PIE)** – pierwiastek występujący [33]
w przyrodzie w postaci dwu lub więcej izotopów naturalnych (w odróżnieniu od pierwiastków monoizotopowych)
- pierwiastek X** – pierwiastek monoizotopowy [20v]

- pierwiastek X + 1** – pierwiastek występujący w postaci dwóch izotopów różniących się masami o 1 u [20v]
- pierwiastek X + 2** – pierwiastek występujący w postaci dwóch izotopów różniących się masami o 2 u [20v]
- pik główny klastra** – pik o największej intensywności w paśmie
- pik izotopowy** – pik odnoszący się do jonu, w którym choć jeden z atomów nie jest izotopem dominującym pierwiastka [20w]
- pik jonu molekularnego** – pik reprezentujący jon o takim samym składzie i budowie, co obojętna cząsteczka związku [240]
- pik monoizotopowy** – pik przedstawiający jon złożony wyłącznie z dominujących izotopów pierwiastków [240]
- poli-heteroizotopomery** – izotopomery zawierające co najmniej po jednym atomie każdego występujących w cząsteczce pierwiastków o zróżnicowanym składzie izotopowym
- poliizotopomery** – izotopomery zawierające więcej niż jeden atom pierwiastka o zróżnicowanym składzie izotopowym
- położenie głównego piku pasma izotopomerowego – LAPIC (Location of the most Abundant Peak of Isotopic Cluster)** – położenie (m/z) sygnału o największej intensywności w rozpatrywanym paśmie “centroidalnym” aglomeratu [40, 51]
- pozorny jon molekularny** – termin niezalecany – addukt molekularny, jon molekularny, którego pasmo tworzy kilka nakładających się jonów o zbliżonych składach [20m]
- prekursor, jon prekursora** – określenie zalecane zamiast – jon/związek „macierzysty” [20x]
- produkt, jon produktu** – termin zalecany do stosowania zamiast „jon pochodny” [20x]
- reguła azotu** – związek organiczny lub jon nieparzysto elektronowy o nieparzystej masie, zawiera w cząsteczce nieparzystą liczbę atomów azotu [20r]
- rozpad symetryczny względem masy** – fragmentacja jonu na dwie części o różnych składach i zbliżonych masach, co powoduje nałożenie się ich pasm; rozkład symetryczny względem masy nie musi być symetryczny względem składu
- rozpad symetryczny względem składu** – fragmentacja jonu na dwie części o jednakowych (niemal jednakowych) składach; zbliżone masy powodują nakładanie się ich pasm. Rozkład symetryczny względem składu jest symetryczny względem masy
- struktura grzebieniowa pasma** – przemienne występowanie sygnałów intensywnych i słabych spowodowane obecnością w cząsteczce pierwiastka X + 2 [55]
- skład pierwiastkowy** – zalecany zamiast wzoru doświadczalnego [20u]

- skład izotopomerowy jonu** – złożona mieszanina izotopomerów położenia, izotopomerów masy i izotopomerów masy oraz położenia, której obrazem jest pasmo jonu mas
- skład izotopowy jonu** – określenie wiązane (niesłusznie) z pasmem jonu mas, a odpowiednie w przypadku np. kationu metalu
- subklaster, subpasmo** – w widmie wysokiej rozdzielczości jest to wyraźnie oddzielona część widma zawierająca kilka sygnałów położonych w zakresie $\pm 0,05$ u [50]
- sumaryczny wektor pasma** – teoretyczne widmo masowe zestawione z obliczonych klasterów jonów fragmentacyjnych, przed normalizacją [56]
- szerokość pasma izotopomerowego – WIC (Width of Isotopic Cluster)** – zakres m/z dzielący położenia początkowego i końcowego pików pasma [40, 55]
- średnia masa** – (average mass) masa obliczona na podstawie średnich mas pierwiastków; określa położenie „centroidu” rozkładu [54, 238]
- Th (thomson)** – jednostka m/z zaproponowana przez Crooksa i Rockwooda w 1991 r. [20y]
- u (unit)** – jednostka masy $1/12$ ^{12}C , jedyna zalecana jednostka do stosowania w spektrometrii mas [20z]
- wariancja modelowa** – parametr określający podobieństwo pasma doświadczalnego i klastra obliczonego jako złożony model [56]
- wariancja teoretyczna** – parametr charakteryzujący podobieństwo pasma doświadczalnego i klastra obliczonego teoretycznie [56]
- wartość oczekiwana położenia głównego pików pasma** – wartość wyliczona na podstawie mas dominujących izotopów, bez uwzględnienia defektu masy
- wektor dublowany** – klaster przekształcony, wywodzący się z pasma położonego w obszarze $m/z < M/2$, sygnały zostały rozsunęte ($m_i \Rightarrow 2m_i$) i zajmują parzyste wartości m/z , brak pików przy nieparzystych m/z , wektor został przesunięty w obszar $m/z > M/2$
- wektor połowiony** – klaster przekształcony, wywodzący się z pasma położonego w obszarze $m/z > M/2$, sygnały położone przy nieparzystych wartościach m/z usunięto, pozostałe ściętniono ($m_i \Rightarrow m_i/2$)
- WIC (Width of Isotopic Cluster)** – szerokość pasma izotopomerowego – zakres m/z dzielący położenia początkowego i końcowego pików pasma [40, 55]
- widmo masowe niskiej rozdzielczości** – widmo mas, w którym położenia pików są określone z dokładnością co najwyżej 0,1 u

- widmo masowe wysokiej rozdzielczości** – widmo mas, w którym położenia pików są określone co najmniej z dokładnością do 10^{-4} u
- widmo monoizotopowe** – widmo, którego piki odnoszą się wyłącznie do jonów utworzonych przez dominujące izotopy pierwiastków [240]
- współczynnik dopasowania** – parametr określający stopień zgodności klastra eksperymentalnego i obliczonego, złożonego pasma modelowego [55]
- współczynnik korekcyjny izotopowości, ICF (Isotopic Correction Factor)** – poprawka określająca przesunięcie pików głównego agregatu monoelementarnego w stosunku do położenia wynikającego z masy dominującego izotopu (obliczany jako liczba całkowita) [51]
- znormalizowany wektor pasma (Normalized Pattern Vector – NPV)** – wektorowa postać pasma jonu masowego obliczonego teoretycznie po normalizacji intensywności pasma doświadczalnego [56]

Podstawą stosowanej terminologii były zalecenia American Chemical Society for Mass Spectrometry stosowane w Encyclopedia of Mass Spectrometry vol. I–X (Elsevier) oraz zawarte w podstawowym aktualnie (wg ASC-MS) opracowaniu terminologii spektrometrii mas jakim jest

Sparkman David O., Mass spec desk reference, Global View Publ., II ed., Pittsburgh 2005.

Oprócz wymienionej pozycji w pracy wykorzystywano także zalecenia IUPAC zawarte w następujących źródłach:

Freiser H., Nancollas G.H., Compendium of analytical nomenclature, Blackwell Sci. Publ., Oxford, II Ed., 1987, IUPAC Orange book.

Todd J.F.J., Recommendations for nomenclature and symbolism for mass spectroscopy, Pure Appl.Chem, 63, 1991, 1541-1560, IUPAC.

Biemann K., Tandem mass spectrometry for organic trace analysis, Pure Appl.Chem, 65, 1993, 1021, IUPAC technical report.

Mills I., Cvitas T., Homann K., Kallay N., Kuchitsu K., – Quantities, units and symbols in physical chemistry, Blackwell Sci.Publ. Oxford, NY, 1993, IUPAC Green Book.

Inczedy J., Lengyel T., Ure A.M., Gelentser A., Hulanicki A., Compendium of analytical nomenclature, definitive rules 1997, Ch. 12. Mass spectroscopy, 1997, IUPAC Orange Book.

McNaught A.D., Wilkinson A., – Compendium of Chemical Terminology, II Ed., Blackwell Science, 1997, IUPAC Gold Book .

IUPAC Mass Spectrometry Nomenclature, Trent University, Institute For Mass Spectrometry, <http://www.trentu.ca/academic/tuims/MSTERMS.htm>

Modeling of isotopomeric clusters in the mass spectra interpretation – the method and applications

Summary

A common mass spectrum consists of numerous peaks, which can be classified in four classes:

- peaks important for interpretation, which define fragmentation ways,
- other peaks with low interpretation values derived from molecule destruction,
- “isotopic” peaks, derived from natural isotopes of elements,
- background peaks.

The relative peak intensities of an ionic cluster may be calculated from the ionic or molecular formula and the isotopic abundance ratios of the constituents elements. This calculations entails successive expansion of polynomials in which each polynomial represents one element of the formula. The natural abundance of each element is given by a polynomial representation in which the exponent is equal to the number of atoms of that element in formula.

Overlapping of molecular cluster and patterns associate with hydrogen loss processes. Since these reactions generate bands located practically within the same range as common molecular patterns, the molecular cluster can be seriously disturbed after mass spectrum normalization.

The presented modeling method is a simple aid for mass spectra interpretation and determined values of suitable (M-H) and (M-2H) bands must be verified. The method cannot judge whether or not the dehydrogenation processes actually takes place during mass spectroscopic investigation of analyzed compounds. However, good agreement between model and experimental data suggests that the hydrogen losses can explain the experimental data and therefore they should be considered in spectrum interpretation.

The method can be effectively applied for fragmentation ion clusters also. In this case a complete elimination of background signals is necessary and the investigated area must be free of anything other than examined ions.

The modeling of mass spectra by application of multi-isotopomeric predictions is a simple and effective tool for verification of a fragmentation hypothesis shown in the fragmentation ions data table. The procedure can be helpful for detection of errors in published mass spectra also:

- position isotopomers characterized by the same isotopic content but different positioning of the isotope labels in a molecule,
- mass isotopomers – isotopic isomers that are grouped by nominal mass rather than isotopic composition.

An isotopomer pattern can give valuable information about the composition of an ion and its molecular precursor. An understanding of the isotopomer pattern facilitates a more effective interpretation of a mass spectrum.

When discussing about organometallic and coordination compounds the formula of the compound is the sum of two parts: the polyisotopic elements aggregate and an organic one:

$$\text{Compound} = \text{PIE}_x + \text{Org}_x$$

The “finger-prints” of polyisotopic elements is easily calculated by presented modeling method, and the organic aggregate contributed less. The important part of the isotopomer cluster is the polyisotopic component.

The modeling of isotopomeric pattern of mass spectra can be sophisticated. The method are comprehensible an aid in interpretation of spectra. The problem of calculating isotopomer patterns is of interest from theoretical point of view, and can be attacked from angles other than those described in this paper.

The coincidence of different fragmentation pathways, the existence of multiply charged ions, background level etc. can contribute problems in the mass spectra interpretation. The method of isotopomeric mass spectral pattern modeling can be applied as useful solution for detection of symmetrical decomposition of a molecule as well as for occurrence of the doubly charged ion. The complex character of the cluster does not perturb determination of the components of the investigated pattern.

The method described s based on modeling of the isotopomeric form of single- and double-charged mass ion clusters. The generation of the double-charged isotopomeric patterns of high- as well low-resolution spectra. Predicting the high-resolution mass cluster is simpler than calculations of the low-resolution one. The high-resolution pattern may represent the initial form of low-resolution formation.

Uzupełnienie

Tabela 1A. Rozpowszechnienie w przyrodzie naturalnych izotopów pierwiastków [30, 66]

Izo- top		%	%	%	Izo- top		%	%	%			
1	H	99,985			52				Cr 83,789			
2	H	0,015			53				Cr 9,501			
3			He	0,000137	61				Ni 1,140			
4			He	99,999863	62				Ni 3,634			
5					63	Cu	69,17					
6				Li	7,5	64		Zn	48,6	Ni	0,926	
7				Li	92,5	65	Cu	30,83				
8						66		Zn	27,9			
9	Be	100			67			Zn	4,1			
10			B	19,9	68			Zn	18,8			
11			B	80,1	69					Ga	60,108	
12				C	98,90	70	Ge	21,23	Zn	0,6		
13				C	1,10	71					Ga	39,892
14	N	99,643			72	Ge	27,66					
15	N	0,366			73	Ge	7,73					
16			O	99,762	74	Ge	35,94	Se	0,89			
17			O	0,038	75					As	100	
18			O	0,200	76	Ge	7,44	Se	9,36			
19				F	100	77		Se	7,63			
20	Ne	90,48			78	Kr	0,35	Se	23,78			
21	Ne	0,27			79					Br	50,69	
22	Ne	9,25			80	Kr	2,25	Se	49,61			
23			Na	100	81					Br	49,31	
24				Mg	78,99	82	Kr	11,6	Se	8,73		
25				Mg	10,00	83	Kr	11,5				
26				Mg	11,01	84	Kr	57,0	Sr	0,56		
27	Al	100			85					Rb	72,165	
28			Si	92,23	86	Kr	17,3	Sr	9,86			
29			Si	4,67	87			Sr	7,00	Rb	27,835	
30			Si	3,10	88			Sr	82,58			
31				P	100	89				Y	100	
32	S	95,02			90	Zr	51,45					
33	S	0,75			91	Zr	11,22					
34	S	4,21			92	Zr	17,15	Mo	14,84			
35			Cl	75,77	93					Nb	100	
36	S	0,02		Ar	0,337	94	Zr	17,38	Mo	9,25		
37			Cl	24,23	95			Mo	15,92			
38				Ar	0,063	96	Zr	2,80	Mo	16,68	Ru	5,52
39	K	93,2581			97			Mo	9,55			
40	K	0,0117	Ca	96,941	98			Mo	24,13	Ru	1,88	
41	K	6,7302		Ar	99,600	99				Ru	12,7	
42			Ca	0,647	100			Mo	9,63	Ru	12,6	
43			Ca	0,135	101					Ru	17,0	
44			Ca	2,086	102	Pd	1,02			Ru	31,6	
45				Sc	100	103		Rh	100			
46	Ti	8,0	Ca	0,004	104	Pd	11,14			Ru	18,7	
47	Ti	7,3			105	Pd	22,33					
48	Ti	73,8	Ca	0,187	106	Pd	27,33	Cd	1,25			
49	Ti	5,5			107					Ag	51,839	
50	Ti	5,4	V	0,250	108	Pd	26,46	Cd	0,89			
51				Cr	4,345	109				Ag	48,161	

110	Pd	11,72	Cd	12,49				160	Gd	21,86	Dy	2,34			
111				Cd	12,80			161			Dy	18,9			
112	Sn	0,97		Cd	24,13			162	Er	0,14	Dy	25,5			
113				Cd	12,22	In	4,3	163			Dy	24,9			
121						Sb	57,36	164	Er	1,61	Dy	28,2			
122	Sn	4,63	Te	2,603				165					Ho	100	
123			Te	0,908	Sb	42,64		166	Er	33,6					
124	Sn	5,79	Te	4,816	Xe	0,10		167	Er	22,95					
125			Te	7,139				168	Er	26,8	Yb	0,13			
126			Te	18,95	Xe	0,09		169						Tm	100
127	I	100						170	Er	14,9	Yb	3,05			
128			Te	31,69	Xe	1,91		171			Yb	14,3			
129					Xe	26,4		172			Yb	21,9			
130	Ba	0,106	Te	33,80	Xe	4,1		173			Yb	16,12			
131					Xe	21,2		181	Ta	99,988					
132	Ba	0,101			Xe	26,9		182			W	26,3			
133			Cs	100				183			W	14,3			
134	Ba	2,417			Xe	10,4		184	Os	0,02	W	30,67			
135	Ba	6,592						185					Re	37,40	
136	Ba	7,854	Ce	0,19	Xe	8,9		186	Os	1,58	W	28,6			
137	Ba	11,23						187	Os	1,6			Re	62,60	
138	Ba	71,70	Ce	0,25	La	0,0902		188	Os	13,3					
139					La	99,9098		189	Os	16,1					
140			Ce	88,48				190	Os	26,4				Pt	0,01
141					Pr	100		191			Ir	37,3			
142	Nd	27,13	Ce	11,08				192	Os	41,0				Pt	0,79
143	Nd	12,18						193			Ir	62,7			
144	Nd	23,80	Sm	3,1				194						Pt	32,9
145	Nd	8,30						195						Pt	33,8
146	Nd	17,19						196	Hg	0,15				Pt	25,3
147			Sm	15,0				197			Au	100			
148	Nd	5,76	Sm	11,3				198	Hg	9,97				Pt	7,2
149			Sm	13,8				199	Hg	16,87					
150	Nd	5,64	Sm	7,4				200	Hg	23,10					
151								201	Hg	13,18					
152	Gd	0,20	Sm	26,7		Eu	47,8	202	Hg	29,86					
153						Eu	52,2	203						Tl	29,524
154	Gd	2,18	Sm	22,7				204	Hg	6,87	Pb	1,4			
155	Gd	14,80						205						Tl	70,476
156	Gd	20,47	Dy	0,06				206			Pb	24,1			
157	Gd	15,65						207			Pb	22,1			
158	Gd	24,84	Dy	0,10				208			Pb	52,4			
159					Tb	100		209	Bi	100					

