

Szerves Spektroszkópia Gyakorlatleírás

(Tárgykód: kv2n4o12)

TÖMEGSPEKTROMETRIA

Gyakorlatvezető: Schlosser Gitta

Helyszín: Eötvös Loránd Tudományegyetem, Szerves Kémiai Tanszék, 345. laboratórium

Ez a jegyzet kivonatossan tartalmazza a gyakorlaton elvégzendő feladatok leírását. A gyakorlat teljesítésének feltétele a tömegspektrometria elméletének, valamint a kiadott jegyzetnek az ismerete. A felkészüléshez ajánlom a Szerves Kémiai Praktikum Tömegspektrometria fejezetét (194-202. oldal, Szerkesztők: Orosz György - Szabó Dénes, ELTE Eötvös Kiadó, 2012).

Szemelvények a gyakorlat tárgyköréből:

1. A gyakorlat során használt tömegspektrométer működésének megismerése

A gyakorlaton a méréseket egy elektropray ionforrással felszerelt, ioncsapda típusú tömegspektrométeren végezzük (Bruker Esquire 3000+). A mintabevitel fecskendőpumpa segítségével történik. A gyakorlat során a hallgatók megismerhetik a tömegspektrométer főbb részeit, működési elvét, a kiegészítő berendezéseket valamint a vezérlő program működését.

2. Tipikus háttérionok ellenőrzése az elektropray ionizáció esetén

Az elektropray ionizáció során vizes oldatot használunk a minta ionizációjához. Az ESI tömegspektrometriás vizsgálatokhoz alkalmazott oldószerek leggyakoribb összetevői: desztillált víz, acetonitril, metanol, ecetsav vagy hangyasav. Az elektropray ionizáció során az ionok pozitív módban tipikusan protonálódás vagy adduktképződés (Na^+ , K^+), míg negatív módban deprotonálódás útján jönnek létre.

Egy elektropray ionizációs tömegspektrum tiszta oldószer esetén is tartalmaz jellegzetes ionokat, elsősorban az alacsony tömegtartományban. A „kémiai zaj” forrása igen sokrétű: az oldószer molekulái protonálódással vagy fémionokkal ionizálódhatnak, egymással klasztereket hozhatnak létre; a műanyagból készült laborszerek az alkalmazott oldószerben kioldódó komponenseikkel mikroszennyezést okoznak; korábban analizált minták jól ionizálódó komponensei esetenként nehezen távolíthatók el a mintabeviteli rendszerből és sokáig jelet adhatnak a spektrumban („keresztzennyezés”).

Feladat:

Oldószer készítése és a háttérionok ellenőrzése (spektrum felvétele) közvetlenül az oldószerből, valamint műanyag eppendorf csőbe történő pipettázás után. A legtipikusabb ionok asszignációja.

3. *Egyszerű szerves vegyületek és biomolekulák molekulatömegének meghatározása*

A gyakorlat során változatos szerkezetű poláris szerves vegyületeket és peptideket analizálunk. A mérések során a következő kérdésköröket tárgyaljuk: az optimális mérési körülmények beállítása; a vegyületek ionizálhatósága pozitív és negatív módban; a keletkező ionok típusa és töltésállapota.

Feladat:

Oldat készítése a vizsgálandó mintákból a gyakorlatvezető instrukciója szerint. Spektrum felvétele pozitív és/vagy negatív ionizációs módban, a spektrumok értékelése.

Szabadon választható feladat:

Hozott minta komponenseinek meghatározása a gyakorlatvezetővel való egyeztetés után (pl. édesítőszer, üdítőital-, energiatartalékok, gyógyszerhatóanyagok).

4. *Fehérjék molekulatömegének meghatározása*

A gyakorlat során egy fehérjét analizálunk pozitív ionizációs módban. Elektrospray ionizáció során a fehérjék többszörös töltéssel rendelkező ionsorozatot hoznak létre. A mérések során meghatározzuk a keletkező ionok töltésállapotát, valamint a fehérjék elméletileg várható és kísérletileg meghatározott molekulatömegét.

Feladat:

Oldat készítése a vizsgálandó mintából a gyakorlatvezető instrukciója szerint. Spektrum felvétele pozitív ionizációs módban, a spektrumok értékelése.

Szabadon választható feladat:

Hemoglobin analízise vérből: az alfa és a béta alegység molekulatömeg-meghatározása.

5. *Peptidek szekvenálása tandem tömegspektrometriával (MS/MS)*

A gyakorlat során MS/MS felvételt készítünk peptidekről. A mérések célja a különböző töltésállapotú ionok fragmentációs tulajdonságainak vizsgálata, valamint a keletkező fragmensek azonosítása az elméletileg lehetséges fragmensek tömegével történő összevetés alapján.

Feladat:

MS/MS spektrum felvétele néhány nagyobb intenzitású ionról, a spektrumok értékelése.

A gyakorlaton való részvétel feltételei:

- a gyakorlaton elvégzendő feladatok ismerete (a kiadott tananyag alapján)
- a tömegspektrometria elméletének ismerete
- laboratóriumi munkához megfelelő öltözet
- pontos megjelenés

Útmutató a jegyzőkönyv elkészítéséhez:

- Készítsen rövid szöveges leírást az elvégzett feladat(ok) céljáról és eredményéről.
- Receptszerűen ismertesse az elvégzett munkafolyamatot, ismertesse a tömegspektrometriás mérés körülményeit (mérési paraméterek).
- Értékelje ki a kapott tömegspektrumokat (asszignálja a legfontosabb csúcsokat).

A jegyzőkönyv leadására 2 hét áll rendelkezésre.

Budapest, 2014. február 11.

Dr. Schlosser Gitta
tudományos munkatárs
MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport