



# 1 Einführung

Die Existenz von mehrfach geladenen Anionen (Multianionen) wie z.B.  $\text{SO}_4^{2-}$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  wurde bisher als selbstverständlich angenommen. Beispielsweise werden diese in Standardlehrbüchern der Chemie als strukturelle Einheiten zur Beschreibung von Ionenkristallen und Lösungen hinzugezogen<sup>1, 2</sup>. 1994 ergaben quantenmechanische Rechnungen, dass bestimmte isolierte molekulare Dianionen mit einer geringen räumlichen Ausdehnung, aufgrund der repulsiven Abstoßung der negativen Ladungen, nicht existent seien<sup>3-5</sup>. Dieser Befund warf neue Fragen auf und erforderte einerseits neue theoretische Modelle zur Beschreibung mehrfach geladener Anionen und andererseits die Verbesserung und Entwicklung experimenteller Methoden in der Gasphase, um z.B. der Suche nach dem kleinsten nachweisbaren Dianion gerecht zu werden<sup>6-8</sup>. Insbesondere durch die Entwicklung der Elektrosprayionisierung als die Ionisierungsmethode der Wahl entstand ein neues Forschungsgebiet der Multianionen in der Gasphase, wodurch diese in Abwesenheit von stabilisierenden Lösungsmitteln oder Gegenionen studiert werden können<sup>9-16</sup>. Von besonderem Interesse ist beispielsweise die Frage nach der höchsten Ladung die ein Multianion tragen kann, ohne zu fragmentieren oder ein Elektron abzugeben. Aufgrund der sogenannten repulsiven Coulomb-Barriere (RCB) können Multianionen, die eine negative Elektronenaffinität aufweisen, ein Elektron metastabil binden. Der erste experimentelle Nachweis einer negativen Elektronenaffinität gelang 1999 Wang et.al. mithilfe der Photoelektronenspektroskopie für das vierfach negativ geladene  $[\text{CuPc}(\text{SO}_3)_4]^{4-}$ <sup>11, 17</sup>. Die Kinetik der spontanen Elektronenemission von vierfach negativ geladenen Metallophthalocyaninen  $[\text{MPc}(\text{SO}_3)_4]^{4-}$  mit  $\text{M}=\text{Cu}, \text{Ni}$  wurde 2003 in einem FT-ICR-Massenspektrometer<sup>1</sup> bei Raumtemperatur untersucht<sup>15</sup>. Die spontane Emission des Elektrons wurde in diesem Arbeitskreis bei weiteren Systemen untersucht, und durch einen Tunnelvorgang durch die RCB beschrieben<sup>18</sup>. Dabei wurde eine Temperaturabhängigkeit des Tunnelprozesses bzw. eine Abhängigkeit von der umgebenden Schwarzkörperstrahlung festgestellt und somit erstmals ein *blackbody infrared induced tunnelling* (BIRT)-Prozess beobachtet.

---

<sup>1</sup> Fourier-Transform-Ionen-Cyclotron-Resonanz-Massenspektrometer



In diesem Zusammenhang sind mehrfach negativ geladene Metalloporphyrine  $[\text{MPor}(\text{SO}_3)_4]^{4-}$  interessant. Aufgrund einer ähnlichen Struktur sind hierbei analoge Eigenschaften zu erwarten. Ganz allgemein spielen Porphyringerüste aufgrund ihrer aromatischen Eigenschaften nicht nur in der Natur eine herausragende Rolle sondern werden auch in der Industrie vielseitig verwendet und sind dementsprechend in kondensierter Phase sehr gut untersucht<sup>19, 20</sup>. Von besonderer biologischer Relevanz ist dabei die sogenannte Hämgruppe, die beim Sauerstofftransport im menschlichen Blut das aktive Zentrum zur Bindung von Sauerstoff an die Proteine Hämoglobin und Myoglobin bildet. Ebenso intensiv wurden die photoelektrochemischen Eigenschaften der Porphyrine aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zum Chlorophyll der Pflanzen untersucht<sup>21-23</sup>. Mittlerweile finden sich dafür Anwendungen in der Photovoltaik als organische Solarzellen<sup>24</sup>, bei katalytischen Oxidationsprozessen<sup>25</sup> oder als Sauerstoffsensoren in der Elektrochemie<sup>26</sup>.

