

Massenspektrometrie

Die Faszination der chemischen Vielfalt gasförmiger Ionen

Aus der Sicht der allgemeinen Bedeutung und Anwendbarkeit ist die Massenspektrometrie wohl die wichtigste analytische Teildisziplin der Instrumentellen Analytik. Moderne massenspektrometrische Methoden sind extrem diversifiziert, und das „Messen von Massen“ hat einen Vorzug gegenüber allen spektroskopischen Methoden: Anhand der Molekülionen- oder Fragmenten-Peaks beobachtet man Signale, die prinzipiell die Elementarzusammensetzung des entsprechenden chemischen Teilchens widerspiegelt.

Auch historisch gesehen ist diese Information die Grundlage der Identifizierung einer Substanz. Keine andere spektroskopische Methode hat diese Fähigkeit. Die Strukturanalyse eines Moleküls durch die Massenspektrometrie ist dagegen grundsätzlich eingeschränkt, weil sich dessen Strukturelemente nur indirekt identifizieren lassen. Aber gerade weil man in einem Massenspektrometer – angefangen von der Ionisierung selbst – die Reaktivität von isolierten chemischen Teilchen ausnutzt, stellen derartige Geräte hochinteressante Reaktionskolben dar, in denen die chemischen Umsetzungen in der Gasphase mittels verschiedenster physikalischer und chemischer Techniken ausgelöst, manipuliert und kontrolliert werden können.

Dieser Beitrag soll insbesondere die Nutzer massenspektrometrischer Analysemethoden dazu anregen, über die Vielfalt der chemischen

Reaktionen und Reaktivitäten der in einem Massenspektrometer erzeugten chemischen Spezies nachzudenken. „Aus der Sicht des Moleküls“ werden verschiedene Ionisierungsmethoden und einige beispielhafte Fragmentierungsreaktionen diskutiert.

Ionisierung von Molekülen

Die Erzeugbarkeit von Molekül-Ionen verschiedenster Art hängt ganz stark vom Typ der zu analysierende Verbindung ab. Nach wie vor ist es wichtig zu wissen, ob die Verbindung unzerstört verdampft werden kann. Neben Molmasse und Polarität, die die Flüchtigkeit einer Substanz bestimmen, sind auch andere Molekül-Eigenschaften, wie Acidität, Basizität, Ionisierungsenergie und Elektronenaffinität, extrem wichtig. Gelingt es, aus der Substanz die eigentlichen Molekül-

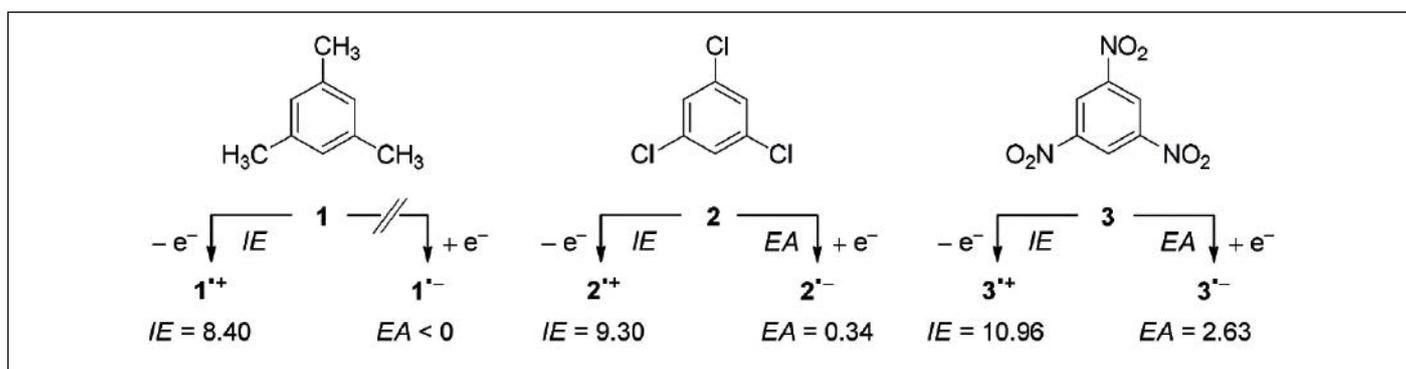


Abb. 1: Die Thermochemie der Ionisierung dreier 1,3,5-trisubstituierter Benzol-Derivate. Die Erzeugung der Radikalkationen (M^{++}) erfordert unterschiedlich viel Energie ($IE \gg 0$); die Erzeugung der Radikalanionen (M^{--}) setzt unterschiedlich viel Energie (EA) frei. Beim Mesitylen (1) ist die Anlagerung eines Elektrons jedoch endotherm (EA ist negativ). Alle Angaben in eV [1].

