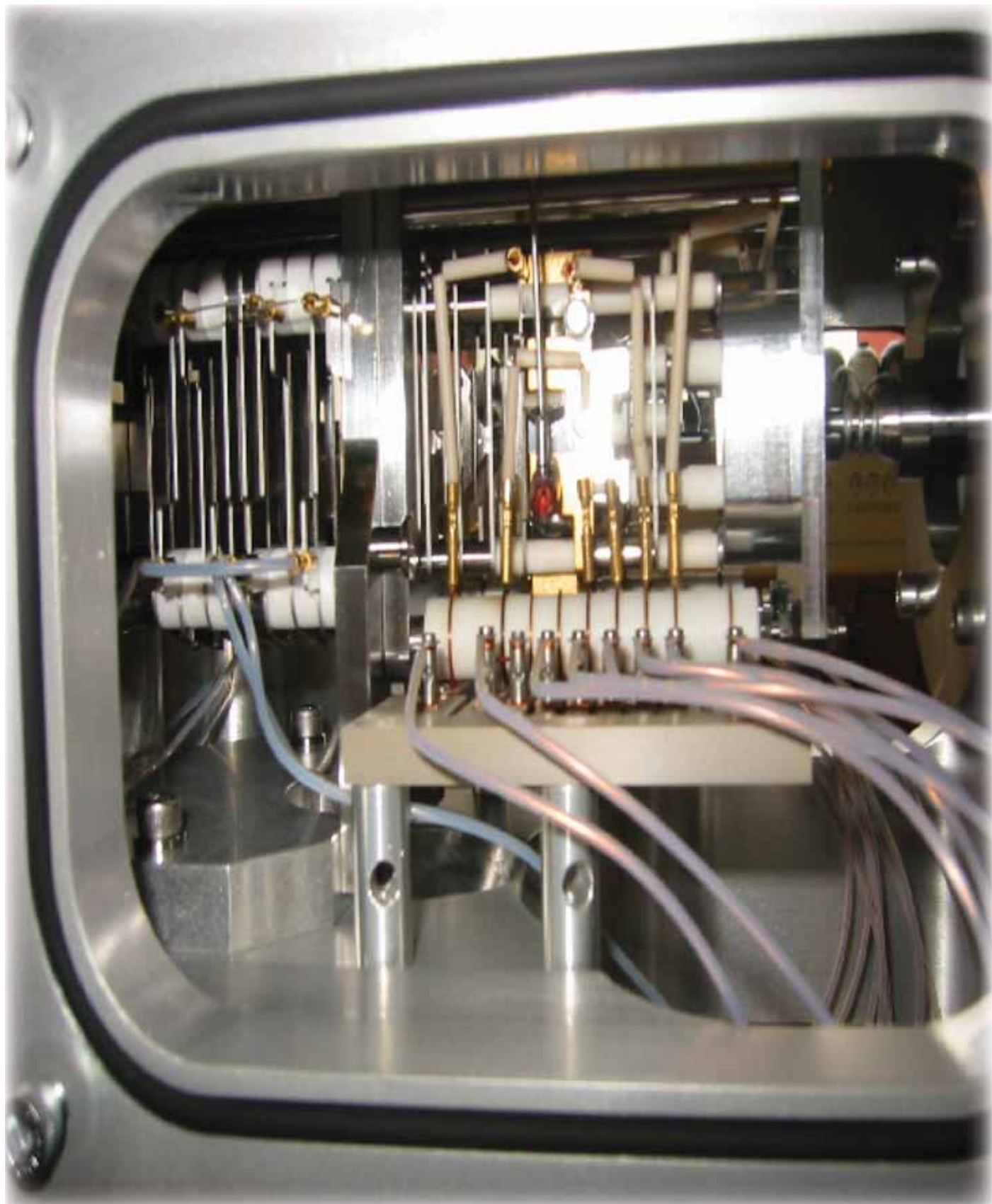


Nyhetsbrev for medlemmer av NSMS
Nr 1, 2006, 3. årgang



Innholds- fortegnelse

<i>Lederen har ordet.....</i>	<i>3</i>
<i>Organisasjonen NSMS.....</i>	<i>3</i>
<i>Bokanmeldelse: Grensesprengende kjemi..</i>	<i>4</i>
<i>Helsestrategi 2005-2010 med satsing på Mat og Helse ved UMB.....</i>	<i>5</i>
<i>Analyse av ku- og geitemelk.....</i>	<i>6</i>
<i>Matnyttig forskning fra campus Ås</i>	<i>7</i>
<i>Hydro Aluminium i Årdal.....</i>	<i>7</i>
<i>Massespektrometri av bakterier, del I: karbohydrater, lipider og nukleinsyrer..</i>	<i>8</i>
<i>Massespektrometri ved Matforsk.....</i>	<i>13</i>
<i>Komplett LC/MSD laboratorium.....</i>	<i>15</i>
<i>Møter, konferanser, messer og seminarer.....</i>	<i>16</i>



Ord og uttrykk innen MS

MALDI: Matriseassistert laserdesorpsjon
ionisasjon

B: betegnelse brukt for et massefilter av typen
magnet

E: betegnelse brukt for et massefilter av typen ele-
ktrostatisk

Q: betegnelse brukt for et massefilter av typen
kvadrupol

Q: betegnelse brukt for en kollisjonsselle av typen
kvadrupol (kun RF)

TOF: time of flight, eller flyvetid.

Reflectron-TOF: time of flight, eller flyvetid, med
en elektrostatisk reflektor

ICR: ionsyklotron resonans

FT: Fourier transform

V: akselerasjonsspenning

AP(C)I - Atmosfæretrykk (kjemisk) ionisering

EI - Elektronbombardement (electron impact)