In den letzten Jahren wurden Metalloporphyrine als Modellsysteme für die Häm-Gruppe zunehmend mithilfe von Elektrosprayionisierung in der Gasphase<sup>27, 28</sup>, insbesondere mithilfe der ESI-FT-ICR-Massenspektrometrie, untersucht. 1999 wurde von Ridge *et.al.* die Reaktivität einfach und zweifach geladener kationischer Fe(II)-Porphyrinderivate mit NO sowie ihrer Temperaturabhängigkeit in einem FT-ICR-MS in einem Temperaturbereich von 308-342 K untersucht<sup>29</sup>. 2005 wurden von Crestoni *et.al.* Reaktionen von verschiedenen kationischen Fe(III)-Porphyrinderivaten mit biologisch relevanten Liganden untersucht<sup>30</sup>. Daraus wurden kinetische und thermodynamische Daten in Abhängigkeit von der Wechselwirkung des Liganden ermittelt. Die Liganden umfassten hierbei repräsentative Verbindungen wie beispielsweise NO, Nitroso-Verbindungen bzw. Amine, Amide und Thioether. Reaktionen von dreiwertigen Fe(III)-Porphyrinkationen mit CO und O<sub>2</sub> wurden dabei bei Raumtemperatur nicht beobachtet<sup>30</sup>. Hierzu existieren jedoch zahlreiche theoretische Studien zu Reaktivitäten von Metalloporphyrinen mit O<sub>2</sub> bzw. CO<sup>31-36</sup>. Beachtet man die Vorhersagen der DFT-Rechnungen so erwartet man die messbare Reaktion von Porphyrinen mit O<sub>2</sub> oder CO in der Gasphase erst bei tieferen Temperaturen.

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Ionenchemie von Multianionen in der Gasphase sowie die methodische Weiterentwicklung des dazu verwendeten FT-ICR-Massenspektrometers. Insgesamt wurden folgende massenspektrometrische Methoden zur Untersuchung der einfach und mehrfach geladenen Spezies angewandt: *blackbody*



*induced dissoziation* (BIRD), *collision induced dissociation* (CID) sowie Ionen-Molekül-Reaktionen mit verschiedenen Gasen.

Ein großer Teil der Arbeit bestand darin eine neue temperaturregulierbare ICR-Zelle an das FT-ICR-Massenspektrometer zu adaptieren, zu charakterisieren und damit erste routinemäßige Messungen an mehrfach geladenen Molekülonen in einem Temperaturbereich von 88-420 K durchzuführen. Ein weiterer Aspekt bestand darin eine Nanoelektrosprayquelle erstmals in Betrieb zu nehmen, diese an das FTMS zu adaptieren und die Ionensignalstabilität zu optimieren. Schwerpunktmäßig wurden in der vorliegenden Arbeit technologisch oder biologisch relevante Modellsysteme behandelt. Erstmals wurden Reaktivitäten von massenselektierten mehrfach geladenen Metalloporphyrinen [MPor]<sup>n-</sup> mit O<sub>2</sub> und CO in der Gasphase bei tiefen Temperaturen untersucht. Dabei sollen Fragen der Ladungsverteilung auf den Metalloporphyrinen, der unterschiedlichen Reaktivität als Funktion des Zentralatoms M=Mn, Fe, H<sub>2</sub>, Cu sowie dessen Ladungszustand geklärt werden. Weiterhin ist die Struktur des entstandenen Komplexes und dessen Bindungsenergie von Interesse. Anhand von temperaturabhängigen Reaktionskinetiken sollen dazu thermodynamische sowie kinetische Größen bestimmt werden. Experimentelle Studien in Kombination mit *ab-initio* Rechnungen zur Reaktivität kationischer Münzmetallcluster bei Raumtemperatur wurden bereits durchgeführt<sup>37-40</sup>. Durch die Kombination der Kühlung der ICR-Zelle und den langen Speicherzeiten eines FT-ICR-Massenspektrometers ist es damit möglich Bindungsenergien für die Reaktion von Metalloporphyrinen mit O<sub>2</sub> und CO in der Gasphase zu bestimmen. Analog zu den ein-kernigen Metalloporphyrinen sollen im Rahmen des 3MET-Teilprojekts desweiteren Reaktivitätsstudien an mehrkernigen Systemen durchgeführt werden.

