

LC-MS Messungen am MicroTOF QII System – Strukturaufklärung und Strukturbestätigung

Anwendungsgebiet

LC-MS Messungen am MicroTOF QII sind zur Strukturaufklärung und Strukturbestätigung von Reinsubstanzen vorgesehen. Neben der exakten Masse des Molpeaks zur Bestimmung der Summenformel der Substanz sind auch Fragmentierungsexperimente möglich. Sowohl das Fragmentmuster als auch die exakte Masse der Fragmente können zur Strukturaufklärung verwendet werden.

Führen Sie vor der Beantragung einer LC-MS-Messung immer erst eine APCI-Direkteinlassmessung durch. Sollte die exakte Masse bei der APCI-Messung nicht die gewünschte Summenformel bestätigen, ist die Anwendung der LC-MS-Methode eine Alternative.

Messzeiten

Die Messung erfolgt montags alle 14 Tage automatisiert über Nacht. Die Abgabe hat bis Montag 12.00 Uhr zu erfolgen. Um das Probenaufkommen abschätzen zu können, tragen Sie bitte Ihre Messwünsche auf dem aushängenden Zettel „**Anmelde**liste für LC-MS Untersuchungen MicroTOF QII“ ein.

Probenanmeldung/-abgabe

Die Anmeldung und Probenabgabe erfolgt auf dem LC-MS / GC-MS Massenspektren-anforderungsformular.

Probenqualität

Die zu untersuchende Substanz muss einer effektiven Aufreinigungsmethode unterworfen worden sein(z.B. Flash-Chromatographie, Destillation, etc.). Rohprodukte und Reaktionskontrollen können auf dem MicroTOF QII **nicht** gemessen werden.

Probenvorbereitung

Die zu untersuchende Substanz wird in ein gerätespezifisches Autosampler-Vial mit Cap eingefüllt (Bezug über die Glasausgabe, ARO-391113/ARO-8957-13). Das Vial ist **mit der Probenkennung eindeutig** zu beschriften und für den **einmaligen Gebrauch** bestimmt.

Möglich sind nachfolgende Methoden

1. 0.1-0.3 mg Substanz in ein Autosampler-Vial einwiegen
2. 20 µl einer 5 mM DMSO Stammlösung (Achtung: mögliche Stabilitätsprobleme)

Die Substanz wird standardmäßig durch Herrn Meiners in 0.5 ml Acetonitril (HPLC-Qualität) gelöst und mit 0.5 ml Aqua bidest. verdünnt.

Sollte sich die Substanz nicht in Acetonitril lösen, wird alternativ wie folgt verfahren:

1. In 0.5 ml Methanol lösen und mit 500 µl Aqua bidest verdünnen.
2. In 100 µl THF lösen, mit 400 µl Acetonitril und 500 µl Aqua bidest. auffüllen

Generische LC-MS-Methode

LC-Bedingungen		
Stationäre Phasen:	Trap-column	-
	Vorsäule (Pre-column)	SecurityGuard™ C18 Cartridge 4.0x2.0
	Analytische Säule (Analytical column)	Kinetex 2.6 µM C18 100A 50 x 2.10 mm
Fließmittel Pumpe (analytisch)	A: MeCN:NH ₄ HCOO [10 mM]) 10:90 mit 0.1 % HCOOH B: MeCN:NH ₄ HCOO [10 mM])90:10 mit 0.1 % HCOOH C:	
Detektor		
DAD	UV-Detektionswellenlänge: 230, 254 nm	DAD: 200-350 nm Peak width 0.1 Slit width: wide Frequenz: 5 Hz Response: 1
Autosampler		
	Temperatur	5 °C
	Injektionsmenge:	0,5-1 µl
Säulenofen:		
	Temperatur	30 °C

Nachfolgender Standard-LC-Gradient wird verwendet.

Zeit [min]	Pumpe (Analytisch)		Flow [ml/min]
	A	B	
0	100	0	0,4
5	0	100	0,4
6,5	0	100	0,4
7	100	0	0,6
9,7	100	0	0,6
10	100	0	0,4

MicroTOF QII Messparameter

Parameter	Wert (value)
ESI-Interface	
Scan-Bereich (scan range)	m/z 100 – 1000
Kapillarspannung (capillary voltage)	+/- 4,5 KV
Nebulizer-Gas-Druck (nebulizer gas)	2 Bar
Trocknungs-Gas (dry gas)	9 L / min ; 200 °C
Transferspannungen (transfer voltage)	
Funnel 1 and 2	200 Vpp (volt peak to peak)
Hexapol RF Spannung (hexapole R(adio)F(requency) voltage)	100 Vpp (volt peak to peak)
Collision RF	300 Vpp
Transfer time	70 µS

Parameter	Wert (value)
MS/MS-Experiment	
Isolationbreite (isolation width)	± 5 m/z
Kollisionsenergie (collision energy)	XX eV (siehe Ausdruck)
Kalibrierung	Li-Formiat Lösung

Messungen mit APCI- Interface werden individuell angepasst.

Verwendetes HPLC-MS-System

Ultimate 3000 RS Dionex-System (Dionex Softron, Germering, Germany) bestehend aus Solvent Rack SRD 3600, DGP-3600RS Pumpe, WPS-3000RS Rapid Separation Autosampler, TCC-3000RS Säulenofen, DAD-3000 RS Detektor
Software: Chromeleon

micrOTOF-Q II (Bruker Daltonics, Bremen, Germany)
Software: Hystar and DataAnalysis (Bruker, Germany)

Auswertung

Bei **Positiv-Mode-Messungen** (Standardmessung) können neben dem Molpeak aus m/z $[M+H]^+$ auf Grund des Fließmittels auch $[M+NH_4]^+$ und $[M+Na]^+$ Ionen auftreten.

Bei **Negativ-Mode-Messungen** ist bevorzugt neben m/z $[M-H]^-$ Ionen auch mit $[M+HCOO]^-$ Addukten zu rechnen.

Fragmentierungsmuster bei MS^2 -Experimenten sind nach der einschlägigen Literatur zu betrachten. Hilfestellung bietet die vorgeschlagene Summenformel der Fragment-Ionen.

Für Rückfragen stehen wir gerne zur Verfügung.

MS-Daten

Die Rohdaten der einzelnen Läufe liegen zum Download auf dem „\pz-messdaten“-Server bereit. Bitte beachten Sie das Dokument „Handling of mass spectrometric data“.

Standard-Veröffentlichungs-Terminus für den analytischen Teil

The electrospray ion source was operated in negative/positive ionization mode, scan range 100– 1000 m/z . *ESI conditions:* The capillary was set to ± 4.5 kV, the nebulizer was operated at 2 bar, the dry gas was set to 9 L/min at a temperature of 200 °C. *Transfer voltages:* The Funnel 1 and 2 were set to 200 Vpp. The hexapole RF voltage was set to 100 Vpp. Mass calibration was done using 20 mM lithium formate solution in isopropanol/water 50/50 infused at 1 minute of the chromatography.

MS/MS-experiments were accomplished in Auto-MS. The isolation width was set to 10 m/z and the collision energy to 35 eV.

Funktioneller Aufbau vom MicroTOF QII mit ESI-Interface

Functional Overview