Ionen zu erzeugen, also die entsprechenden Radikalkationen (M^+) oder Radikalanionen (M^-), dann lässt sich die Molmasse anhand des Moleküllionen-Peaks direkt ablesen. Zur Erzeugung der M^+ -Ionen benötigt man je nach Substanzklasse Ionisierungsenergien (IE) von 7–11 eV, sodass unter Standardbedingungen der Elektronenionisierung (EI) mit Elektronenenergien von 70–100 eV stark schwingungs- und rotationsangeregte Radikalkationen entstehen. M^+ -Ionen lassen sich nur von solchen Molekülen erzeugen, die stark elektronegative Atomgruppierungen enthalten, z.B. Halogen-Atome, Nitro- oder auch Nitril-Gruppen. Hier kommt die Elektronenaffinität (EA) ins Spiel (Abb. 1). So erfordert die Entfernung eines Elektrons aus Mesitylen (1) $IE = 8,40$ eV, aber auch die Aufnahme eines Elektrons erfordert Energie ($EA < 0$). Die drei Chloratome im 1,3,5-Trichlorbenzol (2) dagegen führen nicht nur zur Vergrößerung der Ionisierungsenergie, sondern hier wird die Anlagerung eines Elektrons exotherm ($EA > 0$). Beim 1,3,5-Trinitrobenzol (3) ist eine solche „Gasphasen-Reduktion“ stark exotherm ($EA = 2,63$ eV) und damit besonders günstig für die Erzeugung der Ionen $C_6H_2N_3O_6^-$ (m/z 213); die Erzeugung der Radikalkationen $C_6H_2N_3O_6^{*+}$ (m/z 213) ist entsprechend besonders stark endotherm ($IE = 10,96$ eV). So lässt sich zwar von 1 lediglich ein EI(+)-Massenspektrum aufnehmen, von 2 und 3 dagegen sowohl EI(+)- als auch EI(-)-Spektren.

Derartige Selektivitäten gelten für andere Ionisierungsverfahren genauso und oft noch viel stärker. Die Chemische Ionisierung mit positiven Ionen, $CI(+)$, diskriminiert stark zwischen Verbindungen verschiedener (Gasphasen-) Basizitäten (GB), wenn die zu messenden Moleküllionen protonierte Moleküle, $[M + H]^+$, sind. Aus ähnlichen Gründen lassen sich verschiedene saure Moleküle unter $CI(-)$ -Bedingungen als Anionen vom Typ

$[M - H]^-$ unterschiedlich gut nachweisen. Derartige chemisch bedingte Selektivitäten können sowohl unter EI- als auch unter CI-Bedingungen ausgenutzt werden, indem man die energetischen Bedingungen gezielt einstellt. Bei der EI-Methode wählt man niedrigere Elektronenenergien, falls das Massenspektrometer dies zulässt, und bei der CI-Technik kann man das Reaktandgas austauschen, z.B. Methan, das die sehr sauren CH_5^+ -Ionen liefert, gegen Ammoniak, aus dem man vergleichsweise wenig saure NH_4^+ -Ionen erzeugt.

Für die Ionisierungsmethoden Elektrospray- (ESI) und Matrix-unterstützte Laser-Desorption/ionisierung (MALDI) gilt das Gesagte sogar noch stärker. Hier erzeugt man die Molekül-Ionen (oft als Addukt-Ionen vom Typ $[M + H]^+$, $[M + Na]^+$ oder auch $[M + n H]^{n+}$) aus einer kondensierten Phase, nämlich jeweils aus einer den Analyten enthaltenden Lösung bzw. aus einer kristallinen Matrix. So beeinflussen die in der Probelösung vorhandenen Kationen und Anionen je nach Basizität und Assoziationsfähigkeit der Moleküle das beobachtete ESI-Massenspektrum und die gewählte Matrix hat entscheidenden Einfluss auf die Erzeugung eines MALDI-Massenspektrums [2].