Weitere massenspektrometrische Untersuchungen beinhalten Studien zur Strukturaufklärung sowie zur thermodynamischen und elektronischen Stabilität von einfach und mehrfach geladenen Anionen. In dieser Arbeit wurden dreifach negativ geladene aromatische Verbindungen, die sich durch die Molekülgröße sowie eine funktionelle Gruppe unterscheiden, bezüglich spontaner Elektronenemission untersucht. Dazu wird die Abhängigkeit der elektronischen Stabilität dieser Multianionen von der Molekülgröße durch Kombination massenspektrometrischer Studien im FT-ICR-Massenspektrometer sowie Photoelektronenspektroskopie untersucht. Hierbei interessiert man sich für Informationen über repulsive Coulomb-Barrieren, Elektronenaffinitäten sowie Aktivierungsenergien der Elektronenemission.

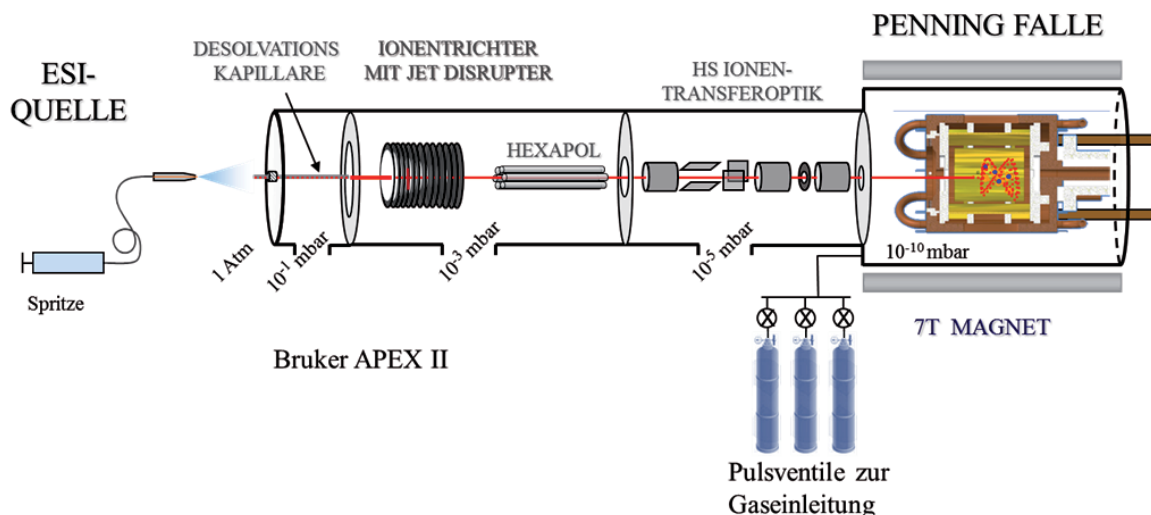


## 2 Experimenteller Aufbau

Ein Massenspektrometer besteht ganz allgemein aus einer Ionenquelle, einem Massenanalysator und Detektor und wird unter Hochvakuum betrieben. Das Prinzip der Massenspektrometrie beruht dabei darauf, geladene Teilchen bzw. Ionen mithilfe einer passenden Ionenquelle zu erzeugen, diese Ionen aufgrund ihres Masse-zu-Ladungsverhältnisses ( $m/z$ ) zu trennen und anschließend anhand ihrer Masse, Ladung und Häufigkeit (Intensität) nachzuweisen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Typen von Massenspektrometern verwendet, die daran aufgenommenen Massenspektren werden an der jeweiligen Stelle im Ergebnisteil vorgestellt. Der Hauptteil der Arbeit erfolgte an einem FT-ICR-Massenspektrometer. Eine ausführliche Beschreibung der einzelnen Komponenten dieser Apparatur befindet sich in der Dissertation von M. Neumaier<sup>37</sup>. In diesem Kapitel werden die wesentlichen Modifikationen an der Apparatur, relativ zum Stand der Dissertation von M. Neumaier, sowie Grundprinzipien beschrieben, die für das Verständnis dieser Arbeit essentiell sind.

