

Methodische Entwicklung der MALDI-TOF-
Massenspektrometrie für Grenzbereiche der Polymeranalytik

Dissertation zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
am Fachbereich Chemie und Pharmazie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Laurence Przybilla
geboren in L'Hay-Les-Roses
(Frankreich)

Mainz, 2000

Tag der mündlichen Prüfung: 16.08.00

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung	1
I.1.	<i>Der Beitrag der MALDI-TOF-Massenspektrometrie zur Polymeranalytik.....</i>	<i>1</i>
I.2.	<i>Zielsetzung der Arbeit.....</i>	<i>3</i>
II.	Beschreibung der MALDI-TOF-Massenspektrometrie	7
II.1.	<i>Meßprinzip.....</i>	<i>7</i>
II.2.	<i>Aufbau der verwendeten MALDI-TOF-Massenspektrometer.....</i>	<i>9</i>
II.2.1	<i>Der lineare Meßmodus</i>	<i>10</i>
II.2.2	<i>Der Reflektormodus</i>	<i>10</i>
II.2.3	<i>Die „Delayed Extraction“-Technik.....</i>	<i>11</i>
II.2.4	<i>Die Detektoren</i>	<i>12</i>
II.3.	<i>Post-Source Decay.....</i>	<i>15</i>
II.3.1	<i>Das Prinzip des „Post-Source Decay’s“</i>	<i>15</i>
II.3.2	<i>Aufnahme eines PSD-Massenspektrums mit der FAST™-Methode</i>	<i>17</i>
III.	Hauptteil.....	20
III.1.	<i>Charakterisierung von polymeranalogen Endgruppenreaktionen mit MALDI-TOF-MS</i>	<i>20</i>
III.1.1	<i>Synthese und Anwendung der zu untersuchenden endgruppenmodifizierten Polyethylenglykole</i>	<i>20</i>
III.1.2	<i>Vorteile der Charakterisierung der endgruppenmodifizierten Polyethylenglykole mit der MALDI- TOF-MS</i>	<i>23</i>
III.1.3	<i>Einstellung des Massenspektrometers zur wirklichkeitstreuen Abbildung der Molmassenverteilung eines Polymers.....</i>	<i>25</i>
III.1.4	<i>Die theoretisch zu erwartenden Molekulargewichtsmittelwerte eines endgruppenmodifizierten Polymers.....</i>	<i>34</i>
III.1.5	<i>Darstellung und Auswertung der MALDI-TOF-Massenspektren.....</i>	<i>35</i>
III.2.	<i>Strukturaufklärung synthetischer Polymere mittels „Post-Source Decay“-Untersuchungen.....</i>	<i>42</i>
III.2.1	<i>Endgruppenbestimmung von Polycarbonaten mittels PSD-Analyse</i>	<i>43</i>
III.2.1.1	<i>Unvollständige Endgruppenbestimmung einer komplexen Polycarbonat-Probe mittels konventioneller MALDI-TOF-MS.....</i>	<i>43</i>
III.2.1.2	<i>Aufklärung des Fragmentierungsverhaltens von Polycarbonat</i>	<i>46</i>
III.2.1.3	<i>Entwicklung einer Methode zur Endgruppenbestimmung von PCA mittels PSD-Analyse.....</i>	<i>59</i>

Inhaltsverzeichnis

III.2.1.4	Anwendung der Methode zur Endgruppenbestimmung der Probe PCA-1	60
III.2.2	Bestimmung der Zusammensetzung eines PPE- <i>b</i> -PEO-Diblock-Copolymers mittels PSD-Analyse	67
III.2.2.1	Probleme bei der Ermittlung der Copolymerzusammensetzung mittels konventioneller MALDI-TOF-MS	67
III.2.2.2	Charakterisierung der beiden Homopolymer-Blöcke von PPE- <i>b</i> -PEO 21 mit MALDI-TOF-MS	70
III.2.2.3	Untersuchung des PPE- <i>b</i> -PEO-Diblock-Copolymers 21	81
III.3.	<i>Charakterisierung metallo-supramolekularer Verbindungen mit MALDI-TOF-MS</i>	90
III.3.1	Problematik der Charakterisierung Metallo-supramolekularer Verbindungen	90
III.3.2	Charakterisierung gitterartiger metallo-supramolekularer Verbindungen mit MALDI-TOF-MS	91
III.3.3	Charakterisierung makrozyklischer kationischer vierkerniger Übergangsmetallkomplexe mit MALDI-TOF-MS	98
III.4.	<i>Charakterisierung von ausgedehnten, unlöslichen polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH) mit MALDI-TOF-MS</i>	110
III.4.1	Problematik der Charakterisierung von PAHs.....	110
III.4.2	Charakterisierung unlöslicher PAHs mit Massenspektrometrie.....	113
III.4.2.1	Möglichkeiten und Grenzen der Laserdesorption-TOF-MS zur Charakterisierung unlöslicher PAHs.....	113
III.4.2.2	Weiterentwicklung von MALDI zur Charakterisierung ausgedehnter unlöslicher PAHs ..	125
III.4.2.3	Qualitative Analyse der Cyclodehydrierungsprodukte von Oligophenylen 56 (C ₂₂₂ H ₁₅₀) mit . MALDI	139
III.4.2.4	Semi-quantitative Analyse des Cyclodehydrierungsproduktes von Oligophenylen 56 mit MALDI-Massenspektrometrie	147
III.4.2.5	Interpretation des LD-Massenspektrums von PAH 54.....	164
III.4.2.6	Detektion von Oligomeren und Silber-Adduktionen bei der MALDI-Messung von PAHs.....	167
III.5.	<i>Bedeutung der Probenvorbereitung bei der MALDI-Massenspektrometrie</i>	174
III.5.1	Einfluß der Matrix auf das Fragmentierungsverhalten von konjugierten Polymeren.....	174
III.5.1.1	Problematik der Charakterisierung von konjugierten Polymeren.....	174
III.5.1.2	Charakterisierung mit MALDI: Einfluß der Matrix auf das Fragmentierungsverhalten.....	176
III.5.2	Einfluß der Matrix auf die Polymerverteilung.....	197
III.5.2.1	Radikalkationenbildung als Ionisierungsmechanismus	198
III.5.2.2	Adduktionenbildung als Ionisierungsmechanismus	201
III.5.3	Einfluß des Kations auf die Polymerverteilung	205
IV.	Zusammenfassung und Ausblick	211

V.	Experimenteller Teil	219
V.1.	<i>Allgemeine experimentelle Bedingungen</i>	219
V.2.	<i>Kalibrierung des Massenspektrometers</i>	220
V.3.	<i>Aufnahme und Kalibrierung eines FAST-Massenspektrums.....</i>	222
V.4.	<i>Polymeranalytische Auswertung der Massenspektren</i>	224
V.5.	<i>Durchführung der Messungen.....</i>	225
V.5.1	Messung der endgruppenmodifizierten Polyethylenglykolproben 3 und 8 sowie deren Ausgangspolymere 1 und 4.....	225
V.5.2	Messung von Polycarbonaten	226
V.5.3	Messung des PPE- <i>b</i> -PEO-Diblock-Copolymers 21 und dessen Homopolymervorläufer PEO 19 und PPE 20.....	227
V.5.4	Messung der gitterartigen metallo-supramolekularen Verbindungen	228
V.5.5	Messung der makrozyklischen vier- und sechskernigen Übergangsmetallkomplexe 35 bzw. 38.....	229
V.5.6	Messung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH)	230
V.5.7	Messung von Laserwellenlänge-absorbierenden Proben: Poly- <i>para</i> -phenylen 66, Oligophenylen 56 und Poly- <i>para</i> -phenylenethinylen 23, 20.....	231
V.5.8	Messung von Polystyrol 67 und 68.....	232
VI.	Anhang 1: Herleitung der Veränderung der Molmassen-mittelwerte des Produkts einer Endgruppenmodifikation im Verhältnis zu den Molmassenmittelwerten des Ausgangspolymers... 234	
VII.	Anhang 2: Klassifizierung konventioneller Matrices nach der Desorptions- und Ionisierungsschwelle	239
VIII.	Anhang 3: Klassifizierung neuer und konventioneller Matrices nach der Desorptions- und Ionisierungsschwelle	241
IX.	Literatur	244

Abkürzungen und Symbole

CAD	(engl.) Collisionally Activated Dissociation
CID	(engl.) Collision Induced Decay
DE	(engl.) Delayed Extraction
EI	Elektronenstoßionisation
FAB	(engl.) Fast Atom Bombardment
FAST™	(engl.) Fragment Analysis and Structural TOF
FD	(engl.) Field Desorption
GPC	Gelpermeationschromatographie
IP	Ionisierungspotential
IR	Infrarot
ISD	(engl.) In-Source Decay
LD	(engl.) Laser Desorption
LED	(engl.) Light Emitting Diode
m/z	Masse-zu-Ladungsverhältnis
MALDI	(engl.) Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation
MCP	(engl.) Microchannel plate
Mn	zahlengewichtete mittlere Molmasse (Zahlenmittel)
MPI	(engl.) Multiphoton Ionisation
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	tandem Massenspektrometrie
Mw	massengewichtete mittlere Molmasse (Massenmittel)
NMR	(engl.) Nuclear Magnetic Resonance
PAH	(engl.) Polycyclic Aromatic Hydrocarbon
PCA	Polycarbonat A

Abkürzungen und Symbole

PCB	Polycarbonat B
PCZ	Polycarbonat Z
PD	Cf-Plasmadesorption
PD	Polydispersität
PEG	Polyethylenglykol
PEO	Polyethylenoxid
PMMA	Polymethylmethacrylat
PPE	Poly- <i>para</i> -Phenylenethinylen
PPE- <i>b</i> -PEO	Poly- <i>para</i> -Phenylenethinylen- <i>b</i> -Polyethylenoxid-Diblock-Copolymer
PPP	Poly- <i>para</i> -Phenylen
PS	Polystyrol
PSD	(engl.) Post-Source Decay
R2PI	(engl.) Resonance 2-Photon Ionisation
STM	(engl.) Scanning Tunneling Microscopy
TOF	(engl.) Time-of-Flight
UV	Ultraviolett

I. Einleitung

I.1. Der Beitrag der MALDI-TOF-Massenspektrometrie zur Polymeranalytik

Die Eigenschaften und damit das Einsatzgebiet eines Polymerwerkstoffs sind durch dessen molekularen Aufbau bedingt. Dabei ist die Bestimmung der chemischen Zusammensetzung, der Anordnung der Polymerbausteine innerhalb der Polymerkette, der Endgruppen und des Molekulargewichts eine Aufgabe der Polymeranalytik.¹ Die Bestimmung dieser Strukturparameter erfordert den Einsatz unterschiedlicher Analysemethoden: Informationen zur chemischen Zusammensetzung und zur Art der Endgruppe werden meistens von spektroskopischen Methoden (IR, NMR) geliefert; zur Bestimmung des Molekulargewichts stehen verschiedene Techniken zu Verfügung, von denen Osmometrie, Lichtstreuung, Viskosimetrie und GPC am meisten angewendet werden.

Die Anwendung der Massenspektrometrie in der Polymercharakterisierung war bis vor einigen Jahren nur in sehr begrenzten Umfang möglich. Dabei war die Überführung der Moleküle in die Gasphase die limitierende Stufe. Dieser Phasenübergang wurde zunächst durch die Verdampfung des Polymers erreicht, so daß in vielen Fällen nur Bruchstücke der Ursprungsmolekülketten untersucht werden konnten. Erst die Einführung neuer Analysetechniken, die ohne vorherigen Verdampfungsschritt arbeiten, hat der Polymeranalytik zusätzliche Möglichkeiten eröffnet. Schonende Verfahren wie die Felddesorption (FD),^{2,3} die „Fast Atom Bombardment“-Technik (FAB)^{4,5,6} und die Plasmadesorption (PD)^{7,8} gestatten die Ionisation intakter Polymerketten bis in den Bereich höherer Molekulargewichte (10^3 - 10^4 g/mol). Trotzdem treten auch bei diesen schonenden Ionisierungstechniken neben den Molekülonen Fragmente auf, die die Interpretation der Spektren erheblich erschweren können. Dank der Entwicklung des Lasers wurden seit den 70er Jahren systematisch Versuche durchgeführt,^{9,10} um mit Laserstrahlung aus organischen Molekülen Ionen zu erzeugen. Die Laserdesorption (LD)^{11,12,13,14} kann allerdings nur bei relativ kleinen Molekülen (< 2000 g/mol) eingesetzt werden, da die zur Desorption größerer Moleküle notwendige Energie ausreicht, um sie zu fragmentieren. Der Durchbruch auf dem Weg zu einer leistungsfähigen Polymeranalytik wurde aber durch die Einführung der „Matrixunterstützten Laserdesorptions/-ionisations“-Massenspektrometrie (MALDI-MS) erreicht. Die MALDI-Methode wurde 1988

durch Karas und Hillenkamp¹⁵ für die Analyse von Biopolymeren eingeführt und ab 1992¹⁶ auf synthetische Polymere mit hohen Molekulargewichten übertragen. Mit der MALDI-Methode wurden mittlerweile Polymere im Molmassenbereich bis zu knapp 1.500.000 g/mol charakterisiert.¹⁷

In der Regel ist die MALDI-TOF-Massenspektrometrie im Bereich der kleinen Molekulargewichte ($< 10^4$ g/mol) in der Lage, die genauen Massen der einzelnen Polymerketten innerhalb der Verteilung nachzuweisen. Dies gestattet eine direkte Charakterisierung der Wiederholungseinheit und der Endgruppen. Zusätzlich ermöglicht die Auswertung der Spektren in diesem Bereich sowie in dem höheren, unaufgelösten Bereich die Bestimmung der Molekulargewichtsmittelwerte M_n und M_w . Mehrere klassische Polymere wie Polystyrol,^{18,19,20} Polyethylenglykol,^{21,16,21,20} Polymethylmethacrylat^{18,22,20} wurden mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie systematisch untersucht, und die daraus berechneten Molekulargewichte zeigen im Falle von engen Verteilungen eine gute Übereinstimmung mit den durch konventionelle Methoden erhaltenen Werte.²³ Wenn die Polydispersität einen Wert von ca. 1,2 erreicht, unterscheiden sich die mit MALDI und GPC gemessenen Molmassenmittelwerte jedoch um bis zu 20%. Bei breiteren Verteilungen liefern MALDI-Spektren unzuverlässige M_n - und M_w -Werte, die viel kleiner als die durch konventionelle Methoden erhaltenen Werte sind.²⁰ Für die Molekulargewichtsbestimmung einer breiten Polymerverteilung kann aber die MALDI-TOF-Massenspektrometrie trotzdem indirekt eingesetzt werden. Das MALDI-Gerät wird dann quasi als „off-line“-Detektor für die GPC genutzt.^{24,25,26,27,28} Aus dem Eluat der chromatographischen Trennung werden Fraktionen gesammelt, deren Molmassenverteilung einen engen Schnitt der gesamten Probenverteilung darstellt. Von den so erhaltenen engen Molekulargewichtsverteilungen kann nun mittels MALDI-TOF eine genaue Molmassenbestimmung vorgenommen werden, die eine Kalibrierung der GPC-Kurven durch absolute Massen ermöglicht. Dadurch werden die Molekulargewichtsmittelwerte der Probe aus dem massenspektroskopisch kalibrierten GPC-Elugramm berechnet.

Trotz dieser Einschränkung bei der Ermittlung von Molekulargewichtsmittelwerten ist die MALDI-Methode eine wertvolle und notwendige Ergänzung zu etablierten Methoden der Polymeranalytik geworden. Gegenüber diesen weist MALDI-MS fünf wesentliche Vorteile auf, die in einer kurzen Analysendauer (nach vollendeter Probenvorbereitung), in minimalem Substanzbedarf und in der hohen Massengenauigkeit, -auflösung sowie -reproduzierbarkeit

begründet sind. Auf Grund dieser Vorteile und der Fülle der gelieferten Informationen stellt MALDI-MS eine ernsthafte Konkurrenz und vor allen Dingen eine wertvolle Ergänzung zu den konventionellen Methoden der Polymercharakterisierung dar. Für zahlreiche Polymerproben können diese Techniken gar nicht oder nur unzuverlässig eingesetzt werden, und gerade in diesen Fällen ist der Beitrag der MALDI-MS von großer Bedeutung für die Polymeranalytik. Da der Desorptions- und Ionisierungsprozeß aber noch weitgehend ungeklärt ist, stellt jedes neue Polymersystem ein neues Problem dar. Die Meßbedingungen müssen erst erarbeitet werden, um durch geeignete Wahl der experimentellen Parameter (Probenvorbereitung, Einstellung des Geräts) ein wirklichkeitstreues Abbild eines Polymers, insbesondere einer Polymerverteilung, zu gewinnen. Daher kann von einer Routineanwendung der MALDI-MS in der Polymeranalytik noch keine Rede sein.

I.2. Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit besteht in der Anwendung der MALDI-TOF-MS zur Charakterisierung von Makromolekülen, bei denen die konventionellen polymeranalytischen Methoden nur unzureichende Informationen oder gar falsche Ergebnisse liefern. Eine erfolgreiche Charakterisierung mittels MALDI-TOF-MS ist aber nur dann möglich, wenn sowohl ein grundlegendes Verständnis für eine geeignete Probenvorbereitung als auch für die optimale Einstellung des Massenspektrometers gewährleistet sind. Die methodische Entwicklung der MALDI-TOF-MS soll zunächst anhand von konventionellen wohldefinierten synthetischen Polymeren durchgeführt werden. Dabei wird versucht die Aussagekraft der Methode soweit abzusichern, daß unabhängig von anderen Charakterisierungsmethoden möglichst detaillierte Informationen über die Polymerstruktur gewonnen werden können. Das entwickelte Verfahren wird im ersten Teil dieser Arbeit für die Charakterisierung von endgruppenmodifizierten Polymeren angewendet.

Prinzipiell ist MALDI für die Untersuchung endgruppenmodifizierter Polymere besonders geeignet und wesentlich informationsreicher im Vergleich zu anderen Analysemethoden. Mittels NMR-Analyse ist die Endgruppenmodifikation schwierig nachzuweisen und läßt unter günstigen Umständen nur die Bestimmung eines Molekulargewichtsmittelwertes zu. Im Falle eines flexibeln Polymers, das mit einem starren und voluminösen Substituenten wie z.B. einer Steroid-Gruppe modifiziert wird, liefert die GPC aufgrund der schlechten Auflösung sowie

fehlender Vergleichsverbindungen nur ungenaue Molekulargewichtsmittelwerte. Dagegen sollte ein aufgelöstes MALDI-TOF-Massenspektrum des zu untersuchenden Polymers sowohl die genauen Massen der einzelnen Polymerketten als auch die Verschiebung der Polymerverteilung nachweisen können. Diese Charakterisierung, die über eine herkömmliche Endgruppenbestimmung mit MALDI hinausgeht, erfordert jedoch eine quantitative Auswertung aller Signalintensitäten im Massenspektrum. Eine umfassende Analyse der Aussagekraft und Zuverlässigkeit der Methode soll anhand zweier endgruppenmodifizierter Polyethylenglykole, die am *MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung* für die Untersuchung polymerdekorierter Membranen hergestellt wurden, durchgeführt werden.

Die genauen Massen der einzelnen Polymerketten, die im aufgelösten Molekulargewichtsbereich eines MALDI-TOF Massenspektrums bis ca. 10.000 g/mol im allgemeinen eine direkte Endgruppenbestimmung erlauben, wie z.B. bei der oben erwähnten Endgruppenmodifizierung, reichen in komplizierten Fällen jedoch nicht aus, um die chemische Struktur des Polymers zu ermitteln. Zusätzliche Informationen werden dann benötigt, die aus einer Fragmentierungsuntersuchung des Polymers erhalten werden könnten. In der Tat werden im biochemischen Bereich häufig metastabile Zerfälle bei der MALDI-Analytik untersucht und liefern z.B. bei der Peptidsequenzierung wertvolle Strukturinformationen. Es soll nun untersucht werden, ob Fragmentierungsuntersuchungen ebenfalls in der Analytik synthetischer Polymere sinnvoll eingesetzt werden können, um zusätzliche Strukturinformationen zu gewinnen. Die Bestimmung der Endgruppen einer komplexen Polycarbonat-Probe sowie die Ermittlung der Zusammensetzung eines Poly-*para*-phenylenethinylen-*b*-Polyethylenoxid-Diblock-Copolymers sollen mittels Fragmentierungsuntersuchungen durchgeführt werden, um das Potential der Methode zu demonstrieren.

Im Rahmen dieser Arbeit soll jedoch die Entwicklung der MALDI-TOF-MS nicht auf die zuverlässige Charakterisierung herkömmlicher synthetischer Polymere eingeschränkt werden. Für neue Substanzklassen von Makromolekülen, die meist aus akademischem Interesse synthetisiert werden, treten oft große analytische Schwierigkeiten auf, so daß konventionelle Charakterisierungsmethoden nicht eingesetzt werden können. Eine systembezogene Anpassung der MALDI-Analytik an diese neuen Substanzklassen könnte prinzipiell deren Nachweis ermöglichen. Die geladenen metallo-supramolekularen Strukturen stellen z.B. eine dieser neuen Substanzklassen dar, die eine Methodenentwicklung der Analytik erfordern. Sie können aufgrund ihrer schwachen Bindungskraft sowie ihrer Ladung mit konventionellen

Charakterisierungsmethoden der Polymeranalytik nicht nachgewiesen werden. Bislang kann nur die zeitaufwendige analytische Ultrazentrifugation eingesetzt werden. Wegen des schonenden Phasenübergangs (fest-gasförmig) beim MALDI-Prozeß sollten prinzipiell auch solche labilen Überstrukturen einer massenspektrometrischen Untersuchung zugänglich sein. Inwieweit dies möglich ist und welchen Gesetzmäßigkeiten die Analyse solcher instabilen Aggregate unterliegen, soll ebenfalls in dieser Arbeit untersucht werden.

Als weitere schwierig zu charakterisierende Substanzklasse haben sich die polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAH) erwiesen. Aufgrund ihrer unzureichenden Löslichkeit können diese bis zu einer gewissen Molmasse nur durch Laserdesorptionsmassenspektrometrie (LD-TOF-MS) charakterisiert werden. Die Charakterisierung noch größerer PAH's, für die es bislang keine direkten Analysemöglichkeiten gibt, ist daher eine analytische Herausforderung. Da die Analytik unlöslicher Substanzen allgemein ein schwieriges Problem darstellt, soll im Rahmen dieser Arbeit versucht werden, diese Limitierung mit der MALDI-TOF-MS zu überwinden. Dazu sollen systematische Experimente durchgeführt werden, die eine homogene Verteilung des Analyts in der Matrix erlauben, ohne auf die sonst erforderliche Probenvorbereitung mit Hilfe von gelösten Substanzen angewiesen zu sein.

Die Entwicklung der MALDI-TOF-MS zur Charakterisierung neuer Substanzen offenbart, daß die Probenvorbereitung von ausschlaggebender Bedeutung ist. Sie stellt bei der Charakterisierung mittels MALDI-Massenspektrometrie einen wesentlichen Schritt dar, der jedoch bisher nur teilweise verstanden ist. Von der Probenvorbereitung hängt der Erfolg des MALDI-Prozesses ab. Sie ist besonders kritisch für die Charakterisierung labiler Moleküle, die einen äußerst milden Phasenübergang erfordern. Es sollen Parameter bestimmt werden, die eine Fragmentierung empfindlicher Moleküle, die die benutzte Laserwellenlänge absorbieren, vermeiden können. Abgesehen von der Erzeugung eines intakten Moleküls wird an die MALDI-TOF-Massenspektrometrie eine weitere Anforderung gestellt, nämlich die quantitative Analyse der Molekulargewichte einer Probe. Diese ist in der Regel im Falle von Substanzgemischen nicht gewährleistet, da die Desorptions- und Ionisationswahrscheinlichkeiten unterschiedlich sind. Selbst innerhalb einer Polymerverteilung bleibt die Quantifizierung ein sehr heikles Thema. Mehrere Parameter ändern die in MALDI-Massenspektren abgebildeten Polymerverteilungen. Eine davon ist die Probenvorbereitung. Dies soll anhand einiger Beispiele am Ende dieser Arbeit illustriert werden.

Zunächst wird im folgenden Kapitel die Technik der MALDI-TOF-Massenspektrometrie detailliert beschrieben. Dieses soll dem Leser ermöglichen, der im Hauptteil durchgeführten Diskussion über die MALDI-Untersuchungen folgen zu können. Nach der Erläuterung des Meßprinzips werden die prinzipiellen Unterschiede der verschiedenen Meßmethoden des Massenspektrometers sowie die wichtigsten instrumentellen Parameter beschrieben. Anschließend wird das Prinzip des metastabilen Zerfalls bei der MALDI-TOF-MS (der sogenannte „Post-Source Decay“, PSD) erklärt sowie die nötige Meßanordnung, die eine Aufnahme eines PSD-Fragmentmassenspektrums ermöglicht.

II. Beschreibung der MALDI-TOF-Massenspektrometrie

II.1. Meßprinzip

Die Abkürzung MALDI-TOF steht für die Kombination aus einer matrixunterstützten Laserdesorptions/ionisations-Ionenquelle (MALDI, Abkürzung aus dem Engl.: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation) und einem Flugzeitanalysator (TOF, Abkürzung aus dem Engl.: Time-of-flight)²⁹. In der Ionenquelle werden gasförmige Ionen erzeugt, die im Analysator entsprechend ihrem Masse-zu-Ladungsverhältnis (m/z) aufgetrennt werden. Die Registrierung der Ionen erfolgt anschließend durch einen Detektor.

Bei der MALDI-TOF-Massenspektrometrie wird die zu untersuchende Probe gelöst und mit einem großen Überschuß einer geeigneten, ebenfalls gelösten Matrix gemischt. Bei synthetischen Polymeren wird zu dieser Mischung oft ein Salz zugesetzt, um die Ionisierung des Analyten zu begünstigen. Ein μL dieser Mischung wird auf dem Probenträger getrocknet und in die unter Vakuum stehende Probenkammer des Massenspektrometers überführt. Als Matrix dienen niedermolekulare organische Verbindungen, die im Bereich der verwendeten Laserwellenlänge ausreichend absorbieren. Beim Beschuß mit einem nur ca. 3 ns dauernden Laserpuls eines kurzwelligen Lasers wird Strahlung von der Matrix absorbiert. Dabei werden die Matrixmoleküle angeregt, das Gitter im Festkörper zerstört und die Matrixmoleküle desorbiert. Bei diesem Phasenübergang werden die darin eingebetteten Analytmoleküle mitgerissen und ionisiert. Auf diese Weise wird eine effiziente und kontrollierte Energiezuführung ermöglicht, während die Analytmoleküle von einer übermäßigen Energie, die zu ihrer Fragmentierung führen könnte, geschützt werden. Außerdem scheint die Verdünnung die Assoziation der Analytmoleküle zu unterdrücken, die sonst zu größeren Aggregaten führen würde, welche bedingt durch ihre hohen Massen schlechter desorbierbar wären.

Der Mechanismus des Desorptions- und Ionisationsschrittes ist noch nicht vollständig verstanden. Gesichert gilt, daß hierbei der Wahl einer geeigneten Matrix eine entscheidende Rolle zukommt. Daher sollen einige allgemeine Anforderungen an ein geeignetes Matrixmaterial genannt werden. Wie bereits erwähnt wurde, handelt es sich dabei um kleine organische Verbindungen, die im Wellenlängenbereich des verwendeten Lasers gut absorbieren und im Vakuum eine sehr geringe Verdampfbarkeit besitzen. Weitere

Voraussetzungen an die Matrix ist eine gute Verträglichkeit mit dem Analyten im gelösten Zustand, aber auch eine gute Mischbarkeit mit dem Analyten im festem Zustand. Nur so ist eine gute Isolierung der Analytmoleküle voneinander gewährleistet und somit eine Reduzierung der intermolekularen Kräfte möglich.³⁰ Leider lassen sich noch keine genaueren Aussagen treffen, welcher Analyt mit welcher Matrix am besten desorbiert. Deswegen ist es notwendig, für jede neue Substanz nach einem „trial-and-error“-Verfahren eine neue Probenvorbereitung zu entwickeln, bei der auch das molare Verhältnis der Komponenten zueinander sowie die Wahl des Lösungsmittels eine wichtige Rolle spielen.

Die erzeugten Ionen werden in einem anliegenden starken elektrischen Feld beschleunigt und in einem Flugzeitmassenspektrometer (TOF-MS) nach ihrer Flugzeit getrennt. Die ionisierten Moleküle haben nach Durchlaufen des Spannungsgefälles die gleiche, definierte kinetische Energie:

$$E_{kin} = U \cdot z = \frac{1}{2} \cdot m \cdot v^2 \quad \text{Gleichung 1}$$

E_{kin}	kinetische Energie
U	Beschleunigungsspannung
z	Elementarladung
m	Ionenmasse
v	Ionengeschwindigkeit

Dies bedingt in der nachfolgenden Driftstrecke (Flugrohr des Massenspektrometers) unterschiedliche Flugzeiten in Abhängigkeit vom Masse-zu-Ladungsverhältnis. Nach dieser definierten Flugstrecke treffen die Ionen auf einen Detektor. Die Aufnahme des Detektorsignals in Relation zur Flugzeit ergibt das TOF-Massenspektrum. Die Zeit-Achse läßt sich in eine Masse-zu-Ladungsverhältnis-Achse umrechnen. Nach Gleichung 1 ergibt sich durch Substitution von $v = \frac{L}{t}$:

$$\frac{m}{z} = \frac{2 \cdot U}{L^2} \cdot t^2 \quad \text{Gleichung 2}$$

L	Länge der Driftstrecke
t	Flugzeit des Ions

In der Praxis wird das Massenspektrometer mit Hilfe von Standards kalibriert, indem die gemessenen Flugzeiten den bekannten Masse-zu-Ladungsverhältnissen zugeordnet werden.

Flugzeitgeräte arbeiten gepulst, d.h. daß die Folge „Ionenerzeugung / Beschleunigung / Trennung“ in kurzen Zeitabständen wiederholt wird. Aufgrund dieses diskontinuierlichen Betriebsmodus läßt sich das TOF-Massenspektrometer besonders vorteilhaft mit dem ebenfalls gepulsten MALDI-Ionisierungsverfahren koppeln. Die weiteren Vorteile der MALDI-TOF-Methode liegen in der sehr hohen Transmission des Flugzeitmassenspektrometers (bis 100%) und in einem prinzipiell nicht begrenzten Massenbereich.

II.2. Aufbau der verwendeten MALDI-TOF-Massenspektrometer

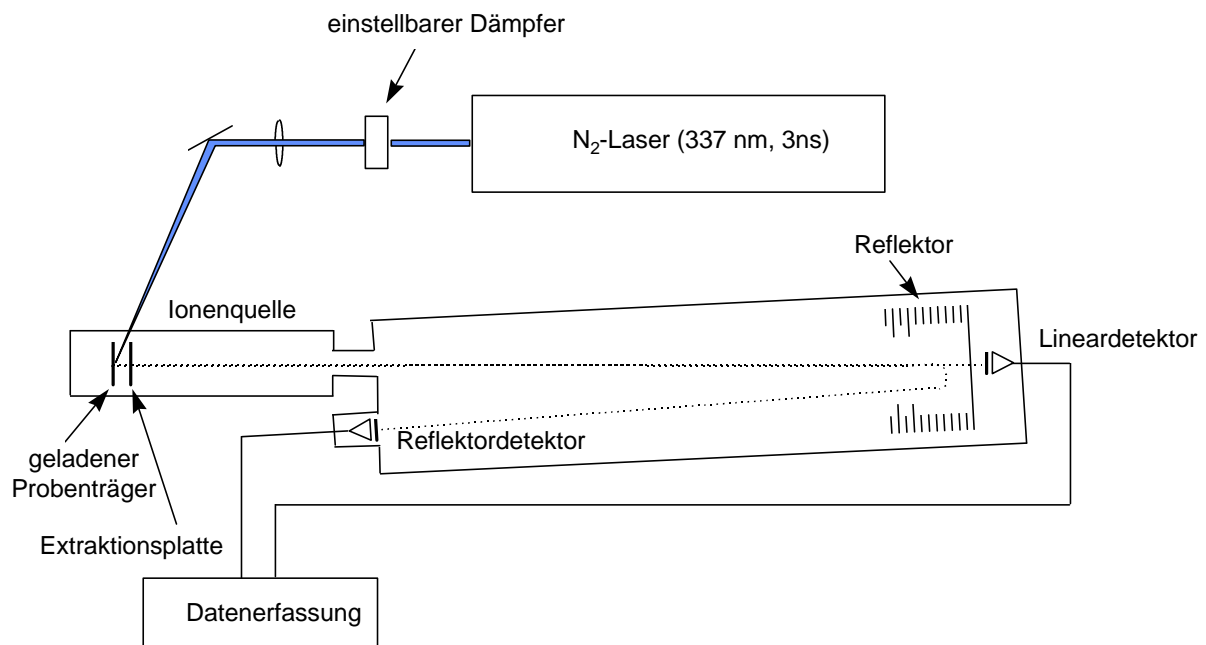


Abbildung 1: Schematische Aufbau der von uns verwendeten MALDI-TOF-Massenspektrometer

Bei den verwendeten Flugzeitmassenspektrometern mit MALDI-Ionenquelle handelt es sich um zwei Geräte der Firma Bruker-Franzen Analytik GmbH (s. Abbildung 1). Als Lasersystem wird ein N₂-Laser mit einer Wellenlänge von 337 nm und einer Pulsbreite von 3 ns angewendet. Die Ionenquelle besteht aus einer geladenen Metallelektrode (dem Probenträger

selbst) und einer geerdeten Beschleunigungselektrode. Auf den Probenträger wird die Analyt-Matrix-Mischung aufgebracht und dem Beschuß eines gepulsten Stickstofflasers ausgesetzt. Hierdurch werden Analyt-Ionen erzeugt und verlassen die Quelle, da sie von dem anliegenden elektrischen Feld beschleunigt werden. Die Flugzeitmassenspektrometer können im Linear- oder im Reflektorbetrieb eingesetzt werden.³¹

II.2.1 Der lineare Meßmodus

Die einfachste Konfiguration eines Flugzeitmassenspektrometers kommt im Linearmodus zur Anwendung, bei dem Ionen nach ihrer Beschleunigung und Durchlaufen der Driftstrecke auf einen am Ende des Flugrohrs befindlichen Detektor treffen. Der Vorteil des Linearmodus besteht darin, daß ein Zerfall von Ionen nach der Beschleunigung keinen Einfluß auf das erhaltene Massenspektrum hat, da sich die Geschwindigkeit der Bruchstücke nach dem Zerfall nicht wesentlich ändert und sie so zum gleichen Zeitpunkt am Detektor ankommen, an dem auch das intakte Mutterion angekommen wäre. Die praktische Beschränkung des Linearmodus ist die relativ niedrige Auflösung, wofür eine Kombination experimenteller Faktoren wie z.B. der Zeitpunkt der Ionenerzeugung, die anfängliche Energieverteilung und die Coulombabstoßung verantwortlich sind. Die durch die Energieverteilung der Ionen bedingte Auflösung kann durch die Anwendung des Ionenreflektors deutlich verbessert werden.

II.2.2 Der Reflektormodus

Der vor dem Lineardetektor angeordnete Reflektor besteht aus einem entgegengerichteten, leicht gewinkelten elektrischen Feld, das etwas höher als das Beschleunigungspotential eingestellt ist. Die Ionen dringen in den Reflektor ein, bis sie ihre kinetische Energie vollständig verloren haben, werden umgelenkt und auf dem Reflektordetektor weiterbeschleunigt. Ionen mit gleichem Masse-zu-Ladungsverhältnis, aber größerer kinetischer Energie dringen tiefer in das Reflektionsfeld ein und verzögern ihre Ankunft auf dem Reflektordetektor im Vergleich zu Ionen, die eine kleinere kinetische Energie besitzen. Dadurch werden die Ionen auf dem Reflektordetektor fokussiert und die Auflösung sowie die Massengenauigkeit gesteigert. Bei dieser Meßanordnung geht aber der Vorteil der hohen Empfindlichkeit der Flugzeitmassenspektrometer etwas verloren, da die vor dem Reflektor zerfallenen Ionen nicht detektiert werden können. Dies ist unbedingt zu beachten, wenn es um

quantitative Messungen geht, da durch metastabile Zerfälle Diskriminierungseffekte auftreten können.

II.2.3 Die „Delayed Extraction“-Technik

Eine andere Methode, um die Massenauflösung zu erhöhen, stellt die sogenannte „Delayed Extraction“ oder „time-lag-focusing“-Methode³² dar. Diese Technik kompensiert sowohl die unterschiedlichen Anfangsgeschwindigkeiten der Ionen als auch ihre unterschiedlichen Entstehungszeitpunkte, die sonst zur Peakverbreiterung beitragen. Bei einer „Delayed Extraction“ (DE) wird die Verteilung der Anfangsgeschwindigkeiten in der Ionenquelle korrigiert, während die Reflektron-Methode erst nach der Beschleunigung wirkt. So kann mittels DE die Auflösung auch im Linearmodus verbessert werden. Dies hat gegenüber einer Messung im Reflektormodus den Vorteil, daß die Empfindlichkeit des Massenspektrometers gleich bleibt, da metastabile Zerfälle nur im Reflektormodus durch Intensitätsverlust bemerkbar sind. Vor der Nutzung der DE muß die Konfiguration der Ionenquelle modifiziert werden (s. Abbildung 2). Sie besteht grundsätzlich aus einer zweistufigen Beschleunigungzone. Eine erste Lochblende (Potential V_2) folgt dem Probenträger mit dem gepulsten Potential V_1 und zuletzt schließt sich eine zweite, geerdete Lochblende an.

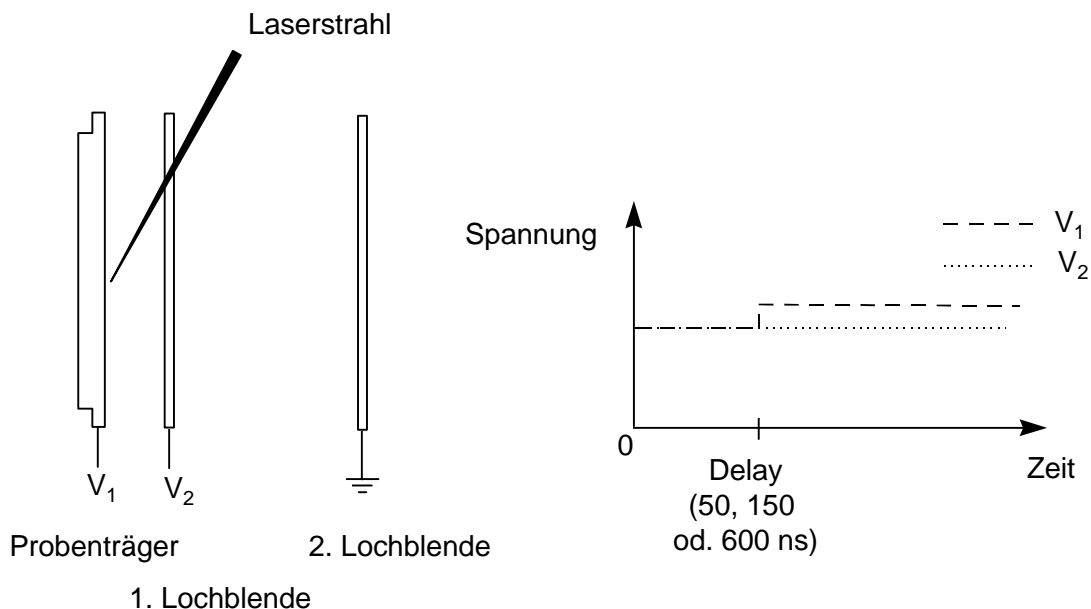


Abbildung 2: Aufbau der Ionenquelle für die Delayed Extraction

Bei der DE ist eine kurze Verzögerung (delay) zwischen dem Laserbeschuss (bzw. Ionisierung) und der Ionenextraktion eingeschaltet. Während dieses Delays liegt kein elektrisches Feld zwischen der Probe und der ersten Extraktionsblende an. Nach dem Delay wird an dem Probenträger ein gepulstes Potential angelegt: die Ionen werden aus dem ersten Bereich abgezogen und durch den zweiten Bereich, in dem eine konstante Potentialdifferenz herrscht, zu ihrer Endgeschwindigkeit beschleunigt. Während des Delays sind die Ionen mit größerer Geschwindigkeit (gleiches m/z) näher an die erste Extraktionsblende gewandert als die Ionen mit kleinerer Anfangsgeschwindigkeit. Wenn das Extraktionsfeld gepulst wird, bildet sich zwischen der Probe und der ersten Extraktionsplatte ein elektrostatisches Gradientenfeld. Die langsamer fliegenden Ionen erfahren ein stärkeres elektrostatisches Extraktionsfeld als die schnelleren, wodurch sie ihre ursprüngliche Verspätung aufholen. Um die bessere Auflösung durch die Nutzung der DE zu erreichen, muß für jede Verbindung in dem betreffenden Massenbereich das Delay sowie die Spannungen V_1 , V_2 optimiert werden und ist somit zeitaufwendiger als eine Messung mit einer einstufigen Beschleunigungszone. Unser modernes MALDI-TOF-MS ist mit DE ausgerüstet und ermöglicht Messungen mit einer sehr hohen Auflösung, vor allem im Massenbereich bis ca. 3000 g/mol, wo die Signale sogar isotopenaufgelöst sind. Als Detektor wird im Linearmodus und im Reflektormodus eine dual-microchannel plate (MCP)³³ verwendet.

II.2.4 Die Detektoren

Der dual-MCP-Detektor (s. Abbildung 3a) besteht aus zwei gestapelten „channel plates“. Ein „channel plate“ besteht aus einer Reihe von eng gepackten Kanälen, angeordnet in einer flachen Scheibe. Die Kanalinnenwände sind mit einem Sekundärelektronen emittierenden Halbleiter-Material beschichtet, so daß jeder Kanal einen unabhängigen Elektronvervielfacher darstellt. Wenn Ionen auf die Platte prallen, werden sekundäre Elektronen gebildet, die durch die Platte beschleunigt und vervielfacht werden, so daß ein Verstärkungsfaktor von ca. 10^3 erreicht wird. Höhere Verstärkungsfaktoren von ca. 10^6 werden durch die Kombination von zwei Platten (dual-MCP) erhalten. „Dual-MCPs“, die als Standardlinear- und –reflektordetektoren im Flugzeitmassenspektrometer dienen, sind jedoch zur Detektion hoher Molmassen von synthetischen Polymeren sowie genauen Bestimmung von Polymerverteilung ungeeignet. Zum einen benötigt ein MCP-Detektor eine minimale Geschwindigkeit der ankommenden Partikel, um ein auswertbares Signal zu erzeugen, wodurch ein Problem bei der Messung der langsam eintreffenden, schweren Ionen entsteht. Zum anderen neigen dual-

MCP-Detektoren zu einer schnellen Sättigung. In der Tat braucht jeder aktivierte Kanal eine bestimmte Erholungszeit, die länger als die Flugzeit der schweren Ionen innerhalb eines Ionenpakets dauert, bevor er wieder meßbereit ist. Dank der hohen Zahl der Kanäle auf einer MCP kann diese dennoch kontinuierlich arbeiten, solange die Zahl der ankommenden Ionen bzw. Elektronen nicht zu hoch ist. Problematisch kann es bei der zweiten MCP werden, auf die ein wesentlich größerer Strom zukommt. Bei der Messung einer Polymerprobe treffen aufgrund der Massenverteilung Ionenpakete mit unterschiedlichen Flugzeiten nacheinander auf. Wenn die Erholungszeit der MCP länger als die Zeit zwischen zwei aufeinander folgenden Ionenpakete ist, wird das Signal des zweiten Ionenpakets reduziert. Dies tritt verstärkt auf, wenn der Ionenstrom des ersten Ionenpakets sehr intensiv ist und wirkt sich besonderes bei den hochmolekularen Anteilen einer Polymerverteilung aus. Aus diesen Gründen wurde der ältere Massenspektrometer unserer Abteilung mit einem speziellen Detektor (s. Abbildung 3b) ausgestattet, der übersättigungsunempfindlich ist. Bei diesem befindet sich vor dem MCP-Detektor eine Konversionsdynode, die aus den aufschlagenden Analytationen Fragmentationen, sekundäre Ionen und Elektronen erzeugt. Diese kleinen geladenen Partikel werden derart beschleunigt, daß ihre Geschwindigkeit ausreichend ist, um eine Elektronenlawine im MCP-Detektor auszulösen. Statt einer zusätzlichen MCP, die besonders bei der Messung von Polymerverteilungen eine Übersättigung der letzten Stufe des Detektors verursachen würde, wird eine Kombination aus einem Szintillator³⁴ und einem Photomultiplier³⁵ verwendet. Die von der MCP ausgestrahlten Elektronen werden nochmals in einem elektrischen Feld beschleunigt, damit eine effektive Umwandlung in Photonen im Szintillator gewährleistet ist. Aus den am Photomultiplier auftreffenden Photonen wird schließlich eine Elektronenlawine ausgelöst. Leider führt dieser sogenannte HIMASTM-Detektor zu einer Verminderung der Auflösung bedingt durch die Zeitunschärfe bei der Umwandlung der Analytationen in Fragmentationen, sekundäre Ionen und Elektronen.

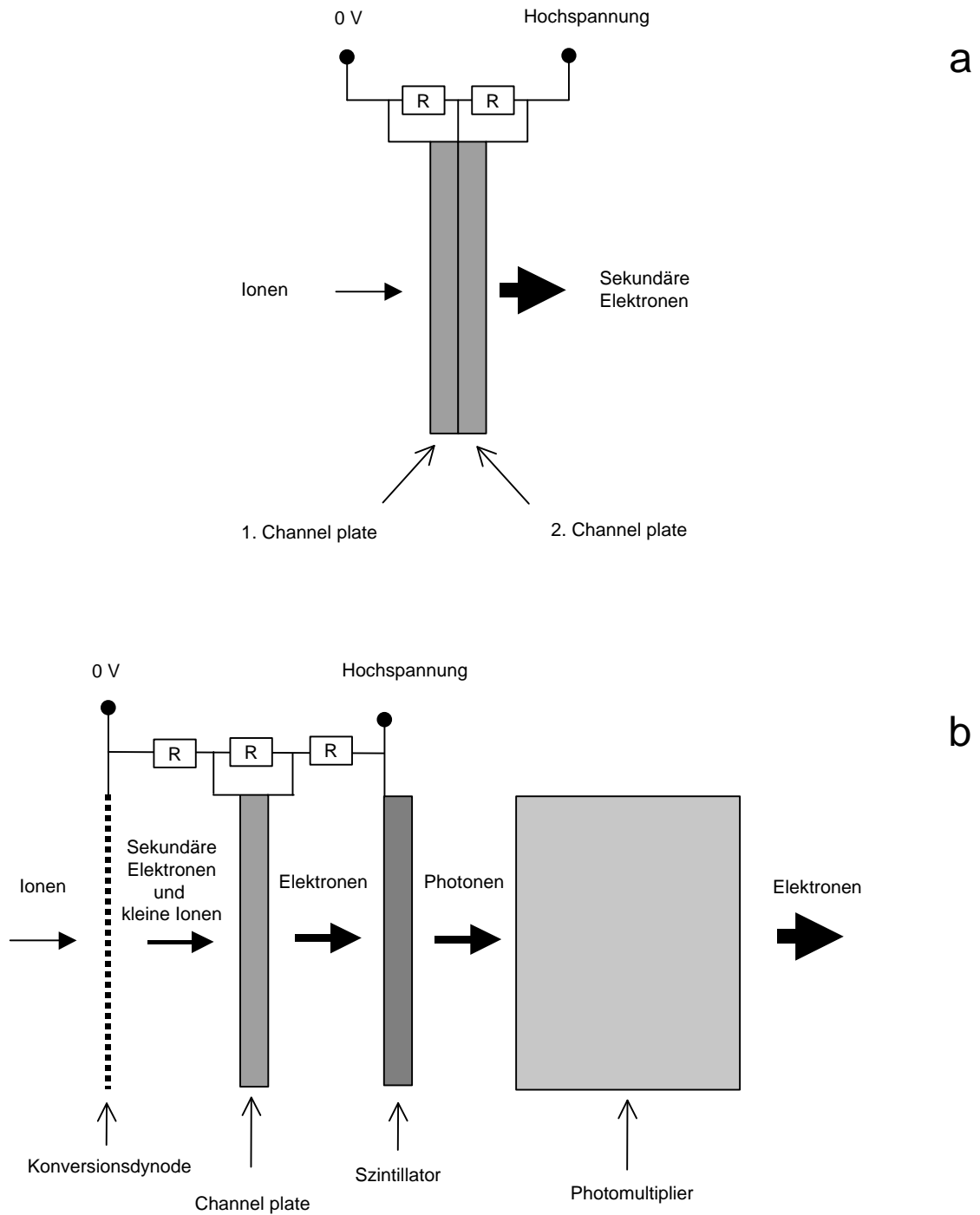


Abbildung 3: Schema der angewendeten Detektoren. a) dual-MCP-Detektor;
 b) HIMASTM-Detektor

II.3. Post-Source Decay

II.3.1 Das Prinzip des „Post-Source Decay’s“

MALDI ermöglicht einen sehr schonenden Desorptionsprozeß (s. Einleitung), so daß Analyte mit hohem Molekulargewicht (bis einige Hunderttausend Da) als intakte Ionen desorbiert werden können. Auf diese Weise wird in den meisten Fällen eine prompte Fragmentierung, d.h. ein schon in der Ionenquelle stattfindender Zerfall, vermieden. Dagegen unterliegt ein Teil der desorbierten Analytionen einem metastabilen Zerfall, der erst nach Verlassen der Beschleunigungszone stattfindet. Dieser metastabile Zerfall wurde 1991 erstmals in einem MALDI-TOF-Massenspektrometer von *Kaufmann et al.* an Peptiden untersucht^{36,37,38} und als „Post-Source Decay“ (PSD) bezeichnet.

Die zum PSD benötigte Aktivierungsenergie stammt aus den Zusammenstößen der Analytmoleküle entweder mit Matrixmolekülen während des Desorptions-/Ionisationsprozesses (in der Ionenquelle des Massenspektrometers) bei der „Plume Expansion“ (hoher lokaler Druck) sowie bei der Beschleunigung. Aktivierung erfolgt ebenfalls durch Stöße mit Restgasmolekülen, die trotz des hohen Vakuums noch im Flugrohr des Massenspektrometers vorhanden sind.³⁹ Diese zwei Ereignisse werden als „in-source“- bzw. „in-flight“-Aktivierung bezeichnet. Bei einem typischen Restgasdruck von ca. 8×10^{-7} mbar, gemessen in der Driftstrecke, trägt allerdings die „in-flight“-Aktivierung kaum zum PSD bei.⁴⁰ Dieser Einfluß kann aber stark erhöht werden, indem ein Gas nach der Beschleunigungszone eingelassen wird. Dieser stoßinduzierte Zerfall wird dann „Collision Induced Decay“ (CID) oder „Collisionally Activated Dissociation“ (CAD) genannt. Diese alternative Aktivierungsmethode wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht angewendet. An dieser Stelle soll erwähnt werden, daß bei der Messung von Peptiden schon bei „Schwellenlaserleistung“ öfter PSD festgestellt wird,³⁶ während bei der Untersuchung synthetischer Polymere eine starke Erhöhung der Laserleistung, die eine Zunahme der Stöße in der Quelle bewirkt, notwendig ist.

Das aktivierte Mutterion zerfällt auf dem Weg zum Reflektor und spaltet sich in ein geladenes Fragment (dieses Fragment wird weiter als PSD-Fragment bezeichnet) und ein Neutralteilchen auf. Da dieser Zerfall erst auf der Driftstrecke stattfindet, fliegen die Fragmente mit der gleichen Geschwindigkeit wie die des Mutterions weiter. Sie treffen auf den Lineardetektor

zum gleichen Zeitpunkt wie das Mutterion und sind daher im Linearmodus nicht zu beobachten. Dagegen können die PSD-Fragmente im Reflektormodus analysiert werden. In der Tat haben die PSD-Fragmente in der Driftstrecke zwar die gleiche Geschwindigkeit wie die des Mutterions und fliegen somit zum gleichen Zeitpunkt in den Reflektor hinein, allerdings mit einer niedrigeren kinetischen Energie, E_f , die durch Gleichung 3 gegeben ist:

$$E_f = E_M \times \frac{m_f}{M} \quad \text{Gleichung 3}$$

E_f kinetische Energie des PSD-Fragments in der Driftstrecke

E_M kinetische Energie des Mutterions in der Driftstrecke
 $= E_{acc}$; Beschleunigungsenergie

m_f Masse des PSD-Fragments

M Masse des Mutterions

Infolgedessen dringen die Fragmentionen nicht so tief in den Reflektor ein wie die Mutterionen. Sie verlassen den Reflektor früher und treffen am Reflektordetektor früher als das Mutterion auf (s. Abbildung 4).