Tabela 2A. Szerokość izotopowa pierwiastków występujących w kilku izotopach naturalnych (> 1%) [50]

Pierwiastek	Szerokość izotopowa	Pierwiastek	Szerokość izotopowa
Ag	3	Mg	3
B	2	Mo	9
Ba	5	Nd	9
Br	3	Ni	5
C	2	Os	7
Ca	5	Pb	5
Cd	11	Pd	9
Ce	3	Pt	5
Cl	3	Rb	3
Cr	5	Re	3
Cu	3	Ru	9
Dy	6	S	3
Er	5	Sb	3
Pierwiastek	Szerokość izotopowa	Pierwiastek	Szerokość izotopowa
Eu	3	Se	7
Fe	4	Si	3
Ga	3	Sm	11
Gd	7	Sn	13
Ge	7	Sr	3
Hf	5	Te	9
Hg	7	Ti	5
In	3	Tl	3
Ir	3	W	5
K	3	Xe	9
Kr	7	Yb	7
Li	2	Zn	5
Lu	2	Zr	7

Czym jest IZOTOPOMER? – Ben-Li ZHANG

Laboratoire d'Analyse Isotopique et Electrochimique de Métabolismes

CNRS UMR 6006, Université de Nantes

2, rue de la Houssinière, 44322 Nantes, FRANCE

e-mail: benli.zhang@chimbio.univ-nantes.fr

W literaturze definicja „izotopomeru” jest nie jasna. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) zaproponowało następujące definicje.

Zgodnie z zaleceniami IUPAC: **„izotopomer** – izomery mające taką samą liczbę każdego z atomów izotopowych, lecz różniące się ich położeniem. Określenie pochodzi od „**izotopowy izomer**”. Izotopomery mogą także być izomerami konstytucyjnymi (np. $\text{CH}_2\text{DCH}=\text{O}$ i $\text{CH}_3\text{CD}=\text{O}$) lub stereoizomerami izotopowymi [np. (R)- i (S)- CH_3CHDOH lub (Z)- i (E)- $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHD}$].

1994, 66, 1132; 1996, 68, 2211

IUPAC compendium of Chemical Terminology 2nd Edition (1997)”

IUPAC zdefiniowało także termin “izotopolog”:

“**isotopologue** – związki, które różnią się tylko składem izotopowym (liczbą podstawień izotopowych), np. CH₄, CH₃D, CH₂D₂.

1994, 66, 1132

IUPAC compendium of Chemical Terminology 2nd Edition (1997)”

komentarz do definicji zalecanych przez IUPAC:

1. Termin “izotopolog” jest mało komunikatywny – pomimo faktu, że choć wielu zna to słowo, to jednak poszukiwanie w Google wykazuje, że jest ono znacznie rzadziej używane niż mtermin ”izotopomer”.
2. Zaskoczenie budzi zjawisko, że w literaturze autorzy zwykle stosują słowo „izotopomer” w rozumieniu definicji „izotopolog” podawanej przez IUPAC
3. Niektóre związki są izotopomerami i izotopologami zarazem (np. ¹³CH₃OH and CH₃OD).
4. W przypadku pewnych związków np. CH₃OH, CH₂DOH i CH₃OD atomy izotopowe, z racji ich położenia różnią się właściwościami chemicznymi (nie homologicznie), co jest sprzeczne z definicją izotopologiczności.

PROPOZYCJA:

W celu uproszczenia terminologii określenie ”izotopolog” winno być wycofane, a termin “izotopomer” należy stosować w bardziej uniwersalnym znaczeniu:

„Izotopomery są cząsteczkami o takiej samej budowie i konfiguracji lecz różniące się podstawieniem izotopami. Podstawienie izotopami może różnić się co do:

- a. pierwiastków zastąpionych izotopami;
- b. izotopów występujących w cząsteczce;
- c. liczbą atomów izotopów;
- d. położeniem (miejscem) podstawienia;

Np. w przypadku metanolu CH₃OH, ¹³CH₃OH, ¹⁴CHD₂OH, CH₃¹⁸OH, CH₂DCOD, CH₃COD, CH₂DOH, (R)- i (S)-CHD₂OH,* itp. wszystkie związki są izotopomerami, wśród których można wyróżnić izotopomery składu (“composition isotopomers” - CH₃OH, ¹³CH₃OH, ¹⁴CHD₂OH, CH₃¹⁸OH, CH₂DCOD, CH₃COD, CHD₂OH) i izotopomery położenia (“position isotopomers” - CH₃COD i CH₂DOH; (R)- i (S)-CHD₂OH).

[* : C = ¹²C, O = ¹⁶O].

Autorem powyższej propozycji był Ben-Li Zhang

Laboratoire d'Analyse Isotopique et Electrochimique de Métabolismes

CNRS UMR 6006, Université de Nantes

2, rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France

e-mail: benli.zhang@chimbio.univ-nantes.fr

Propozycję tą przedstawiono na II Międzynarodowym Sympozjum Izotopomerów, ISI-2003, Stresa (Second International Symposium on Isotopomers, Stresa, Italy, Nov. 2003) i jest ona dostępna pod adresem :

http://www.sciences.univ-nantes.fr/laiem/FIM/fr/pp_blz/IUPACisotopom.pdf

Tabela 3A. Wartości defektów masy nuklidów izotopów naturalnych [66]

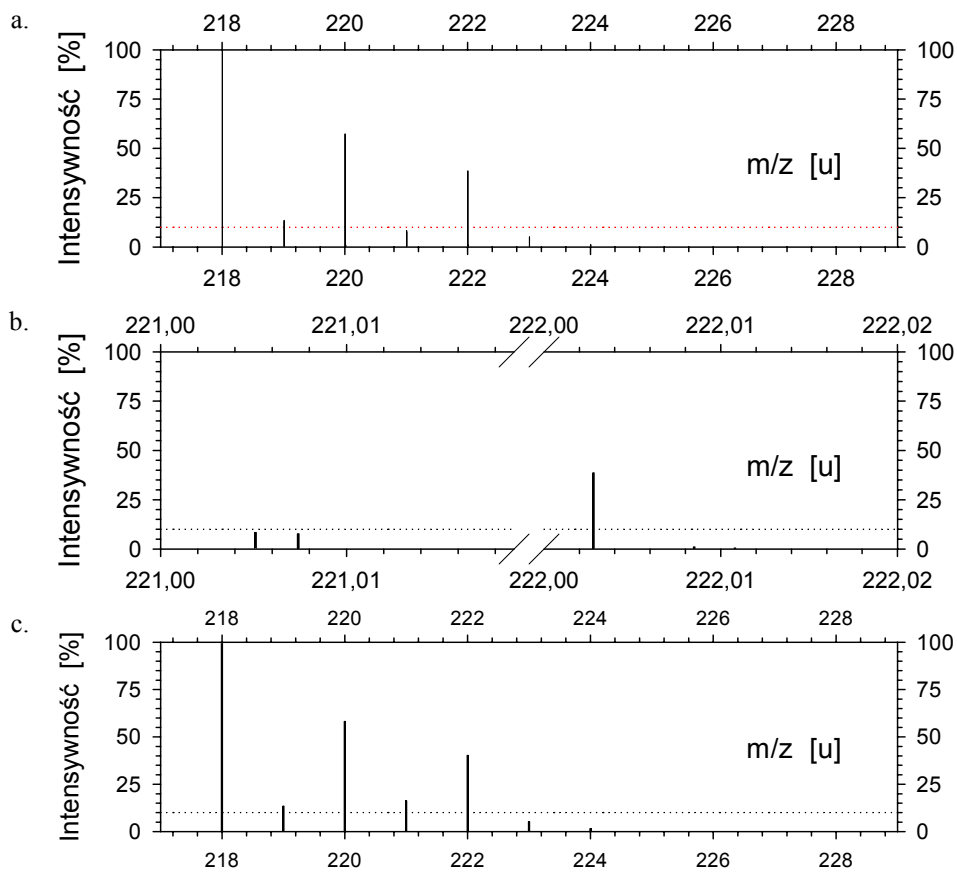
Izo-top	defekt masy	defekt masy	defekt masy	Izo-top	defekt masy	defekt masy	defekt masy
1	H 0,007825			51		V -0,05604	
2	H 0,0141			52			Cr -0,05949
3		He 0,01603		53			Cr -0,05935
4		He 0,0026		54	Fe -0,06039		Cr -0,06112
5				55		Mn -0,06195	
6			Li 0,015121	56	Fe -0,06506		
7			Li 0,016003	57	Fe -0,0646		
8				58	Fe -0,06672		Ni -0,06465
9	Be 0,012182			59	Co -0,0668		
10		B 0,012937		60			Ni -0,06921
11		B 0,009305		61			Ni -0,06894
12			C 0	62			Ni -0,07165
13			C 0,003355	63	Cu -0,0704		
14	N 0,003074			64		Zn -0,07086	Ni -0,07203
15	N 0,000108			65	Cu -0,07224		
16		O -0,00508		66		Zn -0,07397	
17		O -0,00087		67		Zn -0,07287	
18		O -0,00084		68		Zn -0,07515	
19			F -0,0016	69			Ga -0,07442
20	Ne -0,00756			70	Ge -0,07575	Zn -0,07467	
21	Ne -0,00606			71			Ga -0,0753
22	Ne -0,00874			72	Ge -0,07792		
23		Na -0,01023		73	Ge -0,07654		
24			Mg -0,01496	74	Ge -0,07882	Se -0,07752	
25			Mg -0,01416	75			As -0,07841
26			Mg -0,01741	76	Ge -0,0786	Se -0,08079	
27	Al -0,01846			77		Se -0,08009	
28		Si -0,02307		78	Kr -0,0796	Se -0,08269	
29		Si -0,02351		79			Br -0,08166
30		Si -0,02623		80	Kr -0,08362	Se -0,08348	
31			P -0,00624	81			Br -0,08371
32	S -0,02793			82	Kr -0,08652	Se -0,0833	
33	S -0,02854			83	Kr -0,08586		
34	S -0,03213			84	Kr -0,08849	Sr -0,08657	
35		Cl -0,03115		85			Rb -0,08821
36	S -0,03292		Ar -0,03245	86	Kr -0,08939	Sr -0,09073	
37		Cl -0,0341		87		Sr -0,09112	Rb -0,09081
38			Ar -0,03727	88		Sr -0,09438	
39	K -0,03629			89			Y -0,09415
40	K -0,036	Ca -0,03741	Ar -0,03762	90	Zr -0,0953		
41	K -0,03818			91	Zr -0,09436		
42		Ca -0,04138		92	Zr -0,09496	Mo -0,09319	
43		Ca -0,04123		93			Nb -0,09362
44		Ca -0,04452		94	Zr -0,09369	Mo -0,09492	
45			Sc -0,04409	95		Mo -0,09416	
46	Ti -0,04737	Ca -0,04631		96	Zr -0,09172	Mo -0,09532	Ru -0,0924
47	Ti -0,04824			97		Mo -0,09398	
48	Ti -0,05205	Ca -0,04747		98		Mo -0,09459	Ru -0,09473
49	Ti -0,05213			99			Ru -0,09406
50	Ti -0,05521	V -0,05284	Cr -0,05395	100		Mo -0,09252	Ru -0,09578

cd. tabeli 3A

101			Ru -0,09442	156	Gd -0,0779	Dy -0,0757	
102	Pd -0,09437		Ru -0,09565	157	Gd -0,066		
103		Rh -0,0945		158	Gd -0,0759	Dy -0,0756	
104	Pd -0,09597		Ru -0,09458	159			Tb -0,0747
105	Pd -0,09492			160	Gd -0,0729	Dy -0,0748	
106	Pd -0,09652	Cd -0,09454		161		Dy -0,0731	
107			Ag -0,09491	162	Er -0,0712	Dy -0,0732	
108	Pd -0,0961	Cd -0,09582		163		Dy -0,0713	
109			Ag -0,09524	164	Er -0,0708	Dy -0,0708	
110	Pd -0,09483	Cd -0,097		165			Ho -0,0697
111		Cd -0,09582		166	Er -0,0697		
112	Sn -0,09517	Cd -0,09724		167	Er -0,068		
113		Cd -0,09594	In -0,09594	168	Er -0,0676	Yb -0,0661	
114	Sn -0,09722	Cd -0,09664		169			Tm -0,0658
115	Sn -0,09665		In -0,09612	170	Er -0,0645	Yb -0,0651	
116	Sn -0,09825	Cd -0,09525		171		Yb -0,0635	
117	Sn -0,09704			172		Yb -0,0634	
118	Sn -0,09839			173		Yb -0,0617	
119	Sn -0,09669			174		Yb -0,0611	Hf -0,05996
120	Sn -0,0978	Te -0,09595		175	Lu -0,0592		
121			Sb -0,09618	176	Lu -0,05733	Yb -0,0574	Hf -0,05859
122	Sn -0,09656	Te -0,09695		177			Hf -0,05678
123		Te -0,09573	Sb -0,09578	178			Hf -0,0563
124	Sn -0,09473	Te -0,09718	Xe 0,09411	179			Hf -0,05419
125		Te -0,09557		180		W -0,0533	Hf -0,05346
126		Te -0,09669	Xe -0,09572	181	Ta -0,05254		
127	I -0,09552			182		W -0,0518	
128		Te -0,09554	Xe -0,09647	183		W -0,04978	
129			Xe -0,09522	184	Os -0,04751	W -0,04907	
130	Ba -0,09372	Te -0,09376	Xe -0,09649	185			Re 0,04705
131			Xe -0,09493	186	Os -0,04617	W -0,04564	
132	Ba 0,09495		Xe -0,09586	187	Os -0,04426		Re -0,04425
133		Cs -0,09457		188	Os -0,04414		
134	Ba -0,09551		Xe -0,09461	189	Os -0,04186		
135	Ba -0,09433			190	Os -0,04156		Pt -0,04008
136	Ba -0,09544	Ce -0,0929	Xe -0,09279	191		Ir -0,03942	
137	Ba -0,09419			192	Os -0,03853		Pt -0,03898
138	Ba -0,09476	Ce -0,094	La -0,09289	193		Ir -0,03708	
139			La -0,0937	194			Pt -0,03734
140		Ce -0,0946		195			Pt -0,03523
141			Pr -0,0924	196	Hg -0,03419		Pt -0,03507
142	Nd -0,0923	Ce -0,0908		197		Au -0,03346	
143	Nd -0,0902			198	Hg -0,03326		Pt -0,03213
144	Nd -0,0899	Sm -0,088		199	Hg -0,03175		
145	Nd -0,0874			200	Hg -0,0317		
146	Nd -0,0869			201	Hg -0,02972		
147		Sm -0,0851		202	Hg -0,02938		
148	Nd -0,0831	Sm -0,08517		203			Tl -0,02768
149		Sm -0,0828		204	Hg -0,02653	Pb -0,02698	
150	Nd -0,0791	Sm -0,0827		205			Tl -0,0256
151			Eu -0,0802	206		Pb -0,02556	
152	Gd -0,08022	Sm -0,0803		207		Pb -0,02413	
153			Eu -0,0788	208		Pb -0,02337	
154	Gd -0,0791	Sm -0,0778		209	Bi -0,01963		
155	Gd -0,0774						

