

Treffen der Fachgruppe FT-MS und hochauflösende Massenspektrometrie

Fachgruppe der Deutschen Gesellschaft für Massenspektrometrie (DGMS)



26.-27. September 2013

www.ftms2013.uni-hd.de



**UNIVERSITÄT
HEIDELBERG**
ZUKUNFT
SEIT 1386

MS
@OCI
HD



An advertisement for the impact HD mass spectrometer. The top half features a woman in a lab coat and safety glasses working with test tubes. To her right is the grey impact HD instrument, which has a cylindrical top and a rectangular base with a control panel. The background is a dark blue gradient with blurred circular shapes. The word "impact" is written in large blue letters at the top left of the main image area.

Sensational New Capabilities of impact HD from Single LC-Accurate Mass MS Analysis

- **High Definition** 5 orders of magnitude dynamic range in one second from 50 GBit / sec sampling technology
- **Definitive trace analysis** from complex, high-background matrices
- **Quantitation** by Source Stability and HD dynamic range
- **Easy to use** with intelligent self-optimizing MSMS routines for expert-caliber results first time

Applications

- **Proteomics and Metabolomics**
- **Food and Water Testing**
- **Forensics and Drug screening**
- **Synthetic Chemistry Support**

For more information please visit www.bruker.com

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

LC-MS/MS

Innovation with Integrity

Stadtplan

Ein Stadtplan mit ÖVPN-Netz befindet sich in der Tagungstasche.

WLAN

Während der Tagung ist im Hörsaalgebäude für alle Teilnehmer ein Internetzugang über WLAN verfügbar.

Die Zugangsdaten finden Sie in Ihrer Tagungstasche.

Kaffeepausen und Rauchen

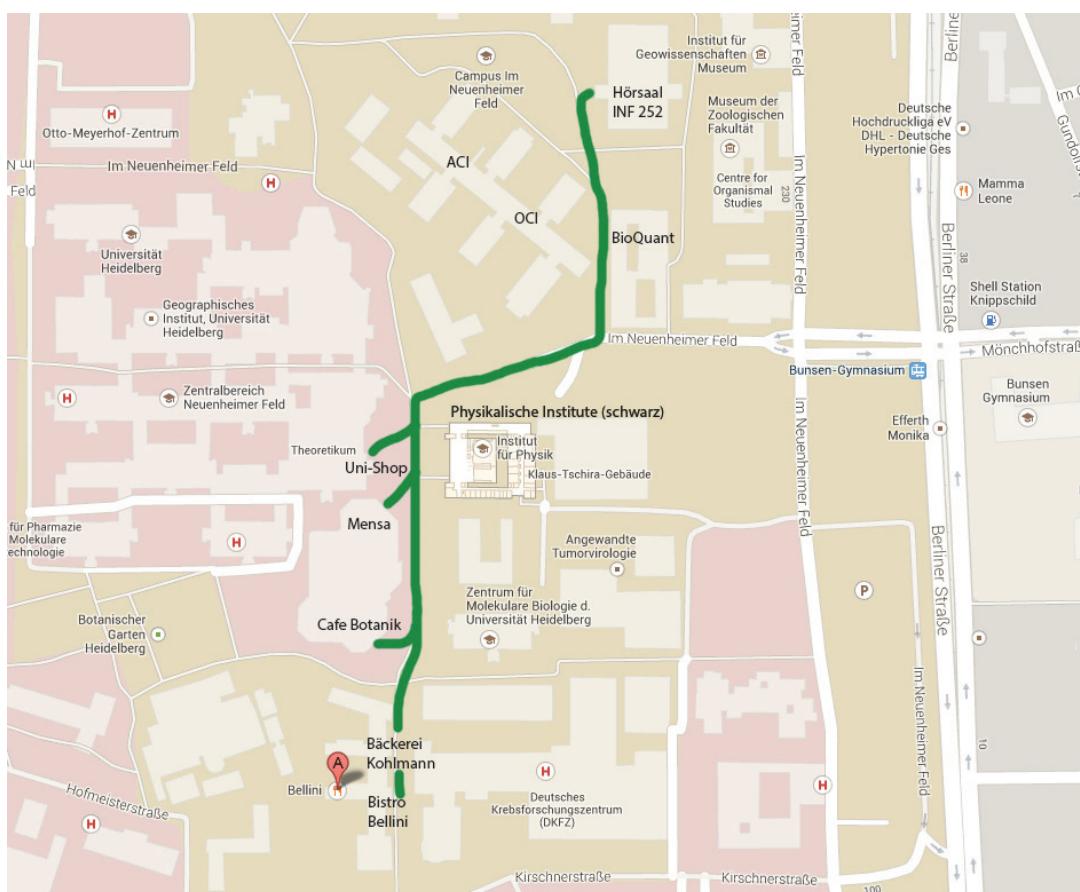
In den Kaffeepausen ist für Getränke und Knabbereien gesorgt. Rauchen ist im Hörsaalgebäude verboten. Es gibt aber zwei überdachte Außenbereiche vor den Eingängen.

Garderobe und Toiletten

Kleiderständner und Toiletten finden Sie im Untergeschoss des Hörsaal-Foyers. Eine Bewachung der Garderobe ist nicht gegeben.

Mittagessen am Donnerstag

Wir bieten Mensa-Bons zum Erwerb am Tagungsbüro an. Dafür erhalten Sie an den Buffet-Ausgaben der Mensa einen Teller mit Speisen nach freier Auswahl sowie ein Getränk bei Vorlage des Bons an der Kasse. Für studentische Gäste kostet das 6,50 Euro, für Vollzahler 8,50 Euro. Zur Mensa sind es etwa 200 m Fußweg. Außerdem finden Sie weitere Imbissgelegenheiten in der Nähe der Mensa auf dem Campus, z.B. den Uni-Shop, die Bäckerei Kohlmann, das Bistro Bellini und das Cafe Botanik im UG der Mensa.



Molekularanalytische Systeme von JEOL

NMR- und Massenspektrometer – zuverlässig, leistungsstark und präzise.

NMR-SPEKTROMETER

JEOL bietet für jedes NMR-Labor die passenden Spektrometer, die sich sowohl für Flüssig- als auch für Festkörperanwendungen eignen. Die Feldstärken der supraleitenden Magneten reichen von 7.05 bis 21.6 Tesla und sind durch ihre **Zero-Boil-Off** Technologie unabhängig und zukunftssicher.



MASSENSPEKTROMETER

JEOL bietet ein breites Spektrum von Massenspektrometern; angefangen von hochauflösenden GCxGC TOF Massenspektrometern bis hin zu MALDI-TOF/TOF Imaging Systemen mit bis zu 18 m Flugweg.



Für jeden Einsatz die richtige Lösung.
Weitere Infos finden Sie unter: www.jeol.de

**Nehmen Sie Kontakt mit uns auf.
Wir beraten Sie gerne.**



www.jeol.de

JEOL
Solutions for Innovation

JEOL (Germany) GmbH · Oskar-v.-Miller-Straße 1A · D-85386 Eching
Tel.: +49 (0)8165 77-346 · Fax: +49 (0)8165 77-512 · E-Mail: info@jeol.de

Thermo
SCIENTIFIC

Mass spectrometry transformed.

Announcing the latest ground-breaking innovations in mass spectrometry—the Thermo Scientific™ Orbitrap™ Fusion™ Tribrid™ MS and the Thermo Scientific™ TSQ Quantiva™ MS—built from the ground up for uncompromising performance and usability. With unprecedented experimental power and unrivaled sensitivity, you can now achieve more results, with more confidence, more quickly than ever before.

Transform your science.

thermoscientific.com/mstransformed



Programmübersicht

Mittwoch, 25.9.2013

ab 19.00 Uhr	Mer kumme zamme Ein lockeres Treffen, für alle am Vorabend Anreisenden.	
--------------	---	--

Donnerstag, 26.9.2013

ab 8.00 Uhr	Registrierung im Tagungsbüro	Foyer
8.45 – 9.00 Uhr	Begrüßung Oliver Trapp , Geschäftsführender Direktor des Org.-Chem. Instituts der Universität Heidelberg Jürgen Gross , örtlicher Organisator Wolfgang Schrader , Sprecher der Fachgruppe	HSW
9.00 – 9.50 Uhr HV1	Vibrational Activation and Ion-Electron Reactions for Detailed Characterization of Proteins and Ribonucleic Acids <u>Kathrin Breuker</u> , Monika Taucher, Barbara Ganisl, Moritz Schennach ¹ <i>Institut für Organische Chemie und Center for Molecular Biosciences Innsbruck (CMBI), Innrain 80/82 (CCB), 6020 Innsbruck, Austria</i>	HSW
9.50 – 10.30 Uhr	Session 1	HSW
V1	Structural Analysis of Guanylyl Cyclase-Activating Protein-2 (GCAP-2) Homodimer by Stable Isotope-Labeling, Chemical Cross-Linking, and Mass Spectrometry Jens Pettelkau ¹ , Iris Thondorf ² , Stephan Theisgen ³ , Hauke Lilie ² , Thomas Schröder ² , Christian Arlt ¹ , Christian H. Ihling ¹ , <u>Andrea Sinz</u> ¹ ¹ <i>Department of Pharmaceutical Chemistry & Bioanalytics, Institute of Pharmacy, Martin-Luther University Halle-Wittenberg, Wolfgang-Langenbeck-Straße 4, D-06120 Halle (Saale), Germany;</i> ² <i>Department of Technical Biochemistry, Institute of Biochemistry and Biotechnology, Martin-Luther University Halle-Wittenberg, Kurt-Mothes-Straße 3, D-06120 Halle (Saale), Germany;</i> ³ <i>Institute of Medical Physics and Biophysics, University of Leipzig, Härtelstraße 16-18, D-04107 Leipzig, Germany</i>	HSW
V2	ERLIC-RPLC-ESI-MS/MS zur hocheffizienten Phosphoproteomanalyse biologischer Systeme <u>Stefan Loroch</u> ¹ , Lisa Weilnboeck ² , Christian Huber ² , Albert Sickmann ¹ ¹ <i>Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften, Otto-Hahn-Str. 6b, 44227 Dortmund</i> ² <i>Fachbereich Molekulare Biologie, Universität Salzburg, Hellbrunnerstr. 34, 5020 Salzburg</i>	HSW
10.30 – 11.00 Uhr	Kaffeepause	Foyer

11.00 – 12.20 Uhr	Session 2	HSW
V3	<p>A Mobile and Ultra-High Resolving Time-of-Flight Mass Spectrometer</p> <p><u>Timo Dicke</u>^{1,2}, Johannes Lang², Wolfgang R. Plaß^{1,2}, Hans Geissel^{1,2}, Wayne Lipert², Christoph Scheidenberger^{1,2}, Mikhail Yavor³</p> <p>¹<i>GSI Darmstadt, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt, Germany;</i> ²<i>II. Physikalisches Institut, Justus-Liebig-Universität Gießen, Heinrich-Buff-Ring 14, 35392 Gießen, Germany;</i> ³<i>Institute for Analytical Instrumentation, Russian Academy of Sciences, 190103 St. Petersburg, Russia</i></p>	HSW
V4	<p>Leveraging the Performance of Ultra-high resolution Time-of-flight mass spectrometry interfaced to Gas Chromatography – Complement to and Advantages over FTMS</p> <p><u>Jeffrey S. Patrick</u>¹, Joe Binkley¹, David Alonso¹, Lloyd Allen¹, Viateslav Artaev¹, Jonathan Byer¹, Jürgen Wendt²</p> <p>¹<i>LECO Corporation, Saint Joseph, MI USA</i> ²<i>LECO GmbH, Mönchengladbach, Germany</i></p>	HSW
V5	<p>Suppression of magnetron and trapping motion in a new operation mode of ICR cells - A SIMION Study</p> <p><u>Basem Kanawati</u>¹, Franco Moritz¹, Karl Peter Wanczek², Philippe Schmitt-Kopplin^{1,3}</p> <p>¹<i>Helmholtz Zentrum München, Research Unit Analytical Biogeochemistry, Germany</i> ²<i>Universität Bremen, Institute of Inorganic and Physical Chemistry, Germany</i> ³<i>Technische Universität München, Analytical Food Chemistry, Germany</i></p>	HSW
V6	<p>Spin-Isomere in der Gasphase: Reaktivität von Ferracyclobutadienen</p> <p><u>Marianne Engeser</u>, Yvonne Lorenz</p> <p><i>Kekulé-Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn, Gerhard-Domagk-Str.1, 53121 Bonn</i></p>	HSW
12.20 – 13.30 Uhr	Mittagspause	
13.30 – 14.50 Uhr	Session 3	HSW
V7	<p>Ein Orbitrap Prototyp zur Untersuchung von Erdölkomponenten</p> <p><u>Alessandro Vetere</u>, Wolfgang Schrader</p> <p><i>Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Kaiser-Wilhelm-Platz 1, 45470 Mülheim an der Ruhr</i></p>	HSW

V8	<p>Laserdesorptions-Ionisierung gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie zur Charakterisierung von SchiffsDiesel und Verbrennungsaerosolen</p> <p><u>Christopher P. Rüger</u>¹, Theo Schwemer¹, Martin Sklorz^{1,2}, Ralf Zimmermann^{1,2}</p> <p>¹ Universität Rostock, Institut für Chemie, Abteilung für Analytische und Technische Chemie, Dr.-Lorenz-Weg 1, 18059 Rostock</p> <p>² Gemeinsames Massenspektrometrie Zentrum der Universität Rostock und des Helmholtz Zentrums München, www.jmsc.de</p>	HSW
V9	<p>Ultra-high resolution mass spectrometry: Studying the selective derivatization reactions in crude oil with FT-ICR MS and a research-type Orbitrap</p> <p><u>Xuxiao X. Wang</u>, Wolfgang Schrader</p> <p>Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Kaiser-Wilhelm-Platz 1, 45470 Mülheim an der Ruhr/D</p>	HSW
14.50 Uhr	Kaffeepause übergehend in...	Foyer
14.50 – 16.30 Uhr	Postersession und Firmenstände	Foyer
16.30 – 17.10 Uhr	Mitgliederversammlung der Fachgruppe FT-MS	HSW
HV2	<p>Ein Massenspektrometer am Anfang der Tumortherapie</p> <p><u>Jürgen Debus</u></p> <p>Radio-Onkologie und Strahlentherapie, Universitätsklinikum Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 400, 69120 Heidelberg</p>	HSW
19.30 – 22.30 Uhr	Konferenz-Dinner mit Altstadtpanorama	Rossini

Freitag, 27.9.2013

ab 8.30 Uhr	Tagungsbüro	Foyer
HV3	<p>Chemical Imaging by FT-ICR MS: From Buckyballs to High Performance Data Analysis</p> <p><u>Donald F. Smith</u>¹, Andras Kiss¹, Franklin E. Leach², Marco Konijnenburg¹, Ivo Klinkert¹, Errol W. Robinson², Ljiljana Paša-Tolić², Ron M.A. Heeren¹</p> <p>¹ FOM Institute AMOLF, Science Park 104, 1098 XG Amsterdam, The Netherlands</p> <p>² Environmental Molecular Sciences Laboratory, Pacific Northwest National Laboratory, Richland, WA 99352</p>	HSW
9.50 – 10.50 Uhr	Session 4	HSW
V10	<p>Workflow für Rohdatenprozessierung und Software-unterstützte Identifizierung von Lipiden mit hochauflösender Massenspektrometrie nach chromatographischer Trennung</p> <p><u>Nicole Zehethofer</u>, Buko Lindner, Dominik Schwudke</p> <p>¹ Forschungszentrum Borstel, Parkallee 10, 23845 Borstel</p>	HSW