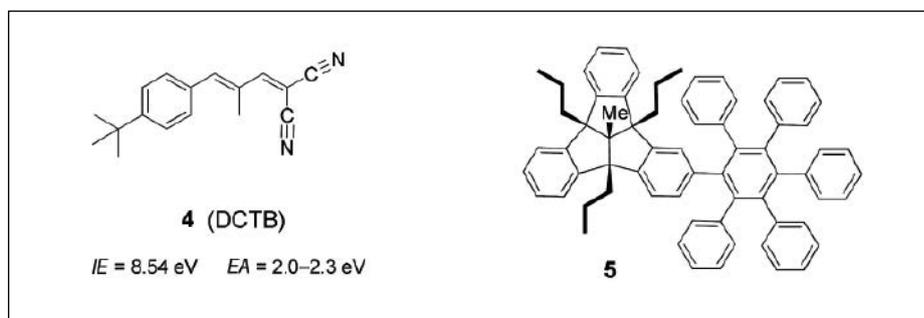


Abb. 2: Hoch konjugiertes Dinitril DCTB (4) und polycyclischer Kohlenwasserstoff (5)

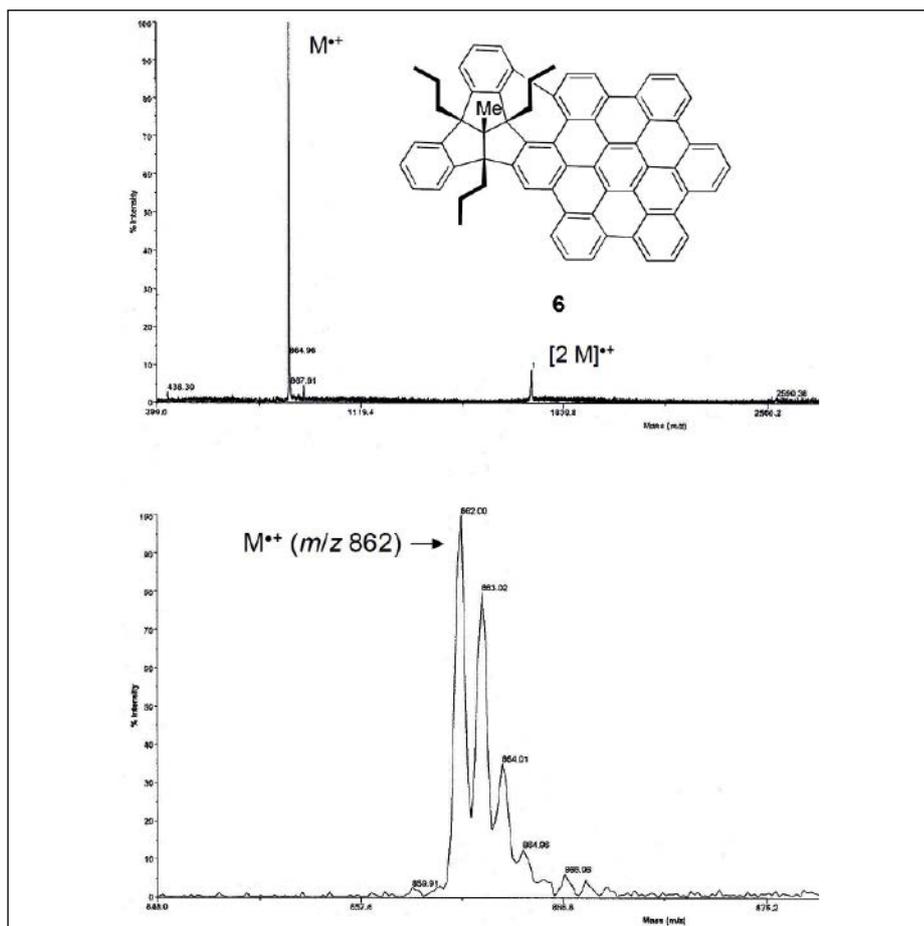


Abb. 3: Oben: MALDI(+)-Massenspektrum des Kohlenwasserstoffs 6 ($C_{68}H_{46}$) mit DCTB als Matrix. Man erkennt neben den Peaks der Moleküllionen 6^{*+} (m/z 862) auch die Peaks des ionisierten Dimers (m/z 1725). Unten: Gespreizte Peakgruppe der Moleküllionen 6^{*+} ; die relative Intensität des ($M + 1$)-Peaks bei m/z 863 liegt nahe beim theoretischen Wert (ca. $68 \cdot 1,1\% = 75\%$ des Peaks bei m/z 862).

Im Gegensatz zu polaren Verbindungen mit basischen Zentren, wie z. B. Peptiden, nehmen polykondensierte aromatische Kohlenwasserstoffe (PAHs) aufgrund ihrer unpolaren, sehr wenig basischen Natur nicht leicht ein Proton auf. Für ein MALDI-Massenspektrum von Peptiden kommen routinemäßig verschiedene saure Matrices zum Einsatz (z.B. Hydroxybenzoesäuren oder Hydroxyzimtsäuren), die zur Messung von PAHs jedoch nicht gut geeignet sind. Dagegen ist eine Matrix, die Einelektronen-Übertragungen, also Redoxprozesse, auslösen kann, für die Analyse von polykondensierten aromatischen Kohlenwasserstoffen gut geeignet. Das hochkonjugierte Dinitril DCTB (4) (Abb. 2) ist solch eine Matrix-Substanz [3].

