

Massenspektrometrische  
Dissoziationsreaktionen von  
substituierten Diphenyldiazenen

MARTIN CLEMEN

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Kiel 2018**



Erster Gutachter:  
Zweiter Gutachter:

Prof. Dr. Jürgen Grotemeyer  
Prof. Dr. Swetlana Schauermann

Tag der mündlichen Prüfung:  
Zum Druck genehmigt:

21.03.2018  
04.04.2018

gez. Prof. Dr. Natascha Oppelt, Dekanin



*Science at its best provides us with better questions,  
not absolute answers.*

- Norman Cousins (1976) -



# Kurzzusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Fragmentierungsmechanismus zur Abspaltung von  $C_3H_8$  aus Diethylaminogruppen untersucht. Zu diesem Zweck sind acht unterschiedlich substituierte Diphenyldiazene mittels hochauflösender Massenspektrometrie in einem Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz-Massenspektrometer vermessen worden. Die Fragmentierung der mittels Elektrospray-Ionisation gebildeten Ionen erfolgte durch Stoßaktivierung und durch Photodissoziation im sichtbaren Wellenlängenbereich.

Für die Betrachtung der Abspaltung von  $C_3H_8$  aus der Diethylaminogruppe ist die Unterscheidung zwischen einem konzertierten und einem konsekutiven Fragmentierungsmechanismus nötig. Die experimentellen Ergebnisse zusammen mit energetischen und kinetischen Rechnungen zeigen, dass kein konzertiert ablaufender Fragmentierungsmechanismus zur Abspaltung von  $C_3H_8$  vorliegt. Entscheidend ist ein konsekutiver Reaktionsmechanismus mit einem Radikalkation als Zwischenstufe. Die Reihenfolge der Radikalverluste ist stark vom Protonierungsort abhängig. Findet die Protonierung am Stickstoff der Aminogruppe statt, wird erst ein Ethylradikal und anschließend ein Methylradikal abgespalten. Der umgekehrte Fall tritt bei einer Protonierung der Azogruppe ein, zuerst wird ein Methylradikal und folgend ein Ethylradikal verloren. Abhängig vom Substitutionsmuster wird ein starker Wasserverlust beobachtet, der das gesamte Spektrum überlagert. Dennoch zeigen diese Verbindungen das beschriebene Fragmentierungsverhalten. Die Systematik dieser Fragmentierungsreaktionen wurde mit unterschiedlich langen Alkylsubstituenten an der Aminogruppe verifiziert. Dies zeigt, dass unabhängig von der Kettenlänge Radikalreaktionen die Fragmentierung der Dialkylaminogruppe bestimmen.

Weiterhin ermöglicht die pseudo-Markierung einer Ethylgruppe mit einer Hydroxyfunktion am Beispiel eines push-pull-Azobenzolderivats die Unterscheidung zwischen zwölf theoretisch möglichen Fragmentierungsmechanismen. Mit Hilfe der angewandten Methoden ist der Nachweis möglich, dass drei dieser Reaktionen tatsächlich

stattfinden. Somit konnte gezeigt werden, dass die Kombination von hochauflösender Massenspektrometrie mit energetischen und kinetischen Berechnungen zur Unterscheidung und Aufklärung von Fragmentierungsmechanismen sehr gut geeignet ist.

# Abstract

The present work reveals the fragmentation behavior of eight different azobenzene derivatives by means of high-resolving mass spectrometry using a Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometer. After electrospray ionization, fragmentation of the stored ions was achieved by either collision-induced dissociation or by photodissociation in the visible wavelength range.

There are two different fragmentation mechanisms proposed regarding the loss of  $C_3H_8$  from diethylamino groups. On the one hand, there is a concerted mechanism with a cyclic transition state. On the other hand, there is a consecutive mechanism containing two radical fragmentation steps. It is possible to distinguish between these reactions using high-resolving mass spectrometry combined with thermodynamic and kinetic calculations. The results show no evidence suggesting a concerted fragmentation mechanism. Hence, the loss of  $C_3H_8$  is due to radical reaction pathways. The reaction sequence shows strong dependence on the protonation position. Protonating the amino group leads to the loss of an ethyl radical followed by the loss of a methyl radical. If protonation occurs at the azo group, the sequence is reversed. Depending on the further substitution pattern, some analytes show an intense fragment due to the loss of water. In this case, fragmentation of the dialkylamino group remains the same and occurs in combination with this cleavage. To elucidate further systematic reactions molecules containing dimethyl as well as dipropyl groups were investigated. The results indicate a major contribution of radical fragmentation reactions independent of the alkyl chain length.

Furthermore, pseudo-labeling of one ethyl group using a hydroxyl group leads to differentiation between twelve proposed fragmentation mechanisms in the case of a push-pull azobenzene derivative. The workflow consisting of high-resolving MS together with thermodynamic and kinetic calculations reveals three mechanisms to be the most likely ones. All results combined show that this combination of methods is a powerful tool in elucidating and in differentiating between fragmentation reactions.



# Abkürzungsverzeichnis

|                  |  |
|------------------|--|
| <b>APCI</b>      | Atmosphärendruck-Chemische Ionisation                        |
| <b>APPI</b>      | Atmosphärendruck-Photoionisation                             |
| <b>CEM</b>       | <i>Chain Ejection Model</i>                                  |
| <b>CI</b>        | Chemische Ionisation   |
| <b>CID</b>       | <i>Collision-Induced Dissociation</i>                        |
| <b>CRM</b>       | <i>Charge Residue Model</i>                                  |
| <b>cw</b>        | <i>Continuous Wave</i> , Dauerstrich                         |
| <b>DESI</b>      | Desorptions-Elektrospray-Ionisation                          |
| <b>DFT</b>       | Dichtefunktionaltheorie                                      |
| <b>EI</b>        | Elektronenionisation   |
| <b>ESI</b>       | Elektrospray-Ionisation                                      |
| <b>FID</b>       | <i>Free Induction Decay</i>                                  |
| <b>FT</b>        | Fouriertransformation  |
| <b>FT-ICR-MS</b> | Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz-Massenspektrometrie |
| <b>HF</b>        | Hartree-Fock   |
| <b>IC</b>        | <i>Internal Conversion</i>                                   |
| <b>ICR</b>       | Ionencyclotronresonanz                                       |
| <b>IEM</b>       | <i>Ion Evaporation Model</i>                                 |

---

|              |  |
|--------------|--|
| <b>IR</b>    | Infrarot   |
| <b>IVR</b>   | <i>Intramolecular Vibrational Relaxation</i>     |
| <b>LC</b>    | Flüssigchromatographie                           |
| <b>LDI</b>   | Laserdesorption/Ionisation                       |
| <b>LTP</b>   | Niedertemperatur-Plasma                          |
| <b>m/z</b>   | Masse-zu-Ladungs-Verhältnis                      |
| <b>MALDI</b> | Matrix-unterstützte Laserdesorption/Ionisation   |
| <b>MD</b>    | Molekulardynamik                                 |
| <b>MO</b>    | Molekülorbital                                   |
| <b>MPD</b>   | Mehrphotonendissoziation                         |
| <b>MS</b>    | Massenspektrometrie                              |
| <b>PA</b>    | Protonenaffinität                                |
| <b>PD</b>    | Photodissoziation                                |
| <b>RRKM</b>  | Rice-Ramsperger-Kassel-Marcus                    |
| <b>S/N</b>   | Signal-zu-Rausch-Verhältnis                      |
| <b>SIMS</b>  | Sekundärionen-Massenspektrometrie                |
| <b>SORI</b>  | <i>Sustained Off-Resonance Irradiation</i>       |
| <b>SWIFT</b> | <i>Stored Waveform Inverse Fourier Transform</i> |
| <b>TOF</b>   | Flugzeit   |
| <b>UV</b>    | Ultraviolett                                     |
| <b>Vis</b>   | Sichtbar   |
| <b>VUV</b>   | Vakuumultraviolett                               |

# Inhaltsverzeichnis

|  |              |
|--|--------------|
| <b>Abbildungsverzeichnis</b>                                       | <b>XVII</b>  |
| <b>Schemenverzeichnis</b>  | <b>XXI</b>   |
| <b>Tabellenverzeichnis</b>   | <b>XXIII</b> |
| <b>1 Einleitung</b>  | <b>1</b>     |
| <b>2 Theorie</b>   | <b>5</b>     |
| 2.1 Massenspektrometrie.....                                       | 5            |
| 2.1.1 Elektrospray-Ionisation .....                                | 7            |
| 2.1.1.1 Ion Evaporation Model .....                                | 9            |
| 2.1.1.2 Charge Residue Model.....                                  | 12           |
| 2.1.1.3 Chain Ejection Model.....                                  | 14           |
| 2.1.2 Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz-Massenspektrometrie | 17           |
| 2.1.2.1 Ionenbewegung .....  | 18           |
| 2.1.2.2 Anregung und Detektion.....                                | 21           |
| 2.1.2.3 Massenkalisierung .....                                    | 30           |
| 2.1.2.4 Massen- und Energieobergrenze.....                         | 33           |
| 2.2 Dissoziationsreaktionen in der Gasphase.....                   | 35           |
| 2.2.1 Theorie des Übergangszustands .....                          | 36           |
| 2.2.2 Rice-Ramsperger-Kassel-Marcus-Theorie .....                  | 37           |
| 2.2.3 Stoßinduzierte Dissoziation .....                            | 39           |
| 2.2.3.1 Niedrigenergetische Stöße .....                            | 41           |
| 2.2.3.2 Sustained Off-Resonance Irradiation .....                  | 43           |
| 2.2.4 Photodissoziation.....                                       | 44           |
| 2.3 Dichtefunktionaltheorie .....                                  | 46           |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 2.4      | Diphenyldiazene.....                                     | 48         |
| 2.4.1    | Schaltung von Azobenzolderivaten.....                    | 48         |
| 2.4.2    | Anwendung von Azobenzolderivaten.....                    | 50         |
| <b>3</b> | <b>Experimentelle Methoden</b>                           | <b>51</b>  |
| 3.1      | Verwendetes Massenspektrometer.....                      | 51         |
| 3.1.1    | Photodissoziationsexperimente.....                       | 54         |
| 3.2      | Energieberechnungen mittels Dichtefunktionaltheorie..... | 56         |
| 3.3      | Berechnungen mittels RRKM-Theorie.....                   | 57         |
| 3.4      | Untersuchte Substanzen.....                              | 59         |
| 3.4.1    | Synthese von p-Ethylrot.....                             | 59         |
| <b>4</b> | <b>Fragmentierung para-substituierter Azobenzole</b>     | <b>61</b>  |
| 4.1      | Dissoziationsreaktionen von Ethylgelb.....               | 61         |
| 4.1.1    | Fragmentierung von Ethylgelb.....                        | 62         |
| 4.1.2    | Mechanistische Betrachtungen zu Ethylgelb.....           | 63         |
| 4.1.3    | Zusammenfassung Ethylgelb.....                           | 70         |
| 4.2      | Dissoziationsreaktionen von Methylgelb.....              | 71         |
| 4.2.1    | Fragmentierung von Methylgelb.....                       | 71         |
| 4.2.2    | Mechanistische Betrachtungen zu Methylgelb.....          | 74         |
| 4.2.3    | Zusammenfassung Methylgelb.....                          | 79         |
| 4.3      | Dissoziationsreaktionen von p-Ethylrot.....              | 81         |
| 4.3.1    | Fragmentierung von p-Ethylrot.....                       | 81         |
| 4.3.2    | Mechanistische Betrachtungen zu p-Ethylrot.....          | 83         |
| 4.3.3    | Zusammenfassung p-Ethylrot.....                          | 96         |
| 4.4      | Dissoziationsreaktionen von p-Methylrot.....             | 98         |
| 4.4.1    | Fragmentierung von p-Methylrot.....                      | 98         |
| 4.4.2    | Mechanistische Betrachtungen zu p-Methylrot.....         | 100        |
| 4.4.3    | Zusammenfassung p-Methylrot.....                         | 105        |
| <b>5</b> | <b>Carboxyfunktion und Diazen in ortho-Stellung</b>      | <b>107</b> |
| 5.1      | Dissoziationsreaktionen von o-Ethylrot.....              | 108        |
| 5.1.1    | Fragmentierung von o-Ethylrot.....                       | 108        |
| 5.1.2    | Mechanistische Betrachtungen zu o-Ethylrot.....          | 112        |
| 5.1.3    | Zusammenfassung o-Ethylrot.....                          | 133        |

|          |   |              |
|----------|---|--------------|
| 5.2      | Dissoziationsreaktionen von o-Methylrot .....                 | 134          |
| 5.2.1    | Fragmentierung von o-Methylrot .....                          | 134          |
| 5.2.2    | Mechanistische Betrachtungen zu o-Methylrot .....             | 137          |
| 5.2.3    | Zusammenfassung o-Methylrot .....                             | 147          |
| 5.3      | Dissoziationsreaktionen von o-Propylrot .....                 | 149          |
| 5.3.1    | Fragmentierung von o-Propylrot .....                          | 149          |
| 5.3.2    | Mechanistische Betrachtungen zu o-Propylrot .....             | 151          |
| 5.3.3    | Zusammenfassung o-Propylrot .....                             | 159          |
| <b>6</b> | <b>Hydroxyethyl als pseudo-Markierung</b>                     | <b>161</b>   |
| 6.1      | Dissoziationsreaktionen von Disperse Red 1 .....              | 161          |
| 6.1.1    | Fragmentierung von Disperse Red 1 .....                       | 162          |
| 6.1.2    | Mechanistische Betrachtungen zu Disperse Red 1 .....          | 164          |
| 6.1.3    | Zusammenfassung Disperse Red 1 .....                          | 175          |
| <b>7</b> | <b>Zusammenfassung und Ausblick</b>                           | <b>177</b>   |
| 7.1      | Zusammenfassung der Ergebnisse .....                          | 177          |
| 7.2      | Ausblick .....  | 182          |
|          | <b>Literaturverzeichnis</b>                                   | <b>XXV</b>   |
| <b>A</b> | <b>MS<sup>3</sup>-Programmanpassung für Photodissoziation</b> | <b>XLI</b>   |
| <b>B</b> | <b>Tabellierung der Abspaltungen</b>                          | <b>XLVII</b> |
| B.1      | Abspaltungen aus Ethylgelb .....                              | XLVII        |
| B.2      | Abspaltungen aus Methylgelb .....                             | XLIX         |
| B.3      | Abspaltungen aus p-Ethylrot .....                             | L            |
| B.4      | Abspaltungen aus p-Methylrot .....                            | LII          |
| B.5      | Abspaltungen aus o-Ethylrot .....                             | LIII         |
| B.6      | Abspaltungen aus o-Methylrot .....                            | LV           |
| B.7      | Abspaltungen aus o-Propylrot .....                            | LVII         |
| B.8      | Abspaltungen aus Disperse Red 1 .....                         | LIX          |
| <b>C</b> | <b>Weitere Messungen und Rechnungen</b>                       | <b>LXI</b>   |
| C.1      | Weitere Messungen und Rechnungen zu Ethylgelb .....           | LXI          |
| C.2      | Weitere Messungen und Rechnungen zu p-Ethylrot .....          | LXV          |

|     |  |        |
|-----|--|--------|
| C.3 | Weitere Messungen und Rechnungen zu o-Ethylrot.....      | LXVIII |
| C.4 | Weitere Messungen und Rechnungen zu o-Methylrot.....     | LXXII  |
| C.5 | Weitere Messungen und Rechnungen zu o-Propylrot .....    | LXXV   |
| C.6 | Weitere Messungen und Rechnungen zu Disperse Red 1 ..... | LXXIX  |

# Abbildungsverzeichnis

|      |   |    |
|------|---|----|
| 1.1  | Schematische Darstellung des Verlustes von $C_3H_8$ .....             | 2  |
| 2.1  | Aufbau einer Elektrospray-Ionisations-Quelle .....                    | 8  |
| 2.2  | Ionisierungsmechanismus nach dem <i>Ion Evaporation Model</i> .....   | 10 |
| 2.3  | Vorhersagen durch das <i>Ion Evaporation Model</i> .....              | 11 |
| 2.4  | Ionisierungsmechanismus nach dem <i>Charge Residue Model</i> .....    | 13 |
| 2.5  | Ionisierungsmechanismus nach dem <i>Chain Ejection Model</i> .....    | 15 |
| 2.6  | Ionen-Cyclotronbewegung im Magnetfeld .....                           | 19 |
| 2.7  | Radius und kinetische Energie von Ionen im Ionencyclotron .....       | 20 |
| 2.8  | Anregung und Detektion von Ionen .....                                | 22 |
| 2.9  | Ionenbewegung in der Ionencyclotronresonanz-Zelle .....               | 31 |
| 2.10 | Darstellung eines Reaktionspfads mit Übergangszustand .....           | 37 |
| 2.11 | cis-trans-Isomerisierung des Azobenzols .....                         | 49 |
| 3.1  | Aufbau des verwendeten Massenspektrometers .....                      | 51 |
| 3.2  | Massenspektrum von Arginin .....                                      | 52 |
| 3.3  | Aufbau des Photodissoziationsexperiments .....                        | 54 |
| 3.4  | Anregung mit Dauerstrich- und Nanosekunden-Laser .....                | 55 |
| 3.5  | Verlauf energieabhängiger Ratenkonstanten .....                       | 57 |
| 3.6  | Strukturen der untersuchten Substanzen .....                          | 59 |
| 4.1  | MS <sup>2</sup> -PD-Massenspektrum von Ethylgelb .....                | 62 |
| 4.2  | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von Ethylgelb .....          | 63 |
| 4.3  | Energieberechnungen für Ethylgelb - Protonierung am Amin .....        | 65 |
| 4.4  | Kinetik der Ethylgelb-Fragmentierung - Protonierung am Amin .....     | 66 |
| 4.5  | MS <sup>3</sup> -PD-Massenspektrum des Fragments bei m/z 225 .....    | 67 |
| 4.6  | Energieberechnungen für Ethylgelb - Protonierung der Azogruppe .....  | 69 |
| 4.7  | Kinetik der Ethylgelb-Fragmentierung - Protonierung der Azogruppe ... | 70 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 4.8  | MS <sup>2</sup> -PD-Massenspektrum von Methylgelb .....                     | 72  |
| 4.9  | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von Methylgelb.....                | 72  |
| 4.10 | MSMS-CID-Massenspektrum von Methylgelb.....                                 | 73  |
| 4.11 | Energieberechnungen für Methylgelb - Protonierung am Amin.....              | 75  |
| 4.12 | Kinetik der Methylgelb-Fragmentierung - Protonierung am Amin.....           | 76  |
| 4.13 | Energieberechnungen für Methylgelb - Protonierung der Azogruppe.....        | 77  |
| 4.14 | Kinetik der Methylgelb-Fragmentierung - Protonierung der Azogruppe.         | 78  |
| 4.15 | MS <sup>2</sup> -PD-Massenspektrum von p-Ethylrot .....                     | 82  |
| 4.16 | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von p-Ethylrot.....                | 83  |
| 4.17 | Energieberechnungen für p-Ethylrot - Protonierung am Amin.....              | 85  |
| 4.18 | Kinetik der p-Ethylrot-Fragmentierung - Protonierung am Amin.....           | 86  |
| 4.19 | Energieberechnungen für p-Ethylrot - Protonierung der Azogruppe.....        | 89  |
| 4.20 | Kinetik der p-Ethylrot-Fragmentierung - Protonierung der Azogruppe..        | 90  |
| 4.21 | PD-Intensitätsverläufe von p-Ethylrot-Fragmenten (a) .....                  | 94  |
| 4.22 | PD-Intensitätsverläufe von p-Ethylrot-Fragmenten (b) .....                  | 95  |
| 4.23 | MS <sup>2</sup> -PD-Massenspektrum von p-Methylrot .....                    | 99  |
| 4.24 | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von p-Methylrot.....               | 100 |
| 4.25 | Energieberechnungen für p-Methylrot .....                                   | 102 |
| 4.26 | Kinetik der p-Methylrot-Fragmentierung .....                                | 103 |
| 5.1  | MS <sup>2</sup> -PD-Massenspektrum von o-Ethylrot .....                     | 109 |
| 5.2  | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von o-Ethylrot.....                | 110 |
| 5.3  | Energieberechnungen für o-Ethylrot nach Wasserverlust .....                 | 114 |
| 5.4  | Kinetik der o-Ethylrot-Fragmentierung nach Wasserverlust .....              | 115 |
| 5.5  | MS <sup>3</sup> -PD-Massenspektren verschiedener o-Ethylrot-Fragmente ..... | 116 |
| 5.6  | Mechanismen konsekutiver Fragmentierungsreaktionen.....                     | 118 |
| 5.7  | PD-Intensitätsverläufe von o-Ethylrot-Fragmenten .....                      | 119 |
| 5.8  | Photonenanzahl für die Fragmentbildung bei o-Ethylrot .....                 | 121 |
| 5.9  | Energieberechnung für o-Ethylrot nach Grundgerüstcyclisierung .....         | 123 |
| 5.10 | Kinetik o-Ethylrot-Fragmentierung nach Grundgerüstcyclisierung.....         | 124 |
| 5.11 | Energieberechnung für o-Ethylrot nach Stickstoffabspaltung.....             | 128 |
| 5.12 | Kinetik der o-Ethylrot-Fragmentierung nach Stickstoffabspaltung.....        | 129 |
| 5.13 | MS <sup>2</sup> -PD-Massenspektrum von o-Methylrot .....                    | 135 |
| 5.14 | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von o-Methylrot.....               | 136 |

---

|      |   |        |
|------|---|--------|
| 5.15 | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von o-Methylrot-d <sub>2</sub> .....             | 138    |
| 5.16 | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum des o-Methylrot-Clusters [2M+Na] <sup>+</sup> .. | 139    |
| 5.17 | MS <sup>3</sup> -PD-Massenspektren verschiedener o-Methylrot-Fragmente.....               | 142    |
| 5.18 | PD-Intensitätsverläufe von o-Methylrot-Fragmenten .....                                   | 143    |
| 5.19 | Photonenanzahl für die Fragmentbildung bei o-Methylrot .....                              | 144    |
| 5.20 | MS <sup>2</sup> -PD-Massenspektrum von o-Propylrot .....                                  | 150    |
| 5.21 | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von o-Propylrot .....                            | 151    |
| 5.22 | MS <sup>3</sup> -PD-Massenspektren verschiedener o-Propylrot-Fragmente .....              | 152    |
| 5.23 | PD-Intensitätsverläufe von o-Propylrot-Fragmenten.....                                    | 155    |
| 5.24 | Photonenanzahl für die Fragmentbildung bei o-Propylrot.....                               | 156    |
|      |   |        |
| 6.1  | MS <sup>2</sup> -PD-Massenspektrum von Disperse Red 1 .....                               | 162    |
| 6.2  | MS <sup>2</sup> -SORI-CID-Massenspektrum von Disperse Red 1.....                          | 163    |
| 6.3  | Energieberechnungen für Disperse Red 1 - Protonierung am Amin.....                        | 166    |
| 6.4  | Kinetik der Disperse Red 1-Fragmentierung - Protonierung am Amin..                        | 167    |
| 6.5  | Energieberechnungen für Disperse Red 1 - Protonierung Azogruppe....                       | 170    |
| 6.6  | Kinetik Disperse Red 1-Fragmentierung - Protonierung Azogruppe .....                      | 171    |
| 6.7  | PD-Intensitätsverläufe von Disperse Red 1-Fragmenten (a) .....                            | 172    |
| 6.8  | PD-Intensitätsverläufe von Disperse Red 1-Fragmenten (b) .....                            | 173    |
|      |   |        |
| C.1  | MSMS-CID-Massenspektrum von Ethylgelb.....  | LXI    |
| C.2  | Kinetik der Ethylgelb-Fragmentierung aus m/z 225 (a) .....                                | LXII   |
| C.3  | Kinetik der Ethylgelb-Fragmentierung aus m/z 225 (b) .....                                | LXIII  |
| C.4  | Kinetik der Ethylgelb-Fragmentierung aus m/z 239 .....                                    | LXIV   |
| C.5  | MSMS-CID-Massenspektrum von p-Ethylrot.....   | LXV    |
| C.6  | Energieberechnung für p-Ethylrot - Protonierung Carboxygruppe....                         | LXVI   |
| C.7  | Kinetik p-Ethylrot-Fragmentierung - Protonierung Carboxygruppe ..                         | LXVI   |
| C.8  | PD-Intensitätsverläufe von o-Ethylrot.....  | LXVIII |
| C.9  | PD-Intensitätsverläufe verschiedener o-Ethylrot-Fragmente (a) .....                       | LXIX   |
| C.10 | PD-Intensitätsverläufe verschiedener o-Ethylrot-Fragmente (b) .....                       | LXX    |
| C.11 | PD-Intensitätsverläufe verschiedener o-Ethylrot-Fragmente (c).....                        | LXXI   |
| C.12 | PD-Intensitätsverläufe von o-Methylrot.....   | LXXII  |
| C.13 | PD-Intensitätsverläufe verschiedener o-Methylrot-Fragmente (a) ..                         | LXXIII |
| C.14 | PD-Intensitätsverläufe verschiedener o-Methylrot-Fragmente (b) ..                         | LXXIV  |

|   |         |
|---|---------|
| C.15 PD-Intensitätsverläufe von o-Propylrot .....                       | LXXV    |
| C.16 PD-Intensitätsverläufe verschiedener o-Propylrot-Fragmente (a) ... | LXXVI   |
| C.17 PD-Intensitätsverläufe verschiedener o-Propylrot-Fragmente (b) ..  | LXXVII  |
| C.18 PD-Intensitätsverläufe verschiedener o-Propylrot-Fragmente (c) .   | LXXVIII |
| C.19 PD-Intensitätsverläufe weiterer Disperse Red 1-Fragmente .....     | LXXIX   |

# Schemenverzeichnis

|      |  |     |
|------|--|-----|
| 1.1  | Fragmentierungsmechanismen der Diethylaminogruppe .....                | 3   |
| 3.1  | Synthese von p-Ethylrot.....   | 60  |
| 4.1  | Struktur von Ethylgelb.....  | 61  |
| 4.2  | Reaktionen von Ethylgelb bei Protonierung des Anilinstickstoffs .....  | 64  |
| 4.3  | Reaktionen von Ethylgelb bei Protonierung des Azostickstoffs .....     | 68  |
| 4.4  | Struktur von Methylgelb.....   | 71  |
| 4.5  | Reaktionen von Methylgelb .....  | 74  |
| 4.6  | Bildung des Fragments m/z 133 aus Methylgelb .....                     | 79  |
| 4.7  | Struktur von p-Ethylrot.....   | 81  |
| 4.8  | Reaktionen von p-Ethylrot bei Protonierung des Anilinstickstoffs ..... | 84  |
| 4.9  | Reaktionen von p-Ethylrot bei Protonierung des Azostickstoffs .....    | 88  |
| 4.10 | Weitere Fragmentierungsreaktionen von p-Ethylrot .....                 | 92  |
| 4.11 | Struktur von p-Methylrot.....  | 98  |
| 4.12 | Reaktionen von p-Methylrot .....                                       | 101 |
| 5.1  | Struktur von o-Ethylrot.....   | 108 |
| 5.2  | Reaktionen von o-Ethylrot nach Wasserverlust .....                     | 113 |
| 5.3  | Reaktionen von o-Ethylrot nach Cyclisierung des Grundgerüsts .....     | 122 |
| 5.4  | Reaktionen von o-Ethylrot nach Stickstoffabspaltung.....               | 127 |
| 5.5  | Weitere Fragmentierungsreaktionen von o-Ethylrot.....                  | 132 |
| 5.6  | Struktur von o-Methylrot.....  | 134 |
| 5.7  | Reaktionen von o-Methylrot nach Wasserverlust .....                    | 140 |
| 5.8  | Reaktionen von o-Methylrot zur Stickstoffabspaltung.....               | 145 |
| 5.9  | Bildung des Fragments m/z 148 aus o-Methylrot .....                    | 147 |
| 5.10 | Struktur von o-Propylrot .....   | 149 |
| 5.11 | Reaktionen von o-Propylrot nach Wasserverlust.....                     | 153 |

|      |  |       |
|------|--|-------|
| 5.12 | Cyclisierungsreaktionen von o-Propylrot.....                           | 158   |
| 6.1  | Struktur von Disperse Red 1.....                                       | 161   |
| 6.2  | Reaktionen von Disperse Red 1 bei Protonierung des Anilinstickstoffs . | 165   |
| 6.3  | Reaktionen von Disperse Red 1 bei Protonierung des Azostickstoffs .... | 169   |
| 6.4  | Bildung des Fragments m/z 134 aus Disperse Red 1 .....                 | 174   |
| 7.1  | Ethylabspaltung aus protonierter Diethylaminogruppe .....              | 178   |
| 7.2  | Methylabspaltung aus protonierter Dimethylaminogruppe.....             | 179   |
| 7.3  | Methylabspaltung aus Diethylaminogruppe.....                           | 180   |
| 7.4  | Radikalabspaltungen aus der Diethylaminogruppe.....                    | 181   |
| C.1  | Reaktionen von p-Ethylrot bei Protonierung der Carboxygruppe...        | LXVII |
| C.2  | Wasserverlust von Disperse Red 1 .....                                 | LXXX  |
| C.3  | Fragmentierungsreaktionen des Disperse Red 1-Grundgerüsts .....        | LXXX  |

# Tabellenverzeichnis

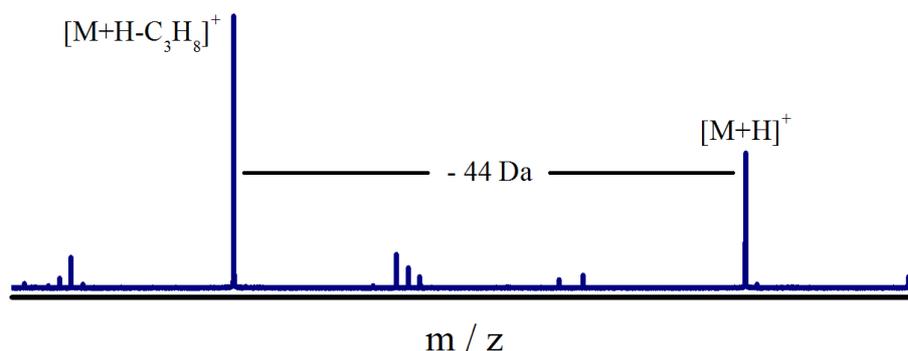
|      |  |        |
|------|--|--------|
| 3.1  | Massengenauigkeit des verwendeten Massenspektrometers.....       | 53     |
| B.1  | Abspaltungen aus Ethylgelb im PD-Massenspektrum.....             | XLVII  |
| B.2  | Abspaltungen aus Ethylgelb im SORI-CID-Massenspektrum .....      | XLVII  |
| B.3  | Abspaltungen aus Ethylgelb im CID-Massenspektrum.....            | XLVIII |
| B.4  | Abspaltungen aus Methylgelb im PD-Massenspektrum.....            | XLIX   |
| B.5  | Abspaltungen aus Methylgelb im SORI-CID-Massenspektrum .....     | XLIX   |
| B.6  | Abspaltungen aus Methylgelb im CID-Massenspektrum.....           | XLIX   |
| B.7  | Abspaltungen aus p-Ethylrot im PD-Massenspektrum.....            | L      |
| B.8  | Abspaltungen aus p-Ethylrot im SORI-CID-Massenspektrum .....     | L      |
| B.9  | Abspaltungen aus p-Ethylrot im CID-Massenspektrum .....          | LI     |
| B.10 | Abspaltungen aus p-Methylrot im PD-Massenspektrum.....           | LII    |
| B.11 | Abspaltungen aus p-Methylrot im SORI-CID-Massenspektrum .....    | LII    |
| B.12 | Abspaltungen aus o-Ethylrot im PD-Massenspektrum.....            | LIII   |
| B.13 | Abspaltungen aus o-Ethylrot im SORI-CID-Massenspektrum .....     | LIV    |
| B.14 | Abspaltungen aus o-Methylrot im PD-Massenspektrum.....           | LV     |
| B.15 | Abspaltungen aus o-Methylrot im SORI-CID-Massenspektrum .....    | LVI    |
| B.16 | Abspaltungen aus o-Propylrot im PD-Massenspektrum .....          | LVII   |
| B.17 | Abspaltungen aus o-Propylrot im SORI-CID-Massenspektrum .....    | LVIII  |
| B.18 | Abspaltungen aus Disperse Red 1 im PD-Massenspektrum.....        | LIX    |
| B.19 | Abspaltungen aus Disperse Red 1 im SORI-CID-Massenspektrum ..... | LX     |



# 1. Einleitung

Die Massenspektrometrie (MS) hat sich in den letzten Jahrzehnten zu einer der wichtigsten Methoden der chemischen Analytik entwickelt. Fachübergreifend findet sie Anwendung in nahezu allen Disziplinen der Lebenswissenschaften und der Materialentwicklung. Das Prinzip ist dabei immer, eine Probe zu ionisieren und die gebildeten Spezies nach dem Verhältnis von Masse zu Ladung zu trennen. Durch die große Anzahl an Ionisierungsmethoden werden immer mehr unterschiedliche Proben der Massenspektrometrie zugänglich gemacht. Zusammen mit den fortlaufenden Verbesserungen der Analysatoren werden bessere Massengenauigkeiten einhergehend mit gesteigertem Massenaufklärungsvermögen und gleichzeitig kürzeren Messzeiten erreicht. Auf diese Weise kann in kurzer Zeit eine sehr große Datenmenge erzeugt werden, deren Auswertung *manuell* nicht möglich ist. Der automatische Abgleich von experimentellen Ergebnissen mit in Datenbanken gespeicherten Messungen erleichtert die Auswertung enorm. Für bekannte und gut untersuchte Reaktionen funktioniert diese Methode sehr gut. Probleme können auftreten, wenn die Qualität der Spektren für die Zuordnung einer eindeutigen Summenformel nicht gut genug ist oder Ergebnisse ohne weitere Prüfung übernommen werden. Neue Erkenntnisse, unbekannte Reaktionen oder bereits existierende Fehler in den Datenbanken bleiben dann unentdeckt.

Ein Beispiel einer Fehlinterpretation aufgrund zu geringer Massenaufklärung ist die doppelte Abspaltung von 44 Da aus Rhodamin B.[1] In der Literatur finden sich verschiedene Zuordnungen für diese Abspaltungen. Häufig wurden  $\text{CO}_2$  oder  $\text{NC}_2\text{H}_6$  als Verluste vorgeschlagen. Mit Hilfe der hochauflösenden Massenspektrometrie wurde gezeigt, dass die beiden auftretenden Fragmente jeweils auf die Abspaltung von  $\text{C}_3\text{H}_8$  zurückzuführen sind.[2] Schematisch ist eine derartige Abspaltung in Abbildung 1.1 dargestellt. Des Weiteren wurde die Zuordnung mit Hilfe von Deuterierungsexperimenten bestätigt und gezeigt, dass die Verluste eindeutig aus den Diethylamino-gruppen des Rhodamins stammen.[3] Unklar bleibt indes, welcher Mechanismus zu



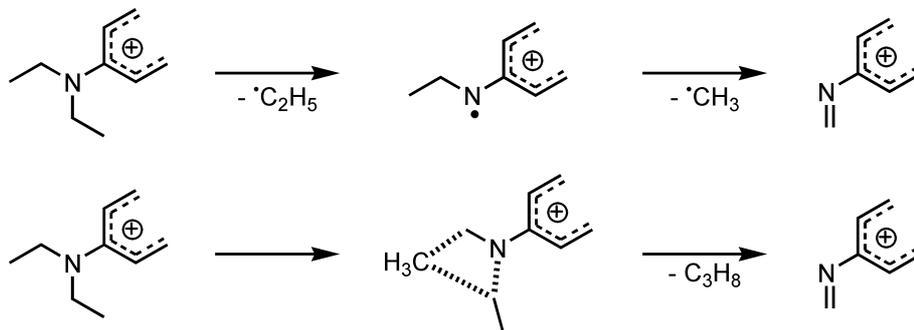
**Abbildung 1.1.:** Schematische Darstellung des Verlustes von 44 Da als  $C_3H_8$  aus einem protonierten Molekül.

diesen Abspaltungen führt. Zwei Mechanismen werden aktuell diskutiert und sind in Schema 1.1 dargestellt. Zum einen ist es ein konzertiert ablaufender Fragmentierungsmechanismus, der über einen cyclischen Übergangszustand verläuft. Zum anderen kann der Verlust durch konsekutiv verlaufende, radikalische Abspaltungen zustande kommen. Trotz intensiver Bemühungen ist es bis jetzt nicht möglich, diese Mechanismen eindeutig zu unterscheiden. Im Zuge dessen wurde eine große Anzahl unterschiedlicher Farbstoffsysteme mit Diethylaminogruppen und ähnlichen funktionellen Gruppen untersucht.[4, 5] Dabei wurden immer wieder Hinweise auf Anteile eines radikalischen Fragmentierungsmechanismus gefunden. Demgegenüber stehen auch Ergebnisse, die auf eine konzertierte Reaktion deuten.[6]

Gegenstand dieser Arbeit ist es, die Fragmentierung der Diethylaminogruppe in Kombination mit Diphenyldiazonen<sup>1</sup> mittels hochauflösender Massenspektrometrie zu untersuchen. Das veränderte aromatische System kann starke Auswirkungen auf die elektronische Struktur der funktionellen Gruppe haben. Die Fragmentierung der protonierten Verbindungen wurde sowohl mit Stoßaktivierung als auch mit Photo-dissoziation erreicht. Des Weiteren soll untersucht werden, inwiefern die Dissoziation dieser Substanzklasse systematisch und vergleichbar mit anderen Systemen verläuft. Die Azofarbstoffe stellen zudem ein interessantes Modellsystem für schaltbare Moleküle dar. Der Schaltprozess wird dabei in der Regel mit Licht induziert. Dissoziationsreaktionen können die Anwendung dieser Systeme verhindern und sollten deshalb möglichst gut verstanden sein. Dies verhindert auch Fehlinterpretationen auf diesem Gebiet.

---

<sup>1</sup>besser bekannt als Azobenzol



**Schema 1.1:** Gegenüberstellung des konzertierten und des konsekutiven Fragmentierungsmechanismus, die beide zur Abspaltung von C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> aus der Diethylaminogruppe führen können.

Die massenspektrometrischen Ergebnisse wurden durch theoretische Methoden verifiziert. Mittels quantenchemischer Rechnungen auf Basis der Dichtefunktionaltheorie wurden Energieprofile unterschiedlicher Reaktionskanäle zur Bildung der Abspaltung von C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> erhalten. Diese zeigen, ob eine Reaktion energetisch überhaupt ablaufen kann. Zusätzlich ist die Rate der Reaktion ein wichtiges Kriterium. Zu diesem Zweck wurden die energieabhängigen Ratenkonstanten mittels der Rice-Ramsperger-Kassel-Marcus (RRKM)-Theorie berechnet. Die Ergebnisse zeigen, welche der Reaktionen in dem Zeitbereich des verwendeten Massenspektrometers ablaufen können und welche nicht. Damit ermöglicht die Kombination aus experimentell erhaltenen massenspektrometrischen Daten, berechneter Energetik und Kinetik die Unterscheidung der beiden vorgeschlagenen Fragmentierungsmechanismen.



## 2. Theorie

In diesem Kapitel werden die experimentellen und theoretischen Grundlagen beschrieben, die für die Durchführung dieser Arbeit entscheidend sind. Dies beginnt mit der Beschreibung der verwandten massenspektrometrischen Methoden, der Elektrospray-Ionisation (ESI) als Ionisierungsmethode und der Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz-Massenspektrometrie (FT-ICR-MS) gleichzeitig als Massenanalysator und Detektor. Hierbei sind auch die Methoden zur Aktivierung der gespeicherten Ionen, die *Sustained Off-Resonance Irradiation* (SORI) *Collision-Induced Dissociation* (CID) und die Photodissoziation (PD), eine wichtige Thematik. Des Weiteren wird auf die Theorie unimolekularer Reaktionen eingegangen, um die untersuchten Dissoziationsreaktionen einordnen und verstehen zu können. Quantenchemische Methoden zur Beschreibung untersuchter Reaktionen sowie das Aufzeigen der Eigenschaften der verwendeten Azoverbindungen schließen dieses Kapitel ab.

### 2.1. Massenspektrometrie

Die Entdeckung des Elektrons im Jahr 1897 ist eine der wichtigsten Grundlagen, die mit zur Entwicklung der Massenspektrometrie beitrug.[7] Im Jahr 1906 bekam Entdecker Thomson den Nobelpreis für den Nachweis elektrischer Leitfähigkeit in Gasen zuerkannt.[8] In den folgenden Jahren wurden einige Techniken entwickelt, mit denen indirekt die Masse von Verbindungen bestimmt werden kann und die großteils noch heute Anwendung finden. Das Prinzip ist immer ähnlich. Eine zu untersuchende Verbindung muss dafür eine bestimmte Anzahl an Ladungen besitzen, sie wird ionisiert. Anschließend ist es möglich, diese Ionen entsprechend des Masse-zu-Ladungs-Verhältnis ( $m/z$ ) in einem Analysator zu trennen und zu detektieren. Zu den wichtigsten dieser Analysator-Techniken zählen das Sektorfeld-Massenspektrometer, das Flugzeit (TOF)-Massenspektrometer, das Quadrupol-Massenspektrometer und Ionenfallen wie die Paulfalle, das FT-ICR-Massenspektrometer und die Orbitrap.[9]

Der Aufbau eines Massenspektrometers kann in der Regel in drei Bereiche unterteilt werden, die Ionenquelle, den Analysator und den Detektor. In einigen Fällen ist der Analysator auch gleichzeitig der Detektor, wie es z. B. bei der FT-ICR-MS der Fall ist. Bei der Kombination von Ionenquellen mit den genannten Analysatoren gibt es kaum Beschränkungen.

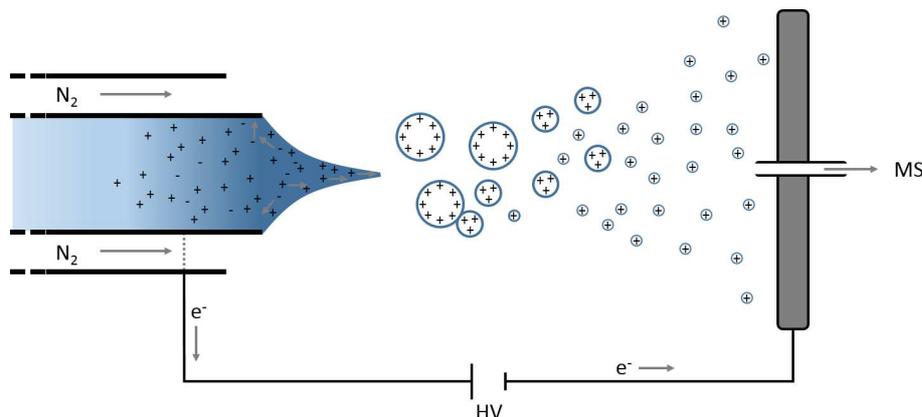
Ionenquellen lassen sich nach der Menge an übertragener Energie auf einen Analyten und nach der Eignung für bestimmte Proben unterteilen. Je weniger Überschussenergie nach dem Ionisierungsprozess vorhanden ist, desto weniger Fragmente des Analyten werden beobachtet. Die Anzahl an Methoden zur Erzeugung von Ionen übersteigt die Anzahl der zur Verfügung stehenden Analysatoren bei Weitem. Viele dieser Verfahren sind Abwandlungen, Modifizierungen oder Kombination von *klassischen*, häufig verwendeten Methoden. Zu den wichtigsten Ionisierungsverfahren zählen die Elektronenionisation (EI), die Chemische Ionisation (CI), die Atmosphärendruck-Chemische Ionisation (APCI), die Atmosphärendruck-Photoionisation (APPI), die Laserdesorption/Ionisation (LDI), die Matrix-unterstützte Laserdesorption/Ionisation (MALDI) und ESI.[9] Die beiden letztgenannten führten zu einem Durchbruch bei der Analyse biologischer Proben mittels Massenspektrometrie. Damit war es erstmalig möglich, ganze Proteine zerstörungsfrei in die Gasphase zu überführen und zu analysieren. Im Jahr 2002 wurde der Nobelpreis für Chemie unter anderem für die Entwicklung der beiden Methoden ESI und MALDI vergeben. [10, 11] Neben der Analyse aufbereiteter einzelner Proben hat in letzter Zeit die Entwicklung der bildgebenden Massenspektrometrie stark zugenommen. Dabei kann die Oberfläche präparierter Proben untersucht werden, indem diese bewegt und somit rasterartig massenspektrometrisch analysiert werden kann. Hierbei kommen weit verbreitet ebenfalls MALDI [12] als auch Desorptions-Elektrospray-Ionisation (DESI) [13] und Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS) [14] zum Einsatz. Mit Hilfe dieser Verfahren ist es möglich, biologisches oder medizinisch relevantes Gewebe zweidimensional zu untersuchen. Somit kann beispielsweise die Anreicherung schädlicher Stoffe in wichtigen Regionen eines Organismus oder die Abgrenzung von Tumoren zu gesundem Gewebe gut bestimmt werden.[15]

Anwendungen massenspektrometrischer Verfahren sind weit gestreut. Sie durchziehen alle Bereiche der sogenannten *Life Sciences* (Lebenswissenschaften) wie die der Biologie, Chemie, Medizin, Biomedizin, Biochemie, Pharmazie, Molekularbiologie, Biophysik, Bioinformatik, Humanbiologie, aber auch Agrartechnologie und

Ernährungswissenschaften. Die Liste der einzelnen Forschungsgebiete ist lang und umfasst neben Proteomics, Glycomics, Lipidomics und Metabolomics viele weitere Disziplinen mit biologischer Relevanz.[16] Neben diesen ist die Massenspektrometrie in anderen Bereichen zu finden. Die Isotopenanalyse ist dabei ein wichtiges Feld und kann Aufschlüsse über das Alter von Materialien geben. Massenspektrometer kommen nicht nur auf der Erde zum Einsatz, sie dienen in der Raumfahrt zur Analyse von Gas- und Bodenproben. Abseits dieser Anwendungen wird in den folgenden Abschnitten auf die in dieser Arbeit verwendeten Methoden genauer eingegangen. Die Ionisierung erfolgte mittels der von Fenn entwickelten ESI, die im direkt folgenden Abschnitt 2.1.1 beschrieben ist. Als Analysator und Detektor dient ein FT-ICR-Massenspektrometer. Den Durchbruch schaffte diese Methode mit der Entwicklung der supraleitenden Magneten und Entwicklungen durch Marshall und Comisarow.[17,18] In Abschnitt 2.1.2 wird genauer auf diesen Massenspektrometertyp eingegangen.

### 2.1.1. Elektrospray-Ionisation

ESI ist eine sehr weit verbreitete Ionisierungsmethode in der Massenspektrometrie. Hierbei werden aus gelösten Proben gasförmige Ionen erzeugt. Diese Ionen können in unterschiedlichen Ladungszuständen vorliegen. In der Regel werden Ionen des Schemas  $[M + zH]^{z+}$  detektiert. Das Auftreten von mehrfach geladenen Spezies ermöglicht es, sehr große Moleküle in einem limitierten Massenbereich zu untersuchen. Im Gegensatz dazu treten bei der MALDI hauptsächlich einfach geladene Ionen der Form  $[M + H]^+$  auf. Es ist dennoch möglich, mit dieser Methode unter bestimmten Bedingungen mehrfach geladene Ionen zu erzeugen.[19] Ein großer Vorteil der ESI ist, dass diese Methode sehr gut mit der Flüssigchromatographie (LC) kombiniert werden kann. Dies ist besonders wichtig bei der Untersuchung von komplexen Mischungen oder den Produkten des Protease-Verdau zur Aufklärung von Proteinstrukturen. Die starke Nähe zur flüssigen Phase erlaubt zusätzliche Untersuchungen wie Wasserstoff/Deuterium-Austausch, Komplex/Ligand-Wechselwirkungen oder enzymkinetische Methoden. Trotz jahrzehntelanger Forschung sind die genauen Mechanismen der Ionenerzeugung nicht vollständig geklärt. Verschiedene Mechanismen, die zur Bildung von Ionen aus hochgeladenen Nanotröpfchen führen, wurden vorgeschlagen. Hierzu zählen das *Ion Evaporation Model* (IEM), bei dem vor allem



**Abbildung 2.1.:** Schematischer Aufbau einer Elektrospray-Ionisations-Quelle im Positivmodus.

niedermolekulare Spezies ionisiert werden. Das *Charge Residue Model* (CRM) wird vor allem zur Erklärung der Bildung von sehr hochgeladenen und schweren Molekülen verwendet. Ein drittes Modell, das *Chain Ejection Model* (CEM), erklärt, wie die Bildung von hochgeladenen, langkettigen Molekülen stattfinden kann.

Die ESI wird bei Atmosphärendruck betrieben. Hierbei wird eine Lösung, in der der Analyt gelöst ist, durch eine Metallkapillare gesprüht. An dieser liegt ein Potential von mehreren tausend Volt an. Dieses Prinzip ist schematisch in Abbildung 2.1 dargestellt. Typische Flussraten der Lösung sind einige  $\mu\text{L}$  pro Minute (Standard-ESI) bis zu wenigen  $\text{nL}/\text{min}$  (nano-ESI).[20] Durch das hohe elektrische Potential an der Kapillare ist diese mit einer elektrochemischen Flusszelle vergleichbar. Der Stromfluss zwischen Kapillare (Anode) und Einlass des Massenspektrometers (Kathode) kommt allein durch die Ladungsträger aus der Lösung zustande. Dabei kann es sich um  $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$  oder  $\text{NH}_4^+$  handeln. Am Kapillarende bildet die Lösung einen Taylorkegel (*taylor cone*) aus. Von dessen Spitze wird ein feiner Strahl emittiert, der zur Bildung winziger, hochgeladener Tröpfchen mit einem Durchmesser im Mikrometerbereich führt. Dieser Prozess wird durch einen coaxialen Gasstrom um die Kapillare unterstützt. Das Lösungsmittel verdampft aus diesen Tröpfchen, was in der Regel durch Heizen unterstützt wird. Werden Lösungsmittelgemische aus wässrigen und organischen Anteilen verwendet, verdampft der organische Teil schneller, was zu einer Erhöhung des Wasseranteils führt. Die Ladungsdichte  $Q$  der kleiner werdenden Tröpfchen steigt immer weiter an, bis die elektrostatische Abstoßung gleich der Oberflächenspannung  $\gamma$  ist, die das Tröpfchen zusammenhält. Dieser Zustand

wird Rayleigh-Limit genannt und kann mit

$$Q = \sqrt{64\pi^2 \cdot \varepsilon_0 \cdot \gamma \cdot r^3} \quad (2.1)$$

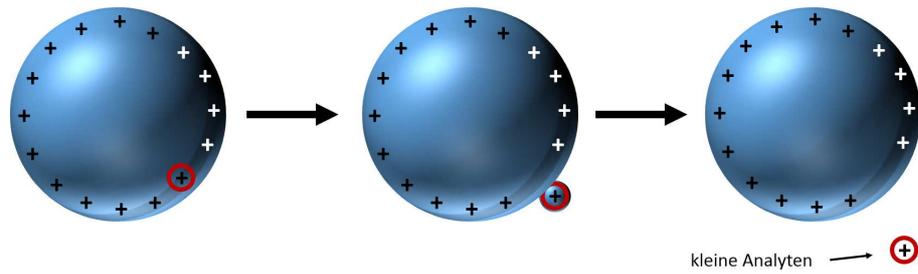
beschrieben werden. Hierbei ist  $\varepsilon_0$  die Permittivität im Vakuum und  $r$  der Tröpfchenradius.[21] Ist die Coulomb-Abstoßung größer als die Oberflächenspannung, zerfällt das Tröpfchen. Auf Grund der Flugbewegung ist die Form des Tröpfchens verzerrt und die Ladungsverteilung nicht homogen. Am schmalen Ende werden Mikrotröpfchen mit einem Durchmesser von einigen Nanometern freigesetzt. Diese entsprechen nur ca. 1 – 2 % der Masse des Vorläufertröpfchens, tragen dabei aber ca. 10 – 20 % der Ladungen.[22] Dieser Prozess wird als *Droplet Jet Fission* bezeichnet. Die Bildung gasförmiger Analyten ist auf diese Spezies zurückzuführen und wird durch die unterschiedlichen Bildungsmodelle der Ionen beschrieben. Diese Bildungsmodelle, IEM, CRM und CEM werden im Anschluss an diesen Abschnitt beschrieben.[23]

#### 2.1.1.1. Ion Evaporation Model

Das *Ion Evaporation Model* liefert eine gute Beschreibung für die Bildung gasförmiger Ionen mit niedrigem Molekulargewicht, die schon in Lösung als Ionen vorliegen können. Eine erste Beschreibung dieses Modells zur Freisetzung von Ionen wurde von Iribarne und Thomson im Jahr 1976 aufgestellt.[24] Normalerweise resultiert die Ladung aus der Protonierung des Analyten, die häufig durch das Vorhandensein einer organischen Säure (i.d.R. Ameisensäure) in der Lösung unterstützt wird. Das IEM basiert auf einem ausreichend hohen elektrischen Feld, das von den Nanotröpfchen am Rayleigh-Limit (Radius kleiner als 10 nm) ausgeht. Dies führt zur Freisetzung solvatisierter, geladener Teilchen von der Oberfläche der Tröpfchen, wie in Abbildung 2.2 gezeigt ist. Dieser Vorgang steht in Konkurrenz zur Coulomb-Spaltung der Tröpfchen, wie es beim nachfolgend beschriebenen CRM angenommen wird. Mit Hilfe der Theorie des Übergangszustandes kann die Rate der Freisetzung als

$$k = \frac{k_B T}{h} \exp\left(\frac{-\Delta G^*}{k_B T}\right) \quad (2.2)$$

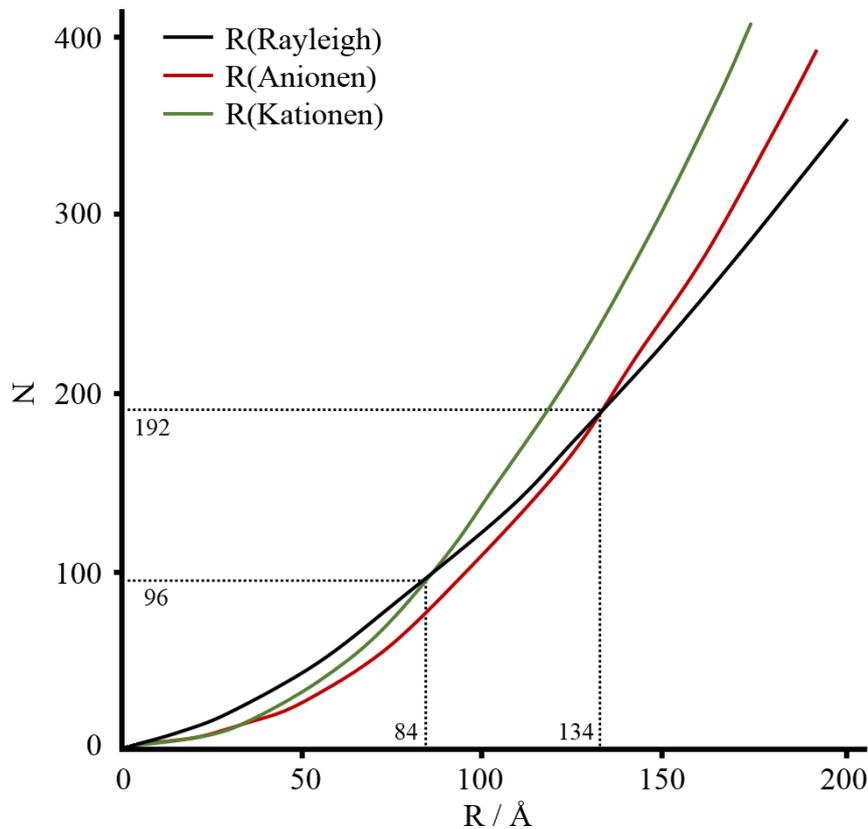
beschrieben werden. Hierbei ist  $\Delta G^*$  die Höhe der Energiebarriere,  $k_B$  die Boltzmann-Konstante,  $h$  das Planck'sche Wirkungsquantum und  $T$  die Temperatur.



**Abbildung 2.2.:** Schematische Darstellung des Ionisierungsmechanismus nach dem *Ion Evaporation Model*.

Das IEM basiert auf experimentellen und theoretischen Untersuchungen.[25] Messungen der relativen Intensität der durch ESI generierten Ionen von in Wasser gelöstem NaCl unterstützten den vorgeschlagenen Mechanismus. Die höchsten Intensitäten zeigten die Spezies mit dem geringsten Masse-zu-Ladungs-Verhältnis, in diesem Fall  $\text{Na}^+$  und die Hydrate  $\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_k^+$  ( $k = 1 - 3$ ). Eine Vielzahl größerer ionischer Aggregate wurden mit deutlich geringer Intensität detektiert, die vor allem als  $[(\text{NaCl})_n(\text{Na})_m]^{m+}$  vorliegen. Mit abnehmendem  $m$  nimmt die Intensität ebenfalls ab. Während die Bildung der größeren ionischen Cluster durch das CRM beschrieben werden kann, muss es einen weiteren Mechanismus geben, der die Bildung von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Na}^+$ -Hydraten erklärt. Das Entweichen kleiner geladener Spezies direkt von der Oberfläche der geladenen Tröpfchen beschreibt dieses Auftreten mit großer Intensität sehr gut. Dieser Entweichungsprozess wurde Ionenverdampfung (*Ion Evaporation*) genannt.[26]

Die theoretische Beschreibung dieses Modells führt zu der oben angegebenen Gl. 2.2, die die Rate der Freisetzung der Ionen beschreibt. Hierbei wird die Annahme gemacht, dass es sich bei dem verdampfenden Ion um eine der Oberflächenladungen des Tröpfchens handelt. Coulomb-Wechselwirkungen führen zur Abstoßung des freigesetzten Ions durch die verbleibenden Ladungen des Tröpfchens. Demgegenüber existieren in einem sehr kurzen Abstand auch attraktive Wechselwirkungen auf Grund der Polarisierung des Tröpfchens durch das entweichende Ion. Das Zurückziehen des freigesetzten Ions ist an dieser Stelle möglich. Diese Polarisierbarkeit ist bei sehr kleinen Abständen die überwiegende Kraft, während die Abstoßung erst bei größeren Abständen überwiegt. Der Punkt, an dem beide Kräfte identisch sind, definiert den Übergangszustand. Abbildung 2.3 zeigt die berechneten Radien an denen die Spaltung der Tröpfchen am Rayleigh-Limit in Ionenverdampfung übergeht.



**Abbildung 2.3.:** Vorhersagen durch das *Ion Evaporation Model*: Die Rayleigh-Kurve (schwarz) gibt den Radius  $R$  und die Anzahl an Elementarladungen  $N$  von Wassertröpfchen am Rayleigh-Limit an. Negativ (rot) geladene Tröpfchen zeigen die Bevorzugung der Ionenverdampfung bei Radien  $R \leq 134$  Å, positiv (grün) geladene Tröpfchen bei  $R \leq 84$  Å gegenüber der zuvor bevorzugten Spaltung der Tröpfchen.

Bei sehr kleinen Tröpfchengrößen von unter  $100$  Å ist die Ionenverdampfung der vorherrschende Prozess.

Die Sichtweise auf diese einfache Beschreibung des IEM wurde durch Molekulardynamik (MD)-Simulationen etwas verändert.[27] Das sich entfernende Ion bleibt zunächst durch einen *Faden* aus Lösungsmittelmolekülen mit dem Tröpfchen verbunden. Es entsteht eine Brücke zwischen dem Ion und dem Tröpfchen. Erst durch das Brechen dieser Verbindung wird das solvatisierte Ion freigesetzt. Dieses Phänomen ist auf Grund der hohen Oberflächenspannung bei reinem Wasser als Lösungsmittel weniger ausgeprägt. Das Produkt des gesamten Prozesses des IEM ist demnach ein

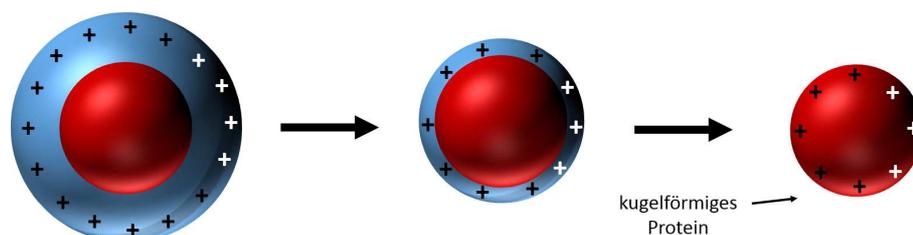
kleiner gasförmiger Cluster aus dem Ion und einigen Lösungsmittelmolekülen. Das restliche Lösungsmittel wird beim Transfer ins Massenspektrometer verloren, wo es zu Stößen des Clusters mit Hintergrundgas kommt.

Dieses theoretisch vorhergesagte Verhalten wurde durch viele weitere Untersuchungen überprüft.[28] Ein Problem dabei ist die Bestimmung der Tröpfchengröße, wenn sich diese durch das Verdampfen von Lösungsmittel sehr schnell ändert. Um dieses Problem zu umgehen, wurden nicht die Tröpfchen selbst, sondern die Größe und die Ladungszustände der festen Rückstände untersucht. Anhand dieser Rückstände konnten Schlüsse auf die zuvor vorhandenen Tröpfchen selbst gezogen werden. Diese entsprechen dem zuletzt vorhandenen Zustand dieser Tröpfchen und sind für Messungen gut zugänglich. Die Ergebnisse aus diesen Untersuchungen zeigen eine sehr gute Übereinstimmung mit den zuvor beschriebenen Theorien des IEM.[29]

### 2.1.1.2. Charge Residue Model

Es ist allgemein akzeptiert, dass große, kugelförmige Moleküle wie bspw. natürlich gefaltete Proteine über das *Charge Residue Model* in die Gasphase überführt werden. Bei dem CRM enthalten hochgeladene Nanotröpfchen ein einziges Analytmolekül und die Solvathülle verdampft, wie in Abbildung 2.4 dargestellt. Wenn die letzte Lösungsmittelschicht verdampft, werden die Ladungen des verschwindenden Tröpfchens auf das Analytmolekül übertragen. Die Nanotröpfchen befinden sich beim CRM die ganze Zeit nah am Rayleigh-Limit. Das bedeutet, dass die ganze Zeit Ladungen verloren werden, während der Radius des Tröpfchens schrumpft. Dieser Ladungsverlust kann über das IEM (siehe Abschnitt 2.1.1.1) beschrieben werden, wodurch solvatisierte Protonen und kleine Ionen aus dem Tröpfchen entfernt werden können.

Direkte MD-Simulationen des gesamten CRM Prozesses sind schwierig durchzuführen, da dieser relativ lang ist ( $\mu\text{s}$ -Bereich). Dennoch zeigten Simulationen, dass starke Hydratation der Außenseiten des Proteins dazu führt, dass sich dieses mittig im Nanotröpfchen befindet.[30] Dieses Verhalten passt sehr gut zum CRM. Die Freisetzung von großen Proteinen über das IEM ist kinetisch ungünstig. Experimentelle Untersuchungen zeigten, dass die Anzahl der Ladungen, von mit ESI erzeugten kugelförmigen Proteinen,  $[M + z_R \text{ H}]^{z_R+}$  ist. Dabei entspricht  $z_R$  der Rayleigh-Ladung von Wassertropfen der Größe des entsprechenden Proteins.



**Abbildung 2.4.:** Schematische Darstellung des Ionisierungsmechanismus nach dem *Charge Residue Model*.

Der Protonierungsgrad, der durch das CRM vorhergesagt wird, ist unabhängig vom Ladungszustand des Analyten in Lösung, was auch mit experimentellen Beobachtungen übereinstimmt.[31] Dieses Phänomen kann verdeutlicht werden, wenn ein hypothetisches Protein angenommen wird. Dieses trägt 20 positive (Arg, Lys) und 20 negative (Asp, Glu) Seitenketten, ist also nach außen neutral. Nachdem dieses Protein in ein Nanotröpfchen überführt wurde, der einen Überschuss an  $H^+$  enthält, verdampft das Lösungsmittel. Die verbleibenden Ladungen binden an den Carboxylatgruppen des freigesetzten Proteins. Die Ladung des gasförmigen Proteins entspricht  $(+20) + (-20) + z_R = z_R$ . Ein anderes Beispiel ist ein Protein mit einer Nettoladung von +5, die aus 20 positiven und 15 negativen Seitenketten resultiert. In diesem Fall tragen sowohl die überschüssigen Protonen als auch die Nettoladung des Proteins zur Rayleigh-Ladung des Nanotröpfchens bei. Damit wird die Anzahl der Ladungen auf dem freigesetzten Protein auf  $z_R - 5$  reduziert. Es ergibt sich ein gasförmiges Protein mit der Nettoladung von  $(+20) + (-15) + (z_R - 5) = z_R$ , identisch mit dem vorherigen Beispiel. Das zeigt, dass der Ladungszustand in der Gasphase sowohl von der Eigenladung als auch von der Zusammensetzung des untersuchten Proteins unabhängig ist.

Ein Problem der Ionisierung mit ESI ist, dass diese Methode sehr empfindlich gegenüber Additiven und Kontaminationen aus dem Lösungsmittel oder dem Analyten ist. Durch das CRM lassen sich einige dieser Probleme verstehen. Wenn der Ladungsüberschuss hauptsächlich auf Protonen zurückzuführen ist, wird ein sehr sauberes  $[M + z_R H]^{z_R+}$ -Signal erhalten. Sind zusätzlich weitere Ladungsträger wie z. B.  $Na^+$  vorhanden, treten Mischungen wie  $[M + (z_R - i)H + iNa]^{z_R+}$  auf ( $i = 0 \dots z_R$ ). Dieses Verhalten ist auf die Bindung von  $Na^+$ -Ionen anstelle von Protonen an den Carboxylatstellen des Proteins in der finalen Phase des CRM zurückzuführen. Parti-

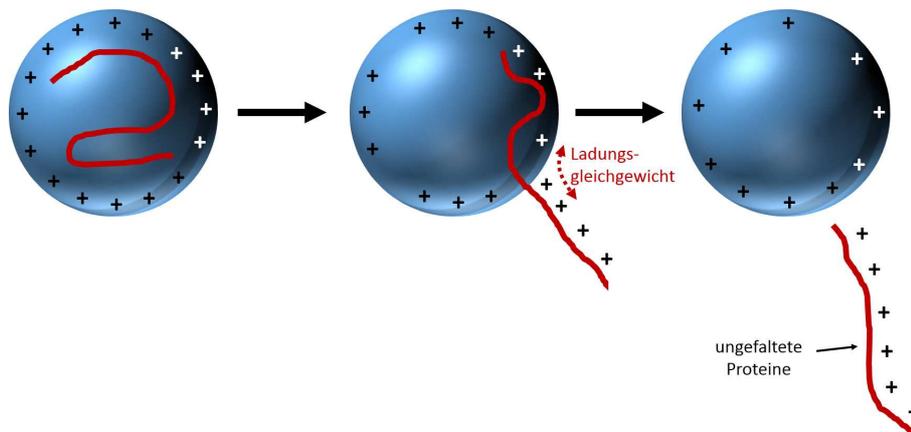
elle Adduktbildung führt zu einer heterogenen Verteilung der vorhandenen Gesamtionen auf einen breiten Massenbereich. Daraus folgt eine Reduzierung des Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N) im Massenspektrum. Das Vorhandensein weiterer Kationen (z. B. Metalle) führt zu einer weiteren Verschlechterung der Qualität des Spektrums. Des Weiteren sind auch Suppressionseffekte durch das Vorhandensein unterschiedlicher Kationen möglich.[32]

Eines der wenigen ESI kompatiblen Salze ist Ammoniumacetat, weil es aus zwei flüchtigen Komponenten besteht, Ammoniak und Essigsäure. Die entstehenden  $\text{NH}_4^+$ -Kationen assoziieren mit den Carboxylaten des Proteins, wenn das Tröpfchen verdampft. Während des Transfers in das Massenspektrometer kommt es zu Stößen, die zu einer Abspaltung von  $\text{NH}_3$  aus den Addukten führen. Aus diesem zweistufigen Prozess wird eine Carbonsäuregruppe generiert, die zu einem sauberen  $[M+z_RH]^{z_R+}$ -Spektrum beiträgt. Auf diese Art und Weise können zuvor gebundene Metallkationen verdrängt werden. Bis zu einem gewissen Grad ist es somit möglich, ESI-Spektren von salzkontaminierten Proben in ausreichender Qualität zu erhalten.[33]

In diese Betrachtung können ebenfalls die Gegenionen mit einbezogen werden. Jeder gelöste Stoff wird während des Schrumpfens des Tröpfchens stark im Lösungsmittel angereichert. Eine Folge ist eine unspezifisch stattfindende Salzbildung. Ist beispielsweise  $\text{NaCl}$  in der Analytlösung vorhanden, können in der Regel Analytsignale sowohl mit  $\text{Na}^+$  als auch mit  $\text{Cl}^-$  detektiert werden. Das daraus resultierende Addukt  $[M + (z_R - i)H + i\text{Na} + (\text{NaCl})_j]^{z_R+}$ , bei dem  $i$  und  $j$  ein Vielzahl an Werten annehmen können, führt wieder zu einem reduzierten S/N des Spektrums. Derartige Salzkontaminationen treten häufig bei biologischen Proben auf. Mit Hilfe von LC oder Dialyseschritten vor der eigentlichen massenspektrometrischen Untersuchung kann eine Entsalzung der Proben erreicht werden.[34]

### 2.1.1.3. Chain Ejection Model

In neutraler wässriger Lösung nehmen Proteine sehr häufig eine kugelförmige Struktur an, so dass sich ein Großteil der polaren Reste außen befindet und gut mit dem Wasser wechselwirken kann. Nichtpolare Teile bilden einen hydrophoben Kern ohne direkten Kontakt mit dem Lösungsmittel. Im Gegensatz dazu liegen sie während des ESI-Prozesses in einer Kettenkonfiguration vor.



**Abbildung 2.5.:** Schematische Darstellung des Ionisierungsmechanismus nach dem *Chain Ejection Model*.

MD-Simulationen zeigten, dass es für ungefaltete Proteine unter ESI-Bedingungen einen weiteren Ionisierungsmechanismus gibt, das *Chain Ejection Model*. Entfaltung von Proteinen kann schon in Lösung eingeleitet werden, indem es beispielsweise in eine saure mobile Phase für eine LC gegeben wird. Die entstehenden unterschiedlichen Konformere sind stark ungeordnet und zuvor im Kern geschützte unpolare Strukturen sind dem Lösungsmittel ausgesetzt. Die Eigenschaften ändern sich von kompakt und hydrophil zu aufgeweitet und hydrophob. Damit ist der Verbleib in der Mitte des Tröpfchens auf Grund des entstehenden hydrophoben Charakters des entfalteten Proteins ungünstig. Stattdessen bewegen sich entfaltete Ketten des Proteins sofort zur Oberfläche des geladenen Tröpfchens. Ein Kettenende wird in Richtung Gasphase überführt, wie in Abbildung 2.5 gezeigt ist. Nach und nach folgt der Rest des Proteins dem einen Ende, es kommt zu einer Trennung von Protein und Tröpfchen. Das CEM hat offensichtlich einige Gemeinsamkeiten mit dem IEM, unterscheidet sich aber deutlich vom CRM. Es kann bei Polymerketten, die ungeordnet vorliegen und mehrere Ladungsträger binden können, angewandt werden.[35]

Gefaltete, kugelförmige Proteinstrukturen neigen dazu, wenig intensive Signale im ESI-Massenspektrum zu erzeugen. Im Gegensatz dazu liefern entfaltete Polypeptidketten intensivere Signale. Beispielsweise wird im Massenspektrum von Myoglobin die Signalintensität durch säureinduzierte Entfaltung um zwei Größenordnungen verbessert.[35] Ein Großteil dieser Intensitätssteigerung kann den unterschiedlichen Ionisierungsmechanismen zugeordnet werden, CRM bei nativem Myoglobin und CEM

bei dem entfalteten Protein. Das CRM ist bei großen, kugelförmigen Analyten ein langsamer und ineffizienter Prozess, der auf der  $\mu\text{s}$ -Zeitskala abläuft.[36] Auf Grund dessen bleiben viele gefaltete Proteine in der Lösungsmittelhülle des Nanotröpfchens gefangen, wenn sie den Einlass des Massenspektrometers erreichen. Anders stellt sich die Situation für das CEM dar. Die entfalteten, hydrophoben Ketten werden schnell (ns-Zeitskala) freigesetzt. Diese höhere Rate beim CEM erhöht die Ionenausbeute und damit auch die Signalintensität. Weitere experimentelle Parameter, wie die Transfercharakteristik des Analysators, können ebenfalls Einfluss auf die Signalintensität haben.[27]

Eine große Anzahl an unterschiedlichen Faktoren beeinflussen die ESI-Massenspektren von Proteinen, entscheidend für die auftretende Ladungsverteilung ist jedoch die Struktur des Proteins in Lösung. Entfaltete Proteine zeigen viel höhere Ladungszustände als die entsprechenden gefalteten Proteine. Natives Myoglobin zeigt eine enge Verteilung um den Ladungszustand +9. Im Gegensatz dazu zeigt das entfaltete Myoglobin das Maximum der Verteilung bei +17, während zusätzlich die gesamte Verteilung breiter ist. In der Regel werden niedrigmolekulare, organische Säuren zur Entfaltung von Proteinen für ESI-MS benutzt. Hohe Ladungszustände werden aber auch nach basischer Denaturierung, nach Aufspaltung der Disulfidbrücken oder bei natürlich ungeordneten Proteinen beobachtet. Dieser Effekt wird häufig genutzt, um Proteinfaltung und -entfaltung in Lösung zu beobachten.[37] Die konformationsbedingten Unterschiede der Ladungszustände sind auf die verschiedenen Ionisierungsmechanismen zurückzuführen. Die niedrigeren Ladungszustände der gefalteten Proteine resultieren aus dem CRM. Andererseits geben die höheren Ladungszustände nicht allein den Zustand in Lösung wieder. Sie sind auch eine Folge von Ladungsausgleichsreaktionen während des CEM. Ein ähnlicher Effekt, die Dissoziation von Multiproteinkomplexen in ESI, verdeutlicht dieses Phänomen. Langsame Stoßaktivierung führt zu partieller Entfaltung einzelner Untereinheiten. Elektrostatische Abstoßung induziert den Transfer von Protonen von der Oberfläche des Komplexes zu dem entfalteten Teil. Diese Ladungsübertragung stoppt erst mit der Dissoziation. Es entstehen ein hochgeladenes Protein und ein ladungsarmer Komplex.[38]

Dieser Dissoziationsprozess ähnelt stark der Freisetzung von entfalteten Proteinen aus Nanotröpfchen wie beim CEM. In beiden Fällen wird aus einer sphärischen, am Rayleigh-Limit geladenen Spezies eine mehrfach geladene Polymerkette freigesetzt. Unbestritten stammen die Ladungen bei der Dissoziation von Multiproteinkomple-

zen aus elektrostatisch begünstigten Protonenübertragungen.[38] Analog dazu ist es auch möglich, dass die hohen Ladungszustände beim CEM durch einen Ladungsausgleich zwischen dem hochgeladenen Tröpfchen und der freigesetzten Proteinkette entstehen.

Der große Bereich der verschiedenen Protonierungsgrade von entfaltenen Proteinen lässt sich dadurch erklären, dass diese aus unterschiedlich großen Nanotröpfchen freigesetzt werden. Eine ESI-Quelle erzeugt unterschiedlich große Tröpfchen.[39] Große Tröpfchen tragen mehr Ladungen als kleine. Es werden mehr Protonen übertragen, wenn eine Proteinkette aus einem großen Tröpfchen stammt, während kleine Tröpfchen niedrigere Ladungszustände generieren. Die maximale Tröpfchengröße für CEM liegt bei ca. 10 nm. Neben der Tröpfchengröße beeinflussen auch andere Faktoren die Verteilung der Ladungszustände. Dazu zählen das Vorhandensein von Proteinketten mit unterschiedlichem Entfaltungszustand, unvollständiger Ladungsausgleich während der Freisetzung und die Möglichkeit, dass einige Ketten schon vor dem Erreichen des Rayleigh-Limits freigesetzt werden. Zusammenfassend liefert das CEM eine gute Beschreibung von experimentell erhaltenen ESI-Massenspektren von entfaltenen Proteinen.[40]

### **2.1.2. Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz-Massenspektrometrie**

Im Jahr 1974 wurde die FT-ICR-MS erstmals von Comisarow und Marshall durchgeführt.[17, 18] Seitdem hat sich diese Methode stark verbreitet und findet in vielen Bereichen der Wissenschaft Anwendung. Die Grundlagen dieser Methode sind die Ionen-Cyclotronfrequenz, Radius, Geschwindigkeit und Energie als Funktion von Masse und Ladung der Ionen und der Magnetfeldstärke, direkt gefolgt von der Ionenbewegung in einem starken, statischen Magnetfeld. Wird ein Radiofrequenzpuls (Anregung) der gleichen Frequenz (resonant) wie die Cyclotronfrequenz der Ionen eingestrahlt, wird die Ionenbewegung räumlich kohärent und damit beobachtbar. Das Ionencyclotronresonanz (ICR)-Signal (Zeitdomäne) resultiert aus der Induzierung (Detektion) einer oszillierenden Bildladung in mindestens zwei parallel angeordneten, nicht leitend verbundenen Elektroden. Ein Signal in der Frequenzdomäne (umwandelbar in ein Massenspektrum) kann durch Fouriertransformation (FT) des ICR-Signals der Zeitdomäne erhalten werden. Zudem können die Ionen durch

das Anlegen eines Gleichspannungspotentials gespeichert werden. Dies führt zu einem Versatz (*shift*) der Cyclotronfrequenz, wobei das Verhältnis von Anregung und Detektion linear bleibt. Kollisionen führen zu einer Verbreiterung des detektierten Signals, können das Ionenpaket aber auch kühlen und komprimieren, was wieder eine bessere Detektion ermöglicht. Diese Grundlagen der FT-ICR-MS werden im Folgenden umfassender beschrieben.

### 2.1.2.1. Ionenbewegung

Ein Ion, das sich in einem homogenen Magnetfeld  $\vec{B} = -B_0\vec{k}$  (die z-Achse ist definiert als die Gegenrichtung zu  $\vec{B}$ ) bewegt, ist der Kraft in Gl. 2.3 ausgesetzt,

$$\vec{F} = m\frac{d\vec{v}}{dt} = q\vec{v} \times \vec{B} \quad (2.3)$$

in der  $m$  die Ionenmasse,  $q$  die Ladung und  $\vec{v}$  die Geschwindigkeit sind. Das Kreuzprodukt der beiden Terme bedeutet, dass die Richtung der magnetischen Komponente der Lorentzkraft senkrecht zur Ebene aus  $\vec{v}$  und  $\vec{B}$  steht. Ein Ion mit konstanter Geschwindigkeit wird durch diese Kraft auf eine Kreisbahn des Radius  $r$  gezwungen, wie in Abbildung 2.6 gezeigt ist. Wenn  $v_{xy} = \sqrt{v_x^2 + v_y^2}$  die Ionengeschwindigkeit in der xy-Ebene (Ebene senkrecht zu  $\vec{B}$ ) ist, wird mit der Winkelbeschleunigung  $|d\vec{v}/dt| = v_{xy}^2/r$  aus Gl. 2.3

$$\frac{mv_{xy}^2}{r} = qv_{xy}B_0. \quad (2.4)$$

Die Winkelgeschwindigkeit  $\omega$  in z-Richtung ist definiert als

$$\omega = \frac{v_{xy}}{r} \quad (2.5)$$

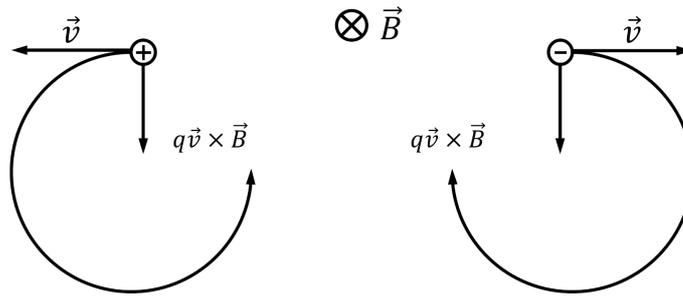
und damit wird Gl. 2.4 zu

$$m\omega^2r = qB_0\omega r, \quad (2.6)$$

oder vereinfacht zu

$$\omega_c = \frac{qB_0}{m}. \quad (2.7)$$

Gl. 2.7 ist die Cyclotrongleichung mit der Cyclotronfrequenz  $\omega_c$ . Diese Gleichung stellt den entscheidenden Vorteil der FT-ICR-MS dar. Alle Ionen des gleichen  $m/z$  haben die gleiche Cyclotronfrequenz, unabhängig von ihrer Geschwindigkeit (kineti-



**Abbildung 2.6.:** Ein Ion mit der Geschwindigkeit  $\vec{v}$ , das in ein homogenes Magnetfeld  $\vec{B}$ , senkrecht zu seiner Flugrichtung eintritt, wird durch die Lorentzkraft auf eine Kreisbahn gezwungen.

scher Energie). Eine Energiefokussierung ist selbst für sehr genaue Messungen nicht nötig. Der Frequenzbereich typischer Moleküle liegt im Bereich von kHz bis zu einigen MHz und kann mit kommerzieller Elektronik sehr genau detektiert werden.

Umformen von Gl. 2.4 ergibt den Ionencyclotronorbitalradius  $r$  zu

$$r = \frac{mv_{xy}}{qB_0}, \quad (2.8)$$

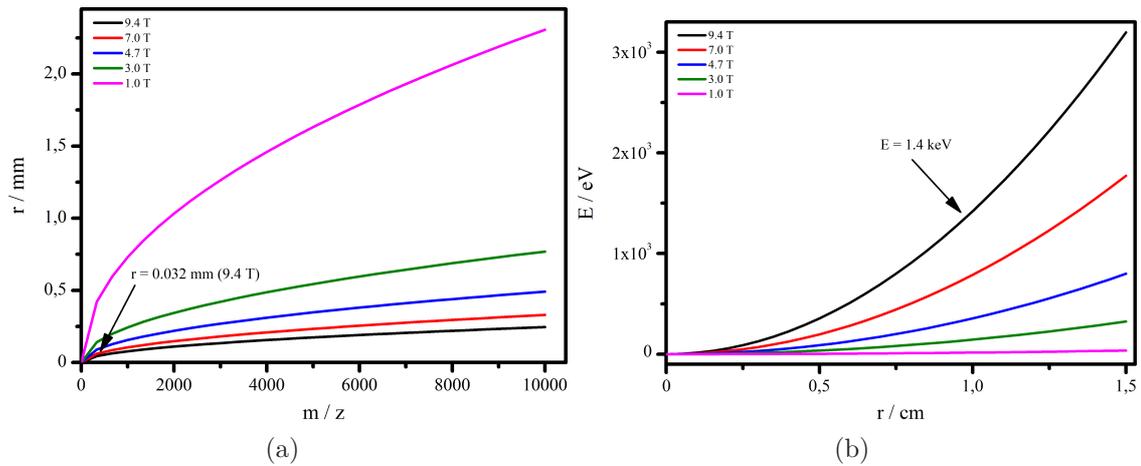
wenn ein Ion die Geschwindigkeit  $v_{xy}$  besitzt. Die durchschnittliche Translationsenergie eines Ions, das mit der Umgebung im Gleichgewicht steht, ist bei einer Temperatur  $T$  gegeben als

$$\frac{m\langle v_{xy}^2 \rangle}{2} \approx kT, \quad (2.9)$$

wobei  $k$  die Boltzmann-Konstante ist. Umstellen von Gl. 2.9 und Einsetzen in Gl. 2.8 ergibt

$$r = \frac{1}{qB_0} \sqrt{2mkT}. \quad (2.10)$$

Bei Raumtemperatur  $T = 298$  K ergibt sich damit für ein einfach geladenes Ion mit  $m = 300$  u bei einer Magnetfeldstärke von 9.4 Tesla ein ICR-Orbitalradius von  $r = 0.032$  mm, wie in Abbildung 2.7a dargestellt ist. Ein einfach geladenes mit  $m = 10000$  u besitzt einen Radius von  $r \sim 0.8$  mm bei Raumtemperatur und ein einfach geladenes Ion mit  $m = 50000$  u einen Orbitalradius von  $r \sim 1$  cm. Das zeigt, dass selbst sehr große Ionen durch das Magnetfeld auf günstigen, relativ kleinen Bahnen gefangen werden und für Anregung und Detektion zugänglich sind. Umgekehrt kann auch die Geschwindigkeit und die Translationsenergie eines zu größerem Radius



**Abbildung 2.7.:** Schematische Darstellung des ICR-Orbitalradius in Abhängigkeit des  $m/z$  (a) und der kinetischen Energie eines Ions mit  $m/z$  300 in Abhängigkeit des Orbitalradius (b) bei unterschiedlichen Magnetfeldstärken.

angeregten Ions berechnet werden, was aus Gl. 2.8 folgt,

$$v_{xy} = \frac{qB_0 r}{m}. \quad (2.11)$$

Aus Gl. 2.11 folgt, dass ein einfach geladenes Ion mit  $m = 300$  u angeregt auf einen ICR-Orbitalradius von  $r = 1$  cm in einer Magnetfeldstärke von  $B = 9.4$  T eine Geschwindigkeit von  $v_{xy} \approx 3 \cdot 10^4$  m/s erreicht. Das entspricht einer Translationsenergie  $E_{kin}$

$$E_{kin} = \frac{1}{2} m v_{xy}^2 = \frac{q^2 B_0^2 r^2}{2m} \quad (2.12)$$

von ca. 1.4 keV. Es ist somit möglich, Ionen in einem kleinen, begrenzten Raum zu großer Translationsenergie aufzuheizen und diese durch Stöße mit neutralen Gasteilchen zur Fragmentierung anzuregen (siehe unten). Die Abhängigkeit der kinetischen Energie vom ICR-Orbitalradius ist in Abbildung 2.7b dargestellt. Weiterhin legt ein einfach geladenes Ion der Masse 300 u in einer Sekunde eine Strecke von ca. 30 km zurück. Das ist einer der Gründe, warum FT-ICR-Geräte eine viel höhere Massenauflösung ermöglichen als ein wenige Meter langer magnetischer Sektor.

### 2.1.2.2. Anregung und Detektion

Alle Anwendungen der Ionen-Cyclotronbewegung basieren auf dem Anlegen eines räumlich homogenen elektrischen Feldes, das mit (oder in der Nähe) der Cyclotronfrequenz eines Ions mit entsprechendem  $m/z$  oszilliert. Diese Anregung kann auf drei Arten verwendet werden. Zum Ersten können Ionen auf einen größeren Radius beschleunigt und damit detektierbar werden. Zweitens können Ionen zu höherer kinetischer Energie angeregt werden, bis sie auf Grund von Stößen eine Schwelle überschreiten und dissoziieren. Die dritte Möglichkeit ist, Ionen auf einen Radius zu beschleunigen, der größer als die Ausmaße der ICR-Zelle ist und diese Ionen aus dem System entfernt werden.

Anregung wird durch das Anlegen eines homogenen elektrischen Feldes  $\vec{E}(t)$  erreicht, das sinusförmig entlang der y-Achse oszilliert.

$$\vec{E}(t) = E_0 \cos \omega_c t \vec{j} \quad (2.13)$$

wobei  $\vec{j}$  der Einheitsvektoren entlang der y-Achse ist ( $\vec{i}$  entlang der x-Achse).  $E_0$  wird durch das Anlegen von  $+V_0$  und  $-V_0$  Volt an zwei parallele, leitende Platten mit dem Abstand  $d$  erzeugt, so dass

$$E_0 = \frac{2V_0}{d} = \frac{V_{p-p}}{d} \quad (2.14)$$

mit  $V_{p-p}$  als maximaler Spannungsunterschied ist. Dieses linear polarisierte elektrische Feld kann als zwei entgegengesetzt rotierende Komponenten betrachtet werden,

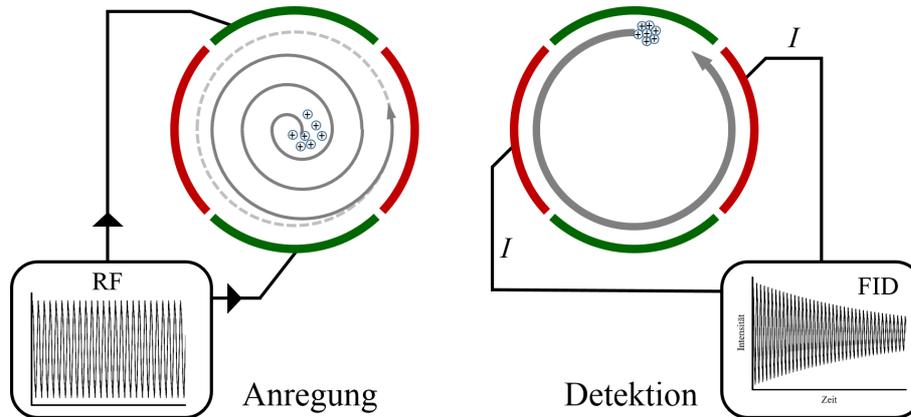
$$\vec{E}(t) = \vec{E}_L(t) + \vec{E}_R(t) \quad (2.15)$$

mit

$$\vec{E}_R(t) = \frac{E_0}{2} \cos \omega t \vec{j} + \frac{E_0}{2} \sin \omega t \vec{i}, \quad (2.16)$$

$$\vec{E}_L(t) = \frac{E_0}{2} \cos \omega t \vec{j} - \frac{E_0}{2} \sin \omega t \vec{i}. \quad (2.17)$$

Die Radiofrequenzkomponente des elektrischen Feldes  $\vec{E}_R(t)$  rotiert in dieselbe Richtung mit der gleichen Frequenz (resonant) wie das entsprechende Ion und führt somit zu einer Beschleunigung dessen, wie in Abbildung 2.8 links dargestellt ist. Keinen



**Abbildung 2.8.:** Die nicht-koherärente Ionenbewegung wird durch das Anlegen eines Radiofrequenzpulses (links) zu einer koherärenten, detektierbaren Bewegung umgewandelt und als *Free Induction Decay* (FID) aufgezeichnet (rechts).

entscheidenden Einfluss hat die Komponente  $\vec{E}_L(t)$ . Diese rotiert in die entgegengesetzte Richtung des Ions und ist um  $2\omega$  phasenverschoben (nicht resonant).