V11	MeCAT und ESI-MS: Neue Möglichkeiten zur Proteinquantifizierung <u>Gunnar Schwarz</u> ¹ , René Becker ¹ , David Benda ¹ , Violette Frochaux ¹ , Sebastian Beck ¹ , Hartmut Schlüter ² , Michael W. Linscheid ¹ ¹ <i>Humboldt-Universität zu Berlin, Brook-Taylor-Straße 2, 12489 Berlin</i> ² <i>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistraße 52, 20246 Hamburg</i>	HSW
V12	Formula assignment of NOM FTICRMS data from a chemical point of view <u>Peter Herzsprung</u> ¹ , Norbert Hertkorn ² , Wolf von Tümling ¹ , Mourad Harir ² , Kurt Friese ¹ , Philippe Schmitt-Kopplin ² ¹ <i>Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ, Brueckstrasse 3a, 39114 Magdeburg</i> ² <i>Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Research Unit AnalyticalBioGeoChemistry (BGC), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg</i>	HSW
10.50 – 11.30 Uhr	Kaffeepause, dabei Poster und Firmenstände	Foyer
11.30 – 12.50 Uhr	Session 5	HSW
V13	The new solarix XR and MALDI Imaging: A perfect combination for drug and metabolite detection in tissue <u>Jens Fuchser</u> ¹ , Matthias Witt ¹ , Michael Becker ¹ , Sören-Oliver Deininger ¹ , Eckhard Belau ¹ , Shannon Cornett ² ¹ <i>Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany</i> ² <i>Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA, USA</i>	HSW
V14	High resolution MALDI imaging of tryptic peptides in biological samples <u>Katharina M. Huber</u> , Bernhard Spengler, Andreas Römpf <i>Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, Schubertstr. 60, 35392 Gießen</i>	HSW
V15	MALDI-FT-ICR Imaging MS für die Wirkstoffanalyse und Vorhersage des Therapieansprechens <u>Axel Walch</u> ¹ , Na Sun ¹ , Katharina Huber ¹ , Achim Buck ¹ , Michaela, Aichler ¹ ¹ <i>Abteilung Analytische Pathologie, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg</i>	HSW
V16	Radikalabspaltungen aus alkylierten Aminen? <u>Claus Gernert</u> ¹ , Lina Boyer ¹ , Jürgen Grotzmeyer ¹ ¹ <i>Christian Albrechts Universität zu Kiel, Max Eyth Straße 1, 24118 Kiel</i>	HSW
12.50 Uhr	Verabschiedung der Tagungsteilnehmer	HSW

What do you want in your MS?

- Acquisition speeds up to 200 spectra/second
- Superior resolution up to 100,000
- Mass accuracy less than 1 ppm
- Unmatched sensitivity

LECO High Resolution TOFMS (HRT) is the right answer

Qualify, Quantify and Identify without compromise



Pegasus® GC-HRT

LECO®
Delivering the Right Results

GCMS | GCxGC-MS | GCxGC | LCMS

LECO European LSCA Centre | Tel: +49-2166687-104 | e-mail : sepsc@leco.de | www.leco-europe.com



Heliumverflüssiger für's Labor

Ist Ihnen Flüssig-Helium auch zu teuer?

Dennoch entweicht Ihr kostbares Helium-Gas?

Reden Sie mit uns, wir haben die nachhaltige Lösung!

Jederzeit flüssiges Helium mit dem ATL (Advanced Technology Liquefier)

- Einfache Bedienung
- Automatisierter Betrieb
- Portables, einfach zu transportierendes Gerät
- Verflüssigungsration bis 22 Liter pro Tag
- Ausgezeichnete Energieeffizienz



Recycling von Helium

- Modulare, für Ihr Experiment optimierte Helium-Aufbereitung
- Helium auffangen, speichern und reinigen

Besuchen Sie uns auf dem Treffen der „Fachgruppe FT-MS und hochauflösende Massenspektrometrie“ am 26. und 27. September 2013 im Hörsaalgebäude der Chemischen Institute der Universität Heidelberg.

www.lot-qd.com/de



LOT-QD Gruppe Europa. Im Tiefen See 58. 64293 Darmstadt.

Telefon: 06151-8806-0. Fax: 06151-896667. E-Mail: info@lot-qd.de

LOT
Quantum Design

Vibrational Activation and Ion-Electron Reactions for Detailed Characterization of Proteins and Ribonucleic Acids

Kathrin Breuker, Monika Taucher, Barbara Ganisl, Moritz Schennach

¹ Institut für Organische Chemie und Center for Molecular Biosciences Innsbruck (CMBI), Innrain 80/82 (CCB), 6020 Innsbruck, Austria

Results and Discussion

Gene expression is regulated on both ribonucleic acid (RNA) and protein levels, and can involve different RNA and protein variants whose heterogeneity is often further increased by posttranscriptional or posttranslational modifications that can be critical to function. Moreover, recombinant proteins or synthetic RNA for pharmaceutical applications are frequently modified for reasons of increased activity and stability against hydrolysis. Detailed characterization of the different RNA or protein forms, as well as any correlations that may exist between individual modifications, can be accomplished by top-down mass spectrometry (MS), which utilizes techniques based on vibrational ion activation (e.g., collisionally activated dissociation, CAD, and infrared multiphoton dissociation, IRMPD), unimolecular radical ion chemistry (e.g., electron capture dissociation, ECD, and electron detachment dissociation, EDD), or combinations thereof. This contribution highlights recent developments from our laboratory for efficient dissociation of RNA and protein ions using a Fourier transform ion cyclotron resonance (FT-ICR) mass spectrometer,¹⁻⁴ with special focus on mechanistic insights,^{3,4} gas phase protein ion structure^{5,6} and new approaches for the identification, localization, and relative quantification of posttranscriptional, posttranslational, or synthetic modifications.

Literature

- [1] M. Taucher, K. Breuker, *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 11289-11292 (2012)
- [2] M. Taucher, B. Ganisl, K. Breuker, *Int. J. Mass Spectrom.* **304**, 91-97 (2011)
- [3] B. Ganisl, K. Breuker, *ChemistryOpen* **1**, 260-268 (2012)
- [4] B. Ganisl, T. Valovka, M. Hartl, M. Taucher, K. Bister, K. Breuker, *Chem. Eur. J.* **17**, 4460-4469 (2011)
- [5] K. Breuker, S. Brüschweiler, M. Tollinger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **50**, 873-877 (2011)
- [6] O.S. Skinner, F.W. McLafferty, K. Breuker, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **23**, 1011-1014 (2012)

Ein Massenspektrometer am Anfang der Tumorthерапie

Jürgen Debus

*Radio-Onkologie und Strahlentherapie, Universitätsklinikum Heidelberg,
Im Neuenheimer Feld 400, 69120 Heidelberg*

Einleitung und Diskussion

Die Tumorthерапie mittels ionisierender Bestrahlungstechniken kann eine hohe Belastung des Organismus eines ohnehin schon infolge einer Krebskrankung geschwächten Menschen mit sich bringen.

Mit einer gezielten Bestrahlung des Tumorgewebes lassen sich Auswirkungen auf gesunde Regionen vermeiden und das erkrankte Gewebe besonders effektiv behandeln.

Seit 2009 setzt man am Universitätsklinikum Heidelberg dafür eine Ionenstrahl-Apparatur ein – also letztlich ein Massenspektrometer. Der hier verwendete Teilchenbeschleuniger besteht aus drei Ionenquellen, einem Linearbeschleuniger und einem 21 m durchmessenden Synchrotron. Damit werden mit ¹²C-Ionen Energien von 400 MeV/Nukleon erreicht. Dies entspricht einer Eindringtiefe des Strahls in Gewebe von 32 cm.

In ersten Behandlungen wurden ausschließlich Protonenstrahlen eingesetzt. Protonen haben den Vorteil, dass sie den größten Teil ihrer Energie nach einer definierten Eindringtiefe übertragen. Die biologische Wirkung wird im Wesentlichen über Sekundärelektronen vermittelt. Bei Protonen ist die biologische Wirksamkeit des Strahl vergleichbar zu konventioneller Röntgenstrahlung. Kohlenstoff-Ionen haben dagegen eine relative biologische Wirksamkeit von 3, das heißt, dass derselbe biologische Effekt mit nur einem Drittel der physikalischen Dosis erreicht wird.

Die Heidelberger Ionentherapieanlage HIT hat neben 3 klinischen Arbeitsplätzen einen weiteren Forschungsplatz, der für Experimente und technische Weiterentwicklungen genutzt werden kann.

Die ersten klinischen Ergebnisse bei Patienten mit Schädelbasistumoren sind sehr vielversprechend, weil sie die effektive und schonende Wirkungsweise am Patienten belegen.

Die wesentliche Zielsetzung des klinischen Programmes besteht darin, zu verstehen, welche Tumorarten am besten mit dieser neuen Technologie und mit welcher Ionenart behandelt werden.

Dieser Vortrag erläutert den Aufbau des Beschleuniger-Massenspektrometers, zeigt dessen Einsatz in der Therapie von verschiedenen Tumorarten und umreißt die derzeitigen Grenzen im Einsatz der neuen Technik.

Literatur

Combs, SE und Debus, J; *Acta Oncologica* (2013).

Debus, J et al; *Strahlentherapie Onkologie* (2000).

Chemical Imaging by FT-ICR MS: From Buckyballs to High Performance Data Analysis

Donald F. Smith¹, Andras Kiss¹, Franklin E. Leach², Marco Konijnenburg¹, Ivo Klinkert¹, Errol W. Robinson², Ljiljana Paša-Tolić², Ron M.A. Heeren¹

¹ *FOM Institute AMOLF, Science Park 104, 1098 XG Amsterdam, The Netherlands*

² *Environmental Molecular Sciences Laboratory, Pacific Northwest National Laboratory, Richland, WA 99352*

Introduction

Mass spectrometry imaging enables the spatial localization of molecules from complex surfaces. FT-ICR MS offers the highest mass resolving power and mass accuracy for MS imaging experiments. Now, lipids and peptides can routinely be imaged at spatial resolutions of 50-300 μm with mass measurement accuracy of <1 ppm root-mean-square (rms) and mass resolving power ($m/\Delta m_{50\%}$) from 50,000-100,000. Such high performance ensures the highest chemical specificity in broadband MS imaging mode. Here, we discuss methods and instrumentation for ultra-high performance FT-ICR MS imaging by MALDI and SIMS FT-ICR MS. This includes mass calibration for sub-ppm mass measurement accuracy, visualization of high mass resolution data, high-speed data processing and new instrumentation for secondary ion FT-ICR MS imaging.

Results, Discussion and Experimental

High mass measurement accuracy (and precision) ensures that ion selected images represent the analyte distribution on the tissue surface and are not affected by ion number fluctuation due to tissue heterogeneity. Ion number fluctuations, and thus mass fluctuations, due to tissue heterogeneity can be corrected for by mass calibration functions that correct for total ion abundance and relative ion abundance. In this way, endogenous lipids can be imaged with rms error below 1 ppm. Ultimate mass resolving power requires long time domain signals, which can result in a large amount of raw data. This data must be processed and converted into a format amenable for visualization and data analysis. An integrated strategy of high mass resolution “Mosaic Datacubes” and feature based (i.e. peak picked) analysis provides mDa visualization and data mining strategies simultaneously [1]. Large area, as well as high spatial resolution MS imaging, can yield thousands of mass spectra and long processing times. We have developed a cloud-based data analysis environment for high speed post-processing of FT-ICR MS (imaging) data. Preliminary results provide nearly eight fold decrease in analysis time.

MALDI is typically limited to ~50 μm spatial resolution. This is due, in part, to the focusing of the laser beam and the matrix deposition on the tissue. However, secondary ion mass spectrometry (SIMS) is a matrix-free technique which uses a highly charged primary ion beam which can easily be focused to 1 μm or smaller primary ion spot sizes. Further, polyatomic primary ion sources (such as Au/Bi clusters and C₆₀) improve secondary ion yields and enable access to larger, intact ions such as phospholipids. SIMS sources are typically coupled to time-of-flight MS, for high sensitivity and high repetition rate imaging.

However, they lack sufficient mass accuracy for confident ion identification and offer only moderate mass resolving power. Here, we describe the development of a FT-ICR mass spectrometer designed for high mass resolving power and high mass accuracy SIMS using a C₆₀ primary ion gun [2]. Order of magnitude performance improvements over previous reports has been achieved, which include mass resolving power in excess of 3,000,000 and chemical imaging at 20 μm lateral resolution [3].

New Aspect

High chemical specificity MALDI and SIMS FT-ICR MS imaging.

Literature

- [1] D. F. Smith, A. Kharchenko, M. Konijnenburg, I. Klinkert, L. Paša-Tolić, R.M.A. Heeren, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **23** (11), 1865-1872 (2012).
- [2] D. F. Smith, E.W. Robinson, A. Tolmachev, R.M.A. Heeren, L. Paša-Tolić, *Anal. Chem.*, **83** (24), 9552-9556 (2011).
- [3] D. F. Smith, A. Kiss, F.E. Leach, E.W. Robinson, L. Paša-Tolić, R.M.A. Heeren, *Anal. Bioanal. Chem.*, DOI 10.1007/s00216-013-7048-1 (2013).

Structural Analysis of Guanylyl Cyclase-Activating Protein-2 (GCAP-2) Homodimer by Stable Isotope-Labeling, Chemical Cross-Linking, and Mass Spectrometry

Jens Pettelkau¹, Iris Thondorf², Stephan Theisgen³, Hauke Lilie², Thomas Schröder², Christian Arlt¹, Christian H. Ihling¹, Andrea Sinz¹

¹ Department of Pharmaceutical Chemistry & Bioanalytics, Institute of Pharmacy, Martin-Luther University Halle-Wittenberg, Wolfgang-Langenbeck-Straße 4, D-06120 Halle (Saale), Germany

² Department of Technical Biochemistry, Institute of Biochemistry and Biotechnology, Martin-Luther University Halle-Wittenberg, Kurt-Mothes-Straße 3, D-06120 Halle (Saale), Germany

³ Institute of Medical Physics and Biophysics, University of Leipzig, Härtelstraße 16-18, D-04107 Leipzig, Germany

Introduction

Guanylyl cyclase-activating proteins (GCAPs) are important regulatory proteins in retinal cells. GCAPs are hydrophobic, *N*-terminally myristoylated proteins containing four EF-hand motifs [1]. They regulate their target protein, the retinal guanylyl cyclase (ROS-GC), in a calcium-dependent manner. Previously, a homodimeric state of GCAP-2 had been proposed to activate ROS-GC [2]. Whether dimerization of GCAP-2 is essential for ROS-GC activation is still a matter of debate as no structural data of the GCAP-2 homodimer have been published so far. We performed cross-linking studies of isotope-labeled GCAP-2 in combination with ESI-LTQ-Orbitrap mass spectrometry to investigate the topology of the GCAP-2 homodimer.

Results and Discussion

By applying a 1:1 mixture of non-labeled and ¹⁵N-labeled GCAP-2, we were able to differentiate between intra- and intermolecular cross-linked peptides. The resulting isotope patterns arising from the combination of different cross-linked peptide species (¹⁴N-peptide 1 with ¹⁴N-peptide 2, ¹⁴N-peptide 1 with ¹⁵N-peptide 2, ¹⁵N-peptide 1 with ¹⁴N-peptide 2, and ¹⁵N-peptide 1 with ¹⁵N-peptide 2) enabled us to unambiguously discriminate between cross-links within one GCAP-2 monomer (intramolecular) or between two subunits (intermolecular). Cross-link candidates were accepted only if signals of ¹⁴N/¹⁵N cross-linked species could be comprehensively assigned in the fragment ion mass spectra. We were able to identify four distinct cross-linking sites within the GCAP-2 homodimer in the Ca²⁺-bound state and seven distinct sites within the Ca²⁺-free dimer. Based on the distance constraints disclosed by the chemical cross-links we were able to derive a 3D-structural model for the GCAP-2 homodimer.

