

Einleitung

Im Rahmen dieses Teils der Lehrveranstaltung Analytische Chemie für Biologen und Pharmazeuten soll in diesem Teil eine Einführung in spektroskopische Methoden der Strukturaufklärung vorwiegend organischer Verbindungen gegeben werden. Es ist das Ziel, das Rüstzeug zu vermitteln, um die Struktur bzw. Konstitution organischer Verbindungen mit den heute üblichen spektroskopischen Methoden aufklären zu können. Es werden behandelt:

Massenspektrometrie (MS)

Infrarotspektroskopie (IR)

Elektronenspektroskopie (UV/VIS)

Kernresonanzspektroskopie (^1H -NMR, ^{13}C -NMR)

Auswahl von Literatur

D. H. Williams & I. Fleming,
Strukturaufklärung in der organischen Chemie,
Eine Einführung in die spektroskopischen Methoden,
6. neubearbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1991.

E. Pretsch, P. Bühlmann, C. Affolter, M. Badertscher,
Spektroskopische Daten zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen,
4. deutsche Auflage, Springer-Verlag Berlin, 2001.

P. Crews, J. Rodríguez, M. Jaspars,
Organic Structure Analysis,
Oxford University Press, New York, 1998.

M. Hesse, H. Meier & B. Zeeh,
Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie,
6. überarbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2002.

E. Pretsch, G. Thót, M. E. Munk, M. Badertscher,
Computer-Aided Structure Elucidation,
Wiley-VCH, Weinheim, 2002.

R. M. Silverstein, F. X. Webster,
Spectrometric Identification of Organic Compounds,
5th Edition, John Wiley and Sons, Inc., 1997.

S. Sternhell & J.R. Kalman,
Organic Structures from Spectra,
John Wiley & Sons Ltd., 1986.

E. Pretsch, J. Seibl, A. Manz & W. Simon,
Aufgabensammlung zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden,
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1985.

1. Massenspektrometrie, MS

(auch Massenspektroskopie, Massenspektrographie; engl.: mass spectrometry)

1.1. Allgemeines, Literatur

Grundsätzlich ist die Massenspektrometrie eine Methode zur Trennung und Messung von Massen. Sie ist eine der instrumentellen Analysemethoden, die die breiteste Streuung der Anwendung in den verschiedensten naturwissenschaftlichen Arbeitsgebieten gefunden haben. In der organischen Chemie sind derzeit die wohl wichtigsten Anwendungen die Molmassenbestimmung, Elementaranalyse, Strukturanalyse, Isotopenanalyse (Biosynthese mit stabilen Isotopen, quantitative Bestimmung von Metaboliten), Untersuchungen der Struktur und Reaktivität von Ionen in der Gasphase sowie die Messung von thermochemischen Daten (Ionisations-, Auftritts-, Dissoziationsenergien bzw. Protonen- und Elektronenaffinitäten etc.).

Die Massenspektrometrie wird allgemein als eine spektroskopische Methode betrachtet. Bezüglich ihrer strukturanalytischen Anwendung müsste man sie aber eigentlich im Gegensatz zu den übrigen im Rahmen dieser Vorlesung diskutierten spektroskopischen Methoden als Reaktionsspektroskopie bezeichnen, da sie auf einer Produktanalyse chemischer Prozesse (Fragmentierung) basiert.

In der sogenannten Tandem-Massenspektrometrie wird die chemische Arbeitsweise besonders augenfällig. Durch die Kopplung von mehreren Massenspektrometern gelingt es dort, in einer Sequenz von Reaktions- und Trennschritten in der Gasphase mehrstufige Ionen-Molekülreaktionen zu verfolgen. Diese Technik ist nicht nur für die Ionenchemie sondern auch für die Strukturaufklärung von Ionen von fundamentaler Bedeutung.

Die Massenspektrometrie eignet sich aber auch hervorragend zur Kopplung mit anderen chemischen Trennmethoden (engl.: hyphenated techniques). Solche Kombinationen, wie GC-MS, SFC-MS, LC-MS etc. werden im Teil "Chromatographische und Elektrophoretische Trennverfahren" behandelt.

1.1.1. Literatur MS (Lehrbücher und Monographien)

H. Budzikiewicz, C. Djerassi & D. H. Williams,
Mass Spectrometry of Organic Compounds,
Holden-Day, Inc., San Francisco, Cambridge, London, Amsterdam, 1967.

H. Budzikiewicz,
Massenspektrometrie,
VCH, Weinheim, 3. Auflage, 1992.

J. R. Chapman,
Practical Organic Mass Spectrometry,
John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1986.

R. Davis, M. Frearson,
Mass Spectrometry: Analytical Chemistry by Open Learning (ACOL)
John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1987.

A. G. Harrison,
Chemical Ionization Mass Spectrometry,
CRC Press Inc., Boca Raton, 1983.

C. G. Herbert, R. A. W. Johnstone,
Mass spectrometry basics,
CRC Press, Boca Raton, 2003.

T. A. Lee,
A Beginner's Guide To Mass Spectral Interpretation,
Wiley, Chichester, 1998.

D. M. Lubmann,
Lasers and Mass Spectrometry,
Oxford University Press, New York, Oxford, 1990.

F. W. McLafferty, F. Turecek,
Interpretation of Mass Spectra,
University Science Books, 4th Edition, 1993.

C. N. McEwen, B. S. Larsen (Eds.),
Mass Spectrometry of Biological Materials,
Marcel Dekker, Inc., New York, 1990.

B. Millard,
Quantitative Mass Spectrometry,
Heyden & Son Ltd., London, 1978.

H. R. Morris (Ed.),
Soft Ionization Biological Mass Spectrometry,
Heyden & Son Ltd., 1981.

Q. N. Porter,
Mass Spectrometry of Heterocyclic Compounds,
Wiley, New York, 2nd Edition, 1985.

E. Schröder,
Massenspektrometrie, Begriffe und Definitionen,
Springer-Verlag, Berlin, 1991.

J. Seibl,
Massenspektrometrie, Strukturbestimmung organischer Verbindungen,
Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 1970.

R. M. Smith, K. L. Busch,
Understanding Mass Spectra,
Wiley-Interscience, New York, 1999

G. R. Waller,
Biochemical Applications of Mass Spectrometry,
Wiley Interscience, New York, 1972, 1st Supplement, 1980.

F. A. White, G. M. Wood,
Mass Spectrometry: Applications in Science and Engineering,
John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1986.

J. Th. Watson,
Introduction to Mass Spectrometry,
Raven Press, New York, 1985.

1.1.2. Literatur MS (Periodica, Forschungsberichte und Datensammlungen)

BMS: Biological Mass Spectrometry,
Heyden & Son Ltd., London, 1974..., John Wiley & Sons, 1985..., 1991...,

IJMSIP: Int. J. of Mass Spectrometry and Ion Processes,
Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 1968...

JASMS: J. Am. Soc. Mass Spectrometry,
Elsevier Science Publishers Comp. Inc., New York, 1990...

MSB: Mass Spectrometry Bulletin,
AWRE Aldermaston, Berkshire, England, 1967...

MSR: Mass Spectrometry Reviews,
John Wiley & Sons, 1982...

OMS: Organic Mass Spectrometry,
Heyden & Son Ltd., London, 1968...

RCMS: Rapid Commun. Mass Spectrometry,
Heyden & Son Ltd., London, 1987...

Advances in Mass Spectrometry (biennial, div. Ed.),
Heyden & Son Ltd., London, 1978...

Mass Spectrometry: A Specialist Periodical Report (biennial, div. Ed.),
The Royal Society of Chemistry, London, 1971...

Catalog of Mass Spectral Data,
Manufacturing Chemists Association Research Project,
Carnegie Institute of Technology, Pittsburgh, Pa., USA.

Catalog of Mass Spectral Data,
American Petroleum Institute Research Project 44,
Carnegie Institute of Technology, Pittsburgh, Pa., USA.
ASTM Index of Mass Spectral Data,
Heyden & Son Ltd., London.

Compilation of Mass Spectral Data,
A. Cornu & R. Massot,
Heyden & Son Ltd., London.

Eight Peak Index of Mass Spectra,
Mass Spectrometry Data Centre (MSDC),
The Royal Society of Chemistry,
The University, Nottingham, England, 3rd Edition, 1983.

F. W. McLafferty, D. B. Stauffer,
The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data,
5th Edition, 7 Volume Set or CD-ROM,
John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1989.

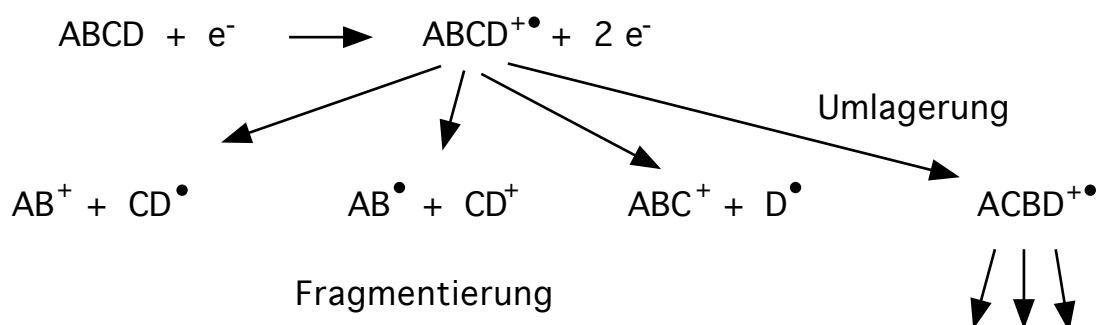
Massenspektrensammlung von Lösungsmitteln, Verunreinigungen,
Säulenbelegmaterialien und einfachen aliphatischen Verbindungen,
M. Spiteller & G. Spiteller,
Springer-Verlag, Wien, New York, 1973.

H. M. Rosenstock, K. Draxl, B. M. Steiner, J. T. Herron,
Energetics of Gaseous Ions,
American Institute of Physics (Am. Chem. Soc.),
Journal of Physical and Chemical Reference Data, Vol. 6, 1977.

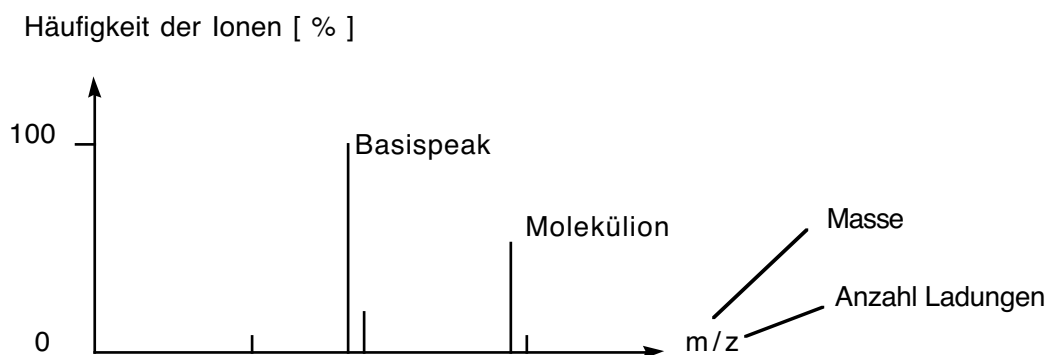
E. A. Stemmler und R. A. Hites,
Electron Capture Negative Ion Mass Spectra of Environmental Contaminants and
Related Compounds,
VCH Publishers Inc., New York, 1988.

1.2. Prinzip

Die Probe wird (üblicherweise gasförmig) einer Ionenquelle zugeführt. Es werden Ionen erzeugt, die durch elektrische Potentiale beschleunigt werden. Die Ionen werden dann entsprechend ihrer Masse aufgetrennt und registriert. Für ein hypothetisches Molekül ABCD ergibt sich bei Elektronenstossionisation (EI):

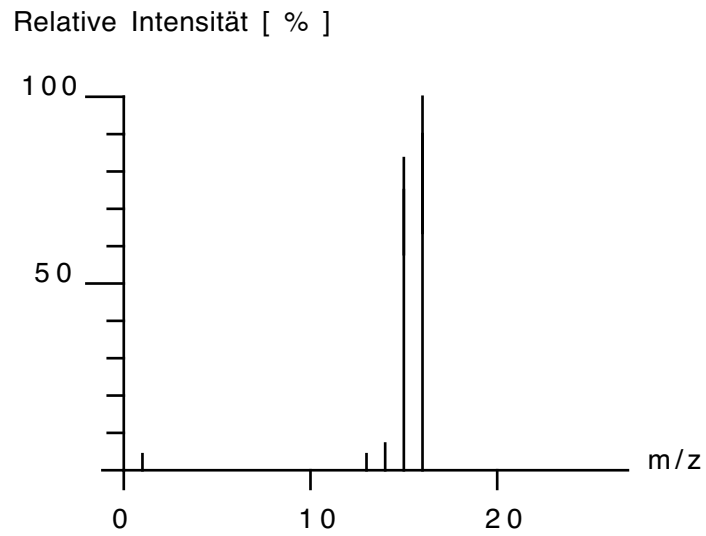


Die dabei anfallende Population positiver Ionen ist meist wesentlich grösser als jene der negativen Ionen. Schon nach 10^{-5} sec ist die unimolekulare Bildung von Fragment-Ionen weitgehend abgeschlossen. Die dann vorgenommene Analyse der Produktverteilung führt zum normalen Massenspektrum:



Eigentlich kann man in der Massenspektrometrie nicht die Massen selbst bestimmen, sondern nur das Verhältnis von Masse zu Ladung m/z . Die Häufigkeit der Ionen wird relativ zum stärksten Signal, dem so genannten *Basispeak*, angegeben. Man definiert die Intensität des Basispeaks zu 100 %. Das einfach geladene Molekül bezeichnet man als *Molekülion*. Meist gibt es in einem Spektrum Signale mit einer höheren Masse als dem Molekülion. Die chemischen Elemente liegen in der Natur oft als Isotopengemische vor. Der natürliche Kohlenstoff besteht zu etwa 99 % aus ^{12}C und dem Rest ^{13}C . Moleküle mit ^{13}C erscheinen bei einer höheren Masse als das Molekülion. Man bezeichnet diese Signale als *Isotopensignale*.