Die IE - und EA -Werte von DCTB sind untersucht worden [4,5]. Abbildung 3 zeigt das MALDI-Massenspektrum eines polycyclischen Kohlenwasserstoffs 6 ($C_{68}H_{46}$). Man erkennt einen nahezu perfekten Peak-Cluster der Moleküllionen, M^{*+} (m/z 862, 863 etc.) und findet praktisch keine Fragmentierung. Interessanterweise verhält sich der Synthese-Vorläufer, Verbindung 5 ($C_{68}H_{60}$), ganz anders. Hier sind die M^{*+} -Peaks (m/z 876) sehr klein und man beobachtet starke Fragmentierung zu den Ionen $[M - C_3H_7]^+$ (m/z 833). Warum? Darüber lässt sich zurzeit nur spekulieren: Der Redoxprozess mit der DCTB-Matrix kann nicht die Ursache sein, denn die Moleküle 6 sind durch die Matrix-Ionen, $DCTB^{*+}$, viel leichter oxidier-

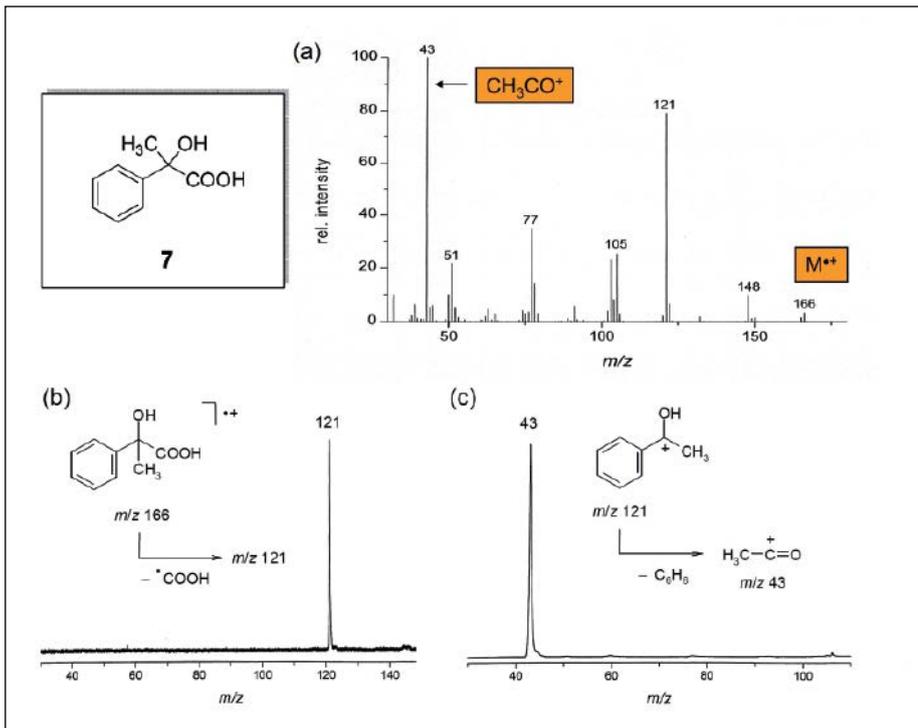


Abb. 4: (a) EI-Massenspektrum (70 eV) von Atrolactinsäure (7); (b) die MS/MS-Messung (MIKE-Spektrum) der Molekülionen 7^{++} (m/z 166) zeigt ausschließlich den Verlust des Carboxyl-Radikals (α -Spaltung); (c) das entsprechende MIKE-Spektrum der Fragmentionen $[7 - \text{COOH}]^+$ (m/z 121) zeigt ausschließlich die Eliminierung von Benzol (nach Protonenwanderung).