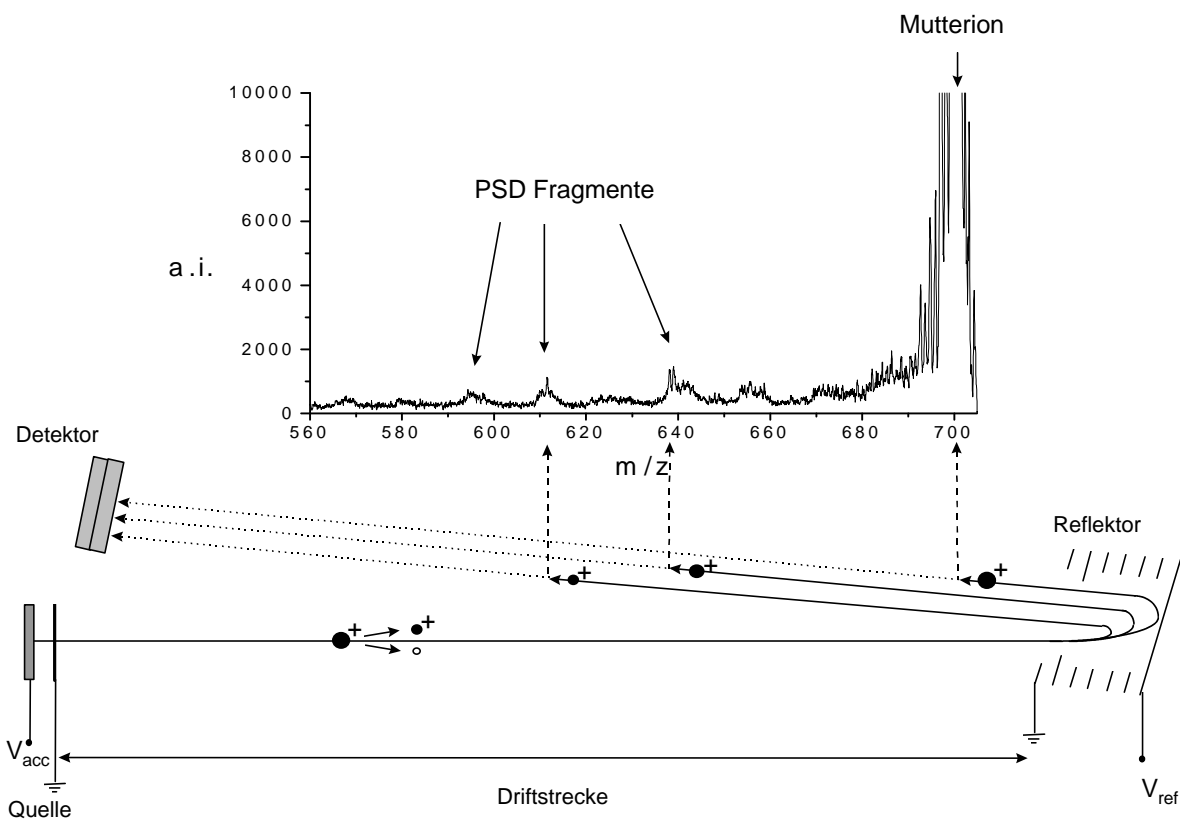


Abbildung 4: Schema des in einem MALDI-TOF-Massenspektrometer ablaufenden PSD-Prozesses

PSD bietet also die Möglichkeit, Strukturinformationen über die Analytmoleküle zu gewinnen. Dieses wurde zuerst 1992 von *Kaufmann et al.*³⁷ anhand von Peptiden gezeigt und wird seitdem in der Biochemie eingesetzt z.B. bei der Peptidsequenzierung. Ziel dieser Arbeit ist es, die PSD-Fragment-Technik bei der Analyse synthetischer Polymere anzuwenden und zu zeigen, daß somit nützliche Informationen über die chemische Struktur erhalten werden können. Dafür wird die von Bruker eingerichtete FAST™- Methode (Fragment Analysis and Structural TOF) benutzt, deren Prinzip im folgenden Kapitel kurz erklärt wird.

II.3.2 Aufnahme eines PSD-Massenspektrums mit der FAST™-Methode

Um PSD-Fragment-Massenspektren auswerten zu können, muß zunächst gewährleistet werden, daß tatsächlich alle Fragmente vom gleichen Mutterion stammen. Dafür werden durch ein elektrisches „Gate“ Ionen mit einer definierten Masse von allen anderen Ionen abgetrennt. Dieses Gate wird im Falle einer reinen, monodispersen Probe, wie z.B. bei reinen Peptiden nicht zwingend benötigt, wird aber unumgänglich im Fall von Mischungen oder bei der Messung synthetischer Polymere, die eine Massenverteilung aufweisen. Das Gate besteht aus einem elektrischen Feld, das auf dem Weg zum Reflektor, orthogonal zur Flugrichtung angelegt wird (s. Abbildung 5). Durch sukzessives An-, Aus- und wieder Anschalten des Gates können Ionen mit niedrigeren sowie höheren Massen abgelenkt werden, während die zu untersuchenden Ionen ungestört durch das Gate weiterfliegen. Der Vorteil dabei ist, daß das Gate auch für PSD-Fragmente der ausgewählten Moleküle durchlässig ist, da die PSD-Fragmente mit gleicher Geschwindigkeit, d.h. zum gleichen Zeitpunkt, das Gate durchfliegen. Im Reflektormodus werden dann sowohl intakte Mutterionen der ausgewählten Masse sowie ihre PSD-Fragmente detektiert (s. Abbildung 4).

Allerdings werden die PSD-Fragmente auf dem Reflektordetektor mit einer falschen Masse detektiert, da ihre kinetische Energie nur einem Teil der Beschleunigungsenergie entspricht (s. Gleichung 3). Im Vergleich zu Ionen der gleichen Masse, die schon in der Quelle vorhanden wären und die volle Beschleunigungsenergie besäßen, erreichen die PSD-Fragmente den Reflektordetektor zu einem späteren Zeitpunkt. Es muß daher eine Kalibrierung der PSD-Fragmente vorgenommen werden. Sie erfolgt durch eine Zuordnung der auftretenden Fragmentmassen zu den tatsächlichen Molekulargewichten dieser Fragmente. Sie wird mit einem Peptid durchgeführt, dessen Fragmente bekannt sind und eindeutig zugeordnet werden können (s. Experimenteller Teil, S. 222).

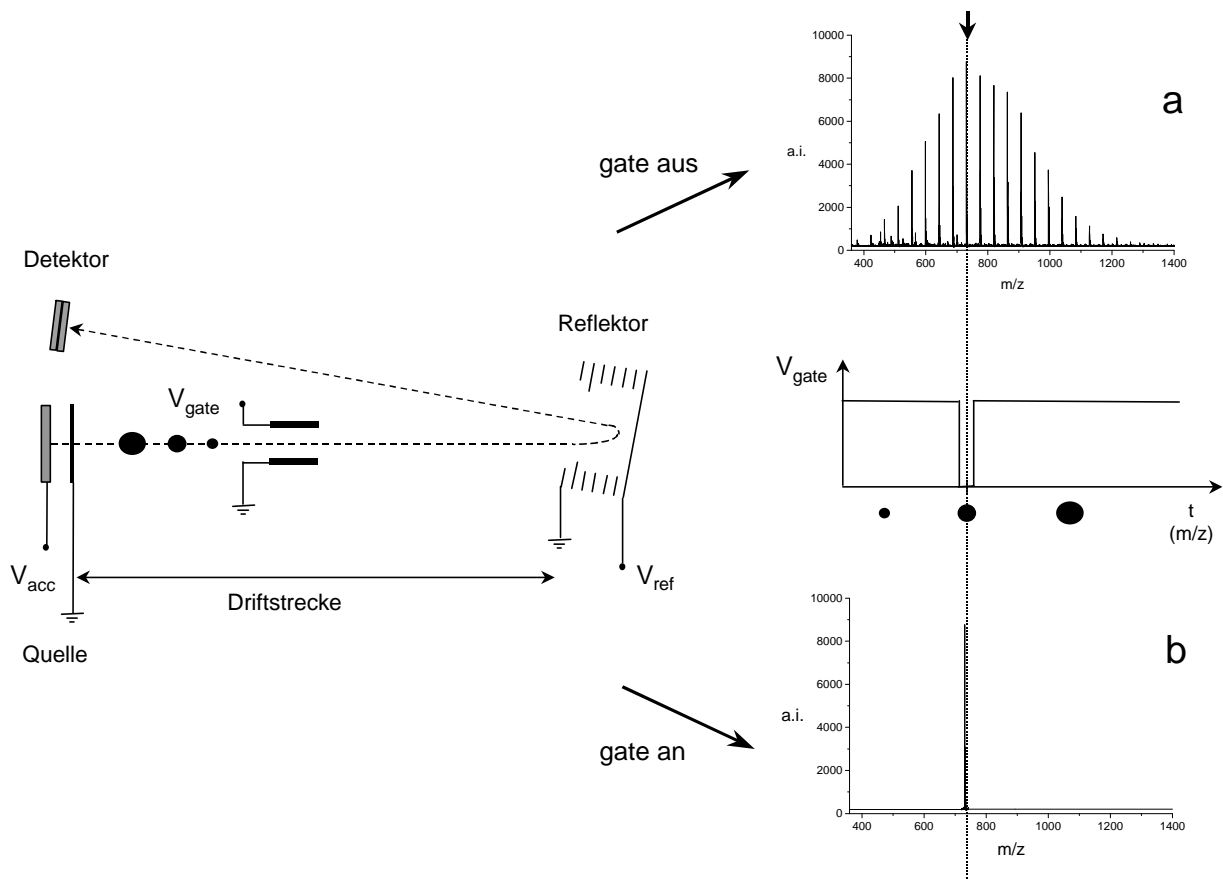


Abbildung 5: Prinzip des elektrischen Gates, um ein definiertes Signal (Mutterion-Signal) zu selektieren. a) MALDI-TOF-Massenspektrum eines Polyethylenglykols; b) MALDI-TOF-Massenspektrum nach Auswahl eines definierten Signals.ⁱ

Eine weitere Schwierigkeit bei der Aufnahme eines PSD-Fragment-Massenspektrums liegt in der Tatsache, daß zunächst nur große Fragmente ($m_f > 0.75 \times M$) detektiert werden können. Dies hat zwei Gründe. Erstens dringen kleinere Fragmente nicht tief genug in den Reflektor ein und bleiben somit in einem Bereich mit geringerem Flugzeitdispersionsvermögen. Sie werden zusammen reflektiert und erzeugen einen einzigen breiten Peak am linken Ende des PSD-Spektrums. Zweitens werden Fragmente mit erheblich kleineren Massen als das Mutterion aufgrund ihrer kleineren kinetischen Energie auf eine falsche Flugbahn reflektiert, so daß sie den Reflektordetektor gar nicht erreichen. Um ein vollständiges Spektrum aller PSD-Fragmente aufzunehmen, werden bei der FAST-Methode in 15 Schritten mit immer kleiner werdenden Reflektorspannungen einzelne Segmentspektren aufgenommen. In jedem dieser

ⁱ Die Spektren wurden mit einer Laserleistung an der Desorptions-/Ionisationsschwelle gemessen und weisen daher noch keine PSD-Fragmente auf.

Segmente entspricht die Reflektorspannung einem anderen Massenbereich der Fragmente, so daß sie auf dem Reflektordetektor differenziert werden können (s. Abbildung 6). Wurden alle Segmente aufgenommen, können sie nach der entsprechenden Fragment-Kalibrierung zusammengefügt werden und ergeben das PSD-Fragment-Massenspektrum des selektierten Signals der zu untersuchenden Substanz.

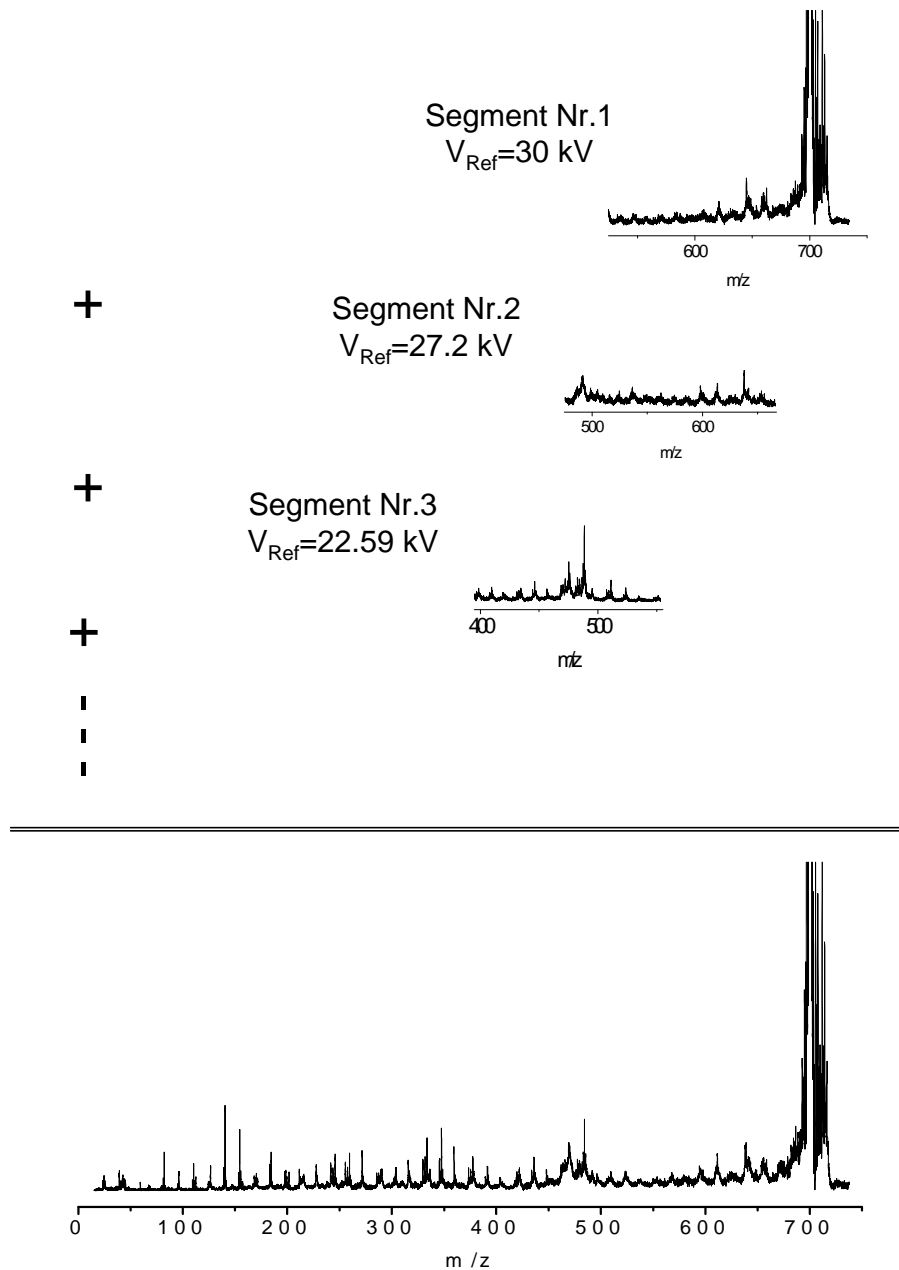


Abbildung 6: Aufbau eines PSD-Massenspektrums durch Zusammenfügen aller Segmentenspektren mit Hilfe der FAST™-Methode

III. Hauptteil

III.1. Charakterisierung von polymeranalogen Endgruppenreaktionen mit MALDI-TOF-MS

Die MALDI-TOF-Massenspektrometrie ist eine äußerst leistungsfähige Methode, um Endgruppenmodifikationen niedermolekularer Polymere nachzuweisen. Die Fülle der Informationen, die aus einem einzigen MALDI-TOF Massenspektrum extrahiert werden können, ist sonst nur unter Einsatz mehrerer verschiedener analytischer Methoden erhältlich. Desweiteren gibt eine solche Untersuchung die Gelegenheit, die unterschiedlichen Meßmethoden des Flugzeitmassenspektrometers ausführlich zu betrachten, um die passenden instrumentellen Parameter auszuwählen, die eine Quantifizierbarkeit der Polymerverteilung gewährleisten. Bevor jedoch die Motivation dieser Untersuchung näher begründet wird, sollen zunächst die zu untersuchenden Proben, deren Synthese und Anwendung vorgestellt werden.

III.1.1 Synthese und Anwendung der zu untersuchenden endgruppenmodifizierten Polyethylenglykole

Die endgruppenmodifizierten Polymere wurden von Astrid Lehmann (A.K. Prof. W. Goedel, *MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung*, Berlin), die sich im Rahmen ihrer Doktorarbeit mit Polymeren oberflächenmodifizierten Membranen (Polymerdekorierten Membranen) beschäftigt, synthetisiert. Zur Untersuchung des Einflusses eines in einer Lipidmembran verankerten Polymers auf das Membranverhalten, wurden wasserlösliche Polymere mit einer hydrophoben Endgruppe hergestellt.⁴¹ Als wasserlösliche Polymere wurde Polyethylenglykol (im Folgenden mit PEG abgekürzt) gewählt. Die hydrophobe Endgruppe hat die Funktion einer Ankergruppe, die zur Anknüpfung an die Lipidmembran dient. Die Oberflächeneigenschaften der Membran werden durch die Dichte des an der Membran angeknüpften Polymers geändert. Dadurch kann z.B. die biologische Erkennung modifiziert werden: polymerdekorierte Vesikel werden „unsichtbar“ gegenüber dem Immunsystem und ihre Verweilzeit im lebenden Organismus kann verlängert werden. Das hydrophile Polymer ist durch eine hydrolysierbare Bindung an die Ankergruppe gebunden, damit es von der Membranoberfläche durch Änderung des pH-Wertes *in situ* abgekoppelt werden kann.⁴² Die Synthesen der zwei Zielpolymere sind in Abbildung 7 und Abbildung 8 schematisiert. Für

Polymer **3** wurde Cholesterin als Ankergruppe gewählt, da bekannt ist, daß es sich in Lipidmembranen einlagert.^{43,44} Das Polymer **3** wurde aus der Reaktion von Mono-methoxy-polyethylenglykol **1** mit Cholesteryl-chlorformiat **2** erhalten und enthält als hydrolysierbare Bindung eine Carbonatbindung.

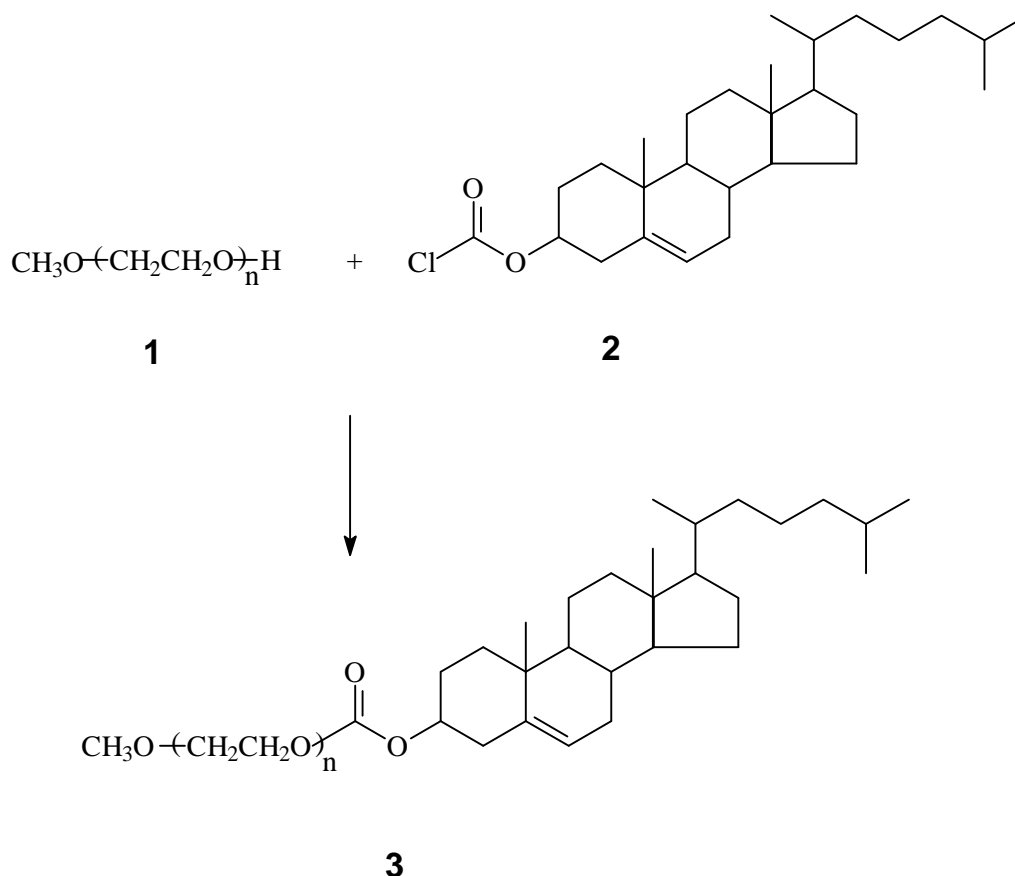


Abbildung 7: Endgruppenmodifikation des PEGs I

Für das Polymer **8** (s. Abbildung 8) wurde Fluorescein zwischen die Polyethylenglykol-Kette und die Cholesteryl-Ankergruppe eingeführt, das als fluoreszierende Sonde wirkt und die Bestimmung der eingelagerten Polymerkonzentration in der Membran durch Fluoreszenzmikroskopie ermöglicht. Um zum Zielpolymer **8** zu gelangen, erfolgte zunächst die Reaktion von Mono-methoxy-polyethylenglykolamin **4** mit dem Fluorescein-isothiocyanat **5** und anschließend die Reaktion des Zwischenproduktes **6** mit dem Cholesteryl-chlorformiat **7**. Auch hier ist die hydrolyseinstabile Bindung, die jetzt zwischen dem Fluorescein und dem Cholesteryl liegt, eine Carbonatbindung.

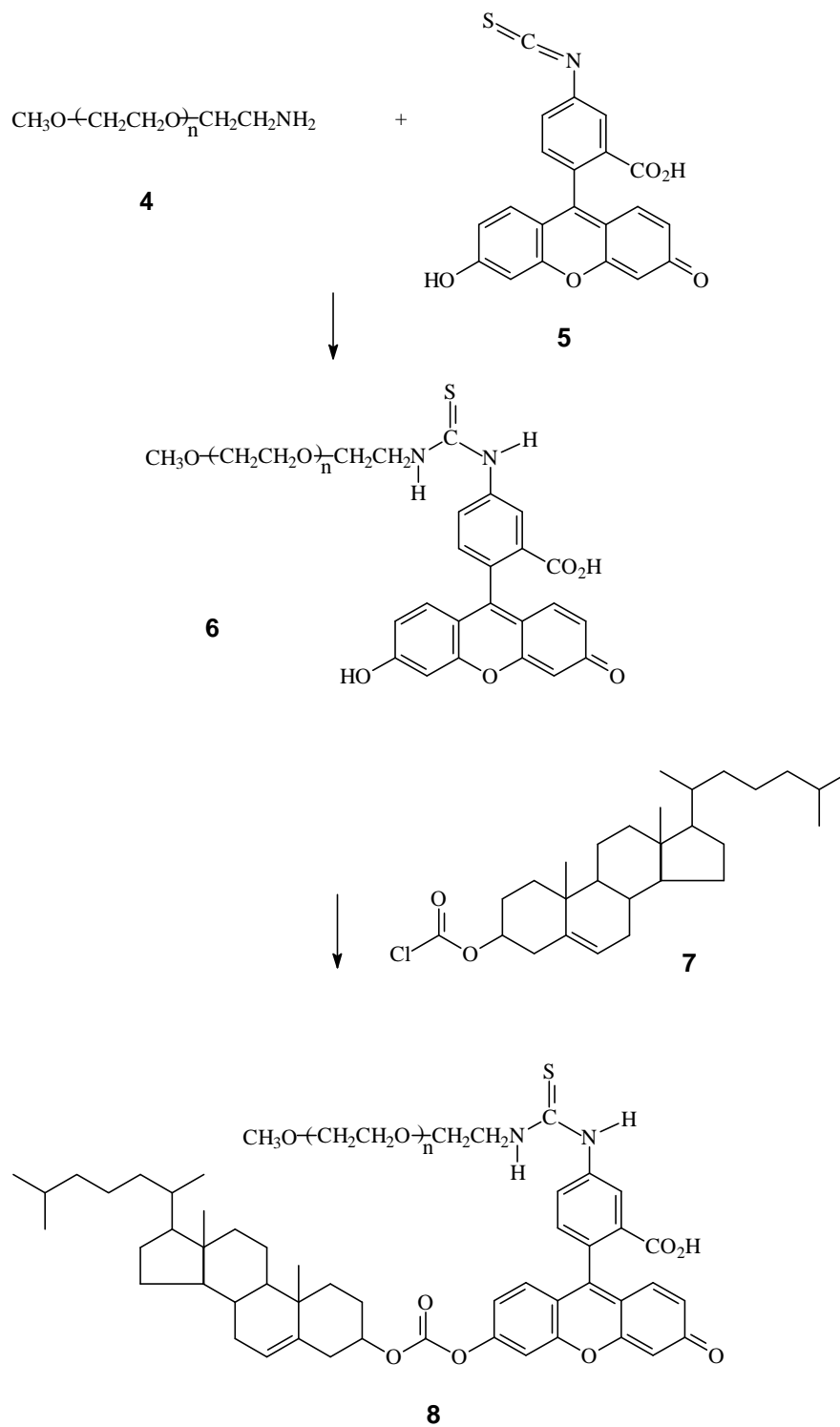


Abbildung 8: Endgruppenmodifikation des PEGs 4

Die Produkte **3** und **8** wurden von deren Vorläufern **1** bzw. **4** mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) getrennt. Dabei wurde die Tatsache genutzt, daß die hydrophobe Modifizierung des Polyethylenglykols zu einer Veränderung des Adsorptionsverhaltens des Polymers auf der Säule führt, die unterschiedliche Elutionszeiten bewirkt.

III.1.2 Vorteile der Charakterisierung der endgruppenmodifizierten Polyethylenglykole mit der MALDI-TOF-MS

Dank der relativ geringen Molekulargewichte der zu untersuchenden Proben (<10000 g/mol) können die Endgruppenmodifikationen ebenfalls mittels NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden. In der Tat besitzen die Endgruppensignale eine noch ausreichende Intensität neben den intensiven Monomersignalen.⁴¹ Außerdem gewährleisteten die zuvor durchgeführten HPLC-Trennungen, daß die im NMR-Spektrometer detektierten Endgruppen tatsächlich zu Polymerketten verknüpft sind. Ungünstig ist dagegen, daß die „großen“ Substituenten (Cholesteryl bzw. Cholesteryl-Fluorescein-Gruppe) sehr viele Signale im NMR-Spektrum verursachen, die eine detaillierte Zuordnung erschweren. Einige Signale können aber trotzdem eindeutig zugeordnet werden, deren Intensitäten die Bestimmung einer mittleren Zahl der Monomere pro Endgruppe erlauben. Allerdings liefert die NMR-Spektroskopie nur einen Mittelwert und keine Information über die Veränderung der Massenverteilung. Die Verschiebung der Massenverteilung wäre ein zusätzlicher Nachweis der Endgruppenmodifikation. Die GPC ist die wichtigste konventionelle Methode der Polymeranalytik, die in der Lage ist, die Polymerverteilung zu beschreiben. Sie beruht auf der Trennung von Polymeren aufgrund ihres hydrodynamischen Volumens in Lösung, das vom Molekulargewicht abhängig ist. Leider ist die GPC nur eine Relativmethode und benötigt strukturanaloge Kalibriersubstanzen. Zur Ermittlung der Molmassenverteilung eines Polymers wird eine Kalibrierkurve erstellt, die mit Daten eines Polymerstandards (in unserem Fall PEG-Standards) gewonnen wird. Aufgrund unterschiedlicher Einflüsse der Endgruppen auf das hydrodynamische Volumen wird aber bei dieser Endgruppenmodifikation, die einen besonders großen und starren Substituenten „involviert“, die Beziehung zwischen dem hydrodynamischen Volumen des Polymerknäuls und der Molmasse verändert. Dadurch werden die mittels der GPC ermittelten Molekulargewichte des endgruppenmodifizierten

Polymers verfälscht.^{45,46} Auf Grund dieses Fehlers der GPC wurde die MALDI-TOF-Massenspektrometrie eingesetzt.

In MALDI-TOF-Massenspektren sind die Signale von „niedermolekularen“ Polymeren ($<10^4$ g/mol) einzeln aufgelöst. Die hergestellten PEG's liegen in diesem günstigen Molmassenbereich, wodurch eine direkte Überprüfung der Endgruppenmodifikation ermöglicht wird. In der Tat kann für jede Polymerkettenlänge die aus den Massenspektren berechnete Masse der modifizierten Endgruppe mit der erwarteten Masse verglichen werden. Weiterhin sollten die Endgruppenmodifikationen durch die Veränderung der Molekulargewichtsmittelwerte überprüft werden können. Dies erfordert aber eine zuverlässige Quantifizierung der Polymerverteilung mit der MALDI-Methode. Aus früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe und aus der Literatur ist bekannt, daß die MALDI-TOF-MS für engverteilte Polymere (Polydispersität ca. 1,01-1,06) mit einheitlichen Endgruppen richtige M_n - und M_w -Werte liefert.^{20,21} Für die vorhandenen engverteilten PEG's (Polydispersität ca. 1,01) können also die mit MALDI-TOF-MS ermittelten Molekulargewichtsmittelwerte als zuverlässig betrachtet werden. Die theoretisch zu erwartenden M_n - und M_w -Werte des gereinigten Zielpolymers werden berechnet und mit den Molekulargewichtsmittelwerten aus der Spektrenauswertung verglichen. Die entwickelte Methode für die Untersuchung der Änderung der Molekulargewichtsverteilung durch die Endgruppenmodifikation des PEGs mittels MALDI-TOF-MS ist prinzipiell auf jedes Polymersystem übertragbar, sofern die modifizierte Endgruppe ausreichend „schwer“ ist, um die Molekulargewichtsverteilung des Polymers signifikant d.h. außerhalb statistischer Meßfehler zu verschieben.

Endgruppenmodifikationen von PEG wurden bereits von *Li et al.*⁴⁶ mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie untersucht. Die aus dem Massenspektren ermittelten M_n - und M_w -Werte erreichten aber nur 72% der theoretisch zu erwartenden Werte. Diese Tendenz wurde von dieser Arbeitsgruppe mit anderen endgruppenmodifizierten PEG's auch beobachtet, und als Erklärung wurde eine Verkürzung der Polymerketten als typisches Verhalten des PEGs während der Endgruppenmodifikation postuliert. Es soll nun anhand der von A. Lehmann zu Verfügung gestellten endgruppenmodifizierten Polyethylenglykole überprüft werden, ob dieses in der Literatur beschriebene Phänomen bestätigt werden kann. Zunächst müssen aber die unterschiedlichen Meßanordnungen des Massenspektrometers hinsichtlich der Quantifizierung einer Polymerverteilung ausführlich betrachtet werden. Erst dann ist eine

zuverlässige Einstellung des Massenspektrometers möglich, um die Molmassenverteilung der in der Ionenquelle entstandenen Polymerionen auf dem Massenspektrum zuverlässig abzubilden.

III.1.3 Einstellung des Massenspektrometers zur wirklichkeitstreuen Abbildung der Molmassenverteilung eines Polymers

Bei einer im Linearmodus mit einem „Dual-Microchannel-Plate-Detektor“ ausgeführten Messung kann die auf dem Massenspektrum dargestellte Molekulargewichtsverteilung verfälscht werden. In der Tat neigen dual-MCP-Detektoren zu einer schnellen Sättigung. Die Matrix-Ionen sowie die Polymerionen mit den niedrigeren Massen der Verteilung bilden einen sehr intensiven Ionenstrom, der auf den Detektor auftritt. Dies kann eine Sättigung des dual-MCP-Detektors und damit eine entsprechende Diskriminierung der etwas später am Detektor ankommenden Ionen am Hochmassenende einer Polymerverteilung verursachen. Mit dem Einschalten des Deflektors werden Ionen mit niedrigeren Massen nach der Beschleunigungsphase von der ionenoptischen Achse des Massenspektrometers abgelenkt, so daß sie den Detektor nicht erreichen können. Damit wird aber oft die durch die Matrix-Signale bedingte Detektorsättigung nicht vollständig vermieden: ein großer Teil der Matrix-Ionen wird nach der Beschleunigung und vor dem Deflektor in geladene und neutrale Bruchstücke zerfallen. Die geladenen Fragmente werden durch den Deflektor abgelenkt im Gegensatz zu den neutralen Bruchstücken, die nach der gleichen Flugzeit wie das Mutterion den Linear-Detektor erreichen.

Beim Einschalten des Reflektors werden aber diese störenden neutralen Bruchstücke vom Reflektor nicht umgelenkt und erreichen den Reflektor-Detektor nicht. Im Reflektionsmodus mit Deflektion kann also die durch die Matrix-Ionen bedingte Detektorsättigung vermieden werden. Wenn die Polydispersität der Polymerprobe ausreichend niedrig ist, bleibt der Ionenstrom der am Anfang der Polymerverteilung liegenden Ionen niedrig genug, so daß keine Sättigung des dual-MCP-Detektors verursacht wird. In diesem Fall kann also die Molekulargewichtsverteilung der Polymerionen, die vom Reflektor umgelenkt werden, zuverlässig detektiert werden. Im Reflektionsmodus werden aber die vor dem Reflektor zerfallenen Polymerionen nicht nachgewiesen. Infolgedessen wird die Molekulargewichtsverteilung eines Polymers, das einen metastabilen Zerfall vor dem

Reflektor erfährt, verfälscht, wenn der Anteil des metastabilen Zerfalls nicht für jede Polymerkettenlänge gleich ist. Aus diesen Gründen kann das Massenspektrum eines Polymers, das im Reflektionsmodus gemessen wurde, eine falsche Molekulargewichtsverteilung widerspiegeln. Damit Molekulargewichtsverteilungen engverteilter Polymere mit der MALDI-TOF-MS zuverlässig abgebildet werden können, muß also das Massenspektrometer im Linearmodus mit einem übersättigungsunempfindlichen Detektor betrieben werden. Solch einen speziellen Detektor stellt z.B. der sogenannte HIMASTM-Detektor dar, der im Kapitel II.2.4 (s. S. 12) näher beschrieben wurde.

Wie ändern sich nun die aufgenommenen Molekulargewichtsverteilungen der in diesem Kapitel betrachteten Polymerproben bei verschiedenen Einstellungsmöglichkeiten des Massenspektrometers? Abbildung 9 zeigt die Massenspektren des kommerziell erhältlichen PEGs **4** unter drei verschiedenen Meßanordnungen des Massenspektrometers: im Linearmodus mit einem dual-MCP-Detektor, im Reflektionsmodus mit einem dual-MCP-Detektor und im Linearmodus mit dem HIMASTM-Detektor.

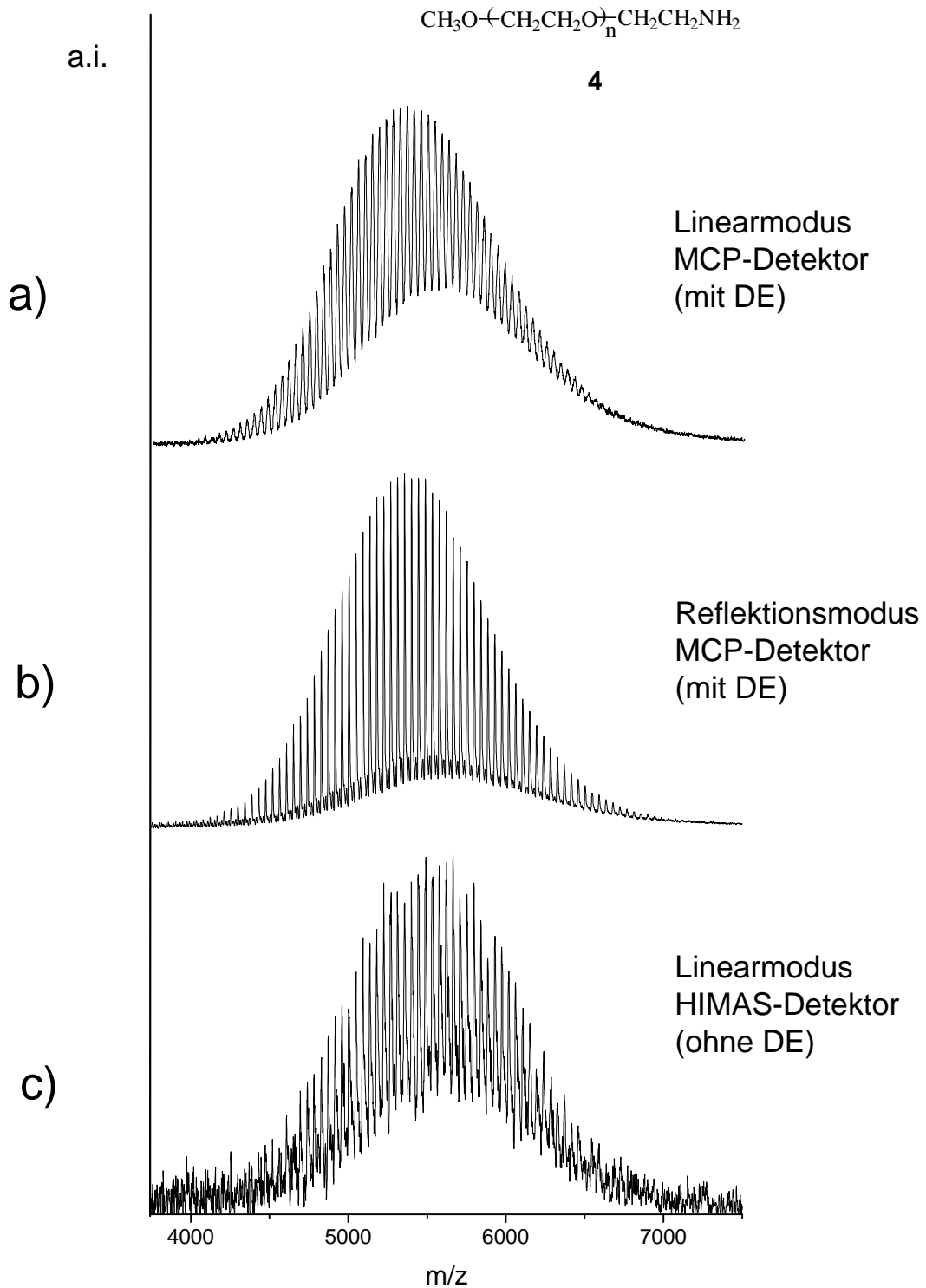


Abbildung 9: MALDI-TOF-Massenspektren von Polyethylenglykol **4** aufgenommen im a) Linearmodus mit einem MCP-Detektorⁱ, b) Reflektionsmodus mit einem MCP-Detektorⁱ und c) Linearmodus mit einem HIMAS-Detektor.

ⁱ Die gute Auflösung ist auf die Verwendung der „Delayed-extraction“-Technik zurückzuführen

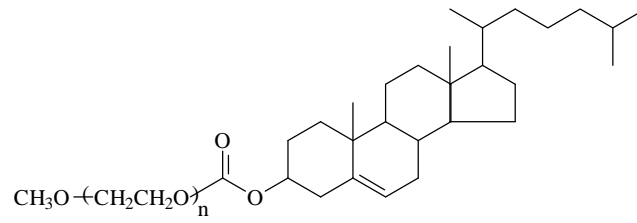
Die Massenspektren in Abbildung 9a und Abbildung 9b wurden mit „Delayed Extraction“ (DE) gemessen (s. Kapitel II.2.3, S. 11) und zeigen daher eine hohe Auflösung. Dadurch können die absoluten Massen jeder einzelnen Kettenlänge sehr genau bestimmt werden. Dagegen zeigt das Massenspektrum in Abbildung 9c breitere Signale. Sie sind einerseits auf die Anwendung der „normalen“ Ionenquelle (d.h. ohne „delayed extraction“) und andererseits auf den Einsatz des HIMAS-Detektors zurückzuführen (s. Kapitel II.2.4, S. 12). In Tabelle 1 sind die aus den Massenspektren ermittelten Molekulargewichtsmittelwerte des PEGs **4** für jede Meßanordnung zusammengestellt.

*Tabelle 1: Ermittelte Molekulargewichtsmittelwerte des PEGs **4** aus den in Abbildung 9 dargestellten MALDI-TOF-Massenspektren*

Meßanordnung	MALDI-TOF-Massenspektrum	M_n	M_w
Linear - dual-MCP Detektor	Abbildung 9a	5477	5564
Reflektion - dual-MCP Detektor	Abbildung 9b	5508	5573
Linear - HIMAS-Detektor	Abbildung 9c	5566	5624

Bei der Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung macht sich der zuvor beschriebene Unterschied zwischen den drei Meßanordnungen im Falle von Probe **4** kaum bemerkbar. Der geringe Unterschied zwischen den aus den Massenspektren a und c (in Abbildung 9) ermittelten Molekulargewichtsmittelwerten zeigt, daß der von den Matrix-Ionen ausgelöste Ionenstrom nicht intensiv genug ist, um eine Übersättigung des dual-MCP-Detektors zu verursachen. Eine Erklärung dafür ist die relativ niedrige benötigte Laserleistung, um das PEG **4** zu desorbieren und zu ionisieren, die wenig über der Ionisierungsschwelle der für diese Messungen benutzten Matrix 1,8,9-Trihydroxyanthracen (Dithranol) liegt. Die Ähnlichkeit der Molekulargewichtsverteilungen zwischen den im Reflektions- und den im Linearmodus aufgenommenen Massenspektren (Abbildung 9 b bzw. a/c) deutet darauf hin, daß bei der untersuchten Probe **4** kein metastabiler Zerfall der Polymerionen vor dem Reflektor stattgefunden hat oder, wenn dieses doch geschehen ist, daß der metastabile Zerfall kettenlängenunabhängig ist. Die Untersuchung der weiteren kommerziell erhältlichen Probe PEG **1** zeigt ebenfalls ein ähnliches Verhalten gegenüber den drei Meßanordnungen.

Dagegen zeigen die MALDI-TOF Massenspektren der endgruppenmodifizierten PEGs **3** und **8** eine wesentliche Abhängigkeit gegenüber der Linear- und Reflektormessanordnung. Abbildung 10 zeigt zum Beispiel die im Linear- und Reflektionsmodus aufgenommenen MALDI-TOF Massenspektren des PEGs **3**. Die aufgenommene Molekulargewichtsverteilung der Probe hat sich zwischen den zwei Messanordnungen stark geändert. Das im Linearmodus aufgenommene Massenspektrum zeigt eine einfache Molekulargewichtsverteilung des PEGs **3** (s. Abbildung 10a), während das im Reflektionsmodus aufgenommene Massenspektrum zwei ineinanderliegende Verteilungen zeigt (s. Abbildung 10b). Mit Hilfe der absoluten Massen der Polymerketten können die zwei Verteilungen zugeordnet werden. Die im höheren Massenbereich liegende Verteilung könnte auf PEG-Ketten **3** ohne „Fluorescein-Cholesterin“-Gruppe zurückzuführen sein. Dies gilt es jedoch im folgenden zu klären. Außerdem weist die Abhängigkeit des Intensitätsverhältnisses dieser zwei Verteilungen von der Laserleistung (s. Abbildung 11) darauf hin, daß die unerwartete Verteilung auf eine Fragmentierung des PEGs **3** zurückzuführen ist.



3

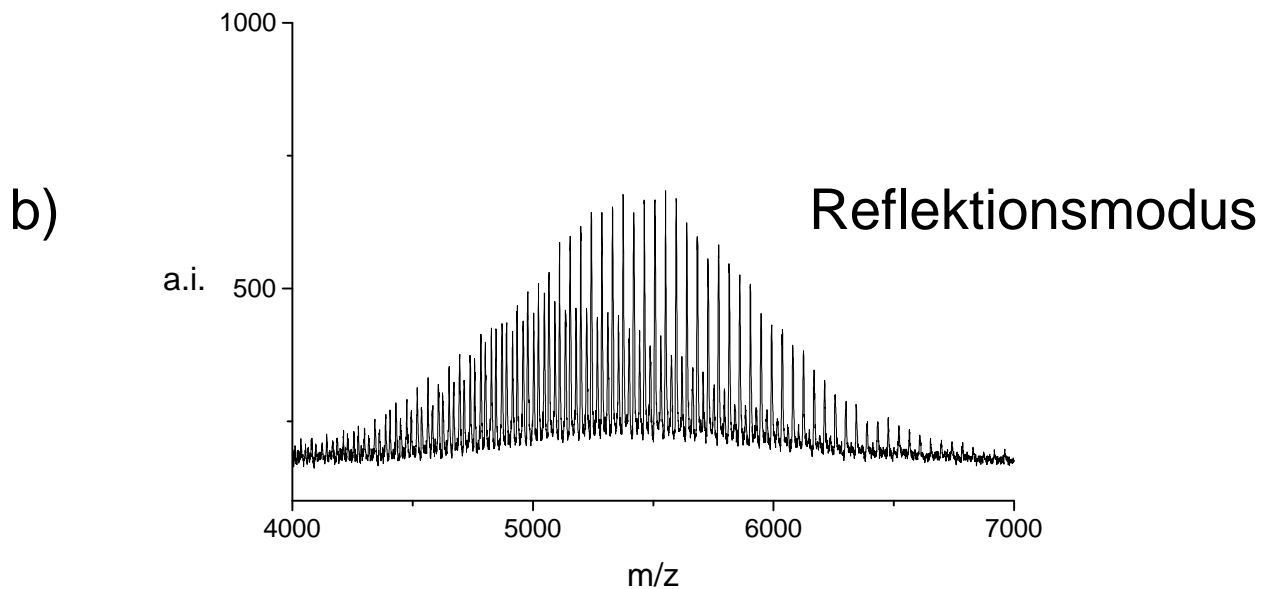
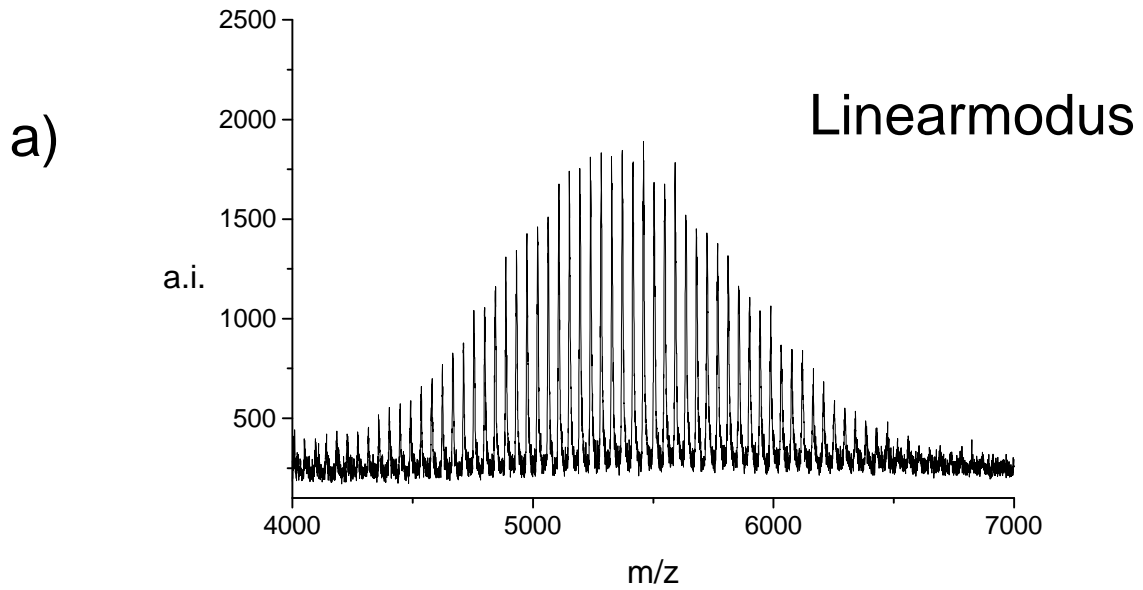


Abbildung 10: MALDI-TOF-Massenspektren von PEG 3 aufgenommen im a) Linearmodus und b) Reflektionsmodus. Beide Massenspektren wurden mit der „Delayed-Extraction“-Technik und mittels eines MCP-Detektors aufgenommen.

Da diese Verteilung im Linearmodus aber nicht nachgewiesen wurde, handelt es sich höchstwahrscheinlich um einen metastabilen Zerfall, der nach der Beschleunigung und vor dem Reflektor stattgefunden hat, d.h. ein sogenannter „Post-Source Decay“ (s. Kapitel II.3, S. 15). Um diese Vermutung zu überprüfen, kann mittels des elektronischen Gates (s. Kapitel II.3.2, S. 17) ein definierter Peak der Massenverteilung des erwünschten PEGs **3** selektiert werden. Abbildung 12b zeigt, daß mit den selektierten Polymerketten (m/z 5241 d.h. Polymerisationsgrad $n=108$) ebenfalls PSD-Fragmente („scheinbares“ m/z 4870) auf dem Reflektordetektor detektiert werden. Diese PSD-Fragmentierung findet für jeden Polymerisationsgrad des PEGs **3** statt, so daß die bisher nicht eindeutig zuzuordnende Verteilung daraus resultiert. Wie bereits im Kapitel II.3.2 (s. S. 17) erklärt wurde, werden aber die PSD-Fragmente mit einer falschen Masse detektiert und benötigen eine besondere Kalibrierung. Abbildung 12c zeigt zum Beispiel, daß das PSD-Fragment, das zu einer „scheinbaren“ Masse von 4870 g/mol zunächst zugeordnet wurde, eigentlich eine Masse von 4828 g/mol besitzt. Dies entspricht der Masse einer Polymerkette des PEGs **3** mit 108 Wiederholungseinheiten nach dem Verlust der „Fluorescein-Cholesterin“-Gruppe.

Alle diese Betrachtungen zeigen, daß für eine zuverlässige und sichere Charakterisierung der Probe besondere Aufmerksamkeit dem Betriebsmodus des Flugzeitmassenspektrometers sowie dem Detektortyp geschenkt werden muß. Die im folgenden betrachteten Massenspektren wurden alle im Linearmodus mit dem HIMAS-Detektor aufgenommen, so daß zuverlässige Molekulargewichtsverteilungen abgebildet und Rückschlüsse auf die Endgruppenmodifikation anhand der Molekulargewichts-mittelwerte gezogen werden können. Bevor die Ergebnisse der MALDI-TOF Messungen vorgestellt und interpretiert werden, sollen zunächst im folgenden Abschnitt die theoretischen Molmassenmittelwerte M_n und M_w berechnet werden, die nach einer Endgruppenmodifikation zu erwarten sind.

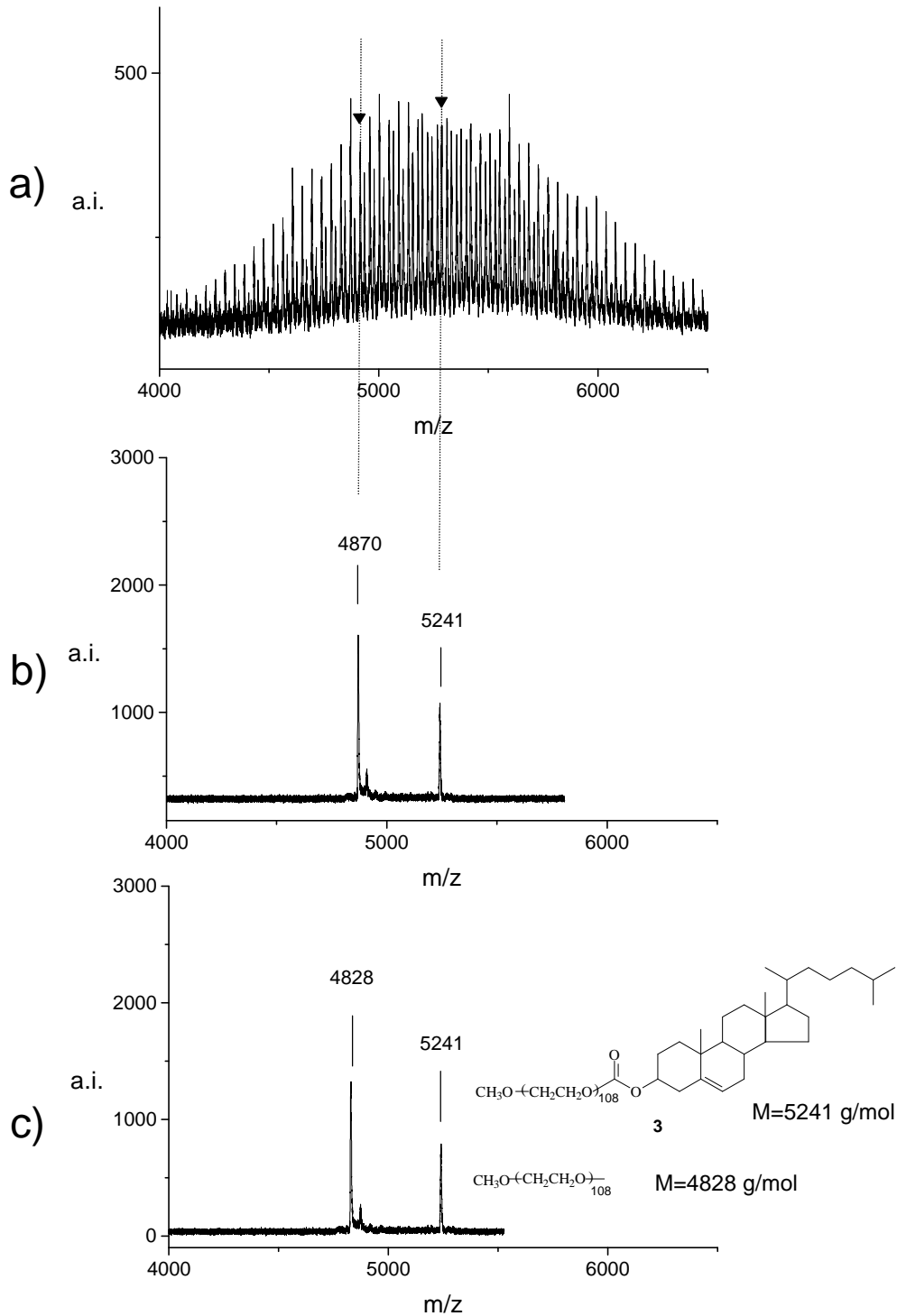


Abbildung 12: Selektierung eines Peaks der Massenverteilung des PEGs 3 zum Nachweis der nicht unterdrückbaren PSD-Fragmentierung. a) MALDI-TOF-Massenspektrum des PEGs 3 gemessen im Reflektormodus; b) Massenspektrum nach Selektierung des Peaks bei m/z 5241 - ohne Korrektur der Masse des PSD-Fragments; c) Massenspektrum nach Selektierung des Peaks bei m/z 5241 - mit Kalibrierung des PSD-Fragments

III.1.4 Die theoretisch zu erwartenden Molekulargewichtsmittelwerte eines endgruppenmodifizierten Polymers

In unserem Fall muß die durch eine Endgruppenmodifikation ausgelöste Änderung der M_n - und M_w -Werte eines Polymers für nur eine modifizierbare Endgruppe berechnet werden. Es ist zu betonen, daß das Massenspektrum des erhaltenen Polymers erst nach Reinigung des Reaktionsprodukts aufgenommen wurde. Die detektierte Molmassenverteilung stellt also nicht eine Mischung aus dem erhaltenen Polymer und dem nicht umgewandelten Ausgangspolymer dar, sondern nur das reine Produkt der Endgruppenmodifikation. Die zu erwartenden Molekulargewichtsmittelwerte des Reaktionsprodukts entsprechen also den Molekulargewichtsmittelwerten des reinen Zielpolymers. Die Molmassendifferenz zwischen den Ziel- und Ausgangsmolekülen der Sorte i (d.h. mit i Grundbausteinen) wird als ΔM definiert und entspricht der Differenz zwischen der Molmasse der modifizierten Endgruppe der Zielmoleküle und der zu modifizierenden Endgruppe der Ausgangsmoleküle. Nach der Endgruppenderivatisierung wird jedes Signal des Zielpolymerspektrums von ΔM g/mol in Vergleich zu dem betreffenden Signal des Ausgangspolymerspektrums verschoben. Für die folgenden Rechnungen wird angenommen, daß alle Polymerketten mit derselben Wahrscheinlichkeit reagieren. Dies kann leicht nachgeprüft werden, indem die Form der Hüllkurve der Polymerverteilung sich nach Ablauf der Reaktion nicht ändern sollte und die M_p -Werte sich um ΔM g/mol verschieben sollten. Unter M_p -Wert wird hier die Masse des Peaks bezeichnet, die dem wahrscheinlichsten und damit dem intensivsten Punkt der Molekulargewichtsverteilung entspricht. Mit der oben formulierten Annahme lassen sich die Molmassenmittelwerte \overline{M}_{nP} und \overline{M}_{wP} (P steht hier für *Produkt*) des Zielpolymers als Funktion der Molmassenmittelwerte \overline{M}_{nE} und \overline{M}_{wE} (E steht hier für *Edukt*) des Ausgangspolymers berechnen (mathematischer Beweis s. Anhang 1, S. 234) :

$$\overline{M}_{nP} = \overline{M}_{nE} + \Delta M \quad \text{Gleichung 4}$$

$$\overline{M}_{wP} = \frac{\overline{M}_{wE} + \Delta M}{1 + \frac{\Delta M}{\overline{M}_{nE}}} + \Delta M \quad \text{Gleichung 5}$$

Es ist zu betonen, daß die mit MALDI-TOF-MS zu untersuchenden Polymere sehr oft als kationisierte Moleküle gemessen werden und daher die ausgewerteten M_n - und M_w -Werte den Molmassenmittelwerten des Addukts mit dem Kation entsprechen. Theoretisch sollten die ausgewerteten M_n - und M_w -Werte nach diesen Rechnungen korrigiert werden (ΔM würde in diesem Fall die Masse des Kations darstellen). Die angewendeten Kationen wie z.B. Li^+ , Na^+ , K^+ haben aber in der Praxis eine vernachlässigbare Masse im Vergleich zum Auswertungsfehler und werden daher nicht berücksichtigt.