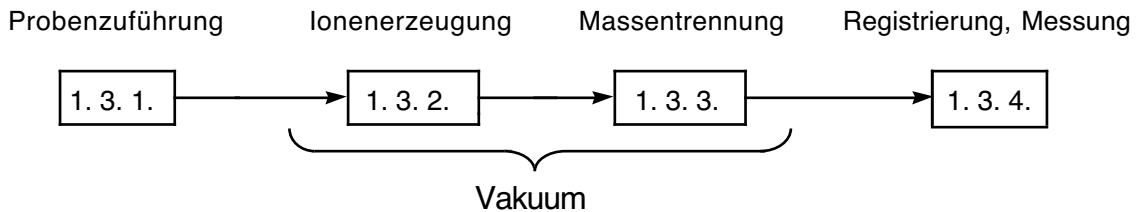
Hier ist als Beispiel das EI-Massenspektrum von Methan gezeigt.



<u>m/z</u>	<u>Relative Intensität [%]</u>
1	3.1
2	0.2
12	1.0
13	3.9
14	9.2
15	85.0
16	100.0
17	1.1
18	0.01

1.3. Aufnahmetechnik, Instrumentierung

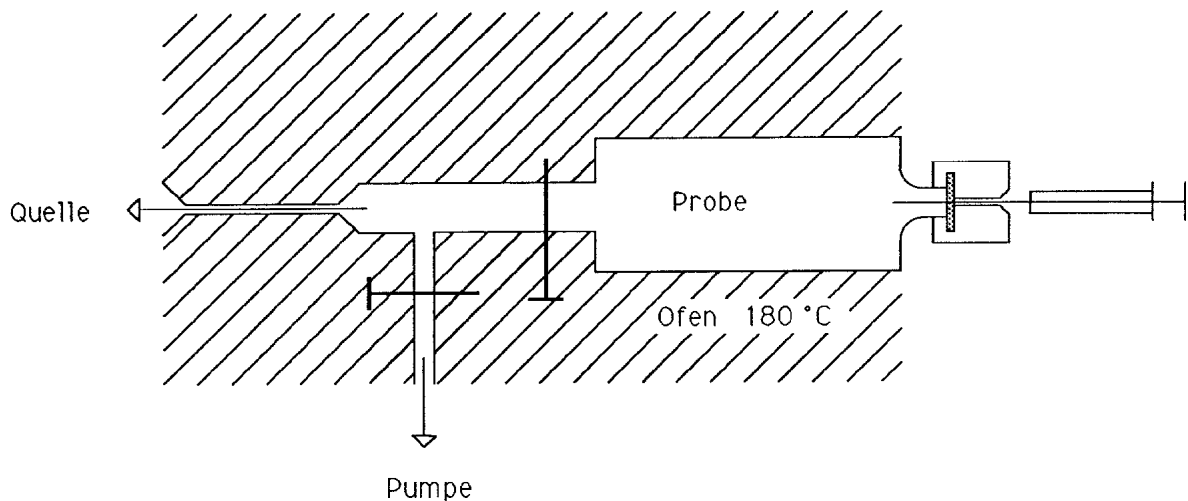
Die wesentlichen Teile für die Aufnahme eines Massenspektrums werden in den folgenden Kapiteln beschrieben.



1.3.1. Probenzuführung

1.3.1.1. Indirekt

Die Probe wird verdampft und in ein geheiztes Vorratsgefäß geführt, aus dem sie über ein Molekularleck (kleine Ausflussöffnung oder Kapillare) mit konstantem Druck in die Ionenquelle strömt, heute meist ausgebildet als sogenannter "septum inlet":



$$\frac{Q_1}{Q_2} = \frac{p_1}{p_2} \sqrt{\frac{M_{r,2}}{M_{r,1}}}$$

Q : Fluss
 p : Partialdruck
 M_r : relative Molmasse

Die indirekte Probenzuführung liefert die am besten reproduzierbaren Spektren. Sie ist geeignet für quantitative Gemischanalysen. Im Vorratsgefäß sind um 10^{-3} mbar Dampfdruck erforderlich. Die Anwendbarkeit ist daher beschränkt auf relativ flüchtige Verbindungen. Der Probenaufwand beträgt ca. 1000–100 μg .

1.3.1.2. Direktzuführung

Die Probe wird auf kürzestem Weg in den ionisierenden Elektronenstrahl verdampft. Die Unterschiede gegenüber der indirekten Probenezuführung können in folgenden Punkten zusammengefasst werden:

- Verminderte Reproduzierbarkeit, Gefahr thermischer Zersetzung
- Nicht geeignet für quantitative Gemischanalysen, da fraktionierend
- Probenaufwand ca. 1 μg ; bei verlustarmer Zuführung (z. B. durch direkte Kombination mit einem Kapillar-Gaschromatographen) ca. 1 ng
- Nötiger Dampfdruck der Probe: 10^{-6} – 10^{-7} mbar

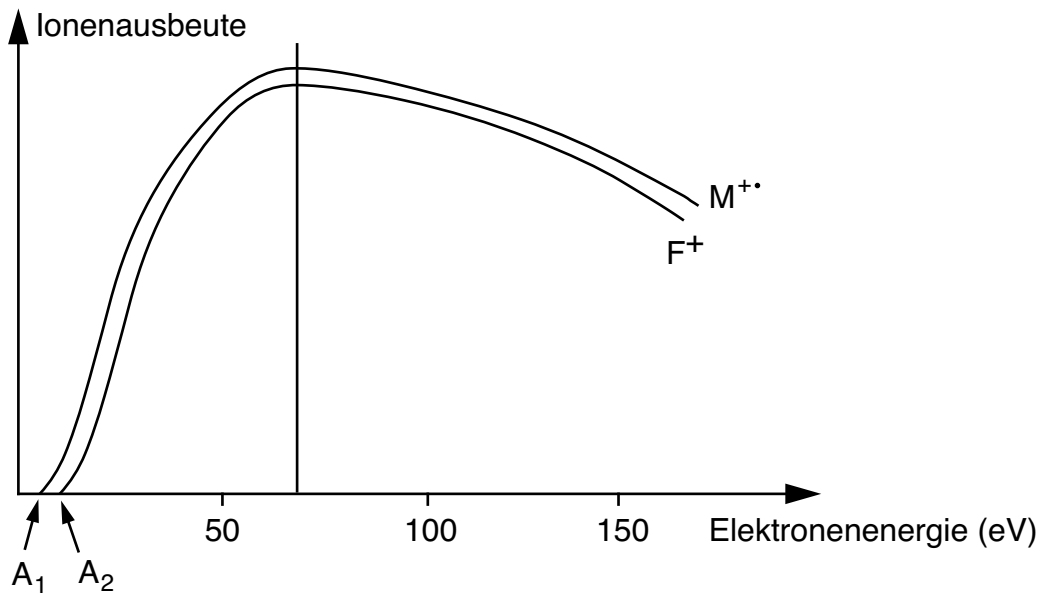
1.3.1.3. Desorption

Kaum flüchtige oder thermisch besonders empfindliche Proben werden auf Probenträgern in den Ionisationsraum geführt und durch starke elektrische Felder oder Beschuss mit energiereichen Photonen, Ionen oder Neutralpartikeln in die Gasphase desorbiert. Oft ist damit auch direkt eine Ionisation der Probe verbunden. Dies führt zur Familie der DI-Methoden (desorption ionization) wie FD, FAB, LD, PD (siehe 1.3.2).

1.3.2. Ionenerzeugung

1.3.2.1. Elektronenstossionisation

Die analytisch wichtigste Methode ist nach wie vor die Elektronenstossionisation (EI). Als Elektronenquelle dient eine Glühkathode aus Wolfram oder Rhenium. Üblicherweise werden Elektronen mit einer Energie von 70 eV (ca. 6500 kJ mol⁻¹) verwendet. Bei dieser Energie sind Ionenausbeute und Reproduzierbarkeit optimal:



- A_1 Ionisationsenergie des Moleküls (ergibt M^+)
 A_2 Auftrittsenergie eines Fragmentions F^+

Verwandte Techniken sind Photoionisation, Thermionisation, Funken- und Glimmentladungen, Elektronenanlagerung. Neben EI haben auch Chemische Ionisation, Felddesorption, Desorption unter Teilchenbeschuss (DI-Methoden) sowie die "Spray"-Ionisation grosse praktische Bedeutung erlangt. Diese Techniken sollen deshalb im Folgenden kurz vorgestellt werden:

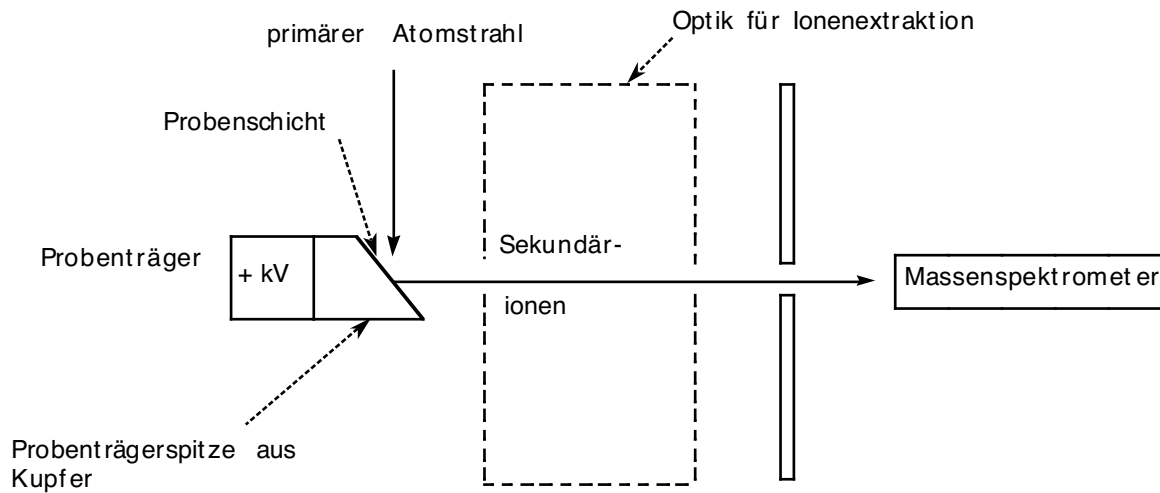
1.3.2.2. Chemische Ionisation

Bei der Chemischen Ionisation (CI) wird durch Elektronenstoss zuerst ein Hilfsgas (z. B. 1 mbar Methan, Isobutan, Ammoniak oder Wasser) ionisiert. Die Reagens-Ionen bilden dann in der CI-Quelle durch H^+ -Anlagerung (z. B. aus CH_5^+), H^+ -Abstraktion (z. B. an OH^-) oder Elektronenübertragung (z. B. auf Ar^+) weitere Ionen aus der zu untersuchenden Probe. Die Tendenz zur Bildung von Fragmentionen ist dabei gering ("soft ionization"). Das Verfahren wird vor allem in der biochemischen und medizinischen Analytik angewendet und eröffnet auch die Möglichkeit der Analyse negativer Ionen (NCI).

1.3.2.3. FAB-Methode

Sehr gut geeignet zur Ionisation von polaren, thermolabilen Verbindungen und technisch einfach ist die *FAB-Methode* (fast atom bombardment, ab 1981). Hier wird die Probe in einer "Matrix" (z.B. Glycerin, Thioglycerin, Nitrobenzylalkohol) gelöst und auf einem Träger in der Ionenquelle mit schnellen (8...35 keV) neutralen Atomen (Ar^0 , Xe^0) oder Ionen (Cs^+ , LSIMS liquid secondary ion mass spectrometry) beschossen. Dabei entstehen vorwiegend die Ionen $[M+H]^+$ und $[M-H]^-$ sowie wenige Fragmente,

entsprechend einer EI-Ionisation mit einer Elektronenenergie von 15–25eV. Die Matrix spielt eine zentrale Rolle (Anreicherung, Energieverteilung, Protonierung), die aber im Detail noch ungenügend verstanden wird. Der Nachteil dieser Technik ist die Anwesenheit von Signalen der Matrixmoleküle, die mit dem Spektrum der Probe überlagert sind.



Schematische Darstellung einer FAB-Ionenquelle

Verwandte "Matrix"-Methoden sind CF-FAB (continuous flow FAB) und PD (plasma desorption mit ^{252}Cf -Zerfallsprodukten).

1.3.2.4. Felddesorption

Bei der Felddesorption (FD) werden Ionen durch extrem starke, inhomogene elektrische Felder an der Oberfläche speziell aktivierter Emitter erzeugt. Da die Probe dabei nicht verdampft werden muss, eignet sich dieses Verfahren für die Analyse gewisser sehr schwerflüchtiger (z. B. Salze) und/oder thermisch empfindlicher Verbindungen.