Tabela 3B. Modelowanie widma niskiej rozdzielczości na podstawie teoretycznego widma wysokorozdzielczego na przykładzie difenylocynku, $C_{12}H_{10}Zn$, (MW: 218) [82]

widmo wysokorozdzielcze		I etap		II etap		widmo niskorozdzielcze		widmo doświad.
218,0071	100,000	218,007	100,000	218,01	100,000	218	100,000	100,000
219,0105	13,500	219,011	13,500	219,01	13,500	219	13,500	14,313
220,0040	57,407	220,004	57,407	220,00	57,407	220	58,248	58,221
220,0139	0,840	220,014	0,840	220,01	0,840			
221,0051	8,436	221,005	8,436	221,01	16,186	221	16,216	16,441
221,0074	7,750	221,007	7,750					
221,0173	0,030	221,017	0,030	221,02	0,030			
222,0028	38,683	222,003	38,683	222,00	38,683	222	40,304	39,458
222,0085	1,139	222,009	1,139	222,01	1,621			
222,0108	0,482	222,011	0,482					
222,0207	0,000	222,021	0,000	222,02	0,000			
223,0062	5,222	223,006	5,222	223,01	5,310	223	5,310	5,029
223,0119	0,071	223,012	0,071					
223,0142	0,017	223,014	0,017					
224,0033	1,235	224,003	1,235	224,00	1,235	224	1,563	1,547
224,0096	0,325	224,010	0,325	224,01	0,325			
224,0153	0,003	224,015	0,003	224,02	0,003			
224,0176	0,000	224,018	0,000					
225,0067	0,167	225,007	0,167	225,01	0,167	225	0,179	0,193
225,0130	0,012	225,010	0,012	225,01	0,012			
225,0187	0,000	225,019	0,000	225,02	0,000			
226,0101	0,010	226,010	0,010	226,01	0,010	226	0,010	
226,0164	0,000	226,016	0,000	226,02	0,000			
227,0135	0,000	227,014	0,000	227,01	0,000	227	0,000	
228,0169	0,000	228,017	0,000	228,02	0,000	228	0,000	
0,0001		0,001		0,01		1		



Rys. 3A. Pasma molekularne difenylocynku, $C_{12}H_{10}Zn$: a – pełny obraz pasma (dokładność 0,0001 u); b – pasmo molekularne w rozciągniętej skali (na rysunku przedstawiono piki oznaczone w tab. 3C wytłuszczonym drukiem, dokładność 0,0001 u); c – pasmo molekularne widma niskorozdzielczego; linią kropkowaną zaznaczono intensywność 10%

Tabela 3C. Klaster molekularny tris(benzo[b]selenofeno)[2,3,2',3':2'',3''] benzeno C₂₄H₁₂Se₃ – model „wysokiej rozdzielczości” (dokładność 0,0001)

521,7675	0,001	529,759	0,931	532,7538	2,431	533,7589	0,004	535,7555	0,129	537,7524	13,858	539,7522	0,008	542,7505	0,1
523,7642	0,013	529,759	0,025	532,7545	7,371	533,7591	0,054	535,7556	0,033	537,7529	8,623	539,7524	0,48	542,7507	0,832
524,7642	0,004	529,7597	0,146	532,7549	1,997	533,7597	0,001	535,7557	1,314	537,753	0,008	539,7526	1,221	542,7526	0,004
524,7649	0,01	529,7615	0,002	532,7556	12,109	534,7519	2,058	535,7558	0,572	537,7532	0,23	539,7529	0,09	542,7531	0,004
525,7609	0,134	529,7617	0,013	532,7557	0,01	534,753	10,14	535,7563	0,171	537,7537	0,088	539,7531	3,034	542,7533	0,033
525,7623	0,031	529,7623	0,002	532,7563	0,964	534,7537	30,762	535,7565	0,868	537,7539	1,456	539,7539	0,017	543,7495	0,014
525,7649	0,002	530,7557	0,958	532,7564	0,2	534,7538	0,025	535,7565	0,021	537,7557	0,046	539,7559	0,004	543,7497	1,271
526,7609	0,035	530,7564	5,804	532,7571	0,638	534,7545	0,255	536,7511	12,879	537,7558	0,004	540,7495	18,687	543,7499	6,464
526,7616	0,217	530,7571	0,23	532,7582	0,004	534,7549	0,021	536,7519	0,022	537,7559	0,115	540,7503	0,28	543,7505	0,008
526,7623	0,008	530,7576	0,001	532,7584	0,067	534,7551	0,351	536,7522	10,578	537,7565	0,029	540,7505	9,46	543,7507	0,106
527,7576	0,467	530,7582	0,38	532,7589	0,042	534,7555	1,004	536,7529	32,088	538,7503	26,87	540,7513	0,023	543,7533	0,002
527,759	0,676	530,7583	0,04	532,759	0,002	534,7556	0,417	536,753	0,104	538,7511	0,134	540,7524	0,038	544,7497	0,102
527,7609	0,004	530,7589	1,148	532,7591	0,2	534,7558	2,132	536,7532	1,786	538,7513	2,266	540,7526	0,328	544,7499	1,736
527,7615	0,067	530,759	0,25	532,7597	0,009	534,7563	1,327	536,7537	1,064	538,7522	0,111	540,7529	0,006	544,7507	0,008
527,7616	0,058	530,7597	0,274	533,7519	7,658	534,7563	0,004	536,7539	5,412	538,7524	3,722	540,7531	0,392	545,7497	0,008
527,7623	0,09	530,7617	0,004	533,753	37,738	534,7565	0,171	536,7545	0,002	538,7529	1,11	540,7533	0,993	545,7499	0,223
528,7576	0,126	531,7538	16,474	533,7538	0,313	534,7571	0,006	536,7551	0,004	538,7531	11,296	541,7495	2,406	545,7501	0,379
528,7583	1,143	531,7557	0,123	533,7545	1,98	534,7591	0,008	536,7555	0,01	538,7532	0,017	541,7497	36,72	546,7499	0,019
528,759	0,184	531,7563	3,58	533,7549	0,257	535,7511	47,93	536,7556	0,004	538,7537	0,004	541,7503	0,021	546,7501	0,102
528,7597	0,551	531,7564	1,561	533,7551	1,308	535,7519	0,265	536,7557	0,355	538,7539	0,188	541,7505	1,218	547,7499	0,002
528,7615	0,019	531,7571	2,366	533,7555	3,735	535,7522	39,37	536,7558	0,075	538,7557	0,004	541,7507	3,098	547,7501	0,013
528,7616	0,008	531,7571	0,029	533,7556	3,255	535,753	1,306	536,7563	0,015	538,7559	0,031	541,7513	0,002	548,7501	0,001

528,7623	0,023	531,7582	0,05	533,7563	4,934	535,7532	6,643	536,7565	0,234	538,7565	0,002	541,7524	0,004	C₂₄H₁₂Se₃ m/z 0,0000 218 pików													
529,7557	3,561	531,7583	0,004	533,7563	0,125	535,7532	8,266	537,7503	100	539,7495	69,546	541,7526	0,042														
529,7571	0,858	531,7584	0,246	533,7564	0,017	535,7538	0,002	537,7511	1,659	539,7503	3,459	541,7531	0,033														
529,7576	0,016	531,7589	0,309	533,7565	0,63	535,7545	0,021	537,7513	8,435	539,7505	35,201	541,7533	0,267														
529,7582	1,41	531,759	0,031	533,7571	0,081	535,7549	0,002	537,7519	0,001	539,7511	0,01	542,7495	0,195														
529,7583	0,307	531,7597	0,068	533,7584	0,008	535,7551	0,046	537,7522	1,362	539,7513	0,292	542,7497	9,866														
<p>fragment pasma molekularnego (dokładność 0,0001)</p>														<p>pasmo molekularne (dokładność 0,0001)</p>													

Tabela 3D. Klaster molekularny tris(benzo[*b*]selenofeno)[2,3:2',3':2'',3''] benzeno C₂₄H₁₂Se₃ (dokładność 0,001)

521,768	0,001	528,76	0,551	531,756	5,264	533,755	3,545	535,753	7,949	537,753	8,861	539,754	0,017	543,753	0,002
523,764	0,017	528,762	0,05	531,757	2,395	533,756	12,066	535,754	8,268	537,754	1,544	539,756	0,004	544,75	1,838
524,765	0,01	529,756	3,561	531,758	0,3	533,757	0,711	535,755	0,069	537,756	0,165	540,75	18,967	544,75	1,736
525,761	0,134	529,757	0,858	531,759	0,34	533,758	0,008	535,756	2,219	537,757	0,029	540,751	9,483	544,751	0,008
525,762	0,031	529,758	1,733	531,76	0,068	533,759	0,058	535,757	0,889	538,75	26,87	540,752	0,038	545,75	0,61
525,765	0,002	529,759	0,956	532,754	2,431	533,76	0,001	536,751	12,879	538,751	2,4	540,753	1,719	546,75	0,121
526,761	0,035	529,76	0,146	532,755	9,368	534,752	2,058	536,752	10,6	538,752	3,833	541,75	39,147	547,75	0,015
526,762	0,225	529,762	0,017	532,756	13,283	534,753	10,14	536,753	33,978	538,753	12,423	541,751	4,318	548,75	0,001
527,758	0,467	530,756	6,762	532,757	0,638	534,754	30,787	536,754	6,476	538,754	0,192	541,752	0,004		
527,759	0,676	530,757	0,23	532,758	0,071	534,755	0,627	536,755	0,006	538,756	0,035	541,753	0,342		
527,761	0,004	530,758	0,421	532,759	0,244	534,756	4,884	536,756	0,459	538,757	0,002	542,75	10,061		
527,762	0,215	530,759	1,398	532,76	0,009	534,757	0,177	536,757	0,234	539,75	73,005	542,751	0,932		
528,758	1,269	530,76	0,274	533,752	7,658	534,759	0,008	537,75	100	539,751	35,503	542,753	0,041		
528,758	1,143	530,762	0,004	533,753	37,738	535,751	47,93	537,751	10,094	539,752	0,488	543,75	7,749		
528,759	0,184	531,754	16,474	533,754	0,313	535,752	39,635	537,752	15,221	539,753	4,345	543,751	0,114		

Intensywność [%]	m/z	Intensywność [%]
100	537,75	100
80	537,75	80
60	537,75	60
40	537,75	40
20	537,75	20
0	537,75	0

fragment pasma molekularnego (dokładność 0,001)

Intensywność [%]	m/z	Intensywność [%]
100	537,75	100
80	537,75	80
60	537,75	60
40	537,75	40
20	537,75	20
0	537,75	0

pasmo molekularne (dokładność 0,001)

C₂₄H₁₂Se₃
m/z 0,000
113 pików

Tabela 3E. Klaster molekularny tris(benzo[*b*]selenofeno)[2,3:2':3':2'':3''] benzeno C₂₄H₁₂Se₃ (dokładność 0,01)

521,77	0,001	526,76	0,192	531,76	3,879	534,76	4,197	537,76	0,143	541,75	32,28	547,75	0,011	C₂₄H₁₂Se₃ m/z 0,00 38 pików	
523,76	0,013	527,76	1,004	531,76	2,286	535,75	76,468	538,75	33,686	542,75	8,13	548,75	0,001		
524,77	0,007	528,76	2,356	532,75	19,19	535,76	2,341	538,76	0,027	543,75	5,795				
525,76	0,099	529,76	5,357	533,75	33,679	536,75	47,107	539,75	83,523	544,75	2,639				
525,76	0,023	530,76	6,697	533,76	12,076	536,76	0,515	539,76	0,003	545,75	0,449				
525,77	0,001	531,75	12,138	534,75	31,672	537,75	100	540,75	22,257	546,75	0,089				
<p style="text-align: center;">pasmo molekularne (dokładność 0,01)</p>															
<p style="text-align: center;">fragment pasma molekularnego (dokładność 0,01)</p>															

Tabela 3F. Klaster molekularny tris(benzo[b]selenofeno)[2,3,2',3',2'',3'''] benzeno C₂₄H₁₂Se₃ modele niskiej rozdzielczości (dokładności 0,1 i 1)

521,8	0,001	530,8	6,687	538,8	33,665	546,8	0,089
523,8	0,013	531,8	18,277	539,8	83,407	547,8	0,011
524,8	0,007	532,8	19,163	540,8	22,225	548,8	0,001
525,8	0,123	533,8	45,69	541,8	32,234	C₂₄H₁₂Se₃	m/z
526,8	0,192	534,8	35,818	542,8	8,118	0,	
527,8	1,003	535,8	78,696	543,8	5,787	27 pików	
528,8	2,353	536,8	47,554	544,8	2,635		
529,8	5,349	537,8	100	545,8	0,448		

dokładność 0,1		dokładność 1	
m/z	intensywność [%]	m/z	intensywność [%]
525	~1	525	~1
530	~1	530	~1
535	~1	535	~1
540	~1	540	~1
545	~1	545	~1
537,8	100	537,8	100
536,8	~45	536,8	~45
538,8	~35	538,8	~35
539,8	~25	539,8	~25
540,8	~15	540,8	~15
541,8	~10	541,8	~10
542,8	~5	542,8	~5
543,8	~2	543,8	~2
544,8	~1	544,8	~1
545,8	~1	545,8	~1

Tabela 3G. Efekty przekształcania widma wysokorozdzielczego w niskorozdzielcze w przykładzie pasma molekularnego tris(benzo[b]selenofeno)benzenu

Cecha	Dokładność położenia sygnału				
	0,0001 u	0,001 u	0,01 u	0,1 u	1 u
liczba sygnałów	218	113	38	27	27
w tym w zakresie 536÷538 u	31	14	4	2	2
w tym I > 1%	13	9	2	2	2
$\Sigma I_{1\%}$ [%]	199,2	199,6	147,1	147,6	147,6
udział $\Sigma I_{1\%}$ w ΣI [%]	99,4	99,6	73,4	73,6	73,6
sumowanie *	od m/z	$m/z, abc - 0,0005$	$m/z, ab - 0,005$	$m/z, a - 0,05$	$m/z, -0,5$
	do m/z	$m/z, abc + 0,0005$	$m/z, ab + 0,005$	$m/z, a + 0,05$	$m/z, +0,5$
normalizacja	-	-	+	+	-
współczynnik normalizacji η	(100%)	(100%)	1,35720	1,00143	(100%)

