

## MS-Datenanalyse in Chromeleon™

Effizient und automatisiert mittels NIST Datenbanken



## Einleitung

In der modernen instrumentellen Analytik fallen täglich enorme Datenmengen an. Für Laboranwender in der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) ist die schnelle und präzise Identifikation unbekannter oder erwarteter Komponenten ein kritischer Prozessschritt.

Die Massenspektrenbibliotheken des National Institute of Standards and Technology (NIST) gelten weltweit als Goldstandard für die Identifizierung von Verbindungen. In Kombination mit dem Chromatographie-Datensystem (CDS) Chromeleon™ von Thermo Fisher lässt sich dieser Prozess stark vereinfachen und automatisieren.

Dieses Whitepaper beschreibt praxisnah den Workflow von der manuellen Spektrenübertragung und dem Aufbau einer eigenen NIST-Datenbank bis hin zur vollautomatischen Komponentenidentifikation in Chromeleon™. Ziel ist es, einen strukturierten Leitfaden zu erstellen, um Routineanalysen effizient und fehlerfrei zu gestalten.

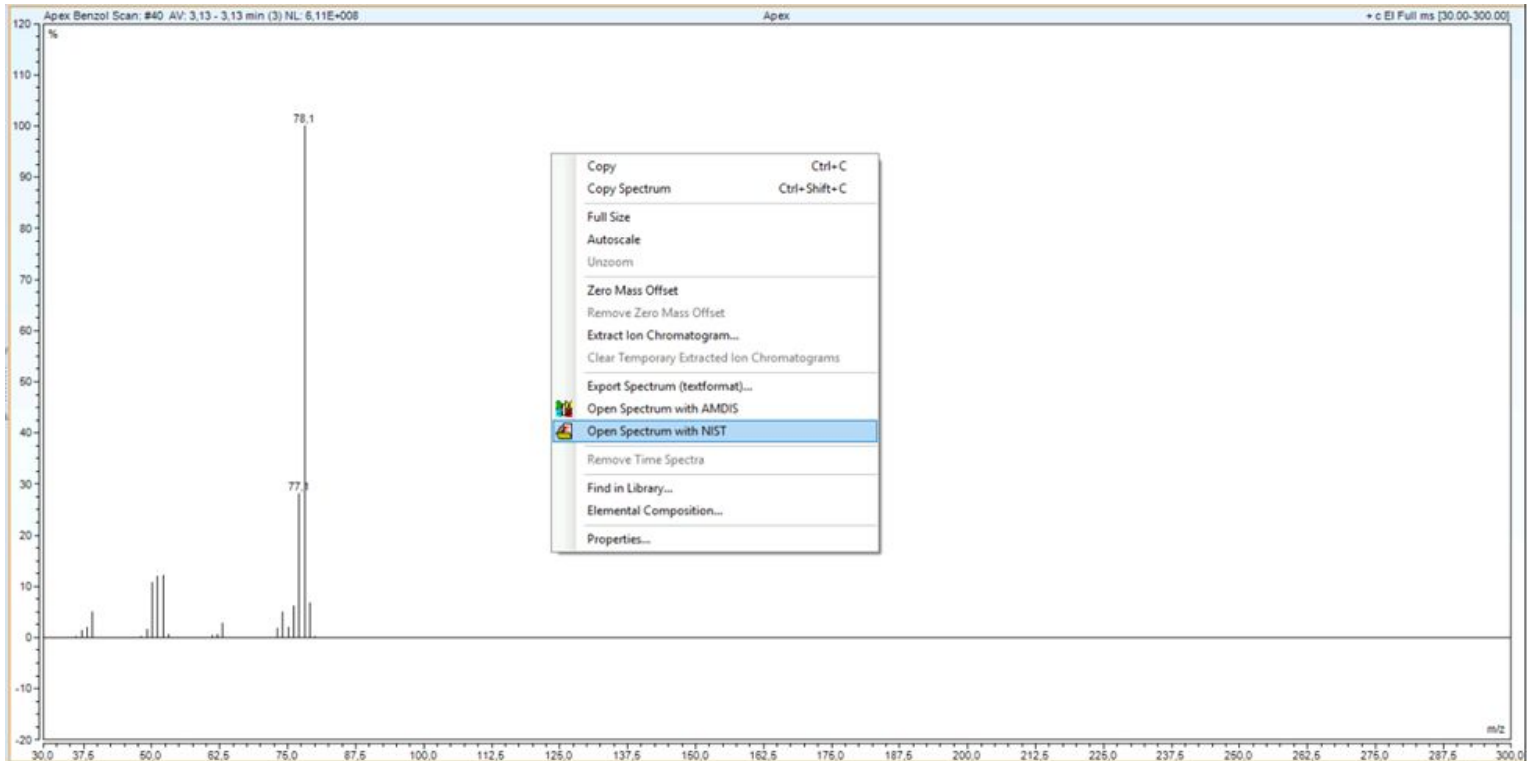
## Erstellen einer eigenen NIST-Datenbank

