

6. Massenspektrometrie:

a) Beschreiben Sie den Aufbau eines MS anhand einer Skizze. Benennen Sie drei wesentliche Komponenten und deren Funktion/Eigenschaften.

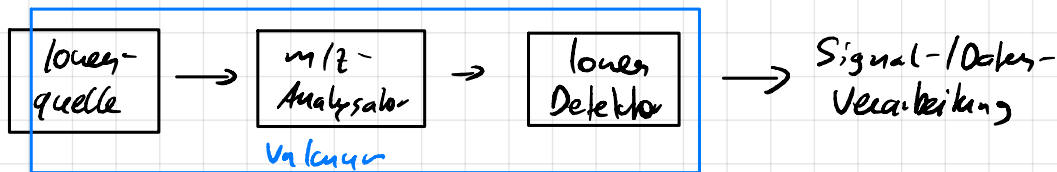
b) Erläutern Sie kurz zwei der Abkürzungen MALDI/ ESI/ EI. Benennen Sie zwei wesentliche Unterschiede zwischen den Spektren aus diesen beiden Methoden.

c) Was ist das Signal/Rausch-Verhältnis in diesem Zusammenhang? Wie kann es exakt um den Faktor 10 gesteigert werden?

d) Geben Sie zwei Maßnahmen aus der Qualitätssicherung an, die vorab zu quantitativen Messungen mit einem MS erfolgen müssen.

(etwa 16 min)

a)



↳ Essenziell, damit beschleunigten Ionen kontrolliert aufgezogen werden können

ionenquelle: Erzeugung von Ionen (+/-) aus der zu analysierenden Probe

m/z-Analysator: Ionen werden nach ihrem m/z-Verhältnis getrennt

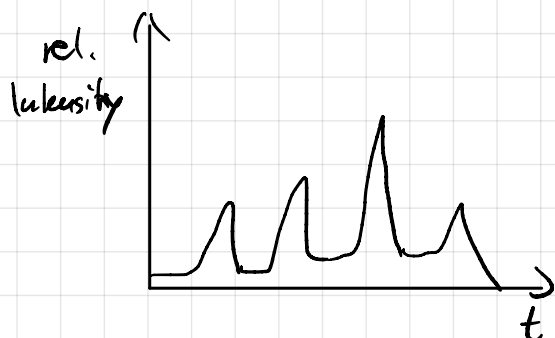
Detektor: Getrennte Ionen werden registriert (detektiert) und ein Chromatogramm kann erstellt werden.

b)

MALDI: Matrix assisted laser Desorption/Ionisation

(→ Kopplung mit TOF)

- Probe in Matrix dispergiert
- gepulste Laser auf Probe fokussiert
→ viel von Matrix absorbiert
(→ heißes Gas = Desorption) → Ionisation d. Probe
- Elektronen-aufnahme/ Abgabe → Ionen aus Moleküle v. Probe

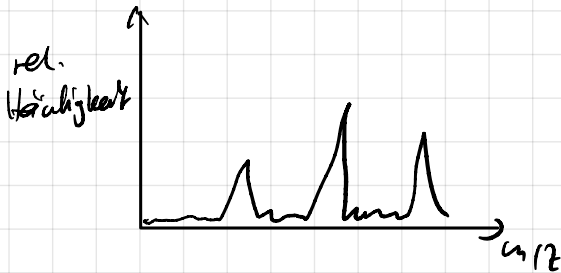


- nicht nur diskrete Werte auslesen (⇒ EI)
- x-Achse: Zeit (durch Kopplung mit TOF) (⇒ EI, ESI)
- Hintergrund durch Matrix (⇒ EI, ESI)
- überwiegend einfachgeladene Ionen (⇒ ESI)

(schwerere Mol. schneller am Detektor)

ESI: Electrospray-Ionisation

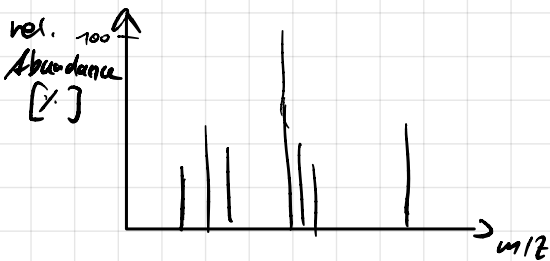
- sanfte Ionisierung unter Atmosphärendruck
- Probe in Lsg. \rightarrow durch Kapillare mit el. Spannung.
 \rightarrow Tropfen \rightarrow Tropfen verdunsten & bilden dabei Ionen



- m/z auf x-Achse (\Rightarrow MALDI)
- keine diskreten Werte (\Rightarrow EI)
- keine Fragmentierung sichtbar (\Rightarrow EI) bzw. selten
- mehrere Ladungen d. Analyten (\Rightarrow MALDI)
(erkennbar d. Abstand der Peaks)

EI: Elektronenstoßionisation

Probe wird durch Elektronenbeschuss ionisiert. E^- mit hoher Energie auf Probe geschossen $\rightarrow E^-$ aus Molekül heraus geschlagen
 \rightarrow geladene Ionen



