

Kolloquium 1/2011

Prof. Dr. rer. nat. habil. Werner Engewald

Universität Leipzig
Institut für Analytische Chemie

zum Thema

„GC/MS - leistungsstark, unver-
zichtbar und immer komfortabler“?

Zeit: Freitag, 21. Januar 2011, 10.00 Uhr

Ort: Haus I, Raum 31

Alle Interessenten, KollegInnen und
StudentInnen sind sehr herzlich eingeladen!

gez.:

Prof. Dr. rer. nat. habil. Manfred Gey

WE



GC/MS

leistungsstark, vielseitig und
unverzichtbar

W. Engewald

Universität Leipzig

Institut für Analytische Chemie

Maßeinheiten der Spurenanalyse

	Nachzuweisende Menge	Masse g	Gehalt pro g	Zahl der Moleküle pro g (bei 300 Da)
mg	Milligramm	10^{-3}	1 ppth	10^{18}
μg	Mikrogramm	10^{-6}	1 ppm	10^{15}
ng	Nanogramm	10^{-9}	1 ppb	10^{12}
pg	Picogramm	10^{-12}	1 ppt	10^9
fg	Femtogramm	10^{-15}	1 ppqd	10^6

1 ppm	part per million	$1 : 10^6$	$\mu\text{g/g}$	mg/kg
1 ppb	billion	$1 : 10^9$	ng/g	$\mu\text{g/kg}$
1 ppt	trillion	$1 : 10^{12}$	pg/g	ng/kg
1 ppqd	quadrillion	$1 : 10^{15}$	fg/g	pg/kg

- z. T. unvorstellbar kleine Mengen („Nadel im Heuhaufen“)
- aber: Konzentration „Null“ gibt es nicht!

Dimensionen der Kleinheit

Beispiel :

- Eine Prise Kochsalz (Frühstücksei) : ca. 0,03 g = 30 mg (Milligramm)
(ca. 200 kleine Kristalle)
aufgelöst in

- einem Liter Wasser : 30 mg Salz in 1 Million mg Wasser
= 30 mg/L = **30 ppm**
(schmeckt nicht salzig !)

- 1000 Liter Wasser : 30 mg Salz in 1 Milliarde mg Wasser
Badewanne
= 30 µg/l = **30 ppb**
(Mikrogramm)

Grenzwert der TVO für Pestizide : 0,1 µg/l = 100 ng/l = 0,1 ppb

- 1000 Kubikmeter Wasser : 30 mg Salz in 1 Billionen mg Wasser
Schwimmbecken
50m L x 10 m B x 2m T
= 30 ng/l = **30 ppt**
(Nanogramm)

Hauptprobleme der organischen Spurenanalyse

▪ Konzentrationsproblem

- Extrem kleine Gehalte → Anreicherung
- Weiter Konzentrationsbereich

▪ Multikomponentenproblem

- Vielzahl von Verbindungen (Analyte, Begleitsubstanzen) mit sehr unterschiedlichen und/oder sehr ähnlichen Eigenschaften in z. T. sehr unterschiedlichen Mengen → spezifische Trennung und Detektion

▪ Multimatrixproblem (Objektvielfalt)

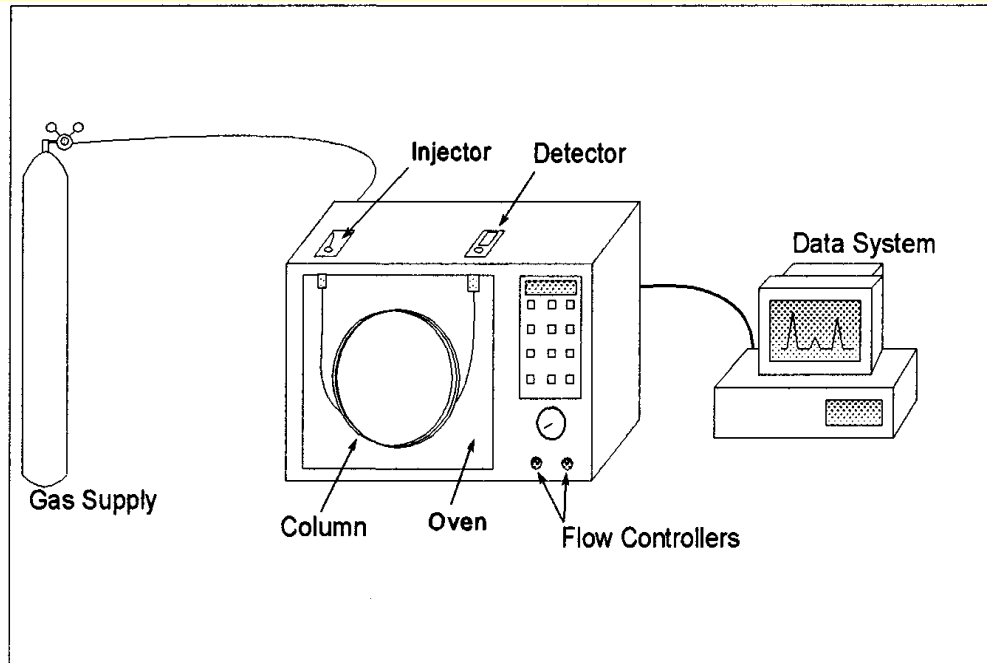
- Sehr verschiedenartige Matrices:
Luft, Wasser, Boden, Staub, Klärschlamm, Altöl, Blut, Milch, Urin, Lebensmittel, biologisches Material
z. T. starke Matrix-Analyt-Wechselwirkungen → Vortrennung

▪ Kalibrierproblem

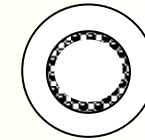
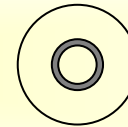
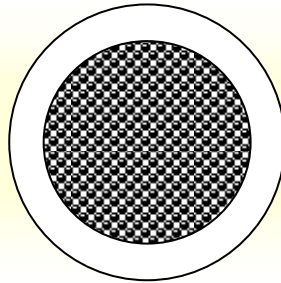
- Methoden der instrumentellen Analytik sind Relativmethoden → Kalibrierung, Standards

→ Problem- und Objektbezogene Strategie

Aufbau eines Gaschromatographen



- **Gas Versorgung:** hochreines Trägergas (He, H₂, N₂)
- **Injektor:** Probenaufgabe (gas, flüssig):
mittels Mikroliterspritzen, Autosampler, Gasventile
- **Trennsäule:** gepackte Säule oder Kapillarsäule
- **Säulenofen:** Thermostat (30 – 350 °C)
- **Detektor:** Universal oder elementspezifisch
- **Datenaufnahmesystem**



Bezeichnung	Gepackte Säule	Filmkapillare (WCOT)	Schichtkapillare (PLOT)
Stationäre Phase	a) dünner Film einer Flüssigkeit auf der Oberfläche eines Trägermaterials b) Feststoffpartikel	dünner Film einer hochsiedeten Flüssigkeit an der Innenwand	Adsorbenschicht an der Innenwand
Retentionsmechanismus	a) Verteilung b) Adsorption	Verteilung (Löslichkeit)	Adsorption
Dimensionen			
L	1 - 6 m	5 - 100 m	5 - 30 m
ID	2 - 4 mm	0,1 - 0,6 mm	0,2 - 0,6 mm
Film/Schicht		0,1 - 10 µm	5 - 50 µm

Trennsäulen

Gepackte Säulen

- Innendurchmesser von 2 bis 4 mm
- Säule ist vollständig mit Partikel gefüllt
Adsorbens → GSC
Trägermaterial mit stationäre Phase
(Flüssigkeit) belegt → GLC
- Säulenlänge nur 1 bis 6 m (Strömungs-
widerstand)
- Säulenmaterial: Kupfer, Stahl, Glas oder
Quarzglas



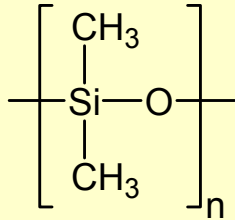
Kapillarsäulen

- Innendurchmesser <1 mm
- Stationäre Phase befindet sich auf der
Innenwand der Trennsäule
- Säulenlänge: 5 bis 100 m
- Säulenmaterial: Glas (zerbrechlich), Fused
silica (Quarz) aus hochreinem SiO₂ mit
äußerer Schutzschicht aus Polyimid (flexibel),
fused silica beschichteter Edelstahl
(hochtemperaturstabil)



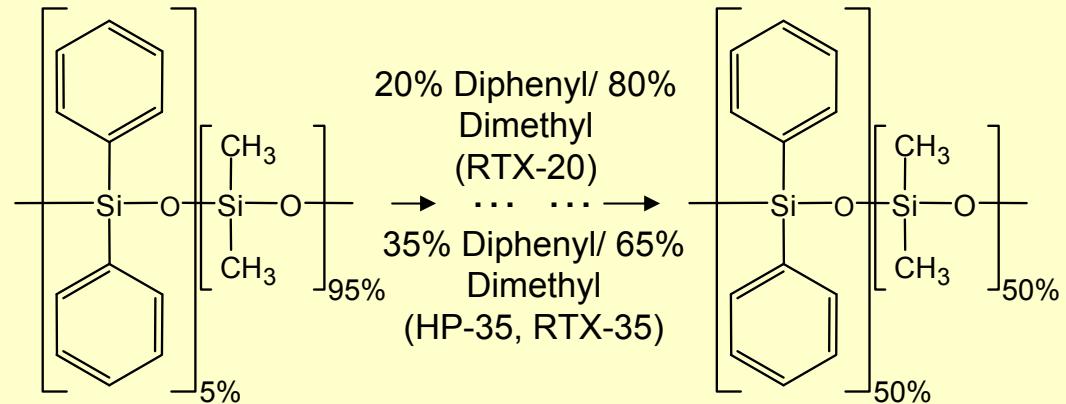
Wichtige stationäre Phasen

Polydimethylsiloxan



z.B. DB-1, HP-1, OV-1,
RTX-1, CP Sil 5 CB

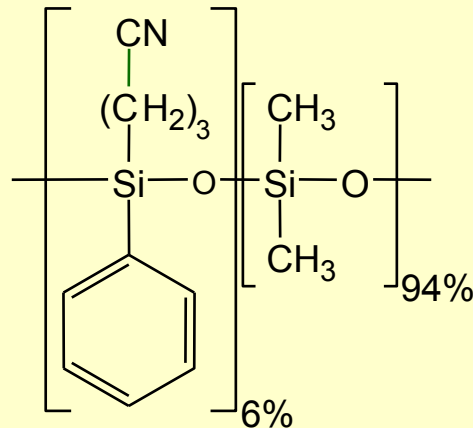
Poly-diphenyldimethylsiloxan



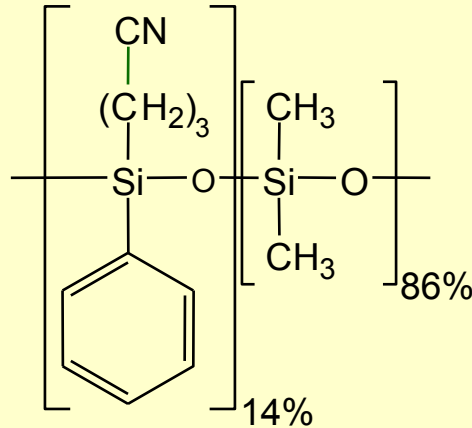
z.B. DB-5, HP-5, OV-5,
RTX-5, CP Sil 8 CB