CI - Kjemisk ionisering

DCI - Desorpsjon kjemisk ionisering

ESI - Electrospray

FD - Felt desorpsjon

FI - Felt ionisering

PSP - Plasmaspray

(L)SIMS - (Liquid) secondary ion MS

TSP - Thermospray

Massenytt

Ansvarlig redaktør

Dag Ekeberg, tlf. 64 96 58 74

e-post: Dag.Ekeberg@umb.no

Redaksjonsmedarbeider

Hanne Devle, tlf. 64 96 58 12

e-post: Hanne.Devle@umb.no

Trykkeri

Zoom Grafisk AS, Drammen

Tlf: 32 26 64 50

ISSN 1504-2359

Lederen har ordet

Dag Ekeberg, UMB

Jeg sitter en søndags formiddag og søker på nettet etter mulig nye medlemmer av NSMS. Jeg tar for meg både det private og offentlige samt de som jobber innen undervisning og forskjellige bedrifter. Det som først slår meg er at det faktisk er relativt mange "enheter" i Norge som på en eller annen måte har en aktivitet innen kjemi, men også innen MS. Det som dernest slår meg er utdanningstilbudet av kjemikere i Norge, dette virker å være noe lavt med hensyn til relativt store antall firmaer, institutter og lignende som driver med kjemirelaterte aktiviteter. Vi har en rekke høyskoler i Norge som tilbyr realfagsutdanning men få som har kjemi på menyen. Av våre seks universiteter er det vel bare ett universitet som ikke tilbyr en ren master eller bachelor i kjemi. Dette burde det muligens gjøres noe med? Vi prater alle om å forbedre realfagsutdanningen i Norge, fra barneskolen og oppover ønsker vi jo alle at det blir en vesentlig større andel av personer som velger realfag som matte, fysikk og kjemi. Vi kan sikkert begynne der vi selv jobber. Det er sikkert mye som kan gjøres uten at det trenger koste all verden ved at hver og en av oss ser på hva vi selv holder på med. Personlig trur jeg at mye kan gjøres med å få fram en positiv holdning, god og informativ informasjon samt bare det å få kjemi/realfag på menyen i mange fora vil være med på å gjøre kjemifaget mer interessant. Men det er selvsagt enklest å få til dette på papiret enn gjøre det i praksis. For noen få år siden hadde prof. Leiv Sydnes ved Universitetet i Bergen en liten serie på TV om kjemiens finurlige sider. Hva om noen av dere gjorde det samme, eller noe liknende? Har vi noen der ute som kan gjøre det samme? Selvsagt har vi det, det er helt sikkert mange som vil kunne bidra i slike fora og liknende. Mange av dere jobber med ting som helt sikkert vil være av interesse for den gemene hop, for eksempel de av dere som jobber innen miljøanalyser.

For de av oss som arbeider innen universitetssektoren i Norge skal vi selvsagt ha en fastsatt prosentandel med undervisning, og vi baserer en god del av vår forskning på hva våre studenter gjør. Er det ikke da et lite paradoks at denne delen av jobben våres i praksis ikke er mer meriterende enn det den er?



Norwegian Society for
Mass Spectrometry

Organisasjonen NSMS

Norsk Selskap for Massespektrometri (NSMS) er en nasjonal forening som ønsker å ivareta faget massespektrometri. Vi er en frittstående forening som ikke har underavdelinger. Norsk selskap for massespektrometri er tilknyttet det internasjonale MS-miljøet ved at vi er medlem av "International Mass Spectrometry Society" og vi har en valgt representant i "International Scientific Committee (ISC)".

Vi avholder nasjonale seminarer i massespektrometri hvert annet år. Disse blir avholdt på steder der vi har mulighet for både å gå og stå på ski, med andre ord vi kombinerer det faglige med det sosiale. Dette gjør at vi får en fin atmosfære rundt det hele og nye kontakter dannes mens gamle pleies.

NSMS arrangerer også noe som vi kaller MS-brukermøter. Disse møtene skal arrangeres på tider som ikke kolliderer med våre ordinære vintermøter. Ideen med disse møtene er å få ms-intereserte til å diskutere faget på et mer praktisk grunnlag. Vi ønsker å ta opp praktiske problemer og utfordringer, for på den måten å kunne hjelpe hverandre med små og store problemer på MS-laboratoriet.

Medlemskap i NSMS

Alle med interesse for massespektrometri kan bli medlem av Norsk Selskap for Massespektrometri. Kontingenten er for tiden kr. 100,- pr. år. og innmelding vil du kunne gjøre på våre nettsider. <http://www.nsms.no/innmelding.html> eller ved å sende en mail til lederen av nsms, leder@nsms.no

Bokanmeldelse: Grensesprengende kjemi

Yngve Stenstrøm, UMB

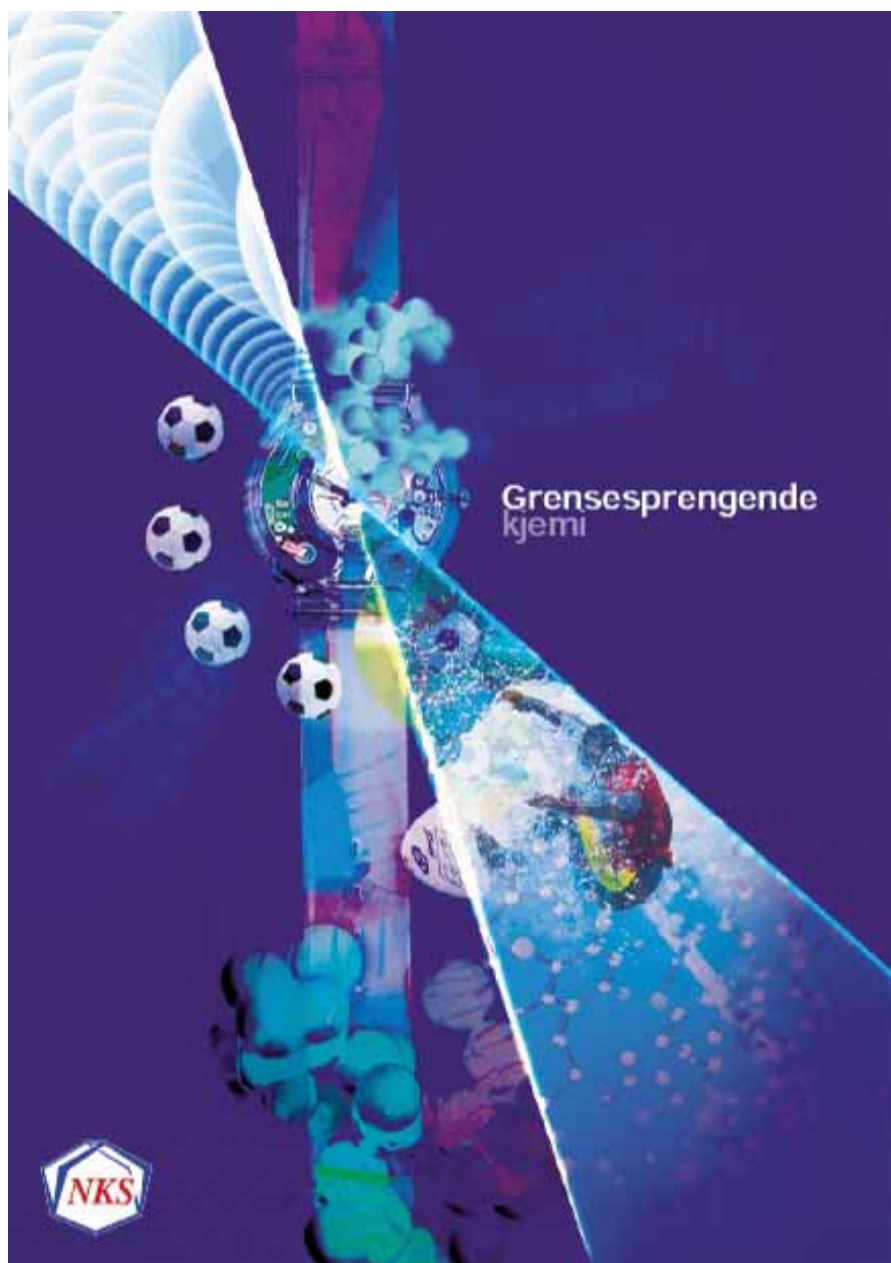


I løpet av det 20. århundre skjedde det en rivende utvikling innen vitenskap og teknologi, og kjemifaget er intet unntak. Den grunnleggende kunnskap økte enormt, men også den praktisk utnyttelsen av kjemien satte sitt preg på utviklingen av det moderne samfunn. Både nasjon-