1.3.2.5. "Spray"-Methoden

Nach einem völlig anderen Prinzip arbeiten die sog. "Spray"-Methoden (ab 1985: TSI thermo-, PSI plasma- bzw. ESI electro-spray ionization). Gemeinsames Merkmal ist die Bildung von elektrisch geladenen, feindispersen Tröpfchen (Aerosol) aus einer Probenlösung unter Normaldruck (API atmospheric pressure ionization) oder bei einigen mbar. In einer heiklen Trennstufe wird das Lösungsmittel abgezogen ("desolvation"), was die elektrische Feldstärke an der Oberfläche über einen kritischen Wert bringt. Durch "Coulomb-Explosion" zerfallen diese Gebilde zu ganzen Serien von mehrfach geladenen Ionen vom Typ $[\text{M}+\text{nH}]^{n+}$ (bei ESI $n=1\dots 70$), die dann über Druckreduzierstufen in ein Massenspektrometer geführt werden. Da die Massenskala ja eine m/z -Achse ist, wird dabei eine entscheidende Ausdehnung des Messbereiches erzielt.

1.3.2.6. Laser-Methoden

Laser werden zur weichen Nachionisation der neutralen Komponenten, die in fast allen Desorptions-Methoden bei weitem dominieren, eingesetzt. Dadurch erzielt man eine wesentliche Steigerung der Ionenausbeute bzw. der Empfindlichkeit. Man kann Laser aber auch zur direkten Ionenproduktion aus dem Festkörper benützen (Laser Desorption Mass Spectrometry, LDMS), allenfalls unter Mitbenutzung einer Matrix, in die die Analyt-Moleküle eingebettet werden (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, MALDI). Schliesslich existieren Methoden, die mit einem Desorptionslaser und einem zweiten Laserstrahl zur Nachionisation arbeiten (Two-Step Laser Mass Spectrometry, L2MS).

1.3.3. Massentrennung

1.3.3.1. Magnetisches Sektorfeld

Eine klassische und analytisch wichtige Methode der Massentrennung ist die Ablenkung der Ladungsträger in einem *magnetischen Sektorfeld*. Voraussetzung hierzu ist die Beschleunigung der gebildeten Ionen auf eine konstante kinetische Energie ($z U$):

$$z U = \frac{m}{2} v^2 \quad (1)$$

z : Ladung des Ions

U : Beschleunigungsspannung (2000–8000 V)

m : Masse des Ions

v : Geschwindigkeit des Ions

Die Endgeschwindigkeit v ist massenabhängig:

$$v = \sqrt{\frac{2 z U}{m}} \quad (2)$$

Im magnetischen Sektorfeld B ist der Ablenkradius r abhängig vom Quotienten Impuls/Ladung:

$$r = \frac{m v}{z B} \quad (3)$$

Dabei ist: B: Magnetische Induktion (Flussdichte)
 Im Vakuum: $B_0 = \mu_0 H$
 mit: H: Magnetfeldstärke
 $\mu_0 = 4 \pi 10^{-7} \text{ Vs/Am}$

Eliminieren von v aus (2) und (3) ergibt die Grundgleichung des Massenspektrometers:

$$\frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2}{2 U} \quad (4)$$

Bei fester Geometrie r und Beschleunigungsspannung U wird somit am Spalt die Grösse m/z in Abhängigkeit von B^2 durchlaufen. Dies wird als Magnetscan bezeichnet.

Terminologie und Einheiten

m : Masse eines Teilchens (Ion, Atom, Atomgruppe), gemessen in Dalton,

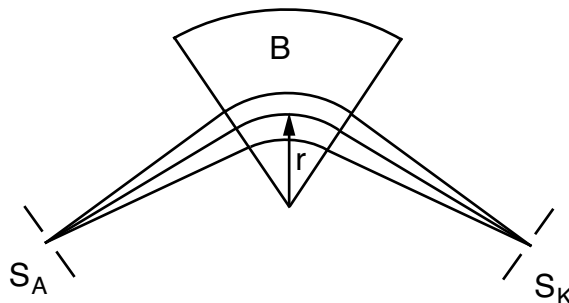
m/z : Verhältnis Masse zur Anzahl der Elementarladungen,

Dalton: Atomare Masseneinheit. Definiert als 1/12 der Masse des neutralen Kohlenstoffisotops ^{12}C (Chemischer Massenstandard),

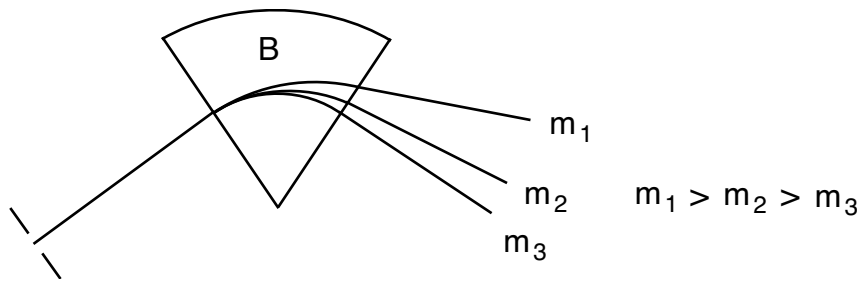
u : "units", gleichbedeutend wie Dalton, auch μ ("milli units") = $10^{-3} u$.

amu : "atomic mass unit", dito aber veraltet.

Das magnetische Sektorfeld bildet ein ionenoptisches System, das, analog zu einer Linse, fokussierend bezüglich der Einfallsrichtung der Ionen wirkt. Dabei wird der Objektspalt S_A auf den Kollektorspalt S_K abgebildet:



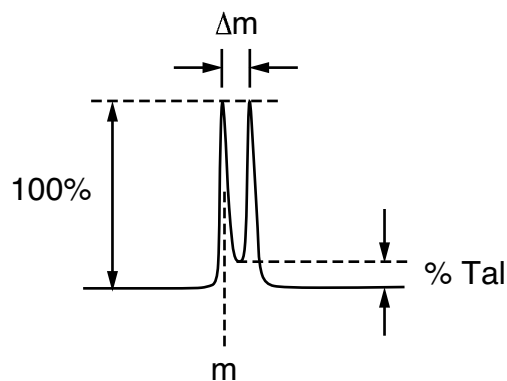
Bezüglich Impuls/Ladung (mv/z) wirkt das Magnetfeld dispergierend wie ein Prisma. Aus der Beschleunigungsbeziehung (2) resultiert aber auch eine Dispersion der "Masse" sowie der kinetischen Energie der Teilchen. Dies ist ein sehr wichtiges Ergebnis.



Das Auflösungsvermögen A eines Sektorgerätes wird definiert als das Verhältnis zwischen der Masse m eines Ions und der minimalen Massendifferenz Δm zu einem benachbarten Ion, bei der gerade noch getrennte Signale beobachtet werden können:

$$A = \frac{m}{\Delta m} \quad (5)$$

Wann zwei Signale noch als getrennt zu betrachten sind, wird definiert durch die Angabe in %-Tal (normalerweise 10%) zwischen zwei gleich hohen Signalen:

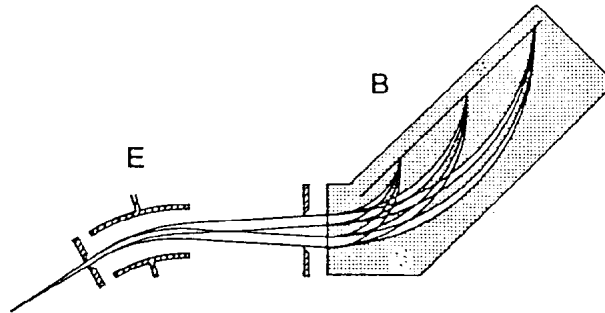


Ein Instrument, das nur ein Sektormagnetfeld als Analysator verwendet, ist somit *einfach* (d. h. nur bezüglich der Richtung der Ionen) fokussierend. Mit einem maximalen Auflösungsvermögen von etwa 1000–5000 ist dabei noch keine Hochauflösung möglich. Neue Geräte mit dieser Geometrie werden deshalb heute kaum mehr angeboten.

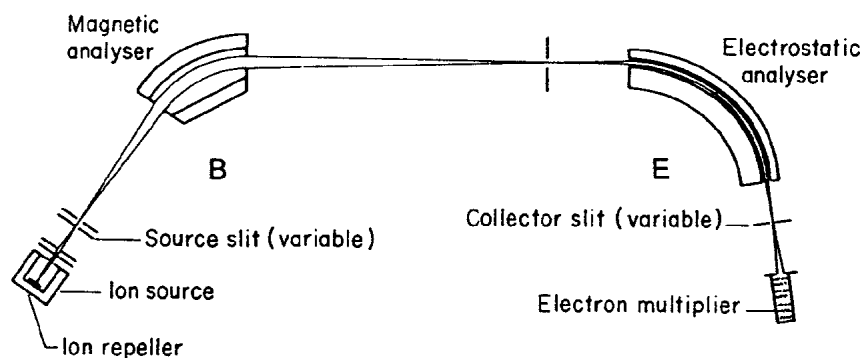
1.3.3.2. Doppelt fokussierende Sektor-Massenspektrometer

Die aus der Quelle beschleunigten Ionen besitzen immer eine endliche Energieverteilung von einigen eV Breite. Auch bei sehr hoher Beschleunigungsspannung U wird somit die Energiedispersion des Magnetfeldes das Auflösungsvermögen A begrenzen. Dieser Fehler kann in Kombination mit einem elektrischen Sektorfeld E behoben werden. Wird die Energiestreuung des Magnetfeldes durch das elektrische Sektorfeld E kompensiert, so resultiert eine doppelte, Richtung und Energie der Ionen erfassende Fokussierung, was Hochauflösung mit einem Auflösungsvermögen von 10'000–100'000 erlaubt.

Die sogenannte Herzog-Mattauch-Geometrie (EB-Anordnung) fokussiert alle Ionenbündel genau in eine Ebene und ist somit für moderne Mehrkanaldetektion geeignet:



Die Analysatoren können auch vertauscht werden (BE-Anordnung). Sehr verbreitet sind Instrumente mit so genannter "umgekehrter" Nier-Johnson-Geometrie:

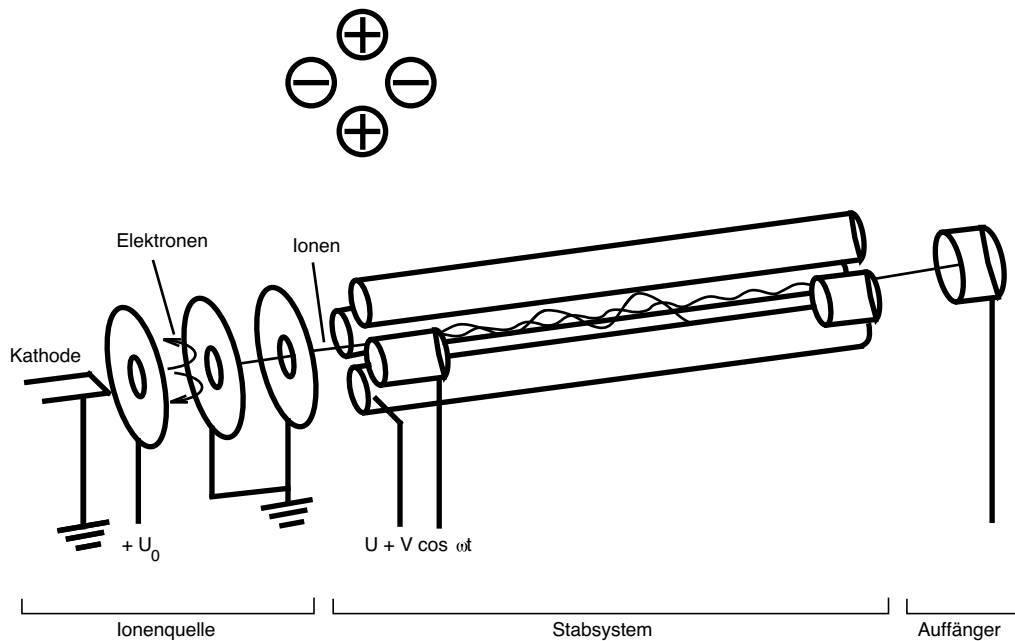


Wegen des intermediären Schlitzes kann diese Geometrie zusätzlich als einfachste Form einer Tandem-MS-Anordnung (vgl. 1.1.) betrieben werden, wobei das Magnetfeld B zur Massenselektion, das elektrische Feld E für die Produktanalyse dient (MIKES: vgl. 1.3.5.2.). Eine bedeutend bessere Auflösung bei der Massenselektion ("parent ion") und bei der Produktanalyse ("daughter spectrum") wird erreicht, wenn drei oder mehr Sektoren hintereinander angeordnet werden ("Vielsektorgeräte"). Kombinationen von Sektoren mit Quadrupol-Massenfiltern sind ebenfalls möglich ("Hybridgeräte").

1.3.3.3. Quadrupol-Massenfilter

Diese einfache Massentrennmethode hat eine zum magnetischen Sektor vergleichbare Bedeutung erlangt. Dies gilt besonders für GC-MS und LC-MS, sowie bei allen Anwendungen, die hohen Quellendruck erfordern (z. B. CI, Spray-Technik) und bezüglich Massenbereich, wie Auflösungsvermögen geringere Ansprüche stellen. Das Quadrupol-Massenspektrometer ist klein, leicht und benötigt kein Magnetfeld. Entsprechende Geräte können sehr kompakt und völlig mikroprozessorgesteuert gebaut werden.