Oftmals reicht die Standard-NIST-Bibliothek nicht aus, da firmenspezifische Verbindungen, spezifische Derivate oder Matrixeffekte eigene Referenzspektren erfordern. Der Aufbau einer *User Library* ist daher ein essenzieller Schritt für die Qualitätskontrolle.

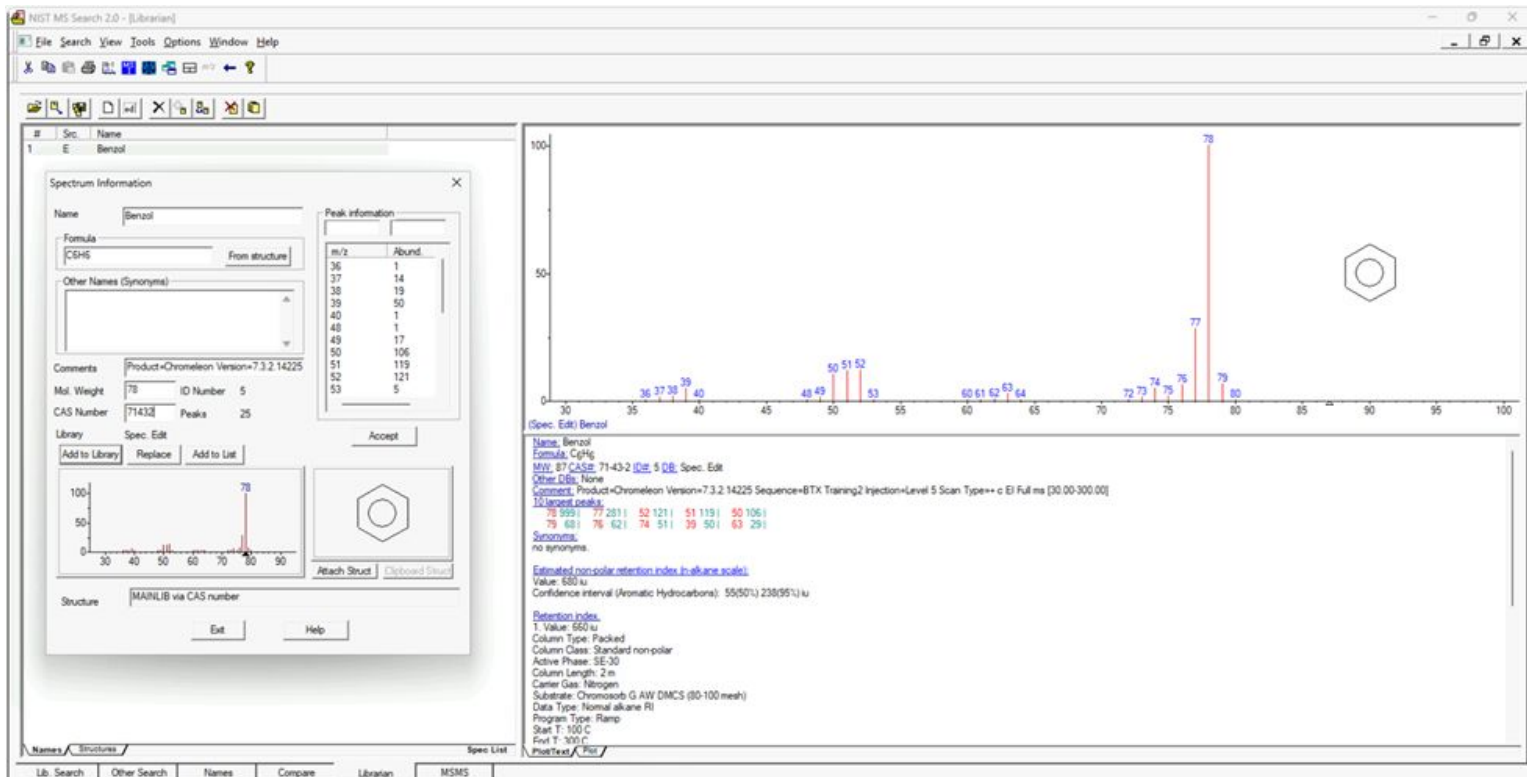
Der Export eines Spektrums aus Chromeleon™ in die NIST-Software ist nahtlos integriert.

