

Verständnisfragen und Übungen zur Massenspektrometrie (MS)

Instrumentelle Bioanalytik
Studiengang Biotechnologie, 6. Sem.
Prof. Dr. Michael Schrader

Stand: SoSem 2020



MS: Meine bleibt meine liebste Anwendung!

Erläutern Sie (Teil Ia)
sich oder besser noch jemand anderem im Kurs

Instrumentelle
Bioanalytik
(Spektr.)
Biotechnologie 6.
Sem

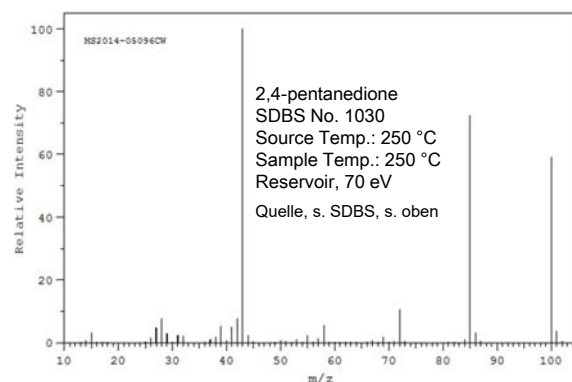
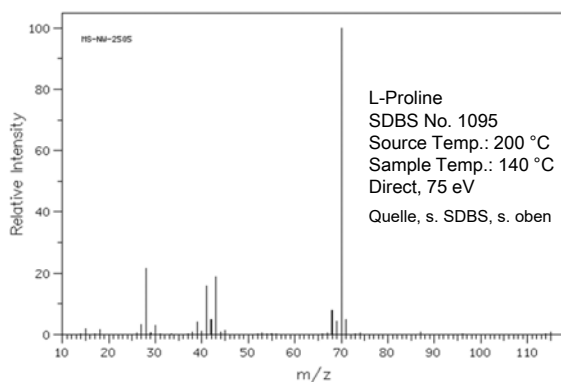
- **Molekulare Masse**
 - Wie viel pg „wiegt“ ein Virus oder ein Molekül?
 - In welcher Einheit wird sie angegeben?
 - Welchen Massenunterschied haben etwa Glucose, ein Protein, ein Virus (Faktor)?
- **Physikalisches Prinzip**
 - Wie wird ein Molekül gewogen?
 - Welche Rahmenbedingungen sind nötig, um MS zu betreiben
- **Geräteaufbau**
 - Aus welchen Komponenten besteht ein MS? Welche Funktionen haben sie?
 - Geben Sie Beispiele an.
- **Vakuum**
 - Welche Rolle spielt es und welche Parameter sind noch veränderlich?
 - Warum brauchen MS ganz besondere Pumpen?
- **EI-MS**
 - Wofür steht die Abkürzung und wie funktioniert es?
 - Wie sehen typische Spektren im EI aus? Was wird alles noch außer der Molekülmasse bestimmt
 - Welche Trennmethode lässt sich ideal koppeln und warum ist es sehr hilfreich?

Dies sind zwar keine üblichen Prüfungsfragen, helfen aber zunächst zum Verständnis des Stoffes.

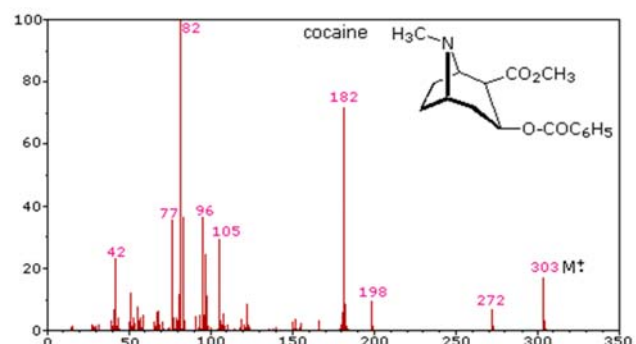
Erläutern Sie (Teil Ib) sich oder besser noch jemand anderem im Kurs