### 2.1 Übersicht der FT-ICR-MS-Apparatur

In Abbildung 1 ist eine Übersicht der FT-ICR-MS-Apparatur dargestellt. Als Ionenquellen wurden hier eine kommerzielle Elektrosprayquelle (ESI-Quelle) und eine während dieser Arbeit in Betrieb genommene Nanosprayquelle (nESI) verwendet. Die erzeugten Ionen gelangen über eine Desolvatationskapillare, Ionentrichter, Hexapol und die Hochspannungstransferoptik in eine ICR-Zelle, die sich in einem 7 T Magneten befindet. Dort werden die Ionen nachgewiesen und gespeichert. Durch die Kombination von Heizen und Kühlen mit der temperaturregulierbaren ICR-Zelle können nun auch Ionen-Molekül-Reaktionen mit verschiedenen Gasen in einem Temperaturbereich von 90-423 K durchgeführt werden. Zur Neutralgaszugabe stehen drei Gasreservoirs zur Verfügung. Über softwaregesteuerte Pulsventile (General Valve) können Gase bei Bedarf in die Ionenfalle eingepulst werden. Um die Zusammensetzung der Gase zu verfolgen, wurde der UHV-Bereich um einen zusätzlichen Restgasanalysator erweitert.



**Abbildung 1:** Aufbau des FT-ICR- Massenspektrometers

### Das Vakuumsystem

Das Ultrahochvakuum in dem FT-ICR-Massenspektrometer wird über vier differenzielle Pumpstufen erreicht. Beginnend vom Atmosphärendruck in der ESI-Quelle wird der Druck stufenweise auf unter 10<sup>-10</sup> mbar in der ICR-Zelle reduziert.

Sowohl die ESI-Quelle als auch die nESI-Quelle werden bei 1bar betrieben, wodurch die erste Pumpstufe über eine kleine Öffnung der Desolvationskapillare (0,5mm Durchmesser) mit der Atmosphäre verbunden ist. Der Druck von 2\*10<sup>-1</sup> bar (Basisdruck bei geschlossener Desolvationskapillare 1\*10<sup>-4</sup> mbar) in der ersten Pumpstufe wird mittels einer Wälzkolbenpumpe (BOC Edwards, EH 250, 70l/s) und einer vorgeschalteten Drehschieberpumpe (BOC Edwards, E2M30, 18m<sup>3</sup>/h) erreicht. Während dieser Arbeit wurde der Ionentrichter mit einem Strahlunterbrecher (*jet disrupter*) versehen. Dieser ist senkrecht zum Neutral-Molekular-Strahl positioniert und verhindert, dass neutrale Lösungsmittelmoleküle direkt in den Hochvakuumbereich gelangen. Dadurch ergeben sich weniger Druckschwankungen im UHV-Bereich im laufenden ESI-Betrieb und insbesondere beim Spülen der Desolvationskapillare.

Im Bereich des Hexapols wird in der Hexapolkonfiguration ohne Drähte (siehe Kapitel 2.3) mit *jet disrupter* der Druck von 1\*10<sup>-4</sup> mbar (Basisdruck bei geschlossener Kapillare 5\*10<sup>-6</sup> mbar) mithilfe einer Turbomolekularpumpe (BOC-Edwards EXT-255H, 250l/s, Vorpumpe: BOC-Edwards, RV-12, 14,2 m<sup>3</sup>/h) erzielt. Der Hexapol mit Drähten enthält eine größere Öffnung zum Transferbereich wodurch der Druck sowohl im Ionentrichter als auch im Transferbereich ein wenig höher liegt.

Der Druck im Transferbereich von 5\*10<sup>-6</sup> mbar (Basisdruck 5\*10<sup>-7</sup> mbar) mit *jet disrupter* (Hexapol ohne Drähte) wird mittels einer Turbomolekularpumpe (Varian, V-550,



500 l/s, Vorpumpe: BOC-Edwards, RV-12, 14,2 m<sup>3</sup>/h) erreicht. Mit einem Hexapol mit Drähten beträgt der Druck  $1 \cdot 10^{-5}$  mbar (Basisdruck  $2 \cdot 10^{-6}$  mbar).

