

# Massenspektrometrie Theoretische Grundlagen

---

FÜR EINE  
BESSERE WISSENSCHAFT  
AGILENT AND YOU



Agilent Technologies engagiert sich für Ausbildung und Lehre und möchte den Zugang zu firmeneigenem Material ermöglichen.

Diese Präsentation wurde von Agilent nur für Lehrzwecke erstellt.

Möchten Sie Bilder, Schaubilder oder Zeichnungen für andere Zwecke verwenden, nehmen Sie bitte vorher Kontakt mit Agilent auf.



# Einführung

**Massenspektrometrie (MS)** ist eine Methode der analytischen Chemie zur Bestimmung der Menge und der Art der in einer Probe vorliegenden Chemikalien durch Messung des Verhältnisses von Masse zu Ladung und der Abundanz von Ionen in der Gasphase.

Ein Massenspektrum (Plural *-spektren*) ist eine Auftragung von Ionensignalen als Funktion des Verhältnisses von Masse zu Ladung. Mithilfe der Masse des Molekülions und seiner Fragmente wird aus den Spektren die Elementarzusammensetzung oder die Isotopensignatur einer Verbindung ermittelt. Diese Informationen werden verwendet, um die chemische Struktur von Molekülen, wie z. B. Pestiziden oder Peptiden, aufzuklären.

Das Funktionsprinzip von Massenspektometern ist die Ionisation von chemischen Verbindungen, durch die geladene Moleküle oder Molekülfragmente entstehen, deren Verhältnis von Masse zu Ladung bestimmt wird.

Quelle: Wikipedia

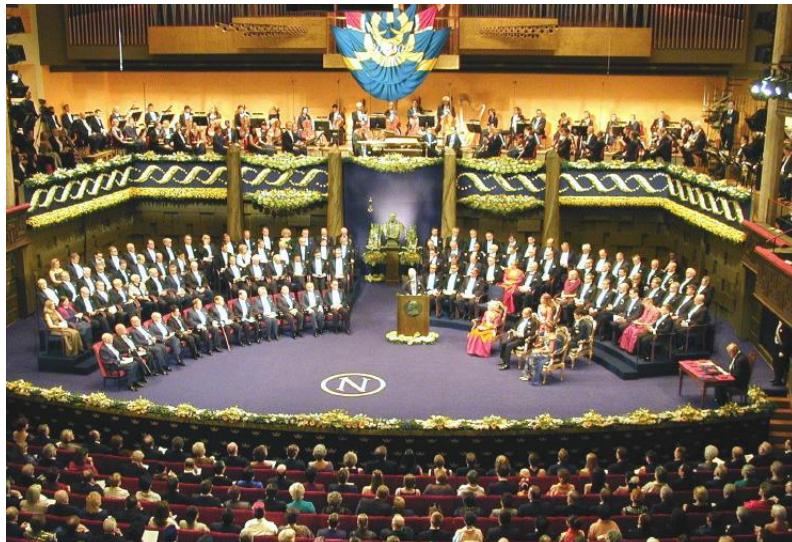


# Einführung

## Eine Nobelpreis-gekrönte Technik

Im Jahr 2002 erhielten **John Fenn** und **Koichi Tanaka** den Nobelpreis für Chemie für die Entwicklung zweier weicher Ionisationstechniken:

- Elektrospray-Methode, Dr. Fenn
- Weiche Laserdesorption, Dr. Tanaka



Konzerthalle Stockholm, Schweden, Dezember 2002



Dr. Fenn erhält den Nobelpreis vom schwedischen König

# Inhaltsverzeichnis (Inhalt)

## Einführung

- [Grundüberlegungen](#)
- [Massen bei der Massenspektrometrie](#)
- [Grundsätzliche Schritte](#)

## So funktioniert es

- [Ionisation](#)
  - [Elektronenstoßionisation](#)
  - [Chemische Ionisation](#)
  - [Überlegungen zur Probe \(LC-MS\)](#)
  - [Elektrospray](#)
  - [Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck](#)
  - [Photoionisation bei Atmosphärendruck](#)
  - [Multimodale Ionisation](#)
  - [MALDI](#)
  - [ICP](#)

## So funktioniert es

- [Massenanalysator](#)
  - [Single Quadrupol](#)
  - [Triple Quadrupol](#)
  - [Ionenfalle](#)
  - [Time-of-Flight](#)

## Ergebnisse

- [Massenspektrum](#)
- [Single Quadrupol vs. Time-of-Flight](#)
- [Mehrfach geladene Ionen und Dekonvolution](#)

## Weitere Informationen

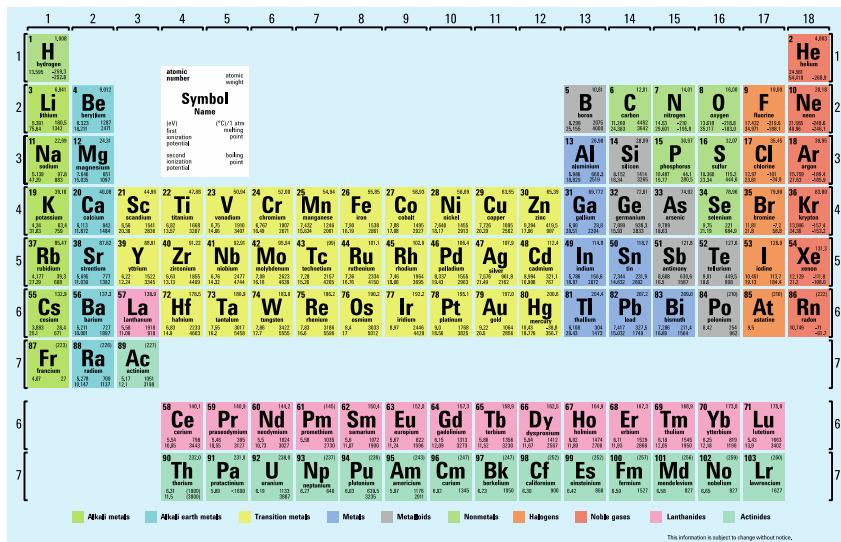
- [Agilent Website für Hochschulen](#)
- [Publikationen](#)



# Einführung

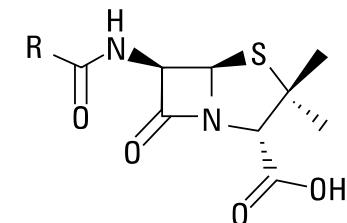
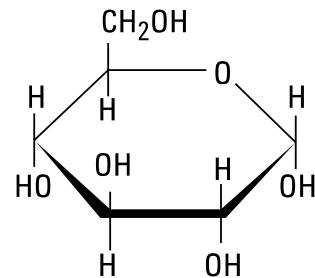
## Grundüberlegungen

Elemente können anhand ihrer Masse eindeutig identifiziert werden. Die Massenspektrometrie ist eine analytische Methode zur Bestimmung der Masse von Molekülen oder Atomen.



Quelle: Periodensystem, Poster SI-0186

Verbindungen, die aus mehreren Elementen bestehen, können anhand ihrer Masse unterschieden werden:



Glucose  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$   
MG: 180,1559 g/mol

Penicillin  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$   
MG: 334,39 g/mol

### Inhalt

Nur für Lehrzwecke

5. April 2016

6

# Einführung

## Massen bei der Massenspektrometrie

Die **durchschnittliche Masse** eines Moleküls errechnet sich durch Summieren der durchschnittlichen Atommasse der Elemente, aus denen es besteht.

Durchschnittliche Masse von Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ ):  $1,00794 + 1,00794 + 15,9994 = 18,01528 \text{ Da}$

Die **monoisotopische Masse** ist die Summe der Massen der Atome in einem Molekül, wobei zur Berechnung für die einzelnen Elemente die Ruhemasse des wichtigsten (häufigsten) Isotops im ungebundenen Grundzustand statt der durchschnittlichen Isotopenmasse verwendet wird. Die monoisotopische Masse wird üblicherweise in atomaren Masseneinheiten angegeben.

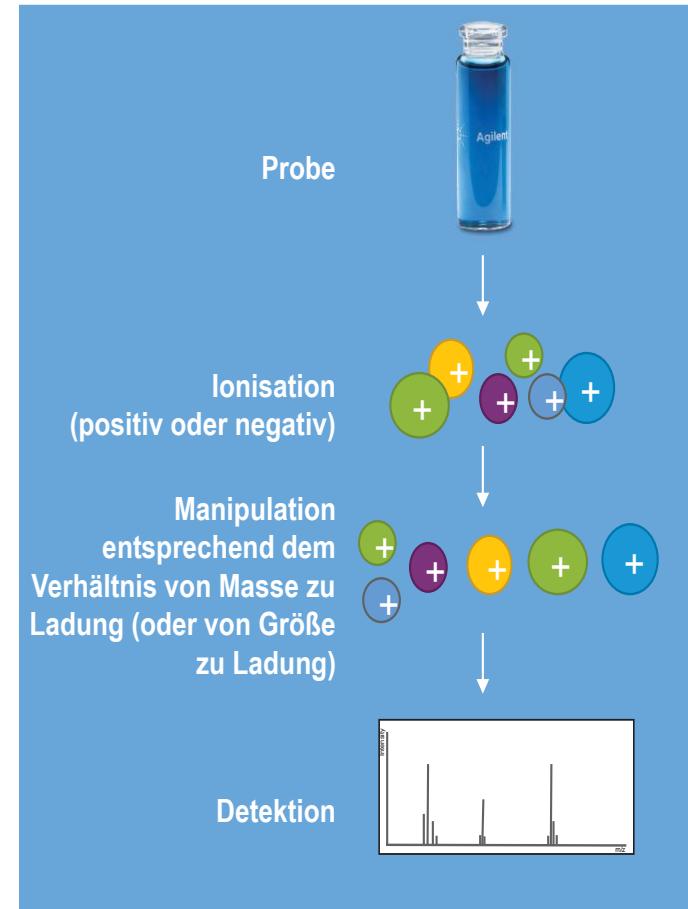
Die **akkurate Masse** (genauer gesagt die gemessene akkurate Masse) ist eine experimentell bestimmte Masse, die die Bestimmung der Elementarzusammensetzung ermöglicht. Bei Molekülen mit einer Masse unter 200 u ist eine Genauigkeit von 5 ppm zur eindeutigen Bestimmung der Elementarzusammensetzung häufig ausreichend.

# Einführung

## Grundsätzliche Schritte

Typisches MS-Verfahren:

- Die Probe (Feststoff, Flüssigkeit, Gas) wird ionisiert.
- Die Probenmoleküle können bei der Ionisation in geladene Fragmente gespalten werden.
- Die Ionen werden nach ihrem Verhältnis von Masse zu Ladung ( $m/z$ ) aufgetrennt.
- Die Ionen werden mit einem Gerät nachgewiesen, das geladene Teilchen detektieren kann (z. B. einem Elektronenvervielfacher).
- Die Ergebnisse werden in Form von Spektren der relativen Abundanz als Funktion des  $m/z$ -Verhältnisses angegeben.
- Die Identifizierung erfolgt durch Abgleich der ermittelten Massen mit bekannten Massen oder anhand eines charakteristischen Fragmentierungsmusters.



# So funktioniert es Ionisation

Bevor eine Massenanalyse der Probe durchgeführt werden kann, muss die Probe in der Ionenquelle ionisiert werden.

