

# ALKALI-ION-ANLAGERUNG IN DER FD-MASSENSPEKTROMETRIE. KATIONISIERUNG UND PROTONIERUNG—IONISIERUNGSMETHODEN BEI VERWENDUNG NICHT AKTIVIERTER EMITTER

H. J. VEITH

Institut für Organische Chemie, Technische Hochschule Darmstadt, D-6100 Darmstadt, Petersenstr. 22, West Germany

(Received in Germany 28 December 1976; Received in the UK for publication 5 April 1977)

**Abstract**—It is shown that polar organic molecules—especially di- and trisaccharides—can be ionized by attachment of alkali ions under conditions of field desorption. Alkali tetraphenylborates serve as cation donors. The simple mass spectra which exhibit only  $[M + \text{cation}]^+$  ions permit the determination of molecular weights and the analysis of mixtures. A high quality of the emitter is not necessary. Even untreated tungsten wires as emitters can be used for alkali ion attachment under FD conditions. Moreover it is shown that using untreated wires mass spectra of peptides and nucleotides can be obtained due to protonation reactions. In this case the ion current is considerably higher compared to the application of carbon emitters.

Die Entwicklung neuer, einfach zu handhabender Ionisierungsmethoden zur Darstellung stabiler Molekularionen beansprucht ein grosses Interesse, da es selbst mit der schonenden FD-Methode häufig nicht gelingt, Molekularionen polarer und thermisch labiler Verbindungen eindeutig zu identifizieren bzw. zu erzeugen. Durch die Anlagerung von Alkali-Ionen an ein Molekül werden stabile Quasi-Molekularionen erzeugt. Dies wurde zum ersten Mal bei der Clusterionenbildung von  $[M + \text{Li}]^+$  beim Hexanol gezeigt.<sup>1</sup> Inzwischen erschienen weitere Arbeiten, die sich hauptsächlich mit der  $\text{Li}^+$ -Anlagerung an Substanzen beschäftigen, die aus der Gasphase zugeführt werden können.<sup>2,3</sup> Unter FD-Bedingungen wurden häufig Alkali-Anlagerungen beobachtet.<sup>1,4</sup> Verunreinigungen in der Analysenprobe oder den Substanzlösungen zugegebene Alkali-Halogenide lieferten die Alkali-Ionen. Jedoch führte nur in wenigen Fällen die Zugabe von Alkali-Halogeniden zu linienarmen Spektren, in denen die Quasi-Molekularionen als Basispeaks registriert werden.<sup>2</sup> Diese Methode erweist sich nur dann als vorteilhaft, wenn es gelingt, die Desorptionstemperatur so niedrig zu halten, dass eine thermische Zersetzung der Analysenprobe verhindert wird. Da die Ionisierung durch  $\text{Li}^+$ -Anlagerung im Festzustand die Möglichkeiten der FD-Methode erheblich erweitert, sollten geeignete  $\text{Li}^+$ -Donatoren gefunden werden, die die thermische Belastung für die zu untersuchende Verbindung vermindern.

### FD-MS von Tetraphenylboraten

Eine Erniedrigung der Temperatur bei der Desorption von Salzkationen wird durch Vergrößerung der Ionenradien erreicht. Dies konnte anhand der Clusterionenbildung organischer Kationen gezeigt werden.<sup>5</sup> Daher schien es angezeigt, Lithium-Salze mit grossen Anionen als  $\text{Li}^+$ -Donatoren zu untersuchen. Aus einer Reihe von Salzen mit komplexen Anionen eignet sich besonders das Lithium-tetraphenylborat für die Anlagerung des  $\text{Li}^+$  an polare organische Substanzen.<sup>6</sup> Im Unterschied zu den FD-Massenspektren von Ammonium- und anderen anorganischen Salzen<sup>5,7</sup> desorbieren das  $\text{Li}^+$ -Kation und das Clusterion  $[M + \text{Li}]^+$  ( $m/e$  333) aus dem  $\text{Li}^+ \phi_4\text{B}^-$

