

LEISTUNGSDOKUMENT NR. 27 Massenspektrometrie (MS und MS/MS)

Nach dem Durchlesen dieses Dokumentes sollten Sie:

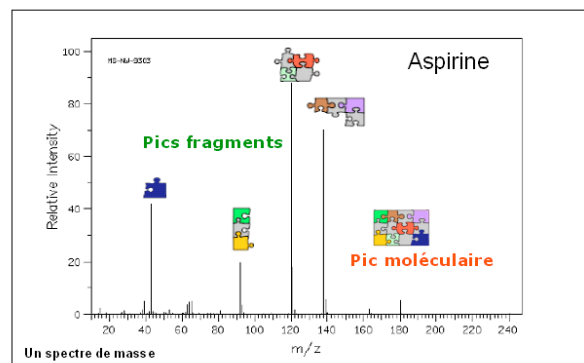
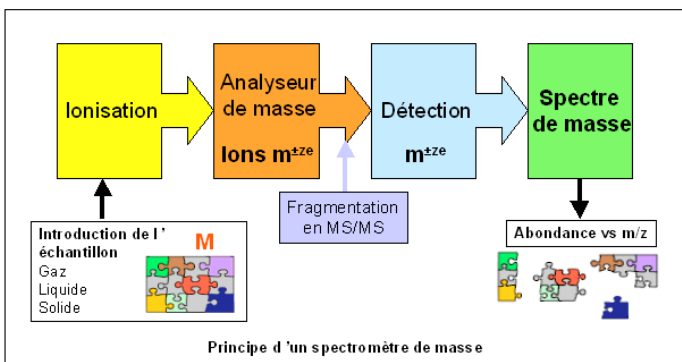
- die Zweckmässigkeit der Massenspektrometrie kennen,
- ein Massenspektrometer und Massenspektrum beschreiben können,
- ein MS von einem MS/MS unterscheiden können,
- die wichtigsten Funktionsweisen eines Massenspektrometers kennen.

Dieses technische Dokument gehört zur allgemeiner Bildung. Auch, und vor allem, wenn Sie keine Massenspektrometrie durchführen, empfehlen wir Ihnen, Ihre Kenntnisse in diesem Fach zu vertiefen. Im medizinischen Analysenlabor stellt die Massenspektrometrie ein leistungsfähiges Instrument dar, das erlaubt, die Identifikation der zu analysierenden Moleküle zu verfeinern (z.B. Medikamenten-Nachweis im Fall eines toxikologischen Kommas). Dank seiner hohen Identifikationsfähigkeit und Messempfindlichkeit stellt diese Methode ein zusätzliches Werkzeug zu den üblichen Analysen- und Trennungssystemen dar, wie Gas-, Flüssigkeitschromatographie oder Immunoassays. Aufgrund der hohen Kosten dieser Geräte sind die Massenspektrometer oft in grösseren Strukturen lokalisiert.

1. Definition der Massenspektrometrie:

Ziel der Massenspektrometrie ist, die Trennung und Identifikation der zu analysierenden Moleküle (kleine Moleküle, flüchtige Substanzen, Proteine, Drogen, usw.) mit einem hohen Auflösungsvermögen und einer grossen Empfindlichkeit zu ermöglichen. Das Funktionsprinzip eines Massenspektrometers (MS) ist, Ionen ($m^{\pm ze}$) aus einer Probe (M) zu bilden und diese in Bezug auf ihre Masse/Ladung (m/z) und ihre Häufigkeit zu trennen. Es bestehen zwei Gerätearten:

- einfaches MS: ein Ionisator, ein Analysator und ein Detektor;
- Tandem-MS/MS: ein Ionen-Kollektor und ein zweiter Analysator, zusätzlich zum einfachen MS.



Tandem-MS/MS unterscheidet sich von MS durch eine Ionen-Zersplitterung, um eine bessere Bestimmung zu erzielen. Die durch einfache MS getrennte Ionen werden in einem Kollektor gesammelt und fragmentiert. Die Bruchstücke sind in einem zweiten Analysator (Fragmentierung-MS) analysiert. Die damit erzeugte Identifikation ist feiner und exakter. Die Massenspektrometrie erlaubt eine qualitative und quantitative Analyse.

2. Verwendung:

Die Verwendungsbereiche der Massenspektrometrie im medizinischen Labor sind, sowohl für einfaches MS als auch für Tandem-MS, vielfältig. Analysen gehören zu:

- **Biomedizinische Forschung:** Forschen von Biomarkern und Identifikation von Protein
- **Klinische Chemie:** Bestimmung von gesamtem Homocystein im Plasma
Neonatale Bestimmung von metabolischen Krankheiten (z.B. Harnstoff-Zyklus)
Quantitative Bestimmung von Steroiden
- **Toxikologie:** Bestimmung von Drogen und Alkohol
Therapeutisches follow-up von Medikamenten (Immunsuppressiva; Antiretroviren, Antridepressiva)
- **Gerichtsmedizin:** Untersuchung nach einer Medikamenten-Vergiftung
- **Pharmazeutisch:** Bestimmung von Drogen und toxischen Substanzen
Reinheit von pharmazeutischen Produkten und Untersuchung von Metaboliten.