* a = 0÷9, b = 0÷9, c = 0÷9; np. m/z,abc = 528,327

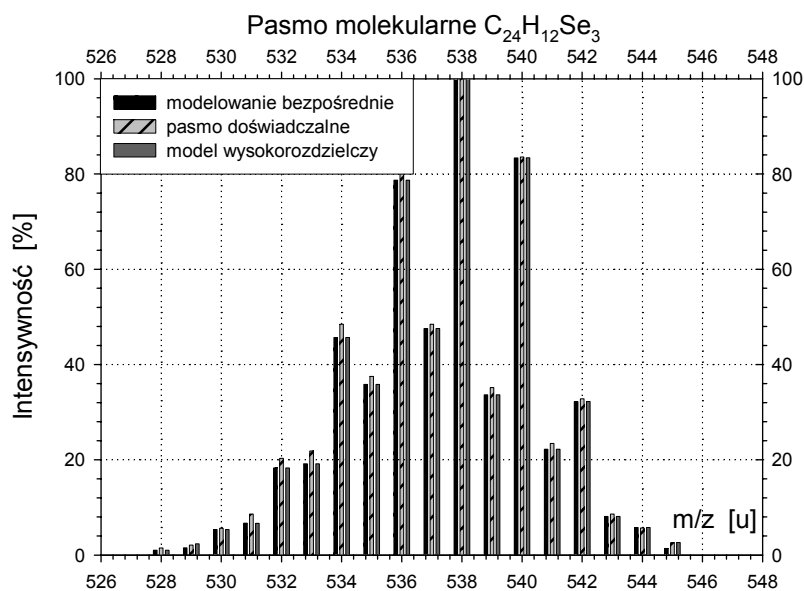
Rys. 3B. Modelowanie pasma molekularnego $C_{24}H_{12}Se_3$

Tabela 4A. Położenie piku głównego (**LAPIC**) w paśmie izotopomerowym dla agregatów **Br_mCl_n**

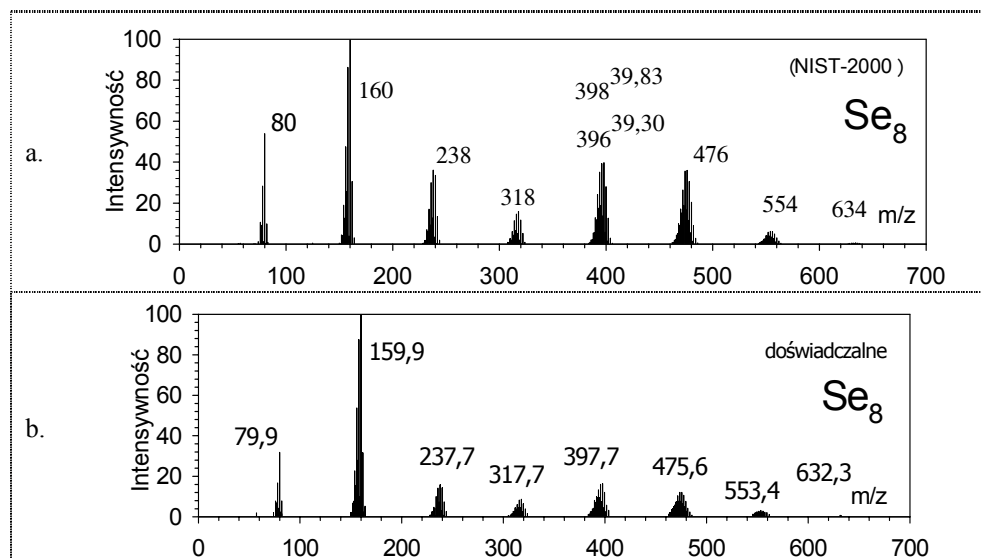
Cl →		Wartości LAPIC obliczone metodą MMIP [102]																			
Br ↓	-	Cl ₂	Cl ₃	Cl ₄	Cl ₅	Cl ₆	Cl ₇	Cl ₈	Cl ₉	Cl ₁₀	Cl ₁₁	Cl ₁₂	Cl ₁₃	Cl ₁₄	Cl ₁₅	Cl ₁₆	Cl ₁₇	Cl ₁₈	Cl ₁₉	Cl ₂₀	
-	0	35	70	105	142	177	212	247	284	319	354	389	426	461	496	531	568	603	638	673	710
Br	79	116	151	186	221	258	293	328	363	398	435	470	505	540	577	612	647	682	719	754	789
Br ₂	160	195	230	267	302	337	372	407	444	479	514	549	586	621	656	691	728	763	798	833	870
Br ₃	239	276	311	346	381	418	453	488	523	558	595	630	665	700	737	772	807	842	879	914	949
Br ₄	320	355	390	427	462	497	532	569	604	639	674	709	746	781	816	851	888	923	958	993	1030
Br ₅	399	436	471	506	541	578	613	648	683	718	755	790	825	860	897	932	967	1002	1039	1074	1109
Br ₆	480	515	550	587	622	657	692	729	764	799	834	869	906	941	976	1011	1048	1083	1118	1153	1190
Br ₇	559	596	631	666	701	738	773	808	843	880	915	950	985	1020	1057	1092	1127	1162	1199	1234	1269
Br ₈	640	675	710	747	782	817	852	889	924	959	994	1029	1066	1101	1136	1171	1208	1243	1278	1313	1350
Br ₉	719	756	791	826	861	898	933	968	1003	1040	1075	1110	1145	1180	1217	1252	1287	1322	1359	1394	1429
Br ₁₀	800	835	870	907	942	977	1012	1049	1084	1119	1154	1189	1226	1261	1296	1331	1368	1403	1438	1473	1510
Br ₁₁	879	916	951	986	1021	1058	1093	1128	1163	1200	1235	1270	1305	1340	1377	1412	1447	1482	1519	1554	1589
Br ₁₂	960	995	1030	1067	1102	1137	1172	1209	1244	1279	1314	1349	1386	1421	1456	1491	1528	1563	1598	1633	1670
Br ₁₃	1039	1076	1111	1146	1181	1218	1253	1288	1323	1360	1395	1430	1465	1500	1537	1572	1607	1642	1679	1714	1749
Br ₁₄	1120	1155	1190	1227	1262	1297	1332	1369	1404	1439	1474	1509	1546	1581	1616	1651	1688	1723	1758	1793	1830
Br ₁₅	1199	1236	1271	1306	1341	1378	1413	1448	1483	1518	1555	1590	1625	1660	1697	1732	1767	1802	1839	1874	1909
Br ₁₆	1280	1315	1350	1387	1422	1457	1492	1529	1564	1599	1634	1669	1706	1741	1776	1811	1848	1883	1918	1953	1990
Br ₁₇	1359	1396	1431	1466	1501	1538	1573	1608	1643	1678	1715	1750	1785	1820	1857	1892	1927	1962	1999	2034	2069
Br ₁₈	1440	1475	1510	1547	1582	1617	1652	1689	1724	1759	1794	1829	1866	1901	1936	1971	2008	2043	2078	2113	2150
Br ₁₉	1519	1556	1591	1626	1661	1698	1733	1768	1803	1838	1875	1910	1945	1980	2017	2052	2087	2122	2159	2194	2229
Br ₂₀	1600	1635	1670	1707	1742	1777	1812	1849	1884	1919	1954	1989	2026	2061	2096	2131	2168	2203	2238	2273	2310

Tabela 4B. Położenia pików głównych dla klastrów izotopomerowych agregatów $(Elem)_n$ ($n = 1 - 10$), wyznaczone na podstawie naturalnych abundancji izotopów pierwiastków

↓ pierwiastek L. atomów n →	Położenie głównego pików pasma (LAPIC)										zakres izotopowy $m_{min} - m_{max}$ [u]
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Ag	107	216	323	432	539	648	755	864	971	1080	107, 109
Ba	138	276	414	552	690	826	964	1102	1239	1377	130-138
Ca	40	80	120	160	200	240	280	320	360	400	40-48
Cd	114	226	338	450	562	676	788	900	1013	1125	106-116
Ce	140	280	420	560	700	840	980	1120	1262	1402	136-142
Cr	52	104	156	208	260	312	364	416	468	520	50-54
Cu	63	126	191	254	317	382	445	508	573	636	63, 65
Dy	164	325	488	650	813	976	1138	1301	1463	1626	156-164
Er	166	334	502	668	836	1004	1171	1338	1506	1673	162-170
Eu	153	304	457	608	761	912	1065	1216	1369	1520	151, 153
Fe	56	112	168	224	280	336	392	448	504	560	54-58
Ga	69	140	209	278	349	418	489	558	627	698	69, 71
Gd	158	316	471	629	786	944	1101	1258	1416	1573	152-160
Ge	74	146	218	290	364	436	508	582	654	726	70-76
Hf	180	358	536	714	893	1071	1250	1429	1607	1786	174-180
Hg	202	402	602	802	1003	1204	1404	1605	1806	2006	196-204
Ir	193	384	577	770	961	1154	1347	1538	1731	1922	191, 193
K	39	78	117	156	195	234	273	312	351	390	39-41
Kr	94	188	282	376	470	564	658	752	846	940	80-86
Li	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	6, 7
Lu	175	350	525	700	875	1050	1225	1400	1575	1750	175, 176
Mg	24	48	72	96	120	146	170	194	218	242	24, 26
Mo	98	192	288	384	480	576	672	768	864	960	92-100

cd. tabeli 4B

Nd	142	288	432	576	720	864	1010	1154	1298	1442	142-150
Ni	58	116	176	234	292	352	410	468	528	586	58-64
Os	192	382	572	762	952	1142	1332	1522	1713	1903	184-192
Pb	208	414	622	830	1036	1244	1451	1658	1866	2073	204-208
Pd	106	214	320	426	532	638	745	852	958	1065	102-110
Pt	194	390	585	780	975	1170	1365	1560	1756	1951	192-198
Rb	85	170	257	342	427	512	599	684	769	856	85, 87
Re	187	372	559	746	931	1118	1305	1490	1677	1862	185, 187
Ru	102	203	305	406	506	608	709	810	911	1012	96-104
Sb	121	244	367	490	611	732	855	976	1099	1220	121, 123
Se	80	160	238	318	396	476	554	634	712	792	74-82
Sm	152	301	453	602	752	904	1053	1205	1354	1505	144-154
Sn	120	238	356	476	594	712	832	950	1070	1188	112-124
Sr	88	176	264	352	440	528	616	702	788	874	84-88
Te	130	256	384	512	640	768	896	1024	1150	1278	120-130
Ti	48	96	144	192	240	288	336	384	432	480	46-50
Tl	205	410	613	818	1023	1226	1431	1636	1841	2044	203, 205
V	51	102	153	204	255	306	357	408	459	510	50, 51
W	184	368	552	736	920	1104	1288	1472	1656	1838	180-186
Xe	132	263	392	526	655	787	918	1050	1182	1313	128-136
Yb	174	346	519	692	865	1038	1212	1385	1558	1731	168-176
Zn	64	130	196	260	326	392	458	522	588	654	64-70
Zr	90	180	274	364	456	548	638	730	820	912	90-96



Rys. 4A. Widma masowe par selenu Se_8 : a – widmo z bazy NIST-2000; b – widmo doświadczalne

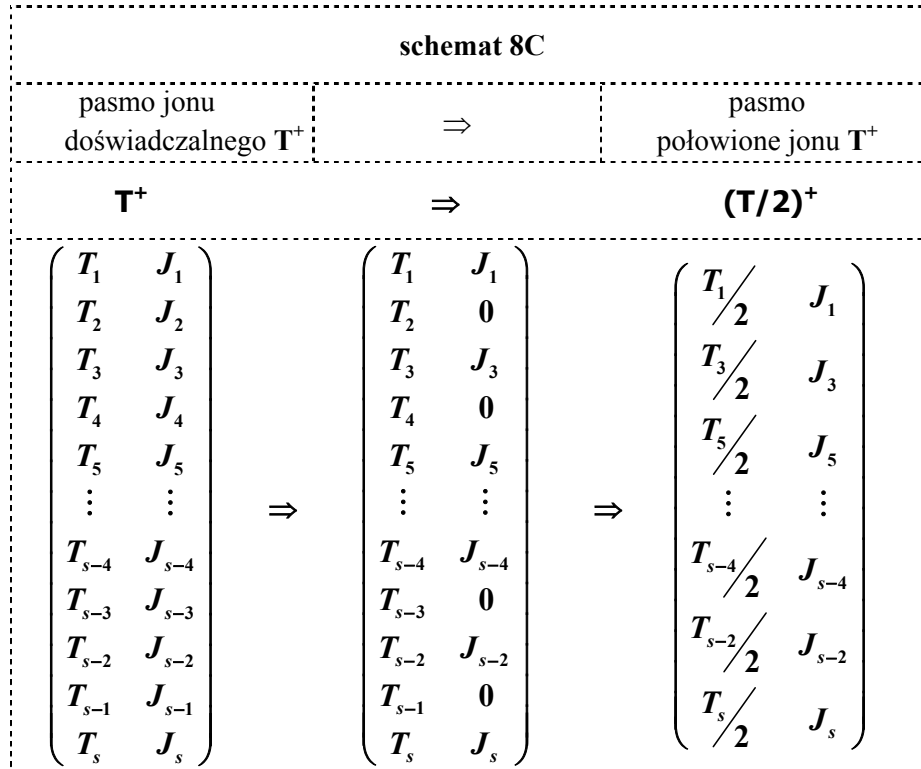
Tabela 6A. Wyniki modelowania pasm pseudo-molekularnych n-germanowodorów

$\text{Ge}_n\text{H}_{2n+2}$	$\text{Ge}_n\text{H}_{2n+2}$	$\text{Ge}_n\text{H}_{2n+1}$	$\text{Ge}_n\text{H}_{2n-1}$	Ge_nH_3	Ge_nH_2	Ge_nH	Ge_n	α	
Ge_2H_6	27						73	82,12	
	22					21	57	96,56	
	20			12		11	57	97,93	
	19	8		1		14	58	98,08	
Ge_3H_8	34						66	97,91	
	25					38	37	98,16	
	24				14	40	22	98,48	
	22			18	3	23	34	99,67	
Ge_4H_{10}	25						75	91,6	
	21					27	52	99,4	
	18				10	30	42	99,5	
	18			3	10	25	44	99,7	
	17		4			11	26	42	99,8
	20		1	2	10	23	44	99,9	
Ge_5H_{12}	19						81	95	
	17					28	55	99,86	
	16				7	28	49	99,9	
	M	M-H	M-3H	A+3H	A+2H	A+H	A_{H=0}	α	

$$A = A_{H=0} = \text{Ge}_n$$

schemat 8A		
pasmo jonu doświadczalnego D^+	\Rightarrow	pasmo połowione jonu D^+
D^+	\Rightarrow	$(D/2)^+$
$\begin{pmatrix} D_1 & A_1 \\ D_2 & A_2 \\ D_3 & A_3 \\ D_4 & A_4 \\ D_5 & A_5 \\ \vdots & \vdots \\ D_{n-4} & A_{n-4} \\ D_{n-3} & A_{n-3} \\ D_{n-2} & A_{n-2} \\ D_{n-1} & A_{n-1} \\ D_n & A_n \end{pmatrix}$	\Rightarrow	$\begin{pmatrix} D_1 & A_1 \\ D_2 & 0 \\ D_3 & A_3 \\ D_4 & 0 \\ D_5 & A_5 \\ \vdots & \vdots \\ D_{n-4} & A_{n-4} \\ D_{n-3} & 0 \\ D_{n-2} & A_{n-2} \\ D_{n-1} & 0 \\ D_n & A_n \end{pmatrix}$
	\Rightarrow	$\begin{pmatrix} D_1/2 & A_1 \\ D_3/2 & A_3 \\ D_5/2 & A_5 \\ \vdots & \vdots \\ D_{n-4}/2 & A_{n-4} \\ D_{n-2}/2 & A_{n-2} \\ D_n/2 & A_n \end{pmatrix}$

schemat 8B		
pasmo jonu doświadczalnego \mathbf{d}^+	\Rightarrow	pasmo dublowane jonu \mathbf{d}^+
\mathbf{d}^+	\Rightarrow	$(2\mathbf{d})^+$
$\begin{pmatrix} d_1 & a_1 \\ d_2 & a_2 \\ d_3 & a_3 \\ \vdots & \vdots \\ d_{v-2} & a_{v-2} \\ d_{v-1} & a_{v-1} \\ d_v & a_v \end{pmatrix}$	\Rightarrow	$\begin{pmatrix} 2d_1 & a_1 \\ 2d_1 + 1 & \cdot \\ 2d_2 & a_2 \\ 2d_2 + 1 & \cdot \\ 2d_3 & a_3 \\ \vdots & \vdots \\ 2d_{v-2} & a_{v-2} \\ 2d_{v-2} + 1 & \cdot \\ 2d_{v-1} & a_{v-1} \\ 2d_{v-1} + 1 & \cdot \\ 2d_v & a_v \end{pmatrix}$
	\Rightarrow	$\begin{pmatrix} 2d_1 & a_1 \\ 2d_1 + 1 & 0 \\ 2d_2 & a_2 \\ 2d_2 + 1 & 0 \\ 2d_3 & a_3 \\ \vdots & \vdots \\ 2d_{v-2} & a_{v-2} \\ 2d_{v-2} + 1 & 0 \\ 2d_{v-1} & a_{v-1} \\ 2d_{v-1} + 1 & 0 \\ 2d_v & a_v \end{pmatrix}$



schemat 8D		
pasma jonu doświadczalnego \mathbf{t}^+	\Rightarrow	pasma dublowane jonu \mathbf{t}^+
\mathbf{t}^+	\Rightarrow	$(2\mathbf{t})^+$
$\begin{pmatrix} t_1 & j_1 \\ t_2 & j_2 \\ t_3 & j_3 \\ \vdots & \vdots \\ t_{r-2} & j_{r-2} \\ t_{r-1} & j_{r-1} \\ t_r & j_r \end{pmatrix}$	\Rightarrow	$\begin{pmatrix} 2t_1 & j_1 \\ 2t_1 + 1 & \cdot \\ 2t_2 & j_2 \\ 2t_2 + 1 & \cdot \\ 2t_3 & j_3 \\ \vdots & \vdots \\ 2t_{r-2} & j_{r-2} \\ 2t_{r-2} + 1 & \cdot \\ 2t_{r-1} & j_{r-1} \\ 2t_{r-1} + 1 & \cdot \\ 2t_r & j_r \end{pmatrix}$
	\Rightarrow	$\begin{pmatrix} 2t_1 & j_1 \\ 2t_1 + 1 & 0 \\ 2t_2 & j_2 \\ 2t_2 + 1 & 0 \\ 2t_3 & j_3 \\ \vdots & \vdots \\ 2t_{r-2} & j_{r-2} \\ 2t_{r-2} + 1 & 0 \\ 2t_{r-1} & j_{r-1} \\ 2t_{r-1} + 1 & 0 \\ 2t_r & j_r \end{pmatrix}$

Tabela 9A. Podział klastrera widma doświadczalnego na subpasma wg metody analizy profilu pasma

Sub-pasmo	Warunki		Wnioski
	Matematyczne	Funkcjonalne	
Pierwsze (I)	$F_i = F_{i+1} = +1$	Początek części wzrostowej subpasma $j_1 = i = 1$	1 (pierwszy pik) – początek pierwszego subpasma
	$F_i = F_{i+1} = -1$	Początek części malejącej subpasma $k_1 = i = 6$	Część wzrostowa położona w zakresie $[1, i - 1]$, tj. pik (1÷5)
	$F_i = F_{i+1} = +1$	Początek części wzrostowej następnego subpasma $m_1 = i = 9$	Część malejąca położona w zakresie $[k, i - 1]$; $m_1 - 1$ – koniec subpasma Pierwsze subpasmo zlokalizowane w zakresie $[1, i - 1]$, tj. pik (1÷8) m_1 – początek następnego subpasma; $m_{next-1} = m_1$
Następne (II – V)	$F_i = F_{i+1} = +1$	Początek części wzrostowej następnego subpasma $j_{next} = i$	m_{next-1} – początek następnego subpasma
	$F_i = F_{i+1} = -1$	Początek części malejącej następnego subpasma $k_{next} = i$	Część wzrastająca położona w zakresie $[m_{next-1}, i - 1]$
Ostatnie (VI)	$F_i = F_{i+1} = +1$	Któryś z warunków matematycznych zwykle nie jest spełniony, ponieważ wcześniej wyczerpią się punkty doświadczalne	Część malejąca położona w zakresie $[k_{next}, i - 1]$; $m_{next} - 1$ – koniec kolejnego subpasma, zlokalizowanego w obszarze $[m_{next-1}, i - 1]$; m_{next} – początek następnego subpasma
	$F_i = F_{i+1} = -1$		Określone podobnie jak poprzednie, lecz zakończenie subpasma jest przeważnie niekompletne
	$F_i = F_{i+1} = +1$		Ostatnie subpasmo (56÷65)

Tabela 9B. Piki wyselekcjonowane z widma masowego hexa-*t*-butylselenatrisiletanu (C₂₄H₅₄SeSi₃) metodą CPA

Subpasmo	Zakres	Wybrane piki	
	u.	u. (%)	
I	50-57	55 (33,42)	57 (84,67)
II	58-74	59 (44,30)	73 (100)
III	75-85	83 (19,11)	85 (23,06)
IV	86-100	97 (15,49)	99 (27,36)
V	101-113	111 (15,14)	113 (16,86)
VI	114-130	127 (25,02)	129 (16,95)
VII	131-144	139 (14,98)	143 (11,06)
VIII	145-150	149 (85,92)	150 (9,15)
IX	151-158	153 (9,33)	157 (5,71)
X	159-168	159 (5,61)	167 (37,74)
XI	169-172	171 (8,64)	172 (14,24)
XII	173-182	178 (11,21)	181 (7,63)
XIII	183-186	183 (3,30)	185 (3,63)
XIV	187-196	193 (5,73)	195 (8,60)
XV	197-210	207 (6,32)	209 (8,23)
XVI	211-224	221 (5,06)	223 (6,94)
XVII	225-228	227 (7,91)	228 (14,01)
XVIII	229-235	229 (3,66)	235 (5,0)
XIX	236-243	237 (2,78)	239 (2,56)
XX	245-250	247 (2,03)	250 (2,28)
XXI	251-260	251 (4,02)	253 (2,31)
XXII	261-268	265 (2,16)	267 (2,41)
XXIII	269-274	269 (1,36)	273 (0,48)
XXIV	275-283	277 (3,07)	279 (10,21)
XXV	284-289	284 (2,01)	285 (0,79)
XXVI	291-299	293 (1,99)	295 (2,15)
*		301 (0,34)	303 (0,63)
XXVII	304-313	307 (1,23)	309 (1,48)
*		316 (0,34)	317 (0,35)
*		319 (0,49)	320 (0,34)
*		323 (0,67)	327 (0,67)
*		329 (0,59)	
XXVIII	331-346	335 (3,23)	337 (3,46)
XXIX	347-357	351 (2,13)	355 (1,64)

* - piki izolowane

Literatura

- [1] Emsley J., 1997. Chemia – przewodnik po pierwiastkach. PWN Warszawa, a) s. 55, b) s. 220, c) s. 32, 44, 108, 220, 202.
- [2] National High Magnetic Field Laboratory / NMR Spectroscopy & Imaging Program, Florida State University, Los Alamos National Lab., University of Florida, <http://nmr.magnet.fsu.edu/resources/nucli/table.htm>
- [3] Smith R.M., Busch K.L., 1999. Understanding mass spectra – A basic approach. J. Wiley & Sons New York, s. 75, a) s. 46, b) ss. 46-49, d) s. 121, e) ss. 174-175, f) s. 27, g) ss. 108-109, h) s. 195, i) s. 98.
- [4] Mukamel S., 2000. Multi-dimensional femto-second correlation spectroscopic of electronic and vibrational excitations. An. Rev. Phys. Chem. 51, 691-697.
- [5] Gross J.H., 2004. Mass Spectrometry: A Textbook. Springer-Verlag Berlin, s. 68.
- [6] Johnstone R.A.W., Rose M.E., 1996. Mass spectrometry for chemists and biochemists. II ed., Cambridge Univ. Press, s. 10, a) s. 16, b) s. 23.
- [7] Beynon J.H., Williams A.E., 1976. Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych. PWN Warszawa, a) s. 34, b) ss. 142-144.
- [8] Isotope separation and enrichment, Encyclopedia Britannica online, <http://www.britannica/eb/articl-48263/isotopes>
- [9] IUPAC Organic Chemistry Division, Section H: Isotopically Modified Compounds, <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/sectionH>
- [10] de Hoffmann E., Charette J., Stroobant V., 1994. Spektrometria mas. WNT Warszawa, a) s. 124.
- [11] NIST Polymer Division MALDI Page, <http://polymers.msrl.nist.gov/maldiricipes/maldi.html>
- [12] <http://www.rzuser.uni-heidelberg.de/~bl5/encyclopedia.html>
- [13] Horn D.M., Zubarev R.A., McLafferty F.W., 2000. Automated reduction and interpretation of high resolution electrospray mass spectra of large molecules. J. Am. Soc. Mass Spectr. 11, 320-332.
- [14] ITDS Ion Trap Data System Ver. 4.10, 1985-1988, Finnigan MAT.
- [15] Wiley-75k, NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database, Hewlett-Packard Company, Palo Alto, USA, 1992.
- [16] NIST-68, MS Windows Version of the NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library Version 1.1a, Standard Reference Database 1A, software by Stein S.A., Levitzky A.A., Fateev D.V., Help Screens Mallard W.G., Sparkman O.D., 1995.
- [17] Wiley-138k, Mass Spectral Database, Wiley 1990.

- [18] NIST-2000, ACD Labs MS Spectral Data Base Ver. 4.09/21 Sept. 1999.
- [19] NIST 08, Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH) Scientific Instrument Services, Ver. 2.0d, Stein S.A., Mirokhin Y., Tchegovskoi D., Mallard D., Mikaia A., Zaikin V., Little J., Damo Zhu, Clifton C., Sparkman D., 2008.
- [20] Sparkman D.O., 2006. Mass Spec Desk Reference. Global View Publ. Pittsburgh, Pennsylvania,
a) ss. 45-57, b) s. 62, c) s. 64, d) s. 118, e) s. 65, f) s. 60, g) s. 45, h) s. 3, i) s. 46, j) s. 62, k) s. 77, l) s. 48, m) s. 54, n) s. 50, o) s. 53, p) s. 47, q) s. 86, r) s. 64, s) s. 65, t) s. 122, u) s. 4, v) s. 7, w) s. 52, x) s. 57, y) s.7, z) s. 53.
- [21] Encyclopedia of Mass Spectrometry (eds. M.L. Gross, R.M. Capriolli), 2005. Elsevier Amsterdam, vol. 1-10.
- [22] Seeman J.I., Secor H.V., Disselkamp R., Bernstein E.R., 1992. Conformational analysis through selective isotopic substitution: Supersonic jet spectroscopic determination of the minimum energy conformation of o-xylene. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 713-714.
- [23] Breen P.J., Warren J.A., Bernstein E.R., Seeman J.I., 1987. Torsional motions in aromatic molecules. Conformational analysis of methyl-, ethyl-, and n-propylbenzenes. *J. Am. Chem. Soc.* 109, 3453-3455.
- [24] Seeman J.L., Paine III J.B., 1992. Isotopomers, isotopologs. *Chem. Eng. News* 70, s. 2.
- [25] IUPAC Gold Book PAC, 1994, 66, 1077 (Glossary of terms used in physical organic chemistry (IUPAC Recommendations 1994) – the Gold Book), s. 1132, a) s. 2211.
- [26] Rosman K.J.R., Taylor P.D.P., 2005. *Pure Appl. Chem.* 70, 217-235, WWW Chart of the Nuclides 2004 – www.ndc.jaea.jpn/CN03/index.html
- [27] http://www.sciences.univ-nantes.fr/laiem/FIM/fr/pp_blz/IUPACisotopom.pdf
- [28] Hamdan M.H., Righetti P.G., 2005. Proteomics today: Protein assessment and biomarkers using mass spectrometry, 2D electrophoresis and microarray technology. *J. Wiley Chichester.*
- [29] Hellerstein M.K., Neese R., 1991. Mass isotopomer distribution analysis: a technique for measuring biosynthesis and turnover of polymers. *Am. J. Physiol. (Endocrinol. Metab.* 26), 263, E988-E1001.
- [30] Hellerstein M.K., Neesle R.A., 1999. Mass isotopomer distribution analysis (MIDA) at eight years: theoretical, analytic and experimental considerations. *Am. J. Physiol. (Endocrinol. Metab.* 39), 276, E1146-E1170.
- [31] Neese R.A., Siler S.Q., Cesar D., Antelo F., Lee D., Misell L., Patel K., Tehrani S., Shah P., Hellerstein M.K., 2001. Advances in the stable isotope-mass spectrometric measurements of DNA synthesis and cell proliferation. *Anal. Bioch.* 298, 189-196.
- [32] Jonsson A.P., 2001. Mass spectrometry for protein and peptide characterization. *Cell. Molec. Life Sci.* 50, 868-884.

- [33] doLago C.L., Kascheres C., 1991. New method of isotope pattern analysis. *Comput. Chem.* 15, 149-155.
- [34] Henderson W., McIndoe J.S., 2005. Mass spectrometry of inorganic, coordination and organometallic compounds. J. Wiley Chichester, 236-246.
- [35] Schollmeyer E., Buschmann H.J., Jansen K., Wego A., 2003. Surface modification of polymers using supramolecular compounds (serie Progress in Colloid and Polymer Science, book Molecular Organisation on Interfaces), vol. 121/2002, Springer Berlin – Heidelberg.
- [36] Gorączko A.J., 2008. Isotopic pattern or isotopomeric pattern. Conference of Polish Mass Spectrometry Soc., Puławy, Poland, *Acta Bioch. Pol.* 55, Supl. 2, 4-5.
- [37] Inczedy J., Lengyel T., Ure A.M., Gelentser A., Hulanicki A., 1997. Compendium of analytical nomenclature, definitive rules 1997. Charter 12. Mass spectroscopy. IUPAC Orange Book.
- [38] Gorączko A.J., 2007. Isotope patterns. [W:] *Encyclopedia of Mass Spectrometry* (eds. M.L. Gross, R.M. Caprioli), vol. 6, Elsevier Amsterdam, 62-76.
- [39] Szafranek J., Gajdus J., Kaczyński Z., Dziadziuszko H., Kunikowska D., Głównicka R., Yioshida T., Vihanto J., Pihlaja K., 1998. Immunological and chemical studies of Salmonella Haarlem somatic antigen epitopes. I. Structural studies of O-antigen. *FEMS Imm. Med. Microb.* 21, 243-253.
- [40] deLaeter J.R., 2001. Application of inorganic mass spectrometry. J. Wiley Chichester, s. 233.
- [41] Christensen L.K., Larsen N.W., Nicolaisen F.M., Pedersen T., Sorensen G.O., Egsgaard H., 1996. Far-IR spectroscopy of ozone as a means of quantification of ozone isotopomers. *J. Mol. Spectr.* 175, 220-233.
- [42] Perjesi P., Nusser T., Tarczay Gy., Sohar P., 1999. E-2-Benzylidenebenzocyclo-alkanones. Stereostructures and NMR spectroscopic investigations. *J. Mol. Struc.* 479, 9-13.
- [43] Bachelard H.S., 1999. Some brief comments on the use of isotopomer analysis of ^{13}C -MR spectra. *Magn. Reson. Mater. in Phys. Biol. Medic.* 9, 156-158.
- [44] <http://isi2006.ucsd.edu/>
- [45] Duxbuty G., McPheat R., 1995. High-resolution absorption spectrum of the ni-2 band of nitryl chloride ClNO_2 at 793 cm^{-1} . *J. Mol. Spectr.* 174, 446-458.
- [46] Jucks K.W., Rodrigues R., LeDoucen R., Cleveau C., Traub W.A., Hartmann J.-M., 1999. Model, software and database for computation of line-mixing effects in IR-Q branches of atmospheric CO_2 : II. Minor and asymmetric isotopomers. *J. Quant. Spectr. and Radia. Transf.* 63, 31-48.
- [47] Jennings M.E., Matthews D.E., 2005. Determination of complex isotopomer patterns in isotopically labeled compounds by mass spectrometry. *Anal. Chem.* 77, 6435-6444.