Man findet etwa folgenden prinzipiellen Aufbau (hier mit EI-Quelle):



Das Quadrupol-Stabsystem ist ein reiner Bahnstabilitätsfilter ohne ionenoptische Eigenschaften. Es wird betrieben durch Überlagerung einer Gleichspannung U_0 und einer Radiofrequenzspannung $V_0 \cos(\omega t)$ zwischen meist vier hochpräzisen Stabelektroden. Die Ionen werden durch eine niedrige Extraktionsspannung von 20 ± 10 V koaxial in das Stabsystem eingezogen und durchlaufen dieses bei gegebenem m/z nur unter bestimmten Spannungsverhältnissen und Frequenzen. Unpassende Ionen werden an den Stäben entladen. Der Bahnverlauf wird mit Hilfe Mathieu'scher Differentialgleichungen beschrieben.

Der Arbeitspunkt des Filters wird durch Änderung des Quotienten U_0/V_0 bei konstanter Frequenz ω gesteuert. Die Extraktionsspannung hat keinen direkten Einfluss. Somit ist das Quadrupol-Massenfilter eine der raren Anordnungen, die effektiv nach m/z trennt. Ein Massenbereich von m/z 1000 ist Routine, die obere Grenze liegt bei etwa m/z 4000. Das Auflösungsvermögen ist hier definiert als konstantes $\Delta m/z$. In der Regel wird bloss sogenannte Einheitsauflösung ($\Delta m/z = 1$) über den ganzen Massenbereich erreicht.

Quadrupol-Massenfilter können keine Übergangssignale (vgl. 1.3.5.1.) liefern, eignen sich aber hervorragend zum Bau von Tandem-Massenspektrometern (vgl. 1.1.). Bei drei in Serie geschalteten Massenfiltern ("Triplequad") dient das mittlere als Kollisionszelle zur Erzeugung von Fragmentionen durch CID (collision induced decomposition).

1.3.3.4. Quadrupol-Ionenfallen (ion-traps, QUISTOR quadrupole ion storage)

In einem axialsymmetrischen Quadrupolfeld zwischen einer Ringelektrode und zwei Polkappen können Ionen eines breiten m/z -Bereiches auf stabilen, geschlossenen Bahnen "geparkt" werden (Paul-Falle). Ein Bremsgas (10^{-6} bar Helium) hält dabei durch "Reibung" den Bahnradius klein. Durch Verstellen des Arbeitspunktes werden Ionen mit bestimmten m/z -Werten instabil und aus der Falle hinausgeworfen. Eine der Polkappen ist zu diesem Zweck als Gitter ausgebildet. Dahinter ist ein normaler Detektor angeordnet, der während des "Leerens" der Falle ein Massenspektrum anzeigt.

1.3.3.5. Flugzeit-Massenspektrometrie (TOF time-of-flight-MS)

Da die Geschwindigkeit der Ionen nach Durchlaufen eines Spannungsgefälles eine Funktion von m/z ist, kann m/z durch Messung der Flugzeit bestimmt werden (vgl. Gleichung 2). Die Methode wurde entscheidend weiterentwickelt ("reflectron") und hat so in Verbindung mit gepulster Ionisation (Laserdesorption (LD), Californium-plasmadesorption (PD)) erneut grosse Bedeutung erlangt. Ein besonderer Vorteil der Methode besteht in der Möglichkeit, in einem einzigen Schritt das ganze Massenspektrum registrieren zu können. Flugzeit-Massenspektrometer brauchen eine Art Startschuss, bei dem die Ionen gleichzeitig erzeugt werden.

1.3.3.6. Ionen-Cyclotron-Resonanz (ICR, FT-ICR)

Nach Formel (3) stellt v/r direkt die Kreisfrequenz von bewegten Ladungen in einem Magnetfeld B dar. Somit ist $Bz/2\pi m$ die radiusunabhängige Cyclotron-Resonanzfrequenz. Eine Frequenzanalyse mittels Fourier-Transformation kann Massenspektren sehr hoher Auflösung ($A = 10^6$) liefern, falls der Probedruck $\leq 10^{-13}$ bar beträgt.

1.3.4. Ionennachweis, Registrierung, Peakerkennung, Massenzuordnung, Darstellung

Bei allen Geräten, die mit einer Kollektorblende arbeiten, lässt sich der austretende Ionenstrom direkt messen. Eine sogenannte Konversionsdetektion verbessert aber die Empfindlichkeit um mehrere Zehnerpotenzen. Hierzu werden die Ionen nachbeschleunigt und mit einer Dynode zur Kollision gebracht, wobei Sekundärelektronen entstehen, die in einem Sekundärelektronenvervielfacher vervielfacht werden. Noch zuverlässiger arbeitet eine Konversion in Photonen mit nachgeschaltetem Photomultiplier ("Daly detector"). Bei all diesen Varianten bleibt die Proportionalität zum Eingangssignal über einen weiten dynamischen Bereich gewahrt. Bei Geräten des Herzog-Mattauch-Typus wurde früher eine Photoplatte in die Fokusebene gelegt. Die auftreffenden Ionen schwärzten die Platte. Ein moderner Ersatz für Geräte der höchsten Empfindlichkeitsklasse bietet die elektronische Bildfeld-Detektion.

Der verstärkte und gefilterte Ionenstrom wird heute bei praktisch allen Geräten digital abgetastet und die zeitliche Folge der Messwerte in einem Computer gespeichert. Das ergibt, je nach Massenbereich und Auflösung, bis zu 10^5 Messpunkte pro Massendurchlauf. Ein so kontinuierlich registriertes Spektrum kann wie ein Analogspektrum behandelt werden, insbesondere ist eine Summierung/Mittelung von aufeinanderfolgenden Scans via MCA (multi-channel averaging) möglich. Für eine effiziente Bearbeitung und Archivierung ist jedoch eine zusätzliche Datenreduktion erforderlich. Mit einem effizienten Algorithmus werden dabei Peaks erkannt und ihre Schwerpunktskoordinaten (Zeit und Amplitude) in einer Tabelle abgelegt ("Centroidierung"). So kompaktierte Massenspektren können nur noch als Strichspektren ("stick plot") dargestellt werden, da keine Information mehr über die Signalform vorhanden ist.

Die Massenzuordnung stellt eine Umrechnung der Zeit- in Massenwerte dar. Hierzu wird eine bekannte Referenzverbindung (z. B. Perfluor-tributylamin, PFTBA) unter gleichen Bedingungen gemessen und das erhaltene Spektrum zu einer Eichfunktion verarbeitet. Centroidierung und Massenzuordnung laufen heute "online", d.h. während der Messung, was bei langen GC-MS-Experimenten natürlich von grossem Vorteil ist.

Die Massenbestimmung mit hoher Auflösung läuft prinzipiell gleich ab, nur ist die Anwesenheit der Referenz während der ganzen Messung erforderlich. Nach der genauen Eichung jedes Scans werden die Referenzpeaks vom Probenspektrum subtrahiert. Fluorierte Referenzverbindungen liefern dank der hohen Massendifferenz relativ zu anderen organischen Ionen gut aufzulösende Signale für Ionen gleicher nominaler Masse. Bei sehr hohen Anforderungen an die Genauigkeit ist zusätzlich Hochauflösung indiziert (vgl. 1.4.2.3.) und der Magnetscan wird durch die "peak matching"-Technik ersetzt.

Das Massenspektrum ist die Darstellung der Häufigkeit aller gefundenen Ionen als Funktion ihres Masse/Ladungs-Verhältnisses. Der stärkste Ausschlag wird als Bezugspunkt (Basispeak = 100%) gewählt und die relative Intensität der übrigen Signale in % des Basispeaks angegeben. Oft ist auch noch die absolute Intensität der Signale (in pA) bekannt. Eine wichtige zusätzliche Information stellt der Totalionenstrom (TIC total ion current) dar. Die Summe aller Ionenströme ist nämlich direkt mit dem Probendruck korrelierbar. Die Angabe in "% of TIC" ergibt dann das so genannte Verzweigungsverhältnis der Fragmentbildung ("branching ratio"), eine nützliche kinetische Grösse.

Die Darstellung erfolgt entweder als Graphik (übersichtlich, ungenau), wobei schwache Signale zonenweise verstärkt wiedergegeben werden, oder als Tabelle (unübersichtlich, genau).

Beispiel: 70eV-EI-Massenspektrum von n-Tetracontan (C₄₀H₈₂, M_r=562.64)

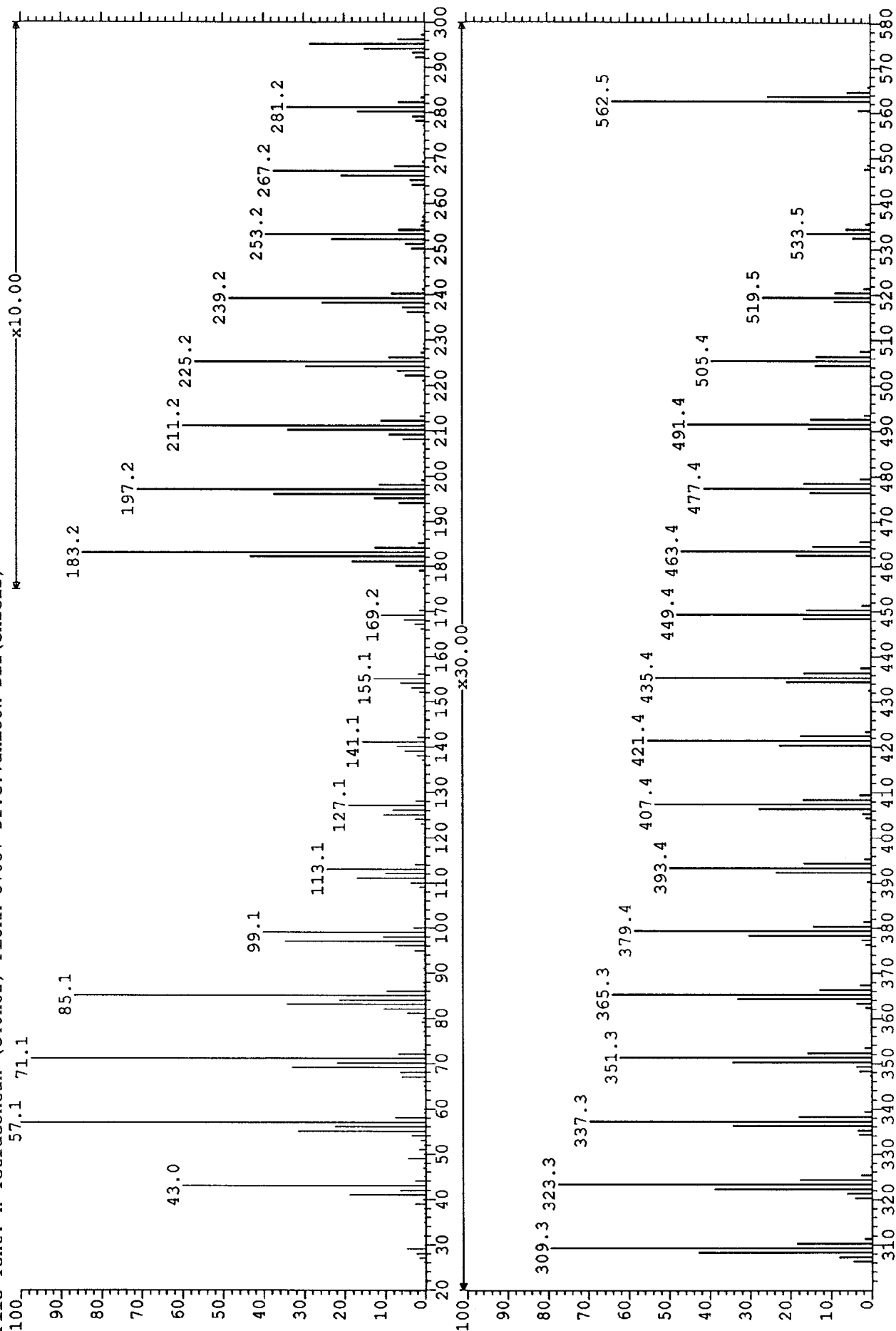
Anfang und Ende der ausführlichen Massenliste und Massenspektrum

```

! MS_USER:TETRACONTAN.LIS 15-AUG-1991 16:01
! Listing of annotated peaks for -
!   data file TEI2430
!   data identifier 12 Mer Def 1.00
! File:TEI2430 Ident:12 Mer Def 1.00 Acq: 9-JUL-1991 15:30:09 +1:03
! Tribid EI+ Magnet BpM:57 BpI:22652380 TIC:236868400
! File Text: n-Tetracontan (C40H82) FLUKA 87087 Dr.G.vanLook DEI(CH2C12)
! Axis display range X MASS (20.00, 580.00)
! Normalising intensity 2.26524E+07
! Annotation threshold 1.00% of normalising intensity
!
!   COUNTER      ABS      ABS      % OF      % OF
!   .   MASS      HEIGHT   HEIGHT   TIC
!
!           1  562.5023  4.815360E+05   2.13   0.204
!           2  505.4153  2.959360E+05   1.31   0.125
!           3  491.4403  3.393280E+05   1.50   0.143
!           4  477.3902  3.106560E+05   1.37   0.131
!           5  463.4187  3.527680E+05   1.56   0.149
!           6  449.4302  3.609600E+05   1.59   0.152
!           7  435.3843  4.008960E+05   1.77   0.169
!           8  421.3781  4.162560E+05   1.84   0.176
!           9  407.3748  4.021760E+05   1.78   0.170
!           -      -      -      -      -
!          89  58.0519  1.699750E+06   7.50   0.717
!          90  57.0529  2.265238E+07  100.00  9.563
!          91  56.0452  5.058560E+06  22.33   2.135
!          92  55.0385  7.155712E+06  31.59   3.021
!          93  54.0307  7.646720E+05   3.38   0.323
!           -      -      -      -      -
!          98  43.0368  1.358643E+07  59.98   5.736
!          99  42.0373  1.442816E+06   6.37   0.609
!         100  41.0301  4.249600E+06  18.76   1.794

```

File: TEI2430 Ident: 12 Mer Def 0.25 Acq: 9-JUL-1991 15:30:09 +1:03
 Tribrid EI+ Magnet BpM: 57 BpI: 22652380 TIC: 236868384
 File Text: n-Tetracontan (C40H82) FLUKA 87087 Dr.G.vanLook DEI (CH2C12)



1.3.5. MS-Hilfstechniken und einige Begriffe der Tandem-Massenspektrometrie

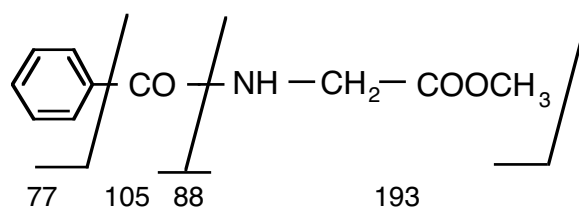
Die genaue Kenntnis der Herkunft von gewissen Fragmenten bildet oft den Schlüssel zur Ausarbeitung von Strukturvorschlägen aus Massenspektren. Ist gesichert, dass ein Ion m_2^+ aus m_1^+ gebildet wird, so weiss man auch, dass m_2^+ als Substruktur in m_1^+ enthalten ist oder sich zumindest leicht bilden kann. Ein vollständiger "Stammbaum" aller Fragmente wäre die Ideallösung des Strukturproblems. Leider ist diese Information nur äusserst mühsam zu beschaffen.