- nur ganzzahlige Peaks
- Fragmentierung sichtbar
- nur einzelne, diskrete Werte

c) $S/N \hat{=} \text{Signal zu Rausch-Verhältnis}$

$S/N \sim \sqrt{n}$ mit $n \hat{=} \text{Anzahl an verwendeten Spektren}$

hohes $S/N \rightarrow$ gute Unterscheidung der Peaks vom Hintergrundrauschen

- Wurzelgesetz: Erhöhung S/N durch Addition von Spektren

$$\frac{S}{N} \sim \sqrt{n}$$

$$\sqrt{n} = 10 \Rightarrow n = 100$$

\rightarrow 100 mal mehr
(mit 100 multiplizieren)

d) 1. SOP zur Durchführung der Messung erstellen

2. Messgerät qualifizieren und kalibrieren

40. Folgende Begriffe werden zur Charakterisierung von Massenspektrometern verwendet: Auflösung, Empfindlichkeit, Messgenauigkeit. Was versteht man unter diesen Begriffen und welchen Einfluss haben die unterschiedlichen Komponenten auf diese Messgrößen?

Auflösung: Fähigkeit nebeneinanderliegende Peaks zu trennen und zu unterscheiden

hohe Auflösung \Rightarrow Ionen mit geringer Massendifferenz zu trennen und somit zu unterscheiden

Empfindlichkeit: Fähigkeit, Ionen, die in geringer Konz. vorliegen, zu detektieren.

hohe Empfindlichkeit \rightarrow schwache Signale mit geringer Konz. können gemessen werden

Messgenauigkeit: gibt die Genauigkeit an, mit der eine Masse bestimmt werden kann, und wie sie von der tatsächlichen Masse abweicht

experimentell bestimmte Masse \Leftrightarrow korrekte Masse

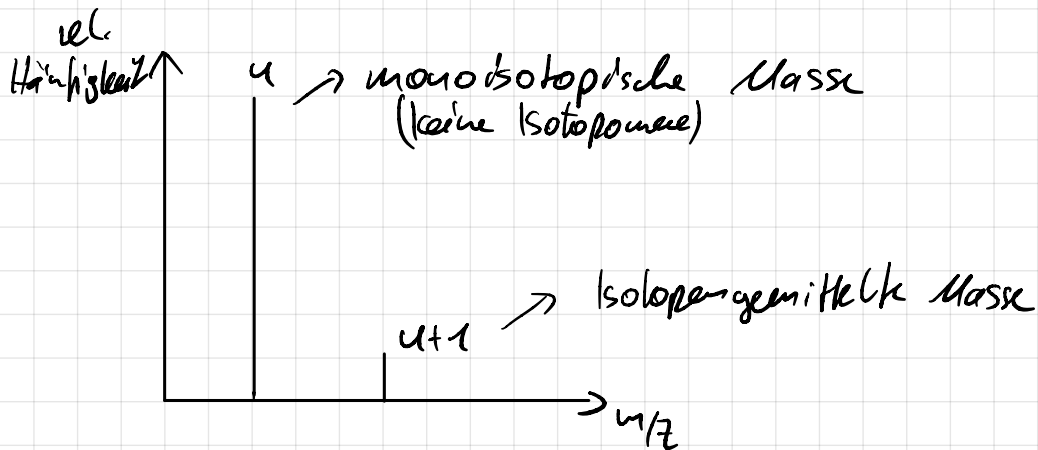
hohe Messgenauigkeit \rightarrow genaue Messungen

41. Was versteht man unter der Isotopenverteilung eines Peptids?

Skizzieren Sie die Isotopenverteilung eines Peptids mit 10 Kohlenstoffatomen. Tragen Sie in die Skizze die Lage für die monoisotopische und die isotopengemittelte Masse ein.

Wie hängt die benötigte Auflösung vom Ladungszustand des Molekülions ab?

Isotopenverteilung: rel. Häufigkeit der versch. Isotope des Ions eines Moleküls aufgetragen gegen deren m/z



$$10 \times \text{C-Atom} \rightarrow \text{Wahrscheinlichkeit } (^{13}\text{C}) = 10 \cdot \frac{1\%}{100} = 0,1$$

Je höher die Ladungszahl ist, desto höher muss die Auflösung sein

?

$$m(\text{Peptid}) = u$$

$$m(\text{Peptid Isotop}) = u+1$$

$$R = \frac{m}{\Delta m} \rightarrow \Delta m = \frac{m}{R}$$

Auflösung

$$\Delta m \stackrel{!}{=} \frac{m(\text{Peptid isotop}) - m(\text{Peptid})}{z} = \frac{u+1 - u}{z} = \frac{1}{z}$$

$$\Rightarrow \Delta m = \frac{m}{R} \stackrel{!}{=} \frac{1}{z} \rightarrow z \sim R$$

42. Welche Komponente eines Massenspektrometers ist entscheidend für die Messbarkeit eines Biopolymers?

Welche Methode(n) schlagen Sie für die Messung folgender Proben vor:

- a) Reines Peptid mit 15 Aminosäuren
- b) Reines Protein mit 30 kDa
- c) Gemisch von mehr als 20 Proteinen mit Molekulargewichten zwischen 10 kDa und 80 kDa.

Liefere eine stichpunktartige Begründung für Ihre Vorschläge und erläutere Sie die Signale der jeweiligen gemessenen Ionen.

Das Molekül muss in der Ionenquelle in die Gasphase überführt werden. Dabei muss Energie aufgewendet werden. Größere Mol. erfordern mehr Energie für diesen Transfer, jedoch nehmen Bindungsenergien zu.

?