( $M = 326$ ) bei relativ niedrigen Anodentemperaturen (18–20 mA) und mit vergleichbarer Intensität. Darüberhinaus werden auch Molekularionen des Salzes  $M^+$  gebildet (Tabelle 1). Intensitätsschwache Signale werden für Ionen der Masse des Anions und des  $[\text{Anions} - 1]^-$ -Ions bei  $m/e$  319 bzw. 318 registriert. Unter Verwendung von nicht aktivierten Wolframdrähten als Emitter desorbieren ausschliesslich  $\text{Li}^+$ - und  $[M + \text{Li}]^+$ -Ionen, d.h. Ionen mit höherem Ionisierungspotential—wie  $M^+$ —werden unter diesen Bedingungen nicht erzeugt.<sup>2,8</sup>

Tabelle 1. FD-MS von Tetraphenylboraten (20 mA Heizstrom)

	Kation <i>m/e</i> (rel.%)	$[\phi_4\text{B} - 1]^{+\ddagger}$ <i>m/e</i> (rel.%)	$M^{+\ddagger}$ <i>m/e</i> (rel.%)	$[M + \text{Kation}]^+$ <i>m/e</i> (rel.%)
$\text{Li}^+ \phi_4\text{B}^-$	6(8)	318(19)	325(52)	332(35)
	7(100)	319(15)	326(100) 327(29)	333(90) 334(32)
$\text{Na}^+ \phi_4\text{B}^-$	23(1000)	318(8) 319(3)	341(19) 342(34) 343(7)	364(31) 365(100) 366(31)
			357(16) 358(38)	396(30) 397(100)
$\text{K}^+ \phi_4\text{B}^-$	39(1000)	318(2)	359(20)	398(37)
	41(75)	319(1.5)	360(15)	399(38) 400(10)
$\text{Rb}^+ \phi_4\text{B}^-$	85(1000)	<0.5	403(15) 404(38)	488(32) 489(100) 490(51)
	87(38)		405(16) 406(17)	491(71) 492(31) 493(20)
$\text{Cs}^+ \phi_4\text{B}^-$	133(1000)	<0.5	451(6) 452(20)	584(31) 585(100)
			453(5)	586(34) 587(5)

<sup>†</sup>Bei Anwendung nicht aktivierter Emitter werden diese Ionen nicht gebildet.

Entsprechend dem Lithium-Salz verhalten sich unter FD-Bedingungen die Tetraphenylborate des Natriums, Kaliums, Rubidiums und des Cäsiums (Tabelle 1). Mit wachsendem Kationenradius nehmen sowohl die Kationenintensitäten als auch das Verhältnis  $[M + \text{Kation}]^+ / M^+$  zu. Es ist bemerkenswert, dass im Falle des Lithium-Salzes die geringsten Ionenströme gemessen werden.

#### Technik der Alkali-Ion-Anlagerung in der FD-Massenspektrometrie

Benutzt wurden hochtemperaturaktivierte Emitter oder nicht aktivierte (blanke) Wolframdrähte von 10  $\mu\text{m}$  Durchmesser und 3,5 mm Länge. Die besten Resultate werden erzielt, wenn der Emitter zunächst in eine konzentrierte Aceton-Lösung des Tetraphenylborats getaucht und das Lösungsmittel *i.Vak.* verdampft wird, bevor die zu untersuchende Substanz nach bekannten Methoden aufgetragen wird. Der präparierte Faden sollte nur kurzzeitig in wässrige Substanzlösungen eingetaucht werden, um ein Ablösen der wasserlöslichen Alkali-Salze zu vermeiden. Bei umgekehrtem Vorgehen—zuerst die Substanz, dann die Alkali-Salze auftragen—erhält man geringere Ionenströme für  $[M + \text{Li}]^+$ . Das Aufbringen der Tetraphenylborate auf den Emitter sowohl aus wässriger Lösung als auch aus einer Lösung des Gemisches Substanz/Alkali-Salz erlaubt nicht die Aufnahme von reproduzierbaren Anlagerungsspektren. Die Erhaltung von 2 Festphasen—Alkali-Salz/Substanz—scheint eine Voraussetzung für die Alkali-Ion-Anlagerung zu sein.<sup>2</sup>