III.1.5 Darstellung und Auswertung der MALDI-TOF-Massenspektren

Die Proben der Edukte und Produkte wurden auf gleiche Weise präpariert und unter gleichen Bedingungen analysiert, um ein Vergleich zwischen den Spektren zu ermöglichen. Bei den abgebildeten Messungen wurde Dithranol als Matrix verwendet und Kaliumtrifluoracetat als Kationisierungsreagenz zugesetzt. Abbildung 13a zeigt das erhaltene Massenspektrum für positive Ionen des PEGs **1**. Bei einer Auflösung von ca. $m/\Delta m=600$ zeigen sich hier Signale jeder einzelnen Kettenlänge. Der Abstand der Signale untereinander beträgt 44 g/mol und gibt das Molekulargewicht der Wiederholungseinheit wieder. Die absolute Masse einer jeden detektierten Kettenlänge setzt sich aus der Masse aller Wiederholungseinheiten und der Endgruppen zusammen. Die Endgruppen des käuflichen PEGs **1** sind bekannt und bestehen aus einer Methoxygruppe und einem Wasserstoffatom. Rechnet man nun die absolute Masse einer Polymerkette nach, so stellt man fest, daß ein Rest von 39 g/mol auftritt. Dieser resultiert aus dem Zusatz von Kalium zur Matrix-Analyt-Mischung, das für die Ionisation (Kationisierung) benötigt wird. Die Masse eines Signals errechnet sich somit aus folgender Formel:

$$M[g / mol] = n \cdot 44,05 + 31,03 + 1,01 + 39,1 \qquad \text{Gleichung 6}$$

n	Anzahl der Wiederholungseinheiten
44,05	Isotopengemitteltes Molekulargewicht der Wiederholungseinheit
31,03	Isotopengemitteltes Molekulargewicht der Methoxygruppe
1,01	Isotopengemitteltes Atomgewicht des Protons
39,1	Isotopengemitteltes Atomgewicht von Kalium

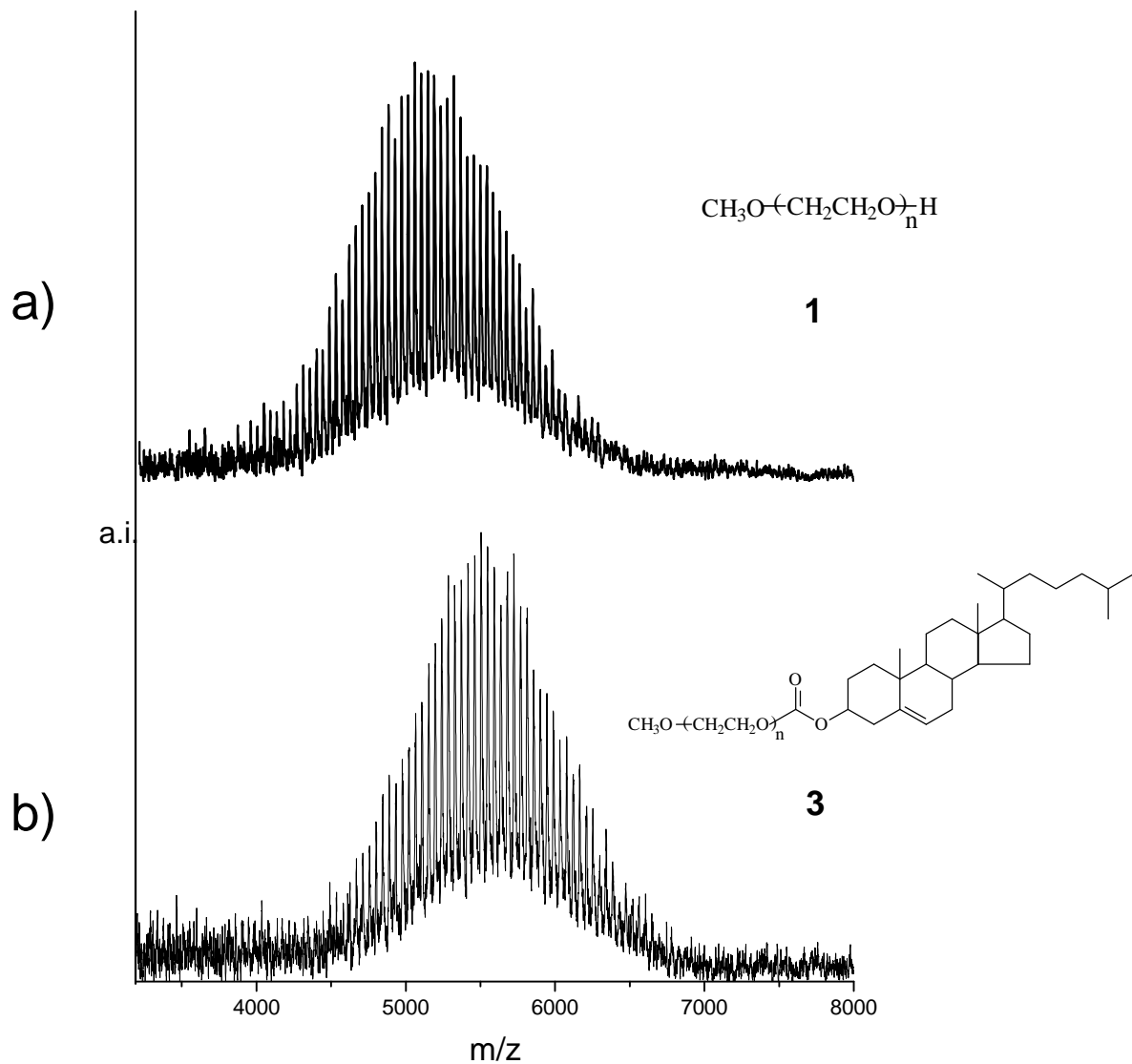


Abbildung 13: MALDI-TOF-Massenspektren von a) PEG 1 und b) PEG 3. Verschiebung um die Masse einer Cholesterin-Einheit

Der aus dem Massenspektrum ermittelte M_p -Wert erreicht 5092,6 g/mol, der nach Gleichung 6 114 Wiederholungseinheiten entspricht. Die damit berechnete theoretische Masse von 5092,8 g/mol stimmt sehr gut mit dem gemessenen Wert überein.

Der Zusatz von Kalium als Kaliumtrifluoracetat zur Matrix-Analyt-Mischung ist zur reproduzierbaren Bildung kationisierter Analytmoleküle notwendig. Wird auf eine Addition von Kalium verzichtet, so wird kein Signal erhalten, oder die zu beobachtenden Signale sind schwach und hängen von den in der Matrix-Analyt-Mischung vorkommenden zufälligen

Verunreinigungen durch Metallspuren ab. Für jedes gemessene PEG wurde zusätzlich ein Massenspektrum der Matrix-Analyt-Mischung aufgenommen, bei denen Natriumsalz statt Kaliumsalz zugesetzt wurde. Zwischen der gemessenen und der theoretisch berechneten Masse einer Polymerkette trat dann eine Differenz von 23 g/mol auf, die der Masse eines Natriumatoms entspricht. Dadurch konnte der Ionisierungsmechanismus der untersuchten PEG's bestätigt werden: beim Zusatz des Kalium- bzw. Natriumsalzes zur Matrix/Analyt-Mischung entspricht ein detektiertes Analytion einem Adduktion, das aus dem zugesetzten Kation und einer intakten Polymerkette gebildet worden ist.

Abbildung 13b zeigt das erhaltene Massenspektrum für positive Ionen des PEGs **3**, das durch Endgruppenmodifikation aus dem PEG **1** gewonnen wurde. Die Masse einer detektierten Kettenlänge ergibt sich somit als :

$$M[g / mol] = n \cdot 44,05 + 31,03 + 413,66 + 39,1 \qquad \text{Gleichung 7}$$

413,66 Isotopengemitteltes Molekulargewicht der „Cholesterylformiat“-Gruppe

Aus dem Massenspektrum wurde für eine PEG-Kette mit 114 Wiederholungseinheiten ein M_p -Wert von 5505,1 g/mol ermittelt. Die mit 114 Wiederholungseinheiten nach Gleichung 7 berechnete theoretische Masse von 5505,5 g/mol stimmt sehr gut mit dem gemessenen Wert überein.

In Tabelle 2 sind die Molekulargewichte, die aus den Massenspektren der PEG's **1** und **3** errechnet wurden, sowie die theoretisch erwarteten Molmassen des PEG's **3** zusammengestellt, die aus den gemessenen Molmassen des PEGs **1** berechnet wurden.

Tabelle 2: Molekulargewichtsmittelwerte der PEG's **1** und **3**

Probe	M_p ^{a)}	n ^{b)}	M_p (ber.) ^{c)}	M_n ^{a)}	M_n (ber.) ^{d)}	M_w ^{a)}	M_w (ber.) ^{e)}
1	5092,6	114	5092,8	5160	-	5226	-
3	5505,1	114	5505,5	5556	5573	5607	5634

^a Aus MALDI-TOF-Massenspektren ermittelte Molmassen. ^b Anzahl der Wiederholungseinheiten berechnet aus dem gemessenen M_p -Wert. ^c Theoretischer Wert berechnet aus n nach Gleichung 6 bzw. Gleichung 7. ^d Theoretischer Wert berechnet aus dem gemessenen M_n -Wert des PEGs **1** nach Gleichung 4. ^e Theoretischer Wert berechnet aus den gemessenen M_n - und M_w -Werte des PEGs **1** nach Gleichung 5.

Die Differenz zwischen dem gemessenen M_p -Wert des endgruppenmodifizierten PEGs **3** und des Ausgangspolymers **1** erreicht einen Wert von 412,5 g/mol. Dies ist mit der theoretisch zu erwartenden Differenz ΔM aus der Molmasse der modifizierten Endgruppe des Zielmoleküls und der zu modifizierenden Endgruppe des Ausgangsmoleküls zu vergleichen (s. Abschnitt III.1.4, S. 34). Bei der Endgruppenmodifikation des PEGs **1**, die zum Zielpolymer **3** führen soll, entspricht ΔM der Molmassendifferenz zwischen der „Cholesteryl-Formiat-Gruppe“ und dem Wasserstoffatom mit einem Wert von 412,65 g/mol. Die Verschiebung des gemessenen M_p -Wertes weist also nach, daß die erwünschte Endgruppenmodifikation tatsächlich abgelaufen ist. Dies kann weiterhin durch die Änderung der M_n - und M_w -Werte bestätigt werden. In der Tat stimmen die gemessenen M_n - und M_w -Werte des Zielpolymers **3** hervorragend mit den erwarteten Werten überein. Dies beweist außerdem, daß die Endgruppenmodifikation bei allen Polymerketten des PEGs **1** mit derselben Wahrscheinlichkeit abgelaufen ist. Dies war die nötige Hypothese, um die theoretisch zu erwartenden M_n - und M_w -Werte des Zielpolymers **3** nach Gleichung 4 und Gleichung 5 als Funktion der M_n - und M_w -Werte des Ausgangspolymers **1** auszudrücken (s. Anhang 1, S. 234).

Ebenso lässt sich die in Abbildung 8 schematisierte Endgruppenmodifikation mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie untersuchen. Abbildung 14a zeigt das erhaltene Massenspektrum des kommerziell erhältlichen PEGs **4**, deren Endgruppen aus einer Methoxy- und einer Aminoethylgruppe bestehen. Die Masse, die jedem Signal entspricht, ergibt sich nach Formel:

$$M[g/mol] = n \cdot 44,05 + 31,03 + 44,08 + 39,1 \quad \text{Gleichung 8}$$

44,08 Isotopengemitteltetes Molekulargewicht der Aminoethylgruppe

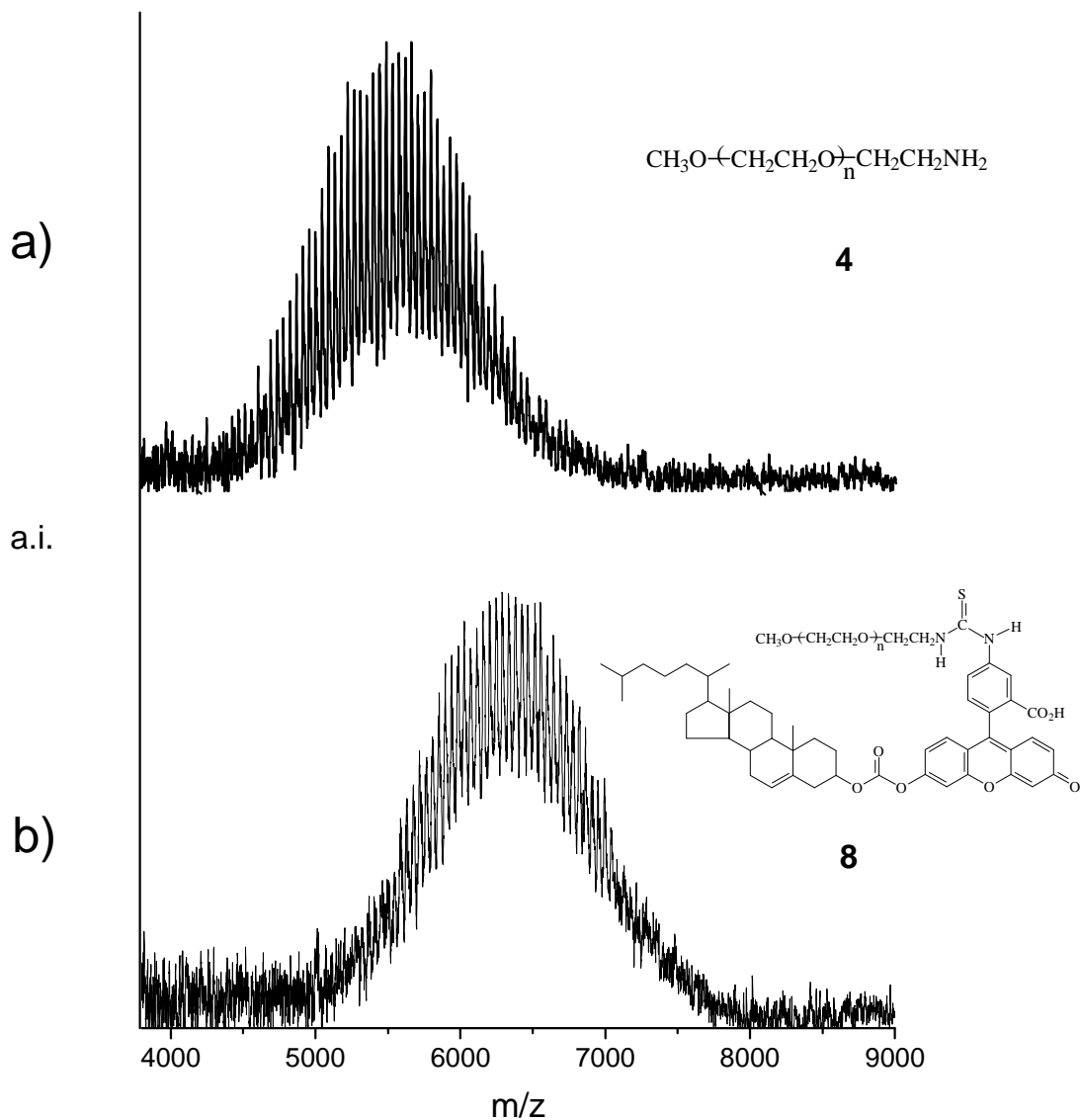


Abbildung 14: MALDI-TOF-Massenspektren von a) PEG **4** und b) PEG **8**. Verschiebung um die Masse einer Fluorescein-Cholesterin-Gruppe

Der aus dem Massenspektrum ermittelte M_p -Wert erreicht 5488,6 g/mol, der nach Gleichung 8 122 Wiederholungseinheiten entspricht. Die damit berechnete theoretische Masse von 5488,3 g/mol stimmt sehr gut mit dem gemessenen Wert überein.

Das aufgenommene Massenspektrum des PEGs **8**, das durch eine zweistufige Endgruppenmodifikation aus dem PEG **4** hergestellt wurde, zeigt Abbildung 14b. Die Masse einer jeden gemessenen Kettenlänge ergibt sich als:

$$M[g/mol] = n \cdot 44,05 + 31,03 + 846,11 + 39,1 \quad \text{Gleichung 9}$$

846,11 Isotopengemitteltes Molekulargewicht der „Aminoethyl-Fluorescein-Cholesterin“-Gruppe

Aus dem Massenspektrum wurde für eine PEG-Kette mit 122 Wiederholungseinheiten ein M_p -Wert von 6290,4 g/mol ermittelt. Die mit 122 Wiederholungseinheiten nach Gleichung 9 berechnete theoretische Masse von 6290,4 g/mol stimmt sehr gut mit dem gemessenen Wert überein.

Die aus den Massenspektren der PEG's **4** und **8** errechneten Molekulargewichte sowie die aus den gemessenen Molmassen des PEGs **4** berechneten Molmassen des PEGs **8** sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3: Molekulargewichtsmittelwerte der PEG's 4 und 8

Probe	M_p ^{a)}	n ^{b)}	M_p (ber.) ^{c)}	M_n ^{a)}	M_n (ber.) ^{d)}	M_w ^{a)}	M_w (ber.) ^{e)}
4	5488,6	122	5488,3	5566	-	5624	-
8	6290,4	122	6290,4	6296	6368	6352	6419

^{a)} Aus MALDI-TOF-Massenspektren ermittelte Molmassen. ^{b)} Anzahl der Wiederholungseinheiten berechnet aus dem gemessenen M_p -Wert. ^{c)} Theoretischer Wert berechnet aus n nach Gleichung 8 bzw. Gleichung 9. ^{d)} Theoretischer Wert berechnet aus dem gemessenen M_n -Wert des PEGs **4** nach Gleichung 4. ^{e)} Theoretischer Wert berechnet aus den gemessenen M_n - und M_w -Wert des PEGs **4** nach Gleichung 5.

ΔM entspricht jetzt der Molmassendifferenz zwischen der „Aminoethyl-Fluorescein-Cholesterin“-Gruppe und der Aminoethylgruppe. Die aus der Verschiebung der M_p -Werte

errechnete ΔM beträgt 801,8 g/mol und stimmt mit dem theoretischen Wert von 802,03 g/mol sehr gut überein. Ebenfalls sind die gemessenen M_n - und M_w -Werte des Zielpolymers **8** in guter Übereinstimmung mit den erwarteten Mittelwerten.

Die Untersuchung dieser zwei Endgruppenmodifikationen mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie lassen also eindeutig auf erfolgreiche Umwandlungen der PEG's **1** und **3** schließen. Dieses Ergebnis widerlegt das Postulat, das von *Li et al.* aufgeschlagen wurde, wonach Polyethylenglykole eine systematische Verkürzung der Polymerkette während einer Endgruppenmodifikation erfahren.⁴⁶ Es zeigt weiterhin, daß bei der Quantifizierung mittels MALDI, die ohnehin ein sehr schwieriges Thema darstellt, die Einstellung der instrumentellen Parameter eine wesentliche Rolle spielt. Der Betriebsmodus des Flugzeitmassenspektrometers und der Detektortyp müssen so ausgewählt werden, daß die gemessene Polymerverteilung möglichst wirklichkeitsgetreu abgebildet wird. Sofern die Auswirkung dieser instrumentellen Parameter vernachlässigt wird, treten derart starke Diskriminierungseffekte beim Nachweis der Polymerverteilung auf, daß es zu Fehlinterpretationen kommen kann, wie sie von *Li et al.* beschrieben wurden.

Diese Endgruppenmodifikationen konnten mit der MALDI-TOF-MS so genau untersucht werden, da die betreffenden PEGs im günstigen Molmassenbereich von 10^3 - 10^4 g/mol liegen und eine sehr enge Molekulargewichtsverteilung besitzen (Polydispersität <1,06). Leider wird eine derart niedrige Polydispersität höchstens durch anionische Polymerisation erreicht. Für die übrigen synthetischen Polymeren werden mit MALDI-TOF-MS unzuverlässige Molekulargewichtsmittelwerte ermittelt. Aus diesem Grund können die Endgruppen üblicherweise nur durch die absoluten Massen der Polymerketten bestimmt werden. Dennoch reicht in einigen komplizierten Fällen (z.B. bei unbekanntem Nebenreaktionen) die absolute Masse einer Polymerkette nicht aus, um die Endgruppen zu bestimmen. Zusätzliche Informationen werden dann benötigt, die im Prinzip durch Fragmentationen-Analyse (PSD-Analyse) erhalten werden können. Im Falle der untersuchten Polyethylenglykole **3** und **8** findet „post-source decay“ schon bei Bestrahlung der Probe mit einer Laserleistung knapp über der Desorptions-/Ionisationsschwelle (s. S. 32) statt und verhindert die Bestimmung der Polymerverteilung im Reflektormodus. Dennoch kann dieses Phänomen, das für PEG **3** und **8** unbeabsichtigt geschieht, zur Bestimmung der Polymerstruktur hilfreich sein. Im folgenden Kapitel soll dargestellt werden, inwieweit die Fragmentationenanalyse zur Strukturaufklärung synthetischer Polymere beitragen kann.

III.2. Strukturaufklärung synthetischer Polymere mittels „Post-Source Decay“-Untersuchungen

Ausschlaggebend für den Erfolg der MALDI-TOF-MS ist die Fähigkeit dieser Methode, sehr schwere Moleküle (bis ca. 1 Million g/mol) intakt desorbieren und nachweisen zu können. Dennoch ist die Methode am effektivsten im niedrigeren Massenbereich, in dem einzelne Moleküle aus einer Polymerverteilung noch aufgelöst werden. Dieser günstige Massenbereich erstreckt sich bis zu ca. 10.000 Da bei einer konventionellen MALDI-Quelle und kann seit der Einführung von Flugzeitmassenspektrometern mit höherem Auflösungsvermögen („Delayed Extraction“^{47,48,49} s. Kapitel II.2.3, S. 11) auf bis zu 50.000 Da⁵⁰ erweitert werden. Ausgehend von der detektierten absoluten Masse der einzelnen Polymerketten kann sowohl die Masse der Wiederholungseinheit als auch die der Endgruppen berechnet werden. Diese Information, zusammen mit der Kenntnis des Syntheseweges, ermöglicht eine schnelle und einfache Überprüfung, ob die nach einer Polymerisation oder einer Funktionalisierung erwarteten Endgruppen tatsächlich erhalten wurden. Aus diesem Grund wird MALDI im Vergleich zu konventionellen Methoden wie NMR, UV, IR oder Titrierungstechniken für Endgruppenbestimmungen immer öfter eingesetzt. Wenn die erwarteten Endgruppen abwesend sind oder wenn das erhaltene Polymer ein Gemisch aus Ketten mit verschiedenen Endgruppen darstellt, ist MALDI ebenfalls geeignet, um die Nebenprodukte zu bestimmen. Dennoch reicht in komplizierten Fällen die absolute Masse der Polymerkette nicht aus, um die Endgruppen zu charakterisieren. Ebenso sind konventionelle MALDI-Massenspektren von Copolymeren meist schwieriger zu interpretieren aufgrund der Komplexität der Polymerzusammensetzung. Zusätzliche Daten können prinzipiell aus Fragmentationen-Analysen extrahiert werden. Dazu werden Moleküle mit einem definierten Polymerisationsgrad ausgewählt und durch Beschuß mit höherer Laserleistung fragmentiert, um zusätzliche Strukturinformationen aus dem Fragmentierungsmuster zu gewinnen. Diese Technik, die aus dem Phänomen des PSD-Zerfalls Nutzen zieht, wird seit 1992 bei Biopolymeren angewendet und ist in der Lage, die Sequenz der Aminosäuren eines Peptids zu bestimmen. Synthetische Polymere wurden aber mit dieser Methode zunächst nicht erforscht. Der Grund war technischer Natur. Um aus einer Polymerverteilung Ketten mit einem definierten Polymerisationsgrad selektieren zu können, war die Entwicklung eines elektronischen Gates erforderlich, damit ausschließlich die Fragmente von nur einer Molekülsorte untersucht werden können. In diesem Kapitel soll daher untersucht werden,

inwieweit die Anwendung dieser Technik zur Polymeranalytik beitragen kann. Die gewonnenen Informationen sollten die Auswertung eines normalen MALDI-Massenspektrums in schwierigen Fällen erleichtern oder überhaupt erst ermöglichen. Hier wird die Untersuchung mit PSD-Analyse zunächst am Beispiel eines Polycarbonats in Hinsicht auf die Endgruppenbestimmung vorgestellt und anschließend auf ein Poly-*para*-phenylenethinylen-*b*-Polyethylenoxid-Diblock-Copolymer in Hinsicht der Blocklängenbestimmung angewandt.

III.2.1 Endgruppenbestimmung von Polycarbonaten mittels PSD-Analyse

III.2.1.1 Unvollständige Endgruppenbestimmung einer komplexen Polycarbonat-Probe mittels konventioneller MALDI-TOF-MS

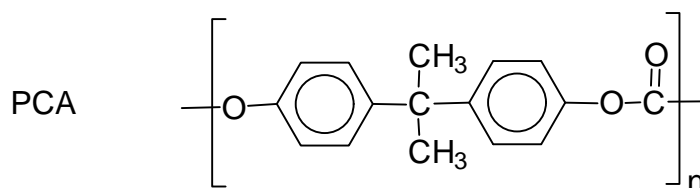


Abbildung 15 zeigt das MALDI-TOF-Massenspektrum der Polycarbonat-Probe PCA-1. Diese Probe wurde in unserem Institut von Thomas Wagner synthetisiert. Die Polymerisation wurde nach dem Phasengrenzflächen-Verfahren durchgeführt. Dabei wurde Phosgen in ein Zweiphasengemisch eingeleitet, das aus Methylenchlorid und einer alkalischen wässrigen 4,4'-Dihydroxydiphenyl-2,2-Propan-Lösung (Bisphenol A) besteht. Durch kräftiges Rühren und Zugabe von Triethylamin als Phasentransferkatalysator wurde die Polykondensation beschleunigt. Als Regler wurde 4-*tert*-Butylphenol benutzt. Nach der Polymerisation wurde die wässrige Phase abgetrennt und nach Waschen der organischen Phase das Polymer in Methanol ausgefällt. Vom Syntheseweg wird also ein Polycarbonat (PCA) mit *tert*-Butylphenoxy-Endgruppen (s. Struktur **9** in Abbildung 16) erwartet. Anstatt einer einzigen Polymerverteilung stellt jedoch das Massenspektrum die Überlappung von sieben Endgruppenverteilungen dar, die in Abbildung 15 mit S1 bis S7 gekennzeichnet sind.

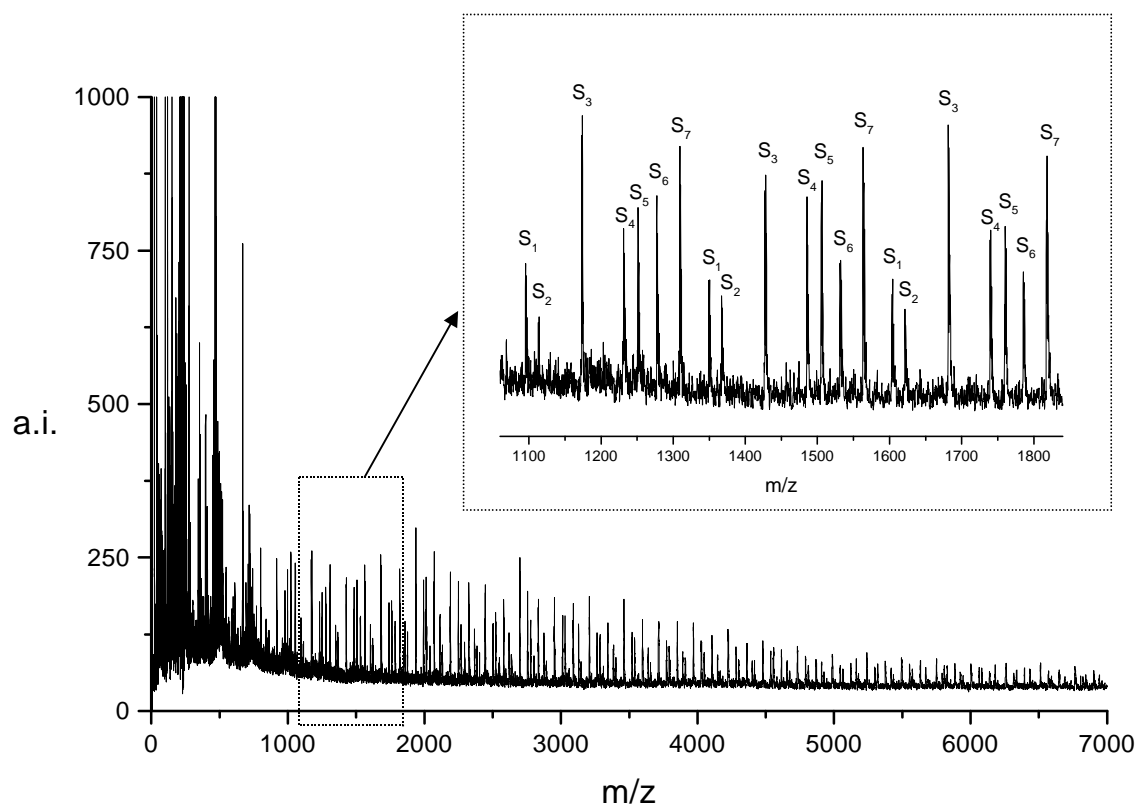
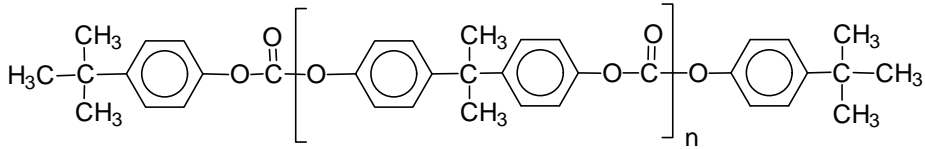
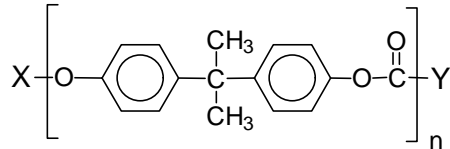


Abbildung 15: MALDI-TOF-Massenspektrum der Polycarbonat-Probe PCA-1

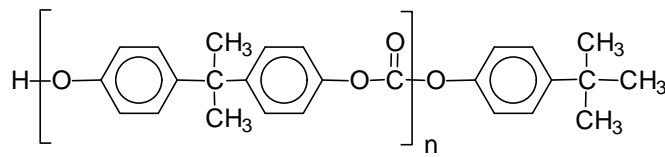
Der Abstand zwischen zwei aufeinander folgenden Signalen innerhalb einer Endgruppenverteilung spiegelt die Masse der PCA-Wiederholungseinheit wider. Die sieben Verteilungen sollten erwartungsgemäß Polycarbonaten mit sieben verschiedenen Endgruppen entsprechen. Die Signalserie S1 kann der erwarteten Struktur **9** mit *tert*-Butylphenoxy-Endgruppen an beiden Kettenenden zugeordnet werden. Aufgrund des Synthesewegs, sind auch mit Bisphenol A terminierte Polymerketten (s. Struktur **11** und **13** in Abbildung 16) denkbar, sowie zyklische Strukturen (s. Struktur **14** in Abbildung 16), die aus dem Angriff einer Phenoxid-Endgruppe an der am anderen Ende der Kette liegenden Carbonyl-Funktion resultieren. Diese möglichen Strukturen passen zu den Verteilungen S3, S5 bzw. S6. Dagegen können die übrigen Verteilungen S2, S4 und S7 nicht unmittelbar zugeordnet werden.



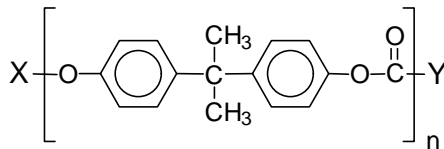
9 $M=177.2+nx254.29+149.2$ → Peakserie S₁ in Probe PCA-1



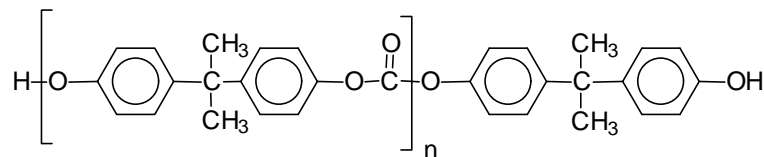
10 M_X, n, M_Y ??? → Peakserie S₂ in Probe PCA-1



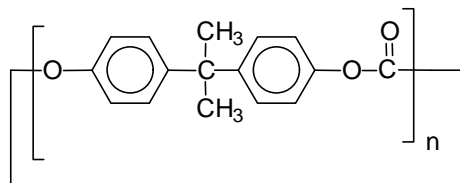
11 $M=1.0+nx254.29+149.2$ → Peakserie S₃ in Probe PCA-1



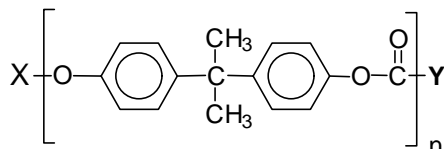
12 M_X, n, M_Y ??? → Peakserie S₄ in Probe PCA-1



13 $M=1.0+nx254.29+227.3$ → Peakserie S₅ in Probe PCA-1



14 $M=nx254.29$ → Peakserie S₆ in Probe PCA-1



15 M_X, n, M_Y ??? → Peakserie S₇ in Probe PCA-1

Abbildung 16: Aufklärung der Polycarbonatendgruppen der Probe PCA-1 anhand eines konventionellen MALDI-TOF-Massenspektrums (s. Abbildung 15)

In der Tat reichen die absoluten Massen der Polymerketten nicht aus, um die unbekanntes Endgruppen zu bestimmen. Die absolute Masse (M) einer Polymerkette setzt sich aus der Summe der Massen der zwei Endgruppen (X und Y) plus der Masse der Wiederholungseinheit (A) multipliziert mit dem Polymerisationsgrad (n) zusammen nach:

$$M = X + Y + A \cdot n$$

Gleichung 10

Gleichung 10 stellt eine Gleichung mit zwei oder gar drei Unbekannten dar, wenn der Polymerisationsgrad nicht genau bestimmt ist. Um diese drei übrigen Verteilungen (S2, S4 und S7) zuordnen zu können, werden weitere Informationen benötigt, die eventuell über eine PSD-Analyse erhalten werden können. Zuvor muß aber das Fragmentierungsverhalten einer Polycarbonat-Kette untersucht werden. Dazu wird ein Polycarbonat-Standard mit definierter Struktur benutzt. Polymerketten mit einem definierten Polymerisationsgrad werden selektiert und mit hoher Laserleistung fragmentiert.

III.2.1.2 Aufklärung des Fragmentierungsverhaltens von Polycarbonat

III.2.1.2.1 Bedeutung des Kationisierungsagens für das PSD-Massenspektrum

Bevor das Fragmentierungsverhalten vom Polycarbonat untersucht wird, soll in diesem Abschnitt die entscheidende Rolle des Kationisierungsagens bei der Aufnahme eines PSD-Massenspektrums betrachtet werden. Bei MALDI-TOF-Messungen werden Polycarbonate üblicherweise als Addukt des Polymers mit Alkalimetallkationen detektiert.^{51,52,53,54,55} Die Kationisierung der in dieser Arbeit untersuchten Polycarbonate kann tatsächlich durch Zugabe von Lithium-, Natrium- oder Kaliumsalzen erreicht werden, wogegen jedoch nur die Lithium-Addukte verwendbare Fragmentionen-Massenspektren liefern. Im Fall des mit Natrium oder Kalium kationisierten Polycarbonats wird nur die Dissoziation des Kations vom Polymer beobachtet, wenn die Bestrahlung der Probe mit ausreichender Laserleistung ausgeführt wird. Dieses Verhalten kann durch Betrachtung der Konformation des kationisierten Oligomers in der Gasphase erklärt werden. „Molecular Modelling“- und Ionenchromatographie-Experimente mit Kronenether⁵⁶ und PEG⁵⁷ mit niederen Molekulargewichten weisen darauf hin, daß sich das Oligomer um das Alkalimetallkation knäult, so daß viele Heteroatome mit dem Kation wechselwirken. Im Fall des ziemlich steifen Polycarbonats kann vermutet werden, daß die elektrostatische Wechselwirkung zwischen dem nukleophilen Oligomer-Gerüst und dem Kation nicht so stark wie beim PEG ist. Aufgrund seiner relativ hohen Ladungsdichte

besitzt Li^+ die stärkste Wechselwirkung mit dem Oligomer. Das Adduktion dissoziiert bei der in PSD-Experimenten angewendeten hohen Laserleistung nicht, so daß hier die Überschußenergie im Molekül zu einem Bruch in der Hauptkette führt. Mit steigender Masse des Kations sinkt aber die Bindungsenergie zwischen Kation und Oligomer, wobei die Dissoziation des Na^+ - oder K^+ -Kations vom Oligomer im Fragment-Massenspektrum vorherrscht. Dieses für Polycarbonat beobachtete Phänomen kann mit MALDI-CID-Messungen eines mit Na^+ kationisierten Polyethylterephthalates⁵⁸ verglichen werden, in dem ebenfalls die Fragmentation das Kation meist nicht behalten. Im Falle vom Polyethylterephthalat findet aber ein Ladungsaustausch statt, so daß trotz des Kationverlusts Fragmentationen (Radikalkationen) detektiert werden. Beim PSD von Polycarbonat wird dagegen kein geladenes Fragment detektiert, so daß keine Strukturinformation erhalten werden kann. Infolgedessen wurden die Fragment-Untersuchungen des PCs ausschließlich mit lithiumkationisierten Oligomerketten durchgeführt.

III.2.1.2.2 Fragmentanalyse von PCA

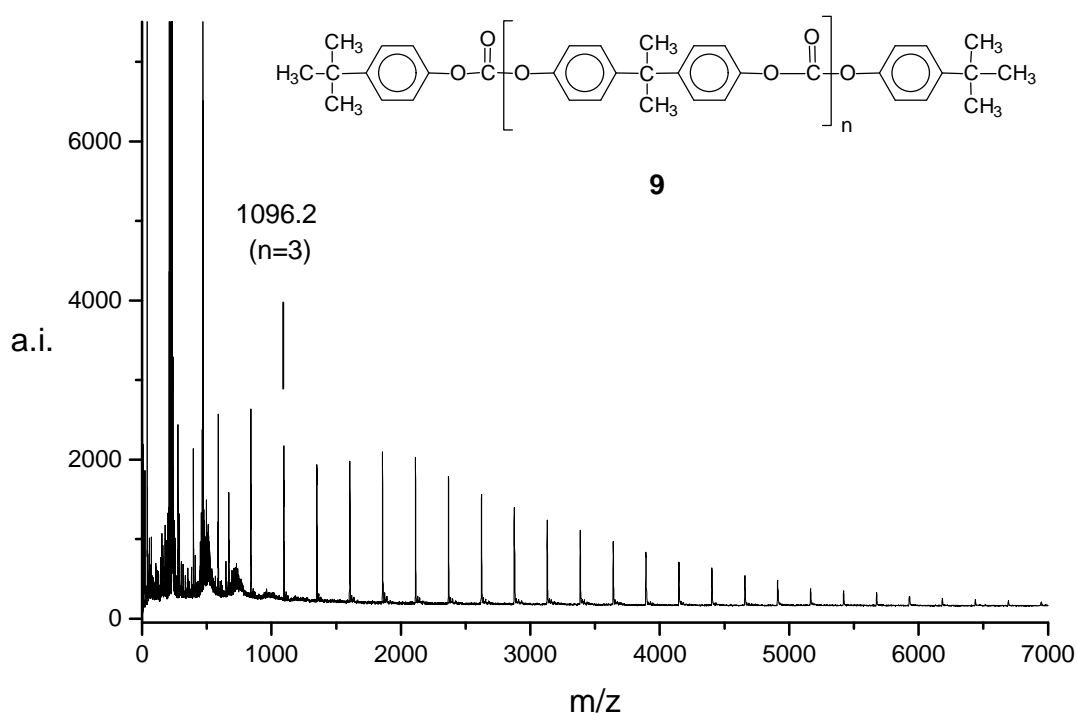


Abbildung 17: MALDI-TOF-Massenspektrum des Polycarbonat-Standards PCA-2

Abbildung 17 zeigt das MALDI-TOF-Massenspektrum des kommerziell erhältlichen Polycarbonat-Standards PCA-2, der mit *tert*-Butylphenol an beiden Kettenenden terminiert ist (s. Struktur **9**). Diese vom Lieferant angegebene Strukturinformation stimmt mit dem Massenspektrum überein. Da Li^+ als Kationisierungsmittel verwendet wurde und da jedes Signal einem bestimmten Polymerisationsgrad entspricht, ist das Masse-zu-Ladungsverhältnis eines Signals der PCA-Verteilung gegeben durch:

$$m/z(\text{PCA} - 2) = 177,2 + n \cdot 254,29 + 149,2 + 6,9 \quad \text{Gleichung 11}$$

Wobei 177,2 und 149,2 der Masse der 4-*tert*-Butylphenoxy-carbonyl- bzw. 4-*tert*-Butylphenoxy-Endgruppe entsprechen, n dem Polymerisationsgrad, 254,29 der Masse der Wiederholungseinheit und 6,9 der Masse des Lithiumkations.

Mit Hilfe des Ionen-Gates wurde dann das Trimer der linearen PCA-Struktur **9** selektiert, das mit Lithium kationisiert ist (m/z 1096,2). Das entsprechende PSD-Massenspektrum ist in Abbildung 18 dargestellt.

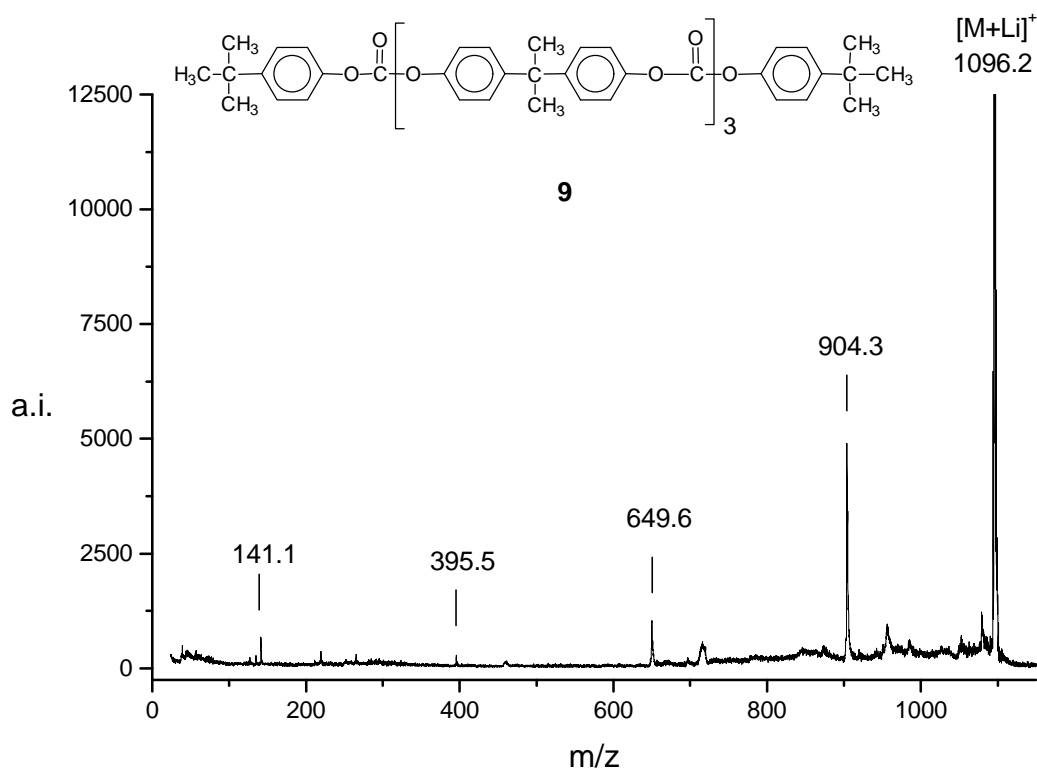
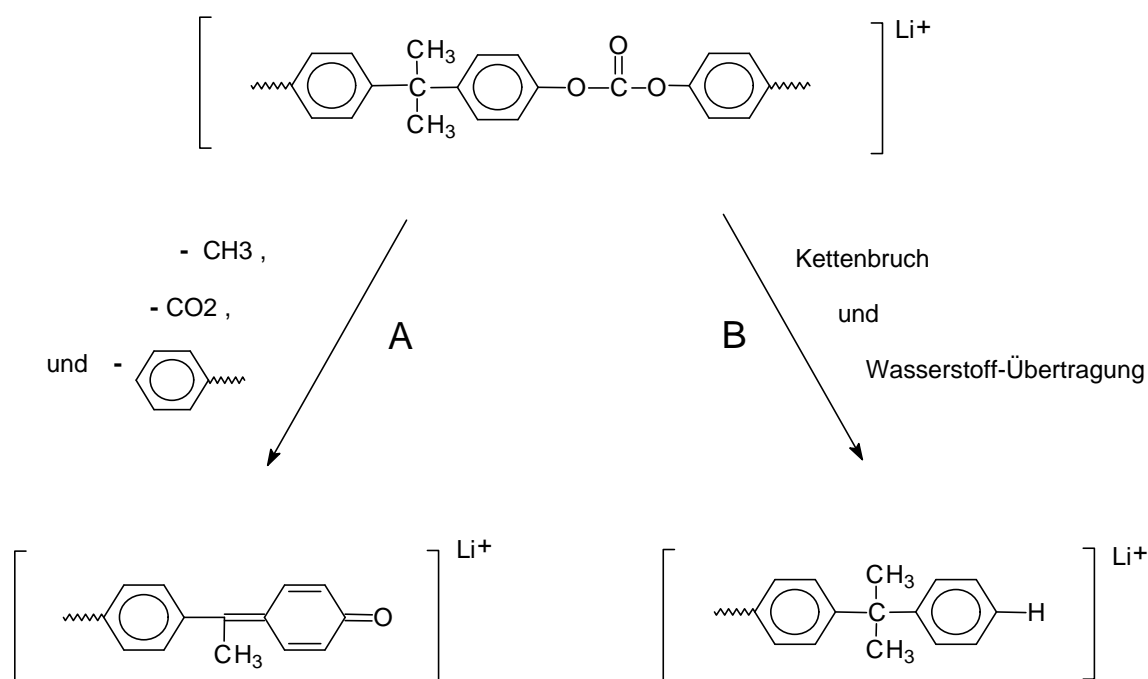


Abbildung 18: PSD-Massenspektrum des Trimers von PCA **9**

Das Massenspektrum wird von einer Serie von Fragmentationssignalen bei m/z 904,3- 649,6- 395,5 und 141,1 dominiert. Die Massen wurden mit einer Genauigkeit von ca. $\pm 0,4$ g/mol ermittelt. Der Unterschied zwischen zwei sukzessiven Peaks der Serie entspricht 254 g/mol, der Masse der PCA-Wiederholungseinheit. Alle Fragmente sind ein Teil des Mutterions, das eines der Kettenenden und das Lithiumkation enthält. Um die Entstehung dieser Fragmente zu erklären, können zwei mögliche Fragmentierungsmodelle vorgeschlagen werden (s. Schema 1). Das Modell A ist analog zu einem Modell, das für die mittels Elektronenstoßionisation (EI)^{59,60} und Sekundärionenmassenspektrometrie (SIMS)⁶¹ gemessene Fragmentierung von PCA-Ionen vorgeschlagen wurde. Dabei werden eine zum zentralen Kohlenstoffatom der Bisphenoleinheit gebundene Methylgruppe, Kohlendioxid und das Kettenende (d.h. 4-tert-Butylphenyl im Fall des größten Fragments bei m/z 904,3 detektiert) abgespalten.



Schema 1: Mögliche Fragmentierungsmechanismen des linearen PCAs

Das von uns vorgeschlagene Fragmentierungsmodell B beruht auf der Spaltung des Oligomergerüsts zwischen einem Phenylring und einer Carbonatfunktion, bei der ein Wasserstoffatom übertragen wird. Ausgehend vom Fragment-Massenspektrum des PCA 9 kann nicht entschieden werden, welches der zwei möglichen Modelle tatsächlich vorliegt, da die zwei möglichen Fragmentstrukturen sich nur um 0,036 g/mol unterscheiden

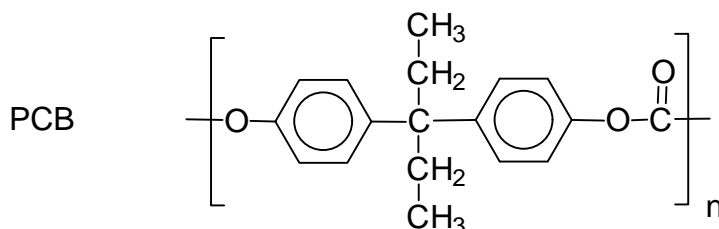
(Massenunterschied zwischen CH₄ und O). In beiden Fällen kann das Masse-zu-Ladungsverhältnis der Hauptfragmentionen, die eine der Kettenende beinhalten, folgendermaßen berechnet werden:

$$m/z(\text{Fragment}) = 149,2 + m \cdot 254,29 - 15,0 + 6,9 \quad \text{mit } m = 0 \dots 3 \quad \text{Gleichung 12}$$

Dabei entspricht 149,2 der Masse der 4-tert-Butylphenoxy-Endgruppe, m der Zahl der PCA-Wiederholungseinheiten des Fragments (3 für das größte Fragment und 0 für das kleinste), 254,29 der Masse der PCA-Wiederholungseinheit, 15,0 der Korrekturmasse (deren Zuordnung abhängig vom Fragmentierungsmechanismus ist) und 6,9 der Masse des Lithiumkations.

Falls das Fragmentierungsverhalten des PCA-Gerüsts allen linearen Strukturen gemeinsam d.h. unabhängig von den Endgruppen ist, kann eine Gleichung aufgestellt werden, mit der die Masse der unbekanntenden Endgruppen mit Hilfe der Fragmentmassen bestimmt werden können. Zunächst soll untersucht werden, welcher Fragmentierungsmechanismus für PCA tatsächlich stattfindet. Dafür wird ein anders substituiertes Polycarbonat der Fragmentierungsanalyse unterzogen, dessen Struktur eine Unterscheidung von Modell A und Modell B ermöglichen sollte.

III.2.1.2.3 Fragmentanalyse von PCB



Das Polycarbonat PCB, welches aus 4,4'-Dihydroxydiphenyl-3,3-pentan erhalten wurde, sollte ermöglichen, die Zweideutigkeit bezüglich des Fragmentierungsmechanismus zu klären, da das zentrale Kohlenstoffatom der Bisphenoleinheit mit Ethyl- statt mit Methyl-Gruppen substituiert ist. Die Probe wurde ebenso mit dem zuvor beschriebenen Phasengrenzflächen-Verfahren hergestellt und das MALDI-TOF-Massenspektrum weist sowohl eine lineare als auch eine zyklische Struktur nach. Die lineare Struktur ist mit 4-tert-Butylphenol an beiden Kettenenden terminiert. Diese Probe wurde ebenfalls von Thomas Wagner synthetisiert.