1. Spektrum extrahieren. Navigieren Sie in Chromeleon™ zum Chromatogramm und wählen Sie den Peak Ihrer Zielsubstanz (z. B. Benzol).
2. Transfer zu NIST. Führen Sie im Spektren-Fenster einen Rechtsklick aus. Wie in Abbildung 1 zu sehen, öffnet sich ein Kontextmenü. Wählen Sie hier die Option *Open Spectrum with NIST*. Das Spektrum wird nun direkt an das externe NIST MS Search Programm übergeben.
3. Wechsel in den *Librarian*. Öffnen Sie in der NIST-Software den Tab *Librarian* (siehe Abbildung 2). Dieser Bereich ist exklusiv für die Verwaltung von Datenbankeinträgen vorgesehen.
4. Metadaten pflegen: Im Fenster *Spectrum Information* definieren Sie die Eigenschaften der Komponente.
  - a. Tragen Sie unter *Name* die Bezeichnung ein (z. B. „Benzol“).
  - b. Ergänzen Sie die chemische Formel (*Formula*: C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>), die Molekülmasse (*Mol. Weight*: 78) und die eindeutige *CAS Number* (z. B. 71-43-2).
  - c. Optional kann eine chemische Strukturformel verknüpft werden (*Attach Struct.*).
5. Zur Datenbank hinzufügen: Klicken Sie abschließend auf den Button *Add to Library*. Wählen Sie im darauf folgenden (in Abbildung 2 nicht sichtbaren) Dialog Ihre spezifische User-Library aus, um den Eintrag dauerhaft zu speichern.





**Abbildung 1: Öffnen des Spektrums in der NIST Datenbank.** Durch einen Rechtsklick im Spektrum öffnet sich das Kontextmenü. Der Menüpunkt *Open Spectrum with NIST* ist klickbar. Durch einen Klick auf diesen Menüpunkt wird das ausgewählte Spektrum an das externe NIST Suchprogramm gesendet.