#### Anlagerung an Zuckern und Zuckerderivaten

Wegen der Schwierigkeiten, die bei der Aufnahme von FD-Spektren bei underivatisierten Zuckern auftreten, erscheint es sinnvoll, die Anlagerungsmethode an Vertretern dieser Substanzklasse zu prüfen. Die Ionenströme der  $[M + 1]^+$ -Ionen sind bei Di- und Trisacchariden nicht sehr gross, und die Vielzahl der thermisch- und feldinduzierten Fragmentationen erschwert häufig eine sichere Molekulargewichtsbestimmung, speziell bei biologischem Material. Wie schon an anderer Stelle beschrieben, treten im  $\text{Li}^+$ -Anlagerungsspektrum von Sucrose ( $M = 342$ ) weder ein  $[M + 1]^+$ -Ion noch Fragmentationen auf. Das nicht radikalische Quasi-Molekularion  $[M + \text{Li}]^+$  bei  $m/e$  349 erscheint als Basispeak des Spektrums.<sup>5</sup> Clusterionen geringer Intensität werden bei den Massen  $[2M + \text{Li}]^+$ ,  $[3M + \text{Li}]^+$  und  $[M + 2\text{Li}]^{2+}$

registriert. Bemerkenswert ist der Befund, dass im DADI-Spektrum<sup>9</sup> vom Ion der Masse 349 nur das in der 2.feldfreien Region gebildete Ion der Masse 178 registriert wird, d.h. es läuft die Reaktion  $[2M + 2\text{Li}]^{2+} \rightarrow [M + 2\text{Li}]^{2+} + M$  ab. Die Untersuchung von Zerfällen doppelt geladener Ionen unter Ladungstrennung—z.B.  $[M + 2\text{Li}]^{2+} \rightarrow [M + \text{Li}]^+ + \text{Li}^+$ —war aus apparativen Gründen nicht möglich. Der mögliche Zerfall  $[M + \text{Li}]^+ \rightarrow M + \text{Li}^+$  konnte nicht nachgewiesen und damit ein weiterer Hinweis auf die Stabilität der  $[M + \text{Li}]^+$ -Ionen erbracht werden.

Raffinose—ein Trisaccharid mit 11 freien OH-Gruppen—liefert mit der  $\text{Li}^+$ -Anlagerungsmethode ein Quasi-Molekularion hoher Intensität bei  $m/e$  511 (Abb. 1). Dieses nichtradikalische Kation bleibt über einen Temperaturbereich von einigen mA und für die Dauer bis zu 10 Min. stabil. Es werden keine Fragmentationen gebildet, wenn man davon absieht, dass bei hohem Anodenstrom ein intensitätsschwaches Signal für das Ion  $[M - \text{H}_2\text{O} + \text{Li}]^+$  nachweisbar ist. Neben dem  $[M + \text{Li}]^+$ -Ion werden im Anlagerungsspektrum noch Signale für  $[2M + \text{Li}]^+$ - und  $[M + 2\text{Li}]^{2+}$ -Ionen registriert. Wie mit der Sucrose bilden auch die  $\text{Na}^+$ -Ionen mit Raffinose Cluster der Zusammensetzung  $[M + \text{Na}]^+$ . Ebenso lagern sich  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$  und  $\text{Cs}^+$  an Raffinose unter Bildung der Quasimolekularionen und auch der höheren Clusterionen  $[2M + \text{Kation}]^+$  an. Die Affinität der Raffinose ist ausreichend, um auch das grosse  $\text{Cs}^+$ -Ion zu solvatisieren. Mit wachsendem Kationenradius nimmt der Ionenstrom der  $[M + \text{Kation}]^+$ -Ionen ab (Intensitätsverhältnis  $[M + \text{Li}]^+ / [M + \text{Cs}]^+ \approx 20$ ). Das unterschiedliche Verhalten der Alkali-Ionen zeigt sich bei der Desorption der freien Kationen. Während im  $\text{Li}^+$ -Anlagerungsspektrum keine  $\text{Li}^+$ -Ionen desorbieren, bei  $\text{Na}^+$ -Anlagerung  $\text{Na}^+$ -Ionen nachweisbar sind ( $< 10$  rel. % bei  $[M + \text{Na}]^+ = 100\%$ ), werden die  $\text{Cs}^+$ -Ionen als Basispeak des  $\text{Cs}^+$ -Anlagerungsspektrums registriert ( $[M + \text{Cs}]^+ = 38\%$ ). Entsprechend den Sacchariden vermag auch das Diglucosid Loriglossin  $\text{Cs}^+$  anzulagern.<sup>6</sup> Die Untersuchung eines Gemisches aus Sucrose und Raffinose ergab ein  $\text{Li}^+$ -Anlagerungsspektrum, in dem die intensivsten Signale die  $[M + \text{Li}]^+$ -Ionen beider Komponenten anzeigen. Ohne Kationisierung gestaltet sich dieser massenspektrometrische Nachweis erheblich schwieriger, weil aus Raffinose die Fragmentationen der Sucrose gebildet werden.