Ein Ion nimmt Energie ( $A(t)$ ) entsprechend des Skalarproduktes

$$A(t) = \text{Kraft} \cdot \text{Geschwindigkeit} = q\vec{E}(t) \cdot \vec{v}_{xy} \quad (2.18)$$

auf. Für ein Ion, das in einer bestimmten Zeit  $T_{\text{Anregung}}$  einer resonanten Anregung ausgesetzt ist, kann der Orbitalradius nach der Anregung zu

$$r = \frac{E_0 T_{\text{Anregung}}}{2B_0} = \frac{V_{p-p} T_{\text{Anregung}}}{2dB_0} \quad (2.19)$$

bestimmt werden.[41]

Ein interessanter Aspekt ist die Tatsache, dass der ICR-Orbitalradius nach der Anregung unabhängig vom  $m/z$  ist. Das bedeutet, dass durch das Anlegen eines rf-Pulses mit konstanter Frequenz alle Ionen eines bestimmten  $m/z$  Bereiches auf denselben Orbitalradius angeregt werden können. Die Anregung erfolgt ohne Massendiskriminierung. Des Weiteren folgt, dass bereits kleine rf-Spannungen von ca.  $\pm 1$  V ausreichen, um die Ionen auf einen detektierbaren Radius zu beschleunigen.

Aus Gl. 2.19 folgt direkt die kinetische Energie bei azimuthaler, dipolar resonanter Anregung für einen Zeitraum  $T_{\text{Anregung}}$  zu

$$E_{kin}(\text{nach Anregung}) = \frac{m\omega_c^2 r^2}{2} = \frac{q^2 E_0^2 (T_{\text{Anregung}})^2}{8m} = \frac{q^2 V_{p-p}^2 (T_{\text{Anregung}})^2}{8d^2 m}. \quad (2.20)$$

Ein einfach geladenes Ion mit  $m = 300$  u besitzt nach der Anregung von 1 ms mit einer Spannung von  $\pm 1$  V zwischen zwei 2 cm voneinander entfernten, flachen Elektroden eine kinetische Energie von  $E_{kin} = 402$  eV. Das zeigt, dass es sehr einfach ist, hohe Kollisionsenergien in einem Ionencyclotron zu erreichen. Gl. 2.20 ist zusätzlich zu entnehmen, dass die kinetische Energie der Ionen nach der Anregung unabhängig von der Magnetfeldstärke  $B_0$  ist. Der Orbitalradius nach der Anregung (Gl. 2.19) verhält sich invers zu  $B_0$ , so dass für einen gegebenen Radius nach der Anregung die kinetische Energie mit dem Faktor  $B_0^2$  zunimmt.

ICR-Orbitalbewegung selbst generiert allein noch kein messbares Signal. Im Moment, in dem die Ionen in die ICR-Zelle gelangen, ist die Phase jedes einzelnen Ions zufällig - nur abhängig vom Startpunkt irgendwo auf der Kreisbahn. Somit gleichen sich alle möglichen induzierten Ladungen in den gegenüberliegenden Detektionselektroden im Mittel aus und das Signal ist Null. Zudem ist der Cyclotronradius der thermischen Ionen zu klein, um ein detektierbares Signal zu erzeugen, selbst wenn alle die gleiche Phase hätten. Durch die oben beschriebene resonante Anregung entsteht eine räumliche Kohärenz des Ionenpakets und damit auch ein detektierbares Signal. Das Ionenpaket, das zunächst um die z-Achse rotiert, bewegt sich dann durch die Vergrößerung des Orbitalradius signifikant außerhalb dieses Zentrums. Der Unterschied der induzierten Bildladungen  $\Delta Q$ , die in den beiden parallel zueinander befindlichen Detektionselektroden durch ein Ion der Ladung  $q$  erzeugt wird, ist

$$\Delta Q = \frac{-2qy}{d}. \quad (2.21)$$

Die ICR-Signalstärke ist proportional zum induzierten Strom und damit unabhängig von der Magnetfeldstärke. Das detektierte Signal steigt linear mit der Anzahl an Ladungen der Ionen an. Somit ist das ICR sensitiver für mehrfach geladene Ionen, wie sie häufig mit ESI (siehe Abschnitt 2.1.1) gebildet werden. Diese Linearität ist aus zwei Gründen wichtig. Zum einen variiert das ICR-Signal linear mit dem

Orbitalradius der Ionen nach der Anregung und ist an jeder beliebigen Frequenz proportional zu dessen spektraler Größe.

Zum anderen ergibt die Fouriertransformation des zeitabhängigen ICR-Signals das gleiche Absorptionsspektrum wie ein langsamer Scan über den entsprechenden Frequenzbereich. Das Superpositionsprinzip besagt zusätzlich, dass die Signale aller Ionen zum detektierten Signal beitragen, also gleichzeitig Ionen eines großen Massenbereichs detektiert werden können. Diese Eigenschaften ergeben den Multiplex-Vorteil von gepulster Anregung mit anschließender Fouriertransformation. Ein Spektrum mit  $N$  Datenpunkten kann in  $1/N$  der Zeit aufgenommen werden, als für die Aufnahme der gleichen Anzahl an Punkten einzeln nacheinander nötig wäre.[42]

### Breitbandanregung

Anregung weiteren Frequenzen wird auch durch Einzelfrequenzanregung erzeugt. Das Spektrum in der Frequenzdomäne  $E(\nu)$  nach Einzelfrequenzanregung mit  $\omega_c = 2\pi\nu_c$  ergibt sich zu

$$E(\nu) = E_0 \frac{\sin(2\pi\nu_c T_{\text{Anregung}})}{2\pi\nu_c}. \quad (2.22)$$

Selbst wenn die Anregung sehr genau mit der Frequenz  $\nu$ , die von  $\nu_c$  abweicht, stattfindet, zum Zeitpunkt Null beginnt und bei  $T_{\text{Anregung}}$  endet, kommt es zu einer Verbreiterung des Anregungsspektrums mit einer Bandbreite von  $\sim 1/T_{\text{Anregung}}$ . [43] Je länger das zeitabhängige Signal ist, desto schmaler ist die entsprechende frequenzabhängige spektrale Breite. Ist demnach die nicht resonante Anregung mit der Frequenz  $\nu$  kurz genug, so dass  $1/T_{\text{Anregung}} \geq 2\pi |\nu - \nu_c|$ , können auch Ionen mit der Cyclotronfrequenz  $\omega_c$  angeregt werden. Da diese Frequenzen sehr groß sind (kHz- bis MHz-Bereich), reichen Anregungszeiten um eine Sekunde schon aus, um eine gute Massenselektion von Ionen anhand ihrer verschiedenen ICR-Frequenzen zu erreichen.

Gl. 2.22 zeigt, dass Einzelfrequenzanregung mit der Dauer  $T_{\text{Anregung}}$  Ionen mit Cyclotronfrequenzen der Bandbreite  $0.1/T_{\text{Anregung}}$  Hz auf nahezu identische Cyclotronradien anregt. Dies gilt, weil die Höhe des ICR-Signals proportional zum Orbitalradius nach der Anregung ist und dieser umgekehrt proportional zur Höhe des Anregungspulses. Je flacher der Anregungspuls gewählt wird, desto besser werden die relativen Häufigkeiten der Ionen (Signalflächen im Massenspektrum) korrekt wiedergegeben. Eine Verdoppelung der Anregungsbandbreite in der Frequenzdomäne bei

konstanter Höhe des Anregungspulses führt in der Zeitdomäne zu einer halbierten Anregungszeit und einer verdoppelten Amplitude. Resonante Einzelfrequenzanregung mit  $\pm 1$  V zwischen zwei 2 cm entfernten Elektroden, die in  $1.4 \mu\text{s}$  zu einem Orbitalradius von 1 cm führen, entspricht einer rf-Anregungsspannung von  $\pm 10000$  V, was viel zu hoch ist. Aus diesem Grund erfolgt die Breitbandanregung durch einen Frequenzbogen (*Frequency Sweep, Chirp*). Dieser ermöglicht die Anregung mit einer niedrigen Amplitude über einen breiten Frequenzbereich bei zugleich kleiner Anregungsspannung.

Der Nachteil von *Chirp* ist die uneinheitliche Intensitätsverteilung der Anregungsamplitude. Neben geringer Massenselektivität an den Anfangs- und Endbereichen des Anregungsspektrums führt dies auch zu starken Abweichungen bei der Detektion von relativen Ionenhäufigkeiten. Die Umkehrung des Anregungsprozesses eliminiert die aufgeführten Nachteile. Hierbei wird zuerst das erwartete Spektrum in der Massendomäne definiert und daraus das Anregungsspektrum in der Frequenzdomäne erstellt. Inverse Fouriertransformation ergibt dann das gewünschte Anregungsspektrum in der Zeitdomäne. Auf diese Weise können auch Massenfenster festgelegt werden, in denen keine oder alle Ionen angeregt oder entfernt werden können, wobei die komplette Breitband-Massenselektivität erhalten bleibt. Damit erzeugt die *Stored Waveform Inverse Fourier Transform (SWIFT)*-Anregung das flachste, theoretisch mögliche Anregungsspektrum in einer gegebenen Anregungszeit.[44]

### **Breitbanddetektion**

Ein kontinuierlich rotierendes Ion erzeugt einen Differenzstrom in zwei gegenüberliegenden Detektionsplatten, wie in Abbildung 2.8 rechts gezeigt ist. Bei typischen ICR-Frequenzen ( $> 10$  kHz) ist das S/N unabhängig von der Cyclotronfrequenz der Ionen. Bei ausreichend niedrigen Frequenzen ( $< 10$  kHz) schwankt das Signal direkt mit der Frequenz. Durch den Großteil der durch einen Breitband-*Chirp* oder SWIFT angeregten Frequenzen in einem Standard ICR-Experiment gibt das S/N die Unterschiede des detektierten Stroms in den Detektionsplatten wieder. Das Detektionslimit ist die Anzahl  $N$  an Ionen, die nötig sind, um bei einem ungedämpften Signal und einer Akquisitionszeit von 1 s ein S/N von 3 : 1 zu erreichen. Dies kann

mit folgender Gleichung berechnet werden

$$N = \frac{CV_{d(p-p)}}{qA_1(r)}, \quad (2.23)$$

wobei  $C$  die Kapazität der Detektionsschaltung,  $V_{d(p-p)}$  der maximale Spannungsunterschied des detektierten Signals und  $A_1(r)$  der Fourierkoeffizient erster Ordnung abhängig von  $r$  ist.[45] Mit typisch verwendeten Parametern, der Kapazität der Detektionsschaltung von 50 pF,  $V_{d(p-p)}$  von  $1 \cdot 10^7$  V und  $A_1(r) = 0.5$  (Anregung der Ionen auf die Hälfte des maximalen Radius) ergibt sich ein Detektionslimit für das Erreichen von S/N 3 : 1 von ca. 190 Ionen.

### Stöße von Ionen und Neutralen

Das detektierte ICR-Signal in der Frequenzdomäne wird für ein Ion mit einem einzigen m/z-Wert ohne Stöße durch Gl. 2.22 beschrieben. Dieses ergibt sich aus dem fouriertransformierten Signal der Zeitdomäne, das wiederum durch Gl. 2.12 dargestellt werden kann, wobei  $T_{\text{Anregung}}$  durch  $T_{\text{Akquisition}}$  ersetzt wird. Stöße mit Neutralteilchen können als einfache Dämpfung  $f v$  auf die Ionenbewegung betrachtet werden.

$$m \frac{d\vec{v}}{dt} = q\vec{E} + q\vec{v} \times \vec{B} - f\vec{v}. \quad (2.24)$$

Dieses Modell führt zu einer exponentiellen Abnahme des zeitabhängigen Signals  $s_i(t)$  (mit der Abklingkonstante  $\tau$ ) für  $N_i$  Ionen der Frequenz  $\nu_i$ ,

$$s_i(t) \propto N_i \exp(-t/\tau_i) \cos(2\pi\nu_i t), \quad (2.25)$$

das durch Fouriertransformation ein frequenzabhängiges Spektrum mit einem Lorentzprofil ergibt

$$M(\omega) \propto \frac{\tau}{\sqrt{1 + (\omega - 2\pi\nu_i)^2 \tau^2}}. \quad (2.26)$$

Dadurch ergibt sich ein sinusförmiges Linienprofil im Niederdrucklimit gegen Null ( $\tau \gg T_{\text{Akquisition}}$ ). Im Gegensatz dazu wird im Hochdrucklimit, in dem das Signal nahezu auf Null gedämpft wird, ein lorentzförmiges Linienprofil des FT-ICR-Signals erhalten ( $\tau \ll T_{\text{Akquisition}}$ ). Durch diese Linienprofile werden die Massenauflösung

und das Massenauflösungsvermögen definiert.  $\tau$  ist definiert als

$$\frac{1}{\tau} = \frac{m_{\text{neutral}}}{m_{\text{ion}} + m_{\text{neutral}}} \nu_{\text{Stoß}}, \quad (2.27)$$

wobei  $\nu_{\text{Stoß}}$  die Anzahl der Stöße von Ionen mit Molekülen pro Sekunde ist. Um diese Anzahl bestimmen zu können, muss die Ratenkonstante  $k$  der Ionen-Molekül-Stöße bekannt sein. Die Wechselwirkung kann durch einen ioninduzierten Dipol beschrieben werden:

$$U(r) = -\frac{\alpha' q^2}{8\pi\epsilon_0 r^4}, \quad (2.28)$$

hierbei ist  $q$  die Ladung des Ions,  $\alpha'$  die Polarisierbarkeit des Neutralteilchens,  $r$  der Abstand zwischen beiden und das Ion wird als Punktladung angenommen. Aus diesem Potential und dem Langevin-Modell kann die Ratenkonstante zu

$$k = \sqrt{\frac{\pi\alpha'q^2}{\epsilon_0\mu}} \quad (2.29)$$

mit  $\mu$  als reduzierte Masse berechnet werden.

Obwohl das Langevin-Modell eine gute Beschreibung für Ionen bei Raumtemperatur liefert, können mit der Annahme von harten Stößen, wie sie bei hohen Geschwindigkeiten während der Datenaufnahme im ICR vorkommen, bessere Ergebnisse erzielt werden. Damit ergibt sich

$$m \frac{d\vec{v}}{dt} = q\vec{E} + q\vec{v} \times \vec{B} - f\vec{v}^2 \quad (2.30)$$

und

$$v(t) = \frac{v_0}{1 + v_0(m_{\text{neutral}}/(m_{\text{neutral}} + m_{\text{ion}}))N\sigma_{\text{hart}}t} \quad (2.31)$$

mit  $N$  der Dichte der Neutralteilchen,  $\sigma_{\text{hart}}$  dem Kollisionsquerschnitt mit der Annahme harter Kugeln und  $m_{\text{neutral}}$  und  $m_{\text{ion}}$  den entsprechenden Massen der beteiligten Spezies. Durch die Fouriertransformation wird ein Linienprofil erhalten, das sehr schmal bei halber Intensität ist. Die Basis des Signals ist jedoch sehr breit. Durch eine Gewichtung des ICR-Signals in der Zeitdomäne (Apodisation) wird die breite Basis unterdrückt.[42]

### Axiale Beschränkung der Ionen in der Zelle

Zu den zuvor beschriebenen idealen Effekten des räumlich homogenen Magnetfeldes  $\vec{B}$  und eines oszillierenden elektrischen Feldes  $\vec{E}$  kommt in einer dreidimensionalen ICR-Zelle eine weitere Komponente hinzu. Auf Grund des Magnetfeldes sind die Ionen in der Ausdehnung in x- und y-Richtung beschränkt, jedoch ist eine Bewegung in z-Richtung weiter möglich. Um den Verlust der Ionen zu verhindern, wird nach dem Befüllen der ICR-Zelle an den Speicherelektroden auf beiden Seiten in z-Richtung ein Potential ( $\sim 1$  V) angelegt. Die Kombination dieses Fallenpotentials mit dem der Anregung ergibt ein nichtlineares elektrisches Feld. Diese Störeffekte beeinflussen die Ionenbewegung in der ICR-Zelle, wie nachfolgend beschrieben.

### Einfluss des Fallenpotentials

Das ideale eindimensionale Potential zur Speicherung von Ionen ist ein einfaches quadratisches Potential der Form  $\Phi(z) \propto (z^2/2)$ . Die Kraft dieses Feldes sorgt für eine sinusförmige Oszillation der Ionen entlang der z-Achse mit einer Frequenz unabhängig von ihrer Position. In drei Dimensionen gilt für die Laplace-Gleichung  $\nabla\Phi(x, y, z) = 0$  und erfordert die Addition von Termen in  $x^2$  und  $y^2$ . Dies führte zur Entwicklung eines dreidimensionalen axial quadrupolaren elektrischen Fallenpotentials der Form

$$\Phi(x, y, z) = V_{\text{Speicher}} \left( \gamma + \frac{\alpha}{2a^2}(2z^2 - x^2 - y^2) \right) \quad (2.32)$$

oder

$$\Phi(r, z) = V_{\text{Speicher}} \left( \gamma + \frac{\alpha}{2a^2}(2z^2 - r^2) \right), \quad (2.33)$$

mit  $r = \sqrt{x^2 + y^2}$  der Position der Ionen in der  $x$ - $y$ -Ebene,  $a$  dem Maß für die Größe der Ionenfalle und den Konstanten  $\gamma$  und  $\alpha$ , die von der Fallengeometrie abhängen.[46, 47]

Die Parameter  $\gamma$  und  $\alpha$  sind abhängig von der Geometrie der verwendeten ICR-Zelle. Diese kann orthorhombisch, tetragonal, kubisch oder zylindrisch mit vielen möglichen Seitenverhältnissen aufgebaut sein.[48] Für kubische und zylindrische Zelle (bei gleichen Seitenverhältnissen) ist das dipolare Anregungsfeld nahezu identisch. Wenn die Anregungsspannung der zylindrischen Ionenfalle  $\sim 1.4$  mal höher als die der kubischen ist, ist das detektierte Ionensignal  $\sim 0.7$  mal so groß, wenn

die Ecken der kubischen Zelle genau die inneren Elektroden der zylindrischen Zelle berühren. Eine hyperbolische Ionenfalle hat eine nahezu perfekte Geometrie für die Speicherung von Ionen, ist jedoch nichtlinear für die dipolare Anregung. Die *Infinity*-Zelle [49] verbessert die dipolare Anregung, aber nicht die entsprechende Detektion. Hierfür müsste eine quadrupolare Anregung mit vier anstatt zwei Elektroden durchgeführt werden.[50]

Aus Gl. 2.32 kann die Ionenbewegung in z-Richtung abgeleitet werden

$$\frac{d^2 z}{dt^2} = -q\nabla\Phi(x, y, z) \quad (2.34)$$

und damit auch die z-Position der Ionen, die mit der Zeit sinusförmig oszilliert

$$z(t) = z(0) \cos(2\pi\nu_z t) \quad (2.35)$$

mit

$$\nu_z = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{2qV_{\text{Speicher}}\alpha}{ma^2}}. \quad (2.36)$$

### Radiale Ionen-Magnetronrotation

Das Potential der Speicherelektroden (Gl. 2.32) erzeugt zusätzlich eine radiale Kraft

$$qE(r) = \frac{qV_{\text{Speicher}}\alpha}{a^2} r. \quad (2.37)$$

Das radiale elektrische Feld bewirkt eine nach außen gerichtete Kraft, die der nach innen wirkenden Lorentzkraft des Magnetfeldes entgegen steht. Eine Beschreibung der Ionenbewegung, die durch ein statisches Magnetfeld  $\vec{B} = -B_0\vec{k}$  und das Anlegen eines dreidimensionalen elektrostatischen Potentials erhalten wird, kann durch die Kombination der Gl. 2.37 und Gl. 2.7 erfolgen. Das Ergebnis ist

$$m\omega^2 r = qB_0\omega r - \frac{qV_{\text{Speicher}}\alpha}{a^2} r, \quad (2.38)$$

oder als quadratische Gleichung dargestellt

$$\omega^2 - \frac{qB_0\omega}{m} + \frac{qV_{\text{Speicher}}\alpha}{ma^2} = 0. \quad (2.39)$$

Die quadratische Gl. 2.39 ist unabhängig von  $r$ . Diese Tatsache ist der große Vorteil des Gleichspannungsanteils am Potential zur Ionenspeicherung. Das bedeutet, dass die Frequenzen der Ionenbewegungen unabhängig vom Ort in der Zelle sind, an dem diese sich befinden. Auflösen von Gl. 2.39 nach  $\omega$  ergibt zwei natürliche Rotationsfrequenzen anstelle der ungestörten Cyclotronfrequenz, die ohne ein Speicherpotential erhalten wird. Diese zwei Frequenzen sind

$$\omega_+ = \frac{\omega_c}{2} + \sqrt{\left(\frac{\omega_c}{2}\right)^2 - \frac{\omega_z^2}{2}} \quad (2.40)$$

und

$$\omega_- = \frac{\omega_c}{2} - \sqrt{\left(\frac{\omega_c}{2}\right)^2 - \frac{\omega_z^2}{2}}, \quad (2.41)$$

wobei  $\omega_+$  die reduzierte Cyclotronfrequenz und  $\omega_-$  die Magnetronfrequenz angibt. Darin enthalten sind auch die Speicherfrequenz

$$\omega_z = \sqrt{\frac{2qV_{\text{Speicher}}\alpha}{ma^2}} \quad (2.42)$$

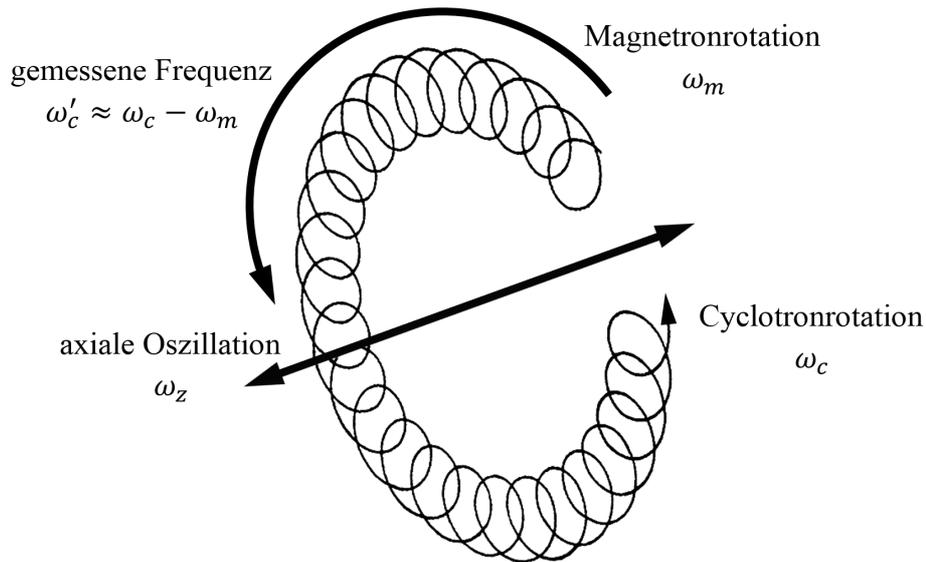
und die ungestörte Cyclotronfrequenz

$$\omega_c = \frac{qB_0}{m}. \quad (2.43)$$

Alle Frequenzen, die zur Ionenbewegung in der ICR-Zelle beim Anlegen von Speicher- und Anregungspotentialen beitragen, sind in Abbildung 2.9 dargestellt. Die Magnetron- und die Speicherfrequenz sind viel kleiner als die Cyclotronfrequenz und werden normalerweise nicht detektiert. Kleine Seitenbanden können auftreten, wenn die ICR-Zelle nicht korrekt ausgerichtet ist.[51]

### 2.1.2.3. Massenkalisierung

Die reduzierte Cyclotronfrequenz in Gl. 2.40 kommt durch das Anlegen eines Gleichspannungspotentials zur Speicherung der Ionen zustande. Das nach außen gerichtete Magnetfeld senkt die Magnetfeldstärke. Ohne elektrische Raumladung und Speicherpotential reicht die Messung der ICR-Frequenz eines einzigen Ions aus, um die magnetische Feldstärke zu kalibrieren. Mit dieser und Gl. 2.7 können die  $m/z$  aller anderen Ionen im Massenspektrum berechnet werden. Das Anlegen des Speicherpo-



**Abbildung 2.9.:** Darstellung aller Frequenzen, die zur Ionenbewegung in der ICR-Zelle beim Anlegen von Speicher- und Anregungspotentialen beitragen.

tentials ändert jedoch das Verhältnis von  $m/z$  zu Frequenz zu der Form von Gl. 2.40, aus der sich die Gl. 2.44 ableitet:

$$\frac{m}{z} = \frac{A}{\nu_+} + \frac{B}{\nu_+^2}. \quad (2.44)$$

$A$  und  $B$  sind hierbei Konstanten, die durch das Anpassen von mindestens zwei ICR-Frequenzen von Signalen mit bekanntem  $m/z$  erhalten werden. Diese Kalibrierung dürfte nur für Einzelionen gelten, ohne das Vorhandensein von Coulomb-Effekten. In der Praxis werden ICR-Experimente mit einer sehr geringen Anzahl an Ionen durchgeführt, so dass die Störungen durch Raumladungseffekte sehr klein sind. Außerdem beeinflussen diese Störungen sowohl die Analyt- als auch die Kalibrierionen. Aus diesem Grund funktioniert die ICR-Kalibrierung auch, wenn viele Ionen in der ICR-Zelle gespeichert sind. Interne Kalibrierung bezeichnet das Kalibrieren eines Massenspektrums, in dem Analyt- und Kalibrierionen nebeneinander vorhanden sind. Diese Methode verbessert die Massengenauigkeit um den Faktor drei gegenüber einer externen Kalibrierung. Bei der externen Kalibrierung werden Massenspektren für den Analyten und die Kalibriersubstanz getrennt voneinander aufgenommen. Die externe Kalibrierung funktioniert gut, wenn Analyt und Kalibrant im gleichen Mas-

senbereich liegen und auch die Anzahl der Ionen in der ICR-Zelle annähernd gleich ist.

### Größe der ICR-Zelle

Bereits weiter oben wurden der Ionenradius  $r$  und die kinetische Energie  $E_{kin}$  von Ionen nach einer resonanten Einzelfrequenzanregung durch einen homogenen Radiofrequenzpuls beschrieben. In guter Näherung gelten diese Gleichungen auch für räumlich begrenzte ICR-Zellen (Ionenfallen i. A.) durch Einführung eines Skalierungsfaktors  $\beta$ .

$$r = \frac{\beta_{\text{dipolar}} E_0 T_{\text{Anregung}}}{2B_0} = \frac{\beta_{\text{dipolar}} V_{p-p} T_{\text{Anregung}}}{2dB_0} \quad (2.45)$$

oder für Breitbandanregung

$$r = \frac{\beta_{\text{dipolar}} V_{p-p} \sqrt{\frac{1}{\text{'Sweep Rate'}}}}{2dB_0} \quad (2.46)$$

und

$$E_{kin}(\text{nach Anregung}) = \frac{\beta_{\text{dipolar}}^2 q^2 E_0^2 (T_{\text{Anregung}})^2}{8m} = \frac{\beta_{\text{dipolar}}^2 q^2 V_{p-p}^2 (T_{\text{Anregung}})^2}{8d^2 m} \quad (2.47)$$

bzw.

$$E_{kin} = \frac{\beta_{\text{dipolar}}^2 q^2 V_{p-p}^2 \frac{1}{\text{'Sweep Rate'}}}{8d^2 m} \quad (2.48)$$

stellen diese für definierte Maße der ICR-Zelle dar. Die Werte für  $\beta_{\text{dipolar}}$  hängen stark von der Geometrie der ICR-Zelle ab und können für diese berechnet werden.[52]

### Auflösungsvermögen, Auflösung und Genauigkeit

Die erste Ableitung von Gl. 2.7 nach  $m$  ergibt

$$\frac{d\omega_c}{dm} = -\frac{qB_0}{m^2} = -\frac{\omega_c}{m} \quad (2.49)$$

und liefert den Zusammenhang

$$\frac{\omega_c}{d\omega_c} = -\frac{m}{dm}. \quad (2.50)$$

In allen auf der Fouriertransformation basierten spektroskopischen Methoden wird *Auflösung* als volle Breite des Signals bei halber Höhe des Maximums definiert. Für FT-ICR-MS ist das  $\Delta\omega_{50\%}$  oder  $\Delta m_{50\%}$  in der Frequenz- bzw. der Massendomäne des Spektrums. Die Trennung zweier Signale gleicher Intensität und Form ist demnach möglich, wenn diese mindestens mit dem Abstand  $\Delta\omega_{50\%}$  oder  $\Delta m_{50\%}$  voneinander getrennt sind. Auflösungsvermögen ist definiert als  $\omega/\Delta\omega_{50\%}$  oder  $m/\Delta m_{50\%}$ . Gl. 2.50 zeigt, dass das Frequenzauflösungsvermögen und das Massenauflösungsvermögen bis auf das Vorzeichen identisch sind.

Die ICR-Frequenz eines Signals kann als  $qB_0/m$  beschrieben werden. Damit ergibt sich eine experimentelle Massenauflösung von

$$\frac{m}{\Delta m_{50\%}} = -\frac{qB_0}{m\Delta\omega_{50\%}}. \quad (2.51)$$

Das Auflösungsvermögen eines FT-ICR-MS kann zusätzlich in zwei Grenzfällen betrachtet werden. Zum einen ist dies das Hochdrucklimit bei  $T \gg \tau$  und zum anderen das Tiefdrucklimit bei  $T \ll \tau$  mit der Akquisitionszeit  $T$  und der zeitabhängigen Dämpfungskonstante  $\tau$ . Im Tiefdrucklimit bleibt das zeitabhängige ICR-Signal während der Aufnahmezeit ( $T$ ) nahezu ungedämpft. Der entgegengesetzte Fall tritt im Hochdrucklimit auf, in dem das ICR-Signal noch während der Akquisition bis auf Null abgeschwächt wird.

Die Breite der Massensignale ist im Tiefdrucklimit unabhängig vom  $m/z$ . Das führt zu einer gleichbleibenden Signalbreite bei größeren  $m/z$ . Auf Grund der umgekehrten Proportionalität von ICR-Frequenz und  $m/z$  ist der Abstand zwischen den Signalen jedoch kleiner. Aus diesem Grund verändert sich das Massenauflösungsvermögen invers zum  $m/z$ .

#### 2.1.2.4. Massen- und Energieobergrenze

Da die ICR-Zelle als Ionenfalle zwangsläufig seitliche Elektroden für die Anregung und die Detektion besitzen muss, ergibt sich als obere Grenze  $m_{\text{oben}}$  das  $m/z$ , dessen Cyclotronradius für thermische Ionen dem Radius der Zelle entspricht. Gl. 2.10 gibt den Cyclotronradius von Ionen mit mittlerer Translationsenergie  $kT$  an. Daraus lässt sich die Masse  $m_{\text{oben}}$  bestimmen, bei der der Cyclotronradius  $r_{\text{max}}$  gerade noch

kleiner als der Zellenradius  $d/2$  ist. Umgestellt ergibt sich

$$m_{\text{oben}} = \frac{q^2 B_0^2 r_{\text{max}}^2}{2kT}, \quad (2.52)$$

was in einem 9.4 T Magnetfeld einer theoretischen oberen Massengrenze für einfach geladene Ionen bei Raumtemperatur von 16.6 MDa in einer ICR-Zelle mit 1 cm Radius entsprechen würde. Das reale Massenlimit ist kleiner, weil die Ionen bei kleineren Radien starten müssen, um ein detektierbares, kohärentes Signal zu liefern, das durch die Anregung der Ionen zu größeren Cyclotronbewegungen erreicht wird.

Gl. 2.52 gilt nur bei Abwesenheit von elektrischen Feldern (Speicherpotential oder Coulomb-Abstoßung zwischen den Ionen). Liegt ein dreidimensionales, axiales Speicherpotential an, sind die Magnetron-, reduzierte Cyclotron- und Speicheroszillation abhängig vom  $m/z$ . Magnetron- und Cyclotronfrequenz nähern sich dem Wert

$$\omega_+ = \omega_- = \frac{\omega_c}{2} = \frac{qB_0}{2m} \quad (2.53)$$

bei dem sogenannten *kritischen*  $m/z$  an, wenn

$$\left(\frac{\omega_c}{2}\right)^2 = \frac{\omega_z^2}{2} \quad (2.54)$$

oder

$$m_{\text{kritisch}} = \frac{qB_0 a^2}{4V_{\text{Speicher}} \alpha}. \quad (2.55)$$

Für  $m/z > m_{\text{kritisch}}$  ist die Ionencyclotronbewegung nicht stabil und die Ionen verlassen die ICR-Zelle und werden verloren.  $m_{\text{kritisch}}$  ist abhängig vom Speicherpotential. Je *kälter* die Ionen sind, desto niedrigere Speicherpotentiale können verwendet werden, was wiederum die obere Massengrenze erhöht.

Selbstverständlich können Ionen mit einer Translationsenergie größer des Potentialtopfes (skaliert linear mit dem Potential der Speicherelektroden) die Ionenfalle verlassen. Eine Erhöhung des Speicherpotentials stellt eine Möglichkeit dar, dieses Problem zu lösen. Zu viele Ionen zu speichern stellt aber ebenfalls ein Problem dar. Werden mehr als ca. 10000 Ionen gespeichert, müssen statische und dynamische Effekte der Ion-Ion-Abstoßung beachtet werden. Eine Auswirkung der Abstoßungen zwischen den Ionen auf die ICR-Orbitalfrequenz in einem statischen, homogenen

elektromagnetischen Feld ist nicht gegeben. Nichtsdestotrotz sind die elektromagnetischen Felder der meisten Ionenfallen inhomogen, so dass Coulomb-Abstoßungen zu einer Verschiebung und Verbreiterung der Massensignale in der FT-ICR-MS führen können. Eine Vermischung von Signalen kann auftreten, wenn zwei Ionenwolken mit jeweils großer Anzahl an Ionen ein sehr ähnliches  $m/z$  aufweisen. Dies führt zu einem Massensignal, dessen Breite schmaler als der Unterschied der Cyclotronfrequenzen der beiden Ionenwolken mit zwei unterschiedlichen  $m/z$  ist. Für zwei Ionenwolken, dessen Einzelionen-Cyclotron- ( $R_c$ ) und Ionenwolkenradien ( $\rho_c$ ) überlappen, kommt es zur Verbindung, wenn der Unterschied der Cyclotronfrequenzen  $\omega_2 - \omega_1$  der beiden Ionenwolken

$$\Delta\omega_c < \frac{N_1q_1 + N_2q_2}{2\pi^2\varepsilon_0LB_0R_c s_{\text{eff}}} \quad (2.56)$$

ist. Hierbei ist  $\varepsilon_0$  die Dielektrizitätskonstante,  $N_1q_1$  oder  $N_2q_2$  ist die Anzahl der Ladungen in der Ionenwolke und  $L$  ist die Länge der Ionenwolke.  $s_{\text{eff}} \approx 1.04\rho_c$  wird numerisch bestimmt, was auf der Unterscheidung zweier Ionenwolken anhand des Radius  $\rho_c$  basiert.[53] Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Ionenwolken koalieren, hängt demnach direkt von der Anzahl der Ionen in den Ionenwolken und invers von der Stärke des Magnetfeldes und des Ionen-Cyclotronradius ab. Zusätzlich kann das maximale Molekulargewicht  $M_{\text{max}}$ , ab dem Koaleszenz auftritt, bestimmt werden zu

$$M_{\text{max}} \approx 3.2B_0\sqrt{\frac{\varepsilon_0LR_c\rho_c\Delta m}{N_{\text{mittel}}}}, \quad (2.57)$$

mit  $N_{\text{mittel}} = (N_1 + N_2)/2$  als mittlere Anzahl an Ionen in den Ionenwolken. Obwohl das beschriebene Modell der Koaleszenz von Ionenwolken sehr vereinfacht dargestellt ist, verdeutlicht es gut den Einfluss der unterschiedlichen Parameter auf dieses Phänomen.

## 2.2. Dissoziationsreaktionen in der Gasphase

Bei Reaktionen in der Gasphase kann die Reaktionsrate mit den Kräften, die zwischen den Atomen der Reaktanten wirken, beschrieben werden. Inwiefern diese Kräfte die Rate einer Reaktion beeinflussen, soll im Folgenden beschrieben werden. Zwei Ansätze werden hierfür betrachtet, die Stoßtheorie und die Theorie des aktivierten

Komplexes. Beide Theorien beinhalten gewisse Annahmen zur Potentialhyperfläche, was Einfluss auf die Rate von chemischen Reaktionen hat.

### 2.2.1. Theorie des Übergangszustands

Die an einer chemischen Reaktion beteiligten Spezies besitzen insgesamt  $N$  Atome. Für jede feste Position der Atome kann mit Hilfe von quantenmechanischen Methoden die Gesamtenergie des Systems berechnet werden. Relativ zu einem beliebigen Bezugssystem kann die Position jedes Atoms durch drei Koordinaten beschrieben werden und das Gesamtsystem demnach mit der Anzahl von  $3N$  Koordinaten. Wirken keine äußeren Kräfte auf das System, wird die potentielle Energie des Systems durch die relative Position der Atome zueinander bestimmt. Drei Koordinaten beschreiben die Lage des Gesamtsystems und drei weitere Koordinaten (zwei bei linearen Systemen) die Orientierung im Raum. Somit bleiben für die Verteilung der potentiellen Energie  $3N - 6$  Variablen ( $3N - 5$  bei linearen Systemen) übrig. Damit gilt für nichtlineare Systeme, wenn  $q$  eine Koordinate beschreibt, dass für die potentielle Energie gilt

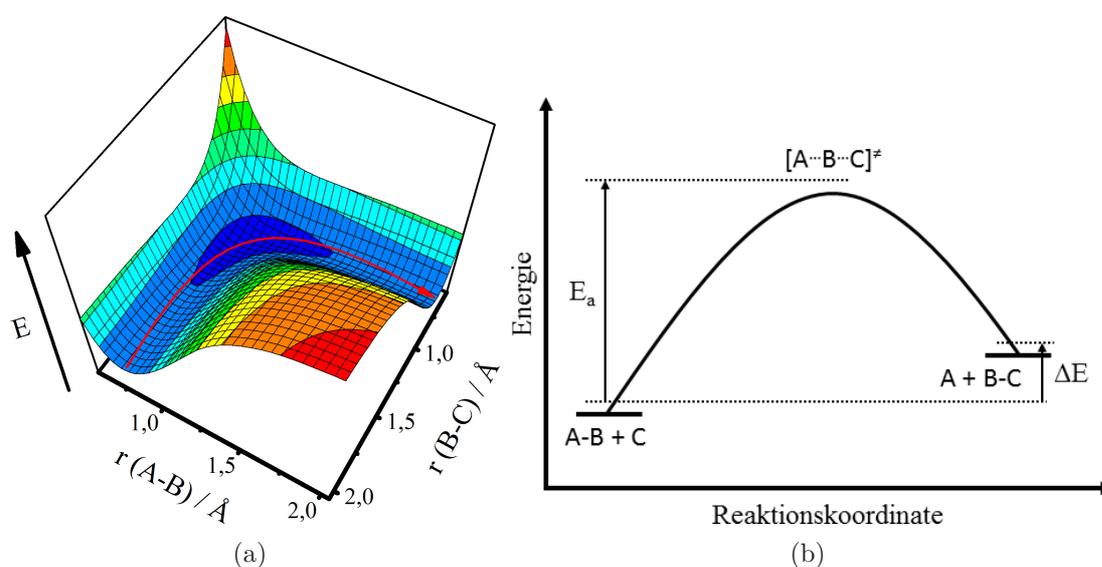
$$V = V(q_1, q_2, \dots, q_k) \quad (2.58)$$

mit  $k = 3N - 6$ . Diese Tatsache zeigt, dass schon für sehr kleine Systeme eine große Anzahl an Freiheitsgraden zur Verfügung steht. Eine einfache visuelle Darstellung dieser hochdimensionalen Zusammenhänge in dreidimensionalen Bildern ist nicht möglich. Die Überwindung dieses Problems wird erreicht, indem nur zwei Koordinaten verändert und in Abhängigkeit von  $V$  dargestellt werden und alle weiteren Koordinaten konstant bleiben.

In Abbildung 2.10 ist die Potentialhyperfläche der Austauschreaktion



dargestellt. Das linke Tal stellt den Zustand der Reaktanten dar, wobei sich A und B in ihrem Gleichgewichtsabstand zueinander befinden. Den Zustand der Produkte gibt das rechte Tal wieder (B und C im Gleichgewichtsabstand). Die Reaktionskoordinate bezeichnet den Weg der niedrigsten Energie auf der Potentialhyperfläche, der Edukte und Produkte miteinander verbindet. Der Sattelpunkt wird als aktivierter Komplex bezeichnet. Der Unterschied der Nullpunktsenergien der Edukte und des

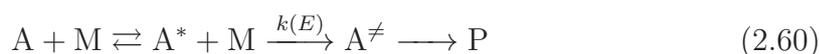


**Abbildung 2.10.:** (a) Potentialhyperfläche einer beispielhaften Austauschreaktion. Der rote Pfeil verdeutlicht die Reaktionskoordinate. (b) Minimumenergieweg über einen aktivierten Komplex (Übergangszustand) in 2D-Projektion.

aktivierten Komplexes (Übergangszustand) wird als Schwellen- oder Aktivierungsenergie ( $E_a$ ) bezeichnet. Der Energieunterschied  $\Delta E$  der Reaktion ist die Differenz der Nullpunktenergien der Edukte im Vergleich zu den Produkten. Die exakte Form der Potentialhyperfläche ist auf Grund der Komplexität eines chemischen Systems nicht bekannt oder würde erheblichen Rechenaufwand erfordern. Vereinfachungen führen dazu, dass der Verlauf einer Reaktion entlang einer Reaktionskoordinate dennoch bestimmt werden kann. Somit kann auch die Ratenkonstante einer Reaktion bestimmt werden und welche Parameter Einfluss auf diese haben.

### 2.2.2. Rice-Ramsperger-Kassel-Marcus-Theorie

Die RRKM-Theorie geht auf Erweiterungen der Theorie zu unimolekularen Reaktionen von Rice, Ramsperger, Kassel (RRK-Theorie) durch Marcus zurück.[54–57] Dabei wird das Reaktionsschema



mit  $A^*$  und  $A^\ddagger$  als aktiviertes Molekül und aktivierter Komplex betrachtet. Der Stoßpartner  $M$  kann zur Aktivierung des Moleküls  $A$  bzw. zur Desaktivierung von  $A^*$  führen. Die energieabhängige Ratenkonstante  $k(E)$  kann für ein mikrokanonisches Ensemble bei einer konstanten Temperatur als Funktion der kanonischen Zustandssummen beschrieben werden. Für eine chemische Reaktion wird

$$k(E) = \frac{1}{h} \frac{Z^\ddagger}{Z^*} \frac{\sum P^\ddagger(E - E_a)}{\rho^*(E)} \quad (2.61)$$

erhalten, mit dem Planck'schen Wirkungsquantum  $h$ , der Zustandssumme der adiabatischen Freiheitsgrade  $Z$ , der Anzahl der Zustände im Energiebereich  $E - E_a$   $P(E - E_a)$ , der Zustandsdichte  $\rho(E)$  und  $\ddagger$  als Bezeichnung des aktivierten Komplexes, sowie  $*$  für das aktivierte Molekül. Im aktivierten Molekül ist die interne Energie  $E$  statistisch auf alle Freiheitsgrade verteilt. Der aktivierte Komplex stellt die Spezies dar, bei der die zur Reaktion benötigte Energie  $E_a$  in der Reaktionskoordinate lokalisiert ist. Damit bleibt zur Verteilung auf die restlichen Freiheitsgrade nur der Betrag  $E - E_a$  übrig. Ist diese Überschussenergie klein, dann steigt  $k(E)$  mit steigender  $E$  schnell an. Demgegenüber nimmt  $P^\ddagger$  mit steigender  $E$  proportional stärker zu als  $\rho^*$ . Dies führt zu einer abnehmenden Steigung von  $k(E)$  bei steigender  $E$  und zu einem konstanten Wert, wenn  $E_a \ll E$  ist. Mehrere Faktoren können  $k(E)$  stark beeinflussen. Dazu zählen die Aktivierungsenergie  $E_a$ , das Verhältnis der Anzahl der Zustände im aktivierten Komplex zur Zustandsdichte im aktiven Molekül  $P^\ddagger/\rho^*$  und das Verhältnis der Zustandssummen im aktivierten Komplex zum aktivierten Molekül  $Z^\ddagger/Z^*$ .

Strukturelle Veränderungen des zu untersuchenden Systems können Einfluss auf die Aktivierungsenergie  $E_a$  haben. Wird diese erhöht, hat das mehrere Konsequenzen zur Folge. Der Bereich  $E - E_a$  im aktivierten Komplex wird kleiner. Somit wird auch die Anzahl der Zustände in diesem Energiebereich kleiner. Dadurch wird  $k$  ebenfalls kleiner, da die Wahrscheinlichkeit,  $E_a$  in der Reaktionskoordinate zu erreichen, sinkt. In dem Fall  $E = E_a$  ist nur der Grundzustand des aktivierten Komplexes zugänglich und  $E < E_a$  führt zu  $k = 0$ . Demnach ergibt sich als minimale Ratenkonstante  $k_{min}$ , bei der die Reaktion noch stattfindet, zu

$$k_{min} = \frac{1}{h} \frac{Z^\ddagger}{Z^*} \frac{1}{\rho^*(E_a)} \quad (2.62)$$

Dieser Wert wird kleiner, wenn  $E_a$  ansteigt, da in diesem Fall die Zustandsdichte größer wird.

Strukturelle Änderungen beeinflussen auch das Verhältnis  $P^\ddagger/\rho^*$ . Das kann einerseits die Anzahl der Zustände betreffen, andererseits aber auch die energetische Lage dieser verändern und somit  $k(E)$  ändern. Eine wichtige Rolle nehmen hierbei die Schwingungsfreiheitsgrade (Niveaus und Entartung) ein. Beim Übergang vom aktivierten Molekül in den aktivierten Komplex ist eine Veränderung der Anzahl freier Rotatoren möglich. Bei den sogenannten *lockeren* Übergangszuständen (engl.: *Loose Complex*) steigt die Anzahl aktiver Rotationszustände mit steigender Schwingungsenergie. So führt beispielsweise die Verlängerung einer Bindung zu mehr Rotation bei gleichzeitig sinkender Schwingungsfrequenz. Das Gegenteil sind die sogenannten *geordneten* Übergangszustände (engl.: *Tight Complex*). Das Entstehen von Bindungen führt im Übergangszustand zu einer Reduzierung der Rotationsfreiheitsgrade, was häufig bei Umlagerungsreaktionen der Fall ist. Die Dichte von Rotationszuständen ist viel höher als die von Schwingungszuständen, wodurch ein großer Einfluss auf  $k(E)$  zustande kommt. Die Ratenkonstante eines *geordneten* Übergangszustandes weist mit zunehmender Energie in der Regel eine geringere Steigung auf als die eines *lockeren* Übergangszustandes.

Das Verhältnis der Zustandssummen im aktivierten Komplex zum aktiven Molekül ist ebenfalls durch die Änderung der Struktur beeinflussbar und damit auch  $k(E)$ . In den Zustandssummen ist ein Symmetriefaktor enthalten, was zur Abhängigkeit der Ratenkonstante von der Anzahl identischer Reaktionswege führt. Das Verhältnis der Zustandssummen spiegelt das Verhältnis der Trägheitsmomente von aktiviertem Komplex und aktivem Molekül wider. Bei *lockeren* Übergangszuständen ist dieses Verhältnis generell größer als bei *geordneten* Übergangszuständen.

### 2.2.3. Stoßinduzierte Dissoziation

Die stoßinduzierte Dissoziation (engl.: *Collision-Induced Dissociation*) ist eine weit verbreitete Methode zur Aktivierung von Ionen in Massenspektrometern. Stöße zwischen dem zu untersuchenden Ion und neutralen Gasmolekülen führen zu einem Anstieg der internen Energie und somit zu einer großen Wahrscheinlichkeit der Dissoziation und damit einhergehend zum Auftreten von Fragmenten. Stößt ein Ion mit hoher Geschwindigkeit unelastisch mit einem Neutralem, wird ein Teil der Transla-

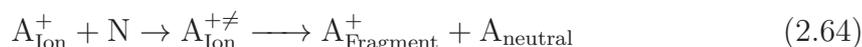
tionsenergie in interne Energie des Ions umgewandelt. In der Folge kommt es zur Dissoziation. Die Energieübertragung bei der Stoßaktivierung wird von Impuls- und Energieerhaltung während des Prozesses begleitet. Das Gesamtsystem aus Ion und Neutralem kann als Ganzes und die Geschwindigkeiten der einzelnen Spezies relativ zueinander betrachtet werden. Der Anteil, der zur Umwandlung von kinetischer Energie  $E_{\text{kin}}$  in interne Energie  $E_{\text{int}}$  maximal zur Verfügung steht, ist abhängig von der Masse der beiden Stoßpartner. Dieser Zusammenhang ist durch die Beziehung

$$E_{\text{int}} = \left( \frac{N}{A_{\text{Ion}} + N} \right) E_{\text{kin}} \quad (2.63)$$

gegeben, wobei  $N$  und  $A_{\text{Ion}}$  die Massen des Neutralteilchens und die des Ions darstellen. Der CID-Prozess ist stark von diesem Verhältnis abhängig. Energieerhaltung bedeutet in diesem Fall, dass jede Änderung der relativen Translationsenergie der Stoßpartner zu einer Veränderung der internen Energie führt. Zu dem Zeitpunkt, an dem beide Stoßpartner aufeinander treffen und es sich um unelastische Stöße handelt, wird die maximale Energiemenge übertragen. In diesem Fall ist die relative kinetische Energie gleich Null. Wie in Gl. 2.63 zu erkennen ist, nimmt die interne Energie mit Zunahme der Masse des Neutralen zu. Bei größerer Masse des Ions steht weniger interne Energie für die Fragmentierung zur Verfügung, so dass mehr Stöße für die Dissoziation nötig sind.

Während des Stoßprozesses nähern sich die Stoßpartner und entfernen sich anschließend wieder voneinander, wobei es zu Veränderungen des Systems auf molekularer Ebene kommen kann. Im Fall eines elastischen Stoßes (keine Energieübertragung auf interne Freiheitsgrade) bleibt die kinetische Energie des Systems konstant und damit auch die interne Energie der Stoßpartner. Bei einem unelastischen Stoß nimmt die kinetische Energie ab mit gleichzeitiger Zunahme der internen Energie. Superelastische Stoßbedingungen stellen den umgekehrten Fall dar. Interne Energie wird in kinetische Energie umgewandelt, was höhere Translation der Stoßpartner zur Folge hat. Die Stoßaktivierung mehratomiger Ionen geschieht in der Regel durch unelastische Stöße. Dabei kann die RRKM-Theorie stoßaktivierte Fragmentierungsreaktionen hinreichend genau beschreiben. Somit kann der CID-Prozess als zweistufiger Mechanismus beschrieben werden. Die Anregung des zu untersuchenden Ions und die Dissoziation sind zeitlich getrennte Ereignisse. In der Regel ist die Anregungszeit von sich schnell bewegenden Ionen um Größenordnungen schneller als

die Dissoziationszeit. Der Mechanismus



stellt diese Reaktionsfolge dar. Der zweite Teil dieses Mechanismus ist eine unimolekulare Zerfallsreaktion des angeregten Ions und kann auf Grund dessen durch die RRKM-Theorie beschrieben werden. Wenn die übertragene Energie und somit die Anregung des Ions ausreichend groß ist und die Dissoziationsschwelle überschritten wird, kommt es zu Fragmentierungsreaktionen. Diese Mindestenergie entspricht nicht exakt der Schwellenenergie der Dissoziation. Ein zusätzlicher Energiebetrag, die kinetische Verschiebung, ist notwendig, damit die Fragmentierung auf der Zeitskala des Experiments ablaufen kann. Je kürzer diese Zeit für die Anregung ist, desto größer ist die benötigte kinetische Verschiebung, damit Fragmente auftreten.

CID-Prozesse lassen sich nach der Translationsenergie des Vorläuferions in zwei Kategorien einteilen. Auf der einen Seite treten hauptsächlich bei organischen Ionen in Quadrupolen und Ionenfallen niedrigerenergetische Stöße auf. Diese können Energien im Bereich von 1 – 100 eV übertragen. Auf der anderen Seite gibt es hochenergetische Stöße, die vor allem in Sektor- und TOF-Massenspektrometern auftreten. Hierbei liegt die Stoßenergie im Bereich von Kiloelektronenvolt. Der mittlere Bereich (100 – 1000 eV) tritt bei herkömmlichen Tandem-Massenspektrometern nicht auf. Die Spektren, resultierend aus niederenergetischen und hochenergetischen Prozessen, unterscheiden sich stark. In dieser Arbeit wurden zur Induzierung von Fragmentierungsreaktionen niedrigerenergetische Stöße verwendet. Diese werden im Folgenden genauer betrachtet.

### 2.2.3.1. Niedrigenergetische Stöße

Niedrigenergetische Stöße übertragen Energien im Bereich von 1 – 100 eV. Diese werden vor allem in Triple-Quadrupol, Ionenfallen und FT-ICR-Instrumenten beobachtet. Bei Triple-Quadrupol-Massenspektrometern fungiert der mittlere Quadrupol als Stoßzelle und wird im *rf-only*-Modus betrieben, wodurch die Ionen fokussiert werden können. Die Stoßzelle ist mit einem neutralen Inertgas gefüllt, normalerweise Stickstoff (N<sub>2</sub>) oder Argon (Ar). Häufig werden die Ionen durch Mehrfachstöße angeregt. Neben den Eigenschaften des Inertgases selbst ist auch der Druck in der Stoßzelle entscheidend. Bei hohem Gasdruck treten zwei Effekte auf. Eine höhe-

re Anzahl von Ionen stößt mit den neutralen Gasteilchen. Des Weiteren steigt die Wahrscheinlichkeit, dass ein Ion mehrfach mit den neutralen Gasteilchen stößt. Zusätzlich können die entstandenen Produkte aus der Dissoziation ebenfalls wieder durch Stöße angeregt werden und weiter dissoziieren. Diese beiden Wege



tragen zum Erscheinungsbild von CID-Spektren bei. Der erste Prozess in Gl. 2.65 zeigt die CID des Vorläuferions mit anschließender Dissoziation angeregter Produktionen. Gl. 2.66 zeigt den zweiten Prozess, bei dem es zur schrittweisen Anregung des Vorläuferions bis hin zur Dissoziation kommt. Beide Reaktionen führen zu einer Erhöhung der internen Energie der Vorläuferionen. Bei hohem Gasdruck und hoher Stoßwahrscheinlichkeit entspricht die übertragene Stoßenergie einer Boltzmann-Verteilung bei hohen Temperaturen.[58] Die Erhöhung des Stoßgasdrucks ist eine geeignete Methode, den Dissoziationsgrad von Ionen größerer Masse zu erhöhen oder besonders stabile Ionen zu fragmentieren.

Die Wechselwirkungswahrscheinlichkeit, besser als Stoßquerschnitt bekannt, wird durch

$$[A_{\text{Ion}}^+] = [A_{\text{Ion}}^+]_0 \exp(-n\sigma l) \quad (2.67)$$

beschrieben. Hierbei ist  $[A_{\text{Ion}}^+]_0$  der Ionenfluss in Abwesenheit von Stoßgas,  $[A_{\text{Ion}}^+]$  der Ionenfluss nach Stoßgaszugabe,  $l$  die Länge der Stoßzelle,  $n$  die Teilchendichte des Stoßgases und  $\sigma$  der Stoßquerschnitt bei Stoßaktivierung.[59] Bei CID-Experimenten liegt der Stoßquerschnitt im Bereich von  $10^{-14} - 10^{-17} \text{ cm}^2$ . [60] Die Anregung der Ionen in Quadrupol-Experimenten geschieht resonant. Das isolierte Vorläuferion wird durch Anlegen einer Wechselspannung an den Endkappen angeregt, welche der Oszillationsfrequenz des Ions entspricht. Bei Anregungszeiten im zweistelligen Millisekundenbereich kommt es zu keinen signifikanten Ionenverlusten, während eine ausreichend hohe Anzahl an Stößen für die Anregung erreicht wird. Auf Grund dieser relativ langen Anregungszeit gehört CID zu den *langsamen* (engl.: *slow heating*) Methoden zur Ionenaktivierung. Eine weitere Methode dieser Kategorie ist die SO-RI, welche im FT-ICR-MS von Bedeutung ist und im folgenden Abschnitt erläutert wird.

### 2.2.3.2. Sustained Off-Resonance Irradiation

In FT-ICR-Instrumenten finden die Isolation und die Anregung der Ionen am gleichen Ort statt, an dem diese für eine bestimmte Zeit durch ein kombiniertes magnetisches und elektrostatisches Feld gespeichert sind.[61] Resonante Anregung kann in diesem Fall durch einen sehr kurzen, starken Anregungspuls mit der natürlichen Cyclotronfrequenz des Ions erreicht werden. Durch die starke Anregung resultieren viele Stöße, was zu einer starken Erhöhung der internen Energie des Ions führt. Durch die kurze Anregungszeit werden Ionenverluste vermieden. Im Gegensatz dazu ist die nicht resonante Anregung, die SORI-Methode, die üblicherweise in der FT-ICR-MS verwendete Methode zur Stoßaktivierung. Hierbei wird das Vorläuferion mit einer Frequenz, die geringfügig höher als die natürliche Cyclotronfrequenz ist, angeregt. Daraus resultieren mehrere Zyklen aus Beschleunigung und Verzögerung der Ionen, bei denen sich der Orbitalradius vergrößert und wieder verkleinert, bevor es zur Dissoziation kommt. Durch die geringere Translationsenergie, verglichen mit der resonanten Anregung, kann eine längere Anregungszeit ohne Verluste realisiert werden. Diese liegt im Bereich von einigen hundert Millisekunden bis zu einigen Sekunden, wodurch eine höhere Anzahl an Stößen stattfindet. Dadurch nimmt das Ion fortlaufend immer mehr Energie auf Grund der Stöße auf, bis die Schwellenenergie zur Dissoziation erreicht wird. Dies führt dazu, dass langsame Umlagerungsreaktionen bei dieser Art der Stoßaktivierung bevorzugt auftreten.[62]

Die Anregung der Ionen mit diesen niedrigen Stoßenergien beruht hauptsächlich auf Schwingungen, da die Wechselwirkungszeit in der Größenordnung von  $\sim 10^{-13} - 10^{-14}$  s liegt, was die Schwingungsdauer einer chemischen Bindung ist.[63] Die Annahme, dass bei der Energieübertragung im CID-Prozess nur Schwingungsanregung stattfindet, ist nicht korrekt.[58] Für kleine ionische Systeme konnte mit spektroskopischen Untersuchungen der Translationsenergie gezeigt werden, dass elektronische Zustände durch Stöße zugänglich sind, die mit Photoionisation nicht erreicht werden können.[64] Ionen, die in diese Zustände angeregt wurden, können auf anderen Wegen dissoziieren als es für diese erwartet werden würde. Diese Tatsache zeigt, dass ungewöhnliche Mechanismen des Energietransfers durch Stöße von Ionen mit Neutralen möglich sind.[65]

In Ionenfallen-Experimenten ist es möglich, mehrere aufeinanderfolgende CID-Experimente durchzuführen. Diese sind auf den Produktionenscan limitiert, wohin-

gegen in Triple-Quadrupol- und Sektorfeld-Massenspektrometern weitere Scanmethoden zur Verfügung stehen. Der Produktionscan ist insbesondere bei der Aufklärung von Fragmentierungswegen und bei der Strukturaufklärung von Ionen wichtig. Durch die Verwendung von Hybridtechniken, die mehrere Massenspektrometer koppeln, ergeben sich weitere Vorteile. Die Verwendung von verschiedenen Scanmodi zusammen mit der Möglichkeit zur Durchführung von MS<sup>3</sup>-Experimenten ergibt sich durch die Kombination von Quadrupol- und Ionenfallen-Massenspektrometern.[66] Produktionspektren mit guter Auflösung und hoher Massengenauigkeit werden durch die Kopplung von Quadrupol- und Flugzeit-Massenspektrometern erreicht.[67] Auch FT-ICR-Hybridmassenspektrometer bieten einige Vorteile. Durch die Selektion und die Fragmentierung eines Vorläuferions in vorgeschalteten Quadrupol-Massenspektrometern wird eine geringere Belastung der ICR-Zelle erreicht. Dadurch ergeben sich weniger Störungen durch Wechselwirkungen mit unerwünschten Ionen und damit gute Sensitivität und verbesserte Massengenauigkeit der zu untersuchenden Produktionen.[68]

### 2.2.4. Photodissoziation

Die Absorption von Photonen durch Ionen in der Gasphase führt zu deren Anregung und kann Fragmentierungen auslösen. Dieser Vorgang wird als Photodissoziation bezeichnet.[69, 70] Die Photodissoziation als Methode zur Aktivierung von Ionen bietet vielfältige Möglichkeiten. Abhängig von der verwendeten Lichtquelle ist gute Selektivität und Durchstimbarkeit gegeben.[71, 72] Des Weiteren bieten gepulste Laser die Möglichkeit einer sehr schnellen (z. B. Nanosekundenbereich) Anregung der zu untersuchenden Ionen.[73] Durch die Verwendung hochenergetischer Photonen im Ultraviolett (UV)-Bereich kann durch Absorption eines einzelnen Photons viel Energie in ein System eingebracht werden. Dies führt in der Folge dazu, dass ein breites Spektrum an Fragmentionen zu beobachten ist. Photonen im Vakuumultraviolett (VUV)-Bereich regen Ionen in höhere energetische Zustände an und öffnen auf diese Weise neue Fragmentierungskanäle, die ansonsten nicht zugänglich sind.[74] Die benötigte Anzahl an Photonen, die zur Dissoziation führen, ist abhängig von der verwendeten Wellenlänge. Im Infrarot (IR)-Bereich ( $\sim 0.1$  eV) sind mehrere Hundert Photonen notwendig, hingegen kann im UV-Bereich ( $\sim 3 - 8$  eV) schon ein einziges Photon zur Initiierung der Dissoziation ausreichen. Eine häufig verwen-

dete Methode ist die IR-Mehrphotonendissoziation (MPD), bei der ein CO<sub>2</sub>-Laser (10.6  $\mu\text{m}$ ) mit einer hohen Flussdichte niederenergetischer Photonen eingesetzt wird. Die Schwingungsmoden von C-C-, C-N- und P-O-Bindungen absorbieren diese Wellenlänge sehr gut. Durch die geringe Energie eines einzelnen Photons muss eine große Anzahl dieser absorbiert werden, um Fragmentierungen zu erreichen.[75,76] Der Anregungsmechanismus der IRMPD ist vergleichbar mit der niedrigerenergetischen CID (siehe Abschnitt 2.2.3.1) und resultiert in der Dissoziation der labilsten Bindungen des entsprechenden Ions.[77] In FT-ICR-Geräten lässt sich diese Technik sehr gut einsetzen, da bei sehr niedrigen Drücken gearbeitet wird und dadurch stoßinduzierte Desaktivierung keinen Konkurrenzprozess zur Photodissoziation darstellt.[78,79]

Im Gegensatz zur IRMPD werden bei der Ultraviolett-Photodissoziation (UVPD) höherenergetische Photonen zur Anregung und Dissoziation verwendet. Die erfolgreiche Funktionsweise dieser Methode konnte mit unterschiedlichen Lasersystemen gezeigt werden. Dazu zählen F<sub>2</sub>-Excimerlaser (157 nm, 7.9 eV p. Photon) [80], ArF-Excimerlaser (193 nm, 6.4 eV p. Photon) [81], Titan:Saphir-Femtosekundenlaser (800 nm, 1.5 eV p. Photon) [82], Nd:YAG-Laser (266 nm, 4.7 eV p. Photon; 355 nm, 3.5 eV p. Photon) [83] oder XeF-Excimerlaser (351 nm, 3.5 eV p. Photon).[84] Auch der sichtbare Bereich des elektromagnetischen Spektrums ist zur Fragmentierung von Ionen geeignet (VisPD).[85,86] Zur Absorption der Photonen und damit der Energie ist für jede Wellenlänge das Vorhandensein eines entsprechenden Chromophors wichtig. Im ultravioletten und sichtbaren Bereich liegen die verwendeten Energien pro Photon zwischen 3 – 8 eV ( $\sim 400 - 150$  nm), so dass ein bis zwei Photonen zur Anregung der Ionen in höhere elektronische Zustände ausreichen. Die Dissoziation kann direkt aus diesen angeregten Zuständen erfolgen, was die Vielfalt der Fragmentierungswege bei UVPD (und VisPD) erklärt. Zudem ist auch die innere Umwandlung (engl.: *Internal Conversion* (IC)) oder intramolekulare Schwingungsenergieumverteilung (engl.: *Intramolecular Vibrational Relaxation* (IVR)) der angeregten Ionen möglich. Diese Prozesse führen in der Regel zu Fragmentionen, die auch durch Stoßaktivierung erzeugt werden. Eine interessante Folge der UVPD ist das Auftreten von Radikalen, die photolytisch als Folge der homolytischen Spaltung einer C-C Bindung entstehen.[87]

Ein UV-Photon mit 266 nm enthält 4.7 eV Energie und ist in der Lage, bei der Peptidfragmentierung unterschiedliche Produktionen<sup>1</sup> zu generieren. Die aromatischen Seitenketten der Aminosäuren Tryptophan, Phenylalanin und Tyrosin absorbieren in diesem Bereich des elektromagnetischen Spektrums.[89] Proteine und Peptide mit Disulfidbrücken zeigen nach Anregung mit 266 nm eine homolytische Bindungsspaltung dieses wichtigen Strukturelements, was einen interessanten Aspekt bei der Proteinsequenzierung darstellt.[90]

### 2.3. Dichtefunktionaltheorie

In der Massenspektrometrie werden Ionen in der Gasphase bei niedrigen Drücken betrachtet. Dies stellt fast den idealen Zustand dar, mit dem theoretische Methoden wie die Molekülorbital (MO)-Theorie oder die Dichtefunktionaltheorie (DFT) diese Systeme berechnen. Ziel dabei ist das Zusammenspiel von experimentellen und theoretischen Methoden zur Aufklärung von Reaktionsmechanismen durch die Analyse der Potentialenergiehyperfläche oder die Charakterisierung neuer Strukturen, die eventuell etablierten Theorien nicht entsprechen.

Die DFT basiert auf dem Hohenberg-Kohn-Theorem. Dieses zeigt, dass die Energie eines Systems im Grundzustand komplett und eindeutig durch die Elektronendichte  $\rho$  beschrieben werden kann.[91] Hierbei ist wichtig, dass für die Berechnung der Grundzustandsenergie mittels *ab initio* MO-Theorie eine Wellenfunktion in Abhängigkeit von  $3N$  Koordinaten benötigt wird. Demgegenüber ist  $\rho$  eine dreidimensionale Funktion. Das Energiefunktional kann als Summe dreier Terme ausgedrückt werden, kinetische Energie  $T$ , attraktive Wechselwirkungen  $V_{ne}$  zwischen Kernen und Elektronen und abstoßende Wechselwirkungen  $V_{ee}$  zwischen Elektronen,

$$E(\rho) = T(\rho) + V_{ne}(\rho) + V_{ee}(\rho). \quad (2.68)$$

Der Term der Repulsion kann wiederum, wie in der Hartree-Fock (HF)-Theorie, in einen Coulomb- und ein Austausch-Korrelations-Potentials zerlegt werden,  $J(\rho)$  und  $E_{XC}(\rho)$ . Das große Problem in der Dichtefunktionaltheorie ist, dass keine explizite Form des Austausch-Korrelations-Potential existiert. Der Unterschied zwischen den

---

<sup>1</sup>Diese werden als a-, b- oder c-Fragmente (N-terminale Serie) bzw. als x-, y- oder z-Fragmente (C-terminale Serie) bezeichnet.[88]

verschiedenen DFT-Methoden ist die Wahl der Funktionale, die den Austausch und die Korrelation beschreiben. Mit der Einführung von Orbitalen in die DFT wurde diese auch für chemische Fragestellungen anwendbar.[92] Damit kann die Elektronendichte als Funktion der Kohn-Sham-Orbitale geschrieben werden,

$$\rho(\vec{r}) = \sum_1^N |\phi_i(\vec{r})|^2. \quad (2.69)$$

Die Grundzustandsenergie kann somit als

$$E(\rho) = \underset{\min}{\Psi} \langle \Psi | T + V_{ee} | \Psi \rangle + \int \rho(\vec{r}) V_{ne} d^3r \quad (2.70)$$

beschrieben werden, mit  $\Psi$  als Wellenfunktion des nicht wechselwirkenden Referenzsystems der Kohn-Sham-Theorie, aus dem die Dichte  $\rho$  erhalten wird. Dieses entsteht aus dem Satz an Kohn-Sham-Orbitalen, die in Gl. 2.69 eingehen. Mit  $T$  und  $V_{ee}$  als Operatoren der kinetischen Energie bzw. der Elektron-Elektron-Abstoßung und  $V_{ne}$  als externes Potential kann 2.70 als

$$E(\rho) = \underset{\min}{\Psi} \left\{ \langle \Psi | T | \Psi \rangle + \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3r d^3r' + E_{XC} + \int \rho(\vec{r}) V_{ne} d^3r \right\} \quad (2.71)$$

geschrieben werden. In Gl. 2.71 sind die Coulomb- und Austausch-Korrelations-Terme voneinander getrennt. Wie in der HF-Theorie reduziert sich das Problem auf einen Satz orthogonal zueinander stehender Orbitale, die zu einer Minimierung der Energie führen. Die Terme in Gl. 2.70 beziehen sich jedoch auf die Gesamtdichte, so dass die Kohn-Sham-Orbitale iterativ erhalten werden müssen. Hierbei werden häufig die Molekülorbitale verwendet, die aus der HF-Theorie erhalten werden.

Zusammenfassend bedeutet das, würde das exakte Funktional bekannt sein, ergäbe die DFT die exakte Energie. In der Praxis wird eine Näherung des Austausch-Korrelations-Funktional verwendet, womit die echte dynamische Korrelation nur bedingt wiedergegeben werden kann. Der große Vorteil von DFT ist, dass mit ähnlicher Rechenzeit wie bei herkömmlichen HF-Rechnungen ein großer Anteil der Korrelationsenergie berücksichtigt wird. Eine systematische Verbesserung von DFT ist hingegen nicht möglich. Andererseits ist DFT streng genommen keine *ab initio* Methode, weil die genäherten Austausch- und Korrelations-Funktionale an sehr genaue Daten angepasst werden (meist *ab initio* Rechnungen auf hohem Niveau). Im End-

effekt ist es dadurch schwierig zu entscheiden, welches Funktional das Beste ist, um ein gegebenes Problem zu beschreiben. Der Vergleich mit aufwändigen *ab initio* Rechnungen und auch mit experimentellen Daten ist in den Grenzen des verwendeten Funktionals zu betrachten. Für die meisten Probleme, die Ionen in der Gasphase beinhalten, werden mit dem B3LYP-Hybridfunktional gute Ergebnisse erzielt. Dieses enthält Beckes drei-Parameter-Austauschfunktional [93] kombiniert mit dem Korrelationsfunktional LYP.[94] Eine sehr große Anzahl an Funktionalen steht aktuell zur Verfügung. Viele sind sehr detailliert an empirisch erhaltene Parameter angepasst. Die daraus erhaltenen Ergebnisse werden damit für spezielle Systeme immer genauer, die Entfernung zu einer allgemein gültigen Beschreibung der Elektronendichte nimmt hingegen zu. In diesem Problem besteht eine der zukünftigen Herausforderung bei der Weiterentwicklung von DFT.[95]

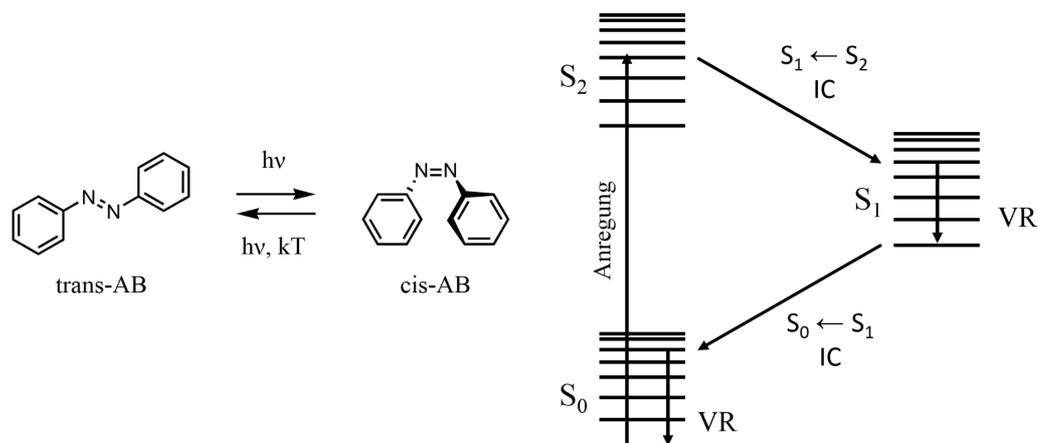
## 2.4. Diphenyldiazene

Azobenzol ist eine chemische Verbindung, die aus zwei Phenylringen besteht, verbunden durch eine Stickstoff-Stickstoff-Doppelbindung ( $-N=N-$ ). Sie wurde zum ersten Mal im Jahr 1834 beschrieben.[96] Dabei handelt es sich um die einfachste Form aromatischer Azoverbindungen. Der Begriff *Azobenzol* wird häufig als Überbegriff für die gesamte Substanzklasse mit einem Azobenzol-Grundgerüst verwendet, wobei sich weitere funktionelle Gruppen an den beiden Phenylringen befinden können. Diese Verbindungen werden auch als Diazene (Diimide) bezeichnet. Eine wichtige Eigenschaft ist das gute Absorptionsvermögen von Licht, wodurch sie als Farbstoffe und in vielen weiteren industriellen Bereichen angewandt werden.

### 2.4.1. Schaltung von Azobenzolderivaten

Azobenzol kann entweder in der *trans*- oder in der *cis*-Form vorliegen, wie in Abbildung 2.11 links gezeigt. Die Isomerisierung von *trans* nach *cis* kann durch Bestrahlung mit Licht im UV/Vis-Bereich [97], mechanische Belastung [98] oder elektrostatischer Aktivierung [99] erfolgen. Die Rückreaktion erfolgt thermisch und führt zur Bildung des thermodynamisch stabileren *trans*-Isomers.[100]

Für die *cis*-*trans*-Isomerisierung des Azobenzol werden vier Mechanismen vorgeschlagen. Dazu zählen die Rotation, die Inversion, die konzertierte Inversion und



**Abbildung 2.11.:** Schematische Darstellung der cis-trans-Isomerisierung des Azobenzols (links) und ein vereinfachtes Jablonski-Schema der beteiligten Zustände  $S_0$ ,  $S_1$  und  $S_2$  (rechts).

die inversionsunterstützte Rotation. Rotation wird durch Aufbrechen der Doppelbindung erreicht, so dass freie Drehbarkeit um die entstehende Einfachbindung ermöglicht ist. Bei der Inversion wird ein  $N=N-C$ -Winkel auf  $180^\circ$  erhöht, wobei der Diederwinkel ( $C-N=N-C$ ) konstant bleibt. Dadurch entsteht ein Übergangszustand mit einem  $sp$ -hybridisierten Stickstoffatom. Für die Isomerisierung durch konzertierte Inversion werden beide  $N=N-C$ -Winkel auf  $180^\circ$  erhöht, was zu einem linearen Übergangszustand führt. Inversionsunterstützte Rotation wird durch starke Änderung des Diederwinkels mit gleichzeitiger Erhöhung der  $N=N-C$ -Winkel erreicht. Jeder Mechanismus kann aus dem entsprechenden Übergangszustand zum trans- oder zum cis-Isomer führen.

Bei der Isomerisierung des Azobenzols sind auch angeregte Zustände involviert. Der Grundzustand ( $S_0$ ) ist ein Singulett-Zustand und  $S_1$  und  $S_2$  sind der erste und zweite angeregte Singulett-Zustand. Diese drei Zustände sind schematisch in Abbildung 2.11 rechts dargestellt. Der  $S_1$ -Zustand kann durch direkte Anregung oder durch IC aus dem  $S_2$ -Zustand erreicht werden. Angeregten Zustände von trans- und cis-Azobenzol unterscheiden sich stark voneinander. Die Isomerisierung der trans-Form findet immer im  $S_1$ -Zustand statt, unabhängig davon, wie dieser erreicht wurde. Rotation folgt in der Regel der direkten Anregung des  $S_1$ -Zustandes aus dem Grundzustand. Diese Mechanismen werden stark durch Substituenten am Grundgerüst durch Veränderung der sterischen und elektronischen Struktur beeinflusst.

Zudem zeigen weitere Parameter wie die Polarität oder Viskosität des verwendeten Lösungsmittels einen Einfluss auf den Isomerisierungsmechanismus.

### 2.4.2. Anwendung von Azobenzolderivaten

Die beiden Isomerisierungsprozesse sind bei unsubstituiertem Azobenzol zeitlich gut zu unterscheiden, weil die Photoisomerisierung deutlich schneller als die thermische Isomerisierung ist. Azobenzole finden aufgrund dieser photochromen Eigenschaften in vielen Systemen als lichtinduzierte Schalter Anwendung. Dazu zählen Polymere, modifizierte Oberflächen [101], Proteine [102], molekulare Maschinen [103], holografische Speicher [104] und Metallkomplexierung.[105] Mittels Geometrieänderung durch Isomerisierung führt das Molekül eine Aufgabe aus [106], reguliert Wechselwirkungen einhergehend mit Strukturveränderungen oder ändert spektroskopische Eigenschaften.[107] Weiterhin sind Azobenzole als pH-Indikator [108], Metallionen-detektor [109] oder auch als industrieller Farbstoff und nichtlineare optische Einheit [110] im Einsatz.

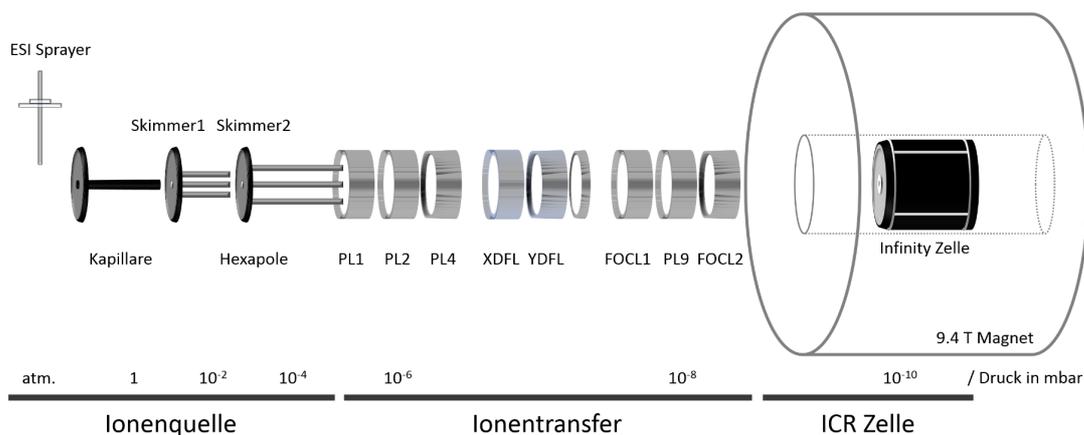
Die Isomerisierung steht im Interesse der Forschung, seitdem die cis-Form des Azobenzols zum ersten Mal isoliert wurde.[97] In der Folge wurden Parameter wie Anregungsart, Anregungswellenlängen, Lösungsmitelegenschaften, Substituenteneffekte an den Phenylringen, Temperatur und Druck im Hinblick auf den Isomerisierungsmechanismus und Quantenausbeute untersucht. In der praktischen Anwendung ist weniger die Kenntnis über den genauen Isomerisierungsmechanismus als vielmehr die Möglichkeit des genauen Einstellens der Rate von Hin- und Rückreaktion entscheidend. Dies basiert jedoch auf dem ablaufenden Reaktionsweg. Diese wurden im vorherigen Abschnitt beschrieben.

Vernachlässigt wird häufig, dass Bestrahlung mit Licht auch zu Zersetzung der zu untersuchenden Spezies führt. Azobenzole sind in der Regel sehr photostabil. Dennoch finden Dissoziationsreaktionen von Azobenzolen in Folge von Bestrahlung mit Licht im UV/Vis-Bereich statt. Dabei entstehende Produkte können störend wirken, zu Fehlfunktionen in praktischen Anwendungen oder zu Missinterpretationen von Ergebnissen aus physikalisch-chemischen Messungen führen. Diese Nachteile zeigen auf, wie wichtig das Wissen über photoinduzierte Abbaureaktionen ist. Im Folgenden wird auf die Dissoziationsreaktionen von Azobenzol kombiniert mit Dialkylaminosubstitution detailliert eingegangen.

## 3. Experimentelle Methoden

In diesem Kapitel wird das verwendete Massenspektrometer beschrieben. Dabei stehen die verwendeten Einstellungen, die Aufnahme der Spektren und die Durchführung der Dissoziation im Fokus. Zudem wird das Durchführen der quantenchemischen und kinetischen Rechnungen mit den entsprechenden Programmen beschrieben.

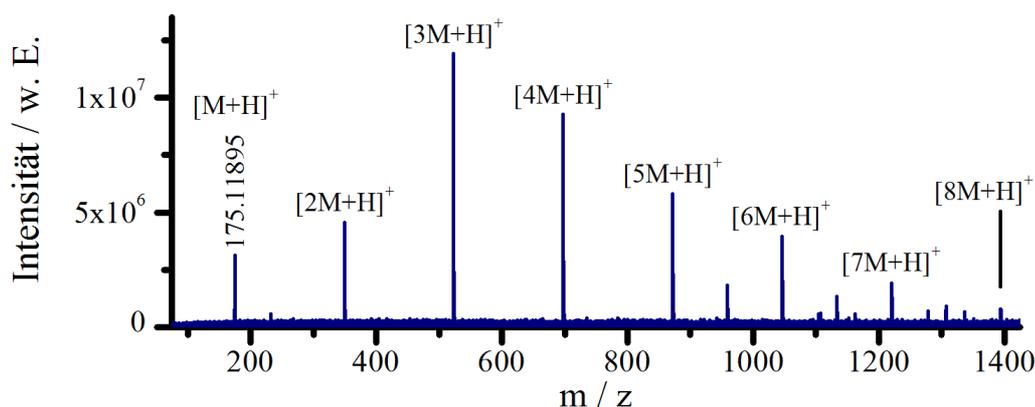
### 3.1. Verwendetes Massenspektrometer



**Abbildung 3.1.:** Schematischer Aufbau des verwendeten FT-ICR-Massenspektrometers.

Alle Massenspektren wurden mit einem *APEX-IV-Qe* FT-ICR-Massenspektrometer mit einem 9.4 T Magneten der Firma *Bruker Daltonik* (Bremen, Deutschland) aufgenommen. Der Aufbau ist schematisch in Abbildung 3.1 gezeigt. Nachfolgend werden die einzelnen Bereiche des Massenspektrometers beschrieben.

In der Ionenquelle werden die protonierten und damit geladenen Spezies erzeugt. Die Probe wird dazu in Ethanol gelöst und auf eine Konzentration von ca. 5.0 –



**Abbildung 3.2.:** Darstellung eines Massenspektrums von Arginin mit auftretenden protonierten Spezies  $[\text{Arg}+\text{H}]^+$  bis  $[8\text{Arg}+\text{H}]^+$ .

10 pmol/ $\mu\text{L}$  in ESI-Lösungsmittel verdünnt. Das ESI-Lösungsmittel besteht aus einer Mischung von Wasser, Methanol und Ameisensäure (49.9/49.9/0.2). Diese Lösung wird mit Hilfe einer Spritzenpumpe bei einer Flussrate von 150  $\mu\text{L}/\text{h}$  in den Sprayer geleitet. Ein Stickstoffstrom um die Sprühkapillare herum und ein Stickstoffgegenstrom unterstützen das Verdampfen des Lösungsmittels. Durch die anliegende Hochspannung von  $-3800$  V an der Spitze der Sprühnadel und  $-4500$  V am Einlass der Kapillare ins Massenspektrometer entsteht ein negativer Spannungsgradient. Dieser und der Druckgradient der Kapillare sorgen dafür, dass Ionen ins Massenspektrometer überführt werden. Da es sich bei der ESI um eine kontinuierliche Ionenquelle handelt, das FT-ICR-MS aber ein gepulster Analysator ist, müssen die Ionen gesammelt und dann pulsweise weitergeleitet werden. Dies geschieht im Akkumulationshexapol, aus dem dann die Ionenpakete weiter transferiert werden. Der Transfer besteht aus diversen Ablenkplatten und Fokuslinsen, die alle zusammen dafür sorgen, dass das Ionenpaket die ICR-Zelle erreicht. Zusätzlich besteht in diesem Bereich ein Druckgradient von  $10^{-6} - 10^{-10}$  mbar vom Ausgang der Ionenquelle bis in die ICR-Zelle. Um Störungen durch diesen Druckgradienten und durch das inhomogene Magnetfeld zu vermeiden, wird der Ionenstrahl fokussiert, beschleunigt und anschließend wieder gebremst, so dass möglichst viele Ionen des Pakets die ICR-Zelle erreichen können.

In der zuvor geleerten ICR-Zelle werden die Ionen gespeichert, mit einem Breitbandpuls (Sweep) angeregt und anschließend der Transient als zeitabhängiges Span-

**Tabelle 3.1.:** Abweichungen der experimentell bestimmten Massen der untersuchten Verbindungen von deren theoretischen Massen zur Bestimmung der Massengenauigkeit des Massenspektrometers.

| Verbindung | [M+H] <sup>+</sup> |                 | Abweichungen |               |
|------------|--------------------|-----------------|--------------|---------------|
|            | theor. Masse / Da  | exp. Masse / Da | absolut / Da | relativ / ppm |
| 1          | 254.16517          | 254.16537       | 0.00020      | 0.8           |
| 2          | 226.13387          | 226.13415       | 0.00028      | 1.2           |
| 3          | 298.15500          | 298.15510       | 0.00010      | 0.3           |
| 4          | 270.12370          | 270.12395       | 0.00025      | 0.9           |
| 5          | 298.15500          | 298.15528       | 0.00028      | 0.9           |
| 6          | 270.12370          | 270.12354       | 0.00016      | 0.6           |
| 7          | 326.18630          | 326.18624       | 0.00006      | 0.2           |
| 8          | 315.14517          | 315.14510       | 0.00007      | 0.2           |

nungssignal gemessen. Aus diesem Signal wird mittels FT ein frequenzabhängiges Signal berechnet, das als Massenspektrum (m/z-Skala) dargestellt wird.

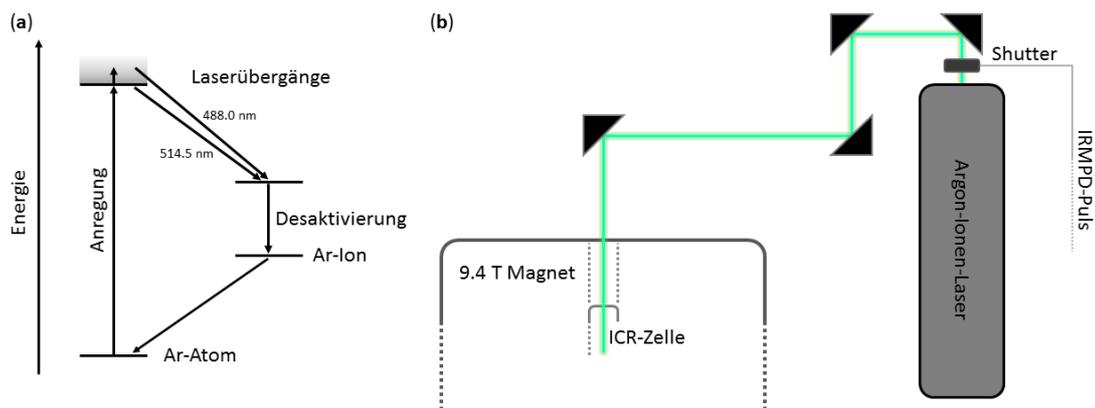
In der nachgehenden Auswertung der erhaltenen Massenspektren werden diese extern kalibriert. Dies geschieht, indem mit Hilfe eines Massenspektrums von Arginincustern eine Kalibrierfunktion erstellt wird. Da die Masse dieser Arginincustern gut bekannt ist und diese einen weiten Massenbereich abdecken, sind sie sehr gut für die Kalibration geeignet. Ein solches Arginin-Massenspektrum ist in Abbildung 3.2 gezeigt. Mittels dieser externen Massenkali-  
bration wird eine sehr gute Massengenauigkeit erhalten. Wie in Tabelle 3.1 für die Verbindungen<sup>1</sup> in dieser Arbeit gezeigt, ist die Abweichung in der Regel niedriger als 1 ppm. Damit können alle Summenformeln von Molekülonen und Fragmenten in dieser Arbeit eindeutig bestimmt werden. Die Auflösung des Massenspektrometers liegt bei ca. 100000 im Bereich von m/z 100 – 300.