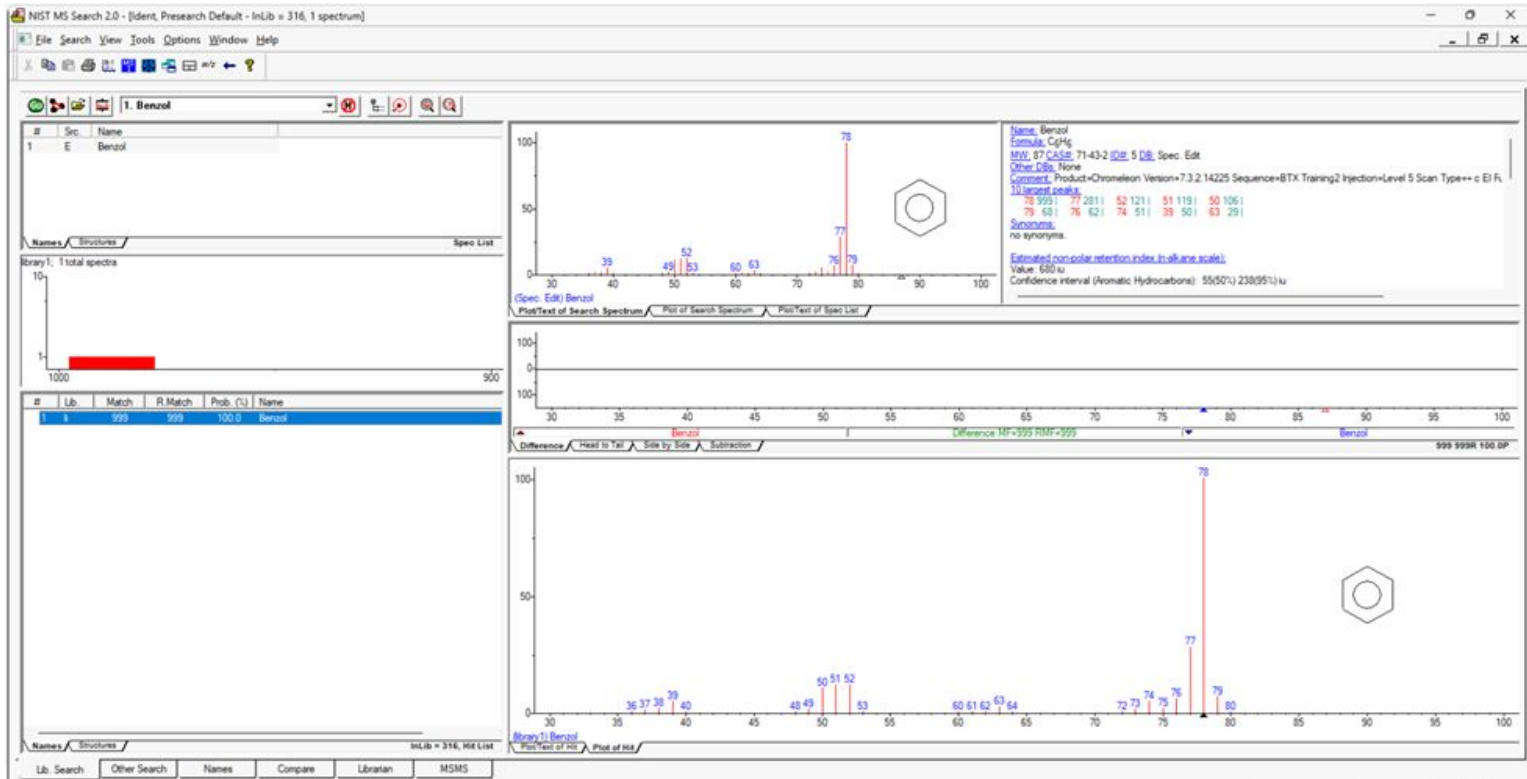
**Abbildung 2: Der Librarian Tab erlaubt es Spektrum-spezifische Metadaten zu hinterlegen.** Das Hinzufügen von Spektrum-spezifischen Metadaten (Name, chemische Formulierung, etc.) erfolgt im *Librarian* Tab der NIST Software. Das geöffnete Spektrum samt Metadaten zur Spektral-Bibliothek hinzugefügt werden.

## Durchführung einer NIST-Datenbankabfrage

Neben dem Aufbau eigener Bibliotheken ist die Suche (*Library Search*) die häufigste Anwendung. Sie dient dazu, gemessene Spektren mit Referenzdaten abzugleichen. Die Konfiguration der zu durchsuchenden Bibliotheken erfolgt in den **Library Search Options** im Reiter *Libraries*. Hier können eine oder mehrere Bibliotheken (User- oder Standardbibliotheken) für den Suchlauf aktiviert werden.

- **Suchlauf starten:** Sobald ein Spektrum an NIST übergeben wurde, kann im Tab *Lib. Search* oder *Ident* der Abgleich gestartet werden.
- **Ergebnisse interpretieren:** Die Software vergleicht das Fragmentierungsmuster. In Abbildung 3 ist die Identifizierung gegen die zuvor erstellte Benutzerbibliothek aktiv, was einen perfekten Treffer für Benzol liefert.
- **Match (SI) und R.Match (RSI):** Die Qualität der Identifizierung wird durch Match-Faktoren bewertet. Diese können Werte zwischen 1 und 999 annehmen, wobei 999 für eine absolute, perfekte Übereinstimmung steht:
  - **Match (SI):** Der *Forward Match*-Faktor gibt an, wie gut das gemessene Spektrum mit dem Bibliotheksspektrum übereinstimmt.
  - **R.Match (RSI):** Der *Reverse Match* ignoriert zusätzliche Peaks in der Probe (z. B. durch Hintergrundrauschen) und prüft nur, ob die Bibliotheks-Peaks in der Probe vorhanden sind.
- **Trefferliste und Balkendiagramm (linke Seite):** Wie auf der linken Seite zu sehen, listet das System alle potenziellen Kandidaten tabellarisch in einer **Hit List** absteigend nach ihrem Match-Faktor auf. Direkt darüber befindet sich ein Balkendiagramm. Dieses visualisiert die Anzahl der gefundenen Komponenten in Funktion zu den Match-Faktoren. Es gibt Anwendern auf einen Blick Auskunft über die statistische Verteilung der Suchergebnisse, wobei der rote Balken den aktuell ausgewählten Treffer markiert.
- **Massenspektrum vs. Referenzspektrum:** Neben den reinen Zahlenwerten bietet die Ansicht auch den grafischen Vergleich Massenspektrum vs. Referenzspektrum. Oben wird das gemessene Suchspektrum der Probe dargestellt, unten das Referenzspektrum aus der Datenbank. Ein Plot in der Mitte (z. B. Head-to-Tail oder Differenz) macht abweichende Fragmente visuell sofort erkennbar und ist für die manuelle Validierung unerlässlich.
- **Komplexere Spektren:** In Abbildung 4 ist das Suchergebnis für Heptan dargestellt, wobei hier eine Standardbibliothek als Referenz genutzt wird. Da die Fragmentierung in der GC-MS hochgradig standardisiert ist, liefern Standardbibliotheken hier höchst verlässliche Ergebnisse. Das klassische Fragmentierungsmuster längerer Kohlenwasserstoffe mit einem Match-Faktor von 912 (und R.Match 914) bestätigt die Identität der Substanz zweifelsfrei.