III.2.1.2.3.1 Fragmentierung der linearen PCB-Struktur

Abbildung 19 zeigt das PSD-Massenspektrum des linearen PCB-Pentamers **16**, das als Lithium-Addukt bei 1745,1 g/mol detektiert wird. Drei Fragmenthauptserien *a*, *b* und *c* werden beobachtet. Bei der Serie *a* (m/z 1538,8- 1256,4- 974,2- 691,7) entspricht der Abstand zwischen zwei aufeinander folgenden Signale der Masse der PCB-Wiederholungseinheit (282 g/mol). Die am zentralen Kohlenstoffatom der Bisphenoleinheit gebundene Ethylgruppe, Kohlendioxid und das Kettenende werden abgespalten. Das Fragmentierungsverhalten stimmt also mit Modell A überein. Die Struktur des erhaltenen Fragments ist in Schema 2 abgebildet. Die Serie *b* (m/z 1495,2- 1212,9- 930,2- 647,8) ist durch Peaks charakterisiert, die mit 44 g/mol weniger als Serie *a* detektiert werden. Dieser Massenunterschied kann einem weiteren Verlust einer Methyl- und einer Ethyl-Seitengruppe zugeordnet werden, was zu der in Schema 2 oben abgebildeten Struktur führt.

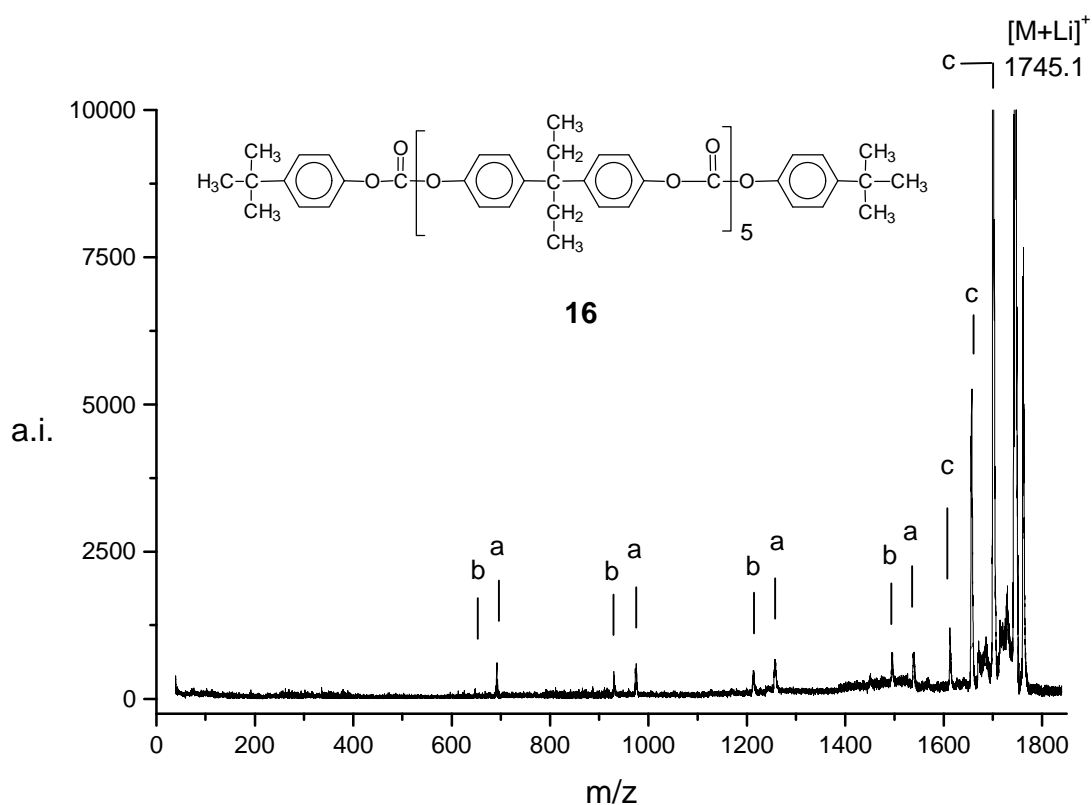
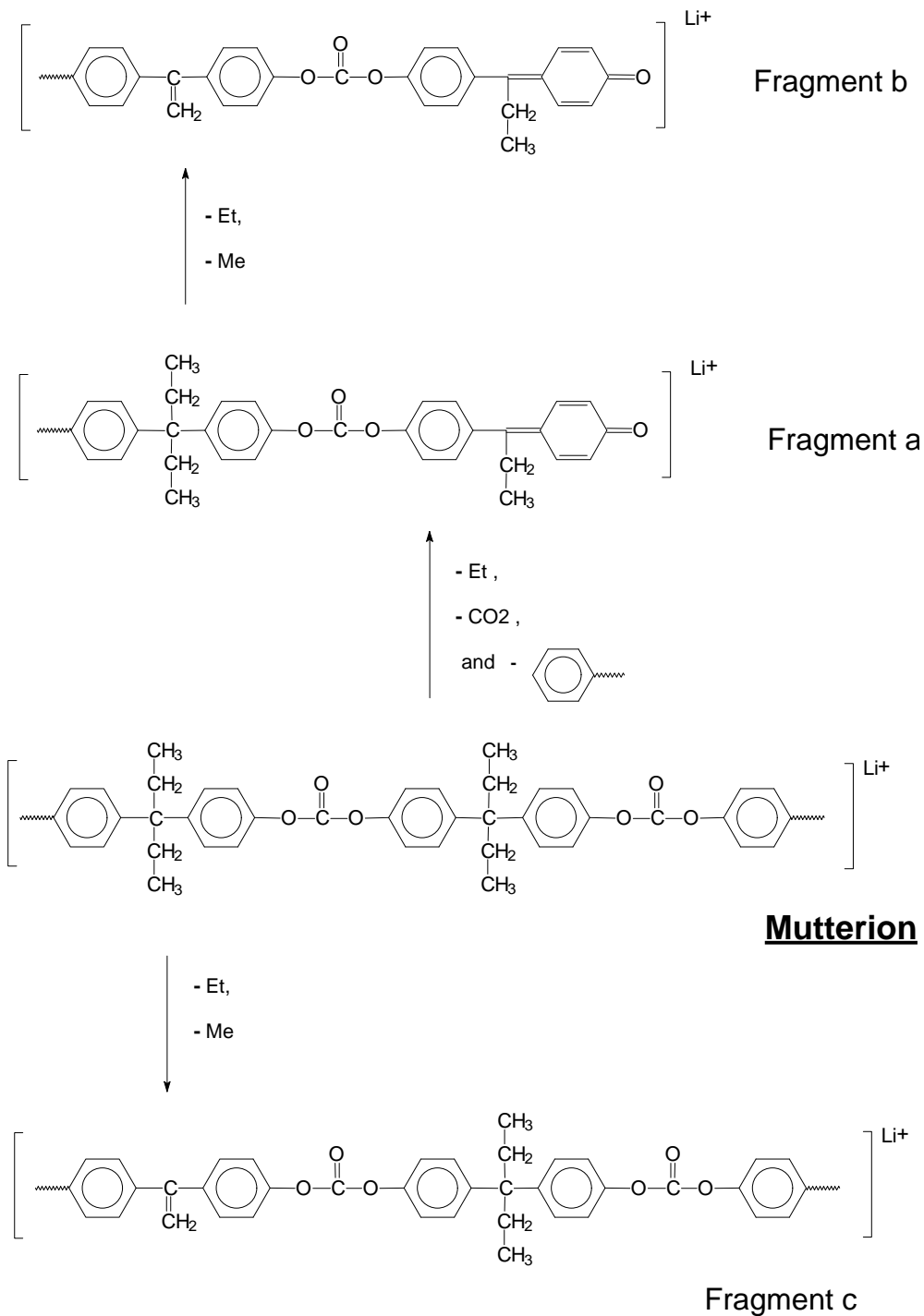


Abbildung 19: PSD-Massenspektrum des linearen PCB-Pentamers **16**

Hauptteil



Schema 2: Vorgeschlagene Fragmentierungsmechanismen für PCB

Einem Wert von 44 g/mol entspricht auch der Abstand zwischen zwei sukzessiven Peaks der Serie *c* (m/z 1700,9- 1656,9- 1612,9) und kann ebenso dem Verlust einer Methyl- und einer Ethyl-Seitengruppe zugeordnet werden (s. Fragmentstruktur in Schema 2 unten). Bemerkenswert ist die intensive Peak-Serie *c*, da sie nur durch Abspaltung der Seitengruppen

(Spaltung von C-C-Bindungen) und ohne Fragmentierung des Polymerrückgrats entsteht, in dem aufgrund der enthaltenen Sauerstoffatome Sollbruchstellen zu erwarten wären. Für die Abspaltung der Seitengruppen könnte folgende Erklärung in Betracht gezogen werden. Nach der Beschleunigung, in der Driftstrecke, wird der Energieüberschuß auf die gesamte Polymerkette verteilt, so daß die Molekularbewegung (Schwingung, Rotation, Torsion...) verstärkt wird. Da die Seitengruppe einen relativ hohen Freiheitsgrad im Vergleich zum Polymerrückgrat besitzt, kann die Amplitude ihrer Bewegung zunehmen und ihre Abspaltung verursachen. In der Tat wäre es denkbar, daß das Fragmentierungsverhalten eines Makromoleküls von dessen Bewegungsverhalten beeinflusst wird. Dies wäre ein zusätzlicher Parameter neben der Bindungsstärke des Moleküls und den Stabilisierungsmöglichkeiten der Bruchstücke, von der die Fragmentierungswahrscheinlichkeit einer organischen Verbindung sonst abhängt. In Hinsicht auf diese Theorie über die Fragmentierungsdynamik können vergleichend auch die zyklischen PCA- und PCB-Strukturen untersucht werden.

Die beobachteten Peakserien *a*, *b* und *c* sprechen alle nur für den Fragmentierungsmechanismus A in Schema 1. Somit kann der zuvor erwähnte Mechanismus B des Fragmentierungsverhaltens bei PCA durch die Untersuchung an PCB eindeutig ausgeschlossen werden.

III.2.1.2.3.2 Fragmentierung der zyklischen PCA- und PCB-Strukturen

Abbildung 20 zeigt das PSD-Massenspektrum des zyklischen PCA-Hexamers **14**, das bei 1532.7 g/mol als Lithium-Addukt detektiert wird. Wie bei den linearen PCA-Strukturen wird eine Hauptserie *a* (m/z 1474,5- 1220,7- 966,8- 712,0 und 457,4) von Fragmentensignalen beobachtet, die aus einer Spaltung der Hauptkette nach Modell A resultieren. Abbildung 21 zeigt das Schema dieses Fragmentierungsmechanismus für die zyklische PCA-Struktur. Bemerkenswert ist, daß insgesamt vier Bindungen und davon zwei in der zyklischen PCA-Hauptkette gespaltet werden, während bei einer linearen PCA-Struktur nur ein Bindungsbruch in der Hauptkette stattfindet (s. Schema 1). Dies kann auf einen Mangel an Bewegungsfreiheit der zyklischen Struktur zurückzuführen sein: Die zyklische Struktur ist starrer als die lineare, und die Molekularbewegung führt leicht zur Fragmentierung. Zusätzlich tritt eine andere Serie *c* von Signalen in der Nähe des Mutterions auf (s. Abbildung 20b), deren Abstand 15 g/mol beträgt. Wie bei der Fragmentierung der linearen PCB-Struktur **16** (s. S. 51) ergeben sich diese Fragmente aus der Abspaltung der Alkyl-Seitenketten (hier Abspaltung der Methyl-

Substituenten). Die Signalintensitäten dieser Serie *c* sind aber deutlich schwächer als die der Hauptserie *a*.

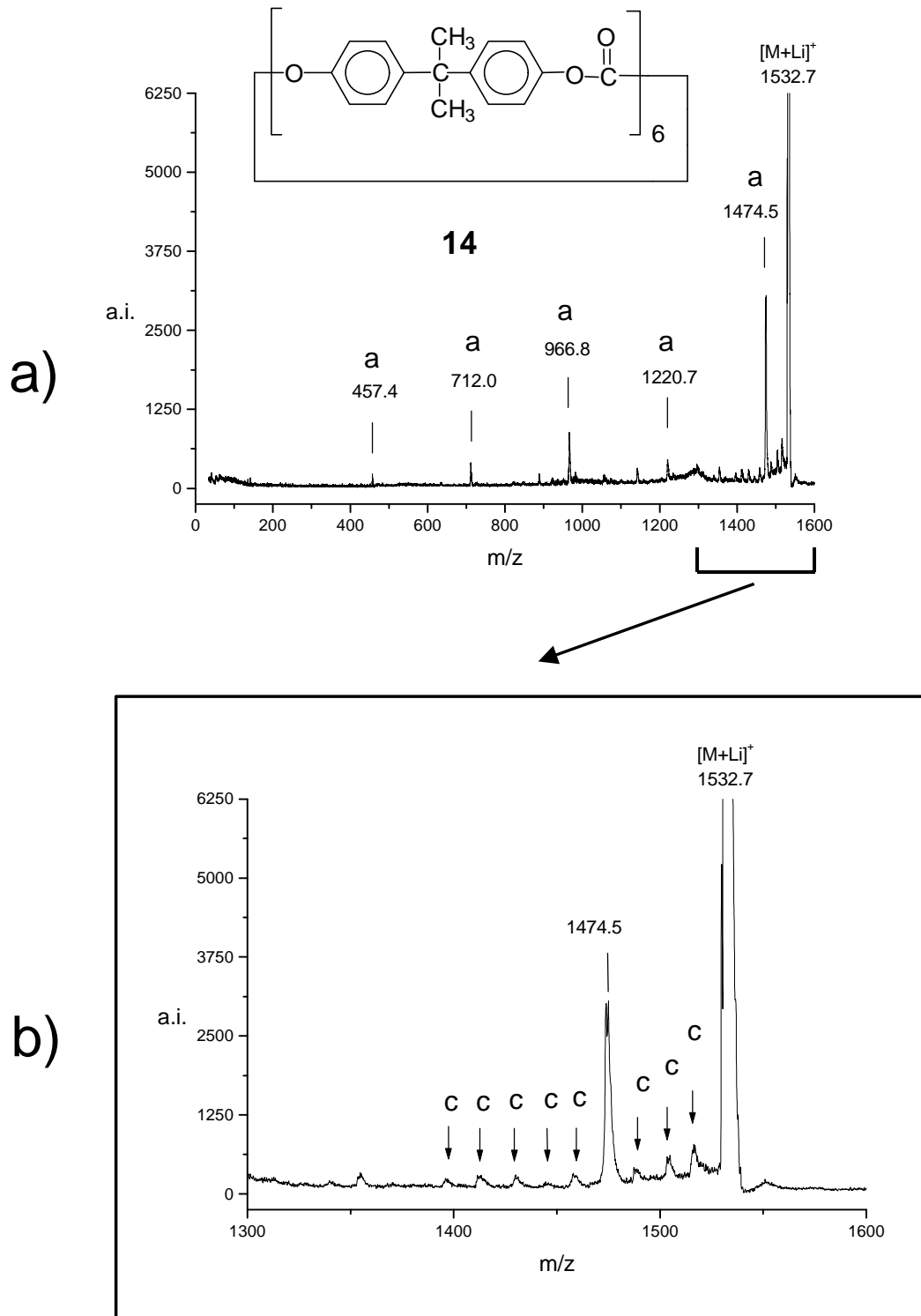


Abbildung 20: a) PSD-Massenspektrum des zyklischen PCA-Hexamers **14** und b) Ausschnitt ($1300 < m/z < 1600$)

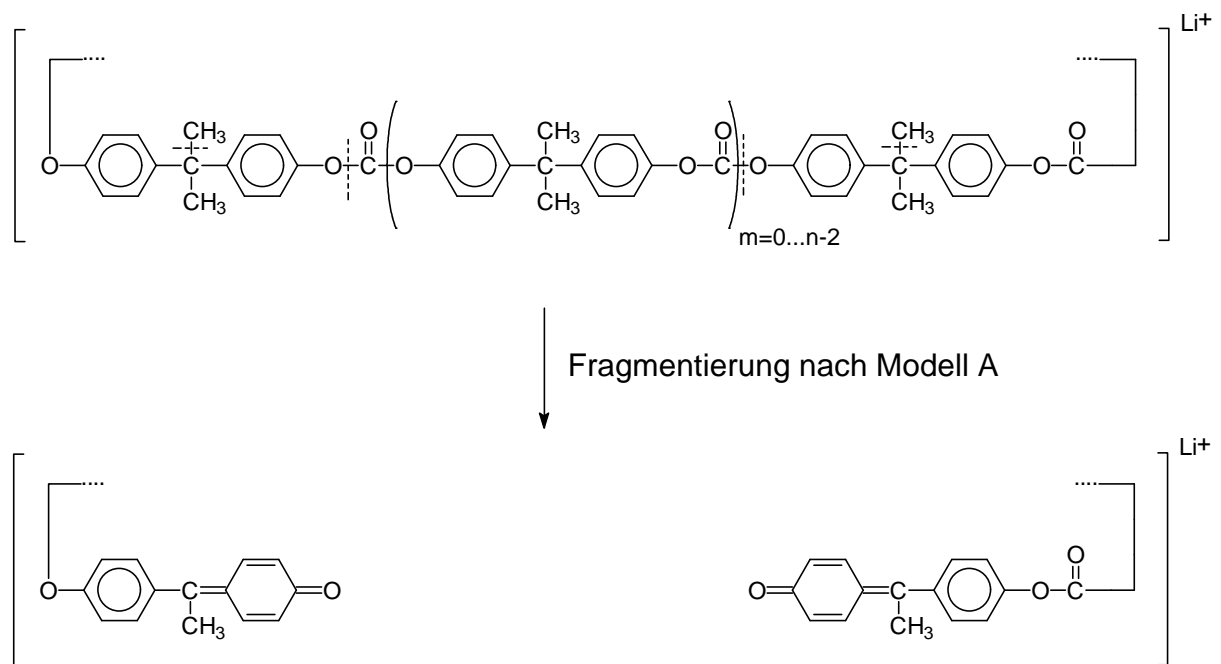


Abbildung 21: Vorgeschlagener Fragmentierungsmechanismus der zyklischen PCA-Struktur **14**

Abbildung 22 zeigt nun das PSD-Massenspektrum des zyklischen PCB-Octamers **17**, das als Lithium-Addukt bei 2265,2 g/mol detektiert wird. Die Serie *a*, die eine zweifache Spaltung des Polymerrückgrats erfordert, tritt hier nicht auf. Ein Bruch des PCB-Zyklus kann nicht nachgewiesen werden. In der Tat müssen mindestens zwei Spaltungen im Zyklus stattfinden, damit ein Bruch der Hauptkette nachgewiesen werden kann, da mit einem einzelnen Bruch das resultierende Fragment sich nicht von der Masse des intakten Zyklus unterscheidet. Nur die Fragmente der Serie *c*, die sich durch Abspaltung der Seitengruppen bilden, werden detektiert und zwar mit hoher Intensität.

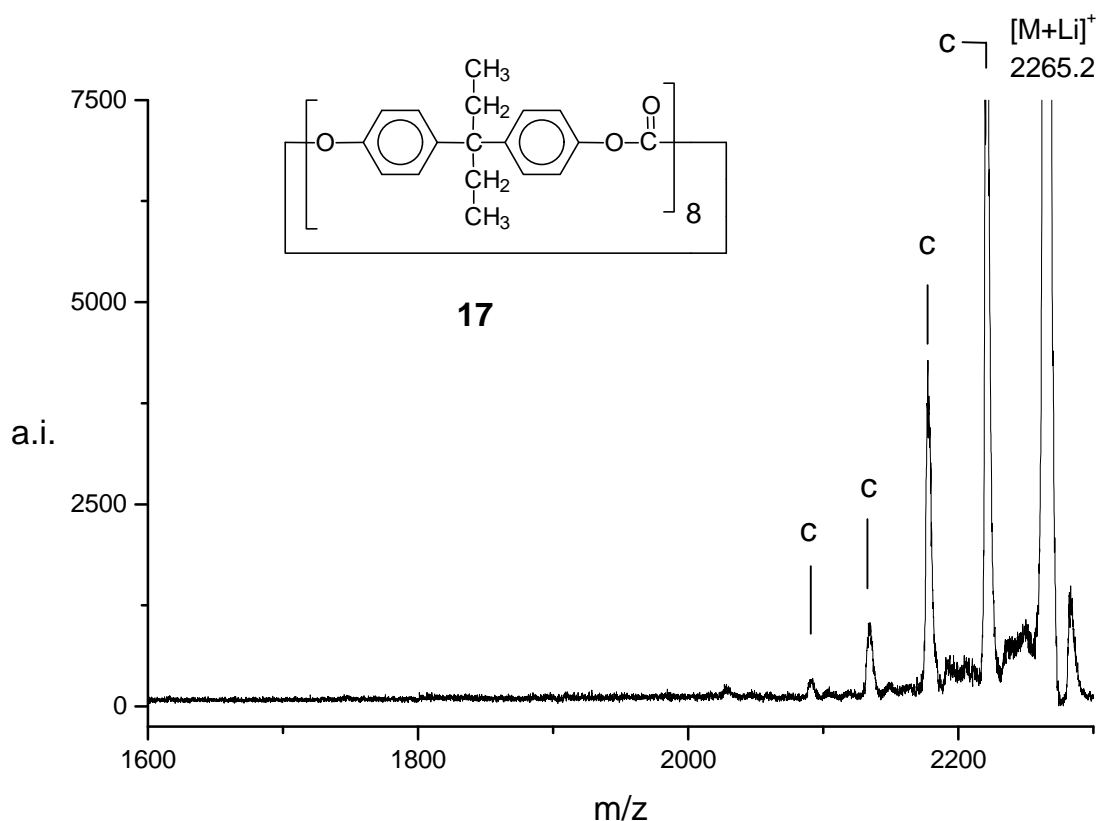
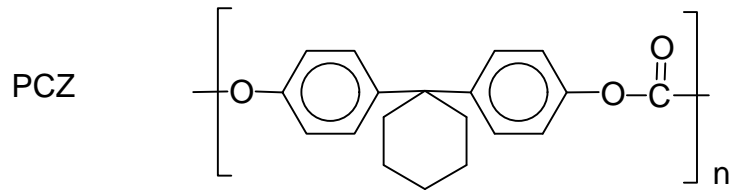


Abbildung 22: PSD-Massenspektrum des zyklischen PCB-Octamers 17

Mit zunehmender Länge der Alkylsubstituenten (von Methyl- zur Ethylseitenkette beim Wechsel von PCA- zur PCB-Struktur) wird also die Abspaltung der Seitenkette gegenüber dem Bruch der Hauptkette bevorzugt. Diese Beobachtung steht wiederum in Einklang mit unserer zuvor dargestellten Theorie über die Fragmentierungsdynamik, wodurch die Abspaltung der Seitenkette erklärt werden kann. Die Fragmentierung der zyklischen PCA-Struktur zeigt in der Tat, daß die Methyl-Substituenten noch nicht „lang“ genug sind, damit ihre durch Bewegung ausgelöste Abspaltung die Fragmentierung der Hauptkette unterdrücken kann. Dagegen kann bei der zyklischen PCB-Struktur die überschüssige Energie durch die Abspaltung des längeren Ethyl-Substituenten dissipiert werden. Die Ethylseitenkette sind relativ frei beweglich. Eine Steigerung der Amplitude ist daher möglich, die so zu ihrer Abspaltung führen kann.

III.2.1.2.4 Fragmentanalyse von PCZ



Bei der Untersuchung des Fragmentierungsverhalten von Polycarbonat soll auch kurz das Polycarbonat PCZ betrachtet werden, das aus 4,4'-Dihydroxydiphenyl-1,1-Cyclohexan (Bisphenol Z) hergestellt wird. Das zentrale Kohlenstoffatom der Bisphenoleinheit ist jetzt mit einem Cyclohexan substituiert, und die lineare PCZ-Struktur ist ferner mit 4-tert-Butylphenol terminiert (s. Struktur **18**).

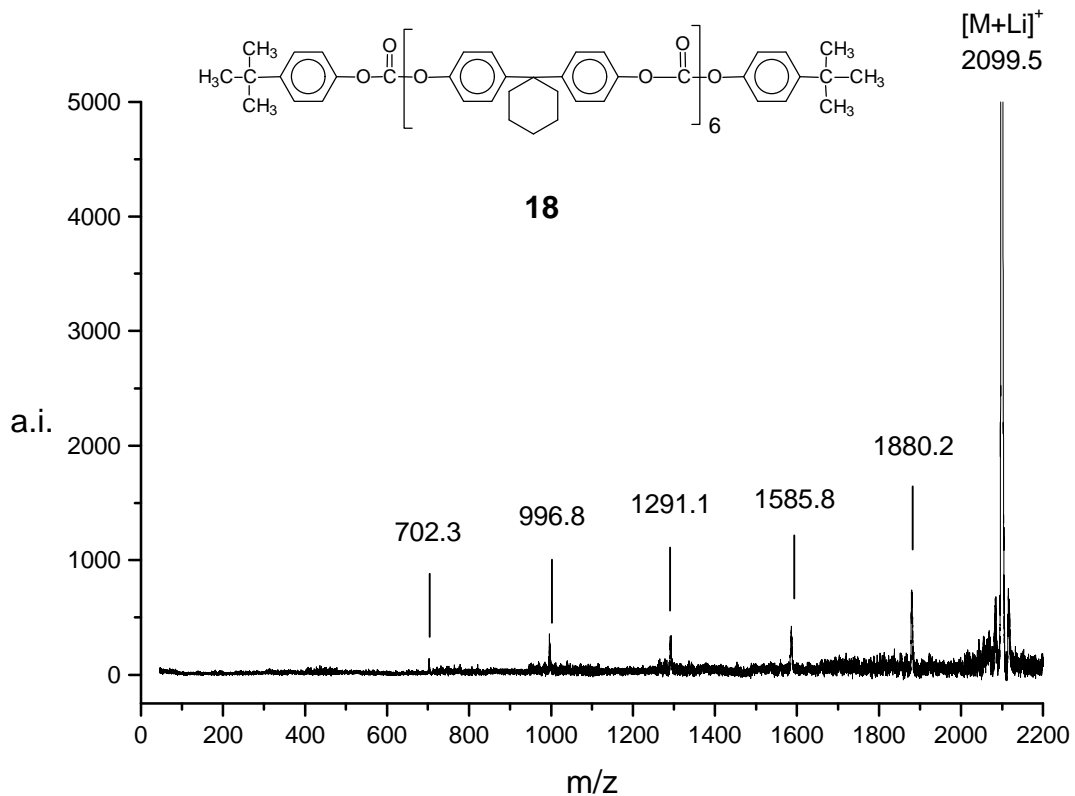
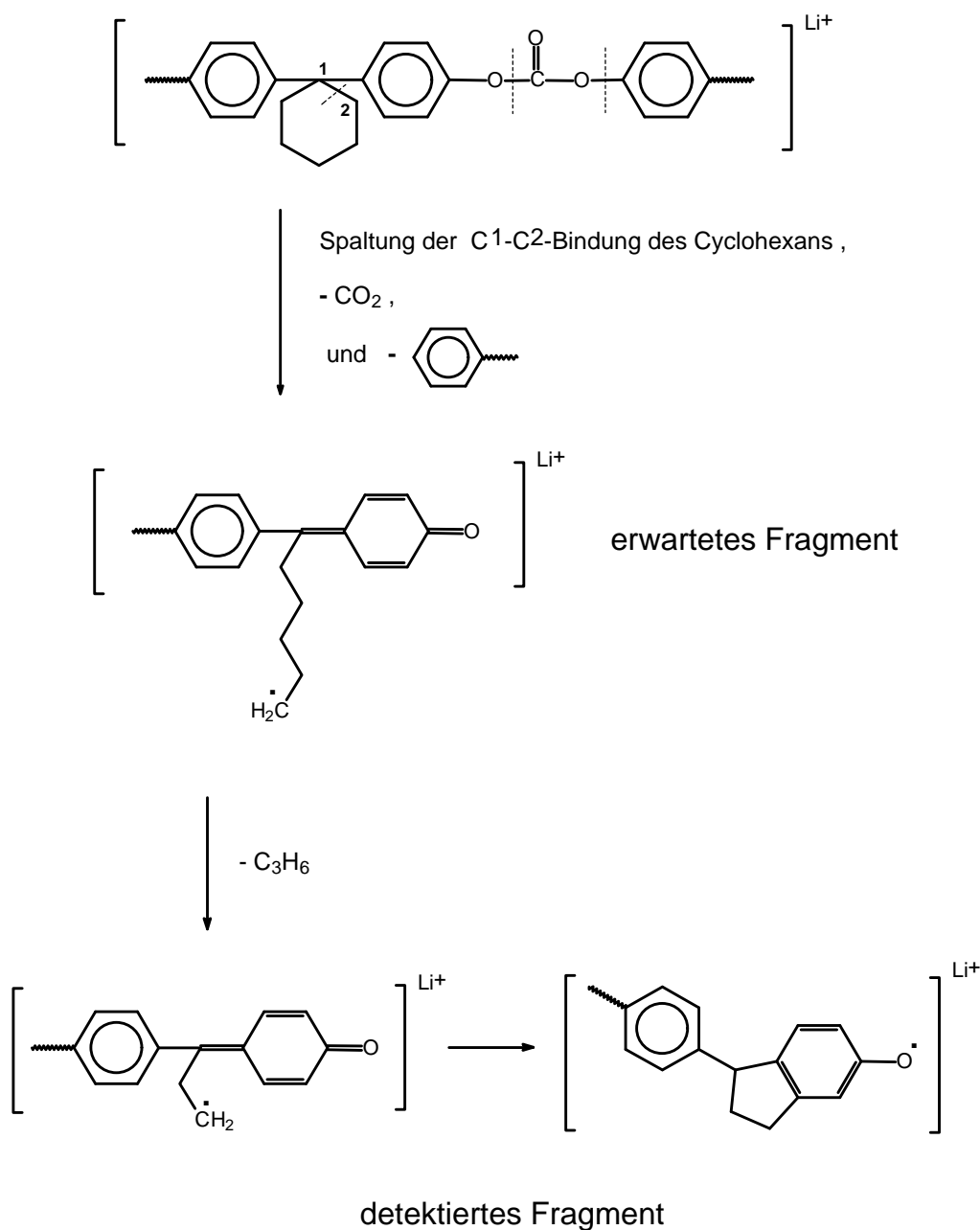


Abbildung 23: PSD-Massenspektrum des linearen PCZ-Hexamers **18**

Das PSD-Massenspektrum des bei 2099,5 detektierten Hexamers **18** (s. Abbildung 23) ergibt nur eine Serie von Fragmenten (m/z 1880,2- 1585,8- 1291,1- 996,8- 102,3). Der Abstand zwischen zwei sukzessiven Peaks entspricht wieder wie in den Beispielen zuvor der Masse der Wiederholungseinheit (294 g/mol für PCZ). Angenommen daß die Fragmentierung des PCZ analog zu der von PCA und PCB abläuft, werden eine Spaltung der C¹-C²-Bindung des Cyclohexans sowie der Verlust von Kohlendioxid und des Kettenendes erwartet (s. Schema 3).



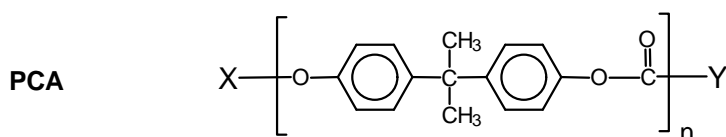
Schema 3: Vorgeschlagener Fragmentierungsmechanismus für das lineare PCZ

Die Fragmente werden aber bei einer Masse 42 g/mol niedriger als erwartet detektiert. Wir ordnen diesen Massenunterschied einem weiteren Verlust eines C_3H_6 -Teils vom Cyclohexan zu. Schema 3 zeigt eine mögliche Struktur des detektierten Fragments, die die Stabilisierung des Bruchstücks und dadurch seine Bildungswahrscheinlichkeit erklären könnte.

Die durchgeführten Untersuchungen des Fragmentierungsverhaltens der PCA, PCB und PCZ zeigen, daß das Fragmentierungsmuster der Polymerkette nicht ohne weiteres vorherzusagen ist. Die Substituenten der Hauptkette spielen eine wesentliche Rolle, und ihre Abspaltung kann sogar die Spaltung der Hauptkette unterdrücken. Die Kenntnis des Fragmentierungsmusters ermöglicht es dann, eine genaue Endgruppenbestimmung mit Hilfe des PSD-Massenspektrums durchzuführen. Danach kann eine allgemeine Methode entwickelt werden, um die noch unbekanntenen Endgruppen der Probe PCA-1 zu bestimmen, wie im folgenden Abschnitt beschrieben wird.

III.2.1.3 Entwicklung einer Methode zur Endgruppenbestimmung von PCA mittels PSD-Analyse

Die vorigen Abschnitte untermauern, daß die PCA-Kette nach dem Modell A (s. Schema 1) fragmentiert. Dies ermöglicht es, die zwei Kettenenden zu differenzieren und dadurch die Massen der Endgruppen unabhängig voneinander zu bestimmen. Ausgehend vom Fragmentierungsmuster der linearen PCA-Struktur **9** (s. Model A in Schema 1, S. 49) und von der Annahme, daß die Fragmentierung der PCA-Kette von der Veränderung der Endgruppe unbeeinflusst bleibt, kann die folgende Methode zur Endgruppenbestimmung entwickelt werden. Die allgemeine Struktur einer linearen PCA-Kette wird wie folgt formuliert:



Aus dem konventionellen MALDI-TOF-Massenspektrum des intakten Polymers kann die Summe der Endgruppen ($M_x + M_y$) ermittelt werden. Wie bei der Analyse der linearen PCA-Struktur **9** kann eine Spaltung innerhalb der Hauptkette nach Modell A erwartet werden. Aus diesem Fragmentierungsmechanismus resultieren zwei Fragment-Hauptserien im PSD-Massenspektrum. Alle Fragmente der gleichen Serie enthalten die gleiche Endgruppe X bzw. Y und unterscheiden sich in der Anzahl der Wiederholungseinheiten. Diese Fragmente sind alle Lithium-Addukte, so daß die erwarteten Massen sich folgendermaßen ausdrücken lassen:

$$m/z(\text{Fragment_Serie_I}) = M_x + m \cdot 254,29 - 43,1 + 6,9 \quad \text{mit } m=0\dots n \quad \text{Gleichung 13}$$

$$m/z(\text{Fragment_Serie_II}) = M_y + m \cdot 254,29 - 15,0 + 6,9 \quad \text{mit } m=0\dots n \quad \text{Gleichung 14}$$

Dabei entsprechen M_x und M_y der Masse der Endgruppen X bzw. Y, m der Zahl der im Fragmention enthaltenen Wiederholungseinheiten, n dem Polymerisationsgrad des Mutterions, 254,29 der Masse der PCA-Wiederholungseinheit, 43,1 und 15,0 den Korrekturmassen und 6,9 der Masse des Lithium-Kations. Diese zwei Serien beschränken sich natürlich auf eine einzige Serie im Fall einer symmetrischen Struktur (d.h. gleiche Endgruppe an beiden Kettenenden). So können M_x und M_y unabhängig von einander bestimmt werden. Als Überprüfung kann anschließend ihre Summe mit dem aus dem konventionellen MALDI-TOF-Massenspektrum ermittelten Wert verglichen werden. Mit Hilfe dieser Methode sollen nun die in der Probe PCA-1 enthaltenen Strukturen aufgeklärt werden.

III.2.1.4 Anwendung der Methode zur Endgruppenbestimmung der Probe PCA-1

III.2.1.4.1 GPC-Fraktionierung der Probe PCA-1 zur Ermöglichung der PSD-Experimente

Beim einfachen Selektieren eines Signals der in Abbildung 15 dargestellten Verteilung kann zunächst kein PSD-Massenspektrum der PCA-1-Probe aufgenommen werden. Dieses Problem läßt sich durch die niedrige Signalintensität des Mutterions erklären. Der Vergleich der von PCA-1 und PCA-2 aufgenommenen MALDI-TOF-Massenspektren (s. Abbildung 15, S. 44 bzw. Abbildung 17, S. 47) zeigt die deutlich niedrigere relative Signalintensität der von Probe PCA-1 detektierten Signale, die nur ein Zehntel der Signalintensität der Probe PCA-2 erreicht. In der Tat verteilt sich der gesamte Ionenstrom im Falle der Probe PCA-2 auf die Signale nur einer Polymerverteilung, während sich bei der Probe PCA-1 der Ionenstrom über sieben Verteilungen verteilen muß, so daß die Intensität jedes einzelnen Signals kleiner wird. Beim Betrachten des PSD-Massenspektrums der in Probe PCA-2 enthaltenen Struktur **9** (s. Abbildung 18, S. 48), in dem die Intensität der Hauptfragmentionen kaum 10% der Signalintensität des Mutterions darstellt, wird deutlich, daß die von einem Peak der PCA-1-Polymerverteilung resultierenden Fragmentionen-Signale im Rauschen untergehen. Um dieses Hindernis zu umgehen, muß also die Massenverteilung bei Probe PCA-1 künstlich eingengt werden, damit das Mutterionensignal eine ausreichende Intensität für die PSD-Analytik gewinnt. Hierzu wird die PCA-1-Probe zuerst mittels GPC fraktioniert. Abbildung 24 zeigt die

MALDI-TOF-Massenspektren der GPC-Fractionen der Probe PCA-1 nach einer Retentionszeit von 97, 98 und 99 min gesammelt wurden.

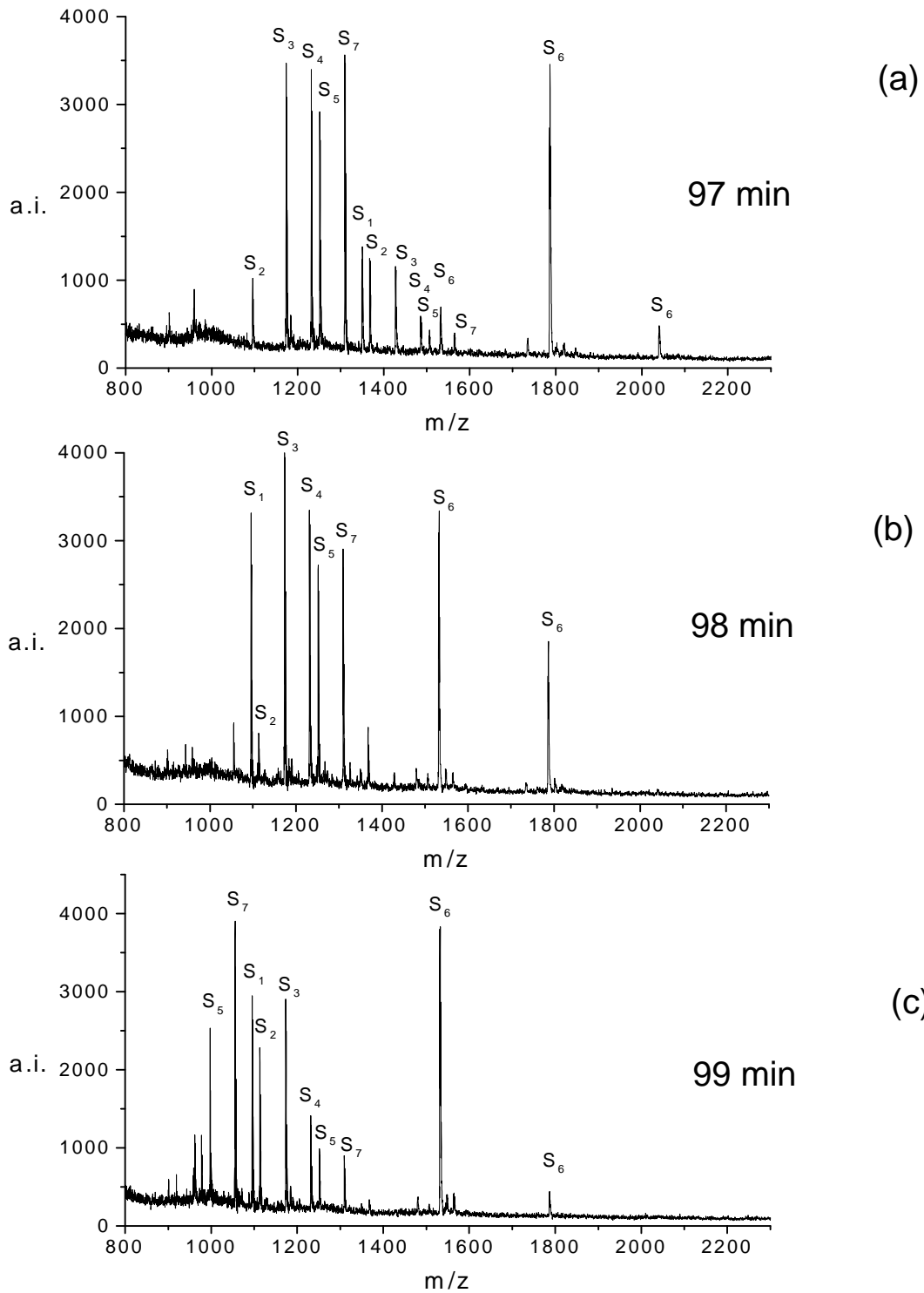


Abbildung 24: MALDI-TOF-Massenspektren der GPC-Fractionen von Probe PCA-1 mit Retentionszeiten von a) 97 min, b) 98 min und c) 99 min

Die absolute Intensität der Signale ist jetzt ausreichend, um PSD-Massenspektren messen zu können. Es ist zu betonen, daß die Signale S6 bei jeder Fraktion bei höheren Massen als die üblichen Signale auftreten. Dies läßt sich durch die entsprechende zyklische Struktur **14** erklären, die ein kleineres hydrodynamisches Volumen als die linearen Strukturen mit gleichem Polymerisationsgrad aufweist.⁶² Die zyklischen Strukturen werden deswegen durch GPC-Trennung zusammen mit linearen Ketten, die eine oder zwei Wiederholungseinheiten weniger enthalten, eluiert. Ausgehend von diesen GPC-Fractionen können nun PSD-Massenspektren gemessen werden. Zunächst soll die im Kapitel III.2.1.3 zur Endgruppenbestimmung entwickelte Methode an schon zugeordneten Strukturen überprüft werden.

III.2.1.4.2 Überprüfung der Methode mit zugeordneten Strukturen

Wie erwartet führt die in der PCA-1-Probe enthaltene Struktur **9** (s. Abbildung 16, S. 45) zum gleichen PSD-Massenspektrum wie beim PCA-2-Standard (s. Abbildung 18, S. 48). Dabei stellen sich zunächst die mit MALDI zugeordneten Endgruppen dieser Struktur, nämlich die tert-Butylphenoxy-Gruppen an beiden Kettenenden, als richtig heraus. Ebenfalls können die im Kapitel III.2.1.1 vorgeschlagenen Strukturen **11** und **13** mit Hilfe der PSD-Analyse (s. Massenspektren in Abbildung 25 bzw. Abbildung 26) bestätigt werden: die PCA-Kette ist an einem bzw. an beiden Enden mit Bisphenol A terminiert. Die PSD-Massenspektren dieser drei Strukturen deuten darauf hin, daß das Fragmentierungsverhalten der PCA-Kette trotz Veränderung der Endgruppen ungestört bleibt. Dies spricht für die Anwendung der im Kapitel III.2.1.3 entwickelten Methode, um die noch unbekanntenen Endgruppen der Strukturen **10**, **12** und **15** zu bestimmen.

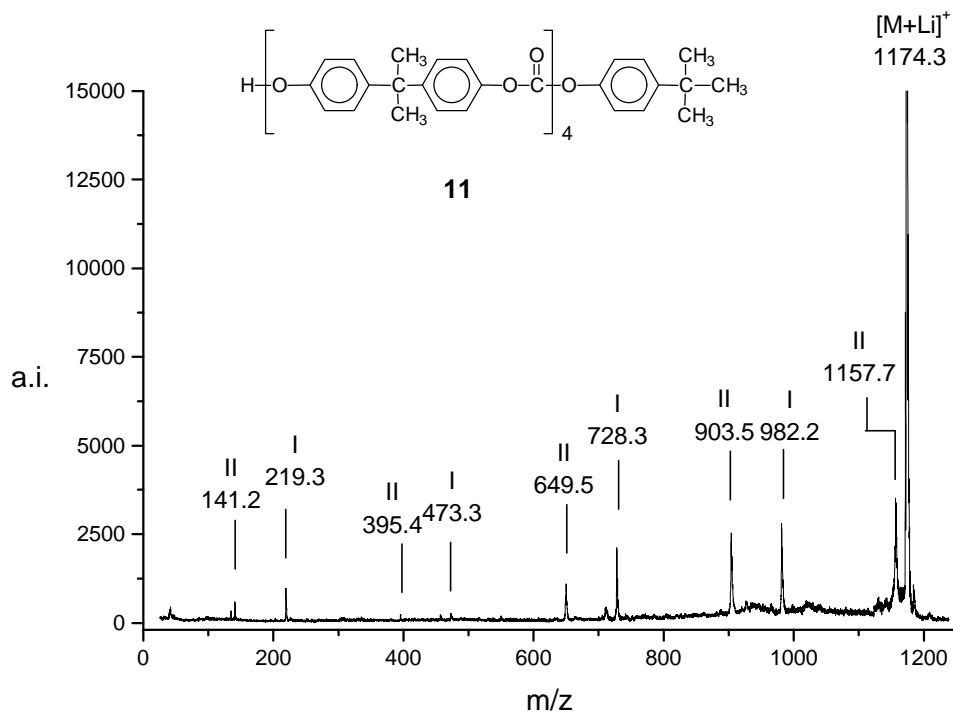


Abbildung 25: PSD-Massenspektrum des PCA-Tetramers **11**

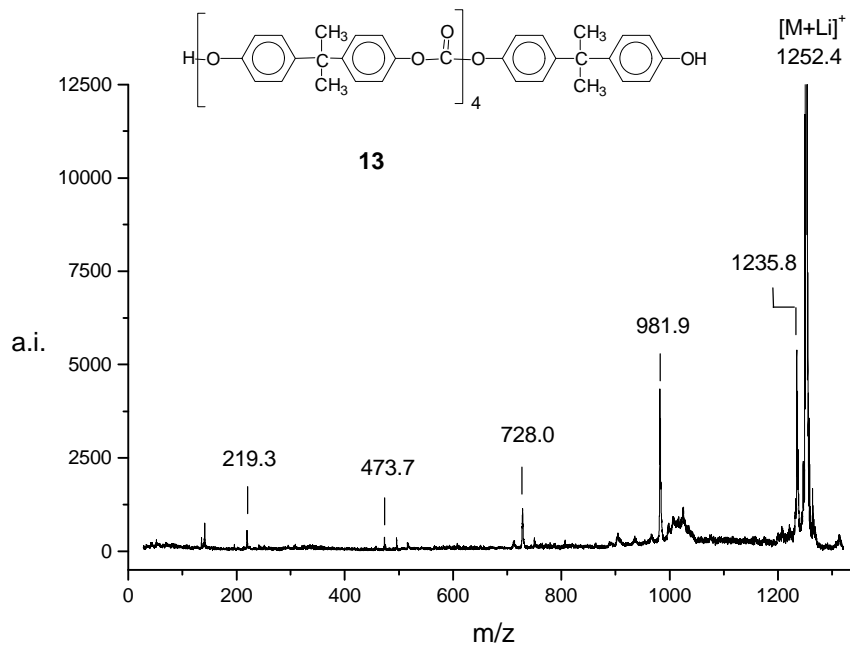


Abbildung 26: PSD-Massenspektrum des PCA-Tetramers **13**

III.2.1.4.3 Aufklärung der unbekanntenen Strukturen

Abbildung 27 zeigt das PSD-Massenspektrum des Octamers einer in der PCA-1-Probe enthaltenen Struktur **10**. Die einzige eindeutige Fragmentserie deutet auf eine symmetrische Struktur hin. Mit Hilfe der entwickelten Methode wird für die Endgruppe eine Masse von 31 g/mol berechnet, die auf eine Methoxy-Gruppe schließen läßt (Struktur **10** s. Abbildung 30). Diese unerwartete Terminierung kann nur durch Reaktion des PCA mit Methanol, das als Fällungsmittel für die Aufarbeitung des Polymers benutzt wurde, erklärt werden. Eine Veresterung des Polycarbonats mit Methanol ist aber im neutralen Medium unwahrscheinlich. Im Anschluß an die Polymerisation sollte nach der Reaktionsvorschrift die organische Phase, in der das Polymer gelöst ist, zunächst mit Natriumhydroxid dann mit Phosphorsäure und abschließend mit Wasser gewaschen werden. Vermutlich waren aber nach Waschen des Polymers noch Basen- bzw. Säurespuren vorhanden, die beim Ausfällen die Veresterung des Polymers mit Methanol begünstigen konnten.

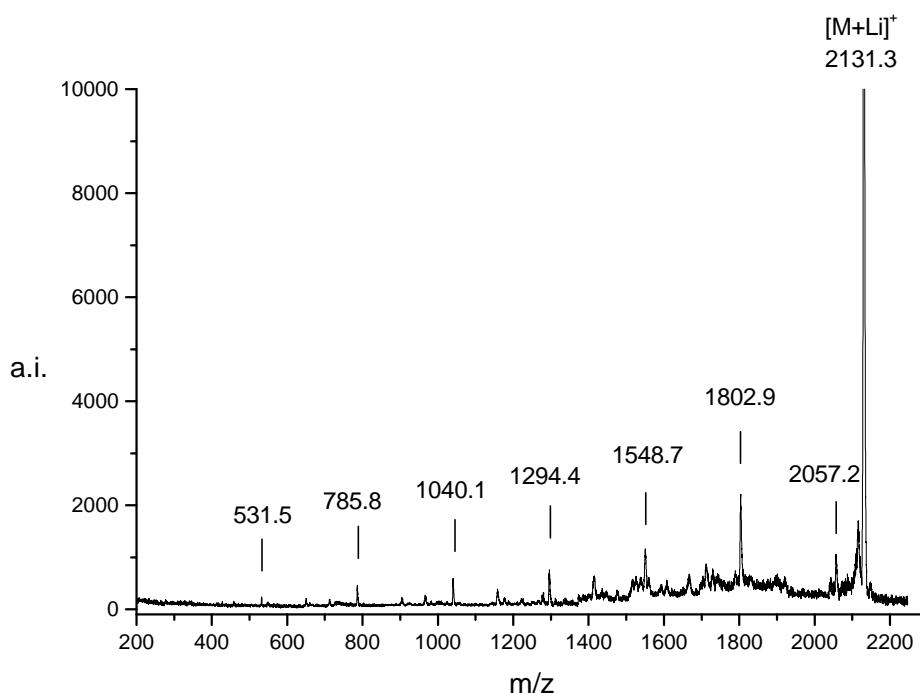


Abbildung 27: PSD-Massenspektrum des PCA-Octamers **10**

Ebenfalls wird eine Methoxy-Endgruppe bei den Strukturen **12** und **15** mit Hilfe der PSD-Analyse nachgewiesen (s. PSD-Massenspektren in Abbildung 28 bzw. Abbildung 29),

während das andere Kettenende mit t-Butylphenol bzw. Bisphenol A terminiert ist (s. Strukturformeln in Abbildung 30).