43. Bestimmen Sie die molekulare Masse eines kleinen Proteins anhand folgender Angaben, die aus einem Elektrosprayspektrum (*positive mode*) erhaltenen wurden:

$$(m/z)_1 = 1474.71, (m/z)_2 = 1658.83, (m/z)_3 = 1895.62, (m/z)_4 = 2211.24.$$

generell:

$$M = z_i \cdot (m/z)_i - z_i \cdot m_p = z_i \left((m/z)_i - m_p \right)$$

$$m_p = 1,00784$$

zwei benachbarte Peaks ($z_1 - z_2 = 1$)

$$\text{Ansatz: } M = z_i \cdot \left((m/z)_i - m_p \right) = z_{i+1} \cdot \left((m/z)_{i+1} - m_p \right)$$

$$\Rightarrow (z_1 - 1) / z_1 = \left((m/z)_1 - m_p \right) / \left((m/z)_2 - m_p \right)$$

$$\Rightarrow z_1 = \left[1 - \left((m/z)_1 - m_p \right) / \left((m/z)_2 - m_p \right) \right]^{-1}$$

$$\Rightarrow z_1 = \left[1 - \frac{\left((m/z)_1 - m_p \right)}{\left((m/z)_2 - m_p \right)} \right]^{-1}$$

$$\Rightarrow m = (m/z)_1 \cdot z_1$$

$$\Rightarrow z_1 = \left[1 - \frac{1474.71 - 1}{1658.83 - 1} \right]^{-1} \approx 9$$

$$\begin{aligned} \Rightarrow m &= 1474.71 \cdot 9 = 13272.39 \text{ Da} \\ &= 13.27 \text{ kDa} \end{aligned}$$

44. Worauf beruht die Auftrennung von Ionen im Falle eines Flugzeitanalysators, eines magnetischen Sektorfelds und eines Quadrupolanalysators?

Flugzeitanalysator (TOF):

unterschiedlich schwere Ionen haben bei selber kin. E.
unters. Flugzeiten. leichtere Ionen sind schneller am
Massendetektor als schwere

mag. Sektorfeld: unterschiedliche Ablenkung der Ionen im
Magnetfeld, abh. von ihrem m/z -Verhältnis \rightarrow unters.
Ablenkungsrichtung

Quadrupol: über Einstellung der Frequenz / Spannung-Verhältnis kann
man einstellen, welche Teilchen mit welchem m/z dem Detektor
über zentrale Flugbahn erreichen können

- \rightarrow nur Teilchen, deren m/z im eingestellten Bereich liegen,
erreichen den Detektor
- \rightarrow alle anderen fliegen raus

45. Beschreiben Sie die Wirkungsweise folgender Detektoren in Stichpunkten und geben Sie an, wozu Sie eingesetzt werden können:

- a) Sekundärelektronenvervielfachung
- b) Photodiode
- c) Photomultiplier

wichtig ?

46. Sie analysieren eine Probe mit einer sehr geringen Konzentration eines Analytmoleküls. Die Amplitude des massenspektrometrischen Signals entspricht ungefähr dem Rauschpegel des Spektrums, falls Sie unter bestimmten Bedingungen ein einzelnes Spektrum aufnehmen.

Was versteht man unter dem Rauschpegel eines Spektrums?

Welche Konsequenz hat die beschriebene Situation für die Beobachtbarkeit des Analytmoleküls?

Welche experimentelle Maßnahmen können Sie ergreifen, um für das S/N-Verhältnis des Signals den Wert 10 erreicht?

Rauschpegel eines Spektrums:

→ alle Beiträge im Spektrum, die nicht von der eig. untersuchten Probe/Molekül stammen

Konsequenz: - Erschwerung der Auswertung
- mögl. Informationsverlust der relevanten Daten

Maßnahmen: Anzahl an Spektren erhöhen

für Wert 10 $\Rightarrow \sqrt{n} = 10$

$\Rightarrow n = 100$

47. Was versteht man unter Fragmentierung in der Massenspektrometrie? Nennen Sie je eine Messaufgabe, bei der die Fragmentierung vorteilhaft bzw. nachteilig ist.

Fragmentierung $\hat{=}$ Ionen werden in einzelne Fragmente fragmentiert durch Bindungsbrüche