Für die Stoßanregung werden weitere Schritte im Experiment nötig. Als erstes wird nach dem Einlass der Ionen und deren Speicherung in der ICR-Zelle die zu untersuchende Spezies isoliert. Dies geschieht mit Hilfe eines Breitbandpulses, der alle weiteren Ionen aus der ICR-Zelle entfernt. Im Anschluss wird Argon als Stoßgas durch ein Pulsventil eingeleitet. Die gespeicherte ionische Spezies wird *off-resonant* (SORI-CID) angeregt, so dass diese häufig mit den neutralen Argonatomen stößt und

<sup>1</sup>Erläuterung siehe Abbildung 3.6

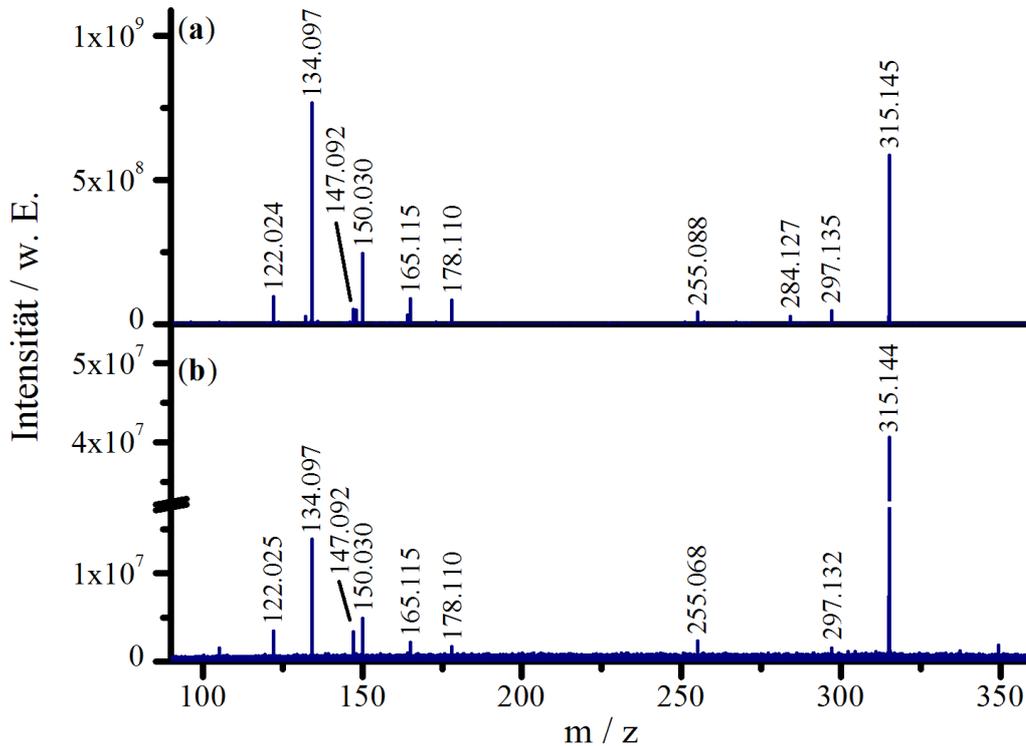
Fragmente gebildet werden. Nach dieser Anregung wird eine gewisse Zeit gewartet, damit der Druck in der ICR-Zelle wieder stabil ist, bevor die entstandenen Ionen wie zuvor beschrieben detektiert werden. In der Regel wurden für SORI-CID-Messungen 500 Einzelaufnahmen aufsummiert.

#### 3.1.1. Photodissoziationsexperimente



**Abbildung 3.3.:** Schematische Darstellung der intensivsten Übergänge eines Argon-Ionen-Lasers (a) und des Aufbaus des Strahlengangs für die PD-Experimente (b).

Photodissoziation wird in dieser Arbeit mittels eines Argon-Ionen-Lasers (*Innova 70*, *Coherent*, Santa Clara, CA, USA) durchgeführt. Hierbei handelt es sich um einen Dauerstrichlaser, der im *multiline*-Modus verwendet wird. Das bedeutet, dass mehrere Wellenlängen gleichzeitig ausgekoppelt werden. Die beiden intensivsten Linien dieses Lasers befinden sich bei  $\lambda = 514.5$  nm und  $\lambda = 488.0$  nm. In Abbildung 3.3a sind die intensivsten Übergänge schematisch dargestellt. Für die Messungen wird der Laser im Leistungsbereich von  $P = 0.5$  W bis  $P = 2.0$  W verwendet, die Maximalleistung liegt bei ca.  $P = 6.0$  W. Der Aufbau des Experiments ist in Abbildung 3.3b gezeigt. Da der Laser nicht extern angesteuert werden kann, wird der Laserstrahl mit Hilfe eines im Arbeitskreis gebauten Shutters geblockt. Der Strahl soll nur in die ICR-Zelle strahlen, wenn dort auch die zu dissoziierenden Ionen gespeichert sind. Das wird mit der Ansteuerung des Shutters mittels des IRMPD-Pulses des FT-ICR-MS erreicht. Somit kann auch die Länge der Einstrahlzeit verändert werden. Hierbei wird in einem Bereich von  $t = 0.01$  s bis  $t = 3.0$  s gearbeitet. Bei  $MS^2$ -PD-Messungen



**Abbildung 3.4.:** Vergleich der MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektren von Disperse Red 1 mit einem *Continuous Wave*, Dauerstrich (cw)-Argon-Ionen-Laser bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 514$  nm (a) und einem gepulsten Nanosekunden (ns)-Nd:YAG-Laser bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 532$  nm.

wird in der Regel eine Einstrahlzeit von  $t = 0.5 - 1.0$  s gewählt. Diese Messungen können mit dem bereits implementierten IRMPD-Programm durchgeführt werden. Das Durchführen von MS<sup>3</sup>-PD-Messungen ist normalerweise nicht vorgesehen. Durch den blockartigen Aufbau der Steuerungsprogramme der einzelnen Experimente kann ein zweiter Dissoziationsschritt hinzugefügt werden. Dieser beinhaltet die Möglichkeit, eines der erzeugten Fragmente zu isolieren und ein zweites Mal mit dem Argon-Ionen-Laser zu bestrahlen. Der Programmcode dieses Experiments ist im Anhang in Abschnitt A dargestellt.

Neben der Verwendung des Argon-Ionen-Lasers besteht die Möglichkeit, einen gepulsten Laser einzusetzen.[4] Dabei handelt es sich um einen Nd:YAG-Laser (*Inlite II, Continuum*, Santa Clara, CA, USA), der frequenzverdoppelt Energie mit einer Wellenlänge von  $\lambda = 532$  nm emittiert. Die Wellenlänge befindet sich in einem

ähnlichen Bereich, wie die intensivste Wellenlänge des Argon-Ionen-Lasers. In Abbildung 3.4 sind zwei MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektren von Disperse Red 1 (8) gezeigt, bei denen die unterschiedlichen Lasersysteme verwendet wurden. Es ist zu erkennen, dass beide Massenspektren die gleichen Fragmente zeigen. Die Intensitäten unterscheiden sich leicht, wobei die grundsätzliche Intensitätsverteilung der Fragmente ebenfalls gleich ist. Aufgrund dieser Tatsache wurden alle in dieser Arbeit gezeigten PD-Massenspektren mit Verwendung des Argon-Ionen-Lasers erzeugt.

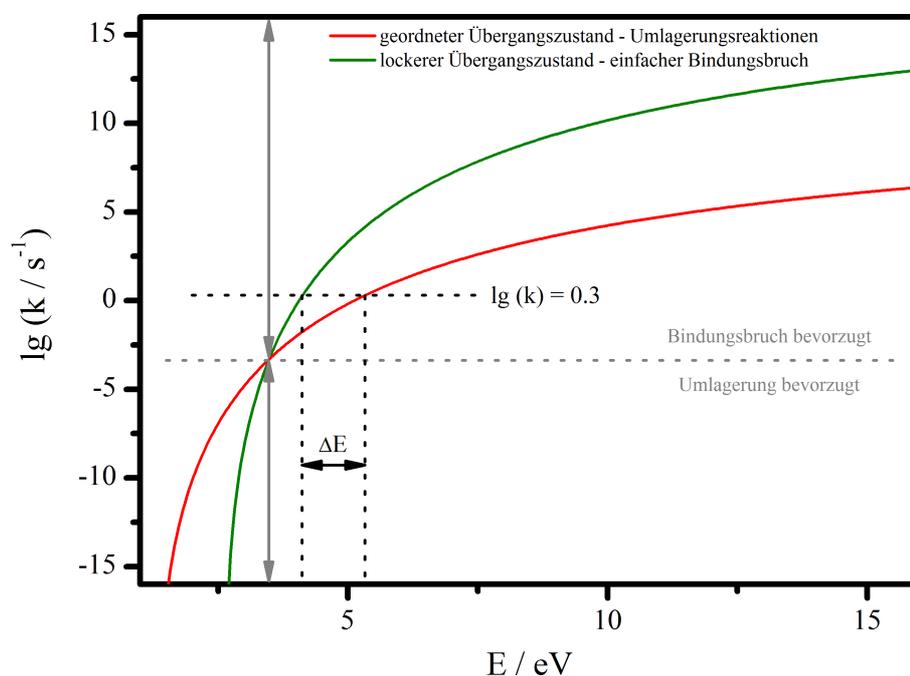
## 3.2. Energieberechnungen mittels Dichtefunktionaltheorie

Alle quantenchemischen Rechnungen dieser Arbeit werden mit dem Programm Gaussian 09 durchgeführt.[111] Dabei stellt die Dichtefunktionaltheorie die Methode dar, mit der ein guter Kompromiss zwischen Genauigkeit und aufzuwendender Rechenzeit erreicht werden kann. Als Funktional wird das häufig eingesetzte [112] B3LYP-Hybridfunktional mit dem Basissatz 6-311+g(2df,2pd) verwendet. Hierbei bedeutet die 6, dass die *inneren Schalen* durch eine Linearkombination aus sechs primitiven Gaußfunktionen dargestellt werden. Die Zahlenkombination 311 besagt, dass die *Valenzschale* durch eine zusammengezogene, eine mittlere und eine ausgedehnte Gaußfunktion beschrieben wird. Dabei ist die zusammengezogene Funktion eine Linearkombination aus drei primitiven Gaußfunktionen und die mittlere und ausgedehnte Funktion jeweils eine primitive Gaußfunktion, was als *triple-zeta*-Basis bezeichnet wird. Das + besagt die Verwendung von stärker ausgedehnten Funktionen. Das ist wichtig, wenn auch Anionen und van-der-Waals-Wechselwirkungen beachtet werden sollen. Alle verwendeten Funktionen sind Gaußfunktionen, das wird durch das G angezeigt. Die Zusätze 2df und 2pd stehen für Polarisationsfunktionen, die für die Beschreibung der d- und f-Atomorbitale verwendet werden.

Mit besagter Methode können die Energien der Produkte und Edukte mit den zugehörigen Frequenzen im Grundzustand berechnet werden. Die Übergangszustände werden mit der Methode *Quadratic Synchronous Transit* (QST3) [113] berechnet, wobei die Strukturen des Produkts und des Edukts vorgegeben werden und die Struktur des vermuteten Übergangszustands ebenfalls als Vorschlag zu Beginn der Berechnung angegeben wird. Durch parabolische Interpolation der angegebenen Geo-

metrien wird ein Sattelpunkt auf der Energiehyperfläche zwischen Edukt und Produkt gesucht. Die Verifizierung des erhaltenen Übergangszustandes geschieht zum einen durch das Auftreten einer negativen Frequenz entlang der Reaktionskoordinate in der Frequenzrechnung und zum anderen durch *Intrinsic Reaction Coordinate* (IRC)-Rechnungen.[114] Ausgehend vom Übergangszustand wird in beide Reaktionsrichtungen überprüft, ob die Energie des Systems abnimmt.

### 3.3. Berechnungen mittels RRKM-Theorie



**Abbildung 3.5.:** Schematische Darstellung des Verlaufs der energieabhängigen Ratenkonstanten für eine Umlagerungsreaktion (rot) und einen einfachen Bindungsbruch (grün). Der einfache Bindungsbruch ist in der Reaktionszeit des verwendeten Massenspektrometers bevorzugt ( $\log k = 0.3$ ).

Kinetische Berechnungen werden in dieser Arbeit mit dem Programm *MassKinetics* (V. 1.17) durchgeführt.[115] Die energieabhängige Ratenkonstante  $k(E_{int})$  einer Reaktion, in diesem Fall einer Fragmentierungsreaktion, kann mittels RRKM-Theorie

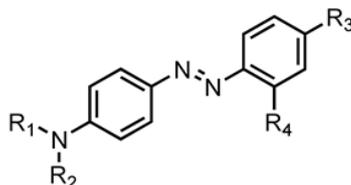
(siehe Abschnitt 2.2.2) berechnet werden. Nach der Gleichung

$$k(E_{int}) = \frac{\sigma^d W(E_{int} - E_0)}{hN(E_{int})} \quad (3.1)$$

müssen für die Berechnung drei Parameter bekannt sein. Das ist die Aktivierungsenergie der Reaktion  $E_0$ , die Summe der Zustände im Übergangszustand  $W(E_{int} - E_0)$  und die Zustandsdichte im Ausgangsmolekül  $N(E_{int})$ . Alle diese Parameter werden aus den quantenchemischen Rechnungen der entsprechenden Fragmentierungsreaktion erhalten. Die Aktivierungsenergie wird direkt aus der Auswertung des Reaktionskanals auf der Energiehyperfläche erhalten. Zustandssummen und Zustandsdichten können aus den Frequenzrechnungen von Edukt und Übergangszustand erhalten werden.

Die erhaltene *Kurve* gibt die Ratenkonstante der Reaktion in Abhängigkeit der inneren Energie des Systems an. Bereits der Verlauf der Ratenkonstante kann Aufschluss über die Gestalt des Übergangszustands geben, wie in Abbildung 3.5 gezeigt ist. Eine flach ansteigende Kurve deutet auf einen *geordneten* (engl.: *tight*) Übergangszustand hin. Das ist beispielsweise bei Umlagerungsreaktionen der Fall, bei denen bestimmte Freiheitsgrade im Übergangszustand gesperrt sind. Im Gegensatz dazu weist ein steiler Anstieg der Kurve auf einen *lockeren* (engl.: *loose*) Übergangszustand hin. Dies ist besonders bei einfachen Dissoziationsreaktionen wie radikalischen Bindungsspaltungen der Fall. Weiterhin werden Hinweise darauf erhalten, welche der untersuchten Reaktionen in der betrachteten Reaktionszeit am schnellsten abläuft und damit kinetisch bevorzugt ist. Für das FT-ICR-MS lag diese Zeit bei ca.  $t = 0.5$  s, was wiederum besagt, dass die Reaktion bei ca.  $\log k(E_{int}) = 0.3$  betrachtet wurde.

### 3.4. Untersuchte Substanzen



- |  |   |
|--|---|
| <b>1:</b> $R_1 = R_2 = \text{Et}$ , $R_3 = R_4 = \text{H}$                 | <b>5:</b> $R_1 = R_2 = \text{Et}$ , $R_3 = \text{H}$ , $R_4 = \text{COOH}$                |
| <b>2:</b> $R_1 = R_2 = \text{Me}$ , $R_3 = R_4 = \text{H}$                 | <b>6:</b> $R_1 = R_2 = \text{Me}$ , $R_3 = \text{H}$ , $R_4 = \text{COOH}$                |
| <b>3:</b> $R_1 = R_2 = \text{Et}$ , $R_3 = \text{COOH}$ , $R_4 = \text{H}$ | <b>7:</b> $R_1 = R_2 = \text{Pr}$ , $R_3 = \text{H}$ , $R_4 = \text{COOH}$                |
| <b>4:</b> $R_1 = R_2 = \text{Me}$ , $R_3 = \text{COOH}$ , $R_4 = \text{H}$ | <b>8:</b> $R_1 = \text{Et}$ , $R_2 = \text{EtO}$ , $R_3 = \text{NO}_2$ , $R_4 = \text{H}$ |

**Abbildung 3.6.:** Übersicht der untersuchten Substanzen, die insgesamt auf ein 4-Aminoazobenzol als Grundgerüst reduziert werden können.

Alle Verbindungen, die für diese Arbeit untersucht wurden, können auf ein 4-Aminoazobenzol als Grundgerüst reduziert werden. In Abbildung 3.6 ist das Grundgerüst mit den unterschiedlichen Substituenten gezeigt. Dabei ist besonders die Substitution des Amins für die durchgeführten massenspektrometrischen Untersuchungen von Bedeutung. Die Azofarbstoffe Ethylgelb (**1**), Methylgelb (**2**), p-Methylrot (**4**) und o-Ethylrot (**5**) wurden von *TCI Deutschland* (Eschborn, Deutschland) bezogen. Von *Sigma-Aldrich* (Schnellendorf, Deutschland) wurden die Azofarbstoffe o-Methylrot (**6**), o-Propylrot (**7**) und Disperse Red 1 (**8**) bezogen. Alle Verbindungen wurden ohne weitere Aufreinigung für die Untersuchungen verwendet. Für p-Ethylrot (**3**) konnte keine kommerzielle Quelle gefunden werden. Diese Verbindung wurde synthetisiert, was im folgenden Abschnitt 3.4.1 beschrieben ist.

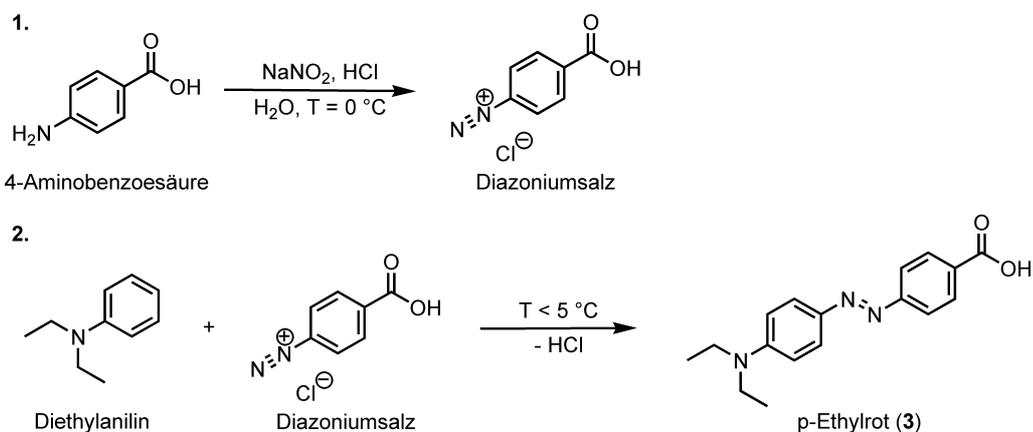
#### 3.4.1. Synthese von p-Ethylrot

Die Reaktionsgleichungen der Synthese von p-Ethylrot (**3**) sind in Schema 3.1 dargestellt. Bei der Durchführung wurde eine Standardmethode zur Synthese von Azofarbstoffen verwendet.[116]

Zu einer Suspension von 3.16 g 4-Aminobenzoesäure in 25.0 mL halbkonzentrierter Salzsäure in einem 250 mL-Dreihalskolben mit Rückflusskühler, Tropftrichter und Innenthermometer wurden 10 mL einer 2.5 M  $\text{NaNO}_2$ -Lösung unter Rühren im Eisbad so zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C stieg. Nach positivem Nachweis freier Salpetriger Säure durch Iod-Stärke-Papier wurde diese durch

### 3. Experimentelle Methoden

---



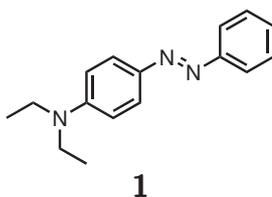
**Schema 3.1:** Synthese von p-Ethylrot (**3**) aus 4-Aminobenzoessäure und Diethylanilin.

wenig Amidosulfonsäure beseitigt. Die hergestellte Suspension wurde zu einer Lösung von 2.90 mL *N,N*-Diethylanilin in 23.0 mL 1 N Salzsäure unter Rühren und Kühlung zugegeben. Es wurde mit  $\text{NaCO}_3$  neutralisiert und mit  $\text{NaCl}$  ausgesalzen. Das erhaltene Produkt **3** wurde durch Umkristallisation gereinigt. Hochauflösende Massenspektrometrie zeigte, dass das gewünschte Produkt erhalten wurde ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ : exp.:  $m/z$  298.1551, theor.:  $m/z$  298.1550). Die Ausbeute betrug 4.71 g (69 %).

## 4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole

Dieses erste Ergebniskapitel beinhaltet die Auswertung zum Fragmentierungsverhalten der para-substituierten Azobenzole, die sich wiederum in zwei Gruppen unterteilen lassen. Als Erstes werden die Ergebnisse zu den beiden gelben Azofarbstoffen Ethylgelb (**1**) und Methylgelb (**2**) vorgestellt. Diese besitzen ein Azobenzolgrundgerüst mit einer *N,N*-Dialkylaminogruppe in para-Position. Als Alkylketten sind Ethyl- bzw. Methylgruppen vorhanden. Die zweite Gruppe umfasst die Ergebnisse der Untersuchungen zu den beiden Molekülen p-Ethylrot (**3**) und p-Methylrot (**4**). Strukturell sind diese aufgebaut wie das Ethyl- bzw. Methylgelb mit einer zusätzlichen Carboxyfunktion in 4'-Position.

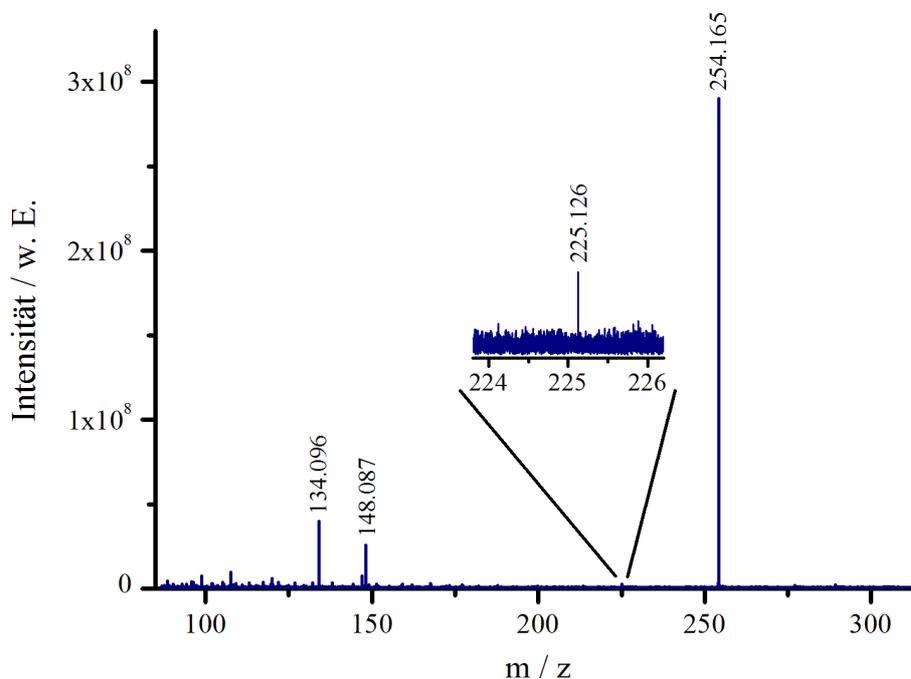
### 4.1. Dissoziationsreaktionen von Ethylgelb



Schema 4.1: Struktur von Ethylgelb (**1**).

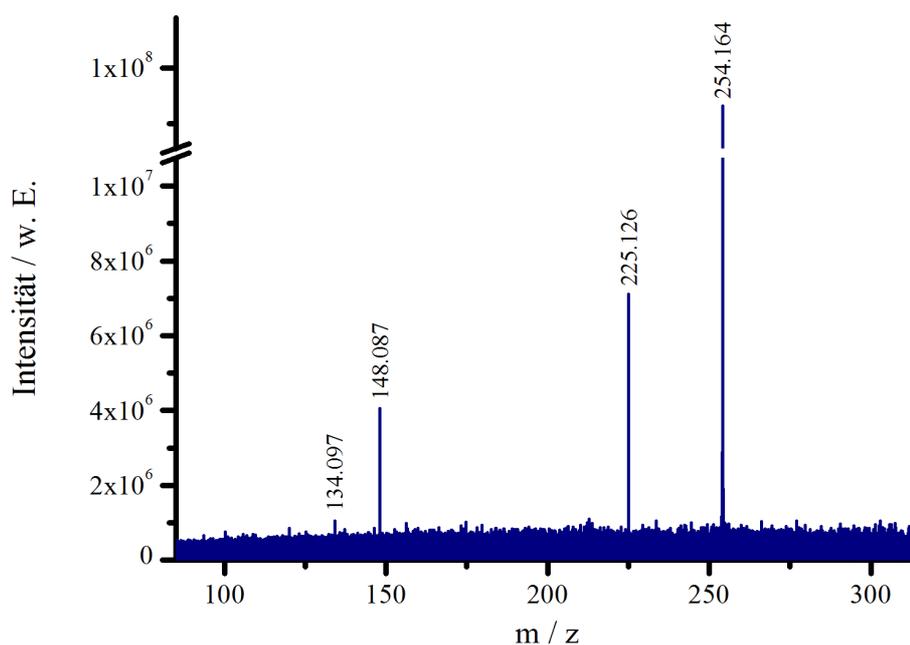
Die Struktur von Ethylgelb (**1**) ist in Schema 4.1 dargestellt. Nach IUPAC lautet der Name *N,N*-Diethyl-4-(phenylazo)-anilin. Ein weiterer Trivialname ist *Solvent yellow 56*. Für die massenspektrometrischen Untersuchungen ist die Kombination der Diethylaminogruppe mit einem einfachen aromatischen Grundsystem interessant. Störende Einflüsse weiterer funktioneller Gruppen sind bei diesem System nicht zu erwarten.

### 4.1.1. Fragmentierung von Ethylgelb



**Abbildung 4.1.:** MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von Ethylgelb (**1**) mit dem Argon-Ionen-Laser bei einer Leistung von  $P = 1.0 \text{ W}$ .

Abbildung 4.1 zeigt das PD-Massenspektrum von Ethylgelb (**1**) nach Anregung mit einem Argon-Ionen-Laser. Das Massenspektrum nach Stoßaktivierung des Vorläufers in der ICR-Zelle ist in Abbildung 4.2 dargestellt. Beide Spektren zeigen die gleichen Fragmente, die zusammen mit den entsprechenden Abspaltungen in Tabelle B.1 und Tabelle B.2 zusammengefasst sind. Die Intensitäten der Fragmente sind je nach Fragmentierungsmethode unterschiedlich. Der Verlust eines Ethylradikals (exp.: 29.039 Da, theor.: 29.039 Da), der zum Fragment bei  $m/z$  225 führt, ist nach SORI-CID-Anregung das intensivste Fragmentensignal. Das PD-Spektrum zeigt im Gegensatz dazu eine geringe Intensität dieses Fragments. Der umgekehrte Fall stellt sich bei Fragment  $m/z$  134 dar, das durch den kombinierten Verlust eines Methyl- und eines Azophenylradikals entsteht (exp.: 120.069 Da, theor.: 120.069 Da). Dieses Fragment ist im PD-Massenspektrum von (**1**) das intensivste Fragment und im SORI-CID-Massenspektrum mit geringer Intensität zu beobachten. Die Verluste eines Ethyl- und eines Phenylradikals (exp.: 106.077 Da, theor.: 106.078 Da) führen



**Abbildung 4.2.:** MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von Ethylgelb (**1**) nach SORI-CID-Anregung mit Argon als Stoßgas.

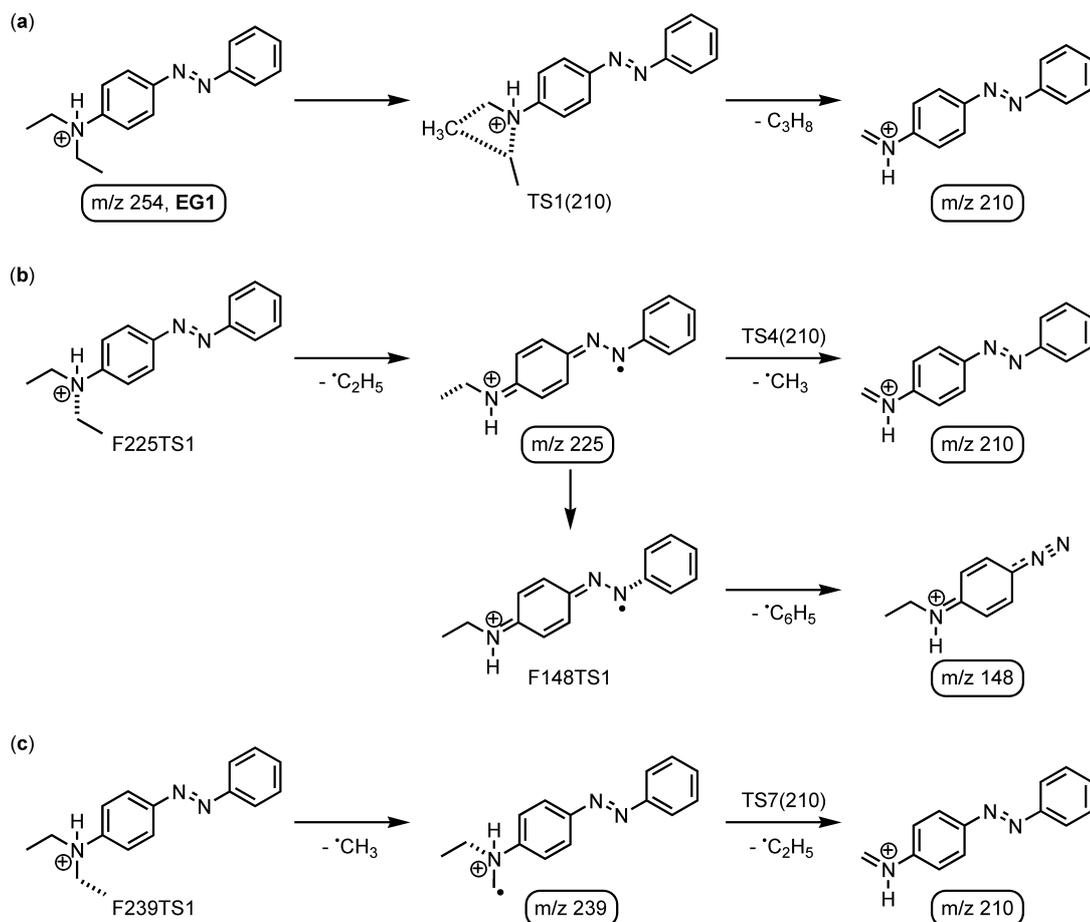
zu Fragment  $m/z$  148, das in beiden Spektren mit guter Intensität zu detektieren ist.

Des Weiteren wurde ein CID-Massenspektrum gemessen, wobei der Stoßprozess in einem Hexapol außerhalb der ICR-Zelle stattfand. Dieses ist in Abbildung C.1 im Anhang dargestellt und die beobachteten Signale in Tabelle B.3 zusammengefasst. Neben den schon zuvor beschriebenen Fragmenten tritt ein weiteres Signal mit geringer Intensität bei  $m/z$  238 auf. Dies ist dem Verlust von Methan (exp.: 16.031 Da, theor.: 16.031 Da) zuzuordnen. Auffällig ist, dass keines der Spektren einen Verlust von  $C_3H_8$  (44 Da) zeigt, der ein Signal bei  $m/z$  210 zur Folge hätte. Diese Abspaltung aus der Diethylaminogruppe führte bei anderen Verbindungen häufig zu sehr intensiven Fragmentensignalen in den Massenspektren sowohl nach Stoßanregung als auch nach Photodissoziation.

#### 4.1.2. Mechanistische Betrachtungen zu Ethylgelb

Zur mechanistischen Beschreibung der Fragmentierungsreaktionen von Ethylgelb (**1**) sind einige Faktoren zu beachten. Ein entscheidender Punkt ist der Ort im Molekül, an dem die Protonierung stattfindet. Die wahrscheinlichsten Positionen hierfür sind

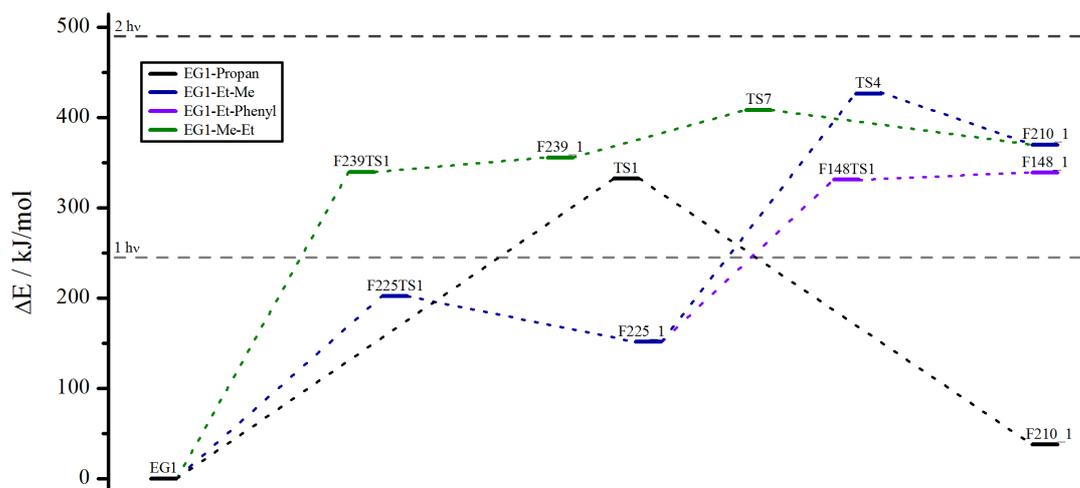
#### 4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole



**Schema 4.2:** Reaktionen von Ethylgelb (1) bei Protonierung am Anilinstickstoff.

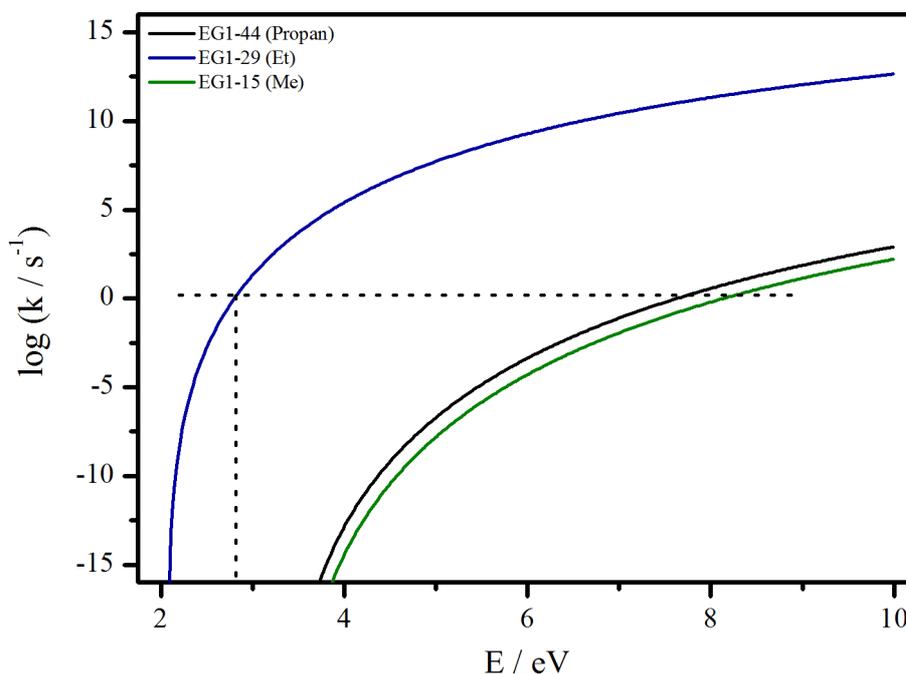
die Azogruppe bzw. der Anilinstickstoff der Diethylaminogruppe. Protonenaffinitäten ( $P_A$ ) deuten darauf hin, dass die Protonierung am Anilinstickstoff (ca.  $E_{PA} = 960$  kJ/mol) wahrscheinlicher ist als an der Azogruppe (ca.  $E_{PA} = 865$  kJ/mol).[117] Eine Koordination des Protons an einen der aromatischen Ringe ist bei einem Wert von  $E_{PA} < 800$  kJ/mol sehr unwahrscheinlich. Der Protonierungsort hat starken Einfluss auf die Energetik und die Kinetik der Fragmentierungsreaktionen, was im Folgenden für die unterschiedlichen Fälle beschrieben ist.

Abbildung 4.3 zeigt die berechneten Energien von Reaktionswegen mit diversen Zwischenprodukten und Übergangszuständen, die alle von Ethylgelb ausgehen, das am Anilinstickstoff protoniert wurde (EG1). Die zugehörigen Reaktionen sind in Schema 4.2 dargestellt. Mit der Annahme, dass das System in der Lage ist, zwei



**Abbildung 4.3.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit entsprechenden Produkten und Übergangszuständen ausgehend von Ethylgelb (1), das am Anilinstickstoff protoniert ist.

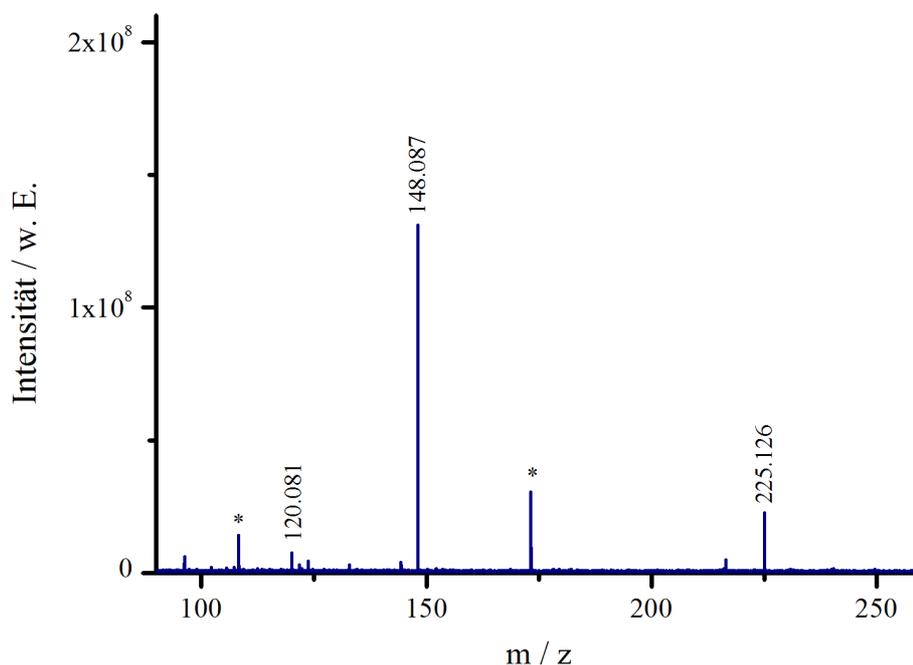
Photonen zu absorbieren, steht theoretisch für alle gezeigten Reaktionen ausreichend Energie zur Verfügung, um ablaufen zu können. Drei unterschiedliche Wege zum Abbau der Diethylaminogruppe mit einem Verlust von  $\text{C}_3\text{H}_8$  (44 Da) sind dargestellt. Schema 4.2a zeigt den konzertierten Verlust von Propan aus der Diethylaminogruppe über einen cyclischen Übergangszustand (TS1), was zum Produkt bei  $m/z$  210 (F210\_1) führt. Auf Grund der Tatsache, dass dieses Signal im Massenspektrum nicht auftritt, kann diese Reaktion ausgeschlossen werden. Die zwei weiteren Möglichkeiten sind konzertiert ablaufende Radikalreaktionen, die gegen die *even-electron-rule* verstoßen.[118] Die homolytische Bindungsspaltung zwischen dem Anilinstickstoff und dem Alkylkohlenstoff führt zum Fragment bei  $m/z$  225 (Schema 4.2b). Anschließend würde der Verlust eines Methylradikals zum Fragment  $m/z$  210 führen. Der erste Schritt kann in den Massenspektren beobachtet werden, jedoch nicht die Folgereaktion. Für die umgekehrt ablaufende Reaktion, erst der Verlust eines Methylradikals zum Fragment  $m/z$  239 und eine anschließende Ethylradikal Abspaltung (Schema 4.2c), gibt es keine Hinweise im Massenspektrum. Somit zeigt sich, dass nur der energetisch günstigste Prozess - die Abspaltung des Ethylradikals - auch experimentell zu beobachten ist. Für den Verlust eines Ethylradikals ist die Absorption der Energie eines Photons ausreichend (F225TS1). Kinetische Berechnungen bestätigen diese Tatsache. In Abbildung 4.4 ist zu erkennen, dass der Verlust



**Abbildung 4.4.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege des Abbaus der Diethylaminogruppe bei Protonierung von Ethylgelb (**1**) am Anilinstickstoff.

eines Ethylradikals ebenfalls kinetisch den bevorzugten Prozess darstellt, wenn das Ethylgelb (**1**) am Anilinstickstoff protoniert ist. Die beiden anderen Reaktionen sind langsamer und damit auch im Experiment nicht zu beobachten. Der Vergleich beider Folgereaktionen ausgehend vom Fragment bei  $m/z$  225 zeigt, warum kein Fragment bei  $m/z$  210 auftritt. Die anschließende Abspaltung eines Methylradikals ist energetisch ungünstiger als der Verlust eines Phenylradikals, der zu Fragment  $m/z$  148 führt (Abbildung 4.3). Die kinetischen Untersuchungen dieser beiden Folgereaktionen lassen dieselben Schlüsse zu (siehe Abbildung C.2 im Anhang). Der Verlust des Phenylradikals ist schneller als der des Methylradikals. Diese konzertiert ablaufende Reaktion lässt sich auch experimentell verifizieren. Das MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektrum des Fragments  $m/z$  225 ist in Abbildung 4.5 gezeigt. Es ist zu erkennen, dass das Fragment  $m/z$  148 mit großer Intensität aus dem isolierten Vorläufer entsteht. Für die Bildung des Fragments bei  $m/z$  134 in den MS<sup>2</sup>-Massenspektren kann für den Fall der Protonierung am Anilinstickstoff von **1** keine Erklärung gefunden werden.

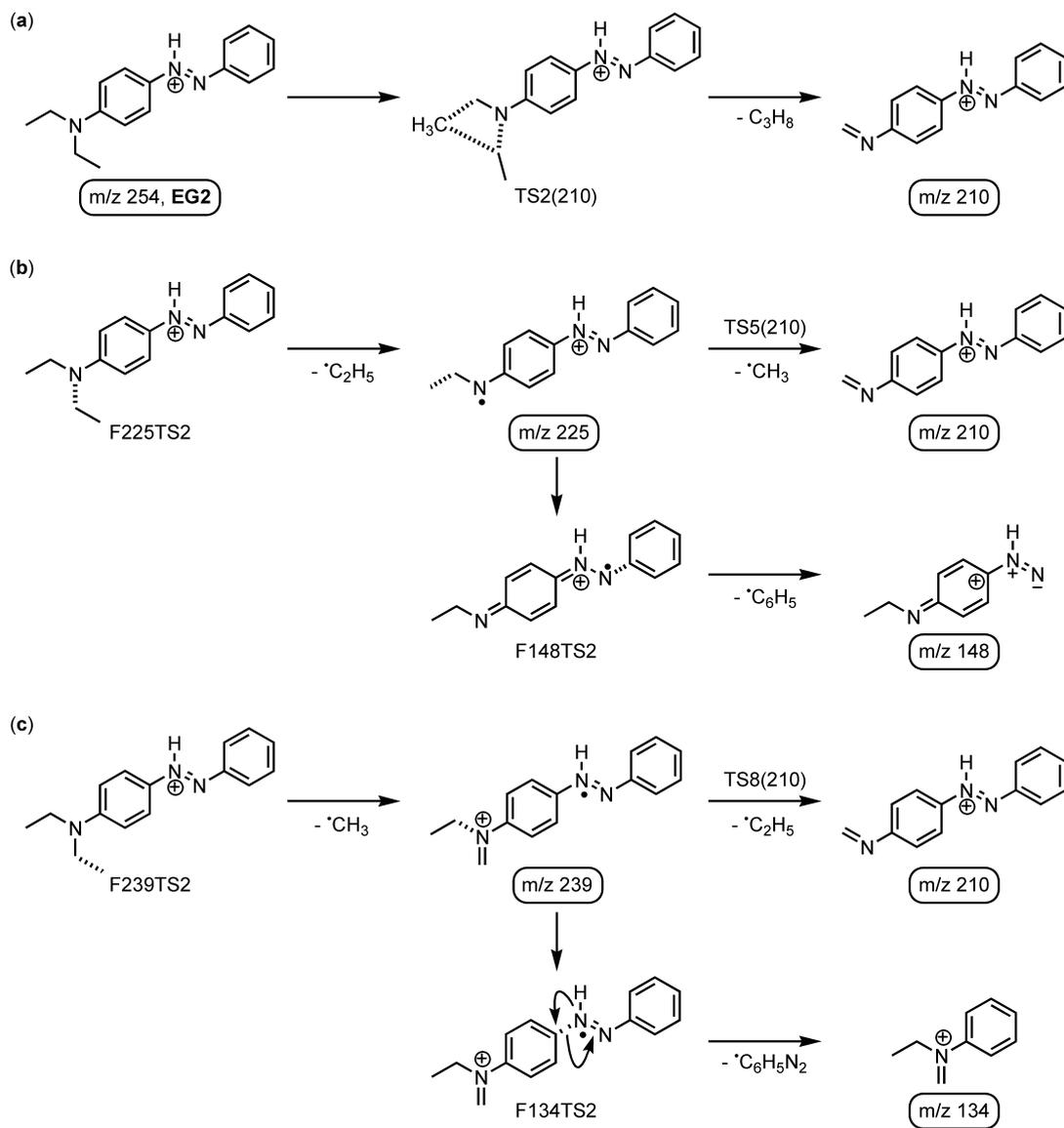
Ein anderes Bild ergibt sich bei der Protonierung von Ethylgelb (**1**) an der Azogruppe (**EG2**). Die Reaktionen für diesen Fall sind in Schema 4.3 gezeigt und Abbil-



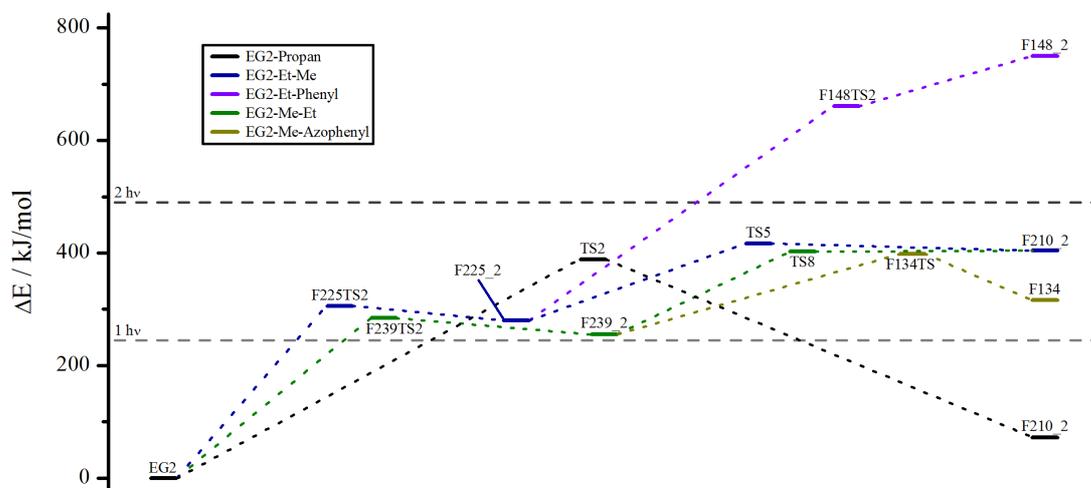
**Abbildung 4.5.:** MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektrum des Fragments bei  $m/z$  225, das der Abspaltung eines Ethylradikals aus dem protonierten Ethylgelb (**1**) entspricht.

Abbildung 4.6 stellt die dazugehörigen berechneten Energien dieser Reaktionen dar. Der Verlust von  $C_3H_8$  in einer konzertierten Fragmentierungsreaktion (siehe Schema 4.3a) ist auch in diesem Fall wieder energetisch ungünstig. Kinetische Berechnungen zeigen, dass diese Reaktion sehr langsam abläuft und damit keinen relevanten Prozess für die Fragmentierung von Ethylgelb (**1**) darstellen kann. Der wichtigste Unterschied zum vorherigen Protonierungsort ist, dass für den Verlust eines Ethylradikals mehr Energie aufgewandt werden muss. Für diesen Fall ist das Fragment bei  $m/z$  225 kein bevorzugtes Produkt, weil die Stabilisierung des entstandenen Radikals über das aromatische System nicht gegeben ist (siehe Schema 4.3b). Weitere Folgereaktionen sind damit sehr unwahrscheinlich. Der Verlust eines Phenylradikals ergibt ein instabiles Produkt bei  $m/z$  148, was nur durch großen Energieaufwand erreichbar ist. Eine energetisch im möglichen Bereich liegende Abspaltung eines Methylradikals zu  $m/z$  210 ist in den Spektren nicht nachweisbar. Der kinetische Vergleich dieser beiden Folgereaktionen zeigt, dass die Bildung des Fragments bei  $m/z$  210 bevorzugt wäre (siehe Abbildung C.3 im Anhang). Beide treten nicht auf, da bereits der erste Schritt kinetisch gehindert ist (siehe Abbildung 4.7).

#### 4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole

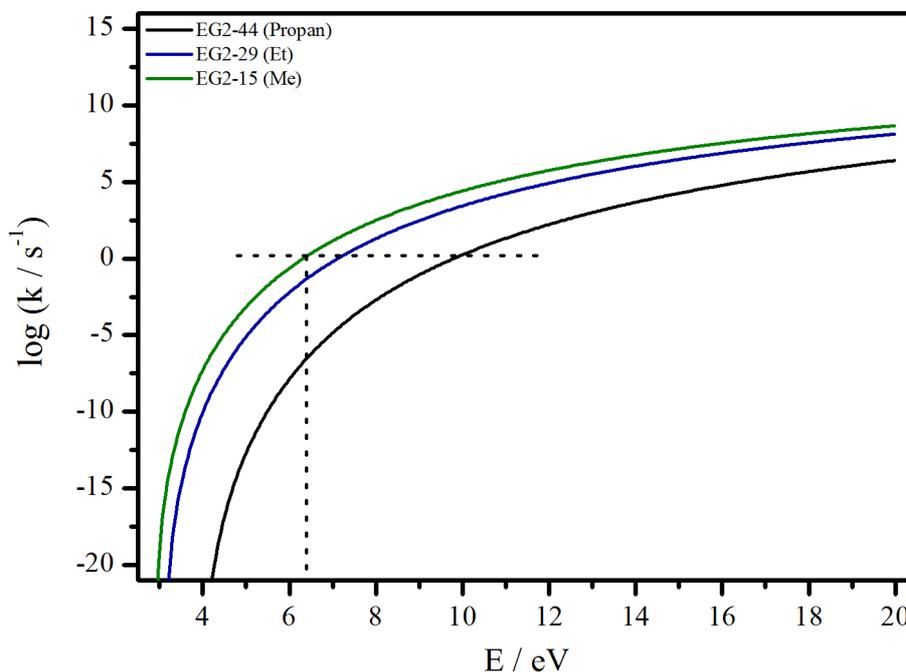


**Schema 4.3:** Reaktionen von Ethylgelb (1) bei Protonierung am Azostickstoff.



**Abbildung 4.6.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit entsprechenden Produkten und Übergangszuständen ausgehend von Ethylgelb (1), das am Azostickstoff protoniert ist.

Der Verlust eines Methylradikals aus Ethylgelb bei Protonierung der Azogruppe stellt jedoch sowohl energetisch (Abbildung 4.6) als auch kinetisch (Abbildung 4.7) den bevorzugten Reaktionsweg dar. Dennoch kann das Produkt bei  $m/z$  239 im Massenspektrum nicht beobachtet werden. Eine Erklärung kann eine sehr schnell ablaufende Folgereaktion sein, die eine Detektion von  $m/z$  239 auf der Zeitskala des verwendeten Massenspektrometers nicht zulässt. Für die Bildung, dieser für das Massenspektrometer *unsichtbaren* Zwischenstufe, spricht das Fragment bei  $m/z$  134, das nur durch kombinierte Verluste eines Methylradikals und eines Azophenylradikals zu erklären ist. Die Übertragung eines Wasserstoffs von der Azogruppe auf den Phenylring führt zum Verlust dieses Radikals (siehe Schema 4.3c) und der Bildung des Fragments  $m/z$  134. Mittels  $MS^3$ -Massenspektrometrie kann diese Reaktionsfolge nicht verifiziert werden, da kein Zwischenprodukt zu beobachten ist. Eine Stabilisierung des Systems durch den Verlust eines Ethylradikals mit der einhergehenden Bildung des Fragments  $m/z$  210 wäre ebenfalls vorstellbar. Diese Reaktion ist energetisch betrachtet ungünstiger. Die kinetischen Berechnungen zu diesen beiden Folgereaktionen (siehe Abbildung C.4 im Anhang) zeigen, dass beide ähnlich schnell ablaufen, wobei die Bildung von  $m/z$  210 leicht bevorzugt ist. Experimentell tritt dieses Fragment aber nicht auf. Diese Ergebnisse zeigen, dass das energetisch günstigere Produkt (F134), das durch den günstigeren Übergangszustand (F134TS)



**Abbildung 4.7.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege des Abbaus der Diethylaminogruppe bei Protonierung von Ethylgelb (**1**) am Azostickstoff.

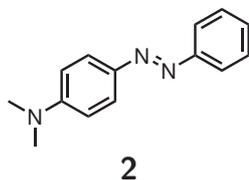
gebildet wird, im Massenspektrometer mit signifikanter Intensität zu beobachten ist, selbst wenn eine konkurrierende, energetisch ungünstigere Reaktion gleich schnell ablaufen sollte.

### 4.1.3. Zusammenfassung Ethylgelb

Die Abspaltung von  $C_3H_8$  aus Ethylgelb (**1**) kann nicht beobachtet werden. Das liegt zum einen daran, dass der konzertierte Fragmentierungsmechanismus energetisch und kinetisch gehemmt ist. Zum anderen folgen auf die ersten radikalischen Fragmentierungsprozesse der Diethylaminogruppe weitere radikalische Verluste des aromatischen Grundgerüsts. Diese sind jeweils energetisch und kinetisch weiteren Verlusten aus der Diethylaminogruppe bevorzugt. Auf Grund dieser Tatsache lassen sich keine Aussagen zum Verlust von  $C_3H_8$  aus der Diethylaminogruppe ableiten.

Dennoch wurden interessante Reaktionen beobachtet, die so zuvor nicht beschrieben wurden. Inwieweit diese einer gewissen Methodik folgen, soll zunächst mit der Untersuchung von Methylgelb im folgenden Abschnitt festgestellt werden.

## 4.2. Dissoziationsreaktionen von Methylgelb



**Schema 4.4:** Struktur von Methylgelb (**2**).

Schema 4.4 zeigt die Struktur von Methylgelb (**2**), das sich zum zuvor beschriebenen Ethylgelb (**1**) lediglich in der Länge der Alkylketten an der Aminofunktion unterscheidet. Der Verbindungsname nach IUPAC lautet *N,N*-Dimethyl-4-(phenylazo)anilin. Der alte Trivialname *Buttergelb* dieses Farbstoffs wirkt verharmlosend. Bis ins Jahr 1941 wurde Methylgelb der Butter zur Färbung beigemischt, bis es auf Grund des Verdachts krebserzeugend zu wirken verboten wurde.[119, 120] Massenspektrometrische wurde der Farbstoff mit unterschiedlichen Methoden untersucht.[121–127] Beschreibungen des Fragmentierungsmechanismus, speziell die Dimethylaminogruppe betreffend, gibt es nicht.

### 4.2.1. Fragmentierung von Methylgelb

Das PD-Massenspektrum von Methylgelb (**2**) ist in Abbildung 4.8 gezeigt und die den Fragmenten und Verlusten zugeordneten Summenformeln sind in Tabelle B.4 zusammengefasst. Zwei Fragmente sind zu erkennen. Bei  $m/z$  133 wird ein Fragmentation detektiert, das dem Verlust eines neutralen Moleküls von Anilin entspricht. Das zweite Fragment bei  $m/z$  120 ist einem positiv geladenen Dimethylanilin zuzuordnen. Kleinere Abspaltungen aus der Dimethylaminogruppe werden nicht detektiert.

Das SORI-CID-Massenspektrum ist in Abbildung 4.9 und das CID-Massenspektrum in Abbildung 4.10 gezeigt. In Tabelle B.5 und Tabelle B.6 sind die auftretenden Fragmente mit den entsprechenden Verlusten zusammengefasst. Hierbei ist ein deutlicher Unterschied feststellbar. Nach Anregung mit SORI-CID direkt in der ICR-Zelle ist mit sehr geringer Intensität ein Signal bei  $m/z$  211 erkennbar. Dies entspricht dem Verlust einer Methylgruppe (exp.: 15.021 Da, theor.: 15.023 Da). Stoßanregung im Hexapol führt zu mehr Fragmentationen, die aus **2** entstehen. Neben dem Methylverlust können zwei weitere Signale detektiert werden. Das ist zum

#### 4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole

---

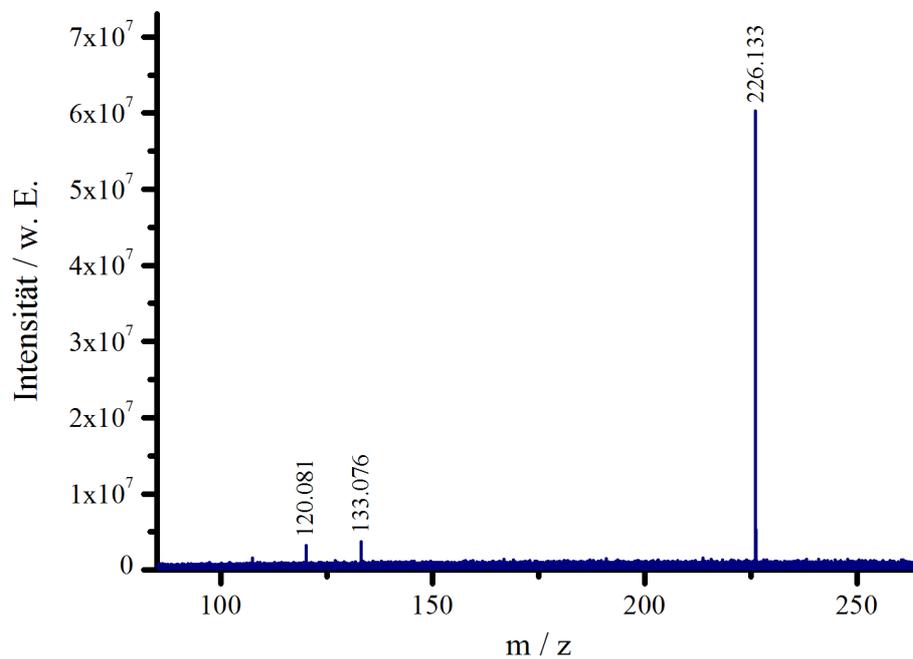


Abbildung 4.8.: MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von Methylgelb (2) mit dem Argon-Ionen-Laser bei einer Leistung von  $P = 1.0 \text{ W}$ .

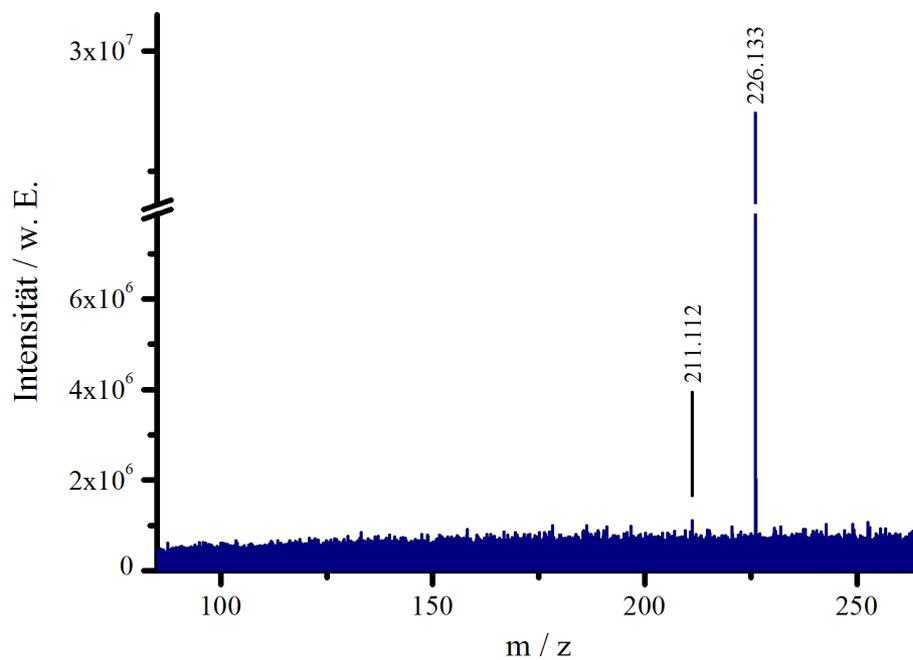
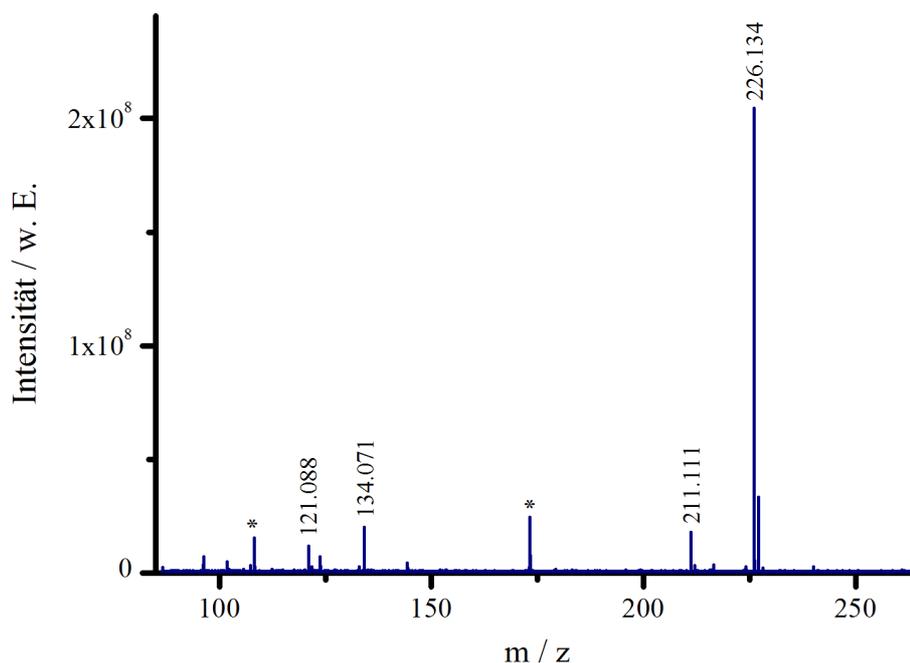


Abbildung 4.9.: MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von Methylgelb (2) nach SORI-CID-Anregung mit Argon als Stoßgas.

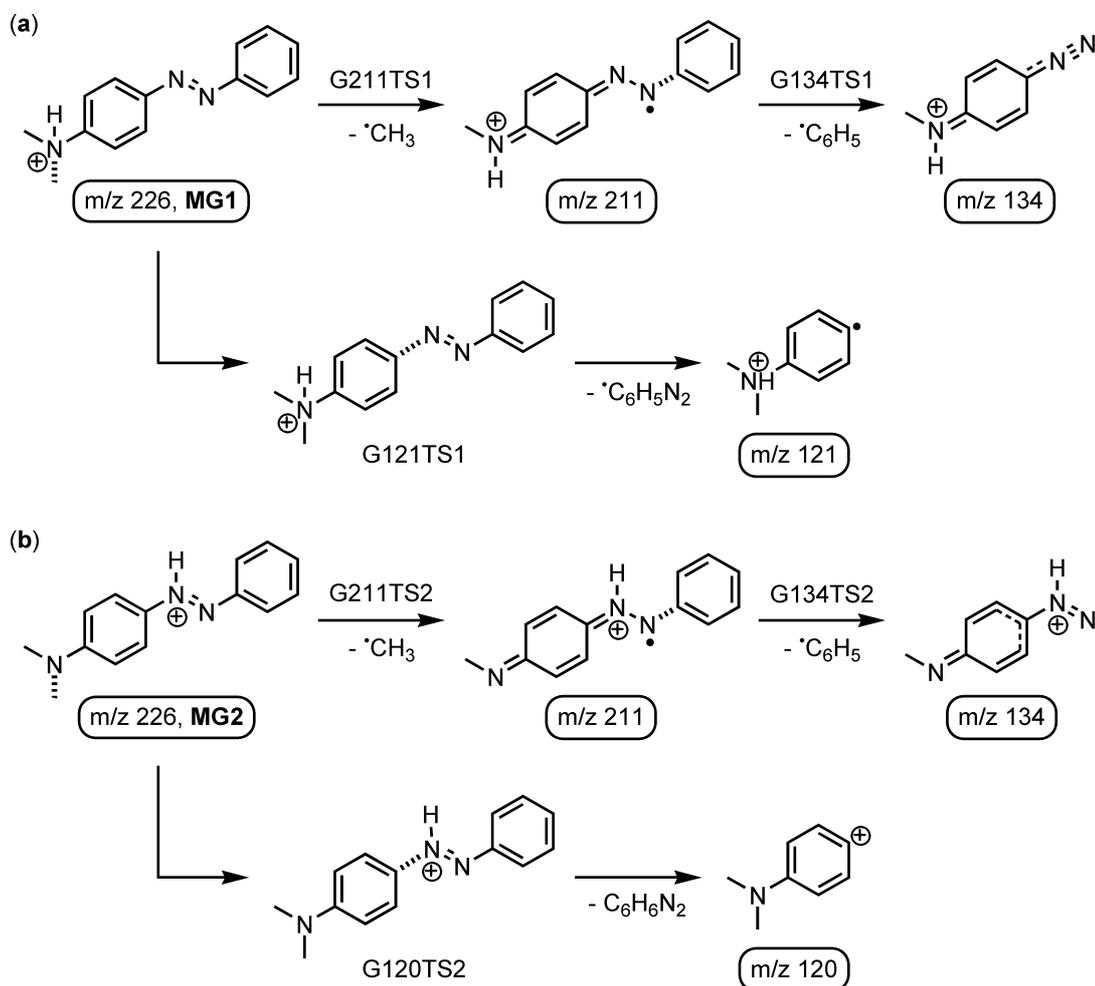


**Abbildung 4.10.:** MSMS-CID-Massenspektrum von Methylgelb (**2**) nach Stoßanregung in der Hexapol-Kollisionszelle mit Argon als Stoßgas.

einen ein Fragment bei  $m/z$  134, das dem konsekutiven Verlust eines Methylradikals und eines Phenylradikals entspricht (exp.: 92.062 Da, theor.: 92.063 Da). Zum anderen tritt ein Fragment bei  $m/z$  121 auf. Hierbei handelt es sich um ein Radikal-kation, das dem protonierten Dimethylanilin aus Methylgelb entspricht. Demnach wurde ein Azophenylradikal abgespalten (exp.: 105.046 Da, theor.: 105.045 Da).

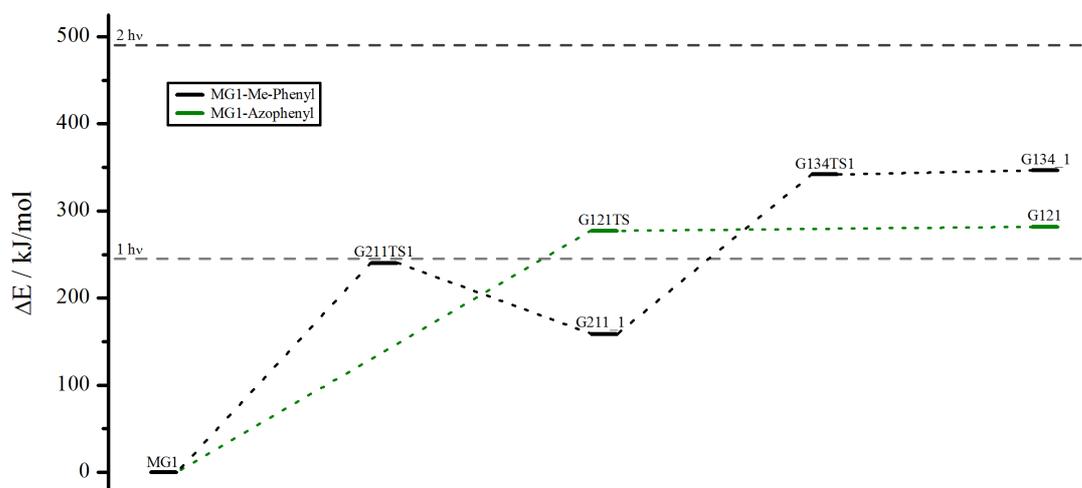
Auf Grund der deutlichen Unterschiede in den Massenspektren nach Anregung mit verschiedenen Methoden treten je nach Energieeintrag unterschiedliche Fragmente auf. Die Tatsache ist ein wesentlicher Punkt in den nachfolgenden Betrachtungen zum Fragmentierungsverhalten des protonierten Methylgelbs (**2**) in Abschnitt 4.2.2. Insbesondere der Vergleich mit dem zuvor diskutierten Ethylgelb (**1**) zeigt die Unterschiede auf. Dort zeigten die Massenspektren nach verschiedenen Fragmentierungsmethoden lediglich quantitative Differenzen bei qualitativ identischer Konstitution.

## 4.2.2. Mechanistische Betrachtungen zu Methylgelb



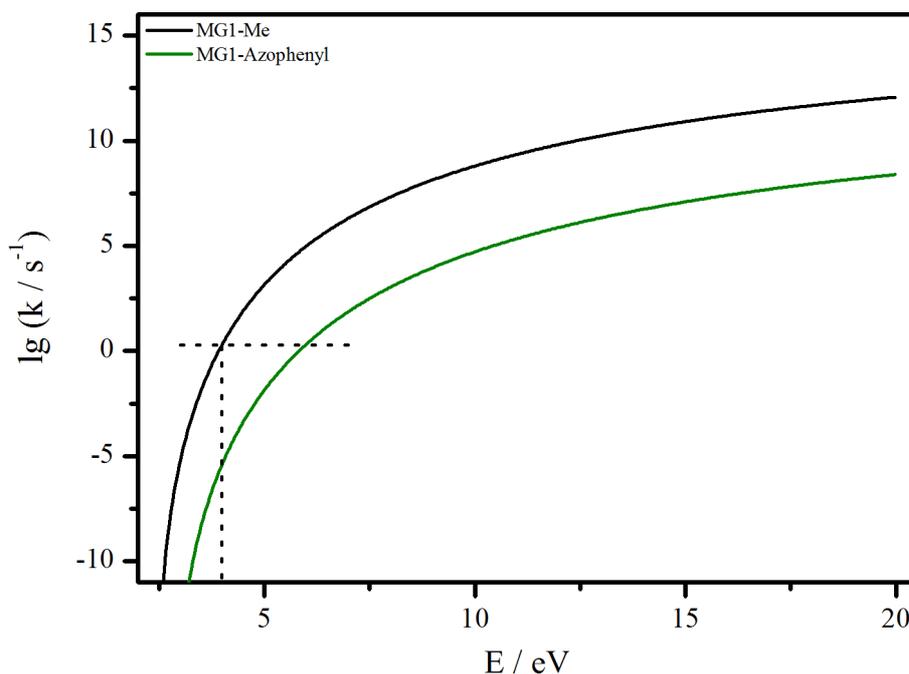
**Schema 4.5:** Reaktionen von Methylgelb (**2**) bei Protonierung am Anilinstickstoff (a) und bei Protonierung am Azostickstoff (b).

Ähnlich wie beim Ethylgelb (**1**) kann auch für das Methylgelb (**2**) die Annahme getroffen werden, dass mit dem Anilinstickstoff und der Azogruppe zwei Positionen für die Protonierung zur Verfügung stehen. Für den Fall der Protonierung am Anilinstickstoff sind mögliche Fragmentierungsreaktionen in Schema 4.5a gezeigt. Die berechneten Energien der Reaktionswege sind in Abbildung 4.11 und die dazugehörigen berechneten Ratenkonstanten in Abhängigkeit der inneren Energie in Abbildung 4.12 gezeigt. Die Möglichkeit des Verlusts einer Alkylkette der Dimethylaminogruppe besteht hier genauso wie bei **1** aus der Diethylaminogruppe. Durch homo-



**Abbildung 4.11.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit Produkten und Übergangszuständen ausgehend von Methylgelb (**2**), das am Anilinstickstoff protoniert ist.

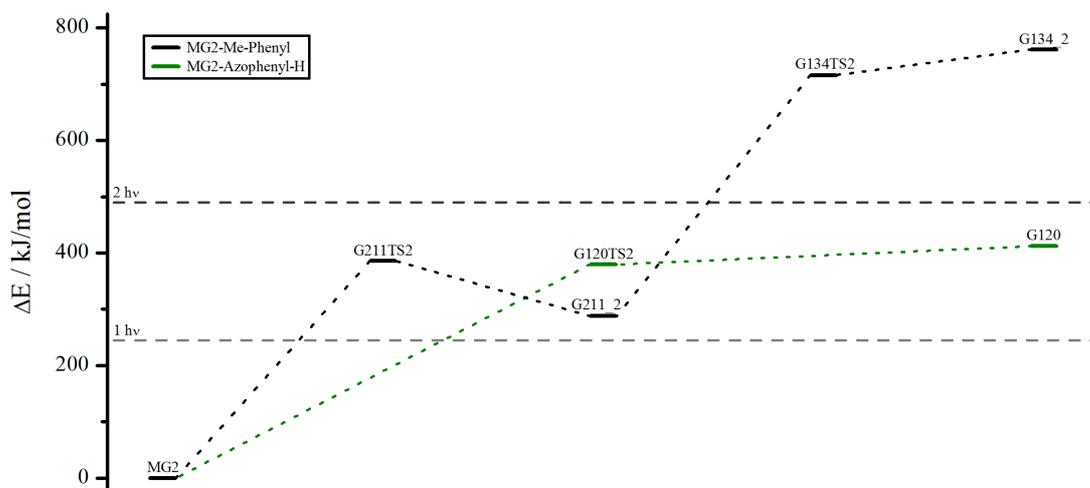
lytische Bindungsspaltung der Stickstoff-Kohlenstoff-Bindung im Anilinsystem wird ein Methylradikal abgespalten und ein stabiles Radikalkation entsteht bei  $m/z$  211 (G211\_1). Eine zeitlich begrenzte Lokalisierung des Radikals an der Azogruppe schwächt die Bindung zum Phenylring. Eine weitere homolytische Bindungsspaltung initiiert die Abspaltung des Phenylradikals und ein geradelektronisches Kation entsteht bei  $m/z$  134 (G134\_1). Diese Fragmentierungsreaktion von **2** ist analog zu einem Prozess der auch bei **1** auftrat und nach Ethylradikalverlust und Phenylradikalverlust ein stabiles Fragment bei  $m/z$  148 bildete (Zwischenstufe bei  $m/z$  225). Eine weitere Fragmentierungsreaktion von Methylgelb (**2**), das am Anilinstickstoff protoniert ist, führt zu dem radikalischen Fragment  $m/z$  121. Eine homolytische Bindungsspaltung zwischen Dimethylanilingruppe und Azogruppe bildet unter Abspaltung eines Azophenylradikals dieses Fragmention. Eine analoge Reaktion gibt es bei **1** nicht. Dort tritt der Verlust eines Azophenylradikals nur in Kombination mit einer Methylradikalabspaltung und bei anderer Protonierungsposition auf. Bei Protonierung der Azogruppe mit einer Übertragung des Protons auf die ipso-Position des Anilinsystems und anschließender Bindungsspaltung entsteht ein neutrales Molekül. Die Bildung des Fragments  $m/z$  121 ist auf diese Weise nicht möglich, was den zuvor beschriebenen Reaktionsweg unterstützt. Beide aufgezeigten Fragmentierungswege liegen im energetisch zugänglichen Bereich, wie in Abbildung 4.11 gezeigt ist. Die Ab-



**Abbildung 4.12.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege bei Protonierung von Methylgelb (**2**) am Anilinstickstoff.

spaltung des Methylradikals stellt den thermodynamisch favorisierten Prozess dar. Aus dem gebildeten Zwischenprodukt findet die Abspaltung des Phenylradikals im zweiten Schritt statt. Beide Reaktionen einzeln betrachtet zeigen ähnliche Aktivierungsenergien von 240 und 183 kJ/mol. Der Verlust des Azophenylradikals benötigt mit 277 kJ/mol nicht wesentlich mehr Energie. Kinetisch ist ebenfalls die Abspaltung des Methylradikals bevorzugt, wie Abbildung 4.12 zu entnehmen ist (schwarze Kurve). Im Zeitbereich der massenspektrometrischen Untersuchungen ist diese Reaktion schneller, verglichen mit dem Verlust des Azophenylradikals (grüne Kurve). Auf diese Weise lassen sich alle auftretenden Fragmente im CID-Massenspektrum (Abbildung 4.10) erklären, wobei die energetisch und kinetisch bevorzugten Fragmentierungswege mit einer höheren Intensität auftreten. Demgegenüber steht das PD-Massenspektrum (Abbildung 4.8), das keines dieser Fragmente zeigt.

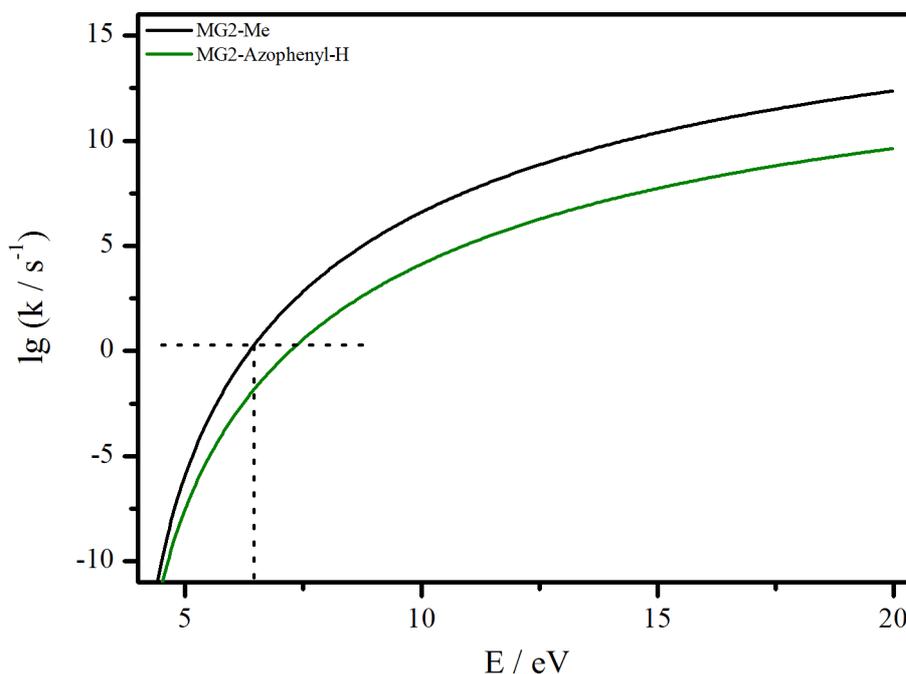
Zunächst soll hierzu der zweite Protonierungsort von **2** betrachtet werden. Schema 4.5b stellt mögliche Reaktionen bei einer Protonierung der Azogruppe dar. Der konsekutive Fragmentierungsmechanismus zur Bildung des Fragments bei  $m/z$  134 mit dem Methylradikalverlust als Zwischenstufe ist in diesem Fall energetisch un-



**Abbildung 4.13.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit Produkten und Übergangszuständen ausgehend von Methylgelb (**2**), das am Azostickstoff protoniert ist.

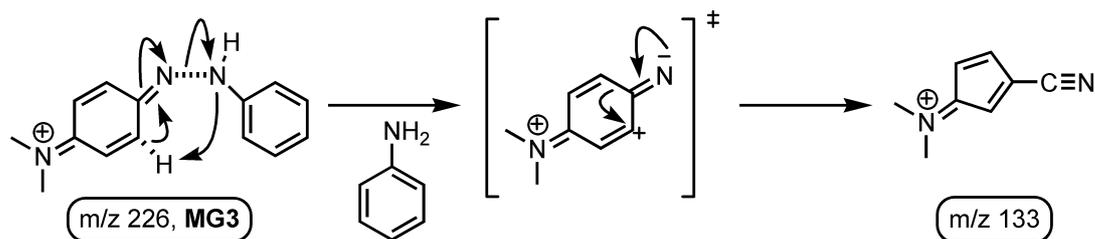
günstiger als beim zuvor beschriebenen Protonierungsort. Abbildung 4.13 zeigt die berechneten Energien und es fällt auf, dass vor allem die Phenylradikalabspaltung als zweiter Schritt sehr viel Energie benötigt, um abzulaufen. Diese Beobachtung ist analog zu dem Verhalten von Ethylgelb (**1**).

Das geradeelektronische Kation bei  $m/z$  120 im PD-Massenspektrum (siehe Abbildung 4.8) kann mit der Protonierung an der Azogruppe erklärt werden. ES entsteht durch heterolytische Bindungsspaltung der Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung zwischen Dimethylanilin und Azogruppe von **2**. Beide Bindungselektronen verbleiben am Stickstoff. Auf diese Weise entstehen ein neutrales Phenyl diazen und ein Dimethylanilin-Kation, das bei  $m/z$  120 detektiert wird. Für das Ablaufen dieser Fragmentierungsreaktion ist die Energie durch die Absorption von zwei Photonen ausreichend (Abbildung 4.13). Die kinetischen Untersuchungen (Abbildung 4.14) zeigen, dass beide beschriebenen Reaktionen zeitlich ähnlich schnell ablaufen, wobei die Abspaltung des Methylradikals bevorzugt ist. Nichtsdestotrotz findet die energetisch minimal günstigere Reaktion statt, was das Auftreten von  $m/z$  120 im PD-Massenspektrum zeigt. Weder  $m/z$  211 noch  $m/z$  134 sind dort detektierbar. Wiederum kann das Fragment  $m/z$  120 nicht im CID-Massenspektrum beobachtet werden.



**Abbildung 4.14.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege bei Protonierung von Methylgelb (**2**) am Azostickstoff.

Eine Erklärung für die Bildung des Fragments  $m/z$  133 im PD-Massenspektrum von Methylgelb (**2**) konnte bisher nicht gefunden werden. Ausgehend von einem protonierten Molekül entspricht dieses Fragment dem Verlust eines neutralen Anilinmoleküls. Durch einen simplen Bindungsbruch kann die Entstehung dieses Fragments nicht erklärt werden. Massenspektrometrische Untersuchungen zu **2** zeigten dieses Fragment bisher nicht und auch bei Ethylgelb tritt dieser Verlust nicht auf. Ein Hinweis kann in einer Arbeit zur Pyrolyse verschiedener Azoverbindungen gefunden werden.[121] Dort tritt Anilin als ein Pyrolyseprodukt von **2** auf. Ein gemeinsamer Nenner zwischen Pyrolyse und Photodissoziation kann in einem hohen Energieeintrag in das zu untersuchende System gefunden werden. Es ist beispielsweise möglich, dass das Methylgelb (**2**) in höhere elektronische Zustände angeregt wird. Aus diesen Zuständen können Umlagerungen stattfinden, die wiederum zu unerwarteten Fragmenten führen können. Im Falle von Azoverbindungen ist einer dieser Prozesse die Schaltung von der *trans*- in die *cis*-Stellung.[128] Ist ein Wasserstoffatom schon durch den Protonierungsprozess an der Azogruppe vorhanden, so wird durch den Übergang in die *cis*-Stellung auch ein weiteres Wasserstoffatom des Dimethylani-



**Schema 4.6:** Fragmentierungsreaktionen von Methylgelb (**2**) zur Bildung des Fragments bei  $m/z$  133.

linrings verfügbar. Durch eine intramolekulare nukleophile Reaktion wird ein Wasserstoffatom auf ein Stickstoffatom der Azogruppe übertragen, wie in Schema 4.6 dargestellt. Der anschließende heterolytische Bindungsbruch zwischen den beiden Stickstoffatomen der Azogruppe führt zur Abspaltung eines neutralen Anilinmoleküls. Das entstehende Kation besitzt neben der Ladung am Anilinstickstoff zwei weitere partielle Ladungszentren. Eine Umlagerungsreaktion zur Formierung eines Fünfrings aus dem destabilisierten Sechsring und der gleichzeitigen Bildung einer Nitrilgruppe ergibt ein stabiles Kation. Dieses entspricht einem  $m/z$  133, wie es im PD-Massenspektrum detektiert wird.

### 4.2.3. Zusammenfassung Methylgelb

Die untersuchten Fragmentierungsreaktionen von Methylgelb (**2**) zeigten, dass es einen analogen Mechanismus zur Fragmentierung von Ethylgelb (**1**) gibt. Hierzu zählen die konsekutiv ablaufenden Radikalreaktionen unter Verlust eines Alkylradikals vom Anilinstickstoff und dem nachfolgenden Verlust eines Phenylradikals. Bei einer Protonierung am Anilinstickstoff ist dieser Weg der vorherrschende Mechanismus.

Ein wichtiger Unterschied zu **1** ist, dass sich PD- und CID-Massenspektrum deutlich voneinander unterscheiden. Dies ist zum einen mit der Tatsache zu erklären, dass die analogen Reaktionen zu **1** in dem Fall von **2** nicht ablaufen können. Die benötigte Abspaltung eines Wasserstoffradikals aus einer Alkylgruppe ist sehr unwahrscheinlich, da viel Energie aufgewandt werden müsste. Somit entsteht kein Radikalkation als Zwischenstufe für weitere Fragmentierungsreaktionen. Die Entstehung des Fragments  $m/z$  120 durch einen nichtradikalischen, heterolytischen Mechanismus ist auf Grund dieser Tatsache zu erklären.

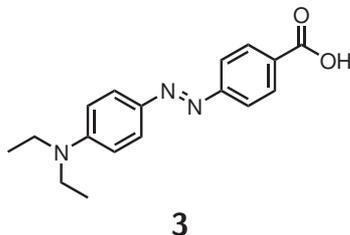
#### 4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole

---

Zudem wurde im PD-Massenspektrum ein Fragment bei  $m/z$  133 beobachtet, das nur durch starke Umlagerungsreaktionen des protonierten Methylgelbs (**2**) zu erklären ist. Eine analoge Reaktion konnte bei **1** nicht gefunden werden. Eventuell sind höhere energetische Zustände erreichbar, wodurch wiederum die cis-trans-Isomerisierung ablaufen kann und ein unerwarteter Fragmentierungsmechanismus zur Bildung des Fragments  $m/z$  133 möglich wird.

Die experimentellen zusammen mit den theoretischen Betrachtungen zu den beiden Azoverbindungen Ethylgelb (**1**) und Methylgelb (**2**) zeigen insgesamt, dass Abspaltungen von Radikalen aus der Dialkylaminogruppe häufig auftreten. Der Protonierungsort beeinflusst hierbei, welches Fragment bevorzugt gebildet wird. Weitere Folgereaktionen aus dieser Gruppe traten nicht auf. Auf Grund dessen war keine Aufstellung eines Mechanismus zur Abspaltung von  $C_3H_8$  aus **1** möglich. Das Einführen einer weiteren funktionellen Gruppe in das System beeinflusst die elektronische Struktur und kann zu einem stark veränderten Fragmentierungsverhalten führen. In den beiden nachfolgenden Abschnitten werden die Ergebnisse zu den Molekülen para-Ethylrot **3** und para-Methylrot **4** dargestellt. Diese sind strukturell wie **1** und **2** aufgebaut mit einer zusätzlichen Carboxygruppe in para'-Position.