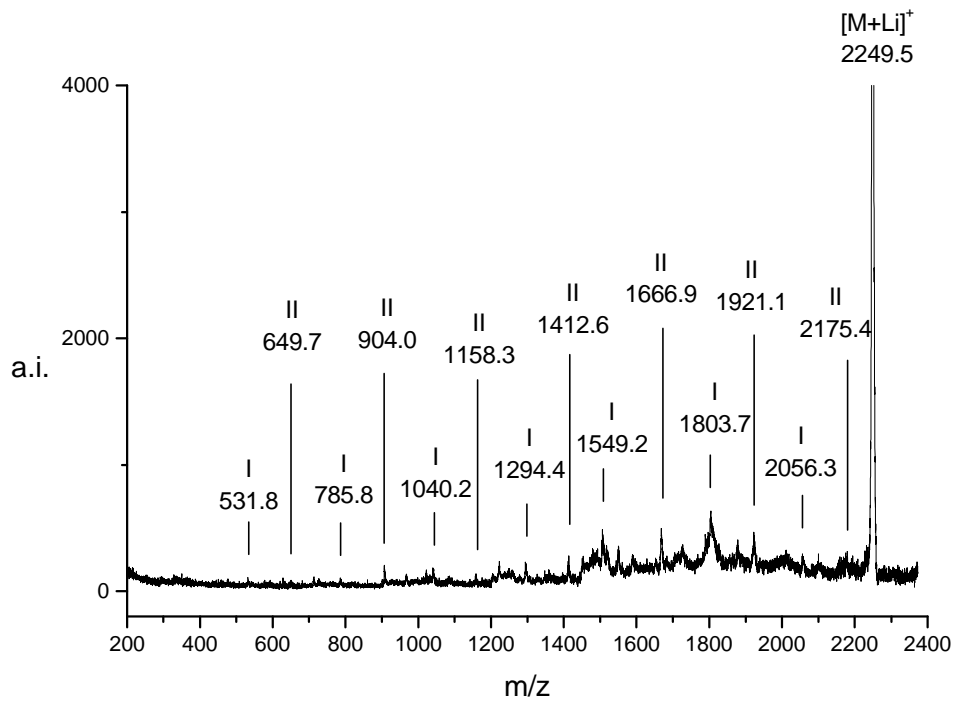


Abbildung 28: PSD-Massenspektrum des PCA-Octamers 12

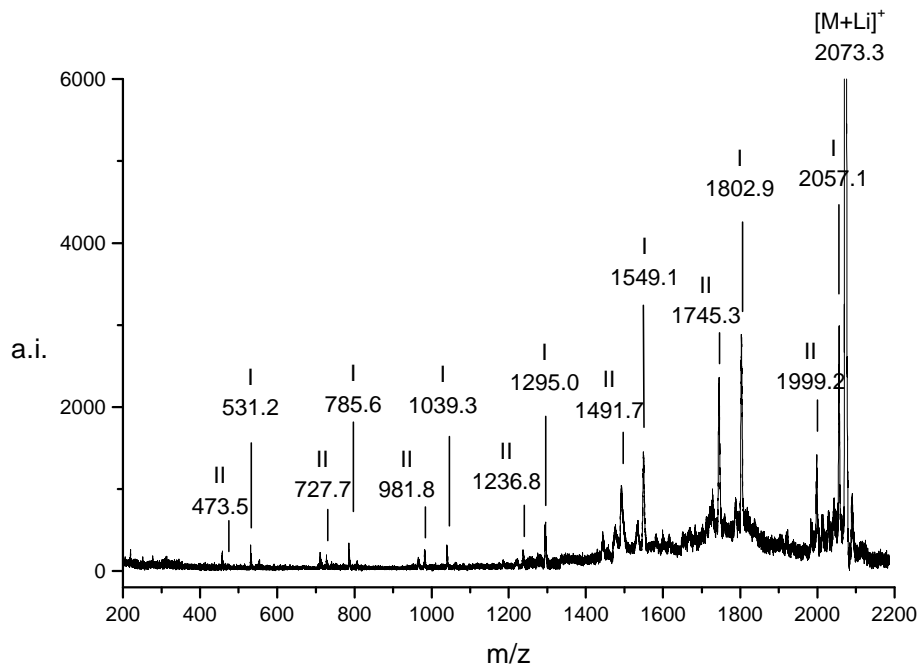
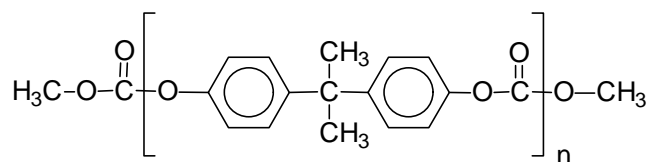
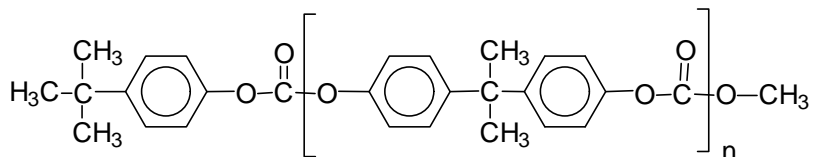


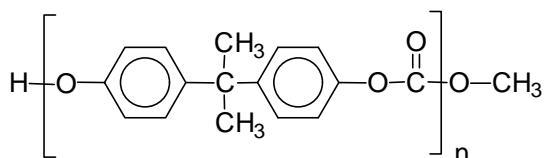
Abbildung 29: PSD-Massenspektrum des PCA-Octamers 15



10 $M=59.0+nx254.29+31.0$



12 $M=177.2+nx254.29+31.0$



15 $M=1.0+nx254.29+31.0$

Abbildung 30: Aufklärung der unbekannt Strukturen der Probe PCA-1 mittels PSD-Analyse

Beachtenswert ist die erfolgreiche Endgruppenbestimmung der Strukturen **10**, **12** und **15**, die alleine mit dem konventionellen MALDI-TOF-Massenspektrum der PCA-1-Probe nicht zuordenbar waren.

Am Beispiel der aus sieben Strukturen zusammengesetzten PCA-1-Probe konnte der Beitrag der PSD-Analyse zur Endgruppenbestimmung aufgezeigt werden. Obwohl das konventionelle MALDI-TOF-Massenspektrum die sieben Polymerverteilungen zeigen konnte, war die Information über die absoluten Massen der Polymerketten unzureichend, um alle Strukturen zu interpretieren, da nur die Summe der beiden Endgruppenmassen ermittelt wird. Erst durch Anwendung der PSD-Analyse und die Bestimmung der beiden Endgruppen unabhängig voneinander konnten die sieben Strukturen eindeutig charakterisiert werden. Diese Technik stellt eine weitere Steigerung der Leistungsfähigkeit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie auf dem Gebiet der Endgruppenbestimmung dar, während die konventionellen Charakterisierungsmethoden (NMR, UV, IR) nicht konkurrieren können, um solche komplizierten Fälle aufzuklären. Durch diesen Erfolg ermutigt, bot es sich an, die PSD-

Analyse weiter an komplizierteren Strukturen als Homopolymeren anzuwenden. Im folgenden Teil wird daher mit dieser Technik die Zusammensetzung eines Block-Copolymers untersucht.

III.2.2 Bestimmung der Zusammensetzung eines PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers mittels PSD-Analyse

III.2.2.1 Probleme bei der Ermittlung der Copolymerzusammensetzung mittels konventioneller MALDI-TOF-MS

Im Gegensatz zu Homopolymeren haben Copolymere zwei Heterogenitätsarten: zum einen eine Heterogenität im Polymerisationsgrad, wie bei Homopolymeren, und zum anderen eine Heterogenität in der chemischen Zusammensetzung (Verteilung der Comonomereinheiten innerhalb der Kette). Der Polymerisationsweg bestimmt die Zusammensetzung des Copolymers und führt zu alternierenden, statistischen oder Block-Copolymeren. Die zwei Heterogenitätstypen eines Copolymers haben kompliziertere MALDI-TOF-Massenspektren zur Folge als Homopolymere, da eine Überlappung mehrerer Peakverteilungen entsteht, die die Bestimmung der Copolymerzusammensetzung erschwert. In diesem Teil der Arbeit wird diese Problematik am Beispiel eines Diblock-Copolymers veranschaulicht, und ein möglicher Ausweg durch den Einsatz der PSD-Analyse aufgezeigt.

Das zunehmende Interesse an Block-Copolymeren liegt zum größten Teil an ihrer Phasentrennungseigenschaft.⁶³ Sequenzen mit unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung sind in der Regel unverträglich (inkompatibel) und neigen zur Phasentrennung. Die daraus resultierenden amphiphilen Eigenschaften in Lösung und die Bildung von Mikrodomänen in der Festphase sind durch die molekulare Struktur bestimmt. Es ist deshalb wichtig, das Molekül möglichst genau zu charakterisieren, um die Mikrostruktur mit der makroskopischen Struktur korrelieren zu können. Im Falle von Rod-Coil-Block-Copolymeren führt die Phasentrennung zu Domänen in einer Nanometer-Größenordnung.⁶⁴ Dies ist sogar schon bei kleinen Polymerisationsgraden, aufgrund der hohen Unverträglichkeit der Rod- und Coil-Segmente im Vergleich mit Coil-Coil-Block-Copolymeren zu beobachten. Die Rod-Coil-Block-Copolymere ordnen sich spontan in definierten und stabilen Nanostrukturen an und sind daher für elektrische und elektrooptische Anwendungen wie „Light Emitting Diodes,, (LEDs), Photodioden oder Transistoren vielversprechende

Kandidaten.⁶⁵ Für solche Anwendungen ist Poly-*para*-phenylenethinylen (PPE) als steifes Blocksegment ein guter Kandidat. PPEs besitzen in der Tat ein sehr steifes, konjugiertes π -System und haben bereits im Bereich optischer und elektronischer Bauelemente Aufmerksamkeit erregt.⁶⁶ Ausgehend von einem steifen, hydrophoben PPE-Block **20** und einem flexiblen, hydrophilen Polyethylenoxid-Block (PEO) **19** wurde in unserem Arbeitskreis ein Rod-Coil-Diblock-Copolymer synthetisiert.⁶⁷ Die Kondensation der zwei monofunktionalisierten Homopolymere ist in Abbildung 31 gezeigt. Die Synthese des Poly-*para*-phenylenethinylen-*b*-Polyethylenoxid-Diblock-Copolymers (PPE-*b*-PEO) **21** wurde von Viola Francke im Rahmen ihrer Dissertation durchgeführt.

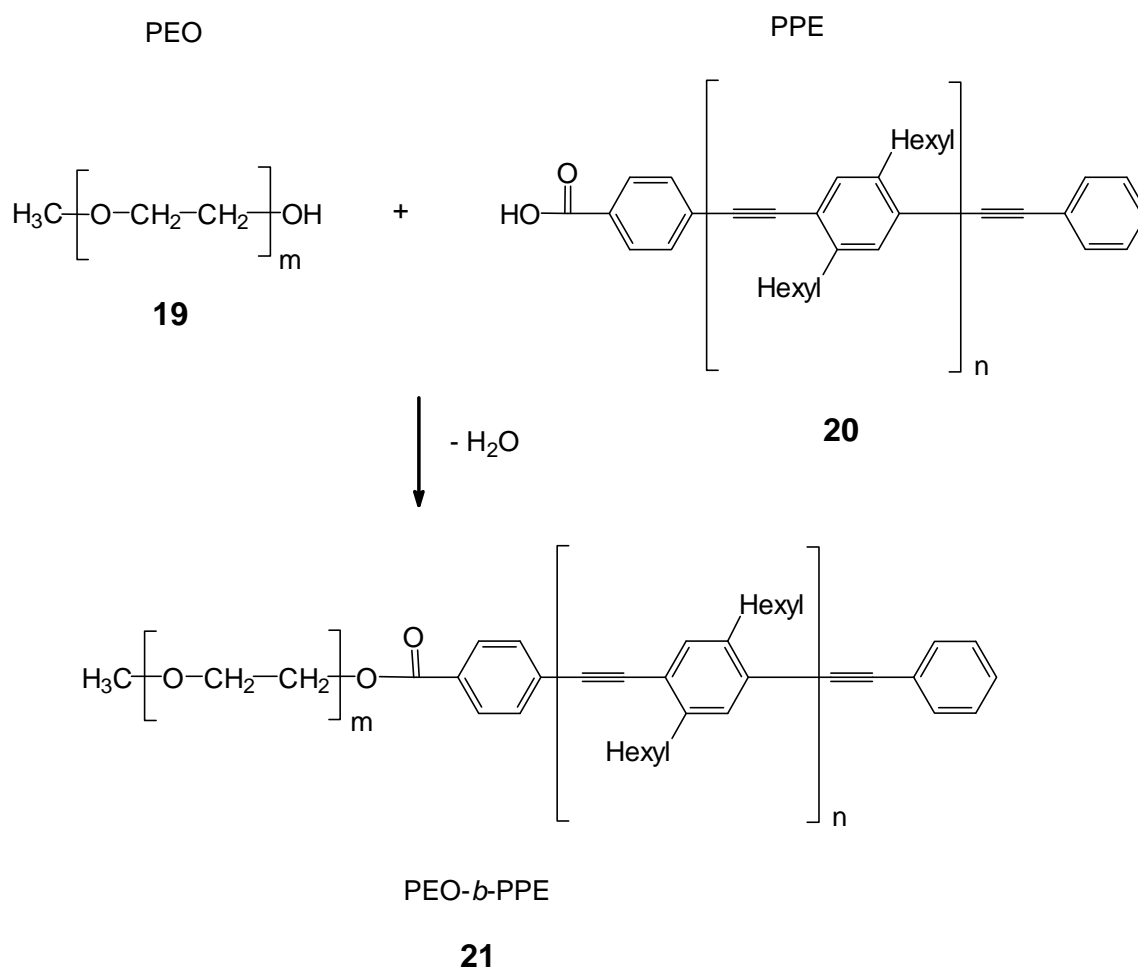


Abbildung 31: Synthese des PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21**

Das MALDI-TOF-Massenspektrum des entstandenen PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21** ist in Abbildung 32 dargestellt. Als Matrix wurde Dithranol verwendet und Kaliumtrifluoracetat als Kationisierungsreagens zugesetzt.

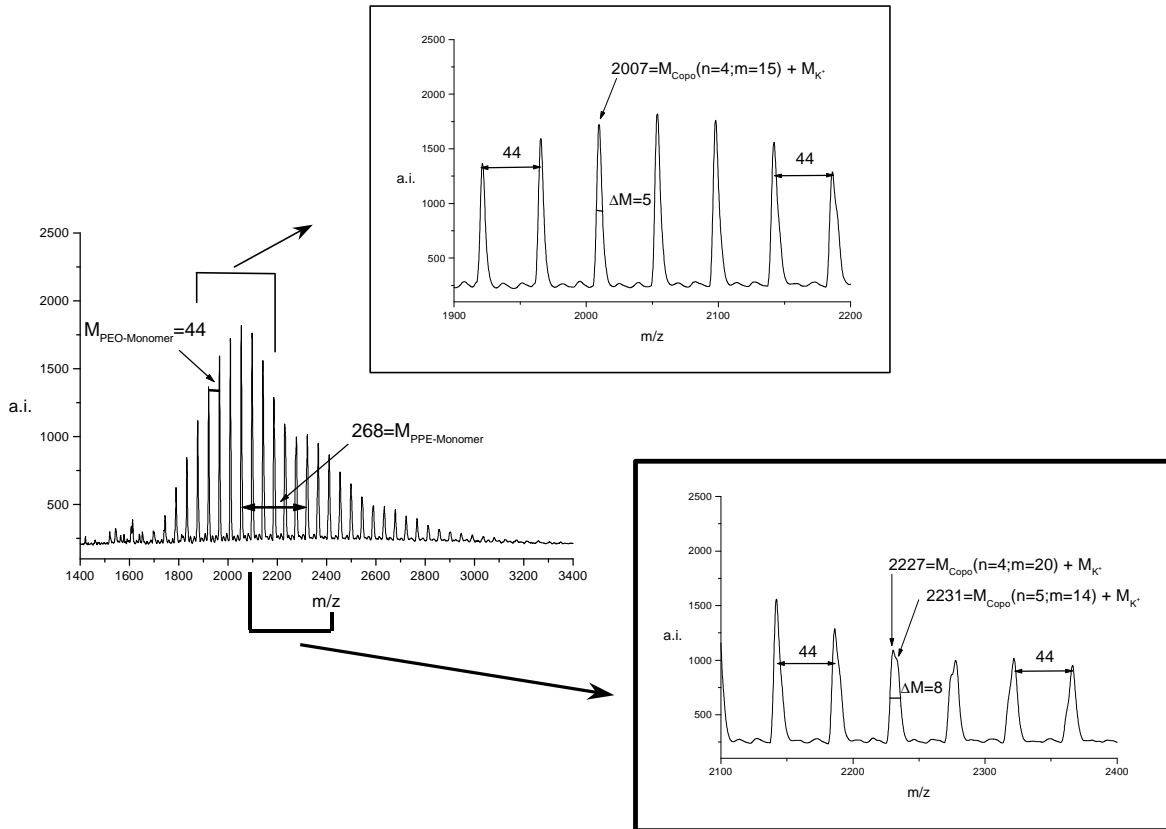


Abbildung 32: MALDI-TOF-Massenspektrum des mit K^+ kationisierten PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21** (Auflösung $m/\Delta m=400$)

Wider Erwarten wird (bei einer Auflösung von $m/\Delta m=400$) nur eine Peak-Serie festgestellt, deren Abstand zwischen zwei aufeinander folgenden Signalen einen Wert von 44 g/mol (die Masse der PEO-Wiederholungseinheit) besitzt. Bei einer näheren Betrachtung stellt sich aber heraus, daß die Masse der PPE-Wiederholungseinheit (268 g/mol) ebenfalls als Abstand zwischen den Peaks ermittelt werden kann. Außerdem fällt auf, daß die Signale bei ca 2200 g/mol viel breiter als die schmalen Peaks bei ca. 2000 g/mol sind. Wird die theoretische Masse einer Copolymer-Kette betrachtet (s. Gleichung 15), stellt sich heraus, daß eine Kette mit 20 Ethylenoxid- und 4 Phenylenethinylen-Einheiten sich von einer Kette mit 14 Ethylenoxid- und 5 Phenylenethinylen-Einheiten in der Molmasse nur um 4 g/mol

unterscheidet (s. Abbildung 32). Dies ist dadurch zu erklären, daß die Masse der PPE-Wiederholungseinheit ($M=268$ g/mol) fast sechs Mal der Masse der PEO-Wiederholungseinheit ($M=44$ g/mol) entspricht.

$$M_{\text{Copolymer}} = M_{\text{Endgruppe1}} + m \cdot M_{\text{PEO-Monomer}} + M_{\text{Spacer}} + n \cdot M_{\text{PPE-Monomer}} + M_{\text{Endgruppe2}} \quad \text{Gleichung 15}$$

$$M_{\text{Copolymer}} = 15 + m \cdot 44 + 120 + n \cdot 268 + 101$$

z.B.:

$m=20$ und $n=4$	P	$M_{\text{Copolymer}}=2188$ g/mol
$m=14$ und $n=5$	P	$M_{\text{Copolymer}}=2192$ g/mol

Die auf die Heterogenität des Copolymers zurückzuführenden Massenverteilungen überlappen sich also, so daß die Interpretation des konventionellen MALDI-TOF-Massenspektrums erschwert wird. Die PSD-Analyse könnte daher auch in diesem Fall hilfreich sein, um die Polymerstruktur aufzuklären. Dafür müssen aber zunächst Informationen über die Homopolymer-Blöcke und insbesondere über deren Fragmentierungsverhalten gewonnen werden

III.2.2.2 Charakterisierung der beiden Homopolymer-Blöcke von PPE-*b*-PEO **21** mit MALDI-TOF-MS

III.2.2.2.1 Untersuchung des PEO-Blocks **19**

III.2.2.2.1.1 Ausarbeitung der Probenvorbereitung für die Aufnahme eines MALDI-TOF-Massenspektrums

Das zur Synthese des Diblock-Copolymers **21** benutzte PEO-Homopolymer **19** wurde mit GPC charakterisiert. Anhand einer Kalibrierung mit PEO-Standards wurde ein M_n -Wert von 750 ermittelt.⁶⁷ Ein so niedriges Molekulargewicht ist für die MALDI-Charakterisierung prinzipiell ungünstig, da die Matrix-Peaks in diesem Bereich die Polymersignale überlappen können. In der Tat zeigt Abbildung 33a, daß bei einem üblichen Polymer-zu-Matrix-Mischungsverhältnis von 1:500 (bei Dithranol als Matrix) die PEO-Verteilung von den Matrix-Signalen überlappt wird. In der Literatur wurde aber bereits beschrieben, daß in bestimmten Fällen beim Erhöhen des Analyt-Anteils die Matrix-Ionen unterdrückt werden können.^{68,69,70} Dieses Phänomen ist als „Matrix-Suppression-Effekt“ bekannt. Tatsächlich zeigen Abbildung 33b und Abbildung 33c die Intensitätsminderungen der Matrix-Peaks bei Modifikation des Polymer-zu-Matrix-Mischungsverhältnisses auf 1:50 bzw. 1:10.

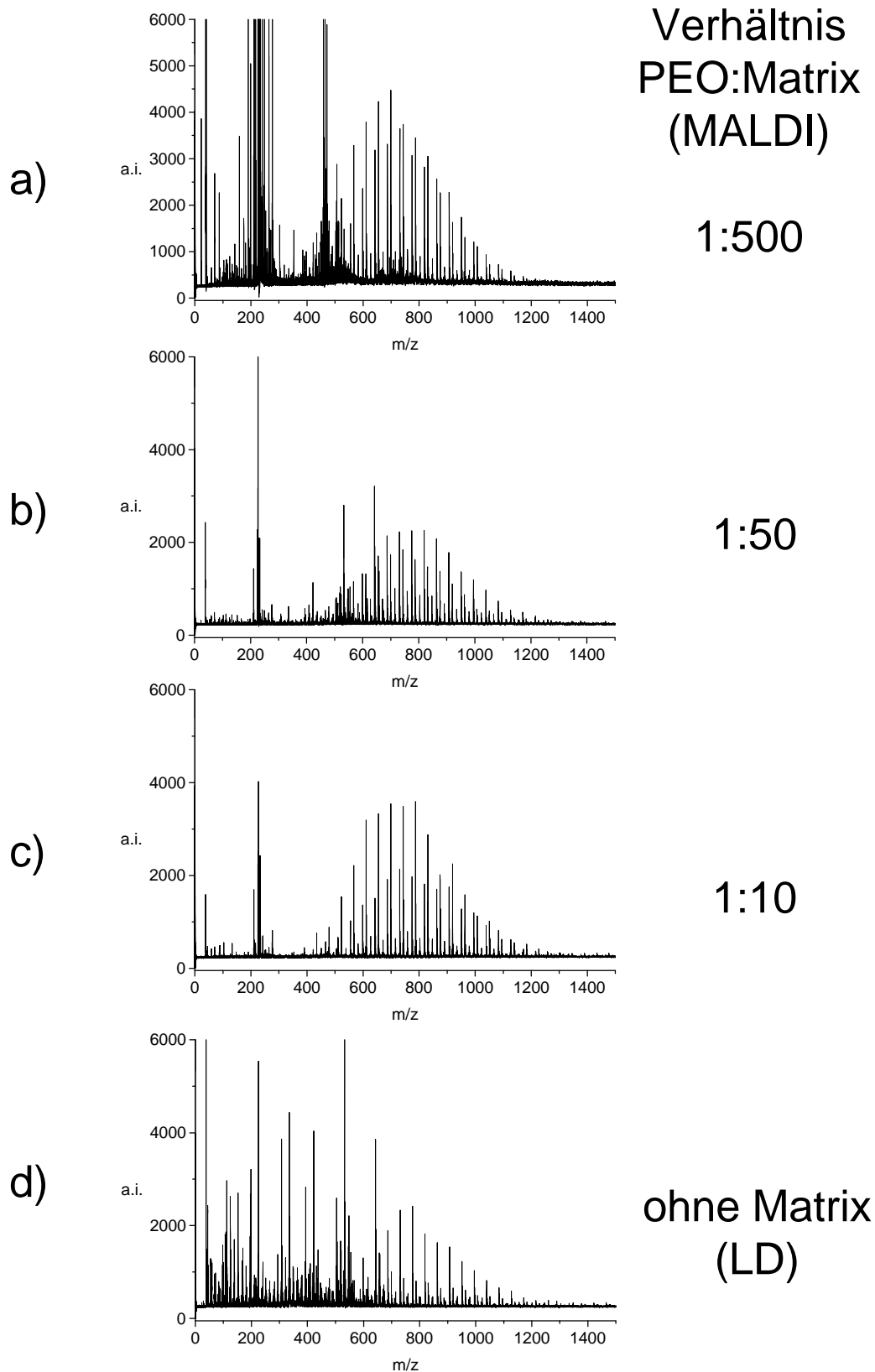
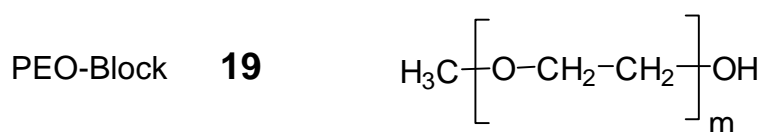


Abbildung 33: MALDI- und LD-TOF-Massenspektren des PEO-Blocks **19** mit unterschiedlichen Polymer-zu-Matrix-Mischungsverhältnissen: a) 1:500; b) 1:50; c) 1:10; d) 1:0 d.h. LD

Bei solchen Mischungsverhältnissen, die für MALDI-Messungen angesichts des geringen Überschusses an Matrix relativ ungewöhnlich sind, stellt sich die Frage, ob die Probe auch ohne Matrixunterstützung desorbiert werden kann. Eine Messung des PEO-Analyts **19** ohne Matrix zeigt das LD-Massenspektrum in Abbildung 33d. In der Tat können die PEO-Moleküle mit niedrigeren Molekulargewichten intakt desorbiert werden, wobei aber auch Fragmentierung in Kauf genommen werden muß. Dies beweist demzufolge, daß bei dem PEO/Dithranol-Mischungsverhältnis 1:10 (s. Abbildung 33c) die Desorption des PEO-Analyts bereits von der Matrix unterstützt wird. Es ermöglicht die Detektion der PEO-Verteilung ohne Überlagerung weder durch Matrix- noch durch Fragmentationensignale. Es fällt zusätzlich auf, daß bei diesen Massenspektren drei Signal-Serien für die PEO-Verteilung detektiert werden. Dies ist dadurch zu erklären, daß die PEO-Ketten zugleich mit Li^+ , Na^+ und K^+ kationisiert werden. Trotz Zugabe eines Lithium-Salzes bei der Probenvorbereitung konnte eine Kationisierung mit Verunreinigungsspuren von Natrium sowie Kalium in der Probe nicht unterdrückt werden. Dies ist allerdings für die darauffolgende PSD-Untersuchung nicht kritisch, da das zu untersuchende Mutterion mit Hilfe des elektronischen Gates ohnehin selektiert und damit „Sortenrein“ erhalten wird. Bevor das PSD-Spektrum untersucht wird, können zunächst einige Informationen über das PEO-Homopolymer **19** aus dem MALDI-TOF-Massenspektrum (s. Abbildung 33c) gewonnen werden, insbesondere hinsichtlich der Endgruppen. Die ermittelten absoluten Massen der PEO-Ketten stimmen mit der vom Lieferanten angegebenen Struktur überein, die eine Methyl- und eine Hydroxy-Endgruppe beinhaltet. Mit der Kenntnis der Struktur kann anschließend das Fragmentierungsverhalten der PEO-Kette untersucht und verstanden werden.



III.2.2.2.1.2 PSD-Untersuchung des PEO-Blocks **19**

Für die PSD-Untersuchung wird das $[\text{PEO-Li}^+]$ -Addukt mit 15 Wiederholungseinheiten (m/z 698) ausgewählt. Das aufgenommene PSD-Massenspektrum ist in Abbildung 34 dargestellt. Eine Fülle von Fragmenten, die sich bis in den niedermolekularen Bereich des Spektrums fortsetzen, können detektiert werden.

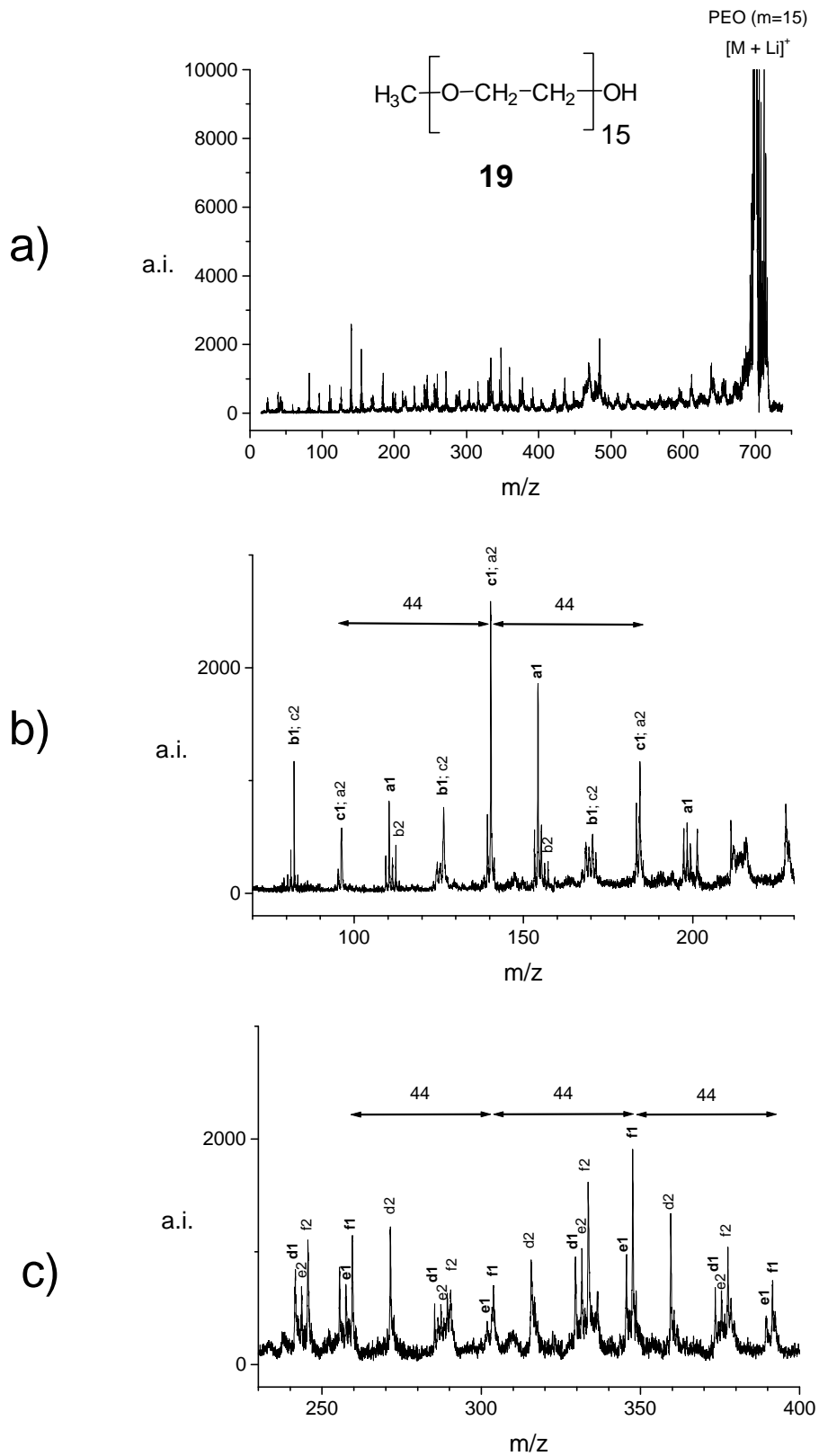
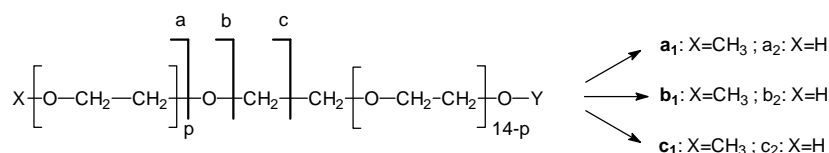


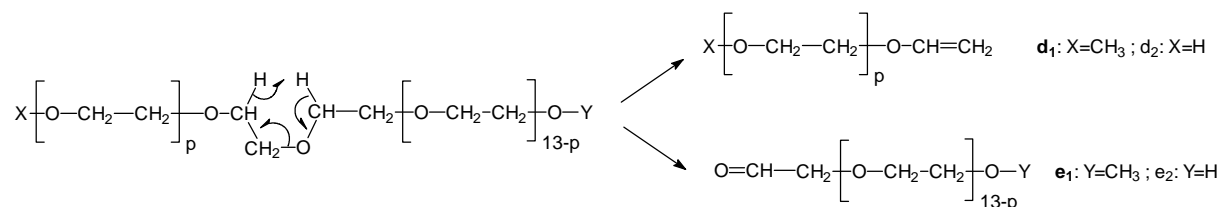
Abbildung 34: a) PSD-Massenspektrum des PEO-15-mers **19** und Vergrößerungsausschnitte b) $70 < m/z < 230$ und c) $230 < m/z < 400$

Die Fragmente enthalten alle das Lithium-Kationisierungsagenz und verhalten sich bei der Fragmentierung wie mit Alkalimetallionen kationisierte PEO-Moleküle, die sowohl mit „Fast Atom Bombardement“-Tandem-Massenspektrometrie (FAB-MS/MS)⁷¹ als auch mit MALDI-CID-MS/MS⁵⁸ bereits früher untersucht worden sind. Die Ionenserien *a*, *b* und *c* entsprechen einer homolytischen Spaltung des PEO-Oligomers in der Nähe der Kettenenden (s. Abbildung 35) während die Ionen der Serie *d*, *e* und *f* durch Umlagerungsreaktionen gebildet werden (s. Abbildung 35). Anhand dieses komplizierten PSD-Massenspektrums kann zwar die Struktur des PEO-Blocks bestätigt werden, aber umgekehrt wäre es schwierig, daraus unbekannte Endgruppen zu bestimmen.

Homolytische Spaltung der PEO-Kette:



Umlagerung mit 1,4-H₂-Eliminierung:



Umlagerung mit C₂H₄-Eliminierung:

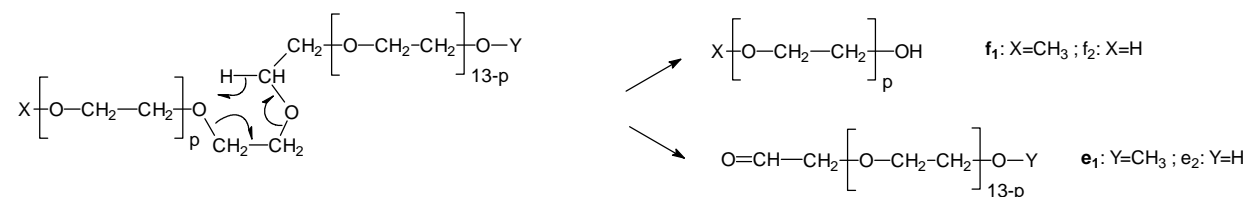
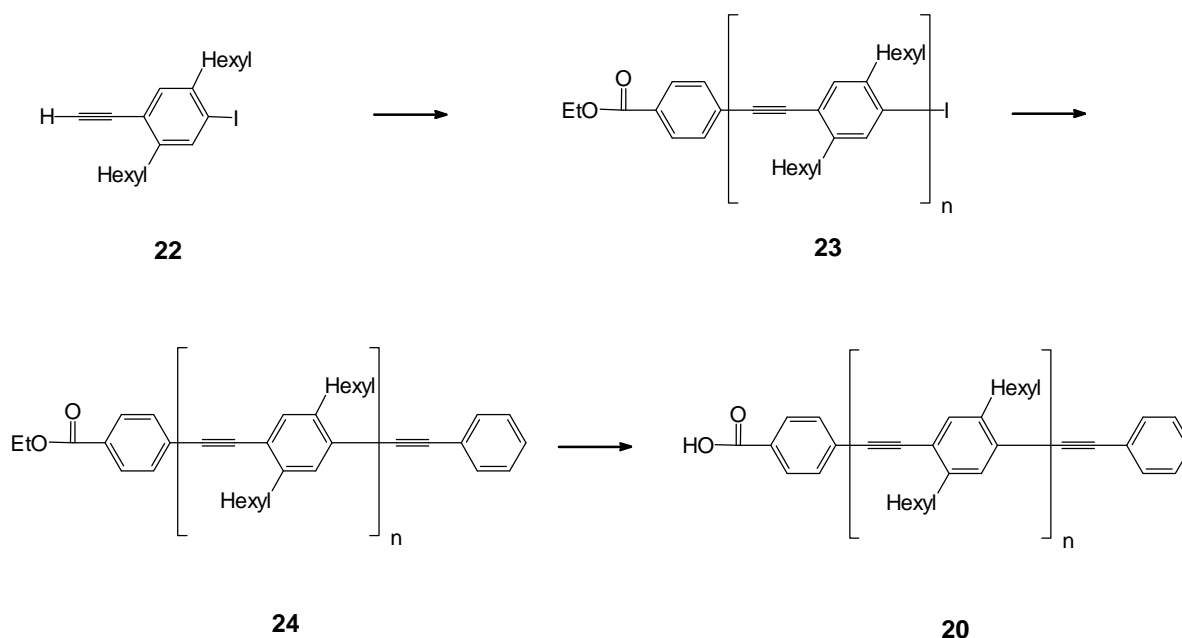


Abbildung 35: Fragmentierungsmechanismen der PEO-Kette

III.2.2.2.2 Untersuchung des PPE-Blocks **20**

Abbildung 36 zeigt die Synthese des monofunktionalisierten PPE-Blocks **20**, der durch weitere Kondensation mit hydroxy-terminierten PEO **19** zum PEO-*b*-PPE-Diblock-Copolymer **21** umgesetzt werden kann.⁶⁷ Die Kupplung des 4-Ethynyl-2,5-Dihexyliodo-benzol AB-Monomers **22** erfolgt durch die Hagiharas Reaktion⁷² unter Katalyse mit Pd(PPh₃)₄/CuI. Nach Zusatz eines Überschusses an Ethyl-4-Iodobenzoat als „End-Capping“-Reagenz und nach erfolgter Aufarbeitung wird das α -Iodo- ω -(4-ethoxycarbonylphenyl)-poly(para-2,5-dihexylphenylenethinylen) **23** dargestellt. Unter gleichen Bedingungen wird das erhaltene PPE **23** anschließend mit Phenylacetylen zur Bildung vom PPE **24** gekoppelt. Eine Entfernung der Carboxy-Schutzgruppe führt abschließend zum α -Phenylethynyl- ω -(4-carboxyphenyl)-poly(para-2,5-dihexylphenylenethinylen), dem erwünschten PPE-Block **20**.

Abbildung 36: Synthese des PPE-Blocks **20**

Die Endfunktionalisierung der PPE-Derivate konnte aufgrund des niedrigen Molekulargewichts mit ¹H-NMR sowie mit MALDI-TOF-MS verfolgt werden.⁶⁷ Es konnte somit sichergestellt werden, daß die Reaktionsschritte zu den Verbindungen **23**, **24** und **20** (s. Abbildung 36) mit nahezu quantitativen Umsatz stattgefunden haben. Abbildung 37b zeigt das MALDI-TOF-Massenspektrum des PPE-Blocks **20**. Die PPE-Oligomere werden als Radikalkationen detektiert. Dies ist eine seltene Ionisierungsart in der MALDI-Analytik und kommt bevorzugt bei Molekülen vor, die wie die PPEs bei der Wellenlänge des N₂-Lasers

(337 nm) absorbieren.^{73,74,75} Aufgrund dieser Absorption und des niedrigen Molekulargewichts kann die Probe direkt vom Laser angeregt und desorbiert und ionisiert werden, so daß ein LD-Massenspektrum der intakten Oligomere aufgenommen werden kann (s. Abbildung 37a).

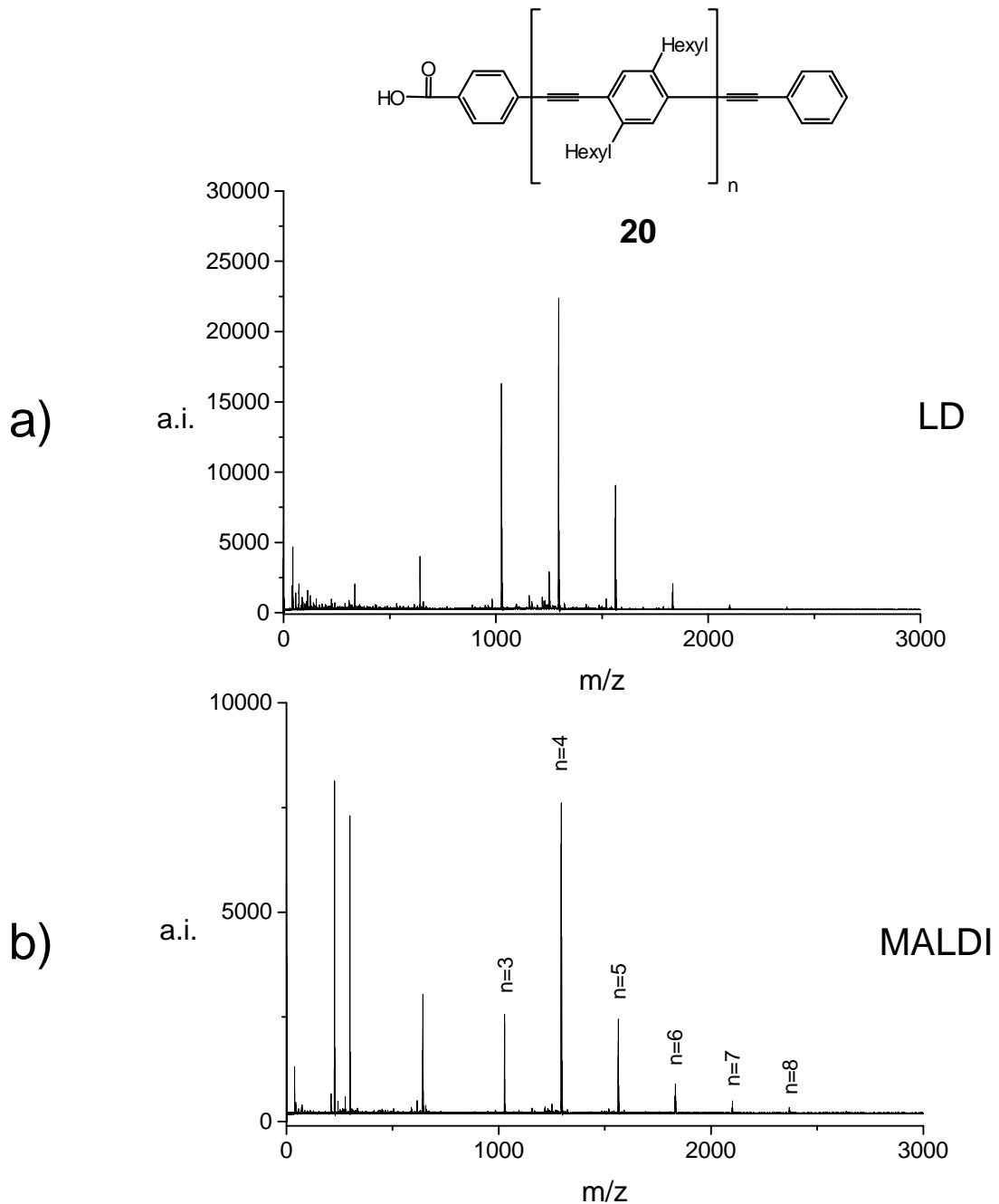


Abbildung 37: a) LD- und b) MALDI-TOF-Massenspektren des PPE-Blocks **20**

Im Gegensatz zur MALDI-Massenspektrometrie neigt die Probe jedoch zur Fragmentierung, da der LD-Prozeß nicht so schonend abläuft. Die detektierten Massen der intakten Moleküle stimmen mit den erwarteten Strukturen überein. Ausgehend von diesen definierten Strukturen kann nun das PPE-Fragmentierungsverhalten untersucht werden.

Abbildung 38 zeigt das PSD-Massenspektrum des ausgewählten PPE-Tetramers **20**. Eine Vielzahl von Fragmenten, verteilt über den ganzen Massenbereich, können detektiert werden, wodurch die Interpretation des Fragmentionen-Massenspektrums erschwert wird.

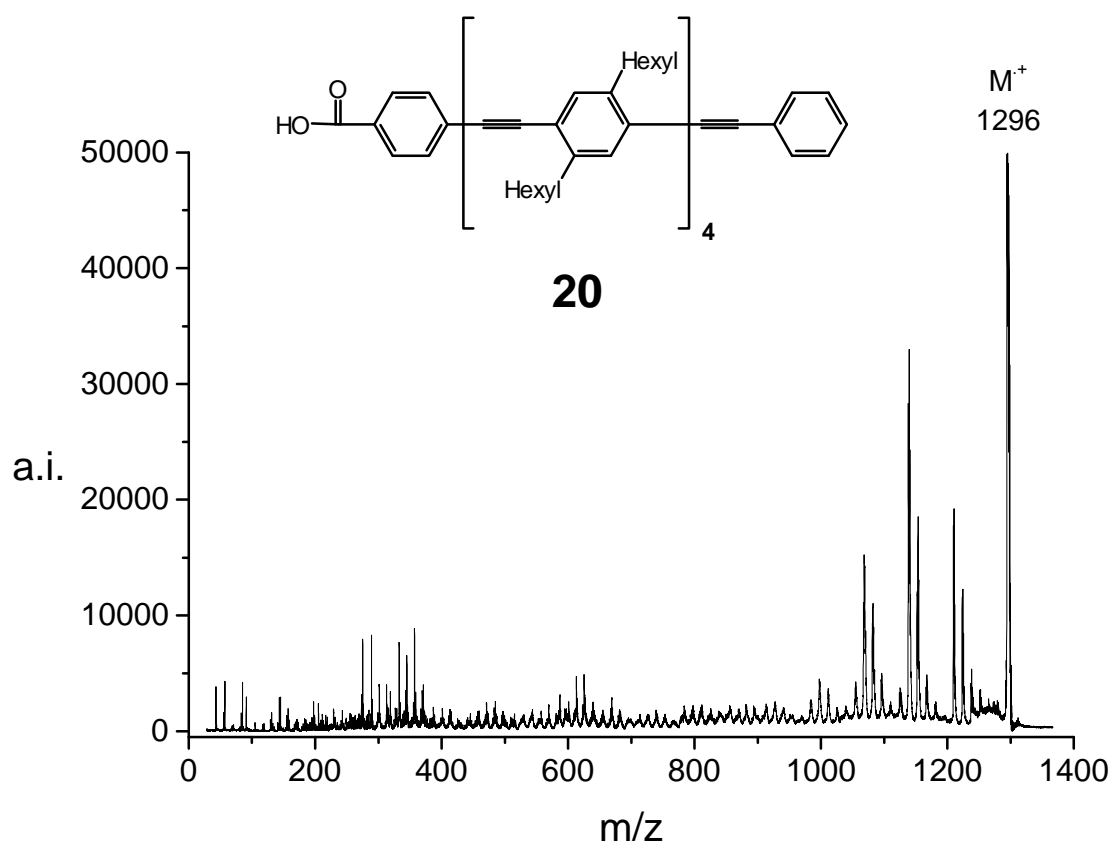


Abbildung 38: PSD-Massenspektrum des PPE-Blocks **20** mit 4 Wiederholungseinheiten

Der Vergleich dieses Massenspektrums mit den PSD-Massenspektren der anderen PPE-Derivate **23** und **24**, die sich nur in den Endgruppen unterscheiden, kann zur Zuordnung der Fragment-Signale genutzt werden. Im hochmolekularen Bereich des PSD-Massenspektrums (> 800 g/mol) sind die Abstände zwischen dem Mutterion und den Fragmenten sowohl für das

PPE **20** (s. Abbildung 39a) als auch für die Vorläufer **24** (s. Abbildung 39b) und **23** (PSD-Massenspektrum nicht abgebildet) gleich.

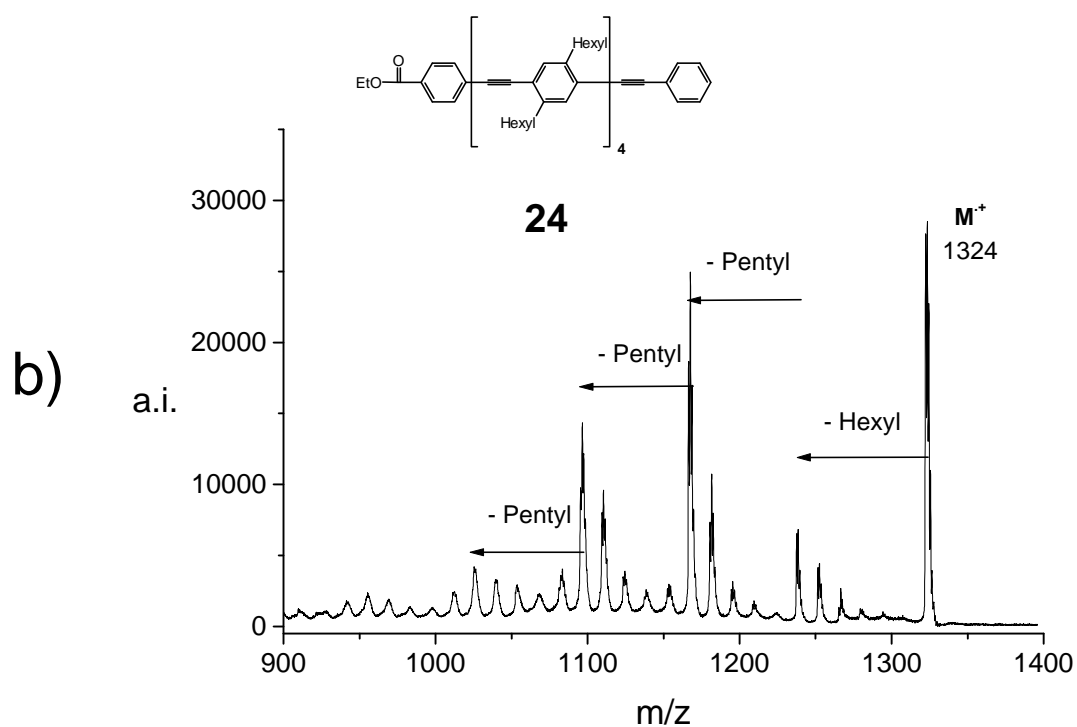
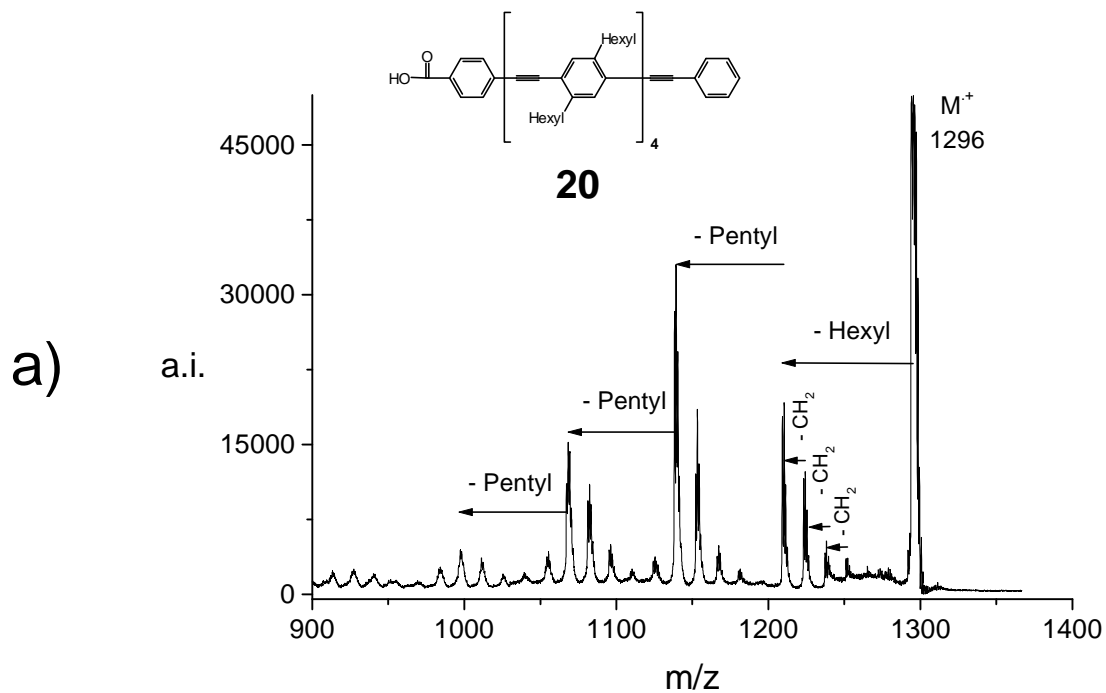


Abbildung 39: Hochmolekularer Bereich der PSD-Massenspektren von a) PPE **20** und b) dessen Vorläufer PPE **24**

Dies bedeutet, daß kein Kettenende, sondern ausschließlich Alkylseitenketten abgespalten werden. Eine Fragmentierung der Seitenketten wurde ebenfalls im MALDI-TOF-Massenspektrum von kettensteifen Tetrahydropyren-Oligomeren beobachtet.⁷⁴

Die Gegenüberstellung der PSD-Massenspektren des PPE-Blocks **20** und dessen Vorläufer **24**, die sich nur in einer der Endgruppen unterscheiden, ermöglicht es auch, Fragmente zu identifizieren, die durch Spaltung der Hauptkette entstanden sind. Diese Fragmente befinden sich im niedermolekularen Bereich des Massenspektrums (s. Abbildung 40). Die Peakserien A und C entsprechen den Fragmenten, die Benzoat- bzw. Ethoxybenzoat-Endgruppen enthalten. Signale der Serie B entsprechen den Fragmenten, die die Phenyl-Endgruppe tragen, und sind daher um 44 bzw. 72 Masseneinheiten gegenüber den Signalen der Serie A bzw. C versetzt. Die absoluten Massen dieser Fragmente stimmen allerdings nicht mit einer einfachen Spaltung der Hauptkette überein, sondern deuten auf eine zusätzliche Abspaltung hin, die mit einer Umlagerung der Seitenkette einhergeht.

Aus dem PPE-Fragment-Massenspektrum können prinzipiell die Masse der einzelnen Endgruppen ermittelt werden, jedoch erschwert die Fülle der Signale eine eindeutige Endgruppenbestimmung, wie dies auch für das PEO (s. vorheriger Abschnitt) gezeigt werden konnte. Anhand der gewonnenen Kenntnisse über das Fragmentierungsverhalten der PEO- und PPE-Blöcke (**19** bzw. **20**) kann nun die Fragmentierung des PEO-*b*-PPE-Diblock-Copolymers **21** untersucht werden.