Bei benzylierten und acetylierten Mono-sacchariden tritt keine Anlagerung ein, weil die weniger polaren

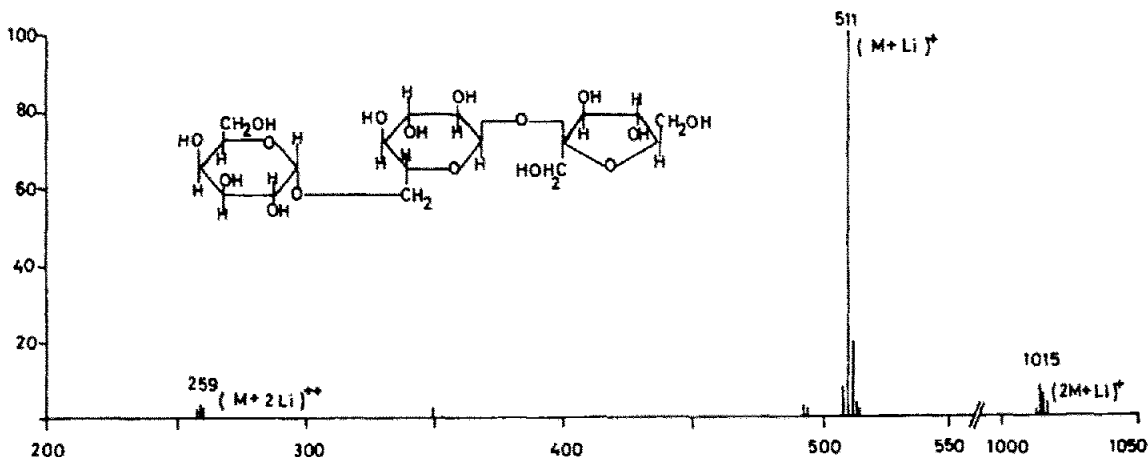
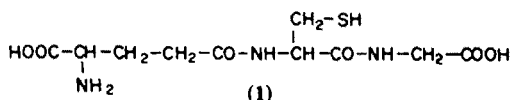


Abb. 1.  $\text{Li}^+$ -Anlagerungsspektrum von Raffinose; Anodenheizstrom 15 mA.

Verbindungen bei Anodenheizströmen  $< 8$  mA vollständig desorbieren. Eine Anlagerung kann aber teilweise durch Verminderung der Feldstärken erreicht werden. Die niedrigere Feldstärke wird durch einen höheren Heizstrom kompensiert, der die Desorption der  $[M + \text{Kation}]^+$ -Ionen ermöglicht. Ein Mindestheizstrom von ca. 10 mA ist notwendig, um reproduzierbare Anlagerungsspektren zu erhalten.

#### Anlagerung von Peptiden und Nucleotiden

Cyclopeptide, die bei Anodenheizströmen von 13 mA desorbieren, lagern sowohl  $\text{Li}^+$ - als auch  $\text{Na}^+$ -Ionen an, jedoch werden zusätzlich  $\text{M}^+$  und  $[M + 1]^+$ -Ionen gebildet und zwar häufig mit höherer Intensität als die Alkali-Cluster.<sup>10</sup> Die für Carbonsäuren charakteristische Protonierung, die zu den  $[M + 1]^+$ -Ionen führt, tritt auch unter Alkali-Anlagerungsbedingungen deutlich hervor. So wird in dem  $\text{Li}^+$ -Anlagerungsspektrum des Tripeptids Glutathion (1) ( $M = 307$ ) ein Signal für das  $[M + \text{Li}]^+$ -Ion ( $m/e = 314$ ) von max. 25 rel.% Intensität angezeigt, wäh-



rend das  $[M + 1]^+$ -Ion als Basissignal des Spektrums registriert wird (Tabelle 2). Bindungsbruch mit Wasserstoffübertragung führt zu den strukturspezifischen Fragmentationen bei  $m/e$  130 und  $m/e$  179. Das Ion bei  $m/e$  84 entsteht aus dem Glutamylrest und entspricht einem protonierten  $\Delta 5$ -2-Pyrrolidon.<sup>11</sup> Im Gegensatz zu den Sacchariden unterscheidet sich das Anlagerungsspektrum des Glutathions von dem normalen FD-Spektrum dieser Verbindung nur durch das zusätzliche Signal für das  $[M + \text{Li}]^+$ -Ion, die Fragmentationen sind identisch.