Experimental

Cross-linking experiments were conducted with the homobifunctional amine-reactive cross-linker *bis*(sulfocuccinimidyl)glutarate (BS²G). GCAP-2 was used as 1:1 mixture of non-labeled and ¹⁵N-labeled protein. Cross-linking mixtures were separated by one-dimensional gel electrophoresis (SDS-PAGE). Gel bands of GCAP-2 homodimers were excised and protein complexes were digested with trypsin and Glu-C. Peptide mixtures were analyzed by nano-HPLC (Dionex)/nano-ESI-LTQ-Orbitrap-MS/MS (LTQ-Orbitrap XL, Thermo Fisher Scientific). Cross-linked products were identified with StavroX and verified by manual reassignment of MS/MS signals.

Novel Aspect

Topology of GCAP-2 homodimer was determined.

Literature

- [1] Olshevskaya, E. V., Hughes, R. E., Hurley, J. B., and Dizhoor, A. M. (1997) Calcium binding, but not a calcium-myristoyl switch, controls the ability of guanylyl cyclase-activating protein GCAP-2 to regulate photoreceptor guanylyl cyclase, *J. Biol. Chem.* 272, 14327-14333.
- [2] Olshevskaya, E. V., Ermilov, A. N., and Dizhoor, A. M. (1999) Dimerization of guanylyl cyclase-activating protein and a mechanism of photoreceptor guanylyl cyclase activation, *J. Biol. Chem.* 274, 25583-25587.

ERLIC-RPLC-ESI-MS/MS zur hoechsteffizienten Phosphoproteomanalyse biologischer Systeme

Stefan Loroch¹, Lisa Weilnboeck², Christian Huber², Albert Sickmann¹

¹ Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften, Otto-Hahn-Str. 6b, 44227 Dortmund

² Fachbereich Molekulare Biologie, Universität Salzburg, Hellbrunnerstr. 34, 5020 Salzburg

Einleitung

Die Analyse der Proteinphosphorylierungen biologischer Systeme ist eine große Herausforderung der aktuellen LC-MS basierten Proteomforschung, da diese ubiquitäre, posttranskriptionale Proteinmodifikation in der Regel substöchiometrisch erfolgt aber essenziell für sämtliche Zellfunktionen ist. Eine zweidimensionale Chromatographie via ERLIC-RPLC-ESI-MS/MS kann zur effizienten Anreicherung und Analyse von Phosphopeptiden mit geringen Mengen Startmaterial in einem bottom-up Ansatz genutzt werden. ERLIC dient dabei der Anreicherung tryptischer Phosphopeptide über Kombination von hydrophiler Interaktions- und Anionenaustauschchromatographie[1].

Ergebnisse und Diskussion

ERLIC-RPLC-ESI-MS/MS wurde erfolgreich und reproduzierbar zur Identifikation von mehr als 50 Phosphopeptiden und Lokalisation von mehr als 50 Phosphorylierungsstellen pro µg verdautem Protein einer komplexen biologischen Probe genutzt. Mit 100 µg Startmaterial wurden insgesamt 3800 Phosphopeptide identifiziert (FDR ≥ 1%) und 2997 Phosphorylierungsstellen lokalisiert (≥ 90% Konfidenz). Durch Einsatz verschiedener SPE-Materialien zwischen erster und zweiter Dimension konnte die Anzahl identifizierter Phosphopeptiden weiter erhöht werden. Die Anreicherung war mit Anionenaustauschsäulen verschiedener Hersteller möglich.

Experimentelles

50-100 µg (entspricht ca. 5x10⁵ Zellen) eines komplexen Peptidgemisches (nach Trypsinverdau) wurden per ERLIC fraktioniert (1. Dimension), dafür wurden Anionenaustauschersäule (Thermo-BioBasicAX und PolyLC-PolyWAX) im HILIC-Modus verwendet. Nach SPE mit Hypercarb, HILIC oder C18 erfolgte die Analyse per RP-nanoHPLC-ESI-MS/MS (RSLCnano / LTQ Orbitrap Velos - Thermo). MACOT und PhosphoRS (Proteome Discoverer 1.3 - Thermo) wurden zur Identifikation der Phosphopeptide und Lokalisation der Phosphorylierungsstellen genutzt.

Neuer Aspekt

ERLIC-RPLC-ESI-MS/MS ermöglicht eine umfassende Phosphoproteomanalyse mit geringen Probenmengen, somit kann die Methode ideal in klinischen Studien mit Patientenproben eingesetzt werden.

Literatur

- [1] Alpert, A. J., *Analytical Chemistry* 2008, 80, 62-76.
- [2] Taus, T., Kocher, T., Pichler, P., Paschke, C., Schmidt, A., Henrich, C., Mechtler, K., *Journal of Proteome Research* 2011, 10, 5354-5362.

A Mobile and Ultra-High Resolving Time-of-Flight Mass Spectrometer

Timo Dickel^{1,2}, Johannes Lang², Wolfgang R. Plaß^{1,2}, Hans Geissel^{1,2}, Wayne Lipert², Christoph Scheidenberger^{1,2}, Mikhail Yavor³

¹GSI Darmstadt, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt, Germany

²II. Physikalisches Institut, Justus-Liebig-Universität Gießen, Heinrich-Buff-Ring 14, 35392 Gießen, Germany

³Institute for Analytical Instrumentation, Russian Academy of Sciences, 190103 St. Petersburg, Russia

Introduction

In-situ mass spectrometry with real-time analysis of samples offers new insights and applications. Sofar, existing mobile MS are restricted by their moderate resolving power. Multiple-reflection time-of-flight mass spectrometer (MR-TOF-MS) allow for a mass resolving power exceeding 10^5 and sub ppm accuracy in a compact size [1]. Thus they allow resolving of isobars and accurate determination of the composition and structure of large bio-molecules for in-situ measurements.

Results and Discussion

A mobile MR-TOF-MS with a volume of 0.8 m^3 , a mass resolving power larger than 100,000, repetition rates of up to 1 kHz and equipped with an atmospheric pressure inlet has been developed [2]. As part of its commissioning the system has been successfully operated with different ionization methods. The devices will allow in-situ high performance measurements without the need of sample preparation. Envisaged applications are in environmental sciences (e. g. to monitor the water and air quality on hot spots) and in medicine (e. g. to distinguish between healthy and cancerous tissue during surgery).

Experimental

The MR-TOF-MS consists of an atmospheric pressure interface for various atmospheric ion sources, RFQ beam preparation system (mass filter, ion cooler, ion trap), time-of-flight analyser and detector. Inside the compact analyser ($\sim 0.5\text{m}$) the ions are reflected many times, thereby achieving a flight path of up to 1km and an ultra-high mass resolution in a compact system. The complete instrument with all electronics, pumps, etc. is mounted into a single frame. A further reduction in size and weight of the device is readily possible to fit specialized future applications.

New Aspect

The first mass spectrometer that combines highest resolving power and compact size for in-situ measurements is presented.

Literature

- [1] T. Dickel, W. R. Plaß, J. Lang, J. Ebert, H. Geissel, E. Haettner, W. Lipert, M. Petrick, C. Scheidenberger, M. Yavor, *NIM B accepted*
- [2] J. Lang, *PhD thesis in preparation*

Leveraging the Performance of Ultra-high resolution Time-of-flight mass spectrometry interfaced to Gas Chromatography – Complement to and Advantages over FTMS

Jeffrey S. Patrick¹, Joe Binkley¹, David Alonso¹, Lloyd Allen¹, Viateslav Artaev¹, Jonathan Byer¹, Juergen Wendt²

¹LECO Corporation, Saint Joseph, MI USA

²LECO GmbH, Mönchengladbach, Germany

Introduction

The demands on analyses using mass spectrometry have grown with expectations of resolution and mass accuracy creating the need for greater capabilities. Fourier Transform Mass Spectrometry (FTMS) has led the way with resolutions far exceeding 100,000 and mass accuracies below 1 ppm. Confounding factors have created some limitations to the routine implementation of this. One factor is the relatively small fraction of analyses actually requiring these extremes of mass spectral capability. Combined with the fact that isomers or any pair of compounds having the same elemental composition cannot be directly differentiated using FTMS or require an elaborate or convoluted set of experiments leveraging gas-phase chemistry or supplements to the FTMS to achieve this end. Alternatively, interfacing of separation techniques to FTMS can be done but has its own hurdles to overcome including a trade off in capabilities with the fast acquisition rates needed for techniques like GCMS. Advances in time-of-flight mass spectrometry have made inroads towards FTMS capabilities with the folded flight path achieving $R > 100,000$ and $< 1\text{ppm}$ mass accuracy with API interface and $R > 50,000$ and $< 1 \text{ ppm}$ using a traditional GC interface. Combining one and two-dimensional GC to high performance TOFMS creates unique capabilities approaching or exceeding the analytical information content of FTMS. Examples include characterization of highly complex petroleum samples, metabolomic and natural product characterization and analysis of environmental samples containing a broad range of analyte types and concentrations. Specifically beneficial is the leveraging of molecular ions and pseudomolecular ions for formula definition and unknown identification, among other aspects.

Results and Discussion

The separation and resolving power is leveraged to provide robust and complementary characterization of crude oil and other petroleum samples. The mass accuracy ($< 1\text{ppm}$) and resolving power ($> 50,000$) permit the characterization using techniques normally achieved using an API interface and an FTMS system. Compression of the chromatography allows for the extraction of key information (i.e. S, O and N species) but allows for the differentiation of isomeric structures. For example, blocked or hindered S-containing species and unhindered are clearly differentiated while the complete S-contribution can be monitored and quantified. The ability to address other analyses requiring high resolving power and leveraging mass accuracy in petroleum is also demonstrated. The resolution and mass accuracy allow for the ready identification and quantitative evaluation of homologous series and tracking of undesirable petroleum components in a manner similar to what is often done using FTMS with direct analysis.

Analysis of metabolomic samples leverages the mass accuracy and resolving power to identify or confirm the identification of metabolites. By leveraging the molecular ions from chemical ionization in conjunction with the available mass accuracy and resolving power, as well as the fragmentation available from the EI spectrum, confident metabolite identification is achieved. The combination of molecular ions and accurate mass fragment ions provides strong confirmatory data for unknown identification. Numerous analytes in fermentation samples, biological samples, and plant extracts are identified using this combination. Mass accuracies of better than 1 ppm were observed for identification across the mass range for fragment and molecular ions.

Environmental samples from sediment and animal tissue are examined to analyze trace level known analytes and identify unknowns. Accurate mass and facilitated tools including mass defect are leveraged in analyzing the samples for priority pollutants. Unknowns match to projected formulae to within 2 ppm or less and isotope abundance is used for additional confirmation.

The speed of the time of flight and attributes of the folded flight path provide capabilities which FTMS struggles with and provide a powerful complement to FTMS. The demonstrated 1 ppm mass accuracy and < 50,000 resolution approaches FTMS and accurate relative isotope abundance provides a necessary tool for these types of analyses when interfaced to separation techniques.

Experimental

Analysis using gas chromatography is achieved using a variety of columns including two dimensional configurations. This is achieved using a Pegasus GC-HRT (LECO, USA) interfaced to an Agilent GC. Acquisition rates between 10-20 spectra/second are used in one dimensional analyses and in excess of 100 s/s in two-dimensional mode. Ionization is accomplished using traditional electron impact as well as various forms of chemical ionization. Samples were from various commercial sources. Metabolomic samples are derivatized using trimethylsilylation, or analyzed neat.

New Aspect

This work demonstrates unique capabilities in the application of resolving power and mass accuracy interfaced to gas chromatography.

Suppression of magnetron and trapping motion in a new operation mode of ICR cells - A SIMION Study

Basem Kanawati¹, Franco Moritz¹, Karl Peter Wanczek², Philippe Schmitt-Kopplin^{1,3}

¹Helmholtz Zentrum München, Research Unit Analytical Biogeochemistry, Germany

²Universität Bremen, Institute of Inorganic and Physical Chemistry, Germany

³Technische Universität München, Analytical Food Chemistry, Germany

Introduction

Z-ion ejection is a well-known problem in most of ICR cells. It is defined as increased axial Z-vibrational amplitudes of all ions trapped in the cell during dipolar radial ion excitation. Ions, whose initial z positions largely deviate from the cell center, can consequently be ejected out of the cell, causing ion loss and therefore reduced induced image charge during signal detection. Infinity operation mode, which solves that problem, couples the same RF field frequencies that are required for dipolar radial ion excitation, on both trapping electrodes. Although this mode helps to reduce the axial vibrational Z amplitudes, it produces a noticeable damaging magnetron motion, especially when off-resonance frequency radial RF field components exist, as is the case in classical frequency sweep “chirps” which are usually used for exciting ions belonging to a broad mass range of interest.

Results and Discussion

We present in this study a solution, which effectively solves the problem of Z-ion ejection without evolving a damaging magnetron motion. The solution is presented within the scope of an “Enhanced Infinity” operation mode and can be applied to all types of open cylindrical ICR cells. Applying of a specific fraction of the RF dipolar excitation frequency sweep to both trapping ring electrodes (in phase) allows for excellent Z-ion confinement and also prevents the evolution of the bad magnetron motion.

Experimental

This is a pure and extensive SIMION investigation.

New Aspect

A new operation mode could be found to solve the problem of magnetron motion evolution during RF ion excitation.

Literature

[1] Y. Naito, M. Inoue, *Rapid Comm. Mass. Spectrom.* **11**, 578-586 (1997).

[2] B. Kanawati, K.P. Wanczek, *Int. J. Mass Spectrom.* **269**, 12-23 (2008).

Spin-Isomere in der Gasphase: Reaktivität von Ferracyclobutadienen

Marianne Engeser, Yvonne Lorenz

Kekulé-Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn, Gerhard-Domagk-Str. 1, 53121 Bonn

Einleitung

Metallacyclobutadiene werden häufig als Intermediate der Alkinmetathese formuliert, wobei bisher erst wenige Vertreter dieser hochreaktiven Spezies isoliert worden sind. In der Gruppe um Prof. Filippou an der Universität Bonn ist in den letzten Jahren ein Zugang zu einer neuen Klasse Ferracyclobutadiene $[FeL_3(C_3R_3)]^+$ (u.a. L = CO, PMe₃; R = NMe₂) ausgearbeitet worden, über deren Verhalten in der hochverdünnten Gasphase eines FT-ICR Massenspektrometers hier berichtet werden soll.

Ergebnisse und Diskussion

Die kationischen Komplexe lassen sich per ESI unzersetzt in die Gasphase überführen. Per CID oder IRMPD induzierte Fragmentierungskaskaden beginnen mit der sukzessiven Abspaltung der drei monodentaten Liganden bis hinunter zum „nackten“ 10 VE-Ferracyclobutadien. Die somit in der Gasphase zugänglichen koordinativ ungesättigten massenselektierten Ferracyclobutadiene zeigen eine sehr interessante Reaktivität gegenüber kleinen Alkinen. Insbesondere für die 12 VE-Spezies werden auch nach ausgedehnten Thermalisierungssequenzen komplexe Kinetiken beobachtet, die wir auf die Präsenz zweier Isomere zurückführen: Eine hochreaktive Spezies (Triplet) führt nach C-H-Aktivierung zu diversen Folgeprodukten, während ein gleichzeitig präsentes reaktionsträgeres Isomer (Singulett) nur eine langsame Koordination von Alkin zeigt. Mittels quantenchemischer Rechnungen konnte die Existenz extrem kleiner Singulett-Triplet-Abstände für die 12- und 14-VE-Spezies bestätigt werden.