alt og globalt ser vi at realfagsinteressen taper til fordel for andre og “kulere” fag slik at denne ut-

viklingen vil stanse om det ikke blir gjort noe med rekrutteringen. Mange kloke hoder både lærere, folk fra industri og nasjonale faglige selskaper har lagt sine hoder i bløt for å se hva man kan gjøre med dette. Ingen vil være tjent med noen form for tvangsrekruttering, så eneste mulighet må da bli å “selge” faget sitt på en spennende og fengende måte. Royal Society Of Chemistry kom tydeligvis frem til nettopp dette svaret da de i 2000 ga ut to bøker som på en lettfattelig og spennende måte skulle vise hva kjemien har betydd for den moderne samfunnsutviklingen. Tanken har vært at eksperter skulle skrive om et sentralt tema og beskrive såvel den historiske utviklingen som fremtidige vyer på en spennende måte. Gjennom et samarbeide med RSC har NKS fått tillatelse til å oversette en del av disse artiklene vederlagsfritt til norsk. Så langt

har 10 artikler kommet ut. Disse har tidligere kommet som vedlegg til tidsskriftet Kjemi. Dessverre er det få forunt å holde orden på løse tidsskrifter, og det er derfor både kjærkomment og prisverdig at NKS har samlet disse artiklene i en bok på knappe 200 sider. Størrelsen burde være akkurat passe til at den rommer nok, men heller ikke for mye, til å skremme noen fra å anskaffe den. Titler som “Molekylsnekring”, “Analyse og struktur av molekyler”, “Kan vi se kjemiske reaksjoner”, “Livets kjemi”, er passe beskrivende til at det bør fenge og gi leseren en god ide om hva temaet er. Kapitlene kan selvsagt dessuten leses helt uavhengig av hverandre. Hver artikkel starter med en rask innføring i emnet. For at lesere som ikke er godt inne i temaet skal klare å følge med, er det tatt med ordforklaringer på toppen av hver side. I tillegg er det gode illustrasjoner både i form av reaksjonsligninger, strukturformler, generelle bilder av apparatur og rett og slett bare illustrasjoner. I tillegg er det bilder av personer som har vært sentrale innen feltet. I den norske oversettelsen har man dessuten gitt seg flid i å få med bilder fra norske miljøer i tillegg.



Sluttresultatet har blitt en svært lekker trykksak. Både faglig og layoutmessig bør dette absolutt være en god hjelp for å “selge” kjemien som fag til enhver som har litt interesse av det. De norske oversetterne er alle eksperter innen sine områder og det er tydelig at de fleste har lagt vekt på å bruke et språk som er forståelig også for ikke-eksperter. De ti temaene er dessuten såpass sentrale at dette i seg selv bør pirre nysgjerrigheten. Boken er myntet på “kjemistuderende” i følge web-siden for boken. Jeg ville tro at den bør være en nyttig inspirasjonsskilde for såvel lærere som elever i videregående skole og selv avanserte elever på ungdomsskolen burde kunne lese den med bra utbytte. Også profesjonelle kjemikere vil ha glede av å lese den spesielt de områdene hvor man ikke selv er ekspert. Som ekstra krydder er det i hvert kapittel lagt inn 10-20 spørsmål. Noen av disse er rene faktaspørsmål, mens andre kan være utgangspunkt for diskusjoner. For ikke å skremme eller frustrere noen, er fasiten lagt inn bakerst i hvert kapittel.

Bakerst i boken er det tre sider med annonser antagelig for de som har sponset dette prosjektet. De bør sammen med mange frivillige og ulønnede idealister i NKS absolutt få full honnør for å ha fått denne lekre trykksaken på bordet. Om ikke denne typen bøker/artikler hjelper på kjemiinteressen, er det vanskelig å se hva som skal hjelpe.

Boken kan kjøpes via hjemmesiden til NKS (www.kjemi.no) og koster da bare kr. 100 (+frakt). Jeg kan bare anbefale den på det varmeste; billigere og bedre fagkunnskap samlet på et brett fåes neppe andre steder!



Helsestrategi 2005-2010 med satsing på Mat og Helse ved UMB

Dag Ekeberg og Hanne Devle, UMB



Universitetsstyret har etablert en tverrinstitusjonell forskningsgruppe ved Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB) med professor Gerd Vegarud som gruppeleder. Hennes oppgave er å etablere en forskningsgruppe som består av deltagere fra en rekke forskjellige

institutter ved UMB og andre eksterne institusjoner hvor temaene skal ligge innen mat og helse. Gruppen består i dag av personer fra ulike fagmiljøer innenfor analyseteknikk, mat fra vegetabilier, kjøtt, fisk, melk og ernæring samt pre- og pro-biotika. Markedsføring vil også være et tema for forskningsgruppen, hvor også institutt for økonomi og samfunnsfag er representert. Vegarud har i tillegg ansvar for å etablere et felles fagforum og holde det levende og kreativt. Forumet skal fungere som en diskusjonsarena og møteplass for den samlede helsesatsingen ved Norges yngste universitet. UMB har etablert en høy fagkunnskap omkring genressurser, råvarer, prosess og analysemetodikk og tar herved mål av seg til å være et nasjonalt senter der hele verdikjeden av matproduksjon er ressursgrunnet for forskning og undervisning på forebyggende og rehabiliterende helse. Forskningsgruppens mål er å heve kunnskapnivået omkring mat som ernæringskilde og verdikilde for bedre helse for både mennesker og dyr. Forskningsgruppen for mat og helse har etablert et samarbeid med norske fagmiljøer innen medisin, ernæring og helsefag. På denne måten forsøker gruppeleder Gerd Vegarud at UMB skal få en unik og tydelig nasjonal og internasjonal rolle innen forebyggende og rehabiliterende helse. Det er for tiden avsatt midler til én professor (prof. II), flere postdoktorer samt noe driftsmidler. I tillegg til dette er det en forutsetning fra universitetsstyret at instituttene skal bidra med egeinnsats, da dette er et satsningsområde ved UMB.

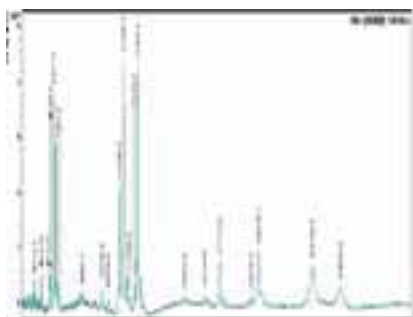
Analyse av ku- og geitemelk

Gerd Vegarud, UMB

Et av forskningsfeltene som vi jobber innen er identifisering av genetisk variasjon i proteinsammensetning fra ku og geitemelk ved hjelp av raske metoder direkte på melk.