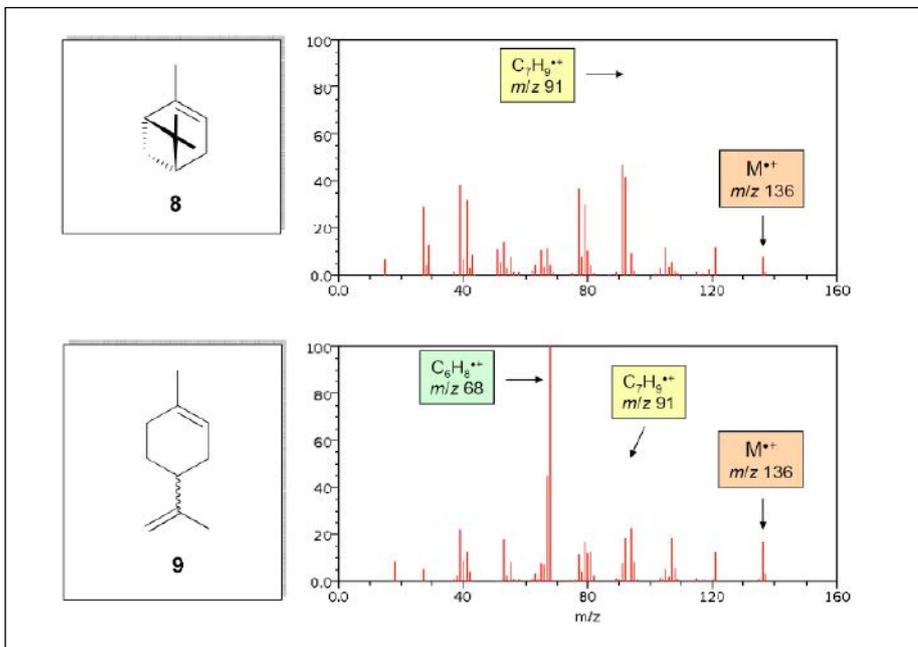


Abb. 5: EI-Massenspektren (70 eV) von α -Pinen (8) und Limonen (9). Beide Terpene liefern die Ionen C_7H_9^+ (m/z 93, Verlust von C_3H_7^+), während nur bei 9 die Ionen C_5H_8^+ (m/z 68) entstehen (RDA-Reaktion). Die beiden Spektren wurden der NIST-Datenbank entnommen [1].

bar als die von 5, weil sie ein viel größeres π -Elektronensystem besitzen. Der Verlust eines Alkyl-Restes ist charakteristisch für die EI-Massenspektren derartiger Kohlenwasserstoffe („Tribenzotriquinacene“). Tatsächlich lässt sich von 5 ein EI-Massenspektrum (mittels der Desorptions-Technik, DEI) aufnehmen, und auch hier beobachtet man eine starke Fragmentierung zu den Ionen $[M - \text{C}_3\text{H}_7]^+$ (m/z 833).

Will man aber eine Feinmassenbestimmung der Molekülionen von 5 und 6 durchführen, so gelingt das zwar bei 6 mit MALDI, bei 5 aber eben nicht. Hier wurde unter ESI(+)-Bedingungen mit Silberionen-Zusatz (in Form von AgBF_4 in CH_2Cl_2) gearbeitet. Die $[M + ^{107}\text{Ag}]^+$ -Ionen in einem FT-ICR-Massenspektrometer liefern einen starken Peak bei m/z 983,3746 (theor. m/z 983,3741) [6].