## Zuführung gasförmiger Proben:

- Elektronenstoßionisation (EI)
- Chemische Ionisation (CI)

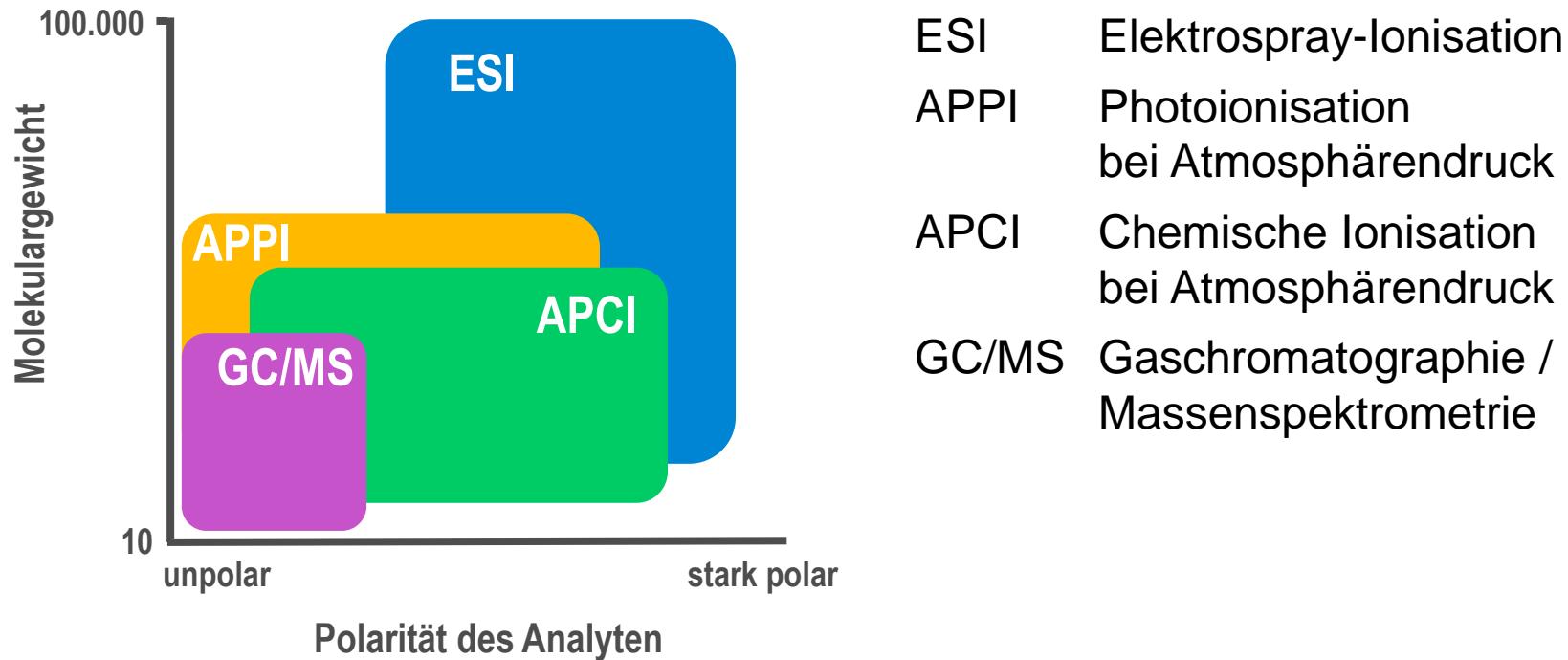
## Zuführung flüssiger Proben:

- Elektrospray-Ionisation (ESI)
- Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI)
- Photoionisation bei Atmosphärendruck (APPI)
- Multimodale Ionisation (MMI)
- Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI)
- Induktiv gekoppeltes Plasma (ICP)



# So funktioniert es Ionisation

Die zu verwendende Ionenquelle richtet sich nach der Polarität der Analyten.



# So funktioniert es

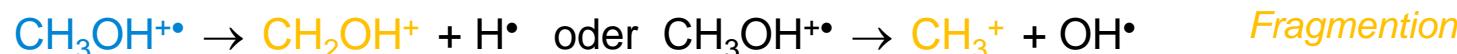
## Ionisation – Elektronenstoßionisation (EI)

Die Elektronenstoßionisation (EI) ist gut etabliert und die am häufigsten angewendete Ionisationsmethode bei der Gaschromatographie (GC).

Die Moleküle, die den Gaschromatographen verlassen, werden mit einem Elektronenstrahl (70 eV) beschossen, der ein Elektron aus dem Molekül herausschlägt, sodass ein geladenes Ion entsteht.



Bei der EI entstehen in der Regel einzelne geladene Molekülionen und Fragmentionen (kleinere Teile der Ursprungsmoleküle), die zur Strukturaufklärung herangezogen werden.

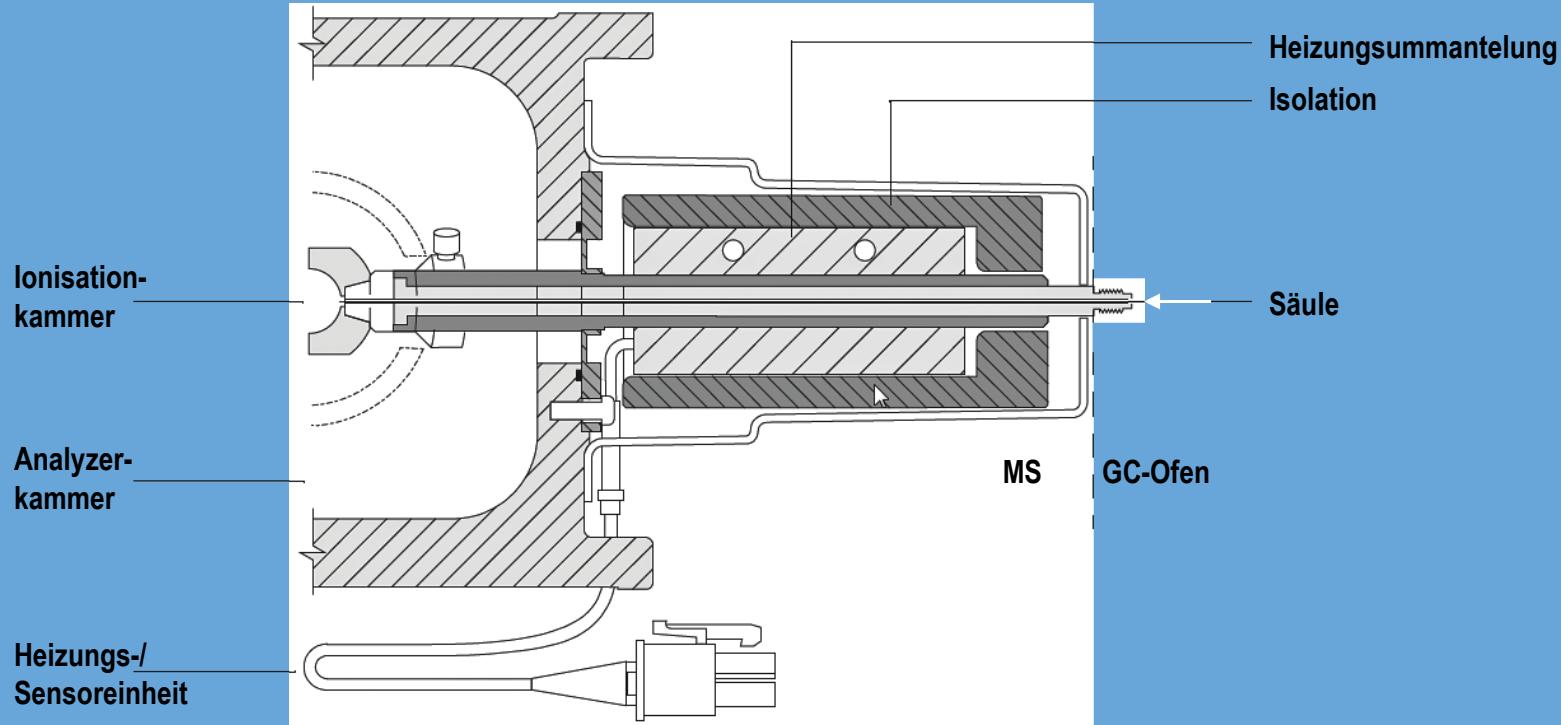


Die aufgetrennten Ionen werden mithilfe eines Photomultipliers nachgewiesen. Im erstellten Massenspektrum wird die Signalintensität bei einem gegebenen m/z-Verhältnis aufgetragen.

# So funktioniert es

## Ionisation – Elektronenstoßionisation (EI)

Die GC/MS-Schnittstelle arbeitet bei hohen Temperaturen.



Die EI-GC/MS-Schnittstelle. Quelle: [Agilent Triple Quadrupol GC/MS der Serie 7000 Bedienungsanleitung \(S. 46\)](#)



# So funktioniert es

## Ionisation – Chemische Ionisation (CI)

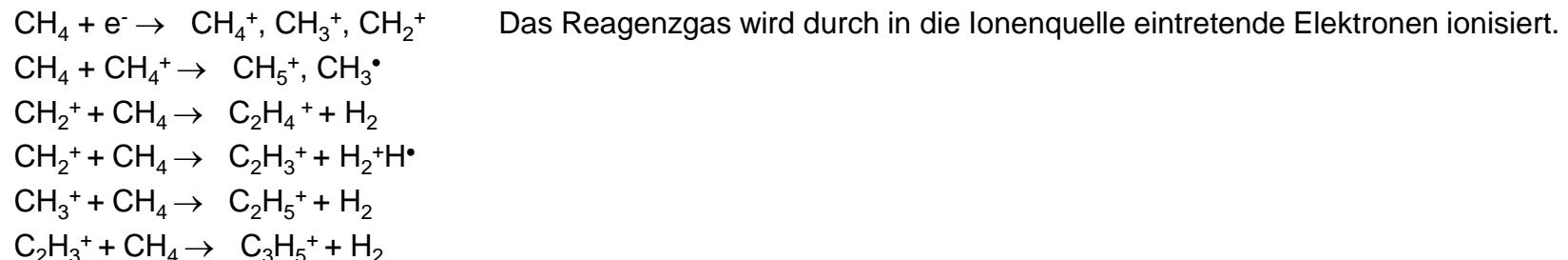
Die EI ist ein Verfahren mit direktem Energietransfer, wobei die kinetische Energie eines Elektrons direkt auf ein Analytmolekül übertragen wird.

Die CI ist ein indirektes Verfahren, bei dem ein chemisches Zwischenprodukt eine Rolle spielt. Dies trifft insbesondere auf die positive chemische Ionisation (PCI) zu. Bei der PCI wird die Ionenquelle mit einem Reagenzgas gefüllt, das ionisiert wird. Dabei werden Reaktandionen erzeugt, die mit dem Analyten reagieren.

Die am häufigsten verwendeten Reagenzgase sind: **Methan, Isobutan und Ammoniak**.

Das verwendete Reagenzgas bestimmt das Ionisations- und Fragmentierungsverhalten des Analyten.

Die wichtigsten Reaktionen von Methan sind die folgenden:



# So funktioniert es

## Ionisation – Überlegungen zur Probe (LC/MS)

### ESI



Flüchtigkeit nicht erforderlich

Bevorzugte Methode für thermisch instabile Analyten

Ionen bilden sich in Lösung

Bildung mehrfach geladener Ionen möglich

### APCI



Etwas Flüchtigkeit erforderlich

Analyten müssen temperaturbeständig sein

Ionen bilden sich in der Gasphase

Ausschließlich Bildung einfach geladener Ionen

### APPI



Etwas Flüchtigkeit erforderlich

Analyten müssen temperaturbeständig sein

Ionen bilden sich in der Gasphase

Ausschließlich Bildung einfach geladener Ionen

Viele Verbindungen lassen sich mit allen drei Ionenquellen gut ionisieren.  
Mit APCI und APPI können Moleküle ionisiert werden, die für eine Ionisation durch ESI zu wenig polar sind.



# So funktioniert es

## Ionisation – Überlegungen zur Probe (LC/MS)

### ESI



Ionen in Lösung z. B.