1.3.5.1. Übergangssignale

Die so genannten Übergangssignale m^* , die schwach und diffus in den Spektren von einfach fokussierenden Sektorgeräten (vgl. 1.3.3.1.) auftreten, gewähren einen Einblick in das Zerfallsschema:

Ein ausserhalb der Ionenquelle zerfallendes Ion m_1^+ wird als *metastabil* bezeichnet. Erfolgt der Zerfall ($m_1^+ \rightarrow m_2^+ + N$) nach der Beschleunigung aber vor der Ablenkung, so wird dieses Fragment m_2^+ im Spektrum an der Stelle $m^* = (m_2^2/m_1)$ abgebildet. Ein bestimmtes m^* kann natürlich durch mehrere m_1 und m_2 erklärt werden, doch findet sich im gegebenen Massenspektrum meist rasch ein eindeutiges Wertepaar.

Beispiel: Ein m^* bei 56.5 beweist die CO-Abspaltung aus dem Fragment $m/z = 105$



Ein fehlendes m^* beweist aber niemals die Abwesenheit des postulierten Zerfalls! Doppelt fokussierende Sektorgeräte und der Quadrupolfilter liefern *keine* Übergangssignale m^* . Somit ist diese elegante Informationsquelle leider heute weitgehend versiegt. An ihre Stelle tritt die Tandem-Massenspektrometrie mit einer Fülle von Methoden, die aber nur mit zusätzlichen Spezialmessungen ausgeschöpft werden können (s. nächste Seite).

1.3.5.2. MIKES (mass-selected ion kinetic energy spectrometry)

MIKES in der BE-Geometrie (s. 1.3.3.2) ist eine *selektive* Methode: Die Auswahl von m_1^+ wird im magnetischen Sektor B vorgenommen. Der elektrostatische Sektor E ist ein reiner Energieanalysator (ESA). Erfolgt der metastabile Zerfall ($m_1^+ \rightarrow m_2^+ + N$) zwischen den beiden Sektoren, so verteilt sich die kinetische Energie $E_1 = zU$ auf m_2^+ und N. Das Fragment m_2^+ wird im MIKE-Spektrum bei $E_2 = (m_2/m_1)zU$ abgebildet. Ein linearer ESA-Scan von E_1 bis null ergibt somit direkt das *Tochter-Massenspektrum* von m_1^+ . Das Auflösungsvermögen von MIKES ist aber leider nur sehr bescheiden ($m/\Delta m = 50 \dots 200$).

1.3.5.3. CID (collision induced decomposition)

Alle Varianten der Tandem-Massenspektrometrie erfassen die Ionenzerfälle grundsätzlich nur in einer genau definierten Zone der Apparatur. Die Häufigkeit spontaner, also "metastabiler" Zerfälle kann dort aber derart gering sein, dass die Messung eines Tochtterspektrum nicht möglich ist. Man wendet dann die sog. CID-Technik an. Durch Aktivierung von m_1^+ über Stöße mit einem Kollisionsgas werden zusätzliche Fragmente erzeugt. Die qualitativen Unterschiede zwischen CID-Spektrum und "metastabilem" Spektrum sind allerdings oft recht drastisch. Der CID-Mechanismus selber ist ziemlich komplex und kann an dieser Stelle nicht weiter diskutiert werden.

1.4. Anwendungen der Massenspektrometrie

1.4.1. Molmassenbestimmung

Es gibt chemische Elemente, die in der Natur als Gemisch von Isotopen vorkommen. Die Atommasse ist daher auf unterschiedliche Arten definiert, die nicht miteinander verwechselt werden dürfen.

Monoisotopische Atommasse

Die monoisotopische Atommasse ist definiert als die Masse eines bestimmten Isotops. Beispiel: die monoisotopische Atommasse von ^{35}Cl beträgt 34.968853 u, jene von ^{37}Cl 36.965903 u.

Nominale Atommasse

Alle monoisotopischen Atommassen sind nahezu ganze Zahlen. Die nominale Atommasse ist die auf die nächste ganze Zahl gerundete monoisotopische Atommasse. Beispiel: ^{35}Cl hat die nominale Atommasse 35 u.

Mittlere Atommasse

Die mittlere Atommasse ist die mit den natürlichen Häufigkeiten gewichteten monoisotopischen Atommassen der Isotope eines Elementes. Beispiel: ^{35}Cl und ^{37}Cl haben die natürliche Häufigkeit 75.77 % bzw. 24.23 %. Das ergibt eine mittlere Atommasse von 35.4527 u. Man findet diese Atommasse üblicherweise im Periodensystem der chemischen Elemente. Da die natürlichen Häufigkeiten von Ort zu Ort etwas schwanken, gilt dies auch für die mittleren Atommassen.

Der wichtigste Primärprozess in der Ionenquelle bei der Elektronenstossionisation ist der Verlust eines Elektrons aus dem neutralen Molekül:



Dabei ändert sich die Masse praktisch nicht ($\Delta m \approx 10^{-3}$ u). Wenn das entstehende Molekülion (M^+) stabil genug ist (mindestens 10^{-5} s Lebensdauer), so wird es registriert und die gefundene Masse ergibt direkt die relative Molmasse M_r . Diese Bestimmung ist unabhängig von Verunreinigungen kleinerer Masse. Bei der Berechnung ist aber zu berücksichtigen, dass die meisten Elemente in der Natur als Isotopengemische auftreten.

Die nominalen und monoisotopischen Massen von Molekülen und Fragmenten ergeben sich definitionsgemäss aus der Kombination der *häufigsten natürlichen Isotope* der jeweiligen Elemente in der Molekularformel. Bei den in der organischen Chemie vorkommenden Elementen sind die häufigsten zufälligerweise auch die leichtesten.

Beispiel: CH_3Br

M^+ liegt nach der obigen Definition bei $m/z = 94$ ($^{12}\text{C } ^1\text{H}_3 \text{}^{79}\text{Br}$) und nicht bei $m/z = 95$, das sich bei Verwendung mittlerer Atommassen ergeben würde.

Da sich schwere Isotope von den leichteren in der Masse um annähernd ganze Masseneinheiten oder Vielfache davon unterscheiden, findet man immer auch Ionen bei höherer Masse als M^+ , die von Molekülen stammen, welche verschiedene Kombinationen von schwereren Isotopen enthalten. Im Fall von CH_3Br zum Beispiel:

$$m/z = 95 \text{ von } ^{13}\text{C } ^1\text{H}_3 \text{}^{79}\text{Br}$$

$$m/z = 96 \text{ von } ^{12}\text{C } ^1\text{H}_3 \text{}^{81}\text{Br}$$

$$m/z = 97 \text{ von } ^{13}\text{C } ^1\text{H}_3 \text{}^{81}\text{Br}$$

1.4.1.1. Definition und Eigenschaften des Moleküliions

$M^{+\bullet}$ ist das Ion mit der höchsten Masse, abgesehen von gelegentlich auftretenden protonierten Molekülen $[M+H]^+$ und Isotopensignalen. (Vorsicht: bei grossen Molekülen können Isotopensignale sehr intensiv sein.). Es errechnet sich aus der Molekularformel unter Verwendung der jeweils häufigsten natürlichen Isotope. Bei komplexen, labilen Verbindungen ist $M^{+\bullet}$ im Spektrum oft nicht sichtbar. Dann empfiehlt sich die Anwendung weicher Ionisationsmethoden.

1.4.1.2. Allgemeine Regeln zum Moleküliion

- $M^{+\bullet}$ ist ein Radikal-Kation, hat also eine ungerade Anzahl Elektronen.
- $M^{+\bullet}$ ist geradzahlig, wenn die Molekularformel nur Elemente bzw. Isotope enthält, bei denen Atommasse und Wertigkeit beide geradzahlig oder beide ungeradzahlig sind (wie ^1H , ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S , ^{28}Si , ^{31}P , ^{19}F , ^{35}Cl , ^{79}Br , ^{127}I).
- Mit anderen Elementen bzw. Isotopen (wie ^{14}N , ^{13}C , ^2H) wird $M^{+\bullet}$ ungeradzahlig, wenn sie nicht paarig vorhanden sind.
- $M^{+\bullet}$ kann nur zu Produkten führen, deren Massen um chemisch sinnvolle Massendifferenzen Δm kleiner sind. Chemisch *nicht* sinnvoll sind im allgemeinen:
 - $\Delta m = 3$, wenn $\Delta m = 1$ fehlt
 - $\Delta m = 4$ bis $\Delta m = 14$
 - $\Delta m = 21$, wenn $\Delta m = 1$ fehlt
 - $\Delta m = 22$ bis $\Delta m = 24$
 - $\Delta m = 37$, wenn $\Delta m = 1$ fehlt
 - alle Δm unterhalb der Atommasse eines Elementes mit charakteristischer Isotopenverteilung, wenn das entsprechende Verteilungsmuster nach der Fragmentierung ändert.
- $M^{+\bullet}$ einer Verbindung muss alle Elemente enthalten, die in Fragmenten nachweisbar sind.
- $M^{+\bullet}$ ist das Ion mit dem niedrigsten Auftrittspotential (vgl. 1.3.2.1.).
- Die Intensität von $M^{+\bullet}$ ($I_{M^{+\bullet}}$) ändert sich proportional zum Probendruck.
- Bei fehlendem $M^{+\bullet}$ kommen als M_r nur Massen in Frage, die chemisch sinnvolle Δm zu allen beobachtbaren Fragmenten ergeben.
- $[M+H]^+$ ist bei EI-MS von polaren Verbindungen ein häufiges Nebenprodukt.

- Die Intensität von $[M+H]^+$ ändert sich dabei proportional zum Quadrat des Probedruckes.
- Bei Chemischer Ionisation, Feldionisation, Felddesorption und FAB werden die Ionen fast nur über Protonierung oder Deprotonierung gebildet. Als Folge davon dominiert das Ion $[M+H]^+$ über M^+ . Bei der Messung negativer Ionen wird $[M-H]^-$ statt M^- gefunden. Der beliebte Begriff "Quasimolekülion" zur Bezeichnung solcher Ionen ist formal unlogisch und sollte vermieden werden.

1.4.2. Elementaranalyse

1.4.2.1. Hinweise aus der Isotopenverteilung

Das Mischungsverhältnis schwerer und leichterer Isotope in der Natur ist so konstant, dass die relative Intensität der Isotopensignale für einzelne Elemente charakteristisch ist. Wenn ihre natürliche Häufigkeit für eine Messung ausreicht, kann daraus ein elementaranalytischer Hinweis erhalten werden. Bei H, N, O reicht die Intensität nicht für eine Identifizierung (vgl. Isotopentabelle T1).

C ist mit einer natürlichen Häufigkeit von 1,1 % ^{13}C bereits erkennbar an der Intensität von $M^{+}+1$. Eine Verbindung mit n C-Atomen führt zu einem Isotopensignal von $n \cdot 1,1\%$ von M^{+} bei $M^{+}+1$. Wegen des gelegentlichen Auftretens protonierter Moleküle $[M+H]^+$ ergibt aber die Intensität $I_{M^{+}+1}$ von $M^{+}+1$ in % von M^{+} nur die maximal mögliche Anzahl C-Atome:

$$\frac{I_{M^{+}+1}[\text{in \% } M^{+}]}{1,1 \%} = C_{\text{max}}$$

I ist an der auffallend kleinen Intensität von $M^{+}+1$ gemessen an der grossen Masse M^{+} erkennbar, die durch die hohe Atommasse (127) des monoisotopischen Halogens verursacht wird.

S, Si, Cl, Br erkennt man an der Intensität von $M^{+}+2$. Das zweite ^{13}C -Isotopensignal wird durch die schweren Isotope dieser Elemente um 4,4 % (S), 3,4 % (Si), 32,4 % (Cl) bzw. 98 % (Br) relativ zu ihrem Signal bei M^{+} verstärkt. Besonders die Halogene ergeben sehr auffallende Intensitätsverteilungen. Mehrere Halogenatome in einer Verbindung geben durch statistische Kombination sehr charakteristische Isotopenverteilungsbilder, aus denen die Zahl und Art dieser Elemente unmittelbar abgelesen werden können (vgl. Isotopenverteilungsmuster Seite T2). Die Signale liegen jeweils um zwei Masseneinheiten auseinander.