z.B. DB-17, HP-17, RTX-50

Poly-cyanopropylphenyl-dimethylsiloxan

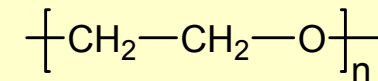


z.B. DB-1301, HP-1301,
RTX-1301



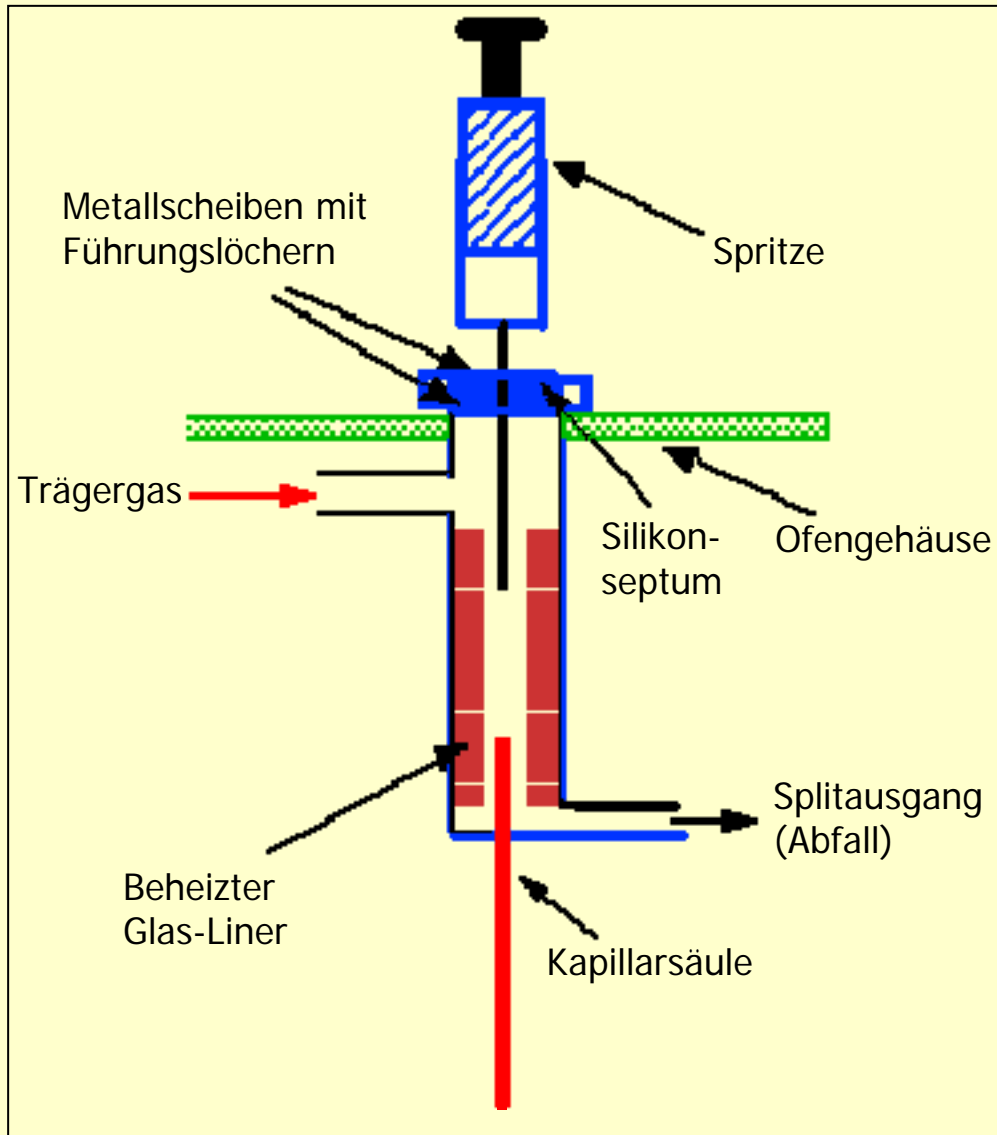
z.B. DB-1701, RTX-1701,
CP Sil 19 CB

Polyethylenglycol PEG



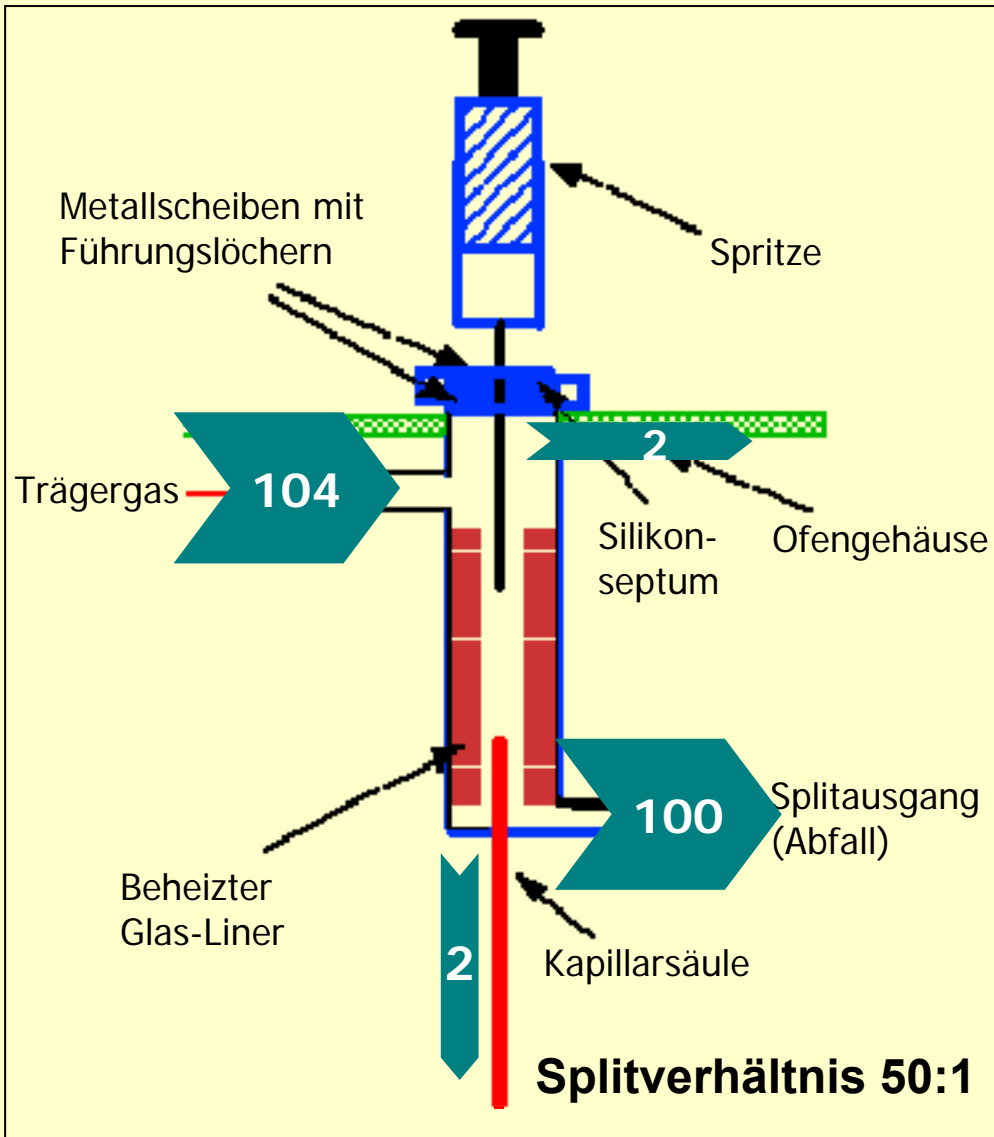
z.B. DB-Wax, Carbowax,
Suplecowax, Stabilwax

Aufbau eines Split/splitlos-Injektors



- Beheiztes Stahlrohr (Verdampfungskammer)
- Wechselbares Glas- oder Quarzrohr (Liner, Insert)
- Auswechselbares Septum aus Silikongummi
- Anfang der Kapillarsäule reicht in den Liner (Ort der Probenteilung)
- Splitventil: Aktivkohlefilter mit Nadelventil
- Septumspülung: Kleiner Spülstrom am Septum vorbei
- Pneumatik für Trägergas-Regelung

Verdampfungsinjektion mit Strömungsteilung: Split-Injektion



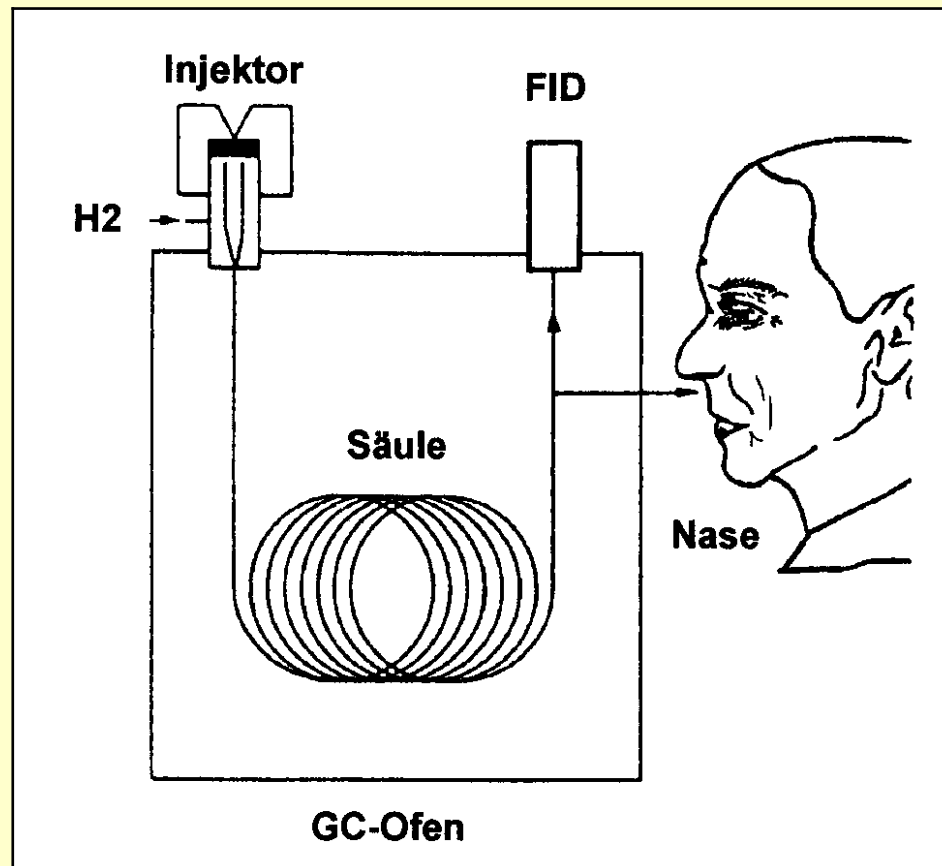
- **Injektion** von 0,1 - 1 μ L der flüssigen Probe in die Verdampfungskammer (Liner) des beheizten Injektors
- **Verdampfung und Vermischung** der Probedämpfe mit Trägergas
- **Teilung** des Gasstromes/ Probedämpfe in 2 ungleiche Anteile:
 - Kleiner Anteil (1-10%) auf Säule
 - Großer Anteil in Splitausgang
- **Splitverhältnis** (10:1 ... 100:1) kann durch Nadelventil reguliert werden

GC detectors

		application / selectivity
TCD	Thermal Conductivity Detector (Katharometer)	universal
FID	Flame Ionization Detector	organic compounds
NPD	Nitrogen/Phosphorus Detector	N-, P-compounds (traces)
	AFID Alkali flame ionization detector	
	TID Thermoionic ionization detector	
FPD	Flame Photometric Detector	S-compounds (traces)
ECD	Electron Capture Detector	Halogen compounds (traces)
PID	Photoionization Detector	Aromatics
HID	Helium Ionization Detector	Trace analysis (gases)
MS	Mass Spectrometer (MSD Mass selective detector)	
FTIR	Fourier Transformation Infrared Detector	
AED	Atomic Emission Detector	

Olfactory Detector („sniffing port“)