- Catecholamin, Schwefelkonjugate, quaternäre Amine

Verbindungen, die

- Heteroatome enthalten z. B. Carbamate, Benzodiazepine

Verbindungen, die in Lösung mehrfach geladene Ionen bilden z. B. Proteine, Peptide, Oligonukleotide

### APCI



Verbindungen mit mittelgroßer MG und mittlerer Polarität z. B. PAH, PCB, Fettsäuren, Phthalate, Alkohole

Verbindungen, die

- Heteroatome enthalten z. B. Carbamate, Benzodiazepine

Verbindungen, die zu wenig polar sind, um durch ESI ionisiert zu werden

### APPI



Verbindungen mit mittelgroßem MG und mittlerer bis geringer Polarität z. B. PAH, PCB, Fettsäuren, Phthalate, Alkohole

Verbindungen, die

- Heteroatome enthalten z. B. Carbamate, Benzodiazepine

Verbindungen, die zu wenig polar sind, um durch ESI ionisiert zu werden



# So funktioniert es

## Ionisation – Elektrospray-Ionisation (ESI)

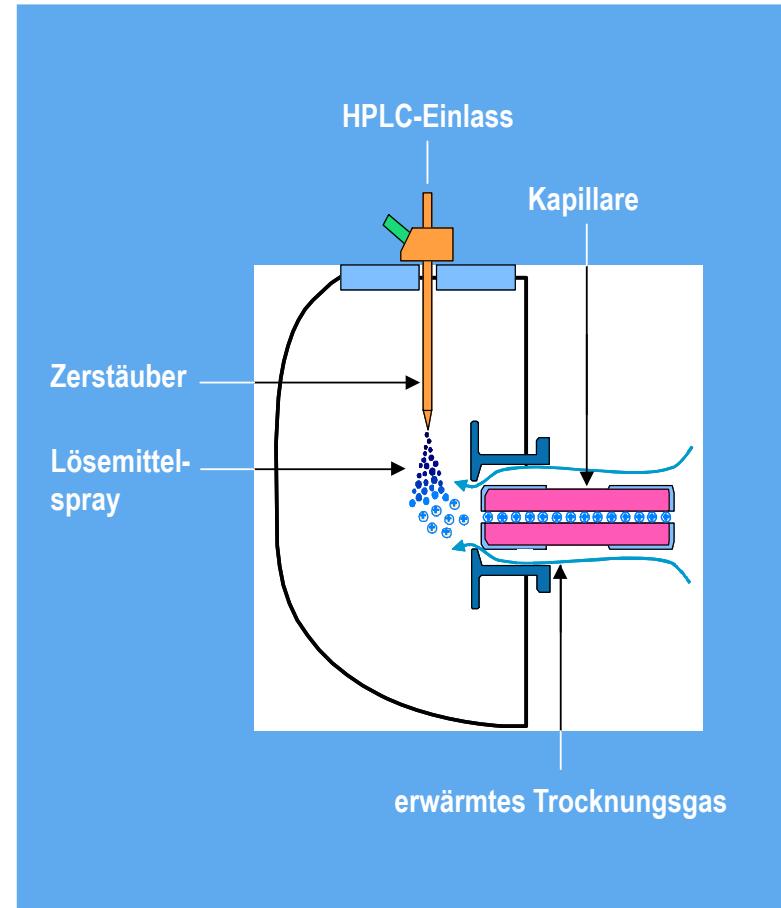
Elektrospray-Ionisation (ESI) ist eine weiche Ionisationsmethode.

Das LC-Lösemittel wird bei Atmosphärendruck und Vorliegen eines starken elektrostatischen Feldes sowie eines aufgeheizten Trocknungsgases in eine Zerstäuberkammer gesprührt (zerstäubt). Das elektrostatische Feld entsteht zwischen dem Zerstäuber, der bei diesem Design geerdet ist, und der Kapillare, an der eine hohe Spannung anliegt.

Geeignete Moleküle:

- Kleine Moleküle (Glucose) und große Biomoleküle (Proteine, Oligonukleotide)

Mehrfache Ladungen sind ein Phänomen bei der ESI, das die Analyse größerer Moleküle ermöglicht  
(-> [Dekonvolution](#)).



Elektrospray-Ionenquelle.  
Quelle: [LC/MS-Konzeptleitfäden \(S. 22\)](#)

# So funktioniert es

## Ionisation – ESI-Prozess

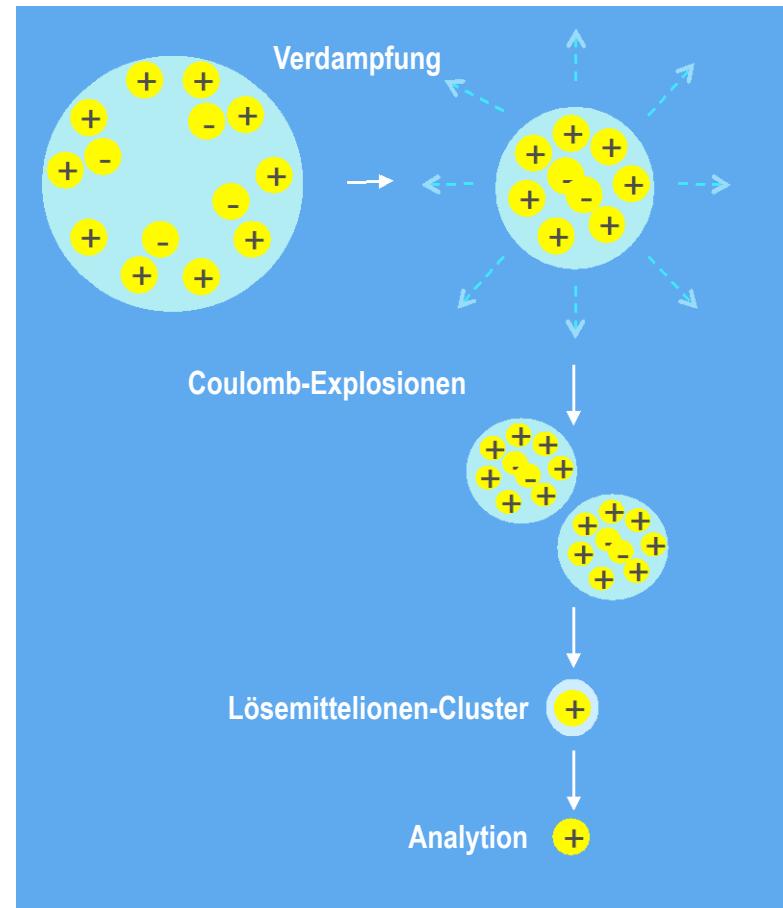
### Von geladenen Tröpfchen zu Analytionen

Der Zerstäuber erzeugt Tröpfchen mit einheitlicher Größe.

Die geladenen Tröpfchen werden von der dielektrischen Kapillare angezogen. Der aufgeheizte Stickstoffstrom, der die Kapillare umgibt, bringt die Tröpfchen zum Schrumpfen. Dieser Prozess wird als **Desolvatation** bezeichnet.

Die Tröpfchen schrumpfen weiter, bis die abstoßende elektrostatische (Coulomb-)Kraft die Kohäsionskraft der Tröpfchen übersteigt und zur Explosion der Tröpfchen führt.

Dieser Prozess wird wiederholt, bis die Analytionen aufgrund der starken elektrischen Felder auf der Oberfläche der Mikrotröpfchen letztlich in die Gasphase desorbiert sind. Dieser Prozess wird als **Ionenverdampfung** bezeichnet.



# So funktioniert es

## Ionisation – Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI)

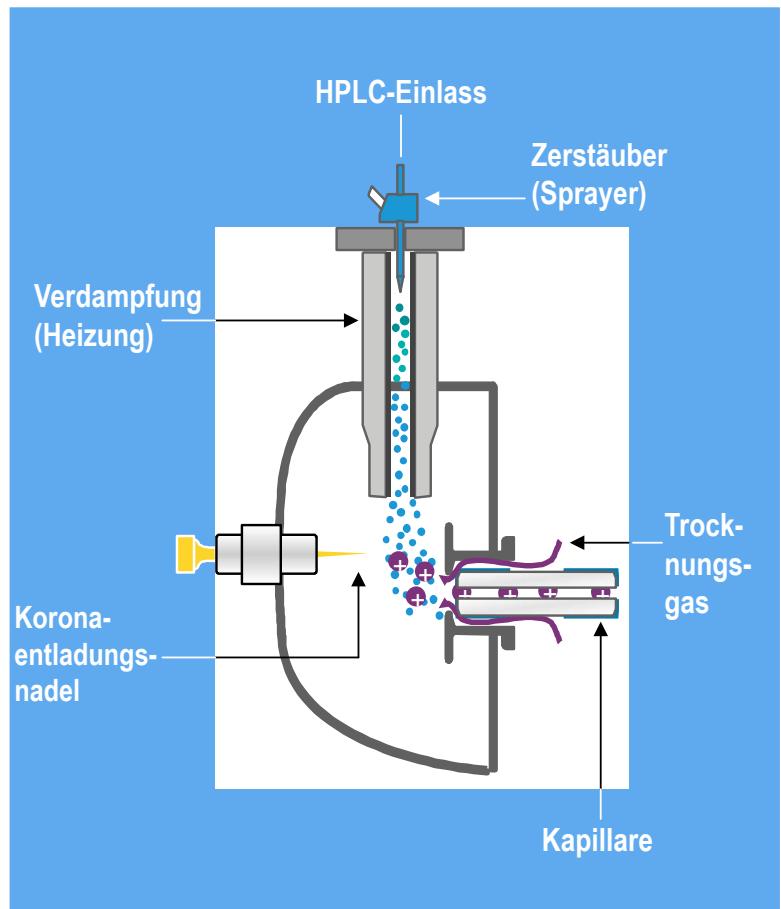
APCI ist ein chemisches Ionisationsverfahren, bei dem die Ionisation in der Gasphase erfolgt. Daher muss der Analyt zur Ionisation in der Gasphase vorliegen.

Das LC-Lösemittel passiert eine Zerstäubernadel, die ein feines Spray erzeugt.

Die Tröpfchen werden in einem geheizten Keramikrohr (~ 400 bis 500 °C) vollständig verdampft.

Geeignete Moleküle:

- Moleküle < 1500 u
- Weniger polare und unpolare Verbindungen (die in der Regel durch Normalphasen-Chromatographie analysiert werden)



Ionenquelle für die chemische Ionisation  
bei Atmosphärendruck.  
Quelle: [LC/MS-Konzeptleitfäden \(S. 27\)](#)



# So funktioniert es

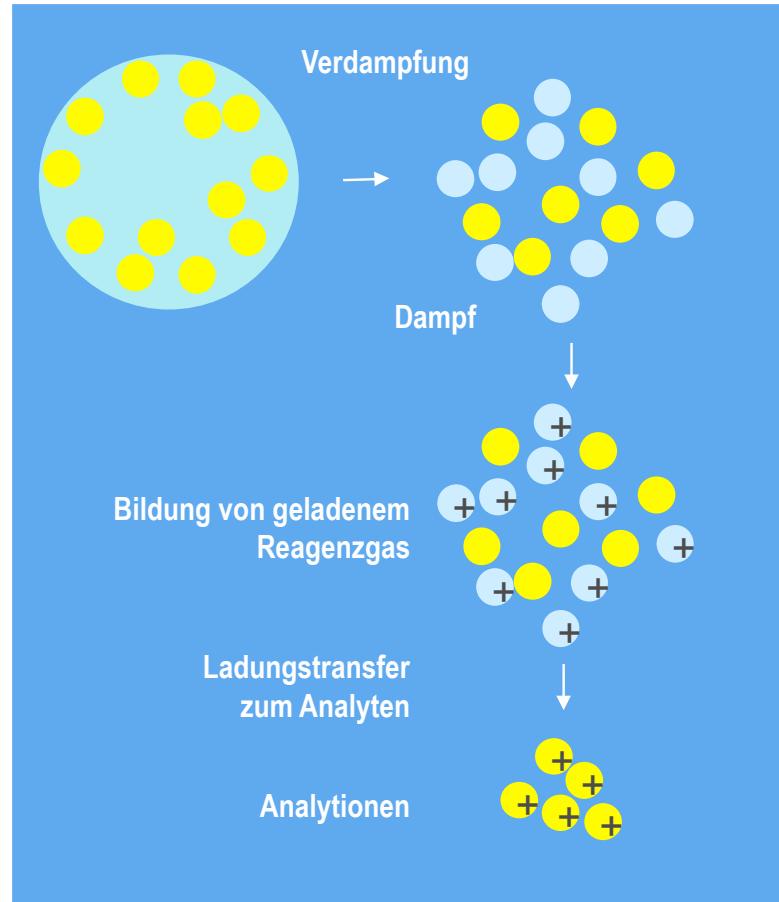
## Ionisation – APCI-Prozess

Hier ist der Verdampfungs- und Ionisationsprozess bei der APCI dargestellt.

Beachten Sie, dass der Analyt erst nach der Verdampfung und nach der Ionisation des Reagenzgases ionisiert wird.

Das Reagenzgas überträgt dann eine Ladung auf den Analyten.