1.4.2.2. Hinweise aus charakteristischen Massendifferenzen und Massen

F ist erkennbar an $M^{+}-19$, $M^{+}-20$ und $m/z = 20$ (HF^{+})

N M^{+} ungerade bei ungerader Anzahl N

$M^{+}-16$, $M^{+}-17$ ohne $M^{+}-18$ bei primären Aminen

$m/z = 30, 44, 58 \dots + n \cdot 14$ "N-Bruchstücke" bei aliphatischen Verbindungen, besonders typisch $m/z 30$ intensiver als $m/z 31$

$\Delta m = 27$ (HCN-Elimination) mit Übergangssignal bei aromatisch gebundenem N

O $\Delta m = 18$ Wasserelimination, $M^{+} -18$ (auch bei sehr kleiner Intensität)

$m/z = 31, 45, 59 \dots + n \cdot 14$ "O-Bruchstücke"

$32, 46, 60 \dots + n \cdot 14$

$m/z = 47, 61, 75 \dots + n \cdot 14$ indiziert zwei O-Atome, wenn S fehlt

$\Delta m = 28$ (CO-Elimination) mit Übergangssignalen bei aromatisch gebundenem O

Vgl. auch Massenkorrelationstabelle Seiten T3 bis T9.

1.4.2.3. "Genaue" Massenmessung

Die Atommassen verschiedener Elemente sind nicht exakt ganze Vielfache der internationalen, atomaren Masseneinheit u. Daher unterscheiden sich Ionen gleicher nominaler Masse bei verschiedener Elementarzusammensetzung in ihrer monoisotopischen Masse um einen messbaren Betrag.

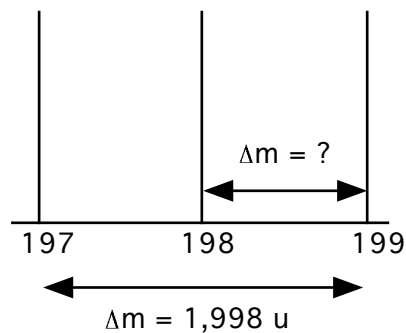
Beispiel: $m/z = 198$

$C_{15}H_{18}$	(Aromat)	198,1408	}	$\Delta m = 58 \text{ mu}$	}	$\Delta m = 95 \text{ mu}$	
$C_{13}H_{26}O$	(Keton)	198,1983					$\Delta m = 36 \text{ mu}$
$C_{14}H_{30}$	(Alkan)	198,2347					

Einige wichtige Massendifferenzen:

$^{12}C^1H_4$	>	^{16}O	36 mu
$^{14}N^1H_2$	>	^{16}O	23,8 mu
$^{12}C^1H_2$	>	^{14}N	12,5 mu
$^{12}C^1H$	>	^{13}C	4,5 mu
1H_2	>	2H	1,5 mu

Man misst die Massendifferenz zu Ionen einer Eichsubstanz:



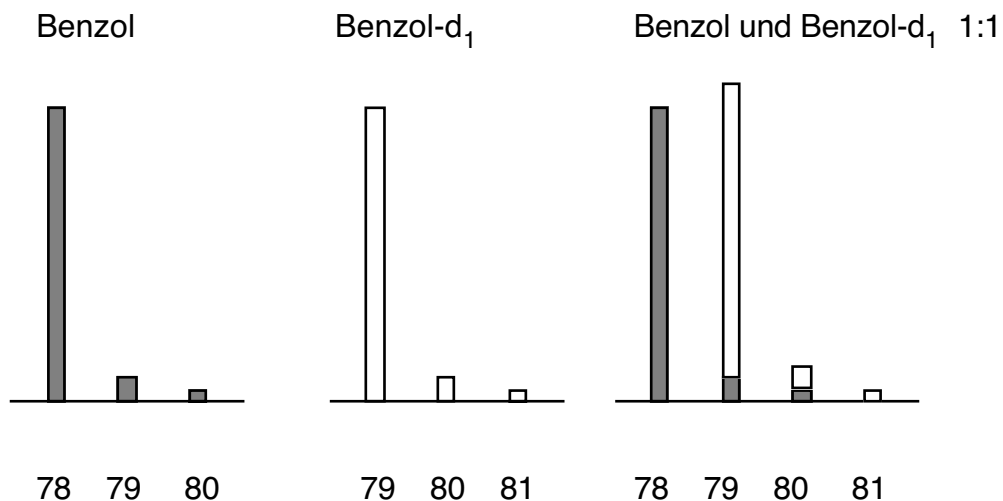
<u>Eichsubstanz:</u>	Bromindolin	$M^{+\cdot}$	=	196,9841	$C_8H_8N^{79}Br$
		$M^{+\cdot} + 2$	=	198,9821	$C_8H_8N^{81}Br$

Die Genauigkeit in der Massenbestimmung liegt optimal bei 0,1 ppm (bei m/z 1000 entspricht dies 0,1 mu).

1.4.3. Analyse stabiler Isotope

Für Markierungszwecke, z. B. bei der Untersuchung von Reaktionsmechanismen (Biosynthese) und beim Studium von Metaboliten (Abbau von Pharma-Produkten), werden stabile Isotope in Verbindungen eingebaut, die die Molmasse um den Differenzbetrag zwischen schweren und leichten Isotopen erhöhen, ohne das chemische Verhalten wesentlich zu beeinflussen. Dabei werden 2H , ^{13}C , ^{18}O , ^{15}N oft für solche Zwecke verwendet. Die massenspektrometrische Analyse des Markierungsgrades wird in ihrer einfachsten Form zu einer Häufigkeitsmessung der verschiedenen Ionen im Molekülionenbereich eines Markierungsgemisches.

Beispiel: $M^{+\cdot}$ -Bereich für Benzol (bei tiefer Elektronenenergie)



Die Intensitäten der beiden Spezies $^{12}\text{C}_6^1\text{H}_6^{+\cdot}$ und $^{12}\text{C}_6^1\text{H}_5^2\text{H}_1^{+\cdot}$ verhalten sich etwa gleich wie die Häufigkeiten der Komponenten im Gemisch. Jede Einbaustufe gibt ein eigenes Ion mit der entsprechenden relativen Intensität. Gegenüber der Verbrennungsanalyse hat diese Methode den Vorteil, die quantitative Verteilung aller Einbaustufen zu zeigen, für alle Elemente in gleicher Weise durchführbar und unabhängig von Verunreinigungen kleinerer Molmasse zu sein und nur μg -Mengen Probe zu erfordern.

1.4.4. Konstitutionsanalyse

Die ionisierenden Elektronen vermitteln den primär entstehenden Molekülionen eine Anregungsenergie, die chemische Reaktionen induziert. Wegen der hohen Verdünnung (10^{-9} bar) kommen praktisch nur monomolekulare Abbaureaktionen in Frage, die strukturabhängig Ionen kleinerer Masse und neutrale Bruchstücke liefern.

Die wichtigsten Parameter, die den Verlauf der Reaktionen bestimmen, sind folgende:

- Stabilität der Bruchstücke (geladene und neutrale)
- Grösse der Anregungsenergie
- Bindungsenergien
- Profil der freien Enthalpie entlang der Reaktionskoordinate (Kinetik)

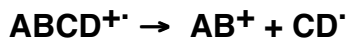
Bei der Interpretation versucht man, anhand der Intensitäts- und Massenverteilung der Bruchstücke die Konstitution des Moleküls abzuleiten. Das wichtigste Argument betrifft die Stabilität der Bruchstücke. Empirisch sind einige Regeln allgemeiner Art ermittelt worden, die als Leitfaden dienen können.

Die Formulierung von Ionen, Radikalen, Fragmentierungs- und Umlagerungsreaktionen führt zu grossen Schwierigkeiten in der zu verwendenden Symbolik. Die hier verwendete Symbolik lehnt sich an Formulierungen an, die in der Massenspektrometrie organischer Verbindungen üblich sind. Sie ist als adäquateste Schreibweise für die Mitteilung experimenteller Resultate und chemischer Modellvorstellungen zu verstehen, ohne den Anspruch zu erheben, die tatsächlichen molekularen Vorgänge zu beschreiben. Es bedeuten z. B.:

————→ Homolyse (einzelnes Elektron)

————→ Heterolyse (Elektronenpaar)

1.4.4.1. Einfache Fragmentierung



Die wichtigsten fünf Regeln, wo im Molekül eine Einfachbindung bevorzugt bricht, werden im Folgenden zusammengefasst. Sie dürfen nur auf das Molekülion angewandt werden. In den entstehenden Fragmentionen AB^+ brechen im Allgemeinen keine Bindungen mehr, wenn dadurch zwei Radikale entstehen. Das ist energetisch ungünstig. Die Regeln können bedingt auf Radikalkationen angewandt werden, die durch Umlagerung (siehe 1.4.4.2.) oder z. B. durch Brechen einer Ringbindung (siehe Regel III) aus dem Molekülion entstehen.

Regel I: Die Stabilität des Fragment-Ions bzw. des neutralen Fragments bestimmen in der Regel den Verlauf der Fragmentierung.

Bruchstücke, die durch Spaltung einer einfachen Bindung aus einem Molekülion entstehen (σ -Bindungsspaltung), haben eine gerade Zahl Elektronen und damit für N-freie Moleküle ungeradzahlige m/z -Werte (vgl. dazu auch 1.4.1.2.). Im allgemeinen dominieren solche ungeradzahlige Fragmente in N-freien Verbindungen.

Die Spektren von n-Alkanen zeigen eine typische Massen- und Intensitätsverteilung. Typische Sequenz der Maxima für Alkane:

$$\begin{array}{l} m/z = \quad 29, \quad 43, \quad 57, \quad \dots \quad + \quad n \cdot 14 \quad C_n H_{2n+1} \\ \quad \quad 27, \quad 41, \quad 55, \quad \dots \quad + \quad n \cdot 14 \quad C_n H_{2n-1} \end{array}$$

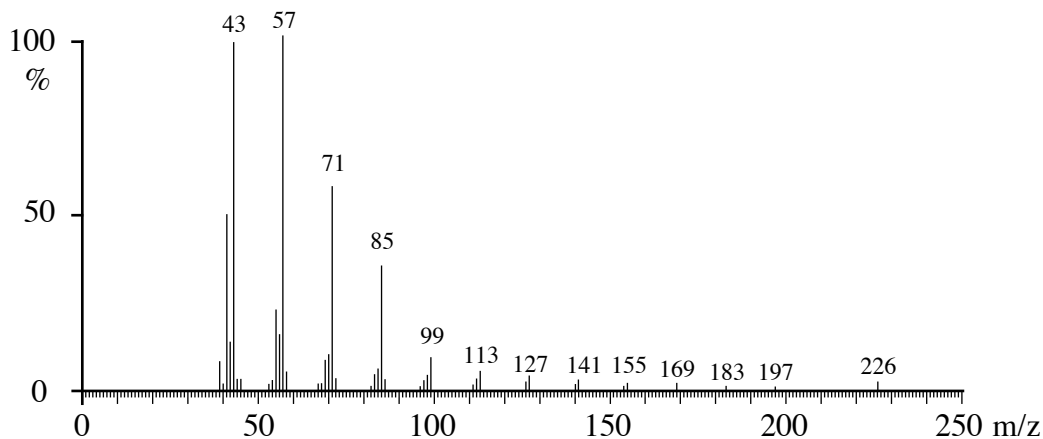
$$\text{Intensität:} \quad C_n H_{2n+1} > C_n H_{2n-1}$$

Geradzahlige Bruchstücke gehören der Reihe $C_n H_{2n}$:

$$m/z = \quad 28, \quad 42, \quad 56, \quad \dots \quad + \quad n \cdot 14 \quad \text{an.}$$

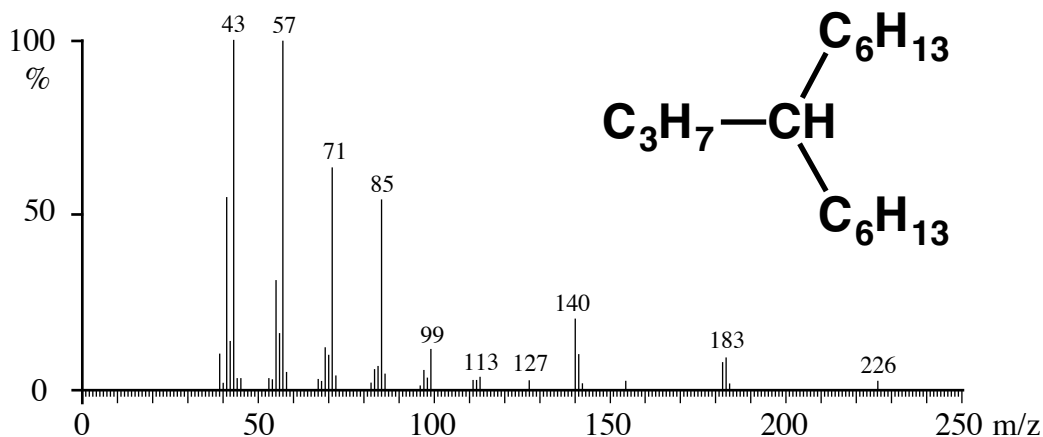
Die Intensität durchläuft ein Maximum bei C_3/C_4 und nimmt dann stetig ab.