### 4.3. Dissoziationsreaktionen von p-Ethylrot



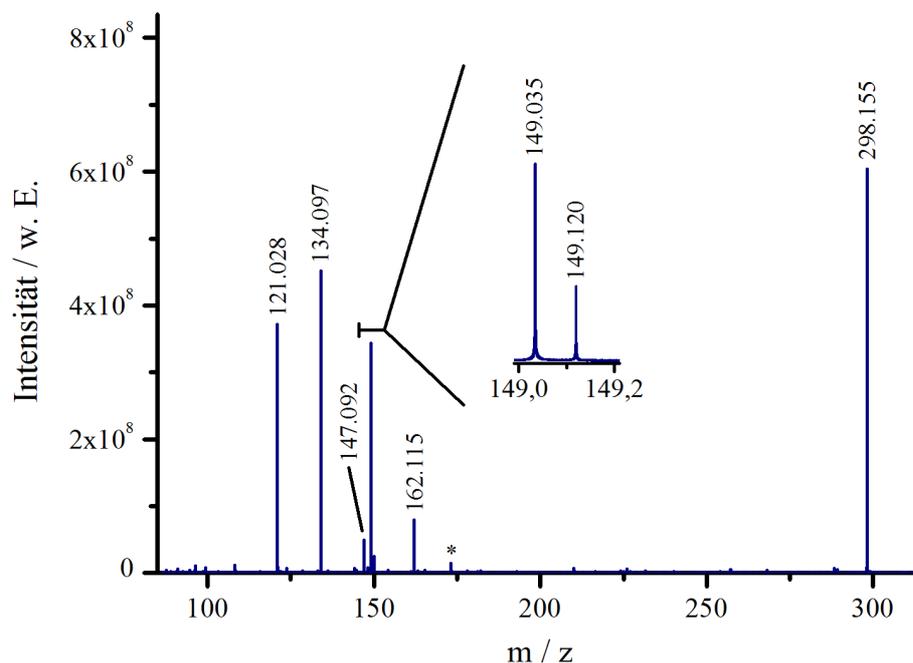
Schema 4.7: Struktur von p-Ethylrot (**3**).

In Schema 4.7 ist die Struktur von para-Ethylrot (**3**) zu sehen. Nach IUPAC ist der Name der Struktur 4-(4'-Diethylamino-phenylazo)-benzoesäure. Für diese Verbindung ist bislang keine massenspektrometrischen Untersuchung bekannt. Ziel der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen und theoretischen Berechnungen soll es sein, Hinweise auf die Fragmentierung der Diethylaminogruppe zu erhalten. Insbesondere der Einfluss der elektronenziehenden Carboxyfunktion soll in die Auswertung einbezogen werden.

#### 4.3.1. Fragmentierung von p-Ethylrot

Das MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von p-Ethylrot (**3**) ist in Abbildung 4.15 und das MS<sup>2</sup>-SORI-CID-Massenspektrum in Abbildung 4.16 gezeigt. Die auftretenden Fragmente aus diesen Spektren und die entsprechenden Verluste sind im Anhang in Tabelle B.7 und Tabelle B.8 zusammengefasst. Zusätzlich ist im Anhang in Abbildung C.5 das Massenspektrum nach Stoßaktivierung im Kollisionshexapol gezeigt, dessen Fragmente und Abspaltungen in Tabelle B.9 zusammengefasst sind.

Der Vergleich von PD- und SORI-CID-MS zeigt in diesem Fall wieder deutliche Unterschiede. Abspaltungen kleiner Massen können im PD-Massenspektrum keine beobachtet werden. Dagegen treten im unteren Bereich der m/z-Skala einige Fragmente auf, die durch Bindungsbrüche des Grundgerüsts entstehen. Homolytische Bindungsbrüche in der Mitte der Azogruppe bzw. zwischen Azogruppe und Diethylanilingruppe führen zu den Fragmenten bei m/z 162 und m/z 149a. Die Ladung verbleibt in beiden Fällen an der Diethylanilingruppe, die als Radikalkationen detektiert werden. Abgespalten werden als Radikale 4-Aminobenzoesäure (exp.:



**Abbildung 4.15.:** MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von p-Ethylrot (**3**) mit dem Argon-Ionen-Laser bei einer Leistung von  $P = 1.0$  W.

136.040 Da, theor.: 136.040 Da) bzw. 4-Diazenylbenzoesäure (exp.: 149.035 Da, theor.: 149.035 Da). Der neutrale Verlust von Diethylanilin (exp.: 149.120 Da, theor.: 149.121 Da) führt zum Fragment bei  $m/z$  149b. Bei diesem Fragment handelt es sich um ein 4-Diazenylbenzoesäurekation. Dieses kann nur durch Lokalisierung der Ladung auf der anderen Seite des Moleküls gebildet werden.

Des Weiteren gibt es Fragmente in diesem Massenbereich, die sowohl im PD- als auch im SORI-CID-Massenspektrum zu beobachten sind. Dazu zählt das Benzoesäurekation bei  $m/z$  121, das durch die Abspaltung von 4-Diazenyl-*N,N*-diethylanilin (exp.: 177.127 Da, theor.: 177.127 Da) entsteht. Zudem sind Fragmente bei  $m/z$  134 und bei  $m/z$  147 detektierbar, die durch den Verlust mehrerer Gruppen entstehen. Die kombinierte Abspaltung eines Methylradikals und eines 4-Diazenylbenzoesäureradikals (exp.: 164.058 Da, theor.: 164.059 Da) liefern das Fragment  $m/z$  134. Das Fragment  $m/z$  147 entsteht, wenn die Kombination von einem Methylradikal und ein 4-Aminobenzoessäureradikal (exp.: 151.063 Da, theor.: 151.063 Da) abgespalten wird.

Einzelne Verluste aus der Diethylaminogruppierung werden nur im SORI-CID-Massenspektrum beobachtet. Das Fragment  $m/z$  269 entsteht durch den Verlust

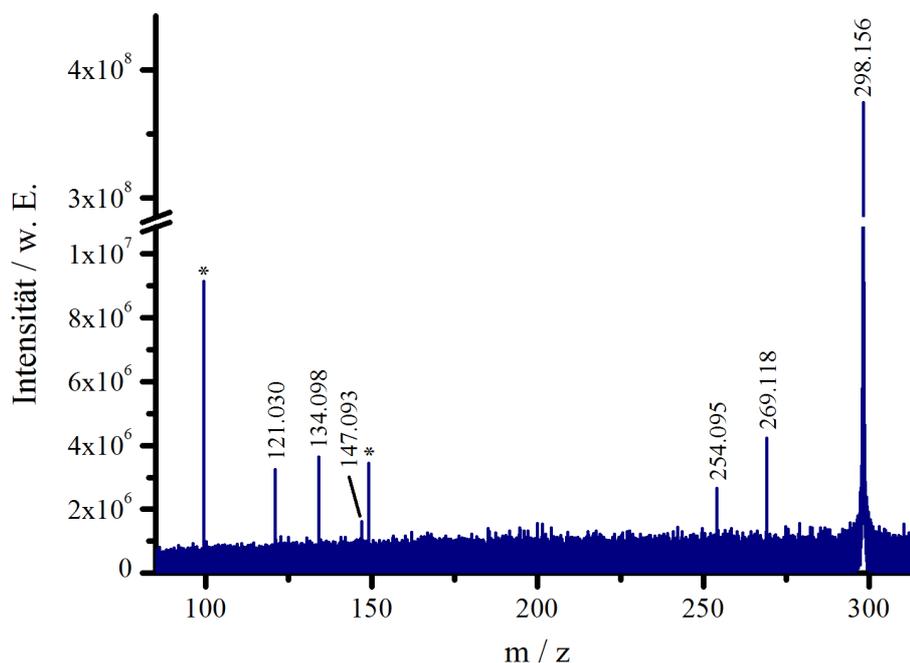


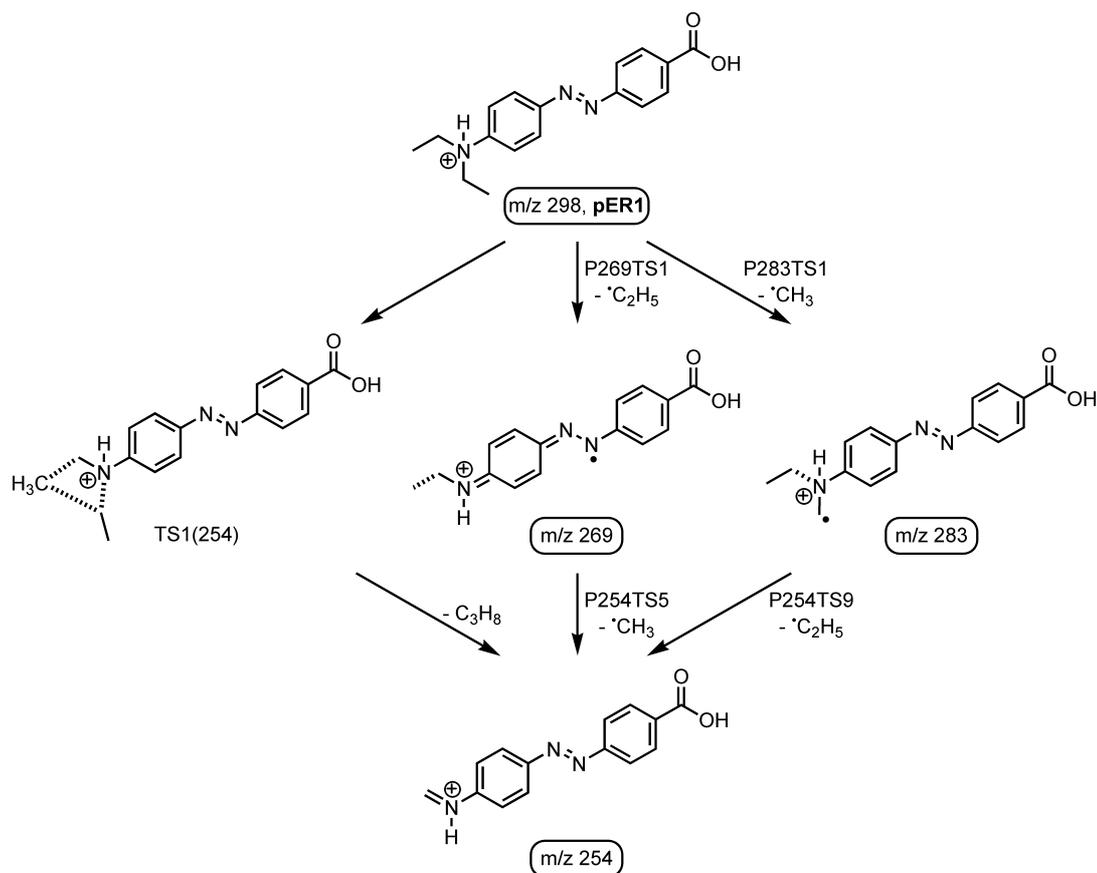
Abbildung 4.16.: MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von p-Ethylrot (**3**) nach SORI-CID-Anregung mit Argon als Stoßgas.

eines Ethylradikals (exp.: 29.038 Da, theor.: 29.039 Da). Neben diesem zeigt p-Ethylrot (**3**) auch den Verlust von C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> (exp.: 44.061 Da, theor.: 44.063 Da) aus der Diethylaminogruppe, der zu dem Fragment m/z 254 führt. Somit ergeben sich bei wenigen Gemeinsamkeiten auch viele Unterschiede im Vergleich des Fragmentierungsverhaltens von **3** und **1**. Welche Einflüsse dabei einen Beitrag leisten, wird im anschließenden Abschnitt erläutert.

### 4.3.2. Mechanistische Betrachtungen zu p-Ethylrot

Die zusätzliche Carboxyfunktion kann sich vielfältig auf das massenspektrometrische Verhalten der zu untersuchenden Azoverbindung auswirken. Neben indirekten Effekten, wie der Änderung der elektronischen Struktur des Systems durch den negativen mesomeren Effekt, kann diese Gruppierung auch direkten Einfluss auf die Massenspektren haben. Dieser direkte Einfluss würde durch das Auftreten von Fragmenten direkt aus der Carboxygruppe zum Tragen kommen. Charakteristisch für diese funktionelle Gruppe ist der Verlust von Wasser mit anschließendem Kohlenstoffmonoxid Verlust, wenn es sich wie hier um protonierte Moleküle handelt.[129] Solche Ab-

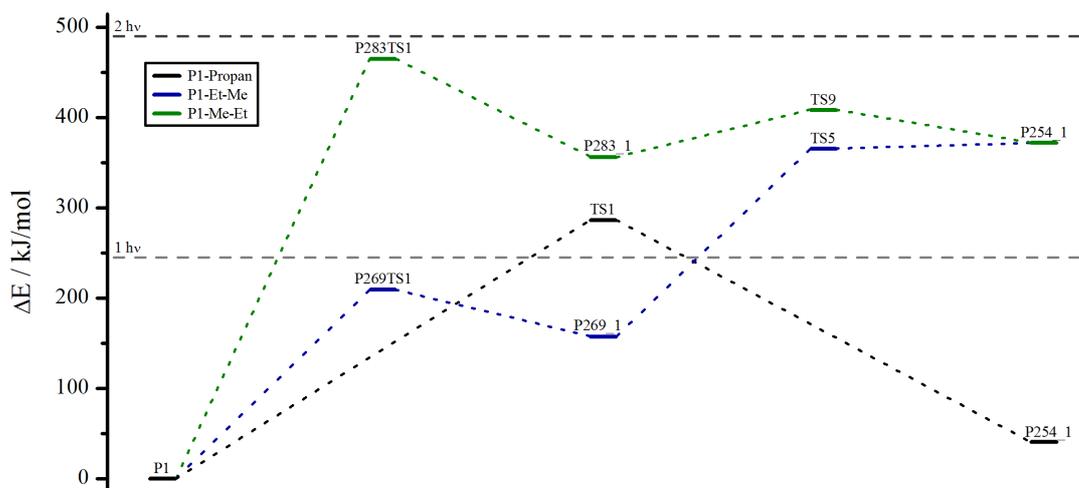
#### 4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole



**Schema 4.8:** Fragmentierungsreaktionen der Diethylaminogruppe von p-Ethylrot (**3**) bei Protonierung am Anilinstickstoff.

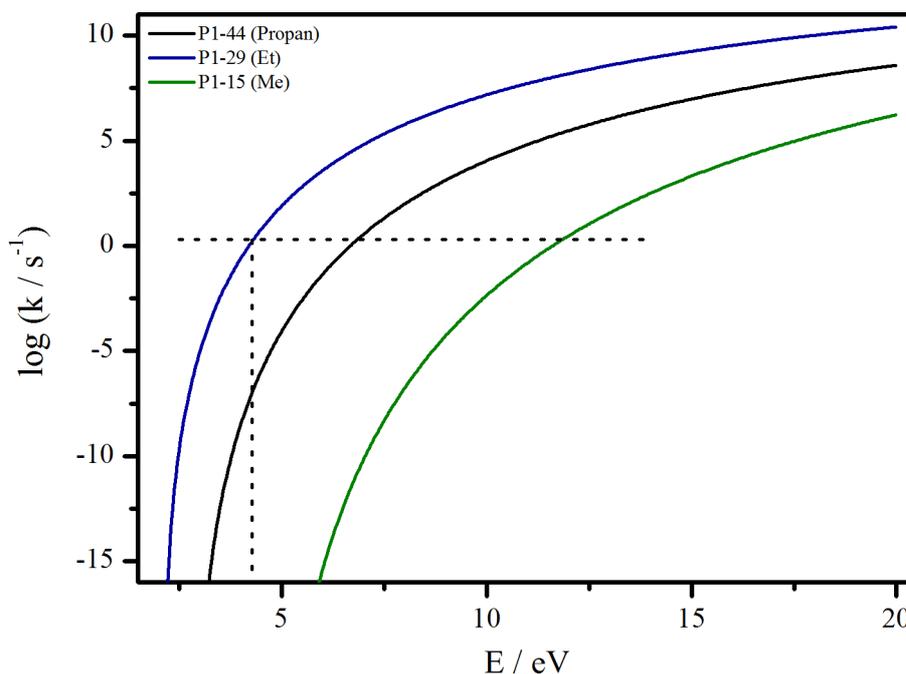
spaltungen werden jedoch nicht beobachtet. Ein Verlust von Kohlenstoffdioxid mit formal 44 Da ist keine charakteristische Abspaltung protonierter Carboxygruppen. Zusätzlich kann diese Abspaltung durch das hohe Massenaufklärungsvermögen ausgeschlossen werden und der gefundene Verlust von 44 Da eindeutig  $\text{C}_3\text{H}_8$  zugeordnet werden. Ebenfalls spricht die Protonenaffinität von ca. 821 kJ/mol, die deutlich kleiner als die der Azogruppe und der Diethylaminogruppe ist [117], gegen eine Protonierung an dieser Position. Dies zeigt, dass die Protonierung an dieser Stelle sehr unwahrscheinlich ist. Somit sind auch in diesem Fall vor allem der Anilinstickstoff und die Azogruppe als mögliche Protonierungsorte zu betrachten.

Reaktionen, die zum Abbau der Diethylaminogruppe führen, sind in Schema 4.8 für den Fall der Protonierung am Anilinstickstoff gezeigt. Hierbei handelt es sich um die gleichen Reaktionswege, die auch im Fall von Ethylgelb (**1**) diskutiert wurden.



**Abbildung 4.17.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit Produkten und Übergangszuständen ausgehend von *p*-Ethylrot (**3**), das am Anilinstickstoff protoniert ist.

Der konzertierte Fragmentierungsmechanismus läuft über einen cyclischen Übergangszustand (TS1) und spaltet  $C_3H_8$  in einem Schritt ab. Es wird das Fragment bei  $m/z$  254 gebildet. Eine Schwierigkeit bei der Verifizierung dieses Mechanismus besteht darin, dass das protonierte Molekül und der Übergangszustand die gleiche Masse besitzen, was sie im Massenspektrometer ununterscheidbar macht. Zudem ist die Detektion dieses Zustands mit dem verwendeten Massenspektrometer sehr unwahrscheinlich. Die berechneten Energien dieses Reaktionsweges inklusive des Übergangszustandes sind in Abbildung 4.17 dargestellt (schwarzer Reaktionspfad). Es ist erkennbar, dass ca. 300 kJ/mol nötig sind, damit diese Reaktion abläuft. Mit allen verwendeten Anregungsmethoden wird dieser Betrag an innerer Energie im zu untersuchenden System erreicht. Aus thermodynamischer Sicht sollte dieser Fragmentierungsmechanismus möglich sein. Ein anderes Bild ergibt sich, wenn die Kinetik dieses Prozesses betrachtet wird. Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Reaktionen zum Abbau der Diethylaminogruppe sind in Abbildung 4.18 gezeigt. Die schwarze Kurve für die konzertierte Fragmentierungsreaktion zur Abspaltung von Propan stellt nicht die schnellste Reaktion dar. Das System benötigt mehr innere Energie als die konkurrierende Ethylradikalabspaltung, die damit bevorzugt ablaufen sollte.



**Abbildung 4.18.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege bei Protonierung von p-Ethylrot (**3**) am Anilinstickstoff.

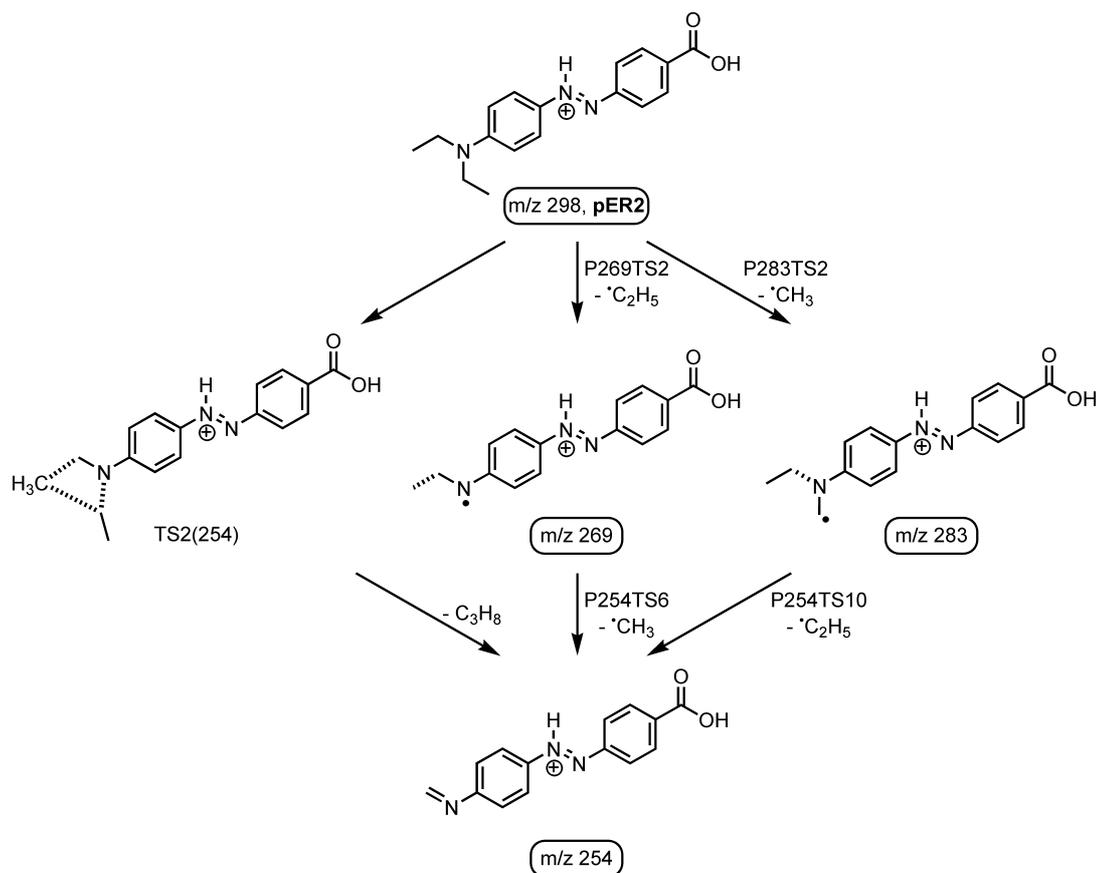
Es gibt zwei Möglichkeiten, in zwei konsekutiv ablaufenden Radiakreaktionen insgesamt  $C_3H_8$  aus der Diethylaminogruppe abzuspalten. Hierfür muss ein Ethyl- und ein Methylradikal verloren werden. Die erste dieser beiden Möglichkeiten ist die homolytische Bindungsspaltung der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung in einer der beiden Ethylketten. Das *hypothetische* Fragment würde bei  $m/z$  283 entstehen, das jedoch in keinem Massenspektrum detektiert wurde. Die berechneten Energien in Abbildung 4.17 (grüner Reaktionspfad) zeigen, dass der Methylradikalverlust aus **3** bei Protonierung am Anilinstickstoff mit ca. 460 kJ/mol energetisch aufwändig aber im zugänglichen Bereich liegt. Ein Grund für den hohen Energiebedarf dieser Reaktion stellt das entstehende Radikalkation dar. Dieses ist durch den benachbarten quartären Stickstoff nicht über das aromatische System delokalisiert. Ebenfalls gegen diese Reaktion sprechen die berechneten Ratenkonstanten (grüne Kurve in Abbildung 4.18). Die Methylradikalabspaltung ist der kinetisch ungünstigste Prozess verglichen mit den beiden anderen Möglichkeiten. Als Folgereaktion würde eine Ethylradikalabspaltung wieder ein stabiles durchgehend konjugiertes Fragment bei  $m/z$  254 ergeben. Aufgrund der Tatsache, dass dieser Fragmentierungsweg energie-

tisch und kinetisch den ungünstigsten Weg zum Verlust von  $C_3H_8$  darstellt und die Zwischenstufe bei  $m/z$  283 nicht beobachtet wird, kann diese Reaktion ausgeschlossen werden. Dennoch treten bei den später diskutierten Fragmenten, die durch Bindungsbrüche im Grundgerüst entstehen, Beispiele auf, die durchaus die Abspaltung eines Methylradikals aus der Diethylaminogruppe bedingen.

Die zweite Möglichkeit der konsekutiven Radikalreaktionen ist der umgekehrte Fall, zuerst wird ein Ethylradikal und darauffolgend ein Methylradikal verloren. In den  $MS^2$ -Massenspektren ist das Fragment bei  $m/z$  269, das durch homolytische Bindungsspaltung der Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung in der Diethylaminogruppe entsteht, zu sehen. Das bestätigt, dass der Abbau der Diethylaminogruppe über Radikalreaktionen stattfindet, obwohl diese die *even-electron-rule* verletzen.[118] Durch den Verlust des Ethylradikals entsteht ein stabiles Fragment, bei dem das entstandene Radikal durch das konjugierte System stabilisiert ist, wie in Schema 4.8 dargestellt. Die berechneten Energien dieser Reaktion bestätigen diese Stabilität. Der blaue Reaktionspfad in Abbildung 4.17 zeigt, dass zur Abspaltung von  $\cdot C_2H_5$  die Energie eines absorbierten Photons ausreichend ist. Energetisch handelt es sich um den günstigsten der drei konkurrierenden Reaktionen. In der Folge bildet sich durch die Abspaltung eines Methylradikals wieder ein geradzahliges Elektronensystem bei  $m/z$  254. Diese Reaktion läuft ohne erkennbare Aktivierungsbarriere ab. Insgesamt zeigt sich, dass diese Reaktionsfolge auch kinetisch den bevorzugten Prozess darstellt, wie in Abbildung 4.18 zu erkennen ist (blaue Kurve). Eine weitere Folgereaktion, vergleichbar mit der Phenylradikalabspaltung bei Ethylgelb (**1**) ist in den Spektren nicht zu beobachten. Insgesamt ist die konsekutiv ablaufende Fragmentierungsreaktion zur Abspaltung von  $C_3H_8$  mit der Reihenfolge Ethylradikalverlust vor dem Methylradikalverlust bei einer Protonierung am Anilinstickstoff sowohl energetisch als auch kinetisch der bevorzugte Weg.

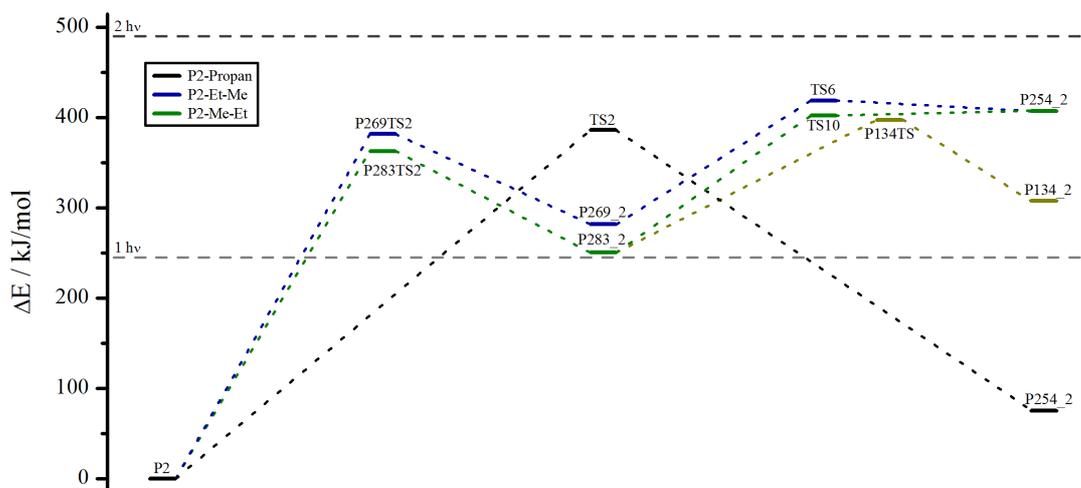
Diese drei Fragmentierungsmöglichkeiten für die Diethylaminogruppe von *p*-Ethylrot (**3**) können auf die gleiche Weise für eine Protonierung des Moleküls an der Azogruppe betrachtet werden. In Schema 4.9 sind diese Reaktionswege dargestellt. Obwohl die Reaktionen grundsätzlich ähnlich sind, ergeben sich abhängig vom Protonierungsort teilweise erhebliche Unterschiede im thermodynamischen als auch im kinetischen Verhalten. Die berechneten Energien der einzelnen Reaktionswege sind in Abbildung 4.19 dargestellt. Grundsätzlich befinden sich alle Reaktionen im energetisch zugänglichen Bereich. Die Abspaltung von  $C_3H_8$  in einer konzertierten Re-

#### 4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole



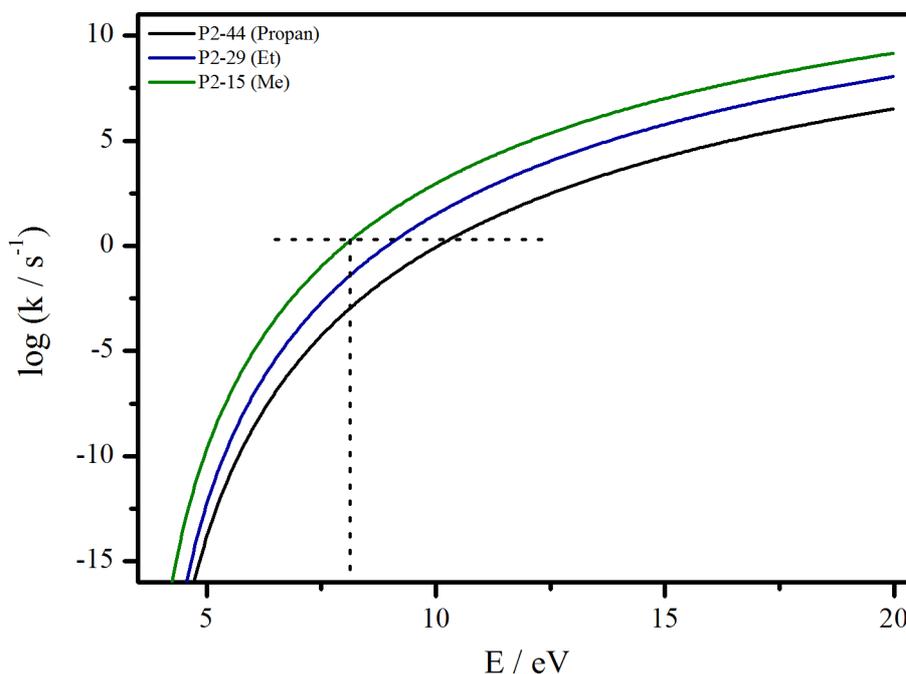
**Schema 4.9:** Fragmentierungsreaktionen der Diethylaminogruppe von p-Ethylrot (**3**) bei Protonierung am Azostickstoff.

aktion über einen cyclischen Übergangszustand (TS2) ist um einen Betrag von ca. 100 kJ/mol aufwändiger, wenn die Protonierung nicht am Anilinstickstoff stattfindet. Der Grund hierfür ist, dass der Übergangszustand sterisch anspruchsvoller ist. Die Protonierung der Azogruppe führt dazu, dass der Anilinstickstoff Teil des aromatischen Systems ist. Durch den elektronenziehenden Effekt auf die Bindung zwischen Ethylgruppe und Anilinstickstoff wird eine Spaltung dieser Bindung erschwert. Konsistent bei beiden Orten der Protonierung ist, dass die konzertierten Reaktionen kinetisch gehemmt sind. Abbildung 4.20 zeigt die berechneten Ratenkonstanten für diesen Fall. Die schwarze Kurve, die konzertierte Propanabspaltung, stellt die ungünstigste Fragmentierungsreaktion dar. Beide Faktoren zeigen damit, dass dieser Weg sehr unwahrscheinlich ist.



**Abbildung 4.19.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit Produkten und Übergangszuständen ausgehend von p-Ethylrot (**3**), das am Azostickstoff protoniert ist.

Die Schlussfolgerung aus der fehlenden Bevorzugung der konzertierten Reaktionen ist, dass wiederum Radikalreaktionen zum Abbau der Diethylaminogruppe führen. Verglichen mit dem zuvor diskutierten Protonierungsort am Anilinstickstoff ergibt sich für die Protonierung an der Azogruppe eine veränderte Energetik. Abbildung 4.19 zeigt die berechneten Energien der beiden möglichen Radikalabspaltungen mit den entsprechenden Übergangszuständen. Dabei ist zu erkennen, dass der Ethylradikalverlust (blauer Reaktionspfad) nicht der thermodynamisch bevorzugte Prozess ist. Im Fall der Protonierung an der Azogruppe ist dies der Methylradikalverlust (grüner Reaktionspfad). Die Erklärung für diese umgekehrte Energetik liefern die entstehenden Radikale an der Diethylaminogruppe. Homolytischer Bindungsbruch der Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung in der funktionellen Gruppe resultiert in einem Radikalkation ( $m/z$  269), das nicht gut stabilisiert wird. Es muss für die Bildung dieses Produkts demnach mehr Energie aufgewandt werden. Eine homolytische Bindungsspaltung der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung in einer der beiden Ethylketten der funktionellen Gruppe führt zu einem stabileren Radikalkation ( $m/z$  283). Hierbei ist eine Delokalisierung des gebildeten Radikals durch das aromatische System möglich. Dennoch ist keine Methylradikalabspaltung aus dem protonierten Molekül in den Massenspektren zu erkennen. Hinweise auf diesen Verlust von 15 Da gibt es in den Fragmenten, die durch Abspaltungen aus dem Grundgerüst resultieren. Die-



**Abbildung 4.20.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege bei Protonierung von p-Ethylrot (**3**) am Azostickstoff.

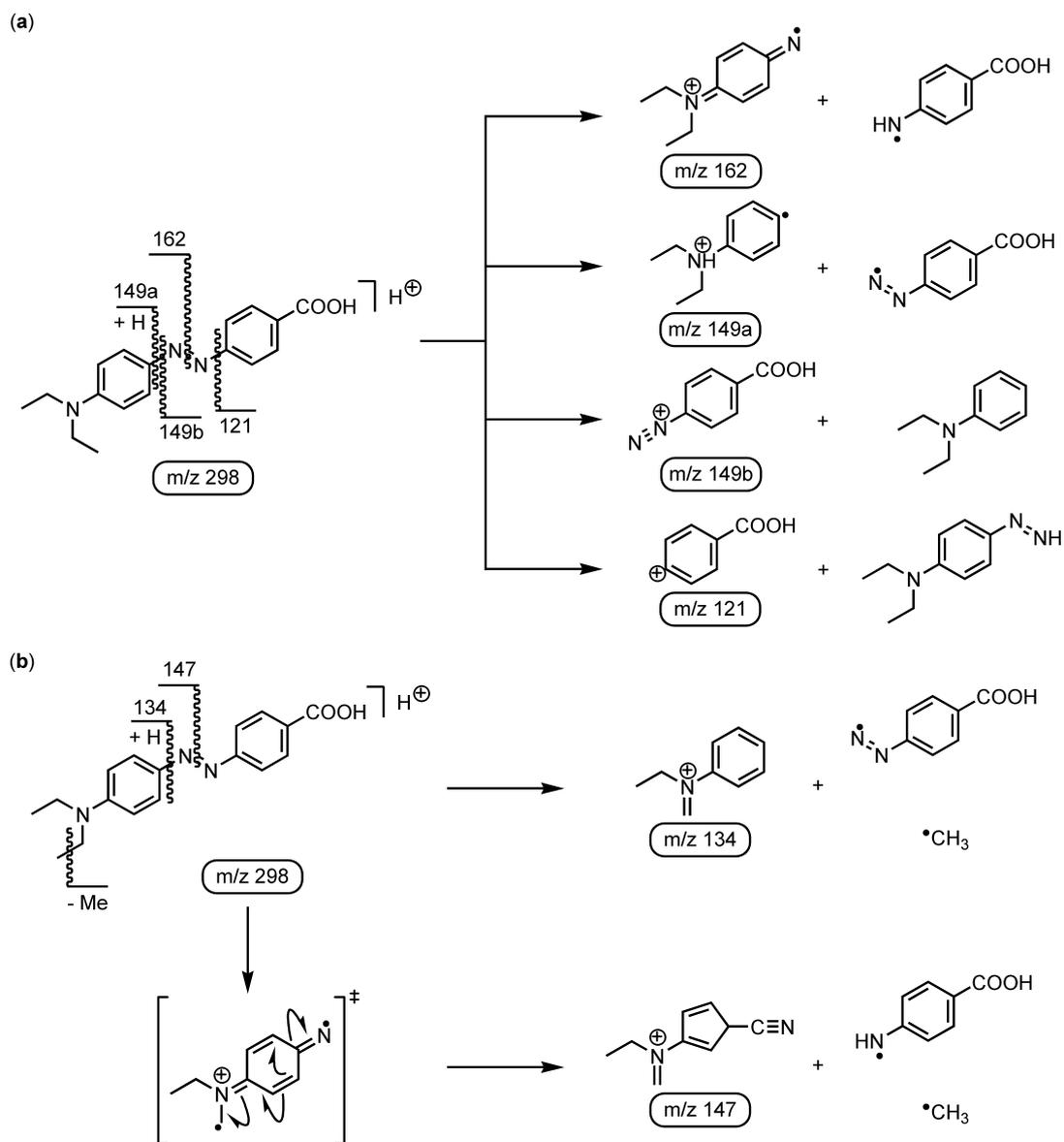
se Tatsache spricht für eine schnelle Folgereaktion, so dass der einzelne Verlust der Methylgruppe nicht detektiert wird.[130] Für den Gesamtverlust von  $C_3H_8$  ist die Abspaltung eines Ethylradikals als Folgereaktion nötig. Auf Grund des günstigeren Methylverlustes ist für die Protonierung an der Azogruppe die Abspaltung eines Methyl- und dann eines Ethylradikals bevorzugt (vgl. Abbildung 4.19, grüner Reaktionspfad). Die kinetische Betrachtung dieser konkurrierenden Reaktionen bestätigt die Annahmen. Es zeigt sich ebenfalls, dass der Methylradikalverlust den begünstigten Prozess darstellt. Wie in Abbildung 4.20 zu sehen ist, stellt die Methylabspaltung die schnellste Fragmentierungsreaktion bei der Protonierung der Azogruppe dar (grüne Kurve). Verglichen mit der Protonierung am Anilinstickstoff ist der Unterschied zwischen dem Methyl- und dem Ethylradikalverlust zwar deutlich geringer. Die Reihenfolge der Abspaltungen, zuerst das Ethyl- und anschließend das Methylradikal, ist somit thermodynamisch und kinetisch nicht begünstigt. Dennoch kann nur aufgrund dessen dieser Reaktionsweg nicht komplett ausgeschlossen werden.

Ein identisches Bild für die Fragmentierung der Diethylaminogruppe ergibt sich, wenn der Fall der Protonierung an der Carboxygruppe angenommen wird. Die

entsprechenden Reaktionen sind in Schema C.1 gezeigt. Experimentell konnte die Protonierung an dieser Position ausgeschlossen werden. Thermodynamische und kinetische Berechnungen wurden dennoch durchgeführt (Abbildung C.6 und Abbildung C.7). Diese liefern qualitativ identische Ergebnisse wie die Protonierung der Azogruppe. Der bevorzugte Prozess zum Abbau der Diethylaminogruppe sind zwei konsekutiv ablaufende Radikalreaktionen mit der Reihenfolge Methyl- und dann Ethylradikalverlust. Dies entspricht den Erwartungen, da dieser Protonierungsort keinen entscheidenden Einfluss auf die Diethylaminogruppe ausübt und strukturelle sowie energetische Eigenschaften an diesem Ort des Moleküls identisch sind.

Neben der reinen Fragmentierung der Diethylaminogruppe treten weitere Fragmente auf, die auf Bindungsbrüche innerhalb des Azobenzolgrundgerüsts resultieren. Hierbei werden sowohl Fragmente durch einzelne Bindungsbrüche an verschiedenen Positionen der Azogruppe als auch Fragmente, die aus kombinierten Abspaltungen von Teilen des Grundgerüsts und aus der Diethylaminogruppe entstehen, beobachtet. In Schema 4.10a sind die Reaktionen zur Bildung des beobachteten Fragmentes dargestellt und Teil b des Schemas zeigt die Reaktionen zur Bildung der Fragmente aus kombinierten Abspaltungen. Das Fragment  $m/z$  121 tritt sowohl im SORI-CID- als auch im PD-Massenspektrum auf. Es entsteht durch heterolytischen Bindungsbruch zwischen Azogruppe und dem Phenylring, der die Carboxygruppe trägt. Die Ladung verbleibt auf der Seite, die die Carboxygruppe trägt. Der Verbleib des Protons ist hierbei nicht eindeutig. Sehr wahrscheinlich ist, dass sich dieses an der Azogruppe befindet und damit eine Abspaltung des neutralen 4-Diazenyl-*N,N*-diethylanilin ergibt. Das Auftreten dieses Fragmentes ist auf Grund der elektronenziehenden Eigenschaft der Carboxygruppe ungewöhnlich. Dieser Effekt bevorzugt jedoch im Vornherein die Protonierung an der Azogruppe. Dennoch ist die entstehende Ladung im Molekül am stärksten am Anilinstickstoff lokalisiert. Auf diese Weise entsteht wieder ein elektronenziehender Effekt entgegen dem der Carboxygruppe. Bei der Stoßaktivierung von **3** kommt es somit zu der entsprechenden heterolytischen Bindungsspaltung und zur Bildung des beschriebenen Fragmentes. Weiterhin im SORI-CID-Massenspektrum sind die Fragmente bei  $m/z$  134 und  $m/z$  147 zu beobachten. Ersteres tritt auch in den Spektren von Ethylgelb (**1**) auf. Analog zu den Beobachtungen bei **1** wird das Fragment in diesem Fall durch die Verluste eines Methylradikals in Kombination mit einem 4-Diazenylbenzoesäure-Radikal gebildet. Das zweite Fragment entsteht ebenfalls durch den kombinierten Verlust von einem

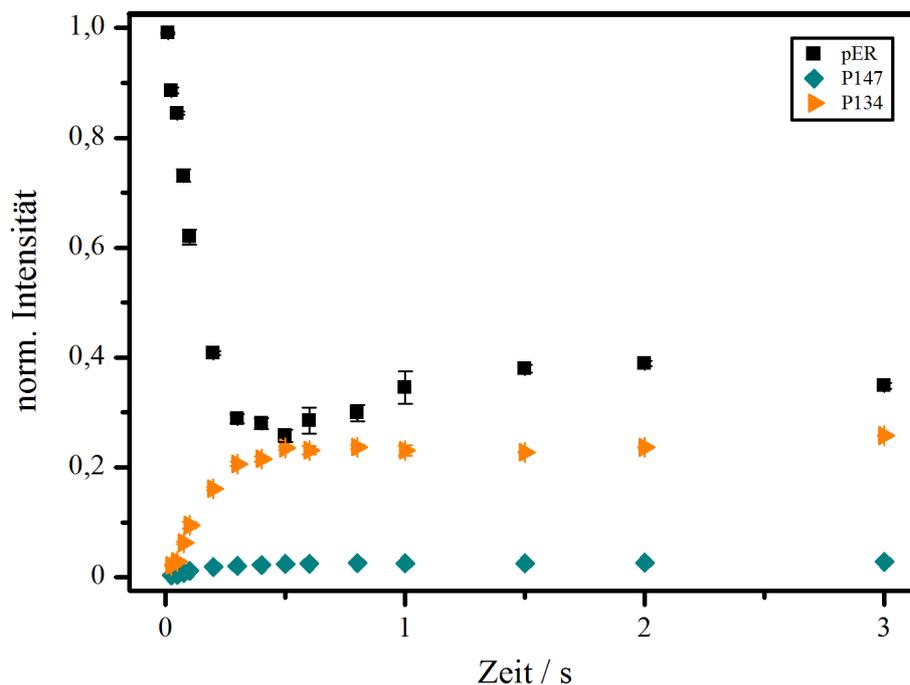
#### 4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole



**Schema 4.10:** Fragmentierungsreaktionen von p-Ethylrot (**3**) mit Bindungsbrüchen an der Azogruppe.

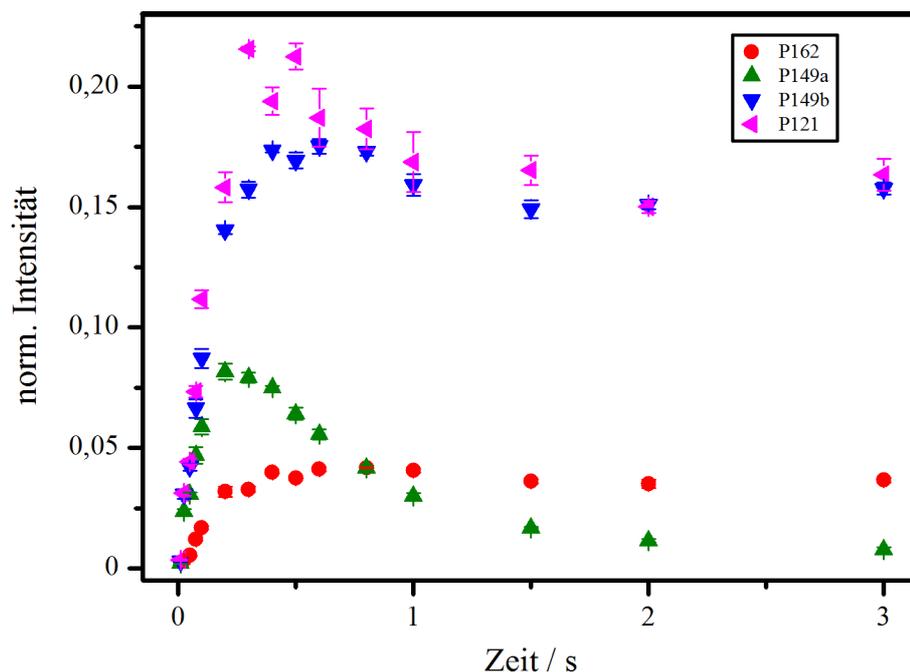
Methylradikal, das zusammen mit einem 4-Aminobenzoessäure-Radikal abgespalten wird. Für dieses Fragment kann in den Spektren von Ethylgelb (**1**) kein Analogon gefunden werden, jedoch bei den Ergebnissen zu Methylgelb (**2**). Der dortige Verlust von neutralem Anilin (siehe Schema 4.6) würde für *p*-Ethylrot (**3**) einem neutralen Verlust von 4-(Methylamino)benzoessäure entsprechen. Dort wurde angenommen, dass die Abspaltung des Wasserstoffs nicht aus der Methylgruppe stammt, da die Abspaltung dessen als Radikal energetisch sehr aufwändig ist.[131] In diesem Fall ist der Ursprung der Methylgruppe ausschließlich aus der Diethylaminogruppe zu erklären. Der Fragmentierungsmechanismus scheint in diesem Fall ein anderer zu sein. Zur Abspaltung eines entsprechenden neutralen Moleküls muss die Methylgruppe über den Phenylring bis zur Azogruppe verschoben werden. Es sind Beispiele bekannt, bei denen ganze funktionelle Gruppen über Molekülteile verschoben werden,[132–135] jedoch ist dies für ein Methylradikal aus einer Ethylgruppierung sehr unwahrscheinlich. Ein konsekutiv über zwei radikalische Abspaltungen laufender Fragmentierungsmechanismus stellt damit in diesem Fall den wahrscheinlicheren Reaktionsweg dar. Der Verlust des Methylradikals destabilisiert die Azogruppe und bedingt damit in der Folge die homolytische Bindungsspaltung in dessen Mitte (wie die Bildung von  $m/z$  134 bei Ethylgelb (**1**)). Wie zuvor beschrieben ist dieser Verlust des Methylradikals aus der Diethylaminogruppe bei einer Protonierung der Azogruppe bevorzugt. Das lässt den Schluss zu, dass die Wasserstoffübertragung auf den Anilinring und die anschließende homolytische Spaltung der Bindung zwischen Azogruppe und Anilinring als sehr schnelle Folgereaktion stattfindet und zur Bildung des Fragments  $m/z$  134 führt. Zudem ist dieses Fragment relativ intensiv, so dass dessen Bildung gegenüber der Gesamtabspaltung von  $C_3H_8$  bevorzugt scheint, wenn die Abspaltung des Methylradikals der initiierende Reaktionsschritt ist. Gibt es diese, oben genannte, Wasserstoffübertragung nicht, findet die Bindungsspaltung zwischen den beiden Stickstoffatomen der Azogruppe statt. Eine Reorganisation zu einem geradeelektronischen System durch eine Radikalabspaltung aus dem verbliebenen Teil der Diethylaminogruppe findet nach der Methylradikalabspaltung in keinem Fall statt.

Zusätzlich zu den beschriebenen Fragmenten des SORI-CID-Massenspektrums treten im PD-Massenspektrum weitere auf, die durch Bindungsspaltungen im Grundgerüst entstehen. Fragmente, die ausschließlich durch Abspaltungen aus der Diethylaminogruppe entstehen, gibt es bei der Photodissoziation nicht. Das Fragment



**Abbildung 4.21.:** Zeitliche Intensitätsentwicklung des Molekülsignals und der Fragmente von p-Ethylrot (**3**), die durch zwei Bindungsbrüche entstehen, bei einer Leistung des Argon-Ionen-Lasers von  $P = 2.0$  W.

$m/z$  149b kann durch eine Wasserstoffübertragung von der protonierten Azogruppe an die ipso-Position des Anilinrings und einer anschließenden Abspaltung von neutralem Diethylanilin entstehen. Es wird der intakte Molekülteil aus Azogruppe und Benzoesäure detektiert. Dieses Kation ist auch als Zwischenstufe bei der Bildung des Fragments  $m/z$  121 wahrscheinlich. Die Abspaltung von neutralem, molekularem Stickstoff kann zu diesem führen. Ob Fragmente weiter reagieren, kann untersucht werden, indem die Einstrahlzeit des zur Dissoziation verwendeten Lasers variiert und die Intensität der Fragmente detektiert wird. Die Ergebnisse dazu sind für p-Ethylrot (**3**) in Abbildung 4.21 für die Fragmente durch kombinierte Abspaltungen und in Abbildung 4.22 für die weiteren vier Fragmente dargestellt. Eine signifikante Abnahme der Intensität des Fragments bei  $m/z$  149b mit längerer Bestrahlungsdauer kann nicht festgestellt werden. Diese Ergebnisse widersprechen der Annahme, dass die Abspaltung molekularen Stickstoffs als Folgereaktion stattfindet. Des Weiteren treten zwei radikalische Fragmente auf. Diese entstehen durch den Verlust der beiden radikalischen Spezies, die jeweils in Kombination mit dem Verlust eines Methylra-



**Abbildung 4.22.:** Zeitliche Intensitätsentwicklung der auftretenden Fragmente von *p*-Ethylrot (**3**), die durch Bindungsbrüche am Azogerüst des Moleküls entstehen (Leistung:  $P = 2.0$  W).

dikals zu den bereits diskutierten Fragmenten  $m/z$  134 und  $m/z$  147 führten. Das Fragment  $m/z$  162 wird durch homolytische Bindungsspaltung direkt in der Mitte der Azogruppe gebildet. Diese Möglichkeit besteht nur, wenn die Protonierung an der Azogruppe selbst stattfindet und die positive Ladung am Anilinstickstoff lokalisiert ist. Der zeitliche Intensitätsverlauf dieses Fragments zeigt, dass nach einem Intensitätsanstieg in den ersten 0.5 s die Intensität konstant bleibt. Eine nachfolgende Reaktion unter Abspaltung eines Methylradikals und der Bildung des Fragments bei  $m/z$  147 ist demnach unwahrscheinlich.

Der Verlust eines 4-Aminobenzoesäure-Radikals führt zur Bildung des Fragments bei  $m/z$  149a. In diesem Fall tritt die homolytische Bindungsspaltung zwischen Azogruppe und Anilinteil des Moleküls auf. Zur Bildung dieses Fragments ist jedoch eine vorherige Protonierung am Anilinstickstoff notwendig. Auf diese Weise ist die Ladung an dieser Position fixiert. Eine Wasserstoffübertragung von der Azogruppe auf den Anilinring und anschließende Bindungsspaltung hätte zur Folge, dass ein ungeladenes Radikal gebildet wird, das nicht detektiert werden würde. Der zeitliche Intensitätsverlauf zeigt nach dem Durchlaufen eines Maximums bei ca. 0.2 s einen

Intensitätsabfall. Dies spricht für die Existenz von Folgereaktionen. Der Verlust eines Methylradikals und damit die Bildung des Fragments  $m/z$  134 ist sehr unwahrscheinlich. Zum einen ist die Abspaltung eines Methylradikals aus der protonierten Diethylaminogruppe gegenüber anderen Prozessen energetisch und kinetisch gehemmt. Zum anderen ist zur Bildung eines stabilen Fragments ohne Erzeugung eines sehr ungünstigen Doppelradikals nur eine Wasserstoffverschiebung auf die para-Position des Fragments notwendig. Deshalb lässt sich die Bildung des Fragments  $m/z$  134 über die Zwischenstufe des Kations bei  $m/z$  149a nicht nachweisen. Eine derartige Reaktion kann zudem außerhalb des Detektionslimits ablaufen.

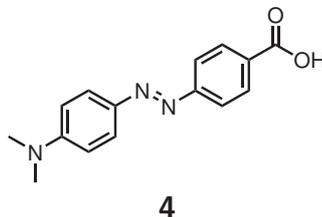
#### 4.3.3. Zusammenfassung p-Ethylrot

p-Ethylrot (**3**) zeigt die erwartete Abspaltung von  $C_3H_8$  nach Stoßaktivierung unter SORI-Bedingungen. Da dieser Verlust bei Ethylgelb (**1**) nicht zu beobachten ist, kann der Einfluss der zusätzlichen Carboxygruppe als entscheidend angesehen werden. Die Abspaltung von  $C_3H_8$  ist demnach durch die Verringerung der Elektronendichte an der Diethylaminogruppe bevorzugt. Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen zusammen mit den thermodynamischen und kinetischen Berechnungen zeigen, dass dieser Verlust durch zwei konsekutiv verlaufende Radikalreaktionen entsteht. Bei der Protonierung am Anilinstickstoff ist die Abspaltung eines Ethylradikals der Initiierungsschritt der Fragmentierung. Die folgende Methylradikalabspaltung führt zur Bildung von  $m/z$  254 und dem Gesamtverlust von  $C_3H_8$ . Im Fall der Protonierung an der Azogruppe ist die Methylradikalabspaltung als erster Schritt begünstigt. Hierbei treten sehr wahrscheinlich Folgereaktionen unter Spaltung des Grundgerüsts auf. Die starke Intensität des Fragments  $m/z$  134 spricht für diesen Fall. Ein konzertierter Fragmentierungsmechanismus über einen cyclischen Übergangszustand kann ausgeschlossen werden. Dieser ist thermodynamisch und kinetisch gehindert. Das Fehlen des Verlustes von  $C_3H_8$  in den PD-Massenspektren zeigt, dass viel Energie durch das protonierte Molekül absorbiert wird. Fragmente, die nur unter PD-Bedingungen auftreten sind sehr strukturspezifisch und werden ohne weitere Umlagerungsreaktionen oder konsekutiv gebildet.

Inwiefern die zusätzliche Carboxygruppe Einfluss auf das Gesamtsystem besitzt soll im folgenden Abschnitt auch für die Dimethylaminogruppe untersucht werden. Nachdem bei der Fragmentierung von p-Ethylrot (**3**) deutlich mehr Fragmente ver-

glichen mit Ethylgelb (1) auftraten, ist dieser Effekt auch für *p*-Methylrot (4) zu erwarten.

## 4.4. Dissoziationsreaktionen von p-Methylrot



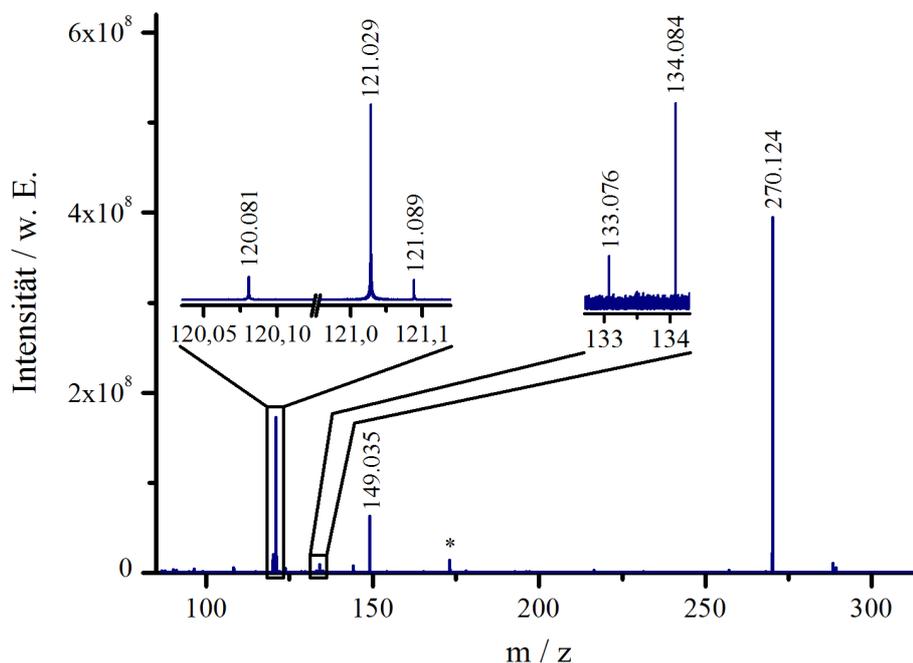
Schema 4.11: Struktur von p-Methylrot (**4**).

p-Methylrot (**4**) wird offiziell nach IUPAC-Nomenklatur als 4-(4'-Dimethylamino-phenylazo)-benzoesäure bezeichnet. Die Struktur ist in Schema 4.11 dargestellt und unterscheidet sich zum zuvor diskutierten p-Ethylrot (**3**) lediglich in der Länge der Alkylketten. Der Vergleich mit dem unsubstituierten Methylgelb (**2**) soll den Einfluss der Carboxygruppe auf das Fragmentierungsverhalten herausstellen. Den Einfluss der Länge der Alkylketten auf dieses Verhalten zeigt der Vergleich zum p-Ethylrot (**3**). Massenspektrometrische Untersuchungen zu **4** waren für das protonierte Molekül bisher genau wie für **3** nicht vorhanden.

### 4.4.1. Fragmentierung von p-Methylrot

Das PD-Massenspektrum von p-Methylrot (**4**) ist in Abbildung 4.23 gezeigt und die auftretenden Fragmente und die Summenformeln der Abspaltungen im Anhang in Tabelle B.10 zusammengefasst. Als zweite Fragmentierungsmethode wurde wieder SORI-CID verwendet und das entsprechende Massenspektrum ist in Abbildung 4.24 dargestellt. Die dort auftretenden Fragmente sind in Tabelle B.11 zusammengestellt.

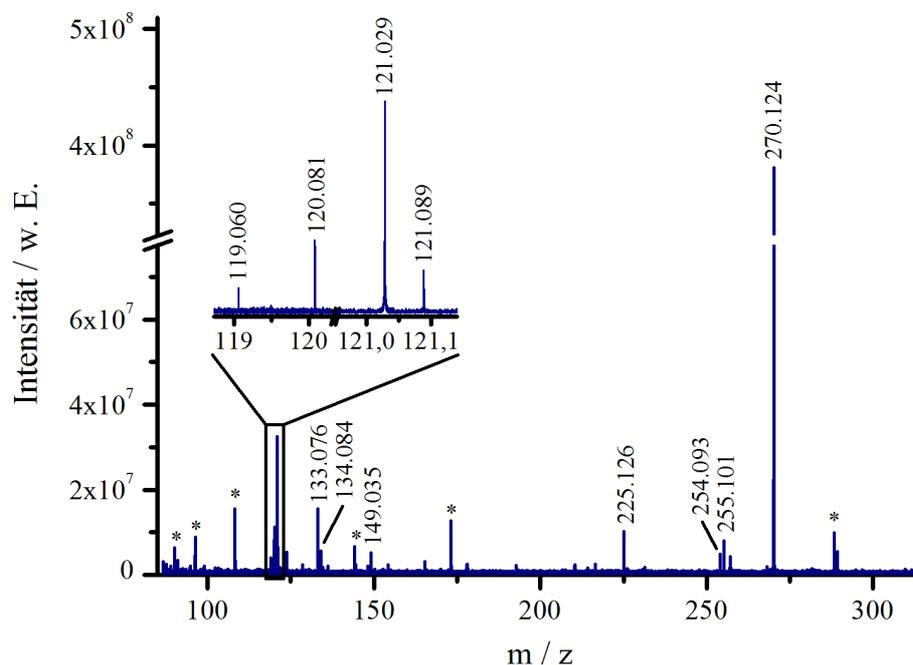
Der Vergleich beider Fragmentierungsmethoden zeigt, dass nach Stoßaktivierung mehr Fragmente auftreten als nach Photodissoziation. Alle Fragmente, die im PD-Massenspektrum von **4** detektiert werden, treten auch nach Stoßaktivierung auf. Dieser Aspekt ist ein erster Unterschied zu den zuvor untersuchten Molekülen **2** und **1**, die bei beiden Fragmentierungsmethoden identische Fragmente zeigten. Eine Gemeinsamkeit mit p-Ethylrot (**3**) ist das Auftreten von Fragmenten, die durch die Abspaltung kleiner Teile des Moleküls bei intaktem Grundgerüst entstehen, nur im SORI-CID-Massenspektrum. Die Fragmente bei  $m/z$  255 und bei  $m/z$  254 entstehen durch die Verluste eines Methylradikals (exp.: 15.023 Da, theor.: 15.023 Da) bzw.



**Abbildung 4.23.:** MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von *p*-Methylrot (**4**) mit dem Argon-Ionen-Laser bei einer Leistung von  $P = 1.0$  W.

von neutralem Methan (exp.: 16.031 Da, theor.: 16.031 Da) aus der Dimethylamino-gruppe. Bei  $m/z$  225 tritt ein Fragment auf, das der Abspaltung von 45 Da entspricht. Die gute Massengenauigkeit zusammen mit dem hohen Auflösungsvermögen des verwendeten Massenspektrometers zeigt, dass es sich um die Abspaltung der Carboxy-gruppe als Radikal (exp.: 44.998 Da, theor.: 44.998 Da) handelt. Zusätzlich zu den bisher genannten Abspaltungen gibt es ein Fragment, das durch kombinierte Verluste gebildet wird und ebenfalls nur nach Stoßaktivierung auftritt. Die Abspaltungen eines Methylradikals zusammen mit einem 4-Aminobenzoesäure-Radikal (exp.: 151.064 Da, theor.: 151.063 Da) führen zum Fragment bei  $m/z$  119.

Zu diesen Fragmenten kommen weitere hinzu, die in den Massenspektren beider Fragmentierungsmethoden zu sehen sind und aus Bindungsbrüchen innerhalb des Azobenzolgrundgerüsts resultieren. Die Spaltung von *p*-Methylrot (**4**) in der Mitte der Azogruppe führt zum Fragment  $m/z$  134 unter Verlust eines 4-Aminobenzoesäure-Radikals (exp.: 136.040 Da, theor.: 136.040 Da). Eine weitere Radikalabspaltung führt zur Bildung des Fragments bei  $m/z$  121a, das dem protonierten Dimethylaminophenyl-Radikal entspricht und durch Verlust radikalischer 4-Diazenylbenzoesäure (exp.: 149.035 Da, theor.: 149.035 Da) entsteht. Entsprechend führt der Verlust neu-

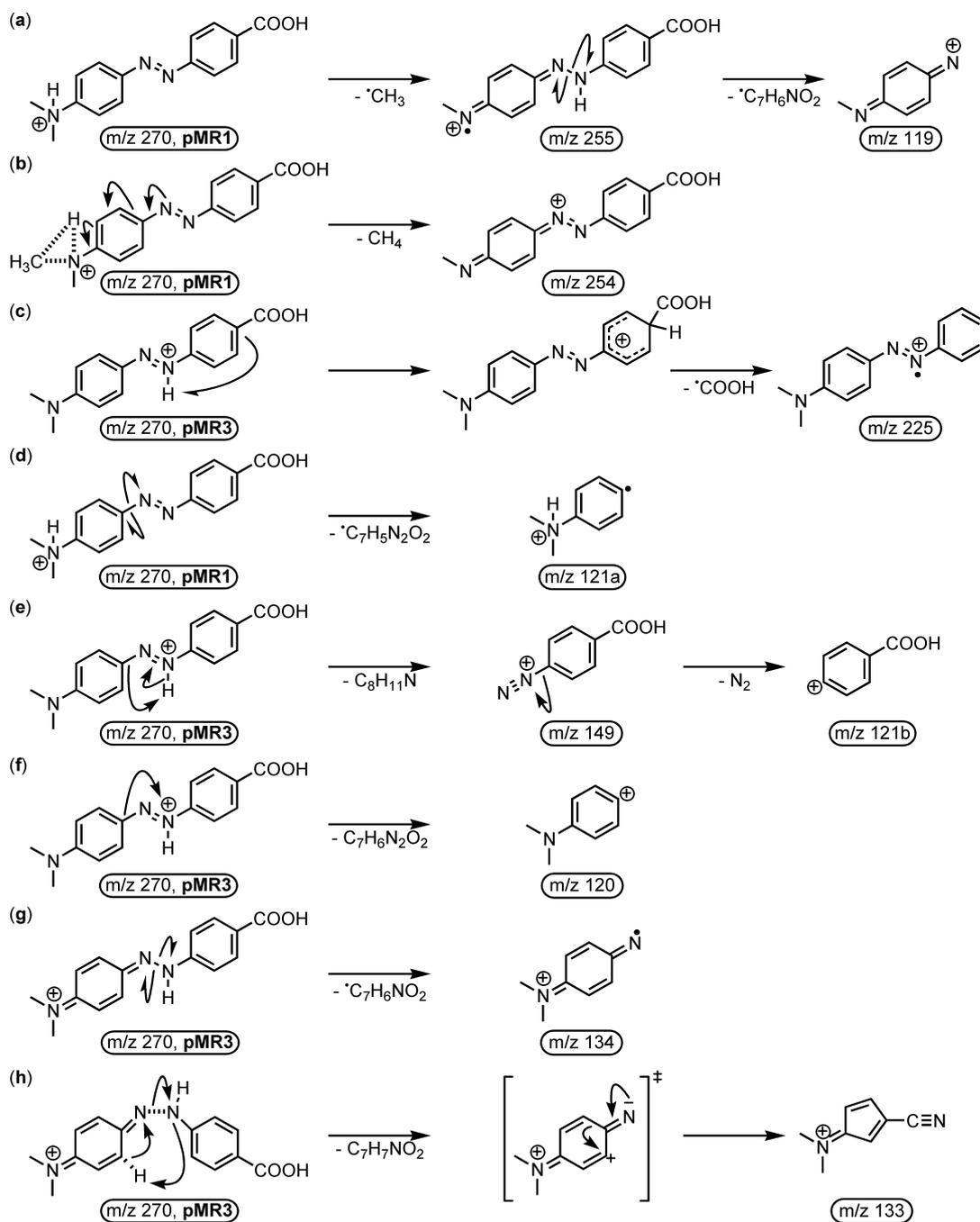


**Abbildung 4.24.:** MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von p-Methylrot (**4**) nach SORI-CID-Anregung mit Argon als Stoßgas.

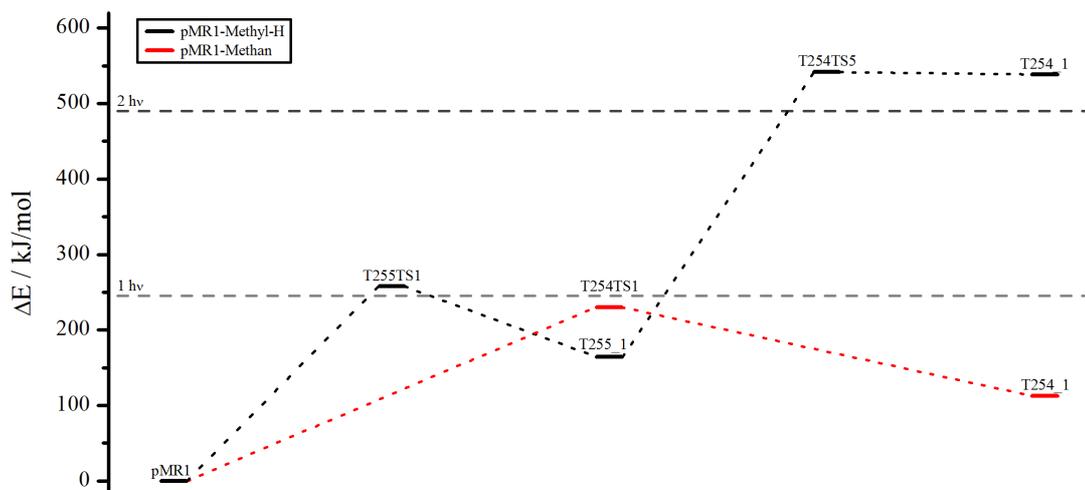
traler 4-Diazenylbenzoesäure (exp.: 150.043 Da, theor.: 150.043 Da) zum Fragment bei  $m/z$  120. Interessant ist auch das Fragment bei  $m/z$  133, das durch die Abspaltung von neutraler 4-Aminobenzoessäure (exp.: 137.048 Da, theor.: 137.048 Da) entsteht. Zwei andere Fragmente zeigen, dass die Ladung auch auf der anderen Seite von **4** lokalisiert sein kann. Neutrale Verluste von Dimethylanilin (exp.: 121.089 Da, theor.: 121.089 Da) oder 4-Diazenyldimethylanilin (exp.: 149.095 Da, theor.: 149.095 Da) führen zur Bildung der Fragmente  $m/z$  149 bzw.  $m/z$  121b.

#### 4.4.2. Mechanistische Betrachtungen zu p-Methylrot

Aus der Dimethylaminogruppe von **4** ist die Abspaltung von  $C_3H_8$  augenscheinlich nicht möglich. Ein Pendant zu diesem Verlust aus Diethylaminogruppen ist der Verlust von  $CH_4$  für Dimethylaminogruppen. Die Bildung des Fragments  $m/z$  254 ist, wie schon bei der Abspaltung von  $C_3H_8$  beschrieben, durch unterschiedliche Reaktionsmechanismen erklärbar. Die erste Möglichkeit ist wiederum eine zweistufige Radikalreaktion, bei der ein Methylradikal und ein Wasserstoffradikal abgespalten werden. Im Massenspektrum nach Stoßaktivierung ist ein Verlust eines Methylradikals

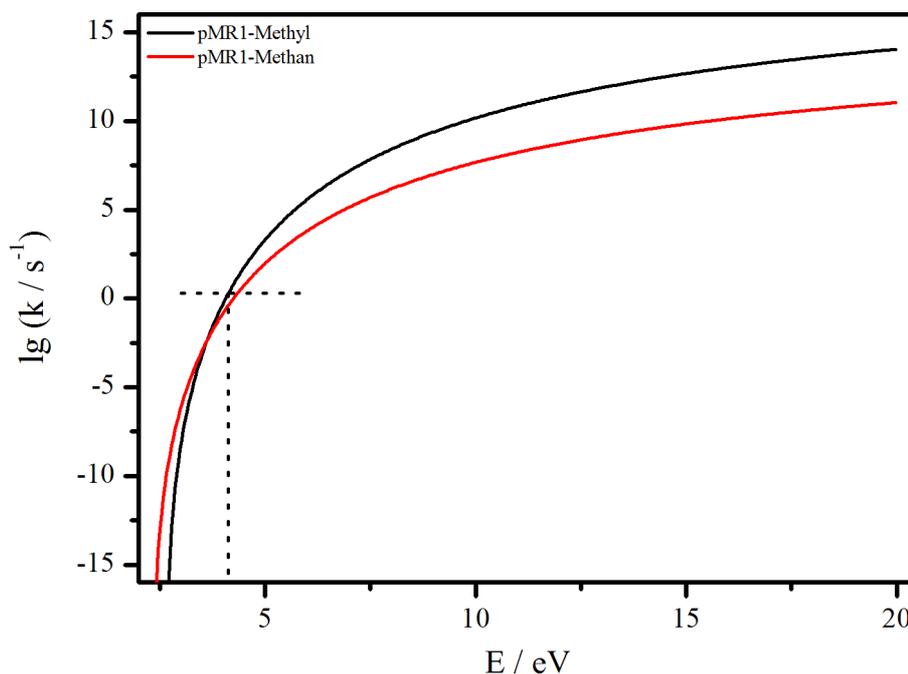


**Schema 4.12:** Fragmentierungsreaktionen von *p*-Methylrot (4) bei Protonierung am Anilinstickstoff bzw. an der Azogruppe.



**Abbildung 4.25.:** Berechnete Energien der beiden Reaktionswege von p-Methylrot (**4**), die bei Protonierung am Anilinstickstoff zum Verlust eines Methylradikals bzw. zum Verlust eines Methanmoleküls führen.

bei  $m/z$  255 zu beobachten. Dieser entsteht durch homolytische Bindungsspaltung der Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung in der Dimethylaminogruppe. Der nachfolgende Verlust eines Wasserstoffradikals würde wieder ein geradzahliges Elektronensystem und einen Gesamtverlust von  $\text{CH}_4$  ergeben. Weiterhin besteht die Möglichkeit des Verlustes von  $\text{CH}_4$  in einer konzertiert ablaufenden Fragmentierungsreaktion. Der Bildung eines cyclischen Übergangszustandes zwischen der Methylgruppierung und eines Wasserstoffatoms, in diesem Fall zu dem am Anilinstickstoff gebundenem Proton, führt zu der neutralen Abspaltung von Methan. Die Methylradikalabspaltung ist in Schema 4.12a und die Methanabspaltung in Schema 4.12b dargestellt. Zur Unterscheidung der Fragmentierungsmechanismen wurden die Energien der Edukte, Produkte und Übergangszustände berechnet. Diese sind in Abbildung 4.25 gezeigt. Es ist zu erkennen, dass sowohl der Verlust eines Methylradikals (schwarzer Reaktionspfad) als auch die Abspaltung von Methan in einer konzertierten Reaktion (roter Reaktionspfad) einen sehr ähnlichen Energiebedarf aufweisen. Die konzertierte Reaktion ist um ca. 27 kJ/mol der radikalischen bevorzugt. Diese Ergebnisse zeigen, dass diese beiden Reaktionen prinzipiell ablaufen können. Anders sieht es mit dem auf den Methylradikalverlust folgenden Wasserstoffverlust aus. Für diese Reaktion ist insgesamt sehr viel Energie nötig (ca. 540 kJ/mol). Aus diesem Grund erscheint



**Abbildung 4.26.:** Berechnete Ratenkonstanten der beiden Fragmentierungswege von *p*-Methylrot (4) zum Verlust eines Methylradikals oder eines Methanmoleküls.

diese sehr unwahrscheinlich. Zusätzlich wurden die energieabhängigen Ratenkonstanten für den Methyl- und den Methanverlust berechnet, diese sind in Abbildung 4.26 gezeigt. Im zeitlich relevanten Bereich ist zu erkennen, dass beide Kurven sehr nah beieinander liegen. Das bedeutet, dass beide Reaktionen nahezu gleich schnell ablaufen und trotz leichter Bevorzugung der Radikalreaktion (schwarze Kurve) beide ablaufen. Die kinetischen Kurven zeigen zudem eine Bevorzugung von Radikalreaktionen, wenn weniger Zeit für die Reaktion zur Verfügung steht. Wird dem System eine längere Reaktionszeit zur Verfügung gestellt, sind konzertierte Fragmentierungsmechanismen bevorzugt.

Weiterhin nur unter Stoßbedingungen zu beobachten ist der Verlust der Carboxygruppe als Radikal (vgl. Schema 4.12c). Ein homolytischer Bindungsbruch an dieser Stelle des Moleküls ist sehr unwahrscheinlich. Das entstehende Radikal ist in einem  $\sigma$ -Orbital lokalisiert und damit nicht Teil des aromatischen Systems. Eine andere Variante ist eine Art Verdrängungsreaktion. Hierbei muss ein Wasserstoff bis an die para-Position mit der Carboxygruppe verschoben werden. Eine darauffolgende homolytische Bindungsspaltung mit einhergehender Rearomatisierung des Systems

bedingt die Lokalisierung des entstehenden Radikals in einem  $\pi$ -Orbital, wodurch dieses stabilisiert und über das gesamte konjugierte System delokalisiert werden kann. Während diese Fragmentierungsreaktion bei p-Ethylrot (**3**) nicht auftrat, findet sie bei einer Verkürzung der Alkylketten statt. Auf Grund dieser Verkürzung wird weniger Energie in der Dialkylaminogruppe deponiert und verbleibt somit im Grundgerüst, was die Verschiebung des Wasserstoffs zur Folge haben kann und im Endeffekt die Carboxygruppe abspaltet. Die größere Anzahl an Fragmenten durch Bindungsbrüche im Grundgerüst des Systems von **4** im Vergleich zu **3** unter Stoßaktivierung sind ebenfalls auf diesen Effekt zurückzuführen.

Die Bindungsbrüche, die sowohl im SORI-CID- als auch im PD-Massenspektrum zu beobachten sind, zeigen alle Parallelen zu den Fragmenten des PD-Spektrums von **3**. Des Weiteren sind auch starke Gemeinsamkeiten mit den Massenspektren von **2** erkennbar. Die Fragmente bei  $m/z$  149 und  $m/z$  121b sind identisch zu **3** und auf die gleiche Weise zu begründen. Abspaltungen von neutralem Dimethylanilin bzw. 4-Diazenyldimethylanilin durch heterolytische Bindungsspaltung der Stickstoff-Kohlenstoff-Bindung auf beiden Seiten der Azogruppe haben die Bildung zur Folge. Die Reaktionen sind in Schema 4.12e gezeigt. Für **3** gab es bei der Photodissoziation keine Hinweise darauf, dass eine Folgereaktion von  $m/z$  149 mit dem Verlust von molekularem Stickstoff stattfindet. Diese kann auf Grund genügend hoher interner Energie deshalb nicht ausgeschlossen werden. In diesem Fall treten beide Fragmente auch unter Stoßaktivierung (siehe Abbildung 4.24) auf. Ebenfalls analog wie bei p-Ethylrot (**3**) findet der homolytische Bindungsbruch in der Mitte der Azogruppe statt. Für diesen Fall führt das zur Bildung des Fragments bei  $m/z$  134 (vgl. Schema 4.12g). Wie für die beiden zuvor beschriebenen Fragmente ist eine Protonierung an der Azogruppe notwendig, damit die entsprechende Fragmentierungsreaktion ablaufen kann. Andernfalls ist eine so starke Destabilisierung der Azogruppe nicht zu erklären und dieses Fragment dürfte im Massenspektrometer bei diesen Fragmentierungsbedingungen nicht auftreten. Ebenfalls durch homolytische Bindungsspaltung wird das Radikalkation bei  $m/z$  121a gebildet (vgl. Schema 4.12d). Dieses tritt genauso auch bei Methylgelb (**2**) nach Stoßaktivierung auf. Nach Photodissoziation tritt das analoge Fragment bei p-Ethylrot (**3**) auf, das Ethylgruppen statt Methylgruppen enthält. Für die Bildung ist die Protonierung des Systems am Anilinstickstoff notwendig, da durch Wasserstoffübertragung mit anschließender Bindungsspaltung die Ladung auf der Seite des Moleküls lokalisiert ist, die abgespalten wird. Fin-

det die Protonierung dagegen an der Azogruppe statt, kann die Bindung zwischen Azogruppe und Anilinring ebenfalls geschwächt werden. Infolgedessen findet eine heterolytische Bindungsspaltung statt und ein geradzahliges Dimethylanilinkation bei  $m/z$  120 wird gebildet (vgl. Schema 4.12f).

Die in Schema 4.12h gezeigte Reaktion stellt wiederum einen sehr ungewöhnlichen Prozess dar. Das Fragment  $m/z$  133 wird hierbei durch die formale Abspaltung der neutralen 4-Aminobenzoesäure gebildet. Im SORI-CID-Massenspektrum besitzt es eine deutlich niedrigere Intensität als nach Photodissoziation. Bei Methylgelb (**2**) tritt das gleiche Fragment auf, das durch die Abspaltung von Anilin entsteht. Dort ist es jedoch ausschließlich im PD-Massenspektrum zu beobachten. Der Mechanismus dieser Fragmentierungsreaktion ist ebenfalls in Abschnitt 4.2.2 beschrieben. Generell scheint die Carboxygruppe auf diese Reaktion nur einen geringen Einfluss zu haben. Wenn ausreichend Energie in Schwingungsfreiheitsgraden des Grundgerüsts deponiert werden kann, ist eine Inversion von der *trans*- in die *cis*-Konfiguration möglich. Dadurch ist die Übertragung eines Ringwasserstoffs des Anilinteils auf die Azogruppe und damit die Abspaltung eines primärenamins möglich. Das entstehende Kation stabilisiert sich durch eine intramolekulare Reaktion bei der es zur Bildung eines Fünfrings statt eines Sechsrings kommt.

#### 4.4.3. Zusammenfassung *p*-Methylrot

Ein interessanter Aspekt der Fragmentierung von *p*-Methylrot (**4**) ist das Auftreten von Abspaltungen eines Methylradikals und von Methan im Massenspektrum nach Stoßaktivierung. Diese beiden Fragmentierungsreaktionen stellen konkurrierende Prozesse dar, die je nach Bedingungen bevorzugt oder gehemmt sind. Die Reaktionsbedingungen im verwendeten Massenspektrometer deckten den Bereich ab, bei dem beide Fragmentierungsreaktionen begünstigt waren.

Insgesamt sind viele Fragmente durch Bindungsbrüche im Azobenzolgrundgerüst zu beobachten, nach Stoßaktivierung mehr im Vergleich zum zuvor untersuchten *p*-Ethylrot (**3**). Dies ist auf die kürzeren Alkylketten zurückzuführen, da die Anzahl der Freiheitsgrade zur Umverteilung der aufgenommenen Energie geringer ist. Somit ist die deponierte Energie in den Schwingungsfreiheitsgraden des Grundgerüsts höher, wodurch Bindungsbrüche an der Azogruppe wahrscheinlicher werden. Dieser Effekt führt zu einer Vermischung der Fragmente, die durch direkte Bindungsbrü-

#### *4. Fragmentierung para-substituierter Azobenzole*

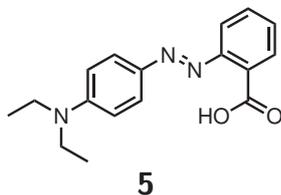
---

che oder nach Wasserstoffverschiebungen entstehen. Das bedeutet, dass Fragmente aus Umlagerungsreaktionen nicht leicht von strukturspezifischen Fragmenten durch Vergleich von Stoßaktivierung und Photodissoziation zu unterscheiden sind.

## 5. Carboxyfunktion und Diazen in ortho-Stellung

Das zweite Kapitel zu den Ergebnissen behandelt die Fragmentierungsreaktionen von drei zweifach substituierten Azobenzolen. Alle drei Substanzen besitzen eine Carboxygruppe in ortho-Stellung zur Azogruppe, die den Unterschied zu den beiden, im ersten Kapitel beschriebenen, Verbindungen p-Ethylrot (**3**) und p-Methylrot (**4**) darstellt. Des Weiteren besitzen die drei Substanzen jeweils eine Dialkylaminogruppe. Die Länge dieser Alkylketten unterscheidet die drei im Folgenden diskutierten Azofarbstoffe voneinander. Zunächst wird das Fragmentierungsverhalten von o-Ethylrot (**5**) untersucht und besonders der Einfluss der Diethylaminogruppe betrachtet. Im Anschluss werden die Ergebnisse zu o-Methylrot (**6**) und o-Propylrot (**7**) dargestellt. Dies soll insbesondere den Einfluss der Alkylkettenlänge auf das Fragmentierungsverhalten aufzeigen. Schließlich wird das Auftreten genereller Fragmentierungsreaktionen dieser Stoffklasse unabhängig von der Länge der Dialkylaminogruppe betrachtet.

## 5.1. Dissoziationsreaktionen von o-Ethylrot

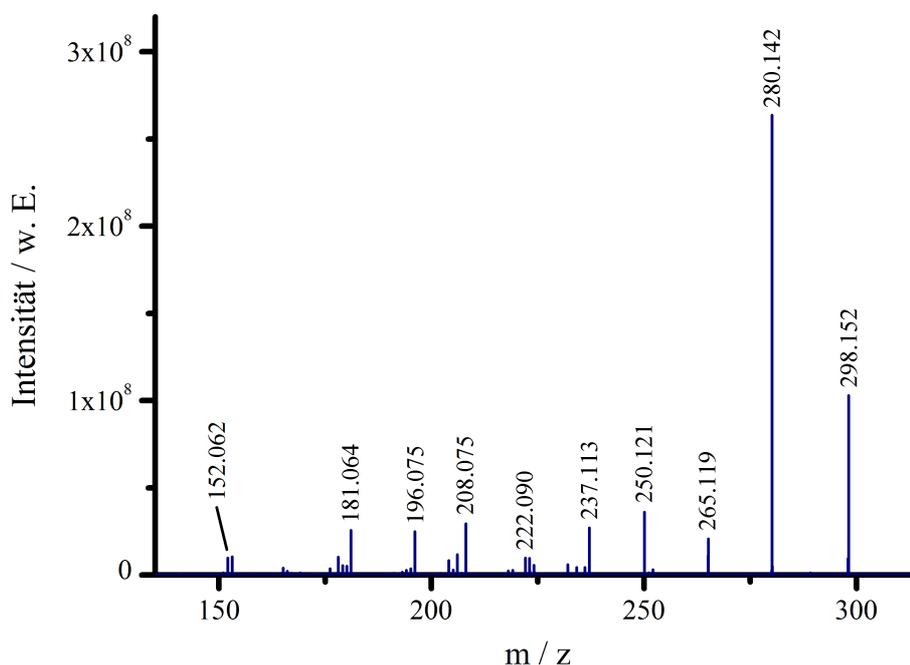


**Schema 5.1:** Struktur von o-Ethylrot (**5**).

Nach IUPAC lautet der Name für o-Ethylrot (**5**) 2-(4'-Diethylamino-phenylazo)-benzoesäure. Wie schon das p-Ethylrot (**3**) besteht es aus einem Azobenzol Grundgerüst, einer Diethylaminogruppe und einer Carboxygruppe (Struktur in Schema 5.1). Lediglich die Anordnung der Carboxygruppe unterscheidet beide Isomere. Massenspektrometrische Untersuchungen zu dieser Verbindung wurden bislang nicht durchgeführt. Auf Grund des breiten Anwendungsfeldes ist dies jedoch verwunderlich. o-Ethylrot (**5**) wird als Proteinmarker, in optischen Speichermedien und Solarzellen verwendet.[136] Eine gute und richtige Interpretation von Ergebnissen und eventuell auftretenden Problemen kann aber nur dann möglich sein, wenn entsprechende Eigenschaften und Verhalten von **5** bekannt sind. Dazu zählt insbesondere das Verhalten unter Einfluss von Licht im sichtbaren und im ultravioletten Bereich. Hierbei ist das Auftreten von strukturbedingten Abbaureaktionen sehr wahrscheinlich, die hier untersucht werden sollen. Die gleiche Summenformel von **5** und **3** lässt Ähnlichkeiten im massenspektrometrischen Verhalten vermuteten. Im nachfolgenden Abschnitt wird gezeigt, dass im Vergleich zum para-Isomer das hier beschriebene ortho-Isomer andere Fragmentierungsreaktionen zeigt. Die Mechanismen der dem o-Ethylrot (**5**) zugänglichen Reaktionskanäle sollen beschrieben und aufgeklärt werden.

### 5.1.1. Fragmentierung von o-Ethylrot

Die MS<sup>2</sup>-Massenspektren von o-Ethylrot (**5**) sind für PD in Abbildung 5.1 und für Stoßaktivierung mittels SORI-CID in Abbildung 5.2 gezeigt. Hierbei fällt als erstes auf, dass deutlich mehr Fragmente als bei den vier zuvor betrachteten Verbindungen auftreten. Des Weiteren befinden sich die Fragmentensignale großteils in einem höheren Massenbereich. Eine Übersicht über die auftretenden Fragmente mit den



**Abbildung 5.1.:** MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von *o*-Ethylrot (**5**) mit dem Argon-Ionen-Laser bei einer Leistung von  $P = 2.0 \text{ W}$ .

entsprechenden Summenformeln der Abspaltungen befindet sich im Anhang in Tabelle B.12 und Tabelle B.13.