Tabelle 2. Auszug aus dem FD- $\text{Li}^+$ -Anlagerungsspektrum von Glutathion (1), Anodenheizstrom 16 mA

	$m/e$	rel.%
$[M + \text{Li}]^+$	314	25
$[M + \text{H}]^+$	308	100
$[M + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]^+$	290	36
	179	11
	130	35
	129	22
	84	42

Die bisher diskutierten Anlagerungsspektren wurden ausschliesslich mit aktivierten Emittlern erhalten.† Wie schon an anderer Stelle erwähnt, können Salzkationen und deren Clusterionen von blanken, unbehandelten Wolframdrähten desorbiert werden.<sup>8</sup> Bei Verwendung blanker Drähte für die Alkali-Ion-Anlagerung an Saccharide werden Intensitäten der  $[M + \text{Kation}]^+$ -Ionen beobachtet, die vergleichbar—eher höher—sind als in den Anlagerungsspektren unter Benutzung aktivierter

Fäden. Im  $\text{Li}^+$ -Anlagerungsspektrum des Glutathions unter Verwendung eines nicht aktivierten Emitters erscheint als Basispeak das  $[M + 1]^+$ -Ion, während das  $[M + \text{Li}]^+$  max 30% beträgt. Es ist somit möglich, protonierte Molekülonen von blanken Drähten zu desorbieren. Das unter diesen Bedingungen erhaltene FD-Spektrum von Glutathion ist in Tabelle 3 wiedergegeben. Folgende Unterschiede zu dem Glutathion-FD-Spektrum mit aktivierten Fäden sind festzustellen: (a) Der Anodenheizstrom liegt um 5–6 mA höher bei Verwendung nicht aktivierter Emittler. (b) Das Spektrum ist an Fragmentationen ärmer. Nur die Fragmente für die Wasserabspaltung und  $\text{CO}_2$ -Eliminierung aus dem  $[M + 1]^+$ -Ion werden mit relevanter Intensität registriert. Die feldinduzierten, strukturspezifischen Bindungsspaltungen treten nicht auf. (c) Die Intensität des  $[M + 1]^+$ -Ions ist um das 10–50-fache grösser. Dieser Ionenstrom bleibt für mehrere Minuten konstant, sodass DADI-Messungen durchgeführt werden können. Die  $\text{H}_2\text{O}$ -Abspaltung aus dem  $[M + 1]^+$ -Ion konnte als einzige Fragmentierung in der 2.feldfreien Region nachgewiesen werden. Dieser Befund liefert einen Hinweis dafür, dass bei der für die Desorption notwendigen Anodentemperatur das Tripeptid in der Ionenquelle teilweise decarboxyliert.

Tabelle 3. Auszug aus dem FD-MS von Glutathion (1) bei Verwendung eines nicht aktivierten Emitters, Anodenheizstrom 22 mA

	$m/e$	rel.%
$[M + \text{H}]^+$	308	100
$[M + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]^+$	290	18
$[M + \text{H} - \text{CO}_2]^+$	264	9

Bei Nucleotiden sind weder mit aktivierten Emittlern noch mit blanken Fäden Alkali-Ion-Anlagerungen möglich. Als einzige Ion-Molekül-Reaktion wird Protonierung des Moleküls unter Bildung der  $[M + 1]^+$ -Ionen beobachtet. Adenosin-3'-monophosphorsäure desorbiert als protoniertes Molekül von einem nicht aktivierten Emittler mit einer um den Faktor 100 höheren Intensität im Vergleich zur Desorption von einem aktivierten Faden. Neben einem intensiven Signal für  $[M + 1 - \text{H}_2\text{O}]^+$  werden Massenspektren für Fragmentationen registriert, die entsprechend der Adenosin-5'-monophosphorsäure Aussagen zur Struktur erlauben.<sup>12</sup> Vergleichbar hohe Ionenströme für das protonierte Molekularion erhält man bei Verwendung blanker Drähte als Emittler im Fall des 3',5'-Di-adenosyl-phosphats. Das FD-Spektrum enthält intensive Signale strukturspezifischer Fragmentationen und keinen relevanten Peak für  $[M + 1 - \text{H}_2\text{O}]^+$  (Abb. 2). Dieses Fragmentierungsverhalten lässt den Schluss zu, dass ein Sauerstoff der Phosphorsäureesterfunktion protoniert wird. Abspaltung eines Moleküls Adenosin führt zum Fragmention bei  $m/e$  330, während ein H-Transfer zum ladungstragenden Sauerstoff für die Bildung des protonierten Adenosins ( $m/e$  268) verantwortlich ist. Auffallend intensiv ist der Peak für das doppelt protonierte Molekularion  $[M + 2\text{H}]^{2+}$  bei  $m/e$  299. Die protonierte Base und die protonierte Phosphorsäure werden durch Signale bei  $m/e$  136 und  $m/e$  99 angezeigt.<sup>12,13</sup>