Sensing of column effluent by the human nose



The column effluent is split into two lines

- GC detector
- noise

For recognition of compounds which are responsible for specific odors :

- flavours
- off-flavours

Gaschromatographie I

- Methode der Wahl für die Trennung **flüchtiger Verbindungen**

Dampfdruck der Analyten bei Säulentemperatur $> 0,1$ torr;

Säulentemperaturen bis 350 °C

- ☹ **Begrenzte Anwendbarkeit**

Thermisch stabile, verdampfbare Verbindungen (unpolar, schwach polar):

MW < 600 (1000) Dalton $K_p < 500\text{ °C}$ C-Zahl < 50

Erweiterung des Anwendungsbereiches durch

- Derivatisierung polarer Verbindungen zu weniger polaren, flüchtige Derivaten
- Definierte thermische Zersetzung der Probe und GC der flüchtigen Pyrolyseprodukte: Pyrolyse-GC

☺ Übergang in die Gasphase ist elegante Möglichkeit zur Abtrennung der Analyten von unverdampfbarer bzw. schwerflüchtiger Probematrix

- **Dosierung**

Verschiedene Injektoren und Techniken zur

- Dosierung von verdünnten Lösungen: splitless, cold on-column, PTV
- Dosierung großer Probenvolumina (LVI)
- Lösungsmittelfreie („trockene“) Dosierung

- **Hohes Trennvermögen**

Kapillarsäulen: L = 25-60m

N = 100.000 – 300.000

Peakkapazität: 100 – 500(...1000)

$\alpha > 1,02$

Temperaturprogrammierte Arbeitsweise → Proben mit weitem Siedebereich

- **GC/MS**

Kopplung von 2 „Gasphasentechniken“

MS als universal- oder massenselektiver Detektor zur **Identifizierung** und **Quantifizierung** (schnell, robust, nachweisstark, großer linearer Bereich)

⇒ **leistungsfähige und konkurrenzlose Kombination zur Analyse flüchtiger Gemische**

- **Vorteile der GC**

hochauflösend, empfindlich, schnell, genau, präzise, robust,

automatisiert, bedienerfreundlich, vielseitig einsetzbar

⇒ **weitverbreitete Methode: über 400.000 GC-Geräte weltweit**

Massenspektrometrie (MS)

▪ Massenspektrometrie:

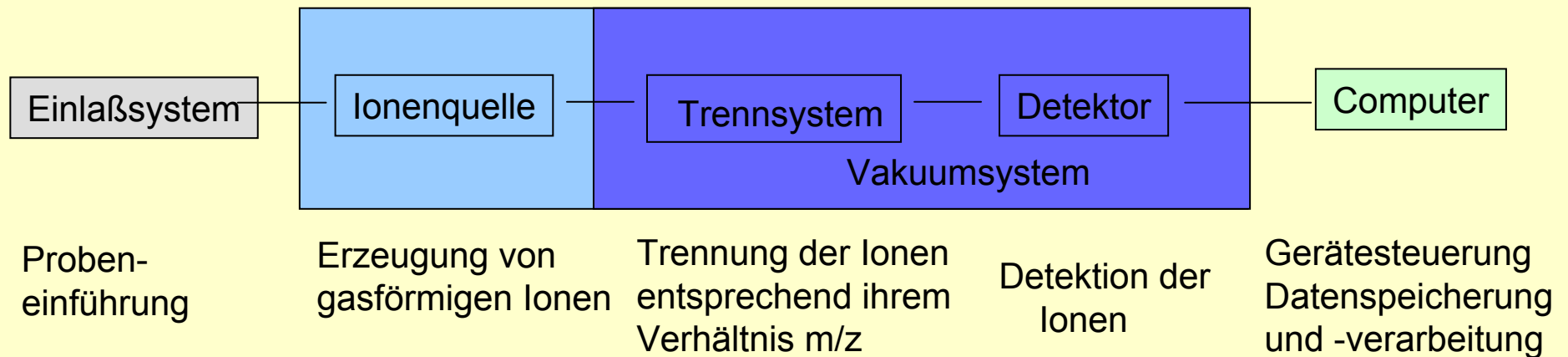
- Erzeugung gasförmiger Ionen aus der Probe
- Trennung dieser Ionen entsprechend ihrem Verhältnis von Masse zu Ladung m/z im Hochvakuum
- Detektion dieser Ionen

▪ Massenspektrum:

- Darstellung der (relativen) Intensität der getrennten Ionen als Funktion des m/z -Verhältnisses

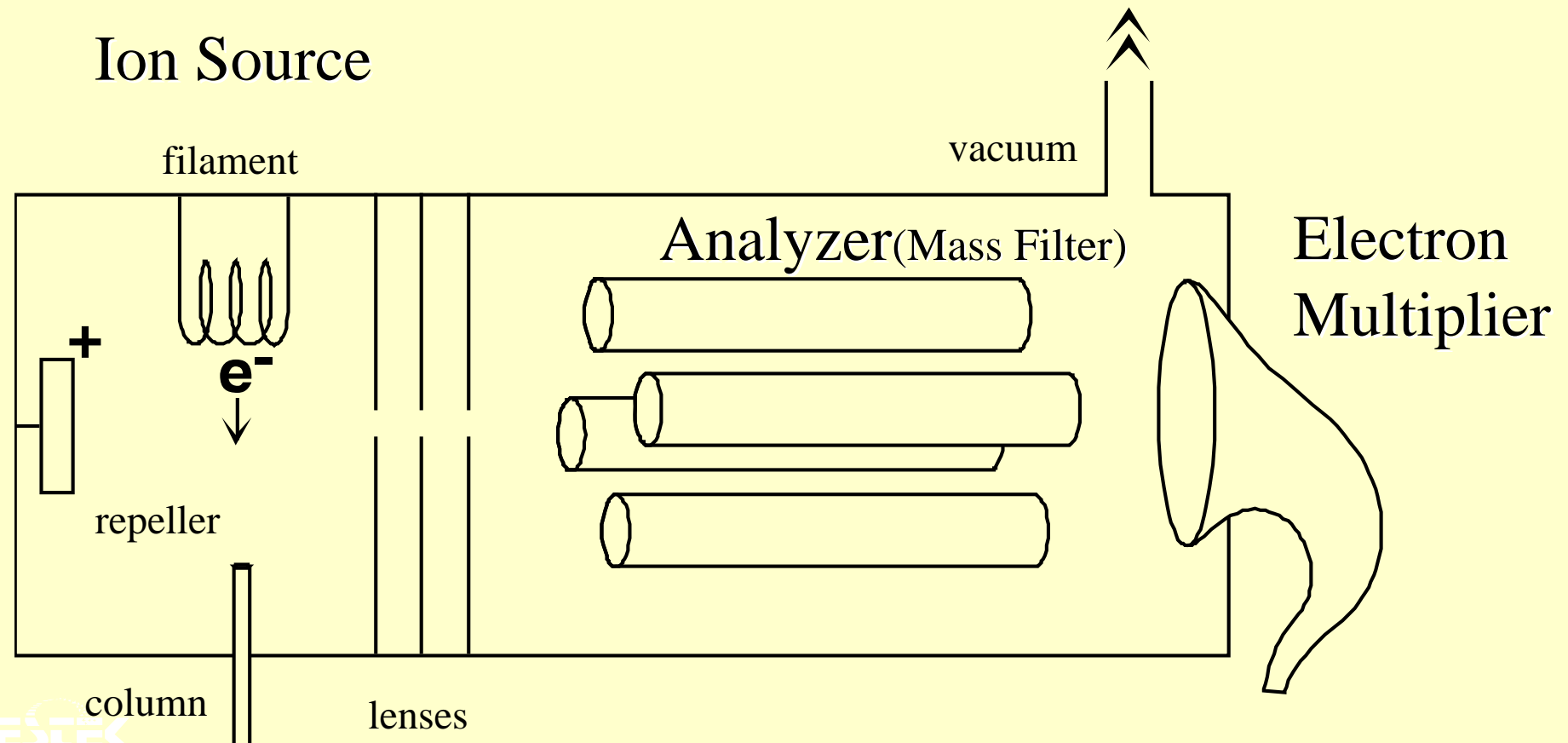
▪ Massenspektrometer

- wichtigste Komponenten eines Massenspektrometers



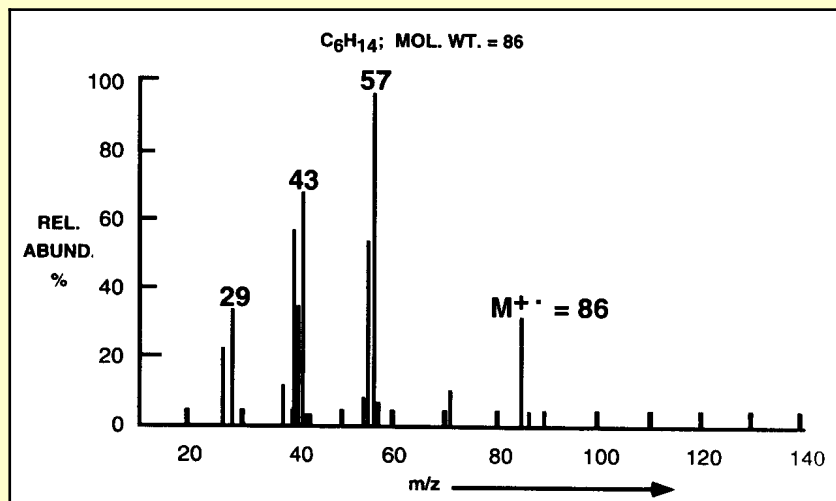
GC/MS EI/Quadrupole

- Electrons fragment compounds into positively charged species in the EI mode
- Fragments are separated based upon mass/charge

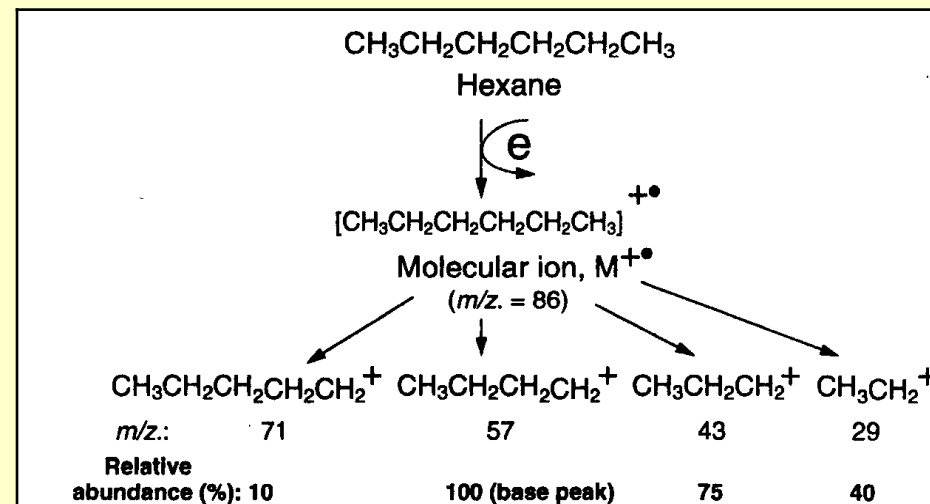


Electron Impact (EI) Mass Spectrum of Hexane

Mass spectrum of hexane (70 eV)

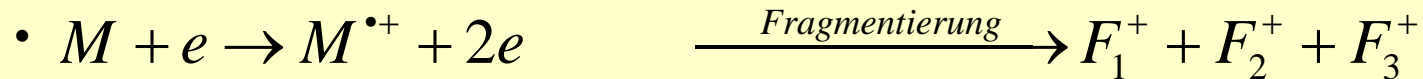


Fragmentation of hexane



Ionisierungstechniken in GC/MS

▪ EI Elektronenstoßionisation: „harte Ionisierungstechnik“



Energiereiche
Radikalkationen

- Hohe Ionisierungs- → starke Fragmentierung → charakteristische
Energie (70 eV) strukturspezifisch, Fragmentierungsmuster
reproduzierbar