Experimentelles

Die Messungen wurden an einem Bruker Apex IV FT-ICR mit 7 T- Magnet und Apollo ESI-Quelle durchgeführt, das mit zwei Puls- und zwei Leckventilen ausgestattet ist. Als CID-Stoßgas und für die Thermalisierung wurde Argon 5.0 verwendet, für IRMPD ein CO₂-Laser mit max. 25 W. Die Reaktionsgase Propin, 1-Butin und 2-Butin wurden über ein Leckventil zugegeben (Druck im Bereich von Einzelstoßbedingungen, d.h. < 10⁻⁸ mbar) und alternativ zugepulst. Ein typisches Experiment (MS⁶) besteht aus der Akkumulation der Ferracyclobutadiene im Hexapol des Geräts, Fragmentierung mittels IRMPD, Massenselektion des gewünschten koordinativ ungesättigten Ferracyclobutadiens, Thermalisierung, Re-Isolation, variable Reaktionszeit in Anwesenheit des Alkins, und schließlich Anregung und Detektion. Es wurden jeweils 16-500 Scans akkumuliert. Reaktionsprodukte wurden per exakte Masse und nach weiterer Massenselektion per Fragmentierung charakterisiert.

Neuer Aspekt

Spin-Isomere von neuen Ferracyclobutadienen können anhand ihrer unterschiedlichen Reaktivität im FT-ICR charakterisiert werden.

Ein Orbitrap-Prototyp zur Untersuchung von Erdölkomponenten

Alessandro Vetere, Wolfgang Schrader

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Kaiser-Wilhelm-Platz 1, 45470 Mülheim an der Ruhr

Einleitung

Der massenspektrometrischen Untersuchung von Erdölen werden durch die hohe Komplexität der Proben operative, aber auch instrumentelle Grenzen gesetzt. Insbesondere durch die Vielzahl verschiedener Stoffklassen ist die Gefahr, isobare Komponenten nicht unterscheiden zu können relativ hoch. Diesem Problem kann auf verschiedene Weisen begegnet werden. Zum einen kann durch eine selektive Abtrennung bestimmter Komponenten die Komplexität der Probe reduziert werden, zum anderen wird durch die Nutzung ultrahoch auflösender Massenspektrometrie die Unterscheidung von Komponenten im mDa-Bereich ermöglicht.

Die Kombination selektiver Vortrennungen und hochauflöster massenspektrometrischer Messungen erlaubt einen detaillierten Einblick in die Zusammensetzung komplexer Proben.

Ergebnisse und Diskussion

Durch Einführung der kompakten Hochfeld-Orbitrap Generation in 2010 wurde die Auflösung, die durch diese Geräte standardmäßig erreicht werden kann auf etwa 240,000 (768 ms Transient, FWHM @ m/z 400) erhöht. Das uns zur Verfügung stehende Gerät kann durch einen 3 s Transienten eine theoretische Auflösung von 960,000 erreichen und steht damit erstmalig in direkter Konkurrenz zu FT-ICR Geräten, die bei einer Feldstärke von 7T Auflösungen von 1,000,000 erreichen. Dies geschieht bei gleichzeitig auf etwa ein Viertel deutlich verminderter Messzeit. Unsere Ergebnisse zeigen den Einfluss von Probenvereinfachungen auf das Analysenergebnis, sowie auch den Nutzen moderner Orbitrap-Geräte zur Analyse von Erdölen.

Experimentelles

Aus einer Asphaltenfraktion wurden verschiedene Stoffgruppen selektiv abgetrennt:

- Thiophenische Komponenten durch Ligandenaustausch an Pd(II)-MPSG.¹
- Stickstoffverbindungen durch Extraktion mit Hilfe von Lewisäuren (Fe^{3+} , V^{3+}).²

Alle zu vermessenden Proben wurden in Toluol in einer Endkonzentration von 250–500 ppm gelöst und direkt mit Hilfe von Atmospheric Pressure Photo Ionization (APPI) bzw. Atmospheric Pressure Laser Ionization (APLI) vermessen.

Neuer Aspekt

FT-Orbitrap-MS kann durch erhöhte Auflösungen als günstige und schnelle Alternative zur FT-ICR-MS für Untersuchungen komplexer Proben verwendet werden.

Literatur

- [1] A. Japes, M. Penassa, J.T. Andersson, *Energy Fuels* **23**, 2143–2148 (2009).
- [2] J. Qi, Y. Yan, W. Fei, Y. Su, Y. Dai, *Fuel* **77**, 255–258 (1998).

Laserdesorptions-Ionisierung gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie zur Charakterisierung von SchiffsDiesel und Verbrennungsaerosolen

Christopher P. Rüger¹, Theo Schwemer¹, Martin Sklorz^{1,2}, Ralf Zimmermann^{1,2}

¹ Universität Rostock, Institut für Chemie, Abteilung für Analytische und Technische Chemie, Dr.-Lorenz-Weg 1, 18059 Rostock

² Gemeinsames Massenspektrometrie Zentrum der Universität Rostock und des Helmholtz Zentrums München, www.jmsc.de

Einleitung

Die gesundheitlichen und klimarelevanten Auswirkungen von Aerosolen sind seit langem bekannt und verursachen jährlich etwa 60.000 Todesopfer [1]. Der organische Anteil von Schiffsemissionen, insbesondere des partikulären Materials, ist bisher wenig aufgeklärt. Mittels hochauflösender Massenspektrometrie können derartig komplexe Probenmaterialien auf molekularer Ebene charakterisiert werden. Die direkte Laserdesorptions-Ionisierung ist dabei selektiv für hocharomatische Verbindungen [2].

Ergebnisse und Diskussion

Die direkte Laserdesorptions-Ionisierung ermöglicht in schweren SchiffsDiesel und Verbrennungsaerosol die Identifizierung mehrerer Tausend verschiedener Spezies in einem Massenbereich von 150 – 800 Da. Dabei sind ca. 80 % der Verbindungen im Aerosol auch im Kraftstoff aufzufinden. Der Vergleich der Ergebnisse beider Probenmaterialien zeigt die relative Anreicherung von hocharomatischen Kohlenwasserstoffen, sauerstoff- und schwefelhaltigen Verbindungen, sowie Unterschiede und Verschiebungen in den Alkylierungsmustern, zum Beispiel der C₁₆H₁₀-Reihe.

Experimentelles

Das partikuläre Material wurde im Rahmen einer Messkampagne an einem SchiffsDieselmotor an der Universität Rostock im November 2012 auf Quarzfaserfiltern gesammelt und mittels Methanol/Dichlormethan (50:50) extrahiert. Von dem Extrakt werden 5 – 10 µL auf einen Edelstahl-Träger aufgetragen und gemessen. Der SchiffsDiesel wurde mit Dichlormethan auf 1000 ppm verdünnt und analog der Extrakte präpariert. Die Messungen wurden an einem *solarix*-System der Firma *Bruker-Daltonic*, welches mit einem 7 Tesla Magneten ausgestattet ist, mit einem Nd:YAG-Laser (355 nm), durchgeführt

Neuer Aspekt

Die Kopplung aus LDI und FT-ICR ermöglicht die Charakterisierung von hoch komplexen Probenmaterialien, wie Kraftstoffen und Verbrennungsaerosolen, auf molekularer Ebene.

Literatur

- [1] J. Moldonavá, E. Fridell, C. Focsa, *Atmospheric Environment* **43**, 2632-2641,
- [2] Y. Cho, M. Witt, S. Kim, *Analytical Chemistry* **84**, 8587 – 8594, (2012)

Ultra-high resolution mass spectrometry: Studying the selective derivatization reactions in crude oil with FT-ICR MS and a research-type Orbitrap

Xuxiao X. Wang, Wolfgang Schrader

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Kaiser-Wilhelm-Platz 1, 45470 Mülheim an der Ruhr/D

Introduction

Until now fossil-based materials including crude oil remain the major source of energy. [1] Owing to the incredible complexity of crude oil mixtures, ultra-high-resolution mass spectrometry such as FT-ICR MS [2] and a high-field Orbitrap analyzer that are capable of reaching the necessary resolutions and accuracies are the method-of-choice for crude oil analysis. Since MS data only reveal limited information about chemical constituents of each component derivatization reactions are developed to combine analytical methods with a selective chemical component.

Results and Discussion

We studied the derivatization of crude oil which allows ionizing non-polar components such as sulfur-compounds that are otherwise not ionizable by electrospray. Different derivatization reagents were tested and the procedures were investigated by both electrospray (ESI) and Atmospheric pressure laser ionization (APLI). A labeled CD₃I reagent was chosen to differentiate between derivatized and not derivatized molecules. The yield of ethylation in standards can reach a yield of >99%. The ethylation directly with crude oil shows a high selectivity for S-compounds. Depending on the reaction control different species can react with the reagent. These results show that it is possible to selectively characterize the classes of compounds in crude oil by adding a chemical method to the analysis scheme. The high-field Orbitrap MS and FT-ICR MS allow following the details of these reactions.

Experimental

Bitumen was dissolved in dichloroethane (DCE) and was reacted with C₂H₅I in the presence of AgBF₄. AgI precipitated immediately and was removed by centrifugation after 24 h. Mass spectra were recorded using high-field Orbitrap MS and a 7 T FT-ICR MS (Thermo Fisher Scientific, Bremen) equipped with ESI and APLI. The solution of 100 µL sample with 1 mL dichloromethane was injected by syringe with a flow rate 5 µL/min at a voltage 4.5 kV in positive ESI mode. External mass calibration was performed using a tune mix solution.

New Aspects

Selective derivatization in crude oil is investigated by HRMS coupled with ESI and APLI.

Literature

- [1] S. K. Panda, S. K. Panda, J. T. Andersson, W. Schrader, *Angew. Chemie Int. Ed* **48**, 1788-1791 (2009).
- [2] R. T. Panda, A. J. Hernandez-Maldonado, F. H. Yang, *Science* **301**, 79-81 (2003).

Workflow für Rohdatenprozessierung und Software-unterstützte Identifizierung von Lipiden mit hochauflösender Massenspektrometrie nach chromatographischer Trennung

Nicole Zehethofer, Buko Lindner, Dominik Schwudke

¹Forschungszentrum Borstel, Parkallee 10, 23845 Borstel

Einleitung

Hochauflösende Massenspektrometrie ($\Delta m/z < 3\text{ ppm}$, $R > 70000 @ m/z 400$) ermöglicht in Kombination mit Tandem Massenspektrometrie (MS/MS) oder in Kombination mit chromatographischen Methoden (LC-MS) die Identifikation einzelner Lipidspezies in komplexen Lipidextrakten biologischer Proben. Bei der Analyse von MS/MS Daten erfolgt die Identifikation einzelner Lipidspezies anhand der genauen Masse und spezifischer Fragmentionen. In Kombination mit der Chromatographie erfolgt die Identifikation einzelner Lipidspezies anhand der Retentionszeit (Lipidklassen spezifisch) und der genauen Masse. MS/MS Methoden bieten kurze Analysenzeiten (15min/Probe) und sind ideal für die Anwendung bei Studien mit sehr hoher Probenanzahl. LC-MS Methoden benötigen längere Analysenzeiten (methoden-abhängig), werden aber vielfach angewendet, um Ionensuppressionseffekte zu verhindern, die die Messung wenig abundanter Lipide mit der MS/MS Methode erschweren. Während für die Datenauswertung von Rohdaten aus MS/MS Experimenten eine Vielzahl von Softwarepaketen zur Verfügung stehen, ist die automatisierte Auswertung von LC-MS Daten noch wenig etabliert.

Ergebnisse und Diskussion

In der vorliegenden Arbeit präsentieren wir einen Workflow für die automatisierte Auswertung von Normalphasen-(NP)-LC-MS Analysen von Lipidextrakten. Da mittels NP-LC-MS isobare Lipidspezies (z.B. PC und PE) getrennt werden können ermöglicht diese Methode die Identifikation von über 200 Lipidspezies in Lipidextrakten biologischer Proben ohne die Notwendigkeit der Fragmentierungsanalyse. Diese Methode ist demzufolge auch für Lipidanalytik auf Geräten geeignet deren Fragmentierungseffizienz nicht ausreicht, um bei datenabhängiger Aufnahme genügend Fragmente für eine eindeutige Identifikation einzelner Lipidspezies zu erzeugen. Nachweisgrenzen von unter 1 pmol auf der Säule (für die gängigen Membranlipide) und Standardabweichungen der Einzelmessungen von unter 3% ermöglichen detaillierte Lipidanalysen biologischer Proben bei einer akzeptablen Analysendauer von 120 min.

Experimentelles

Lipide aus biologischen Proben wurden mittels MTBE extrahiert[1]. Die erhaltenen Lipidextrakte wurden mittels NP-LC separiert und online mittels FT-ICR MS analysiert [2]. Prozessierung und Export der Rohdaten erfolgte automatisch mit Hilfe eines Visual Basic Skriptes. Hierbei werden entsprechend der Retentionszeiten der Lipidklassen die Massenspektren aufsummiert, die erhaltenen Spektren werden geglättet (Savitzki-Golay), das Basisrauschen wird subtrahiert und signifikante Peaks (Signal-zu-Rausch-Verhältnis > 5) und ihre Intensitäten werden im csv Format exportiert. Die erhaltenen Dateien können direkt in die LipidXplorer[3] importiert und ausgewertet werden.

Neuer Aspekt

Die Anwendung von LipidXplorer für die Auswertung von NP-LC-MS Daten

Literatur

- [1] Matyash *et al. J. Lipid Res.* **2008**, 49: 1137-1146
- [2] Hübner *et al. J. Mass Spectrom.* **2009**, 44: 1676-1683
- [3] Herzog *et al. PLoS ONE.* **2012**, 7: e29851

MeCAT und ESI-MS: Neue Möglichkeiten zur Proteinquantifizierung

Gunnar Schwarz¹, René Becker¹, David Benda¹, Violette Frochaux¹, Sebastian Beck¹, Hartmut Schlüter², Michael W. Linscheid¹

¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Brook-Taylor-Straße 2, 12489 Berlin

² Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistraße 52, 20246 Hamburg

Einleitung

MeCAT wurde zur Quantifizierung von Proteinen und Peptiden mittels ICP-MS entwickelt. Dabei werden Lanthanoidchelatkomplexe kovalent an Proteine oder Peptide gebunden. Bei der Untersuchung des Fragmentierungsverhaltens mit Infrarot-Multiphotonen-Dissoziation (IRMPD) konnten intensive Signale von charakteristischen Fragmenten identifiziert werden, die ein Screening nach markierten Spezies ermöglichen. In den hier vorgestellten Arbeiten zeigen wir darüber hinaus am Beispiel eines Proteasesubstratscreenings, dass eine relative Quantifizierung von Proteinen mit MeCAT und ESI-MS möglich ist.

Ergebnisse und Diskussion

In dieser Studie nutzten wir, um das Potential von MeCAT zu demonstrieren, die differentielle MeCAT-Markierung zur relativen Quantifizierung mittels ESI-MS und – MS/MS.. Die Quantifizierung erfolgte dabei auf Grundlage der relativen Intensitäten der Peptid-Vorläuferionen bzw. der relativen Intensitäten der charakteristischen Fragmente nach IRMPD. Es konnten dabei relative Unterschiede über einen großen Bereich (bis zu 1:100) gut und zuverlässig gemessen werden. Die Ergebnisse wurden durch ICP-MS-Referenzmessungen bestätigt. Eine erste Anwendung dieser Methode erfolgte durch ein Proteasesubstratscreening und einem Vergleich der Ergebnisse mit SILAC-Experimenten.