**Abbildung 3: Der Abgleich eines Spektrums mit der Datenbank ergibt ein perfektes Match.** Eine zuvor erstellte, individuelle Datenbank kann zur Identifizierung genutzt werden. In dem hier vorliegenden Fall wurde ein perfektes Match der Spektren für Benzol gefunden.

## Hintergrund: Warum NIST nur für die GC-MS geeignet ist

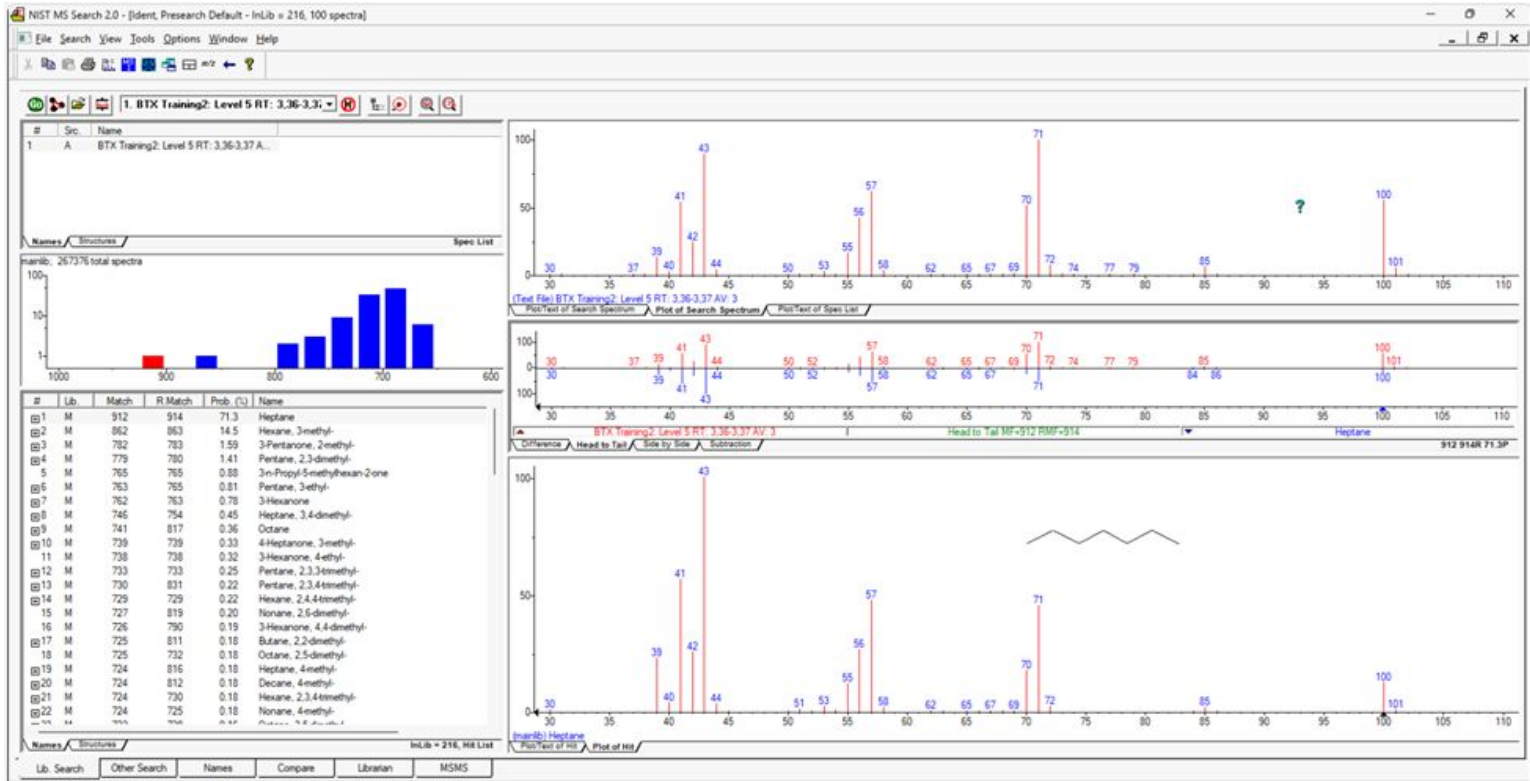
Ein häufiges Missverständnis im Laboralltag ist die Annahme, dass Massenspektrenbibliotheken, wie beispielsweise die klassische NIST-Datenbank, universell einsetzbar sind. Dies ist nicht der Fall. Die klassische NIST-Bibliothek ist primär auf die GC-MS ausgelegt.