Alle Fragmente mit signifikanter Intensität, die unter Stoßbedingungen zu beobachten sind, treten auch im Massenspektrum nach Photodissoziation auf. Mit Abstand das intensivste Fragmentensignal ist bei  $m/z$  280 zu beobachten. Dies entspricht dem Verlust von Wasser (exp.: 18.011 Da, theor.: 18.011 Da), was bei keiner der zuvor in Kapitel 4 untersuchten Verbindungen detektiert werden konnte. Die Betrachtung der weiteren Fragmente stellt die Bedeutung des Wasserverlustes weiter heraus, da ausschließlich kombinierte Verluste beobachtet werden, die diesen Verlust beinhalten. Die beiden intensiven Fragmentensignale bei  $m/z$  265 und  $m/z$  236 können somit den kombinierten Abspaltungen eines Methylradikals mit Wasser (exp.: 33.034 Da, theor.: 33.034 Da) und denen von  $\text{C}_3\text{H}_8$  und Wasser (exp.: 62.073 Da, theor.: 62.073 Da) zugeordnet werden. Die erwartete Fragmentierung tritt nur in Begleitung eines Wasserverlustes auf. Bei den weiteren Signalen handelt es sich um Abspaltungen aus den weiteren funktionellen Gruppen des *o*-Ethylrots (**5**). Das Fragment bei  $m/z$  208 entspricht einem Verlust von Wasser,  $\text{C}_3\text{H}_8$  und molekularem Stickstoff (exp.: 90.079 Da, theor.: 90.079 Da). Dieses Fragment zeigt somit Abspaltungen

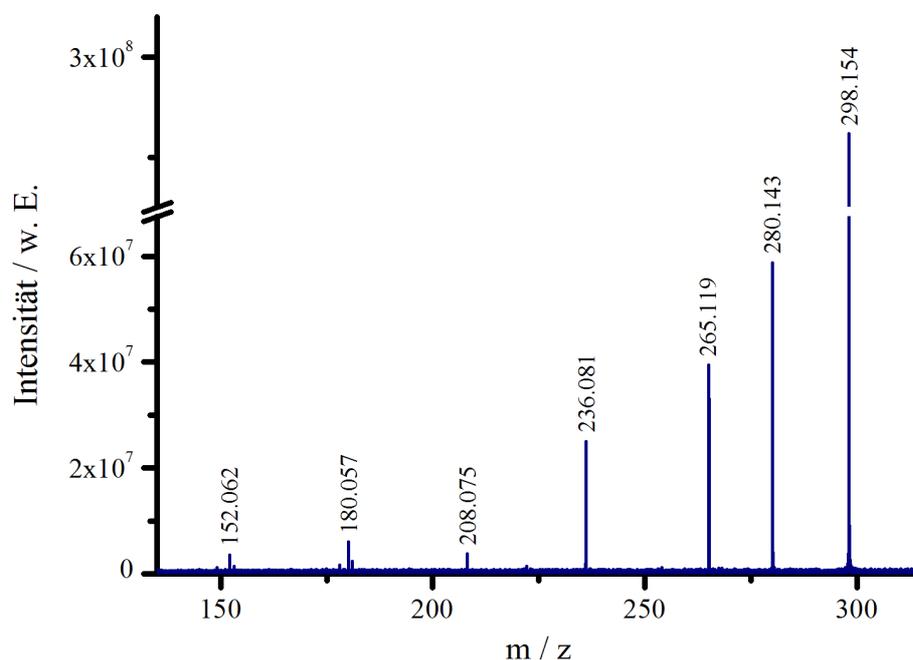


Abbildung 5.2.: MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von o-Ethylrot (**5**) nach SORI-CID mit Argon als Stoßgas.

aus drei verschiedenen Positionen des untersuchten Moleküls. Ähnlich verhält es sich mit den Fragmenten bei  $m/z$  180 und  $m/z$  152. Ersteres entsteht durch die Verluste von Wasser, Stickstoff und der gesamten Diethylaminogruppe (exp.: 118.097 Da, theor.: 118.098 Da). Das zweite Fragment entspricht der Summenformel  $C_{12}H_8^+$  und wird darüber hinaus durch den Verlust von Kohlenstoffmonoxid (exp.: 146.092 Da, theor.: 146.093 Da) gebildet. Demnach entspricht das Fragment  $m/z$  152 mit den Abspaltungen der Carboxy-, der Diethylamino- und der Azogruppe dem Verlust aller funktioneller Gruppen. Es bleibt lediglich das Grundgerüst bestehend aus beiden Phenylringen erhalten.

Alle zuvor beschriebenen Fragmente treten auch im Massenspektrum nach Photo dissoziation von o-Ethylrot (**5**) auf (siehe Abbildung 5.1). Im Vergleich zur Stoßanregung ergeben sich bei den Fragmentintensitäten quantitative Unterschiede. Ebenso können starke qualitative Unterschiede durch das Auftreten zusätzlicher Fragmente ausgemacht werden. Dennoch bleibt der Wasserverlust der dominierende und das gesamte Spektrum beeinflussende Prozess mit dem größten Signal bei  $m/z$  280 (exp.: 18.010 Da, theor.: 18.011 Da). Die Signale, die durch Abspaltungen aus der Diethylaminogruppe resultieren ( $m/z$  265 und  $m/z$  236), sind im PD-Massenspektrum

deutlich weniger intensiv. In diesem Bereich des Spektrums tritt bei  $m/z$  250 ein intensives Fragment auf, das unter Stoßaktivierung nicht zu beobachten ist. Die gute Massengenauigkeit zeigt, dass dieses Fragment durch kombinierte Verluste von Wasser und  $N_2H_2$  (exp.: 48.031 Da, theor.: 48.032 Da) gebildet wird. Eine Verwechslung mit der Abspaltung einer Kombination aus Wasser und Ethan (theor.: 48.058 Da) aus der Diethylaminogruppe kann ausgeschlossen werden. Bei  $m/z$  237 tritt ebenfalls ein neues Fragmentensignal nach Photodissoziation auf. Diesem sind die Verluste von Wasser, einem Methylradikal und molekularem Stickstoff (exp.: 61.039 Da, theor.: 61.040 Da) zuzuordnen. Die höheren Intensitäten einiger Fragmente im niedrigeren Massenbereich zeigen einen weiteren Unterschied der beiden Massenspektren nach Photodissoziation und Stoßanregung. Deutlich ist dieses Verhalten am intensiveren Fragment  $m/z$  208 zu erkennen, das wie bei SORI-CID dem Gesamtverlust von Wasser,  $C_3H_8$  und Stickstoff (exp.: 90.077 Da, theor.: 90.079 Da) entspricht. Weiterhin ist im Fall der PD das Fragment bei  $m/z$  181 deutlich intensiver als entsprechendes bei  $m/z$  180. Neben Wasser und Stickstoff wird nicht die komplette Diethylaminogruppierung abgespalten, ein Wasserstoffatom verbleibt am detektierten Kation (exp.: 117.088 Da, theor.: 117.090 Da). Ebenfalls sehr intensiv ist bei  $m/z$  152 ein Fragment zu beobachten, das nur die grundlegende Ringstruktur des ursprünglichen Moleküls enthält. Zwei weitere Signale finden sich im PD-Spektrum an Stellen, an denen nach Stoßaktivierung kein Fragment detektierbar ist. Das ist zum einen bei  $m/z$  222, was dem Verlust von in Summe  $C_2H_8N_2O$  (exp.: 76.062 Da, theor.: 76.064 Da) entspricht. Formal entspricht diese Summenformel der Abspaltung von Wasser, Stickstoff und Ethan. In Betracht zu ziehen ist jedoch auch die Möglichkeit zwei Methylradikale aus der Diethylaminogruppe zu verlieren, auch wenn die Wahrscheinlichkeit hierfür gering ist. Zum anderen tritt ein Signal bei  $m/z$  196 auf, was einem Verlust von  $C_4H_{10}N_2O$  (exp.: 102.077 Da, theor.: 102.079 Da) entspricht. Eine sinnvolle Aufteilung in formale Abspaltungen ergibt kombiniert Wasser, Stickstoff und zwei Ethenmoleküle.

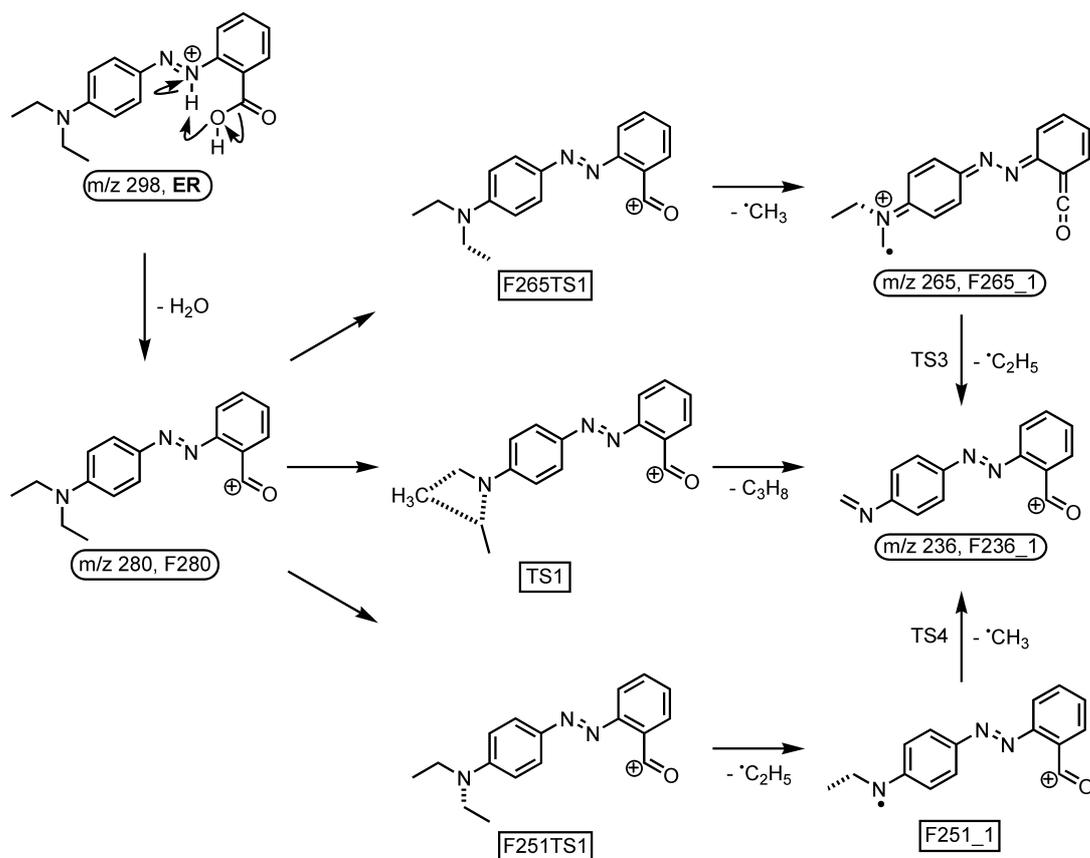
Die Betrachtung beider Fragmentierungsspektren sowohl nach Photodissoziation als auch nach Stoßaktivierung zeigt, dass eine Vielzahl an Fragmenten auftritt. Für die nachfolgende Diskussion sollen hierbei vor allem jene herangezogen werden, die entscheidend für das Fragmentierungsverhalten der Diethylaminogruppe sind. Weiterhin sollen aber auch die Unterschiede von *o*-Ethylrot (**5**) zu den zuvor untersuchten Verbindungen aufgezeigt werden. Dabei spielt die Tatsache eine entscheidende

Rolle, dass das Grundgerüst des Systems intakt bleibt. Eine Separierung der beiden Phenylsysteme wird bei keinem der intensiv auftretenden Fragmente beobachtet.

### 5.1.2. Mechanistische Betrachtungen zu o-Ethylrot

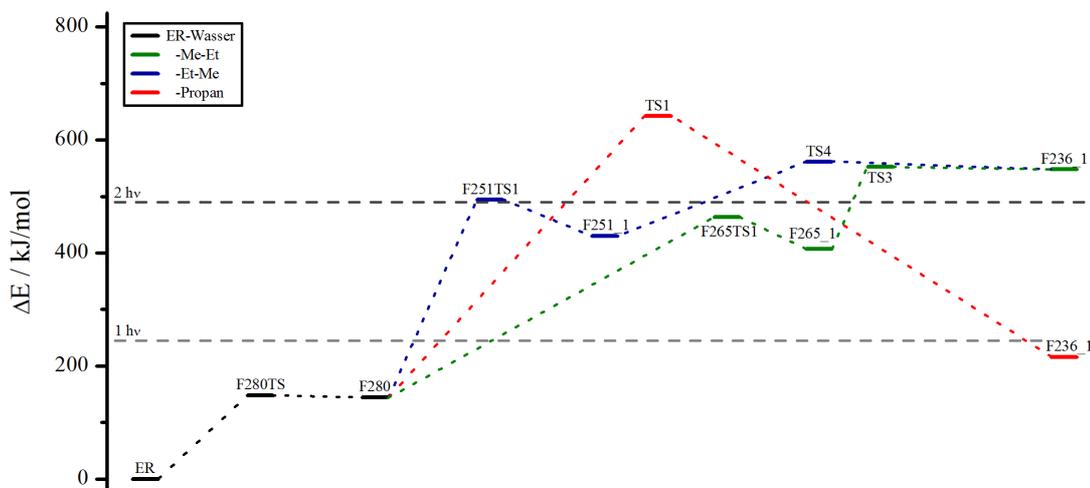
Für die mechanistische Betrachtung der Fragmentierungen von o-Ethylrot (**5**) ist, wie auch bei den anderen zuvor diskutierten Verbindungen, entscheidend, an welcher Stelle die Protonierung stattfindet und damit einhergehend, wo sich die Ladung im Molekül befindet. Einen Hinweis liefert die intensive Abspaltung von Wasser, die auch in Kombination mit allen weiteren Fragmentierungen von **5** auftritt. Der Sauerstoff und ein Wasserstoffatom können nur aus der Carboxygruppe stammen. Die Fragmentierung von Carboxygruppen in protonierten Systemen ist in der Literatur bekannt.[129] In der Regel verläuft diese in zwei Stufen, wobei zunächst Wasser und in einem folgenden Schritt Kohlenstoffmonoxid abgespalten wird. Das zweite Wasserstoffatom kann aus dem Ionisierungsprozess oder aus dem Ringsystem stammen. Weitergehende Untersuchungen dieser Fragmentierung wurden am Beispiel des o-Methylrots (**6**) durchgeführt, die nachfolgend in Abschnitt 5.2 beschrieben sind. Die Ergebnisse zeigen die Beteiligung des Wasserstoffs aus dem Protonierungsprozess an der Wasserabspaltung. Zudem wird dadurch deutlich, dass die Protonierung an der Azogruppe in Nachbarschaft zur Carboxygruppe oder direkt an dieser stattfinden muss. Auf Grund der Protonenaffinität ist die direkte Protonierung der Carboxygruppe unwahrscheinlich. Im Gegensatz dazu ist die Protonierung an der Azogruppe energetisch günstig, da durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen der entstandenen NH-Gruppierung und einem Carboxysauerstoff ein sehr stabiles Kation gebildet wird. Formal befindet sich die Ladung damit an der Azogruppe des Systems. Ist die Hydroxygruppe der Säure in diesem stabilisierten Sechsring eingebunden, wie in Schema 5.2 (oben links) dargestellt, kann es zur Bildung einer kovalenten Bindung zum benachbarten Wasserstoffatom kommen. Die Azogruppe wird neutral und die Kohlenstoff-Sauerstoff-Bindung in der Carboxygruppe wird heterolytisch gespalten, so dass ein neutrales Wassermolekül abgespalten wird. Das gebildete Fragmention ist formal am Carboxykohlenstoff geladen, wobei das delokalisierte Elektronensystem die Ladung stabilisiert.

Von diesem Wasserverlust ausgehend finden weitere Fragmentierungen von o-Ethylrot (**5**) statt. Ein gleichzeitiger Ablauf mehrerer Fragmentierungsschritte ist



**Schema 5.2:** Reaktionen von *o*-Ethylrot (**5**) nach dem Wasserverlust.

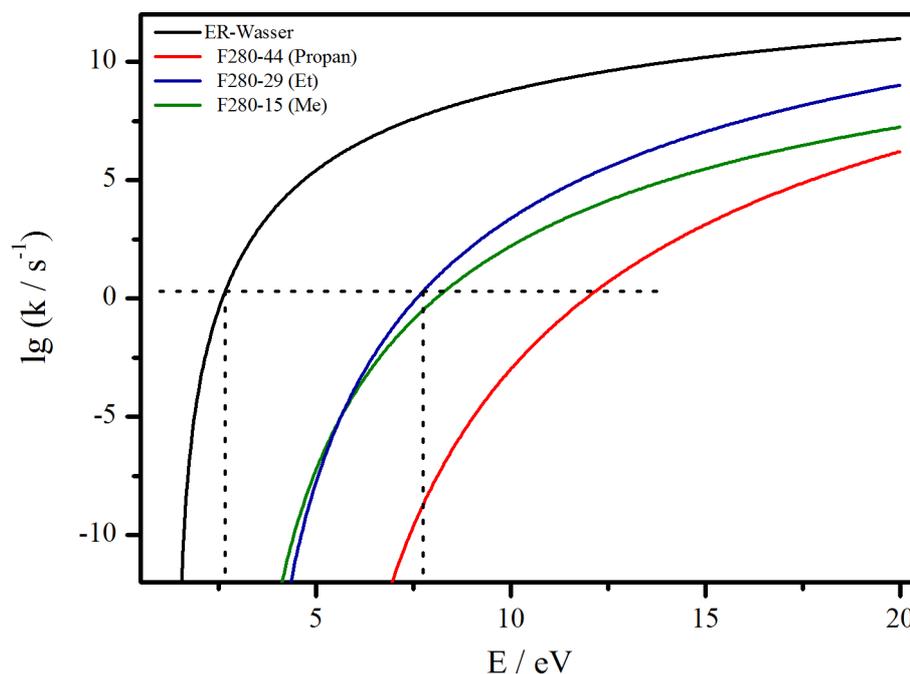
dabei nicht ausgeschlossen. Das betrifft auch die für diese Arbeit im Fokus stehende Fragmentierung der Diethylaminogruppe. Schema 5.2 zeigt mögliche Reaktionen, die, auf die Wasserabspaltung folgend, zur Abspaltung von  $C_3H_8$  führen. Wieder sind zwei konsekutive Mechanismen unter Beteiligung radikalischer Verluste sowie ein konzertierter Fragmentierungsmechanismus vorstellbar. Grundsätzlich muss der Abbau der Diethylaminogruppe zum Fragment  $m/z$  236 führen, das auch jeweils in den Massenspektren mit beiden verwendeten Fragmentierungsmethoden auftritt. Zu den vorgeschlagenen Reaktionen sind in Abbildung 5.3 die Ergebnisse der quantenchemischen Rechnungen mit den entsprechenden Übergangszuständen dargestellt. In Schwarz ist die Wasserabspaltung gezeigt. Die niedrige Aktivierungsenergie für diese Abspaltungen erklärt die Dominanz dieses Prozesses, was ebenfalls in der berechneten energieabhängigen Ratenkonstante wiedererkannt werden kann (Abbil-



**Abbildung 5.3.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit entsprechenden Produkten und Übergangszuständen zur Fragmentierung der Diethylaminogruppe nach einem Wasserverlust aus o-Ethylrot (**5**).

dung 5.4 schwarze Kurve). Die weiteren Reaktionswege gehen von diesem Fragment bei  $m/z$  280 (F280) aus.

Der berechnete Reaktionspfad zur Abspaltung von  $\text{C}_3\text{H}_8$  in einer konzertierten Reaktion ist in Rot dargestellt (Abbildung 5.3). Hierbei bildet sich ein cyclischer Übergangszustand (TS1), der dazu führt, dass ein neutrales Propanmolekül und das Fragment bei  $m/z$  236 (F236\_1) entstehen. Dieser Mechanismus ist der energetisch anspruchsvollste unter den drei Vorschlägen. Vom protonierten o-Ethylrot (**5**) ausgehend ist zum Erreichen des Übergangszustands deutlich mehr Energie nötig (642 kJ/mol) als beispielsweise mit der Absorption von zwei Photonen bei der Photodissoziation zur Verfügung steht. Allerdings ist es möglich, dass diese Energie durch häufige Stöße erreicht wird. Es ist jedoch weniger Energie notwendig (498 kJ/mol), wenn Wasser bereits abgespalten wurde. Dieser Wert liegt nur knapp über dem Zwei-Photonen-Limit und ist somit erreichbar, wenn das Fragment  $m/z$  280 nicht vollständig in den Grundzustand relaxiert. In Abbildung 5.5a ist das  $\text{MS}^3$ -PD-Massenspektrums des Fragments  $m/z$  280 dargestellt. Ein Signal bei  $m/z$  236 kann nicht beobachtet werden. Diese Tatsache, zusammen mit der weiterhin berechneten energieabhängigen Ratenkonstante dieser Fragmentierung (Abbildung 5.4, rote Kurve), zeigt, dass ein konzertierter Mechanismus nicht stattfindet. Sowohl die Thermodynamik



**Abbildung 5.4.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege des Abbaus der Diethylaminogruppe nach dem Wasserverlust aus *o*-Ethylrot (**5**).

als auch die Kinetik widersprechen dieser Reaktion und sind somit konsistent zu den durchgeführten Experimenten für *o*-Ethylrot (**5**).

Damit bleiben zur Erklärung der Abspaltung von  $C_3H_8$  zwei radikalische Mechanismen. Diese setzen sich beide aus den Verlusten eines Methyl- und eines Ethylradikals zusammen, unterscheiden sich lediglich in der Reihenfolge der Abspaltungen. Die  $MS^2$ -Massenspektren zeigen mit beiden Methoden ein Signal bei  $m/z$  265, das dem Verlust des Methylradikals entspricht. Der Verlust des Ethylradikals kann nicht beobachtet werden, ein entsprechendes Signal müsste bei  $m/z$  251 auftreten. Eine Verifizierung, ob es sich bei dem Fragment  $m/z$  265 wirklich um die Zwischenstufe eines konsekutiven Fragmentierungsmechanismus handelt, liefert das  $MS^3$ -PD-Massenspektrum des Fragments (siehe Abbildung 5.5b). Es ist eindeutig zu erkennen, dass eine Ethylradikalabspaltung stattfindet und somit das Fragment  $m/z$  236 gebildet wird. Die konsekutiv ablaufenden Reaktionen in der Reihenfolge des Methylradikalverlustes und darauffolgender Ethylradikalverlust sind experimentell bestätigt. Auf Grund der fehlenden Zwischenstufe des Ethylradikalverlustes als ersten Reaktionsschritt könnte angenommen werden, dass die Reaktion in dieser Reihen-

## 5. Carboxyfunktion und Diazen in ortho-Stellung

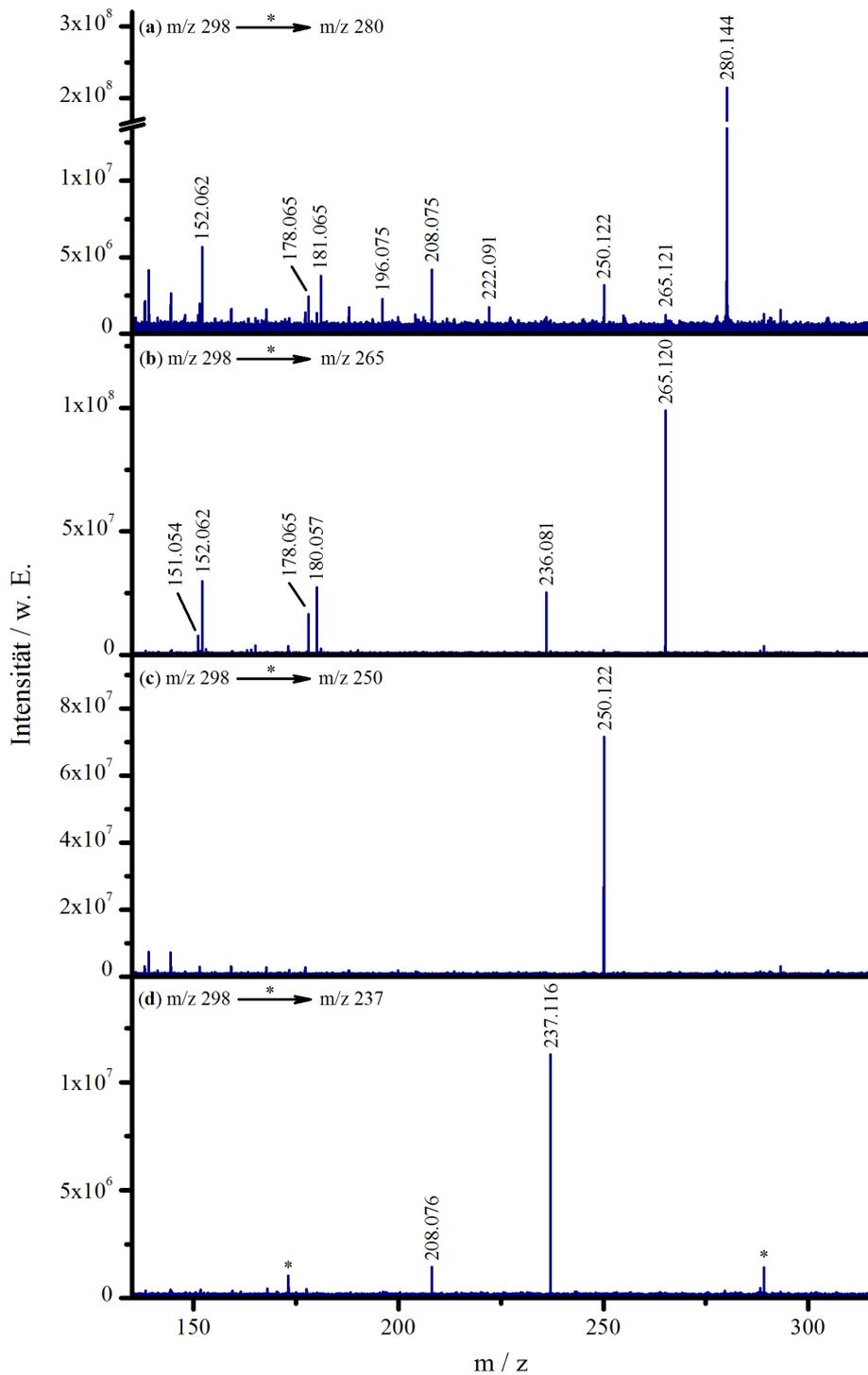
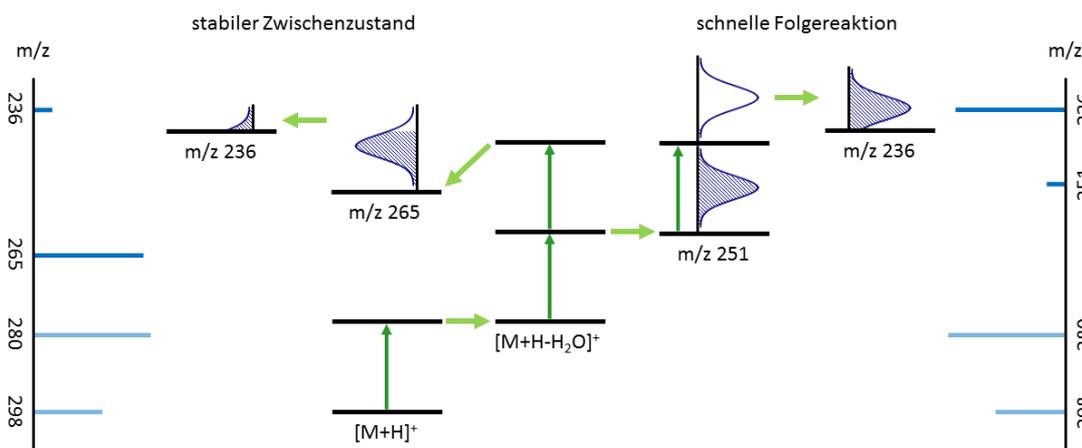


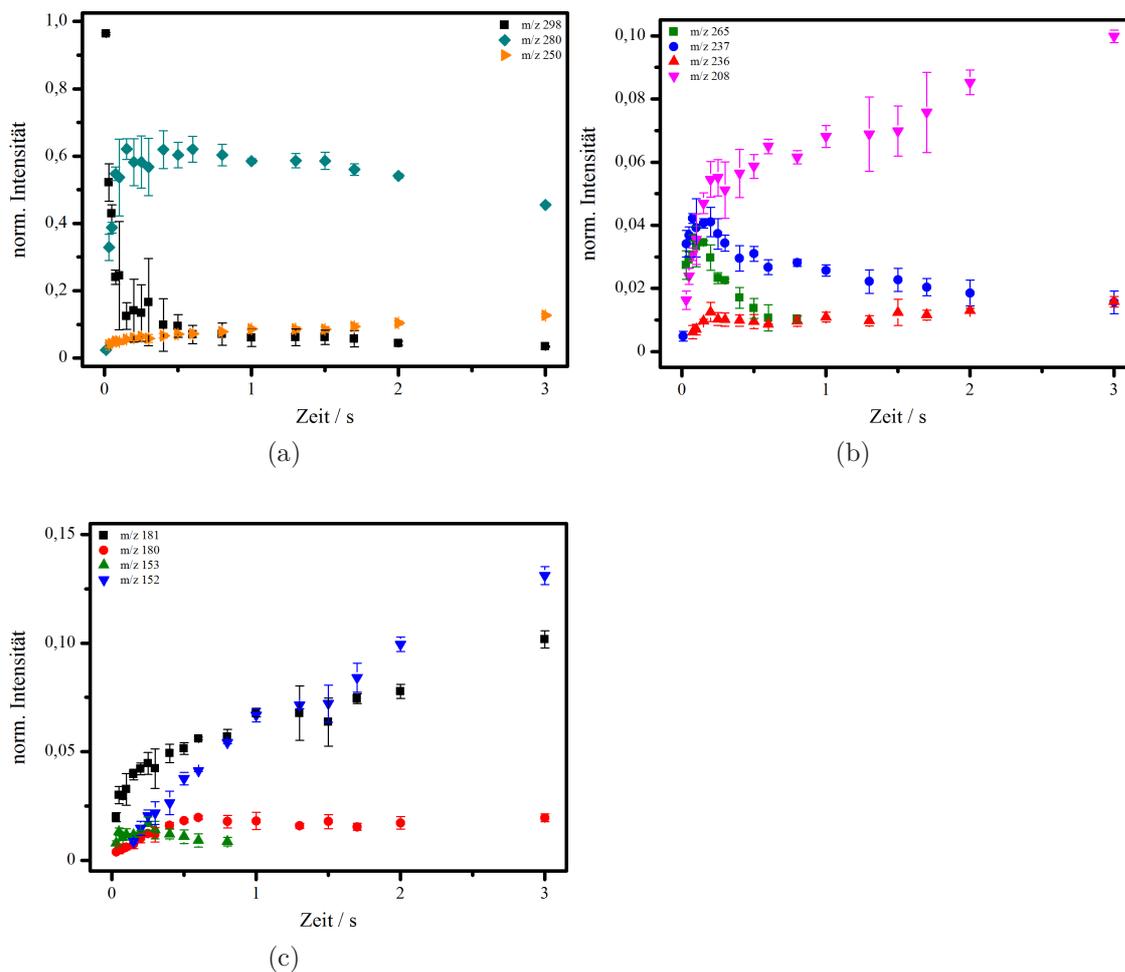
Abbildung 5.5.: MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektren unterschiedlicher Fragmente aus o-Ethylrot (**5**). (a) m/z 280, (b) m/z 265, (c) m/z 250 und (d) m/z 237.

folge nicht stattfindet. Die theoretischen Untersuchungen zeigen, dass auch diese Reaktion mit großer Wahrscheinlichkeit zur Abspaltung von  $C_3H_8$  beiträgt. Die Reaktionspfade beider konsekutiver Möglichkeiten mit den entsprechenden Übergangszuständen sind in Abbildung 5.3 in grün und in blau dargestellt. Hierbei ist zu erkennen, dass im ersten Schritt die Ethylradikalabspaltung (blau) energetisch etwas ungünstiger ist als die Methylradikalabspaltung (grün). Dennoch sind beide Aktivierungsenergien in einem ähnlichen Bereich ( $\Delta E = 30$  kJ/mol). Im Spektrum sollten demnach beide Prozesse zu beobachten sein. Kinetisch ergibt sich ein vergleichbares Bild. Abbildung 5.4 zeigt die berechneten energieabhängigen Ratenkonstanten für die Methylradikalabspaltung in grün und für die Ethylradikalabspaltung in blau. Im zugänglichen Zeitbereich des verwendeten Massenspektrometers zeigt sich eine Bevorzugung der Ethylradikalabspaltung, wobei auch in diesem Fall der Unterschied zur Methylradikalabspaltung marginal ist. Während eine sehr deutliche Abgrenzung zum sehr schnellen Prozess der Wasserabspaltung (schwarze Kurve) und zum energetisch und kinetisch gehemmten konzertierten Reaktionsmechanismus (rote Kurve) zu erkennen ist, unterscheiden sich die beiden Radikalabspaltungen nur um ca. 0.5 eV (ca. 50 kJ/mol) in der internen Energie. Daraus folgt, dass auch kinetisch betrachtet der Ethylradikalverlust auftreten muss. Das Fehlen des entsprechenden Zwischenzustandes bei  $m/z$  251 im FT-ICR-MS ist durch unterschiedliche Dissoziationskanäle zu erklären, die im Endeffekt zum selben Produkt führen. Schematisch sind diese beiden Reaktionskanäle für die Photodissoziation in Abbildung 5.6 gezeigt. Absorbiert das protonierte Molekül ein Photon und nimmt Energie auf, wird auf Grund der niedrigen Aktivierungsenergie und der Schnelligkeit der Reaktion Wasser abgespalten. Ist die Zeit des Einstrahlens lang genug, kann auch das gebildete Fragment weitere Photonen absorbieren und auf diese Weise wieder das Dissoziationslimit erreichen. Hierbei sind dem Ion unterschiedliche Kanäle zugänglich. Der erst Fall stellt eine Anregung des Fragments  $m/z$  280 in höher angeregte Zustände dar. Ist genug Energie im System vorhanden und im entsprechenden Freiheitsgrad deponiert, kommt es zur Dissoziation. Diese führt durch homolytische Bindungsspaltung und der Methylradikalabspaltung zum Fragment  $m/z$  265. Hierbei handelt es sich um ein Radikalkation, das mit Hilfe des konjugierten Elektronensystems eine gute Stabilisierung erreicht. Dieses Fragment besitzt weiterhin interne Energie, die zu einem gewissen Maße Folgefragmentierungen bedingt. Beispielsweise kommt es durch eine Ethylradikalabspaltung zur Bildung des Fragments  $m/z$  236. Die Intensität des Frag-



**Abbildung 5.6.:** Konsekutiv ablaufende Radikalreaktionen bei der Fragmentierung der Diethylaminogruppe von o-Ethylrot (**5**) nach vorheriger Wasserabspaltung. links: *Multi-Step-Fragmentation-Mechanismus* mit stabilem Zwischenzustand, der langsam weiter reagiert. rechts: *Ladder-Switch-Mechanismus* mit einem Zwischenzustand, der schnell weitere Energie absorbiert, was zu einer schnellen Folgereaktion führt.[137]

ments, das den Gesamtverlust von  $C_3H_8$  darstellt, ist gering. Im Massenspektrum wird das Ergebnis dieses *absorption-multi-step-fragmentation* (AMF)-Mechanismus detektiert. Im zweiten Fall ist wieder die Anregung des Fragments  $m/z 280$  der Initiierungsschritt. Noch während des Anregungsprozesses wird ein Ethylradikal abgespalten. Formal ist die Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung in der Diethylaminogruppe die schwächere. Die verbleibende Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung wird durch den Fragmentierungsprozess stabilisiert. Das hypothetische Fragment ( $m/z 251$ ) absorbiert direkt weitere Energie, was zur energetischen Anregung und zum erneuten Erreichen des Dissoziationslimits führt. Sofort erfolgt durch die Abspaltung eines Methylradikals die Bildung eines stabilen, geradelektronischen Systems. Das Fragment  $m/z 236$  kann in den experimentellen Ergebnissen beobachtet werden, wobei die Zwischenstufe *unsichtbar* bleibt. Tatsächlich ist die Intensität dieses Fragments im PD-Massenspektrum gering. Es besitzt selbst noch ein ausreichend großes konjugiertes System, womit die Möglichkeit besteht weitere Photonen zu absorbieren und Folgereaktionen auftreten können. Dennoch ist dieser *ladder-switch* (Leiter-Wechsel) Mechanismus mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Prozess, der zur Bildung des Fragments  $m/z 236$  beiträgt.



**Abbildung 5.7.:** Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale von *o*-Ethylrot (**5**) bei einer Leistung des Argon-Ionen-Lasers von  $P = 2.0$  W.

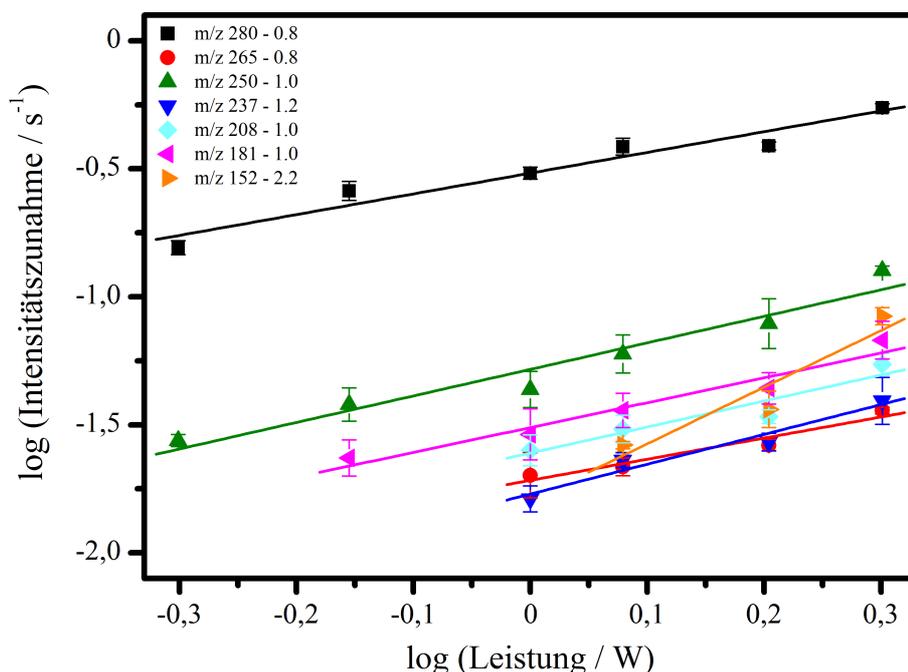
Weiterführend ist interessant, ob die Einstrahlzeit des verwendeten Lasers einen Einfluss auf die Fragmentierung von *o*-Ethylrot (**5**) besitzt. Für die verwendete Leistung von  $P = 2.0$  W des Argon-Ionen-Lasers sind die normierten Intensitäten der wichtigsten Signale des PD-Massenspektrums bei variiertem Einstrahlzeit in Abbildung 5.7 dargestellt. Teil (b) dieser Abbildung zeigt die Signale, die durch die Fragmentierung der Diethylaminogruppe entstehen. Hierzu zählt unter anderem das Fragment *m/z* 265, das bei ca. 0.1 s die maximale Intensität zeigt. Bis zu dieser Einstrahlzeit nimmt die Fragmentintensität zu, während bei längeren Anregungszeiten ein exponentieller Abfall des Signals beobachtet werden kann. Dieser Verlauf spricht

für eine aus diesem Fragment stammende Konsekutivreaktion, zu denen auch die Abspaltung eines Ethylradikals zählt, was zuvor gezeigt wurde. Das Auftreten eines Ethylradikalverlustes aus dem Molekülion oder in Kombination mit der Wasserabspaltung kann zu keiner der untersuchten Einstrahlzeiten beobachtet werden. Das Fehlen dieses Fragments ist konsistent mit den zuvor beschriebenen Untersuchungen zu der Ethylradikalabspaltung. Diese ist mit den verwendeten experimentellen Methoden nicht zugänglich.

Die Abhängigkeit der Signalintensitäten von der Einstrahlzeit wurde für *o*-Ethylrot (**5**) bei unterschiedlichen Leistungen untersucht. Im Anhang sind alle Ergebnisse dazu zusammengestellt (siehe Abbildung C.8 bis Abbildung C.11). Mit Hilfe der Beziehung

$$I \sim P^n \quad (5.1)$$

ist es möglich Rückschlüsse auf die Anzahl der Photonen  $n$  zu ziehen, die für die Bildung eines Fragments der Intensität  $I$  bei der Laserleistung  $P$  nötig sind. Zu diesem Zweck wurden Zeiten betrachtet, bei denen die Intensität ansteigend ist. Die Auftragung des Logarithmus der Intensität gegen den Logarithmus der verwendeten Leistung ergibt demnach eine Gerade deren Steigung der Anzahl der am Prozess beteiligten Photonen entspricht. Für die betrachteten Fragmente von **5** sind die entsprechenden Ergebnisse in Abbildung 5.8 gezeigt. Die Analyse zeigt, dass bis auf das Fragment  $m/z$  152 alle weiteren Fragmente signifikanter Intensität bereits mit Absorption eines Photons gebildet werden können. Auf den ersten Blick widerspricht dieser Befund den berechneten Energien aus den DFT-Rechnungen. Diese Rechnungen gehen jedoch davon aus, dass die betrachteten Moleküle schwingungslos im ionischen Grundzustand vorliegen. Im Gegensatz dazu besitzen die untersuchten Ionen einen Betrag an interner Energie, der sich zu jener Energie addiert, die durch Photonenabsorption aufgenommen wird. Das bedeutet, dass ca. 220 kJ/mol als interne Energie auf die zur Verfügung stehenden Schwingungsfreiheitsgrade verteilt sein müssten. Diese Energie kann durch die Bildung der Ionen im Elektrospray-Prozess, durch Umwandlung von Translationsenergie in interne Energie durch das Zwingen auf eine Kreisbahn im Magneten des FT-ICR-MS oder durch Hintergrundstrahlung in die Moleküle eingebracht werden.[138] Dennoch ist die weitere Initiierung konsekutiver Fragmentierungsreaktionen möglich, auch wenn diese bereits



**Abbildung 5.8.:** Auftragung der logarithmierten Intensitäten der Fragmente von *o*-Ethylrot (**5**) gegen die logarithmierte Leistung des Argon-Ionen-Lasers. Aus der Steigung kann die Anzahl der Photonen bestimmt werden, die für die Bildung des entsprechenden Fragments absorbiert werden.

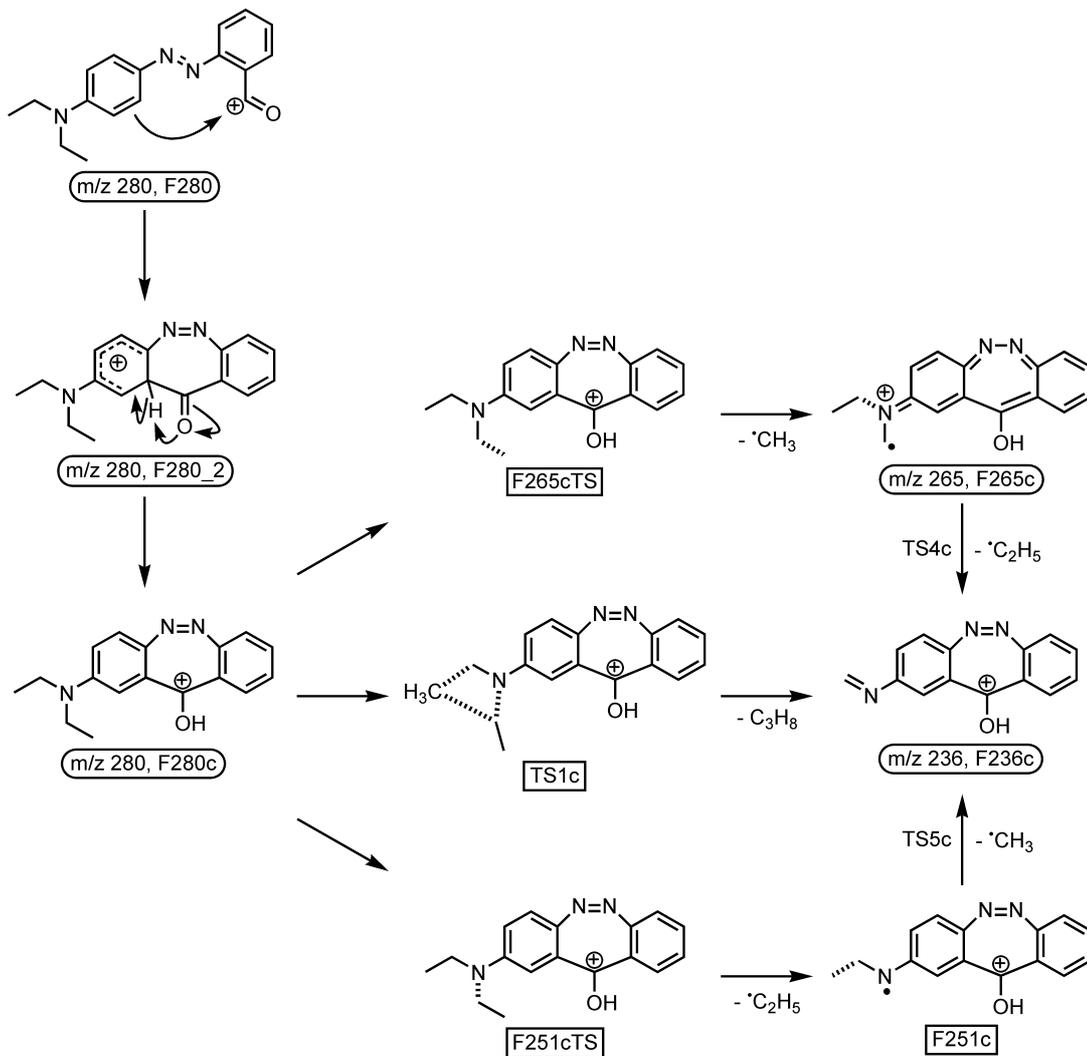
durch Absorption eines Photons auftreten. Dies zeigt u. a. das bereits beschriebene MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektrum des Fragments bei *m/z* 265.

Insgesamt ergibt sich ein stimmiges Gesamtbild zur Fragmentierung der Diethylaminogruppe mit der Abspaltung von C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> begleitet von einem Wasserverlust. Experimentelle Ergebnisse in Kombination mit theoretischen Untersuchungen zeigen, dass die Abspaltung von C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> durch zwei konsekutiv ablaufende Radikalreaktionen zustande kommt. Hierbei wurde gezeigt, dass zwei verschiedene Mechanismen in der Reihenfolge der Abspaltungen von Ethyl- und Methylradikal stattfinden.

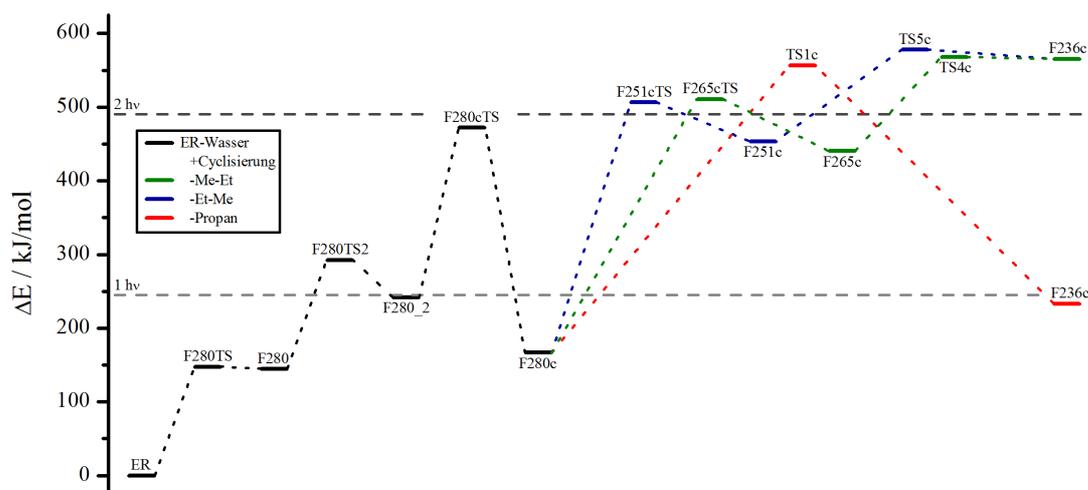
### Cyclisierung des Grundgerüsts bei *o*-Ethylrot

Durch die Position der Carboxygruppe in ortho-Stellung zur Azogruppe des *o*-Ethylrot (**5**) im Vergleich zum *p*-Ethylrot (**3**) eröffnen sich neue Fragmentierungskanäle. Nach der Abspaltung von Wasser aus der Carboxygruppe kann es zur Cyclisierung des Grundgerüsts kommen. In einer intramolekularen Reaktion reagiert der elektro-

5. Carboxyfunktion und Diazen in ortho-Stellung



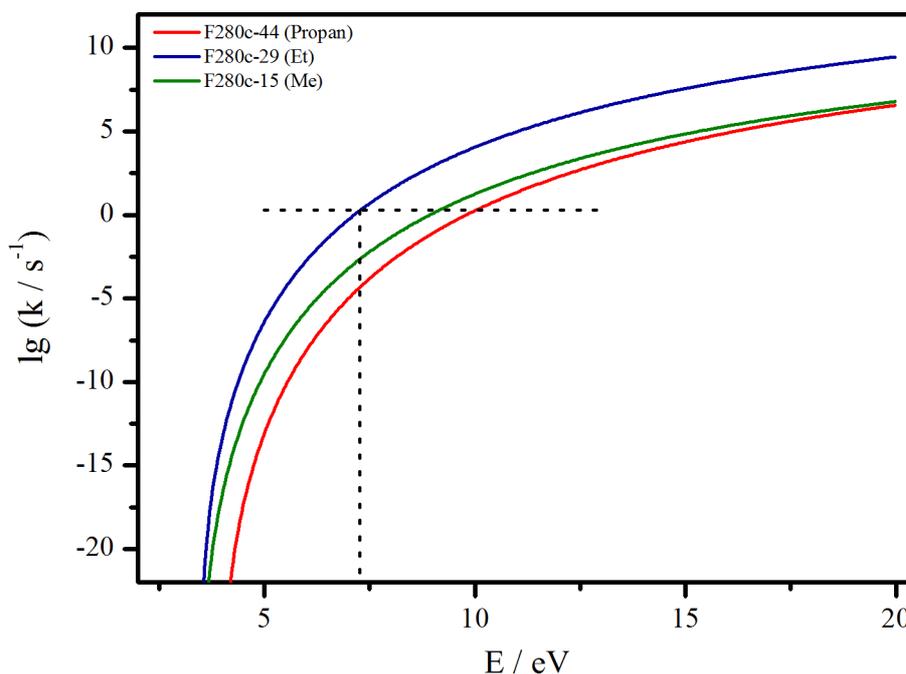
**Schema 5.3:** Reaktionen von *o*-Ethylrot (**5**) nach dem Wasserverlust und der Cyclisierung des Grundgerüsts.



**Abbildung 5.9.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit entsprechenden Produkten und Übergangszuständen zur Fragmentierung der Diethylaminogruppe nach einem Wasserverlust und der Cyclisierung des Grundgerüsts von *o*-Ethylrot (**5**).

nenreiche Phenylring des Anilinteils mit dem elektronenarmen Carboxyrest. Es entsteht ein Siebenring zwischen beiden Phenylteilen, der auch die Azogruppe enthält. Durch diese Reaktion bedingt wird die Aromatizität des Anilinphenyls gebrochen und die Ladung an diesem Ring lokalisiert (F280\_2). Eine anschließende Wasserstoffverschiebung zum Carboxysauerstoff führt zu einer Rearomatisierung und einer Ladungsstabilisierung am Carboxykohlenstoff (F280c). Dieses stabile Kation würde weiterhin bei  $m/z$  280 detektiert werden, weil es die gleiche Masse besitzt wie das Kation, das keiner Cyclisierungsreaktion unterliegt. Das Gleiche gilt für die Folgereaktionen der Diethylaminogruppe. In Schema 5.3 ist die zweistufige Cyclisierung des Grundgerüsts und darauffolgende Fragmentierungsreaktionen der Diethylaminogruppe dargestellt.

Auch für diesen Fall der Cyclisierung des Grundgerüsts können dieselben Reaktionen zur Fragmentierung der Diethylaminogruppe und dem damit folgenden Verlust von  $C_3H_8$  angenommen werden wie für den Fall ohne Cyclisierungsreaktion. Für die dargestellten Reaktionen wurden wiederum die Energien der beteiligten Spezies und der entsprechenden Übergangszustände mit quantenchemischen Methoden berechnet und in Abbildung 5.9 dargestellt. In schwarz ist der Wasserverlust und die folgende zweistufige Cyclisierung gezeigt. Energetisch befinden sich alle beteiligten Reaktionen in einem zugänglichen Bereich. Die Verschiebung des Wasserstoffs



**Abbildung 5.10.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege des Abbaus der Diethylaminogruppe nach dem Wasserverlust und der Cyclisierung des Grundgerüsts von *o*-Ethylrot (**5**).

zur Bildung des stabilen cyclischen Kations stellt dabei die höchste Energiebarriere dar. Die offene (F280) und die cyclische Form (F280c) des Fragments nach der Wasserabspaltung unterscheiden sich in ihrer energetischen Lage lediglich um  $\Delta E = 22$  kJ/mol. Die folgenden Reaktionen zeigen energetisch ein ähnliches Verhalten wie bei der zuvor diskutierten offenen Form. In rot ist wieder die Abspaltung von  $C_3H_8$  über einen cyclischen Übergangszustand (TS1c) in einer konzertierten Reaktion dargestellt. Dieser Übergangszustand ist energetisch günstiger als im vorher diskutierten Fall, dennoch sind insgesamt ca. 550 kJ/mol für diese Reaktion notwendig. Die beiden radikalischen Verluste zeigen für das cyclische Kation nur wenig Unterschiede zum offenen Fall. Außerdem ist der Unterschied des Ethylradikalverlustes in blau und des Methylradikalverlustes (in grün) nur marginal ( $\Delta E = 13$  kJ/mol). Lediglich die Kinetik der Abspaltungsreaktionen des cyclischen Systems zeigt einen Unterschied zu den Reaktionen des Offenen. Die berechneten energieabhängigen Ratenkonstanten sind in Abbildung 5.10 gezeigt. Als kinetisch bevorzugter Prozess ist der Ethylradikalverlust auszumachen (blaue Kurve). Wie bei allen zuvor betrach-

teten Systemen ist auch für das cyclische Fragment  $m/z$  280 die Abspaltung von  $C_3H_8$  in einer konzertierten Fragmentierungsreaktion (rote Kurve) der kinetisch unwahrscheinlichste Prozess. Der Unterschied zu den Radikalabspaltungen ist deutlich geringer. Die Methylradikalabspaltung (grüne Kurve) zeigt eine kleine kinetische Bevorzugung gegenüber der konzertierten Reaktion. Verglichen mit dem Verlust des Ethylradikals ist eine kinetische Hemmung festzustellen.

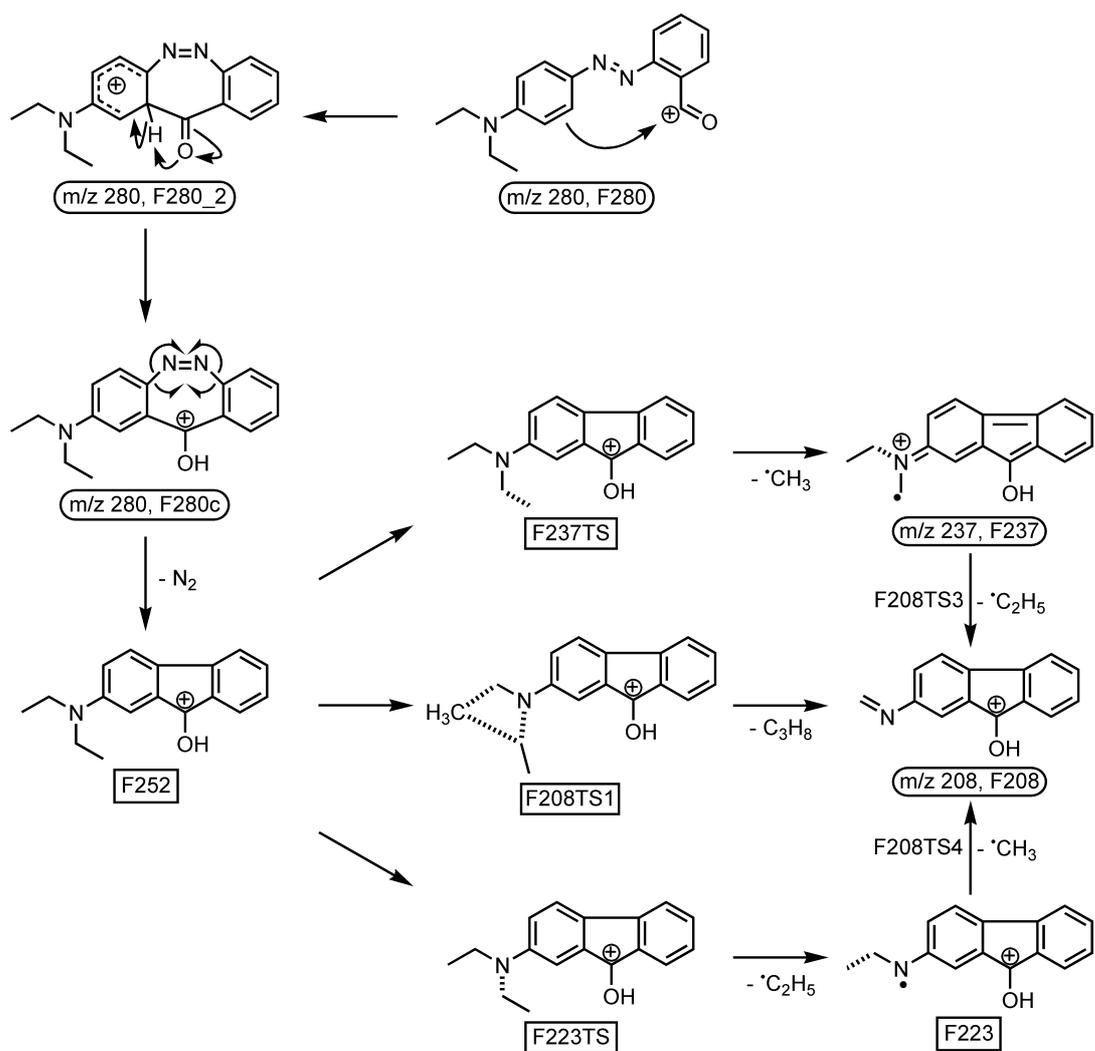
Insgesamt zeigt die Betrachtung der Fragmentierung der Diethylaminogruppe nach einer Cyclisierungsreaktion mit Bildung eines Siebenrings keine Konsistenz mit den erhaltenen experimentellen Ergebnissen. Die Ethylradikalabspaltung ist weder in den  $MS^2$ -Massenspektren (Abbildung 5.1 und Abbildung 5.2) noch im  $MS^3$ -Massenspektrum des Fragments  $m/z$  280 (Abbildung 5.5a) zu beobachten. In allen Spektren kann jedoch ein Methylradikalverlust detektiert werden, der kinetisch gehindert sein sollte. Wird zusätzlich zu diesen Befunden der Intensitätsverlauf des Fragments  $m/z$  280 bei unterschiedlich langer Bestrahlungsdauer mit dem Argon-Ionen-Laser betrachtet (siehe Abbildung 5.7a, türkise Datenpunkte), fällt auf, dass nach einem starken Intensitätsanstieg nur eine langsame Abnahme der Intensität erfolgt. Dies spricht dafür, dass nur ein geringer Teil der Folgeprozesse durch weitere Energieaufnahme dieses Fragments erfolgt. Die Wasserabspaltung kann nicht als isolierbarer, energetisch niedriger Zwischenzustand betrachtet werden, da der überwiegende Teil der zu beobachtenden Fragmentierungsreaktionen viel schneller stattfinden muss. Vielmehr bleibt ein Großteil an interner Energie im Fragment deponiert, was die Initiierung weiterer Fragmentierung bedingt.

### **Cyclisierung und Stickstoffabspaltung bei *o*-Ethylrot**

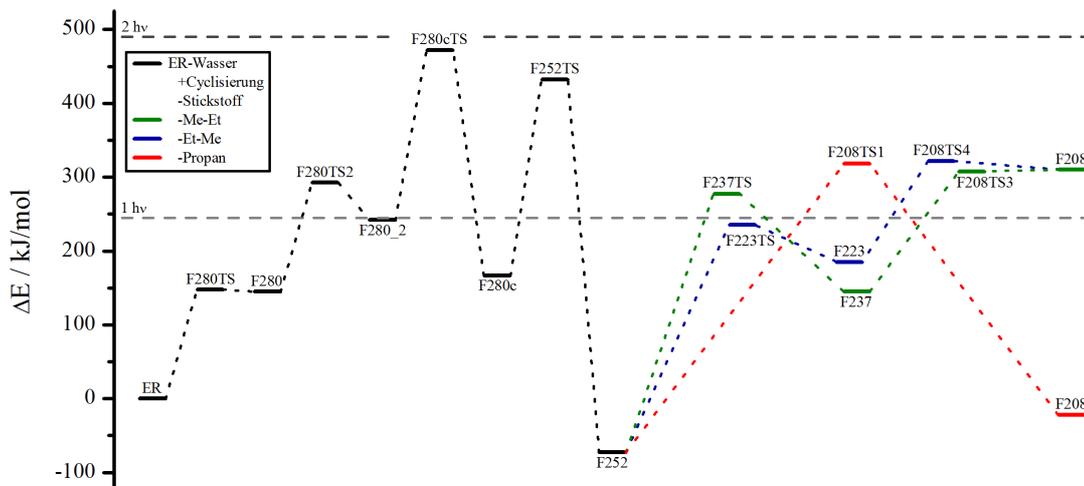
Obwohl die Betrachtungen des vorherigen Abschnittes gegen die Fragmentierung der Diethylaminogruppe nach einer Cyclisierungsreaktion des Fragments  $m/z$  280 sprechen, finden entsprechende Reaktionen des Grundgerüsts bei diesem System statt. Anders sind einige Fragmente in den  $MS^2$ -Massenspektren nicht zu erklären. Dazu zählt z. B. das Fragment bei  $m/z$  152, das der Summenformel  $C_{12}H_8^+$  entspricht und bei beiden verwendeten Methoden zu beobachten ist. Die Konjugation beider Phenylringe und die Abspaltung sämtlicher funktionaler Gruppen ist nur durch zuvor ablaufende Cyclisierungen möglich.

Sehr interessant ist in diesem Zusammenhang das Fragment bei  $m/z$  237 im MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum (siehe Abbildung 5.1). Dieses Fragment entspricht der Abspaltung von Wasser, eines Methylradikals und Stickstoff (N<sub>2</sub>), womit drei Bereiche des *o*-Ethylrot (**5**) an der Bildung dieses Fragments beteiligt sind. Ein konsekutiv ablaufender Prozess von Einzelreaktionen kann jedoch ausgeschlossen werden, da weder das MS<sup>3</sup>-Massenspektrum des Fragments  $m/z$  280 nach dem Wasserverlust noch das des Fragments  $m/z$  265 nach Verlusten von Wasser und eines Methylradikals ein Signal bei  $m/z$  237 aufweisen. In ersterem ist zudem auch keine Abspaltung von Stickstoff zu erkennen, was darauf hindeutet, dass die Bildung dieses Fragments über nahezu parallel ablaufende, schnelle Reaktionen erfolgt. Eine Abspaltung von Stickstoff aus der Mitte des Grundgerüsts von **5** muss demnach mit einer Cyclisierung des Systems einhergehen, damit die verbleibenden Strukturen miteinander verbunden bleiben. Die weitere Untersuchung des Fragments  $m/z$  237 zeigt die Folgeabspaltung eines Ethylradikals, wie im MS<sup>3</sup>-Massenspektrum des Fragments in Abbildung 5.5d zu erkennen ist. Dies zeigt, dass erneut die Fragmentierung der Diethylaminogruppe und damit die Abspaltung von C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> über einen radikalischen Fragmentierungsmechanismus bevorzugt ist.

Für eine genauere Betrachtung wurde der Fragmentierungsprozess in einzelne Reaktionen aufgeteilt, so dass nach der Wasserabspaltung die Cyclisierung des Grundgerüsts in einer zweistufigen Reaktion erfolgt und im letzten Schritt Stickstoff aus der Azogruppe eliminiert wird. Darauf folgt die Fragmentierung der Diethylaminogruppe, bei der wieder unterschiedliche Möglichkeiten diskutiert werden. In Schema 5.4 sind diese Reaktionen dargestellt. Dabei verläuft die Wasserabspaltung mit der anschließenden Cyclisierung so wie in den zuvor diskutierten Fällen beschrieben. Durch die Bildung des Siebenrings, der auch die Ladung stabilisiert, entstehen Partialladungen. Wie die DFT-Rechnungen zeigen, sind die beiden Kohlenstoffatome in jeweiliger Nachbarschaft zur Azogruppe partiell negativ. Partiiell positiv geladen sind die beiden Kohlenstoffatome in Nachbarschaft des Carboxykohlenstoffs. Auf diese Weise entsteht ein elektronenziehender Effekt auf beiden Seiten der Azogruppe, wodurch beide Kohlenstoff-Stickstoff-Bindungen geschwächt werden. Mit einhergehender Schwingungsanregung wird die Azogruppe aus der Ebene bewegt. Doppelte homolytische Bindungsspaltung ergibt zwischen den beiden Kohlenstoffatomen eine neue Bindung und ein neutrales Stickstoffmolekül wird freigesetzt. Das entstehende Fluorenolkation ist im Folgenden die Ausgangsbasis der Fragmentie-



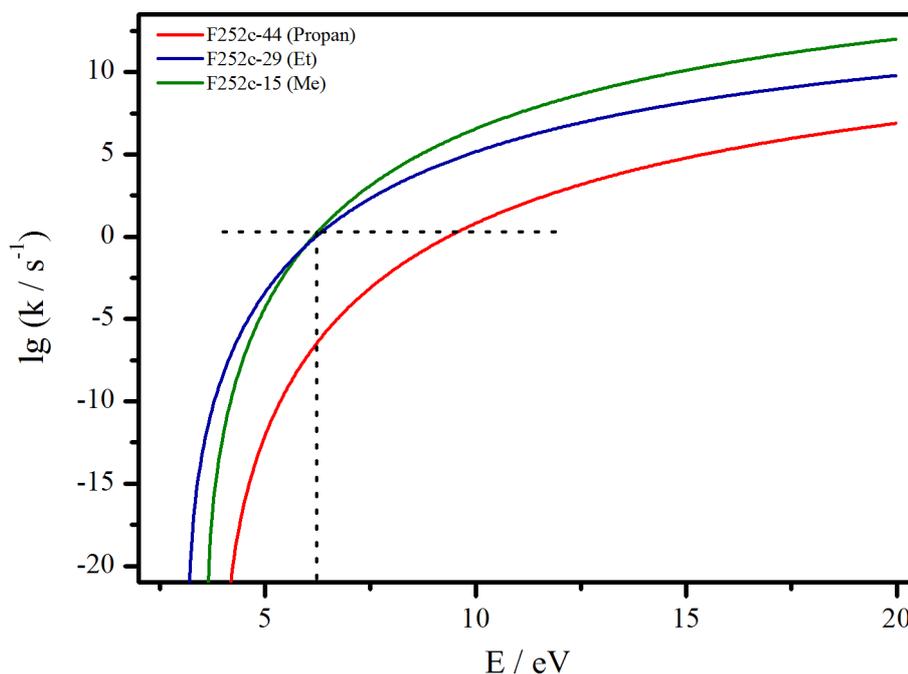
**Schema 5.4:** Reaktionen von *o*-Ethylrot (5) nach dem Wasserverlust über eine Cyclisierung des Grundgerüsts und Stickstoffabspaltung.



**Abbildung 5.11.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit entsprechenden Produkten und Übergangszuständen zur Fragmentierung der Diethylaminogruppe nach einem Wasserverlust, der Cyclisierung des Grundgerüsts und Stickstoffabspaltung von *o*-Ethylrot (**5**).

zung der Diethylaminogruppierung, auch wenn kein Signal dieser Spezies in den Massenspektren zu beobachten ist. Abbildung 5.11 zeigt die berechneten Energien der beschriebenen Reaktionsschritte mit entsprechenden Übergangszuständen. Dabei ist zu erkennen, dass das System nach der Wasserabspaltung, der Cyclisierung des Grundgerüsts und der Stickstoffabspaltung energetisch günstiger ist als das protonierte *o*-Ethylrot (**5**). Das Bemerkenswerte hierbei ist, dass massenspektrometrische Fragmentierungsreaktionen in den meisten Fällen endotherm verlaufen. Auf Grund der erreichbaren Übergangszustände handelt es sich bei der Stickstoffabspaltung um eine Reaktion, die das System bevorzugt durchführt. Die Cyclisierung ist auch auf der anderen Seite des Moleküls möglich. In diesem Fall ist die Bildung einer sechsgliedrigen Benzo(*c*)cinnolin-Struktur zu erwarten, die beide Phenylsysteme verbindet. Diese Reaktion wird an einem späteren Punkt in diesem Abschnitt besprochen.

Die Fragmentierung der Diethylaminogruppe mit dem Verlust von  $C_3H_8$  steht auch im Fall einer Cyclisierung des Grundgerüsts mit einhergehender Stickstoffabspaltung im Mittelpunkt der Untersuchungen. Wieder gibt es drei Möglichkeiten, wie es zu dieser Abspaltung kommen kann. Im PD-Massenspektrum (Abbildung 5.1) ist mit dem Signal  $m/z$  237 ein radikalischer Verlust einer Methylgruppe zu beobachten.



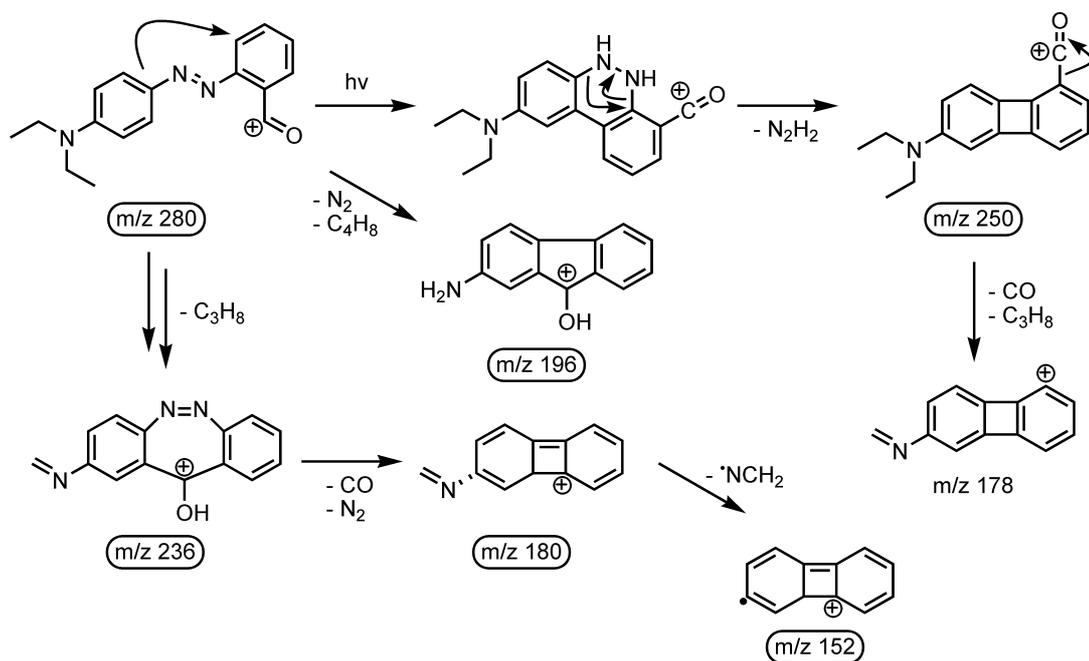
**Abbildung 5.12.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege des Abbaus der Diethylaminogruppe nach dem Wasserverlust, der Cyclisierung des Grundgerüsts und Stickstoffabspaltung von *o*-Ethylrot (5).

Im Energiediagramm in Abbildung 5.11 stellt diese Reaktion das günstigste radikalische Zwischenprodukt dar (grüner Reaktionspfad, F237). Im Vergleich zu einer Ethylradikalabspaltung (blauer Reaktionspfad), die nicht im Spektrum zu beobachten ist, liegt der Übergangszustand der Methylradikalabspaltung (F237TS) jedoch höher. Beide Reaktionen liegen eng beieinander und auch die Folgereaktionen mit beiden Übergangszuständen (F208TS3 und F208TS4) zur Bildung eines Gesamtverlustes von  $C_3H_8$  unterscheiden sich in der energetischen Lage kaum. Ebenfalls in diesem Bereich des Energiediagramms befindet sich die konzertierte Reaktion zur Abspaltung von  $C_3H_8$  in einer Reaktion über einen cyclischen Übergangszustand (roter Reaktionspfad, F208TS1). Somit sind unter energetischen Gesichtspunkten alle drei Reaktionen zur Bildung des Fragments  $m/z$  208 möglich. Durch die Betrachtung der Kinetik der unterschiedlichen Prozesse lassen sich dennoch starke Unterschiede herausstellen. Dazu sind in Abbildung 5.12 die berechneten energieabhängigen Ratenkonstanten der betrachteten Fragmentierungsreaktionen dargestellt. Dabei ist zu erkennen, dass die beiden Kurven der radikalischen Fragmentierungsreaktionen

(blau und grün) einen Schnittpunkt besitzen, der genau in dem Zeitbereich liegt, der mit dem verwendeten FT-ICR-MS zugänglich ist. Dies spricht dafür, dass beide Reaktionen ablaufen und auch zu detektieren sein sollten. Wie schon weiter oben diskutiert, kann das Fehlen der Ethylradikalabspaltung durch einen *ladder-switch* Mechanismus erklärt werden. Das entstehende Fragment nimmt noch während der Anregung weitere Energie auf, was zu einer schnellen Folgereaktion und in diesem Fall zur Bildung des Fragments  $m/z$  208 führt. Demgegenüber steht ein durch Methylradikalabspaltung gebildetes stabiles Fragment bei  $m/z$  237, das in den MS<sup>3</sup>-Untersuchungen eindeutig eine Ethylradikalabspaltung als Folgereaktion zeigt. Die Bildung dieses Fragments durch einen *absorption-multi-step fragmentation* Mechanismus führt zu dessen längerer Lebensdauer. Kinetisch gehemmt, wie in allen zuvor diskutierten Fällen, ist die konzertierte Fragmentierungsreaktion (rote Kurve). Somit kann angenommen werden, dass auch nach der Cyclisierung des Grundgerüsts von o-Ethylrot (**5**) die Fragmentierung der Diethylaminogruppe über radikalische Fragmentierungsmechanismen verläuft.

Neben der Fragmentierung der Diethylaminogruppe, die für o-Ethylrot (**5**) auf vielfältige Weise auftritt, gibt es noch weitere Fragmentierungsreaktionen. Die Wichtigsten sind in Schema 5.5 gezeigt. Allen gemeinsam ist die Tatsache, dass beide Phenylringe des Grundgerüsts aneinander gebunden bleiben. Fragmente, die durch Bindungsspaltungen zwischen Azogruppe und Phenylringen entstehen, sind hier die absolute Ausnahme. Auffällig ist hierbei ein intensives Fragment im MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum bei  $m/z$  250, das unter Stoßbedingungen nicht auftritt. Es entspricht dem kombinierten Verlust von Wasser und N<sub>2</sub>H<sub>2</sub>. Eine Erklärung für das Auftreten dieses Fragments ist eine Cyclisierungsreaktion auf der anderen Seite des Moleküls als zuvor unter Einbeziehung des Carboxykohlenstoffs. Diese Fragmentierungsreaktion lässt sich auf eine interessante Eigenschaft von Azoverbindungen zurückführen, dem Schalten zwischen trans- und cis-Isomer. Die Anregung mit Photonen im UV/Vis-Bereich kann zur Isomerisierung von der trans- in die cis-Konformation führen.[139, 140] Die Rückreaktion zur thermodynamisch stabileren trans-Form geschieht thermisch. Das erklärt, warum unter Stoßbedingungen keine Bildung von Fragment  $m/z$  250 beobachtet werden kann. Nach der Isomerisierung in die cis-Konfiguration kann eine Bindung zwischen den beiden angenäherten Kohlenstoffatomen der beiden Phenylringe gebildet werden. Zwei prototrope Wasser-

stoffverschiebungen zu jeweils einem Stickstoffatom führen zu einer stabilen Verbindung.[141] Aus diesem Zwischenprodukt ist die Abspaltung von  $\text{N}_2\text{H}_2$  als neutrales Molekül möglich. Bei der gebildeten Biphenylstruktur handelt es sich um ein sehr stabiles Fragment. Abbildung 5.5c zeigt das  $\text{MS}^3$ -PD-Massenspektrum des Fragments bei  $m/z$  250, in dem keine Folgereaktionen erkannt werden können. Diese Beobachtung ist konsistent mit dem Intensitätsverlauf bei variiertes Einstrahlzeit des Lasers. Dort ist zu erkennen, dass die normierte Intensität des Fragments über den gesamten untersuchten Bereich zunimmt, was gegen weitere photoinduzierte Reaktionen spricht. Ein Grund hierfür kann die veränderte Struktur des Fragments im Vergleich zum Molekülion sein. Eventuell ist keine weitere Absorption in dem verwendeten Wellenlängenbereich möglich. Ein weiteres Fragment, das in den PD-Massenspektren mit signifikanter Intensität detektiert wird, befindet sich bei  $m/z$  196. Wie schon das Fragment  $m/z$  250 tritt auch dieses nicht nach Stoßaktivierung auf und kann damit auch auf Effekte der Photoanregung zurückgeführt werden. Der Bildung des Fragments  $m/z$  196 kann auf Grund des guten Massenaufklärungsvermögens die Abspaltung von Wasser, Stickstoff ( $\text{N}_2$ ), und  $\text{C}_4\text{H}_8$  zugeordnet werden. Die wahrscheinlichste Möglichkeit zur Abspaltung von  $\text{C}_4\text{H}_8$  ist daher der Fall eines doppelten Ethenverlustes. Das ist insofern überraschend, dass in keinem der zuvor diskutierten Spektren der Diethylamino-Verbindungen ein Verlust von Ethen beobachtet werden konnte, der hier sogar doppelt auftritt. Zur Bildung dieses Fragments kann wieder von einer initiierenden Wasserabspaltung und nachfolgender Cyclisierung mit einhergehendem Stickstoffverlust ausgegangen werden, wie es in Schema 5.4 links dargestellt ist. An dieser Stelle muss es einen Unterschied zur Bildung der Abspaltung von  $\text{C}_3\text{H}_8$  aus der Diethylaminogruppe im Gegensatz zur Abspaltung von  $\text{C}_4\text{H}_8$  geben. Zuvor wurde gezeigt, dass  $\text{C}_3\text{H}_8$  in konsekutiven Radikalreaktionen abgespalten wird. Die Abspaltung eines Ethylradikals ist dabei ein entscheidender Punkt. Wenn das entstehende Ethylradikal und das gebildete Kation nicht direkt voneinander getrennt werden, so dass schnelle Folgereaktionen aus diesem möglich werden, kommen auch andere Fragmentierungsreaktionen in Betracht. Dabei muss es nach der Ethylradikalabspaltung zur Bildung eines Ion/Molekül-Komplexes kommen. Dadurch ist die schnelle Wasserstoffübertragung zurück auf das Kation möglich, wodurch ein neutrales Ethenmolekül und ein geradzahliges Kation entsteht. Als Zwischenprodukt entsteht hierbei eine Monoethylamino-Spezies. Diese Spezies begünstigt wiederum die nächste Ethylradikalabspaltung, wieder wird ein Ion/Molekül-Komplex



**Schema 5.5:** Weitere Reaktionen von o-Ethylrot (**5**) nach der Cyclisierung des Grundgerüsts.

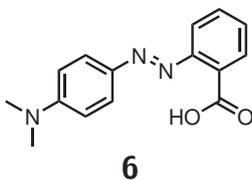
gebildet und Ethen abgespalten. Auf diese Weise entsteht bei m/z 196 ein stabiles Aminofluorenolkation. Weitere Fragmente treten in der Regel bei beiden Fragmentierungsmethoden auf. Dazu zählen die intensiv auftretenden Signale bei m/z 181, m/z 180, m/z 178 und m/z 152. All diese Spezies sind durch weitere Abspaltungen aus den noch vorhandenen funktionellen Gruppen zu erklären. Dazu zählen vor allem die Verluste von Kohlenstoffmonoxid, Cyanwasserstoff oder eines Methaniminradikals. Interessanterweise nehmen in den PD-Untersuchungen die Intensitäten der radikalischen Fragmente m/z 181 und m/z 152 mit längerer Bestrahlungszeit immer weiter zu (siehe Abbildung 5.7c). Das zeigt, dass es sich bei diesen Radikalkationen um sehr stabile Spezies handelt. Diese Fragmentierungen sind für eine große Zahl von Biphenylverbindungen bereits in der Literatur bekannt.[142] Daher wird auf die genauere Bildung dieser Fragmente nicht weiter eingegangen.

### 5.1.3. Zusammenfassung *o*-Ethylrot

Die Untersuchung des Fragmentierungsverhaltens von *o*-Ethylrot (**5**) zeigt sehr interessante Ergebnisse. Diese beziehen sich vor allem auf das Fragmentierungsverhalten der Diethylaminogruppe mit einem Verlust von  $C_3H_8$ . Alle Massenspektren dieser Verbindung zeigen eine starke Wasserabspaltung, die auch das gesamte Fragmentierungsverhalten dominiert. So treten sämtliche Abspaltungen als Kombinationsverluste zusammen mit Wasser auf. Bezüglich des Verlustes von  $C_3H_8$  aus der Diethylaminogruppe kann gezeigt werden, dass diese Abspaltung durch einen konsekutiven Fragmentierungsmechanismus über zwei radikalische Fragmentierungsreaktionen sehr wahrscheinlich ist. Des Weiteren ist dieser Verlust nicht nur in Kombination mit Wasser, sondern auch mit einem zusätzlichen Verlust von Stickstoff ( $N_2$ ) zu beobachten. Dies zeigt, dass eine Cyclisierung des Grundgerüsts stattfindet. Der Mechanismus des Verlustes von  $C_3H_8$  ändert sich dadurch nicht. Die Kombination der experimentellen massenspektrometrischen Methoden mit den theoretischen Untersuchungen zur Energetik und Kinetik der Fragmentierungsreaktionen lässt eine gute Aufklärung der beteiligten Mechanismen zu. Die Ergebnisse decken sich zudem mit denen von Ethylgelb (**1**) und *p*-Ethylrot (**3**), die Ähnlichkeiten in der Fragmentierung der Diethylaminogruppe zeigen. Eine der wichtigsten Erkenntnisse dieser Untersuchungen ist, dass der Verlust von  $C_3H_8$  aus dieser funktionellen Gruppe mit einem konzertierten Fragmentierungsmechanismus für dieses System nicht möglich ist. Diese Möglichkeit ist bislang als Konkurrenzprozess zum radikalischen Mechanismus in Betracht gezogen worden. Mit der Untersuchung des *o*-Ethylrot (**5**) gelingt erstmals eine Unterscheidung und eindeutige Zuordnung des ablaufenden Fragmentierungsmechanismus.

Die Ergebnisse des *o*-Ethylrots (**5**) ergeben unterschiedliche Fragmentierungskanäle der Diethylaminogruppe, deren Systematik weiter untersucht wird. Im Fokus steht dabei die Kettenlänge der Alkylketten an der Aminofunktion der Verbindungen. Weiterhin befindet sich die intensive Abspaltung von Wasser, die Fragmentierungswege der Aminogruppe nach einer möglichen Cyclisierung und die Fragmentierungen aus *cis*-/*trans*-Isomerisierungen im Interesse dieser Untersuchungen. Zu diesem Zweck werden in den nachfolgenden Abschnitten die Ergebnisse der Untersuchungen zu den beiden Substanzen *o*-Methylrot (**6**) und *o*-Propylrot (**7**) vorgestellt.

## 5.2. Dissoziationsreaktionen von o-Methylrot



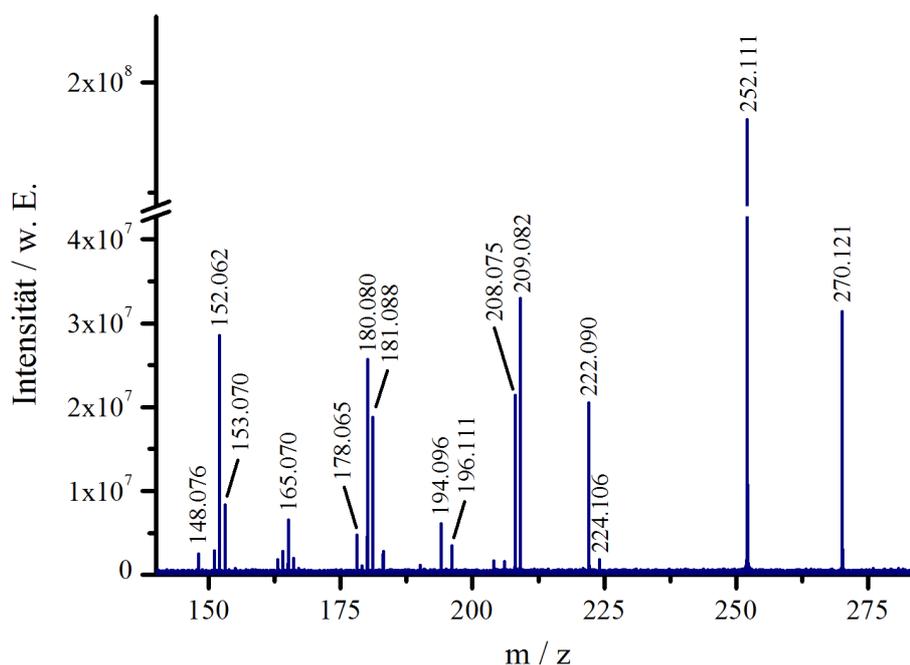
**Schema 5.6:** Struktur von o-Methylrot (**6**).

o-Methylrot (**6**) ist der Trivialname zu der Verbindung, die nach IUPAC als 2-(4'-Dimethylamino-phenylazo)-benzoesäure bezeichnet wird. Diese Substanz ist eine der gebräuchlichsten Säure/Base Indikatoren. Entscheidende ist dabei die Eigenschaft des Farbwechsels von gelb nach rot bei einem pH-Wert von 4.4. Der Farbwechsel ist mit der Struktur in Lösung zu begründen. Bei pH-Werten kleiner 4.4 liegt die Verbindung protoniert vor und ist rot. Ist der pH-Wert größer als der Umschlagspunkt liegt das Molekül deprotoniert vor und ist gelb.

Des Weiteren stellt o-Methylrot (**6**) eine interessante Verbindung für die Massenspektrometrie dar. Strukturell (siehe Schema 5.6) unterscheidet sich diese Verbindung nur in den kürzeren Methylsubstituenten an der Aminogruppe zu dem im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen o-Ethylrot (**5**), die ein nicht zu erwartendes Fragmentierungsverhalten zeigt. Dieser Einfluss soll hier untersucht werden. Dabei zählt das o-Methylrot (**6**) zu einer der wenigen Verbindungen, deren Fragmentierung bereits in der Literatur beschrieben wurde. Als Methoden kamen dabei SIMS [122], PDMS [123] und FAB [143] zum Einsatz. Untersuchungen zum Fragmentierungsverhalten von **6** gibt es im negativen Modus mit LMMS.[144] Nach Ionisierung mit ESI und späterer Nachaktivierung sind bislang keine Beschreibungen der Fragmentierungsreaktionen bekannt. Im Folgenden wird dieses protonierte Molekülkation sowohl mit Photodissoziation als auch Stoßaktivierung untersucht.

### 5.2.1. Fragmentierung von o-Methylrot

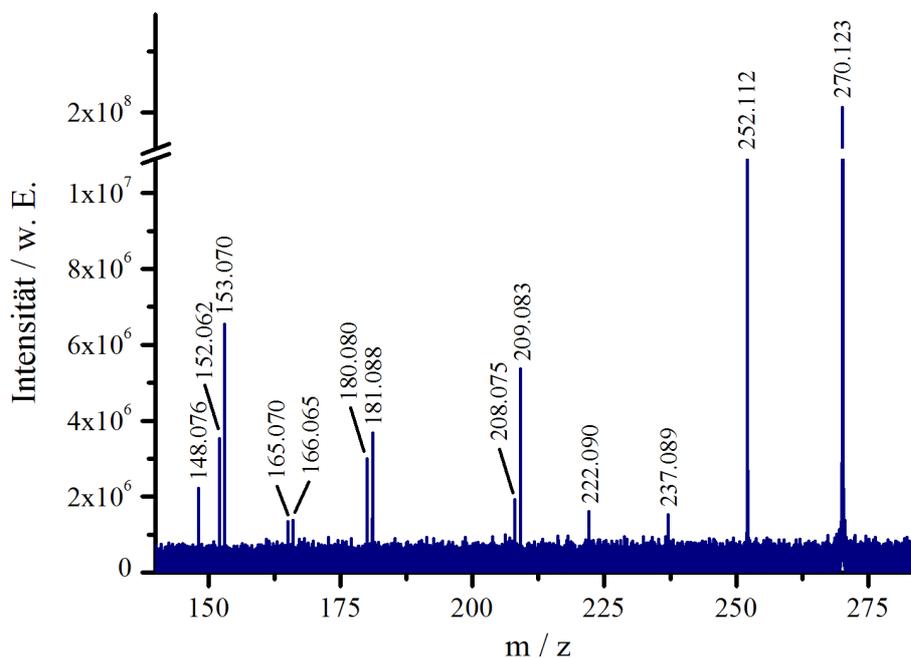
Das MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von o-Methylrot (**6**) ist in Abbildung 5.13 dargestellt. Dieses zeigt eine große Anzahl an Fragmenten. Verglichen mit dem MS<sup>2</sup>-SORI-CID-Massenspektrum, das in Abbildung 5.14 gezeigt ist, ergeben sich nur geringe Unterschiede. Die Zuordnung der Fragmente und die Summenformeln der Abspaltungen



**Abbildung 5.13.:** MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von *o*-Methylrot (**6**) mit Argon-Ionen-Laser bei einer Leistung von  $P = 1.0$  W.

sind für beide verwendeten Methoden im Anhang in Tabelle B.14 und in Tabelle B.15 zusammengefasst. Auf Grund der ähnlichen Struktur zu *o*-Ethylrot (**5**) können auch im Vergleich zu den Spektren dieser Verbindung viele Gemeinsamkeiten ausgemacht werden.