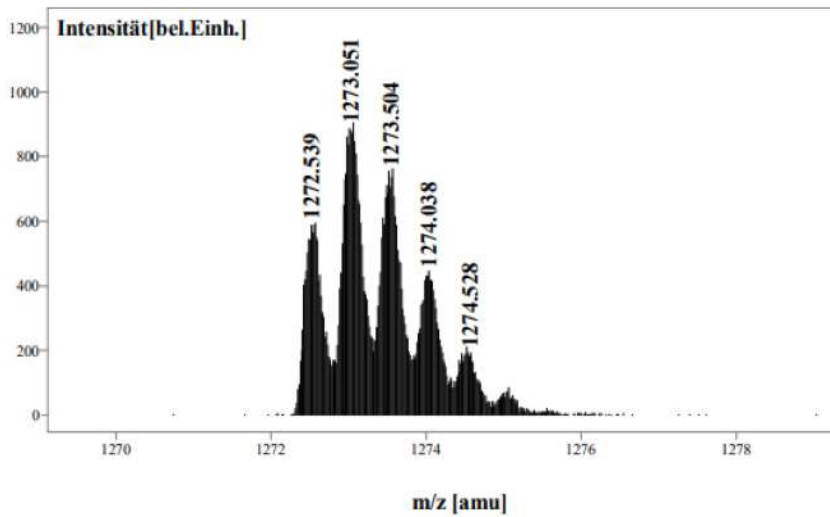
→ viele Informationen

→ Strukturauflösung / Sequenzierung v. Peptiden oder komplexen Molekülen

Messaufgabe: Strukturauflösung

→ Frag. vorteilhaft

48. Bei dem nachfolgenden Ausschnitt aus einem Massenspektrum handelt es sich um Daten, die mit einem ESI-ToF-Gerät im *positive mode* aus angesäuerter Lösung aufgenommen wurden. Bestimmen Sie die molekulare Masse des Moleküls, die der Peakgruppe zu Grunde liegt.



$$\text{Da } \Delta m = 1273,051 - 1272,539 = 0,512$$
$$\Rightarrow z = 2$$

$$\Rightarrow m = z \cdot \frac{m}{z} = 2 \cdot 1272,539$$
$$= 2545,078 \text{ u}$$
$$= 2545,078 \text{ Da}$$

3. Beschreiben Sie die Auswertung für einen Time-of-flight-Massenanalysator. Die Moleküle wurden vor dem Analysator ionisiert und mittels einer Hochspannung beschleunigt (Beschleunigungsenergie: $E = z \cdot e \cdot U$; z : Ladungszahl des Ions, e : Elementarladung, U : Spannung). Anschließend werden die Ionen über einen Detektor erfasst.

Welche Messgrößen müssen Sie ermitteln, um die übliche Angabe Masse pro Ladungszahl (m/z) für die Molekülionen zu erhalten? Wie sind diese Größen mit einander verknüpft, um m/z zu ermitteln?

(8 Punkte)

Die Auswertung erfolgt über die Flugzeit (Zeit v. Ionisation bis Detektor). Ionen werden mit der gleichen E_{kin} beschleunigt.

Aufgrund v. Masse unterschiedlich gelangen die leichteren Ionen schneller zum Detektor im Vergleich zu den schwereren

→ Es muss die Flugzeit ermittelt werden bei bekannter Flugstrecke.

$$E_{kin} = \frac{1}{2} m \cdot v^2 = z \cdot e \cdot U \quad \text{Beschleunigungsspannung}$$

m : Masse d. Ions

v : Geschw. v. Ion nach Beschleunigungsstrecke

z : Ladungszahl

e : Elementarladung

$$v = \frac{L}{t} \quad \begin{array}{l} L - \text{feldfreie Driftstrecke d. Flugrohres} \\ t - \text{Gesamtflugzeit} \end{array}$$

$$\Rightarrow \frac{1}{2} m \cdot \left(\frac{L}{t}\right)^2 = z \cdot e \cdot U$$

$$\Rightarrow \frac{m}{z} = \underbrace{\frac{z \cdot e \cdot U}{L^2}}_{\text{konstant}} \cdot t^2$$

$$\frac{m}{z} \sim t^2$$

2. Beschreiben Sie die Funktionen eines Matrix-assisted Laser Desorption/Ionisation Time-of-Flight (MALDI-TOF)-Massenspektrometers in Bezug auf folgende Aspekte:

- Wie funktioniert der Ionisationsvorgang? Was ist die jeweilige Funktion der beteiligten Komponenten/Stoffe? Warum wird die Ionisation benötigt und warum ist sie für Biopolymere so kritisch?
- Beschreiben Sie den genannten Massenanalysator in Worten und geben die Beziehungen an (als Formel oder in Worten), mit denen sich die Molekülmassen aus der Umwandlung zwischen zwei relevanten Energieformen bestimmen lassen.

(13 Punkte)

a) Die Probe wird als eine Matrix dispergiert. Ein gepulster Laser wird auf die Probe fokussiert und von der Matrix stark absorbiert. Die Matrix mit Probe verdampft. In der Gasphase wird die Ladung der Matrixmol. auf den Analyten übertragen. Matrix fixiert die Probe und konsolidiert sie, durch die Verdampfung dieser durch den Laser. Laser sorgt für die benötigte Freisetzungsenergie und erlaubt die Desorption der fraglichen Moleküle.

Die Ionisation ist für die Beschleunigung im el. Feld notwendig. Dabei können nur geladene Teilchen beschleunigt werden.

keine Ladung \rightarrow \times Beschl. \rightarrow \times Trennung \rightarrow \times Messung

Bei Biopolymeren besteht die Gefahr der Fragmentierung bei der Ionisation.

b) Der TOF besteht zunächst aus einer Ionenkammer und einer Beschleunigungsstrecke. Hier werden alle Ionen mit der gleichen E_{kin} beschleunigt. Danach gelangen die Ionen in ein Flugrohr, wo ein Vakuum herrscht. Leichtere Ionen gelangen schneller als schwerere Ionen durchs Flugrohr zum Detektor.

m/z wird über die Flugzeit ermittelt.

$$E_{kin} = \frac{1}{2} m v^2 = z \cdot e \cdot U$$

$$\text{mit } v = \frac{L}{t} \Rightarrow \frac{m}{z} = \frac{z \cdot e \cdot U}{L^2} \cdot t^2 \Rightarrow \frac{m}{z} \sim t^2$$

(L ist konst.)