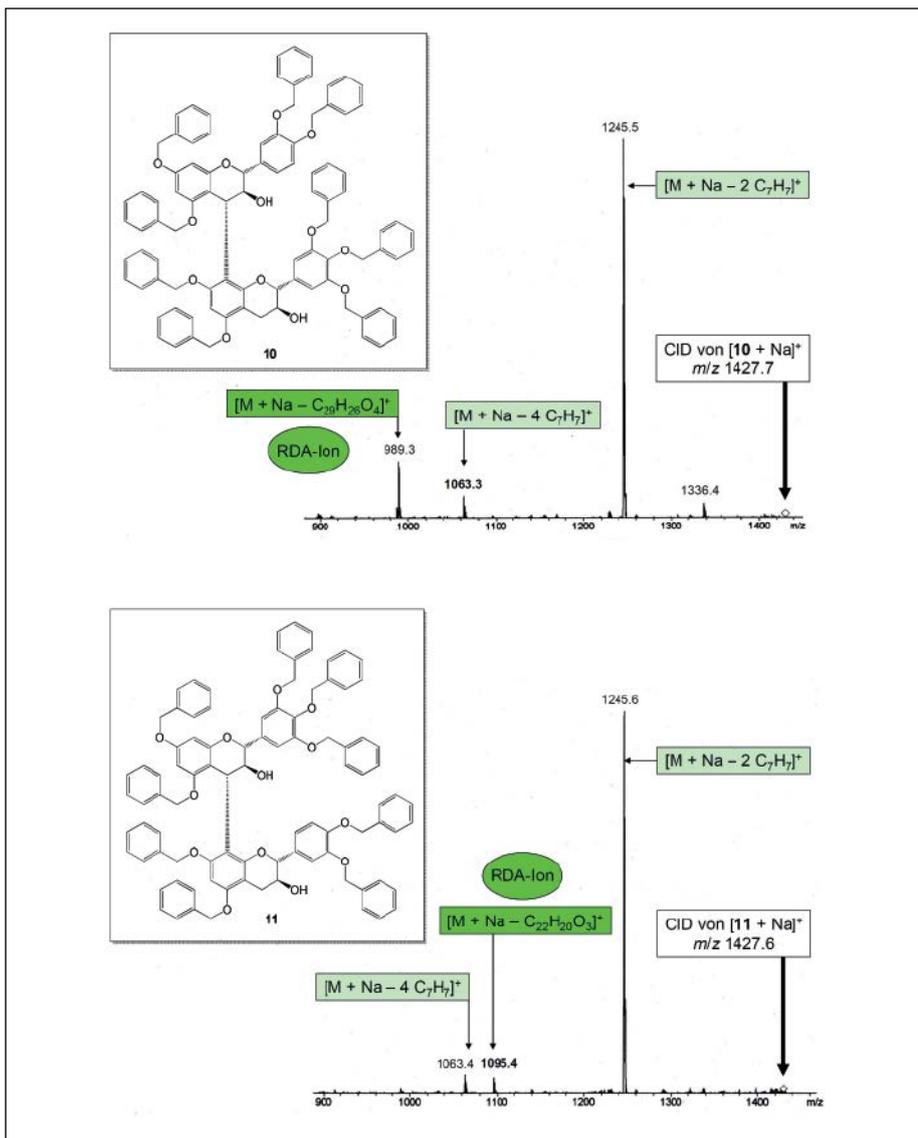


Abb. 6: ESI(+)-CID-Massenspektren der $[M + Na]^+$ -Ionen der isomeren Prodelphinidin -Oligobenzylether 10 (oben) und 11 (unten). Neben den dominierenden Verlusten jeweils zwei $C_7H_7^-$ -Resten treten zwei spezifische Fragmentierungen zu den Ionen m/z 989 bzw. m/z 1095 auf, die durch Retro-Diels-Alder-Reaktionen der „unteren“ Benzopyran-Gruppierungen aus $[10 + Na]^+$ bzw. $[11 + Na]^+$ zurückzuführen sind.

Massenspektrometrische Fragmentierungen

Ein einfaches Beispiel für die „Chemische Ratio“ von massenspektrometrischen Fragmentierungen betrifft das EI-Massenspektrum von Atrolactinsäure (7) (Abb. 4a). Die Molekülionen 7^{+} (m/z 166) verlieren Wasser (m/z 148) und das Carboxyl-Radikal ($\cdot COOH$) unter Bildung der Ionen mit m/z 121; der Basispeak aber erscheint bei m/z 43. Da das Ion $C_3H_5^+$ als Fragmentation ausscheidet, kann es sich nur um das Acetyl-Kation, CH_3CO^+ , handeln. Wie aber kann dieses Fragmentation aus dem Molekülion entstehen? Durch Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS oder MSⁿ) findet man die Sequenz $M^{+} \rightarrow [M - COOH]^+ \rightarrow [M - COOH - C_6H_6]^+$: Aus den primär entstehenden Fragmentationen mit m/z 121 wird durch eine Protonenwanderung Benzol (78 u) eliminiert. Wie „sauber“, also ohne jegliche Nebenreaktionen, derartige Fragmentierungsprozesse ablaufen können, zeigen die bei-

den so genannten MIKE-Spektren der M^{+} - und $[M - COOH]^+$ -Ionen (Abb. 4b und 4c) [7].

Eine ebenfalls unter EI-Bedingungen ablaufende Fragmentierungsreaktion mit hohem diagnostischem Wert ist die so genannte Retro-Diels-Alder- (RDA-) Reaktion. Sie gestattet in vielen Fällen sehr verlässlich, einen Cyclohexen-Baustein im Molekülgerüst und auch sein Substitutionsmuster zu erkennen. So lassen sich zum Beispiel die beiden Monoterpene α -Pinen (8) und Limonen (9) anhand ihrer EI-Massenspektren leicht unterscheiden. Während das Spektrum von 8 einen charakteristischen Basispeak bei m/z 93 ($C_7H_9^+$) aufweist, zeichnet sich das Spektrum von 9 durch den Basispeak bei m/z 68 ($C_5H_8^+$) aus (Abb. 5). Beim Limonen zerfällt das Molekülion durch die RDA-Reaktion in zwei isobare Fragmente: $9^{+} \rightarrow C_5H_8^+ + C_5H_8$, wobei der Sechsring nacheinander an den beiden schwachen allylischen C–C-Bindungen gespalten wird. Dies ist beim Molekülion des α -Pinsens nicht möglich; nach Aufbrechen des gespannten