- Hoher Informationsgehalt der EI-Spektren → Spektrenbibliotheken
- Anwendung: Identifizierung

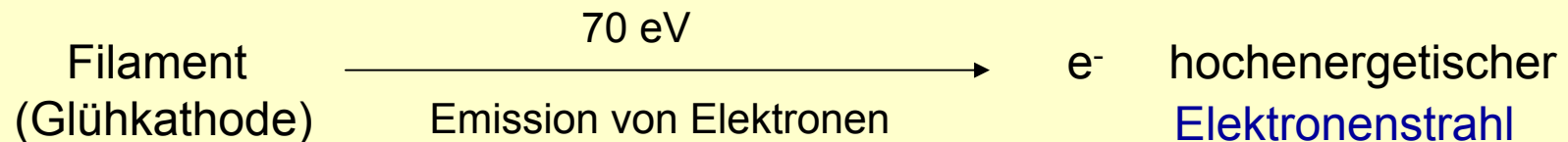
▪ CI Chemische Ionisation: „weiche Ionisierungstechnik“

- Ionisierung via Reaktandgas → Bildung stabiler Ionen
Quasimolekülonen: $[M-H]^-$ $[M+H]^+$
Adduktionen
- Keine bzw. geringe Fragmentierung
- Anwendung: Selektive Spurenbestimmung von Targetverbindungen
PCI positive Ionen NCI negative Ionen

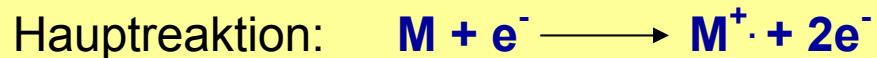
● wichtigste Prozesse in der Ionenquelle (IQ)

(Gasphase, Hochvakuum, ca. 10^{-3} Pa)

1. Erzeugung von Elektronen



2. Ionisierung der Moleküle **M** durch Beschuß mit Elektronen



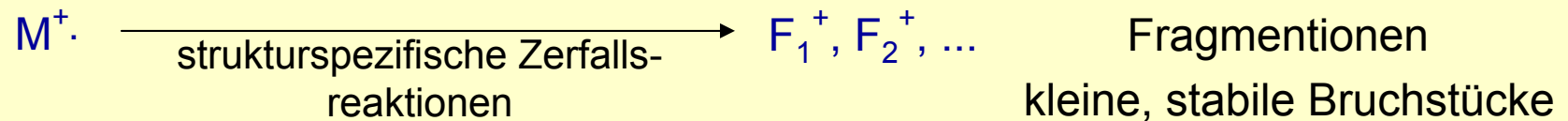
Molekülionen (sehr energiereiche Radikalkationen)

- Ionenausbeute $< 0,001\%$
- Molekülionen werden durch angelegte "Ziehspannung" aus Quelle herausgeführt, beschleunigt und zum Massenanalysator geleitet

3. Zerfall von Molekülionen (Fragmentierung)

durch simultan ablaufende monomolekulare Reaktionen

- Bindungsspaltung (Abspaltung eines Radikals)
- Abspaltung von energiearmen Neutramolekülen (CO, H₂O, HCN, C₂H₄)
- Umlagerungen

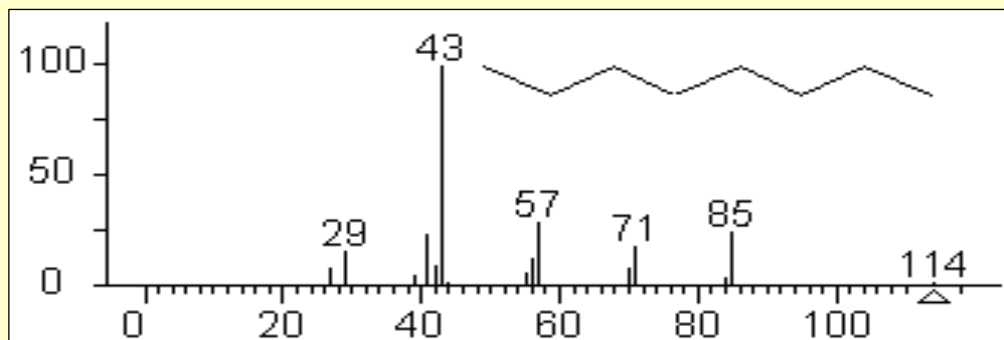


→ simultane Bildung mehrerer Bruchstücke mit unterschiedlicher Intensität:
charakteristische Fragmentierungsmuster

● harte Ionisation

- ☺ hoher Informationsgehalt der EI – Spektren (bekannte Zerfallsregeln)
Spektrenbibliotheken
- ☹ manche Substanzen fragmentieren sehr stark
 - kein oder sehr kleiner Molekülionenpeak
 - viele uncharakteristische Fragmentationen
 - geringe Intensität der Fragmentationen → geringes S/N - Verhältnis

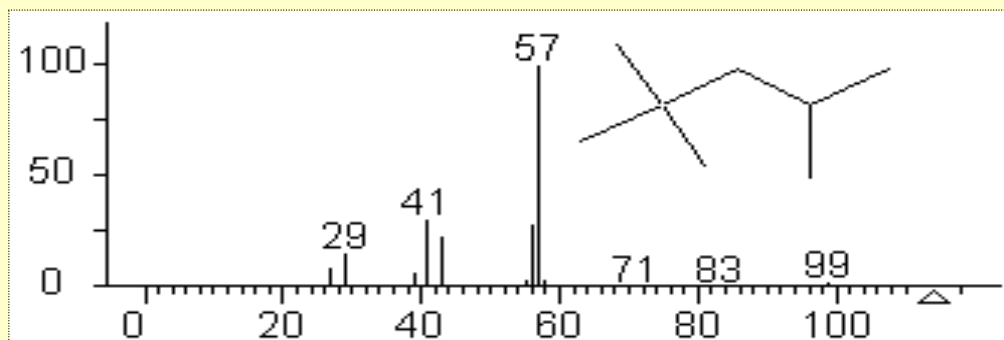
“Electron Impact” – Mass Spectra



n-Octane

C_8H_{18}

MW 114

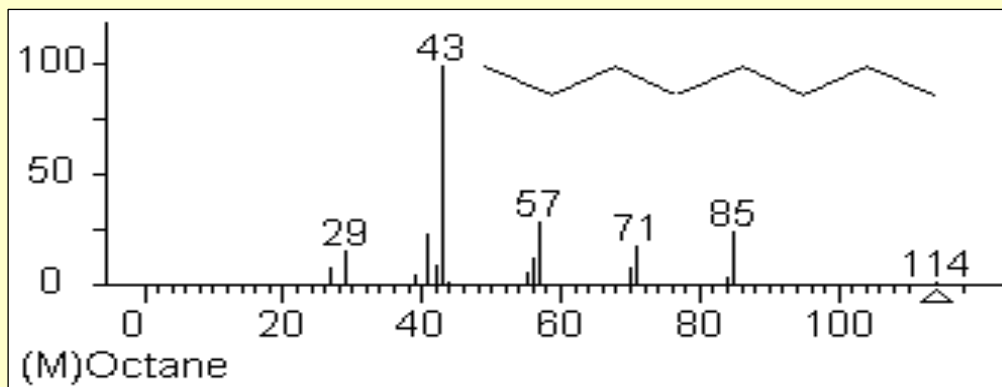


2,2,4-Trimethyl pentane (iso octane)