In der Regel werden bei der APCI nur einfach geladene Ionen erzeugt, es ist jedoch möglich, doppelt geladene Ionen zu erhalten, wenn die geladenen Positionen voneinander getrennt gehalten werden (üblicherweise durch eine hydrophobe Region).



# So funktioniert es

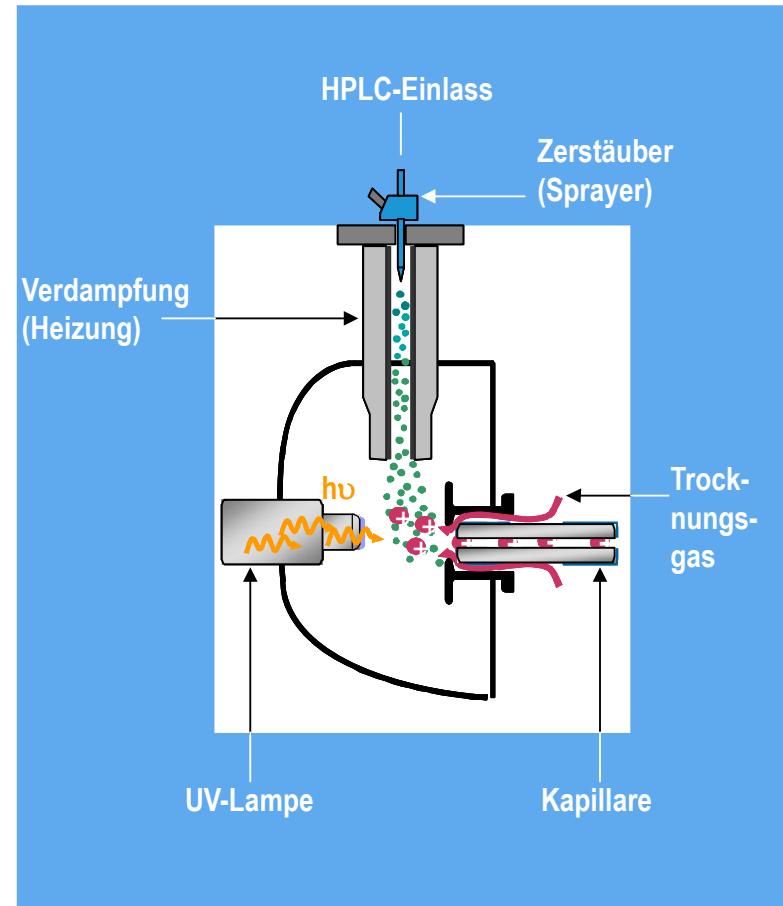
## Ionisation – Photoionisation bei Atmosphärendruck (APPI)

Bei der APPI-Methode passiert das LC-Lösemittel eine Zerstäubernadel, die ein feines Spray erzeugt.

Die Tröpfchen werden in einem geheizten Keramikrohr vollständig verdampft.

Zur Ionisation der Probenmoleküle passiert die Gas-Dampf-Mischung das Ultraviolettspektrum einer Kryptonlampe. Die Probenionen werden dann in die Kapillare geleitet.

Die APPI kann auf viele Verbindungen angewendet werden, die üblicherweise durch die APCI analysiert werden. Die APPI hat sich insbesondere für die Analyse von unpolaren, aromatischen Verbindungen als wertvoll erwiesen.



Ionenquelle für die Photoionisation  
bei Atmosphärendruck.

Quelle: [LC/MS-Konzeptleitfäden \(S. 29\)](#)



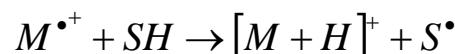
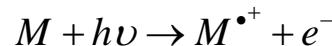
# So funktioniert es

## Ionisation – APPI-Prozess

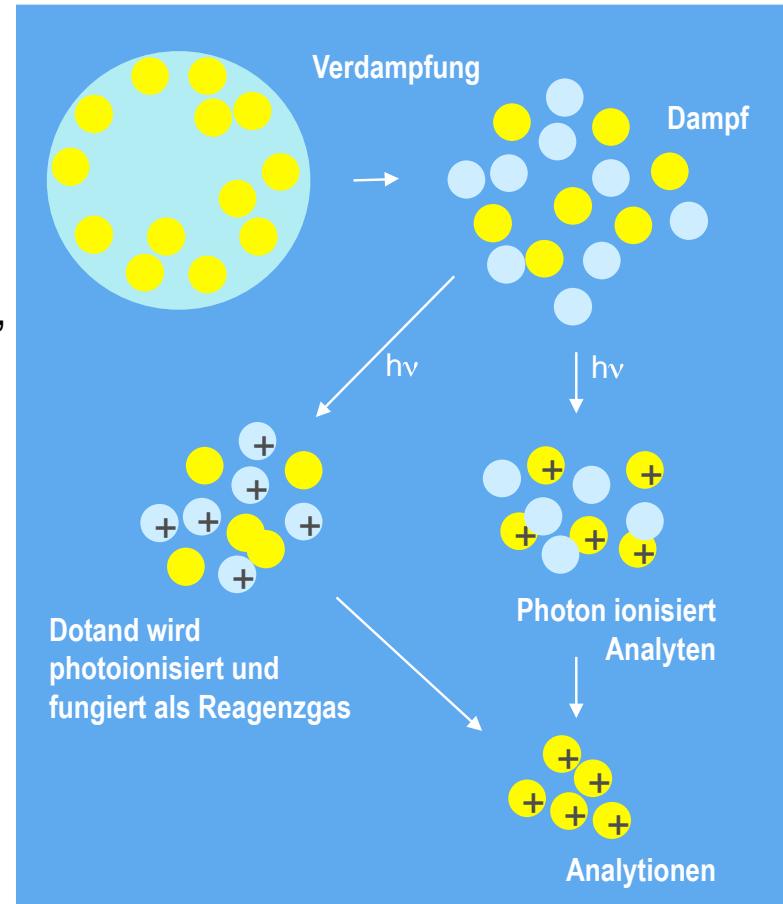
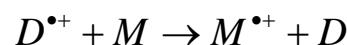
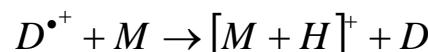
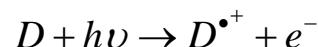
Hier ist der Verdampfungs- und Ionisationsprozess bei der Photoionisation dargestellt.

APPI und APCI sind ähnlich, wobei bei der APPI anstelle der Corona-Nadel eine Lampe zur Ionisation eingesetzt wird. Bei der APPI wird häufig auch ein zusätzliches Lösemittel oder ein Mobilphasen-Modifier, „Dotand“ ( $D$ ) genannt, zur Erleichterung des Photoionisationsprozesses verwendet.

Direkte APPI:



Dotand-APPI:



# So funktioniert es

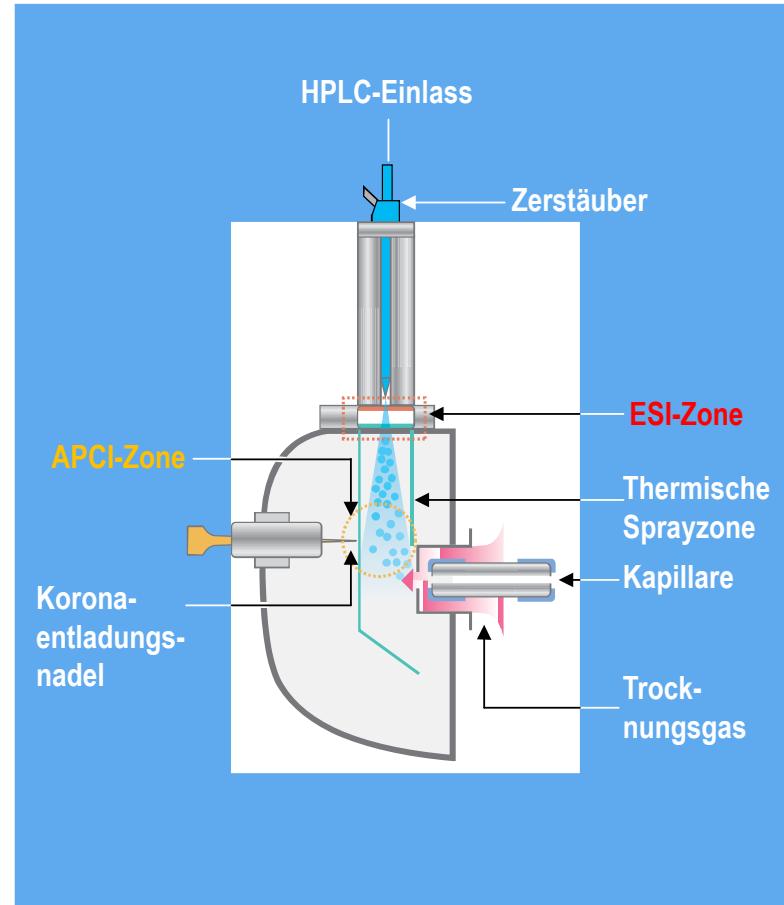
## Ionisation – Multimodale Ionisation (MMI)

Die Multimode-Quelle ist eine Ionenquelle, die in drei verschiedenen Modi arbeiten kann:

- APCI
- ESI
- Simultane APCI/ESI

Sie umfasst zwei elektrisch getrennte, optimierte Zonen – eine für die ESI und eine für die APCI. Bei der simultanen APCI/ESI gelangen durch beide Ionisationsmodi erzeugte Ionen in die Kapillare und werden durch das Massenspektrometer gleichzeitig analysiert.

MMI ist nützlich beim Screening unbekannter Strukturen oder wann immer eine Probe eine Mischung von Verbindungen enthält, von denen einige auf ESI und andere auf APCI ansprechen.



Multimodale Ionenquelle.  
Quelle: [LC/MS-Konzeptleitfäden](#) (S. 30)

# So funktioniert es

## Ionisation –Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI)

Die Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI) ist eine weiche Ionisationsmethode.

Die Probe wird mit der Matrix gemischt und auf eine Metallplatte appliziert.

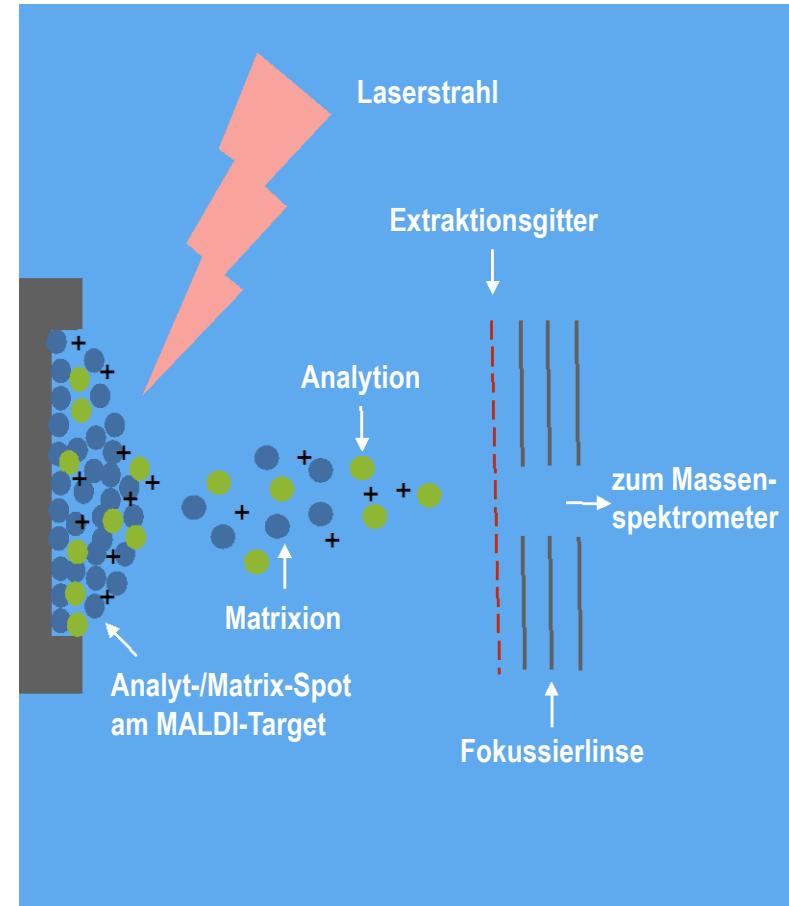
Die Probe wird mit einem gepulsten Laser bestrahlt, der eine Ablation und Desorption bewirkt.

