

DCI- und NDCI-massenspektrometrische Untersuchung von Stärke

J. Metzger

Univ. Oldenburg, Fachbereich IV (Naturwissenschaften), Ammerländer Heerstraße 67–69, D-2900 Oldenburg

DCI- and NDCI-Mass Spectrometry of Starch

Key words: Untersuchung von Stärke; Massenspektrometrie; DCI, NDCI

Der Einsatz der Massenspektrometrie zur Untersuchung von Polymeren im allgemeinen und Biopolymeren im besonderen ist von großem praktischem Interesse. Voraussetzung für die massenspektrometrische Erfassung ist der Abbau zu kleineren, den Aufbau des Makromoleküls widerspiegelnden Einheiten. Der Abbau des Makromoleküls kann einerseits chemisch durchgeführt werden mit anschließender massenspektrometrischer Untersuchung der Mono- und Oligomeren, andererseits thermisch, möglichst in direkter Kopplung mit dem Massenspektrometer. Das letztere Verfahren ist besonders reizvoll, da es sich durch Schnelligkeit und geringen Substanzbedarf auszeichnet. So wurden zahlreiche Biopolymere mittels Pyrolyse-MS-Techniken untersucht [8]. Das Problem bei allen derartigen Techniken ist das Auftreten zahlreicher Pyrolyseprodukte. Hinzu kommt die Fragmentierung der in der Ionisationskammer gebildeten Molekülionen der Pyrolyseprodukte bei harten Ionisationsmethoden. Dies führt zu äußerst komplexen Massenspektren, die häufig nicht eindeutig interpretierbar sind, so daß man sich mit einem Fingerprint des Makromoleküls begnügen muß. Einen Ausweg bieten hier zunächst einmal weiche Ionisationsmethoden. Reduzierung der Elektronenenergie bei Elektronenstoßionisation [5], Feldionisation [8], und chemische Ionisation [6] wurden eingesetzt. Weiterhin ist zu erwarten, daß die Zahl der Abbauprodukte stark reduziert wird, wenn der Abbau des Makromoleküls direkt in der Ionisationskammer des Massenspektrometers vorgenommen wird. Mit der Methode der Felddesorptionspyrolyse konnte Schulten [9] ein Massenspektrum des Glykogens aufnehmen, das in seiner Einfachheit bestechend ist.

Die PY-FD-MS ist allerdings experimentell recht aufwendig und dürfte als Routinemethode vorerst nicht geeignet sein. Eine weitere Möglichkeit des Abbaus des Makromoleküls direkt am Ort der Ionisierung ist die DCI-MS (Direkte bzw. Desorptions-Chemische Ionisation) [1]. Bei dieser Methode wird die Probe in das Ionisationsplasma eingebracht. Auf diese Weise konnten nichtflüchtige und thermisch empfindliche Substanzen wie Oligosaccharide und Aminosäuren massenspektrometrisch untersucht werden [4].

Wir interessieren uns für die Möglichkeit, Polysaccharide massenspektrometrisch zu charakterisieren. Wir untersuchten daher den Abbau von Stärke mit der DCI-Methode in Gegenwart verschiedener Reaktandgase.

Das Makromolekül wird dabei durch eine Kombination von Einwirkung des Plasmas und Thermolyse abgebaut. Die gebildeten Abbauprodukte werden sofort ionisiert. Da sich das Reaktandgas in weiten Bereichen variieren läßt und neben den positiven auch die negativen Ionen zur Charakteri-

sierung herangezogen werden können, sollte diese Methode optimale Voraussetzungen für die massenspektrometrische Untersuchung von Makromolekülen bieten.