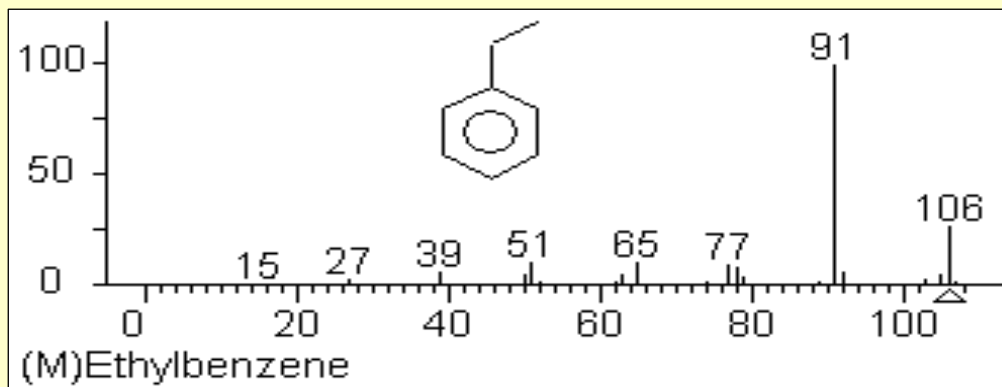
C_8H_{18}

MW 114

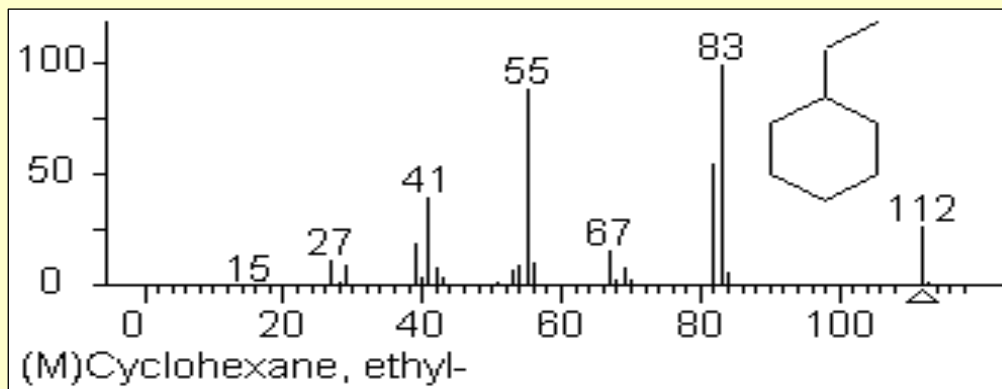
“Electron Impact” – Mass Spectra



C_8H_{18}
MW 114



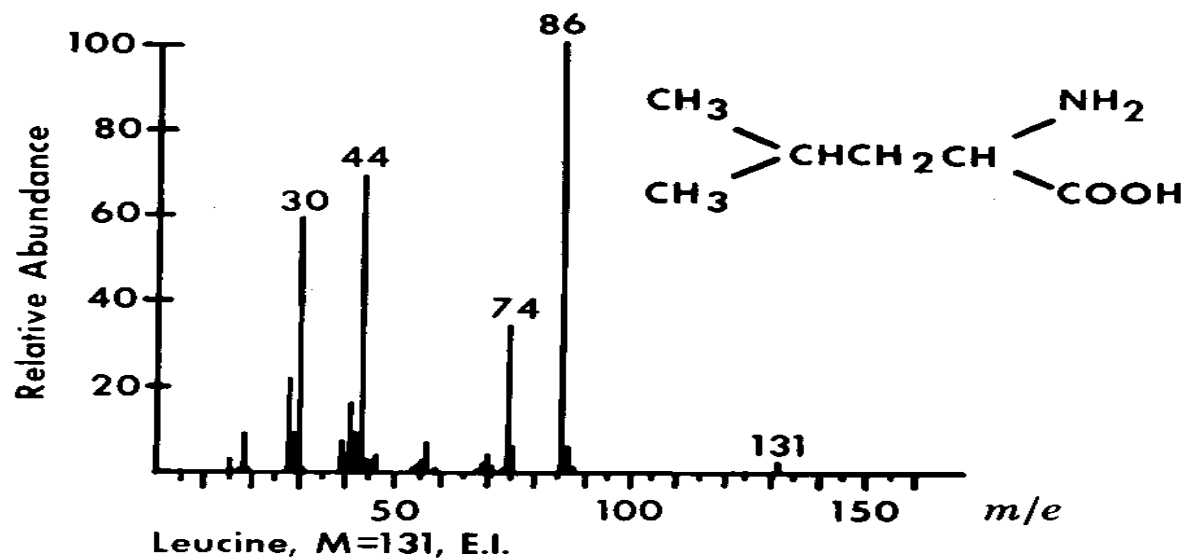
C_8H_{10}
MW 106



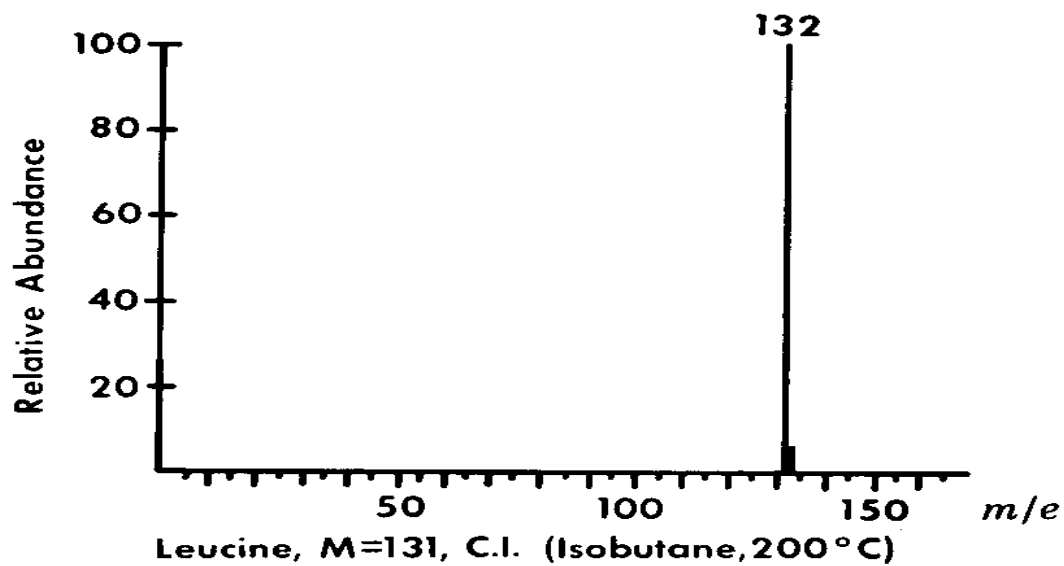
C_8H_{16}
MW 112

WE

EI



CI



From: Silverstein, Bassler, and Morrill

GC/MS-Techniken

	Trennsystem	Trennung	Auflösung	Bemerkung
Q IT QqQ	Quadrupol Ionenfalle (IonTrap) Triple Quadrupol	Hochfrequente elektrische Wechselfelder	Nominalmasse (low resolution)	MS ⁿ MS–MS (Tandem-MS)
	Doppelfokussierende Sektorfelder	Kombination aus elektr. u. magn. Feld	Hochauflösung (high resolution)	
TOF	Time of Flight (Flugzeit-MS) TOF-hs (high speed) TOF-hr (high resolution)	Flugzeit im feldfreien Raum	Nominalmasse Hochauflösung	schnelle GC, GC×GC
FT-ICR	Fourier-Transform-Ionencyclotronenresonanz	Elektrische Wechselfelder	Höchstaflösung	
IRMS	Isotope ratio MS	Konstantes Sektorfeld, mehrere Auffänger	Isotopenverhältnisse	Substanz-spezifische Isotopenanalytik

Auflösung in der MS II

▪ Nominalmassen – Auflösung

Auflösung um eine Massenzahl („Low resolution“)

Aber

- z.B. Nominalmasse = 120
keine Unterscheidung von

Pyridin	$C_5H_4N_4$	MZ = 120,004
Benzamidin	$C_7H_8N_2$	120,069
Ethyltoluen	C_9H_{12}	120,096
Acetophenon	C_8H_8O	120,058

- mehr als 1500 Verbindung mit gleicher nominaler Masse von 250 bekannt

▪ Hochauflösung

- Unterscheidung kleiner Massendifferenzen ΔMZ

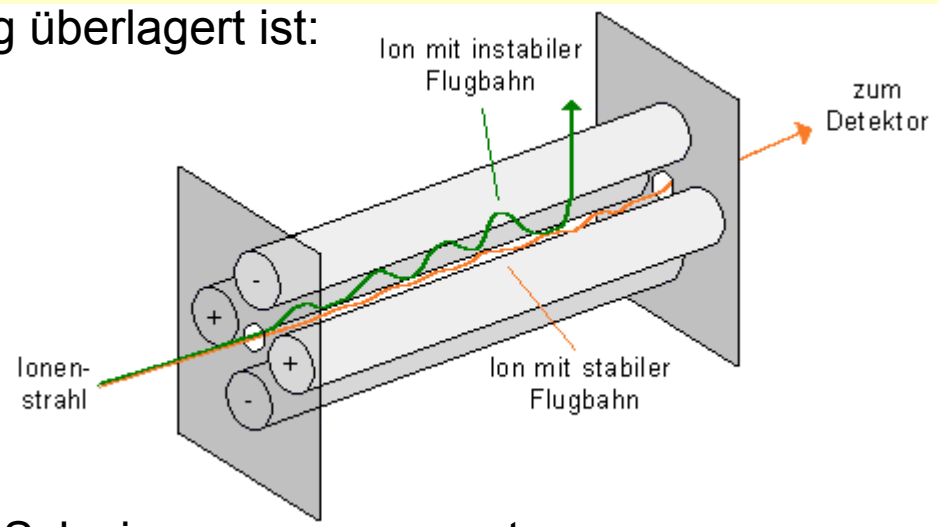
z.B.	C_2H_8 / S	0,091
	CH_4 / O	0,036
	CH_2 / N	0,013
	O_2 / S	0,018

→ Ermittlung von Summenformeln

Quadrupol Analysator

- Vier hyperbolischen oder zylindrische Metallstäben, die paarweise als Elektroden dienen
- Anlegen einer positiven bzw. negative Gleichspannung an gegenüberliegenden Stäbe, die mit einer Wechselspannung überlagert ist:

$$U_s = +/-U + V \cdot \cos(\omega t)$$



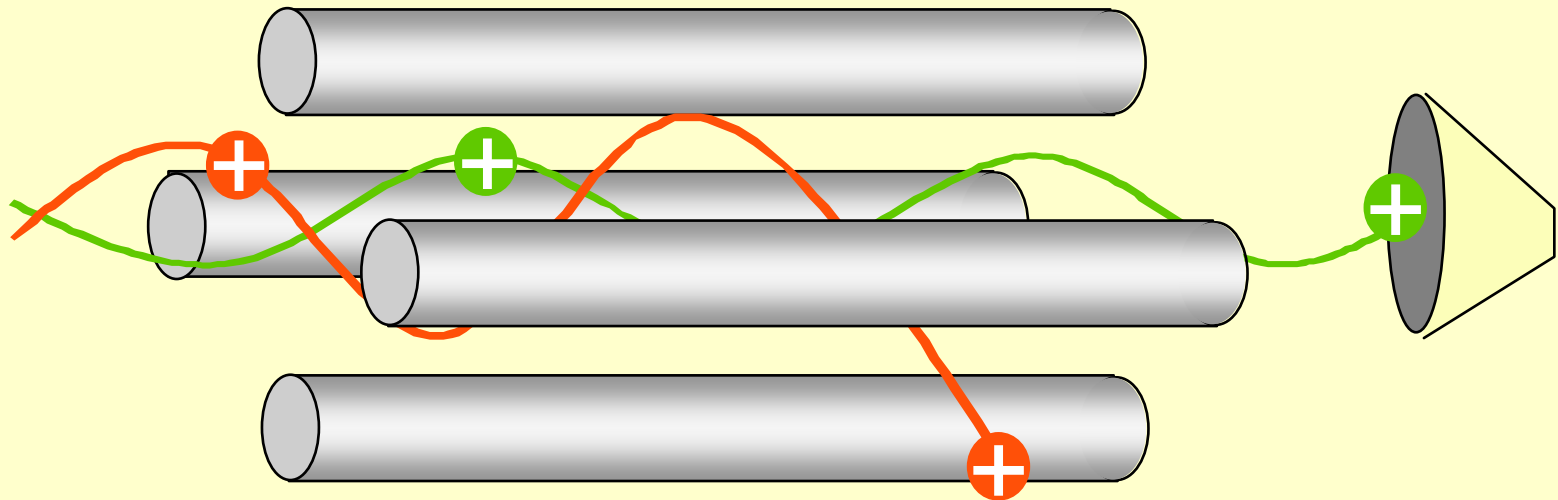
- Ionen werden im elektrischen Feld zu Schwingungen angeregt
Erzeugung einer stabile Flugbahn für ein bestimmtes Masse/Ladungs-Verhältnis
Alle anderen Ionen werden ausgeblendet (sie prallen auf die Stäbe und werden entladen).



Wirkung als Massenfilter

Variation der Spannungen U und V oder der Frequenz ω zum Scan des gesamten Massenbereiches

Quadrupole Mass Analysator

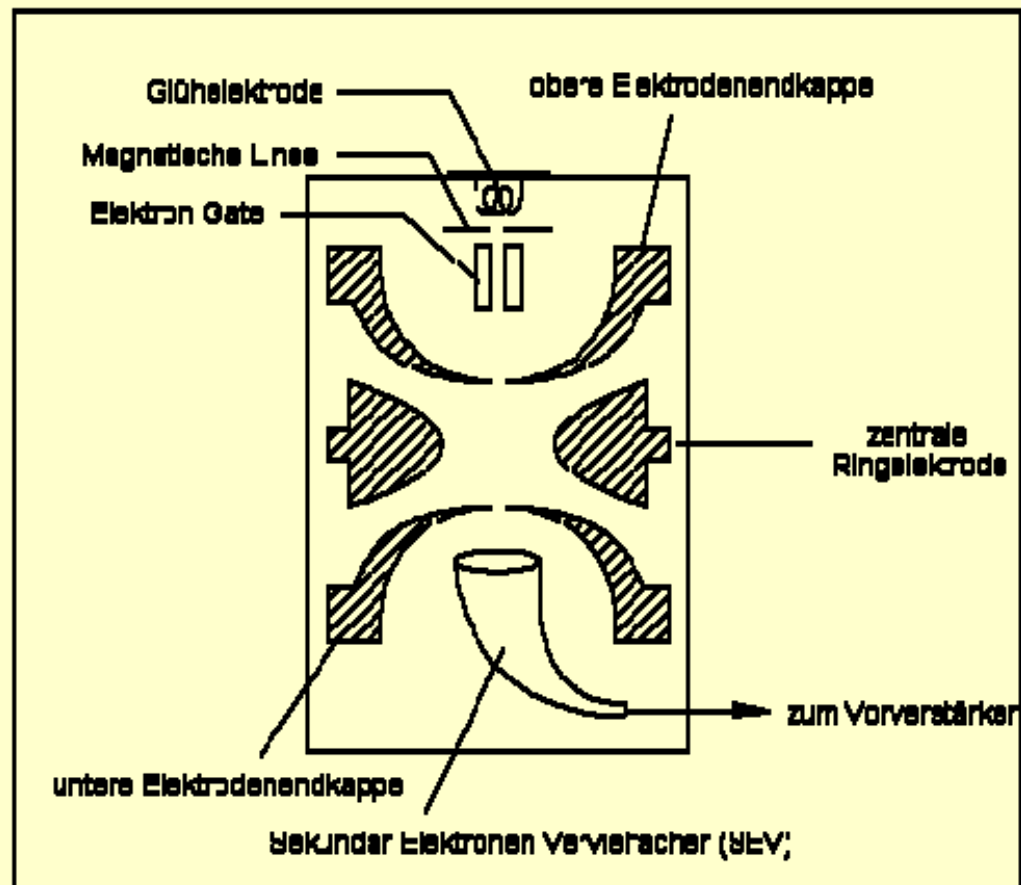


Ions are scanned by varying the DC/Rf voltages on the quadrupoles

Quadrupol-Ionenfallen

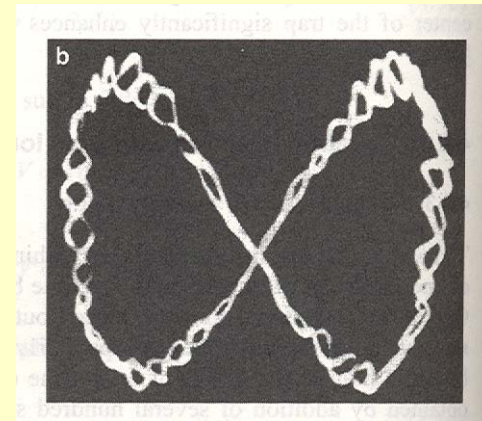
Aufbau: Ringelektrode und Polkappen

Die Deckkappen haben jeweils ein Loch für den Eintritt und den Austritt der Ionen.