Ein wichtiger Punkt ist, dass die Wasserabspaltung (exp.: 18.011 Da, theor.: 18.011 Da) bei  $m/z$  252 in beiden Spektren sehr intensiv zu beobachten ist. Diese Abspaltung ist ebenso wie bei *o*-Ethylrot (**5**) sehr dominierend. Alle weiteren Verluste treten wieder in Kombination mit diesem Verlust von Wasser auf. Das Fragment bei  $m/z$  237 tritt nur nach Stoßaktivierung auf. Dieses entspricht den Verlusten von Wasser und einem Methylradikal (exp.: 33.034 Da, theor.: 33.034 Da). Das PD-Spektrum zeigt dieses Signal nicht. Beiden Spektren gemein ist dann wieder das Auftreten der Signale  $m/z$  222,  $m/z$  209 und  $m/z$  208, die mit unterschiedlicher absoluter Intensität aber in der gleichen Intensitätsverteilung zu beobachten sind. Diese drei Fragmente entsprechen Verlusten von Wasser und N<sub>2</sub>H<sub>2</sub> (exp.: 48.032 Da, theor.: 48.032 Da), Wasser zusammen mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) und einem Methylradikal (exp.: 61.040 Da, theor.: 61.040 Da), sowie Wasser, Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Methan (exp.: 62.047 Da, theor.: 62.048 Da). Mit geringer Intensität ist im PD-Massenspektrum



**Abbildung 5.14.:** MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von o-Methylrot (**6**) nach SORI-CID-Anregung mit Argon als Stoßgas.

ein Fragmentensignal bei  $m/z$  224 zu erkennen, das dem Verlust von Wasser und Stickstoff (exp.: 46.015 Da, theor.: 46.017 Da) entspricht. Das Fehlen dieses Fragments im SORI-CID-Massenspektrum kann mit der allgemein geringeren Intensität der Fragmente oder aber damit begründet werden, dass dieser Reaktionskanal unter Stoßaktivierung nicht zur Verfügung steht. Ebenfalls nur unter PD-Bedingungen können die beiden Signale bei  $m/z$  194 und  $m/z$  196 beobachtet werden. Diese entstehen durch Abspaltungen von Wasser, Kohlenstoffmonoxid und Stickstoff ( $N_2$ ) (exp.: 74.009 Da, theor.: 74.012 Da) bzw.  $N_2H_2$  (exp.: 76.025 Da, theor.: 76.027 Da). Beide Fragmente besitzen demnach weiterhin eine intakte Dimethylaminogruppe. Alle weiteren Fragmentensignale, die mit signifikanter Intensität detektiert werden, treten sowohl nach Photodissoziation als auch nach Stoßaktivierung und häufig paarweise auf. Ein solches Paar sind die Fragmente bei  $m/z$  181 und  $m/z$  180. Die Abspaltungen, die zu diesen beiden Fragmenten führen, sind dieselben wie bei den Fragmenten  $m/z$  209 und  $m/z$  208 mit jeweils dem zusätzlichen Verlust von Kohlenstoffmonoxid. (exp.: 89.033 Da, theor.: 89.035 Da und exp.: 90.040 Da, theor.: 90.043 Da). Mit dem weiteren Verlust eines Methaniminradikals ( $CH_2N\cdot$ , exp.: 117.051 Da, theor.: 117.054 Da und exp.: 118.058 Da, theor.: 118.062 Da) werden die Fragmente bei  $m/z$  153 und

$m/z$  152 gebildet. Ein Fragment sticht aus der gesamten Systematik heraus. Das ist das Signal, das bei  $m/z$  148 detektiert wird. Wegen des guten Auflösungsvermögens und der Massengenauigkeit kann diesem Fragment eine Summenformel von  $C_9H_{10}NO^+$  zugeordnet werden, was der Abspaltung von  $C_6H_6N_2O$  (exp.: 122.047 Da, theor.: 122.048 Da) entspricht. Die Bildung dieses und auch die Mechanismen zur Bildung der weiteren Fragmente werden im nachfolgenden Abschnitt diskutiert.

### 5.2.2. Mechanistische Betrachtungen zu *o*-Methylrot

Das *o*-Methylrot (**6**) zeigt wie schon zuvor das *o*-Ethylrot (**5**) eine sehr intensive Abspaltung von Wasser aus dem protonierten Molekül. Der Mechanismus dieser Abspaltung wurde zuvor schon beschrieben und soll an dieser Stelle verifiziert werden. Zu diesem Zweck wurde das verwendete Lösungsmittelgemisch nicht mit gewöhnlichem Wasser, sondern mit Deuteriumoxid ( $D_2O$ ) angesetzt. Die Ionisierung muss hierbei mit der Übertragung eines Deuterons einhergehen, da diese weit im Überschuss vorliegen. Das erhaltene Massenspektrum liefert ein intensives Signal bei  $m/z$  272. Bei der Verbindung handelt es sich um *o*-Methylrot- $d_2$ . Das zweite Deuteriumatom muss demnach aus einem Austauschprozess in Lösung stammen. Diese Reaktion ist bei **6** nur an der Carboxygruppe möglich, an der ein Wasserstoffatom gegen ein Deuteriumatom ausgetauscht wird. Abbildung 5.15 zeigt das  $MS^2$ -SORI-CID-Massenspektrum. Dieses zeigt neben dem Molekülsignal (exp.:  $m/z$  272.135, theor.:  $m/z$  272.136) nur ein einziges Fragment bei  $m/z$  252. Das Fragmentensignal entsteht durch den Verlust von  $D_2O$  (exp.: 20.023 Da, theor.: 20.023 Da) aus dem Molekülion. Dies zeigt eindeutig, dass an der Wasserabspaltung die Wasserstoffatome aus dem Ionisierungsprozess und der Carboxygruppe beteiligt sind. Ein Auswaschen des Labels oder andere gemischte Abspaltungen sind nicht zu erkennen. Also gibt es keine versteckten Wasserstoffwanderungen über das Grundgerüst hinweg. Die Protonierung muss in unmittelbarer Nähe zur Carboxygruppe stattfinden. Hier ist die Azogruppe der wahrscheinlichste Ort, womit die Abspaltung von Wasser energetisch und kinetisch begünstigt möglich ist.

Ein weiteres Experiment zur Aufklärung der Wasserabspaltung ist der geringe Zusatz von Natriumchlorid zur Analytlösung. Die erwartete Spezies  $[M+Na]^+$  tritt dabei nur in geringer Intensität auf. Jedoch ist ein Signal mit signifikanter Intensität bei  $m/z$  561 zu beobachten. Dieses entspricht einem Cluster von zwei *o*-Methylrot Mole-

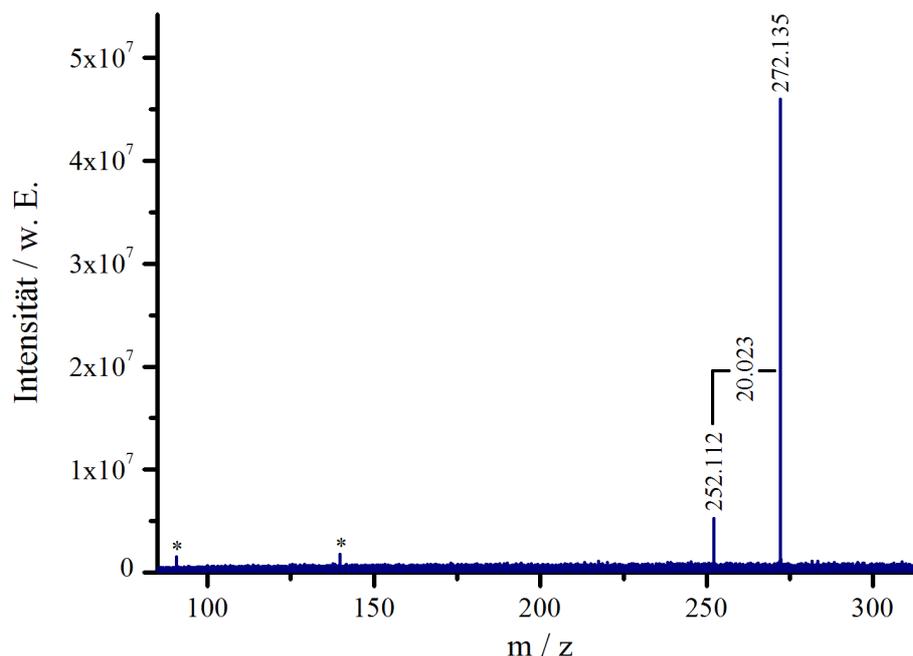
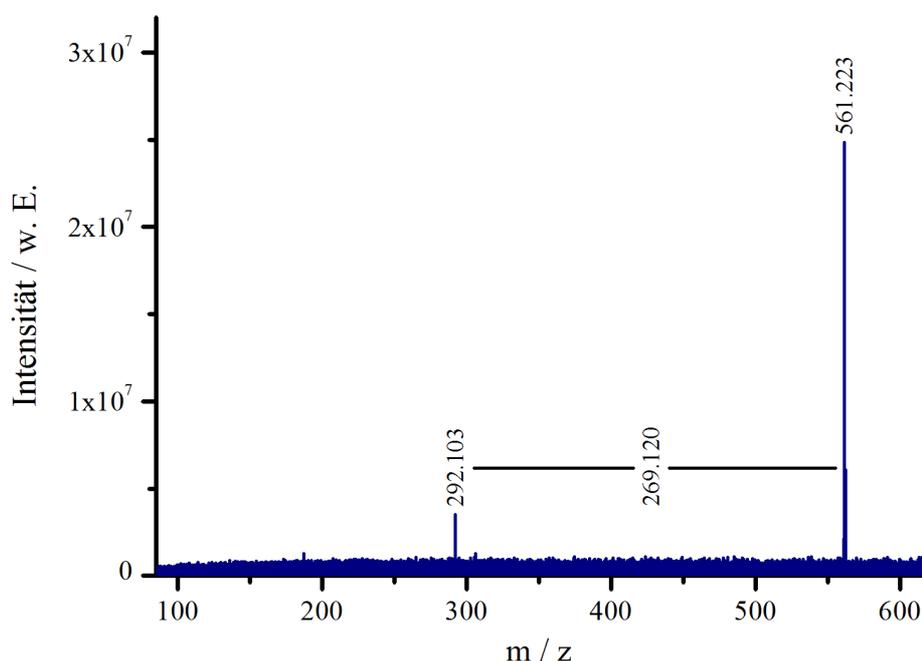


Abbildung 5.15.: MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von o-Methylrot-d<sub>2</sub> nach SORI-CID-Anregung mit Argon als Stoßgas.

külen und einem Natriumkation,  $[2M+Na]^+$  (exp.:  $m/z$  561.223, theor.:  $m/z$  561.222). In Abbildung 5.16 ist das MS<sup>2</sup>-SORI-CID-Massenspektrum dieses Clusters gezeigt. Auch in diesem Fall ist nur ein Fragment zu beobachten. Bei  $m/z$  292 wird dieses detektiert und entspricht der Spezies  $[M+Na]^+$ . Demnach wird ein neutrales Methylrot Molekül abgespalten (exp.: 269.120 Da, theor.: 269.116 Da). Daher können die Wasserabspaltung betreffend keine weiteren Ergebnisse aus diesem Experiment gezogen werden. Es zeigt dennoch, dass die Bildung eines Zweifachclusters durch den Zusatz von Natriumionen bevorzugt wird, da diese ansonsten nicht zu beobachten sind. Die Abspaltung eines neutralen Moleküls aus diesem Cluster zeigt auch, dass die Koordination sehr wahrscheinlich an einem der beiden Moleküle stattfindet und das zweite über Wasserstoffbrückenbindungen daran gebunden wird. Die Bildung einer Art Käfigsystem aus zwei Molekülen, in dessen Mitte das Natriumkation koordiniert ist, ist eher unwahrscheinlich, da dieser erheblich größer als das zu bindende Kation wäre. Außerdem wären aus einem derartigen Cluster auch kleinere Abspaltungen unter dem Erhalt des Grundsystems des Clusters zu erwarten.

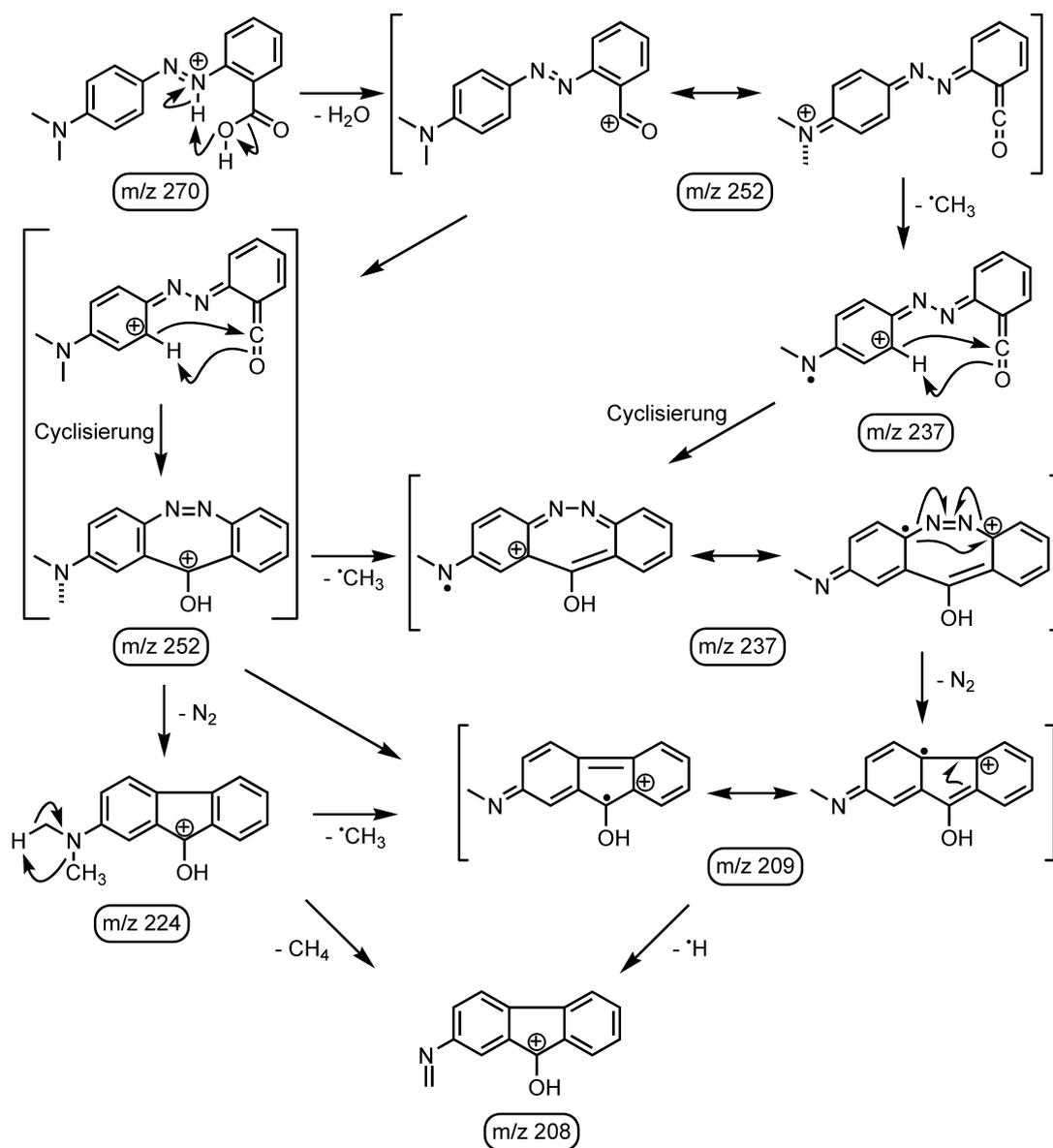
Die Möglichkeit der Abspaltung von 44 Da als C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> besteht beim o-Methylrot (**6**) nicht. Bei der Dimethylaminogruppe ist der Verlust von CH<sub>4</sub> als analoger Prozess



**Abbildung 5.16.:** MS<sup>2</sup>-Massenspektrum des *o*-Methylrot-Clusters [2M+Na]<sup>+</sup> nach SORI-CID mit Argon als Stoßgas.

zu sehen. Wieder sind mehrere Reaktionswege zur Entstehung des Verlustes von Methan vorstellbar. Ein konzertierter Fragmentierungsmechanismus kann ebenso wie konsekutive Fragmentierungsmechanismen zu dieser Abspaltung führen. Für **6** ist die Abspaltung eines Methylradikals mit der eines Ethylradikals aus einer Diethylaminogruppe vergleichbar. Ebenso verhält es sich mit Wasserstoffradikalverlusten, die vergleichbar zu einem Methylradikalverlust wären. Die Reaktionen unter Beteiligung der Dimethylaminogruppe sind in Schema 5.7 gezeigt.

Auffällig ist, dass der Verlust von Wasser in Kombination mit CH<sub>4</sub> weder in noch in Abbildung 5.14 zu beobachten ist. Diese Abspaltung müsste ein Fragment bei *m/z* 236 ergeben. Mit geringer Intensität zeigt das Massenspektrum nach Stoßaktivierung (Abbildung 5.14) ein Signal bei *m/z* 237, was der kombinierten Abspaltung von Wasser und einem Methylradikal entspricht. Wird dieses Fragment als Analogon zu einer Ethylradikalabspaltung bei *o*-Ethylrot (**5**) betrachtet, ist erstaunlich, dass es hier zu beobachten ist. Das Fehlen dieses Fragments bei *m/z* 236 im PD-Massenspektrum (Abbildung 5.13) kann mit schnellen Folgereaktionen erklärt werden. Zudem zeigt auch das MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektrum des Fragments *m/z* 252, das in Abbildung 5.17a dargestellt ist, kein Fragment bei *m/z* 237. Zu erkennen ist in die-



**Schema 5.7:** Fragmentierungsreaktionen von o-Methylrot (**6**), die nach der Abspaltung von Wasser zum Abbau der Dimethylaminogruppe beitragen.

sem MS<sup>3</sup>-Spektrum ein Fragment bei  $m/z$  209, das auch in den MS<sup>2</sup>-Massenspektren mit beiden Fragmentierungsmethoden intensiv zu sehen ist. Dieses entspricht ebenfalls der Abspaltung von Wasser und einem Methylradikal mit dem zusätzlichen Verlust von Stickstoff (N<sub>2</sub>). Auch in diesem Fall ist eine Cyclisierungsreaktionen bei der Fragmentierung der Verbindung entscheidend beteiligt. Die Frage nach der Reihenfolge der einzelnen Reaktionsschritte ist nicht eindeutig zu erklären. Findet die Cyclisierung des Systems als erstes statt, ist die Abspaltung von Stickstoff auch vor dem Verlust eines Methylradikals möglich. Hierbei müsste das Zwischenprodukt bei der Masse  $m/z$  224 auftreten. Das PD-Massenspektrum (Abbildung 5.13) zeigt dieses Signal mit geringer Intensität. Das deutet darauf hin, dass bei der Photo-dissoziation genügend Energie in das System eingebracht werden kann. Somit wird die Cyclisierung und damit die Abspaltung von Stickstoff aus dem Grundgerüst initiiert. Dies belegt auch das MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektrum des Fragments  $m/z$  224 in Abbildung 5.17b, in dem eine Folgereaktion zum Fragment bei  $m/z$  209 zu erkennen ist. Demgegenüber wird bei der Stoßaktivierung weniger Energie pro Stoß übertragen, wodurch die aufgenommene Energie besser umverteilt wird. Das *o*-Methylrot (**6**) verliert dabei zuerst ein Methylradikal. Das entstehende Radikalkation destabilisiert das Ringgerüst einschließlich der Azogruppe, wodurch es zu einer radikalinduzierten Abspaltung von Stickstoff kommt. Auf diese Weise kann das Auftreten des Fragments bei  $m/z$  209 auch nach Stoßaktivierung in Abbildung 5.14 erklärt werden.

Weiterhin tritt neben dem Fragment  $m/z$  209 auch das Fragment bei  $m/z$  208 in beiden MS<sup>2</sup>-Massenspektren auf. Dieses entsteht durch die Abspaltungen von Wasser, Stickstoff und CH<sub>4</sub>. In den Spektren von *o*-Ethylrot (**5**) (siehe Abbildung 5.1 und Abbildung 5.2) ist dieses Fragment ebenfalls zu sehen. Dort wird gezeigt, dass dieses durch einen konsekutiven radikalischen Fragmentierungsmechanismus gebildet wird. Das MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektrum des Fragments  $m/z$  224 aus **6** ist in Abbildung 5.17b dargestellt und zeigt sowohl die Abspaltung eines Methylradikals als auch die eines Methanmoleküls. Dies deutet darauf hin, dass ein konzertierter als auch ein konsekutiver Fragmentierungsmechanismus ablaufen kann. Abbildung 5.17c zeigt das MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektrum des Fragments bei  $m/z$  209. Der Verlust eines Wasserstoffradikals führt zur Bildung des Fragments bei  $m/z$  208 und bestätigt den konsekutiven Reaktionsmechanismus. Somit ist der Verlust von CH<sub>4</sub> durch einen zweistufigen, radikalischen Fragmentierungsmechanismus zu beschreiben. Der konzertierte Fragmentierungsmechanismus über einen cyclischen Übergangszustand wird durch

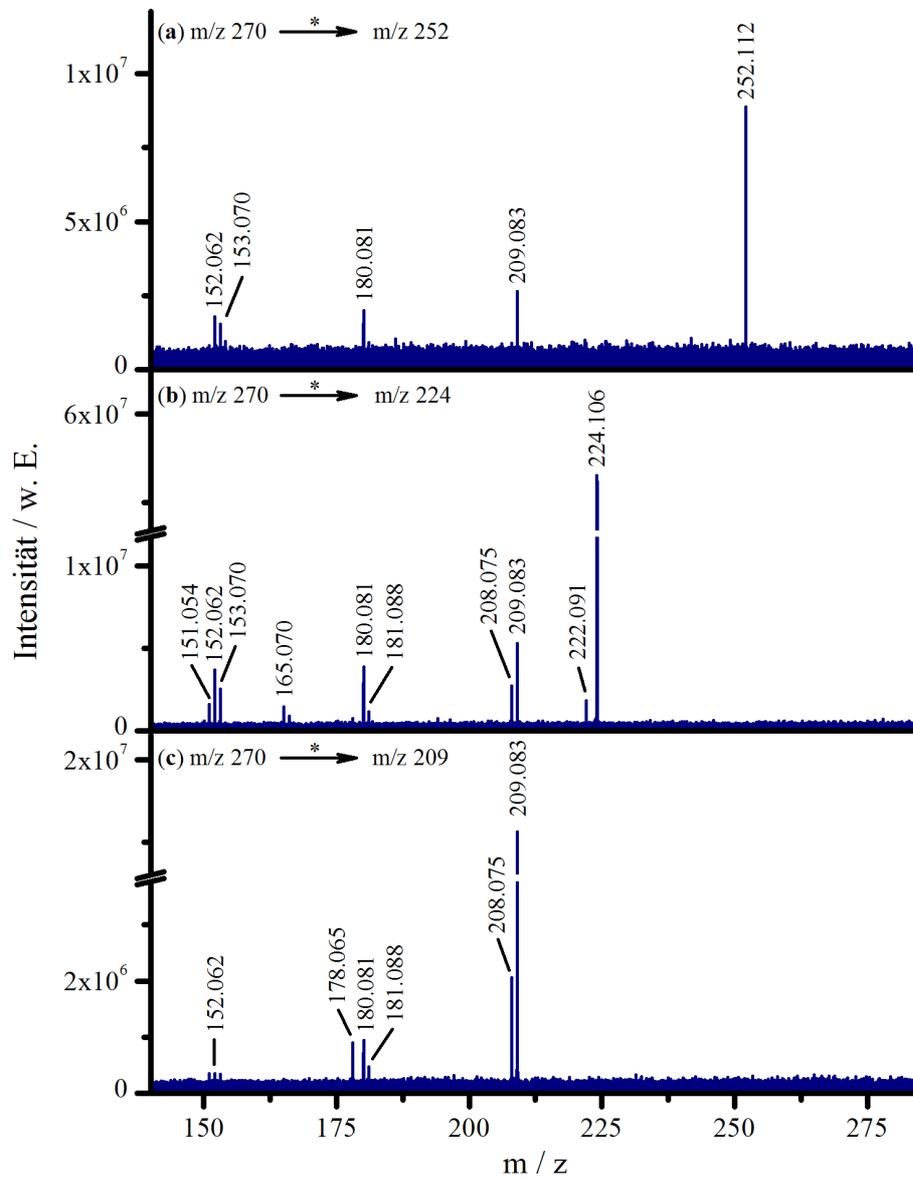
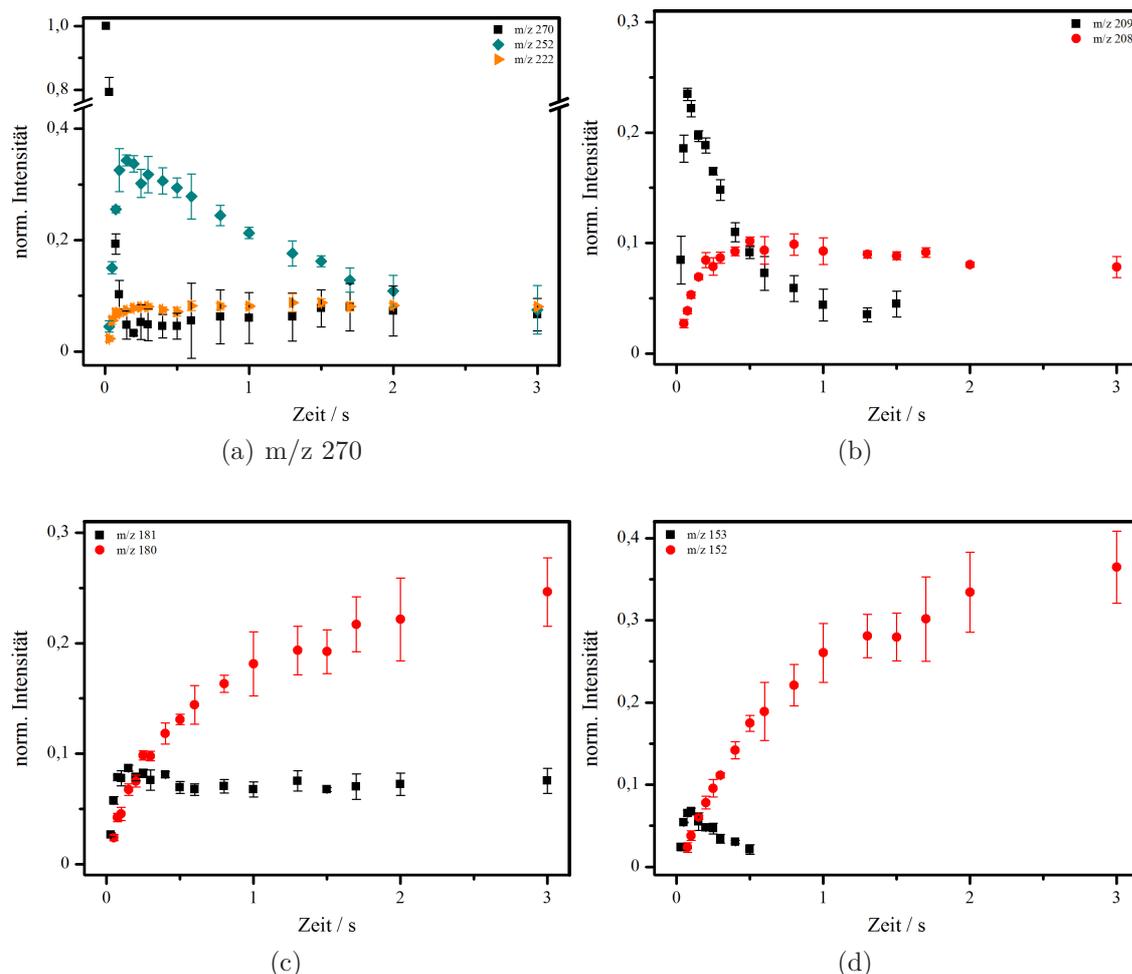


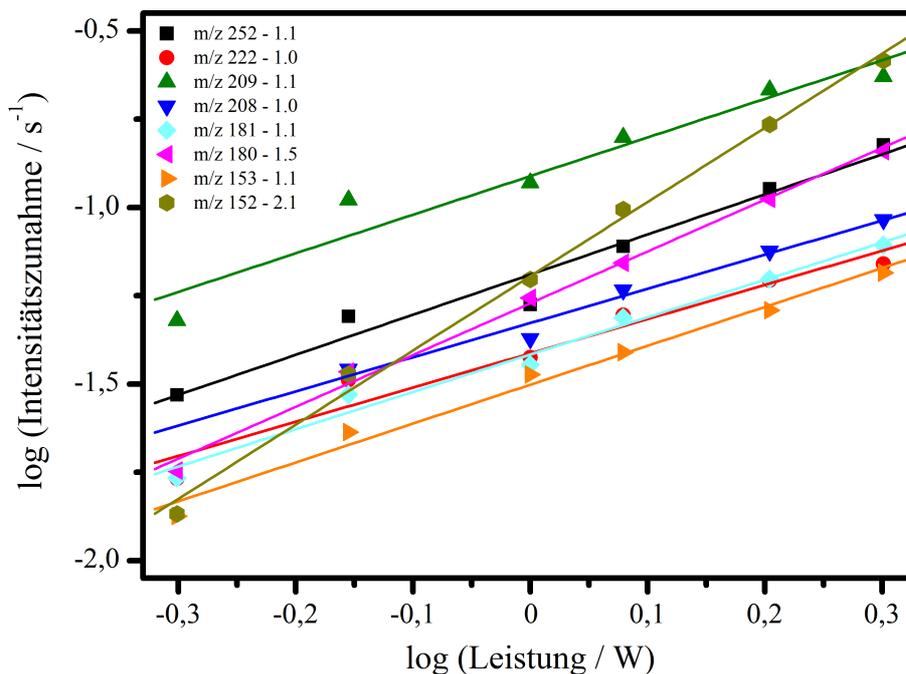
Abbildung 5.17.: MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektren unterschiedlicher Fragmente aus o-Methylrot (**6**). (a) m/z 252, (b) m/z 224 und (c) m/z 209.



**Abbildung 5.18.:** Intensitätsverläufe der Signale im PD-Spektrum von *o*-Methylrot (**6**) bei unterschiedlich langer Einstrahlzeit des Argon-Ionen-Lasers und einer Leistung von  $P = 2.0$  W.

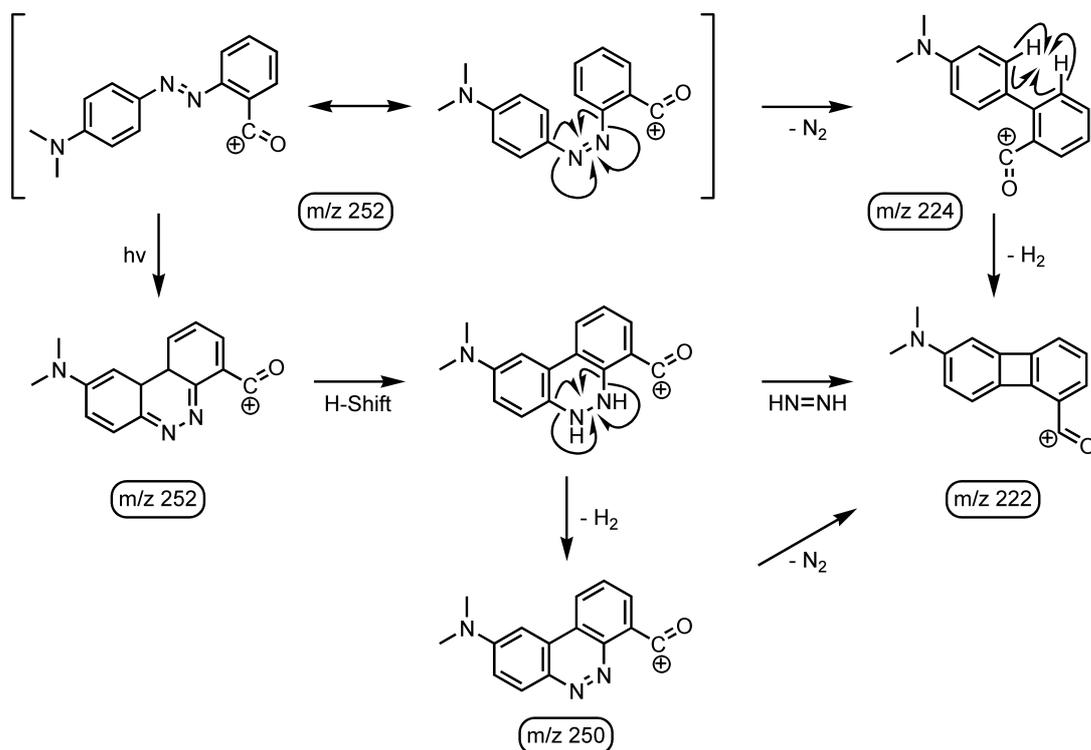
die Ergebnisse nicht ausgeschlossen. Das Fehlen eines entsprechenden Fragments im  $MS^3$ -Massenspektrum nach der Wasserabspaltung lässt diesen jedoch sehr unwahrscheinlich erscheinen.

Zusätzlich wird auch für *o*-Methylrot (**6**) die Fragmentintensität in Abhängigkeit der Einstrahldauer des Argon-Ionen-Lasers bei unterschiedlichen Leistungen untersucht. Für  $P = 2.0$  W sind die Ergebnisse in Abbildung 5.18 gezeigt. Alle weiteren Resultate zu den unterschiedlich verwendeten Leistungen sind im Anhang dargestellt (siehe Abbildung C.12 bis Abbildung C.14). Für die betrachteten Fragmente ist in Abbildung 5.19 der Zusammenhang der logarithmierten Intensitätszunahme



**Abbildung 5.19.:** Auftragung der logarithmierten Intensitäten der Fragmente von o-Methylrot (**6**) gegen die logarithmierte Leistung des Argon-Ionen-Lasers. Aus der Steigung kann die Anzahl der Photonen bestimmt werden, die für die Bildung des entsprechenden Fragments absorbiert werden.

in Abhängigkeit der logarithmierten Leistung gezeigt. Hierbei wird jeweils der zeitliche Bereich betrachtet, in dem die Intensität des Fragments eine positive Steigung aufweist. Die wiederum aus dem Zusammenhang von Fragmentintensitätszunahme und Leistung des Lasers erhaltene Steigung gibt die Anzahl der Photonen an, die zur Bildung des entsprechenden Fragments nötig sind. Für die beschriebenen Fragmente  $m/z$  252,  $m/z$  209 und  $m/z$  208 beträgt die Steigung jeweils eins. Somit ist die Absorption eines Photons des Argon-Ionen-Lasers ausreichend um all diese Prozesse zu initiieren und die entsprechenden Dissoziationsenergien aufzubringen. In Abbildung 5.18a und b sind die zeitlichen Intensitätsverläufe der drei Fragmente gezeigt. Hierbei fällt auf, dass die Verläufe der Fragmente  $m/z$  252 und  $m/z$  209 nach einem schnellen und steilen Anstieg der Intensität wieder abfallen, während die Intensität des Fragments  $m/z$  208 nach dem Anstieg relativ konstant verläuft (Abbildung 5.18b). Das zeigt, dass die Fragmente  $m/z$  252 und  $m/z$  209 zu Folgereaktionen neigen, während bei  $m/z$  208 ein stabiles Kation entsteht. Nach der



**Schema 5.8:** Fragmentierungsreaktionen von *o*-Methylrot (**6**) nach Wasserverlust, die zum Verlust von Stickstoff aus der Azogruppe und Wasserstoff führen.

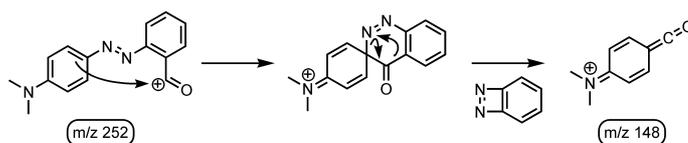
Abspaltung von Wasser, Stickstoff und  $CH_4$  sind keine weiteren Folgereaktionen zu erwarten.

Die bisher beschriebenen Fragmente resultieren aus einer Cyclisierung zwischen dem Carboxyrest nach der Wasserabspaltung und dem Dimethylanilinteil des Systems. Wie schon beim *o*-Ethylrot (**5**) beschrieben ist diese Cyclisierung auch auf der anderen Seite des Systems ohne Beteiligung des Carboxyrestes möglich. Zur Charakterisierung der Cyclisierung kann der Verlust von  $N_2$  herangezogen werden, da dieser nur möglich ist, wenn das System durch Ausbildung neuer Bindungen intakt bleibt. Das Fragment  $m/z$  224, das nur unter PD-Bedingungen auftritt, entsteht durch Verlust von Wasser und Stickstoff, unabhängig von der Seite, auf der die Cyclisierung stattfindet. Das  $MS^3$ -Massenspektrum dieses Fragments in Abbildung 5.17b zeigt die Abspaltung von  $H_2$  und damit die Bildung des Fragments  $m/z$  222. Diese Reaktion ist nur möglich, wenn die Cyclisierungsreaktion ohne Beteiligung des Carboxyrestes abläuft. In Schema 5.8 sind entsprechende Cyclisie-

rungsreaktionen gezeigt. Die Anregung des Systems mit sichtbaren Photonen kann zu einer Isomerisierung in die cis-Form führen. Die überschüssige Energie destabilisiert die Kohlenstoff-Stickstoff-Bindungen auf beiden Seiten der Azogruppe und führt im Endeffekt zu homolytischer Bindungsspaltung und Ausbildung einer neuen Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung. Als Folge wird  $N_2$  abgespalten. Das entstehende Biphenylsystem bei  $m/z$  224 kann durch die Abspaltung von  $H_2$  weiter stabilisiert werden. Durch Rotation um die neue Bindung kommen die beiden Ringwasserstoffatome näher zusammen, so dass bei entsprechend vorhandener Energie in dem System die Bindungen zwischen dem Ringsystem und dem Wasserstoffatom homolytisch gespalten werden. Gleichzeitig entsteht durch Radikalrekombination eine neue Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung und somit ein stabiles Biphenylensystem bei  $m/z$  222. Der Intensitätsverlauf bei unterschiedlich langer Einstrahlzeit des Argon-Ionen-Lasers in Abbildung 5.18a deutet ebenfalls auf ein stabiles Fragment hin. Nach dem Anstieg der Intensität verläuft diese konstant, was zeigt, dass Folgereaktionen aus dieser Spezies unwahrscheinlich oder wenig intensiv sind.

Eine weitere Variante zur Bildung des Fragments  $m/z$  222 ist die Abspaltung von  $N_2H_2$  in einem Schritt, wie schon beim *o*-Ethylrot (**5**). Durch die Isomerisierung in die cis-Form entsteht ein Sechsring zwischen beiden Phenylteilen des Grundgerüsts. Schnelle Wasserstoffverschiebungen zu den Stickstoffatomen der Azogruppe stabilisieren das System durch Erhöhen der Aromatizität. In der Folge wird auf Grund der instabilen Bindungen zwischen der Azogruppe und den Phenylringen  $N_2H_2$  als neutrales Molekül abgespalten, was wiederum zu dem stabilen Biphenylensystem bei  $m/z$  222 führt. Die Abspaltung des Wasserstoffs ( $H_2$ ) und des Stickstoffs ( $N_2$ ) kann theoretisch auch als konsekutive Reaktion erfolgen. Hierbei müsste ein Zwischenprodukt bei  $m/z$  250 entstehen. Dieses tritt jedoch in keinem der erhaltenen Massenspektren auf. Somit gibt es keinen experimentellen Hinweis darauf, dass die Abspaltungsreaktion in dieser Reihenfolge verläuft. Die starke Intensität des Fragments  $m/z$  222 im PD-Massenspektrum deutet auf eine einstufige Reaktion hin. Dies zeigt auch das  $MS^3$ -Spektrum des Fragments  $m/z$  224. Hier müsste die Intensität des Fragments  $m/z$  222 deutlich höher sein, wenn ein konsekutiver Fragmentierungsmechanismus der bevorzugte Prozess der Bildung dieses Fragments wäre.

Auf eine große Anzahl an Fragmenten im niedrigeren Massenbereich soll an dieser Stelle nicht genauer eingegangen werden. Diese liefern keine weiteren Erkenntnisse die Dimethylaminogruppe betreffend. Zudem sind diese nahezu identisch mit den



**Schema 5.9:** Bildung des Fragments bei  $m/z$  148 aus o-Methylrot (**6**).

Signalen, die bei o-Ethylrot (**5**) in diesem Bereich auftreten. Dieses Verhalten folgt demnach einer Systematik, die auf die generelle Biphenylstruktur der untersuchten Verbindungen zurückzuführen ist. Das Radikalkation bei  $m/z$  152 ist wie auch bei **5** ein sehr stabiles Fragment. Der Intensitätsverlauf in Abbildung 5.18d zeigt eine stetige Zunahme der Intensität mit längerer Bestrahlungszeit. Zudem zeigen die Ergebnisse, dass es sich hierbei um das einzige Fragment handelt, bei dem zwei Photonen für die Bildung benötigt werden.

Abschließend wird auf ein ungewöhnliches Fragment eingegangen, das bei  $m/z$  148 zu beobachten ist. Hierbei handelt es sich um eine Spezies mit der Summenformel  $C_9H_{10}NO^+$ , die einem Dimethylanilincarbonyl entspricht. Schema 5.9 zeigt die Reaktion, wie es zur Bildung des Fragments kommen kann. Nach dem Verlust von Wasser aus dem protonierten Molekül wird kein Siebenring gebildet. Anstelle dessen kommt es zu einer intramolekularen Reaktion zwischen dem partiell negativ geladenen Kohlenstoffatom des Anilinrings mit dem positiv geladenen Carboxykohlenstoff. Dadurch entsteht eine spiroartige Verbindung, in der die Bindung zwischen Anilinring und Azogruppe heterolytisch gespalten wird. Ebenso wird die Bindung zwischen Carboxygruppe und dem weiteren Phenylring gespalten, was zum Kation bei  $m/z$  148 führt. Das dabei entstehende neutrale Diazabenzocyclobuten wird abgespalten, wobei nicht zu unterscheiden ist, ob dies in zwei Schritten als molekularer Stickstoff und Arin geschieht. Nichtsdestotrotz handelt es sich hierbei um eine ungewöhnliche Reaktion mit der Umlagerung eines funktionellen Rests auf einen anderen Teil des Grundsystems.

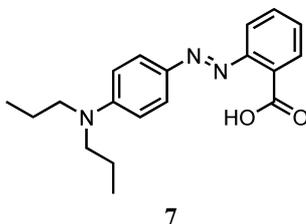
### 5.2.3. Zusammenfassung o-Methylrot

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen zu o-Methylrot (**6**) zeigen sehr starke Gemeinsamkeiten mit den Ergebnissen des o-Ethylrot (**5**). Hierbei wurde insbesondere die Abspaltung von Wasser betrachtet. Dabei konnte bestätigt werden, dass mit der Hydroxylgruppe der Carboxyfunktion das abgespaltene Wasser entsteht. Die

Fragmentierung der Dimethylaminogruppe ist ein weiterer zentraler Punkt der Untersuchungen. Diese verläuft analog zur Fragmentierung der Diethylaminogruppe. Die Abspaltung von  $\text{CH}_4$  aus der Dimethylaminogruppe verläuft hauptsächlich über einen konsekutiven Fragmentierungsmechanismus. Dabei sind zwei Radikalabspaltungen beteiligt. Auf eine Methylradikalabspaltung folgt eine Wasserstoffradikalabspaltung und führt so zu dem erwarteten Gesamtverlust. Dennoch ist in diesem Fall der Ausschluss des konzertierten Fragmentierungsmechanismus über einen cyclischen Übergangszustand nicht möglich.

Generell kann gezeigt werden, dass die Fragmentierung der Verbindungen **5** und **6** einer gewissen Systematik unterliegt. Das gesamte Massenspektrum wird unabhängig von der Fragmentierungsmethode von der Wasserabspaltung dominiert. Infolgedessen kommt es zu Abspaltungen aus der Dialkylaminogruppe direkt oder in Kombination mit weiteren Cyclisierungsreaktionen und einhergehendem Stickstoffverlust aus der Azogruppe. Im unteren Massenbereich gleichen sich die Spektren der unterschiedlichen Verbindungen wieder, da die gleichen Reste nach den Abspaltungen der funktionellen Gruppen als Fragmente verbleiben. Inwiefern dies auch bei einer weiteren Verlängerung der Alkylketten zutrifft, wird im nachfolgenden Abschnitt beschrieben.

### 5.3. Dissoziationsreaktionen von *o*-Propylrot



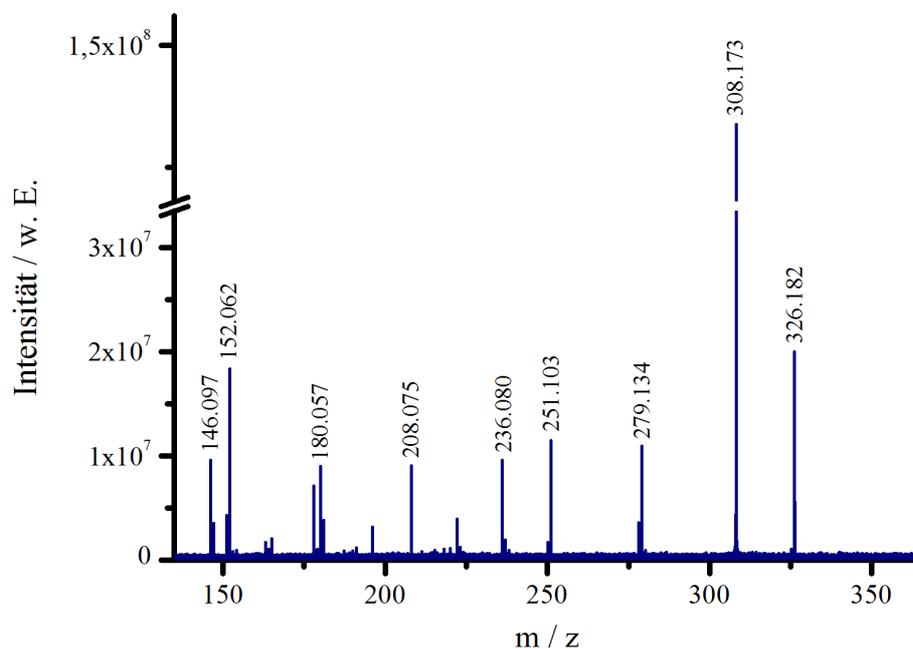
Schema 5.10: Struktur von *o*-Propylrot (7).

Das *o*-Propylrot (7) ist strukturell (siehe Schema 5.10) wie die beiden zuvor beschriebenen Verbindungen aufgebaut. Zwei Propylketten sind hierbei Bestandteil der Dialkylaminogruppe. Nach IUPAC Nomenklatur wird die im Folgenden untersuchte Verbindung als 2-(4'-Dipropylamino-phenylazo)-benzoesäure bezeichnet. Neben der Anwendung als pH-Indikator und zur Markierung bei der Untersuchung biochemischer Prozesse [145] wird diese Verbindung selten verwendet. Dennoch handelt es hierbei um ein gutes Modell zur weiteren Untersuchung der Systematik des Fragmentierungsverhaltens dieser Substanzklasse. Im Folgenden werden die Gemeinsamkeiten und Unterschiede im Vergleich zu *o*-Ethylrot (5) und *o*-Methylrot (6) herausgestellt.

#### 5.3.1. Fragmentierung von *o*-Propylrot

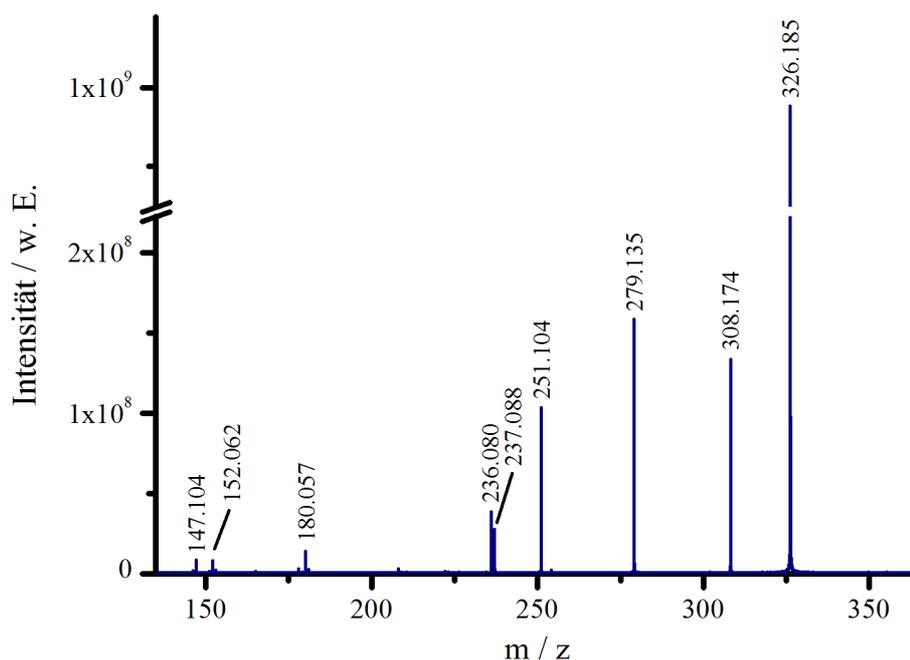
Zur Untersuchung des Fragmentierungsverhaltens von *o*-Propylrot (7) wurden die selben Methoden wie zuvor eingesetzt. Abbildung 5.20 zeigt das MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von 7. Wieder ist eine große Anzahl an Fragmenten zu erkennen. Im Anhang sind diese mit den Summenformeln der entsprechenden Verluste in Tabelle B.16 zusammengefasst. Das MS<sup>2</sup>-SORI-CID-Massenspektrum zeigt insgesamt eine andere Intensitätsverteilung der Fragmente und ist in Abbildung 5.21 dargestellt. Die Übersicht der auftretenden Fragmente mit den Summenformeln der Abspaltungen ist in Tabelle B.17 im Anhang zu finden.

Die Massenspektren zeigen bei beiden Fragmentierungsmethoden eine intensive Wasserabspaltung (exp.: 18.012 Da, theor.: 18.011 Da), die wie bei den Verbindungen mit kürzeren Alkylketten das gesamte Spektrum dominiert. Als Folge treten auch bei dieser Verbindung alle weiteren Fragmente in Kombination mit der Wasser-



**Abbildung 5.20.:** MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von o-Propylrot (7) mit dem Argon-Ionen-Laser bei einer Leistung von  $P = 2.0 \text{ W}$ .

abspaltung auf. Die nächsten Fragmente resultieren aus Abspaltungen aus der Dipropylaminogruppe. Das Fragment bei  $m/z$  279 ist im SORI-CID-Massenspektrum das am intensivsten auftretende und entspricht dem Verlust von Wasser und einem Ethylradikal (exp.: 47.051 Da, theor.: 47.050 Da). Die Abspaltung der Kombination von Wasser und formal einem Butylradikal (exp.: 75.082 Da, theor.: 75.081 Da) führt zum Auftreten des Fragments bei  $m/z$  251. Hierbei ergeben mehrere Abspaltungen in Summe den Gesamtverlust des Butylradikals, dessen Entstehung anders nicht erklärt werden kann. Analog zur Abspaltung von  $\text{C}_3\text{H}_8$  und  $\text{CH}_4$  aus der Diethylamino- bzw. der Dimethylaminogruppe ist im Fall der Dipropylaminogruppe der Verlust von  $\text{C}_5\text{H}_{12}$ . In Kombination mit der Abspaltung von Wasser führt diese Abspaltung (exp.: 90.105 Da, theor.: 90.105 Da) zur Bildung des Fragments bei  $m/z$  236, das mit beiden Anregungsmethoden intensiv detektiert wird. Das Massenspektrum nach Stoßaktivierung zeigt zudem ein intensives Fragmentensignal bei  $m/z$  237, das im PD-Massenspektrum mit deutlich niedrigerer Intensität zu beobachten ist. Dieses wird durch die Verluste von Wasser und einem Propylradikal (exp.: 89.097 Da, theor.: 89.097 Da) gebildet. Alle weiteren Fragmente im SORI-CID-Spektrum besitzen eine geringe Intensität verglichen mit den schon beschriebenen. Das PD-Massenspektrum



**Abbildung 5.21.:** MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von *o*-Propylrot (7) nach SORI-CID-Anregung mit Argon als Stoßgas.

zeigt wieder ein intensives Signal bei  $m/z$  208, das schon von den beiden Verbindungen mit kürzeren Alkylketten bekannt ist. In diesem Fall entspricht dieses Fragment einem Verlust von Wasser, C<sub>5</sub>H<sub>12</sub> und Stickstoff (N<sub>2</sub>) (exp.: 118.111 Da, theor.: 118.111 Da). Die genannten Verluste mit zusätzlicher Abspaltung von Kohlenstoffmonoxid (exp.: 146.129 Da, theor.: 146.129 Da) ergeben ein Kation, das  $m/z$  180 entspricht. Weiterhin tritt auch wieder in beiden Massenspektren das Fragment bei  $m/z$  152 auf, von dem auch in diesem Fall alle funktionellen Gruppen des Systems abgespalten wurden. Im PD-Massenspektrum handelt es sich bei diesem Signal sogar nach der Abspaltung von Wasser um das intensivste Fragment. Die nachfolgenden mechanistischen Betrachtungen sind vor allem auf die Dipropylaminogruppe fokussiert.

### 5.3.2. Mechanistische Betrachtungen zu *o*-Propylrot

Als erstes tritt auch in den Massenspektren des *o*-Propylrot (7) wieder die Wasserabspaltung auf. Der Mechanismus dieses Wasserverlustes entspricht dem, wie er bei den beiden Verbindungen *o*-Ethylrot (5) und *o*-Methylrot (6) ausführlich in Abschnitt 5.1

## 5. Carboxyfunktion und Diazen in ortho-Stellung

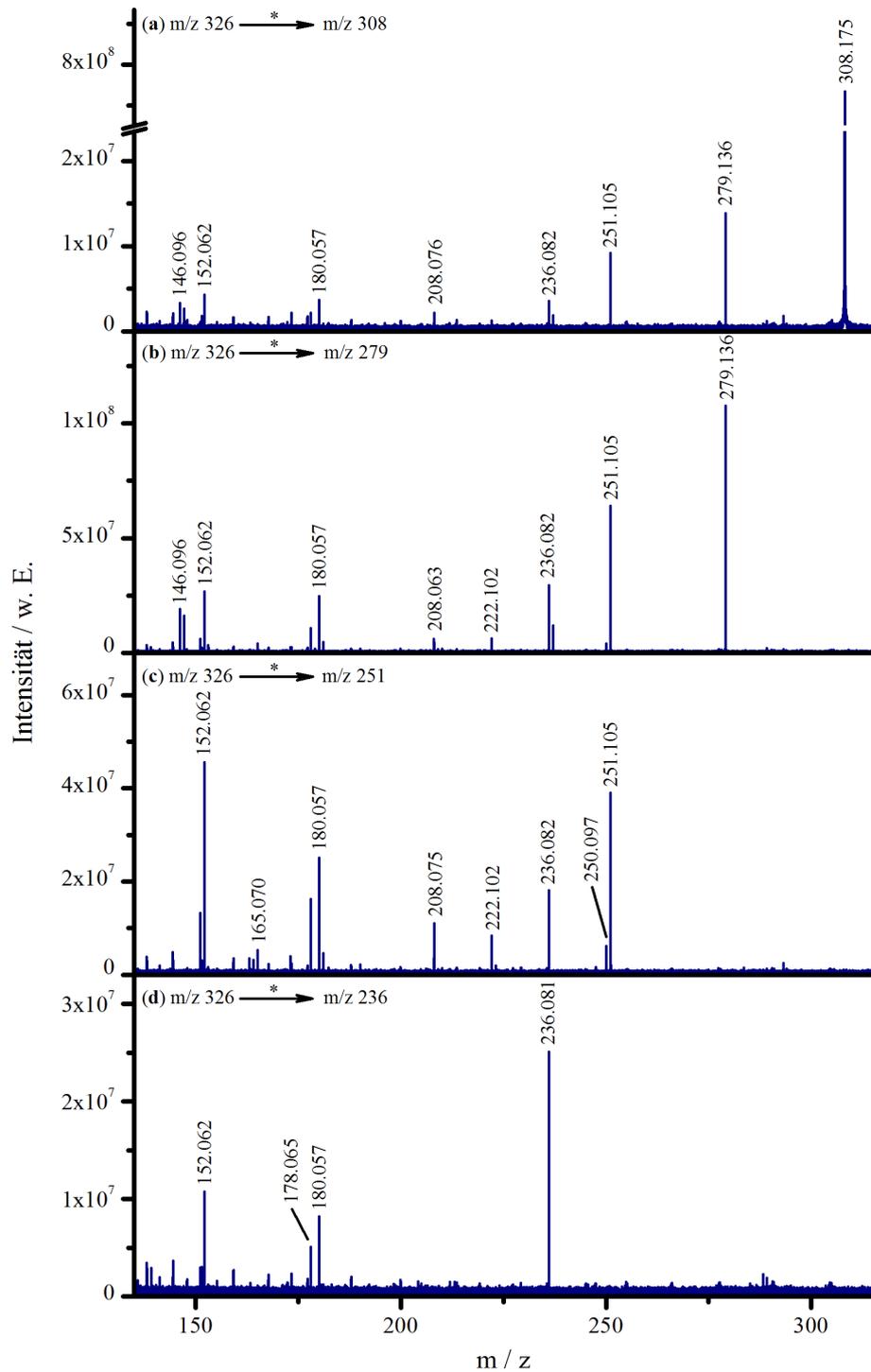
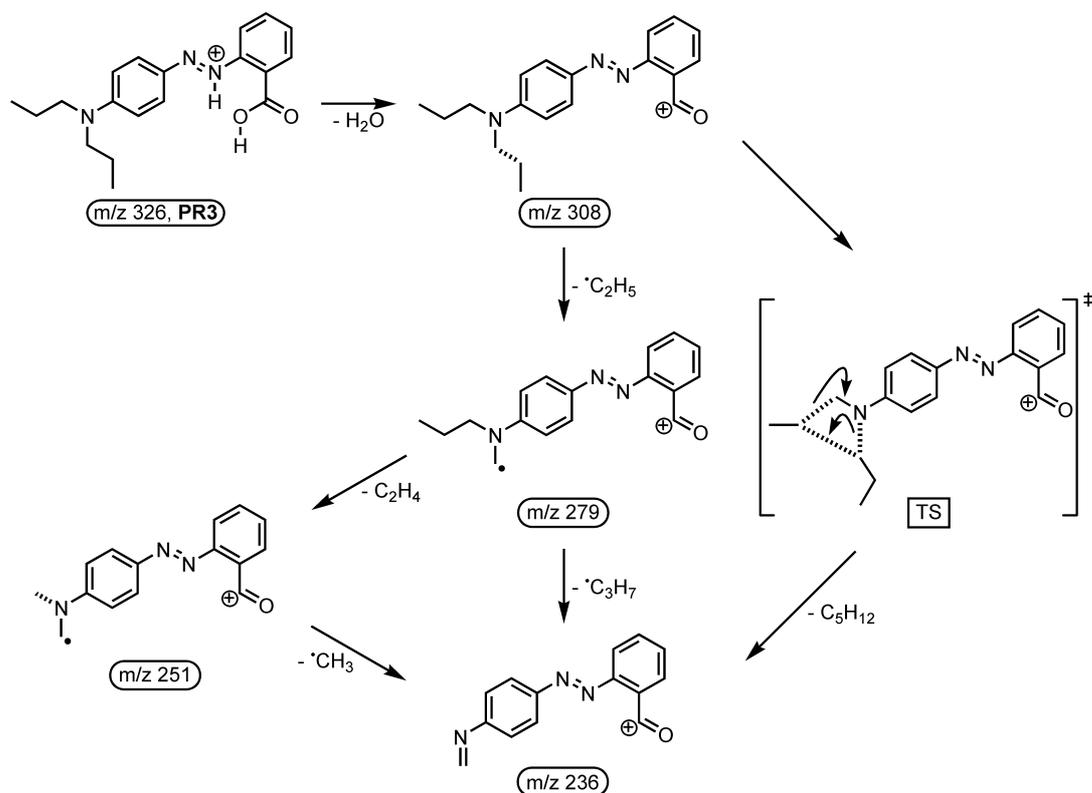


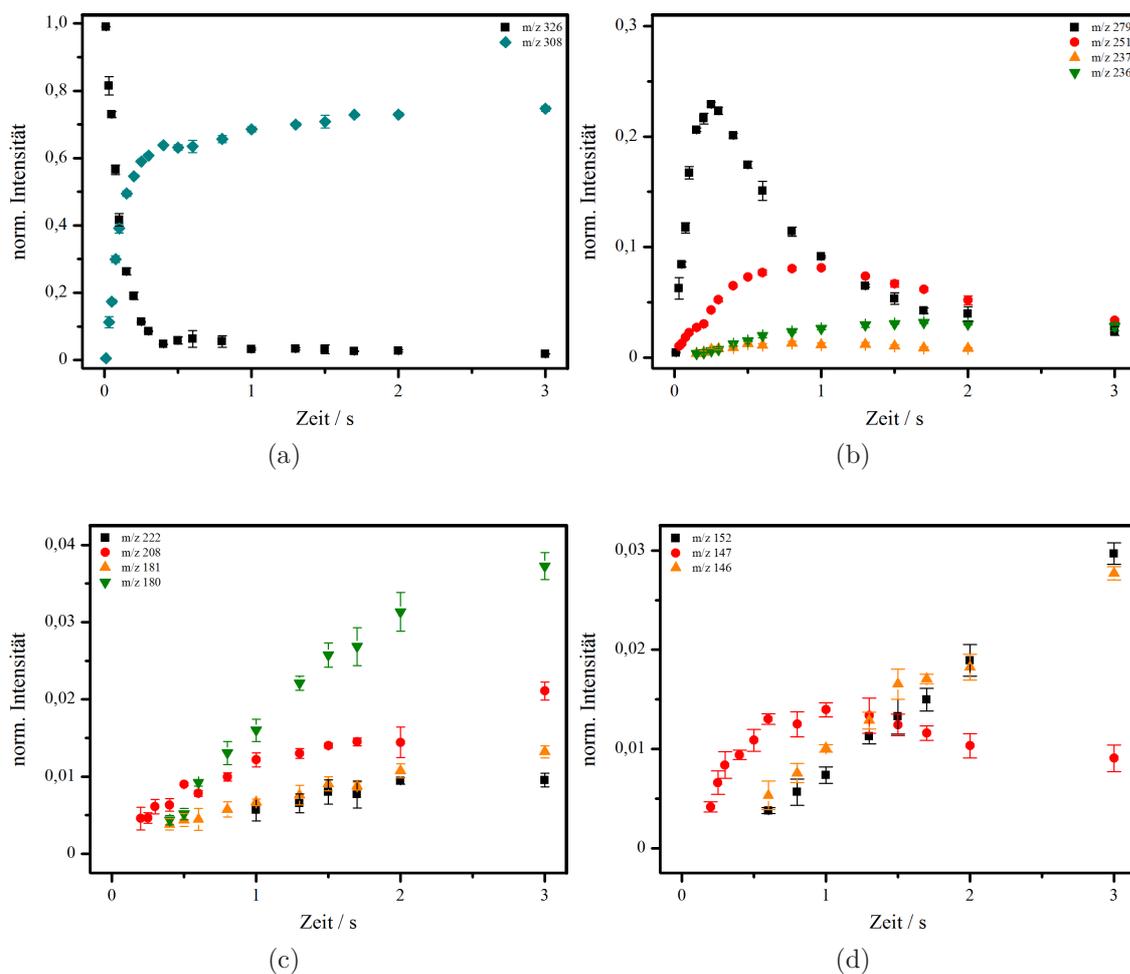
Abbildung 5.22.: MS<sup>3</sup>-PD-Massenspektren von vier Fragmenten aus o-Propyl-rot (7). (a) m/z 308, (b) m/z 279, (c) m/z 251, (d) m/z 236.



**Schema 5.11:** Fragmentierungsreaktionen von *o*-Propylrot (**7**), die nach der Abspaltung von Wasser einen Abbau der Dipropylaminogruppe zur Folge haben.

und Abschnitt 5.2 beschrieben wurde. Damit sind die weiteren Fragmentierungsreaktionen ausgehend von  $m/z$  308 zu betrachten. Schema 5.11 zeigt die Fragmentierungsreaktionen mit Beteiligung der Dipropylaminogruppe, die in dem Gesamtverlust von  $C_5H_{12}$  münden. Die Abbildung 5.22a zeigt zudem das  $MS^3$ -PD-Massenspektrum des Fragments  $m/z$  308. Dort ist eindeutig die Bildung des Fragments  $m/z$  236 erkennbar, was eine Neuerung bei diesem Molekül darstellt. Die kurzkettigeren Verbindungen zeigten diesen Verlust aus dem Fragment nach der Wasserabspaltung nicht. Somit ist dies ein Hinweis, dass auch ein konzertierter Fragmentierungsmechanismus über einen cyclischen Übergangszustand (siehe Schema 5.11 rechts) ablaufen kann. Im  $MS^3$ -Spektrum des Fragments nach dem Wasserverlust ist bei  $m/z$  279 das intensivste Signal zu beobachten, das dem Verlust eines Ethylradikals entspricht. Dies ist vergleichbar mit der Methylradikalabspaltung aus der Diethylaminogruppe von **5**. Dort kann gezeigt werden, dass die Gesamtabspaltung in Kombination mit einer

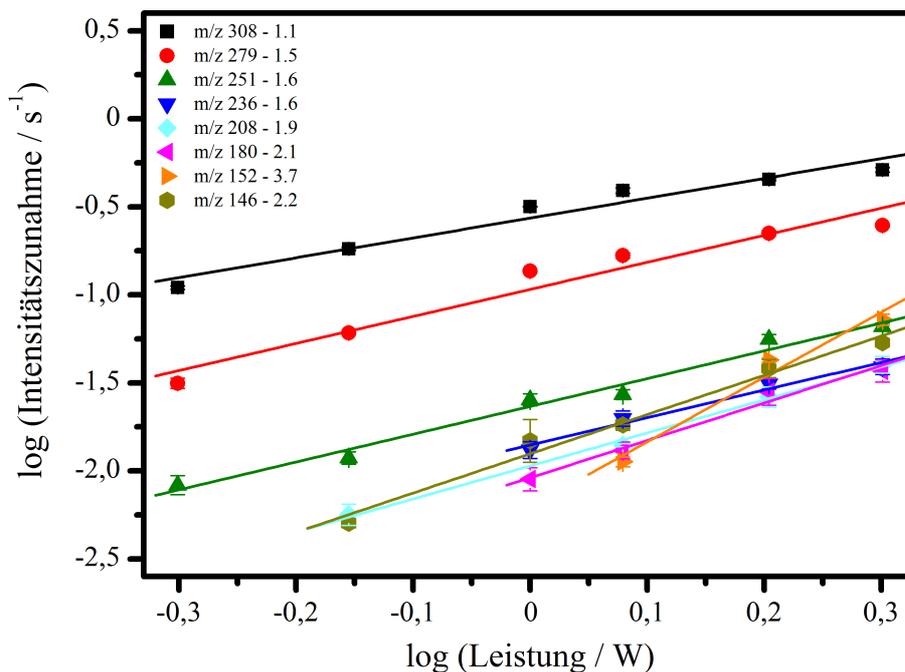
weiteren Radikalabspaltung stattfindet. Für diesen Fall ist die Abspaltung eines Propylradikals aus dem verbliebenen Propylmethylenamin zur Bildung eines Gesamtverlustes von  $C_5H_{12}$  nötig. Erkenntnisse hierzu liefert das  $MS^3$ -PD-Massenspektrum des Fragments  $m/z$  279, das in Abbildung 5.22b gezeigt ist. In diesem Spektrum ist ein intensives Signal bei  $m/z$  236 zu erkennen. Daraus kann geschlossen werden, dass durch homolytische Bindungsspaltung ein Propylradikal abgespalten wird. Auf diese Weise entsteht ein stabiles Kation in einem zweistufigen, radikalischen Fragmentierungsmechanismus analog zu o-Ethylrot (**5**). Das  $MS^3$ -Massenspektrum des Fragments  $m/z$  279 zeigt ein weiteres intensives Signal bei  $m/z$  251. Dies entspricht dem Verlust von Ethen aus dem isolierten Radikalkation. Ursprung dieser Abspaltung kann nur die noch vollständige Propylkette sein. Hierbei kommt es zu einer  $\alpha$ -Spaltung in der Propylkette mit anschließender Bildung eines Ion/Molekül-Komplexes. Eine schnelle Wasserstoffübertragung von der  $CH_3$ -Gruppe zurück auf das Radikalkation führt zur Bildung des neutralen Ethens und in der Folge zu dessen Abspaltung.[146] Dieses Fragment bei  $m/z$  251 kann außerdem eine weitere Zwischenstufe bei der Bildung des Fragments  $m/z$  236 darstellen, wie in Schema 5.11 links gezeigt. Der dafür benötigte Verlust eines Methylradikals, ausgehend vom Fragment  $m/z$  251, kann im entsprechenden  $MS^3$ -Massenspektrum in Abbildung 5.22c gesehen werden. Dies zeigt insgesamt, dass die Abspaltung von  $C_5H_{12}$  über einen dreistufigen Fragmentierungsmechanismus verläuft. Die konsekutiven Verluste eines Ethylradikals, eines Ethens und eines Methylradikals ergeben das entsprechende Fragment. Sehr wahrscheinlich ist auch, dass dieses Fragment in einem zweistufigen Fragmentierungsmechanismus durch Abspaltung zweier radikalischer Alkylfragmente stattfindet. Hierbei kann als Zwischenstufe das Fragment  $m/z$  279 nach der Abspaltung eines Ethylradikals ausgemacht werden. Auf den umgekehrt verlaufenden Fall, dass zuerst ein Propylradikal und anschließend ein Ethylradikal abgespalten werden, gibt es keinen experimentellen Hinweis. Weiterhin ist die Abspaltung in einer konzertierten Reaktion nicht ausgeschlossen. Während die Verbindungen mit Methyl- und Ethylketten an der Aminogruppierung keinen Hinweis auf einen konzertierten Mechanismus liefern, bleibt diese Möglichkeit hier bestehen. Dies ist auch mit der erhöhten Flexibilität der längeren Alkylketten zu begründen. Abschließend konnten auch Folgereaktionen nach der Abspaltung von  $C_5H_{12}$  untersucht werden. Abbildung 5.22d zeigt das  $MS^3$ -Massenspektrum des Fragments  $m/z$  236. Hierbei ist vor allem die Bildung der Fragmente bei  $m/z$  180 und  $m/z$  152 zu erkennen.



**Abbildung 5.23.:** Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale im PD-Massenspektrum von *o*-Propylrot (**7**) bei einer Leistung des Argon-Ionen-Lasers von  $P = 1.2$  W.

Ersteres wird durch die gleichzeitige Abspaltung von Stickstoff und Kohlenstoffmonoxid gebildet. Wird zudem ein Methyleniminiumradikal abgespalten, kommt es zur Bildung des Fragments *m/z* 152. Diese Folgereaktionen sind analog zu den beiden zuvor beschriebenen Substanzen und auch für viele weitere Diphenylverbindungen bereits bekannt.

Zur Einordnung der Reaktivität einzelner Fragmente und um weitere Hinweise auf Folgereaktionen zu erhalten wurde auch für das *o*-Propylrot (**7**) der Intensitätsverlauf der Fragmente bei unterschiedlich langer Bestrahlungsdauer mit dem Argon-Ionen-Laser untersucht. Die Ergebnisse bei einer Leistung des Lasers von  $P = 1.2$  W

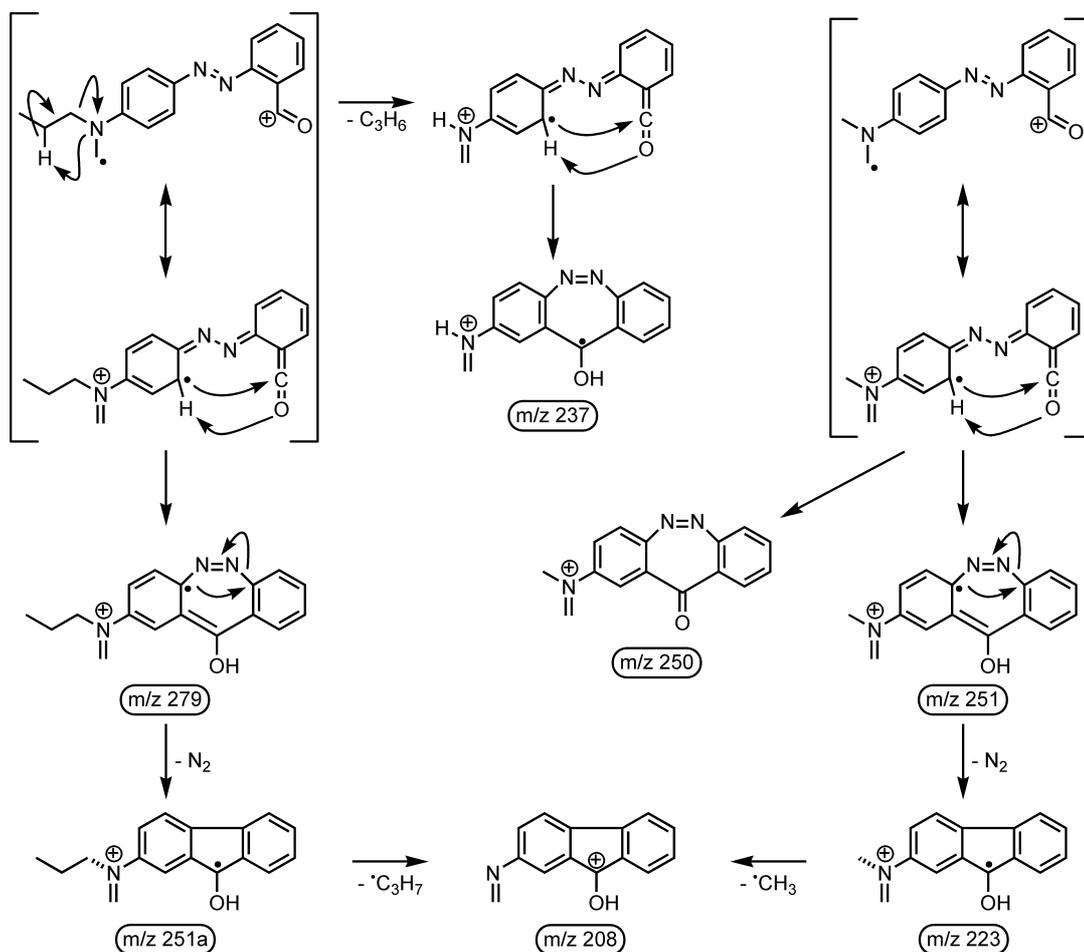


**Abbildung 5.24.:** Auftragung der logarithmierten Intensitäten der Fragmente von o-Propylrot (7) gegen die logarithmierte Leistung des Argon-Ionen-Lasers. Aus der Steigung kann die Anzahl der Photonen bestimmt werden, die für die Bildung des entsprechenden Fragments absorbiert werden.

sind in Abbildung 5.23 gezeigt, für weitere verwendete Leistungen sind alle Verläufe im Anhang dargestellt. Auch für diese Spezies konnte aus den ansteigenden Bereichen bei unterschiedlichen Leistungen auf die Anzahl der Photonen geschlossen werden, die für die Bildung eines Fragments mindestens absorbiert werden müssen. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 5.24 zusammengefasst. Die Fragmente, die den Alkylabspaltungen zuzuordnen sind, verhalten sich wie erwartet. Abbildung 5.23b zeigt die Intensitätsverläufe der betreffenden Spezies. Dabei ist zu erkennen, dass die beiden als Zwischenstufen ausgemachten Fragmenten nach einem Intensitätsanstieg auch wieder deutlich abnehmen, was auf die Folgereaktionen zurückführbar ist. So erreicht das Fragment m/z 279 nach ca. 0.25 s die maximale normierte Intensität, für das Fragment m/z 251 ist dies erst nach ca. 0.8 s der Fall. Wiederum zeigt das Fragment m/z 236 ein Maximum erst nach ca. 1.6 s bevor die Intensität leicht abnimmt. Somit ist ein klarer zeitlicher Verlauf in der stufenweisen Fragmentierung mit dem Ergebnis des Verlustes von C<sub>5</sub>H<sub>12</sub> zu erkennen. Ungewöhnlich ist dagegen,

dass all diese Fragmente eine Steigung von ca. 1.5 in Abbildung 5.24 zur Bestimmung der Photonenanzahl aufweisen. Eine Begründung für dieses Verhalten kann die Überlagerung des Bildungsprozesses mit den Folgereaktionen sein, so dass ein gewisser Anteil nicht in die Betrachtung einbezogen wird. Folglich hieße das, dass für das Entstehen der betreffenden Fragmente mindestens zwei Photonen nötig sind. Durch die längeren Alkylketten ist für das Erreichen des Dissoziationslimits mehr innere Energie nötig, da diese insgesamt auf mehr Schwingungsfreiheitsgrade verteilt werden kann.

Nachdem die beiden Verbindungen *o*-Ethylrot (**5**) und *o*-Methylrot (**6**) neben der Fragmentierung der Dialkylaminogruppe direkt nach der Abspaltung von Wasser auch Cyclisierungsreaktionen zeigen, kann dies auch für das *o*-Propylrot (**7**) angenommen werden. Mit dieser Cyclisierung des Grundgerüsts geht die Abspaltung von  $C_5H_{12}$  zusammen mit der Abspaltung von Stickstoff ( $N_2$ ) einher. Dabei ist entscheidend, wann dieser Stickstoffverlust stattfindet. Die  $MS^3$ -Massenspektren geben einen entscheidenden Hinweis diese Fragestellung betreffend. Das Fragment bei  $m/z$  208 ist die Spezies, die dem Verlust von Wasser in Kombination mit  $C_5H_{12}$  und Stickstoff entspricht. In Abbildung 5.22a-c ist dieses Fragment vorhanden. Wenn jedoch  $C_5H_{12}$  komplett abgespalten wurde, ist kein direkter Verlust von Stickstoff aus diesem Fragment zu detektieren. Dies ist in Abbildung 5.22d zu erkennen. Die direkte Wasserabspaltung ausgenommen, handelt es sich bei den Zwischenstufen  $m/z$  279 und  $m/z$  251 um Radikalkationen. Diese radikalischen Azoverbindungen begünstigen eine Cyclisierung des Grundgerüsts und damit einhergehend die Eliminierung von neutralem Stickstoff aus diesem System. In Schema 5.12 sind die Reaktionen, die zu dem Fragment  $m/z$  208 führen dargestellt. Hierbei kann das Radikal durch die Delokalisierung am Anilinring stabilisiert werden. Dadurch wird die ortho-Position zur Azogruppe partiell negativ und kann mit dem partiell positiven Kohlenstoffatom des Carbonylrestes einen Siebenring bilden. Dies wiederum führt dazu, dass das Radikal in direkter Nachbarschaft zur Azogruppe stabilisiert wird und somit die Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung schwächt. Die Azogruppe bewegt sich im Zuge dessen aus der Ebene heraus, so dass es zu einer intramolekularen Reaktion zwischen dem partiell negativen Kohlenstoff des Anilinrings mit dem des zweiten Phenylrings kommt. Der Stickstoff wird neutral abgespalten und das entstehende Radikalkation wird durch einen weiteren Radikalverlust aus den Alkylresten stabilisiert. Aus beiden Zwischenstufen zur Abspaltung von  $C_5H_{12}$  kann somit das Fragment  $m/z$  208



**Schema 5.12:** Fragmentierungsreaktionen von o-Propylrot (7), die unter Beteiligung cyclisierender Reaktionen ablaufen. links: Beginn nach Wasser- und Ethylradikalverlust, rechts: Beginn nach Wasser-, Ethylradikal- und Ethenverlust.

gebildet werden. Dieser Wechsel des Reaktionskanals kann mit dafür verantwortlich sein, dass die Anzahl der benötigten Photonen (siehe Abbildung 5.24) kein ganzzahliges Ergebnis für diese Fragmente liefert. Neben diesen nahezu linear ablaufenden Fragmentierungsmechanismen treten weitere Nebenreaktionen auf. Eine derartige Fragmentierungsreaktion ist die Bildung des Fragments bei  $m/z$  237, die auch in Schema 5.12 gezeigt ist. Nachdem ein Ethylradikal abgespalten wurde, kommt es zur Destabilisierung der Bindung zwischen Anilinstickstoff und verbliebener Propylkette. Wie schon bei der Abspaltung von Ethen wird auch in diesem Fall wieder ein Wasserstoff des Alkylfragments auf das kationische System übertragen, wodurch es

zur Abspaltung von Propen und zur Bildung des Radikalkations bei  $m/z$  237 kommt. Eine weitere Nebenreaktion ist die Bildung des Fragments  $m/z$  250, das direkt aus dem Fragment  $m/z$  251 entsteht, wie im entsprechenden  $MS^3$ -Massenspektrum (Abbildung 5.22c) zu erkennen ist. Bei der Cyclisierung des Grundgerüsts kommt es statt zu einer Verschiebung des Ringwasserstoffatoms zum Carboxysauerstoffatom zu einer Verdrängungsreaktion. Durch die Abspaltung des Wasserstoffradikals entsteht wieder ein geradelektronisches System.

### 5.3.3. Zusammenfassung *o*-Propylrot

Die Ergebnisse zum Fragmentierungsverhalten von *o*-Propylrot (**7**) fügen sich in die der beiden zuvor betrachteten Azoverbindungen dieser Klasse ein. Nicht überraschend ist deshalb das Auftreten eines intensiven Verlustes von Wasser aus dem protonierten Molekül, der das gesamte weitere Massenspektrum überlagert. Wird die Fragmentierung des Moleküls zeitlich betrachtet, folgt nach der Wasserabspaltung die Fragmentierung der Dipropylaminogruppe. Grundsätzlich folgt diese dem bekannten Muster, was zu einem Gesamtverlust von  $C_5H_{12}$ . Zur Bildung sind mehrere Reaktionsmechanismen möglich. Der konzertierte Fragmentierungsmechanismus spielt weiterhin eine untergeordnete Rolle. Nachgewiesen wurden mehrere konsekutiv verlaufende Reaktionen. Die Abspaltung von  $C_5H_{12}$  kann in einer zweistufigen oder einer dreistufigen Reaktion ablaufen. Der initiierende Fragmentierungsschritt ist eine  $\alpha$ -Spaltung in einer der Propylketten. Wird folgend ein Propylradikal verloren, ist die Alkylfragmentierung abgeschlossen. Für den entgegengesetzt verlaufenden Weg gibt es keine experimentellen Hinweise. Statt eines Propylradikals kann ein neutrales Ethen abgespalten werden, was einen bekannten Fragmentierungsschritt von aminogebundenen Propylketten darstellt. Somit bleibt ein Radikalkation als zweite Zwischenstufe bestehen. Im dritten Fragmentierungsschritt wird durch die Abspaltung eines Methylradikals der Gesamtverlust von  $C_5H_{12}$  erreicht. Für diesen in drei Schritten ablaufenden Fragmentierungsmechanismus zeigen die  $MS^3$ -Massenspektren keine Hinweise, dass dieser in einer anderen als der beschriebenen Reihenfolge verläuft.

Weiterhin findet die Fragmentierung der Dipropylaminogruppe auch simultan zu Cyclisierungsreaktionen des Grundgerüsts statt. Mit dieser Cyclisierung geht auch der Verlust von Stickstoff einher. Die Massenspektren nach beiden Fragmentierungsmethoden zeigen an dieser Stelle deutliche Unterschiede. Photodissoziation zeigt eine

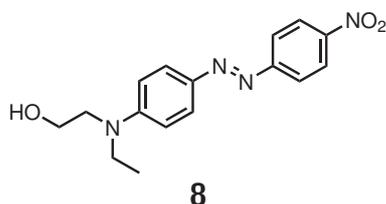
größere Wahrscheinlichkeit von Cyclisierungsreaktionen. Das ist bei der Stoßaktivierung nicht der Fall. Ein ähnlicher Effekt ist auch bei o-Ethylrot (**5**) zu beobachten.

Weitestgehend unabhängig von der Länge der Alkylketten ist dagegen die Gestalt der Massenspektren im niedrigeren m/z-Bereich. Dies ist auf die grundlegende Diphenylstruktur der Verbindungen zurückzuführen. Hierbei überwiegt die starke Tendenz zur Cyclisierung und dem Verlust aller funktionellen Gruppen. Das mündet in der Regel in einem sehr intensiven Radikalkation bei m/z 152.

## 6. Hydroxyethyl als pseudo-Markierung

Die Untersuchung isotope markierter Verbindungen ist in der Massenspektrometrie weit verbreitet. Auf diese Weise lassen sich Abspaltungen in Fragmentierungsprozessen häufig eindeutig zuordnen, Strukturen aufklären und Fragmentierungsmechanismen postulieren. Neben dem Informationsgewinn haben diese Markierungsexperimente auch Nachteile. Isotopenmarkierungen sind sehr teuer und häufig mit aufwendiger präparativer Arbeit verbunden. Eine Vereinfachung dieser Problematik ergibt das Einführen weiterer funktioneller Gruppen an den zu untersuchenden Strukturmerkmalen. Hierbei ist wiederum zu beachten, dass durch das Einbringen weiterer Funktionalität die elektronische und geometrische Struktur der zu untersuchenden Verbindung beeinflusst werden kann. Nichtsdestotrotz wird sich bei der folgenden Beschreibung der massenspektrometrischen Ergebnisse des Disperse Red 1 (**8**) dieser pseudo-Markierung bedient.

### 6.1. Dissoziationsreaktionen von Disperse Red 1

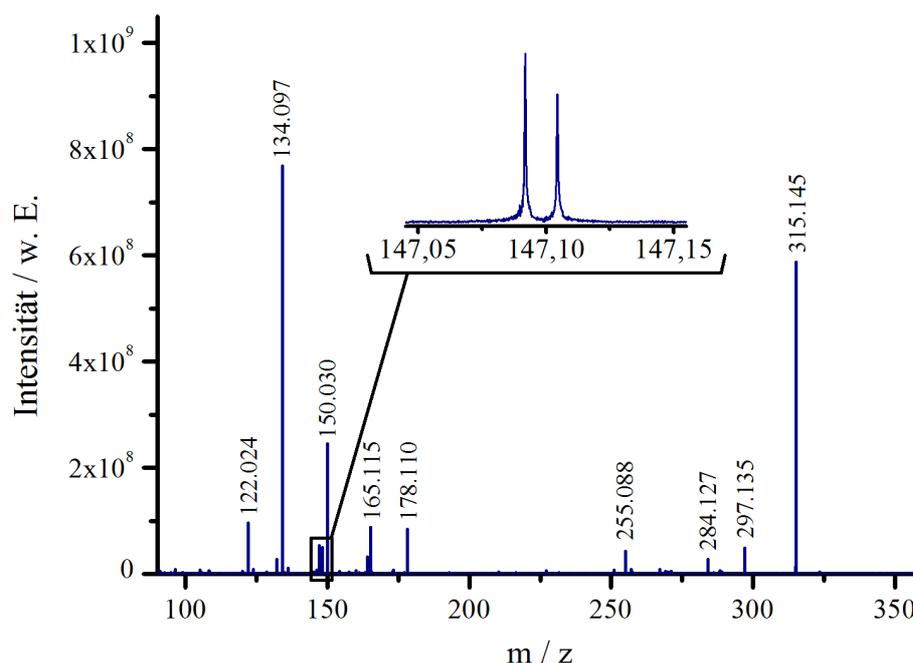


**Schema 6.1:** Struktur von Disperse Red 1 (**8**).

Die Struktur des Disperse Red 1 (**8**) ist in Schema 6.1 gezeigt. Dabei handelt es sich um ein Azobenzolderivat, das an der 4-Position eine Ethyl-(2-hydroxyethyl)amino-

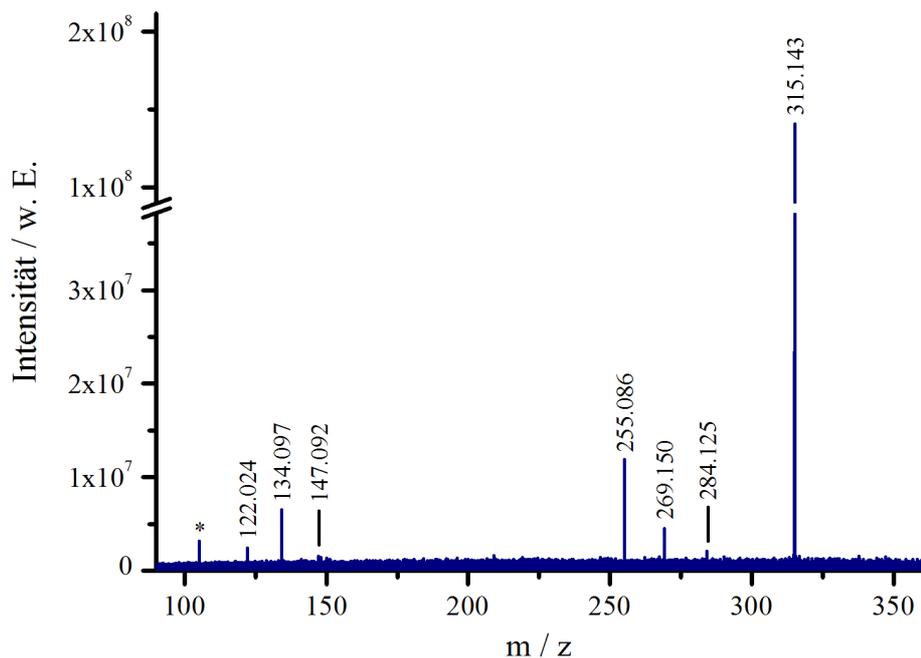
gruppe besitzt. Auf der anderen Seite des Moleküls befindet sich an der 4'-Position eine Nitrogruppe. Nach IUPAC ist der Name der Substanz *N*-Ethyl-*N*-(2-hydroxyethyl)-4-(4-nitrophenylazo)anilin. Azobenzolderivate mit gegenüber liegendem Elektronendonator und Elektronenakzeptor werden als *push-pull* (schiebend-ziehend) Azobenzole bezeichnet. Auf Grund dieser elektronischen Struktur und des damit einhergehenden starken *charge-transfer* Charakters dienen diese Verbindungen häufig als Modellsubstanzen zur Untersuchung der Dynamik photoschaltbarer Systeme.[139, 147, 148] Massenspektrometrisch wurde **8** mehrmals untersucht.[149–152] Hierbei stand jedoch nie das Fragmentierungsverhalten der *N*-Ethyl-*N*-(2-hydroxyethyl)aminogruppe im Fokus. Inwiefern diese funktionelle Gruppe fragmentiert und welchen Einfluss die zusätzliche Hydroxygruppe besitzt, wird in den folgenden Abschnitten aufgezeigt.