Im Ultrahochvakuumbereich, welcher durch ein Sperrventil abgetrennt werden kann, wird der Druck auf etwa  $2 \cdot 10^{-10}$  mbar reduziert. Durch zwei Turbomolekularpumpen (Pfeiffer, TPU 521, 500l/s und BOC-Edwards, EXT-70Hi, 70l/s) und einer größeren Vorpumpe (Oerlikon-Leybold, TRIVAC NT 25, 25 m<sup>3</sup>/h) kann der Basisdruck nach dem Einlass von Reaktionsgasen wieder schneller erreicht werden.

Der UHV-Druck wird über eine Ionisationsmessröhre (Granville-Phillips, 360 STABILION Gauge) gemessen. Da die Druckmessröhre nicht auf alle Gase gleich sensitiv reagiert, wurde der ausgelesene Druck um die relative Gasempfindlichkeit der Messröhre  $R_x$  korrigiert<sup>41, 42</sup>. Da sich das 7 Tesla starke Magnetfeld ebenfalls auf die Druckmessung auswirkt, wurde ein weiterer substanzunabhängiger Korrekturfaktor von 5,25 ermittelt. Insgesamt fand eine Korrektur aller hier angegebener Drücke mit folgender Gleichung statt.

$$P_{real} = \frac{5,25}{R_x} \cdot P_{Anzeige} \quad (2.1)$$

**Tabelle 1:** relative Gasempfindlichkeiten der Ionisationsmessröhre

Gas	N <sub>2</sub>	Ar	He	CO	O <sub>2</sub>
R <sub>x</sub>	1,0	1,29	0,18	1,05	1,01

Das Gaszuleitungssystem wurde im Rahmen dieser Arbeit durch Edelstahlrohrverschraubungen (6 mm, Swagelok) und Feuchtigkeitsfilter (SGT, Click-On Gas Purifier) erweitert. Es besteht nun auch die Möglichkeit die Gasreservoirs mit Heizbändern (Iso-pad, IT-SiS 10) bis maximal 200 °C auszuheizen. Der Einbau einer größeren Pumpe zur Evakuierung der Reservoirs (Pfeifer Vacuum, DUO 20M, 24 m<sup>3</sup>/h), ermöglichte sowohl die Beschleunigung des Abpumpens als auch eine Verbesserung der Gasreinheit. Der Basisdruck im Reservoir bei geöffnetem Ventil zur Pumpe beträgt nun  $1 \cdot 10^{-3}$  mbar im Vergleich zu vorher  $5 \cdot 10^{-2}$  mbar.