- **Isotopen**
 - Was ist das? Welche Rolle spielen Sie in der MS? Welches sind die wichtigsten dabei?
 - Was ist die monoisotopische Masse, was die mittlere?
 - Wie kommen Muster zustande?
- **Massenbestimmung**
 - Berechnen Sie mittlere und monoisotopische Masse für einen Metabolit, ein Peptid und ein Protein. (MW calc. oder Internet-Tool)
 - Bestimmen Sie jeweils das Isotopenmuster (bei einer Auflösung von 1000).
- **Fragmentierung**
 - Warum findet sie statt und welche Parameter sind wichtig dafür?
 - Welche Regeln gelten molekular dafür?
 - Wie sind die Fragmentierungen im Spektrum zu erkennen.
 - Welche häufigen Abspaltungen von Molekülen liefern oft signifikante Peaks?
- **Auswertung von EI-Spektren**
 - Welcher Informationsgehalt kann wie entnommen werden?
 - Wie können diese über Datenbanken automatisiert ausgewertet werden?

Beispiel-EI-Spektren, weitere in Moodle und unter <https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs>



- Was bedeuten wohl die zusätzlichen Angaben?
- Wo befindet sich der Molekülpeak?
- Können Sie den Base-Peak molekular zuordnen?
- Finden Sie weitere Zuordnungen zu Signalen.
- Finden Sie andere Moleküle mit gleicher Atomzusammensetzung oder gleicher Molekülmasse; wie unterscheiden sich die Spektren (und warum)?



Spektreninterpretation



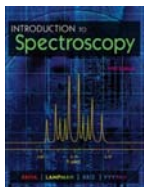
- Hesse Meier, Zeeh „Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie“ Thieme 2011 (512 S., 80 €) umfassendes Standardwerk seit Jahrzehnten, auch ältere Auflagen nutzbar



- Lambert/Gronert/Shurvel/Lightner „Spektroskopie - Strukturaufklärung in der Organischen Chemie“ Pearson 2012, umfangreiche Darstellung der Spektreninterpretation



- Reichenbacher/Popp „Strukturanalytik organischer und anorganischer Verbindung“ Teubner 2007(409 S. 40€) Nicht so strukturiert wie obiges Werk, aber viele gute Übungsbeispiele



- Bruce, Organische Chemie, Studieren kompakt, Pearson Studium 2011 (100 S. über Spektreninterpretation), insgesamt gelungenes Lehrbuch mit vielen Brücken zur Biochemie

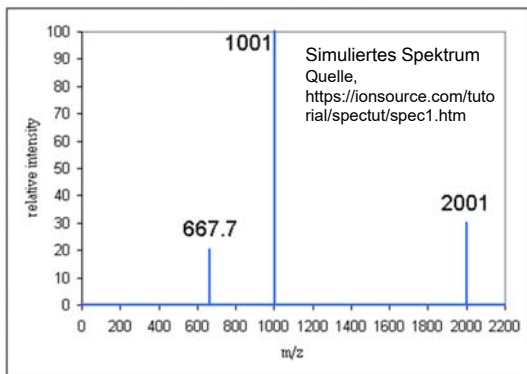


- Pavia et al. Introduction to Spectroscopy Cengage Learning, 5th Edition 2015 (784 S., 102 €) systematisches Lernen mit Beispielspektren, rel. teuer