**Die Vorteile der GC-MS:** In der GC-MS werden Moleküle im Hochvakuum mit Elektronen einer standardisierten Energie (meist 70 Elektronenvolt, eV) beschossen. Diese harte Ionisationsmethode zerschlägt die Moleküle in reproduzierbare, strukturspezifische Fragmente. Ein Benzol- oder Heptan-Molekül zerfällt bei 70 eV EI in Tokio exakt genauso wie in München. Diese universelle Reproduzierbarkeit ist die Grundvoraussetzung für eine global nutzbare Datenbank.

**Warum LC-MS nicht kompatibel ist:** In der Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) werden meist "weiche" Ionisationstechniken wie die Elektrospray-Ionisation (ESI) verwendet.

- ESI erzeugt oft nur das intakte Pseudomolekül-Ion (z. B.  $[M+H]^+$ ) ohne charakteristische Fragmentierung.
- Das Ionisationsverhalten hängt von den Methodenparametern ab: Lösungsmittel, pH-Wert, Gerätedesign und Matrixkomponenten beeinflussen das Spektrum maßgeblich.





**Abbildung 4: Der Abgleich mit Standard-Bibliotheken liefert zuverlässige und standardisierte Ergebnisse.** Die standardisierte Fragmentierung in der GC-MS ermöglicht es, mittels Standardbibliotheken hohe Matchfaktoren zu erreichen und Substanzen zweifelsfrei zu identifizieren.



**Abbildung 5: NIST Datenbank lassen sich in Chromeleon™ importiert werden.** In der *Processing Method* in Chromeleon™ lassen sich Bibliotheken aus der NIST-Software einfach mittels Rechtsklick importieren.



## Automatische Komponentenidentifikation in Chromeleon™

Für Routineanalytik (*Targeted Analysis*) ist das manuelle Überprüfen einzelner Peaks in der NIST-Software zu ineffizient. Chromeleon™ bietet die Möglichkeit, Bibliotheksdaten zu importieren und Chromatogramme vollautomatisch auszuwerten.

1. **Komponententabelle vorbereiten:** Wechseln Sie in der Processing Method von Chromeleon in den Reiter *MS Component Table*.
2. **Daten importieren:** Mit einem Rechtsklick in die Tabelle (siehe Abbildung 5) wählen Sie die Funktion *Import Compound Data*.
3. **Bibliothek auswählen und importieren:** Es öffnet sich der in Abbildung 6 gezeigte Dialog.
  - a. Unter *NIST Library Path* geben Sie den Pfad zu Ihrer gewünschten Bibliothek (z. B. der *mainlib* oder Ihrer zuvor erstellten User Library) an.
  - b. Das System listet alle verfügbaren Verbindungen auf. Sie sehen direkt wichtige Parameter wie den Match-Faktor (SI, RSI), die Formel und die CAS-Nummer.
  - c. Markieren Sie die gewünschten Zielkomponenten (z. B. Heptan, Toluol, Xylol) mit einem Haken.
  - d. Wenn Sie eine Komponente (wie Benzene in Abbildung 6) aufklappen, sehen Sie, dass Chromeleon™ automatisch das Referenz-Ion [JH1] sowie Extraktionsfenster übernimmt.
4. **Automatisches Screening:** Nach dem Klick auf *Import* sind die Komponenten in der Methode hinterlegt. Chromeleon™ sucht bei jeder folgenden Messung an der definierten Retentionszeit nach den importierten Massen und vergleicht das gemessene Spektrum im Hintergrund mit der Bibliothek.