- [48] Siler S.Q., Neese R.A., Hellerstein M.K., 1999. De novo lipogenesis, lipid kinetics, and whole-body lipid balances in humans after acute alcohol consumption. *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 928-936.
- [49] Gorączko A.J., 1998. Simplification of mass spectra of organometallic and coordination compounds by cluster profile analysis. *Comput. Chem.* 22, 499-508.
- [50] Berkeley Lab., Nuclear Science Div., 2003. WWW Table of Atomic Masses, <http://ie.lbl.gov/toi2003/MassSearch.asp>
- [51] Gorączko A.J., 2005. Molecular mass and location of the most abundant peak of the molecular ion isotopomeric cluster. *J. Mol. Model.* 11, 271-277.
- [52] Lee T.A., 1998. A beginner's guide to mass spectral interpretation. J. Wiley Chichester, s. 5, a) ss. 5-8.
- [53] Isotopic Abundances of the Elements, Washington University in St. Louis, <http://presolar.wustl.edu/ref/IsotopeAbundanceTable.pdf>
- [54] Yergey J., Heller D., Hansen G., Cotter R.J., Fenselau C., 1983. Isotopic distribution in mass spectra of large molecules. *Anal. Chem.* 55, 353-356.
- [55] Gorączko A.J., Szymura J.A., 1999. The prediction of relative abundance of isotopic clusters in mass spectrometry of coordination and organometallic compounds. *Comput. Chem.* 23, 135-142.
- [56] Gorączko A.J., 2002. Multiisotopic modeling of fragmentation ion patterns in mass spectra of organometallic and coordination compounds. *J. Comput. Chem.* 22, 354-365.
- [57] Exact Masses and Isotopic Abundances, Scientific Instrument Services, Inc. <http://www.sisweb.com/referenc/source/exactmaa.htm>
- [58] Horn D.M., Zubarev R.A., McLafferty F.W., 2000. Automated reduction and interpretation of high resolution electrospray mass spectra of large molecules. *J. Am. Soc. Mass Spect.* 11, 320-332.
- [59] March R.E., Xiu-Sheng Miao, 2004. A Fragmentation Study of Kaempferol Using Electrospray Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry at High Mass Resolution. *Int. J. Mass Spect.* 231, 157-167.
- [60] Bresson J.A., Anderson G.A., Bruce J.E., Smith R.D., 1998. Improved Isotopic Abundance Measurements for High Resolution Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectra via Time-Domain Data Extraction. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 9, 799-804.
- [61] Gorączko A.J., 2006. Modeling of isotopomeric molecular clusters in electron ionisation mass spectra. *Materiały Konferencji "Modeling and Design of Molecular Materials"*, Wrocław, s. 13.
- [62] Zheng P., Harrington P.B., Craig A., Fleming R., 1995. Variable alignment of high resolution data by cluster analysis. *Anal. Chim. Acta*, 310, 485-492.
- [63] Jurs P.C., Kowalski B.R., Isenhour T.L., 1969. Computerized learning machines applied to chemical problems – Molecular formula determination from low resolution MS. *Anal. Chem.* 41, 21-26.

- [64] Beynon J.H., Saunders R.A., Williams A.E., 1968. The mass spectra of organic molecules. Elsevier Amsterdam, a) s. 388, b) s. 376, c) s. 374.
- [65] Płaziak A., 1997. Spektrometria masowa związków organicznych. Wyd. UAM Poznań, s. 100.
- [66] Gorączko A.J., 2007. Modeling of isotopomeric molecular clusters in electron ionisation mass spectra. *J. Mol. Model.* 13, 813-821.
- [67] Rockwood A.L., van Orman J.R., Dearden D.V., 2004. Isotopic compositions and accurate masses of single isotopic peaks. *J. Am. Soc. Mass Spec.* 15, 12-21.
- [68] Rockwood A.L., Haimi P., 2006. Efficient calculation of accurate masses of isotopic peaks. *J. Am. Soc. Mass Spec.* 17, 415-419.
- [69] Zampronio C.G., Moreae L.A.B., Eberlin M.N., Poppi R.J., 2001. Multivariate curve resolution applied to MS/MS data obtained from isomeric mixtures. *Anal. Chim. Acta* 446, 495-502.
- [70] Hilmer R.M., Taylor J.W., 1974. Chemical information from computer-processed high resolution mass spectral data. Correction of intensities and conversion from isotopic species to equivalent chemical species. *Anal. Chem.* 46, 1038-1044.
- [71] Blom K.F., 1998. Utility of peak shape analyses in determining unresolved interferences in exact mass measurements at low resolution. *J. Am. Soc. Mass Spec.* 9, 789-798.
- [72] Becker J.S., 2007. Inorganic mass spectrometry. Appendix I, J. Wiley Chichester, 463-469.
- [73] IUPAC Compendium of Chemical Terminology – the Gold Book, 2005-2007, <http://goldbook.iupac.org>
- [74] IUPAC Technical Report, 2002. Isotope-abundance variations of selected elements, *Pure Appl. Chem.* 74, 2002, 1987-2017.
- [75] Suess H., Urey H., 1956. Abundances of the Elements. *Reviews of Modern Physics* 28, s. 53.
- [76] Hansen M.E., Smedsgaard J., 2004. A new matching algorithm for high resolution mass spectra. *J. Am. Soc. Mass Spec.* 15, 1173-1180.
- [77] C₁₆H₁₆W₂ – NIST-2000, # 63693, D. Henneberg Max-Planck Institute, Mulheim, Germany.
- [78] Jurs P.C., 1971. Machine Intelligence Applied to Chemical Systems. Prediction and Reliability Improvement in Classification of Low Resolution Mass Spectrometry Data. *Anal. Chem.* 43, 22-26.
- [79] Nalimov V.V., 1972. Reinstoffe Wissenschaftliche Technologie Symposium-berichte, 1970. University of Dresden (edited Berlin 1972), s. 47.
- [80] Gorączko A.J., Kucybała Z., Pączkowski J., 2002. 3-Methyl-1-phenyl-1H-pyrazolo[3,4-b]quinoxalines: Mass spectral studies of new bidentate ligands. XVII-th International Symposium “Ars Separatoria”, Złoty Potok, Poland.

- [81] Kolehmainen E., Kucybala Z., Gawinecki R., Paczkowski J., Kacala A., 1999. Unequivocal determination of isomeric products of reaction between 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazoline-4,5-dione and aromatic diamines. *Tetrahedron* 55, 8475-8480.
- [82] Kucybala Z., Pyszka I., Paczkowski J., 2000. Development of new dyeing photoinitiators for free radical polymerisation based on the 1H-pyrazolo[3,4b]-quinoxaline skeleton. Part. 2, *Perkin* 2, 1559-1567.
- [83] Horiguchi T., Tachibana T., Yamada M., Vola V.E.Jr., Seaborg G.T., 2004. Values of abundances of stable nuclides, [www chart of the nuclides 2004, www.ndc.jaea.go.jp/CN03/index.html](http://www.chartofnuclides.org/)
- [84] Lochmuller C.H., Breiner S.J., 1993. Confirmation of detected species using Kovats indices and very low resolution spectrometry correlation analysis. *Computer-enhanced Analytical Spectroscopy* Wilkins C.L. ed. 4, 187-215.
- [85] Gorączko A.J., 2008. Moving of the most abundant peak in isotopomeric cluster – the common source of mass spectra interpretation errors. *Conference of Polish Mass Spectrometry Society, Puławy, Poland, Acta Bioch. Pol.* 55, Supl. 2, 10-11.
- [86] $C_{12}H_{10}Zn$ – NIST-2000, #63505, CAS # 1078685, D. Henneberg Max-Planck Institute, Mulheim, Germany.
- [87] Danzer K., Than E., Molch D., 1980. *Analityka – ustalenie składu substancji*. WNT Warszawa, s. 53.
- [88] Fagerquist C.K., Neese R.A., Hellerstein M.K., 1999. Molecular ion fragmentation and its effects on mass isotopomer abundances of fatty acid methyl esters ionised by electron impact. *J. Am. Soc. Mass Spect.* 10, 430-439.
- [89] $C_{24}H_{12}Se_3$ – NIST-2000 # 112461, CAS # 107210822, Egestad B., Dept. Physiol. Chem., Karolinska Inst. Stockholm, Sweden (VG Micromass 7070).
- [90] Hertz H.E., Hites R.A, Biemann K., 1971. Identification of mass spectra by computer searching a files of known spectra. *Anal. Chem.* 43, 681-691.
- [91] Barshick C.M., Duckworth D.C., Smith D.H., 2000. *Inorganic Mass Spectrometry, Fundamentals and Application*. M. Decker New York.
- [92] deLaeter J.R., 2001. *Application of inorganic mass spectrometry*. J. Wiley Chichester, s. 339.
- [93] Kapała J., 2006. The interpretation of mass spectra of inorganic molecules. *Int. J. Mass Spect.* 251, 59-65.
- [94] Gorączko A.J., 2004. Prediction of the most abundant peak location in isotopomeric clusters of the elements forming organic compounds. *Materiały Konferencji "Modelling and Design of Molecular Materials"*, Wrocław, s. 7.
- [95] Silverstein R.M., Bassler G.C., 1976. *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*. PWN Warszawa, s. 15.
- [96] Szafran M., Dega-Szafran Z., 1988. *Określanie struktury związków organicznych*. PWN Warszawa.

- [97] Beynon J.H., 1960. Mass spectrometry and its application to organic chemistry. Elsevier Amsterdam.
- [98] Hsu Ch.S., 1984. Diophantine approach to isotopic abundance calculations. *Anal. Chem.* 56, 1356-1361.
- [99] C₄₅H₆₆N₈O₁₂, NIST-08, CAS # 36261-15-1; NIST # 28202; ID # 13915.
- [100] C₁₂O₁₂Os₃ – NIST-2000 # 18778, CAS # 15696409, Johnson B.F.G., Dept. Chem., Univ. Manchester, UK, (AEI/GEC MS-9).
- [101] Britto-Nero J.G.A., doLago C.L., 2002. Determination of atomic isotope patterns from mass spectra of molecular ions containing multiple polyisotopic elements. *Int. J. Mass Spectr.* 216, 95-113.
- [102] Gorączko A.J., Szymura J.A., 2001. Multiisotopic modelling of mass spectra: a procedure for verification at the fragmentation hypothesis for the organometallic and coordination compounds. *Comput. Chem.* 25, 559-568.
- [103] DeLaeter J.R., Heumann K.G., Rosman K.J.R., 1991. Isotopic compositions of the elements 1989. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 20, 1327-1337.
- [104] Scrivens J.H., Jackson A.T., 2000. Characterisation of synthetic polymer systems. *Int. J. Mass Spectr.* 200, 261-276.
- [105] Jackson C.A., Simonsick W.J.Jr., 1997. Application of mass spectrometry to the characterization of polymers. *Curr. Opin. Solid Stat. Mater. Sci.* 2, 661-667.
- [106] Qiao K., Fischer R.D., Paolucci G., 1993. Metal-bridging Versus Chelating Me₂Si(C₅H₄)₂ Ligands in Dinuclear Complexes: III. Mass spectrometry of organo-rare earth (M+Y, Yb) hydrides. *J. Organomet. Chem.* 456, 185-190.
- [107] Yamakawa K., Hisatome M., Sako Y., Ichida S., 1975. Organometallic compounds XVII Benzoylation of biferrocene and some transformation reactions of the benzoyl derivatives. *J. Organomet. Chem.* 93, 219-230.
- [108] C₁₄H₁₆Mo – NIST-2000 # 156597, CAS # 12131225, Chemical Concepts (Varian MAT-311A).
- [109] C₁₂H₂₀Mo₂ – NIST-2000 # 63747, CAS # 12318773, Henneberg D., Max-Planck Institute, Mulheim, West Germany.
- [110] C₇H₅NTe – NIST-2000 # 72623, CAS # 67834439, Renon M., Inst. Org. Chem., Univ. Liege, Belgium (Varian MAT-112).
- [111] C₁₈H₂₂Te₂ – NIST-2000 # 159897, CAS # 92720462, Chemical Concepts, (311^a).
- [112] C₄H₆N₂Se – NIST-2000 # 90624, CAS # 17505123, Pedersen C.L., Dep. Gen. Org. Chem., Univ. Copenhagen, Denmark (AEI MS-902).
- [113] C₁₀H₆OSe₂ – NIST-2000 # 29931, CAS – 40197975, O7-1239 (LKB 9000 GC/MS).
- [114] Croisy A., Jacquignon P., Christiaens L., 1975. Spectrometrie de masse d'heterocycles selenies. IV. Comportment de quelques benzo[b]selenophenes 2,3-disubstitues. *Org. Mass Spectrom.* 10, 1084-1101.
- [115] C₁₀H₁₂Se₄ – NIST-2000 # 115704, CAS # 55259499, Majsce A., AT&T Bell Labs., Murray Hill, New York, USA, MUS178.

- [116] C₈H₁₂Se₆ – NIST-2000 # 42520, CAS # 25133486, Ryhage R., Ms-Lab Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden (LKB 9000 GC/MS).
- [117] Gorączko A.J., Pasma izotopomerowe agregatu monopierwiastkowego. Praca złożona w redakcji Wiadomości Chemicznych.
- [118] Se₈ Selenium, NIST-2000 # 158071, CAS # 12597330, Chemical Concepts (Varian MAT-311A).
- [119] Crawford L.R., 1972/73. A general calculation of the ionic formulae and monoisotopic spectrum of low resolution mass spectra. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* 10, 279-292.
- [120] Dombek B.D., Lowther J., Carbery J., 1971. A computer program for the prediction of mass spectrum isotope peaks. *J. Chem. Educ.* 48, 729-734.
- [121] Varmuza K., Krenmayr P., 1972. Berechnung von Isotopen peak intensitäten in massenspektren. *Monatsh. Chem.* 103, 1055-1063.
- [122] Brownabell M.L., San Filippo J.Jr., 1982. A program for the synthesis of mass spectral isotopic abundances. *J. Am. Chem. Soc.* 59, 663-665.
- [123] Rockwood A.L., van Orden S.L., Smith R.D., 1995. Rapid calculation of isotope distributions. *Anal. Chem.* 67, 2699-2704.
- [124] de Bievre P., Taylor P.D.P., 1993. UPAC Recommended Isotopic Abundances. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* 123, 149-159.
- [125] Varmuza K., 2000. Chemical structure information from mass spectrometry. *Encycl. spectrosc. spectrom.* 232-243.
- [126] Carrick A., Glockling F., 1970. Mass and abundance data for polyisotopic elements. *J. Chem. Soc. A*, 40-42.
- [127] Braumann J., 1966. Last squares analysis and simplification of multi-isotope mass spectra. *Anal. Chem.* 30, 607-609.
- [128] Deming N.S., Morgan S.L., 1973. Simplex optimization of variables in analytical chemistry. *Anal. Chem.* 45, 278A-282A.
- [129] IUPAC, Isotopic compositions of the elements 1989, *Pure & Appl. Chem.* 63, 1991, 991-1002.
- [130] Hippe Z.S., Kerste A., Varmuza K., 2001. A new approach to application of the pattern recognition methods in analytical chemistry: IV. Automatic identification of structural fragments on organic compounds. *Chem. Anal.* 46, 735-743.
- [131] Mattson B., Carberry E., 1973. New Program for the Calculation of Mass Spectrum Isotope Peaks. *J. Chem. Educ.* 50, 511-515.
- [132] Schmidt W.M., 2000. Diophantine approximations and Diophantine equations. *Lecture Notes in Mathematics.* Springer-Verlag Berlin.
- [133] Juliano V.F., Gozzo F.C., Eberlin M.N., Kascheres C., do Lago C.L., 1996. Fast multidimensional (3D, 4D) MS² and MS³ scans in a high-transmission pentaquadrupole mass spectrometer. *Anal. Chem.* 68, 1328-1334.
- [134] Moraes M.C.B., Brito Neto J.G.A., Juliano V.F., do Lago C.L., 1998. Eliminating the interference of M-nH ions in isotope patterns from low-resolution mass spectra. *Int. J. Mass Spectr.* 178, 129-132.