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die Ionisierung durch Alkali-Ion-Anlagerung unter FD-Bedingungen bietet sich als geeignete Methode zur

†Die aktivierten Emittler brauchen keine hohe Aceton-Empfindlichkeit zu besitzen. Mehrmals benutzte Fäden oder solche mit kurzen Micronadeln eignen sich hervorragend für die Anlagerungsmethode.<sup>8</sup>

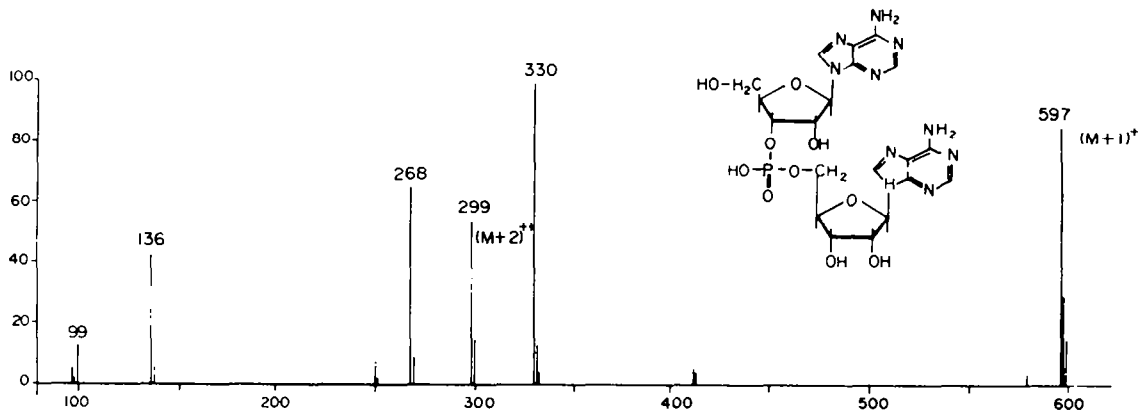


Abb. 2. FD-Massenspektrum von Di-adenosyl-3',5'-phosphat, erhalten unter Verwendung nicht aktivierter Emittter; Anodenheizstrom 23 mA.

eindeutigen Bestimmung des Molekulargewichts polarer organischer Substanzen an. Die Ladungslokalisierung am Kation verhindert ein Fragmentieren der Substanz; die Spektren sind linienarm. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, Gemische zu analysieren. Bei den in dieser Arbeit untersuchten Verbindungen wurde festgestellt, dass der Anodenheizstrom bei der Anlagerungsmethode um einige mA niedriger als bei der gewöhnlichen FD-Methode ist, wodurch auch thermische Fragmentierungen weitgehend unterdrückt werden. Die Ionisierung durch Kation-Anlagerung ermöglicht auch die Erzeugung von Quasi-Molekularionen von solchen Substanzen, deren normale FD-Spektren keine Signale für die Molekülionen enthalten.