Quadrupol-Ionenfallen (ion trap)

- Ionen werden in einem Quadrupolfeld "gefangen" gehalten.
- Je nach Art der einwirkenden Felder kann man entweder nur Ionen einer bestimmten Masse gefangen halten, oder aber sämtliche Ionen in der Falle sammeln.
- Durch geeignete Veränderung der Felder verlassen Ionen mit einem bestimmten m/z Verhältnis die Iontrap.
- Dadurch ist es möglich, die Ionen massenaufgetrennt zu scannen.
- Durch Selektion von Ionen eines bestimmten m/z Verhältnis und anschließende Anregung/Kollision mit Inertgas können MS/MS und MS^n – Experimente durchgeführt werden

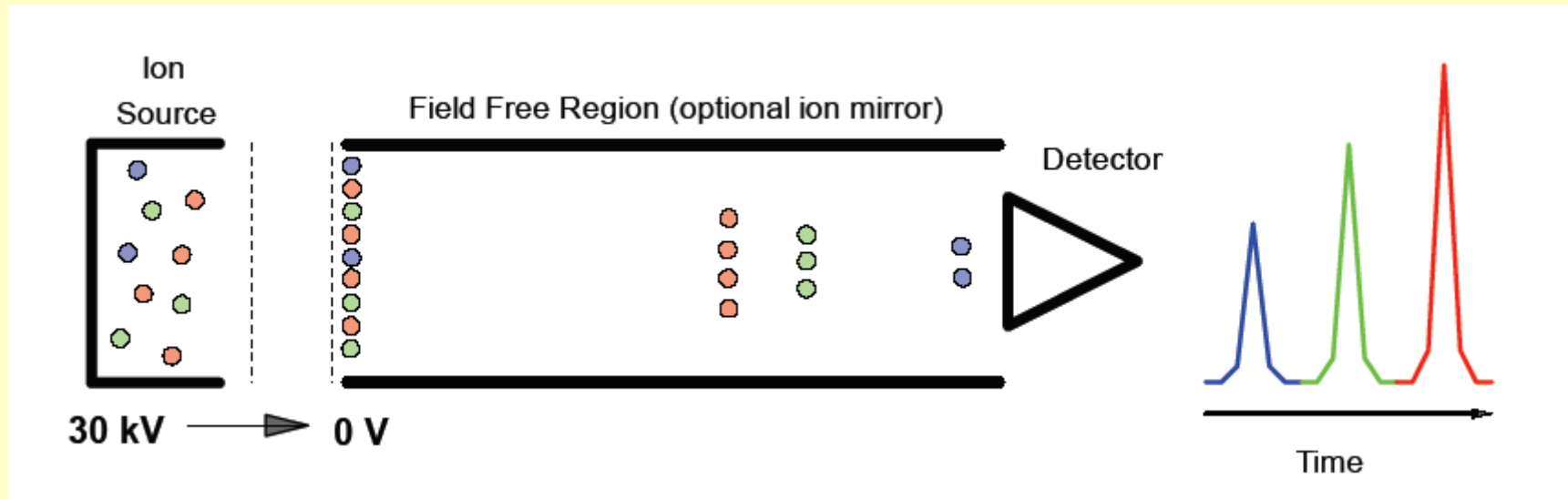


Trajectories of charged aluminum particles in an ion trap

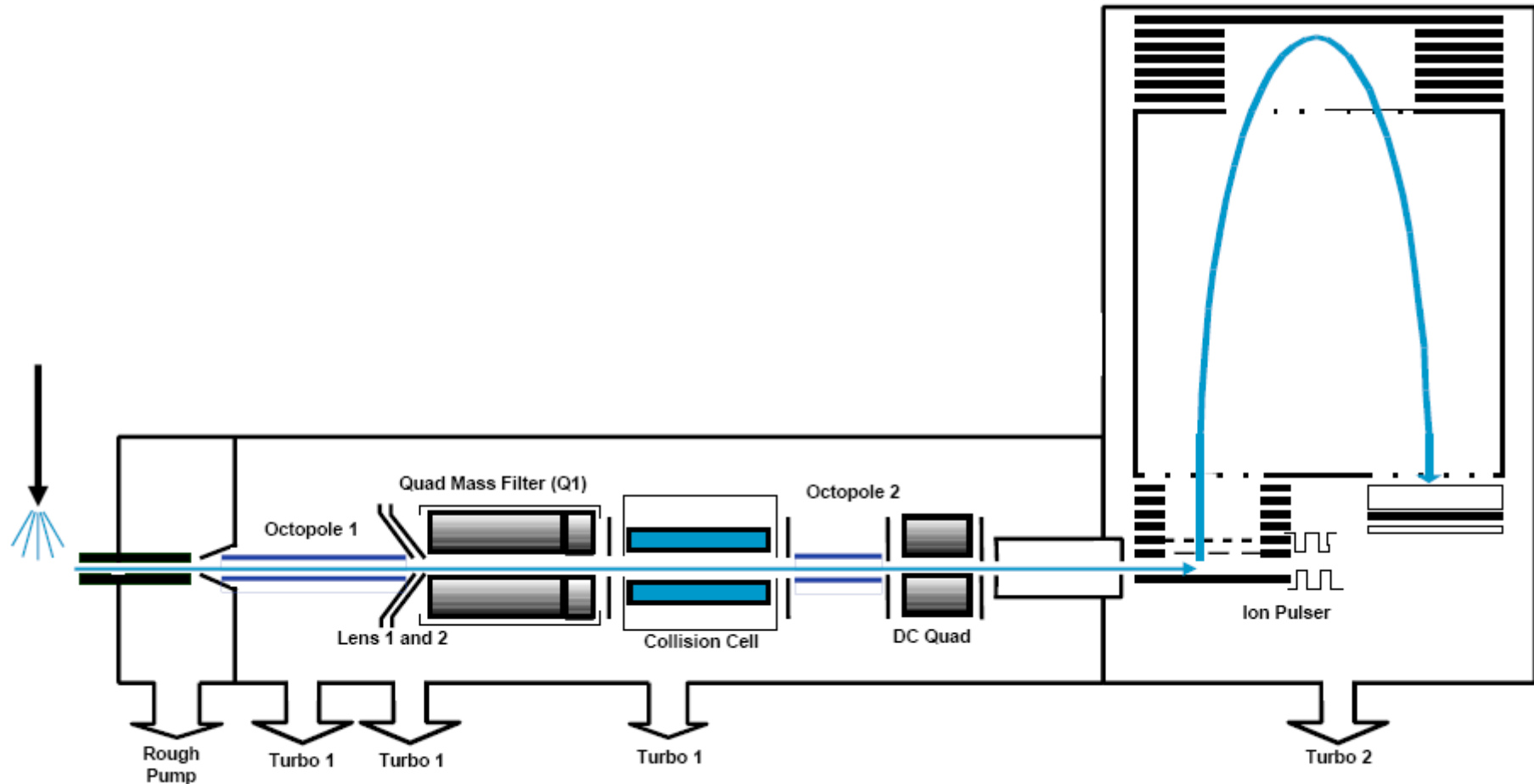
Flugzeit-Analysator (Time of Flight, TOF)

- ❑ Prinzip: Unterscheidung der Ionen durch **massenabhängige Flugzeit**
leichte Ionen fliegen schneller als schwere Ionen
- ❑ Die in der Ionenquelle erzeugten Ionen werden durch kurze Spannungsschübe beschleunigt (→ gepulster Ionenstrahl) und in einer **feldfreien Flugröhre** durch ihre massenabhängige Flugzeit unterschieden (im Bereich von Mikrosekunden)
- ❑ **Flugröhre** (0,5 – 2 m)
 - lineares Flugrohr
 - Reflektor-Flugrohr ("Ionenspiegel") → Verdopplung der Flugbahn,
- ❑ **Detektor**
Multikanalplatten-Detektor (multichannel plate oder microchannel plate) mit sehr schnellem A/D-Wandler (1 GHz)
alle erzeugten Ionen werden detektiert (kein Scan, kein SIM
→ **komplette Massenspektren**)
- ❑ **Kopplung mit GC**
2 Varianten: hs TOF high speed, low resolution
hr TOF high resolution

Flugzeitmassenanalysator - TOF



Orthogonales Flugzeitmassenanalysator



GC/MS-Aufnahmetechniken

- **MS als Universaldetektor: „Scan-Mode“**

- Cyclische Registrierung der Massenspektren
→ Total-Ionenstrom-Chromatogramm (TIC)
- EI Massenspektren → **Identifizierung**: Spektrenbibliotheken

- **Massenselektive Detektion (wählbar)**

- **Massenchromatogramm, Reconstructed Ion Chromatogram**

Darstellung von Ionenspuren aus abgespeicherten Massenspektren im Scan-Mode: Übersichtliche Präsentation der TIC-Daten (kein Empfindlichkeitsgewinn)
→ **Erkennung und Auswertung von überlagerten Peaks**