Experimentelles

Lösliche Stärke (Merck), in Wasser gelöst, wurde auf den Metallfaden einer kommerziellen DCI-Sonde aufgebracht. Das Wasser wurde im Warmluftstrom entfernt. Die Probe wurde direkt in die Ionisationskammer des Massenspektrometers eingebracht. Als Reaktandgase (jeweils ca. 1 Torr) wurden Isobutan, Ammoniak und Freon (CF_2Cl_2) verwendet. Massenspektrometer Varian-MAT 312 mit Datensystem (Versuch mit Isobutan) und VG M. M. 70-70H mit Datensystem 2035 (Versuch mit Ammoniak und Freon). Die Probe wurde durch langsames direktes Erhitzen des Trägers abgebaut. Bei Isobutan und Ammoniak als Reaktandgas wurden die positiven, bei Freon die negativen Ionen vermessen. Die Daten wurden mit dem jeweiligen Datensystem verarbeitet. Weiterhin wurde Lävoglucosan (1,6-Anhydro- β -D-glucopyranose) mit Ammoniak und Freon entsprechend vermessen.

Ergebnisse

Lävoglucosan, eines der Hauptprodukte des thermischen Abbaus von Stärke [8], zeigt im DCI-Spektrum lediglich das Pseudomolekülion $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ bzw. $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ mit Ammoniak bzw. Freon als Reaktandgas. Mit Isobutan als Reaktandgas fragmentiert Lävoglucosan relativ stark [3]. Für Stärke wurde mit allen eingesetzten Reaktandgasen gut interpretierbare Massenspektren erhalten.

Isobutan ist das härteste eingesetzte Reaktandgas. Es werden Signale erhalten, die monomeren Abbauprodukten der Stärke zugeordnet werden können (Abb. 1). Das Schlüsselprodukt des Abbaus ist Lävoglucosan. Da das Pseudomolekülion des Lävoglucosans (m/e 163) stark fragmentiert, kann nicht entschieden werden, ob die Ionen m/e 145 und 127, die durch Abspaltung von einem bzw. zwei Molekülen Wasser aus Lävoglucosan entstehen, überwiegend beim Abbau oder erst durch Fragmentierung gebildet wurden. Im unteren Massenbereich zeigt das Spektrum zahlreiche Peaks,

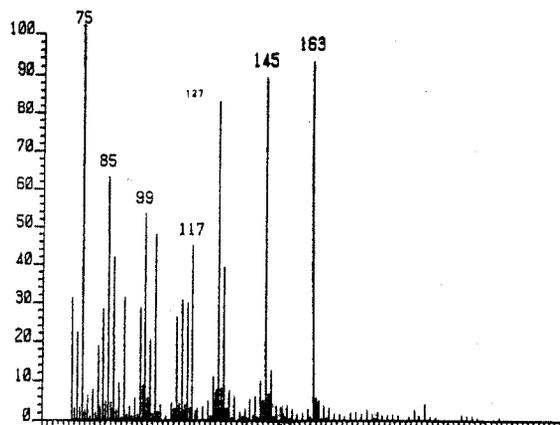


Abb. 1. DCI-Massenspektrum der Abbauprodukte von Stärke (Reaktandgas i-Butan)

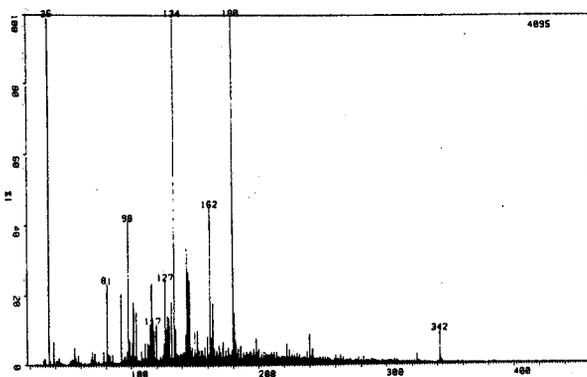


Abb. 2. DCI-Massenspektrum der Abbauprodukte von Stärke (Reaktandgas Ammoniak)

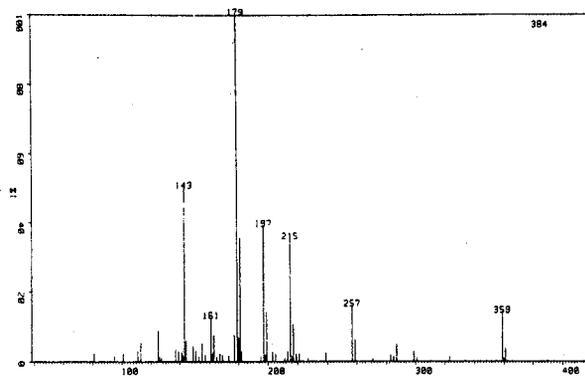


Abb. 3. NDCI-Massenspektrum der Abbauprodukte von Stärke (Reaktandgas Freon)

die nicht mehr ohne weiteres zugeordnet werden können, während oberhalb von $m/e > 100$ der Untergrund relativ gering ist, wenn man berücksichtigt, daß ein Polymeres abgebaut wurde.