Die Analytmoleküle werden im heißen Strom der ablatierten Gase ionisiert.

Die Ionen werden beschleunigt und in das Massenspektrometer überführt.

Geeignete Moleküle:

- Biomoleküle (DNA, Proteine, Zucker)
- Große organische Moleküle (Polymere)



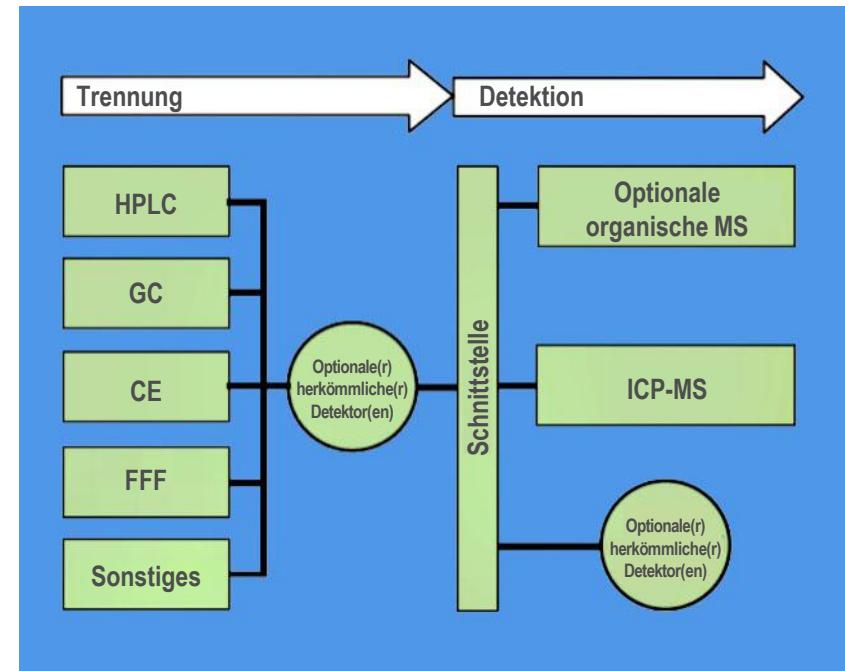
# So funktioniert es

## Ionisation – Induktiv gekoppeltes Plasma (ICP)

Ein Instrument mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP) arbeitet mit einer Plasmaquelle, bei der die Energie von durch elektromagnetische Induktion erzeugten elektrischen Strömen geliefert wird, d. h. durch zeitlich variierende Magnetfelder. Das Plasma hat eine so hohe Energie, dass es Moleküle zu ionisierten Elementen reduziert.

Es stehen unterschiedliche ICP-Geometrien zur Verfügung, die mit Instrumenten, die verschiedene Techniken nutzen, gekoppelt werden können:

- ICP-AES Atomemissionsspektroskopie
- ICP-OES Optische Emissionspektroskopie
- ICP-MS Massenspektrometrie
- ICP-RIE Reaktives Ionen-Ätzen



Das Diagramm veranschaulicht den Zusammenhang zwischen den verschiedenen Komponenten eines gekoppelten ICP-MS-Systems.

# So funktioniert es

## Massenanalysator

Nach der Ionisation und dem Ionentransport gelangen die Analyten in den Massenanalysator.

Das Massenspektrometer misst die Ionensignale und erstellt ein Massenspektrum, das wertvolle Informationen über Molekülmasse, Struktur, Identität und Quantität einer Verbindung liefern kann.

Es gibt verschiedene Arten von Massenanalysatoren:

- Single Quadrupol (SQ)
- Triple Quadrupol (QQQ)
- Time-of-Flight (TOF)
- Ionenfalle (IT)



# So funktioniert es

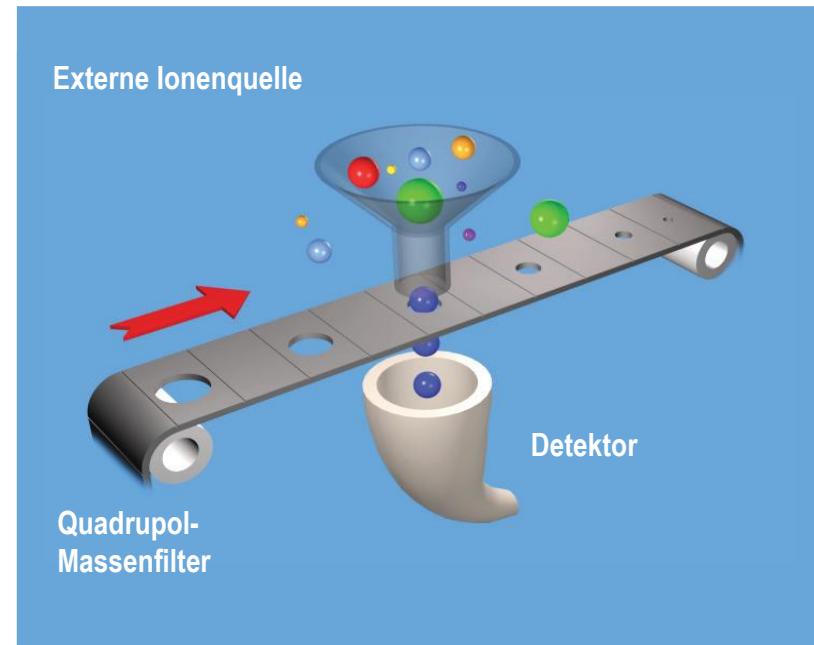
## Massenanalysator – Single Quadrupol (SQ)

In der Ionenquelle erzeugte Ionen gelangen in den Massenanalysator. Der Quadrupol-Massenanalysator filtert die Ionen sequenziell, sodass jeweils nur Ionen mit einem bestimmten  $m/z$ -Verhältnis passieren können. Alle anderen Ionen gehen verloren.

### **$m/z$ – Verhältnis Masse zu Ladung:**

Die Masse eines Ions (Dalton oder u) dividiert durch die Anzahl der Ladungen des Ions

Erhaltene Informationen: **nur MS**

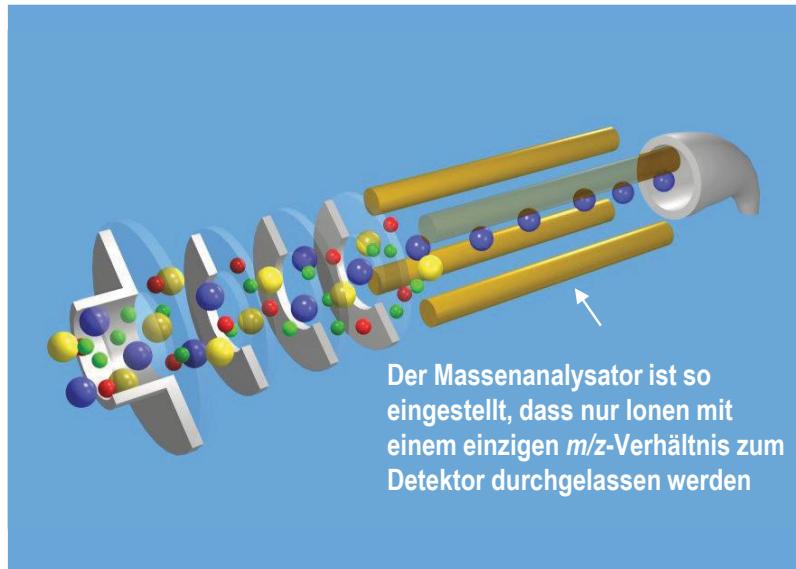


Konzeptionelles Modell – Single Quadrupol

# So funktioniert es

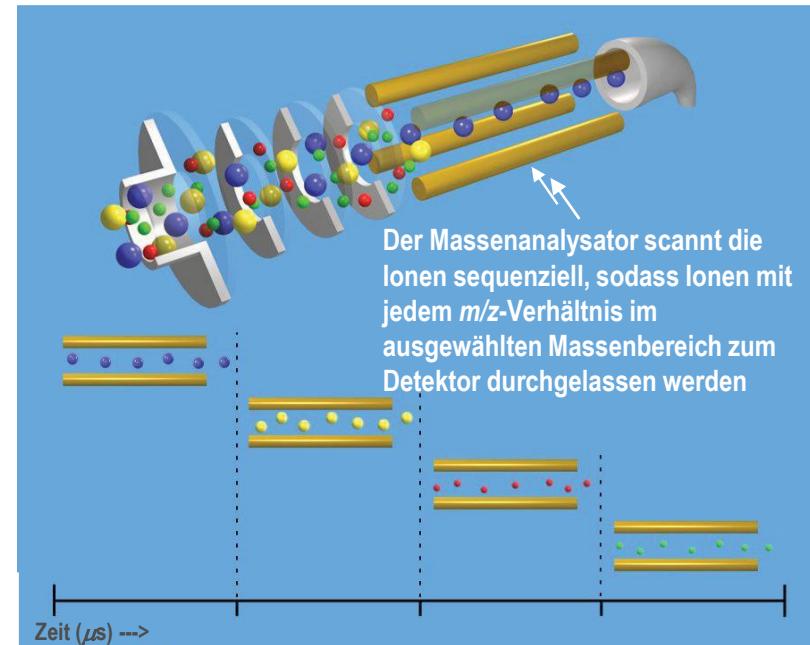
## Massenanalysator – Single Quadrupol (SQ)

### Single Ion Monitoring (SIM)



Ein Zielion mit einem bestimmten  $m/z$ -Verhältnis wird überwacht. SIM auf einem Single-Quadrupol-Gerät bietet die höchste Empfindlichkeit für die Quantifizierung, ist aber wenig spezifisch.

### Scan-Modus



Im Scan-MS-Modus werden die Ionen im Quadrupol-Massenanalysator sequenziell gescannt, sodass jeweils nur Ionen mit 1  $m/z$ -Verhältnis zum Detektor gelangen können.



# So funktioniert es

## Massenanalysator – Triple Quadrupol (QQQ)

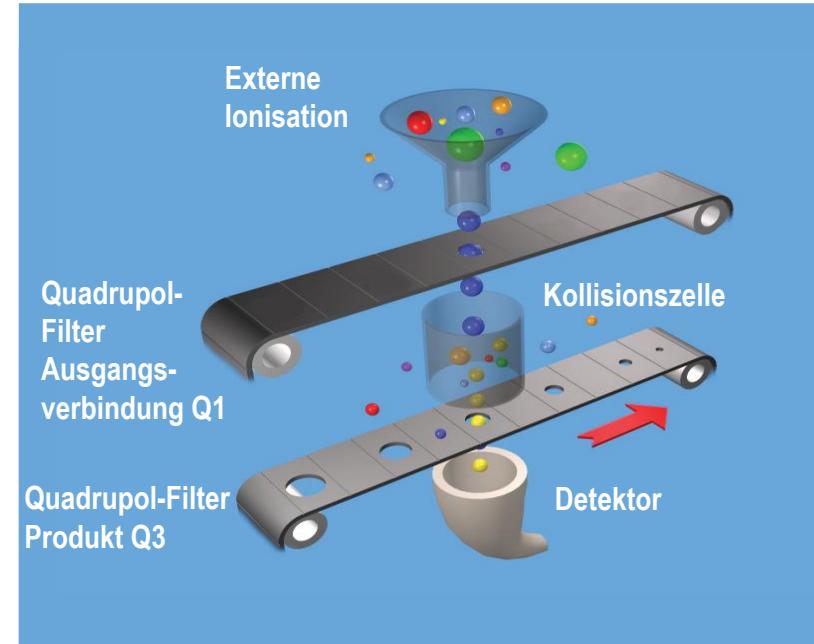
In der Ionenquelle erzeugte Ionen gelangen in den Massenanalysator.

Der Analyzer besteht aus drei Quadrupolen (Q1 – Q3) und bietet daher mehrere Betriebsmodi, die unterschiedliche Informationen liefern.