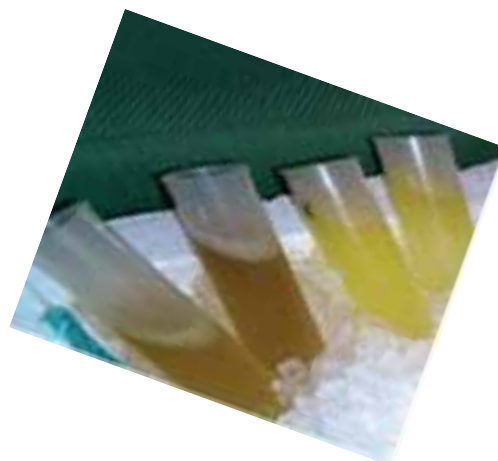
Ku og geitemelk inneholder heterogene proteiner i flere polymorfe former som har oppstått på genetisk nivå i henhold til rase, utvikling osv. I tillegg er flere av disse proteiner fosforylert eller glykosylert. Den norske geitrasen er helt enestående ved at den mangler et av hovedproteinene i melk på grunn av en stor delesjon i det genetiske materialet og i tillegg forekommer det andre mutasjoner i enkelt proteinene. Disse polymorfe former har store praktiske konsekvenser i form av ulik proteinmengde i melka som har stor betydning for osteutbytte og i tillegg har betydning for devernæringsmessige egenskaper spesielt i human fordøyelse. Vanlige metoder i protein analyse og identifikasjon fra melk omfatter flere separasjonstrinn og ulike analyser som genotyping, elektroforese (IEF) eller HPLC. Disse analysemetodene er arbeidskrevende og tar lang tid. Ved bruk av f.eks. MALDI-TOF og/eller LC-MS vil massespektra hjelpe oss å identifisere ulikevarianter på en rask og effektiv måte.



Resultatene har stor betydning for identifisering og utvalg av dyr i videre norske besetninger med tanke på optimale produkt eller ernæringsmessige egenskaper.

Fordøyelse av melk

Vi har også gående et forskningsprosjekt på in vitro fordøyelse av melk og myse ved bruk av humane fordøyelse enzymer, ventrikkel sekret og duodenalt sekret. Et av målene er å karakterisere protein og peptidfragmentene etter fordøyelse. Dette er et modell system for å få mer kunnskap om hva som skjer under fordøyelse av enkeltkomponenter i mat.



Noen av peptidene dannet etter fordøyelse har antimikrobiell effekt og virker bl. annet på patogene bakterier. I karakteriseringen av peptidene vil MALDI ToF analyse være et svært rask og nyttig verktøy. Det samme vil muligens peptidenes effek på bakterier og virus.



Matnyttig forskning fra Campus Ås

Hanne Devle, UMB

I forbindelse med Elisabeth Olsens nylige disputas fattet Østlandets blad interesse for nok et matnyttig forskningsresultat fra Campus Ås. Elisabeth Olsen arbeidet i sin stipendiatperiode med analysemetoder som skal gi svar på hvilke stoffer som gir matvarer lukt og smak, spesielt mat som inneholder Omega-3-fettsyrer.

Gode analyseverktøy

Elisabeth Olsen forsvarte nylig dr. scientgraden. Hun har de siste fire årene, under veiledning av førsteamanuensis Dag Ekeberg ved IKBM og assisterende forskningsdirektør Astrid Nilsson ved Matforsk, utforsket metoder for å analysere matkvalitet. "Forskningsresultatene vi er kommet frem til er svært matnyttige. Nå har vi analyseverktøy som kan hjelpe produsenter til raskt å få svar på hva som er galt når kunder klager på et produkt," sier Elisabeth Olsen.



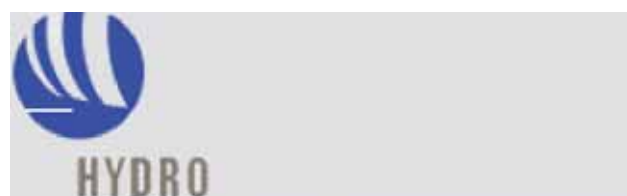
Dr. scient Elisabeth Olsen foretar analyser ved hjelp av GC-MS

Tidlig deteksjon av lipidoksidasjon

"Lipidoksidasjon, dvs. harskning, er en av de viktigste årsakene til kvalitetsforringelse i matvarer. Analysemetoder som kan oppdage og følge tidlig lipidoksidasjon er derfor viktige både i forskning, produktutvikling og kvalitetskontroll," forteller Olsen. Hun har i sitt arbeid målt oksidative endringer i næringsmidler med n-3 fettsyrer både med klassiske metoder, dynamisk headspace/GC-MS og to forholdsvis nye, raske og potensielt ikke-destruktive metoder (front-face fluorescens og elektronisk nese). Sensorisk analyse er brukt som referansemetode i alle forsøkene.

Større forståelse

"Målet med arbeidet har vært å undersøke hvor anvendbare ulike analysemetoder er med hensyn til deteksjon av tidlig lipidoksidasjon i næringsmidler med n-3 fettsyrer." Med tidlig lipidoksidasjon menes oksidative endringer som skjer før et profesjonelt sensorisk panel oppdager endringer i de sensoriske egenskapene til et produkt. Olsen forteller videre at forskningen hun har utført kan bidra til større forståelse av hvilke analysemetoder som kan og bør brukes i forskning, utvikling og kvalitetskontroll vedrørende lipidoksidasjon/harskning i næringsmidler. Arbeidet vil også bidra til større innsikt i hvordan oksidasjon i forskjellige næringsmidler påvirkes av ytre og indre faktorer som f.eks. lufttilgang og bruk av antioksidanter.



Hydro Aluminium i Årdal

Wenche Kulset

Vi som jobber i Hydro Aluminiums laboratorium i Årdal har hånd om både driftsanalyser og forskningsanalyser/oppdrag. Vi er i øyeblikk på flyttefot rent organisasjonsmessig og det er ikke helt avklart hvor vi havner enda.

Vi har i disse dager bestilt en GC/MS fra Agilent/Matriks. Den skal erstatte vår nåværende GC/FID som har vært i bruk siden 1994. Vi kjører PAH-analyse av ulike prøver fra vår industri, men fordi vi også har en stor oppdragsmengde for forskningsprosjekter knyttet til utvikling av elektrolyse- og karbonteknologi ønsker vi å utvide analysetjenesten til å omfatte hydrokarboner mer generelt. Dette er jo ikke gjort ved å skru om en bryter, så her blir det kompetanseoppbygging over tid. Så brukermøter mm. er absolutt noe som vi også ønsker å delta på.

Vi er 3 personer som jobber med PAH-analyser, og jeg har det faglige ansvaret. I tillegg har vi personer med spesialkompetanse på prøvetaking i den type anlegg Hydro Aluminiums har. Vi får inn prøver fra prosess, råstoff, emisjon, utslipp til sjø, arbeidsmiljø og mye annet. Nå vet du litt om oss !

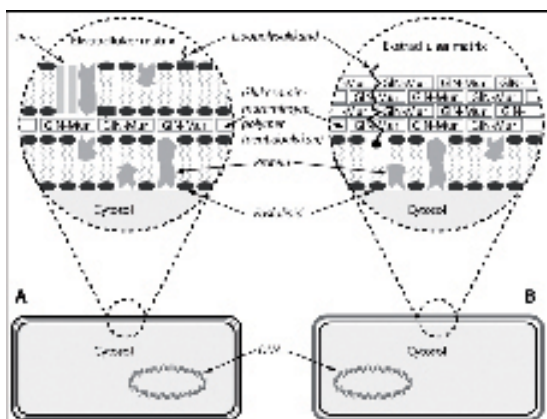
Massespektrometri av bakterier, del I: karbohydrater, lipider og nukleinsyrer.