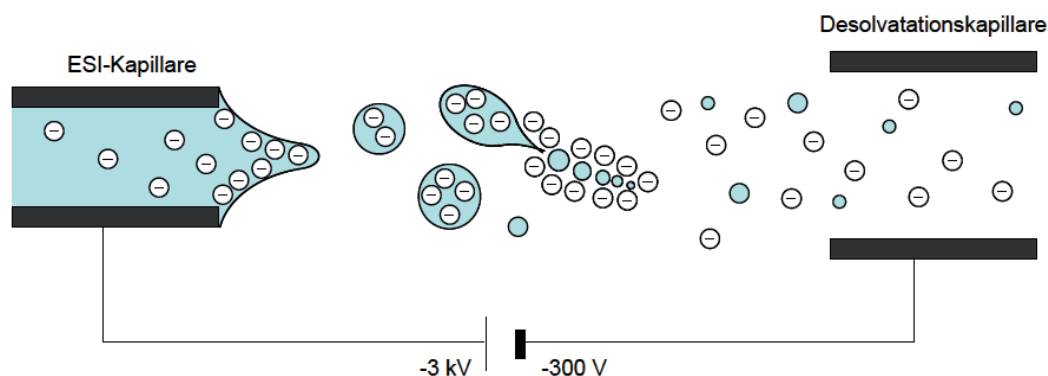
## 2.2 Elektrosprayionenquellen

### Erzeugung von Ionen mittels Elektrosprayionisierung

Um geladene Teilchen in der Gasphase zu erzeugen wurden lange Zeit bevorzugt Ionisationstechniken verwendet, die einen Zusammenstoß des Neutalmoleküls mit einem Photon, Elektron oder Sekundär-Ion in der Gasphase erfordern. Große polyatomige Moleküle, insbesondere biologisch relevanten Spezies, lassen sich aber nicht thermisch verdampfen ohne dabei zu fragmentieren<sup>43</sup>. Mithilfe der Elektrosprayionisierung konnten geladene Teilchen erstmals aus einer Lösung auf eine besonders schonende, fragmentationsarme Art als freie Ionen in die Gasphase überführt werden. Dieses Prinzip wurde 1968 von Dole beschrieben<sup>44</sup> und von J. B. Fenn zur breiten Anwendung in der Massenspektrometrie weiterentwickelt<sup>45-47</sup>. „Für die Entwicklung von Methoden zur Identifikation und Strukturanalyse von biologischen Makromolekülen“ erhielt J. B. Fenn 2002 den Nobelpreis in Chemie<sup>43</sup>. Die ESI wurde seitdem in einer Reihe von verschiedenen Massenspektrometern etabliert.

### Mechanismus des Elektrosprayprozesses

Die Bezeichnung „Elektrospray-Ionisation“ (ESI) leitet sich von der Energieform ab, durch die die geladenen Tröpfchen erzeugt werden. Hierbei wird zwischen einer dünnen elektrisch leitenden Sprühkapillare (typische Durchmesser 100-200  $\mu\text{m}$ ) und einer Gegenelektrode ein starkes elektrisches Feld von etwa 1 kV/cm aufgebaut. Die Sprühkapillare ist dabei mit einer verdünnten Lösung des zu analysierenden Moleküls gefüllt. Durch den Potentialgradienten entstehen Überschussladungen an der Spitze der Sprühkapillare d.h. im negativen Modus sammeln sich Anionen an der Metallspitze. Durch die Wechselwirkung der Oberflächenspannung und der Coulombabstoßung kommt es zu einer Wölbung der Flüssigkeitsoberfläche in Form eines Kegels. Es bildet sich der sogenannte „Taylor-Kegel“, aus dem stetig feine Flüssigkeitströpfchen austreten (Abbildung 2).



**Abbildung 2:** Prinzip der Elektrosprayionisierung<sup>48</sup>





Während sich die geladenen Tröpfchen unter Atmosphärendruck zur Gegenelektrode bewegen, verringert sich ihr Durchmesser durch ständiges Abdampfen von überwiegend neutralen Lösungsmittelmolekülen. Bleibt die Ladung konstant steigt damit die Oberflächenladungsdichte. Ist die elektrostatische Abstoßung größer als die Oberflächenspannung zerfällt der Tropfen durch Coulombexplosion in kleinere Tröpfchen<sup>49, 50</sup>. Der kritische Wert bei dem die elektrostatische Abstoßung durch die Oberflächenspannung gerade kompensiert wird, ist durch das Rayleigh-Stabilitätslimit<sup>51</sup> gegeben:

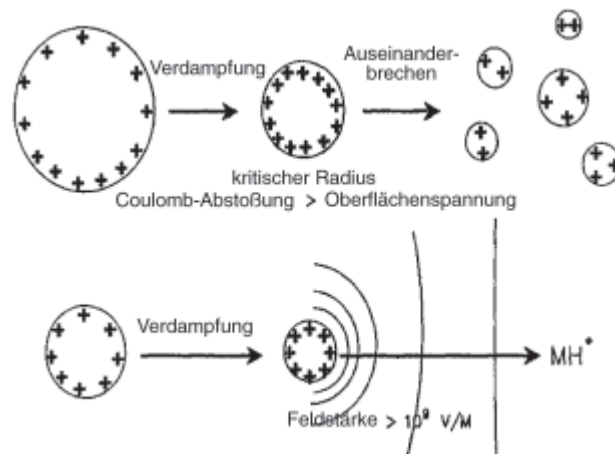
$$q_R = 8\pi\sqrt{\varepsilon_0\gamma R^3} \quad (2.2)$$

Hierbei ist  $q_R$  die Ladung des Tropfens mit dem Radius  $R$ ,  $\varepsilon_0$  die Permittivität des Vakuums und  $\gamma$  die Oberflächenspannung<sup>52</sup>. Durch weiteres Abdampfen von Lösungsmittelmolekülen und erneute Coulomb-Explosionen entstehen immer kleinere Tröpfchen.