2. Beschreiben Sie den prinzipiellen Aufbau eines Massenspektrometers.

- a) Welche wesentlichen vier Komponenten werden benötigt, um ein Massenspektrometer aufzubauen (nicht die Datenauswertung)? Was ist ihre jeweilige Funktion?
- b) Welche dieser Komponenten ist besonders für die Messung von Biopolymeren gegenüber der Messung von kleinen Naturstoffmolekülen und warum? Nennen Sie eine Beispiellösung zur Messung von Biopolymeren.

(11 Punkte)

a) Ionenquelle: Erzeugt Ionen aus einer Probe und setzt diese frei

Massenanalysator: trennt die einzelnen Ionen nach ihrem m/z auf

Detektor: misst den Ionenstrom und gibt die Information für ein Spektrum

Vakuum: Verhindert Zusammenstöße mit Luft und anderen Probenmolekülen. Es erhöht die Nachweisempfindlichkeit

b) Für Biopolymere eignet sich eine Ionenquelle wie ESI und MALDI, da hier eine schonende Ionisierung stattfindet und es nicht zu ungewollten Fragmentierungen kommt.

3. a) Simulieren Sie ein ESI-Massenspektrum von einem Peptid der mittleren Molekülmasse 6000 u (etwa die Molekülmasse von Insulin). Gehen Sie davon aus, dass die höchste Signalintensität beim fünffach positiv geladenen Ion auftritt und dass zwei weitere Signale im Spektrum auftreten (jeweils links und recht vom Hauptsignal). Berechnen Sie die Signallagen und skizzieren Sie das Spektrum als Strichspektrum.

b) Skizzieren Sie weiterhin einen Ausschnitt des Spektrums, der für das fünffach geladene Ion die Isotopenverteilung als Strichspektrum aufzeigt (Intensitäten nur grob abschätzen). Wie würde sich dieser Teil des Spektrums unterscheiden, wenn Sie Spektren mit einer Auflösung (entspricht m/z -Wert geteilt durch Peakbreite in halber Höhe) von 1.000 bzw. von 10.000 miteinander vergleichen? Was bedeutet der Unterschied für die Auswertung der Messung, (vor allem wenn Sie das Peptid in einer Mischung detektieren)?

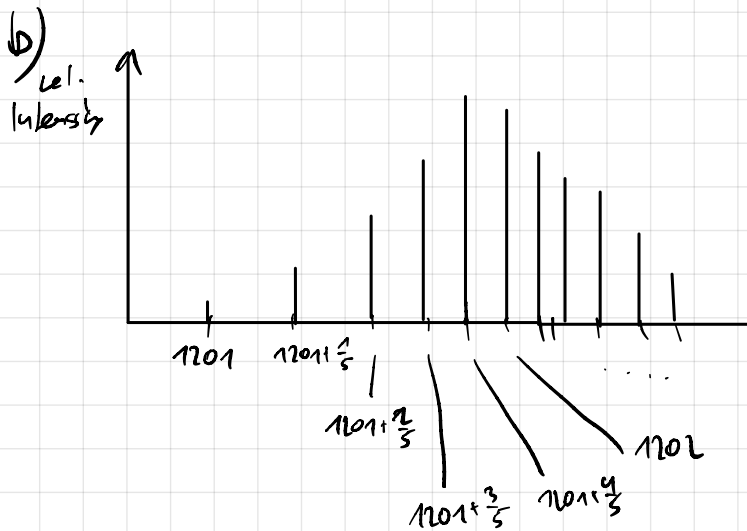
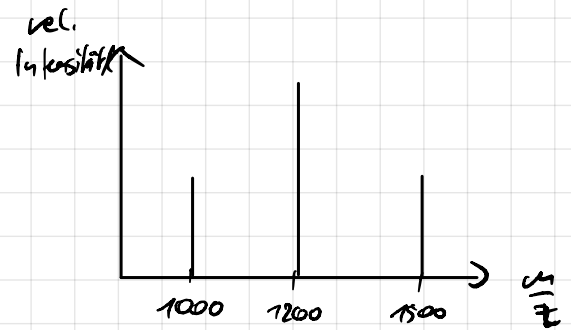
(14 Punkte)

a) $M = 6000 \text{ u}$ mit $t = 5 \Rightarrow (M + 5H)^{5+}$

$$\frac{m}{z} = \frac{6000 + 5}{5} = 1201$$

$$z = 4 \Rightarrow \frac{m}{z} = \frac{6000 + 4}{4} = 1501$$

$$z = 6 \Rightarrow \frac{m}{z} = \frac{6000 + 6}{6} = 1001$$



→ kein Strichspektrum

→ höhere Auflösung → bessere Trennung der einzelnen Peaks

→ bei $R = 10.000$ ist Peakbreite auf halber Höhe
10 mal kleiner als bei $R = 1000$

→ Peaks untereinander sind besser zu den restlichen
Teilen der Mischung.