Vierrings finden zunächst H-Verschiebungen statt und schließlich wird ein Propyl-Radikal abgespalten: $8^{+} \rightarrow [C_{10}H_{16}]^{+} \rightarrow C_7H_9^+ + C_3H_7^{\cdot}$. Von den $C_5H_8^+$ -Ionen aus 9 kann man mit Sicherheit annehmen, dass es sich um die Radikalkationen von Isopren, $[CH_2CHC(CH_3)CH_2]^+$ handelt; über die Struktur der $C_7H_9^+$ -Ionen aus 8 bestand dagegen lange Unklarheit. Durch eine ausführlich Untersuchung der *bimolekularen* Reaktivität authentischer $C_7H_9^+$ -Ionen – also solcher, deren Struktur sicher belegt ist – ließ sich zeigen, dass der Peak bei m/z 93 im EI-Massenspektrum von Limonen, aber auch der im Spektrum von α -Pinen, durch protoniertes Toluol, $[CH_3C_6H_5 + H]^+$, hervorgerufen wird. Von allen isomeren C_7H_8 -Kohlenwasserstoffen ist nämlich Toluol der am schwächsten basische; protoniertes Toluol ist folglich am stärksten sauer und überträgt sein Zusatz-Proton daher viel leichter auf zugesetzte basische Gase oder Dämpfe als andere $C_7H_9^+$ -Ionen. Hier können also die Basizität (GB) von neutralen Teilchen (bzw. die Acidität der protonierten Formen) in der Gasphase sogar zur Bestimmung der Struktur von Ionen im Massenspektrometer ausgenutzt werden [8].

Dass die Gesetzmäßigkeiten der Chemie und die Konsequenzen für Struktur und Reaktivität gasförmiger Ionen unabhängig von den eingesetzten massenspektrometrischen Methoden gelten, zeigt ein weiteres Beispiel, in dem wiederum die Retro-Diels-Alder Reaktion eine wichtige Rolle spielt [9]. Hier geht es jedoch wieder um große Moleküle, also solche, die unter EI-Bedingungen wegen ihrer extrem geringen Flüchtigkeit nicht ionisiert werden können. Die beiden Oligobenzylether 10 und 11, Abkömmlinge der so genannten Prodelphinidine, einer Gruppe dimerer Galloocatechine, lassen sich massenspektrometrisch unterscheiden. Hier lässt sich die ESI(+)-Methode erfolgreich anwenden. Diese Ionisierungstechnik liegt nahe, denn beide Moleküle enthalten mehrere Ether-Gruppierungen, und von Polyethern ist bekannt, dass sie mit Alkali-Kationen wie Na^+ , K^+ und auch NH_4^+ leicht Komplexe bilden.

In der Tat lassen sich unter ESI(+)-Bedingungen leicht die $[M + Na]^+$ -Addukte der neunfach benzylierten Prodelphinidine 10 und 11 erzeugen. Die in einer elektrischen Ionenfalle generierten Molekülionen $[10 + Na]^+$ und $[11$

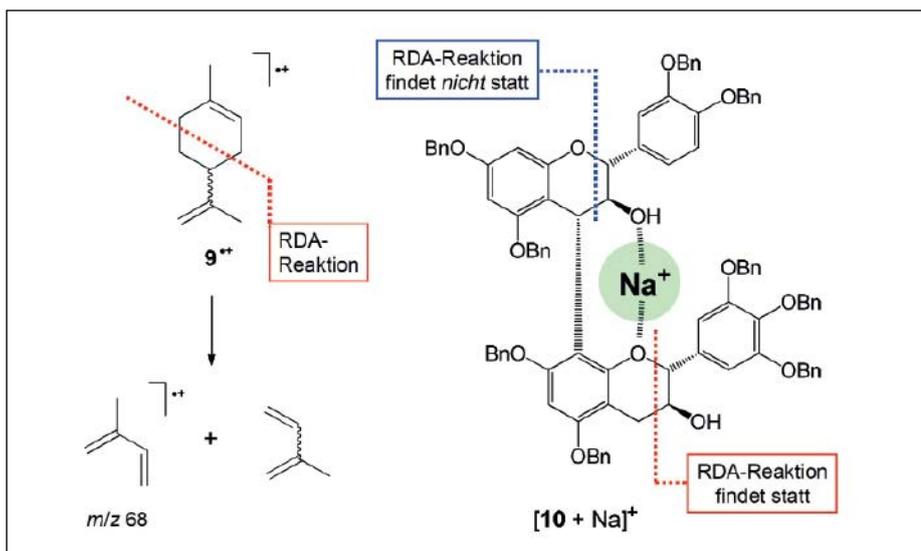


Abb. 7: Retro-Diels-Alder-Reaktion in den M^{++} -Ionen von Limonen (9) und den $[M + Na]^+$ -Ionen des Prodelphinidin-Nonabenzylethers 10. Die RDA-Fragmentierung bei 10 regiospezifisch: Sie findet nur am unteren Molekülteil statt, was die ESI/CID-Massenspektren der Isomere 10 und 11 (Abb. 5) belegen.