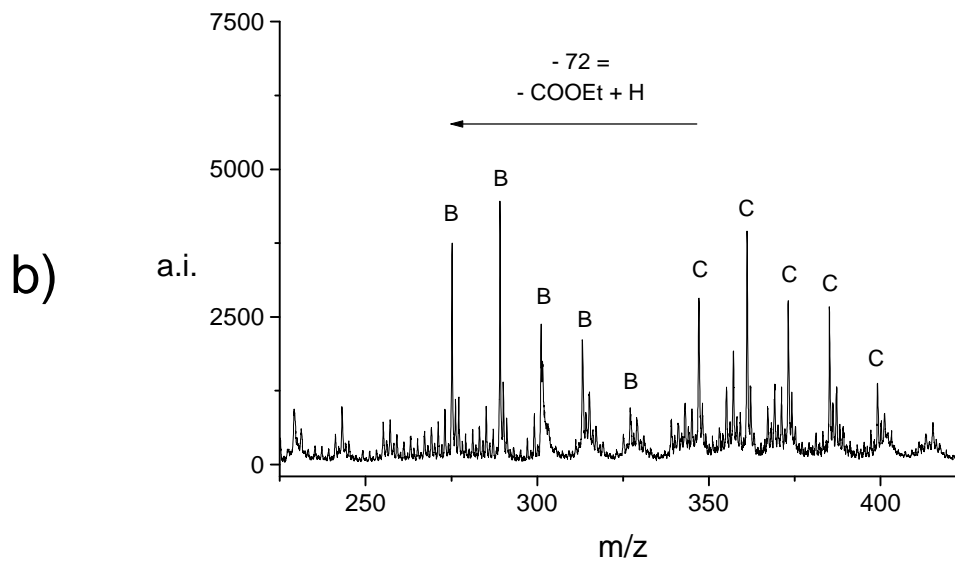
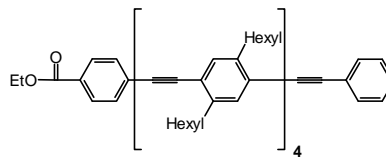
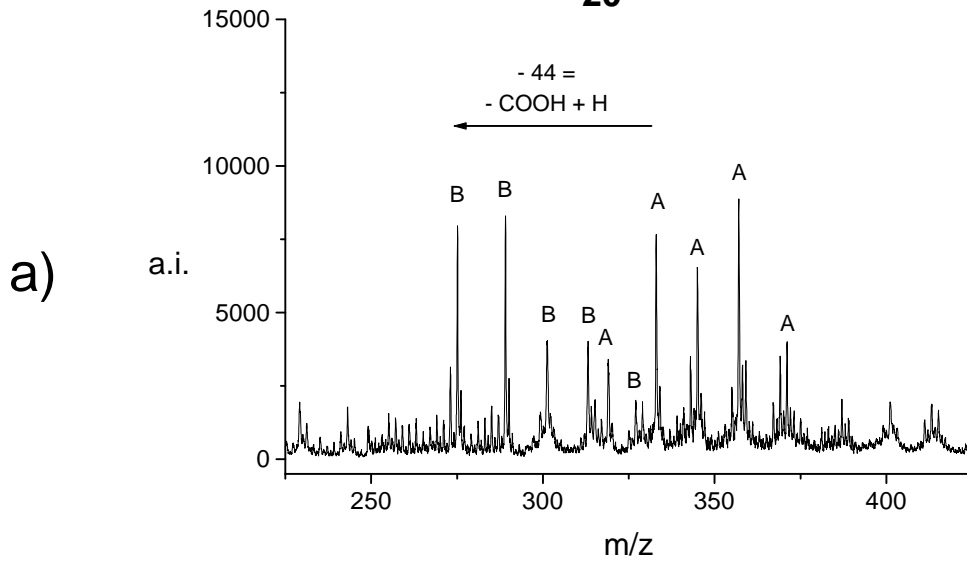
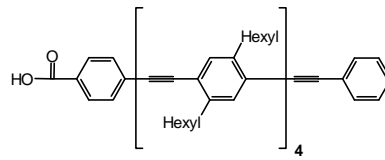


Abbildung 40: Niedermolekularer Bereich der PSD-Massenspektren von a) PPE **20** und b) dessen Vorläufer PPE **24**

III.2.2.3 Untersuchung des PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21**

Im Gegensatz zum PPE-Homopolymer **20** können die PPE-*b*-PEO-Oligomere **21** mit LD nicht als intakte Moleküle desorbiert werden. Die Matrixunterstützung ist dazu unbedingt erforderlich. In diesem Falle findet Dithranol als Matrix Verwendung. Die Ionisierung erfolgt durch Anlagerung eines Alkalimetallkations. Die Auswahl des Kations spielt für die Aufnahme eines PSD-Massenspektrums wieder eine wesentliche Rolle. Fragment-Massenspektren der Lithiumaddukte können auch bei sehr hoher Laserleistung aufgenommen werden, während bei der Messung der Natriumaddukte die Laserleistung sehr sorgfältig eingestellt werden muß. Eine zu hohe Laserleistung löst die Dissoziation des Natriumkations vom Polymer aus und liefert somit keine Informationen über Polymerfragmente. Die Laserleistung kann jedoch gerade noch so eingestellt werden, daß die Fragmentierung des Polymers ohne Dissoziation des Kations erfolgt. Dagegen reicht die für die Fragmentierung nötige Laserleistung aus, um das entsprechende Kaliumaddukt zu dissoziieren. Wie im Falle des Polycarbonats kann dieses Verhalten durch Betrachtung der Struktur des kationisierten Oligomers in der Gasphase erklärt werden. Man stellt sich das Kation derart im Polymerknäuel eingebettet vor, daß möglichst viele Heteroatome mit dem Kation wechselwirken. Aufgrund der chemischen Zusammensetzung sowie der Flexibilität des PPE-*b*-PEO Copolymers **21** befindet sich das Alkalimetallkation höchstwahrscheinlich eher in dem PEO-Knäuel als in der Umgebung des PPE-Blocks. Aufgrund seiner relativ hohen Ladungsdichte besitzt Li^+ die stärkste Wechselwirkung mit dem PEO-Oligomer. Das Addukt dissoziiert bei der in PSD-Experimenten angewendeten Laserleistung nicht. Mit steigender Masse des Kations sinkt aber die Bindungsenergie zwischen Kation und Oligomer, so daß die Dissoziation des Kations vom Oligomer mit der Fragmentierung des Oligomers konkurriert. Für das Natrium-Addukt kann noch ein Optimum für die Laserleistung gefunden werden, um die Dissoziation zu vermeiden, während das Kaliumaddukt vollständig dissoziiert. Infolgedessen wurden nur die PSD-Massenspektren des PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21** ausgehend von Li- oder Na-Addukten aufgenommen.

Abbildung 41 zeigt das PSD-Massenspektrum des PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21** mit 15 PEO- und 4 PPE- Wiederholungseinheiten. Das Oligomer ist mit Lithium kationisiert und wird bei m/z 1978 detektiert. Alle Fragmente sind Lithium-kationisiert. Das erhaltene Fragmentmassenspektrum ist im Vergleich mit den Massenspektren der Homopolymerblöcke erstaunlich einfach zu interpretieren.

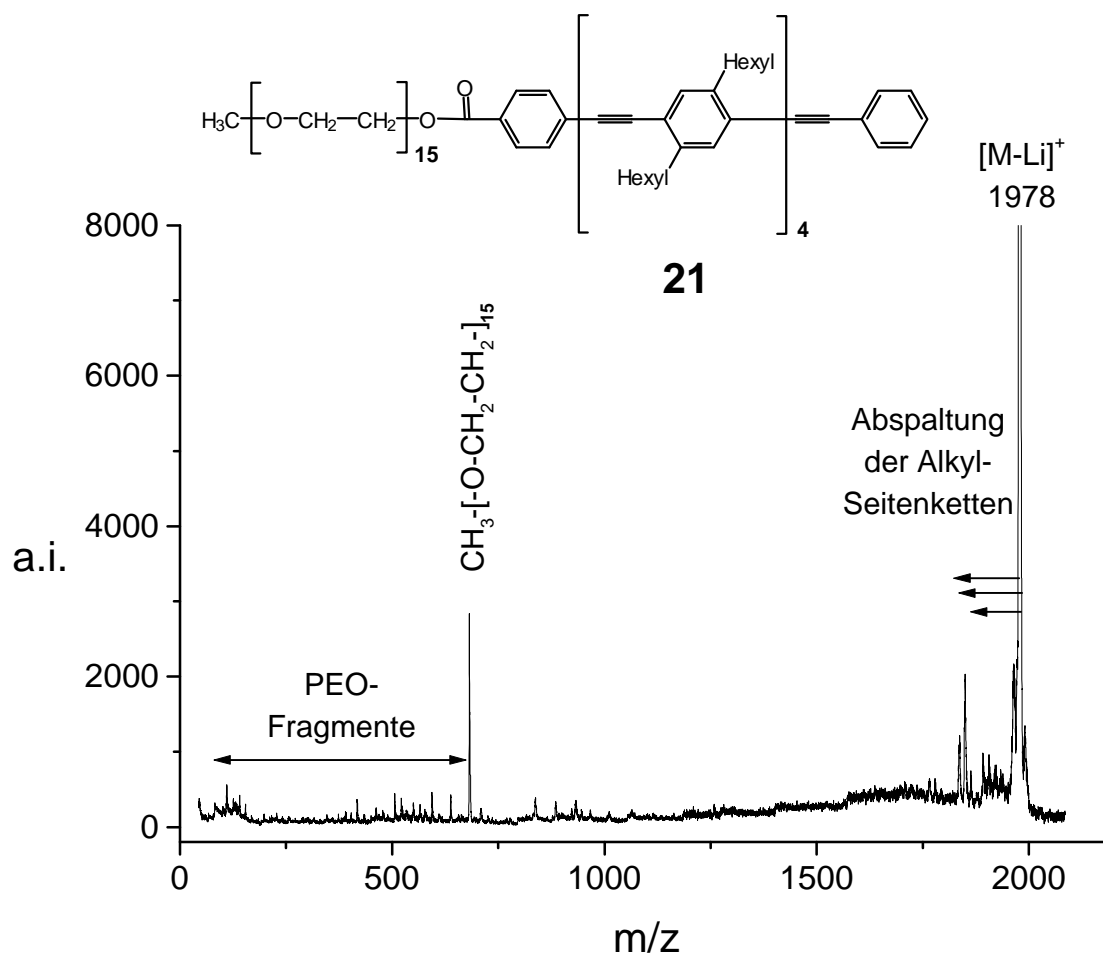


Abbildung 41: PSD-Massenspektrum des PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21** mit $n=4$; $m=15$

Im hochmolekularen Bereich treten Fragmente auf, die durch Abspaltung der Alkyl-Seitenketten entstanden sind. Ihre relative Signalintensität ist nicht so hoch wie bei dem PPE-Homopolymer **20**. Der intensivste Fragmentpeak entspricht der Masse des intakten PEO-Blocks. Die Spaltung findet an der Bindung in β -Position der Carbonyl-Funktion statt. Im

niedermolekularen Bereich findet sich das Fragmentierungsmuster des PEO-Blocks wieder. Um diese Interpretation zu überprüfen, wird als Vergleich die Fragmentierung der Copolymere mit gleicher PPE-Blocklänge, aber anderer PEO-Blocklänge betrachtet. Abbildung 42 zeigt neben dem Fragment-Massenspektrum des eben beschriebenen Oligomers ($n=4$, $m=15$) die PSD-Massenspektren der Oligomeren der Zusammensetzung: $n=4$; $m=12$ und $n=4$; $m=17$. Hierbei bestätigt es sich, daß die wahrscheinlichste Spaltung an der Grenze zwischen dem PEO- und dem PPE-Block stattfindet. Diese Beobachtung ist im Einklang mit der vorgeschlagenen Fragmentierungstheorie, die die Freiheitsgrade der Polymerkette als weiteren Parameter zur Aufklärung des Fragmentierungsverhaltens betrachtet. Der steife PPE-Block kann die Überschußenergie der Copolymerkette durch Bewegung kaum verteilen, während die Bewegung des flexibeln PEO-Blocks zunehmen kann. Eine hohe Amplitude der PEO-Bewegung führt schließlich zur Spaltung der Hauptkette an der Ester-Funktion zwischen den zwei Blöcken. Anhand des PSD-Massenspektrums kann also die PEO-Blocklänge und demzufolge auch die PPE-Blocklänge eindeutig ermittelt werden. Neben den absoluten Massen des Oligomers, die mit dem konventionellen MALDI-TOF Massenspektrum bestimmt wurden, kann außerdem aus dem PSD-Massenspektrum die Diblock-Struktur des Oligomers nachgewiesen und somit eine statistische Anordnung der Monomeren ausgeschlossen werden.

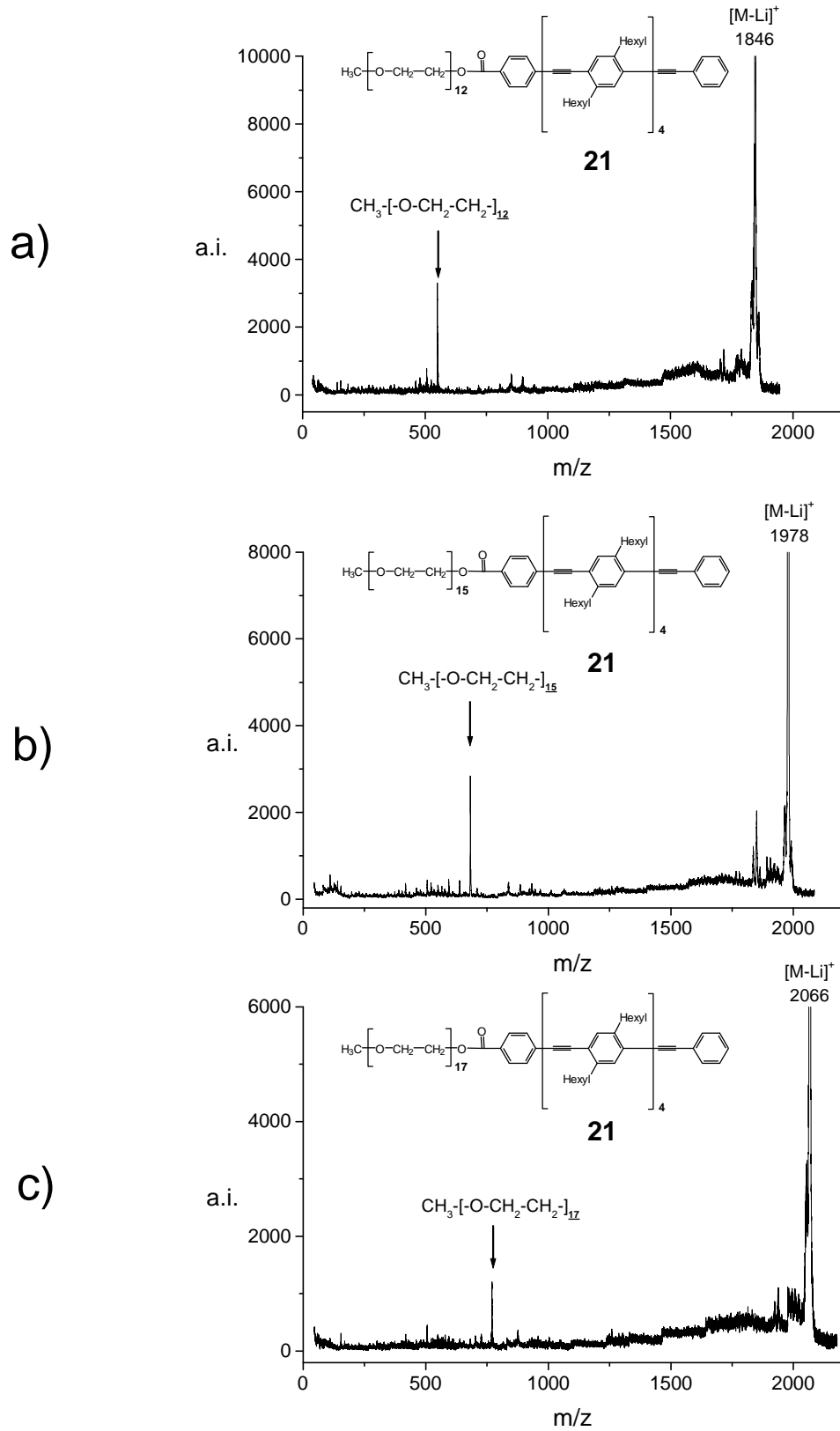


Abbildung 42: PSD-Massenspektren der PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymere **21** mit folgender Zusammensetzung: a) $n=4$; $m=12$; b) $n=4$; $m=15$; c) $n=4$; $m=17$

Diese Informationen sind besonders in dem Massenbereich nützlich, wo Oligomere mit unterschiedlichen Zusammensetzungen, aber fast gleichen Molekulargewicht detektiert werden (s. Abbildung 32, S. 69 bei ca. 2200 g/mol). Abbildung 43 zeigt das PSD-Massenspektrum, das durch gleichzeitige Selektierung der Signale bei m/z 2214 und 2218 erhalten wurde. Die Mutterionen sind mit Natrium kationisiert und könnten aufgrund ihrer absoluten Massen Oligomeren der Zusammensetzung $n=4$; $m=20$ bzw. $n=5$; $m=14$ entsprechen. Diese Vermutung kann mit dem PSD-Massenspektrum bestätigt werden. Die Fragmentsignale der PEO-Blöcke mit 14 und 20 Wiederholungseinheiten werden eindeutig detektiert.

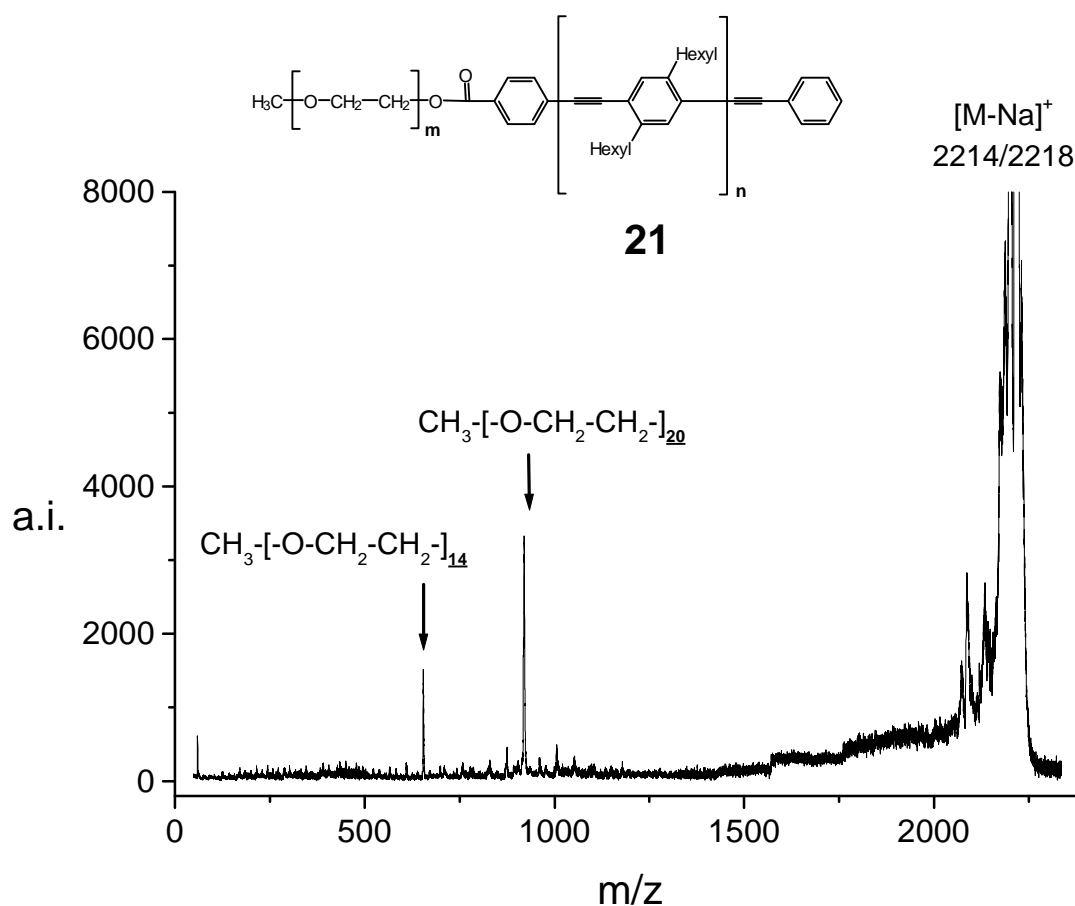


Abbildung 43: PSD-Massenspektrum von PPE-b-PEO-Oligomeren **21** mit unterschiedlichen Zusammensetzungen ($n=4$; $m=20$ und $n=5$; $m=14$), Mutterionen detektiert bei fast gleicher Masse (2214 bzw. 2218)

Auch im herkömmlichen MALDI-TOF-Massenspektrum kann eine solche Überlappung von zwei Signalen, die von Oligomeren mit unterschiedlichen Zusammensetzungen ausgelöst wurden, bei einer erhöhten Auflösung des Massenspektrometers nachgewiesen werden. In Abbildung 44 sind auf dem MALDI-TOF-Massenspektrum die Signale isotopenaufgelöst. Die Auflösung von $m/\Delta m=4000$ ermöglicht die durch unterschiedliche Zusammensetzung erhaltenen Verteilungen darzustellen. Eine auf das Massenspektrum gelegte Kurve hebt die Massen der Copolymere mit gleicher PPE-Blocklänge (n) und variierender PEO-Blocklänge (m) hervor.

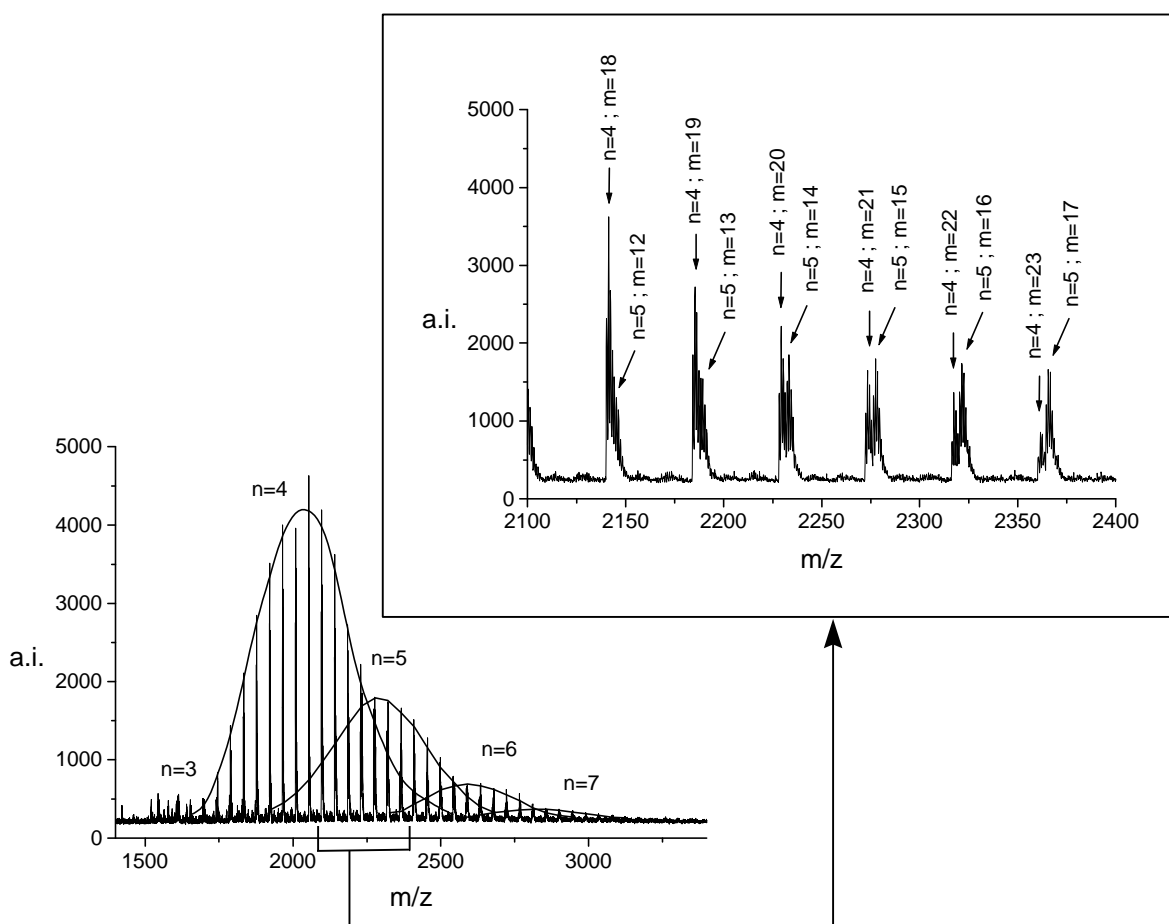


Abbildung 44: MALDI-TOF-Massenspektrum des mit K^+ kationisierten PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21** mit hoher Auflösung ($m/\Delta m=4000$)

Im Gegensatz zu der untersuchten Probe kann die Copolymer-Zusammensetzung jedoch nicht immer direkt aus dem konventionellen MALDI-TOF-Massenspektrum bestimmt werden. Im Falle eines PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers mit einem höheren Molekulargewicht würde die

Auflösung, die mit einer DE-Quelle in Verbindung mit einem TOF-Analysator schon sehr hoch ist, nicht ausreichen, um die Überlappung der Signale sichtbar zu machen. Ein anderer möglicher Fall wäre ein Diblock-Copolymer, das aus Comonomeren zusammengesetzt ist, deren Molekulargewichte entweder gleich sind oder ganzzahlige Vielfache voneinander haben, so daß selbst eine hohe Auflösung eine Differenzierung zwischen verschiedenen Zusammensetzungen nicht ermöglichen würde. Bei der Analyse eines Copolymers mit einer zusätzlichen Heterogenität der Endgruppe würde die Interpretation des MALDI-TOF Massenspektrums auch erschwert oder gar unmöglich sein. In all diesen Fällen ist dann die PSD-Analyse eine unumgängliche Methode, um die Copolymerzusammensetzung zu bestimmen.

Bei der Untersuchung dieses PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers stellt sich zusätzlich die Frage nach der Quantifizierbarkeit der Massenverteilung. Mit anderen Worten:

-Kann die Blocklängenverteilung aus den PSD- oder MALDI-TOF-Massenspektren bestimmt werden?

-Stimmen die relativen Intensitäten der Signale im Massenspektrum mit den tatsächlichen Verhältnissen in der Probe überein?

Sollte das Intensitätsverhältnis von Fragmentpeaks das Intensitätsverhältnis der entsprechenden Mutterionen widerspiegeln, könnten weitere wichtige Informationen über die Copolymer-Zusammensetzung gewonnen werden. Stimmt also in Abbildung 43 die relative Peakintensität der beiden PEO-Fragmente (mit 14 und 20 Wiederholungseinheiten), die ein Verhältnis von ca. 1:2 zeigt, mit dem Intensitätsverhältnis der überlappenden Mutterionenpeaks überein? Wenn dies der Fall ist, könnten mittels der PSD-Massenspektren Rückschlüsse auf die Mutterionenintensitäten gezogen werden. Somit könnten die Hüllkurven, die in Abbildung 44 gezeichnet sind, auch bei einer vollständigen Überlappung der Copolymer-Signale ermittelt werden. Es gibt jedoch mehrere Gründe, die dagegen sprechen. Zunächst ist die Quantifizierbarkeit im PSD-Massenspektrum durch das Prinzip der FAST-Methode nicht gewährleistet. Die PEO-Fragmente mit 14 und 20 Wiederholungseinheiten werden im PSD-Massenspektrum (s. Abbildung 43) aufgrund ihrer unterschiedlichen Massen in verschiedenen Segmenten aufgenommen. Dies bedeutet, daß sie nicht gleichzeitig gemessen werden, sondern bei verschiedenen Messungen, die sich hauptsächlich sowohl in der Reflektorspannung als auch in der durch den Laser beschossenen Stellen unterscheiden. Diese unterschiedlichen Bedingungen verbieten also den

Intensitätsvergleich zwischen den Fragmentensignalen. Jenseits dieser instrumentellen Einschränkung bleibt die Frage, ob zwei Mutterionen mit der gleichen Wahrscheinlichkeit fragmentieren. Sollte die Bildungswahrscheinlichkeit der PEO-Block-Fragmente bei unterschiedlichen Blocklängen gleich bleiben, würde das Intensitätsverhältnis der Fragmentpeaks mit dem der Mutterionpeaks übereinstimmen. Dennoch muß noch sichergestellt werden, ob die im normalen MALDI-TOF-Massenspektrum detektierte Massenverteilung des Copolymers tatsächlich der relativen Zusammensetzung der Oligomere in der Probe entspricht. Einige Argumente könnten dagegen sprechen. Zum einen ist es naheliegend, daß Oligomere, die sich in der chemischen Zusammensetzung drastisch unterscheiden (z.B. $n=3$; $m=20$ und $n=6$; $m=12$), verschiedene Desorptions- sowie Ionisationswahrscheinlichkeiten haben könnten, so daß die im MALDI-Massenspektrum abgebildeten Intensitätsverhältnisse nicht wirklichkeitstreu sind. Zum anderen könnten zusätzlich Unterschiede bei der Detektion von Oligomeren mit unterschiedlichen Molekulargewichten auftreten. Betrachtet man schließlich allein die Tatsache, daß das Molekulargewicht eines Homopolymers schon bei einer Polydispersität von 1,1 um 20% vom wirklichen Wert abweichen kann,²⁰ und wird weiterhin berücksichtigt, daß ein Copolymer zusätzlich zur Heterogenität im Polymerisationsgrad noch eine Heterogenität in der chemischen Zusammensetzung aufweist, so ist die korrekte Quantifizierbarkeit des MALDI-TOF-Massenspektrums eines Copolymers nur unter bestimmten Rahmenbedingungen möglich.

Trotz der Ungewißheit hinsichtlich der Quantifizierung von Copolymerverteilungen mit MALDI-TOF-Massenspektrometrie beweist diese Methode in Kombination mit der PSD-Analyse am Beispiel der PPE-*b*-PEO-Probe ihr Potential. Sowohl die Diblock-Stuktur als auch die Blocklängen des Copolymers können eindeutig aus den Fragment-Massenspektren ermittelt werden. Somit stellt die Fragmentionenanalytik eine weitere Steigerung der Leistungsfähigkeit der MALDI-Methode dar. Gegenwärtig kann keine andere konventionelle Charakterisierungsmethode der Polymeranalytik allein derart detaillierte Informationen liefern.

In den ersten zwei Kapiteln des Hauptteils wurde die MALDI-TOF-Massenspektrometrie soweit weiterentwickelt, daß auch in Abwesenheit konventioneller Charakterisierungsmethoden der Polymeranalytik äußerst detaillierte Informationen mit großer Zuverlässigkeit über die Struktur herkömmlicher synthetischer Polymere gewonnen werden können. In den

folgenden Teilen der Arbeit soll nun die MALDI-TOF-Massenspektrometrie für die Charakterisierung neuer, schwer nachzuweisender Verbindungen eingesetzt werden, die nicht zur Familie der herkömmlichen synthetischen Polymere gehören, jedoch bereits als Makromoleküle bezeichnet werden dürfen. Mit geladenen metallo-supramolekularen Verbindungen werden z.B. neue Makromoleküle hergestellt, die aufgrund ihrer schwachen intramolekularen Bindungskräfte sowie ihrer Ladung nur schwer nachzuweisen sind. Es soll nun untersucht werden, inwieweit die MALDI-TOF-Massenspektrometrie für die Charakterisierung solcher Verbindungen eingesetzt werden kann und welcher Gesetzmäßigkeit ihrer MALDI-Analytik unterliegt.

III.3. Charakterisierung metallo-supramolekularer Verbindungen mit MALDI-TOF-MS

III.3.1 Problematik der Charakterisierung Metallo-supramolekularer Verbindungen

Im Gegensatz zur „klassischen“ molekularen Chemie, in der die kovalente Bindung im Mittelpunkt steht, befaßt sich die supramolekulare Chemie mit der Kontrolle nicht-kovalenter, zwischenmolekularer Kräfte. Die „Übermoleküle“ bestehen aus konventionellen Molekülen (Bausteine), die durch zwischenmolekulare Bindungen in einer räumlich definierten Weise zusammengehalten werden.⁷⁶ Die Wechselwirkung organischer und anorganischer Komponenten, die sich zu vorprogrammierten Überstrukturen selbstorganisieren, ist gegenwärtig ein Forschungsschwerpunkt der supramolekularen Chemie.⁷⁷ Anorganische Überstrukturen bilden sich spontan durch die Koordination maßgeschneiderter Liganden an ausgewählten Metallzentren. Dieses Forschungsgebiet wird als „metallo-supramolekulare Chemie“ bezeichnet. Die bei solchen Überstrukturen implizierten Bindungsenergien liegen zwischen denen von Kovalentbindungen und schwachen intermolekularen Wechselwirkungen wie elektrostatischen Kräften, Wasserstoff-Brücken-Bindungen oder Van der Waals-Wechselwirkungen. Durch die Verschiedenartigkeit sowohl der multidentalen Liganden als auch der Metallzentren stellen die potentiellen metallo-supramolekularen Strukturen eine umfangreiche Substanzklasse dar. Die Bestimmung der Struktur und der Molekülmasse solcher durch Selbstorganisation entstandener Aggregate gehört aber zu den schwierigsten Aufgaben auf diesem Gebiet.

Die verhältnismäßig große Labilität der supramolekularen Verbindungen, die durch die niedrige Energie der nicht-kovalenten Wechselwirkungen bedingt ist, erschweren deren Charakterisierung und beschränken die Zahl der einsetzbaren Analysemethoden. Die konventionellen Molmassenbestimmungsmethoden für kovalent gebundene Makromoleküle wie Osmometrie oder GPC sind bei geladenen metallo-supramolekularen Verbindungen nicht anwendbar. Die Osmometrie beruht auf den kolligativen Eigenschaften, so daß der Dissoziationsgrad der Makromoleküle bei der Auswertung bekannt sein muß. Da der Dissoziationsgrad von geladenen Strukturen meist unbekannt ist, kann ihre Masse aus osmometrischen Experimenten nicht ermittelt werden. Bei der GPC sind Wechselwirkungen

mit dem Säulenmaterial nicht auszuschließen, und es liegen keine geeigneten Standards für die Kalibrierung vor. Die geladenen Metallosupramoleküle können allerdings mit der analytischen Ultrazentrifugation nachgewiesen werden.⁷⁸ Die analytische Ultrazentrifugation ist eine der ältesten Methoden der Polymercharakterisierung, wird aber in der Polymerwissenschaft nur noch selten benutzt.¹ Sie wird nur für spezielle Fragestellungen, bei denen übliche Charakterisierungsmethoden scheitern, noch angewendet. Die Ursachen dafür sind besonders die langen Meß- und Auswertezeiten sowie der doch erhebliche experimentelle Aufwand. Die Struktur der Metallosupramoleküle im Festkörper kann mit der Röntgenstrukturanalyse charakterisiert werden. Dazu ist es allerdings erforderlich, ausreichend große Einkristalle der zu untersuchenden Substanz zu erzeugen. Geeignete Einkristalle sind aber wegen der meist großen Hohlräume in diesen Systemen oft nur schwierig zu erhalten. Werden Einkristalle dennoch erhalten, verlieren sie außerdem in der Regel schnell das eingeschlossene Lösungsmittel und zerfallen zu amorphem Material, wenn sie aus der Mutterlauge herausgenommen werden.⁷⁹ Aus diesem Grunde wird eine alternative Methode gesucht, um die Existenz des Komplexes schnell nachzuweisen, bevor aufwendigere Methoden weiter eingesetzt werden. Prinzipiell könnte sich die MALDI-TOF-MS eignen, die schon bei der Charakterisierung anderer nicht-kovalent gebundener Verbindungen erfolgreich eingesetzt wurde.^{80,81,82,73} Dafür muß allerdings ein milder Desorption-Prozeß gewährleistet sein, damit die metallo-supramolekulare Struktur aus der Festphase intakt in die Gasphase überführt wird. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Charakterisierungsmöglichkeit metallo-supramolekularer Komplexe mit der MALDI-TOF Massenspektrometrie anhand zweier Verbindungsklassen untersucht: Zum einen wurden gitterartige Komplexe und zum anderen makrozyklische Quadrate untersucht.

III.3.2 Charakterisierung gitterartiger metallo-supramolekularer Verbindungen mit MALDI-TOF-MS

Gitterartige metallo-supramolekulare Komplexe, die aus kondensierten Bipyridin- und Pyrimidineinheiten bestehen, sind erst seit kurzem bekannt (s. Abbildung 45).⁸³ Jedes Metallzentrum steht an der Kreuzung zweier Liganden und ist mit sechs Stickstoff-Donor-Atomen in einer beinahe oktaedrischen Geometrie umgeben. Die positiven Ladungen sind mit acht Gegenionen neutralisiert. Die Bildung der gitterartigen [2x2]-Komplexe erfolgt spontan bei Zugabe der Metall(II)-Ionen zu einer methanolischen Lösung des Liganden. Erkennbar ist

die Komplexbildung an einer schlagartigen Braunfärbung der Lösung. Die Metalle werden in Form ihrer Acetat-Salze eingesetzt. Die Acetat-Gegenionen ermöglichen die Lösung des Komplexes in Methanol. Durch Zugabe eines Überschusses von Ammoniumhexafluorophosphat werden die Acetat- gegen PF_6^- -Gegenionen ausgetauscht, der Komplex ist dann nicht mehr in Methanol löslich und fällt als brauner Feststoff aus.

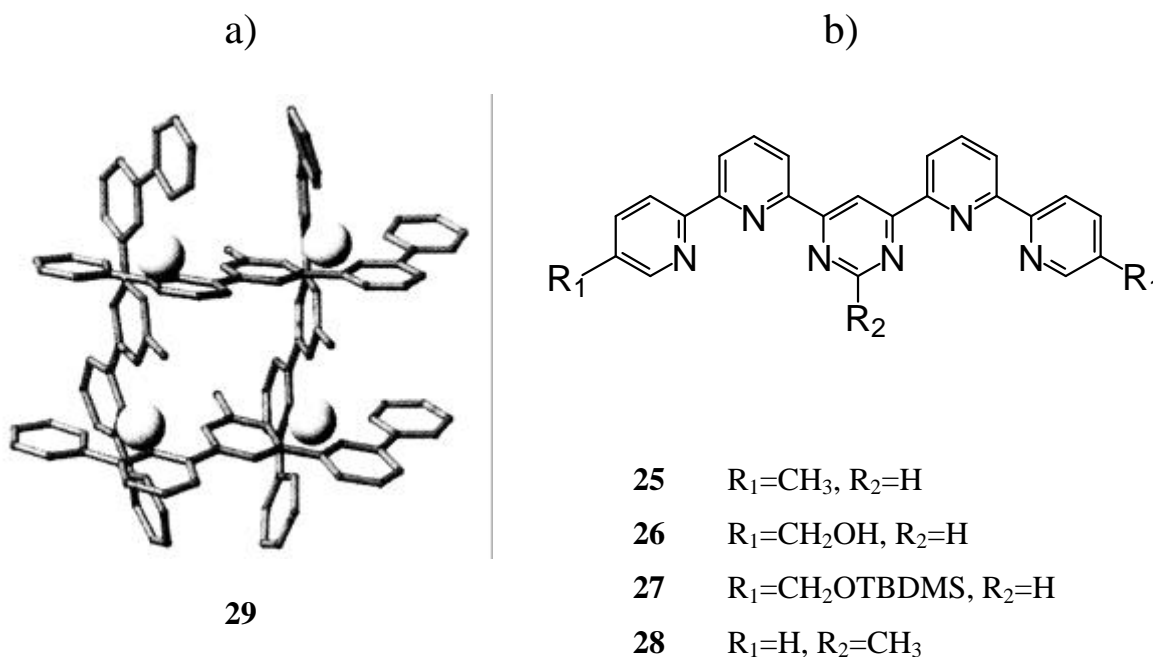


Abbildung 45: (a) Kristallstruktur des Co -[2x2]-Gitters **29** ($\text{R}_1=\text{H}, \text{R}_2=\text{CH}_3$). (b) Bis(bipyridyl)-pyrimidinliganden **25-28**

Die Metallionen koordinieren nicht nur die Liganden und ordnen diese räumlich an, sondern führen darüber hinaus elektrochemische,⁸⁴ magnetische⁸⁵ und photochemische Eigenschaften ein, so daß die letztendlich entstehende Struktur eine bestimmte Funktionalität erhält, die zur Entwicklung anorganischer molekularer Bausteine genutzt werden kann. Insbesondere planen die kooperierenden Arbeitsgruppen von Prof. J.-M. Lehn (*Université Louis Pasteur, Strasbourg*) und Dr. U. Schubert (*Technische Universität München*) aus solchen [2x2]-Gittern das Design von anorganischen, zweidimensionalen, supramolekularen [n x m]-Netzwerken. Ein möglicher Lösungsansatz zum Aufbau solcher Überstrukturen besteht in 2-D-Assemblies (durch Wasserstoffbrücken) oder in kovalenter Polymerisation einzelner gitterartiger Metallkomplexe (s. Abbildung 46). Kürzlich ist es gelungen, den mit einer

Hydroxymethylgruppe in der 5-Position der terminalen Pyridine funktionalisierten Liganden **26** (s. Abbildung 45) zu synthetisieren.^{86,87} Damit wurde eine Gitterstruktur aufgebaut, die insgesamt acht Hydroxy-Gruppen trägt. Dadurch sollte eine Erweiterung dieser metallo-supramolekularen Systeme zu ausgedehnten 2D-Assemblies bzw. Polymeren möglich sein.

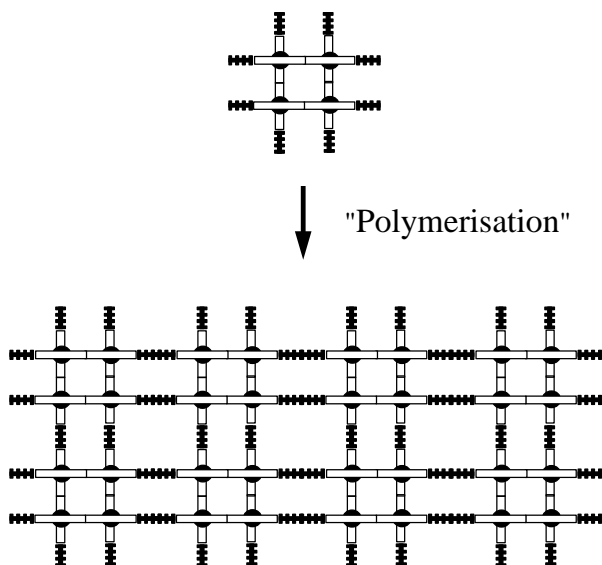


Abbildung 46 „Polymerisation“ (kovalent oder nicht kovalent) der fertigen supramolekularen Bausteine zu geordneten Überstrukturen

Um die Optimierung der Synthese der [2x2]-Gitter zu unterstützen, wurde für eine schnelle Charakterisierung die MALDI-TOF-Massenspektrometrie eingesetzt. Die Analyten wurden von Christian Weidl⁷⁸ (Arbeitskreis von Dr. U. Schubert, *Technische Universität München*) zur Verfügung gestellt. Die analytische Arbeit bestand in der Untersuchung dieser durch Selbstorganisation entstandenen Komplexe mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie. Es galt insbesondere, ausreichend schonende MALDI-Bedingungen zu finden, um die labile Überstruktur der [2x2]-Gitter intakt aus der Festphase in die Gasphase zu überführen.

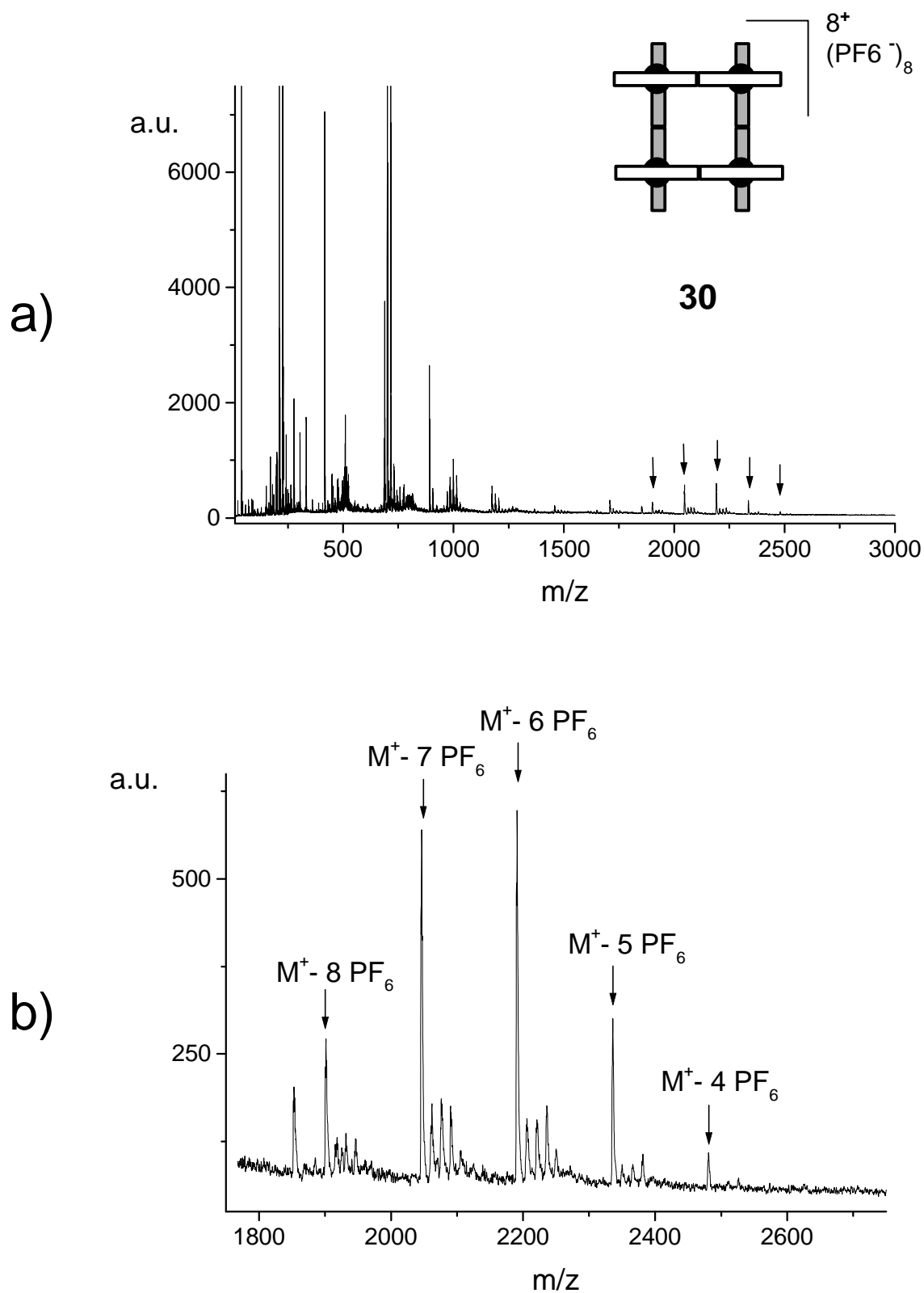


Abbildung 47: (a) MALDI-TOF-Massenspektrum des mit Dithranol gemessenen [Co₄(25)₄](PF₆)₈-Komplexes **30**. (b) Ausschnitt 1750 < m/z < 2750: Verlust von 4 bis 8 PF₆-Gegenionen

Tabelle 4: Berechnete und aus dem Massenspektrum (s. Abbildung 47) gemessene Masse-zu-Ladungsverhältnisse der $[Co_4(25)_4](PF_6)_x$ -Komplexe bei dem Verlust von PF_6 -Gegenionen aus dem $[Co_4(L_1)_4](PF_6)_8$ -Komplex 30

x	berechnet			gemessen
	m	z	m/z	m/z
7	2916,42	1	2916,42	-
6	2771,46	2	1385,73	-
5	2626,49	3	875,50	-
4	2481,53	4	620,38	2480,9
3	2336,57	5	467,31	2336,1
2	2191,60	6	365,27	2191,2
1	2046,64	7	292,38	2046,3
0	1901,67	8	237,71	1901,6

Die Interpretation des Ionisierungsmechanismus der $[2 \times 2]$ -Gitter zeigt, daß der Verlust von y (mit $y=4$ bis 8) Gegenionen offenbar mit dem Gewinn von $y-1$ Elektronen einhergehen muß, um daraus ein einfach geladenes Kation zu erzeugen. Dieses Resultat ist bemerkenswert. Es wurde bereits festgestellt, daß Analytmoleküle während des MALDI-Prozesses reduziert werden können.^{88,89} Jedoch bleibt dieser Reduktionsvorgang in der Ionenquelle des Massenspektrometers noch ungeklärt.

Außerdem ist bei dem in Abbildung 47 gezeigten Massenspektrum bemerkenswert, daß nur einfach geladene Gitterionen auftreten, die aus dem Verlust von *mindestens* vier Gegenionen resultieren. Die Signale der übrigen quasimolekularen Ionen der Reihe (Komplexe mit nur ein bis drei verlorenen Gegenionen) scheinen in der Ionenquelle bei der Desorption/Ionisation nicht erzeugt zu werden. Dies kann durch den Ionisierungsmechanismus dieses Gitters erklärt werden. Bei der matrixunterstützten Desorption werden die Gittermoleküle schonend desorbiert, dennoch wird dabei eine leichte Überschußenergie an den Analyten abgegeben. Diese Überschußenergie wird abgebaut, indem einige Gegenionen vom Gitter dissoziiert werden. Die zur Desorption/Ionisation der Matrix (hier Dithranol) benötigte Laserleistung ist wahrscheinlich bereits zu hoch, so daß in der Ionenquelle mindestens vier Gegenionen vom Gitter getrennt werden. Um mildere Bedingungen zu erzielen und dadurch die Dissoziation der Gegenionen während des Desorptionsschritt möglicherweise einzuschränken, sollte der

MALDI-Prozeß mit weniger Laserleistung durchgeführt werden. Das mit Dithranol aufgenommene Massenspektrum (s. Abbildung 47) wurde aber bereits an der Desorptionsschwelle der Matrix gemessen, so daß keine weitere Verminderung der Laserleistung mehr möglich ist. Für einen milderen MALDI-Prozeß wäre ein Matrix mit niedrigerer Desorptionsschwelle als Dithranol notwendig. Es wurde daher eine Meßreihe durchgeführt, in der die Desorptions- und Ionisationsschwellen von verschiedenen Matrices bestimmt wurden. Die gemessenen Matrices wurden sodann gemäß ihrer Desorptionsschwelle klassifiziert (s. Anhang 2). Die all-trans-Retinoesäure ist die Matrix, die die niedrigste Laserleistung für ihre Desorption benötigt. Folglich wurde sie für die MALDI-TOF-Messungen der [2x2]-Gitter getestet. Das mit all-trans-Retinoesäure aufgenommene Massenspektrum für Positivionen des $[\text{Co}_4(\mathbf{25})_4](\text{PF}_6)_8$ -Komplexes **30** ist in Abbildung 48 gezeigt.

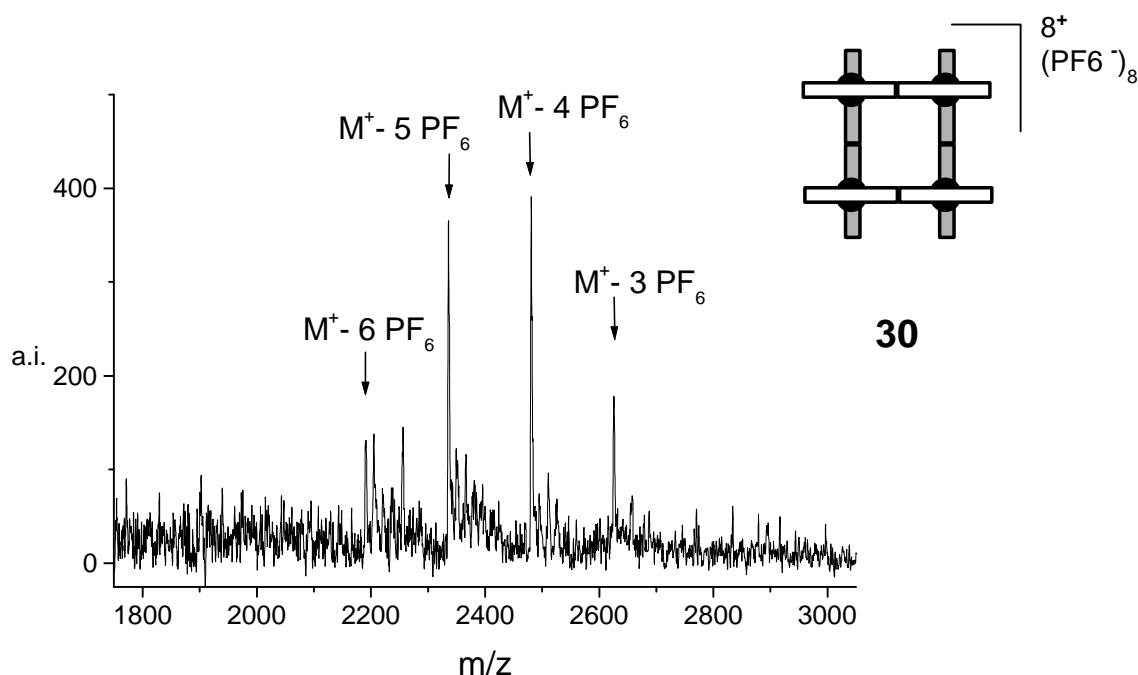
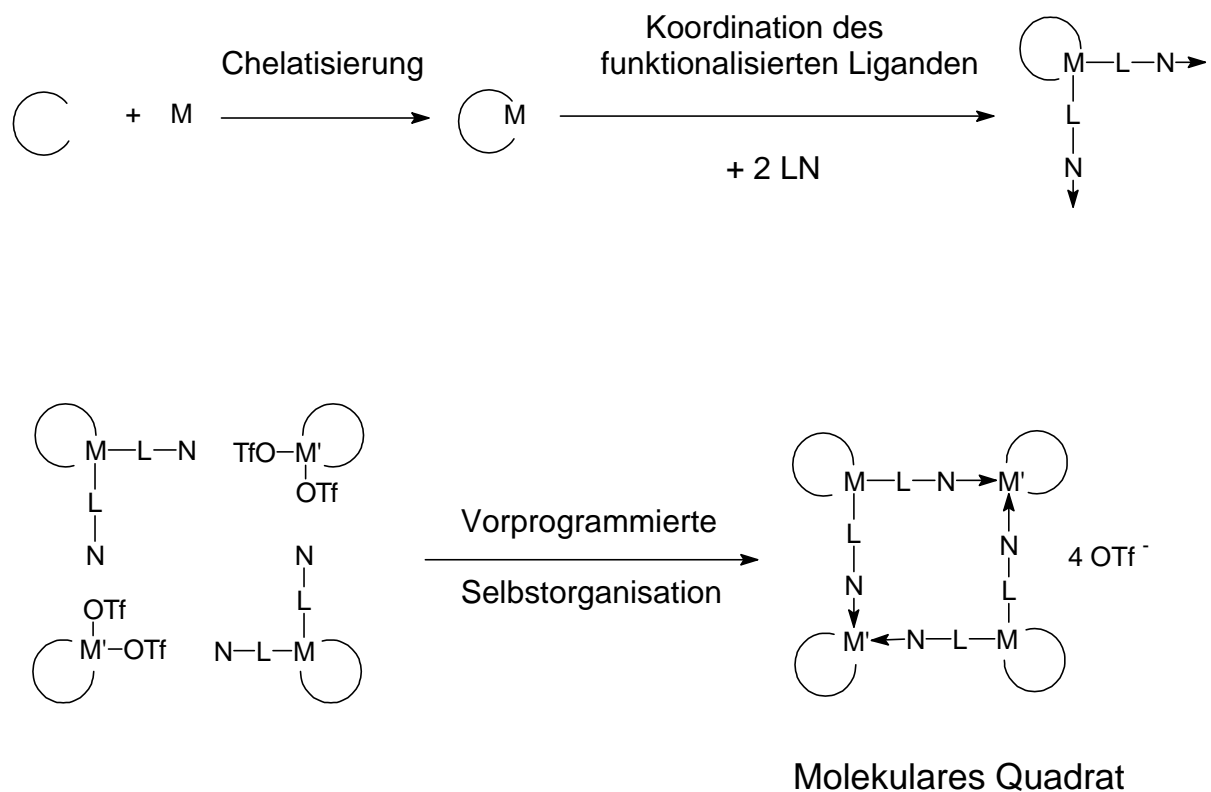


Abbildung 48: MALDI-TOF-Massenspektrum des mit all-trans-Retinoesäure gemessenen $[\text{Co}_4(\mathbf{25})_4](\text{PF}_6)_8$ -Komplexes **30**. Verlust von nur 3 bis 6 PF_6^- -Gegenionen

Dieses Massenspektrum ist analog zu dem mit Dithranol aufgenommenen Massenspektrum, jedoch erscheint hier im Gegensatz dazu auch das Signal des einfach geladenen Ions, das aus dem Verlust von *nur* drei Gegenionen resultiert. Dagegen sind die Signale der einfach geladenen Ionen, die aus dem Verlust von sieben bis acht Gegenionen resultieren, verschwunden. Aufgrund des Vergleichs zwischen den mit Dithranol (s. Abbildung 47) und mit all-trans Retinoesäure (s. Abbildung 48) aufgenommenen Massenspektren scheint also die zur Desorption nötige Laserleistung beim Verlust der Gegenionen eine entscheidende Rolle zu spielen. Noch schonendere Bedingungen könnten wahrscheinlich den Verlust von Gegenionen noch weiter einschränken. Dies würde jedoch eine Matrix mit einer noch niedrigeren Desorptionsschwelle als die der all-trans Retinoesäure erfordern. Bisher ist noch kein Matrix-Kandidat, der diese Bedingungen erfüllt, gefunden worden.