Experimentelles

Für Validierungsexperimente wurden Modelproteine (BSA, beta-Lactoglobulin und alpha-Lactalbumin) differentiell mit verschiedenen Lanthanoiden markiert und in unterschiedlichen Verhältnissen gemischt. Für das Substratscreening wurde ein Zelllysat mit der Protease HtrA1 inkubiert und anschließend zu einer Vergleichsprüfung differentiell mit MeCAT markiert. Die Trennung der Proteine erfolgte mittels Gelelektrophorese. Nach In-Gel-Proteolyse erfolgte die Analyse mittels nanoHPLC/ESI-MS/MS. Zur Identifizierung wurde stoßinduzierte Dissoziation (CID) eingesetzt. Referenzmessungen für die Validierung der In-Gel-Proteolysen erfolgten teilweise mit HPLC/ICP-MS. Die Gelbanden wurden zusätzlich mit Laserablation/ICP-MS bzw. ICP-MS nach Mineralisierung der Gelbanden untersucht.

Neuer Aspekt

Die Kombination der MeCAT-Markierung mit ESI-MS stellt eine leistungsstarke Alternative zur Quantifizierung von Proteinen und Peptiden dar.

Literatur

- [1] G. Schwarz, et al., *Anal Bioanal Chem* **2011**, *401*, 1203.
- [2] G. Schwarz, S. Beck, D. Benda, M. W. Linscheid, *Analyst* **2013**, *138*, 2449.

Formula assignment of NOM FTICRMS data from a chemical point of view

Peter Herzsprung¹, Norbert Hertkorn², Wolf von Tümpeling¹, Mourad Harir², Kurt Friese¹, Philippe Schmitt-Kopplin²

¹Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ, Brueckstrasse 3a, 39114

Magdeburg ²Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Research Unit AnalyticalBioGeoChemistry (BGC), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg

Introduction

Formula assignment is one of the key challenges in evaluation of dissolved organic matter analyses using ultra high resolution mass spectrometry (FTICRMS). The number of possible solutions for an elemental formula increases exponentially with increasing molecular mass, especially when hetero atoms like N or S are considered. Until now no definitive solution for finding the correct elemental formula is given. For that reason an easy comprehensible and user-friendly method was developed to search for the most reliable solution [1].

Results and Discussion

Based on a [DBE versus O] diagram a new assessment and decision strategy was developed to differentiate equivocal elemental formula solutions (two or more) for one mass peak, so called multiplets, into chemical reliable and less reliable formula species. A considerable number of reliable components could be transferred from the equivocal to the unequivocal formula data pool via [frequency (of multiplets) versus [DBE minus O]] diagrams.

Experimental

The elemental formula calculations of dissolved organic matter (DOM) from several mine pit lake pore waters and 3 river floodplain soil waters, analysed by FTICRMS, were used. For simplification the number of heteroatoms was restricted to ≤ 5 nitrogen atoms and ≤ 1 sulphur atom. The data sets of together 21 samples were merged. The total data set was divided into singulets (unequivocal formulas) and multiplets (equivocal formulas). The multiplets were itemised due to Δm , chemical differences (number of oxygen atoms and double bond equivalents, (DBE)) and the corresponding frequencies.

New Aspect

A land map of specific components like CHO, CHON₂, CHON₄, CHOS, CHON₂S, CHON₄S, using a Δm versus [DBE minus O] diagram helps to forecast how critical the decision due to chemical differences may become in relation to the mass resolution of the applied spectrometer.

References

- [1] P. Herzsprung et al., *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, submitted.

The new solarix XR and MALDI Imaging: A perfect combination for drug and metabolite detection in tissue

Jens Fuchser¹, Matthias Witt¹, Michael Becker¹, Sören-Oliver Deininger¹, Eckhard Belau¹, Shannon Cornett²

¹ Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany

² Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA, USA

Introduction

The new solarix XR provides ultra-high resolution with fast speed as well as extremely good mass accuracy. Very high resolution of roughly 300.000 with 1 Hz can be achieved at magnetic field strength of only 7 Tesla using absorption mode processing (AMP). Additionally, the new “ParaCell” results in better mass accuracy and dynamic range compared to the conventional Infinity analyzer cell. Therefore, the solarix XR is perfectly suited for imaging of small molecules by MALDI Imaging such as drugs or lipids. There are typically many isobaric compounds present in tissue samples. Therefore, ultra-high resolution is a prerequisite to detect drugs and drug metabolites. Based on the accurate masses the molecular formula of these compounds can be identified. Here, we present FTMS MALDI imaging results with very high resolving power with spatial resolution of 10 μm using sublimation method beside other examples.

Results and discussion

The spatial resolution achieved by sublimation was sufficient to resolve anatomical features as small as 10 μm in the investigated rat testis sections. Moreover, ion images clearly show sub-structures inside the seminiferous tubules. Notably, specific ion images show clear differentiation of the interstitial space from the smooth muscle layer lining the basal lamina of the tubules. Both these structures are adjacent and small in scale. Muscle layer has a thickness of less than 10 μm and the interstitial space ranges from 0-40 μm . As these structures were resolved it can be inferred, that an image resolution of 10 μm pixel size was achieved, with no oversampling conditions (i.e., the matrix at a given pixel position was barely ablated). Mass spectra were acquired with mass resolution of roughly 200000 k for lipids in the mass range m/z 700 - 900 Da. Without such resolving power several phospholipid ion images would have been ambiguous due this permitted overlap of isobaric ions.

Experiment

Frozen rat testis sections were cut at 10 μm thickness using a cryo-microtome and transferred onto indium-tin-oxide coated glass slides. Sections were then dried in vacuum. Sublimation was performed in a custom built device using 2,5-dihydroxybenzoid acid as matrix. The MALDI imaging datasets of lipids were obtained by MALDI-FTMS. Mass spectra were acquired in the mass range of m/z 500-900. Laser focus was set to 10 μm and 5 μm step size.

New aspects

MALDI-FTMS provides MALDI imaging with high spatial and mass resolution.

High resolution MALDI imaging of tryptic peptides in biological samples

Katharina M. Huber, Bernhard Spengler, Andreas Römpp

Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, Schubertstr. 60, 35392 Gießen

Einleitung

Mass spectrometry imaging is the method of scanning a sample of interest and generating an image of the intensity distribution of a specific analyte signal. The direct detection and identification of intact proteins in MALDI imaging remains a challenging task due to limited sensitivity and mass range. Here we present new approaches for on-tissue tryptic digestion of proteins. We focus on optimizing the spatial resolution and reliability of peptide identification.

Ergebnisse und Diskussion

Tryptic peptides were identified by matching imaged m/z peaks to peptides which were identified in complementary LC-MS/MS measurements of an adjacent tissue sections. All MS measurements were based on accurate mass (< 3 ppm RMS). A coronal mouse brain section was measured at 50 µm pixel size. Peptide peaks were detected on tissue with a mass resolution of R=80000 (@ m/z 700). Highly reliable information about protein distribution was also obtained for clinical human tissue originating from brain and gastric cancer biopsies. This data is used to investigate intratumor heterogeneity on a molecular level. Additional measurements at 50 µm pixel size include the analysis of a whole body section of an infant mouse.

A coronal mouse brain section was imaged at a pixel size of 25 µm. The resulting ion images of tryptic peptides showed excellent correlation with myelin and H&E staining. Peptide peaks were detected on tissue with a mass resolution of R=40000 (@ m/z 700). The sensitivity could be significantly improved compared to previous experiments and about 150 tryptic peptides which show a clear spatial distribution were identified.

Experimentelles

A series of washing steps was applied to tissue sections for fixation and to remove salts and lipids. Subsequently trypsin solution and matrix (dihydroxybenzoic acid) was deposited on tissue with a home-built spraying device [1]. An atmospheric pressure matrix assisted laser desorption (AP-MALDI) ion source [2] coupled to a Q Exactive mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific GmbH, Bremen) was used for imaging experiments.

Neuer Aspekt

Reliable identification for tryptic peptides in MS imaging with a pixel size of 25 µm.

Literatur

- [1] Y. Schober, S. Guenther, B. Spengler, A. Römpp, A. *Rapid Commun. in Mass Spectrom.*, **26**, 1141-1146 (2012).
- [2] A. Römpp, S. Guenther, Y. Schober, O. Schulz, Z. Takats, W. Kummer, B. Spengler, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **49**, 3834-3838 (2010).

MALDI-FT-ICR Imaging MS für die Wirkstoffanalyse und Vorhersage des Therapieansprechens

Axel Walch¹, Na Sun¹, Katharina Huber¹, Achim Buck¹, Michaela Aichler¹

¹ Abteilung Analytische Pathologie, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg

Einleitung

Die bildgebende Massenspektrometrie („MALDI Imaging“) ist eine Methode der mikroskopischen Bildgebung, welche die Anwendbarkeit der MALDI-FT-ICR Massenspektrometrie nun auch bei der Analyse von Gewebeschnitten ermöglicht. Die Methode erlaubt es u.a., Arzneimittel und deren Metabolite, Moleküle des Energiestoffwechsels und des Tumor-Metaboloms zu visualisieren und zu quantifizieren. Eine Verknüpfung von Wirkstoffanalysen, Analysen des Energiestoffwechsels und des Proteoms ermöglicht neuartige Einblicke und Möglichkeiten für die Vorhersage des Therapieansprechens bzw. -versagens.

Ergebnisse und Diskussion

Im APC1638N-Mausmodell haben wir die Wirkstoffverteilung von Irinotecan und SN-38 mittels MALDI-FT-ICR Imaging analysiert, und dabei im invasiven Karzinom, im Vergleich zu anderen Geweben, nur sehr geringe Mengen an aktiven SN-38 gefunden, was zur Erklärung eines eingeschränkten Wirkansprechens beitragen könnte. Parallel haben wir den Tumor-Metabolismus mittels MALDI-FT-ICR Imaging untersucht. Die metabolischen Veränderungen können als Ausdruck eines frühen Ansprechens bzw. Versagens auf eine Therapie bewertet werden.

Für den Tyrosinkinaseinhibitor Erlotinib konnten wir im Xenograftmodell (HNO-Plattepithelkarzinom) mittels MALDI-FT-ICR Imaging verschiedene Muster von Metaboliten in der Leber und in den Tumoren nachweisen. Eine Verknüpfung der Wirkstoffbefunde mit proteomischen Veränderungen in den Tumorgeweben zeigte die Veränderung mitochondrialer Proteine als Ausdruck eines frühen Therapieansprechens auf Erlotinib an.

Experimentelles

Zur Analyse kleiner Moleküle wurden Gewebeschnitte auf leitfähige Glasobjektträger aufgebracht und mit einem ImagePrep-System (Bruker) mit den Matrices HCCA oder DHB besprüht. Die Massenspektren wurde mit einem 7.0T SolariX FTMS (Bruker), mit duality ESI/MALDI Quelle, aufgenommen. Zur Verarbeitung der Daten wurde u.a. FlexImaging 4.0 verwendet.

Neuer Aspekt

Mittels MALDI-FT-ICR Imaging lassen sich erstmals direkt in Geweben Analysen von Wirkstoffen, des Stoff- und Energiewechsels und Proteoms verknüpfen und ermöglichen dadurch neuartige Ansätze für die Vorhersage des Therapieansprechens.

Literatur

- [1] B. Balluff et al., *Gastroenterology* **143**(3), 544-549 (2012).
- [2] N. Sun und A. Walch, *Histochem Cell Biol* **140**(2), 93-104 (2013).

Radikalabspaltungen aus alkylierten Aminen?

Claus Gernert¹, Lina Boyer¹, Jürgen Grotzmeyer¹

¹ Christian Albrechts Universität zu Kiel, Max Eyth Straße 1, 24118 Kiel

Einleitung

Das unerwartete Fragmentierungsmuster der Diethylaminoseitengruppe wurde am Beispiel des Rhodamins [1] bereits untersucht. Der Verlust von Propan konnte zweifelsfrei nachgewiesen werden [2]. Um die mechanistischen Umstände dieser Reaktion genauer zu untersuchen wurden kleinere Moleküle mit ähnlichen Seitenketten aus verschiedenen Xanthemen synthetisiert und mittels FT-ICR-MS untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Zur weiteren Untersuchung der Bedingungen für den Verlust von 44 Da aus der Diethylaminoseitengruppe des Rhodamin Bs wurden unterschiedliche Anilinderivate sowie verschiedene Farbstoffderivate aus der Gruppe der Oxazine und Coumarine synthetisiert und anschließend massenspektrometrisch untersucht. So konnte auch der Einfluss einer fixierten positiven Ladung untersucht werden. Hierbei zeigten sich vor allem bei kleineren Molekülen weitere Fragmente wie CH_3^\cdot , CH_4 , C_2H_4 , $\text{C}_2\text{H}_5^\cdot$ und C_2H_6 aus der entsprechenden Seitengruppe. Die Bildung der beobachteten Fragmente kann entweder über einen radikalischen oder einen konzertierten Mechanismus ablaufen. Um Hinweise auf den zugrunde liegenden Mechanismus zu erhalten wurden quantenchemische Rechnungen zu den untersuchten Molekülen durchgeführt.

Experimentelles

Alle Messungen wurden mit einem 9.4 T FT-ICR Massenspektrometer der Firma Bruker Daltonik (Bremen) durchgeführt. Die unterschiedlichen Proben wurden mittels Electrospray Ionisation in die Gasphase überführt und anschließend durch CID (Collision Induced Dissociation) mit Argon als Stoßgas fragmentiert.

Neuer Aspekt

Es wurden neue Hinweise zum Fragmentierungsverhalten der Diethylamino - seitengruppe gewonnen.

Literatur

- [1] J. Peters and J. Grotzmeyer, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **25**, 1169–1172 (2013).
- [2] J. Peters, M. Clemen and J. Grotzmeyer, *Anal Bioanal Chem.* **405**, 7061-7069 (2013).

Ein Multireflexions-Flugzeitanalysator zur Isobarenseparation und Präzisionsmassenspektrometrie kurzlebiger Nuklide

Frank Wienholtz und Robert N. Wolf für die ISOLTRAP Kollaboration

Institut für Physik, Universität Greifswald, Felix-Hausdorff-Str. 6, 17487 Greifswald

Einleitung

Präzise Massen von exotischen Radionukliden gehören zu den wichtigsten Eingangsparametern für Tests von Atomkernmodellen und Berechnungen zur stellaren Elemententstehung. Die Doppel-Penning-Fallen-Apparatur ISOLTRAP wurde um einen Multireflexions-Flugzeit(MR-ToF)-Analysator erweitert, was die Erforschung noch kurzlebigerer Nuklide erlaubt.

Ergebnisse und Diskussion

Mit ISOLTRAP an ISOLDE/CERN gelang es vor kurzem, die Masse des Zink-Isotopes ^{82}Zn mit einer Halbwertszeit von nur etwa 0,2s zu bestimmen [1]. Diese Kernmasse ist für die Nuklidverteilung in der Neutronensternkruste von besonderer Bedeutung. Zur Messung war es notwendig, die wenigen Zink-Ionen von zahlreichen Rubidium-Ionen abzutrennen. Dafür wurde der MR-ToF-Analysator in Verbindung mit einem „Bradbury-Nielsen gate“ verwendet. Darüber hinaus wurde die neue MR-ToF-Komponente an ISOLTRAP auch als Massenspektrometer (MS) eingesetzt, nämlich bei den exotischen Kalzium-Isotopen $^{53,54}\text{Ca}$ [2]. ^{54}Ca hat eine noch kürzere Halbwertszeit (etwa 0,1s) und kann nur in geringsten Raten produziert werden (10 Teilchen/s). Diese Nuklide sind wichtige Ecksteine für den Test moderner kernphysikalischer Theorien.