$+ Na]^+$ sind sehr stabil und müssen durch Stoßaktivierung (collision-induced dissociation, CID) zur Fragmentierung angeregt werden (Abb. 6). Neben dem überraschenden und mechanistisch ebenfalls interessanten Verlust von jeweils zwei Benzyl-Radikalen ($2 C_7H_7^+$, 182 u) beobachtet man auch die Eliminierung von intakten Molekülen mit 438 u aus den Ionen $[10 + Na]^+$ und mit 332 u aus den Ionen $[11 + Na]^+$. Dies erlaubt eine eindeutige Unterscheidung zwischen diesen beiden isomeren Prodelphinidin-Derivaten [9].

Die beiden Isomere 10 und 11 unterscheiden sich lediglich im Substitutionsmuster der beiden Aryl-Gruppen an den Positionen C-2 der beiden Benzopyran-Einheiten. Bei Verbindung 10 ist der „obere“ Aryl-Rest leichter als der „untere“; bei Verbindung 11 ist es umgekehrt. Die Peaks bei m/z 989 im Spektrum von 10 entstehen unter CID-Anregung der Molekülionen gemäß $[10 + Na]^+ \rightarrow [10 + Na - C_{29}H_{26}O_4]^+$, während die Ionen bei m/z 1095 im Spektrum von 11 analog gemäß $[11 + Na]^+ \rightarrow [11 + Na - C_{22}H_{20}O_4]^+$ erzeugt werden. Wie bei den M^{++} -Ionen des Limonens (Abb. 7a) unter EI-Bedingungen findet auch bei den $[M + Na]^+$ -Ionen von 10 und 11 unter ESI/CID-Bedingungen jeweils eine spezifische RDA-Reaktion statt. Dabei zerfällt aber ausschließlich der untere Benzopyran-Ring, während der obere die RDA-Reaktion nicht eingeht. Eine mögliche Erklärung besteht darin anzunehmen, dass das Na^+ -Ion von den Oxy-Funktionen zu einem stabilen Komplex koordiniert und so der obere Benzopyran-Ring stabilisiert wird – so dass nur der untere Molekülteil die diagnostisch wertvolle RDA-Fragmentierung erleidet.

Zusammenfassung

Die hier besprochenen Beispiele zeigen, wie vielfältig die Grundlagen der Chemie das massenspektrometrische Fragmentierungsverhalten unterschiedlichster Arten von Molekülionen

bestimmen. Mit den extrem vielfältigen Ionisierungstechniken und Massentrennungsmethoden entsteht ein sich immer weiter ausdehnendes Feld für die analytische Anwendung der Massenspektrometrie einerseits, aber auch für Reflektion massenspektrometrischer Phänomene auf der Grundlage chemischer Prinzipien. Kein Zweifel: Die Verflechtung von Physik und Chemie auf den Feldern der Massenspektrometrie bleibt zukunftsweisend.

Literatur

- [1] Linstrom P.J. und Mallard W.G. (Hrsg.): National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <http://webbook.nist.gov>. (Abfrage: 10. Februar 2013).
- [2] Gross J. H.: Massenspektrometrie – ein Lehrbuch, Springer, Berlin, 2013.
- [3] Lambert J. B. et al.: Spektroskopie – Strukturaufklärung in der Organischen Chemie, Pearson Deutschland, 2012.
- [4] Ulmer L. et al.: Eur. J. Mass Spectrom. 6, 49 (2000)
- [5] Vasilev Y. V. et al.: J. Phys. Chem. A 110, 5967 (2006)
- [6] Mughal E. U. und Kuck D.: Chem. Commun. 48, 8880 (2012).
- [7] Kuck D.: Eur. J. Mass Spectrom. 18, 161 (2012).
- [8] Mormann M. et al.: Int. J. Mass Spectrom. 249–250, 340 (2006)
- [9] Krohn K. et al.: Eur. J. Org. Chem. 2544 (2010)

► KONTAKT

Prof. Dr. Dietmar Kuck
Fakultät für Chemie
Organische Chemie I
Tel.: 0521/106-2060
Universität Bielefeld
dietmar.kuck@uni-bielefeld.de