Morten K. Moe, UiT

Denne artikkelen er ment å gi en kort oversikt over noe av den moroa man kan ha med bakterier og MS, begrenset til lipider, karbohydrater og nukleinsyrer. I neste nummer av Massenytt vil det forhåpentligvis foreligge en tilsvarende artikkel om analyse av bakterielle proteiner.

Litt om bakterier

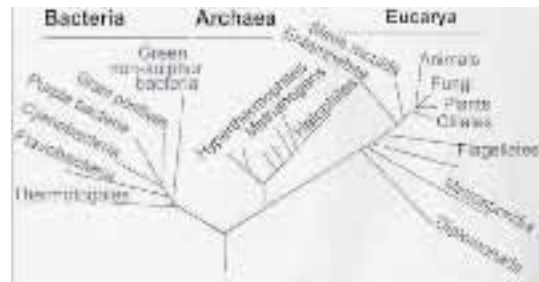
Bakterier er vanligvis 1-4 µm i diameter og leserne av "Massenytt" vil kjenne til at bakterier gjerne omtales som Gram negative eller Gram positive. Gram positive bakterier farges blå-svart eller purpur av en blanding av krystallfiolett og jod, mens Gram negative bakterier antar en svakere rødlig farge. Bakterier har ikke organeller (som mitokondrier, cellekjerne og endoplasmatisk retikulum) og bakterienes DNA befinner seg i cytosol (Figur 1). Ribosomer (som sørger for translasjonen RNA → peptid/protein) befinner seg i cytosol og transmembrane proteiner og proteiner som er ment for eksport til membranene har N-terminal signalsekvens analogt til det som finnes i eukaryoter. Den genetiske variasjonen i bakterier er svært stor, hvilket rimer godt med tanke på alle typene miljø ulike bakterier kan trives i, men genene som koder for ribosomer er godt konservert (svært lik DNA-sekvens) for de ulike bakteriene som er karakterisert. Cytosol i begge typer bakterier er godt beskyttet mot det ekstracellulære miljøet. Gram negative bakterier (Fig. 1A) er omgitt av to dobbeltmembraner som



Figur 1 Prinsipskisse av en (A) Gram negativ og (B) Gram positiv bakterie.

består av fosfolipider og proteiner, men det er lite kolesterol i membranene. Et tynt peptidoglykanlag finnes mellom de to dobbeltmembranene. Gram positive bakterier har kun en dobbeltmembran, men har et tykt peptidoglykanlag utenpå membranen og det er dette laget som farges i en Gram test.

Det er fristende å tenke på bakterier som en lav og lite utviklet livsform. Sannheten er en helt annen. Et fylogenetisk tre viser evolusjonsutvikling for ulike organismer basert på "nærmeste naboer innen evolusjon" (Figur 2). Et forgreiningspunkt vil angi felles opphav for de to greinene som har utviklet seg fra dette punktet. Mennesket og andre landdyr, fisk og insekter er såpass like hverandre at de i en grov oversikt over de ulike livsformenes diversitet faktisk vil havne i en enkelt gruppe ("Animals", Figur 2). Bakterier har utviklet seg i så ulike retninger at de overhodet ikke kan betraktes som en enkelt gruppe ("Bacteria", Figur 2).



Figur 2. Fylogenetisk tre og tre prinsippelle livsformer. Bakterier er prokaryoter, mens vi havner i gruppen for eukaryoter. Gruppen "Archaea" er en mellomting av pro- og eukaryoter. [<http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/evol.gif>]

Peptidoglykanlaget (Figur 3) finnes hos både Gram positive og negative bakterier og utgjør hhv 90% og 10% av massen i tørkede bakterier. Tykkelsen av laget er 20-80 nm i Gram positive og 7-8 nm i Gram negative bakterier. Peptidoglykanet fungerer som bakterienes cellevegg og gir bakterier form



Figur 3. Strukturen til peptidoglykan.

og styrke og vil beskytte mot osmotisk stress. Mange antibiotika (bla penicillin) virker ved å hemme syntesen av peptidoglykan.

I tårevæske finnes enzymet lysozym som er kapabel til å bryte ned peptidoglykan og vil dermed fungere som et forsvar mot bakterieinfeksjon i øyet.

En kort historikk

For en mikrobiolog som ønsker å benytte MS, vil det være av avgjørende betydning at specier og helst bakteriestammer kan identifiseres med så liten mulighet for falske positive og negative analysesvar som mulig. GC-MS dukket opp for 30-40 år siden, men ble ingen suksess blant mikrobiologer. Pyrolyse (Py) GC-MS ble lansert som en metode for å tilordne nye bakterier inn i det fylogenetiske tre og gi bekreftende svar på allerede identifiserte bakterier. Selv om det finnes gode resultater for denne teknikken, noe som kunne ha gitt den status som ”lovende”, er metoden heftet med altfor store variasjoner i resultatene som oppnås i ulike laboratorier. Metoden har derfor forsvunnet i tåka for mikrobiologer.

GC-MS er imidlertid svært godt egnet til å identifisere små molekyler og benyttes fortsatt til kvalitative og kvantitative analyser av bakterieprøver, dog sjelden for typebestemmelse. Det vil bli gitt eksempler på dette nedenfor.

Moderne ioniseringsteknikker har revolusjonert MS fra å være en obskur teknikk biologer knapt hadde hørt om for ti år siden, til å bli mer eller mindre allemannseie for molekylærbiologer av ulike slag. Siste tilskudd er mikrobiologer – MS av bakterier og andre mikroorganismer kan benyttes til artsbestemmelse, genom-, proteom-, transkriptom- og metabolomstudier, mm.

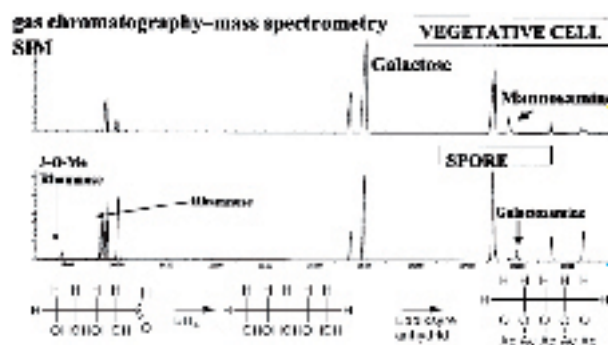
Metodikk

Når bakterier skal analyseres vha MS må man velge en hensiktsmessig strategi ut fra hva man ønsker å finne ut om bakterien, på instrumentsiden må man derfor velge en hensiktsmessig ionekilde og ditto masseanalyzer. Av ionekilder finnes følgende: ICP MS (inductively coupled plasma MS) – egner seg til metaller og andre grunnstoffer; IR MS (isotope ratio MS) – egner seg til isotopratioer som ^{13}C , ^{18}O osv; SIMS (secondary ion MS) – egner seg til overflateanalyse og små molekyler; Py MS (omtalt ovenfor); EI MS (eletron impact MS) – eg-

ner seg til flyktige komponenter; MALDI og ESI MS – egner seg til intakte biologiske komponenter og biter av disse, som proteiner, lipider, karbohydrater og DNA.