Experimentelles

An ISOLTRAP wird ein kontinuierlicher Strahl exotischer 60keV-Ionen zunächst in einer Hochfrequenzionenfalle eingefangen und dann zur Präzisionsmassenmessung an Ionenfallen weitergeleitet. Der neue MR-ToF-Analysator [3,4] erweitert die Möglichkeiten der Apparatur erheblich. Durch wiederholtes Durchlaufen einer etwa ein Meter langen Driftstrecke zwischen zwei elektrostatischen Spiegeln wird ein hohes Massenauflösungsvermögen (über 10^5) erreicht, sowohl bei der Entfernung von isobaren Kontaminationen als auch direkt zur Massenmessung selbst. Der Zyklus des MR-ToF-MS – wenige Millisekunden – ist signifikant schneller als herkömmliche Penningfallen-Methoden. Damit war es möglich, die Masse von Isotopen zu bestimmen, welche sehr kurzlebig sind und nur in geringsten Mengen hergestellt werden können. In Tests des MR-ToF MS wurden relative Unsicherheiten von $\delta m/m = 10^{-6} - 10^{-7}$ erreicht.

Neuer Aspekt

Mit Hilfe eines Multireflexions-Flugzeitmassenseparators konnten an ISOLTRAP Massen exotischer Nuklide bestimmt und isobar gereinigte Ionen bereitgestellt werden.

Literatur

- [1] R. N. Wolf et al., *Phys. Rev. Lett.* **110** (2013) 041101.
- [2] F. Wienholtz et al., *Nature* **498**, 346-349 (2013).
- [3] R. N. Wolf et al., *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. A* **686** (2012) 82.
- [4] Int. J. Mass Spectrom., in print, DOI 10.1016/j.ijms.2013.03.020.

Elektronenanlagerung an gespeicherte Metallcluster zur Polyanionen-Produktion

Franklin Martinez, Steffi Bandelow, Gerrit Marx, Lutz Schweikhard, Albert Vass

Universität Greifswald, Institut für Physik, Felix-Hausdorff-Str. 6, 17489 Greifswald

Einleitung

Der Ladungszustand eines Metallclusters ist ein wichtiger Parameter, da er maßgeblich die Clustereigenschaften bestimmt, zum Beispiel das Ionisationspotential oder die Dissoziationsenergie. In diesem Beitrag werden polyanionische Cluster durch Elektronenanlagerung an gespeicherten Cluster-Monoanionen erzeugt, wobei zwei verschiedene Typen von Ionenfallen verwendet werden.

Ergebnisse und Diskussion

In einer Penning-Falle (ICR trap) Falle können geladene Teilchen bis zum einem kritischen oberen Masse-Ladungsverhältnis gleichzeitig gespeichert werden. Dies ermöglicht die gemeinsame Speicherung von Clusteranionen und Elektronen, wobei weitere Elektronen an die Cluster angelagert werden können. Jedoch müssen die Elektronen dabei hinreichend hohe Energien besitzen, um das Coulombpotential der Clusteranionen zu überwinden. Dadurch sind die maximal erreichbaren Ladungszustände begrenzt [1].

In Radiofrequenz (RF) Fallen können Elektronen nicht gleichzeitig mit Clusteranionen gespeichert werden. Allerdings können gespeicherte Clusteranionen einem durch die Falle geführten Elektronenstrahl ausgesetzt werden, um Elektronenanlagerung zu realisieren. Dabei werden die Vorteile speziell zugeschnittener Rechtecksignale zur Erzeugung des Radiofrequenzfeldes ausgenutzt [2].

Experimentelles

Metalcluster-Monoanionen werden in einer Laserverdampfungsquelle erzeugt. Sie werden anschließend in eine Penning-Falle transferiert und dort gemeinsam mit Elektronen gespeichert, wobei die resultierenden hochgeladenen Reaktionsprodukte mittels Flugzeitnachweis analysiert werden. Alternativ können die Cluster-Monoanionen in einer linearen RF-Quadrupolfalle gespeichert und dabei einem Elektronenstrahl ausgesetzt werden. Bei geeigneten Fallen- und Clusterparametern werden in beiden Fällen höhere (negative) Ladungszustände beobachtet.

Neuer Aspekt

Polyanionische Metallcluster werden erstmalig durch Elektronenanlagerung in einer Radiofrequenzfalle erzeugt.

Literatur

[1] F. Martinez et al., *IJMS* **313**, 30 (2012); F. Martinez et al., *EPJD* **67**, 39 (2013).

[2] S. Bandelow et al., Publikation in Vorbereitung.

Photochemical degradation of NOM compounds – itemisation by single elemental formula evaluation received from FTICRMS

Peter Herzsprung¹, Wolf von Tümpeling¹, Norbert Hertkorn², Mourad Harir², Kurt Friese¹, Philippe Schmitt-Kopplin²

¹Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ, Brueckstrasse 3a, 39114

Magdeburg ²Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Research Unit Analytical BioGeoChemistry (BGC), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg

Introduction

Sunlight-induced photooxidation is an important removal pathway for refractory DOM and may also lead to the production of smaller molecules which undergoes further microbiological processing in the geochemical cycle of NOM. To explain the apparent changes in optical properties associated with sunlight-induced degradation processes ESI-FTICRMS as an high end analytical method becomes more and more important.

Results

As main outcome of the itemisation it can be said, that 70% of the totally degraded CHO components in a neutral and low ionic strength tributary sample after irradiation were oxygen-rich and relatively unsaturated, whereas in iron rich and high ionic strength pore water samples a wider range and comparably higher number of components was totally degraded.

Experimental

For the judge- and assessment of photochemical changes in DOM a comparison of mass educts and products, which were received from FTICRMS data tables, can be done formula by formula. To strengthen the focus on photochemical processes, we developed a colour-coded variation of van Krevelen diagrams, where the specific photochemical behaviour of each component (elemental formula) is characterized by one of five categories (totally degraded, partially degraded, not significantly degraded, minor new products, newly formed products). In a rather simplified experiment, two very different types of samples (1. drinking water reservoir tributary, 2. pore waters from mine pit lakes [1] with artificially added ferric iron solution), rich in DOC, were exposed to sunlight in quartz glass flasks to identify main degradation products.

New Aspect

New insights into change of DOM quality after irradiation with sunlight

References

- [1] P. Herzsprung et al., *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 24, 2909 (2010).

Variations of DOM Quality in Inflows of a Drinking Water Reservoir: Linking of van Krevelen Diagrams with EEMF Spectra by Rank Correlation

Peter Herzsprung¹, Wolf von Tümpeling¹, Norbert Hertkorn², Mourad Harir², Olaf Büttner¹, Jenny Bravidor¹, Kurt Friese¹, Philippe Schmitt-Kopplin²

¹Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ, Brueckstrasse 3a, 39114 Magdeburg

²Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Research Unit Analytical BioGeoChemistry (BGC), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg

Introduction

Elevated concentrations of dissolved organic matter (DOM) like humic substances in raw water pose significant challenges during the processing of the commercial drinking water supply. In Central East Germany, this is a relevant issue in Saxony, and in many other regions worldwide, where drinking water is produced from raw waters with noticeable presence of chromophoric DOM (CDOM), which is assumed to originate from forested watersheds in spring regions of the catchment area.

Results

Humic like fluorescence could be allocated to the pool of oxygen rich and relatively unsaturated components with stoichiometries similar to those of tannic acids, which are suspected to have a comparative high disinfection by-products formation potential associated with the chlorination of raw water.

Experimental

For improved comprehension of DOM molecular composition, the seasonal and spatial variations of humic like fluorescence and elemental formulas in the catchment area of the Muldenberg reservoir were recorded by excitation emission matrix fluorescence (EEMF) and ultrahigh resolution mass spectrometry (FTICRMS). The Spearman rank correlation was applied to link the EEMF intensities with exact molecular formulas and their corresponding relative mass peak abundances.

New Aspect

A new evaluation strategy for mass peak intensities is available to FTICRMS users: The inter sample rankings to compare different samples via the intensities of all common components and rank correlation to link the intensity ranking specific to each component with any external chemical bulk parameter.

References

- [1] P. Herzsprung et al., *Environmental Science and Technology* 46, 5511 (2012).

Einfluss des enzymatischen Verdaus auf die Genauigkeit bei *Bottom-up Proteomics* mit Stabilisotopen Markierung

Christine F. Holzschuh¹, Anna Konopka¹, Dominic Winter², Wolf D. Lehmann¹

¹ Molekulare Strukturanalyse, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, Deutschland

² Institut für Biochemie und Molekularbiologie, Universität Bonn, Bonn, Deutschland

Einleitung

Bei der relativen Quantifizierung eines Proteins (*light*) gegenüber seinem stabilisotopenmarkierten Analogon (*heavy*) auf der Peptidebene wird in der Regel eine Standardabweichung um 20% erzielt. Dies gilt für den Fall, dass ein Satz von *light/heavy* Verhältnissen von mehreren Peptiden des *light* und *heavy* Proteinpaars bei der Berechnung zusammengefasst wird. Im Gegensatz dazu haben die *light/heavy* Verhältnisse von einzelnen Peptiden bei mehrfacher Messung in der Regel eine deutlich kleinere Standardabweichung (1-2%) [1]. Wir haben untersucht, ob diese Diskrepanz vom enzymatischen Verdau verursacht wird.

Ergebnisse und Diskussion

Wir haben *light + heavy* Mischungen von rekombinant hergestellten Proteinen unter verschiedenen Bedingungen enzymatisch verdaut. Als Enzyme haben wir zwei unterschiedliche Trypsin-Präparate verwendet und die Spaltungen sowohl im Gel als auch in Lösung durchgeführt. Der Verdau in Lösung erfolgte ohne und mit Anwesenheit von Harnstoff (1 M). Zusätzlich wurden die Verdauzzeiten von 0.5 bis 22 h variiert.

Die größten Variationen wurden beim Verdau in Lösung und Anwesenheit von 1M Harnstoff beobachtet, unabhängig vom verwendeten Enzym-Präparat. Die kleinsten Variationen wurden dagegen beim Verdau in Gel und Verwendung von Trypsin (Promega) erzielt. Wir schließen daraus, dass Harnstoff die Interaktionen zwischen Substrat und Protease behindert und vermuten, dass eine hohe spezifische Aktivität der Protease die Variation der *light/heavy* Verhältnisse vermindert. Insgesamt gelang es, die Variation der *light/heavy* Verhältnisse innerhalb eines unselektierten Satzes von tryptischen Peptiden auf etwa 3-5% zu reduzieren.

Experimentelles

Die Proteine wurden über zellfreie Synthese hergestellt (RTS 500 *E.coli* Proteomaster HY Kit, 5PRIME). LC-MS/MS Messungen wurden an einer Kopplung von einer nano-UPLC (Proxeon) mit einer LTQ-Orbitrap Velos (Thermo Scientific) durchgeführt.

Neuer Aspekt

Bei Auswahl der optimalen Verdaubedingung lassen sich Proteine über *Bottom-up Proteomics* und Stabilisotopen-Verdünnung auf 5% genau relativ quantifizieren.

Literatur

- [1] Konopka A, Boehm ME, Rohmer M, Karas M, Lehmann WD. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 404, 1079-1087. Improving the precision of quantitative bottom-up proteomics based on stable isotope labeled proteins.

Identifizierung von Lipid-Biomarkern durch MALDI-Imaging MS und FT-ICR-MS

Hermelindis Ruh¹, Theresia Salonikios¹, Jens Fuchser², Matthias Schwartz¹, Bernhard Wirnitzer¹, Norbert Gretz¹ und Carsten Hopf^{1*}

¹ Zentrum für Angewandte Forschung „Biomedical Mass Spectrometry“ (ABIMAS), Hochschule Mannheim, Paul-Wittsack-Str. 10, 68163 Mannheim

² Bruker Daltonik GmbH, Fahrenheitstr. 4, 28359 Bremen

Einleitung

Die monogenetische autosomal-rezessiv vererbte polyzystische Nierenerkrankung (ARPKD) äußert sich durch progressive renale Zystenbildung sowie biläre Fehlbildung, mit üblicherweise sehr schwerem Verlauf schon im Kindesalter¹. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt gibt es keine einfachen und eindeutigen diagnostischen Verfahren für zystische Erkrankungen, ein diagnostischer Marker für ARPKD wäre daher wünschenswert. Da zahlreiche Erkrankungen mit Lipidveränderungen in den betroffenen Geweben verbunden sind, gewinnt die Entwicklung und Etablierung geeigneter massenspektrometrischer Methoden zur Identifizierung und Strukturaufklärung von geeigneten Lipid-Markerkandidaten immer mehr an Bedeutung.

Ergebnisse und Diskussion

Ausgehend von MALDI-Imaging MS-Daten wurde mit Hilfe der Fisher Diskriminanten Analyse (FDA) ein Workflow zur unvoreingenommenen Suche nach und Identifizierung von Lipid-Biomarkern etabliert. In Nieren eines ARPKD-Rattenmodells konnten krankheitsrelevante Metaboliten erfolgreich identifiziert und deren Struktur durch hochauflösende FTICR-MS als Taurocholsäuren (TCA) aufgeklärt werden. Aufgrund stark erhöhter TCA-Werte in Niere und Urin von erkrankten Tieren konnte schließlich ARPKD von verwandten hepatorenalen fibrozystischen Erkrankungen in den Nagetieren unterschieden werden².

Experimentelles

Nieren-Gewebeschnitte der PCK-Ratte, einem orthologen Modell zur humanen ARPKD, wurden durch MALDI-Imaging MS in Zweifachbestimmung mit Wildtyp-Organen verglichen. Die durch FDA identifizierten und durch FTICR MS bestimmten Markerkandidaten wurden mittels MALDI-TOF-MS von jeweils n = 3–6 Nieren-, Urin- und Leberextrakten validiert und mit Extrakten von Maus- und Rattenmodellen weiterer hepatorenaler fibrozystischer Erkrankungen verglichen.

Neuer Aspekt

Diese Ergebnisse demonstrieren die hervorragende Eignung von MALDI-Imaging in Kombination mit FDA und hochauflösender FT-MS zur Lipid-Biomarker Entdeckung.

Literatur

- [1] Gunay-Aygun, M., *Am J Med Genet C Semin Med Genet* **2009**, 151C (4), 296-306.
- [2] Ruh, H.; Salonikios, T.; Fuchser, J.; Schwartz, M.; Sticht, C.; Hochheim, C., Hopf, C., *J Lipid Res* **2013**.

Pharmakoproteomische *in-situ* Analyse von Erlotinib im Xenograft-Tumormodell mittels MALDI-FT-ICR- und MALDI-TOF-Imaging

Katharina Huber¹, Michaela Aichler¹, Stefan Maier³, Stefanie Hauck⁴, Zhoulei Li², Annette Feuchtinger¹, Achim Buck¹, Na Sun¹, Ulrich Keller², Axel Walch¹

¹ Abteilung Analytische Pathologie, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg ² III. Medizinische Klinik, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Straße 22, 81675 München ³ Lehrstuhl für Proteomik und Bioanalytik, Technische Universität München, Emil-Erlenmeyer-Forum 5, 85354 Freising ⁴ Abteilung Proteinanalytik, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg

Einleitung

Erlotinib ist ein selektiver Inhibitor der Tyrosinkinase-Domäne des EGF-Rezeptors. Der Wirkstoff ist seit 2005 in Deutschland als Arzneistoff gegen bestimmte Krebsformen zugelassen. Ziel dieser Studie war eine kombinierte Analyse von Erlotinib, dessen Metaboliten und assoziierten proteomischen Veränderungen in Geweben im Xenograft-Tumormodell (HNO-Plattenepithelkarzinom) zur Vorhersage des frühen Therapieansprechens. Dazu wurde ein kombinierter Ansatz von MALDI-FT-ICR- und MALDI-TOF-Imaging in Gewebeschnitten angewandt.