Massenspektrum von unverzweigtem Hexadecan:

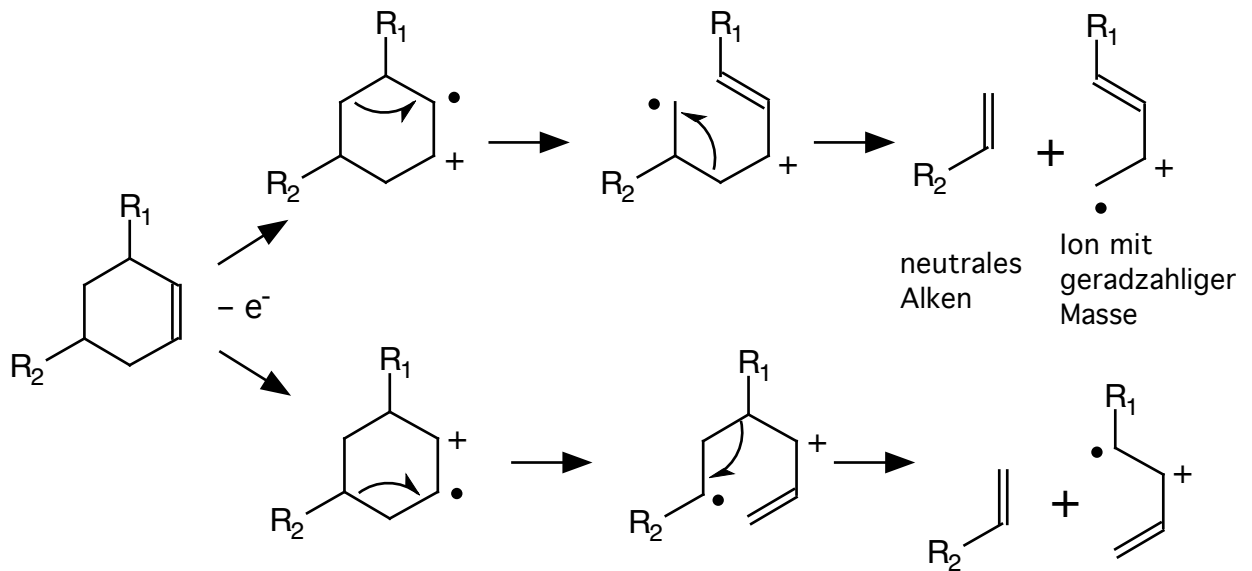


Regel II: In Alkanketten fragmentieren Bindungen an verzweigten C-Atomen bevorzugt, wobei eine Präferenz für den Verlust des grössten Alkylradikals gefunden wird. Die Intensität von $M^{+\cdot}$ nimmt mit zunehmender Verzweigung ab.

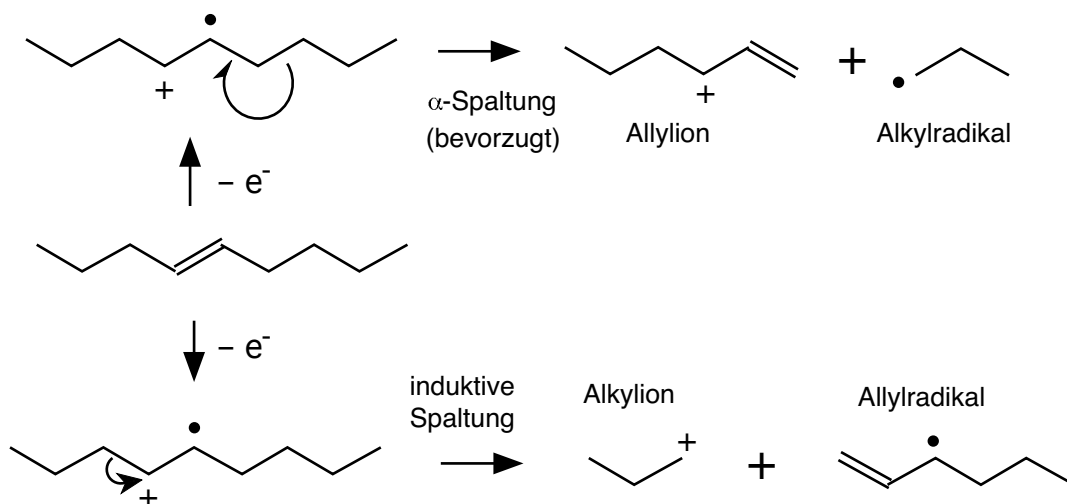
Bei Verzweigung findet man deshalb Unstetigkeiten (auffallende Maxima) bei Massen, die durch Spaltung an der Verzweigung entstehen. Zum Beispiel liegen die Maxima im Spektrum der folgenden Verbindung bei $M^{+\cdot} - C_3H_7$ und $M^{+\cdot} - C_6H_{13}$.



Die Bildung ungeradzahlicher Fragmente gilt auch für alicyclische Systeme, in denen zur Fragmentbildung die Spaltung zweier Einfachbindungen nötig ist. Dabei sollten geradzahlige Bruchstücke entstehen, aber in der Regel sind H-Verschiebungen der zweiten Spaltung vorgelagert. Ein wichtiger Sonderfall einer doppelten Bindungsspaltung unter spezifischer Bildung geradzahlicher Fragmente ist die Retro-Diels–Alder-Spaltung in Cyclohexenen.



Regel III: Doppelbindungen fördern die Spaltung der allylischen bzw. benzyllischen Bindung (radikalinduzierte α -Spaltung)



In einfachen Alkenen können die Doppelbindungen meistens massenspektrometrisch trotzdem nicht lokalisiert werden, da oft H-Verschiebungen (Isomerisierung der Doppelbindung) der Fragmentierung vorgelagert sind.

Immerhin führt die grössere Stabilität der Allylkationen bei den Alkenen zu einer Verschiebung der Maxima gegenüber den Alkanen.

Charakteristische Sequenz der Maxima für Alkene:

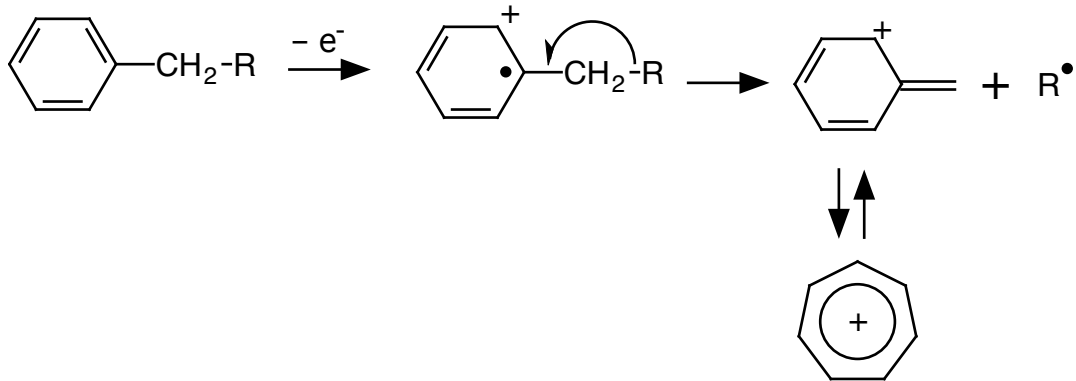
$$m/z = 41, 55, 69, \dots + n \cdot 14 : C_n H_{2n-1}$$

Die Alkylsignale sind ebenfalls stark, aber für die Intensität gilt:

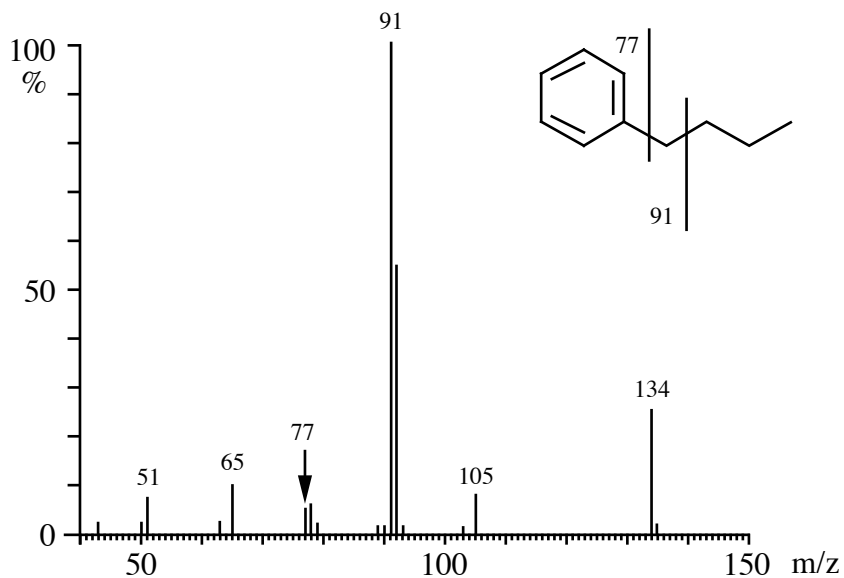
$$C_nH_{2n-1} > C_nH_{2n+1}$$

Die geradzahigen Fragmente liegen auch hier in der Reihe C_nH_{2n} .

Sehr viel zuverlässiger ist die Anwendung der Regel bei aromatischen Verbindungen, bei denen eine Isomerisierung energetisch ungünstig ist:



Wegen der zusätzlichen Stabilisierung (Tropyliumkation) ist diese Fragmentierung besonders günstig und damit die Bildungswahrscheinlichkeit und die Intensität sehr hoch.



Typische Sequenz der Maxima bei aromatischen Verbindungen (stark ungesättigte Fragmente):

$m/z = 39, 51/53, 63/65, 77-79, 91, 105, \dots + n \cdot 14$
bei Alkylbenzolen

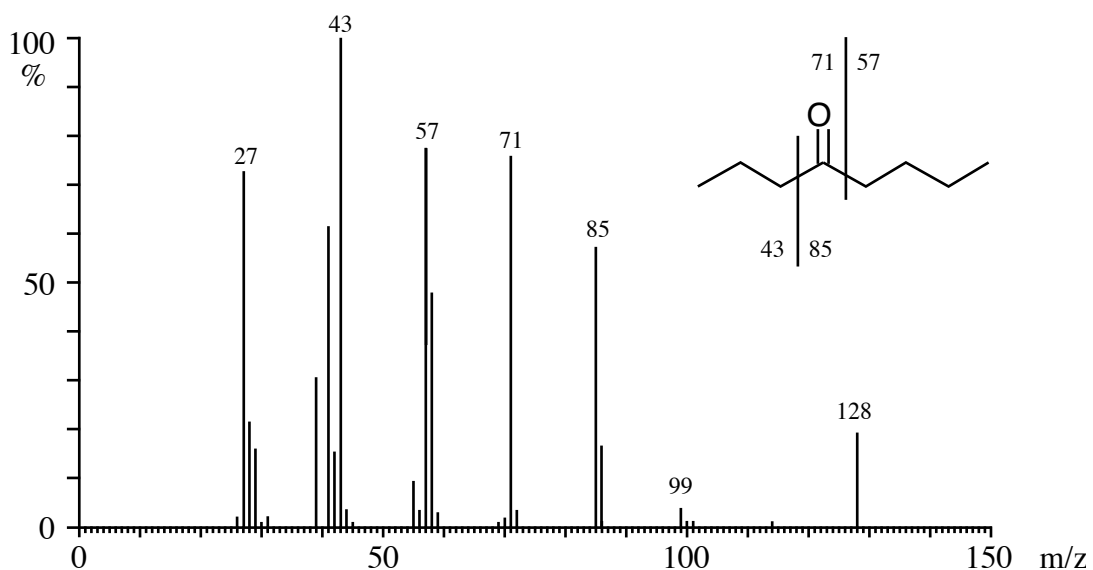
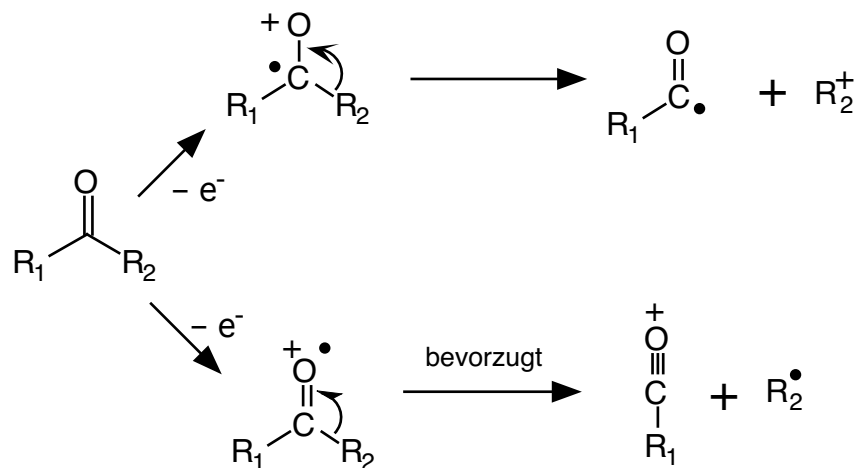
$m/z = 76/77, 89/90, 101/102$
bei reinen und kondensierten Aromaten

Heteroatome verschieben die Maxima um 1 (N) bzw. 2 (O) Einheiten.