Karbohydrater

Den genetiske variasjonen til bakterier er tydelig blant stoffgruppen karbohydrater, så langt er 7655 ulike strukturer å finne i en database [<http://www.glyco.ac.ru/bcsdb/start.shtml>]. GC-MS kan benyttes til å identifisere visse bakterier basert på deres karbohydratsammensetning, og et eksempel på dette er vist i figur 4 for *Bacillus anthracis*. *B. anthracis* er en Gram positiv bakterie og finnes i to utgaver, som vegetativ (=aktiv) og som spore (=i dvale). Det er sistnevnte som er mest patogen for mennesker (og dyr). En spore dannes ved at en vegetativ celle kapsler inn sitt DNA mens resten av cellen lyses. Sporer fra visse bakterier kan eksistere svært lenge, det er foreslått opp mot 250 millioner år. Uansett, karbohydratsammensetningen i vegetativ og spore utgave av *B. anthracis* (Figur 4, hhv øverst og midten) er ulik og kan finnes vha GC-MS etter omfattende prøveopparbeidelse som omfatter hydrolyse av bakterien med H_2SO_4 , C18 fast fase ekstraksjon for å bli kvitt lipider og proteiner, før karbohydratene reduseres med NaBH_4 og acetyleres med eddiksyreanhydrid (Figur 4, nederst). Rhamnose og galaktosamin finnes i sporer, men ikke i vegetative celler, mens vegetative celler har mannosamin, som er fraværende i sporer.



Figur 4. GC-MS av pent-, heks- og heptose acetylderivater fra bacillus anthracis (antraxbakterien). Øverste spektrum viser en analyse av vegetativ *B. anthracis*, men den nederste viser analyse av *B. anthracis* sporer. Galaktose er finnes i begge. Nederst i figuren er derivatiseringsprosedyren gjengitt. [Fox]

Karbohydratanalyse med GC-MS kan også benyttes til å bekrefte tilstedeværelsen av bakterier. Peptidoglykanlaget består av N-acetyl-glukosamin og (N-acetyl-) muraminsyre og sistnevnte finnes kun i bakterier og ikke i noen andre livsformer. Dette

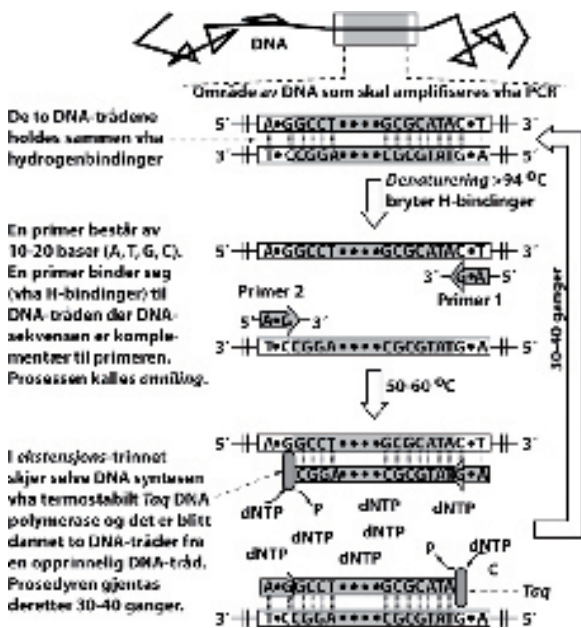
kan brukes til å gi positive eller negative svar på hvorvidt det er bakterier tilstede i jord-, luft- og vannprøver. Men det stopper ikke her, metoden har sågar vært brukt til å gi en negativ bekreftelse på at det ikke finnes bakterier på månen gjennom analyse av månestøv.

Lipider

Fettsyremetyler (FAME)–analyse er en rutinemetode for fettsyrebestemmelse uansett prøvemateriale og opprinnelse. Man får en profil av fettsyrer som gir svar på kjedelengde og grad av umetthet, men øvrig strukturinformasjon er vanskelig å oppnå uten å benytte andre derivatiseringsmetoder (se gjerne Massenytt nr. 1, 2005, side 5). Bakterier kan syntetisere en rekke ”uvanlige” fettsyrer med odde antall C-atomer i kjeden, forgreininger, hydroksy- og ketogrupeer, dobbeltbindinger i uvanlige posisjoner, samt fettsyrer med trippelbindinger. Videre inneholder bakterier lite triacylglyserider og kolesterol og bakteriefosfolipider har gjerne sure polare hodegrupper. Til tross for mangfoldet er det gjort få forsøk på å karakterisere bakterier fylogenetisk via lipider og GC-MS (og ESI-MS).

Nukleinsyrer (RNA og DNA)

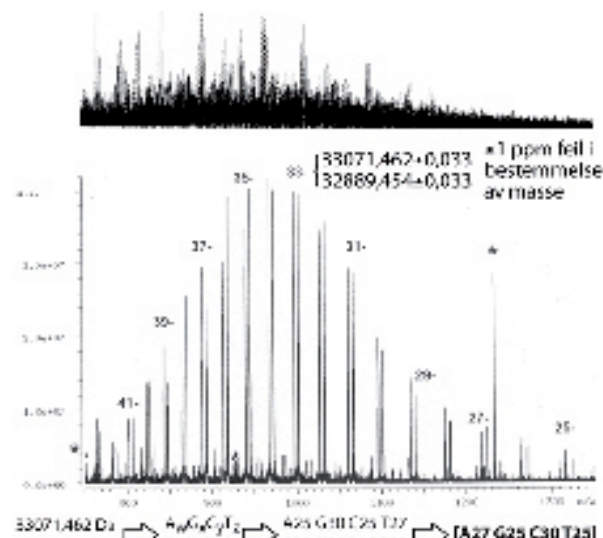
Alt som kan kalles ”levende” avhenger av DNA/RNA for å formere seg (”propagere”), og med unntak av prioner inneholder alt som kan gi infeksjoner hos mennesker DNA. Innen kjemisk og biologisk analyse er DNA (og RNA) unikt i det at de som analytter kan amplifiseres før selve analysen.



Figur 5. Polymerase chain reaction (PCR) prosessen består av tre trinn (1) denaturering, hvor DNA denatureres (H-hind-

ingene mellom de to kjeden brytes); (2) anneling, hvor en primer binder seg til den ene DNA-tråden og (3) ekstensjon, hvor en termostabil DNA polymerase (fra den termofile bakterien *Thermus aquaticus*) kombinerer med primeren og DNA-tråden og nytt dobbeltkjedet DNA syntetiseres av polymerasen. Primeren består av 10-20 baser og binder seg til et område i DNA som er godt konservert (hvit boks) mellom ulike genus av bakterier. DNA-sekvensen som amplifiseres (grå boks) består av ≤ 150 baser. • angir i denne figuren 15 baser. dNTP er deoksynukleotid trifosfat (fire typer – en for hver base), som er substrat for enzymet og er byggeklosser for de nye DNA dobbelttrådene. Fosfat (P) spaltes av i prosessen.