Mit einem MALDI-TOF-MS wird ein Peptid der monoisotopischen molekularen Masse von 2041,2 Da vermessen. Skizzieren Sie einen Ausschnitt des Massenspektrums mit dem monoisotopischen und dem ersten Isotopenpeak des zu erwartenden Signals,

- a) für den linearen Messmodus, bei einer Auflösung von 2000 (FWHM).
 b) für den Reflectron-Messmodus, bei einer Auflösung von 10000 (FWHM).
 (9 Punkte)

$$R_{FWHM} = \frac{m/z}{FWHM}$$

↳ Full width at half maximum

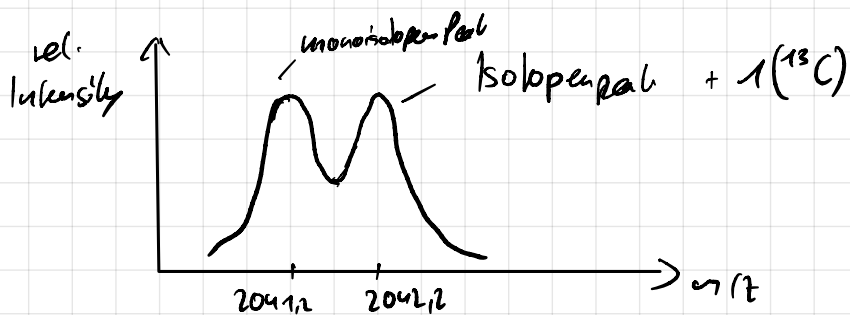
≙ Δm bei 50% Höhe

a) $R = 2000$ und $m/z = 2041,2$ Da

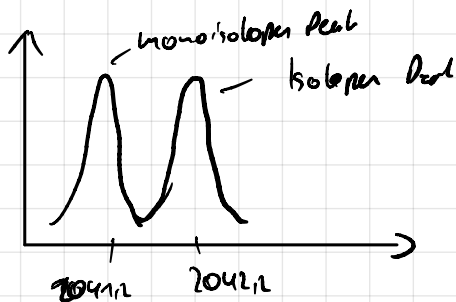
$$\Rightarrow R = \frac{m/z}{FWHM} \Rightarrow FWHM = \frac{m/z}{R}$$

$$\Rightarrow FWHM = \frac{2041,2 \text{ Da}}{2000} = 1,02$$

→ Bei 50% Höhe gehen Peaks mit einem $\Delta m = 1$ ineinander über



b) $FWHM = \frac{m/z}{R} = \frac{2041,2}{10000} = 0,2$

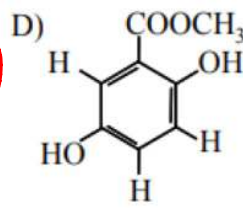
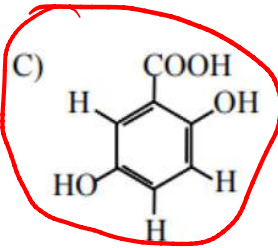
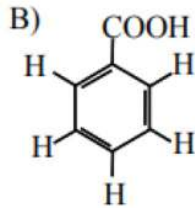
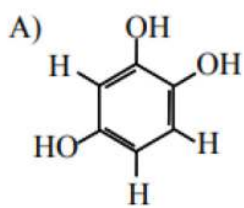


Unten sind vier verschiedene Moleküle angegeben. Eines davon wird als Matrix für MALDI-MS (mit dem üblichen Stickstofflaser bei 337 nm) verwendet.

a) Benennen Sie drei wesentliche Funktionen einer MALDI-Matrix. Begründen Sie damit, warum nur eines der Moleküle wirklich geeignet ist und warum die anderen auszuschließen sind.

b) Geben Sie an, woran Sie die unterschiedlichen Moleküle in dieser Auswahl anhand eines H-NMR-Spektrum ausreichend voneinander unterscheiden können sollten. (Die chemische Verschiebung, siehe Tabelle, ist nicht unbedingt ausreichend).

(12 Punkte)



a) Funktionen:

- Energieabsorption und Übertragung: Matrix absorbiert die Energie des Laserstrahls (hier 337 nm) und überträgt diese Energie auf die Analyten, um deren Desorption und Ionisation zu ermöglichen
- Unterstützung der Ionisation: Matrix erleichtert die Ionisation, indem sie während der Desorption protonen z.B. Protonen auf den Analyten überträgt
- Schutz und Isolierung der Analyten: Matrix schützt die Analyten vor direktem Gasbeschuss und thermischen Schäden, in dem sie die Analyten in ihrer kristallinen Struktur einbettet

A) nur OH-Gruppen

→ nicht genügend Energieabsorption bei 337 nm

B) eine COOH-Gruppe + eine OH-Gruppe

geeignet für Energieabsorption und Protonierung

C) 2x OH-Gr. + 1x COOH-Gr.

→ sehr effizient in Energieabsorption und Protonierung

D) 1x COOCH₃ (Methyl estergruppe) + 1x OH-Gr.

→ nicht so effektiv in Energieabsorption

⇒ C) für MALDI-Matrix

b) Für die Unterscheidung der Moleküle im $^1\text{H-NMR}$ Spektrum ist die Anzahl und Position der Protonen (H^+) sowie ihre chem. Verschiebung zu betrachten

- aromatische Protonen \rightarrow ca. 6-9 ppm
- arom. Hydroxylgruppe \rightarrow ca. 4,5-8 ppm
- Carboxylgr. Protonen \rightarrow > 9 ppm
- aliph. Methylgruppe \rightarrow ca. 0,8-1,0 ppm

Gegeben ist ein Peptid der **monoisotopischen Molekülmasse 1045 Da** (etwa die Molekülmasse von Angiotensin II).

a) Simulieren Sie ein theoretisches **MALDI-Massenspektrum** und **skizzieren Sie das Spektrum**. Skizzieren Sie dazu einen **Ausschnitt des Strichspektrums**, der die **Isotopenverteilung als Strichspektrum** mit **drei Peaks** aufzeigt (Intensitäten grob abschätzen).

b) Wie sieht dieser Teil des Spektrums aus, wenn Sie Spektren mit einer Auflösung (entspricht m/z -Wert geteilt durch Peakbreite in halber Höhe) von 1000 aufnehmen? Wäre damit noch die Unterscheidung von einem Peptid-Ion doppelter Masse und doppelter Ladung möglich, was ändert sich?

c) Welche Störungen sind zu erwarten, wenn die Probe außerdem nennenswerte Mengen von Insulin (Molekülmasse etwa 5800 u) enthalten würde?