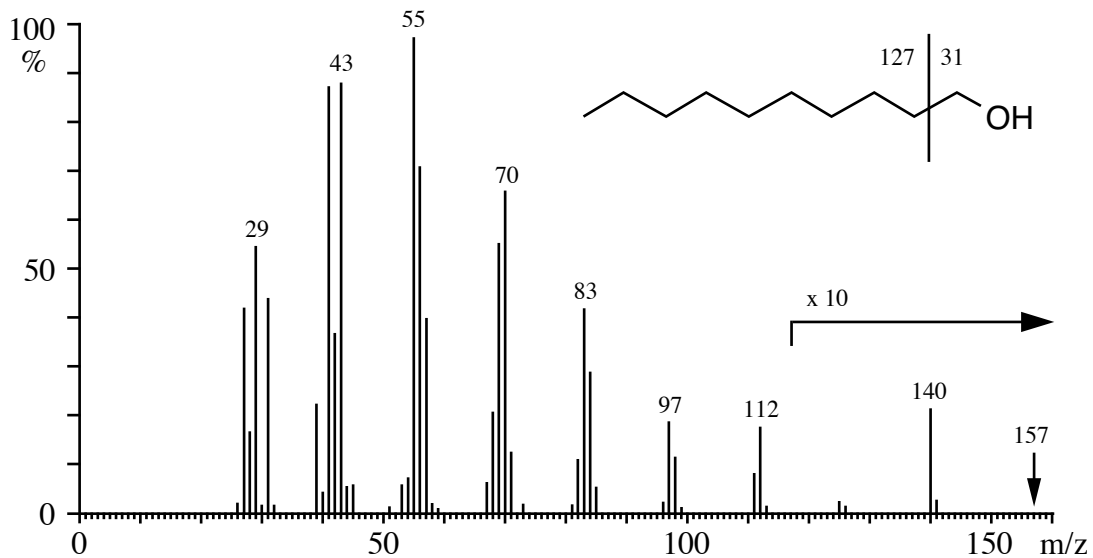
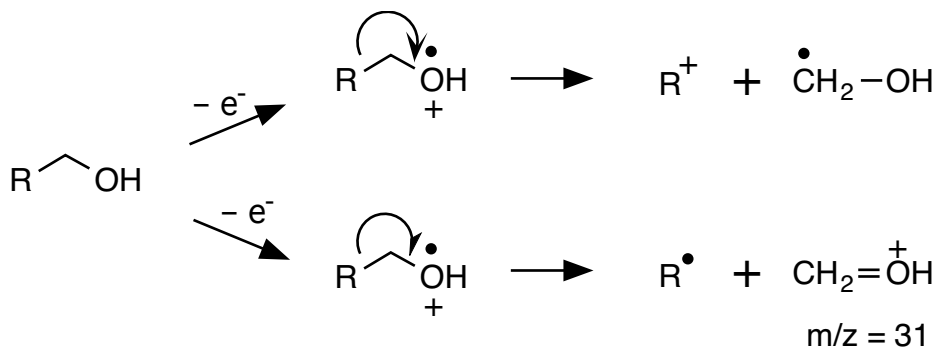
Bei Alkenen und Aromaten mit Alkylketten kommt auch die Regel II zum Einsatz. Die Regel III hat aber grundsätzlich Vorrang, da bei der α -Spaltung ein Alkylion entsteht, dessen positiv geladenes C-Atom mit der Doppelbindung konjugiert ist.

Regel IV: Elektronendonatoren (Heteroatome) fördern die Spaltung der Bindung zum C-Atom, welches das Heteroatom trägt. Es bricht also nicht die Bindung zum Heteroatom, sondern eine daneben liegende.

Beispiel: Keton



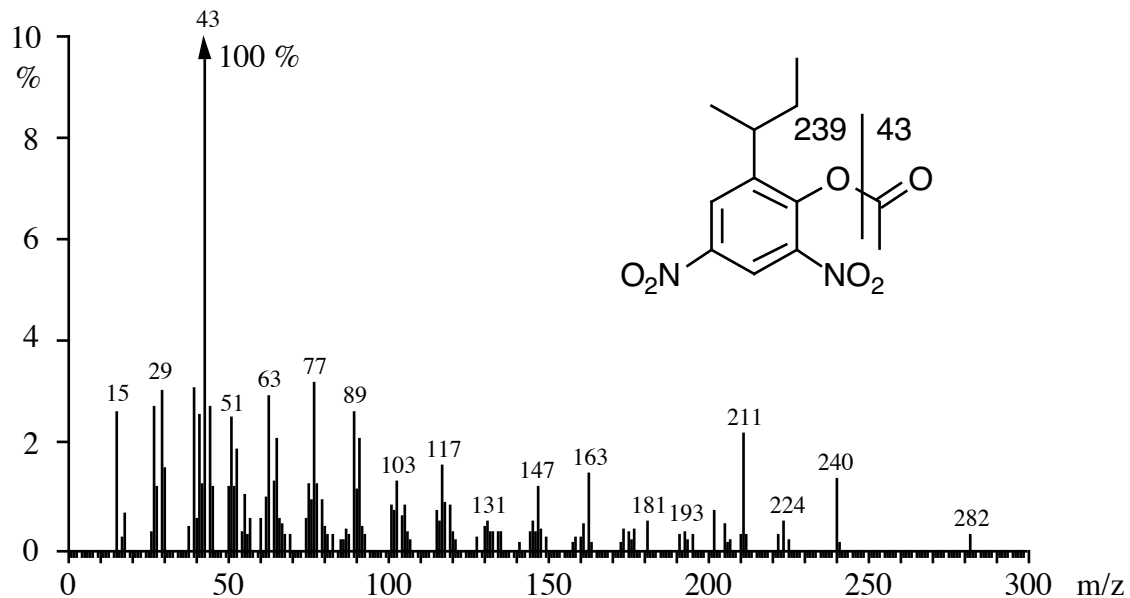
Beispiel : Alkohol



Durch weniger günstige Fragmentierungen entlang der Kette und durch weiteren Abbau der Oxoniumionen entstehen auch homologe O-haltige Bruchstücke, aber die α -Spaltung zum Heteroatom liefert das stärkste Signal ($m/z = 31 > 45, 59, \dots$ für primäre Alkohole).

Regel V: Wenn durch induktive Spaltung die Bindung zu einem elektronegativen Heteroatom bricht, ist die Ladung bevorzugt auf der C-Seite lokalisiert.

Beispiel: Ester



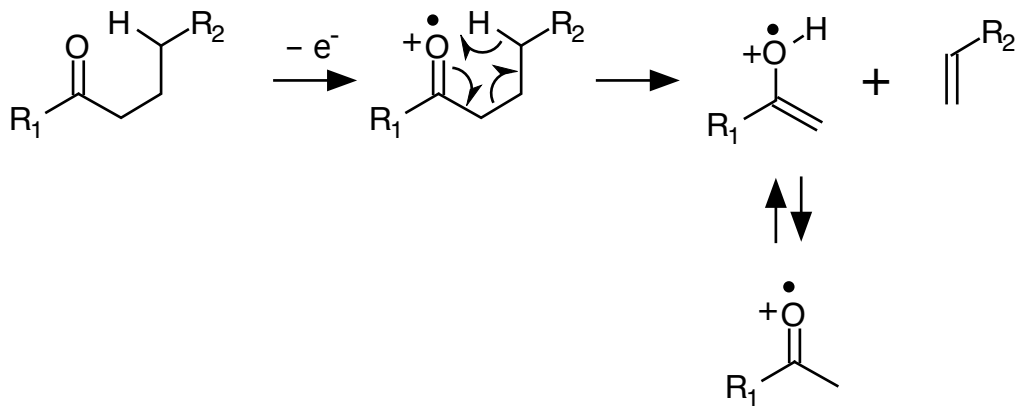
Der Basispeak entsteht durch die Spaltung einer C–O-Bindung, gesteuert durch das O-Atom der Carbonylgruppe (Regel IV). Von den beiden möglichen Fragmenten ist nur jenes mit $m/z = 43$ zu erkennen.

1.4.4.2. Umlagerungen

Die grösste Zahl von Umlagerungen betrifft das leicht wandernde H-Atom. Unspezifische H-Umlagerungen sind analytisch wenig ergiebig. Sie schränken die Lokalisierbarkeit von Doppelbindungen, Substituenten und schweren Isotopen in Markierungsexperimenten stark ein. Spezifische H-Umlagerungen sind dagegen diagnostisch äusserst wertvoll, sofern ihre Voraussetzungen bekannt sind. Die wichtigste und zuverlässigste Reaktion dieser Art, in der Massenspektrometrie als McLafferty-Umlagerung bekannt, kann als eigene Regel formuliert werden.

Regel VI: H-Akzeptoren fördern die Umlagerung eines γ -ständigen H-Atoms in einem 6-gliedrigen Übergangszustand unter Spaltung der α,β -Bindungen. Wenn die Voraussetzungen erfüllt sind, nämlich das Vorhandensein eines Akzeptors (Doppelbindungen, Heteroatome) und eines γ -ständigen H-Atoms sowie die sterische Nachbarschaft der Reaktionszentren, trifft die Reaktion mit grosser Wahrscheinlichkeit ein. Sie liefert in N-freien Verbindungen geradzahlige Produkte, die deshalb leicht festzustellen sind.

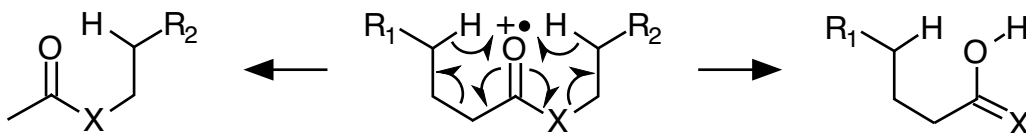
Beispiel: Keton



Enthält der Rest R_1 ebenfalls ein γ -H-Atom, findet der Prozess auch auf dieser Seite und in Sequenz auf beiden Seiten statt. Dann findet man drei geradzahlige McLafferty-Produkte, die bei den Alkanonen in der Reihe $m/z = 58, 72, 86 \dots C_nH_{2n}O$ liegen und Ketonspektren charakteristisch von Alkanspektren unterscheiden. Ketone mit zwei α -Methylengruppen und mit γ -H-Atomen auf beiden Seiten liefern $m/z = 58$ (Aceton, siehe Spektrum von Propylbutylketon unter Regel IV).

Aldehyde ($R = H$) liefern bei McLafferty-Umlagerung $m/z = 44$ (oder $M^+ - 44$).

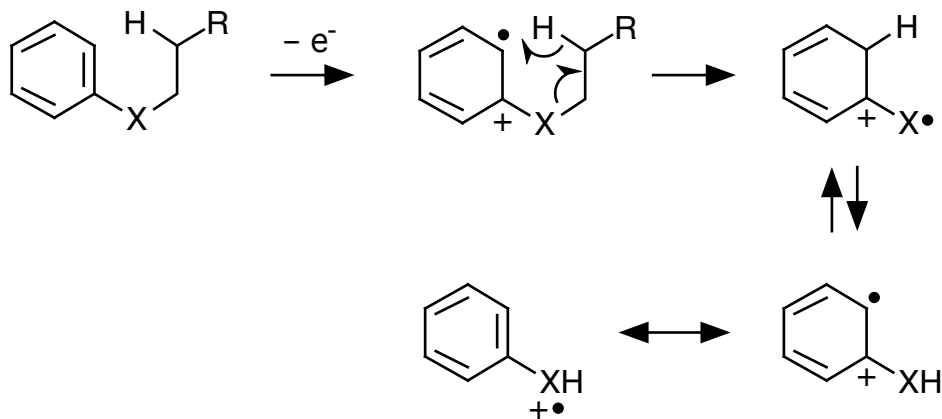
Beispiel: Ester (Thioester), Amide



Bei Estern ($X = O$) und Amiden ($X = N$) kann die Reaktion ebenfalls auf beiden Seiten des Akzeptors eintreten. Ester liefern auf der Säureseite Essigester, auf der Alkoholseite die zugrundeliegenden Säuren. Die Massen der geradzahligen Produkte liegen in beiden Fällen in der Reihe $m/z = 60, 74, 88 \dots C_nH_{2n}O_2$.

Amide ergeben sinngemäss die ungeradzahlige Reihe $m/z = 59, 73, 87 \dots C_nH_{2n+1}NO$.

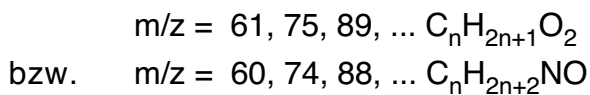
Beispiel: Aromatische Verbindungen



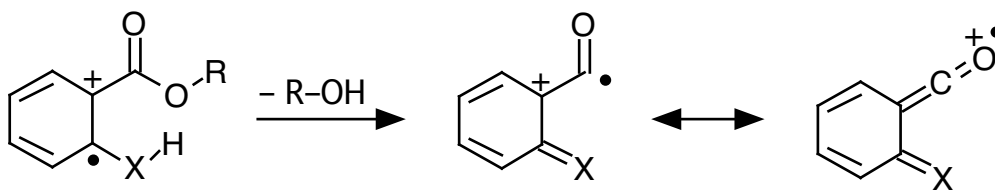
In Alkylbenzolen ($X = \text{CH}_2$), Phenolettern ($X = \text{O}$), Alkylanilinen ($X = \text{N-Alk}$) und analogen Verbindungen wirkt der aromatische Ring als Akzeptor. Die Produkte sind in den einfachsten Modellfällen Toluol ($m/z = 92$, siehe Spektrum von Butylbenzol unter Regel III), Phenol ($m/z = 94$) und Anilin ($m/z = 93$).

Doppelte H-Umlagerung:

Bei Estern (und Amidn) mit grösseren Kettenlängen ($\geq \text{C}_2$) im beteiligten Alkohol (Amin) findet häufig eine doppelte H-Umlagerung statt. Die Produkte sind protonierte Säuren (Amide) der Reihe



ortho-Effekte in aromatischen Verbindungen:



Zu den spezifischen H-Umlagerungen gehören auch Eliminationen in o-substituierten aromatischen Verbindungen, die die Spektren solcher Moleküle charakteristisch von den m- und p-Isomeren unterscheiden.