### 6.1.1. Fragmentierung von Disperse Red 1



**Abbildung 6.1.:** MS<sup>2</sup>-PD-Massenspektrum von Disperse Red 1 (**8**) mit dem Argon-Ionen-Laser bei einer Leistung von  $P = 2.0$  W.

Die MS<sup>2</sup>-Massenspektren von Disperse Red 1 (**8**) sind für Photodissoziation in Abbildung 6.1 und für Stoßanregung mittels SORI-CID in Abbildung 6.2 gezeigt. Erkenn-



**Abbildung 6.2.:** MS<sup>2</sup>-Massenspektrum von Disperse Red 1 (8) nach SORI-CID-Anregung mit Argon als Stoßgas.

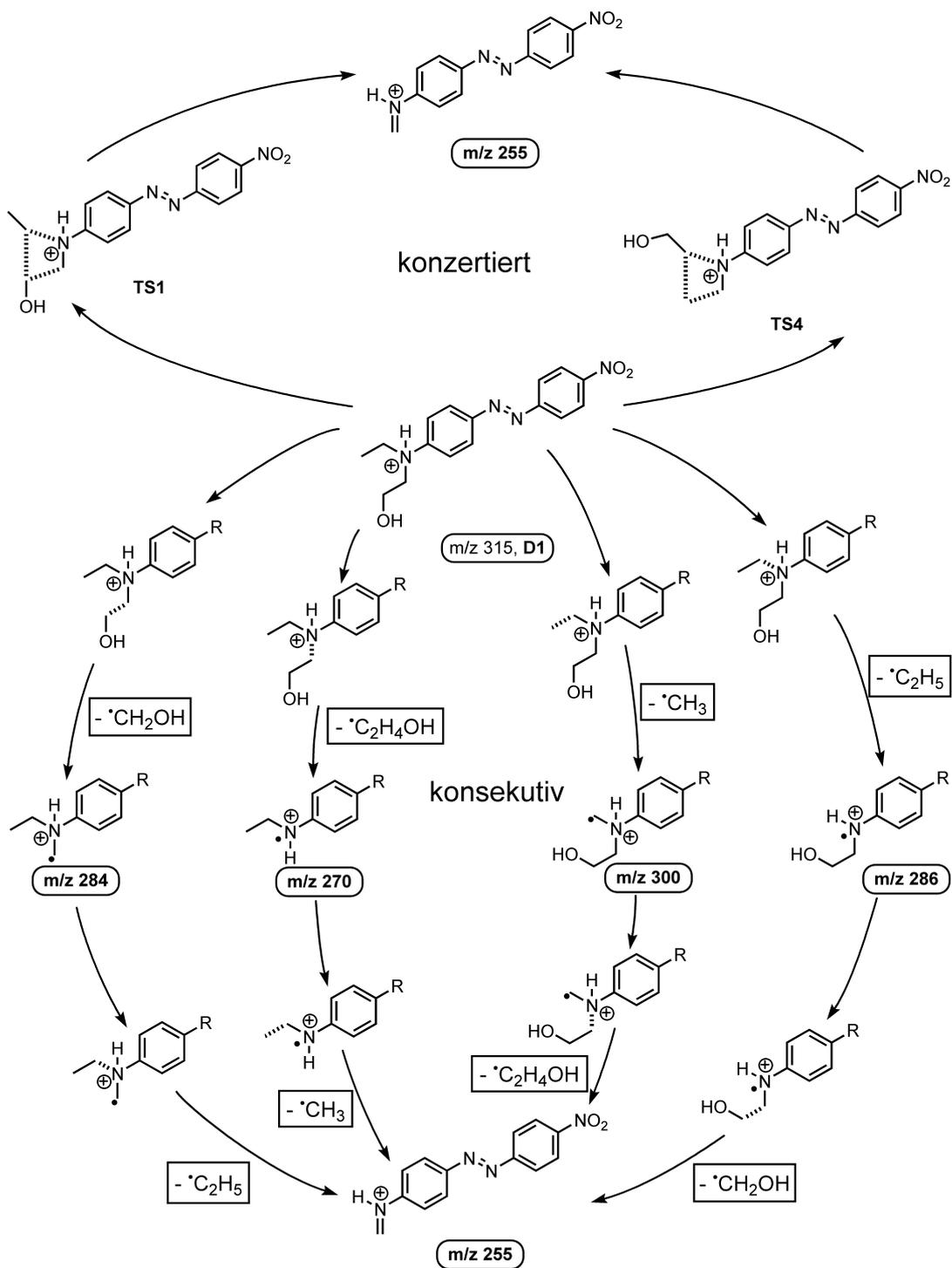
bar ist, dass diese beiden Massenspektren grundsätzliche Ähnlichkeiten mit denen der Verbindungen des ersten Kapitels der Auswertung **1-4** zeigen. Kleinere Verluste ausgehend vom Molekülsignal im Bereich  $m/z$  315 -  $m/z$  250 und größere Abspaltungen, die zu Fragmenten im Bereich  $m/z$  180 -  $m/z$  120 führen, treten auf. Zwischen diesen beiden Bereichen sind keine Fragmentensignale zu beobachten. Eine Zusammenfassung der auftretenden Fragmente mit den entsprechenden Summenformeln der Abspaltungen ist in Tabelle B.18 für das PD-Massenspektrum und in Tabelle B.19 für das SORI-CID-Massenspektrum im Anhang zu finden. Hierbei treten unter PD-Bedingungen mehr Fragmente auf als nach Stoßanregung.

Das PD-Massenspektrum zeigt bei  $m/z$  297 ein Fragment, das der Abspaltung von Wasser (exp.: 18.010 Da, theor.: 18.011 Da) zugeordnet wird. Anders als bei den untersuchten Azoverbindungen im zweiten Kapitel der Auswertung **5-7** stellt diese Wasserabspaltung keinen dominierenden Fragmentierungsprozess dar. Dies zeigt auch das SORI-CID-Massenspektrum, in dem diese Abspaltung nicht zu beobachten ist. In beiden Spektren sind zwei weitere Fragmente bei  $m/z$  284 und bei  $m/z$  255 zu finden. Beide stammen aus der Aminogruppe und entsprechen den Verlusten eines Hydroxymethylradikals (exp.: 31.018 Da, theor.: 31.018 Da) bzw. eines 1-Propanol

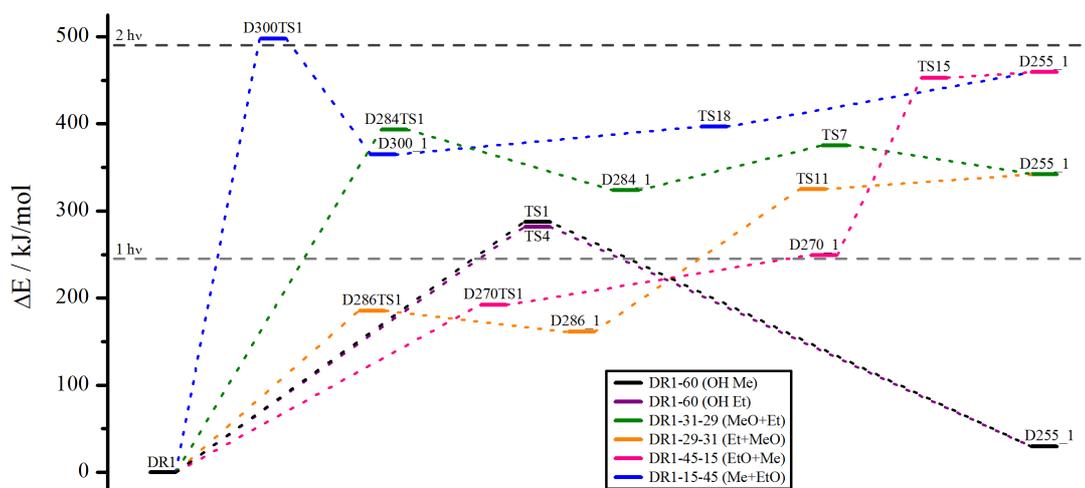
Moleküls, C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O (exp.: 60.057 Da, theor.: 60.058 Da). Ein Fragment, das nur nach Stoßaktivierung zu beobachten ist, befindet sich bei m/z 269 und kann der Abspaltung von Stickstoffdioxid (exp.: 45.993 Da, theor.: 45.993 Da) zugeordnet werden. Alle weiteren Fragmente befinden sich im niedrigeren Bereich der m/z-Skala. Dabei können die Fragmente, die nach Stoßaktivierung auftreten auch unter PD-Bedingungen detektiert werden. Mit geringer Intensität nach Stoßaktivierung treten die beiden Fragmente bei m/z 147b und m/z 122 auf. Beide sind nach PD signifikant intensiver und entsprechen Abspaltungen eines Hydroxymethylradikals in Kombination mit Nitrobenzolaminradikal (exp.: 168.053 Da, theor.: 168.054 Da) bzw. des gesamten Anilinsystems mit der Azogruppe (exp.: 193.121 Da, theor.: 193.122 Da). Ein Nitrobenzolkation entspricht einem Fragment bei m/z 122. Deutlich intensiver ist das Fragment bei m/z 134 zu beobachten, das im PD-Massenspektrum das mit Abstand intensivste Fragmentensignal darstellt. Die Abspaltungen eines Hydroxymethylradikals in Kombination mit einem Nitrobenzoldiazenradikal (exp.: 181.049 Da, theor.: 181.049 Da) führen zur Bildung dieses Fragments. Es handelt sich hierbei um das gleiche Fragment, das auch bei den vier Verbindungen **1-4** intensiv zu beobachten ist. Die weiteren Fragmente treten nur unter PD-Bedingungen auf. Dazu zählt das zweitintensivste Fragmentensignal bei m/z 150, das durch die Abspaltung von *N*-Ethyl-*N*-(2-hydroxyethyl)anilin (exp.: 165.115 Da, theor.: 165.115 Da) gebildet wird. Ähnliche Verluste führen zu den Fragmenten bei m/z 178 und m/z 165. Dabei handelt es sich um Abspaltungen eines Nitrobenzolaminradikals (exp.: 137.035 Da, theor.: 137.035 Da) bzw. eines Nitrobenzoldiazenradikals (exp.: 150.030 Da, theor.: 150.030 Da). Letztgenanntes Fragment ist komplementär zum Fragment bei m/z 150. Weiterhin tritt ein Fragment bei m/z 147a auf, das der kombinierten Abspaltung von Wasser und eines Nitrobenzoldiazenradikals (exp.: 168.041 Da, theor.: 168.041 Da) entspricht. Nachfolgend werden die mechanistischen Prozess für die Bildung einzelner Fragmente dargestellt. Dabei liegt der Fokus auf der pseudo-Markierung der Diethylaminogruppe.

### 6.1.2. Mechanistische Betrachtungen zu Disperse Red 1

Damit die Fragmentierungsreaktionen von Disperse Red 1 (**8**) mechanistisch betrachtet werden können, ist es wichtig den Protonierungsort zu kennen. Zwei Möglichkeiten stehen dabei im Fokus. Das ist zum einen die Protonierung am Anilinstickstoff



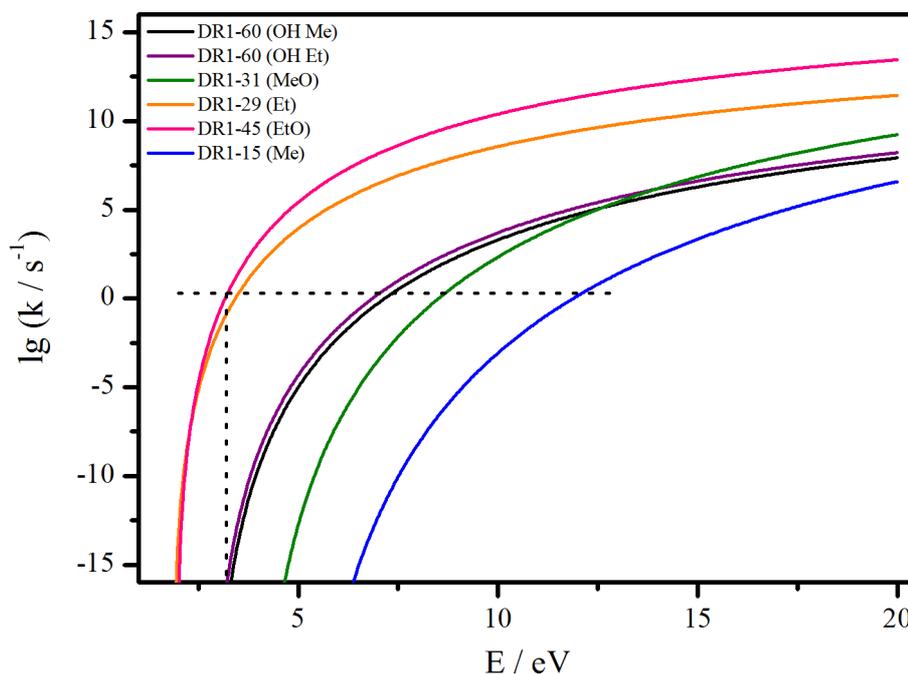
**Schema 6.2:** Fragmentierungsreaktionen der Diethylaminogruppe von Disperse Red 1 (8) bei Protonierung am Anilinstickstoff.



**Abbildung 6.3.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit Produkten und Übergangszuständen ausgehend von Disperse Red 1 (**8**), das am Anilinstickstoff protoniert ist.

und zum anderen die Protonierung an der Azogruppe. Diese zwei Möglichkeiten erlauben eine gute Vergleichbarkeit mit den zuvor untersuchten Verbindungen mit Diethylaminogruppe Ethylgelb (**1**) und p-Ethylrot (**3**), bei denen ebenfalls der Protonierungsort entscheidenden Einfluss auf das Fragmentierungsverhalten zeigte. Zudem ist die Lokalisierung des Protons auch an der Hydroxygruppe vorstellbar. Die Protonierung dieser Position sollte sofort die Abspaltung von Wasser zur Folge haben, was nur nach einer Aktivierung des Moleküls mittels PD-MS zu beobachten ist. Wenn dieser Ort einen signifikanten Beitrag bei einer statistischen Verteilung der Protonierungspositionen leistet, muss der Wasserverlust auch nach Stoßaktivierung zu beobachten sein. Für die weiteren Betrachtungen sind deshalb vor allem das Anilinstickstoffatom als auch die Azogruppe als Protonierungsorte entscheidend.

Mögliche Reaktionswege zur Abspaltung von  $C_3H_8O$  für den Fall der Protonierung am Anilinstickstoff sind in Schema 6.2 dargestellt. Dabei ergeben sich sechs unterschiedliche Optionen als Kombination von Methyl- und Ethylgruppen anstatt der üblichen drei Möglichkeiten bei der unmarkierten Diethylaminogruppe. Im oberen Teil des Schemas sind die beiden konzertierten Fragmentierungsmechanismen gezeigt. Durch die Hydroxygruppe ist es möglich zu unterscheiden, ob zur Abspaltung des neutralen 1-Propanols die Methyl- oder Ethylfunktion die Markierung enthält. Die Ausbildung des cyclischen Übergangszustandes kann durch die Hydroxygrup-

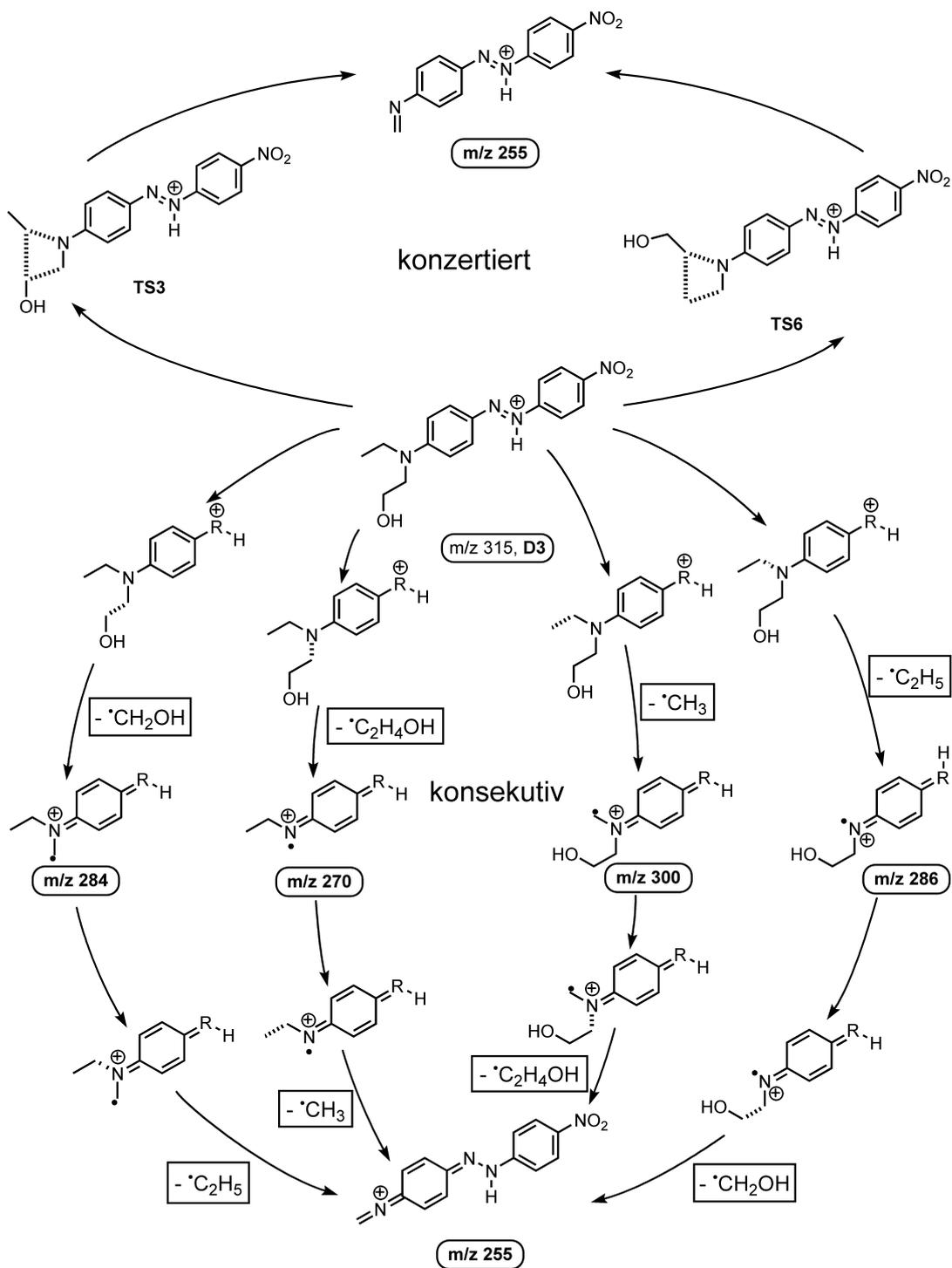


**Abbildung 6.4.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege bei Protonierung von Disperse Red 1 (**8**) am Anilinstickstoff.

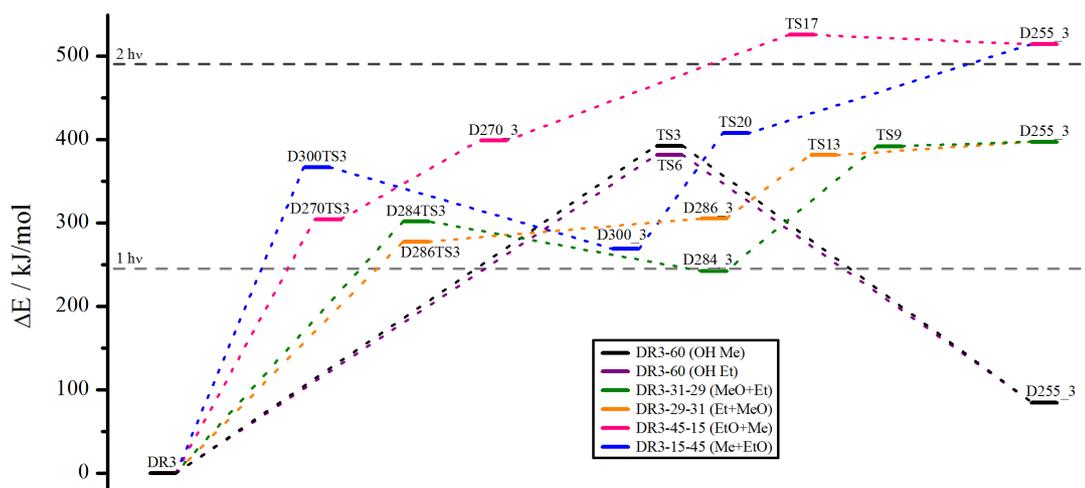
pe beeinflusst werden, so dass die Fragmentierung zu einer der beiden Varianten bevorzugt dirigiert wird. Ähnlich verhält es sich mit den konsekutiven Fragmentierungsmechanismen, die im unteren Teil des Schemas dargestellt sind. Statt zwei Möglichkeiten zur Bildung der Gesamtabsplattung von  $C_3H_8$  aus der Diethylaminogruppe sind es vier für den Verlust von  $C_3H_8O$ . Im ersten Schritt ist die Abspaltung eines Methyl- bzw. eines Ethylradikals aus der Diethylaminogruppe möglich. Diese kann beim Disperse Red 1 (**8**) markiert und unmarkiert vorliegen. Im zweiten Schritt wird das komplementäre Radikal zur Bildung des Gesamtverlustes von  $C_3H_8O$  abgespalten. Für die konsekutiven Reaktionen gilt das Gleiche wie für die konzertierten Reaktionen, die Möglichkeit eines dirigierenden Effekts der Markierung der zu weiteren Hinweisen auf den Mechanismus der Reaktion führt. Die Energien von Edukten, Produkten und entsprechender Übergangszustände aller vorgestellten Reaktionswege wurden berechnet. In Abbildung 6.3 sind die Ergebnisse dieser quantenchemischen Berechnungen dargestellt. Dabei ist zu erkennen, dass die Abspaltung eines Ethylradikals energetisch den günstigsten Fall darstellt. Die Übergangszustände für den Verlust des markierten und unmarkierten Ethylradikals

befinden sich nah beieinander ( $\Delta E = 7$  kJ/mol). Das Radikalkation bei  $m/z$  286 ( $\cdot\text{C}_2\text{H}_5$  Verlust) ist jedoch energetisch ( $\Delta E = 88$  kJ/mol) bevorzugt verglichen mit dem Radikalkation  $m/z$  270 ( $\cdot\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$  Verlust). Beide Fragmente, die aus diesen Abspaltungen resultieren, treten mit sehr niedriger Intensität von ca. 0.5 % zum Molekülsignal im PD-Massenspektrum auf. Die Bevorzugung der Bildung dieser beiden Fragmente bei einer Protonierung am Anilinstickstoff ist nicht überraschend. Ethylgelb (**1**) zeigte ebenfalls eine starke Tendenz zur Ethylradikalabspaltung für diesen Protonierungsort. Kaum ein Unterschied kann für die beiden konzertierten Fragmentierungsmechanismen ausgemacht werden. Das zeigt, dass der Einfluss auf die Übergangszustände TS1 und TS4 marginal ist. Energetisch sind beide Reaktionen zugänglich, jedoch deutlich ungünstiger verglichen mit den Ethylradikalabspaltungen. Die Wahrscheinlichkeit des Methylradikalverlustes durch eine  $\alpha$ -Spaltung ist für diese Protonierungsposition am geringsten. Sowohl markiert als auch unmarkiert benötigen diese Verluste deutlich mehr Energie als die bereits beschriebenen. Der interne Vergleich beider Verluste zeigt ebenfalls große Differenzen auf. Die Abspaltung eines Hydroxymethylradikals ist demnach der Abspaltung eines Methylradikals bevorzugt. Dies ist vor allem auf den aktivierenden positiven mesomeren Effekt der Hydroxygruppe zurückzuführen. Die hohe Intensität des Fragments  $m/z$  284 gegenüber den Ethylradikalabspaltungen kann hiermit jedoch nicht begründet werden.

Basierend auf den quantenchemischen Ergebnissen wurde auch für diesen Fall die energieabhängige Ratenkonstante der unterschiedlichen Reaktionen berechnet. Diese sind in Abbildung 6.4 gezeigt. Konsistent mit den thermodynamischen Betrachtungen sind die Ethylradikalverluste (orange und pinke Kurve) auch kinetisch deutlich gegenüber allen weiteren Fragmentierungsreaktionen bevorzugt. Hierbei ist die Abspaltung des Hydroxyethylradikals leicht gegenüber der des Ethylradikals bevorzugt, was den umgekehrten Fall zur energetischen Betrachtung darstellt. Nichtsdestotrotz kann somit das Auftreten beider Fragmente mit gleicher Intensität, wenn diese auch sehr gering ist, erklärt werden. Für die konzertierten Fragmentierungsreaktionen (schwarze und violette Kurve) zeigen auch die kinetischen Untersuchungen kaum Unterschiede, wie es auch bei den berechneten Übergangszuständen der Fall ist. Interessant ist die Tatsache, dass die kinetisch gehemmte Abspaltung des Hydroxymethylradikals (grüne Kurve) auf kürzeren Zeitskalen (ab ca.  $10^{-5}$  s) gegenüber den konzertierten Reaktionen bevorzugt ist. Dies ist vor allem bei Untersuchungen mit Massenspektrometern von Bedeutung, die Reaktionen deutlich schneller messen



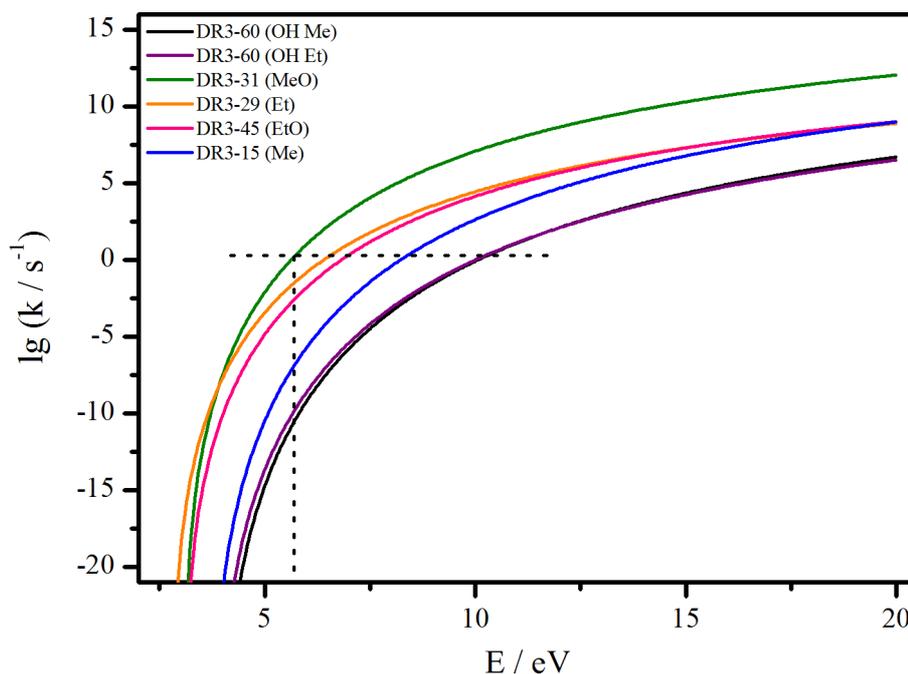
**Schema 6.3:** Fragmentierungsreaktionen der Diethylaminogruppe von Disperse Red 1 (**8**) bei Protonierung am Azostickstoff.



**Abbildung 6.5.:** Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit Produkten und Übergangszuständen ausgehend von Disperse Red 1 (8), das am Azostickstoff protoniert ist.

können als es mit dem FT-ICR-MS möglich ist. Die Methylradikalabspaltung (blaue Kurve) ist kinetisch gehemmt und liefert keinen Beitrag zur Gesamtabspaltung von  $C_3H_8O$ .

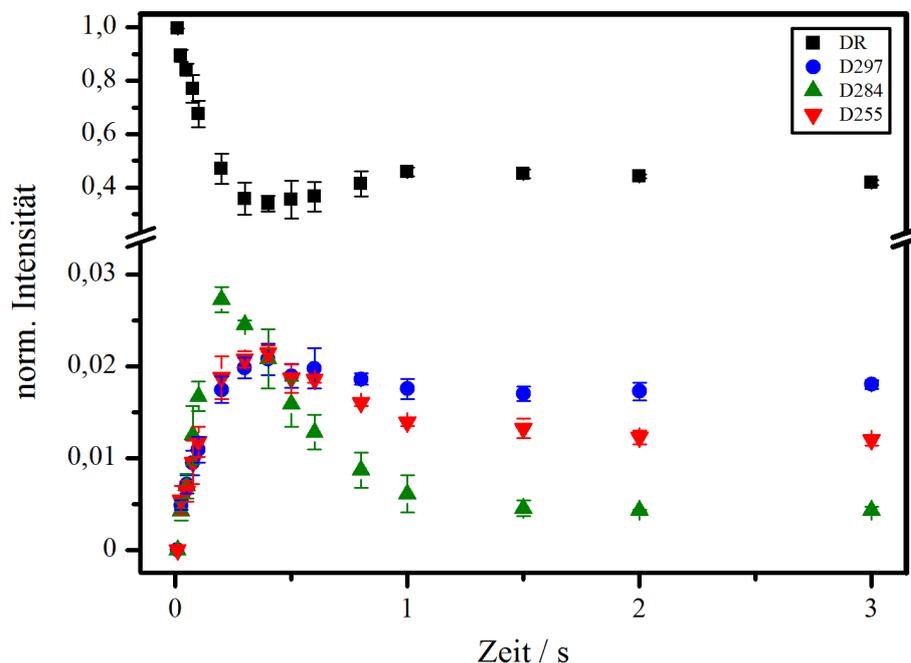
Der zweite Fall ist die Protonierung an der Azogruppe des Disperse Red 1 (8). Dadurch ergeben sich einige Unterschiede zu dem zuvor besprochenen Fall. Wieder sind sechs unterschiedliche Fragmentierungsreaktionen zur Abspaltung von  $C_3H_8O$  möglich, die in Schema 6.3 dargestellt sind. Diese unterteilen sich wieder in zwei konzertierte und vier konsekutive Fragmentierungsmechanismen. Dabei ist auch in diesem Fall entscheidend, inwiefern eine beteiligte Methyl- oder Ethylspezies mit der Hydroxygruppe markiert ist. Die Ergebnisse der Energieberechnungen aller beteiligten Edukte, Produkte und Übergangszustände sind in Abbildung 6.5 zusammengefasst. Die beiden konzertierten Reaktionsmechanismen und die beiden entsprechenden cyclischen Übergangszustände TS3 und TS6 zeigen keinen signifikanten Unterschied ( $\Delta E = 11$  kJ/mol) zueinander. Entscheidender als die Position an der längeren oder kürzeren Alkylkette im Übergangszustand ist, dass diese Reaktion energetisch aufwendiger ist als viele der konkurrierenden Radikalabspaltungen. Das sind beispielsweise die beiden radikalischen Abspaltungen von Methyl und Hydroxymethyl. Diese sind bei einer Protonierung der Azogruppe energetisch günstiger als zuvor, weil das nach der  $\alpha$ -Spaltung entstehende Radikalkation besser stabilisiert ist. Das



**Abbildung 6.6.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege bei Protonierung von Disperse Red 1 (8) am Azostickstoff.

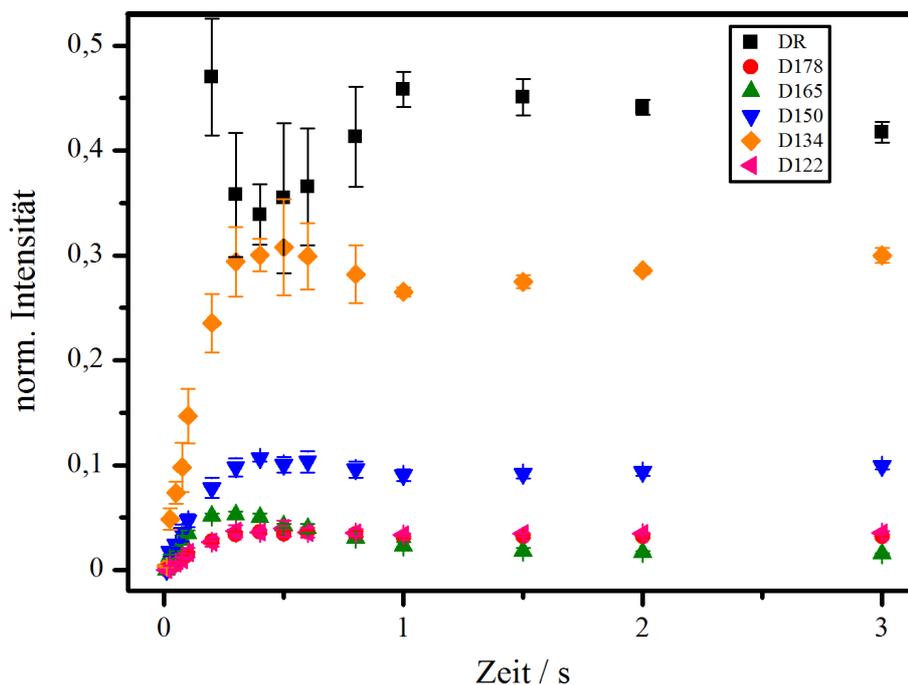
Radikal kann über das aromatische System delokalisiert werden, was zuvor nicht der Fall war. Daraus resultiert, dass die Abspaltung des Hydroxyradikals zum energetisch günstigsten Zwischenprodukt führt (D284\_3). Das unmarkierte Methylradikal führt zu einem weniger günstigen Zwischenprodukt (D300\_3). Anders verhalten sich die Abspaltungen der Ethylradikale. Die Übergangszustände (D286TS3 und D270TS3) befinden sich energetisch in den Bereichen der Übergangszustände der Methylradikalabspaltungen, jedoch liegen die Energien der entstehenden Radikalkationen deutlich höher. Dies deutet auf *lockere* Übergangszustände hin, die hier bei der Bindungsspaltung des Anilinstickstoffs und der entsprechenden Ethylgruppe auftreten. Die Radikalkationen nach der Ethylradikalabspaltung sind nicht in der Lage das entstandene Radikal zu stabilisieren, was den Anstieg der Energie begründet. Im Gesamten betrachtet, deuten die berechneten Energien der verschiedenen Reaktionswege darauf hin, dass sowohl die Abspaltungen eines Hydroxymethylradikals als auch eines Ethylradikals sehr wahrscheinlich sind.

Zur Verifizierung der Ergebnisse konnten wieder die energieabhängigen Ratenkonstanten der Reaktionen berechnet werden, die zu Abspaltungen aus dem Molekülion



**Abbildung 6.7.:** Zeitliche Intensitätsentwicklung des Molekülsignals und der Fragmente von Disperse Red 1 (8) mit Beteiligung der Diethylaminogruppe, bei einer Leistung des Argon-Ionen-Lasers von  $P = 2.0$  W.

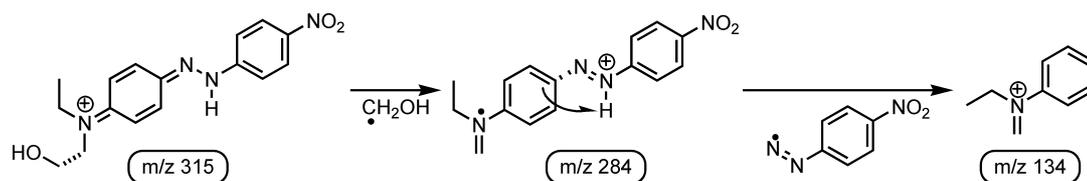
führen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.6 gezeigt. Auffällig ist, dass die beiden konzertierten Fragmentierungsmechanismen (schwarze und violette Kurve) kinetisch gehemmt sind. Beide sind deutlich weniger wahrscheinlich als alle konkurrierenden Radikalabspaltungen und spielen damit für die Bildung des Fragments  $m/z$  255 keine entscheidende Rolle. Ein entscheidender Hinweis wird für die beiden energetisch günstigsten Prozesse der Abspaltung des Hydroxymethylradikals (grüne Kurve) und des Ethylradikals (orange Kurve) erhalten. Im Zeitbereich, der mit dem FT-ICR-MS zugänglich ist, kann eine Bevorzugung der radikalischen Abspaltung von Hydroxymethyl beobachtet werden. Der Unterschied zur Abspaltung des Ethylradikals bzw. auch zum Hydroxyethylradikal (pinke Kurve) ist deutlich. Unter den radikalischen Abspaltungen am wenigsten wahrscheinlich ist der Verlust eines unmarkierten Methylradikals (blaue Kurve). Somit kann das im Experiment detektierte Fragment bei  $m/z$  284 als energetisch und kinetisch bevorzugter Prozess als Zwischenstufe für die Bildung des Fragments  $m/z$  255 und damit dem Verlust von  $C_3H_8O$  ausgemacht werden.



**Abbildung 6.8.:** Zeitliche Intensitätsentwicklung der auftretenden Fragmente von Disperse Red 1 (8), die durch Bindungsbrüche am Azogerüst des Moleküls entstehen (Leistung:  $P = 2.0$  W).

Der Intensitätsverlauf der intensivsten Fragmente wurde in Abhängigkeit der Einstrahlzeit des Argon-Ionen-Lasers bei einer Leistung von  $P = 2.0$  W untersucht. Für das Molekülion und die Fragmente bei  $m/z$  297,  $m/z$  284 und  $m/z$  255 sind die Ergebnisse in Abbildung 6.7 gezeigt. Die Intensitätsverläufe deuten auf weitere Folgereaktionen nach der Abspaltung des Hydroxymethylradikals (grün) hin. Das Maximum des Verlaufs ist schon nach ca. 0.2 s Einstrahlzeit erreicht, danach ist ein exponentieller Abfall der Intensität zu beobachten. Etwas später bei ca. 0.4 s tritt das Maximum der normierten Fragmentintensität der Gesamtabspaltung von  $C_3H_8O$  (rot) auf. Dies ist somit ein möglicher Kanal für einen zeitlich nacheinander ablaufenden Fragmentierungsmechanismus. Das Fragment  $m/z$  255 zeigt bei längerer Einstrahlzeit auch einen exponentiellen Abfall, der jedoch weniger ausgeprägt ist als der des Fragments  $m/z$  284. Folgereaktionen sind demnach auch aus diesem Fragment möglich.

Als Folgereaktion aus dem Fragment  $m/z$  284 kommt auch die Bildung des Fragments  $m/z$  134 in Betracht. Dies stellt das intensivste Fragmentensignal der Verbin-



**Schema 6.4:** Konsekutive Fragmentierungsreaktionen von Disperse Red 1 (**8**) unter Abspaltung zweier Radikale und Bildung des Fragments  $m/z$  134.

dung Disperse Red 1 (**8**) unter PD-Bedingungen dar und tritt auch bei allen Verbindungen dieser Arbeit ohne ortho-Substitution zur Azogruppe auf. In diesem Fall wird zur Bildung ein Hydroxymethylradikal in Kombination mit einem Nitrobenzoldiazenradikal abgespalten. Der Intensitätsverlauf dieses Fragments, in Abbildung 6.8 in orange dargestellt, zeigt das Erreichen des Maximums bei ca. 0.5 s. Danach bleibt die normierte Intensität konstant. In Schema 6.4 ist die Bildung des Fragments  $m/z$  134 dargestellt. Die konsekutive Bildung ist, wie auch schon bei Ethylgelb (**1**) und p-Ethylrot (**3**) gezeigt, sehr wahrscheinlich. Die pseudo-Markierung der Diethylaminogruppe wirkt sich auch auf die Bildung des Fragments  $m/z$  134 aus, bei der zwingend die Abspaltung des Hydroxymethylradikals notwendig ist. Hierbei aktiviert die Hydroxygruppe die entsprechende Seitenkette und initiiert die  $\alpha$ -Spaltung und somit den entsprechenden Verlust. Ein komplementäres Fragment, das formal bei  $m/z$  150 detektiert werden müsste, tritt nicht auf. Das an dieser Stelle beobachtete Signal kann aufgrund des guten Auflösungsvermögens und der guten Massengenauigkeit einem Fragment anderer Summenformel zugeordnet werden (siehe Tabelle B.18). Dies bestätigt alle bisherigen Ergebnisse, dass die Methylradikalabspaltung bei Disperse Red 1 (**8**) nicht auftritt. Abbildung 6.8 zeigt weiterhin die normierten Intensitätsverläufe anderer Fragmente, die aus Bindungsbrüchen an oder in der Mitte der Azogruppe resultieren. Die Bildung dieser Fragmente liefert keine weiteren Hinweise auf das Fragmentierungsverhalten der Diethylaminogruppierung und speziell in diesem Fall auf den Einfluss der pseudo-Markierung. Aus diesem Grund wird auf die Mechanismen, die zu diesen Fragmenten führen an dieser Stelle nicht weiter eingegangen. Die Reaktionswege sind im Anhang in Schema C.3 dargestellt.

### 6.1.3. Zusammenfassung Disperse Red 1

Das Einbringen der pseudo-Markierung in die Diethylaminogruppe mittels einer zusätzlichen Hydroxyfunktion hilft entscheidend bei der Aufklärung der stattfindenden Fragmentierungsmechanismen. Für den Verlust von  $C_3H_8O$  aus dem protonierten Molekülion sind sechs unterschiedliche Fragmentierungswege potentiell möglich. Zwei davon entsprechen konzertierten Mechanismen und vier entsprechen konsekutiven Radikalabspaltungen. Zusätzlich kann die Protonierung des Systems an zwei verschiedenen Stellen stattfinden. Das ist zum einen am Anilinstickstoff und zum anderen an der Azogruppe. Insgesamt stehen zwölf Mechanismen zur Verfügung, die das Auftreten des Fragments bei  $m/z$  255 erklären können. Durch die Kombination von hochauflösender Massenspektrometrie mit quantenchemischen und kinetischen Methoden konnte gezeigt werden, dass drei dieser Mechanismen stattfinden. Bei der Protonierung am Anilinstickstoff ist das die Abspaltung von Ethylradikalen aus der markierten Diethylaminogruppe. Dabei sind sowohl die Abspaltung von Ethyl- als auch Hydroxyethylradikal zu beobachten. Die theoretischen Berechnungen zeigen, dass es sich bei diesen beiden Fragmentierungen um die bevorzugten Reaktionen handelt. Dennoch treten diese mit sehr geringer Intensität im PD-Massenspektrum auf. Das ist auf die *push-pull* Struktur der Verbindung Disperse Red 1 (**8**) zurückzuführen. Die Nitrogruppe auf der gegenüberliegenden Seite des Moleküls übt einen starken elektronenziehenden Effekt aus. Dies führt dazu, dass der Anilinstickstoff als Protonierungsort weniger wahrscheinlich ist. Aufgrund dessen werden diese beiden Fragmentierung mit dieser geringen Intensität beobachtet. Anders verhält es sich, wenn die Protonierung an der Azogruppe stattfindet. In diesem Fall ist die Protonierung durch den elektronenziehenden Effekt der Nitrogruppe begünstigt. Die theoretischen Rechnungen zeigen, dass bei dieser Protonierungsposition die Abspaltung eines Hydroxymethylradikals der energetisch und kinetisch bevorzugte Prozess ist. Dies entspricht dem Fragment  $m/z$  284, das mit guter Intensität in den Massenspektren zu beobachten ist. Dennoch könnte dieses Fragment mit einer größeren Intensität erwartet werden. Dies ist nicht der Fall, da Folgereaktionen ausgehend von diesem Fragment die Intensität begrenzen. Für diese Reaktion tritt keine Komplementärreaktion ausgehend von der unmarkierten Ethylkette aus. Somit kann hier eine eindeutige Unterscheidung der zugrunde liegenden Fragmentierungsmechanismen erreicht werden.



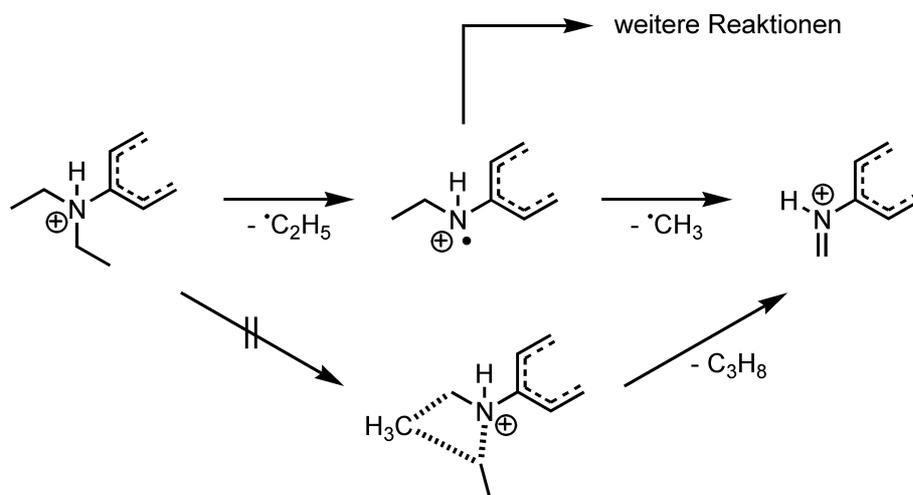
# 7. Zusammenfassung und Ausblick

Zuletzt werden in diesem Kapitel die erhaltenen Ergebnisse noch einmal zusammengefasst. Dabei ist das Fragmentierungsmuster abhängig von der Alkylkettenlänge am Amin, von weiteren Substituenten und von der Position der Ladung im System. Die Unterscheidung zwischen konzertierten und konsekutiven Fragmentierungsmechanismen ist unterstützt durch theoretische Methoden möglich.

## 7.1. Zusammenfassung der Ergebnisse

Insgesamt wurden die Fragmentierungsreaktionen von acht Molekülen beschrieben. Dabei ergaben sich Systematiken bei der Bildung von Fragmenten aus den Dialkylaminogruppen. Die ersten vier untersuchten Moleküle Ethylgelb (**1**), Methylgelb (**2**), p-Ethylrot (**3**) und p-Methylrot (**4**) zeigen viele Gemeinsamkeiten. In diese Gruppe kann ebenfalls das zuletzt beschriebene Disperse Red 1 (**8**) eingeordnet werden.

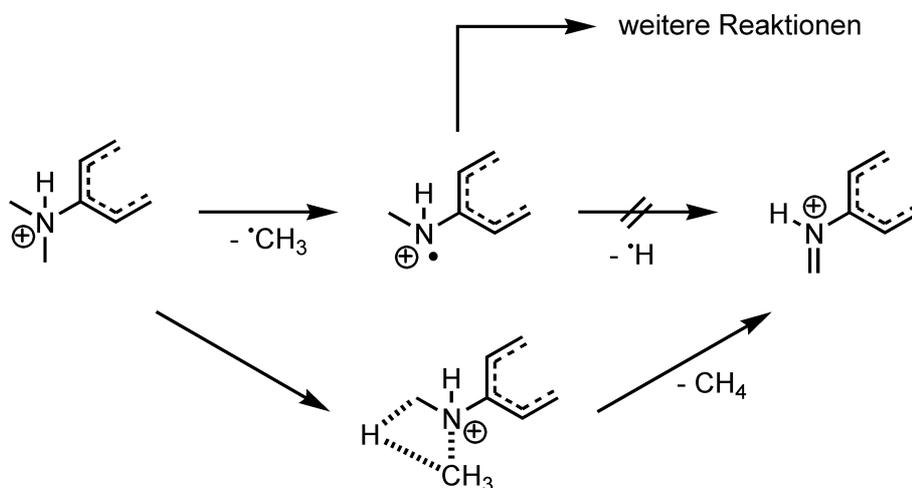
Die Fragmentierung dieser Systeme ist stark von der Position der Protonierung abhängig. Findet die Protonierung am Stickstoff einer Diethylaminogruppe statt, ist die Abspaltung eines Ethylradikals der bevorzugte Prozess, wie es in Schema 7.1 gezeigt ist. Die Spektren von **1** zeigen sehr deutlich das Auftreten eines entsprechenden Fragments. Diese Tatsache wird durch die quantenchemischen und kinetischen Rechnungen unterstützt. Für **3** und **8** zeigen die Rechnungen ebenfalls die Bevorzugung einer Ethylradikalabspaltung. Die Massenspektren weisen jedoch auf ein anderes Verhalten hin. Die zusätzlichen elektronenziehenden Gruppen erklären dieses Phänomen. Die Carboxy- bzw. die Nitrogruppe an der 4'-Position des Azobenzolgrundgerüsts verringern die Elektronendichte am Anilinstickstoff, was eine Protonierung an dieser Stelle sehr unwahrscheinlich macht. Ein ähnliches Bild ergibt sich für die beiden Verbindungen mit Dimethylaminogruppe **2** und **4**. Sie zeigen den



**Schema 7.1:** Abspaltung eines Ethylradikals aus der protonierten Diethylaminogruppe mit entsprechenden Folgereaktionen.

deutlich bevorzugten Verlust eines Methylradikals, was analog dem Ethylradikalverlust aus einer Diethylaminogruppe ist, siehe Schema 7.2. Unterschiede zwischen den Diethyl- und Dimethylverbindungen sind bei den konzertierten Fragmentierungsmechanismen erkennbar. Der Verlust von  $\text{C}_3\text{H}_8$  aus der Diethylaminogruppe ist energetisch und kinetisch nicht bevorzugt und tritt nicht auf. Demgegenüber steht die Abspaltung von  $\text{CH}_4$  aus der Dimethylaminogruppe. Diese ist für **4** ein Reaktionsweg, der wahrscheinlicher als der konsekutive Mechanismus ist. Dabei unterscheiden sich die beiden Reaktionen der Abspaltung von  $\text{CH}_4$  über einen cyclischen Übergangszustand und die Abspaltung von  $\text{CH}_3^\bullet$  weder energetisch noch kinetisch. Beide Signale treten im Spektrum auf. Den Unterschied macht der zweite Schritt des konsekutiven Mechanismus aus. Die Abspaltung eines weiteren Wasserstoffradikals aus dem Radikalkation ist energetisch ungünstig und spricht somit gegen diesen Fragmentierungsmechanismus.

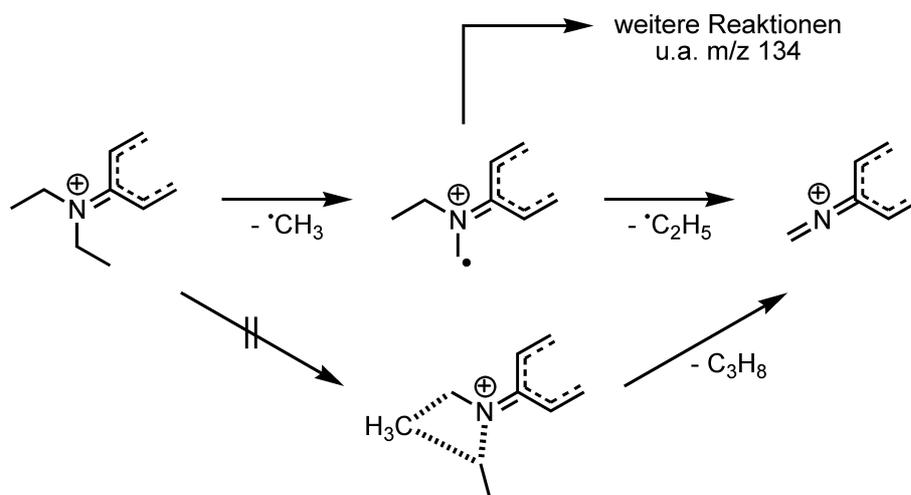
Als zweiter Protonierungsort steht die Azogruppe zur Verfügung. Davon ausgehend werden andere Fragmentierungsmechanismen als bei der Protonierung des Anilinstickstoffs beobachtet. Die Energetik und Kinetik zeigen für diesen Fall, dass bei **1**, **3** und **8** die Abspaltung eines Methylradikals der bevorzugte Fragmentierungsprozess ist. Dies ist in Schema 7.3 dargestellt. Allerdings konnte der Methylradikalverlust experimentell nur bei **8** nachgewiesen werden. Dennoch sind bei den anderen Molekülen Hinweise auf diese Methylradikalabspaltungen zu finden. Das Fragment bei



**Schema 7.2:** Abspaltung eines Methylradikals bzw. von Methan aus der protonierten Dimethylaminogruppe mit entsprechenden Folgereaktionen.

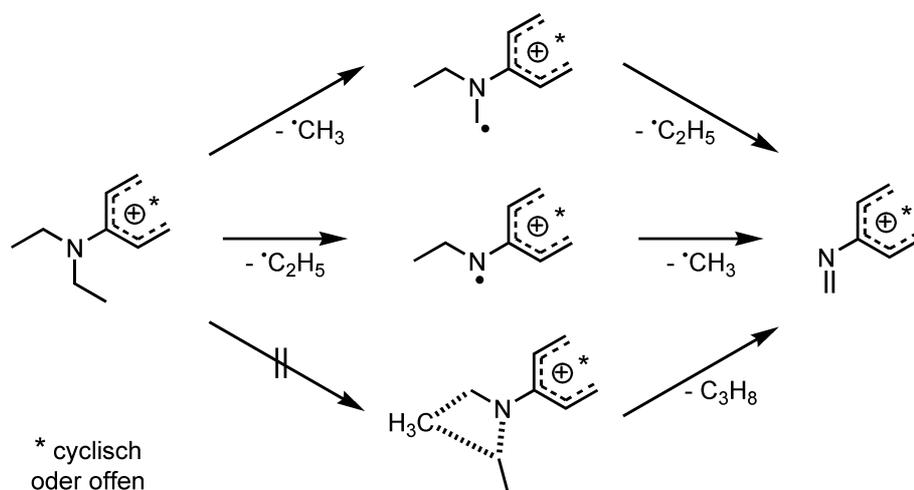
$m/z$  134 stellt in den Spektren der drei Verbindungen eines der intensivsten Signale dar und entsteht durch einen kombinierten Verlust, bei dem die Abspaltung eines Methylradikals beteiligt sein muss. Die Bildung dieses Fragments mittels eines konsekutiven Fragmentierungsmechanismus ist energetisch leicht bevorzugt verglichen mit einer folgenden Ethylradikalabspaltung, die zum Gesamtverlust von C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> führt. Für die Dimethylverbindungen ist der analoge Prozess die Abspaltung eines Wasserstoffradikals. Dabei handelt es sich um einen Hochenergieprozess, der unter den gegebenen Bedingungen nicht zu beobachten ist. Aufgrund dessen kann für diese Verbindungsklasse kein eindeutiger Reaktionsweg ausgemacht werden, der zu einem Verlust von CH<sub>4</sub> bei Protonierung der Azogruppe führt. Insgesamt ist es möglich, durch die Kombination von experimentellen und theoretischen Methoden zwischen den Fragmentierungsmechanismen zu unterscheiden.

Die Fragestellung der Protonierung ergab sich für die Verbindungen Ethylrot (5), Methylrot (6) und Propylrot (7) nicht. Diese Verbindungen zeigen in den Massenspektren einen intensiven Verlust von Wasser. Mit Hilfe von Deuterierungsexperimenten konnte gezeigt werden, dass dieser aus der Hydroxygruppe der Carbonsäure und dem Proton des Ionisierungsprozesses resultiert. Damit entsteht immer ein Kation, bei dem sich kein zusätzliches Proton an der Dialkylaminogruppe befinden kann. Demnach sollten sich diese so verhalten, wie es zuvor der Fall bei einer Protonierung



**Schema 7.3:** Abspaltung eines Methylradikals aus der Diethylaminogruppe bei Protonierung an der Azogruppe und Darstellung der Folgereaktionen.

an der Azogruppe war. Dafür sprechen Fragmente, die durch  $\alpha$ -Spaltung in einer der Alkylketten resultieren, wobei auch hier die Dimethylverbindung **6** eine Ausnahme darstellt und die Abspaltung eines Methylradikals zeigt. Weiterführende experimentelle und theoretische Untersuchungen wurden für die Diethylverbindung **5** durchgeführt.  $\text{MS}^3$ -PD-Untersuchungen zeigten eindeutig, dass auf die Methylradikalabspaltung der Verlust eines Ethylradikals folgt und damit der Gesamtverlust von  $\text{C}_3\text{H}_8$  über einen konsekutiven Fragmentierungsmechanismus gebildet wird. Dies ist auch der Fall, wenn das System zuvor eine Cyclisierungsreaktion durchläuft, mit der einhergehend  $\text{N}_2$  aus der Azogruppe abgespalten wird. Die Reaktionen sind schematisch in Schema 7.4 dargestellt. Die Ergebnisse werden zudem von den Berechnungen zur Energetik und Kinetik bestätigt. Nichtsdestotrotz zeigen die Rechnungen ebenfalls, dass auch der umgekehrte Weg, bei dem erst ein Ethylradikal und dann ein Methylradikal abgespalten wird, stattfinden sollte. Experimentell lassen sich keine Hinweise auf diese Abfolge finden. Dennoch kann dieser Reaktionsweg möglich sein und über verschiedene Mechanismen der Photodissoziation erklärt werden. Nach der Methylradikalabspaltung stellt das Radikalkation eine stabile Zwischenstufe dar, reagiert langsam weiter und ist damit im Spektrum detektierbar. Demgegenüber reagiert das Radikalkation nach einem Ethylradikalverlust noch während der Anregung weiter und kann nicht im Spektrum detektiert werden, trägt aber trotzdem zur Bildung



**Schema 7.4:** Abspaltung eines Methylradikals bzw. eines Ethylradikals aus der Diethylaminogruppe mit den entsprechenden Folgereaktionen, die zu einem Gesamtverlust von  $C_3H_8$  führen.

des Gesamtverlustes von  $C_3H_8$  bei. Ein konzertierter Fragmentierungsmechanismus kann für **5** sowohl experimentell als auch durch Berechnungen ausgeschlossen werden.

Für Propylrot (**7**) ist der analoge Verlust zur  $C_3H_8$ -Abspaltung der Verlust von  $C_5H_{12}$ . Mittels  $MS^3$ -Untersuchungen wurden mehrere Bildungswege dieser Abspaltung nachgewiesen. Der konzertierte Fragmentierungsmechanismus kann in diesem Fall nicht ausgeschlossen werden, da eine intensive, auf den Wasserverlust folgende Abspaltung von  $C_5H_{12}$  zu erkennen ist. Weiterhin sind mehrere konsekutive Fragmentierungsmechanismen mit Beteiligung radikalischer Abspaltungen möglich. Über eine  $\alpha$ -Spaltung wird ein Ethylradikal verloren. Ausgehend von dem gebildeten Radikalkation führt der Verlust eines Propylradikals zu dem Fragment, das der Gesamtabspaltung entspricht. Eine andere Möglichkeit ist der Verlust von Ethen aus dem zuvor gebildeten Radikalkation. In einem dritten Reaktionsschritt wird ein Methylradikal abgespalten, was wieder zu einem Gesamtverlust von  $C_5H_{12}$  führt. Dies zeigt, dass mit Erweiterung der Alkylkettenlänge generell vergleichbare Reaktionen stattfinden, die Mechanismen jedoch vielfältiger werden.

Die Verbindung Disperse Red 1 (**8**) stellt nochmals einen Spezialfall dar. Durch die Kombination der experimentellen und theoretischen Methoden war es möglich zu zeigen, wie der Verlust von  $C_3H_8O$  zustande kommt. Dabei handelt es sich um

das Analogon zur Abspaltung von  $C_3H_8$  aus Diethylaminogruppen. Im Endeffekt ist auch in diesem Fall die Bildung des Fragments auf konsekutive Fragmentierungsmechanismen zurückzuführen. Zwischen zwölf theoretisch möglichen Reaktionswegen konnte hier unterschieden werden. Drei dieser Reaktion finden tatsächlich statt. Dies zeigt abermals, dass die Kombination von hochauflösender Massenspektrometrie mit quantenchemischen und kinetischen Rechnungen ein sehr hilfreiches Mittel zur Aufklärung von Fragmentierungsmechanismen darstellt. Auf diese Weise konnte erstmals zwischen konzertierten und konsekutiven Fragmentierungsmechanismen bei der Abspaltung von  $C_3H_8$  aus Diethylaminogruppen unterschieden werden.

### 7.2. Ausblick

In der Wissenschaft ergeben sich mit der Beantwortung von Fragestellungen in der Regel neue Fragen. Aufbauend auf den erhaltenen Ergebnissen sind weitere Experimente und Untersuchungen nötig, um einen noch tieferen Einblick in das Fragmentierungsverhalten der Diethylaminogruppe zu bekommen.

Basierend auf den untersuchten Systemen sind weitere Modifikationen der funktionellen Gruppen möglich, was weitere Effekte auf den ablaufenden Fragmentierungsmechanismus haben kann. Dabei kann untersucht werden, inwiefern die ortho-Position zur Azogruppe kritisch bei der Cyclisierung des Grundgerüsts ist. Die Verwendung anderer Substituenten als der Carbonsäure kann hier weitere Erkenntnisse liefern. Ebenfalls sollte das Prinzip der pseudo-Markierung mit Anwendung auf die Diethylaminogruppe weiter verfolgt werden. Andere Gruppen an eine der Alkylgruppen gekoppelt können weitere Hinweise auf den Mechanismus liefern. Das Beispiel von Disperse Red 1 zeigt, dass es möglich ist, mit dieser Methodik einen Fragmentierungsmechanismus detailliert zu untersuchen. Über diese Funktion hinaus ist die Anbindung an weitere Substanzen wie kleine Proteine oder Oligosaccharide möglich. Dabei ließe sich die Fragmentierung dieser Systeme untersuchen, wenn diese als Photolabel fungieren.

Neben der Untersuchung der einfachen protonierten Spezies besteht die Möglichkeit der Clusterbildung, wie es für das Methylrot gezeigt wurde. Die Bildung von Clustern ist dabei von vielen Faktoren, wie Konzentration, Temperatur, Druck, Lösungsmittel, zugesetzte *Salze*, uvm. abhängig. Erste Arbeiten in diesem Bereich zeig-

ten interessante Ergebnisse bei der Clusterbildung mit Alkali- und Erdalkalimetallen.[153] Dabei konnte eine starke Abhängigkeit der Fragmentierung von der Größe des verwendeten Metallkations festgestellt werden. Für die Interpretation sind in diesem Bereich fortführende quantenchemische Rechnungen unerlässlich. Mit diesen kann die Position bestimmt werden, an der sich das Metall befindet und somit auch den Einfluss auf das Fragmentierungsverhalten erklären.

Experimentelle Anpassungen zur Untersuchung der beschriebenen Systeme sind ebenfalls ein Ansatzpunkt. Zum einen betrifft dies die Bildung der Ionen. Mit der Elektrospray-Ionisation werden protonierte Spezies generiert. Interessant ist an dieser Stelle der Vergleich zu Radikalkationen der gleichen Verbindung. Am FT-ICR-MS ist die Erzeugung von Radikalkationen auf mehrfache Weise möglich. Mittels einer Niedertemperatur-Plasma (LTP)-Quelle oder auch mittels APCI ist die Bildung radikalischer Molekülonen zu erreichen. Beide Systeme sind im Arbeitskreis vorhanden. Die LTP-FT-ICR-MS Kombination wurde bereits getestet und erste Ergebnisse erhalten.[154] Zum anderen ist bei der Fragmentierung die Verwendung weiterer Lasersysteme möglich. Im Bereich der Diodenlaser sind Systeme in der Größenordnung einer Taschenlampe verfügbar, die über ausreichend Leistung verfügen, um Massenspektren mit intensiven Fragmentensignalen zu erhalten. Der größte Vorteil ist hierbei, dass bei einem vielfach geringeren Preis ähnliche Ergebnisse verglichen mit einem Argon-Ionen-Laser erhalten werden. Neben festfrequenten ist auch die Verwendung von durchstimmbaren Lasersystemen ein Ansatz. Erste Arbeiten mit der Verwendung eines wellenlängenveränderlichen Farbstofflasers zur Dissoziation wurden durchgeführt.[155] Zur weiteren Unterscheidung strukturspezifischer von umlagerungsbedingten Fragmenten kann die Verwendung eines Ultrakurzzeit-Lasers beitragen. Die hohe Leistungsdichte der Pulse führt zu einer sehr schnellen Anregung der Ionen, so dass die Fragmentierung nur aus sehr hohen angeregten ionischen Zuständen erfolgt. Dies sollte einen deutlichen Unterschied verglichen mit den in dieser Arbeit verwendeten Methoden zeigen. Fragmente, die durch Umlagerungsreaktionen entstehen, können nicht mehr gebildet werden. Zu diesem Thema wurden auch erste Arbeiten durchgeführt, die vielversprechende Ergebnisse zeigen.[156]



# Literaturverzeichnis

- [1] M. Clemen, C. Gernert, J. Peters, J. Grotemeyer, Fragmentation Reactions of Labeled and Unlabeled Rhodamine B in a High-Resolution Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometer, *Eur. J. Mass Spectrom.* **2013**, *19*, 135.
- [2] J. Peters, J. Grotemeyer, Fragmentation of xanthene dyes by laser activation and collision-induced dissociation on a high-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 1169.
- [3] J. Peters, M. Clemen, J. Grotemeyer, Fragmentation of deuterated rhodamine B derivatives by laser and collisional activation in an FT-ICR mass spectrometer, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 7061.
- [4] C. Gernert, J. Grotemeyer, Photodissociation at Various Wavelengths: Fragmentation Studies of Oxazine 170 Using Nanosecond Laser Pulses, *Eur. J. Mass Spectrom.* **2015**, *21*, 599.
- [5] C. Gernert, Zum massenspektrometrischen Fragmentierungsverhalten von substituierten Xanthenen, Anilinen und Coumarinen unter PD und Stoßbedingungen, Dissertation, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2015**.
- [6] H. Bannick, Fragmentierungsreaktionen von Xanthenfarbstoffen und funktionalisierten Anthracenen, Dissertation, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2015**.
- [7] J. J. Thomson, Cathode rays, *Philos. Mag.* **1897**, *44*, 293.
- [8] S. Lundqvist, Physics, 1901-1921, Nobel lectures, World Scientific, **1998**.

- [9] J. Gross, Mass Spectrometry, 2. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2004**.
- [10] J. B. Fenn, Electrospray Wings for Molecular Elephants (Nobel Lecture), *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 3871.
- [11] K. Tanaka, The Origin of Macromolecule Ionization by Laser Irradiation (Nobel Lecture), *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 3860.
- [12] J. Soltwisch, H. Kettling, S. Vens-Cappell, M. Wiegelmann, J. MÜthing, K. Dreisewerd, Mass spectrometry imaging with laser-induced postionization, *Science* **2015**, *348*, 211.
- [13] Z. Takáts, J. M. Wiseman, B. Gologan, R. G. Cooks, Mass Spectrometry Sampling Under Ambient Conditions with Desorption Electrospray Ionization, *Science* **2004**, *306*, 471.
- [14] R. W. Odom, Secondary Ion Mass Spectrometry Imaging, *Appl. Spectrosc. Rev.* **1994**, *29*, 67.
- [15] L. McDonnell, R. M. A. Heeren, Imaging mass spectrometry, *Mass Spectrom. Rev.* **2007**, *26*, 606.
- [16] W. D. Lehmann, A timeline of stable isotopes and mass spectrometry in the life sciences, *Mass Spectrom. Rev.* **2017**, *36*, 58.
- [17] M. B. Comisarow, A. G. Marshall, Fourier transform ion cyclotron resonance spectroscopy, *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *25*, 282.
- [18] M. B. Comisarow, A. G. Marshall, Frequency-sweep fourier transform ion cyclotron resonance spectroscopy, *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *26*, 489.
- [19] A. Koch, A. Schnapp, J. Soltwisch, K. Dreisewerd, Generation of multiply charged peptides and proteins from glycerol-based matrices using lasers with ultraviolet, visible and near-infrared wavelengths and an atmospheric pressure ion source, *Int. J. Mass Spectrom.* **2017**, *416*, 61.
- [20] A. Schmidt, M. Karas, T. Dülcks, Effect of different solution flow rates on analyte ion signals in nano-ESI MS, or: when does ESI turn into nano-ESI?, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2003**, *14*, 492.

- [21] L. Rayleigh, XX. On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricit, *London, Edinburgh, Dublin Phil. Mag. J. Sci.* **1882**, *14*, 184.
- [22] P. Kebarle, L. Tang, From Ions in Solutions to Ions in the Gas Phase, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 972A.
- [23] L. Konermann, E. Ahadi, A. D. Rodriguez, S. Vahidi, Unraveling the Mechanism of Electrospray Ionization, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 2.
- [24] J. V. Iribarne, B. A. Thomson, On the evaporation of small ions from charged droplets, *J. Chem. Phys.* **1976**, *64*, 2287.
- [25] B. A. Thomson, J. V. Iribarne, Field induced ion evaporation from liquid surfaces at atmospheric pressure, *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4451.
- [26] E. Ahadi, L. Konermann, Surface Charge of Electrosprayed Water Nanodroplets: A Molecular Dynamics Study, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 11270.
- [27] E. Ahadi, L. Konermann, Ejection of Solvated Ions from Electrosprayed Methanol/Water Nanodroplets Studied by Molecular Dynamics Simulations, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 9354.
- [28] I. G. Loscertales, J. F. de la Mora, Experiments on the kinetics of field evaporation of small ions from droplets, *The Journal of Chemical Physics* **1995**, *103*, 5041.
- [29] M. Gamero-Castaño, J. F. de la Mora, Kinetics of small ion evaporation from the charge and mass distribution of multiply charged clusters in electrosprays, *J. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 790.
- [30] C. J. Hogan Jr., J. A. Carroll, H. W. Rohrs, P. Biswas, M. L. Gross, Combined Charged Residue-Field Emission Model of Macromolecular Electrospray Ionization, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 369.
- [31] L. Testa, S. Brocca, R. Grandori, Charge-Surface Correlation in Electrospray Ionization of Folded and Unfolded Proteins, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 6459.
- [32] N. B. Cech, C. G. Enke, Practical implications of some recent studies in electrospray ionization fundamentals, *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 362.

- [33] A. T. Iavarone, O. A. Udekwu, E. R. Williams, Buffer Loading for Counteracting Metal Salt-Induced Signal Suppression in Electrospray Ionization, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 3944.
- [34] C. Liu, Q. Wu, A. C. Harms, R. D. Smith, On-Line Microdialysis Sample Cleanup for Electrospray Ionization Mass Spectrometry of Nucleic Acid Samples, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 3295.
- [35] E. Ahadi, L. Konermann, Modeling the Behavior of Coarse-Grained Polymer Chains in Charged Water Droplets: Implications for the Mechanism of Electrospray Ionization, *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 104.
- [36] M. Z. Steinberg, K. Breuker, R. Elberc, R. B. Gerber, The dynamics of water evaporation from partially solvated cytochrome c in the gas phase, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 4690.
- [37] I. A. Kaltashov, R. R. Abzalimov, Do ionic charges in ESI MS provide useful information on macromolecular structure?, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2008**, *19*, 1239.
- [38] B. T. Ruotolo, S.-J. Hyung, P. M. Robinson, K. Giles, R. H. Bateman, C. V. Robinson, Ion Mobility–Mass Spectrometry Reveals Long-Lived, Unfolded Intermediates in the Dissociation of Protein Complexes, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 8001.
- [39] P. Kebarle, U. H. Verkerk, Electrospray: From ions in solution to ions in the gas phase, what we know now, *Mass Spectrom. Rev.* **2009**, *28*, 898.
- [40] L. Konermann, A. D. Rodriguez, J. Liu, On the Formation of Highly Charged Gaseous Ions from Unfolded Proteins by Electrospray Ionization, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 6798.
- [41] L. Schweikhard, A. G. Marshall, Excitation modes for fourier transform-ion cyclotron resonance mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1993**, *4*, 433.
- [42] A. G. Marshall, M. B. Comisarow, Fourier and Hadamard transform methods in spectroscopy, *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 491a.

- [43] A. G. Marshall, D. C. Roe, Theory of Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectroscopy: Response to frequency-sweep excitation, *J. Chem. Phys.* **1980**, *73*, 1581.
- [44] S. Guan, A. G. Marshall, Stored waveform inverse Fourier transform (SWIFT) ion excitation in trapped-ion mass spectrometry: Theory and applications, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1996**, *157-158*, 5.
- [45] P. B. Grosshans, A. G. Marshall, Theory of ion cyclotron resonance mass spectrometry: resonant excitation and radial ejection in orthorhombic and cylindrical ion traps, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1990**, *100*, 347.
- [46] H. Dehmelt, Experiments with an isolated subatomic particle at rest, *Rev. Mod. Phys.* **1990**, *65*, 525.
- [47] W. Paul, Electromagnetic traps for charged and neutral particles, *Rev. Mod. Phys.* **1990**, *62*, 531.
- [48] E. N. Nikolaev, Y. I. Kostyukevich, G. N. Vladimirov, Fourier transform ion cyclotron resonance (FT ICR) mass spectrometry: Theory and simulations, *Mass Spectrom. Rev.* **2014**, *35*, 219.
- [49] P. Caravatti, M. Allemann, The ‘infinity cell’ A new trapped-ion cell with radiofrequency covered trapping electrodes for fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, *Org. Mass Spectrom.* **1991**, *26*, 514.
- [50] G. S. Jackson, C. L. Hendrickson, B. B. Reinhold, A. G. Marshall, Two-plate vs. four-plate azimuthal quadrupolar excitation for FT-ICR mass spectrometry, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1997**, *165-166*, 327.
- [51] L. Schweikhard, J. Ziegler, H. Bopp, K. Lützenkirchen, The trapping condition and a new instability of the ion motion in the ion cyclotron resonance trap, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1995**, *141*, 77.
- [52] G. S. Jackson, J. D. Canterbury, S. Guan, A. G. Marshall, Linearity and quadrupolarity of tetragonal and cylindrical penning traps of arbitrary length-to-width ratio, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1997**, *8*, 283.

- [53] D. W. Mitchell, R. D. Smith, Prediction of a Space Charge Induced Upper Molecular Mass Limit Towards Achieving Unit Mass Resolution in Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry, *J. Mass Spectrom.* **1996**, *31*, 771.
- [54] R. A. Marcus, Lifetimes of Active Molecules. I, *J. Chem. Phys.* **1952**, *20*, 352.
- [55] R. A. Marcus, Lifetimes of Active Molecules. II, *J. Chem. Phys.* **1952**, *20*, 355.
- [56] R. A. Marcus, Unimolecular Dissociations and Free Radical Recombination Reactions, *J. Chem. Phys.* **1952**, *20*, 359.
- [57] R. A. Marcus, Recombination of Methyl Radicals and Atomic Cracking of Ethyl Radicals, *Journal of Chemical Physics* **1952**, *20*, 364.
- [58] A. K. Shukla, J. H. Futrell, Tandem mass spectrometry: dissociation of ions by collisional activation, *J. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 1069.
- [59] S. A. McLuckey, D. E. Goeringer, Special Feature: Tutorial - Slow Heating Methods in Tandem Mass Spectrometry, *J. Mass Spectrom.* **1997**, *32*, 461.
- [60] C. S. Harden, A. P. Snyder, G. A. Eiceman, Determination of collision-induced dissociation mechanisms and cross-sections in organophosphorus compounds by atmospheric pressure ionization tandem mass spectrometry, *Org. Mass Spectrom.* **1993**, *28*, 585.
- [61] A. G. Marshall, Milestones in fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry technique development, *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *200*, 331.
- [62] J. W. Gauthier, T. R. Trautman, D. B. Jacobson, Sustained off-resonance irradiation for collision-activated dissociation involving Fourier transform mass spectrometry. Collision-activated dissociation technique that emulates infrared multiphoton dissociation, *Anal. Chim. Acta* **1991**, *246*, 211.
- [63] P. B. Armentrout, K. M. Ervin, M. T. Rodgers, Statistical Rate Theory and Kinetic Energy-Resolved Ion Chemistry: Theory and Applications, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 10071.

- [64] A. G. Brenton, Special feature: Tutorial. Translational energy spectroscopy, *J. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 657.
- [65] M. Panczel, T. Baer, A photoelectron photoion coincidence (PEPICO) study of fragmentation rates and kinetic energy release distributions in nitrobenzene, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1984**, *58*, 43.
- [66] J. W. Hager, J. C. Y. L. Blanc, Product ion scanning using a Q-q-Q<sub>linear</sub> ion trap (Q TRAP<sup>TM</sup>) mass spectrometer, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2003**, *17*, 1056.
- [67] I. V. Chernushevich, A. V. Loboda, B. A. Thomson, An introduction to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.* **2001**, *36*, 849.
- [68] J. W. Hager, Recent trends in mass spectrometer development, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *378*, 845.
- [69] J. S. Brodbelt, Shedding Light on the Frontier of Photodissociation, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2011**, *22*, 197.
- [70] J. S. Brodbelt, Ion Activation Methods for Peptides and Proteins, *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 30.
- [71] M. S. Kim, R. C. Dunbar, Study of collisional relaxation of ions by two-photon photodissociation, *Chem. Phys. Lett.* **1979**, *60*, 247.
- [72] J. Laskin, J. H. Futrell, Activation of large ions in FT-ICR mass spectrometry, *Mass Spectrom. Rev.* **2005**, *24*, 135.
- [73] C. J. Cassady, B. S. Freiser, D. H. Russel, Structural determination of [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> ions in the gas phase by ion cyclotron resonance spectrometry, *J. Mass Spectrom.* **1983**, *18*, 378.
- [74] J. P. Reilly, Ultraviolet photofragmentation of biomolecular ions, *Mass Spectrom. Rev.* **2009**, *28*, 425.
- [75] N. C. Polfer, Infrared multiple photon dissociation spectroscopy of trapped ions, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2211.

- [76] M. A. Halim, M. Girod, L. MacAleese, J. Lemoine, R. Antoine, P. Dugourd, Combined Infrared Multiphoton Dissociation with Ultraviolet Photodissociation for Ubiquitin Characterization, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2016**, *27*, 1435.
- [77] A. R. Ledvina, M. V. Lee, G. C. McAlister, M. S. Westphall, J. J. Coon, Infrared Multiphoton Dissociation for Quantitative Shotgun Proteomics, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 4513.
- [78] W. J. van der Hart, Photodissociation of trapped ions, *Mass Spectrom. Rev.* **1989**, *8*, 237.
- [79] T. Gäumann, G. Zhao, Z. Zhu, Photofragmentation in Fourier-transform ion cyclotron resonance: Use or misuse?, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1994**, *8*, 1.
- [80] J. H. Moon, S. H. Yoon, Y. J. Bae, M. S. Kim, Dissociation Kinetics of Singly Protonated Leucine Enkephalin Investigated by Time-Resolved Photodissociation Tandem Mass Spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2010**, *21*, 1151.
- [81] S. I. Smith, J. S. Brodbelt, Characterization of Oligodeoxynucleotides and Modifications by 193 nm Photodissociation and Electron Photodetachment Dissociation, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 7218.
- [82] C. L. Kalcic, T. C. Gunaratne, A. D. Jones, M. Dantus, G. E. Reid, Femtosecond Laser-Induced Ionization/Dissociation of Protonated Peptides, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 940.
- [83] Z. Liu, R. R. Julian, Deciphering the Peptide Iodination Code: Influence on Subsequent Gas-Phase Radical Generation with Photodissociation ESI-MS, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2009**, *20*, 965.
- [84] J. P. O'Brien, J. M. Pruet, J. S. Brodbelt, Chromogenic Chemical Probe for Protein Structural Characterization via Ultraviolet Photodissociation Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 7391.

- [85] J. H. Chen, J. D. Hays, R. C. Dunbar, Competitive two-channel photodissociation of n-butylbenzene ions in the Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometer, *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 4759.
- [86] F.-S. Huang, R. C. Dunbar, Time-resolved photodissociation of toluene ion, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1991**, *109*, 151.
- [87] J. A. Madsen, R. R. Cheng, T. S. Kaoud, K. N. Dalby, D. E. Makarov, J. S. Brodbelt, Charge-Site-Dependent Dissociation of Hydrogen-Rich Radical Peptide Cations upon Vacuum UV Photoexcitation, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 5374.
- [88] P. Roepstorff, I. Fohlman, Proposal for a Common Nomenclature for Sequence Ions in Mass Spectra of Peptides, *Biol. Mass Spectrom.* **1984**, *11*, 601.
- [89] A. Herburger, C. van der Linde, M. K. Beyer, Photodissociation spectroscopy of protonated leucine enkephalin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2017**, *19*, 10786.
- [90] A. Agarwal, J. K. Diedrich, R. R. Julian, Direct Elucidation of Disulfide Bond Partners Using Ultraviolet Photodissociation Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 6455.
- [91] P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous Electron Gas, *Phys. Rev.* **1964**, *136*, B864.
- [92] W. Kohn, L. J. Sham, Quantum Density Oscillations in an Inhomogeneous Electron Gas, *Phys. Rev.* **1965**, *137*, A1697.
- [93] A. D. Becke, Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior, *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098.
- [94] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785.
- [95] M. G. Medvedev, I. S. Bushmarinov, J. Sun, J. P. Perdew, K. A. Lyssenko, Density functional theory is straying from the path toward the exact functional, *Science* **2017**, *355*, 49.

- [96] E. Mitscherlich, Ueber das Stickstoffbenzid, *Annalen der Pharmacie* **1834**, *12*, 311.
- [97] C. S. Hartley, The Cis-form of Azobenzene, *Nature* **1937**, *140*, 281.
- [98] R. Turanský, M. Konôpka, N. L. Doltsinis, I. Štich, D. Marx, Switching of functionalized azobenzene suspended between gold tips by mechanochemical, photochemical, and opto-mechanical means, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 13922.
- [99] J. Henzl, M. Mehlhorn, H. Gawronski, K.-H. Rieder, K. Morgenstern, Reversible cis-trans Isomerization of a Single Azobenzene Molecule, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*(4), 603.
- [100] H. Rau, E. Lueddecke, On the rotation-inversion controversy on photoisomerization of azobenzenes. Experimental proof of inversion, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1616.
- [101] V. Ferri, M. Elbing, G. Pace, M. Dickey, M. Zharnikov, P. Samorì, M. Mayor, M. Rampi, Light-Powered Electrical Switch Based on Cargo-Lifting Azobenzene Monolayers, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*(18), 3407.
- [102] M. Banghart, A. Mourot, D. Fortin, J. Yao, R. Kramer, D. Trauner, Photochromic Blockers of Voltage-Gated Potassium Channels, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*(48), 9097.
- [103] H. Murakami, A. Kawabuchi, K. Kotoo, M. Kunitake, N. Nakashima, A Light-Driven Molecular Shuttle Based on a Rotaxane, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7605.
- [104] M. Itoh, K. Harada, S. ichi Kamemaru, T. Yatagai, Holographic Recording on Azo-benzene Functionalized Polymer Film, *Jpn. J. Appl. Phys.* **2004**, *43*(7S), 4968.
- [105] S. Shinkai, T. Nakaji, Y. Nishida, T. Ogawa, O. Manabe, Photoresponsive crown ethers. 1. Cis-trans isomerism of azobenzene as a tool to enforce conformational changes of crown ethers and polymers, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5860.

- [106] P. Gorostiza, E. Y. Isacoff, Optical Switches for Remote and Noninvasive Control of Cell Signaling, *Science* **2008**, *322*, 395.
- [107] M. Mathews, N. Tamaoki, Planar Chiral Azobenzenophanes as Chiroptic Switches for Photon Mode Reversible Reflection Color Control in Induced Chiral Nematic Liquid Crystals, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11409.
- [108] H. Wenker, Indicator properties of dinitroaniline azo dyestuffs, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **1935**, *7*, 40.
- [109] M. E. Long, P. J. Trotter, Vibrational Manifold Considerations for the Metal Indicator Dye 2-(2-Pyridylazo)-1-Naphthol, *Appl. Spectrosc.* **1981**, *35*, 289.
- [110] T. He, Y. Cheng, Y. Du, Y. Mo, Z-scan determination of third-order nonlinear optical nonlinearity of three azobenzenes doped polymer films, *Opt. Commun.* **2007**, *275*, 240.
- [111] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian 09, Revision A.02, **2009**.
- [112] M. Alcamí, O. Mó, M. Yáñez, Computational chemistry: A useful (sometimes mandatory) tool in mass spectrometry studies, *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 195.

- [113] H. B. Schlegel, Optimization of equilibrium geometries and transition structures, *J. Comput. Chem.* **1982**, *3*, 214.
- [114] C. Gonzalez, H. B. Schlegel, Reaction path following in mass-weighted internal coordinates, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 5523.
- [115] L. Drahos, K. Vékey, MassKinetics: a theoretical model of mass spectra incorporating physical processes, reaction kinetics and mathematical descriptions, *J. Mass Spectrom.* **2001**, *36*, 237.
- [116] E. Rupp, Ueber das Methylrot und verwandte Azokombinationen, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1915**, *253*, 366.
- [117] E. P. L. Hunter, S. G. Lias, Evaluated Gas Phase Basicities and Proton Affinities of Molecules: An Update, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1998**, *27*, 413.
- [118] M. Karni, A. Mandelbaum, The 'even-electron rule', *J. Mass Spectrom.* **1980**, *15*, 53.
- [119] E. L. Opie, The pathogenesis of tumors of the liver produced by butter yellow, *J. Exp. Med.* **1944**, *80*, 231.
- [120] K. T. Chung, G. E. Fulk, A. W. Andrews, Mutagenicity testing of some commonly used dyes, *Appl. Environ. Microbiol.* **1981**, *42*, 641.
- [121] J. A. Völlmin, P. Pachlatko, W. Simon, Fragmentierung einiger Azoverbindungen durch Pyrolyse und Elektronenstoss, *Helv. Chim. Acta* **1969**, *52*, 737.
- [122] S. M. Scheifers, S. Verma, R. G. Cooks, Characterization of organic dyes by secondary ion mass spectrometry, *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 2260.
- [123] L. K. Pannell, E. A. Sokoloski, H. M. Fales, R. L. Tate, Californium-252 plasma desorption mass spectrometry of cationic, anionic, and neutral dyes, *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 1060.
- [124] Y. V. Vasil'ev, V. A. Mazunov, E. R. Nazirov, Resonance Electron-capture Mass Spectra of Azobenzene and Its Monosubstituted Derivatives, *Org. Mass Spectrom.* **1991**, *26*, 739.

- 
- [125] V. P. Barros, M. D. Assis, Iron Porphyrins as Biomimetical Models for Disperse Azo Dye Oxidation, *J. Braz. Chem. Soc.* **2013**, *24*, 830.
- [126] S. A. Kuznetsova, A. A. Pichugina, V. V. Kozik, Microwave synthesis of a photocatalytically active SnO-based material, *Inorg. Mater.* **2014**, *50*, 387.
- [127] K. T. Kyeong, Monoazo dye whose color changes when an acid is added, *Patent* **2015**, , KR20150067925.
- [128] H. Rau, Spectroscopic Properties of Organic Azo Compounds, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1973**, *12*, 224.
- [129] A. Ranasinghe, R. G. Cooks, S. K. Sethi, Selective isotopic exchange of polyfunctional ions in tandem mass spectrometry: Methodology, applications and mechanism, *Org. Mass Spectrom.* **1992**, *27*, 77.
- [130] C. Weickhardt, F. Moritz, J. Grotemeyer, Multiphoton Ionization Mass Spectrometry: Principles and Fields of Application, *Eur. J. Mass Spectrom.* **1996**, *2*, 151.
- [131] A. M. Duffield, G. DeMartino, C. Djerassi, Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. CCXXXVII—Electron-impact-induced hydrogen losses and migrations in some aromatic amides, *Org. Mass Spectrom.* **1974**, *9*, 137.
- [132] U. Filges, H.-F. Grützmacher, Fragmentations of protonated benzaldehydes via intermediate ion/molecule complexes, *Org. Mass Spectrom.* **1986**, *21*, 673.
- [133] U. Filges, H.-F. Grützmacher, Fragmentations of protonated acetophenones via intermediate ion–molecule complexes, *Org. Mass Spectrom.* **1987**, *22*, 444.
- [134] U. Filges, H.-F. Grützmacher, Proton migration in naphthalenium ions via  $\sigma$  and  $\pi$  complexes, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1988**, *83*, 93.
- [135] U. Filges, H.-F. Grützmacher, Internal reactions of ion/molecule complexes from isomeric protonated formyl- and acetyl-naphthalenes, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1988**, *83*, 111.