Ammoniak ist ein weiches Reaktandgas. Das DCI-Spektrum der Stärke (Abb. 2) zeigt das Pseudomolekülion des Lävoglucosans (m/e 180) als Basepeak, daneben das Pseudomolekülion der Dianhydroglucose (m/e 162) und bemerkenswerterweise auch ein Pseudomolekülion eines Dimeren (m/e 342), das offensichtlich als Anhydromaltose beschrieben werden kann. Überraschend ist das intensive Ion m/e 134, das mit keinem bekannten Abbauprodukt der Stärke korreliert werden kann. Der Untergrund ist schwächer als im Isobutan-Spektrum. Auch Abbauprodukte mit $m/e < 100$ treten in weit geringerem Ausmaß auf.

Das einfachste Spektrum wird bei der Vermessung der negativen Ionen mit Freon als Reaktandgas erhalten (Abb. 3), das auch mit guten Ergebnissen bei der massenspektrometrischen Untersuchung von Oligosacchariden eingesetzt wurde [2]. Der Untergrund ist außerordentlich schwach. Mit Ausnahme von m/e 257 können alle Ionen mit einer Intensität $> 10\%$ eindeutig mit der Struktur der Stärke korreliert werden: m/e 359 Anhydromaltose + Cl^- ; m/e 215 Glucose + Cl^- ; m/e 197 Lävoglucosan + Cl^- ; m/e 179 Dianhydroglucose + Cl^- ; m/e 161 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd; m/e 143 Dianhydroglucose (m/e 179 - HCl).

Nach diesen Ergebnissen kann gesagt werden, daß die DCI-Massenspektrometrie insbesondere mit negativen Ionen eine Bereicherung der massenspektrometrischen Untersuchungsmethoden von Polymeren darstellt. So brachte die Anwendung der Methode auf weitere Polysaccharide interes-

sante Ergebnisse [7]. Von besonderer Bedeutung für einen breiteren Einsatz dürfte sein, daß die DCI-Sonde inzwischen kommerziell erhältlich ist, keinen großen Aufwand erfordert und für einen routinemäßigen Einsatz durchaus geeignet erscheint.

Dr. U. Rapp und Herrn Kaufmann, beide Varian-MAT, Bremen, danke ich für die Vermessung der Proben mit Isobutan als Reaktandgas.

Dr. V. Parr, VG, Altrincham, danke ich für die Vermessung der Proben mit Ammoniak und Freon als Reaktandgas.

Literatur

1. Baldwin, M. A., McLafferty, F. W.: *Org. Mass Spectrom.* **7**, 1353 (1973)
2. Ganguly, A. K., Cappuccino, N. F., Fujiwara, H., Bose, A. K.: *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1979**, 148
3. Horton, D., Wander, J. D.: *Carbohydrate Res.* **36**, 75 (1974)
4. Hunt, D. F., Shabanowitz, J., Botz, F. K., Brent, D. A.: *Anal. Chem.* **49**, 1160 (1977) und dort zit. Lit.
5. Meuzelaar, H. L. C., Kistemaker, P. G., Posthumus, M. A.: *Biomed. Mass Spectrom.* **1**, 312 (1974)
6. Metzger, J.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* **295**, 45 (1979)
7. Metzger, J.: unveröffentlichte Ergebnisse
8. Schulten, R. H.: *Anal. Chem.* **50**, 428 (1978) und dort zit. Lit.
9. Schulten, R. H.: *Meth. Biochem. Analysis* **24**, 426 (1977)

Eingegangen am 30. Dezember 1980