Eine häufige Anordnung ist die folgende:

- Q1: verwendet als Filter für jeweils ein bestimmtes  $m/z$ -Verhältnis (Vorläuferion)
- Q2: verwendet als Kollisionszelle zum Fragmentieren der Vorläuferionen und zum Erzeugen von Produktionen
- Q3: eingestellt auf ein spezifisches  $m/z$ -Verhältnis (SRM oder MRM) oder auf Scan-Modus (Produktionen-Scan)

Erhaltene Informationen: **MS** und **MS/MS**

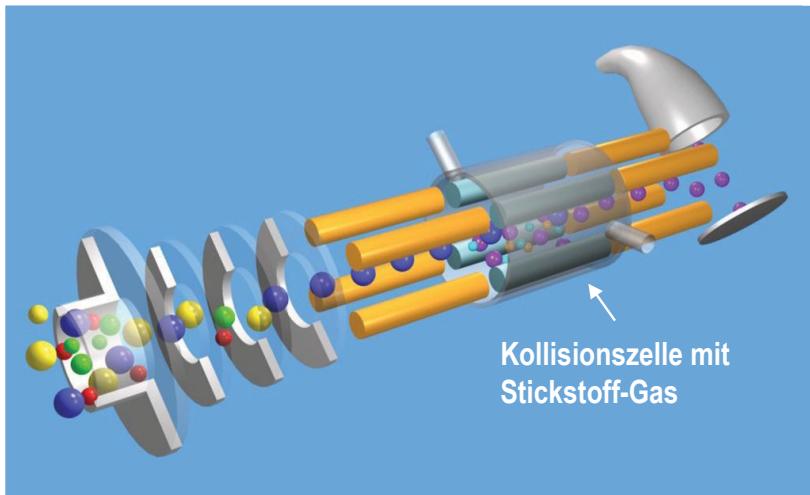


Konzeptionelles Modell – Triple Quadrupol  
Die schematische Darstellung zeigt den SRM-Modus.

# So funktioniert es

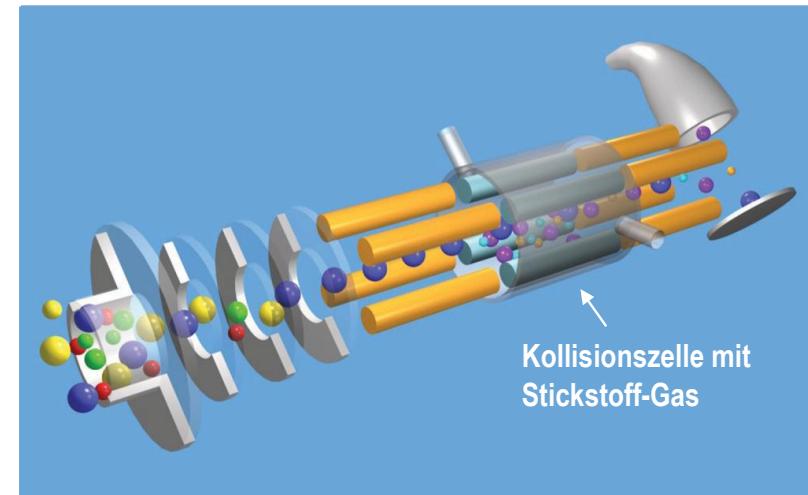
## Massenanalysator – Triple Quadrupol (QQQ)

### Multiple Reaction Monitoring (MRM)



Vorläuferionen mit einem einzigen  $m/z$ -Verhältnis gelangen zur Kollisionszelle. Durch Kollision mit Stickstoff-Molekülen werden Fragmentionen erzeugt. Q3 ist auf ein einzelnes  $m/z$ -Verhältnis eines bestimmten Fragmentions eingestellt. Dies ist eine sehr empfindliche Methode, die zur Quantifizierung eingesetzt wird.

### Modus Full-Scan-MS/MS



Der Unterschied zwischen dem Full-Scan-Modus und dem SRM/MRM-Modus liegt in der Scan-Funktion. Im Q3 werden die Ionen sequenziell gescannt, sodass jeweils nur Ionen mit 1  $m/z$ -Verhältnis zum Detektor gelangen können. Es wird ein Produktionen-Spektrum erstellt. Dieser Betriebsmodus ist weniger empfindlich als der SRM/MRM-Modus.

# So funktioniert es

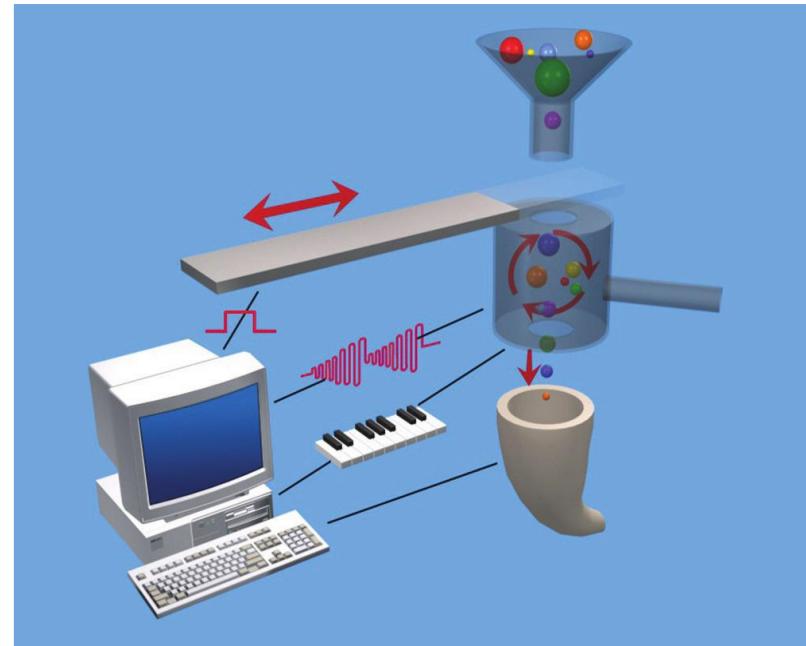
## Massenanalysator – Ionenfalle (IT)

In der Ionenquelle erzeugte Ionen gelangen in den Massenanalysator. Alle Ionen mit der ausgewählten Polarität im ausgewählten Massenbereich können gleichzeitig in der Ionenfalle gespeichert werden.

Im Ionenfallen-Massenanalysator können die Ionen bis zum Zeitpunkt der Detektion manipuliert werden. So können verschiedene Isolierungs- und Fragmentierungsschritte durchgeführt werden.

Die Ionenfalle besteht – statt aus vier parallelen Stäben – aus einer Ringelektrode plus zwei Endkappen, die eine „Falle“ bilden.

Erhaltene Informationen: **MS** und **MS/MS**

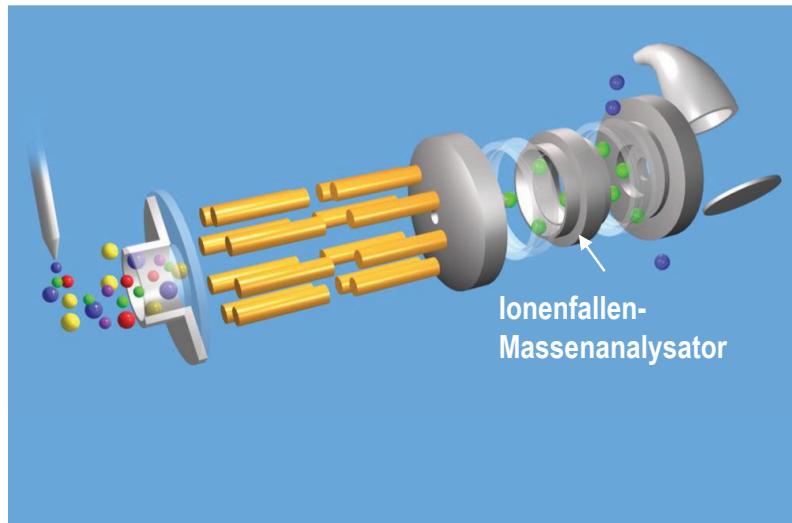


Konzeptionelles Modell – Ionenfalle

# So funktioniert es

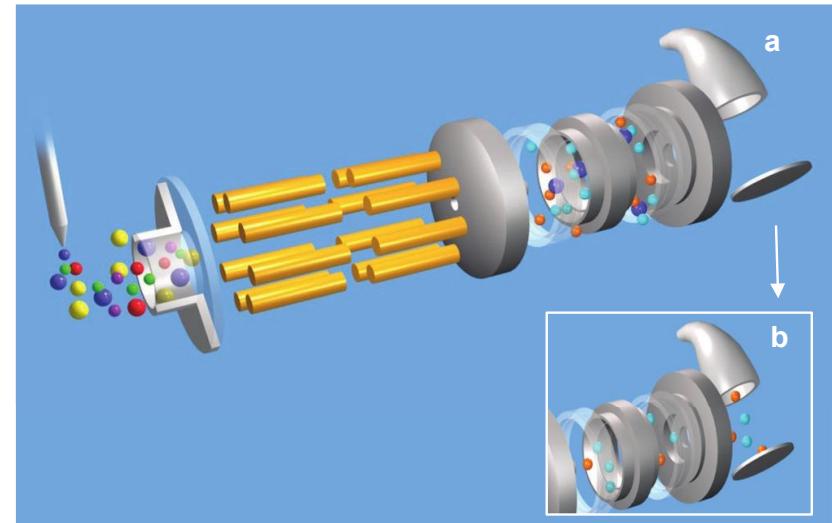
## Massenanalysator – Ionenfalle (IT)

### Schritt 1: Isolierung des Vorläuferions



Sobald die Injektion und Akkumulation der Ionen abgeschlossen ist, schließt sich das Ionen-Gate und es werden keine Ionen mehr in den Massenanalysator injiziert. Wellenformen werden angewendet, um Massen unter- und oberhalb der Masse des Vorläuferions auszustoßen.

### Schritt 2: Fragmentierung des Vorläuferions



# So funktioniert es

## Massenanalysator – Time-of-Flight (TOF)

In der Ionenquelle erzeugte Ionen gelangen in den Massenanalysator.

Komponenten des Analyzers:

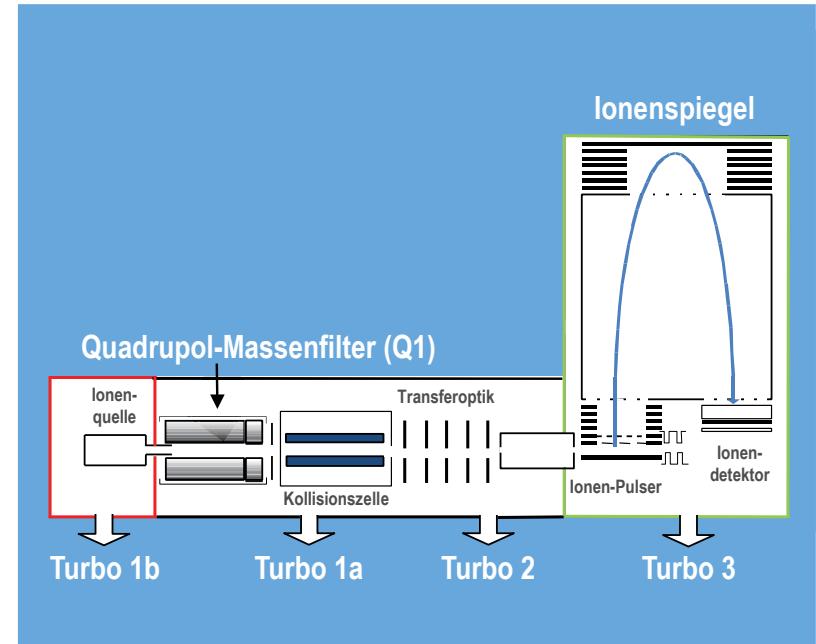
- Massenfilter (Q1), optional
- Flugrohr
- Kollisionszelle (Q-TOF)

Nachdem die Ionen den Quadrupol oder die Kollisionszelle passiert haben, erreichen sie den Ionen-Pulser. Mit einem Hochspannungspuls werden die Ionen beschleunigt und gelangen in das Flugrohr. Ein Ionenspiegel am Ende des Rohres reflektiert die Ionen und sendet sie zum Detektor, der ihre Ankunftszeit aufzeichnet.