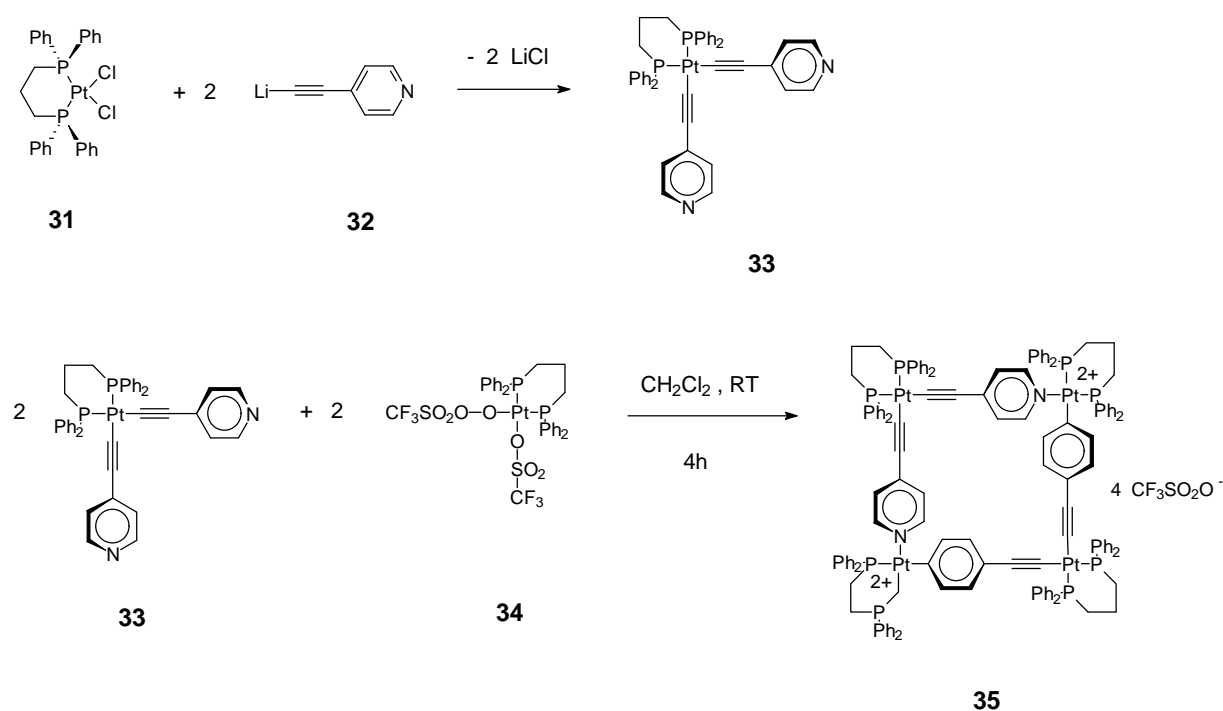
III.3.3 Charakterisierung makrozyklischer kationischer vierkerniger Übergangsmetallkomplexe mit MALDI-TOF-MS



Schema 4: Design eines molekularen Quadrats

Bei der zweiten untersuchten Verbindungsklasse handelt es sich um sogenannte „molekulare Quadrate“. Diese vierkernigen Übergangsmetallkomplexe gehören zu den jüngsten Mitgliedern der Familie supramolekularer Makrozyklen und werden in der Arbeitsgruppe Prof. P.J. Stang (*University of Utah, Salt Lake City*) hergestellt. Der entwickelte Syntheseweg zum Design dieser vierkernigen kationischen Chelate wird in Schema 4 dargestellt.⁹⁰ Die Makrozyklen entstehen durch Selbstorganisation in Lösung beim einfachen Mischen eines geeigneten quadratisch-planaren Metall-Vorläufers mit einem passenden bidentalen Liganden. Die erhaltenen $\sim 90^\circ$ -Bindungswinkel sind auf die quadratisch-planare Geometrie der Metallzentren zurückzuführen, die die Ecken des Quadrats bilden. Die potentiellen „host-guest“- und Molekularerkennungseigenschaften dieser Makrozyklen können sowohl durch Änderung der Ladungsdichte als auch durch Veränderung der Kavitätsgröße und -form gesteuert werden. Dafür werden in der Praxis die Metalle und/oder die Oxidationsstufen bzw. die Liganden geändert.

Schema 5 zeigt die Synthese des untersuchten geladenen Pt-Pt(II) molekularen Quadrats **35**.⁹⁰



Schema 5: Synthese des molekularen Quadrates **35**: *cyclobis*[[*cis*-Pt(*dppp*)(4-ethynylpyridin)₂][*cis*-Pt²⁺(*dppp*)₂OSO₂CF₃]]

Zunächst werden zwei Äquivalente des mit n-Butyllithium deprotonierten 4-Ethynylpyridins **32** mit einem Äquivalent des mit 1,3-bis-(diphenylphosphino)propan (dppp) chelatisierten Pt(II)Cl₂ **31** umgesetzt, die nach Aufarbeiten zum *cis*-Pt(dppp)(4-ethynylpyridin)₂ führen, dem erwünschten Monomer **33**. Äquimolare Mengen dieses Monomers **33** und des *cis*-Pt(dppp)(OTf)₂ **34** bilden nach vier Stunden bei Raumtemperatur in Dichlormethan den geladenen vierkernigen Komplex **35**. Der erhaltene Makrozyklus **35** trägt vier positive Ladungen, die mit vier Triflat-Gegenionen neutralisiert sind.

Abbildung 49 zeigt das MALDI-TOF-Massenspektrum des erhaltenen Makrozyklus **35**, der zunächst mit Dithranol als Matrix gemessen wurde. Das Signal bei *m/z* 3286 entspricht dem intakten Quadrat, das durch den Verlust eines Triflat-Gegenions eine einfach positive Ladung erhält. An dieser Stelle kann die MALDI-Messung mit einem bereits veröffentlichten „Fast-Atom Bombardment“ (FAB) -Massenspektrum⁹¹ der gleichen Probe verglichen werden. Bei der FAB-Charakterisierung des Quadrats **35** konnte der [M-OTf]-Peak nicht detektiert werden, dagegen wurde ein Signal bei *m/z* 1568 gemessen, das einem doppelt geladenen Makrozyklus zugeordnet werden könnte, dem zwei Gegenionen fehlen. Das Masse-zu-Ladungsverhältnis eines solchen Aggregats besitzt nach Gleichung 16 einen Wert von 1568 g/mol.

$$m/z(M - 2OTf) = \frac{M - 2 \cdot M_{OTf}}{2} = 1568 \quad \text{Gleichung 16}$$

Ein zweifach geladenes Molekül kann auch anhand des Isotopenmusters von einem einfach geladenen Molekül unterschieden werden: Bei einem zweifach geladenen Ion beträgt der Abstand zwischen zwei aufeinander folgenden Isotopenpeaks nur 0,5 *m/z*-Einheiten, wogegen der Abstand bei einem einfach geladenen Ion 1,0 *m/z*-Einheiten beträgt. Nun zeigt das abgebildete Signal bei *m/z* 1568 auf dem FAB Spektrum ein Abstand von 1,0 *m/z*-Einheit zwischen den Isotopenpeaks. Dieses Signal, das bei dem MALDI-Massenspektrum ebenfalls detektiert wird, entspricht also nicht, wie in der Publikation beschrieben, einem doppelt geladenen Makrozyklus, sondern muß einer anderen Struktur zugeordnet werden (s. Tabelle 5). Diese Struktur entspricht dem Monomer **33**, welches zu einem Komplex **34** chelatisiert ist, und bildet somit ein „halbes Quadrat“. Dieses Aggregat könnte prinzipiell während der Synthese ebenso wie im Massenspektrometer gebildet worden sein.

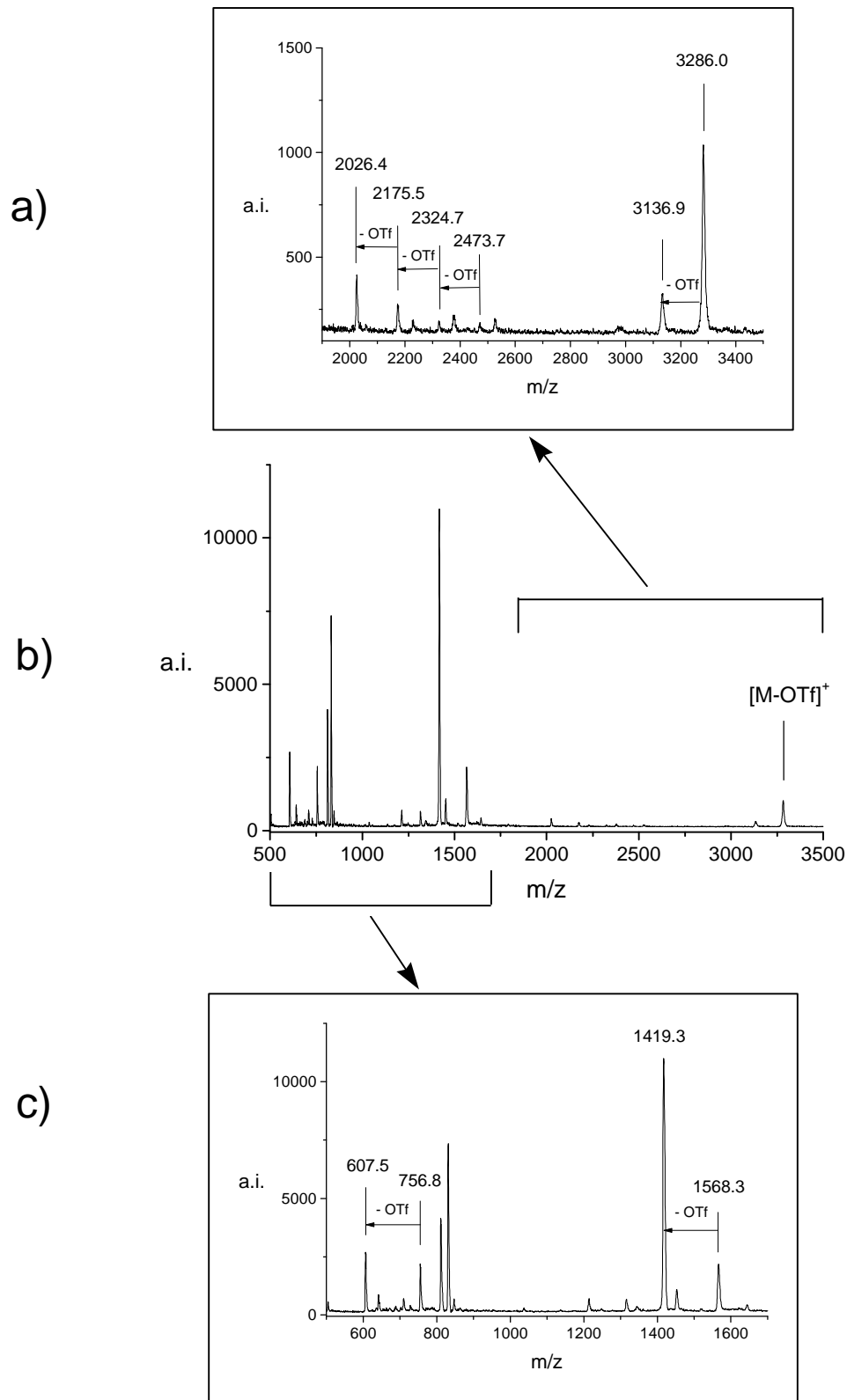
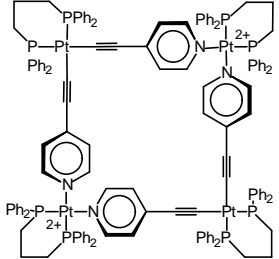
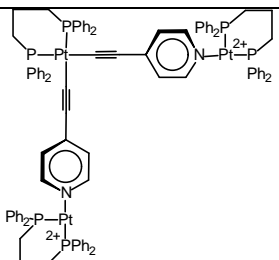
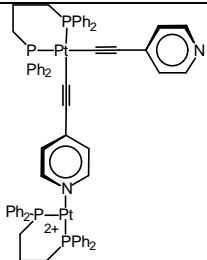



Abbildung 49: b) MALDI-TOF-Massenspektrum des mit Dithranol gemessenen molekularen Quadrates **35** und Ausschnitte: a) $1990 < m/z < 3500$. Intaktes und halbes Quadrat, c) $500 < m/z < 1700$. Quadratecken

Tabelle 5: Zugeordnete Strukturen der im MALDI-TOF-Massenspektrum des molekularen Quadrates 35 gekennzeichneten Signale

gemessen m/z	zugeordnete Struktur		theoretisch		
	Chelat	Gegenionen	z	m	m/z
3286,0		3 OTf	1	3285,8	3285,8
3136,9	"	2 OTf	2	3136,7	1568,4
2473,7		3 OTf	1	2474,0	2474,0
2324,7	"	2 OTf	2	2325,0	1162,5
2175,5	"	1 OTf	3	2175,9	725,3
2026,4	"	0 OTf	4	2026,8	506,7
1568,3		1 OTf	1	1568,4	1568,4
1419,3	"	0 OTf	2	1419,3	709,65
756,8		1 OTf	1	756,6	756,6
607,5	"	0 OTf	2	607,5	303,75

Folglich ist das veröffentlichte FAB-Massenspektrum unzureichend, um die Existenz des Quadrats zu beweisen. Dies wird erst mit der schonenderen MALDI-Methode durch die Detektion des [M-OTf]-Peaks eindeutig nachgewiesen.

Alle Positionen, die bei der MALDI-TOF-Messung detektiert wurden, sind einfach geladene Spezies. Dies kann aufgrund des ganzzahligen Abstandes der Isotopenpeaks bei allen Signalen nachgewiesen werden. Analog zu den im vorherigen Abschnitt untersuchten Gitter-Proben wird zusätzlich ein Ion bei m/z 3136,9 detektiert, das durch den Verlust eines weiteren Gegenions aus dem intakten Quadrat entsteht (s. Abbildung 49a und Tabelle 5), aber dennoch einfach statt zweifach geladen ist. Die Tatsache, daß die Ladungszahl der Moleküle nicht mit der Anzahl der „verlorenen“ Gegenionen wächst, legt die Schlußfolgerung nahe, daß alle über den einfachen Ladungszustand hinausgehenden positiven Ladungen mit Elektronen kompensiert werden. In der Tat stimmt die detektierte Masse genau mit der vorgeschlagenen Struktur überein (s. Tabelle 5), so daß eine Protonierung ausgeschlossen werden kann. Diese Reduktion, die offensichtlich während des MALDI-Prozesses stattfindet, kann Signale im niederen Molekularenbereich (m/z 2324,7- 2175,5- 2026,4- 1419,3- und 607,5) erklären (s. Abbildung 49 und Tabelle 5). Alle diese detektierten Ionen sind einfach geladen, obwohl sie durch den Verlust von zwei bis vier Triflat-Gegenionen zwei- bis vierfach geladen sein sollten. Die detektierten Nebenprodukte, deren Strukturen in Tabelle 5 abgebildet sind, können prinzipiell während der Synthese gebildet werden, dennoch ist anzunehmen, daß sie durch Zerfall des Quadrates **35** in der Quelle des Massenspektrometers entstehen. Zum einen deuten die ^1H -, ^{13}C - und ^{31}P -NMR-Spektren nicht auf ein Substanzgemisch in der Probe hin⁹⁰ und zum anderen sprechen die Labilität der Metall-Ligand-Bindungen sowie die UV-Absorption des Quadrates **35** für einen Zerfall des Analyten bei der massenspektrometrischen Untersuchung.^{74,75} Eine Absorptionsbande im UV-VIS-Spektrum des Analyten wird bei $\lambda_{\text{max}} = 324$ nm beobachtet.⁹⁰ Eine signifikante Absorption der Probe bei der verwendeten N_2 -Laserwellenlänge (337 nm) ist daher naheliegend und sollte den Zerfall des labilen Makrozyklus während der Bestrahlung auslösen. Damit der MALDI-Prozeß unter milderen Bedingungen ablaufen kann, wurde die Probe mit all-trans-Retinoesäure statt Dithranol als Matrix gemessen. Mit diesem Matrixwechsel kann (s. vorheriger Abschnitt) der MALDI-Prozeß durch Bestrahlung des Matrix-Analyt-Gemisch mit weniger Laserleistung stattfinden, da die Desorptionsschwelle dieser Matrix kleiner ist als bei Dithranol (s. Anhang 2).

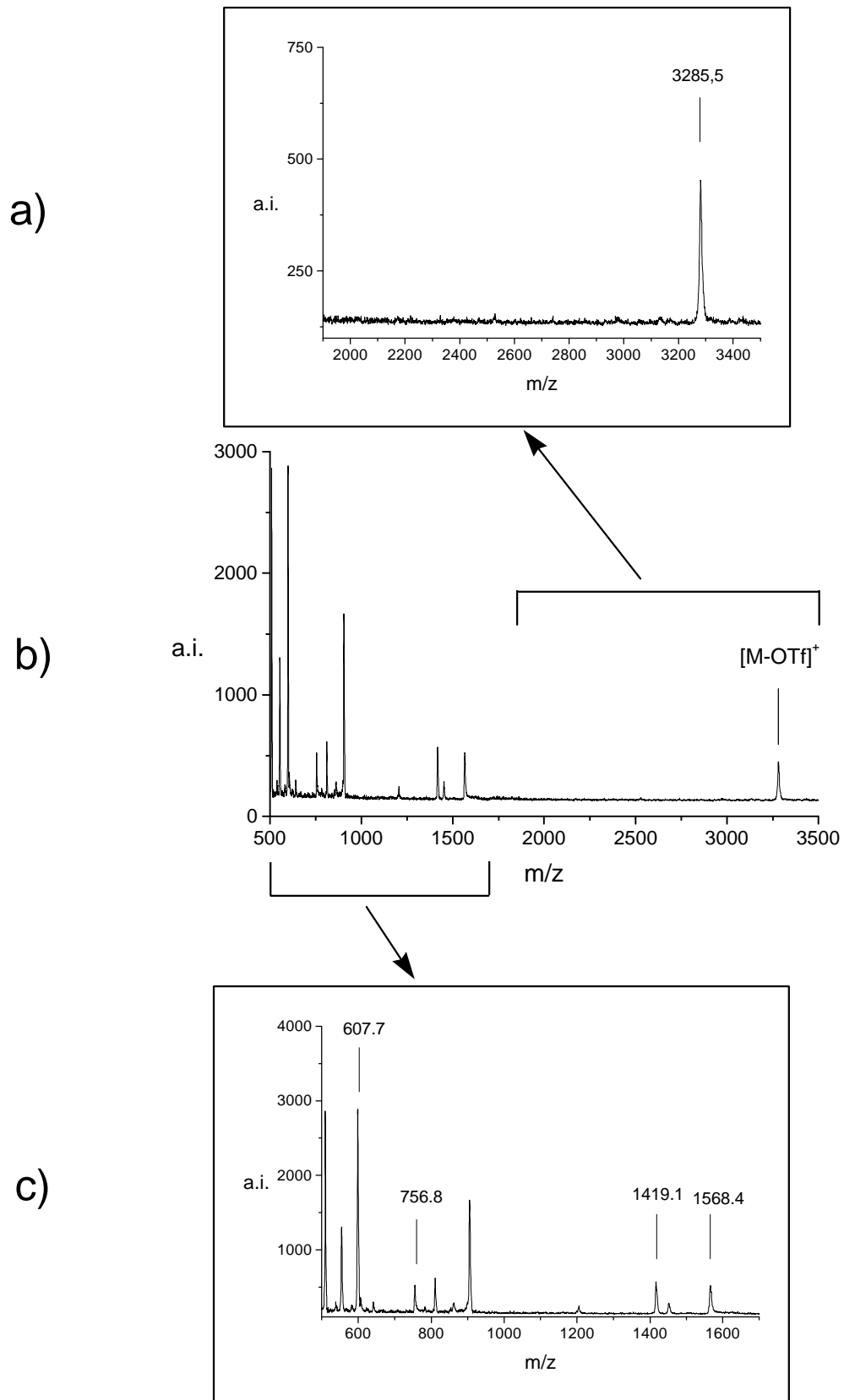


Abbildung 50: b) MALDI-TOF-Massenspektrum des mit *all-trans*-Retinoesäure gemessenen molekularen Quadrates **35** und Ausschnitte a) $1900 < m/z < 3500$. Intaktes Quadrat; c) $500 < m/z < 1700$. Quadratecken.

Wie erwartet deutet das mit Retinoesäure erhaltene Massenspektrum (s. Abbildung 50) auf eine Verminderung der Fragmentierung hin. Die Signale bei m/z 2026, 2176, 2325, 2474 und 3137 sind verschwunden, und die Intensität der Signale bei m/z 1568, 1419, 757, und 608, die ebenfalls Fragmenten zugeordnet wurden, hat stark abgenommen. Die durch den Matrix-Wechsel erreichten Verbesserungen sind in Abbildung 51 deutlich erkennbar.

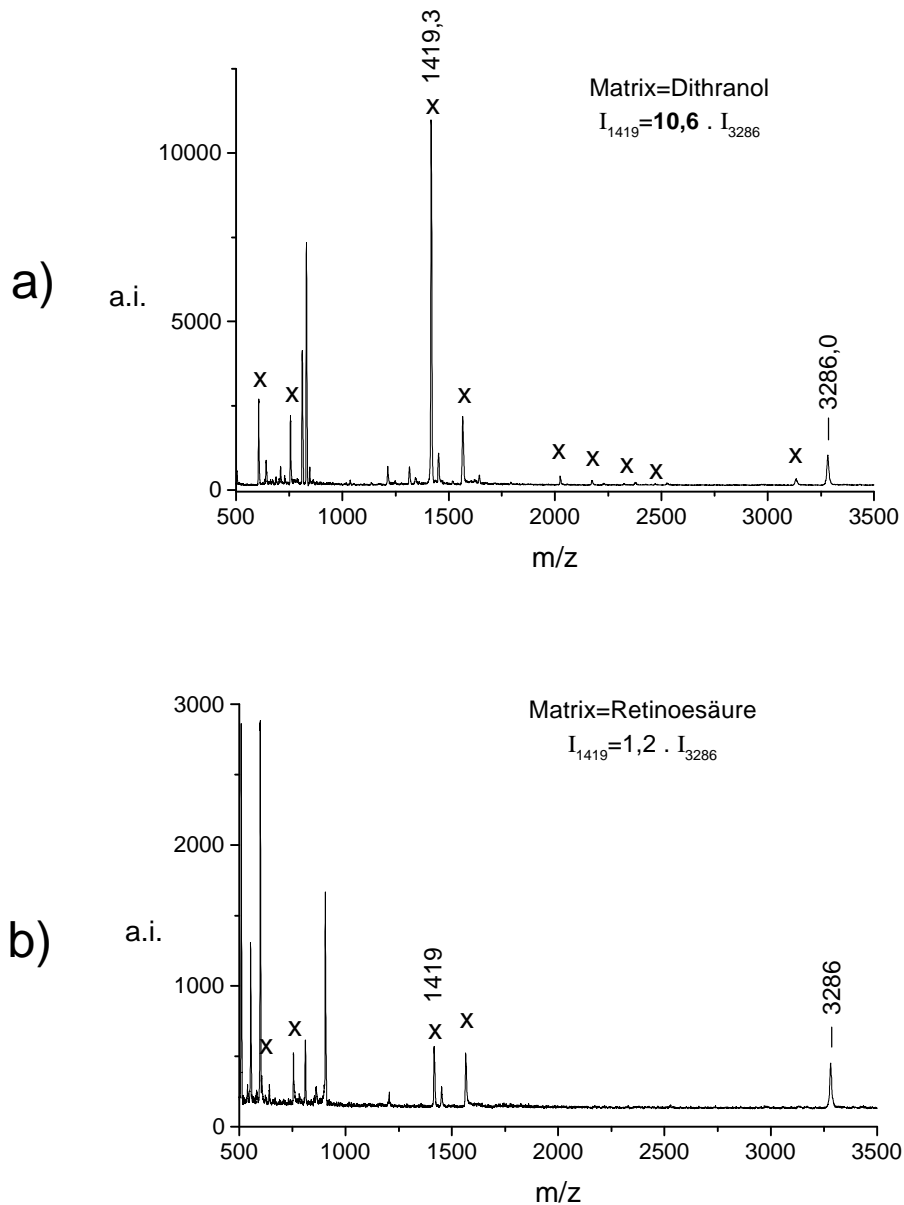


Abbildung 51: Vergleich zwischen den mit a) Dithranol und b) Retinoesäure gemessenen MALDI-TOF-Massenspektren des molekularen Quadrats 35. Verminderung der Fragmentierung beim Matrixwechsel.

Das Intensitätsverhältnis zwischen dem intensivsten Fragment (m/z 1419) und dem Quasimolekularion $[M-OTf]$ (m/z 3286) ist von 10,6 auf 1,2 zurückgegangen, die Fragmentierung wird also stark vermindert.

Trotz des äußerst schonenderen MALDI-Prozesses durch Anwendung von all-trans-Retinoesäure als Matrix bei der Charakterisierung des Chelatkomplexes **35** kann die Fragmentierung des Makrozyklus nicht vollständig unterdrückt werden. Folglich ist eine Charakterisierung ähnlicher Verbindungen mit höherem Molekulargewicht mittels MALDI fraglich, da der Zerfall des Analyten die Detektion des intakten Molekularions verhindern könnte. Im Rahmen der Analyse der von der Arbeitsgruppe Prof. J. Stang synthetisierten Proben wurden gemäß den optimierten MALDI-Bedingungen größere Makrozyklen gemessen. Das molekulare Sechseck **38** (s. Abbildung 52) ist mit einem Molekulargewicht von 4573 g/mol der nächst größere Makrozyklus, der für MALDI-Messungen zu Verfügung stand.

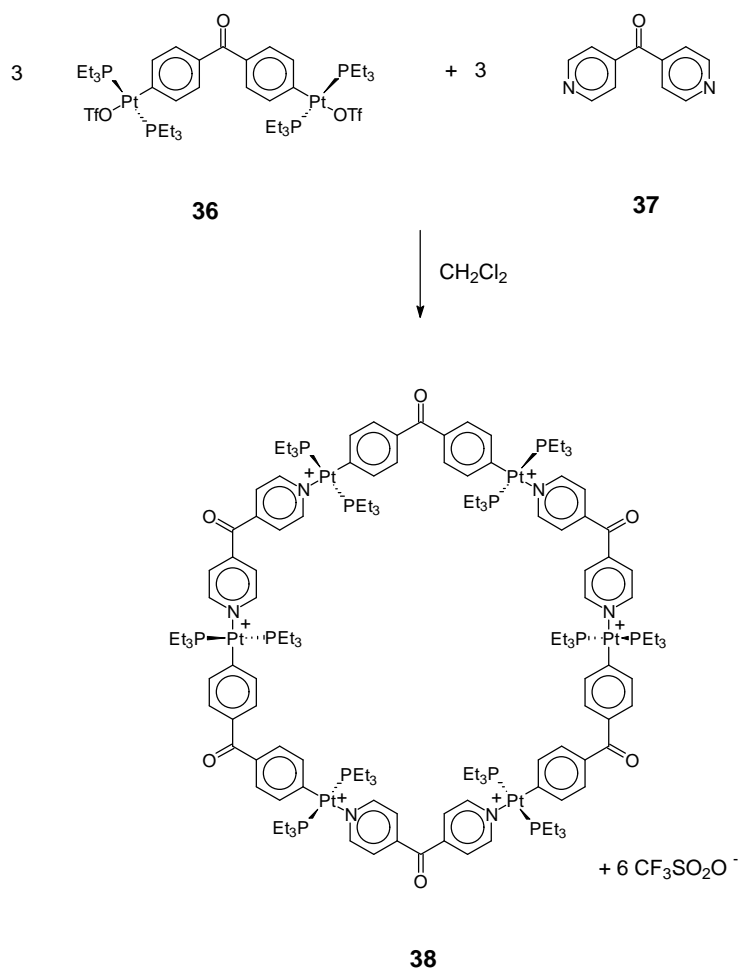


Abbildung 52: Synthese des molekularen Sechsecks **38**

Diese Verbindung sollte durch Selbstorganisation des 4,4'-bis(trans-Pt(Et₃)₂OTf)benzophenons **36** mit dem Di-(4-pyridyl)keton **37** in Dichlormethan nach 15 Minuten gebildet werden. Der für die Sechseck-Bildung erforderliche 120°-Bindungswinkel ist durch das sp²-hybridisierte Kohlenstoffatom der Carbonylfunktionen gegeben, die sowohl in der organometallischen Ecke **36** als auch in der organischen Eck-Einheit **37** eingebaut sind. Die Bildung des Makrozyklus **38** sowie anderer molekularer Sechsecke⁹² konnte bisher nur mittels NMR-Spektroskopie untersucht werden.⁹³ Bei der ³¹P- und ¹H-NMR-Spektroskopie deutet die signifikante Verschiebung der Signale im Vergleich zu den unkoordinierten Vorläufern **36** und **37** auf eine Komplexierung hin, bestimmt aber weder die Zahl der eingeschlossenen „Subunits“ noch die zyklische Struktur des Analyten. Der einzige Hinweis auf die Bildung eines Zyklus gegenüber einem offenen Oligomer ist gegeben durch das sehr scharfe Signal im NMR-Spektren, welches für eine hohe Symmetrie des Analyten spricht. Diese nur zum Teil charakterisierte Probe sollte nun mit MALDI-TOF Massenspektrometrie näher analysiert werden.

Abbildung 53a zeigt das MALDI-TOF-Massenspektrum mit Retinoesäure als Matrix. Es wurde kein Signal für den intakten Makrozyklus detektiert. Alle detektierten Peaks deuten aufgrund des Isotopenmusters auf einfach geladene Ionen hin, und die höchste detektierbare Masse der Verbindung erreicht einen Wert von 2568 g/mol. Dies könnte dem Molekulargewicht eines „halben Sechsecks“ entsprechen, dessen Struktur und Isotopenverteilung in Abbildung 53 dargestellt sind. Aufgrund der NMR-Spektren, die eine hohe Symmetrie des Analyten nahelegen, ist zu vermuten, daß diese Verbindung (*m/z* 2568) erst bei der massenspektrometrischen Untersuchung durch Fragmentierung gebildet wird. Die Fragmentierung könnte demnach entweder im Massenspektrometer oder schon bei der Probenvorbereitung stattfinden.

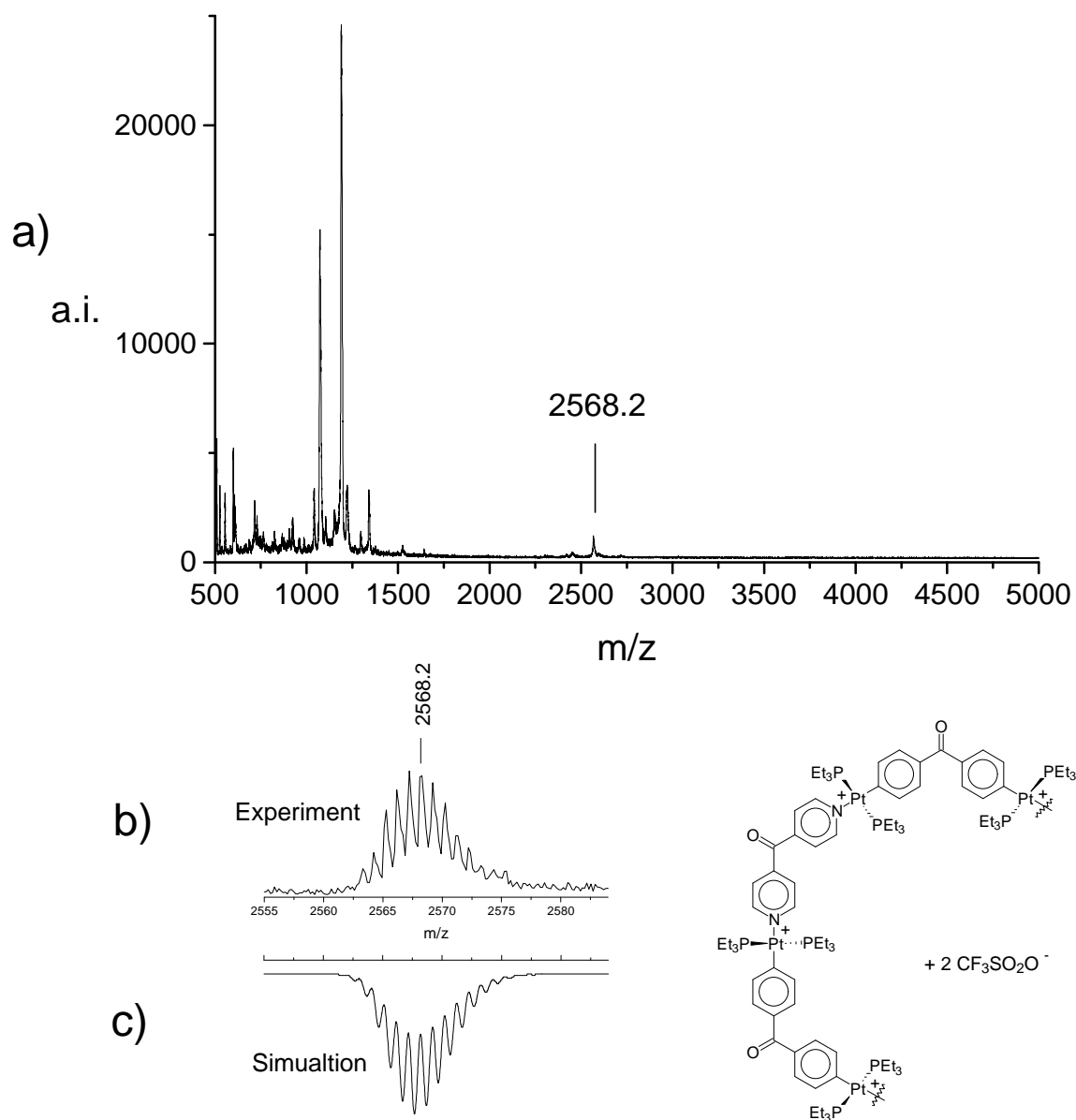


Abbildung 53: a) MALDI-TOF-Massenspektrum des mit Retinoesäure gemessenen molekularen Sechsecks **38** ; b) Ausschnitt: Signal bei der höchsten detektierten Masse ; c) Simulierte Isotopenverteilung des zugeordneten Fragmentes

Diese Untersuchung zeigt, daß die Möglichkeit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie bei der Charakterisierung solcher Proben begrenzt ist. Tatsächlich konnten auch nach sorgfältiger Optimierung der experimentellen Bedingungen keine noch größeren Makrozyklen nachgewiesen werden. Eine erfolgreiche MALDI-Messung hängt sehr stark von der

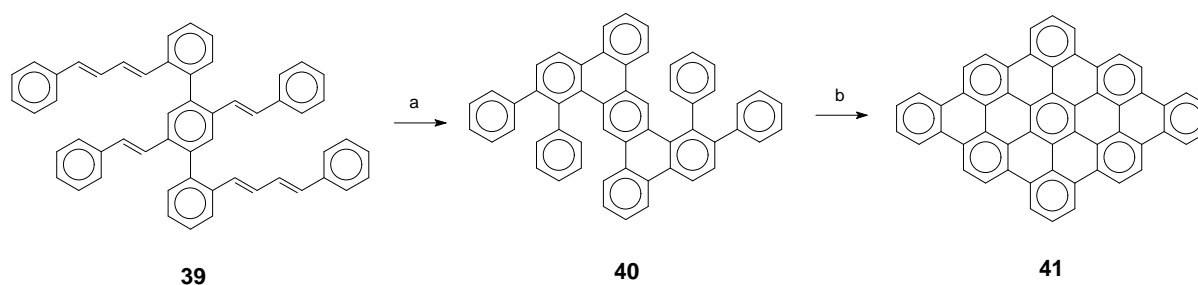
Probenvorbereitung ab, und es ist schwierig, bei uncharakterisierten Proben zu bestimmen, ob das Scheitern der Analyse auf eine nicht optimale Probenvorbereitung zurückzuführen ist, ob die Probe überhaupt mit MALDI nicht meßbar ist oder ob das erwartete Produkt in der Probe gar nicht vorhanden ist. Diese Problematik spielt ebenfalls bei der Analyse von unlöslichen polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH), die im nächsten Kapitel behandelt werden, eine entscheidende Rolle. Für diese unlöslichen Substanzen sind keine Charakterisierungsmethoden vorhanden, die einen Strukturbeweis liefern. Dies bedeutet, daß vor der ersten erfolgreichen Messung keine andere Vergleichsmethode darauf hindeuten kann, ob die erwartete Verbindung tatsächlich vorhanden ist. Die Bildung des Zielmoleküls kann ausschließlich aufgrund des Syntheseweges vorausgesetzt werden.

III.4. Charakterisierung von ausgedehnten, unlöslichen polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH) mit MALDI-TOF-MS

III.4.1 Problematik der Charakterisierung von PAHs

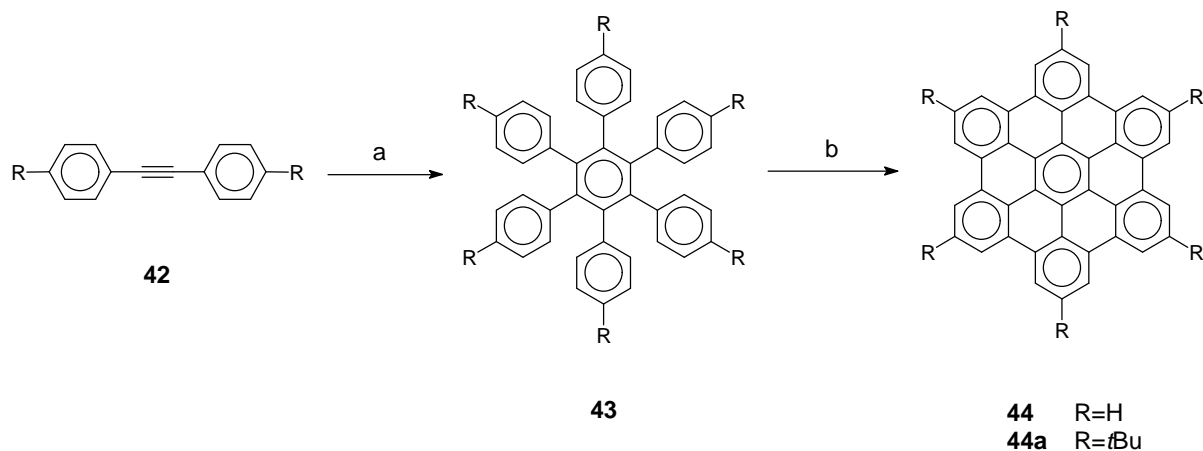
Scheibenartige polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAHs) und ihre supramolekulare Anordnung sind gegenwärtig Gegenstand intensiver Forschungsarbeiten.⁹⁴ Eine systematische Modifikation der Form und Größe dieser ausgedehnten aromatischen Systeme ermöglicht die Untersuchung ihrer supramolekularen Struktur^{95,96,97,98} und der Wechselbeziehung zwischen der supramolekularen Anordnung und den resultierenden elektronischen Eigenschaften. Weiterhin dienen die definiert synthetisierten ausgedehnten PAHs als Modell zur Aufklärung des molekular unbestimmten Graphits.^{99,100} Im Gegensatz zur herkömmlichen Herstellung ausgedehnter PAHs nach thermischen Verfahren, die meistens zu einem breiten Produktspektrum führen, wurde in unserer Arbeitsgruppe ein synthetischer Zugang entwickelt, der die Darstellung definierter PAHs ermöglicht. Das Syntheseverfahren beruht auf den folgenden beiden Schritten: 1) Aufbau einer löslichen Polyphenylenvorstufe genau definierter Struktur mit der gleichen Anordnung der Phenylringe wie das Zielmolekül; 2) Planarisierung dieser Vorstufe zum PAH durch Cyclodehydrierung. Zum Aufbau von Polyarylverbindungen wurden bisher verschiedene Synthesestrategien verfolgt:

(a) Intramolekulare Diels-Alder-Cycloaddition von Oligo(phenylenvinyl)-Verbindungen (s. Schema 6)^{101,102}



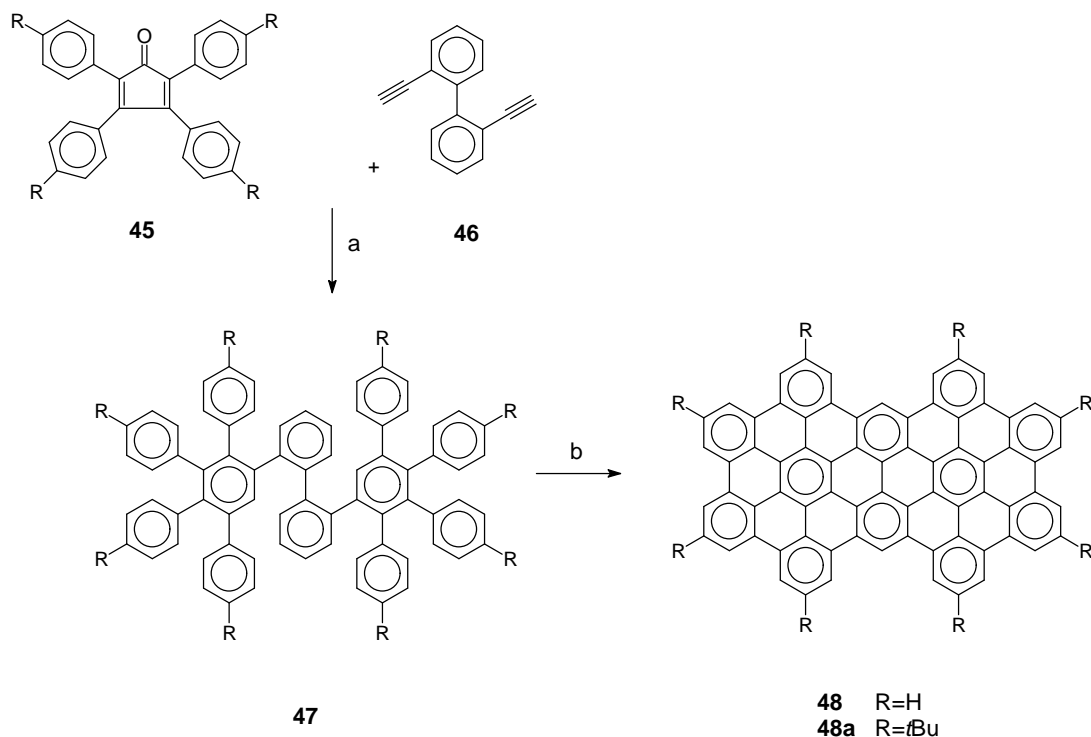
Schema 6. a) 135°C, 1,1,2,2-Tetrachlorethan; b) 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ), 135°C, 1,1,2,2-Tetrachlorethan; AlCl₃/CuCl₃, RT, CS₂

(b) Cyclotrimerisierung substituierter Diphenylacetylene **42**, die zu PAH-Vorstufen mit hexagonaler Symmetrie führt (s. Schema 7),¹⁰³



Schema 7. a) $[Co_2(CO)_8]$, Dioxan, $100^\circ C$ (92% Ausbeute); b) $Cu(CF_3SO_3)_2/AlCl_3$, CS_2 , $25^\circ C$

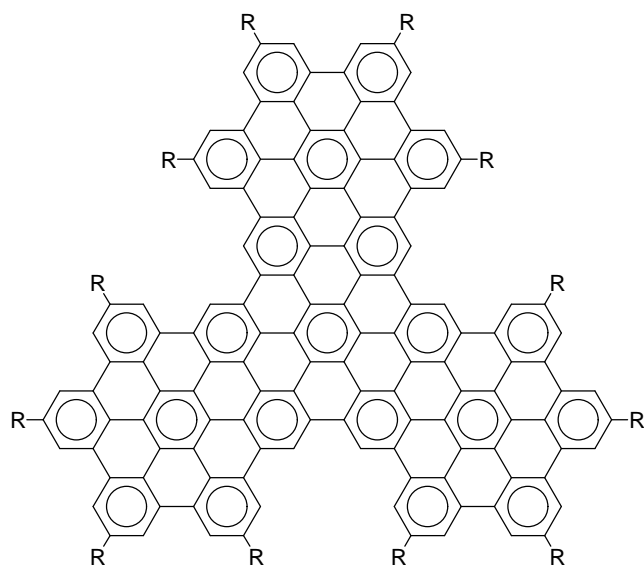
(c) Intermolekulare Diels-Alder-Cycloaddition von Tetraphenylcyclopentadienonen **45** mit Diarylacetylenen **46** (s. Schema 8).¹⁰⁴ Mit der Auswahl eines geeigneten Alkins können ebenso Dendronen bzw. Dendrimere hergestellt werden, die als lösliche Polyphenylvorstufe zum Aufbau der PAHs dienen können.¹⁰⁵



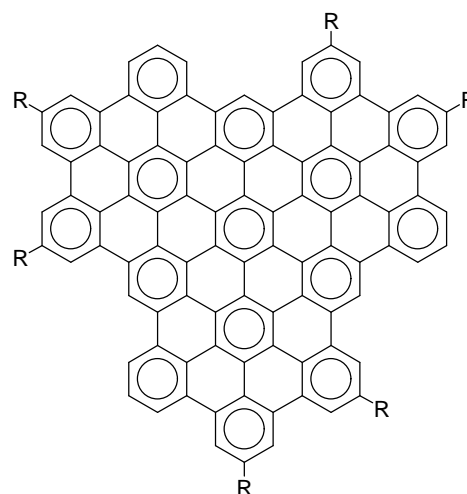
Schema 8. a) Ph_2O , $250^\circ C$, 6-8h; b) $CuCl_2/AlCl_3$, $25^\circ C$, CS_2 ; $tBuLi$ (Überschuß); H_2O ($>90^\circ C$)

Die Oligophenylenvorläufer werden in einer abschließenden oxidativen Cyclodehydrierungsreaktion zum entsprechenden planaren PAH umgewandelt. Die Reaktionsbedingungen sind aus der Arbeit von *P. Kovacic* abgeleitet,¹⁰⁶ der Benzol und dessen Derivate bei milden Reaktionsbedingungen polymerisieren konnte. Die Kombination von Aluminium(III)chlorid mit Kupfer(II)chlorid bzw. Kupfer(II)trifluormethansulfonat ermöglicht in den meisten Fällen die quantitative Cyclodehydrierung der Oligophenylenvorläufer zu den planaren PAHs. Die schwächere Lewisäure Eisen(III)chlorid hat sich als sehr mildes Cyclodehydrierungsreagenz ebenfalls bewährt, insbesondere zur Planarisierung empfindlicher alkylsubstituierter Vorläufer.¹⁰⁴ Ein weiterer Vorteil in der Verwendung von Eisen(III)chlorid besteht darin, daß diese Lewisäure selber ein Oxidationspotential besitzt, das für die Bildung von Aryl-Aryl-Bindung ausreicht.

Die löslichen Polyphenylenvorläufer können mit ¹H-, ¹³C-NMR und Massenspektrometrie (FD, MALDI-TOF) identifiziert werden. Nach intramolekularer Wasserstoffabspaltung und C-C-Bindungsknüpfung dieser Polyphenylenvorstufen sind aber die daraus hergestellten planaren PAHs meistens unlöslich und ihre Charakterisierungsmöglichkeiten stark eingeschränkt. Das Hexa-*peri*-hexabenzocoronon **44** (s. Schema 7), das zu den kleinsten in unserer Gruppe synthetisierten Graphitausschnitten zählt, zeigt z.B. bereits eine sehr geringe Löslichkeit.¹⁰³ Um die Löslichkeit der PAHs zu erhöhen, wurde versucht, diese mit Alkylgruppen zu substituieren. Während Molekül **44a** in organischen Lösungsmitteln gelöst werden kann und die Moleküle **48a**, **49a** in vielen Lösungsmitteln zumindest teilweise löslich sind, ist Molekül **50a** praktisch unlöslich.¹⁰⁴ Offensichtlich reichen die sechs tert-Butylgruppen nicht aus, um diesem großen planaren PAH ausreichende Löslichkeit zu verleihen.



49 R=H
49a R=tBu



50 R=H
50a R=tBu

Bei Herstellung von immer ausgedehnteren planaren PAHs wird die Zahl der für eine Alkylgruppe zugänglichen Kohlenstoffe im Verhältnis zu der Molekülfläche immer weiter abnehmen, und die Alkylsubstitution wird die Löslichkeit extrem großer PAHs nicht erhöhen können. Die konventionellen Charakterisierungsmethoden erfordern jedoch einen löslichen Analyten und erweisen sich daher für unlösliche Verbindungen als unbrauchbar. Einen Ausweg aus dieser Lage könnte durch entsprechende Weiterentwicklungen in den massenspektrometrischen Methoden gefunden werden und ist Gegenstand des folgenden Kapitels.

III.4.2 Charakterisierung unlöslicher PAHs mit Massenspektrometrie

III.4.2.1 Möglichkeiten und Grenzen der Laserdesorption-TOF-MS zur Charakterisierung unlöslicher PAHs

Die Laserdesorption (LD),¹⁰⁷ die zur Untersuchung von Oberflächen entwickelt wurde, kann auch für unlösliche Substanzen eingesetzt werden. Dabei wird der Analyt durch direkten Beschuß mit dem Laser (hier N₂-Laser) desorbiert und ionisiert. Aufgrund ihrer UV-Absorption und der damit verknüpften effektiven Energieübertragung der Laserstrahlung können kleine bis mittlere PAHs (Molmasse unter 2000 g/mol) mit LD charakterisiert werden.