(13 Punkte)

$$a) [1045 \text{ Da}] + 1 \text{ H}^+ = 1 + 1045$$

$$M = 1045 \text{ Da} + 1 \text{ H}^+ = 1046 \text{ Da}$$

Anzahl C-Atome abschätzen \rightarrow Anzahl avg. Molekül
 $M(\text{CH}_2) = 146$

$\rightarrow 1045 : 14 \approx 75 < 99 \rightarrow$ monoisotopische Peak ist Basispeak

Intensitäten v. Isotopenpeaks

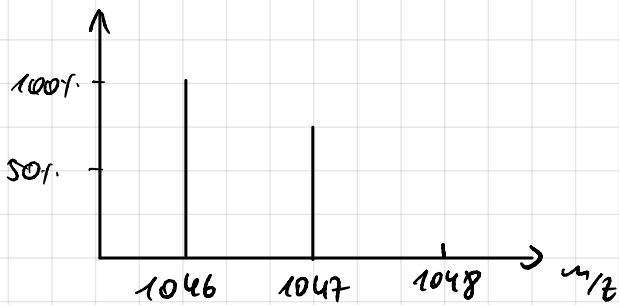
$$1 \times {}^{13}\text{C} \Rightarrow 75 \cdot 0,01 = 75\%$$

$$\rightarrow m = 1047 \text{ Da}$$

$$2 \times {}^{13}\text{C} \Rightarrow 75 \cdot 0,01^2$$

$$\rightarrow m = 1048 \text{ Da}$$

rel. Intensität



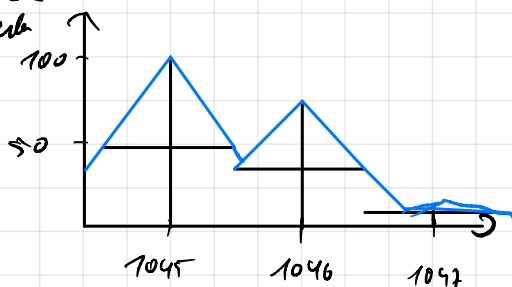
b)

$$R = \frac{m/z}{FWHM}$$

$$\rightarrow FWHM = \frac{m/z}{R} = \frac{1046}{1000} = 1,05$$

\rightarrow Isotopen erkennbar

rel. Int.



Peptid-Ion doppelter Masse und doppelter Ladung:

$$M_2 = 2 \cdot M_1 + 2 = 2092 \text{ Da}$$

$$FWHM = \frac{m/z}{n} = \frac{2092/2}{1000} \approx 1,05$$

aber durch doppelte Ladung ist Abstand
zw. Isotopen = 0,5

$$\Rightarrow 0,5 < FWHM$$

→ einzelne Isotope nicht mehr erkennbar

c) keine Störung aufgrund des Massenunterschieds. Wenn Insulin
jedoch fragmentiert wird und Fragmente im m/z-Bereich von
Angiotensin II liegen können Störungen bei der Auswertung auftreten

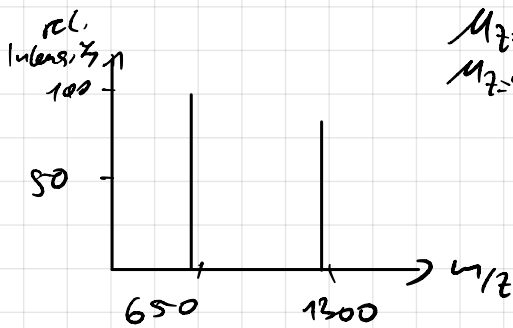
ESI-MS-Spektrometrie:

Gegeben ist das Peptid Angiotensin I, mit der monoisotopischen Molekülmasse 1295,7 Da (10 Aminosäurereste, $C_{62}H_{89}N_{17}O_{14}$).