Erhaltene Informationen:

TOF: nur MS

Q-TOF: MS und MS/MS



Schematische Darstellung eines Time-of-Flight-Massenspektrometers  
Quelle: [Time-of-Flight-Massenspektrometrie](#)  
Die Abbildung zeigt ein Q-TOF



# So funktioniert es

## Massenanalysator – Time-of-Flight (TOF)

Jede Masse weist eine ganz bestimmte Flugzeit ( $t$ ) auf, die festgelegt ist durch die Energie ( $E$ ), auf die ein Ion beschleunigt wird, der Wegstrecke ( $d$ ), die es zurücklegen muss, und das  $m/z$ -Verhältnis.

$$E = \frac{1}{2}mv^2$$

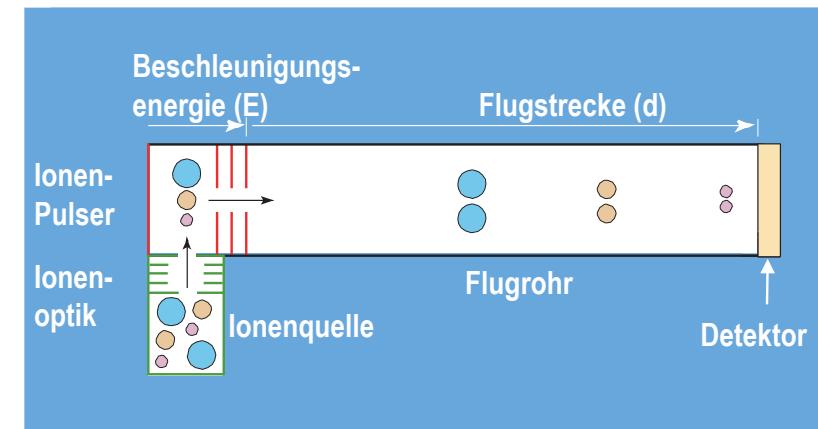
aufgelöst nach  $m$  sieht so aus:

$$m = 2E / v^2$$

und aufgelöst nach  $v$  so:

$$v = \sqrt{(2E / m)}$$

Gleichung 1



Die Gleichung besagt, dass kleinere Massen bei einer vorgegebenen kinetischen Energie  $E$  eine höhere Geschwindigkeit haben als größere Massen. Ionen mit kleineren Massen erreichen daher den Detektor früher.

Die Geschwindigkeit (und damit die Masse) wird anhand der Zeit bestimmt, die ein Ion zum Erreichen des Detektors benötigt.

# So funktioniert es

## Massenanalysator – Time-of-Flight (TOF)

Die zweite Gleichung beschreibt die bekannte Definition der Geschwindigkeit ( $v$ ) als Quotient aus Strecke ( $d$ ) und Zeit ( $t$ ):  $v = d / t$

Die Kombination von Gleichung 1 und 2 ergibt:  $m = (2E / d^2)t^2$

Bei vorgegebener Energie ( $E$ ) und Strecke ist die Masse proportional zum Quadrat der Flugzeit des Ions.  $E$  und  $d$  werden konstant gehalten und zu Variable A zusammengefasst, was eine vereinfachte Gleichung ergibt:  $m = A \cdot t^2$

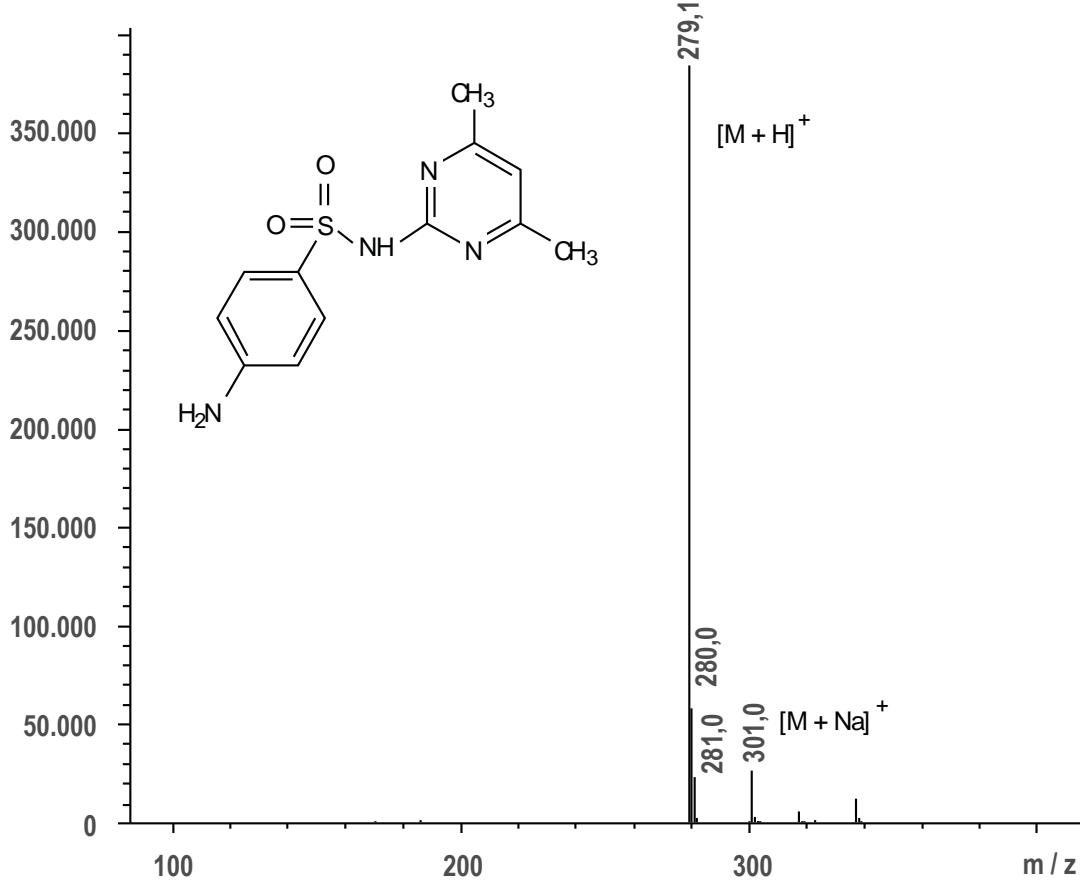
Um ganz genau zu sein, muss auch die Zeitverzögerung für das Anlegen der Hochspannung berücksichtigt werden:  $t = t_m - t_0$

Dies führt zur Endgleichung:  $m = A(t_m - t_0)^2$



# Ergebnisse

## Beispiel 1



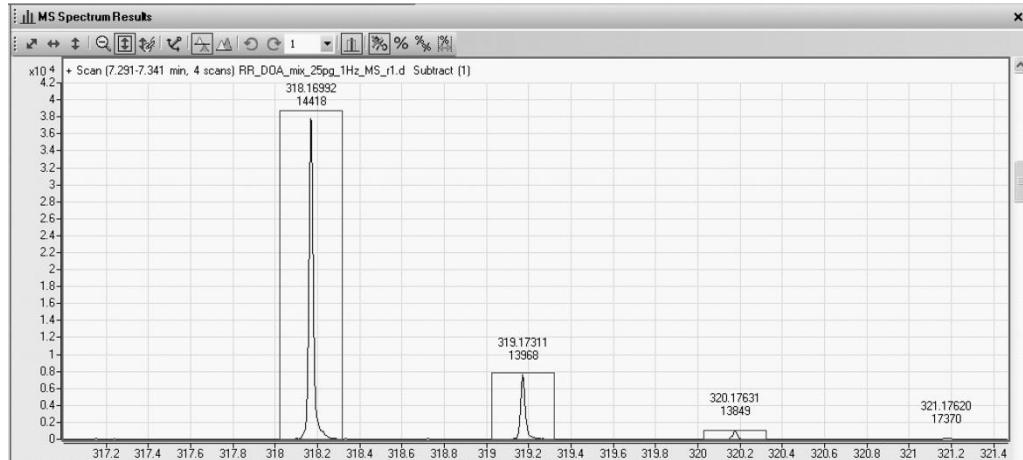
Massenspektrum von  
Sulfamethazin, analysiert  
mit einem Single-Quadrupol-  
Massenanalysator

Molekularformel:  $C_{12}H_{14}N_4O_2S$   
 $[M+H]^+$ : 279,33

Massenspektrum von Sulfamethazin.  
Quelle: [G1960-90083](#) (S. 17)

# Ergebnisse

## Beispiel 2



m/z	/	Ion	Formula	Abundance
318.16992		(M+H) <sup>+</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub>	39016
		Best	Formula (M)	Score
			C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> N <sub>4</sub>	100
			317.16264	317.16271
				Difference (ppm)
				0.22
				Mass Score
				99.97
				DBE
				8
		+	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub>	80.01
		+	317.16264	317.16405
		+		Difference (ppm)
		+		4.43
		+		Mass Score
		+		87.06
		+		DBE
		+		13
		+	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> N <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	56.96
		+	317.16264	317.16002
		+		Difference (ppm)
		+		-8.25
		+		Mass Score
		+		61.86
		+		DBE
		+		9

Massenspektrum von [Cocaethylen](#), analysiert mit einem Q-TOF-Massenanalysator

Molekularformel: **C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>**  
[M+H]<sup>+</sup>: **318,387**

Massenspektrum von Cocaethylen.  
Quelle: [A comparison of several LC/MS techniques for use in toxicology \(Vergleich verschiedener LC/MS-Methoden für die Toxikologie\) \(Abb. 36, S. 37\)](#)

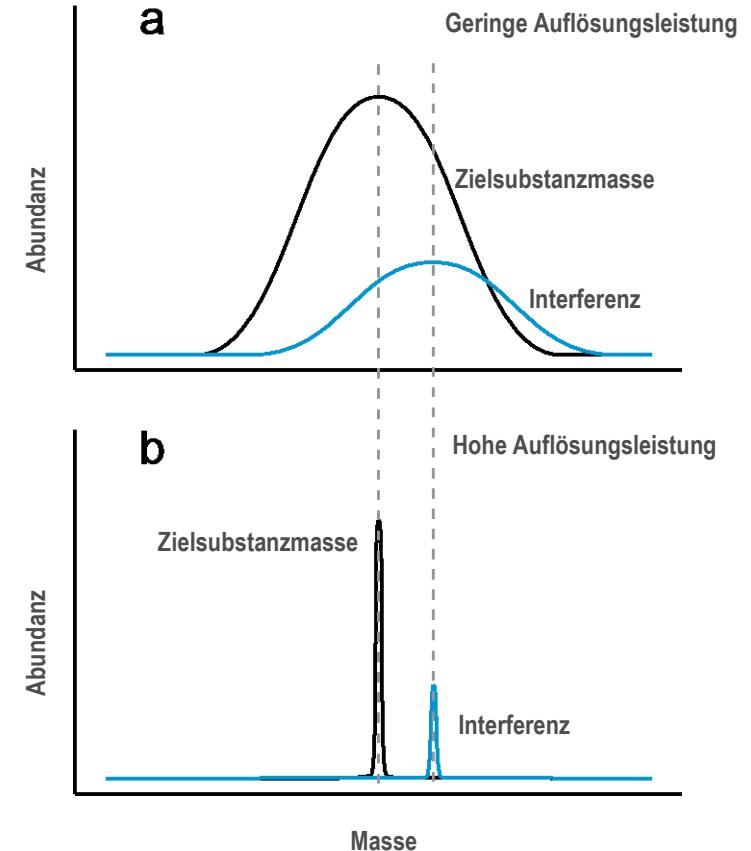
# Ergebnisse

## Single Quadrupol vs. Hochauflösungs-TOF

Die Analyse mit einem Single-(Triple-)Quadrupol-System liefert Informationen zur nominellen Masse (geringe Auflösungsleistung); Time-of-Flight-Instrumente liefern Informationen zur akkuraten Masse (hohe Auflösungsleistung).

Um höchstmögliche Massengenauigkeit zu gewährleisten, ist bei der Time-of-Flight-Analyse eine kontinuierliche Kalibrierung des TOF-Systems erforderlich. Die Messungen weichen in der Regel nur um einige Teile pro Million (ppm) voneinander ab.