Bei der Durchführung der Messungen erweist sich als besonders vorteilhaft, dass an die Qualität der Emittter keine hohen Anforderungen gestellt zu werden brauchen. Mit Fäden geringer Aktivität werden hohe Ionenströme erreicht. Noch bessere Ergebnisse erhält man bei Verwendung nicht aktivierter Emittter. Blanke Drähte sollten für die Kationisierung und für die Protonierung zur Erzeugung von Quasi-Molekularionen bevorzugt eingesetzt werden, da diese Emittter die grössten Ionenströme liefern. Wie am Glutathion gezeigt wurde, erlaubt die Desorption mit Hilfe nicht aktivierter Fäden die Erkennung feldinduzierter Fragmentierungen. Darüberhinaus ermöglicht der über Minuten konstante und intensive Ionenstrom die Durchführung von D-Bestimmungen, da in der Quasi-Molekularregion keine  $[M + 1]^+$ - oder  $[M - 1]^+$ -Ionen auftreten.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

Die FD-Massenspektren wurden mit einem MAT 311A der Firma Varian-MAT—ausgestattet mit einer kombinierten FI/FD-EI-Ionenquelle—aufgenommen. Die angelegte Spannung zwischen Emittter und Kathode betrug 7–10 kV. Bei Verwendung nicht aktivierter Emittter kann der Ionenstrahl nicht mit Aceton fokussiert werden. Es wurde Li-tetraphenylborat als Testsubstanz aufgetragen und das Clusterion bei  $m/e$  333 unter Aufheizen des Fadens bis 25 mA auf maximale Intensität eingestellt.

Diese Einstellung des Geräts war ausreichend, um die Desorptions-Spektren mit blankem Drahtemittter durch führen zu konnen.

$Li^+ \phi_4 B^-$  wurde in bekannter Weise aus Triphenylboran und Phenyl-Lithium hergestellt.<sup>14</sup> Als Ausgangsmaterial zur Darstellung der Tetraphenylborate des Kaliums, Rubidiums und Cäsiums setzte man das käufliche Natrium-Salz (Kalignost) ein. Aus wässrigen Lösungen des Alkali-Chlorids wurden mit Natriumtetraphenylborat die entsprechenden, wasserunlöslichen Tetraphenylborate gefällt, mehrmals mit Wasser gewaschen und *i. Vak.* getrocknet.

#### LITERATUR

- <sup>1</sup>F. W. Röllgen und H.-R. Schulten, *Org. Mass Spectrom.* **10**, 660 (1975).
- <sup>2</sup>F. W. Röllgen und H.-R. Schulten, *Z. Naturforsch.* **30a**, 1685 (1975); F. W. Röllgen, U. Giessmann und H.-R. Schulten, *Adv. in Mass Spectrometry*, im Druck.
- <sup>3</sup>U. Giessmann und F. W. Röllgen, *Org. Mass Spectrom.* **11**, 1094 (1976).
- <sup>4</sup>H. D. Beckey und H.-R. Schulten, *Angew. Chem.* **87**, 425 (1975); *Angew. Chem. Int. Ed.* **14**, 403 (1975).
- <sup>5</sup>H. J. Veith, *Org. Mass Spectrom.* **11**, 629 (1976).
- <sup>6</sup>H. J. Veith, *Angew. Chem.* **88**, 762 (1976); *Angew. Chem. Int. Ed.* **15**, 696 (1976).
- <sup>7</sup>H.-R. Schulten und F. W. Röllgen, *Org. Mass Spectrom.* **10**, 649 (1975).
- <sup>8</sup>F. W. Röllgen, U. Giessmann, H. J. Heinen und S. J. Reddy, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **24**, 235 (1977).
- <sup>9</sup>U. P. Schlunegger, *Angew. Chem.* **87**, 731 (1975); *Angew. Chem. Int. Ed.* **14**, 679 (1975).
- <sup>10</sup>Y. A. Bara, A. Friedrich, W. Hehlein, H. Kessler, P. Kondor, M. Molter und H. J. Veith, Publikation in Vorbereitung.
- <sup>11</sup>K. Biemann, In *Mass Spectrometry Organic Chemical Applications*, S. 267. McGraw-Hill, New York (1962).
- <sup>12</sup>H. R. Schulten und H. D. Beckey, *Org. Mass Spectrometry* **7**, 861 (1973).
- <sup>13</sup>H. R. Schulten und H. M. Schiebel, *Z. Anal. Chem.* **280**, 139 (1976) und *J. Nucleic Acids Research* **3**, 2027 (1976); H. Budzikiewicz und M. Linscheid, *Adv. in Mass Spectrometry*, im Druck.
- <sup>14</sup>G. Wittig, G. Keicher, A. Rückert und P. Raff, *Liebigs Ann. Chem.* **563**, 110 (1949).