Der letzte Schritt zur Bildung freier Analytionen in der Gasphase ist mechanistisch nicht vollständig geklärt und wird je nach Analyt und Lösungsmittel mithilfe zweier Modelle erklärt (Abbildung 3).

Beim „Modell des geladenen Rückstands“ (*charged residue model*, CRM) von Dole bilden sich durch die wiederholte Abfolge von Verdampfung und Rayleigh-Instabilitäten letztlich sehr kleine Tröpfchen, die nur noch ein Analytmolekül enthalten. Verdampfen die letzten Lösungsmittelmoleküle werden Ladungsträger von der Tröpfchenoberfläche auf das Analytmolekül übertragen, so dass ein gasförmiges ein- oder mehrfach geladenes Analyt-Ion entsteht. Damit lässt sich die Ionisierung von großen Molekülen wie z.B. Proteinen erklären<sup>44, 47</sup>.

Das Ionen-Verdampfungsmodell“ (*ion evaporation model*, IEM) von Iribarne und Thomson wird gerne zur Beschreibung der Entstehung von kleinen Molekülionen verwendet. Hierbei nimmt man an, dass das elektrische Feld der Tröpfchenoberfläche stark genug ist, um im Tröpfchen gelöste Analytionen von der Oberfläche direkt in die Gasphase zu bringen. Dieser Prozess kann schon bei Tröpfchenradien auftreten, die deutlich größer sind als die der Ein-Molekül-Tropfen im CRM.<sup>53</sup>



**Abbildung 3:** Mechanismus des Elektrosprayprozesses. Oben CRM, Unten: IEM.

Abbildung entnommen aus Referenz<sup>43</sup>.

### Aufbau der Elektrosprayquelle

Ein Teil der Experimente wurden an der kommerziellen, vom Arbeitskreis etwas modifizierten ESI-Quelle der Firma Analytica of Bradford (jetzt: Perkin Elmer) durchgeführt<sup>37</sup>. Prinzipiell wird dabei die verdünnte Lösung einer Probe mithilfe einer Spritzenpumpe (Sprührate 80-120  $\mu\text{l/h}$ ) durch eine Sprühnadel (Edelstahl,  $\varnothing_{\text{innen}}=100 \mu\text{m}$ ) gepumpt und mit Stickstoff fein zerstäubt. Es wird in einem Abstand von etwa 10 mm zur Desolvationskapillare (Edelstahl,  $\varnothing_{\text{innen}}=0,5 \text{ mm}$ , 200 mm lang) kollinear gesprüht, wobei zwischen den beiden Edelstahlelektroden eine Potentialdifferenz von etwa 3-4 kV anliegt. Die Desolvationskapillare ist vakuumdicht über eine Ultra-Torr-Verbindung (Swagelok) in einen bis 200°C beheizbaren Kupferblock eingeschraubt. An die Edelstahlkapillare und den Kupferblock wird eine Spannung von etwa -130 V angelegt. Die elektrische Isolierung zur Quellkammer ist dabei über eine PEEK-Einfassung gewährleistet.

### Ansteuerung der Spritzenpumpe (gepulste ESI)

Bei der Durchführung von Kinetik-Experimenten, bei denen Speicherzeiten von bis zu 30min pro Massenspektrum und bis 8 Stunden pro Messung, üblich sind, gibt es einige Einschränkungen bei der Verwendung der kontinuierlichen ESI-Quelle. Im Regelfall wird hier eine Spritze (*Hamilton*) von 500 $\mu\text{l}$  Fassungsvermögen verwendet, die eine maximale Messdauer von 6 Stunden erlaubt. Hinzu kommt, dass während der Kinetik-Experimente jeweils Ionen nur kurz in der ICR-Zelle eingefangen werden, um dann dort für eine variable Reaktionszeit gespeichert zu werden. In der restlichen Zeit wird kontinuierlich weiter gesprüht, ohne dass die Ionen „verwendet“ werden. Damit wird wert-