Bei ausreichender Massenauflösung und Massengenauigkeit kann mit einem TOF-Massenspektrometer die Elementarzusammensetzung bestätigt werden.



Auflösungsleistung eines Single-Quadrupol- (a) und eines Time-of-Flight-Systems (b): [5989-2549EN](#) (S. 14)

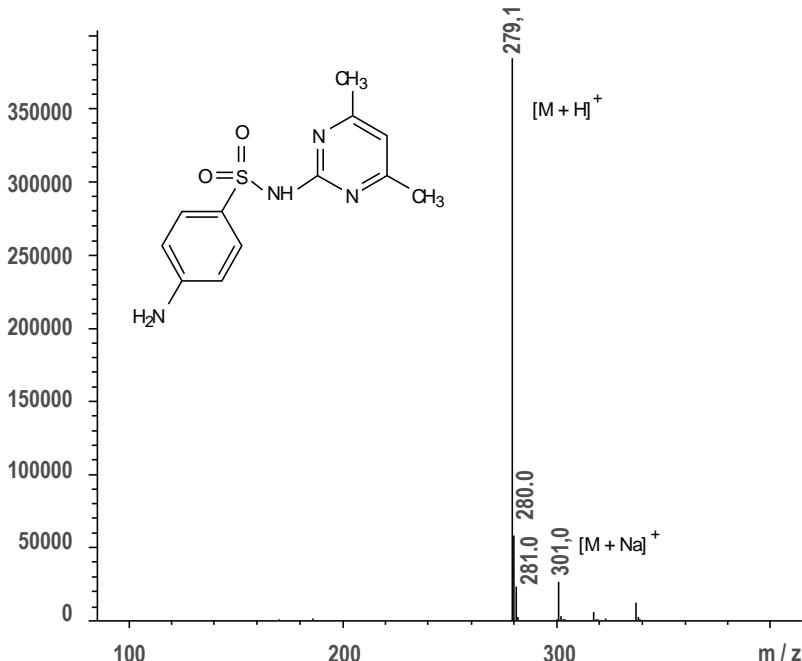
### Inhalt



# Ergebnisse

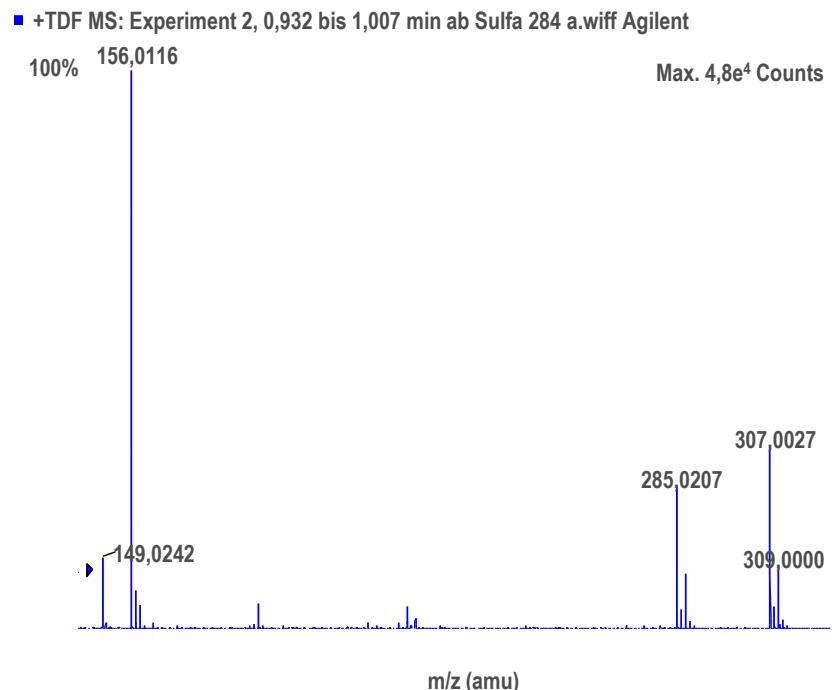
## Single Quadrupol vs. TOF

Typisches Single-Quadrupol-Massenspektrum



Massenspektrum von Sulfamethazin.  
Quelle: [G1960-90083](#) (S. 17)

Typisches TOF-Massenspektrum



Massenspektrum von Sulfachlorpyridazin mit Addukt- und Fragmentionen. Quelle: [5989-2549EN](#) (S. 25)



# Ergebnisse

## Mehrfach geladene Ionen und Dekonvolution

Abhängig vom analysierten Molekül und der Ionisationstechnik können mehrere geladene Ionen erzeugt werden.

Kleine Moleküle und APCI liefern einfach geladene Ionen:

Das gemessene  $m/z$ -Verhältnis entspricht der Molekülmasse nach Subtraktion (positives Ion) oder Addition (negatives Ion) des Ladungsträgers.

Bei großen Molekülen (Peptiden, Proteinen), die mit ESI ionisiert werden, stehen mehrere Stellen zur Verfügung, die Ladungen tragen können (für Protonierung bzw. Deprotonierung), sodass auch mehrfach geladene Ionen entstehen können:

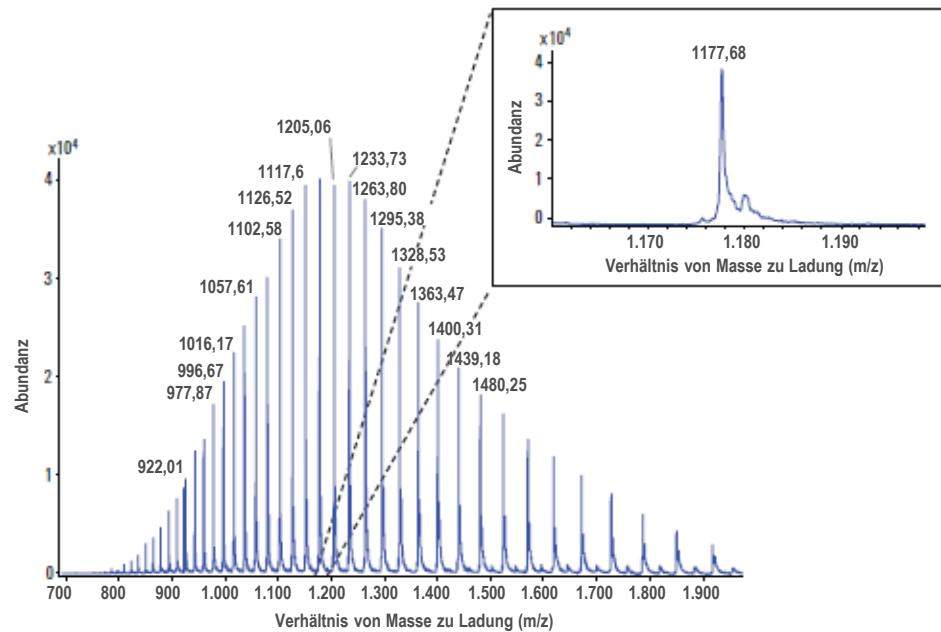
Auf diese Weise können auch große Moleküle ( $> 1$  Mio. Da) wie Antikörper (150 kDa) mittels Massenspektrometrie analysiert werden, da die untersuchten Ionen in einen leichter messbaren  $m/z$ -Bereich verschoben werden.

Zur Ermittlung der tatsächlichen Molekülmasse aus dem gemessenen  $m/z$ -Verhältnis ist ein mathematischer Algorithmus erforderlich. Dieses Verfahren wird als **Dekonvolution** bezeichnet.

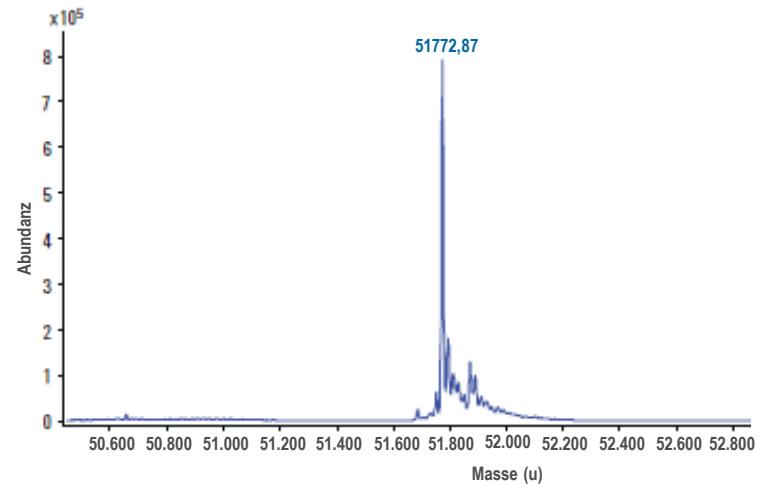


# Ergebnisse

## Mehrfach geladene Ionen und Dekonvolution – Beispiel



Erwartete Masse von unmodifizierter Glutaminsynthetase:  
51.772,7 u



Massenspektrum exprimierter Glutaminsynthetase.

Dekonvoluiertes Massenspektrum von exprimierter Glutaminsynthetase.

Quelle: [Accurate-Mass LC/TOF-MS for Molecular Weight Confirmation of Intact Proteins \(Accurate-Mass-LC/TOF-MS zur Bestätigung der Molekulmasse von intakten Proteinen\)](#) (Abb. 1, S. 4)

# Abkürzungen

Abkürzung	Definition
APCI	Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck
APPI	Photoionisation bei Atmosphärendruck
CI	Chemische Ionisation
CID	Stoßinduzierte Dissoziation
D	Dotand (APPI)
Da	Dalton
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
GC	Gaschromatographie
GC/MS	Gaschromatographie/Massenspektrometrie
ICP	Induktiv gekoppeltes Plasma
IT	Ionenfalle

Abkürzung	Definition
LC/MS	Flüssigkeitschromatographie/Massenspektrometrie
M	Molekülion
MALDI	Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation
MMI	Multimodale Ionisation
MRM	Multiple Reaction Monitoring
MS	Massenspektrometrie
m/z	Verhältnis von Masse zu Ladung
QQQ	Triple Quadrupol
SIM	Single Ion Monitoring
SH	Lösungsmittelmoleküle
SQ	Single Quadrupol
(Q) – TOF	Time-of-Flight

## Inhalt



# Weitere Informationen

Weitere Informationen zu Produkten von Agilent finden Sie unter [www.agilent.com](http://www.agilent.com) oder [www.agilent.com/chem/academia](http://www.agilent.com/chem/academia)

Bei Fragen und Vorschlägen zu dieser Präsentation wenden Sie sich an  
[academia.team@agilent.com](mailto:academia.team@agilent.com)

Publikation	Titel	Pub.-Nr.
Handbuch	<a href="#">Agilent 7000 Series Triple Quad GC/MS Operation Manual (Agilent Triple Quadrupol GC/MS der Serie 7000 Bedienungsanleitung)</a>	G7000-90044
Leitfaden	<a href="#">Agilent 6100 Series Quadrupole LC/MS system – Concepts Guide (Agilent Quadrupol LC/MS-System der Serie 6100 – Konzeptleitfaden)</a>	G1960-90083
Applikationskompendium	<a href="#">Time-of-Flight Solutions in Pharmaceutical Development – the Power of Accurate Mass (Time-of-Flight-Lösungen bei der pharmazeutischen Entwicklung – die Leistungsfähigkeit der Bestimmung akkurate Massen)</a>	5989-2549EN
Technische Übersicht	<a href="#">Time-of-Flight Mass Spectrometry (Time-of-Flight-Massenspektrometrie)</a>	5990-9207EN
Applikation	<a href="#">Accurate-Mass LC/TOF-MS for Molecular Weight Confirmation of Intact Proteins (Accurate-Mass-LC/TOF-MS zur Bestätigung der Molekülmasse von intakten Proteinen)</a>	5989-7406EN
Applikation	<a href="#">A Comparison of Several LC/MS Techniques for Use in Toxicology (Vergleich verschiedener LC/MS-Methoden für die Toxikologie)</a>	5990-3450EN
Videos	<a href="http://www.agilent.com/chem/teachingresources">www.agilent.com/chem/teachingresources</a>	
Bilder	<a href="http://www.agilent.com/chem/teachingresources">www.agilent.com/chem/teachingresources</a>	

## Inhalt





# VIELEN DANK

Publikationsnummer 5991-5857DEE