- **Selected Ion Monitoring (SIM-Mode)**

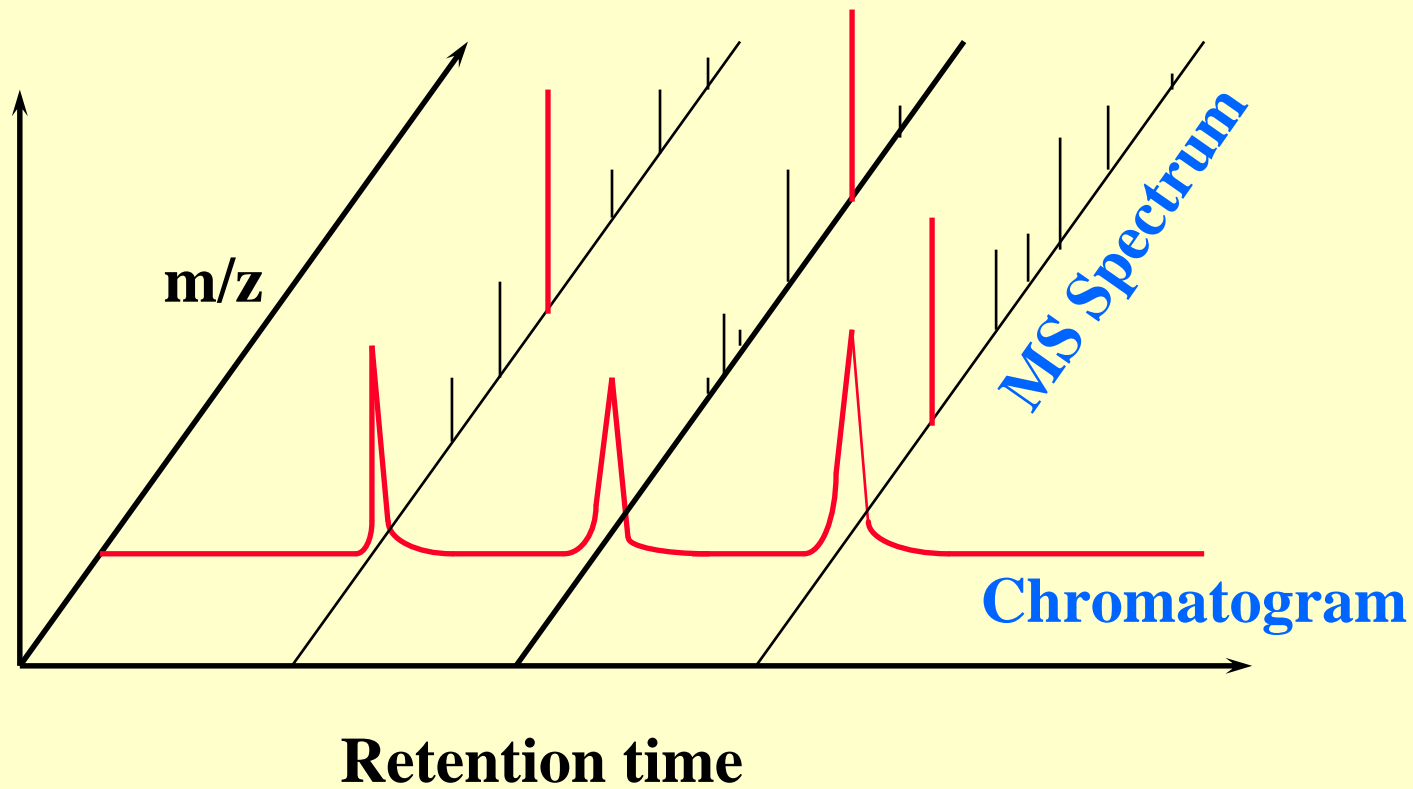
Selektive und empfindliche Registrierung von ausgewählten Massenzahlen
Keine kompletten Massenspektren
→ **Spurenanalyse**

GC–MS Aufnahmetechniken I

Scan-Modus: MS als Universaldetektor

- **Cyclischer Scan:** fortlaufender Durchlauf des ausgewählten Massenbereiches (z.B. 40-400) in sehr kurzer Zeit
→ 1-10 Massenspektren pro Sekunde, die abgespeichert werden
- Generierung des Chromatogramms durch Darstellung der aufsummierten Signalintensitäten gegen die Zeit
→ **Totalionenstrom-Chromatogramm (TIC)**
- Identifizierung der Substanzen durch Vergleich der gespeicherten Massenspektren mit **Spektrenbibliotheken**
→ Suchalgorithmen, Spektrendeconvolution
- **Massenfragmentographie (Reconstructed/Extracted Ion Chromatogram)**
Registrierung ausgewählter Ionenspuren aus den Scan-Daten
→ Erkennung und Auswertung koeluiender Verbindungen in komplexen Gemischen (massenselektive Detektion)

Total Ion Chromatography (TIC)



GC–MS Aufnahmetechniken II

MS als massenselektiver Detektor

Registrierung des Signals nur für *eine* oder *einige wenige* charakteristische Massenzahlen:

Im Chromatogramm werden nur Verbindungen registriert, deren Massenspektren die eingestellten m/z-Werte aufweisen.

→ Suche nach bestimmten Strukturen mit bekannten Massenspektren
(**target analysis**)

2 Varianten:

a) Massenfragmentographie, Extracted Ion Chromatogram

Darstellung aus den gespeicherten Scan-Daten

b) SIM-Modus (Selected Ion Monitoring, Multiple Ion Recording)

Registrierung nur der eingestellten m/z-Werte (bis zu 6 Ionen):

10- bis 100-fach höhere Signalintensität als bei TIC

☺ Verbesserte Empfindlichkeit und Selektivität

→ Spurenanalyse von Targetverbindungen

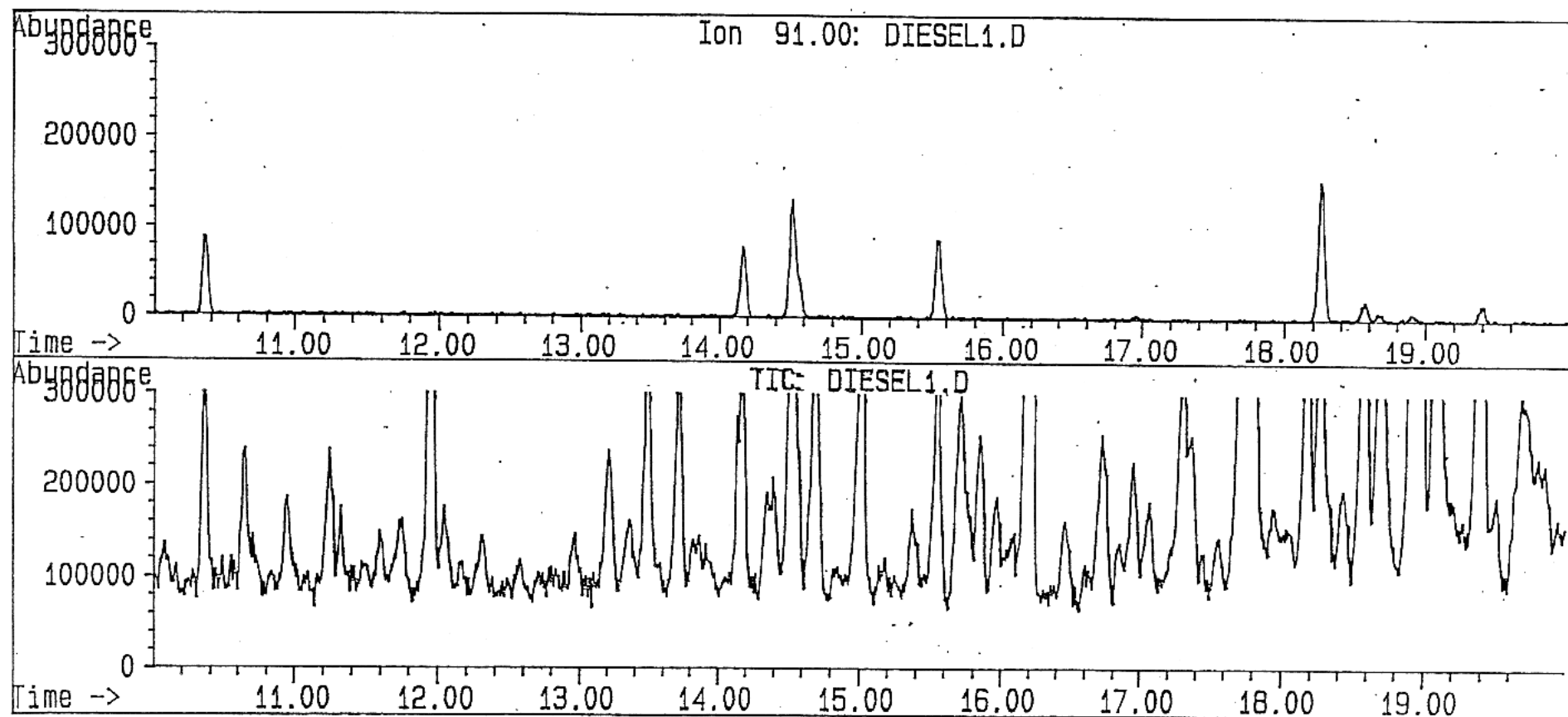
☹ Verlust an molekülspezifischer Information (keine kompletten Massenspektren)

→ zur Identifizierung werden 3 charakteristische Ionen pro Zielanalyt registriert

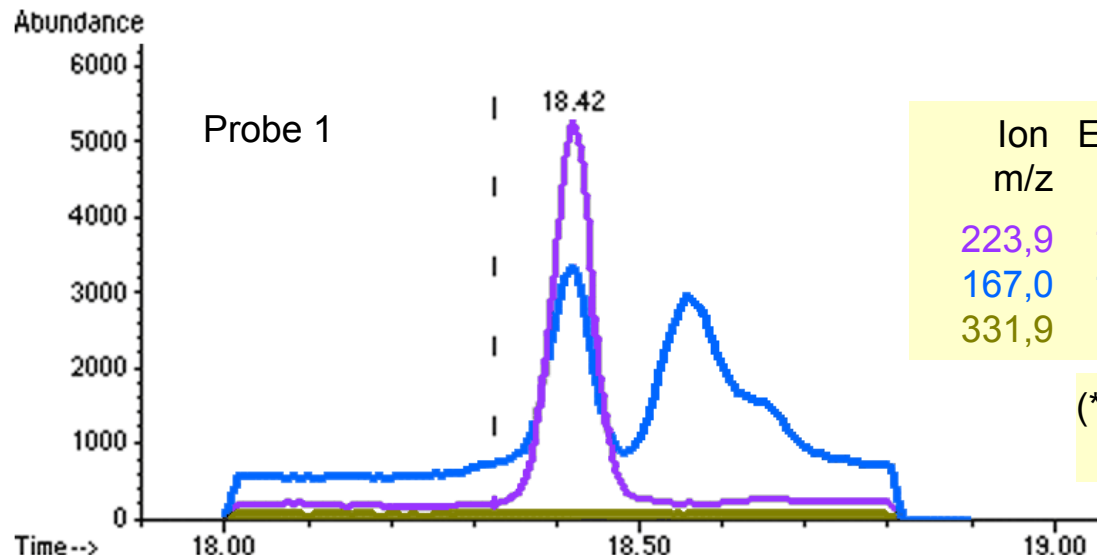
Total and Extracted Ion Chromatogram

Sample Name:
Misc Info:
ALS vial: 1

0.4 ul Diesel (schwefelarm)
DB-1, 60m×0.32mm ium, split 1:25, TP



GC/MS-SIM-Spurenanalyse von Dichlofluorid

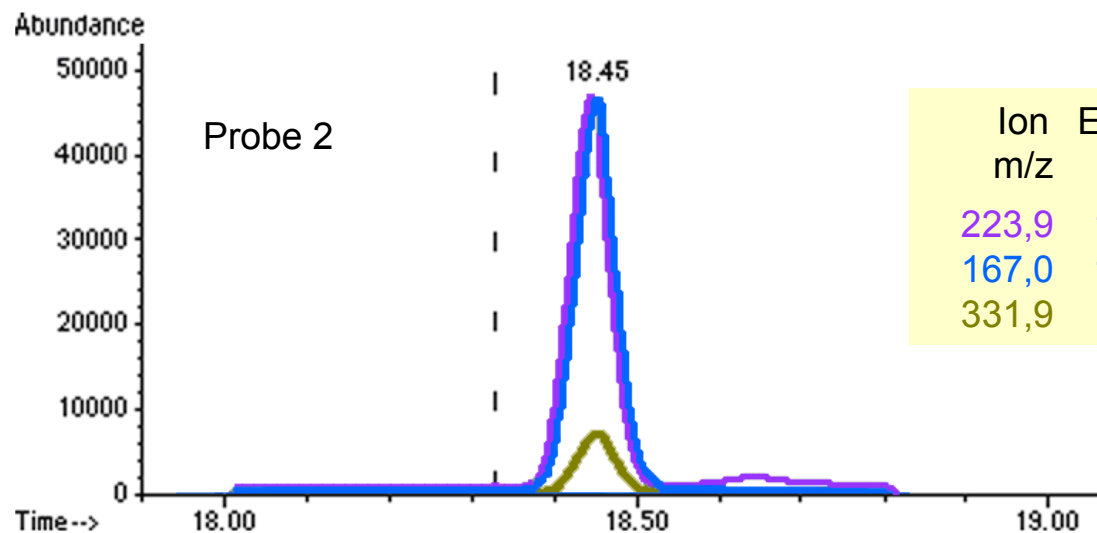


Ion m/z	Expected % (*)	Actual %
223,9	100,00	100,00
167,0	103,70	53,22
331,9	17,40	0,00