Ergebnisse und Diskussion

Für Erlotinib konnten wir im Xenograftmodell (HNO-Platteepithelkarzinom) mittels MALDI-FT-ICR Imaging verschiedene Muster von Metaboliten in der Leber (M2, M6, M11, M12, M14, M16) und in den Tumoren (M2, M6, M14) nachweisen. Eine Verknüpfung der Wirkstoffbefunde mit proteomischen Veränderungen in den Tumorgeweben zeigte die Veränderung mitochondrialer Proteine als Ausdruck eines frühen Therapieansprechens auf Erlotinib an.

Experimentelles

Die Versuchstiere wurden mit 25 mg/kg Erlotinib oral behandelt und nach 3, 6 bzw. 24 Stunden getötet. Zur Analyse kleiner Moleküle wurden Gewebeschnitte auf leitfähige Glasobjektträger aufgebracht und mit dem ImagePrep-System (Bruker) mit Matrix (CHCA) besprüht. Die Massenspektren wurde mit einem 7.0T SolariX FTMS (Bruker), aufgenommen. Zur Verarbeitung der Daten wurden unter anderem FlexImaging und ClinProTools (Bruker) verwendet. Die Analyse der Proteine wurde mit MALDI-TOF Ultraflex III (Bruker) unter Verwendung von Sinapinsäure-Matrix durchgeführt. Die Proteinidentifikation erfolgte mittels LC-MS durch Untersuchung des Matrix-Proteoms bzw. durch Analyse eines Zell-Lysats nach Trypsin-Verdau.

Neuer Aspekt

Eine Verknüpfung von Wirkstoffanalysen und proteomischen Analysen in Geweben ermöglicht neuartige Einblicke und Möglichkeiten zur Vorhersage des Therapieansprechens auf den Tyrosinkinaseinhibitor Erlotinib.

Venomic profiling of *Vipera kaznakovi* by LC-HR-MS

Daniel Petras¹, Ayse Nalbantsoy² and Roderich D. Süßmuth¹

¹Technische Universität Berlin, Institut für Chemie, Berlin, Germany

²Ege University, Bioengineering Department, Bornova Izmir, Turkey

Introduction

Snake venoms are complex mixtures of bioactive peptides and proteins. A deep understanding of the composition of venoms is of high importance not only for exploring their enormous potential as sources of pharmacological novelty, but also to fight the dire consequences of snakebite envenoming [1]. In the last decade several bottom-up proteomic strategies, to explore venom proteomes have been developed [2]. Drawbacks of these approaches are the co-elution (HPLC), low mass resolution (SDS-PAGE), or impaired quantification ability (2DE) of venom components. Further, the digestion often results in difficulties assigning all proteoforms [3]. To overcome these problems, we applied a fast LC-MS approach for the rapid venom characterization of *Vipera kaznakovi*.

Results

To identify the toxins we mapped the intact molecules by LC-MS and submitted them, regarding there masses, to online top down MS/MS or off line, to in gel digestion followed by LC-MS/MS. Relative protein quantification was achieved by integrating UV peak areas and the merged XIC peak areas of co-eluting compounds. *V. kaznakovi* venom consists of various peptides (4.6%) disintegrins (1.5%), PLA₂s (23.0%), CRISP (6.9%), Serine protease (5.2%), SVMPs (43.8%), and non-assigned components (14.9%, mainly a small molecule with 443.22 Da). Further, we observed typical mass shifts of ~146 Da for the SVMPs, indicating varying sugar moieties.

Experimental

(Detailed procedure will be shown on the poster) For our experiments we used freeze dried venom of *Vipera kaznakovi*, from Turkey (diluted to 1mg/mL). The LC-ESI-HR-MS experiments were carried out on an Orbitrap XL mass spectrometer (Column: Suppelco Discovery 300Å C18 column 2 x 15 mm, 3µm). MS/MS spectra were obtained in IDE mode using CID or HCD. In gel digestion was performed after LC separation and SDS-PAGE with trypsin and resulting peptides were submitted to LC-MS/MS (Column: Grace Vydac 218MSC18, 2.1 x 15 mm, 5µm).

Novelty

We performed a comprehensive LC-MS/MS based venomic profiling of *Vipera kaznakovi*, which will set the frame for further bioactivity screening.

Literature

1. McCleary RJ, Kini RM. *Toxicon*. 2013; 62: 56-74.
2. Calvete JJ. *Expert RevProteomics*. 2011; 8: 739-58.
3. Yates JR 3rd, Kelleher NL. *Anal Chem*. 2013; 85: 6151.

Systematische Analyse des humanen Lungenlipidomes mit FT-ICR-MS.

Markus Wenzel¹, Helga Lüthje¹, Torsten Goldmann¹ und Dominik Schwudke¹

¹ Forschungszentrum Borstel, Parkallee 1-40, 23845 Borstel

Einleitung

Die Lunge ist ein Barriereforgan, das neben der Haut den größten Kontakt zur Umwelt hat. Innerhalb weniger Sekunden wird die Lunge mit neuer Einatemluft für den Gasaustausch durchströmt wobei Krankheitserreger, Stäube, Schadgase und Allergene in Kontakt mit den Lungenzellen treten.

Die Wechselwirkung des Lungengewebes mit diesen Stressfaktoren wird unter anderem durch die Zellmembranen und den damit verbundenen Lipidmetabolismus vermittelt. Wir wollen mit der Anwendung der FT-ICR-MS mehr über die Membransysteme in der Lunge lernen, um so einen Beitrag für die Infektions- und Asthmaforschung zu leisten.

Ergebnisse und Diskussion

Die Lipidprofile von Bronchial- und Alveolargewebe zeigte tiefgreifende Unterschiede. Im Bronchialgewebe wurden als dominierende Lipide TAGs identifiziert während im Alveolargewebe PC dominiert. Die Auswertung von beiden hochauflösenden Massenspektren beider Ionenmodi erlaubte die Identifizierung von 150 Spezies von 10 Lipidklassen (PC, PC-O, SM, PE, PE-O PS, PG, PI, TAG, und LPC). Die Weiterführung dieser Experimente soll in Zukunft zu einem Lipidatlas der menschlichen Lunge führen, sowie krankheitsbedingte Veränderungen dokumentieren.

Experimentelles

Humane Lungenbiopsien wurden homogenisiert mit einem ULTRA-TURRAX Homogenisator (IKA, Staufen, Deutschland). Die Homogenisate wurden mit Internen Standards versetzt und Lipide wurden mit MTBE/Methanol extrahiert [2]. Die Messungen der Lipidextrakte erfolgte im Direktinfusionsverfahren an einem Apex Qe FT-ICR-MS (Bruker Daltonics, Bremen, Deutschland) mit der Nanomate (Advion, Ithaca, USA) als Ionquelle [1]. Die Spektreninterpretation erfolgte mit der LipidXplorer Software [3].

Neuer Aspekt

Ein Lipidomics-Screen für humane Lungenbiopsien wurde entwickelt.

Literatur

- [1] Matyash V, Liebisch G, Kurzchalia TV, Shevchenko A, Schwudke D. *J Lipid Res.* 2008 May;49(5):1137-46.
- [2] Schwudke D, Schuhmann K, Herzog R, Bornstein SR, Shevchenko A. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011 Sep 1;3(9)
- [3] Herzog R, Schwudke D, Schuhmann K, Sampaio JL, Bornstein SR, Schroeder M, Shevchenko A. *Genome Biol.* 2011;12(1):R8.

Dual Use of ¹³C Isotope Labeling in Metabolism Studies Identification of Very Small Molecules with ¹³C NMR and HR-MS in Biological Samples

Martin Jäger, Peter Mair, Robert Rümbeli

DSM Nutritional Products Ltd., P.O. Box 2676, CH-4002 Basel, Switzerland

Einleitung

DSM Nutritional Products develops innovative food and feed additives to improve health and well-being of humans and animals. Metabolism studies in laboratory and target animals are performed to generate the necessary data for registration of new compounds. The standard workflow of these studies includes the use of ¹⁴C tracers, LC isolation of radioactive fractions and structure elucidation by HR LC/MS. However in a recent project we encountered a new active compound (3-Nitrooxy propanol) which due to its low molecular mass and difficult ionizability was not easily detected by MS. The same was true for several of the related metabolites.

Therefor a workflow which uses dual labeling with ¹³C and ¹⁴C and the complementary use of NMR and FTMS was successfully employed to elucidate the metabolic pathway

Ergebnisse und Diskussion

Combining high resolution NMR and FTMS allowed the elucidation of more than 8 hydrolytic and oxidative metabolites of the test compound including several phase II metabolites.

The compound proved surprisingly stable under abiotic conditions at acidic and basic pH values, while a wide variety of metabolites was found *in vivo* in the rat. Further work is ongoing to elucidate remaining radioactive fractions from the rat study and products from incubations with bovine rumen fluid.

Experimentelles

In vitro and *in vivo* test systems:

Stability tests in buffered systems, anaerobic incubation with cow rumen fluid, single dose study with male rats.

Isolation of radioactive fractions was performed by fractionation with reversed phase chromatography .

NMR spectroscopy (Bruker Avance III NMR at 600 MHz proton/150 MHz carbon Larmor frequency) with cryogenically cooled 5 mm TCI probehead. Data were acquired and processed using TopSpin 3.1.

LC/MS under HILIC conditions (Thermo LTQ/Orbitrap) operating at 60000 nominal resolution. Residual octyl phthalate or acetate ion were used as internal lock masses in positive and negative mode, resp. Data acquisition and processing using Xcalibur 2.1.

Neuer Aspekt

Using NMR and FTMS with a mixture of ¹³C- and ¹⁴C-labeled test compound allowed identification of its metabolic pathway in a completeness which would not have been possible with one technique alone.

Weitbereichsmassenkalibrierung für Direct Analysis in Real Time Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz-Massenspektrometrie

Jürgen H. Gross

Org.-Chem. Institut, Univ. Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 270, 69120 Heidelberg

Einleitung

Idealerweise vereint man allgemeine Tuningparameter des Gerätes und Massenkalibrierung in einem Methodenfile. Hier wird dies für Direct Analysis in Real Time (DART) [1;2] an einem Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz (FT-ICR) Massenspektrometer realisiert. Unmittelbar nach der Installation der DART-Quelle wurden bei uns Untergrundsignale bei m/z 536, 610, 684 und 758 mit Siliziumisotopenmustern bemerkt, zwischen denen auch die typische Massendifferenz von $\Delta m/z = 74$ bestand. Daraus wurde die Kalibrierung entwickelt.

Ergebnisse und Diskussion

Eine ursprünglich nur m/z 355 bis 889 umfassende Referenzliste wurde mit Polydimethylsiloxanen (PDMS) aus Silikonöl und Hochvakuumfett auf den Bereich m/z 200 bis m/z 2600 erweitert (im Bruker-Format frei verfügbar). Signale wurden sogar über m/z 3000 noch detektiert und markieren einen Massenrekord für DART-MS [3]. Das positiv-Ionen DART-Spektrum von PDMS zeigt Ionen dreier Serien. Silicon-Ionen sind leicht anhand gleicher Anzahl von Si und O-Atomen erkennbar, z.B. $[C_{11}H_{33}O_6Si_6]^+$, bei m/z 429.08879 (ber. 429.08872), $[C_{12}H_{37}O_6Si_6]^+$, bei m/z 445.12000 (ber. 445.12002) und $[C_{12}H_{40}NO_6Si_6]^+$, bei m/z 462.14652 (ber. 462.14657).

Experimentelles

An einem Bruker ApexQe mit ESI-MALDI-Kombiquelle (Dual Source MTP) wurde eine DART-SVP-Quelle mit der Open Source Option und Vapur Interface verwendet. Ionen wurden für 0.2–2.0 s akkumuliert und dann in der ICR-Zelle analysiert. Daten wurden im Breitband-Modus mit 512 kB oder 1 MB Datensätzen aufgezeichnet. Es wurden 8–12 Transienten für ein Spektrum akkumuliert. Die externe Massenkalibrierung wurde gegen PEG300 abgesichert und dann basierend auf PDMS aufgebaut (unterer m/z -Bereich Silikonöl, höhere m/z Wacker Hochvakuumfett schwer). Zur Kontrolle wurden PEG300 und PS1560 genutzt. Die Proben wurden als Lösungen bei 1 mg ml^{-1} eingesetzt. Je 3 μl wurden auf die Drahtgitter der Open Source-Karten aufgetragen. Die DART-Quelle wurde für Silikonöl auf 300°C, für PEG 300 auf 350°C und für Silikonfett sowie PS1560 auf 500°C eingestellt [3].

Neuer Aspekt

Weitbereichskalibrierung und Massenrekord $> m/z$ 3000 für DART-FT-ICR-MS.

Literatur

- [1] Cody RB, Laramee JA, Durst HD (2005) *Anal. Chem.* 77:2297-2302.
- [2] Chernetsova ES, Morlock GE, Revelsky IA (2011) *Russian Chem. Rev.* 80:235-255.
- [3] Gross JH (2013) *Anal. Bioanal. Chem.* 405, DOI 10.1007/s00216-013-7287-1.

FT-ICR based “Ultrafast Statistical Profiling”: Myxobacterial secondary metabolite profiling for pinpointing and identifying marker compounds

Aiko Barsch¹, Matthias Witt¹, Daniel Krug^{2,3}, Thomas Hoffmann^{2,3}, Rolf Müller^{2,3}

¹ Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany;

² Helmholtz Institute for Pharmaceutical Research Saarland, Saarbrücken, Germany;

³ Saarland University, Saarbrücken, Germany;

Introduction

Myxobacteria represent an important source of novel natural products exhibiting a wide range of biological activities. Some of these so-called secondary metabolites are investigated as potential leads for novel drugs. Traditional approaches to discovering natural products mainly employ bioassays and activity-guided isolation from different myxobacterial isolates, but genomics-based strategies are becoming increasingly successful to reveal additional compounds. These "metabolome-mining" approaches hold great promise for uncovering novel secondary metabolites from myxobacterial strains, as the number of known compounds identified to date is often significantly lower than expected from genome sequence information.

Results and Discussion

Several metabolite extracts from genetic knock-out mutants were analyzed by FT-ICR direct infusion measurements, requiring only about 1 min / sample to measure. By measuring these regions of interest selection mode (CASI), the sensitivity and resolution of these mass ranges could be enhanced significantly. This enabled us to literally “read out” the correct elemental composition for the target compounds. We have demonstrated for myxoprincomide, a myxobacterial secondary metabolite, that this approach enables an unequivocal molecular formula generation for a compound with MW >1000. The ultra-high resolution enables for the first time an elemental composition determination for a molecular weight range where mass accuracy of existing mass spectrometers would be not enough for an unequivocal decision. Therefore, this workflow enables a rapid profiling of complex metabolite extracts as well as identification of relevant marker compounds by making use of a) ultrahigh resolution and b) wide dynamic range provided by the FT-ICR technology – addressing two of the major bottleneck in metabolomics, sample throughput and compound identification.

Experimental

Principal Component Analysis (PCA) of the acquired MS spectra was done showing a clustering of the samples according to the bacterial genetic background. PCA loadings pointed to compounds responsible for this differentiation. The instrument resolving power of R>750.000 provided isotopic fine structure information.

New Aspects

Ultrafast Statistical Profiling allows fast profiling of complex metabolite extracts and identification of marker compounds by FT-ICR mass spectrometry.