Erläutern Sie (Teil IIa) sich oder besser noch jemand anderem im Kurs

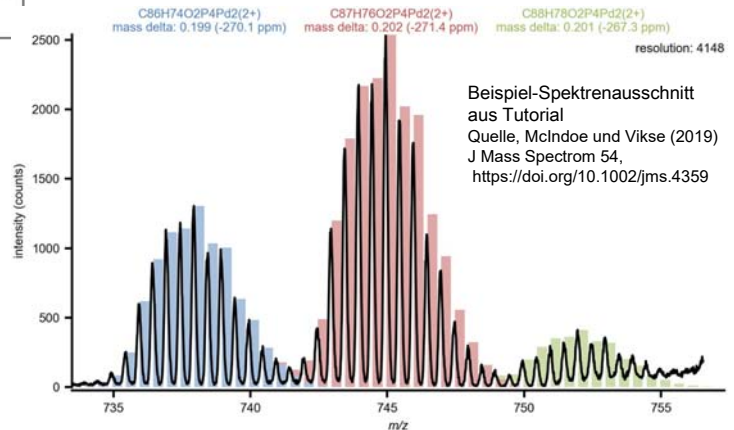
- **Ionisierung Biomoleküle**
 - Erläutern Sie das Dilemma dabei.
 - Wie alt sind etwa die Standardlösungen?
- **ESI-MS**
 - Erläutern Sie das Verfahren physikalisch.
 - Erläutern Sie den Aufbau und praktische Notwendigkeiten.
 - Wie sehen typische Spektren aus? Wie werden Sie ausgewertet?
- **MALDI-MS**
 - Erläutern Sie das Verfahren physikalisch. Was macht eine gute Matrix aus?
 - Erläutern Sie den Aufbau und praktische Notwendigkeiten.
 - Wie schnell wird ein Insulin-Ion bei 20 kV?
 - Wie sehen typische Spektren aus? Wie werden Sie ausgewertet?
- **Vergleich MALDI und ESI-MS**
 - Worin sind sich die Methoden eher ähnlich? Was gibt es für besondere Unterschiede?
 - Welche Messungen gelingen mit einer der beiden Methoden deutlich besser und warum?
 - Für welche Anwendungen bietet sich eine der beiden Methoden an?
- **m/z-Analysatoren**
 - Erläutern Sie Funktion und einen Typ dazu.
 - Wie kann ein Quadropol zum Massenfilter werden?
 - Welche Vorgaben machen bestimmte Analyser Typen besonders attraktiv?
- **Detektion**
 - Wie ist das physikalische Prinzip?
 - Welche beiden typischen Bauteile kommen in Frage? Welches bevorzugt für welches Gerät?

Beispiel-Spektren (ESI/MALDI), weitere im www (wenige) oder verteilt in Publikationen (eher vor 2010)



- Welche Messmethode kam hier wohl zum Einsatz?
- Welche Ladung und etwa welche Molekülmasse haben die Moleküleionen bzw. Moleküle?
- Geben Sie die Lage der jeweiligen monoisotopischen und mittleren Masse an. Um wie viel ppm unterscheiden diese sich jeweils?

- Welche Messmethode kam hier wohl zum Einsatz?
- Welche Molekülmasse hat das Molekül? Welche Masse haben die gemessenen Ionen? Welchen m/z-Wert hätte eine höhere Ladung?
- Erklären Sie die Intensitätsverteilung.



Thema: Vorbemerkungen

7

© Prof. Dr. M. Schrader

Erläutern Sie (Teil IIb) sich oder besser noch jemand anderem im Kurs

- **Auflösung**
 - Wie ist sie definiert? Wie wird sie in der MS üblicherweise berechnet?
 - Wie kann sie verbessert werden?
- **Auflösung bei Biomolekülen**
 - Warum ist sie dort viel wichtiger als bei kleinen Metaboliten?
 - Für welche Faustregel kann sie genutzt werden?
- **Weitere Kenngrößen von Spektren**
 - Welche zwei gibt es z.B. noch? Wofür sind sie gut?
 - In welchen anderen analytischen Methoden spielen diese auch eine Rolle?
- **Isotopenmuster**
 - Was ist das und warum sind diese bei Biomolekülen so wichtig?
 - Wie wird die Molekülmasse in einem hochauflösenden ESI-Spektrum bestimmt?
 - Welches Problem erzeugen Sie bei sehr großen Molekülen?
- **S/N-Verhältnis**
 - Was bedeutet diese Kenngröße?
 - Wie kann deren Wert um den Faktor 5 erhöht werden?
 - Bei welchen Werten kann bestimmt, bei welchen quantifiziert werden?
- **Nutzung von MS**
 - Nennen Sie Einsatzgebiete für diese Methode mit sehr teuren Geräten?
 - Welche Probenarten oder Probenvorbereitungen müssen getroffen werden?