- [136] L. Wen-Qiang, C. Gui-Ying, H. Zhao-Feng, X. Jing-Jun, T. Jian-Guo, Z. Chun-Ping, Enhancement of modulation depth of an all-optical switch using an azo dye-ethyl red film, *Chinese Phys. B* **2010**, *19*, 084208.
- [137] W. Dietz, H. J. Neusser, U. Boesl, E. W. Schlag, S. H. Lin, A model for multiphoton ionisation mass spectroscopy with application to benzene, *Chem. Phys.* **1982**, *66*, 105.
- [138] A. G. Marshall, C. L. Hendrickson, G. S. Jackson, Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry: A Primer, *Mass Spectrom. Rev.* **1998**, *17*, 1.
- [139] H. M. D. Bandara, S. C. Burdette, Photoisomerization in different classes of azobenzene, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1809.
- [140] A. Adam, G. Haberhauer, Switching Process Consisting of Three Isomeric States of an Azobenzene Unit, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 9708.
- [141] J. Griffiths, Photochemistry of azobenzene and its derivatives, *Chem. Soc. Rev.* **1972**, *1*, 481.
- [142] F. D. Popp, R. J. Dubois, K. T. Potts, E. Brugel, Mass spectrometry of the 11H-dibenzo[c,f][1,2]-diazepine system, *Org. Mass Spectrom.* **1970**, *3*, 1169.
- [143] M. H. Florêncio, W. Heerma, Behaviour of methyl red under fast atom bombardment conditions, *Org. Mass Spectrom.* **1993**, *28*, 657.
- [144] L. V. Vaeck, J. Bennett, P. V. Epsen, E. Schweikert, R. Gijbels, F. Adams, W. Lauwers, Structural characterization of organic molecules by negative ions in laser microprobe mass spectrometry. Part 1—Neutral compounds, *Org. Mass Spectrom.* **1989**, *24*, 782.
- [145] A. Mills, D. Hawthorne, Novel pH-based photocatalyst activity indicator hydrogel film (Hpaii), *J. Photochem. Photobiol. A* **2017**, *346*, 390.
- [146] H. J. Veith, J. H. Gross, Alkene loss from metastable methyleneimmonium ions: Unusual inverse secondary isotope effect in ion-neutral complex intermediate fragmentations, *Org. Mass Spectrom.* **1991**, *26*, 1097.

- [147] J. Bahrenburg, K. Röttger, R. Siewertsen, F. Renth, F. Temps, Sequential photoisomerisation dynamics of the push-pull azobenzene Disperse Red 1, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 1210.
- [148] J. Bahrenburg, F. Renth, F. Temps, F. Plamper, W. Richtering, Femtosecond spectroscopy reveals huge differences in the photoisomerisation dynamics between azobenzenes linked to polymers and azobenzenes in solution, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 11549.
- [149] J. C. Gilland Jr, J. S. Lewis, Mass spectrometry of 4-amino-4'-nitroazobenzene compounds, *Org. Mass Spectrom.* **1974**, *9*, 1148.
- [150] J. Yinon, T. L. Jones, L. D. Betowski, High-sensitivity thermospray ionization mass spectrometry of dyes, *Biol. Mass Spectrom.* **1989**, *18*, 445.
- [151] H. Y. Lin, R. D. Voyksner, Determination of environmental contaminants using an electrospray interface combined with an ion trap mass spectrometer, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 451.
- [152] M. J. Dale, A. C. Jones, P. R. R. Langridge-Smith, K. F. Costello, P. G. Cummins, Laser desorption laser photoionization time-of-flight mass spectrometry of dyes, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 793.
- [153] T. Breitenstein, Untersuchung zum Einfluss von Metallkationen und ihres Ladungszustandes auf das massenspektrometrische Fragmentierungsverhalten von substituierten Azoverbindungen, Bachelorarbeit, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2017**.
- [154] B. Raupers, Entwicklung und Aufbau einer Niedertemperatur-Plasma- (LTP) Quelle zur Ionengenerierung, Masterarbeit, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2014**.
- [155] E. Mitrofanov, UV-Vis Photodissoziationsprozesse gespeicherter Ionen, Masterarbeit, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, **2015**.
- [156] E. Mitrofanov, T. Muskat, J. Grotemeyer, Indocyanine green MS/MS investigations using femtosecond laser-pulse photodissociation and collision-induced dissociation, *Eur. J. Mass Spectrom.* **2018**, *in print*.



# A. MS<sup>3</sup>-Programmanpassung für Photodissoziation

```
-----  
; APEX III Static Trapping ESI-IRMPD Experiment  
-----  
; $Revision: 1.2 $  
; $Date: 2003/02/03 18:59:18 $  
; $Author: svo $  
-----  
  
;Experiment description  
;#XS_label "Static Trapping ESI-IRMPD - APEX III"  
  
;Initialization Block  
;#ES_block "Initialization"  
;#ES_bitmap "init3.bmp"  
;#ES_conditional_pp DM bb      1u setnmr3|30 ; bit 30 hi = unmixed signal to ADC  
;#ES_conditional_pp DM hires   1u setnmr3^30 ; bit 30 low = mixed signal to ADC  
;#ES_conditional_pp RGAIN high 1u setnmr3^28 ; bit 28 low = Receiver gain high  
;#ES_conditional_pp RGAIN low  1u setnmr3|28 ; bit 28 hi = Receiver gain low  
  
;Start Scan Accum Block (NS loop)  
;#ES_block "Start Experiment"  
;#ES_bitmap "start2.bmp"  
;#ES_eventtype user_delay  
;#ES_parameter d0  
1 ze ; clear memory buffers in RCU  
10 d0 setnmr4|7 ; turn on Ultra RF amp (AGPP_OUT[0])  
; NOTE: d0 must be 100ms or greater!  
    10u reset:f1 ; reset phase of DDS in FCU 1  
  
;Source Quench Block
```

## A. MS<sup>3</sup>-Programmanpassung für Photodissoziation

---

```
;#ES_block "ESI Source Quench" optional on
;#ES_bitmap "ESIquench1.bmp"
;#ES_eventtype quench
;#ES_parameter d3
    d3 setnmr3|24 ; quench the ion guide (DEFLECTION)
    1u setnmr3^24

;Cell Quench Block
;#ES_block "Cell Quench" optional on
;#ES_bitmap "quench.bmp"
;#ES_eventtype quench
;#ES_parameter d4
    d4 setnmr3|27 ; cell quench (QUENCH)
    1u setnmr3^27

;Hexapole Accumulation Block
;#ES_block "Hexapole Accumulation"
;#ES_bitmap "hex_fill.bmp"
;#ES_eventtype user_delay
;#ES_parameter d1
    d1 ; post quench delay

;Ionization Block
;#ES_block "Ion Generation"
;#ES_bitmap "ion_gen2.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter d2 d5
    d2 setnmr3|24 ; external ionization pulse (DEFLECTION)
    1u setnmr3^24
    d5 ; post ionization delay

;=====
;          STAGE 1 OF EXPERIMENT
;=====

;MS/MS Selection Block
;#ES_block "Isolation (MS-2)" optional off
;#ES_bitmap "msms_sel_a.bmp"
;#ES_eventtype corr_sweep
;#ES_parameter p4 pl4
```

---

```

    10u pl4:f1 ; set attenuation for correlated sweep (FCU-1)
20 (p4 ph2 fq1):f1 ; correlated sweep
    lo to 20 times l0 ; L[0] steps in sweep
;#ES_flag_comment ;#FC_ fq1:f1 corr_sweep 0

;Cleanup Shots Block
;#ES_block "Isolation Shots (MS-2)" optional off
;#ES_bitmap "cl_shots.bmp"
;#ES_eventtype corr_shot
;#ES_parameter p7 pl7
    10u pl7:f1 ; set attenuation for shots (FCU-1)
30 (p7 ph2 fq1):f1 ; high resolution clean-up shots
    lo to 30 times l3 ; L[3] total shots
;#ES_flag_comment ;#FC_ fq1:f1 corr_shot 0

;IRMPD Block
;#ES_block "Ar laser (MS-2)" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter d6
    d6 setnmr3|12 ; trigger IRMPD laser pulse (XGPP_OUT[2])
    10u setnmr3^12

;Pulsed Valve Block
;#ES_block "Pulsed Valve (MS-2)" optional off
;#ES_bitmap "p_valve.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter d26
    d26 setnmr3|22 ; Pulsed Valve 1 (VALVE1)
    1u setnmr3^22

;Reaction Delay Block
;#ES_block "Pumping Delay (MS-2)" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_delay
;#ES_parameter d7
    d7 ; reaction delay

;=====
;          STAGE 2 OF EXPERIMENT

```

## A. MS<sup>3</sup>-Programmanpassung für Photodissoziation

---

```
=====
;MS/MS Selection Block
;#ES_block "Isolation (MS-3)" optional off
;#ES_bitmap "msms_sel_a.bmp"
;#ES_eventtype corr_sweep
;#ES_parameter p9 p19
    10u p19:f1 ; set attenuation for correlated sweep (FCU-1)
40 (p9 ph2 fq1):f1 ; correlated sweep
    1o to 40 times l6 ; L[6] steps in sweep
;#ES_flag_comment ;#FC_fq1:f1 corr_sweep 1

;IRMPD Block
;#ES_block "Ar laser (MS-3)" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter d8
    d8 setnmr3|12 ; trigger IRMPD laser pulse (XGPP_OUT[2])
    10u setnmr3^12

;Pulsed Valve Block
;#ES_block "Pulsed Valve (MS-3)" optional off
;#ES_bitmap "p_valve.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter d27
    d27 setnmr3|22 ; Pulsed Valve 1 (VALVE1)
    1u setnmr3^22

;Reaction Delay Block
;#ES_block "Pumping Delay (MS-3)" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_delay
;#ES_parameter d10
    d10 ; reaction delay

=====
;
    EXCITATION AND DETECTION
=====

;Excitation Block
```

---

```

;#ES_block "Excitation"
;#ES_bitmap "excite.bmp"
;#ES_eventtype excitation_sweep
;#ES_parameter p3 p13
    10u p13:f1 ; set attenuation for excitation (FCU-1)

;#ES_conditional_pp EM shot    (p3 ph1 fq1):f1 ; detection excitation shot
;#ES_conditional_pp EM shot ;#FC_ fq1:f1 excitation_shot

;#ES_conditional_pp EM sweep 40 (p3 ph1 fq1):f1 ; detection excitation sweep
;#ES_conditional_pp EM sweep    10 to 40 times l31 ; L[31] steps in sweep
;#ES_conditional_pp EM sweep ;#FC_ fq1:f1 excitation_sweep

;Detection Block
;#ES_block "Detection"
;#ES_bitmap "detect.bmp"
;#ES_eventtype detection
;#ES_parameter d30
    1u setnmr4^7 ; turn off Ultra RF amp before detect (AGPP_OUT[0])
    d30 ; receiver dead time
    go = 10 ph1 ; scan accumulation (loop to 10 times NS)

;Stop Block
;#ES_block "Exit"
;#ES_bitmap "exit.bmp"
    wr #0 ; write data to disk
    exit ; end acquisition/experiment

; Phase program definitions for FCUs
    ph1=0 0 2 2 ; phase program: 0 0 180 180 (exc/det RF)
    ph2=0 0 0 0 ; phase program: 0 0 0 0 (all other RF)

```



# B. Tabellierung der Abspaltungen

## B.1. Abspaltungen aus Ethylgelb

**Tabelle B.1.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus Ethylgelb (**1**) unter PD-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 4.1).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel                                 | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 225.126        | 29.039            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>                | 29.039            |
| 148.087        | 106.077           | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>               | 106.078           |
| 134.096        | 120.069           | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> | 120.069           |

**Tabelle B.2.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus Ethylgelb (**1**) unter SORI-CID-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 4.2).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel                                 | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 225.126        | 29.039            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>                | 29.039            |
| 148.087        | 106.077           | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>               | 106.078           |
| 134.097        | 120.067           | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> | 120.069           |

**Tabelle B.3.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus Ethylgelb (**1**) unter CID-Bedingungen im Kollisionshexapol vor der ICR-Zelle (siehe Abbildung C.1).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel                                 | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 238.134        | 16.031            | CH <sub>4</sub>                              | 16.031            |
| 225.126        | 29.039            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>                | 29.039            |
| 148.087        | 106.077           | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>               | 106.078           |
| 134.096        | 120.069           | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> | 120.069           |

## B.2. Abspaltungen aus Methylgelb

**Tabelle B.4.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus Methylgelb (2) unter PD-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 4.8).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel                                 | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 133.076        | 93.057            | C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N              | 93.058            |
| 120.081        | 106.052           | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> | 106.053           |

**Tabelle B.5.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus Methylgelb (2) unter SORI-CID-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 4.9).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel    | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| 211.112        | 15.022            | CH <sub>3</sub> | 15.023            |

**Tabelle B.6.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus Methylgelb (2) unter CID-Bedingungen im Kollisionshexapol vor der ICR-Zelle (siehe Abbildung 4.10).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel                                 | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 211.111        | 15.023            | CH <sub>3</sub>                              | 15.023            |
| 134.071        | 92.062            | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>                | 92.063            |
| 121.088        | 105.045           | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> | 105.045           |

### B.3. Abspaltungen aus p-Ethylrot

**Tabelle B.7.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus p-Ethylrot (**3**) unter PD-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 4.15).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|---|-------------------|
| 162.115        | 136.040           | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>2</sub>               | 136.040           |
| 149.120        | 149.035           | C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 149.035           |
| 149.035        | 149.120           | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N                           | 149.121           |
| 147.092        | 151.063           | C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>               | 151.063           |
| 134.097        | 164.058           | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 164.059           |
| 121.028        | 177.127           | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub>              | 177.127           |

**Tabelle B.8.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus p-Ethylrot (**3**) unter SORI-CID-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 4.16).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|---|-------------------|
| 269.118        | 29.038            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>                               | 29.039            |
| 254.095        | 44.061            | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>                               | 44.063            |
| 147.093        | 151.063           | C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>               | 151.063           |
| 134.098        | 164.058           | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 164.059           |
| 121.030        | 177.126           | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub>              | 177.127           |

**Tabelle B.9.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus p-Ethylrot (**3**) unter CID-Bedingungen im Kollisionshexapol vor der ICR-Zelle (siehe Abbildung C.5).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|---|-------------------|
| 269.116        | 29.039            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>                               | 29.039            |
| 267.113        | 31.042            | CH <sub>5</sub> N   | 31.042            |
| 254.093        | 44.062            | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>                               | 44.063            |
| 253.158        | 44.997            | CHO <sub>2</sub>  | 44.998            |
| 162.115        | 136.040           | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>2</sub>               | 136.040           |
| 149.120        | 149.035           | C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 149.035           |
| 149.035        | 149.120           | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N                           | 149.121           |
| 148.087        | 150.068           | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>               | 150.068           |
| 147.092        | 151.063           | C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>               | 151.063           |
| 134.096        | 164.059           | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 164.059           |

## B.4. Abspaltungen aus p-Methylrot

**Tabelle B.10.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus p-Methylrot (4) unter PD-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 4.23).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|---|-------------------|
| 149.035        | 121.089           | C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N                            | 121.089           |
| 134.084        | 136.040           | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>2</sub>               | 136.040           |
| 133.076        | 137.048           | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>               | 137.048           |
| 121.089(a)     | 149.035           | C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 149.035           |
| 121.029(b)     | 149.095           | C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub>               | 149.095           |
| 120.081        | 150.043           | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 150.043           |

**Tabelle B.11.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus p-Methylrot (4) unter SORI-CID-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 4.24).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|---|-------------------|
| 255.101        | 15.023            | CH <sub>3</sub>   | 15.023            |
| 254.093        | 16.031            | CH <sub>4</sub>   | 16.031            |
| 225.126        | 44.998            | CHO <sub>2</sub>  | 44.998            |
| 149.035        | 121.089           | C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N                            | 121.089           |
| 134.084        | 136.040           | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>2</sub>               | 136.040           |
| 133.076        | 137.048           | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>               | 137.048           |
| 121.089(a)     | 149.035           | C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 149.035           |
| 121.029(b)     | 149.095           | C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub>               | 149.095           |
| 120.081        | 150.043           | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 150.043           |
| 119.060        | 151.064           | C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>               | 151.063           |

## B.5. Abspaltungen aus o-Ethylrot

**Tabelle B.12.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus o-Ethylrot (5) unter PD-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 5.1).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel   | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 280.142        | 18.010            | H <sub>2</sub> O   | 18.011            |
| 265.119        | 33.033            | CH <sub>5</sub> O  | 33.034            |
| 250.121        | 48.031            | H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O                              | 48.032            |
| 237.113        | 61.039            | CH <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O                             | 61.040            |
| 236.081        | 62.072            | C <sub>3</sub> H <sub>10</sub> O                             | 62.073            |
| 234.126        | 64.026            | H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                 | 64.027            |
| 232.111        | 66.041            | H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                 | 66.043            |
| 224.106        | 74.046            | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O               | 74.048            |
| 222.090        | 76.062            | C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O               | 76.064            |
| 208.075        | 90.077            | C <sub>3</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O              | 90.079            |
| 206.095        | 92.056            | C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>  | 92.059            |
| 204.080        | 94.072            | C <sub>2</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 94.074            |
| 196.075        | 102.077           | C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O              | 102.079           |
| 181.064        | 117.088           | C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O              | 117.090           |
| 180.080        | 118.072           | C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 118.074           |
| 180.057        | 118.095           | C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O              | 118.098           |
| 178.078        | 120.075           | C <sub>3</sub> H <sub>10</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 120.077           |
| 178.065        | 120.087           | C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 120.090           |
| 176.107        | 122.045           | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O               | 122.048           |
| 176.062        | 122.090           | C <sub>3</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 122.093           |
| 165.070        | 133.082           | C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 133.085           |
| 164.062        | 134.090           | C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 134.093           |
| 163.054        | 135.098           | C <sub>4</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 135.101           |
| 153.070        | 145.082           | C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 145.085           |
| 152.062        | 146.090           | C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 146.093           |
| 151.054        | 147.097           | C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 147.101           |

**Tabelle B.13.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus o-Ethylrot (**5**) unter SORI-CID-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 5.2).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel   | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 280.143        | 18.011            | H <sub>2</sub> O   | 18.011            |
| 265.119        | 33.034            | CH <sub>5</sub> O  | 33.034            |
| 236.081        | 62.073            | C <sub>3</sub> H <sub>10</sub> O                             | 62.073            |
| 222.090        | 76.064            | C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O               | 76.064            |
| 208.075        | 90.079            | C <sub>3</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O              | 90.079            |
| 181.064        | 117.089           | C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O              | 117.090           |
| 180.080        | 118.073           | C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 118.074           |
| 180.057        | 118.097           | C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O              | 118.098           |
| 178.065        | 120.089           | C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 120.090           |
| 153.070        | 145.084           | C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 145.085           |
| 152.062        | 146.092           | C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 146.093           |

## B.6. Abspaltungen aus o-Methylrot

**Tabelle B.14.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus o-Methylrot (**6**) unter PD-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 5.13).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|---|-------------------|
| 252.111        | 18.009            | H <sub>2</sub> O  | 18.011            |
| 224.106        | 46.015            | H <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O                             | 46.017            |
| 222.090        | 48.031            | H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O                             | 48.032            |
| 209.082        | 61.038            | CH <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O                            | 61.040            |
| 208.075        | 62.046            | CH <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O                            | 62.048            |
| 206.059        | 64.062            | CH <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O                            | 64.064            |
| 204.080        | 66.041            | H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                | 66.043            |
| 196.111        | 74.009            | CH <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>               | 74.012            |
| 194.096        | 76.025            | CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>               | 76.027            |
| 183.080        | 87.041            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O              | 87.043            |
| 181.088        | 89.033            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 89.035            |
| 180.080        | 90.040            | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 90.043            |
| 178.065        | 92.056            | C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 92.059            |
| 166.078        | 104.043           | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 104.046           |
| 165.070        | 105.051           | C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 105.054           |
| 164.062        | 106.059           | C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 106.062           |
| 163.054        | 107.067           | C <sub>2</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 107.070           |
| 153.070        | 117.051           | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 117.054           |
| 152.062        | 118.058           | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 118.062           |
| 151.055        | 119.066           | C <sub>3</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 119.070           |
| 148.076        | 122.045           | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O              | 122.048           |

**Tabelle B.15.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus o-Methylrot (**6**) unter SORI-CID-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 5.14).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|---|-------------------|
| 252.112        | 18.011            | H <sub>2</sub> O  | 18.011            |
| 237.089        | 33.034            | CH <sub>5</sub> O   | 33.034            |
| 222.090        | 48.032            | H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O                             | 48.032            |
| 209.083        | 61.040            | CH <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O                            | 61.040            |
| 208.075        | 62.047            | CH <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O                            | 62.048            |
| 181.088        | 89.034            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 89.035            |
| 180.080        | 90.042            | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 90.043            |
| 166.065        | 104.058           | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 104.059           |
| 165.070        | 105.053           | C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 105.054           |
| 153.070        | 117.053           | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 117.054           |
| 152.062        | 118.061           | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 118.062           |
| 148.076        | 122.047           | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O              | 122.048           |

## B.7. Abspaltungen aus o-Propylrot

**Tabelle B.16.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus o-Propylrot (7) unter PD-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 5.20).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel   | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 308.173        | 18.009            | H <sub>2</sub> O   | 18.011            |
| 279.134        | 47.048            | C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> O                              | 47.050            |
| 278.151        | 48.030            | H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O                              | 48.032            |
| 251.103        | 75.079            | C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> O                             | 75.081            |
| 250.099        | 76.086            | C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> O                             | 76.089            |
| 237.088        | 89.094            | C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> O                             | 89.097            |
| 236.080        | 90.102            | C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> O                             | 90.105            |
| 222.101        | 104.081           | C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>                | 104.084           |
| 222.090        | 104.092           | C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O              | 104.095           |
| 208.086        | 118.096           | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                | 118.099           |
| 208.075        | 118.107           | C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O              | 118.111           |
| 208.062        | 118.120           | C <sub>6</sub> H <sub>16</sub> NO                            | 118.123           |
| 196.075        | 130.107           | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O              | 130.111           |
| 181.076        | 145.106           | C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>               | 145.110           |
| 181.064        | 145.117           | C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O              | 145.122           |
| 180.080        | 146.101           | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 146.106           |
| 180.068        | 146.114           | C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>2</sub>               | 146.118           |
| 180.057        | 146.125           | C <sub>6</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O              | 146.129           |
| 178.065        | 148.117           | C <sub>6</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 148.121           |
| 165.070        | 161.112           | C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 161.116           |
| 164.062        | 162.120           | C <sub>6</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 162.124           |
| 163.054        | 163.128           | C <sub>6</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 163.132           |
| 153.070        | 173.112           | C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 173.116           |
| 152.062        | 174.119           | C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 174.124           |
| 151.054        | 175.127           | C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 175.132           |
| 147.105        | 179.077           | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 179.082           |
| 146.097        | 180.085           | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 180.090           |

**Tabelle B.17.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen aus o-Propylrot (**7**) unter SORI-CID-Bedingungen im FT-ICR-MS (siehe Abbildung 5.21).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel   | theor. Masse / Da |
|----------------|-------------------|--|-------------------|
| 308.174        | 18.012            | H <sub>2</sub> O   | 18.011            |
| 279.135        | 47.051            | C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> O                              | 47.050            |
| 254.091        | 72.095            | C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>                               | 72.094            |
| 251.104        | 75.082            | C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> O                             | 75.081            |
| 237.088        | 89.097            | C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> O                             | 89.097            |
| 236.080        | 90.105            | C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> O                             | 90.105            |
| 222.101        | 104.084           | C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>                | 104.084           |
| 208.086        | 118.099           | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                | 118.099           |
| 208.075        | 118.111           | C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O              | 118.111           |
| 208.062        | 118.123           | C <sub>6</sub> H <sub>16</sub> NO                            | 118.123           |
| 181.076        | 145.110           | C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>               | 145.110           |
| 181.064        | 145.121           | C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O              | 145.122           |
| 180.080        | 146.105           | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 146.106           |
| 180.057        | 146.129           | C <sub>6</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O              | 146.129           |
| 178.065        | 148.121           | C <sub>6</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 148.121           |
| 165.070        | 161.116           | C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 161.116           |
| 153.070        | 173.116           | C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 173.116           |
| 152.062        | 174.124           | C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 174.124           |
| 151.054        | 175.131           | C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 175.132           |
| 147.104        | 179.081           | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 179.082           |
| 146.096        | 180.089           | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 180.090           |

## B.8. Abspaltungen aus Disperse Red 1

**Tabelle B.18.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen unter PD-Bedingungen im FT-ICR-MS aus der Verbindung Disperse Red 1 (8) (siehe Abbildung 6.1).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Verlust / Da |
|----------------|-------------------|---|---------------------|
| 297.135        | 18.010            | H <sub>2</sub> O  | 18.011              |
| 286.106        | 29.039            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>                               | 29.039              |
| 284.127        | 31.018            | CH <sub>3</sub> O   | 31.018              |
| 270.111        | 45.034            | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O                             | 45.034              |
| 255.088        | 60.057            | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O                             | 60.058              |
| 178.110        | 137.035           | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 137.035             |
| 165.115        | 150.030           | C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> | 150.030             |
| 164.082        | 151.063           | C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>               | 151.063             |
| 150.030        | 165.115           | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO                          | 165.115             |
| 148.087        | 167.058           | C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>               | 167.058             |
| 147.104(a)     | 168.041           | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> | 168.041             |
| 147.092(b)     | 168.053           | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 168.054             |
| 134.097        | 181.049           | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> | 181.049             |
| 132.081        | 183.064           | C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> | 183.064             |
| 122.024        | 193.121           | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O            | 193.122             |

**Tabelle B.19.:** Darstellung der gemessenen Abspaltungen unter SORI-CID-Bedingungen im FT-ICR-MS aus Disperse Red 1 (**8**) (siehe Abbildung 6.2).

| Fragment / m/z | exp. Verlust / Da | Summenformel  | theor. Verlust / Da |
|----------------|-------------------|---|---------------------|
| 284.125        | 31.018            | CH <sub>3</sub> O   | 31.018              |
| 269.150        | 45.993            | NO <sub>2</sub>   | 45.993              |
| 255.086        | 60.058            | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O                             | 60.058              |
| 147.092        | 168.052           | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 168.054             |
| 134.097        | 181.047           | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> | 181.049             |
| 122.024        | 193.119           | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O            | 193.122             |

# C. Weitere Messungen und Rechnungen

## C.1. Weitere Messungen und Rechnungen zu Ethylgelb

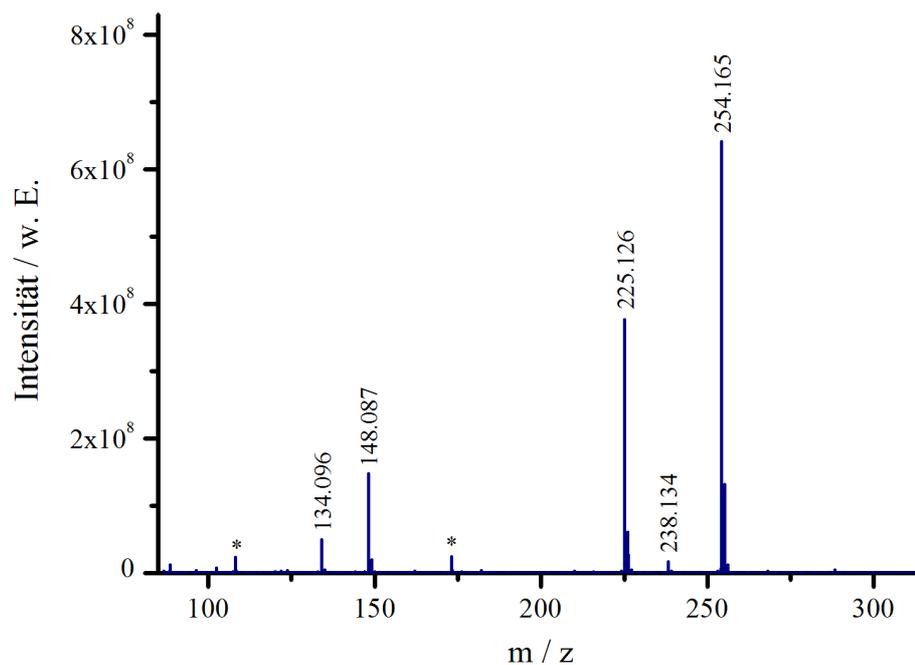
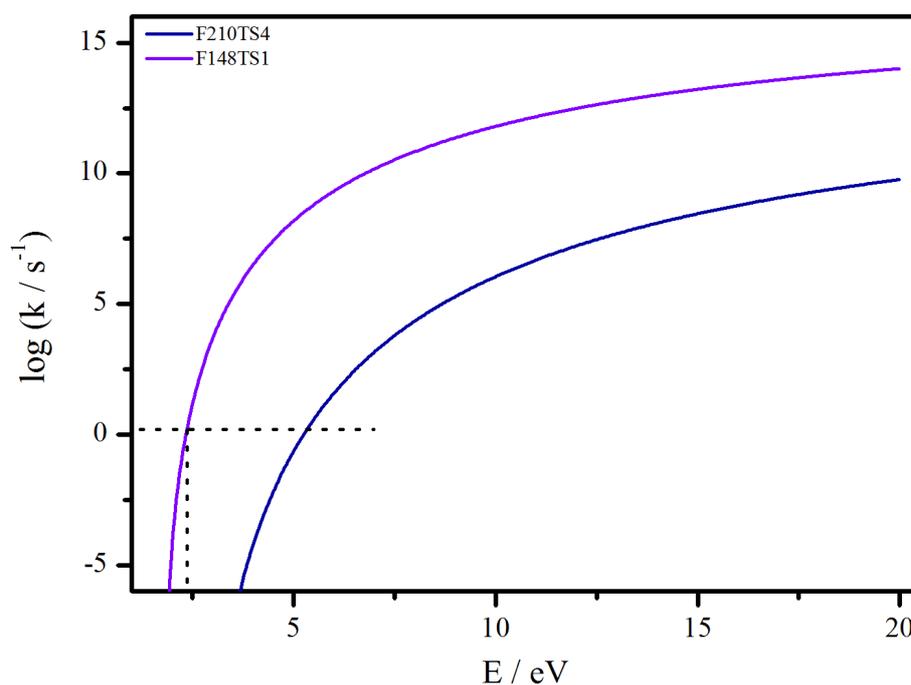
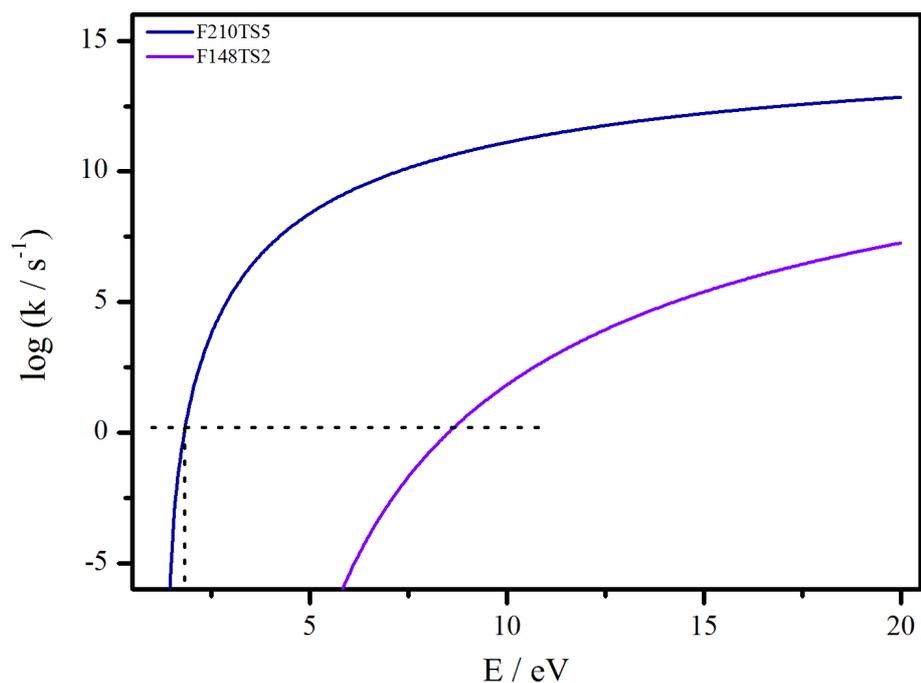


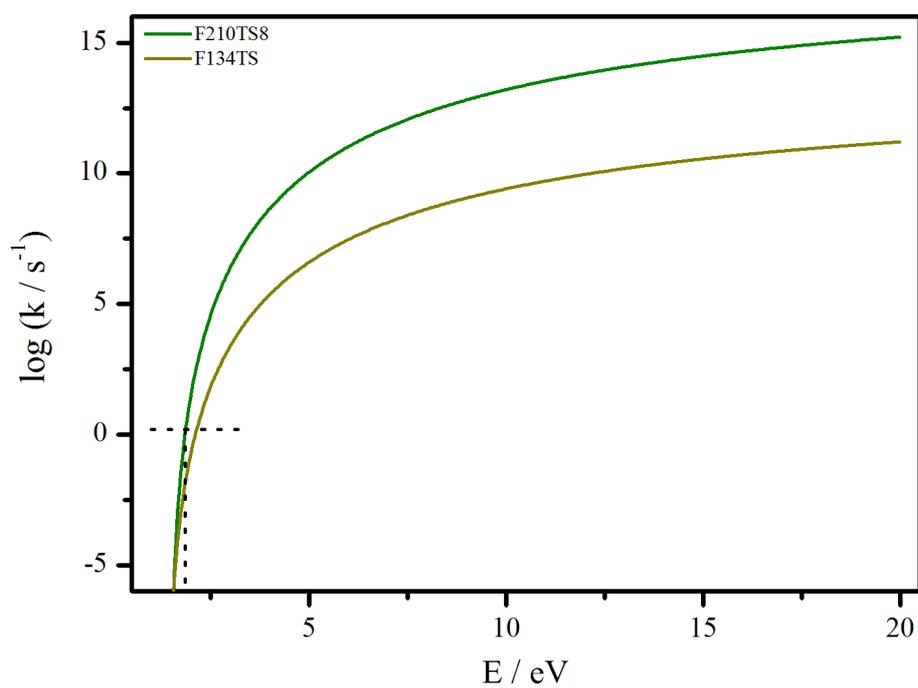
Abbildung C.1.: MSMS-Massenspektrum von Ethylgelb (1) nach CID-Anregung in der Hexapol-Kollisionszelle mit Argon als Stoßgas.



**Abbildung C.2.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Folgereaktionen aus dem Fragment  $m/z$  225 bei Protonierung von Ethylgelb (**1**) am Anilinstickstoff. Die bevorzugte Reaktion ist die Abspaltung eines Phenylradikals (lila) gegenüber der Abspaltung eines Methylradikals (blau), wenn zuvor ein Ethylradikal verloren wurde.



**Abbildung C.3.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Folgereaktionen aus dem Fragment  $m/z$  225 bei Protonierung von Ethylgelb (**1**) an der Azogruppe. Die Methylradikalabspaltung (blau) ist gegenüber der Phenylradikalabspaltung (lila) bevorzugt. Dennoch tritt diese Abspaltung nicht auf, da die vorherige Ethylradikalabspaltung bei dieser Protonierungsposition gehemmt ist.



**Abbildung C.4.:** Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Folgereaktionen aus dem hypothetischen Fragment  $m/z$  239 bei Protonierung von Ethylgelb (**1**) an der Azogruppe. Der Verlust eines Ethylradikals ist geringfügig gegenüber dem Verlust eines Azophenylradikals bevorzugt, wenn zuvor ein Methylradikal abgespalten wurde.

## C.2. Weitere Messungen und Rechnungen zu p-Ethylrot

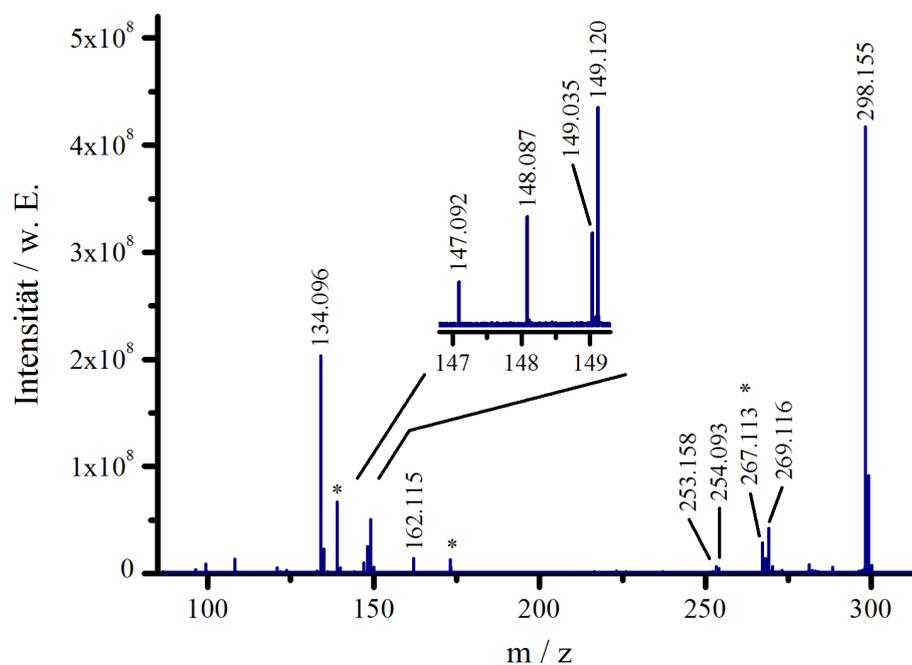


Abbildung C.5.: MSMS-Massenspektrum von p-Ethylrot (**3**) nach CID-Anregung in der Hexapol-Kollisionszelle mit Argon als Stoßgas.

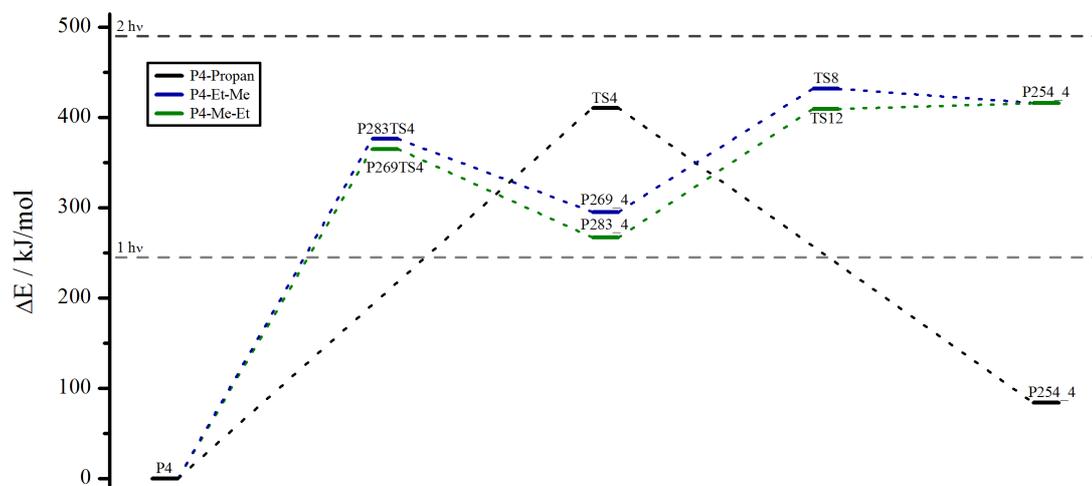


Abbildung C.6.: Berechnete Energien möglicher Reaktionswege mit Produkten und Übergangszuständen ausgehend von p-Ethylrot (**3**), protoniert an der Carboxygruppe.

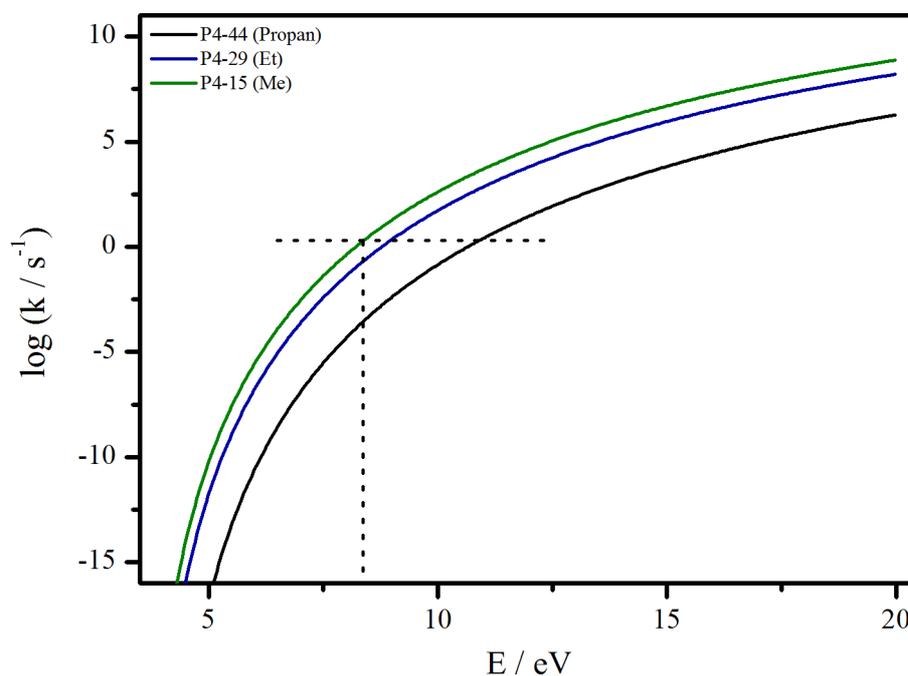
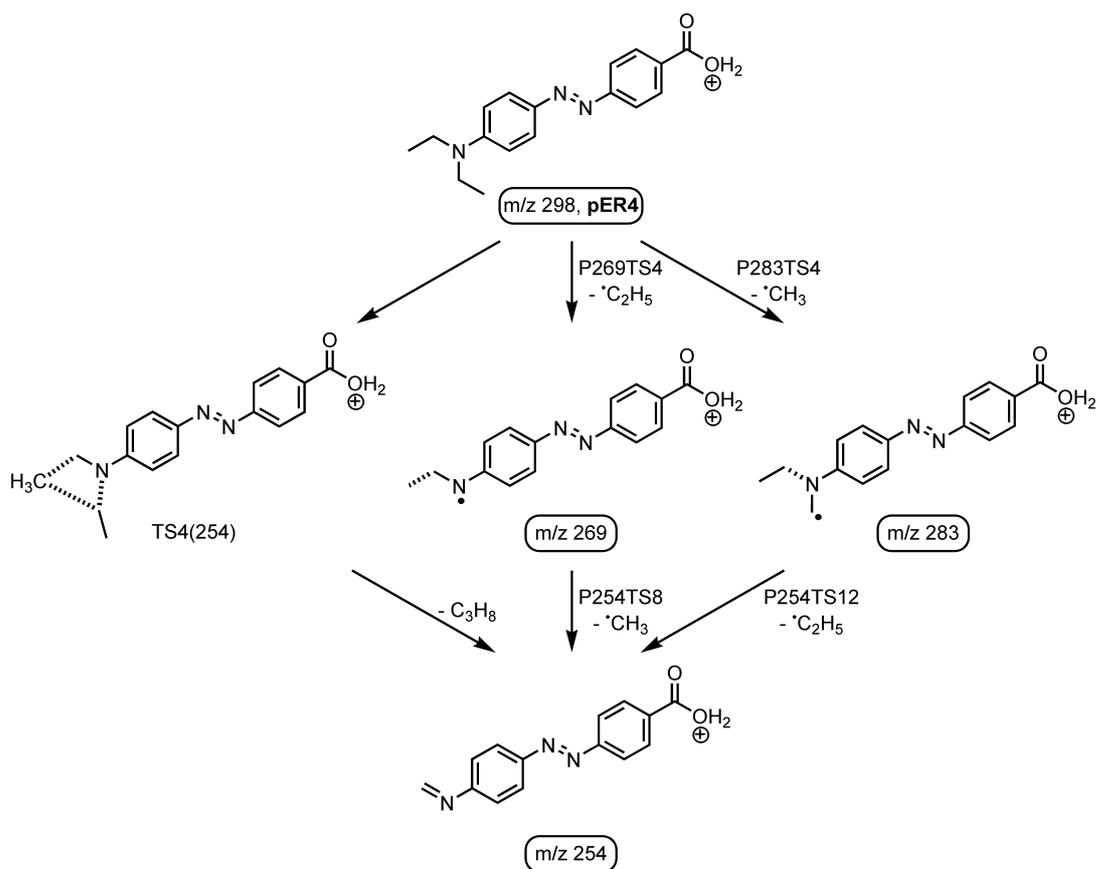


Abbildung C.7.: Berechnete Ratenkonstanten der unterschiedlichen Fragmentierungswege bei Protonierung von p-Ethylrot (**3**) an der Carboxygruppe.



**Schema C.1:** Fragmentierungsreaktionen der Diethylamino Gruppe von p-Ethylrot (**3**) bei Protonierung an der Carboxygruppe.

### C.3. Weitere Messungen und Rechnungen zu o-Ethylrot

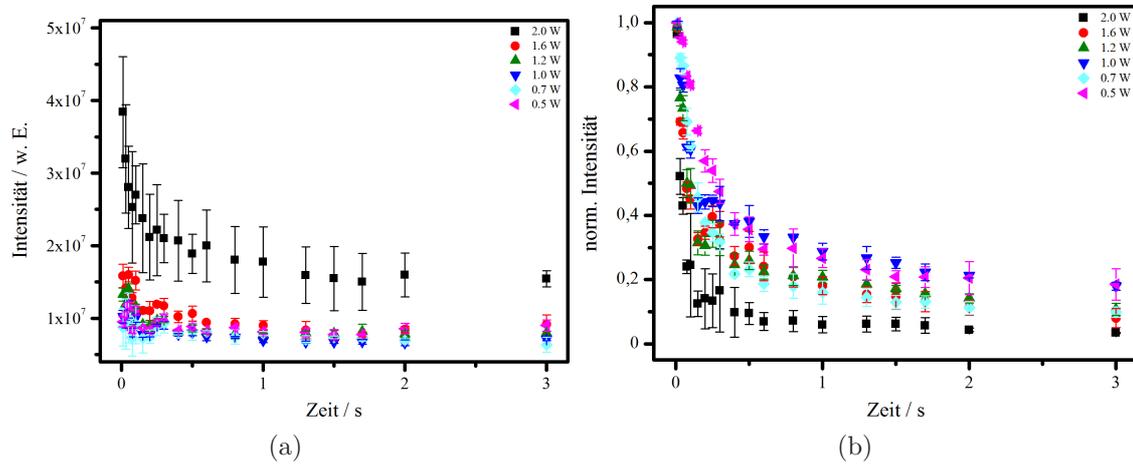
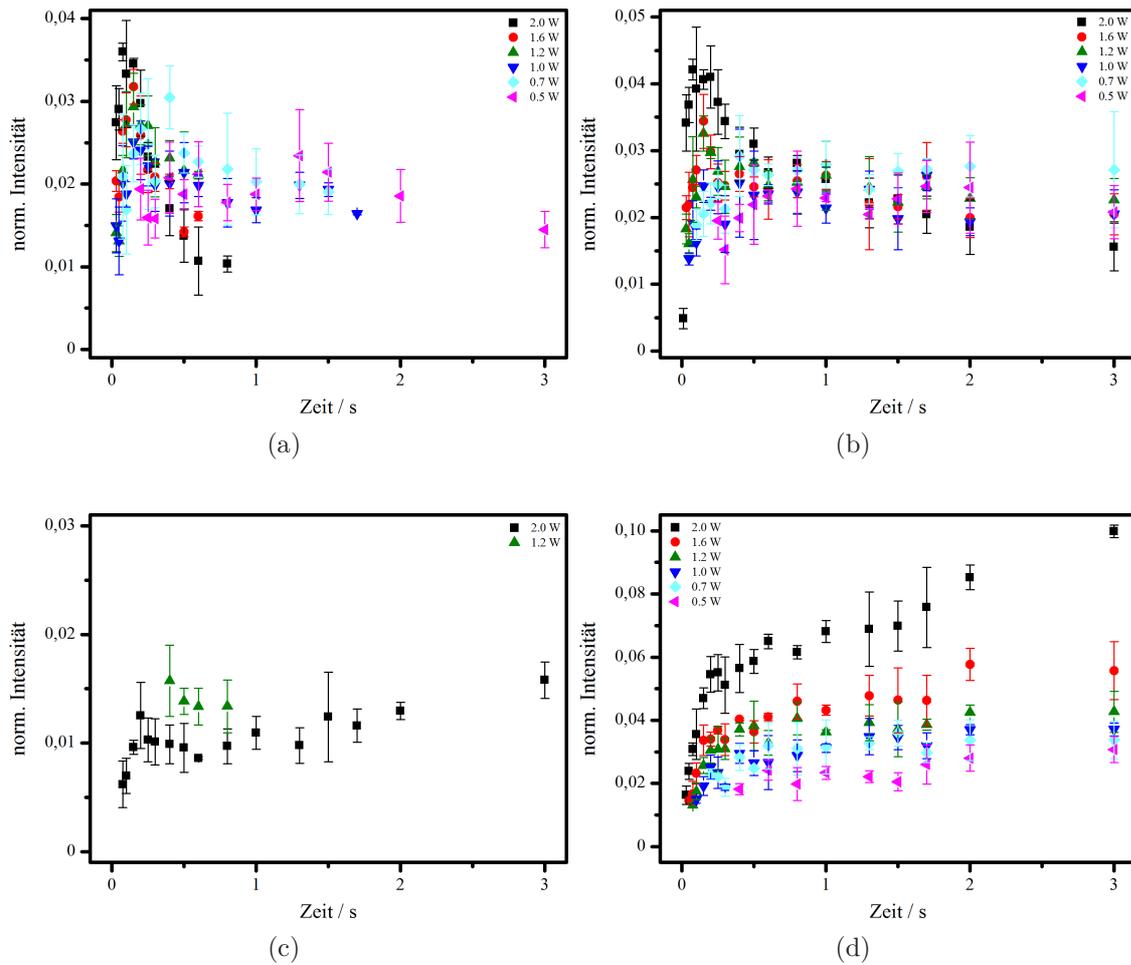


Abbildung C.8.: Zeitlicher Intensitätsverlauf der Summe aller auftretender Ionsignale (a) und die normierten Intensitäten des Moleküli- ons bei  $m/z$  298 (b) bei jeweils sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.



**Abbildung C.9.:** Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale  $m/z$  265 (a),  $m/z$  237 (b),  $m/z$  236 (c) und  $m/z$  208 (d) bei sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

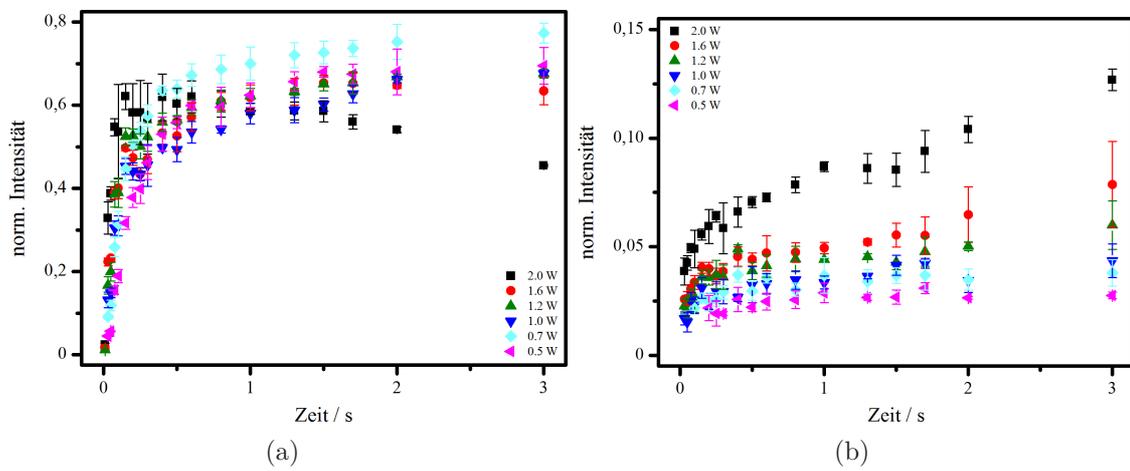


Abbildung C.10.: Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale  $m/z$  280 (a) und  $m/z$  250 (b) bei jeweils sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

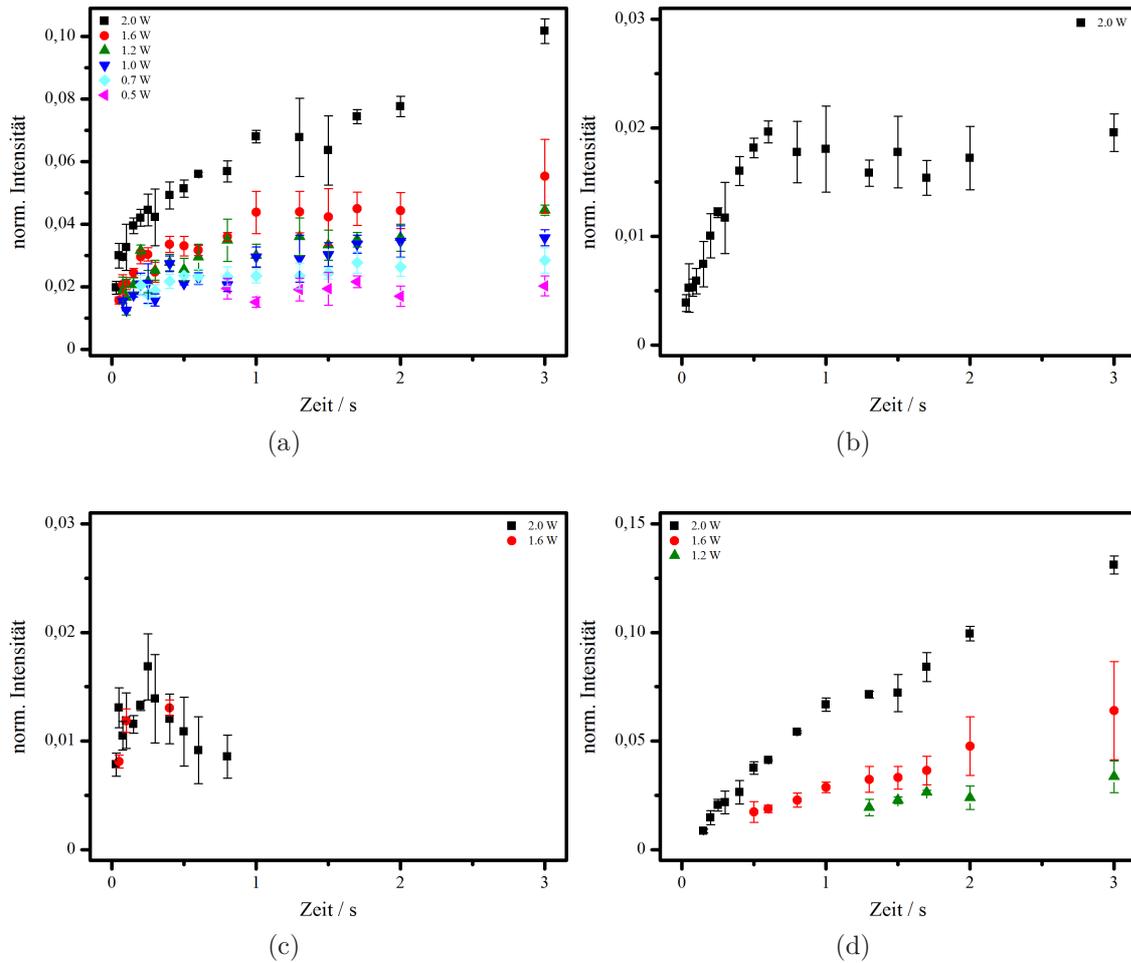


Abbildung C.11.: Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale  $m/z$  181 (a),  $m/z$  180 (b),  $m/z$  153 (c) und  $m/z$  152 (d) bei sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

## C.4. Weitere Messungen und Rechnungen zu o-Methylrot

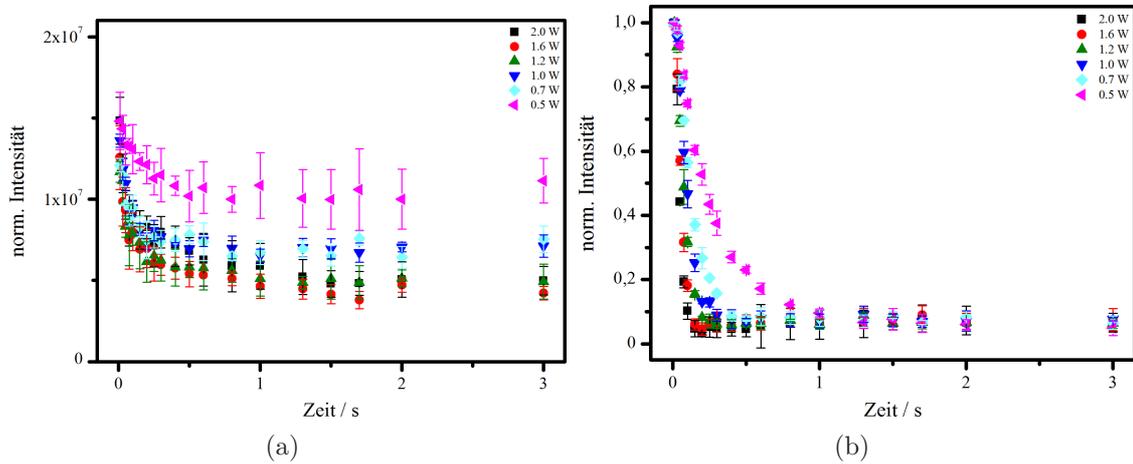


Abbildung C.12.: Zeitlicher Intensitätsverlauf der Summe aller auftretender Ionensignale (a) und die normierten Intensitäten des Molekülions bei  $m/z$  270 (b) bei jeweils sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

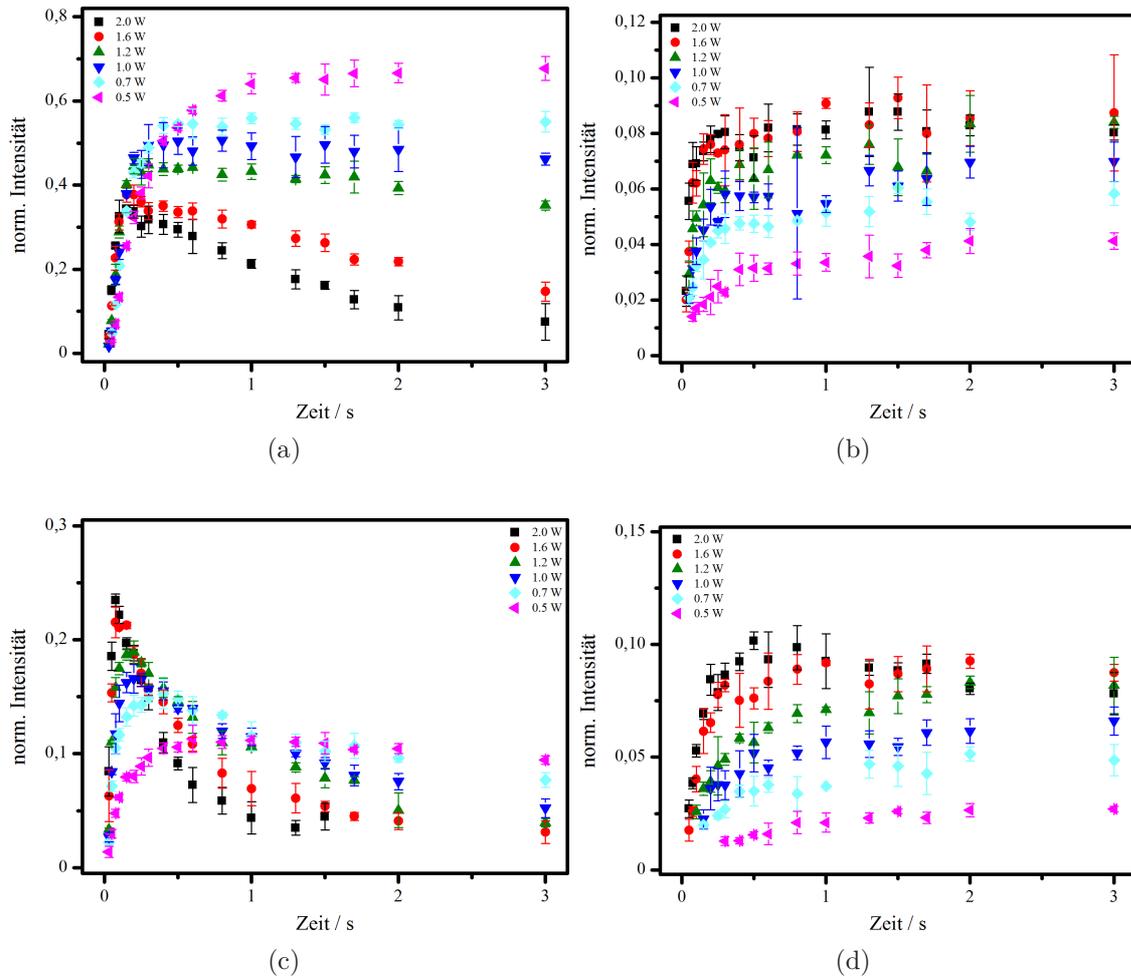


Abbildung C.13.: Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale  $m/z$  252 (a),  $m/z$  222 (b),  $m/z$  209 (c) und  $m/z$  208 (d) bei sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

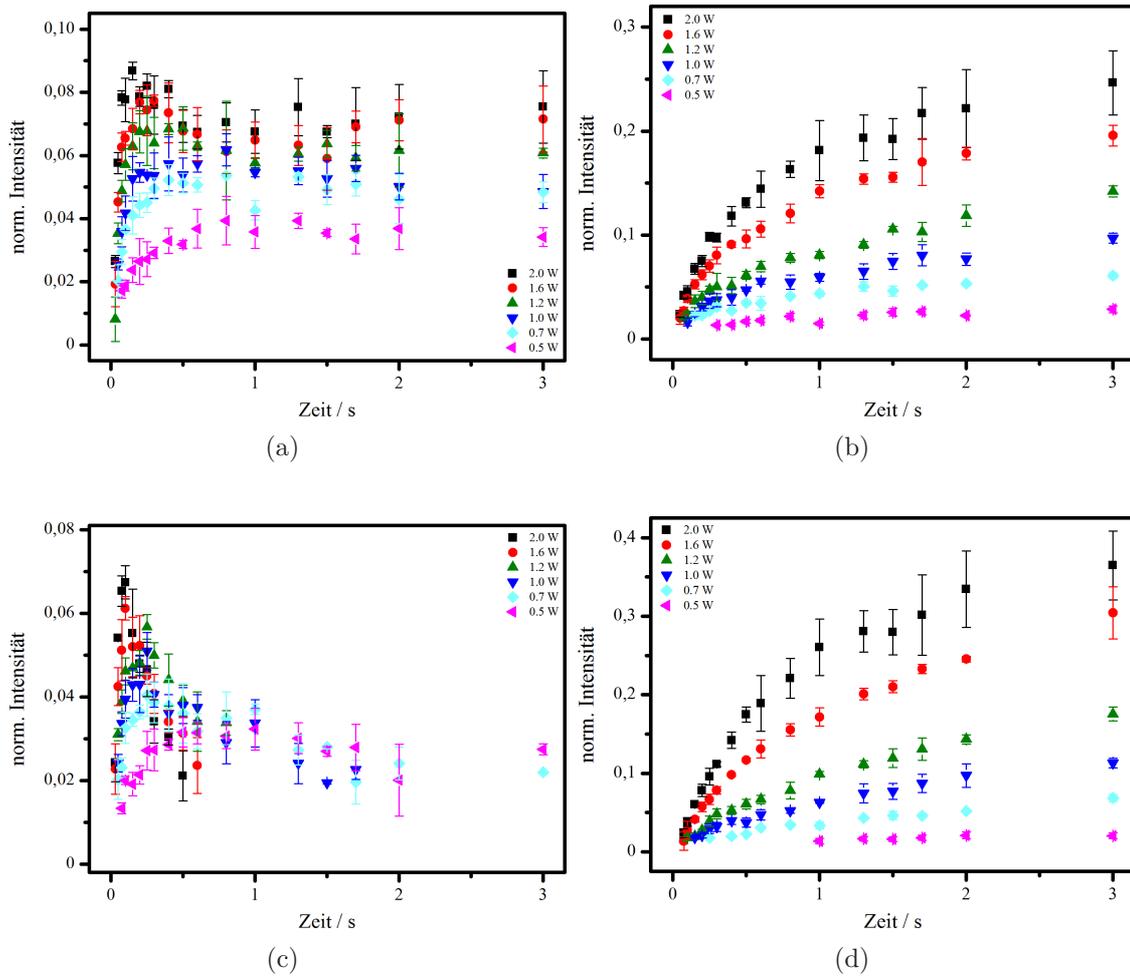


Abbildung C.14.: Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale  $m/z$  181 (a),  $m/z$  180 (b),  $m/z$  153 (c) und  $m/z$  152 (d) bei sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

## C.5. Weitere Messungen und Rechnungen zu *o*-Propylrot

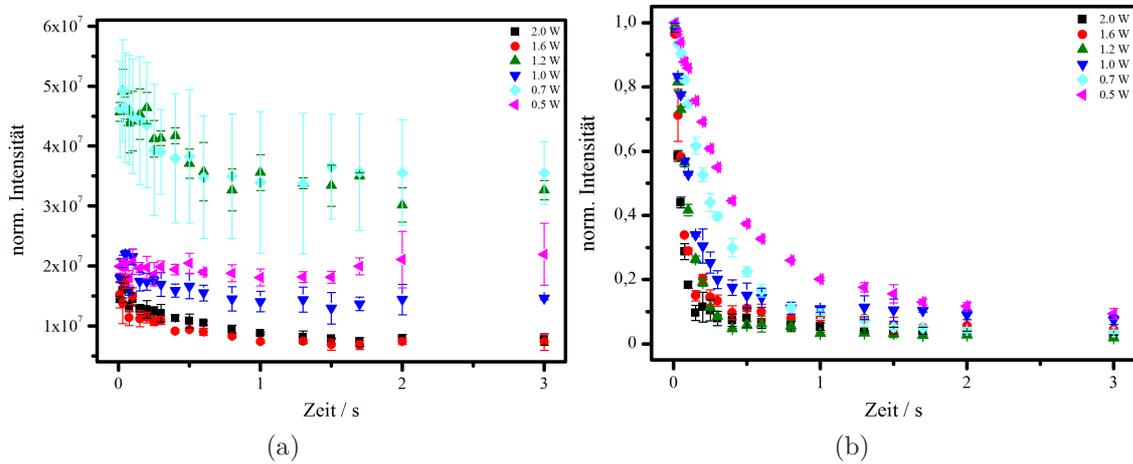
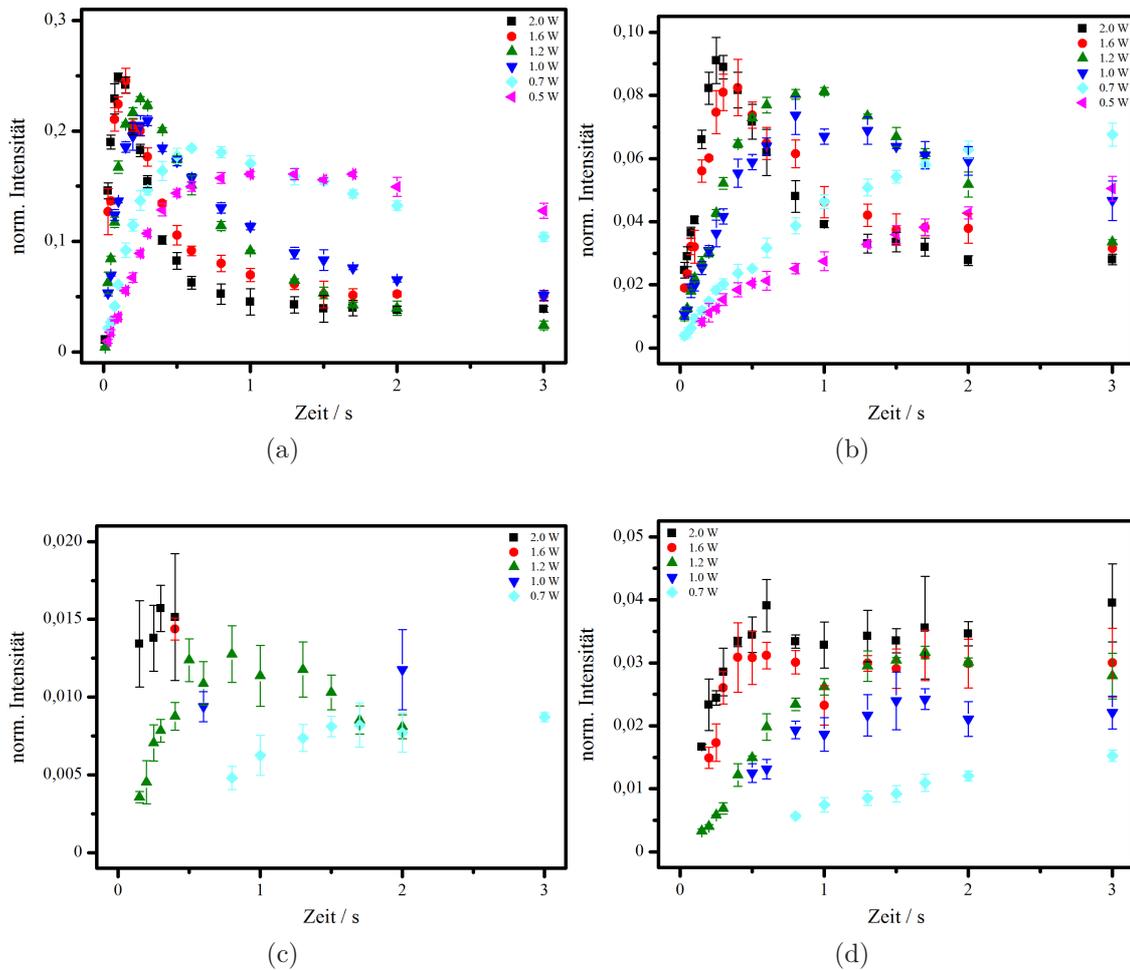


Abbildung C.15.: Zeitlicher Intensitätsverlauf der Summe aller auftretender Ionensignale (a) und die normierten Intensitäten des Moleküliions bei  $m/z$  326 (b) von *o*-Propylrot (7) bei jeweils sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.



**Abbildung C.16.:** Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale  $m/z$  279 (a),  $m/z$  251 (b),  $m/z$  237 (c) und  $m/z$  236 (d) von *o*-Propylrot (**7**) bei jeweils sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

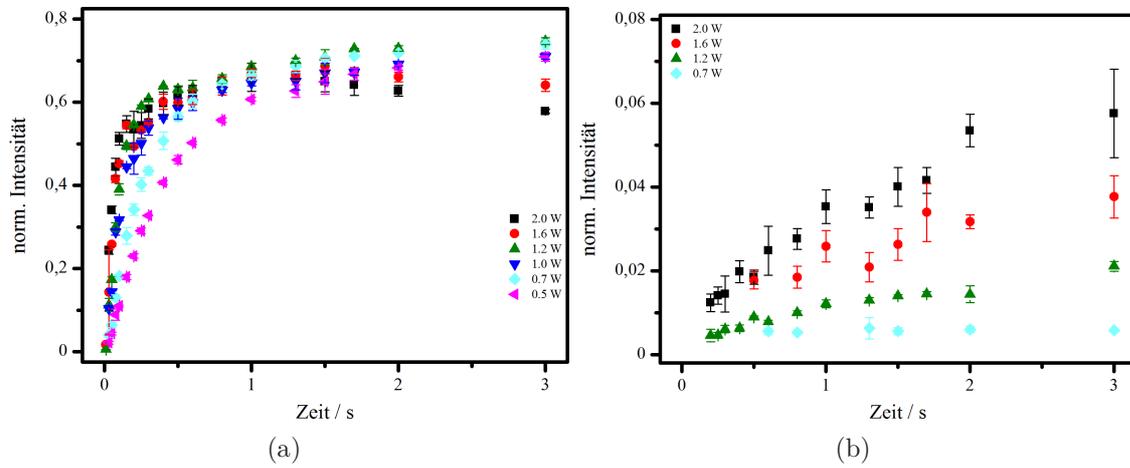


Abbildung C.17.: Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale  $m/z$  308 (a) und  $m/z$  208 (b) von *o*-Propylrot (7) bei jeweils sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

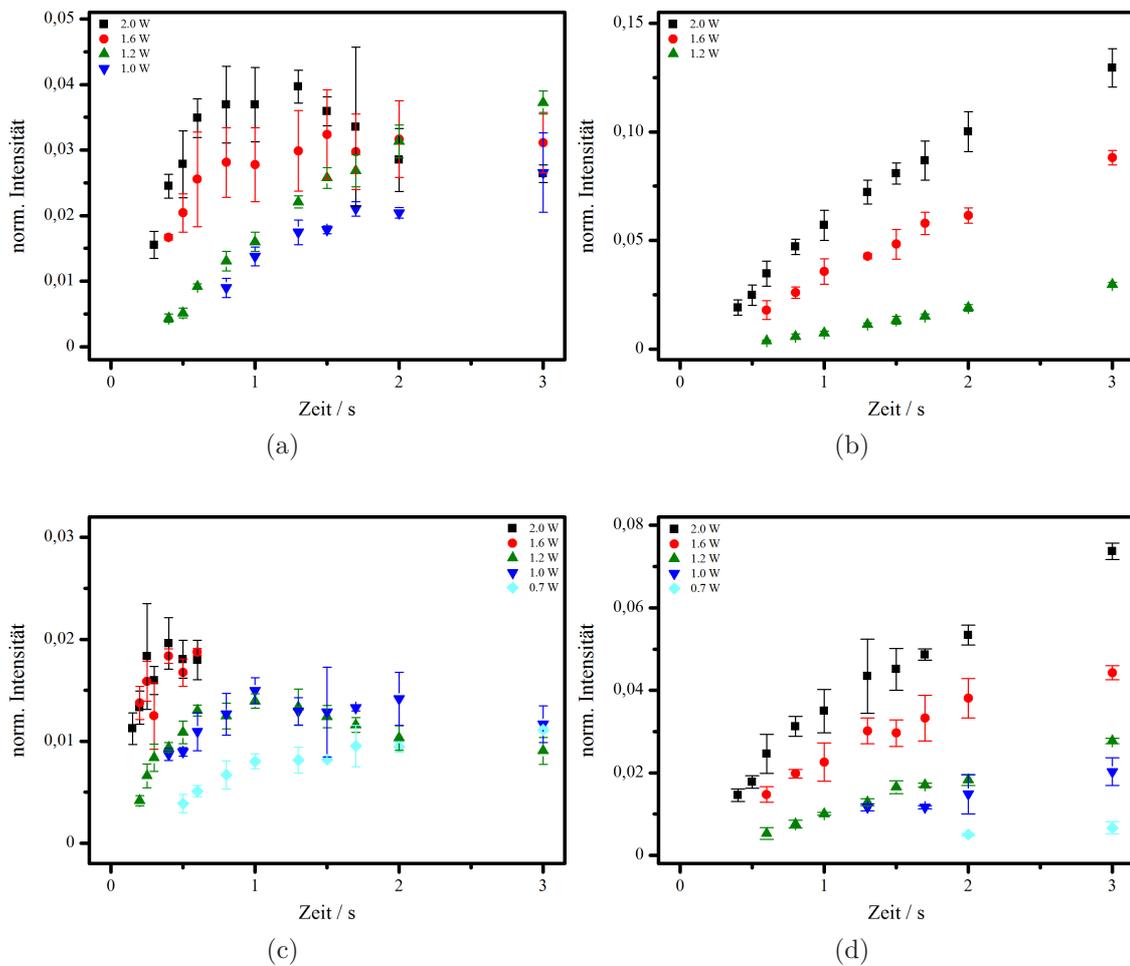


Abbildung C.18.: Zeitliche Intensitätsverläufe der normierten Signale  $m/z$  180 (a),  $m/z$  152 (b),  $m/z$  147 (c) und  $m/z$  146 (d) von *o*-Propylrot (7) bei jeweils sechs unterschiedlichen Leistungen des Argon-Ionen-Lasers.

## C.6. Weitere Messungen und Rechnungen zu Disperse Red 1

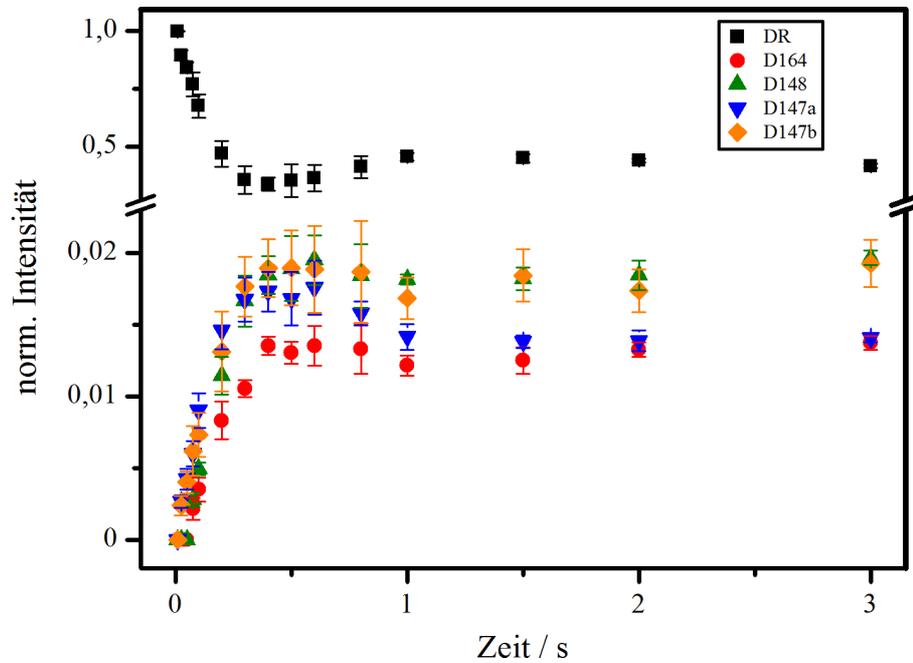
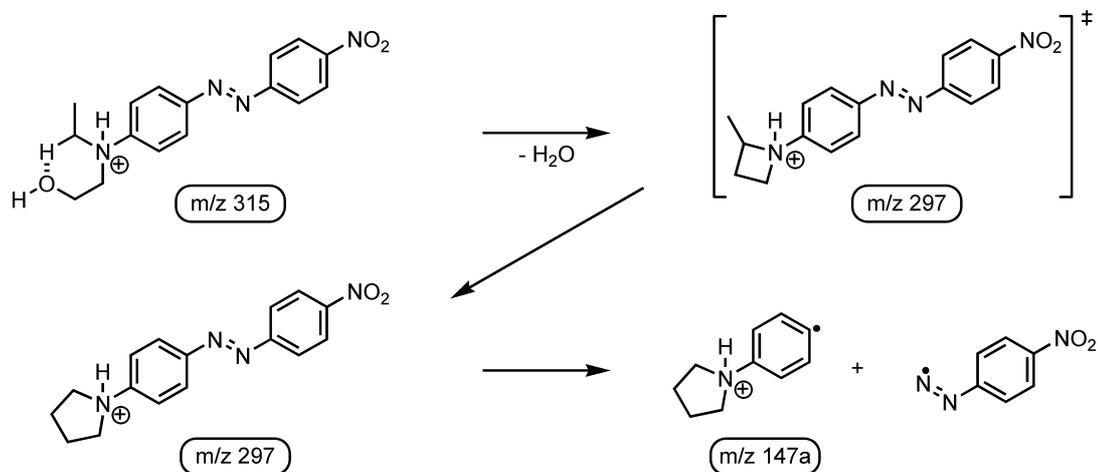
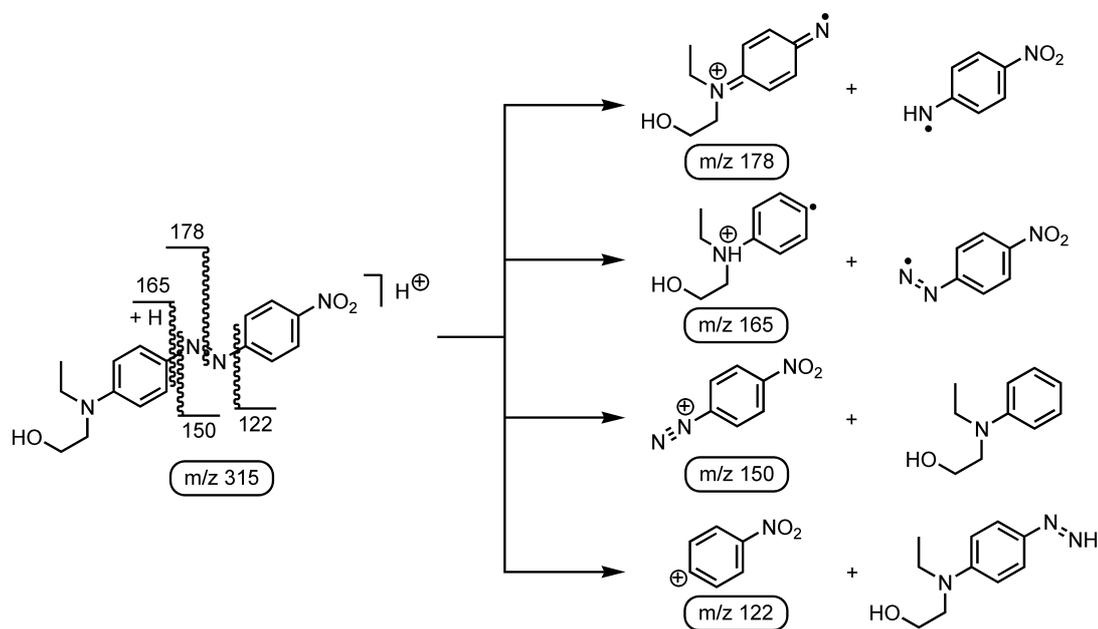


Abbildung C.19.: Zeitliche Intensitätsentwicklung weiterer Fragmente von Disperse Red 1 (8) bei einer Leistung des Argon-Ionen-Lasers von  $P = 2.0$  W.



Schema C.2: Wasserverlust von Disperse Red 1 (8).



Schema C.3: Fragmentierungsreaktionen von Disperse Red 1 (8) mit Bindungsbrüchen an der Azo Gruppe.

# Publikationen und Tagungsbeiträge

Nachfolgend sind Publikationen und Tagungsbeiträge aufgelistet, die während der Arbeit an der Dissertation entstanden sind.

## Publikationen

M. Clemen, J. Grotemeyer, Subsequent radical fragmentation reactions of *N,N*-diethylamino-substituted azobenzene derivatives in a Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer using collision-induced dissociation and photodissociation, *Eur. J. Mass Spectrom.* **2017**, 23, 359.

M. Clemen, C. Gernert, J. Peters, J. Grotemeyer, Fragmentation Reactions of Labeled and Unlabeled Rhodamine B in a High-Resolution Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometer, *Eur. J. Mass Spectrom.* **2013**, 19, 135.

J. Peters, M. Clemen, J. Grotemeyer, Fragmentation of deuterated rhodamine B derivatives by laser and collisional activation in an FT-ICR mass spectrometer, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 405, 7061.

## Vorträge

M. Clemen, J. Grotemeyer, Energetische und kinetische Betrachtung der Fragmentierung von Azofarbstoffen mit Diethylamino Gruppe, *50. DGMS-Jahrestagung*, Kiel, März **2017**.

M. Clemen, J. Grotemeyer, Photoinduced Dissociation of Azo Molecules in a High Resolution Mass Spectrometer, *X-Mass Meeting*, Münster, Dezember **2016**.

M. Clemen, J. Grotemeyer, Fragmentation Reactions of Azo Dyes, *Fachgruppentreffen FTMS und hochauflösende Massenspektrometrie*, Bonn, September **2015**.

## Posterbeiträge

M. Clemen, T. Muskat, J. Grotemeyer, Fragmentation Mechanisms of Azo Dye Molecules Containing Diethylamino Groups - Thermodynamic and Kinetic Considerations, *65th ASMS Conference*, Indianapolis, Juni **2017**.

M. Clemen, J. Grotemeyer, Role of Charge Position - Radical Fragmentation Reactions from Azobenzene Derivatives containing Diethylamino Groups, *21st International Mass Spectrometry Conference*, Toronto, August **2016**.

M. Clemen, J. Grotemeyer, Fragmentierungsreaktionen der Azofarben ortho- und para-Ethylrot, *49. DGMS-Jahrestagung*, Hamburg, März **2016**.

M. Clemen, T. Muskat, J. Grotemeyer, Photofragmentation of red azo dyes using visible wavelength range, *63rd ASMS Conference*, St. Louis, Juni **2015**.

M. Clemen, J. Grotemeyer, Photofragmentierung von Azofarbstoffen im sichtbaren Wellenlängenbereich, *48. DGMS-Jahrestagung*, Wuppertal, März **2015**.

M. Clemen, J. Grotemeyer, Fragmentation Reaction of Azo Dyes using High Resolution Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry, *20th International Mass Spectrometry Conference*, Genf, August **2014**.

M. Clemen, T. Muskat, J. Grotemeyer, Fragmentation of isotope labeled and unlabeled azo compounds, *62nd ASMS Conference*, Baltimore, Juni **2014**.

M. Clemen, J. Grotemeyer, Fragmentierung von unmarkierten und markierten Azofarbstoffen, *47. DGMS-Jahrestagung*, Frankfurt, März **2014**.

M. Clemen, J. Grotemeyer, Verhalten der Dialkylaminogruppe bei der Fragmentierung im hochauflösenden FT-ICR Massenspektrometer, *Fachgruppentreffen FTMS und hochauflösende Massenspektrometrie*, Heidelberg, September **2013**.

# Lebenslauf

## Persönliche Daten

---

|                     |                    |
|---------------------|--------------------|
| Name                | Martin Clemen      |
| Geburtstag          | 15. September 1986 |
| Geburtsort          | Bützow             |
| Staatsangehörigkeit | Deutsch            |

## Schulbildung

---

|               |                           |
|---------------|---------------------------|
| 1997 bis 2006 | Elbe-Gymnasium Boizenburg |
| 2006          | Allgemeine Hochschulreife |

## Zivildienst

---

|               |                                    |
|---------------|------------------------------------|
| 2006 bis 2007 | Diakonissenmutterhaus Lobetal e.V. |
|---------------|------------------------------------|

## Hochschulausbildung

---

|                     |  |
|---------------------|--|
| 10/2007 bis 10/2010 | Bachelorstudium Chemie<br>an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel |
| 10/2010 bis 02/2013 | Masterstudium Chemie<br>an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel   |

## Promotion

---

|              |  |
|--------------|--|
| seit 03/2013 | Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Physikalische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Anfertigung der vorliegenden Dissertation |
|--------------|--|



# Danksagung

An erster Stelle möchte ich ganz besonders Herrn Prof. Dr. Jürgen Grottemeyer für die Betreuung und die Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit danken. Im gesamten Zeitraum war es möglich meine Arbeit frei zu gestalten und neue Ideen einzubringen, was zu teils unerwarteten Ergebnissen führte, die auf zahlreichen nationalen und internationalen Fachtagungen präsentiert werden konnten.

Dr. Tassilo Muskat danke ich ganz besonders für die Hilfe bei Aufbau, Durchführung und Wartung der Experimente einhergehend mit vielen fachlichen Diskussionen der erhaltenen Resultate.

Des Weiteren bedanke ich mich bei der Elektronikabteilung und der Werkstatt des Instituts für Physikalische Chemie, die immer sofort mit Rat und Tat zur Seite standen, Probleme lösten und Umbauten mit viel Engagement in Angriff nahmen.

Allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern des AK Grottemeyer möchte ich für die gute und entspannte Atmosphäre bei der Arbeit danken, in der ich mich immer sehr wohl gefühlt habe. Gerade für die Korrektur dieser Arbeit seid ihr eine große Hilfe gewesen.

Meinen beiden ehemaligen Kollegen Dr. Marvin Ihlenborg und Sascha Krüger danke ich für die tolle Zeit im gemeinsamen Büro voller wissenschaftlicher Diskussionen und manchmal auch abseits davon.

Insbesondere danke ich meiner Familie und Kristin für die gesamte Unterstützung während des Studiums und der Promotionszeit.



# Erklärung der Urheberschaft

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass die vorliegende Arbeit - abgesehen von der Beratung durch meinen Betreuer - nach Inhalt und Form meine eigene Arbeit ist und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt wurde. Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form in keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht. Diese Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft entstanden.

Ort, Datum

Unterschrift