Quantifier Ion +
Qualifier Ion ?
Qualifier Ion -

(*) Kalibrier-
standard

→ **Substanz
nicht vorhanden**



Ion m/z	Expected % (*)	Actual %
223,9	100,00	100,00
167,0	103,70	98,27
331,9	17,40	14,59

Quantifier Ion +
Qualifier Ion +
Qualifier Ion +

→ **Substanz
vorhanden**

Identifizierung bei Selected Ion Monitoring (SIM)

- Im SIM werden keine kompletten Massenspektren registriert
→ Verlust an molekulspezifischer Information
- Zur **Identifizierung** werden **drei charakteristische Ionen** pro Zielanalyt registriert:
 - 1 Quantifier Ion (intensivster Peak)
 - 2 Qualifier Ions
- **Identität** gilt als gesichert, wenn
 - alle ausgewählten Ionen im vorgegeben **Retentionszeitfenster** vorhanden sind und
 - ihre **Flächenverhältnisse** denen des Kalibrierstandards entsprechen
→ **zulässige Toleranzen?**
- **EU-Regularien für Pestizid-Rückstandsanalytik**
(Identifizierungspunkte, Toleranzen)

Tandem-MS (MS/MS-Techniken)

□ Prinzip der MS/MS

Kombination von 2 Massenanalysatoren über eine Kollisionszelle

IQ - 1. Massenanalysator - Kollisionszelle - 2. Massenanalysator

Molekülionen (Gemisch)	Auswahl charakterist. „Vorläufer-Ionen“ (Precursor ions)	Stoßreaktionen mit Gasatomen (He, Ar, Xe, N ₂) (→ Fragmentierung)	Registrierung der gebildeten Produktionen
---------------------------	--	--	---

CID Collision Induced Dissociation

Eliminierung der Probenmatrix → höheres Signal-zu-Rausch-Verhältnis und verbesserte Selektivität; Strukturaufklärung, Quantifizierung von Targetverb.

□ Realisierung der MS/MS

- **Tandem-in-space** : Triple-Quadrupol-Massenspektrometer QqQ
Prozesse finden an unterschiedlichen Orten statt
- **Tandem-in-time** : Ionenfalle : Multistage-MS/MS (MSⁿ)
Ionencyclotronresonanz-Massenspektrometer (ICS)
Prozesse erfolgen sequentiell (in zeitlicher Abfolge) am gleichen Ort

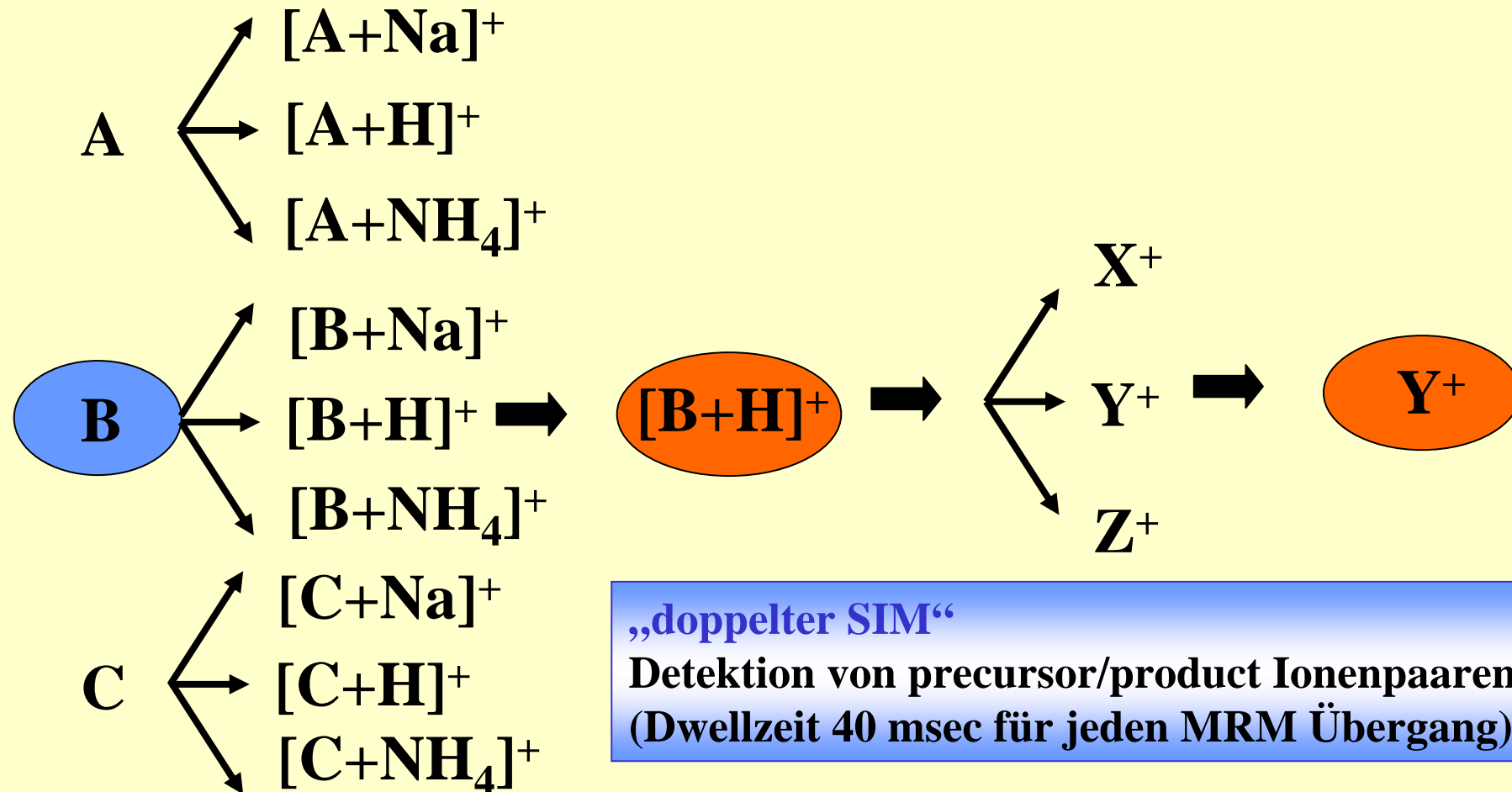
Tandem – MS II

□ MS/MS - Varianten

Modus	Q1	Q2	Q3	Anwendung/Problem
product ion scan	SIM	CID	Scan	Welche Fragmente bildet das ausgewählte Ion? Fragmentierung nach weicher Ionisation
precursor ion scan	Scan	CID	SIM	Aus welchem Vorläufer-Ion stammt das ausgewählte Ion?
neutral loss	Scan	CID	Scan	Werden bestimmte Neutralteilchen abgespalten ?
Multiple reaction monitoring (MRM) selected reaction monitoring (SRM)	SIM	CID	SIM	Einzelintensitäten von Produktspektren: Selektive und empfindliche Quantifizierung bei komplexen Matrices

Multiple Reaction Monitoring (MRM)

Analyten	Ionisation (ESI,APCI)	Q1 Precursor ion Auswahl	Q2 Collision cell (CID)	Q3 Fragment ion Analyse
----------	--------------------------	--------------------------------	-------------------------------	-------------------------------



Mückenplage, Botenstoffe und GC I



■ Problem:



Warum werden manche Menschen häufig von Mücken gestochen und andere gemieden?

→ Verhalten von Insekten wird durch Botenstoffe gesteuert

■ Botenstoffe (Signalstoffe, Semiochemicals):

- *Intraspezifische* B. → zwischen Individuen *einer* Art (Pheromone): Kommunikation
- *Interspezifische* B. → zwischen Individuen *verschiedener* Arten (Allomone, Kairomone)

Botenstoffe sind meist kleine Moleküle: flüchtig, lipophil (Geruchsstoffe)

Mückenplage, Botenstoffe und GC II



Welche flüchtigen Verbindungen werden von Menschen über die Haut freigesetzt?

→ Sammlung von „Körperessenz“ von Versuchspersonen mit unterschiedlicher Affinität zu Mücken



1. Versuchspersonen werden in Al- beschichteten Beuteln eingepackt und gereinigte Luft darüber geleitet, die anschließend über Adsorbentien geführt wird

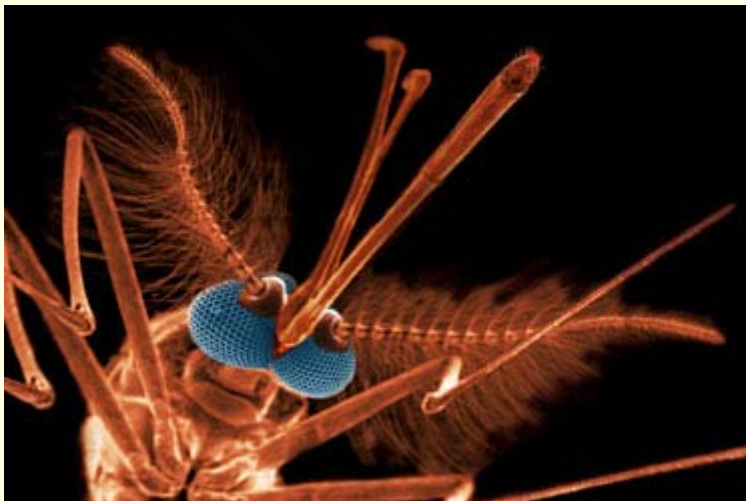
2. Extraktion der Adsorbentien mit hochreinen Lösungsmittel
→ Extrakte von „Körperessenz“

1. Analyse der Extrakte mit GC und GC/MS
Komplexe Gemische:
→ über 200 Verbindungen:
Produkte/Metabolite vom Fettstoffwechsel
auf bzw. dicht unter der Hautoberfläche

Mückenplage, Botenstoffe und GC III



- Welche Verbindungen der „Körperessenz“ wirken als Signalstoffe für Mücken?
 - Kombination der GC mit *elektrophysikalischen* Techniken:
GC mit Teilung des Gasstromes am Ausgang der Trennsäule und Paralleldetektion:
 - a) GC-Universaldetektor: FID oder MS → Substanzerkennung
 - b) „Antennographischer“ Detektor → biologische Wirkung



Verknüpfung der Antennen von Mücken mit Mikroelektroden
→ Wenn Geruchssensor der Mücke durch eine Substanz angeregt wird, entsteht ein elektrisches Signal

Mückenplage, Botenstoffe und GC IV



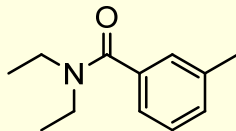
■ Resultat

- **Annahme:** Für Mücken *attraktive* Personen produzieren Stoffe, die Mücken *anlocken*
- **Ergebnis:** Für Mücken *unattraktive* Personen produzieren Stoffe, die eine *abstoßende Wirkung* ausüben (Interferenzen bei der Suche nach attraktiven Oberflächen)

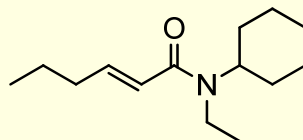
besonders wirksam: **6-Methyl-5-hepten-2-on**
Geranylaceton

→ Zugabe dieser Substanzen zur Haut unterdrückt Attraktivität für Mücken

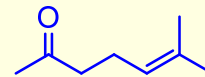
→ Potential als Mückenschutzmittel?



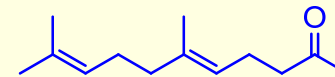
N,N-Diethyl-*m*-toluamid
(DEET)



(*E*)-*N*-Cyclohexyl-*N*-ethyl-2-hexenamid



6-Methyl-5-hepten-2-on



Geranylaceton