Thema: Vorbemerkungen

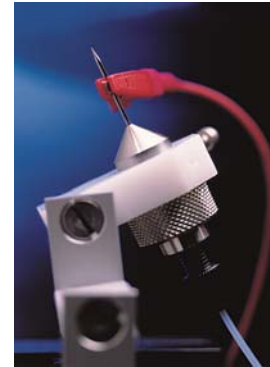
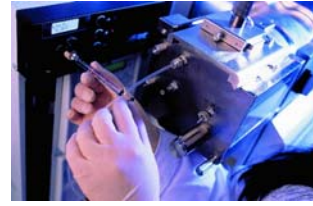
8

© Prof. Dr. M. Schrader

ABC der Massenspektrometrie

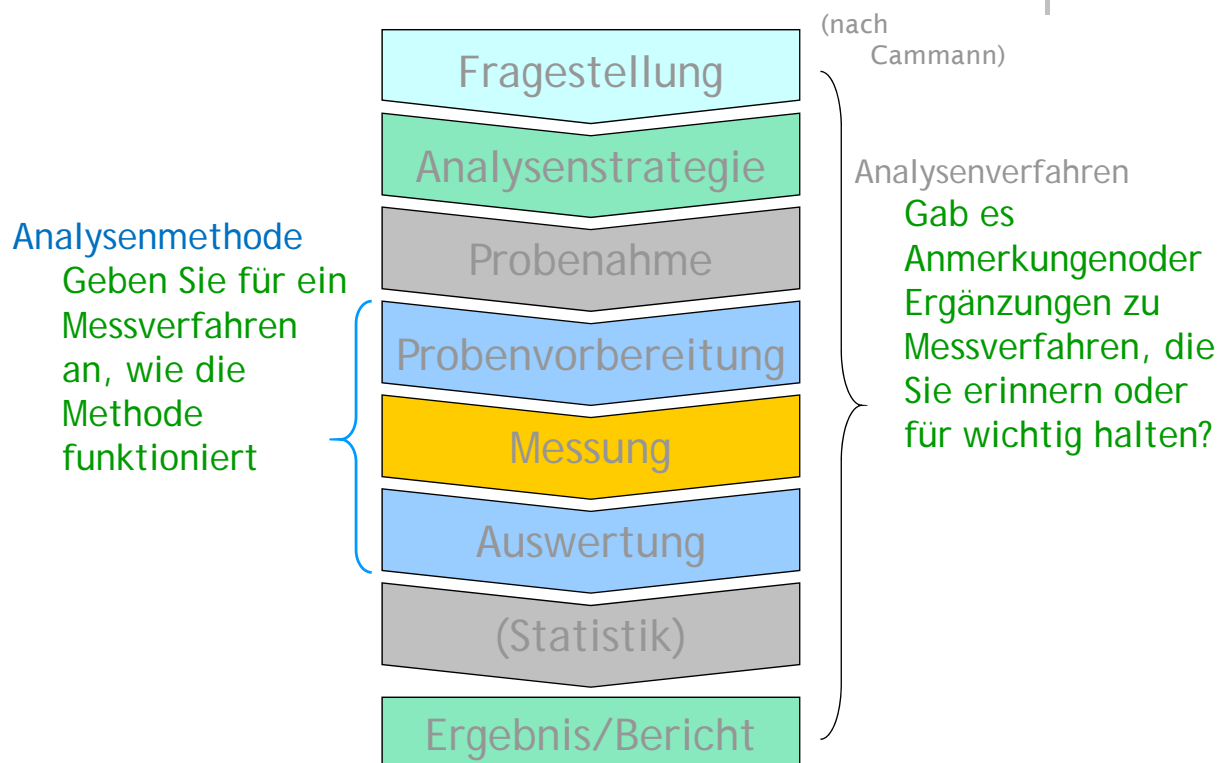
Was ist jeweils gemeint?

-
-
-
- Da
- ESI, EI
- FWHM, FT-MS, FTICR
- GC-MS
-
- ICP
-
- kT, kV
- LC-MS
- MALDI, MCP
- N
-
- ppm
- Q-TOF
- R_FWHM, Re-TOF
- S/N
- TOF, Th
- u
-
-
-
- Y-Elimination
- z



Analytische Prozess für MS

Versuch sich vorzustellen bzw. zu verknüpfen



Nach dem Praxissemester!



Ihre Erfahrungen mit MS?

- Wann und wo?
- Methode?
- Einsatzgebiet?
- positive oder negative Erfahrung?
- Was war spannend?
- Was war schlecht?
- Erwartung an diese Veranstaltung?

Ihre Zusammenfassung

Zur Methode und Messprinzip

-
-
-
-

Anwendungen

-
-
-
-
-