- [135] Rockwood A.L., van Orden S.L., 1996. Ultrahigh-speed calculation of isotope distributions. *Anal. Chem.* 68, 2027-2030.
- [136] Rockwood A.L., Kushnir M.M., Nelson G.J., 2003. Dissociation of individual isotopic peaks: Predicting isotopic distributions of product ions in MSⁿ. *J. Am. Soc. Mass Spec.* 14, 311-322.
- [137] Gorączko A.J., 1994. Modelowanie pasma molekularnego związków metaloorganicznych i koordynacyjnych. Proc. of III-th International Conference „Computers in Chemistry ‘94”, Wrocław, s. 33.
- [138] Kapała J., 1996. Symulacja widm masowych związków nieorganicznych. Materiały Konferencji „Komputery w Chemii ‘96”, Polanica, s. 29.
- [139] Gorączko A.J., 1996. Modelowanie pasma molekularnego związków metaloorganicznych i koordynacyjnych. IV Konferencja „Komputery w Chemii ‘96”, Polanica Zdrój, s. 20.
- [140] Kapała J., informacja prywatna.
- [141] Szymura J.A., Lamkiewicz J., 2003. Band composition analysis: a new procedure for deconvolution of the mass spectra of organometallic compounds. *J. Mass Spec.* 38, 817-822.
- [142] Stein S.E., Roumantsev A.K. – Isotope Calculator – ISOFORM 1.02,
- [143] Senko M.W. – Isotopic Abundance Simulator – ISOPRO ver. 3.
- [144] Monroe M. – Molecular Weight Calculator – MWT Dec. 19.1999
- [145] Lamkiewicz J., GMB-HM – program modelujący pasma izotopomerowe polimerów, dane niepublikowane.
- [146] Lamkiewicz J., Baza wzorów – program generujący wzory jonów fragmentacyjnych, dane niepublikowane.
- [147] Gorączko A.J., Suma pasm – program modelujący złożone pasma izotopomerowe jonów mas, dane niepublikowane.
- [148] Szczepaniak W., Plaziak A.S., 1981. Mass spectrometry of dialkyldithiophosphates. II. Fragmentation of Co(II), Zn(II) and Cd(II) di-n-alkyldithiophosphate complexes upon electron impact. Thermal decomposition occurring in MS spectrometr while recording EIMS data of divalent. *Pol. J. Chem.* 55, 2289-2298.
- [149] Meller A., Ossko A., 1972. Phtalocyanartige bor-komplexe. *Monatsh. Chem.* 103, 150-155.
- [150] Gorączko A.J., Szymura J.A., 2000. Dehydrogenation processes and molecular clusters in mass spectra of organometallic and coordination compounds. *Comput. Chem.* 24, 585-594.
- [151] Gorączko A.J., 2009. Prediction of the doubly-charged ion pattern by modeling the high- and low-resolution mass spectra of isotopomeric forms. *J. Mol. Model.* 15, 759-764.
- [152] McLafferty F.W., Turecek F., 1993. Interpretation of Mass Spectra. University Science Books, Mill Valley, California, s. 36.
- [153] Isotopic Abundances of the Elements Scientific Instrument Services, Inc MS Tools, <http://www.sisweb.com/mstools.htm>

- [154] Platzner I.T., Walder A.J., Habfast K., Goetz A., 1997. *Modern Isotope Ratio Mass Spectrometry*. J. Wiley London.
- [155] Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle D.J., 2007. *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*. PWN Warszawa.
- [156] Davis R., Frearson M., 1984. *Mass spectrometry (analytical chemistry by open learning)*, ACOL, J. Wiley Chichester, s. 42.
- [157] Chapman J.R., 1993. *Practical organic mass spectrometry. A guide for chemical and biochemical analysis*. II ed., J. Wiley Chichester, s. 182.
- [158] McLafferty F.W., Turecek F., 1993. *Interpretation of Mass Spectra*. University Science Books, Mill Valley, California, 19-25.
- [159] Wolberg J., 2005. *Data analysis using the method of least squares: Extracting the most information from experiments*. Springer Verlag New York.
- [160] Hooke E., Jeeves T.A., 1961. Direct search & quot; solution of numerical and statistical problems. *J. Assoc. Comp. Mach.* 8, 212-229.
- [161] C₈H₇NSe – NIST-2000 # 44484, CAS # 55108571, Croisy A., Jacquignon P., Pirson P., Christiaens L., 1974. *Spectrométrie de Masse D'hétérocycles Sélénisés. III. Etude de la Fragmentation de Quelques Selenolo[2, 3-b]Pyridines*. *Org. Mass Spect.*, 970-980 (AEI MS-9).
- [162] C₂H₁₀Ge₂ – NIST-2000 # 37913, CAS # 20549659, Pinson J.W., Univ. of Miss. Hattiesburg, Miss. (DuPont 24-490).
- [163] C₃H₆HgN₄ – NIST-2000 # 53863, CAS # 502396, Freudenthal J., Gramberg L.G., *Catalogue of mass spectra of pesticides*, April 1975, Nat. Inst. of Public Health, the Netherlands (Varian MAT CH-5).
- [164] C₇H₅NSe – NIST-2000 # 44482, CAS # 39835864, Croisy A., Jacquignon P., Pirson P., Christiaens L., 1974. *Spectrométrie de Masse D'hétérocycles Sélénisés. III. Etude de la Fragmentation de Quelques Selenolo[2, 3-b]Pyridines*. *Org. Mass Spect.*, 970-980 (AEI MS-30).
- [165] C₈H₁₂Se – NIST-2000 # 34071, CAS # 25128487, IS3-2542 (AEI MS-30).
- [166] C₈H₇NSe – NIST-2000 # 8776, CAS- 40193439, O6-1327-5
- [167] C₈H₇NSe – NIST-2000, CAS # 30697166, # 26296, Buu-Hoi N.P., *Inst. Nat. Chem. Subs. Gif sur Yvette, France* (AEI MS-9).
- [168] C₈H₇NSe – NIST-2000 # 44485, CAS # 55108560, Croisy A., Jacquignon P., Pirson P., Christiaens L., 1974. *Spectrométrie de Masse D'hétérocycles Sélénisés. III. Etude de la Fragmentation de Quelques Selenolo[2, 3-b]Pyridines*. *Org. Mass Spect.*, 970-980 (AEI MS-9).
- [169] C₁₀H₇N₂OSe – NIST-2000 # 54679, CAS- 39814130, Croisy A., Jacquignon P., Christiaens L., 1975. *Spectrometrie de Masse D'heterocycles selenies. IV. Comportement de quelques benzo[b]selenophenes 2,3-disubstitues*. *Org. Mass Spect.*, 1084-1101 (LKB 9000 GC/MS).
- [170] C₇H₁₈Ge₂ – NIST-2000 # 12189, CAS # 35839715, O6-311-3.
- [171] C₁₃H₉NSe – NIST-2000 # 12595, CAS # 32586688, O6-1330-6.
- [172] C₁₄H₈N₂Se – NIST-2000, CAS # 219409, # 13411, T67-2732.

- [173] $C_{15}H_{11}NSe$ – NIST-2000 # 72446, CAS # 68090051, Cohen V.I., 38, Modaber Ave., Teheran, Iran (Varian MAT CH-7A).
- [174] C_9H_5BrOSe – NIST-2000 # 54683, CAS - 26581533, Croisy A., Jacquignon P., Christiaens L., 1975. Spectrometrie de Masse D'heterocycles selenies. IV. Comportement de quelques benzo[b]selenophenes 2,3-disubstitues. *Org. Mass Spect.*, 1084-1101 (LKB 9000 GC/MS).
- [175] $C_{12}H_{12}O_2SSe$ – NIST-2000 # 101090, CAS # 71740028, Zolotarev B.M., Inst. Org. Khim., Zelinski N.D., Moscow, Russia (Varian MAT CH-7A).
- [176] $C_8H_{14}Pt$ – NIST-2000 # 63729, CAS # 63817367, Henneberg D., Max-Planck Institute, Mulheim, Germany.
- [177] $C_{11}H_{24}GeSe$ – NIST-2000 # 48192, CAS # 18438012, Djerassi C., Dept. Chem., Stanford Univ., California, USA (DuPont CEC-103).
- [178] $C_{18}H_{18}Cr_2$ – NIST-2000 # 63183, CAS # 85116514, Henneberg D., Max-Planck Institute, Mulheim, Germany.
- [179] CH_3IHg – NIST-2000 # 15191, CAS # 143362, S24-2351-3.
- [180] $C_{18}H_{36}N_2S_4Zn$ – NIST-2000 # 121501, CAS - N/A, Zamecnik J., DCIEM, North York, Canada, GP Library.
- [181] $C_{26}H_{28}CdN_2O_2$ – NIST-2000 # 18209, CAS # 15685800, O3-0712-6.
- [182] Gorączko A.J., Isotopomeric analysis of molecular mass clusters of simple germane hydrides. *Praca złożona w redakcji J. Am. Soc. Mass Spectrom.*
- [183] Ge_4H_{10} – NIST-2000 # 37397, CAS # 14691475, Pinson J.W., Univ. of Miss. Hattiesburg, Miss., USA (DuPont CEC 24-490).
- [184] Ge_2H_6 – Wiley MS-Library 138k #14864.
- [185] Ge_3H_8 – NIST-2000 # 37328, CAS # 14691442, Pinson J.W., Univ of Miss. Hattiesburg, Miss., USA (DuPont CEC 24-490).
- [186] Ge_5H_{12} – NIST-2000 # 37310, CAS # 15587390, Pinson J.W., Univ of Miss. Hattiesburg, Miss., USA (DuPont CEC 24-490).
- [187] Chambreau S.D., Zhang J., 2002. GeH_x ($x = 0-3$) and Ge_nH_x ($n = 2-7$) in flash pyrolysis of GeH_4 . *Chem. Phys. Lett.* 351, 171-177.
- [188] Grev R.S., Schaefer H.F., 1992. Rearrangement barriers in doubly bonded germanium compounds. *Organomet.* 11, 3489-3492.
- [189] Trinquier G., 1990. Double bonds and bridged structures in heavier analogues of ethylene. *J. Am. Chem. Soc.* 112, 2130-2137.
- [190] Suder P., Silberring J., 2006. *Spektometria mas.* Wyd. UJ Kraków.
- [191] $C_{10}H_4Cl_6Fe$ – NIST-2000 # 39896, CAS # 33306557, Smithson L.D., Bhattacharya A.K., Hedberg F.L. (DuPont CEC 21-110B).
- [192] Smithson L.D., Bhattacharya A.K., Hedberg F.L., 1970. The mass spectra of polychlorinated ferrocenes. *Org. Mass Spectr.* 4, 383-393.
- [193] Yamakawa K., Monroe M., 1974. Organometallic compounds XVI Synthesis of trans-1,2-diferrocenylethylene. *Chem. Pharm. Bull.* 22, 709-711.
- [194] Gingerich K.A., Sai Baba M., Schmude R.W., Kingcade J.E.Jr., 2000. Atomization enthalpies and enthalpies of formation of Ge_3 and Ge_4 by Knudsen effusion mass spectrometry. *Chem. Phys.* 262, 65-74.

- [195] Gingerich K.A., Schmude R.W., Sai Baba M., Meloni G., 2000. Atomization enthalpies and enthalpies of formation of the germanium clusters, Ge₅, Ge₆, Ge₇ and Ge₈ by Knudsen effusion mass spectrometry. *J. Chem. Phys.* 112, 7443-7447.
- [196] Hamming M.C., Foster N.G., 1972. Interpretation of mass spectra of organic compounds. Academic Press New York – London, s. 55.
- [197] Praca zbiorowa, 1978. Awtomatyzacja obróbki mass-spektrometrycznej informacji. Energija Moskwa, s. 144.
- [198] C₁₆H₃₆O₄P₂S₄Zn – MS-Base HP-NBS-75k # 59993, NIST-2000 # 98903, Płaziak A.S. (JEOL MS D-100).
- [199] Dantzer K., Than E., Molch D., Kuchler L., 1993. *Analityka, Przegląd systematyczny*. WNT Warszawa.
- [200] Hamming M.C., Foster N.G., 1972. Interpretation of mass spectra of organic compounds. Academic Press New York – London, s. 222.
- [201] Senko M.W., Speir J.P., McLafferty F.W., 1994. Collisional activation of large multiply charged ions using Fourier transform mass spectrometry. *Anal. Chem.* 66, 2801-2808.
- [202] Marquis-Rigault A., Dupont-Gervais A., Baxter P.N.W., van Dorsselaer A., Lehn J.-M., 1996. Self-assembly of an 11-component cylindrical inorganic architecture: electrospray MS and thermodynamic studies. *Inorg. Chem.* 35, 2307-2310.
- [203] Takayama M., 1995. Formation of M⁺ ions and electronic excitation under FAB conditions by using a liquid matrix. *J. Am. Soc. Mass Spec.* 6, 114-119.
- [204] Bignozzi C.A., Bortolini O., Curcuruto O., Hamdan M., 1995. Electrospray and fast ion bombardment of mixed-valence polynuclear complexes based on M(bypy)₂ (M = Ru, Os) and Ru(NH₃)₃ units. *Inorg. Chim. Acta* 233, 113-118.
- [205] Staab H.A., 1966. *Wstęp do teoretycznej chemii organicznej*. PWN Warszawa.
- [206] Little D.P., Speir P.J., Senko M.W., O'Connor P.B., McLafferty F.W., 1994. Infrared multiphoton dissociation of large multiply charged ions for biomolecule sequencing. *Anal. Chem.* 66, 2809-2815.
- [207] Basioli F., Fiegele T., Mair C., Senn G., Matt S., David R., Sonderegger M., Stamatovic A., Schier P., Mark T.D., 1999. Spontaneous and induced dissociation of singly and multiply charged fullerene ions. *Int. J. Mass Spectr.* 192, 267-280.
- [208] Kemmitt T., Henderson W., 1997. Dendrimeric silatrane wedges. *Perkin* 1, 729-739.
- [209] Boschi T., D'Arcangelo G., Tagliatesta P., 1995. FAB-MS observations on b-pyrrole-substituted tetraphenylporphyrins. *J. Chem. Res.* 326-327.
- [210] Lee M.-R., Liou S.-T., Cheng R.-J., 1997. Study of adduct ions of meso-phenyl-substituted tetrabenzoporphyrins by FAB-MS. *J. Am. Soc. Mass Spectr.* 8, 62-67.