**Vorteile und Fehlerquellen:** Der größte Vorteil ist die massive Zeitersparnis: Peaks werden automatisch benannt und quantifiziert. Nur noch Ergebnisse, die unterhalb eines definierten Match-Faktors liegen, müssen überprüft werden. Eine typische Fehlerquelle ist jedoch die Co-Elution (überlappende Peaks). Wenn eine Matrixkomponente zeitgleich mit der Zielsubstanz eluiert, verzerrt sich das Massenspektrum. In solchen Fällen sinkt der Match-Faktor (SI), was vom System als Fehler markiert wird, obwohl die Zielsubstanz vorhanden ist. Hier ist ein manueller Eingriff dringend erforderlich.



Compound Data Import

Data Source

NIST Library Path: C:\Program Files (x86)\NISTMS\MSESEARCH\mainlib

Drag a column header here to group by that column.

| Name   | SI   | RSI          | Experiment Type | MS Instrument Type   | Category | Ionization | Chemical Formula | CAS       | Comment  | Charge | Ret. Index |
|--|------|--------------|-----------------|----------------------|----------|------------|------------------|-----------|----------|--------|------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Benzene                                      | 890  | 954          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C6H6             | 71-43-2   | imported |        |            |
| 1 Quan Peak  |      |              |                 |                      |          |            |                  |           |          |        |            |
| Mass or Mass Range   | RT   | Window (sec) | Polarity        | Source Fragmentation |          |            |                  |           |          |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> 78.00  | 3.11 | 6.40         | +               |                      |          |            |                  |           |          |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> Heptane                                      | 822  | 897          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C7H16            | 142-82-5  | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> Cyclohexane, methyl-                         | 833  | 880          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C7H14            | 108-87-2  | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> Toluene                                      | 800  | 886          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C7H8             | 108-88-3  | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> Hexane, 2,4-dimethyl-                        | 743  | 804          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C8H18            | 589-43-5  | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> Benzene, chloro-                             | 748  | 823          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C6H5Cl           | 108-90-7  | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> o-Xylene                                     | 951  | 957          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C8H10            | 95-47-6   | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> p-Xylene                                     | 839  | 875          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C8H10            | 106-42-3  | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> o-Xylene                                     | 899  | 918          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C8H10            | 95-47-6   | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene | 913  | 920          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C10H16           | 7785-70-8 | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> Mesitylene                                   | 770  | 884          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C9H12            | 108-67-8  | imported |        |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> Decane                                       | 793  | 940          | XIC             | Irrelevant           |          | EI         | C10H22           | 124-18-5  | imported |        |            |

Select All Unselect All Expand All Collapse All

17 out of 17 compound(s) selected (34 confirming ions)

Import Cancel

**Abbildung 6: Die NIST Datenbank wird automatisch durchsucht und mit der aktuellen Messung verglichen.** Nach dem Import der NIST Datenbank durchsucht Chromeleon™ diese automatisch. Bei jeder Messung wird an der definierten Retentionszeit die Datenbank abgeglichen und Ergebnisse dargestellt.

## Fazit

Die Kombination aus Thermo Fisher Chromeleon™ und den NIST-Massenspektrenbibliotheken bietet ein leistungsstarkes Werkzeug-Set für das GC-MS-Labor.

Durch die Möglichkeit, spezifische Komponenten schnell über den *Librarian* in eigene Datenbanken zu überführen, können Labore wertvolles firmeninternes Wissen digitalisieren. Der eigentliche Produktivitätsgewinn liegt jedoch in der Automatisierung: Der Import von Compound-Daten direkt in die MS-Komponententabelle von Chromeleon™ ermöglicht ein schnelles, reproduzierbares und verlässliches Screening großer Probenserien.