Die MS-Methode wird in vielen nicht-medizinischen Gebieten wie ökotoxikologischer Analytik, Lebensmittelsektor, Parfum- oder Ernährungsindustrie verwendet. Diese Liste ist nicht vollständig.

3. Funktionsablauf des Massenspektrometers:

Die im Labor benutzten Massenspektrometer bestehen aus verschiedenen Kopplungen von Ionisatoren und Massenanalytoren. Die am meisten bekannten Modelle sind ESI-MS, ESI-MS/MS, MALDI-TOF/TOF, ESI-Q/Trap und Orbitrap. Sie werden nach ihren Leistungen und Einrichtungskosten gewählt. Um die Leistung eines MS oder MS/MS zu verstärken, wird der Massenspektrometer oft mit einer Trennungsmethode gekoppelt wie Gas- (GC) oder Flüssigkeitschromatographie (liquid chromatography, LC). Damit wird die Trennung der verschiedenen Komponenten vor der Massenspektrometrie verbessert.

Die Leistung eines Massenspektrometers MS und MS/MS wird bestimmt durch:

- Seine Auflösung: das Vermögen, Substanzen von ähnlicher Masse trennen zu können
- Seine Exaktheit: das Vermögen, die exakte Masse eines Ions bestimmen zu können
- Seine Empfindlichkeit: das Vermögen, kleine Mengen messen zu können
- Sein Massenbereich: der Massen-Massstab.

Ein Massenspektrometer besteht hauptsächlich aus einem Ionisator, einem Detektor, einem Massenanalysator und einem Massenspektrum. Eine kurze Beschreibung dieser Teile erlaubt, die Funktionsmechanismen zu verstehen.

a. Der Ionisator dient dazu, positive oder negative Ionen zu erzielen. Die Ionen-Hauptquellen hängen von der zu analysierende Probe ab:

Analyt (M)	Ionisator	Ionen-Typ ($m^{\pm ze}$)	Ionisations-Prozess	Molekül	MS-Typ
Gas (GC), Flüssig (LC)	Elektronenstossionisation, <i>Electron impact</i> (IE)	Einfach geladen	Elektronen-Trennung durch Kollision	kleine	EI-MS <i>Electron Impact Ionization</i>
Flüssig (LC)	Chemische Ionisation (IC)	Einfach geladen	Elektronenstossionisation und Chargen-Transfer	kleine	<i>Chemical Ionization</i>
Gas (GC)	Chemische Ionisation unter Atmosphärendruck (APCI)	Einfach geladen	Dissoziation induziert durch Kollision (CID)	kleine, Thermolabil, Makro	APCI-MS <i>(Atmospheric Pressure Chemical Ionization-MS)</i>
Flüssig (LC)	<i>Electrospray-ionisation</i> (ESI, IS)	Mehrfach geladen (2 oder +)	Ionen-Entlösung	kleine, Makro, Proteine	ESI-MS <i>Electron Spray Ionization</i> IS-MS <i>Ionization Spray</i>
Feststoffe	<i>Desorption-Ionisation</i> (DI)	Mehrfach geladen (2 oder +)	Matrix-Chargen-Transfer	Makro, Peptide, Proteine	MALDI-MS <i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization</i>

b. Der Massenanalysator dient dazu, die gesammelten Ionen durch Einfluss eines elektrischen oder magnetischen Feldes zu trennen. Er kann mit fast allen Ionisatoren gekoppelt sein. Die Massenanalytoren unterscheiden sich durch ihr Auflösungsvermögen und Massenbereich.

Massenanalysator	Typen von Analytoren	MS-Kopplungen
Orbitrap	Zyklotronische Resonanz	Orbitrap-MS
TOF (time-of flight)	Flugzeit	MALDI-TOF
Q (oder QqQ)	Quadrupol (oder triple Q)	ISE-QqQ
Trap	Ionenfalle	APCI-QTrap

c. Der Detektor dient dazu, die Anzahl Elektronen zu messen und das Signal zu verstärken, um eine ausreichende Empfindlichkeit zu erreichen. Meistens wird ein Elektronenmultiplier verwendet. Das Signal wird aufgenommen und ein Massenspektrum erzeugt.

d. Das Massenspektrum gibt auf der Ordinate die Peak-Reichlichkeit (in %) und auf der Abszisse das Massen/Ladung-Verhältnis (m/z) an (siehe Spektrum).

e. Die Identifizierung der Moleküle wird durch das Vergleichen der Massenspektrum-Daten mit einer Spektren-Datenbank erkannt. Das erhaltene Resultat ist ein statistisches Wahrscheinlichkeits-Resultat (in %).