- [211] Charboniere L.J., Williams A.F., Frey U., Merbach A.E., Kamalaprjia P., Schaad O., 1997. A comparison of the lability of mononuclear octahedral and dinuclear triple-helical complexes of cobalt(I). *J. Am. Chem. Soc.* 119, 2488-2496.
- [212] Vekey K., 1995. Multiply charged ions. *Mass Spectr. Rev.* 14, 195-225.
- [213] Gorączko A.J., Szewczykowska K., 2009. Detection of symmetrical decomposition of the molecules – isotopomeric analysis of the $M/2$ clusters. *J. Mol. Model.* 15, 747-758.
- [214] Lamkiewicz J., 2006. Analiza widm niskorozdzielczej spektrometrii mas związków metaloorganicznych z wykorzystaniem wspomagania komputerowego. Rozprawa doktorska (praca niepublikowana).
- [215] $C_{24}H_{24}W_2$ – NIST-2000 # 63963, CAS N/A, Henneberg D., Max-Planck Institute, Mulheim, Germany.
- [216] $C_{20}H_{30}Cl_2Cr_2$ – NIST-2000 # 158574, CAS N/A, Chemical Concept (Varian MAT-311^a).
- [217] $C_{10}H_{16}Se_4$ – NIST-2000 # 42519, CAS 25133-47-5, Ryhage R., MS-Lab. Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden (LKB 9000 GC/MS).
- [218] $C_{26}H_{26}Zr_2$ – NIST-2000 # 159846, CAS N/A, Chemical Concept (Varian MAT-311A).
- [219] Johnstone R.A.W., Rose M.E., 2001. Spektrometria mas. PWN Warszawa, s. 56, a) ss. 1-3.
- [220] Eight Peak Index of Mass Spectra, 1991. 4th Edition, Royal Chemical Society London.
- [221] Gross J.H., 2004. Mass Spectrometry: A Textbook. Springer Verlag Berlin, s. 68.
- [222] Kowalski B.R., Jurs P.C., Isenhour T.L., Reilley C.N., 1969. Computerized learning machines applied to chemical problems. Multicategory pattern classification by least squares. *Anal. Chem.* 41, 695-700.
- [223] Damo Ch., Dachun Ch., Teshu K., Shaoyu Ch., 1981. An artificial intelligence system for computer-aided mass spectra interpretation of saturated aliphatic monohydric alcohols. *Anal. Chim. Acta* 133, 575-581.
- [224] Blaisdell B.E., Gates S.C., Martin F.E., Sweeley C.C., 1980. Comparison of two methods of detection, determination, and library search of the substances present in gas chromatography-mass spectrometry data. *Anal. Chim. Acta* 117, 35-43.
- [225] Domokos L., Henneberg D., Weimann B., 1983. Optimization of search algorithms for a mass spectra library. *Anal. Chim. Acta* 150, 37-44.
- [226] Martz R.M., Laswell L.D., 1983. Proc. Int. Symp. Analysis and Detection of Explosives, Quantico, Virginia, s. 245.
- [227] INCOS – McLafferty F.W., Zhang M-Y., Stauffer D.B., Loh S.Y., 1998. Comparison of algorithms and databases for matching unknown mass spectra. *J. Am. Soc. Mass Spec.* 9, 92-95.

- [228] SIDAR – Raffaelli A., Bruins A.P., 2005. Data transfer from a DEC PDP-11 based mass spectrometry data station to an MS-DOS personal computer. *Rapid Comm. Mass Spec.* 6, 582-584.
- [229] Gray N.A.B., Buchs A., Smith D.H., Djerassi C., 1981. Computer assisted structural interpretation of mass spectral data. *Helv. Chim. Acta* 64, 458-470.
- [230] Figueras J., 1983. Interactive fragment display program for interpretation of mass spectra. *Anal. Chim. Acta* 146, 29-35.
- [231] Dromey R.G., Steflik M.J., Rindfleisch T.C., Duffield A.M., 1976. Extraction of mass spectra free of background and neighboring component contributions from gas chromatography/mass spectrometry data. *Anal. Chem.* 48, 1368-1375.
- [232] Biller J.E., Biemann K., 1974. Reconstructed Mass Spectra. A Novel Approach for the Utilization of Gas Chromatograph – Mass Spectrometer Data. *Anal. Lett.* 7, 515-528.
- [233] Lebedev K.S., Tormyshev V.M., Derendyaev B.G., Koptuyug V.A., 1981. A computer search system for chemical structure elucidation based on low-resolution mass spectra. *Anal. Chim. Acta* 133, 517-525.
- [234] C₁₀H₁₄Cl₂O₄Sn – NBS-75K MS-Library, # 52847, NIST-2000 # 37642, CAS # 16919656, Davis R., Kingston, UK (AEI/GEC MS-9).
- [235] C₂₄H₅₄SeSi₃ – NBS-75K MS-Library, # 59110, NIST-2000# 102935, CAS # 93194151, Weidenbruch M. (Oldenburg, Germany) (Varian MAT-211).
- [236] McNaught A.D., Wilkinson A., 1997. *Compendium of Chemical Terminology*. II ed., Blackwell Science, IUPAC Gold Book.
- [237] International Union of Pure and Applied Chemistry, „isotopomer”, *Compendium of Chemical Terminology*, Internet edition.
- [238] Mills I., Cvitas T., Homann K., Kallay N., Kuchitsu K., 1993. *Quantities, units and symbols in physical chemistry*. Blackwell Sci. Publications, Oxford – New York, IUPAC Green Book.
- [239] IUPAC Mass Spectrometry Nomenclature, Trent University, Institute for Mass Spectrometry,
<http://www.trentu.ca/academic/tuims/MSTERMS.htm>
- [240] Crook R.G., Rockwood A.L., 1991. The ‘Thomson’. A suggested unit for mass spectroscopists. *Rapid Com. Mass Spect.* 5, 93.

Programy obsługujące biblioteki widm

SEQUEST – Eng J.K. et al., 1994. Analysis of the an approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. *JASMS* 53(1), 186. doi:10.2307/2059567.

Mascot – David N. Perkins, Darryl J.C. Pappin, David M. Creasy, John S. Cottrell, Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data. *Electrophoresis* 18(20), 3551-3567.

X!Tandem – X! Tandem Project. The Global Proteome Machine Organization. <http://www.thegpm.org/TANDEM/index.html>. Retrieved 2009-10-21; X! series search engine file format (PDF), GPM Documents.

X!!Tandem – X!!Tandem. <http://wiki.thegpm.org/wiki/X!!Tandem> Retrieved 2009-11-16.

Parallel Tandem – Dexter Duncan, Andrew Link, Vanderbilt University School of Medicine. Parallel Tandem Project. The Global Proteome Machine Organization. <http://www.thegpm.org/parallel/>. Retrieved 2009-11-16.

Phenyx – Colinge J., Masselot A., Giron M., Dessingy T., Magnin J., 2003. OLAV: towards high-throughput tandem mass spectrometry data identification. *Proteomics* 3(8), 1454-1463. doi:10.1002/pmic.200300485.

OMSSA – <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/omssa/>; Geer L.Y., Markey S.P., Kowalak J.A., Wagner L., Xu M., Maynard D.M., Yang X., Shi W., Bryant S.H., 2004. Open mass spectrometry search algorithm. *J. Proteomics Res.* 3(5), 958-964. doi:10.1021/pr0499491.

MyriMatch – <http://fenchurch.mc.vanderbilt.edu/lab/software.php>; David L. Tabb, Christopher G. Fernando, Matthew C. Chambers, 2007. MyriMatch: Highly Accurate Tandem Mass Spectral Peptide Identification by Multivariate Hypergeometric Analysis. *J. Proteomics Res.* 6(2), 654-661. doi:10.1021/pr0604054.

greylag – greylag: software for tandem mass spectrum peptide identification. <http://greylag.org/>. Retrieved 2009-11-16.

ByOnic – http://en.wikipedia.org/wiki/Mass_spectrometry_software – cite_ref-parc_14-0 PARC Automated Mass Spec. Palo Alto Research Center Incorporated <http://bio.parc.xerox.com/>. Retrieved 2009-11-16.

PARC – Marshall Bern, Yuhan Cai, David Goldberg, 2007. Lookup Peaks: A Hybrid of de Novo Sequencing and Database Search for Protein Identification by Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 79(4), 1393-1400. doi:10.1021/ac0617013 .

ComByne – Marshall Bern, David Goldberg, 2008. Improved Ranking Functions for Protein and Modification-Site Identifications. *J. Comput. Biol.* 15(7), 705-719. doi:10.1089/cmb.2007.0119.

InsPecT – Inspect and MS-Alignment.

<http://proteomics.ucsd.edu/Software/Inspect.html>. Retrieved 2009-11-16.

SIMS – Liu J. et al., 2008. Sequential Interval Motif Search: Unrestricted Database Surveys of Global MS/MS Data Sets for Detection of Putative Post-Translational Modifications. *Anal. Chem.*

EMILILAB TOOLS.

<http://emililab.med.utoronto.ca/http://emililab.med.utoronto.ca/>. Retrieved 2009-11-16.

Programy obliczeń de novo

DeNoS – Savitski M.M., Nielsen M.L., Kjeldsen F., Zubarev R.A., 2005. Proteomics-Grade De Novo Sequencing Approach. *J. Proteomics Res.* 4(6), 2348-2354.

MedicWave PAS

PEAKS – Bin Ma, Kaizhong Zhang, Christopher Hendrie, Chengzhi Liang, Ming Li, Amanda Doherty-Kirby, Gilles Lajoie, 2003. PEAKS: Powerful Software for Peptide De Novo Sequencing by MS/MS. *Rapid Comm. Mass Spectr.* 17(20), 2337-2342.

Lutefisk Lutefisk – de novo MS/MS Sequencing. J. Alex Taylor, <http://www.hairyfatguy.com/Lutefisk/>. Retrieved 2009-11-16.

SPIDER – Yonghua Han, Bin Ma, Kaizhong Zhang, 2005. SPIDER: Software for Protein Identification from Sequence Tags Containing De Novo Sequencing Error, *Journal of Bioinformatics and Computational Biology* 3(3), 697-716; Bin Ma et al., 2007. Search for the Undiscovered Peptide; Using de novo sequencing and sequence tag homology search to improve protein characterization, *Biotech. J.* 42(5).

PEAKS: SPIDER (Sequence Homology Search Tool)

BLAST

SPIDER

Inne programy

Medicwave Bioinformatics Suite (MBS)

PROTRAWLER

REGATTA

VIPER and Decon2LS – Monroe M.E. et al., 2007. Analysis of the VIPER: an advanced software package to support high-throughput LC-MS peptide identification. *Bioinformatics* 23(15), 2021. doi:10.1093/bioinformatics/btm281.

OpenMS / TOPP – OpenMSt. <http://www.openms.de>. Retrieved 2009-11-16.

OpenMS and TOPP

Mass Frontier

massXpert – Filippo Rusconi, Ph.D., ed.,
<http://massxpert.org/userman/pdf/massxpert.pdf> (PDF), massXpert version 2.0.2
 User Manual.

ProteoIQ – Weatherly D.B. et al., 2005. A Heuristic Method for Assigning a False-discovery Rate for Protein Identifications from Mascot Database Search Results. *Molec. Cell. Prot.* 4(6), 762-772; Keller A. et al., 2002. Empirical statistical model to estimate the accuracy of peptide identifications made by MS/MS and database search. *Anal. Chem.* 74(20), 5383-5392; Nesvizhskii A. I. et al., 2003. A statistical model for identifying proteins by tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 75(17), 4646-4658.

PatternLab for proteomics – Carvalho P.C., Fischer J.S.G., Chen E.I., Yates J.R., Barbosa V.C., 2008. PatternLab for proteomics: a tool for differential shot-gun proteomics. *BMC Bioinformatics* 9, 316. doi:10.1186/1471-2105-9-316.

Programy firmowe

Xcalibur (Thermo Fisher Scientific)

MassCenter (JEOL)

MassLynx (Waters Corporation)

TurboMass GC/MS (Perkin Elmer)

MSight: Palagi P.M. et al., 2005. MSight: An image analysis software for liquid chromatography-mass spectrometry. *Proteomics* 5(9), 2381-2384.

Wybrane adresy internetowe związane ze spektrometrią mas

Towarzystwa Spektrometrii Mas

Polska – PTSM	– http://ptsm.ibch.poznan.pl/
Europa	– http://www.bmb.leeds.ac.uk/esms/
Belgia	– http://www.bsms.be/
Francja	– http://www.s fsm.info/
Hiszpania	– http://www.e-seem.org/
Holandia	– http://www.imss.nl/
Irlandia	– http://www.imss.ie/
Niemcy	– http://www.dgms-online.de/
Rosja	– http://www.vmso.ru/en/
Szwajcaria	– http://www.sgms.ch/
Szwecja	– http://www.smss.se/
Wielka Brytania	– http://www.bmss.org.uk/
Włochy	– http://www.cineca.it/hosted/mass.spectrom/

Australia i Nowa Zelandia	– http://www.latrobe.edu.au/www/anzsms/
Brazylia	– http://www.brmas.com.br/index.asp
Chiny	– http://www.cmss.org.cn/
Hongkong	– http://www.hksms.org/about.asp
Indie	– http://www.ismas.org/
Izrael	– http://www.weizmann.ac.il/ISMS/home.html
Japonia	– http://www.mssj.jp/
Kanada	– http://www.csms.inter.ab.ca/
Południowa Afryka	– http://www.up.ac.za/academic/acadorgs/saams/
Singapur	– http://203.174.84.242/cgi1/index_Final.cgi
USA	– http://www.asms.org/default.aspx?tabid=82

Spektrometria mas – dydaktyka

http://en.wikipedia.org/wiki/Mass_spectrometry
[http://goliath.ecnext.com/coms2/gi_0199-187186/Isotopomer-man-Professor Yoshida-Naohiro.html](http://goliath.ecnext.com/coms2/gi_0199-187186/Isotopomer-man-Professor_Yoshida-Naohiro.html)
<http://mass-spec.lsu.edu/wiki/index.php/Home>
http://ww2.icho.edu.pl/MS/UMK/Wyklad_1-2_2007.pdf
<http://www.asms.org/whatisms/p1.html>
<http://www.chemguide.co.uk/analysis/masspecmenu.html#top>
http://www.genomicglossaries.com/content/mass_spectrometry.asp
<http://www.i-mass.com/>
<http://www.ndc.jaea.go.jp/CN04/index.html>

Programy obliczeniowe

<http://chemdata.nist.gov/mass-spc/amdis/>
<http://coco.protein.osaka-u.ac.jp/isotopica/>
<http://ionsource.com/links/programs.htm>
<http://winter.group.shef.ac.uk/chemputer/>
<http://www.chemsw.com/10237.htm>
<http://www.colby.edu/chemistry/NMR/IsoClus.html>
<http://www.wiley.com/legacy/wileychi/ms/msi/mssw.html#share>
<http://www-jmg.ch.cam.ac.uk/tools/magnus/MolWeight.html>

Bazy widm masowych

http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=eng
<http://www.chemsw.com/10237.htm>
<http://www.hdscience.com/home.htm#home>
<http://www.mswil.com/>
<http://www.nist.gov/data/nist1a.htm>
<http://www.nist.gov/srd/WebGuide/nist01/Ver20Man.pdf>
<http://www.sisweb.com/software.htm>
<http://www.sisweb.com/software/ms/nist.htm>

Publikacje dotyczące oprogramowania baz

<http://www.chem.tamu.edu/rgroup/bevan/project2.html>

<http://www.epa.gov/appcdwww/empact/index.htm>

<http://www.freepatentsonline.com/6596991.html>

<http://www.highchem.com/publications/a-new-concept-for-the-interpretation-of-mass-spectra.html>

<http://www.jhuapl.edu/techdigest/td2003/hayek.pdf>

<http://www.spectroscopynow.com/coi/cda/home.cda?chId=0>

<http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?wo=2000049640>