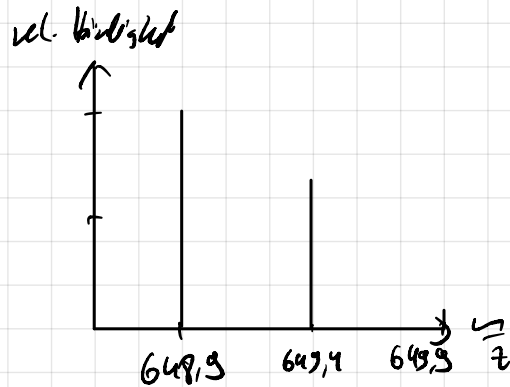
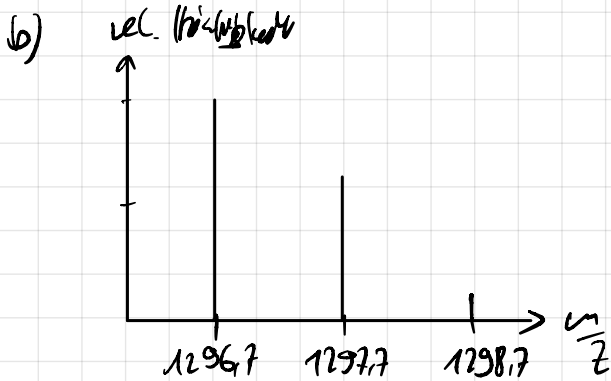
- Simulieren Sie ein theoretisches Massenspektrum in einer Skizze des Spektrums, wenn ein oder zwei Protonen an das Molekül binden.
- Skizzieren Sie zusätzlich Ausschnitte, die die Isotopenverteilung als Strichspektrum mit jeweils drei Peaks aufzeigt (Intensitäten grob abschätzen).
- Wie sieht dieser Teil des Spektrums aus, wenn Sie Spektren mit einer Auflösung von 2600 aufnehmen? Wäre damit die Isotopen-Unterscheidung möglich? Wie ändert sich das Bild bei einer Auflösung von etwa 400?

(11 Punkte)

a) $M_0 = 1295,7 \text{ Da}$



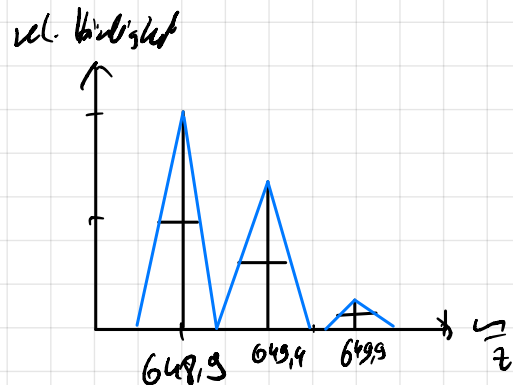
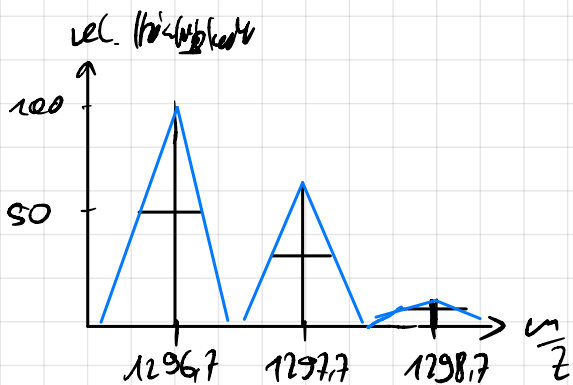
$M_{z=1} = 1296,7$
 $M_{z=2} = 648,85$



c) mit $R = \frac{m/z}{FWHM} \rightarrow FWHM = \frac{m/z}{R}$

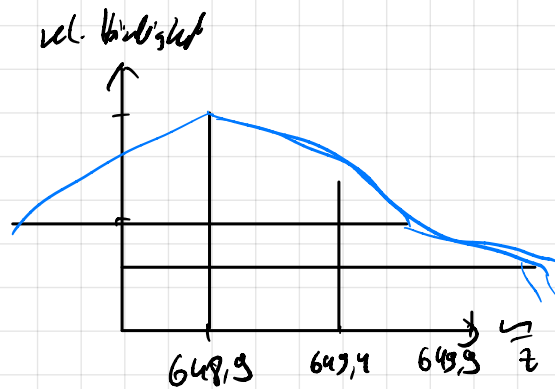
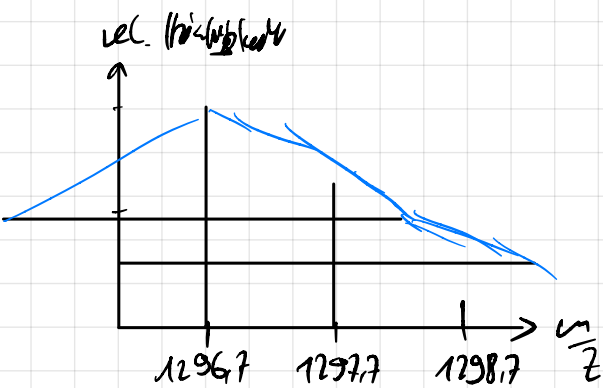
Spektrum mit $R = 1$
 $\rightarrow FWHM = \frac{1296,7}{2600} = 0,5 \text{ Da}$

Spektrum mit $R = 2$
 $\rightarrow FWHM = 0,25$



$$FWHM = \frac{1296,7}{400} = 3,2$$

$$FWHM = \frac{648,9}{400} = 1,6$$



→ Bei $R=6000$ keine Isotopenauflösung möglich

Monoisotopische Masse

→ nur häufigsten Isotop (Element)

→ im Spektren direkt $+ 1u$, da mass für
mit $1H^+$ protokolliert sein

Auflösung

→ wenn sich nur Ladung erhöht sollte

in beiden Isotopenauflösungen (1. $z=1$; 2. $z=2$) alle

Peaks gleich gut trennbar / getrennt sein oder

obwohl bei den ersten die FWHM nur halb so

groß ist. Macht das Over-all Sinn.