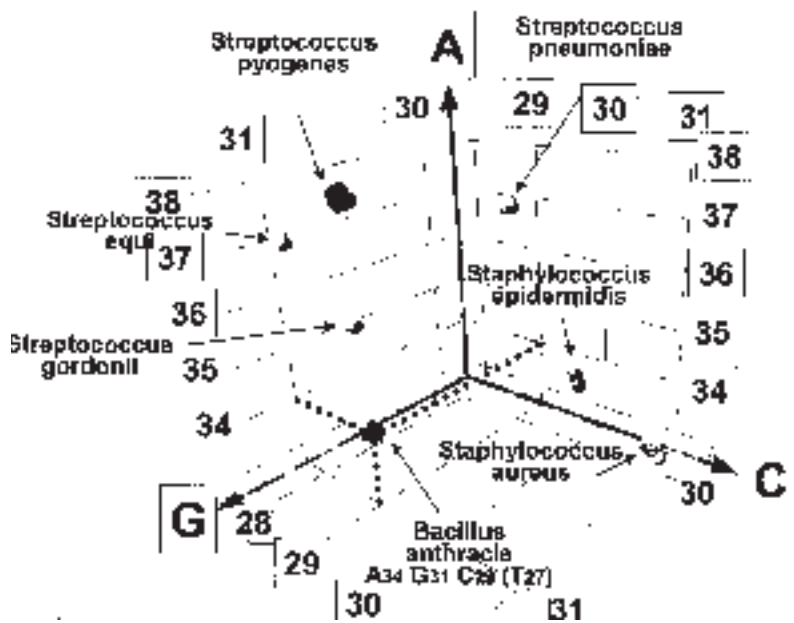
Dette er svært nyttig dersom det foreligger kun små mengder av prøven, prøven er sterkt degradert eller prøven befinner seg i en komplisert matrix. Amplifisering gjøres hovedsaklig ved PCR (polymerase chain reaction), se figur 5. PCR-produktene må isoleres fra reaksjonsblandingen før ESI-TOFMS kan utføres fordi denne blandingen inneholder ulike salter i store mengder, noe som er uforenlig med ESI (Figur 6, øverst).



Figur 6. ESI-TOF spektrum av *S. aureus* PCR-amplikon før (øverst) og etter (nederst) avsalting av prøven. [Hofstadler]

Etter PCR amplifisering er det sekvensanalyse som er ”gull-standard” innen DNA-analyse, selv om andre teknikker som (kapillær-) gelelektroforese og DNA microarray også står sterkt (sistnevnte er en relativt ny teknikk og er svært elegant, se feks: www.bioteach.ubc.ca/MolecularBiology/microarray).

Så, hvordan kan MS konkurrere med disse veletablerte teknikkene? Ved ESI vil det dannes multi-deprotonerte molekyler av PCR-produktet, dette er det vist et eksempel på i figur 6, nederst. Legg merke til at spektrumet viser det samme som ved analyse av proteiner, nemlig at deprotonerte ioner med ulik



Figur 8. 3-dimensjonalt plott av baseesammensetninger av A, G og C i DNA, gitt at T=27 og en bestemt primer er benyttet [Hofstadler].

Konklusjoner

GC-MS gjør jobben innen mange områder av bakterieanalyse. Nyere ionisasjonsteknikker har ikke gitt analyse av bakterier mange nye dimensjoner innen karbohydrat og lipidanalyse, med et mulig unntak for intakte fosfolipider. For nukleinsyrer har ESI-TOFMS blitt en nisjeteknikk og gode resultater er oppnådd, men det gjenstår å se om de gode metodene som det er referert til her vil slå an og bli en del av standardinstrumenteringen i mikrobiologilaboratorier.

Takk til:

FUGE-N for finansiering av turen min til USA og NFR for finansiering av min Postdoc-stilling. Professor Einar Jensen, PhD student Lise Nordgård og Postdoc Pål Johnsen takkes for gode diskusjoner under utarbeidelsen av dette manuskriptet og PhD student Gro Dahlseng Håkonsen for korrekturlesing. Veileder professor Kåre Magne Nielsen takkes også for oppmuntring og inspirasjon!

Referanser

A. Fox, S. Hofstadler, J. Jackman, J. Reilly, S. Russell, J. Shoemaker, G. Siuzdak, K. Wahl og Wilkins, foredragsholdere ved Fall workshop: "Characterization of Microorganisms by Mass Spectrometry", Catamaran resort hotel, San Diego, CA, 8.-9. desember 2005, i regi av American Society for Mass Spectrometry. Organiserer: J. Shoemaker og K. Wahl.

H. N. Shah, Clinical Lab International, November 2005, 35-38.

R. J. Simpson, "Proteins and Proteomics. A Laboratory Manual." Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 2003. ISBN 0-87969-554-4.

K. Wilson og J. Walker (eds). "Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology, 6th edition." Cambridge University Press, New York, NY, USA, 2005. ISBN 0-521-53581-6.

Hva er dette?

Litt nysgjerrighet kommer alltid godt med, så hva kan dette være?



Løsningen kommer i neste nummer av Massenytt.

Massespektrometri ved Matforsk

Kjersti Aaby og Gjermund Vogt, Matforsk

Som lederen nevnte i forrige nummer av Mas-senytt er det flere institusjoner på Ås, i tillegg til UMB, som har MS-instrumenter. Et av dem er Matforsk. På Matforsk blir naturlig nok kompo-nenter i mat, både ønska og uønska, analysert.

Siden 1993 har Matforsk hatt GC-MS fra Hewlett Packard med injektor for ana-lyse av flyktige forbindelser samlet opp på en adsorbent (dynamisk headspace teknikk). Etter anskaffelsen av Automatisk Termisk Detek-tor (ATD400, PerkinElmer) økte analysekapa-siteten drastisk og flyktige forbindelser over et stort mangfold av matvarer og andre stoffer har blitt analysert. Et hovedfokus har vært analyse av flyktige oksidasjonsprodukter. Typiske kromato-gram er ikke nødvendigvis pene og kan inneholde alt fra 50-300 komponenter. Resultater fra kjøringene har ofte blitt korrelert mot sensorisk analyse og andre målemetoder vha multivariat dataanalyse. Dette har bl.a. resultert i en doktorgrad på slut-ten av fjoråret (Elisabeth Olsen). Rutinemessig i dag brukes en Agilent 6890+ GC koblet til en 5973 N MSD med ATD eller HP 7494 injektor.



Elisabeth Olsen og Gjermund Vogt ved GC-MS oppsettet. ATD i forgrunnen.

På Matforsk har innholdsstoffer i frukt, bær og grønnsaker og produkter av disse blitt analysert ved hjelp HPLC. En del av disse komponentene, som anthocyaniner, er sterkt farga, og mange andre forbindelser har sterk UV-absorpsjon, og har derfor tradisjonelt blitt detektert med en diode array de-

tektor. Kvantifisering og klassifisering har ofte blitt gjort ved å gruppere komponenten etter egenska-per som UV-vis spekter, i stedet for å identifisere enkeltkomponenter. Med bl.a. økt fokus på bioak-tive stoffer og kunnskap om at spesifikk struktur er avgjørende for biotilgjengelighet og –aktivitet, vokste ønsket om en LC med en masseselektiv de-tekter for analyse av disse forbindelsene. I 2005 ble ønsket oppfylt. I samarbeid med UMB ble en LC-MS anskaffet fra Agilent (LC/MSD TRAP XCT).