Sulfur rich crude oil and bitumen analysis on the molecular level by APPI and LDI FT-ICR mass spectrometry using the new dynamically harmonized analyzer cell

Matthias Witt

Bruker Daltonik GmbH, Fahrenheitstrasse 4, Bremen, Germany

Introduction

Polar compounds in crude oil and bitumen can be detected easily by atmospheric pressure ionization (API) mass spectrometry. Direct infusion experiments of crude oil samples can be carried out by FT-ICR mass spectrometry to achieve mass peak separation and molecular formula annotation. Compounds containing only sulfur as hetero atoms are difficult to detect by ESI or APCI due to the fact that these compounds are difficult to be protonated or deprotonated. APPI is able to generate radical cations using multi-photon ionization to detect these compounds without chemical modification using for instance methylation reagents. LDI is a complementary method for petroleum analysis independent of solvent conditions. APPI as well as LDI have been used to characterize crude oil and bitumen.

Results and discussion

More than 95% of all mass peaks could be assigned with one molecular formula. Very high resolving power of 1,200,000 (at m/z 400) using APPI and 600,000 (at m/z 400) using LDI could be achieved with mass accuracies in the ppb range. RMS errors of 100 ppb and 170 ppb have been achieved using APPI and LDI, respectively. Sulfur containing compound classes like benzothiophenes (DBE 6) or dibenzothiophene (DBE 9) could be identified based on the number of double bond equivalents (DBE).

The samples could be easily distinguished based on the detected compound classes: the samples could be divided in low and medium amount of sulfur (crude oil) and high amount of sulfur (bitumen). Even compound class S₃ could be detected in the bitumen sample by APPI. LDI seems to be more sensitive for nitrogen containing compounds than sulfur containing compounds. Nevertheless, class S₁ and S₂ could be detected by LDI with the same trend observed by APPI.

Experimental

10 mg of crude oil and bitumen samples were dissolved in 200 µL dichloromethane. These sample stock solutions were diluted 1:300 with 50% methanol, 50% toluene for APPI measurements in positive ion mode. The spray solutions of the crude oils and bitumen were prepared without any further purification. 5 µl of spray solution were deposited and dried on a stainless steel target for LDI measurements. Mass spectra were acquired with a 12T solarix FTMS using a dual source with MALDI option for LDI measurements and a new “dynamically harmonized” analyzer cell.

New Aspects

LDI and APPI can be used to characterize highly complex oil samples on the molecular level.

Verhalten der Dialkylaminogruppe bei der Fragmentierung im hochauflösenden FT-ICR Massenspektrometer

Martin Clemen¹, Jürgen Grotmeyer¹

¹ Institut für Physikalische Chemie Kiel, Max-Eyth-Straße 1, 24118 Kiel

Einleitung

Untersuchungen von markierten und unmarkierten Rhodaminen durch J. Peters [1,2] haben gezeigt, dass unerwartete Fragmentierungsmuster beim Zerfall dieser Moleküle auftreten. Die vielfache Annahme, ein Verlust von 44 Da aus Rhodamin B würde der Abspaltung von Kohlenstoffdioxid entsprechen, konnte widerlegt werden. Es wurde gezeigt, dass es sich bei diesem Verlust von 44 Da um die Abspaltung von Propan handelt, welche im Fall von Rhodamin B doppelt zu beobachten ist.

Ergebnisse und Diskussion

Es wurde untersucht welche Strukturmerkmale Einfluss auf diese Art der Fragmentierung haben. Inwiefern diese einen Schluss auf den Mechanismus zulassen, sollte ausgehend vom Rhodamingrundgerüst anhand kleinerer Moleküle geklärt werden. In den hochaufgelösten Massenspektren treten sowohl geradelektronische Fragmente als auch Radikale aus den Dialkylaminogruppen auf. Die Position des Pyridiniumstickstoffs bei Pyridin 1 in ortho und bei Pyridin 2 in para führt zu unterschiedlicher Fragmentierung. Pyridin 2 spaltet CH₄ ab, Pyridin 1 jedoch nicht. Ähnlich verhalten sich die Azofarbstoffe. Methylrot, Ethylrot und 4-(N,N-Diethylamino)-azobenzol zeigen Verluste von Radikalen. Im Gegensatz dazu treten bei Methylgelb keine Fragmente auf. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um einen radikalischen Mechanismus handelt.

Experimentelles

Die Farbstoffe Rhodamin B, Rhodamin B-(Et-d₅)₄, Methylrot, Methylgelb, 4-(N,N-Diethylamino)-azobenzol, 2-(Carboxy)-4-(N,N-Diethylamino)-azobenzol (Ethylrot), Pyridin 1 und Pyridin 2 wurden untersucht.

Massenspektren wurden mit einem Bruker APEX-QE FT-ICR Massenspektrometer mit einem 9.4 T Magneten (Bruker Daltonik, Bremen) aufgenommen. Die Proben wurden in Ethanol gelöst, mit einem Lösungsmittelgemisch aus Wasser/Methanol/Ameisensäure, 50:50:0.2 verdünnt und mit einer Konzentration von 1-100 pmol/µL in der ESI-Quelle in die Gasphase gebracht.

Die Fragmentierung erfolgte durch Stoßaktivierung in der ICR-Zelle. Hierfür wurden die entsprechenden Ionen in der Zelle isoliert und gespeichert. Stöße mit Argon durch CID (Collision Induced Dissociation) Anregung führten zur Fragmentierung.

Neuer Aspekt

Vergleich der Fragmentierungsmuster von Dialkylaminogruppen aus unterschiedlichen Farbstoffmolekülen.

Literatur

- [1] J. Peters, J. Grotmeyer, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **25**, 1169–1172 (2011).
- [2] J. Peters, M. Clemen, J. Grotmeyer, *Anal Bioanal Chem.* **405**, 7061-7069 (2013).

Identifizierung von posttranslationalen Modifikationen bei freien Leichtketten von Multiplen Myelom-Patienten

Heinig K.¹, Vanselow J.², Schlosser A.², Steinbrunn T.³, Bargou R.³, Costello C.⁴, Kapková P.¹

¹ Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Am Hubland, 97074 Würzburg

² Rudolf-Virchow-Zentrum, Josef-Schneider-Straße 2, 97080 Würzburg

³ Universitätsklinikum Würzburg, Josef-Schneider-Straße 6, 97080 Würzburg

⁴ Mass Spectrometry Resource, Boston University School of Medicine, 670 Albany Street, 02118 Boston, MA, USA

Einleitung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit Patienten, die am Multiplen Myelom (MM) bzw. am MM mit AL-Amyloidose-Beteiligung leiden. Bei beiden Krankheiten handelt es sich um eine monoklonale Gammopathie, bei der die freien Leichtketten von Antikörpern übermäßig produziert werden. Bei den Patienten mit Multiplen Myelom liegen die FLC gelöst im Blut vor, während es bei der AL-Amyloidose zur Aggregation der FLC und zu deren Ablagerungen in den Organen des Patienten verbunden mit Organversagen kommt. Die Ursache für die Aggregation bzw. Ablagerungen konnte noch nicht ausreichend geklärt werden, es werden jedoch Mutationen in der Aminosäuresequenz sowie das Auftreten von posttranslationalen Modifikationen vermutet^[1].

Ergebnisse und Diskussion

Bei den untersuchten Proben konnten neben verschiedenen Oxidationen und Acetylierungen zwei Sulfonierungen in dem konstanten Teil der FLC in den MS/MS-Spektren identifiziert werden. Zusätzlich zeigte sich eine Methylierung bei einem alkylierten Cystein.

Experimentelles

Die Analysen wurden mit Knochenmarkbiopsie-Proben von je drei Patienten aus den beiden Gruppen durchgeführt. Aus den Myelomzellen der Proben wurde mittels PCR die FLC-DNA isoliert und aus dieser die Aminosäuresequenz abgeleitet. Aus dem Überstand wurden die FLC mittels Affinitätschromatographie isoliert. Nach dem multiplen enzymatischen Verdau wurden die Peptide mittels Orbitrap massenspektrometrisch auf das Auftreten von posttranslationalen Modifikationen untersucht.

Neuer Aspekt

Bei Patienten mit Multiplen Myelom konnte das Auftreten von Sulfonierungen und Methylierungen im konstanten Bereich der freien Lichtketten gefunden werden.

Literatur

[1] Connors et al., *Biochemistry* **46**, 14259-14271 (2007).

Pharmakometabolomische in-situ Analyse von Irinotecan und SN-38 im APC1638N-Mausmodell mittels MALDI-FT-ICR-Imaging

Achim Buck¹, Katharina Huber¹, Na Sun¹, Michaela Aichler¹, Klaus-Peter Janssen², Axel Walch¹

¹ Abteilung Analytische Pathologie, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg

² Chirurgische Klinik, Klinikum rechts der Isar, TU München, Ismaninger Str. 22, 81675 München

Einleitung

Irinotecan ist ein Arzneistoff, der zur Behandlung bestimmter Krebserkrankungen, u.a. beim Darmkrebs eingesetzt wird. Pharmakologisch ist Irinotecan ein Zytostatikum aus der Gruppe der Topoisomerase-Hemmer. Irinotecan ist ein Prodrug, das vorzugsweise in der Leber durch eine Carboxylesterase vermittelte Spaltung der Carbamatverbindung in die aktive und lipophile Form SN-38 überführt wird. SN-38 ist ein vielfach stärkerer DNA-Topoisomerase I Inhibitor als Irinotecan. Ziel dieser Studie war eine kombinierte Analyse von Irinotecan, SN-38 und assoziierten metabolomischen Veränderungen in Geweben im APC1638N-Mausmodell (Mausmodell für Darmkrebs) zur Vorhersage des frühen Therapieansprechens. Dazu wurde MALDI-FT-ICR-Imaging in Gewebeschnitte angewandt.

Ergebnisse und Diskussion

Im APC1638N-Mausmodell haben wir die Wirkstoffverteilung von Irinotecan und SN-38 mittels MALDI-FT-ICR Imaging analysiert und quantifiziert, und dabei im invasiven Karzinom im Vergleich zu anderen Geweben nur sehr geringe Mengen an aktiven SN-38 gefunden, was zur Erklärung eines eingeschränkten Wirkansprechens beitragen könnte. Parallel haben wir den Tumor-Metabolismus mittels MALDI-FT-ICR Imaging untersucht. Die metabolischen Veränderungen können als Ausdruck eines frühen Ansprechens bzw. Versagens auf eine Therapie bewertet werden.

Experimentelles

Die Versuchstiere wurden mit Irinotecan 100mg/kg dosiert und nach einer bzw. zwei Stunden getötet. Zur Wirkstoff- und Metabolomanalyse wurden die Gewebeschnitte auf einen Indium-Zinnoxid beschichteten Glasobjektträger aufgebracht und mit einem ImagePrep-System (Bruker) mit den Matrices DHB bzw. 9-AA besprüht. Zur Verarbeitung der Daten wurde u.a. FlexImaging 4.0 verwendet.

Neuer Aspekt

Eine Verknüpfung der Analysen von Wirkstoffen und des Energiestoffwechsels in Geweben ermöglicht neuartige Einblicke in die pharmakometabolomischen Veränderungen des Zytostatikums Irinotecan und seinem aktiven Metaboliten SN-38.

Imaging cell metabolism using MALDI-FT-ICR-MS

Na Sun¹, Michaela Aichler¹, Alice Ly², Marius Ueffing², Stefanie Hauck², Axel Walch¹

¹ Research Unit Analytical Pathology, Institute of Pathology, Helmholtz Zentrum München - German Research Center for Environmental Health, Neuherberg, Germany

² Research Unit Protein Science Helmholtz Zentrum München - German Research Center for Environmental Health, Neuherberg, Germany

Introduction

The label-free, high sensitivity and ability to provide comprehensive spatial distribution of different classes of endogenous and exogenous biomolecules make mass spectrometry imaging (MSI) a valuable tool for diagnostics and biomarker discovery. The application of MSI to the study of endogenous metabolites has received considerable attention because metabolites are the result of the interactions of a biosystem with its environment which can provide enhanced understanding of disease mechanisms and the elucidation of mechanisms for biological variation.

Results and Discussion

Here, we represent the *in situ* metabolomic imaging data of a comparative analyses of light and dark adapted retina. A wide variety of tissue metabolites, including central metabolite pathways, nucleotides, redox-related metabolites and lipids are imaged with high spatial resolution. The high lateral resolution enables separation of retina layers and resolving spatial distribution of different endogenous biomolecules. Specially, numbers of energy metabolites demonstrate significant differences between light and dark adaption conditions. The associated biological relevance and mechanism of actions will be elucidated.

Experimental

MSI was performed using Bruker Solarix 7 T Fourier transform-ion cyclotron resonance mass spectrometer (Bruker Daltonik, Bremen, Germany). Images were acquired at a spatial resolution of 50 µm. MSI images were generated using FlexImaging v4.0 software.

New Aspect

These findings highlight the impact of MSI technique in biological discovery and biomedical application.

Comprehensive Chemical Analysis of Small Molecules in Fuels and Aerosols with GC-APCI FT-ICR

Theo Schwemer^{1,2}, C. Rüger¹, H. Czech¹, B. Weggler^{1,2}, M. Sklorz^{1,2}, R. Zimmermann^{1,2}

¹Joint Mass Spectrometry Centre / Chair of Analytical Chemistry, Institute of Chemistry, University of Rostock, 18051 Rostock, Germany; ²HICE – Helmholtz Virtual Institute of Complex Molecular Systems in Environmental Health – Aerosols and Health, www.hice-vi.eu

Einleitung

Die gesundheitlichen Auswirkungen von Aerosole sind seit längerem bekannt. Ein großer Anteil der gesundheitlichen Folgen ist sehr wahrscheinlich auf die organischen Substanzen in den Aerosolen zurückzuführen. Es ist noch immer nicht genau aufgeklärt welche konkreten Substanzen die gesundheitlichen Folgen verursachen und ob es Wechselwirkungen zwischen den Stoffen gibt, die die Wirkungen beeinflussen. Die Gaschromatografie (GC) in Verbindungen mit der weichen Ionisierung unter Atmosphärendruck (APCI) ermöglichen die ausführlichere Charakterisierung der Zusammensetzung von leicht- bis mittelflüchtigen Substanzen und die Zuweisung von Summenformeln für bestimmte Masse-zu-Ladungsverhältnisse [1].

Ergebnisse und Diskussion

Bisherige Untersuchungen fokussierten sich auf die Entwicklung von massenspektrometrischen Methoden zur Nutzung der Kopplung von GC und hochauflösender Massenspektrometrie. Die Ionisierung mittels APCI ermöglicht die Ionisierung von Analyten mit geringer Fragmentierung und erleichtert so die Charakterisierung von komplexen Substanzgemischen. Die GC dient dabei als Aufreinigungs- und Separierungsschritt, damit die Ionenquelle nicht überladen wird. Dadurch werden ebenfalls Matrixeffekte und Suppression während der Ionisierung verringert. Wegen der niedrigeren Ionisierungsenergie im Vergleich zur Elektronenstoßionisierung werden hauptsächlich ungesättigte und polare Komponenten ionisiert.

Experimentelles

Das partikuläre Material wurde im Rahmen einer Messkampagne an einem Schiffsdieselmotor an der Universität Rostock im November 2012 auf Quarzfaserfiltern gesammelt und mittels Methanol/Dichlormethan (50:50) extrahiert. Der Extrakt wurde 1:1000 verdünnt, 2µL wurden in ein Mikroval eingebracht und mit der Apparatur vermessen. Die Messungen wurden mit einem CP 3800 Gaschromatographen von Varian an einem Apex Qe Series II FTMS System von Bruker Daltonics durchgeführt.

Neuer Aspekt

Die Kopplung von GC und APCI mit FT-ICR ermöglicht flüchtige Substanzen komplexer Gemische (wie Öle, Aerosole) auf molekularer Ebene zu charakterisieren.

Literatur

- [1] Bruker Application Note # FTMS-41, Analysis of Gas Oil by GC/APCI FTMS