Kjersti Aaby og Grethe Iren Borge foran MSD TRAP XCT.

Siden strukturoppklaring vil være hovedfokus for oss, fant vi ut at en LC med en ionefelle var det vi trengte. I løpet av året som har gått har vi analysert noen ekstrakter fra bær og grønnsaker mhp flavonoider og andre polyfenoler, men inn-ser at instrumentet har blitt brukt for lite – noe som skal bli endret i løpet av dette nye året!





Bachelor i Bioteknologi
Bachelor i Matvitenskap

Master i Kjemi
Master i Bioteknologi
Master i Bioinformatikk
Master i Mikrobiologi
Master i Matvitenskap

Universitetet for miljø- og biovitenskap

Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap



Norges nyeste universitet har bl.a:

- 13 bachelorprogram
- 37 masterprogram
- 2800 studenter
- Garantert hybel første studieår
- Mulighet for delstudium i utlandet
- 70 studentlag og -foreninger
- UKA i Ås 5. – 30. oktober 2006



www.umb.no/ikbm

Komplett LC/MSD lab.

*Geir Klinkenberg, SINTEF, Per Bruheim, NTNU og
Norunn Hessen Følsvik, Matriks AS*

Det første Agilent 1100 LC/MSD TOF time-of-flight masse spektrometer i Norden ble, i regi av Matriks AS, installert hos SINTEF Materialer og Kjemi, Avd. for bioteknologi i Trondheim. Systemet benyttes til analyser av mikrobielle fermenteringsvæsker for påvisning og identifisering av ukjente metabolitter. Resultater opparbeidet med TOF systemet er allerede publisert i ett internasjonalt tidsskrift. I tillegg ble det samtidig installert to standard 1956B SL quadropol masse spektrometre til rutineanalyser av kjente metabolitter fra mikrobielle fermenteringsprosesser. Kombinert med flere Agilent 1100 HPLC systemer (oppgradert med ekstra pumper og ventiler for "high throughput" analyser) vil brukerne nå kunne utnytte det nye utstyret til alt fra rutinemessige kjøring av titusener av prøver i året til avansert metodeutvikling og analyser av ukjente substanser i enkeltprøver. Laboratoriet er også utstyrt med ett preparativt LC-MS system for renfremstilling av forbindelser fra mg til g skala. Dette er ofte nødvendig for omfattende bioaktivitetstesting og for fullstendig strukturoppklaring med f.eks NMR. I et nært samarbeid med Institutt for Bioteknologi, NTNU som har et Agilent LC/MS TRAP system installert fra før, har nå brukerne tilgang til en svært avansert og slagkraftig instrumentpark. Laboratoriet er nå også videre oppgradert med et kapillær elektroforese instrument som kan kobles til alle tilgjengelig massespektrometre samt at en Agilent 6890 GC er bygget ut med en Agilent 5975 MS.

Agilents LC/MSD TOF kombinerer nøyaktige masse bestemmelser med brukervennligheten til et singel quadropol massespektrometer. Systemet har svært god følsomhet, oppløsning og masse nøyaktighet. Tradisjonelt sett har et relativt smalt dynamisk område vært en begrensende faktor for bruk av TOF MS i ulike applikasjoner. Agilent sin LC/MSD TOF benytter et helt nytt innsamlings system for data og dette eliminerer behovet for "dead-time" korreksjon. Derved kan en oppnå en dynamisk rekkevidde på opptil tre størrelsesordener. En stor fordel med den gode dynamiske rekkevidden er at en ikke lenger trenger å matche konsentrasjonene av interne referanser og prøven. For å redusere effekten av suppressjon og interferenser kan

en referansemasse introduseres i systemet ved lave konsentrasjoner.

Bruk av en intern standard til kvantifisering er med på å øke nøyaktigheten til bestemmelse av konsentrasjoner av ulike komponenter i reelle prøver. For MS TOF metoder har det tidligere vært vanskelig å benytte slike interne standarder både på grunn av problemer med introduksjon av en referanse masse og problemer med signal-intensitet matching. For Agilent sin LC/MS TOF er dette problemet løst. Stor dynamisk rekkevidde, en ionekilde med en egen referanse-spray og et automatisert kalibrant innføring system (CDS) gjør at bruk av interne standarder er blitt enkelt og rutinemessig i den daglige bruken av systemet. "Fast scanning" er en annen fordel ved systemet, dette er særlig nyttig for "high throughput screening" som krever hurtig kromatografi. Ulike ionekilder gjør at en kan bruke systemet til en lang rekke applikasjoner, både elektropray, nanospray, elektrokjemisk og en AP-MALDI kilde kan kobles til systemet.



Agilents TOF og QUAD systemer hos Avd. for Bioteknologi

Hos SINTEF Avd. for bioteknologi skal LC/MSD systemene brukes til analyser av metabolitter (intracellulære, ekstracellulære, primær og sekundær metabolitter, peptider og proteiner) fra mikrobielle fermenteringsprosesser. Utstyret vil bl.a. bli brukt til utviklingen av industrielle bioprosesser f.eks. ved "high throughput" analyser av mutanter og dyrkings-betingelser, til påvisning og identifisering av ukjente forbindelser i bioprospektering og til renfremstilling av biologisk og kommersielt interessante forbindelser. Avdelingen har en Tecan Genesis liquid handling workstation med et 96-kannels pipettehode for preparering av prøver i 96- og 384-brønnplate format.

Møter, konferanser, messer & seminarer

2006

Pittcon 2006

12.03 - 17.03.2006, Orlando, Florida

www.pittcon.org

3rd National Meeting on Environmental Mass Spectrometry (supported by BMSS)

11.04 - 12.04.2006, University College, Chester, UK

e-post: chris.smith@chester.ac.uk

www.analyticalmethodologycentre.co.uk

Det 9. brukermøte i massespektrometri

20.04 - 21.04.2006, Geilo, Norge

www.nsms.org

54th ASMS Conference on Mass Spectrometry

28.05 - 01.06.2006, Seattle, Washington

www.asms.org

26th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants

21.08-25.08.2006, Oslo, Norway

www.dioxin2006.org

The 17th International Mass Spectrometry Conference

27.08 - 01.09.2006, Prague, Czech Republic

www.imsc2006.org

2007

Det 12. Norske seminar i massespektrometri

21.01 - 24.01.2007, Quality Hotel & Resort Hafjell

e-post: Dag.Ekeberg@umb.no

www.nsms.no

Pittcon 2007

11.03 - 16.03.2006, New Orleans

www.pittcon.org

55th ASMS Conference on Mass Spectrometry

03.06 - 07.06.2007, Indianapolis, Indiana

www.asms.org

Lab 07

16.10 - 18.10 2007, Norges Varemesse, Lillestrøm

2008

Pittcon 2008

02.03 - 07.03.2008, New Orleans

www.pittcon.org

56th ASMS Conference on Mass Spectrometry

01.06 - 05.06.2008, Denver, Colorado

www.asms.org

2009

The 18th International Mass Spectrometry Conference

Bremen, Germany



Det 10. norske seminar i MS, Hafjell 2003