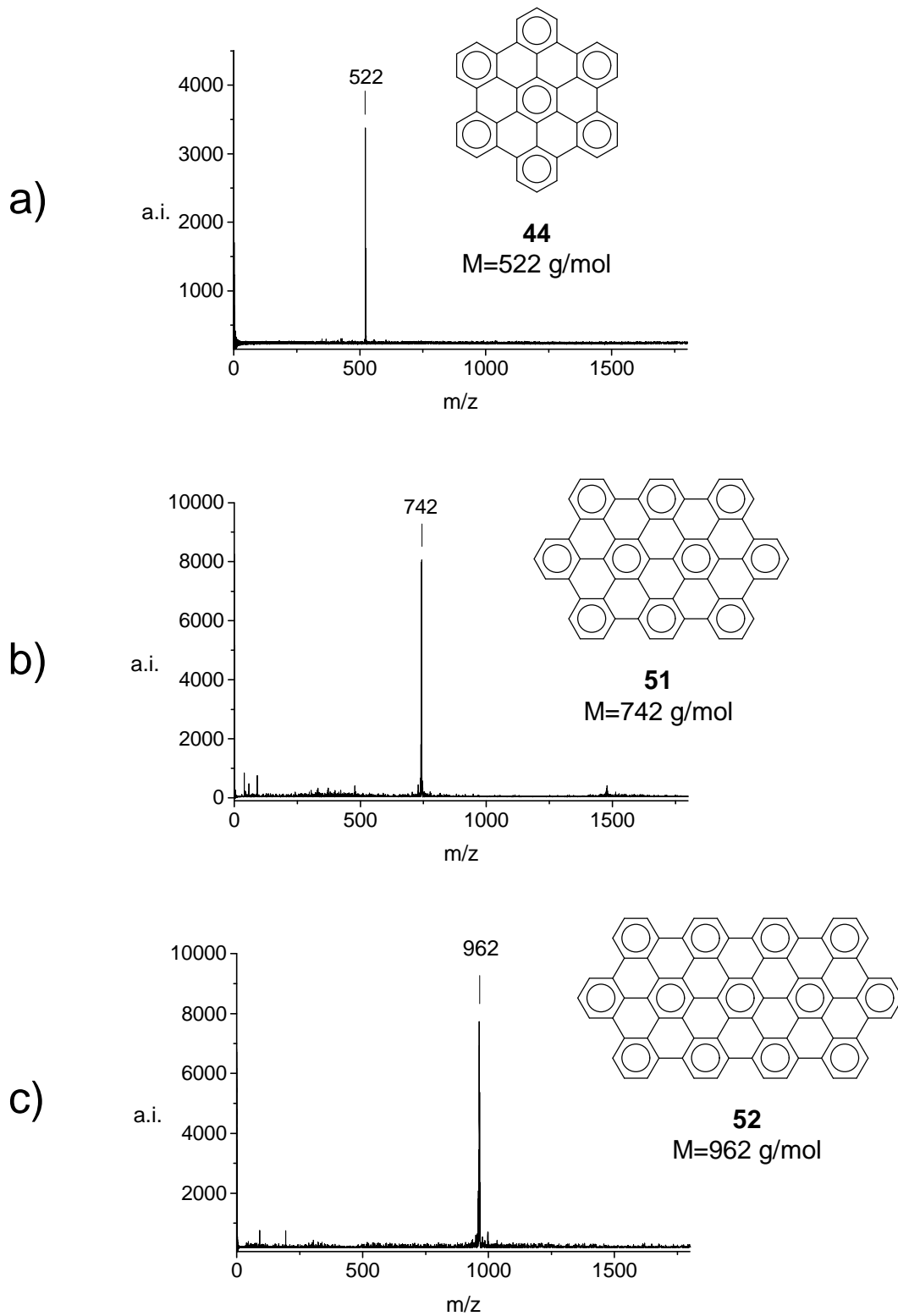
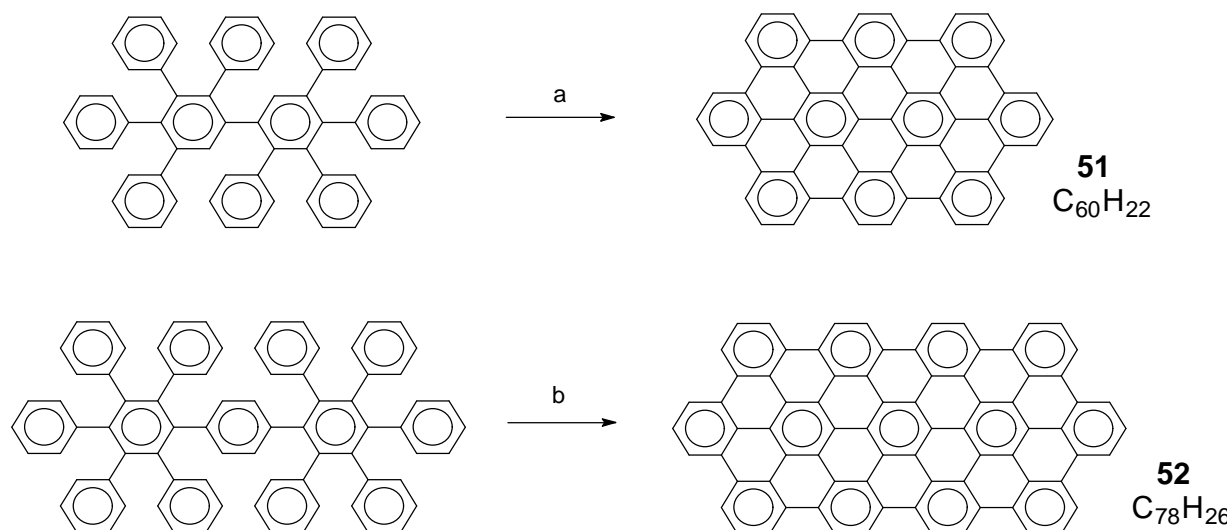


Abbildung 54: LD-Massenspektren der PAHs: a) 44; b) 51; c) 52

Abbildung 54 zeigt beispielhaft das LD-Massenspektrum des Hexa-*peri*-benzocoronens **44** sowie der PAHs **51** und **52**, deren Struktur in Schema 9 abgebildet ist.^{108,109}



Schema 9. a) $Cu(OSO_2CF_3)_2/AlCl_3$, 25°C, CS_2 (>90°C); b) $Cu(OSO_2CF_3)_2/AlCl_3$, RT, CS_2 , 2d

Bei diesen LD-Messungen ist es wichtig, die Laserleistung nur wenig über der Desorptions-Ionisationsschwelle des PAHs einzustellen. Der Einfluß einer höheren Laserleistung auf das LD-Massenspektrum kann durch die Messung von PAH **52** mit steigender Laserleistung veranschaulicht werden (s. Abbildung 55). Während das Spektrum in Abbildung 55a als einziges Signal das des erwünschten Produkts **52** aufweist, erscheinen bei Erhöhung der Laserleistung neue Signale im Bereich sowohl kleinerer als auch größerer Molmassen (s. Abbildung 55b und c). Die bei kleineren Molmassen als 962 g/mol liegenden Signale entsprechen Fragmentationen, die in der Ionenquelle erzeugt wurden. Die bei höheren Molmassen als 962 g/mol liegenden Signale sind höchstwahrscheinlich auf Rekombination zweier Fragmente bzw. eines Fragments mit dem Analytmolekül zurückzuführen. Dieses Phänomen wird als Koaleszenz bezeichnet.

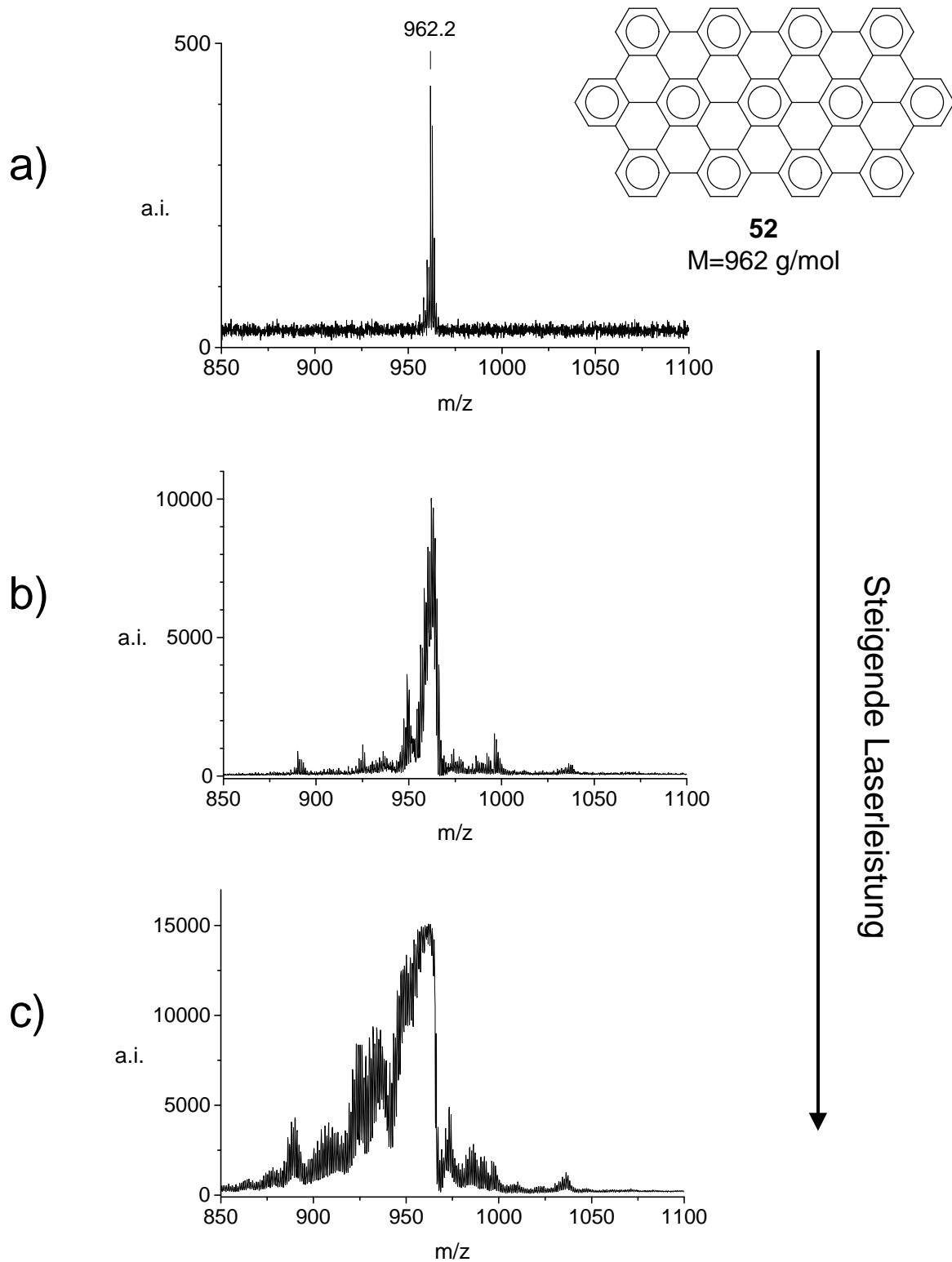


Abbildung 55: Einfluß der Laserleistung auf das LD-TOF-Massenspektrum des PAHs 52 : a) Laserleistung wenig über der Ionisierungsschwelle, b) Leicht erhöhte Laserleistung, c) Hohe Laserleistung

Bei der Analyse von PAHs mit höheren Molekulargewichten treten unter Anwendung der LD-Methode Schwierigkeiten auf. So wurde festgestellt, daß ein umgehend nach der Synthese gemessener PAH problemlos mit LD charakterisiert werden kann, während nach einigen Tagen eine höhere Laserleistung für die Desorption des Analyten gebraucht wird, die dann zur Fragmentierung führt. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen basiert auf der Bildung semikristalliner Domänen nach vollständiger Entfernung des Lösungsmittels, wodurch die Kohäsion zwischen den Molekülen erhöht und somit die Desorption erschwert wird. Die Kristallstrukturen kleiner PAHs sind in der Literatur zu finden.^{95,110} Die bekannten PAH-Kristalle lassen sich in vier Packungstypen klassifizieren: die Herringbone-, die Sandwich-Herringbone-, die γ - und die β -Strukturen (s. Abbildung 56).

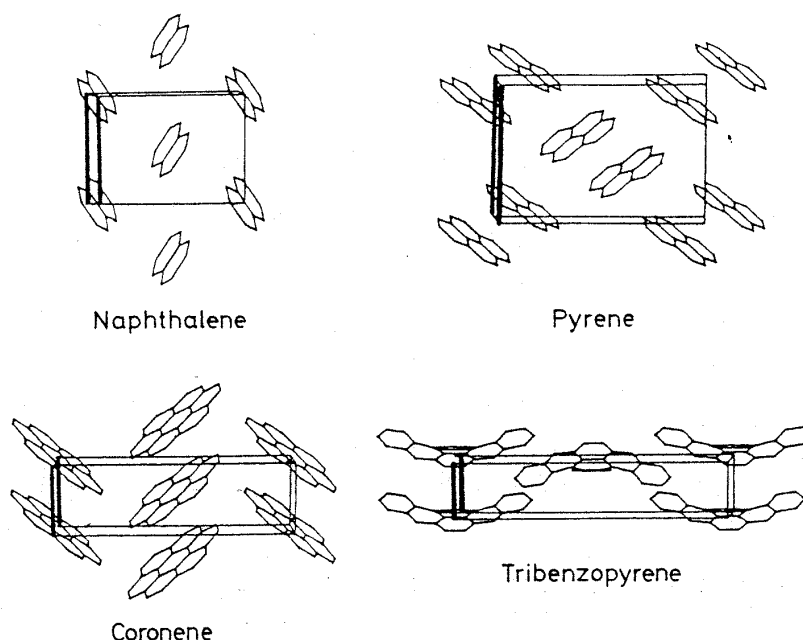


Abbildung 56: Die 4 grundlegenden Typen der Kristallpackung von PAHs.¹¹⁰ a) Herringbone-Struktur am Beispiel von Naphthalin; b) Sandwich-Herringbone-Struktur am Beispiel von Pyren; c) γ -Struktur am Beispiel von Coronen; d) β -Struktur am Beispiel von Tribenzopyren

Ein wesentliches Merkmal für die Ausbildung der unterschiedlichen Strukturen ist die relative Energie der C-C- und der C-H-Wechselwirkungen. Während die C-C-Wechselwirkungen der Aromaten molekulare Stapel bewirken, führen die C-H-Wechselwirkungen zu einer gewinkelten Anordnung der Moleküle. Mit zunehmendem Molekulargewicht der PAHs wächst das Zahlenverhältnis der inneren C-Atome zur Peripherie. Daher ist zu erwarten, daß

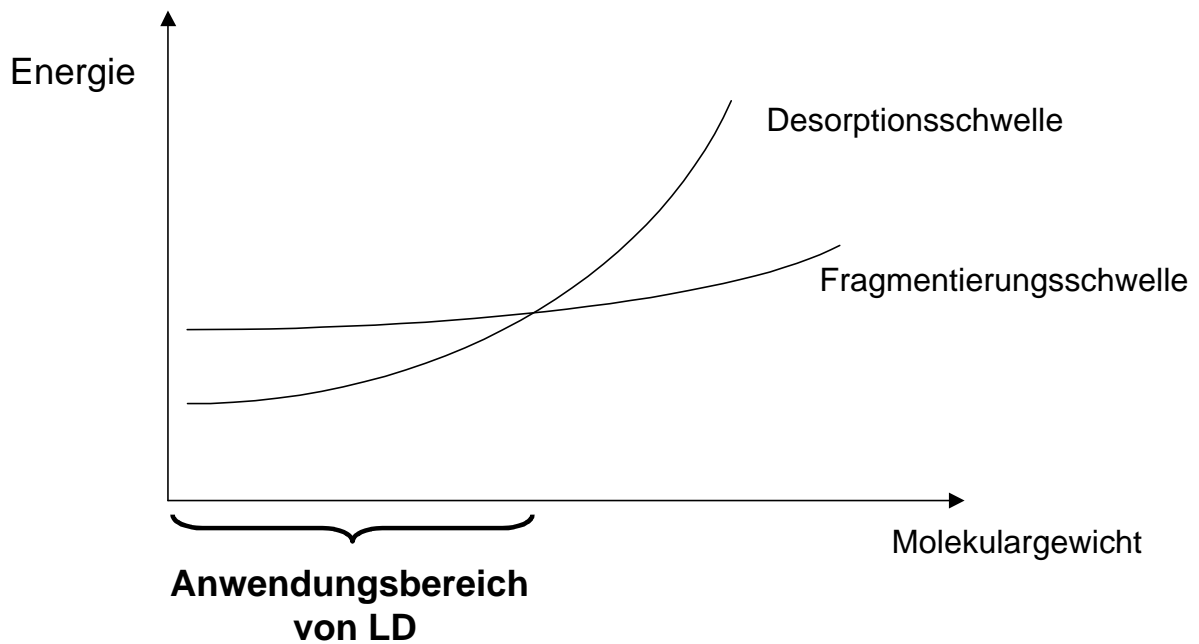
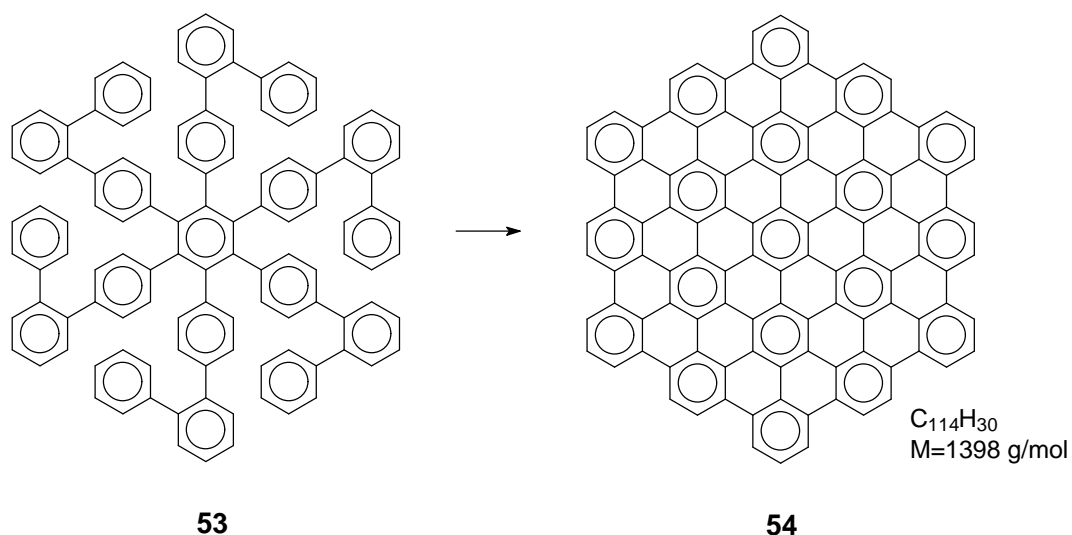


Abbildung 58: Qualitativ Darstellung der Desorptions-/Ionisations- und Fragmentierungsschwelle als Funktion des Analyt-Molekulargewichts bei LD

Um die Desorptionsschwelle größerer PAHs zu verringern und somit den Anwendungsbereich von LD etwas zu erweitern, kann die Probenvorbereitung angepaßt werden. Diese Modifikation wurde von Kimihiro Yoshimura durchgeführt. Dabei wird die Probe mit Glaskügelchen im Lösungsmittel (z.B. Tetrachlorethan) in einem Schüttelbecher für ca. 2 min. gemahlen oder in Lösung mit Ultraschall behandelt. Eine „Zersetzung“ der Kristallite und somit eine Verminderung der zusammenhaltenden Wechselwirkungen wird dadurch offenbar erzielt. Die Verbesserung durch diese Probenvorbereitung beweist das Massenspektrum des PAHs **54** (s. Abbildung 59), dessen Darstellung in Schema 10 abgebildet ist.¹¹¹



Schema 10: Cyclodehydrierung von **53** zum PAH **54** ($AlCl_3/CuOTf_2$, CS_2 , RT)

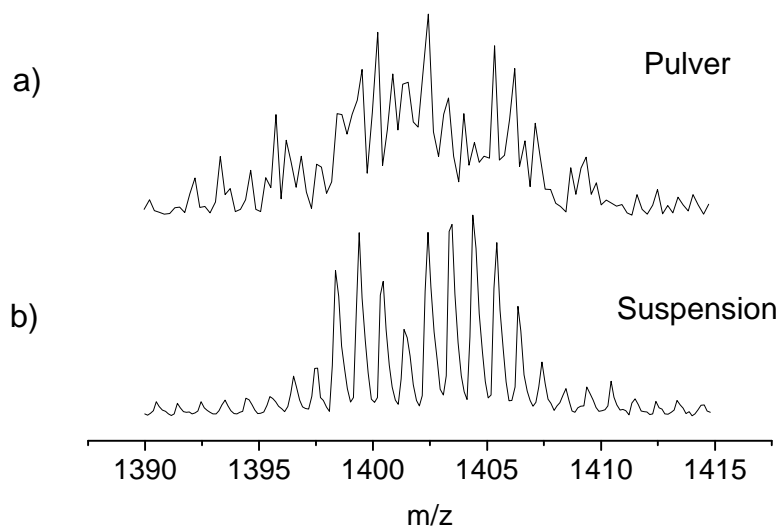
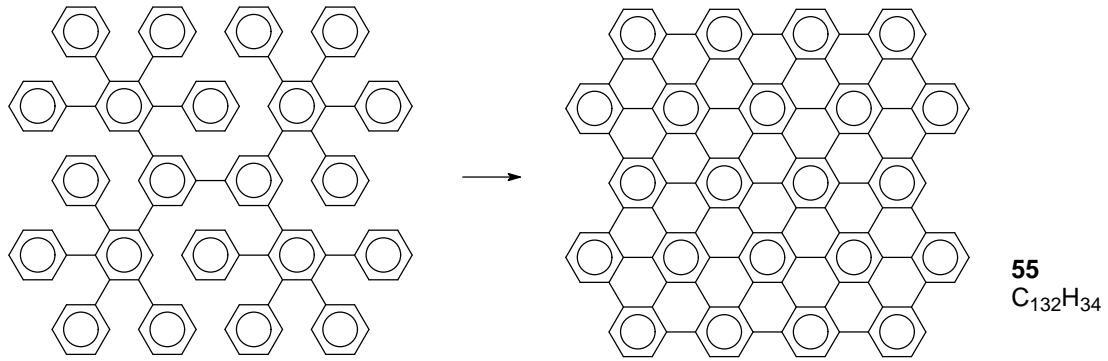


Abbildung 59: Optimierung der Probenvorbereitung für LD-Messungen. LD-Massenspektrum des PAHs **54** gemessen a) aus der Pulver und b) nach Dispersion im Lösungsmittel ($C_2H_2Cl_4$)

Während die LD-Messung der unbehandelten Probe nur undefinierte Signale aufweist (s. Abbildung 59a), können nach Zerkleinerung der Kristallite isotopenaufgelösten Signale aufgenommen werden (s. Abbildung 59b). Neben dem Peak des erwarteten Produkts **54** werden zusätzliche Signale detektiert. Auf die Zuordnung dieser unerwünschten Signale wird im Kapitel III.4.2.5 (s. S.164) näher eingegangen.

Der noch größere PAH **55**, dessen Darstellung¹¹² in Schema 11 abgebildet ist, kann dank dieser verbesserten Probenvorbereitung noch mit LD charakterisiert werden (s. Abbildung 60).



Schema 11. Bildung von PAH **55** ($\text{CuCl}_2/\text{AlCl}_3$, $\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$, 100°C , 9h)

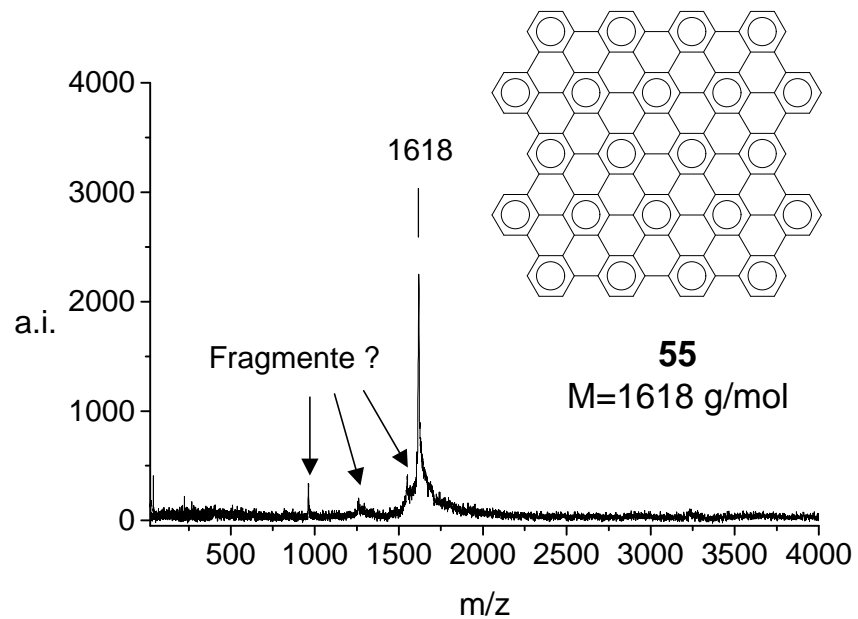
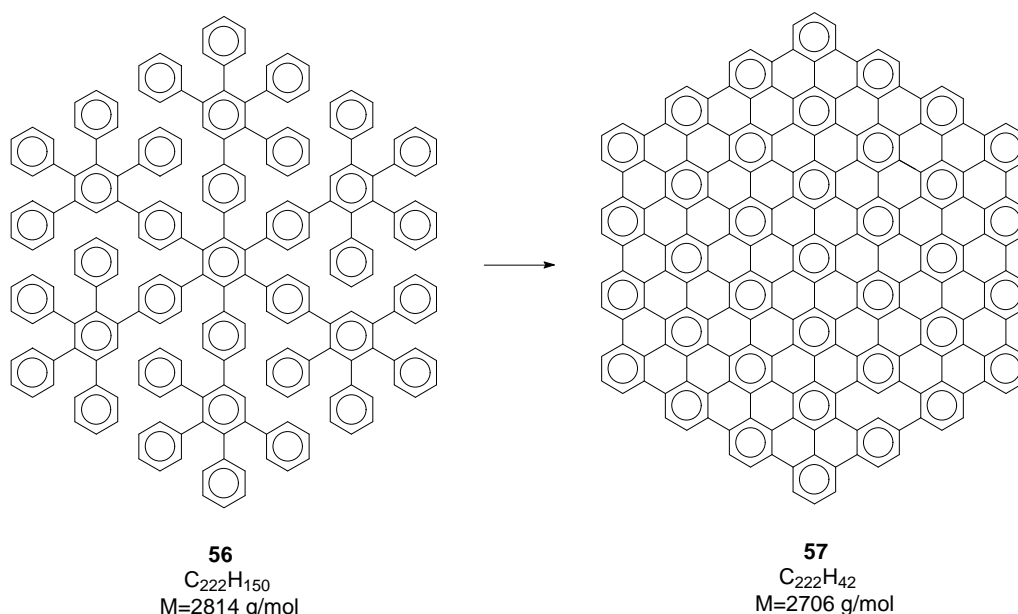


Abbildung 60: LD-Massenspektrum von PAH **55**. Unvermeidliche Fragmentierung?

Dennoch werden bei dieser Probe neben dem Signal des Molekularions noch drei Signale bei niedrigeren Masse-zu-Ladungsverhältnissen detektiert. Diesen Signalen können Moleküle mit dem Verlust von einem, fünf oder neun aromatischen Ringen aus Struktur **55** zugeordnet werden, die entweder bei der Synthese oder im Massenspektrometer gebildet wurden. Die zweite Möglichkeit ist die wahrscheinlichste, da die LD-Methode nur einen begrenzten Massenbereich besitzt, in dem Analyte intakt desorbiert werden können (s. Abbildung 58). Jenseits dieses Massenbereichs führt die benötigte Laserleistung zur unvermeidlichen Fragmentierung des Analyten.

Abbildung 61 zeigt nun das LD-Massenspektrum des PAHs **57**, das nach oxidativer Cyclodehydrierung des Oligophenylens **56** (s. Schema 12) synthetisiert wurde.¹⁰⁴



Schema 12. Cyclodehydrierung von **56** zur Bildung von PAH **57**

Eine Vielzahl von Signalen mit kleineren und größeren Massen als der des Zielprodukts **57** (2706 g/mol) wird detektiert. Im niedermolekularen Bereich ($m/z < 1000 \text{ Da}$) deuten die sehr intensiven Signalen auf eine starke Fragmentierung hin. Im Bereich der für das Zielmolekül **57** erwarteten Masse (2706 g/mol) wird eine breite und dichte Signalverteilung detektiert. Sie erstreckt sich von ca. 1500 bis 5000 Da d.h. weit über das Molekulargewicht sowohl des Ziel- als auch des Ausgangsprodukts (2814 g/mol). Dies deutet auf Fragmentierung und Koaleszenz des Analyten hin. Außerdem ähnelt der regelmäßige Abstand zwischen diesen zahlreichen

Signalen, der ca. 24 g/mol (C_2 -Einheiten) beträgt, den Signalverteilungen, die von Fragmentierungs- und Koaleszenzreaktionen von Fullerenen¹¹³ und kleinen PAHs^{114,115} bekannt sind. Diese Analyte weisen bei LD-Experimenten mit hoher Laserleistung auch eine Signalverteilung mit dem regelmäßigen Abstand von 24 g/mol auf, die sich im Massenbereich unterhalb sowie oberhalb des Analyten erstreckt. Offensichtlich befindet sich das Molekulargewicht des sehr großen PAHs **57** außerhalb des Anwendungsbereichs von LD, und es findet bereits ein Zerfall des Analyten während der Desorption statt. Anhand dieses Massenspektrums ist es schwierig zu beurteilen, welche Produkte bei der Reaktion erhalten und welche erst im Massenspektrometer gebildet wurden.

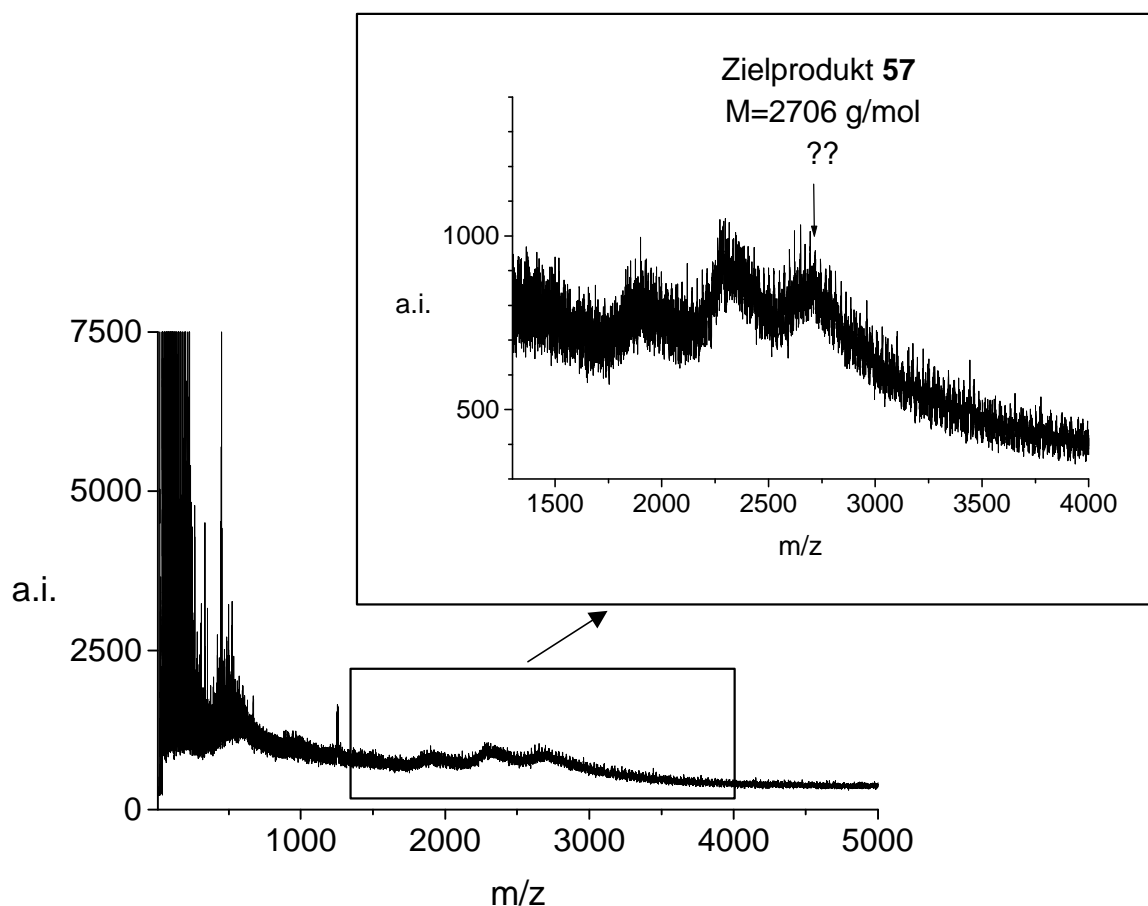


Abbildung 61: LD-Massenspektrum des Produkts nach oxidativer Cyclodehydrierung von Oligophenylen **56**

Zur Veranschaulichung der Beobachtungen wird abschließend die Charakterisierung der unlöslichen PAHs mit LD und deren Limitierung durch Abbildung 62 schematisch dargestellt. Abbildung 62 soll den qualitativen Verlauf der Desorptions- und Fragmentierungsschwellen mit steigendem Molekulargewicht darstellen und zeigt die Ursache für die Grenzen der LD-Methode. Abbildung 62 ist analog zu Abbildung 58, enthält jedoch zusätzlich die konkreten Molekulargewichte, die nach den Experimenten mit unterschiedlich großen PAHs nun zugeordnet werden können. Der Anwendungsbereich der LD-Methode für die Charakterisierung unlöslicher PAHs kann somit konkret bestimmt werden.

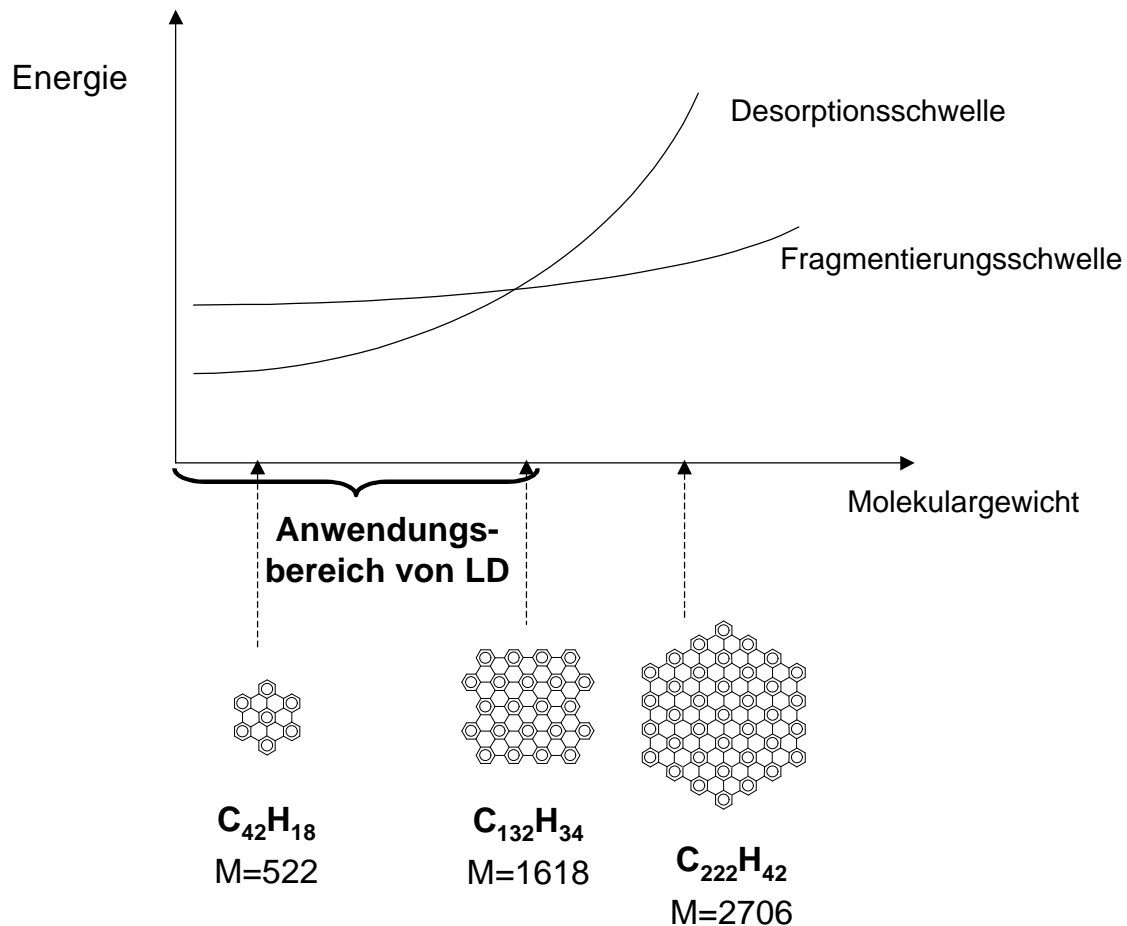


Abbildung 62: Charakterisierung von unlöslichen PAHs mit LD: Schematische Entwicklung der Desorptions- und Fragmentierungsschwelle als Funktion des Analyt-Molekulargewichts

III.4.2.2 Weiterentwicklung von MALDI zur Charakterisierung ausgedehnter unlöslicher PAHs

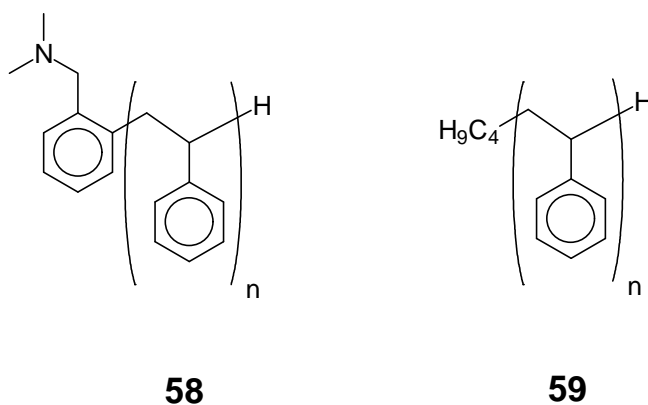
Die Charakterisierung des PAHs **57** sowie noch größerer PAHs benötigt folglich einen milderen Desorptionsprozeß als den bei direkter Laserdesorption. Bei löslichen organischen Verbindungen wurde MALDI-TOF-MS eingeführt, um die Molekulargewichtsgrenze der LD-TOF-MS überzuwinden.¹¹⁶ Damit große Analytmoleküle (einige Tausend bis einige Hunderttausend g/mol) in die Gasphase ohne Fragmentierung überführt werden können, werden sie bei der MALDI-Methode in einem Überschuß von Matrix-Molekülen (z.B. 1:1000 Analyt:Matrix) eingebettet und voneinander isoliert.^{15,117} Die kleinen organischen Matrix-Moleküle absorbieren die Laserenergie und sublimieren. Gleichzeitig werden die in der Matrix eingebetteten Analytmoleküle ohne direkte Anregung und praktisch fragmentierungsfrei in die Gasphase mitüberführt. Obwohl die Analyt-Matrix-Mischung in kondensierter Phase in das Massenspektrometer eingeführt wird, erfordert die konventionelle Probenvorbereitung¹⁵ lösliche Analyt- und Matrixmoleküle, um homogene Mischungen vor der Verdampfung des Lösungsmittels zu erzielen. Damit wird die Anwendung von MALDI auf lösliche Proben begrenzt. Allgemein wird angenommen, daß die nach der Verdampfung des Lösungsmittels hinterlassene mikrokristalline Struktur der Probe eine Rolle spielt, daß also das Kristallgitter, in das der Analyt quasi als Fehlstelle eingebaut ist, für den Desorptionsprozeß wichtig ist. Es existiert jedoch kein Beweis dafür, da die äußerst geringe Analytkonzentration eine Visualisierung des Analyten in der Kristallstruktur der Matrix verhindert. Im Gegenteil, die Probenvorbereitungen mit flüssigen Matrices^{118,119,120} oder mit unlöslichen Matrices¹²¹ (wie schon bei den frühesten MALDI-Experimenten von Tanaka¹¹⁷) deuten daraufhin, daß lediglich eine homogene Verteilung des Analyten in der Matrix für den MALDI-Prozeß erforderlich ist. Unseren Überlegungen zufolge gibt es also keinen zwingenden Grund für den „Umweg“ über den gelösten Zustand von Matrix und Analyt. Es wurde daher im Laufe dieser Arbeit die systematische Entwicklung einer speziellen Probenvorbereitung durchgeführt, um den MALDI-Prozeß auch für unlösliche PAH-Proben zu erzielen.

III.4.2.2.1 Vorversuche

Zur Erzielung möglichst kleiner Korngrößen und einer homogenen Mischung wurde zunächst eine feine Dispersion des Analyten **57** in einer Matrix-Lösung getestet. Dabei wurde als

Matrix Dithranol in THF gelöst. Der Analyt wurde mit einer Kugelmühle gemahlen und anschließend in der Matrix-Lösung im Ultraschallbad weiter zerkleinert. Leider zeigt das Massenspektrum (hier nicht abgebildet) zwar Matrix-Peaks, aber keine Signale des Analyten. Das Scheitern dieser Probenvorbereitung liegt wahrscheinlich an der Entmischung zwischen Analyt- und Matrixmolekülen im Verlauf der Lösungsmittelverdampfung (s. spätere Versuche S. 138).

Als weitere Probenvorbereitung wurde eine mechanische Homogenisierung der festen Proben von Matrix- und Analyt-Pulver betrachtet und vollkommen auf die Beteiligung eines Lösungsmittels verzichtet. Diese Festphasenprobenvorbereitung wurde mit Hilfe einer Kugelmühle durchgeführt, die nach Hersteller-Spezifikationen eine minimale Partikelgröße von ca. 1 μm in einigen Minuten erzielen kann. Für die Vorversuche wurde die Methode zunächst auf lösliche Polystyrol-Standards ($M \approx 4000$ g/mol) mit unterschiedlicher Endgruppen angewendet: Ein mit einer Dimethylbenzylamino(DMB)-Gruppe und ein mit *tert*-Butyl terminiertes Polystyrol **58** bzw. **59**.



Diese Proben können mit der MALDI-Methode (nach einer üblichen Probenvorbereitung in Lösung) als intaktes Molekül in die Gasphase überführt und als protonierte bzw. kationisierte Verbindungen detektiert werden, wogegen diese bei der LD-Methode zersetzt werden. Als Matrix wurde Dithranol verwendet, und beim Polystyrol **59** wurde für die Kationisierung Silbertrifluoracetat als Pulver zur Analyt/Matrix-Mischung beigemischt (immer vollkommen ohne Lösungsmittel). Für die Festphasenprobenvorbereitung und deren Vergleich mit konventionelle Probenvorbereitung in Lösung wurden unterschiedliche molare Matrix/Analyt-Mischungsverhältnisse (50:1, 500:1, 5000:1) getestet. Abbildung 63 zeigt die Vergleichsspektren für das Polystyrol **58** beim Mischungsverhältnis 500:1 (Dithranol: PS **58**):

Die trocken vorbereitete Probe (s. Abbildung 63b) ergibt unter ähnlicher Laserleistung das gleiche Massenspektrum wie die in Lösung vorbereitete Probe (s. Abbildung 63a). Auch bei anderen Matrix/Analyt-Mischungsverhältnissen führen die unterschiedlichen Probenvorbereitungen zu den gleichen Massenspektren. Sogar bei der Messung von Polystyrol **59**, das in einer Mischung aus drei Komponenten (Polystyrol/Dithranol/Silbersalz) vorliegt, liefert die Festphasenprobenvorbereitung Massenspektren von gleicher Qualität.

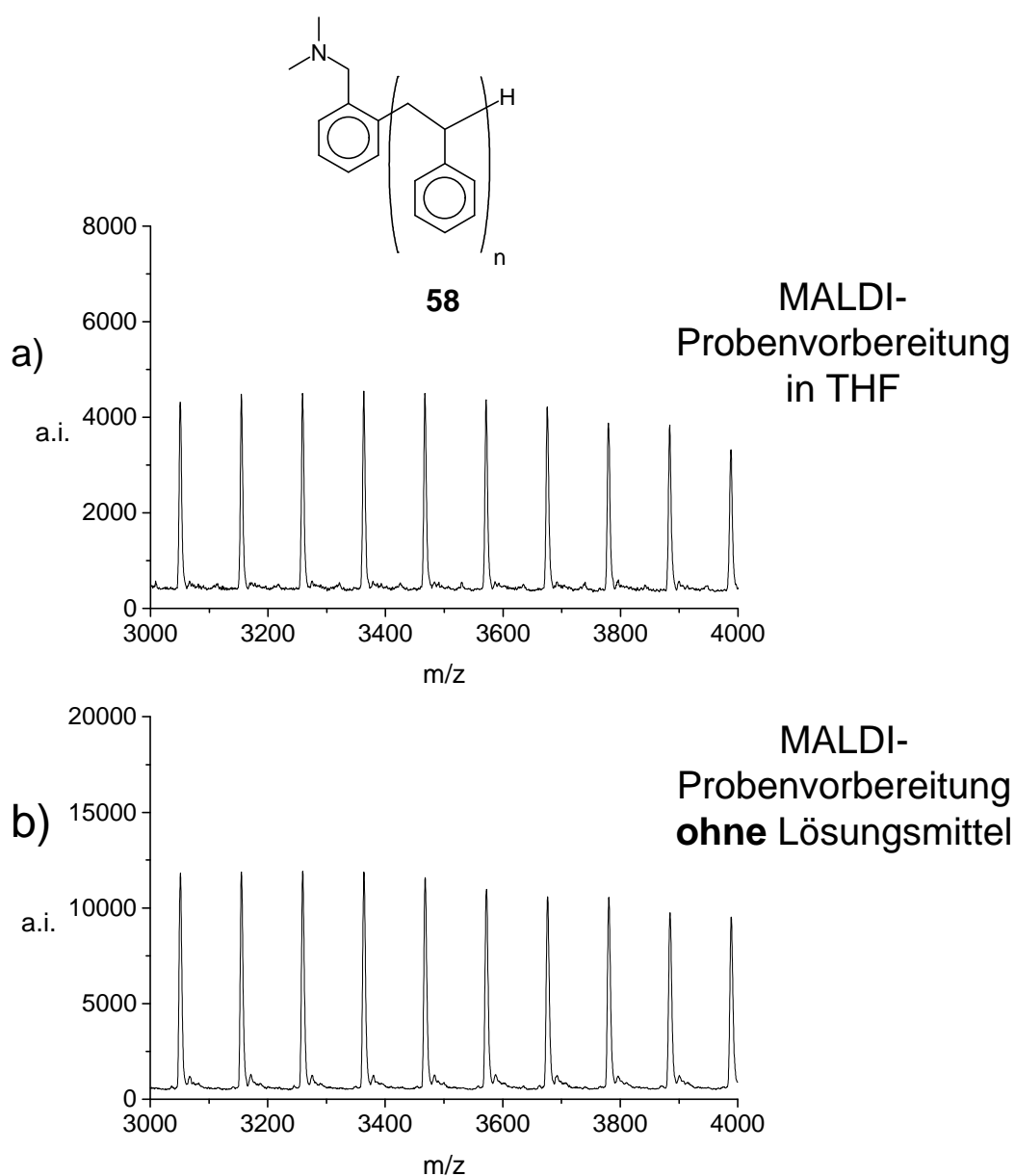
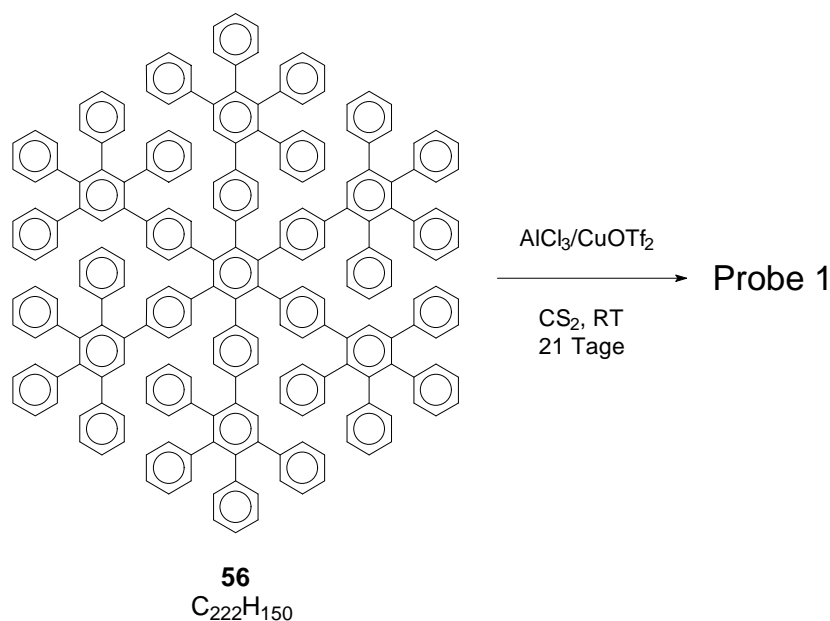


Abbildung 63: MALDI-Massenspektren von PS **58** gemessen mit Dithranol als Matrix nach unterschiedlichen Probenvorbereitungen: a) konventionelle Präparation in THF, b) Festphasenprobenvorbereitung.

Diese Vorversuche zur Festphasenprobenvorbereitung mit löslichen Polymeren zeigen eindeutig, daß die mechanische Homogenisierung des Analyten in der Matrix prinzipiell den MALDI-Prozeß ermöglicht. Dieses Ergebnis ist besonders bemerkenswert, da diese Möglichkeit der Probenvorbereitung ein großes Entwicklungspotential besitzt und bisher noch keine Erwähnung in der Literatur gefunden hat. Nun sollte diese Probenvorbereitung für die Analyse unlöslicher PAHs angewendet werden.

Eine erfolgreiche Matrixunterstützung bei PAH-Proben kann nicht mit kleinen PAHs (Molekulargewicht unter 2000 g/mol) bewiesen werden, da diese auch mit LD charakterisierbar sind, d.h. durch direkten Beschuß mit einem N₂-Laser desorbiert werden können. Nur eine bisher nicht charakterisierbare Substanz kann den eindeutigen Beweis für die drastische Verbesserung der Analyse durch die Matrixunterstützung liefern. Das Produkt der Cyclodehydrierung von Oligophenylen **56** ist daher ein geeigneter Prüfstein für die Anwendung und Verbesserung dieser Methode. Von Johann-Diedrich Brand wurde im Rahmen seiner Doktorarbeit eine Reihe von Experimenten mit verschiedenen Cyclodehydrierungsbedingungen durchgeführt. Dies führte zu Reaktionsprodukten, die mit konventioneller Analytik bisher nicht zu charakterisieren waren. Die Optimierung der Festphasenprobenvorbereitung für MALDI wurde zunächst mit dem Produkt aus der Reaktion von **56** mit AlCl₃/Cu(II)OTf₂ in Schwefelkohlenstoff (Raumtemperatur, 21 Tage) durchgeführt. Diese Probe wird im weiteren Text als Probe 1 bezeichnet (s. Schema 13).



Schema 13. Bildung von Probe 1 nach Cyclodehydrierung von Oligophenylen **56**

III.4.2.2.2 Entwicklung der MALDI-Festphasenprobenvorbereitung zur PAH-Analyse

Die Festphasenprobenvorbereitung des Produkts aus der Reaktion von **56** mit $\text{AlCl}_3/\text{Cu(II)OTf}_2$ in Schwefelkohlenstoff (Raumtemperatur, 21 Tage, im Folgenden mit Probe 1 bezeichnet) wurde zunächst mit Dithranol als Matrix getestet. Dabei wurden abgewogene Mengen von Probe 1 und Dithranol im Mahlbecher gemischt und dann für weitere 10 min in der Kugelmühle bei Raumtemperatur gemahlen. Mischungen mit molaren Analyt/Matrix-Verhältnissen von 1:50, 1:500 und 1:5000 wurden vorbereitet und auf das Target aufgebracht. Abbildung 64 zeigt die erhaltenen Massenspektren.

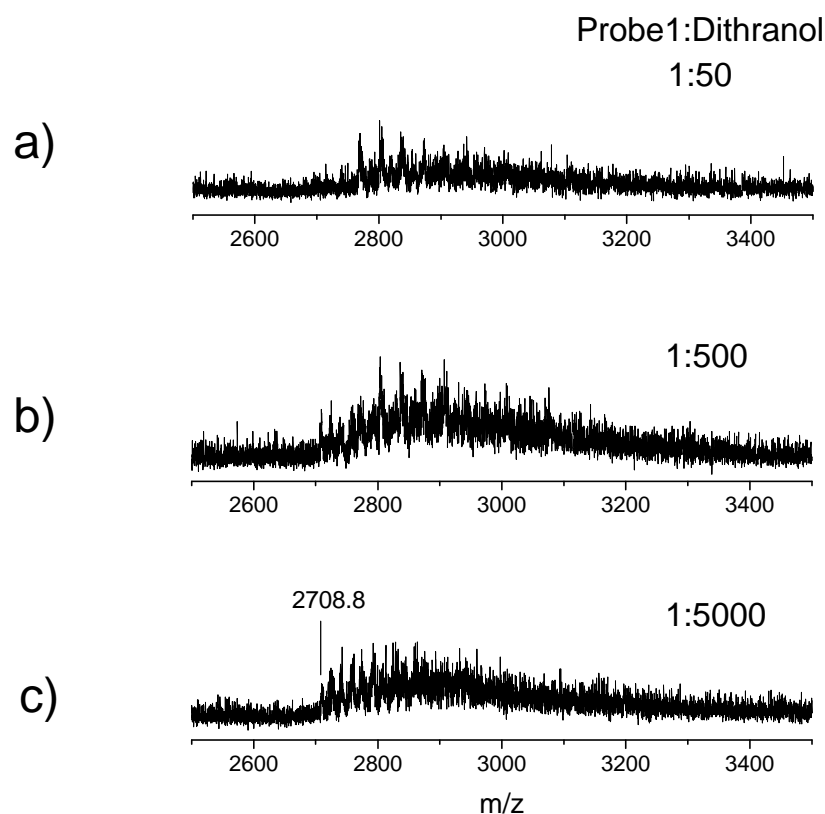


Abbildung 64: Massenspektren der Probe 1 nach Mischung bei RT mit Dithranol in unterschiedlichen molaren Verhältnissen von Analyt zu Matrix: a) 1:50; b) 1:500; c) 1:5000

Der Molekularpeak des erwarteten PAHs **57** ($M_{\text{avg}} = 2708.8 \text{ g/mol}$) wird bei den Mischungen 1:500 und 1:5000, wenn auch mit niedriger Intensität detektiert, während er bei der Mischung 1:50 im Untergrundrauschen verschwindet. Bei höheren Massen werden zusätzlich Nebensignale detektiert, deren Zuordnung später betrachtet wird (s. Kap. III.4.2.3). Trotz einer schlechten Qualität des Massenspektrums (schlechtes Signal-zu-Rausch-Verhältnis, niedrige Auflösung) wurde die Desorption von Probe 1 offensichtlich durch die Matrix unterstützt. In der Tat sind die Fragmentensignale, die beim LD-Massenspektrum (s. Abbildung 61, S. 123) unvermeidbar waren, jetzt verschwunden. Um die Aussagekraft des Massenspektrums weiter zu erhöhen, muß die Probenvorbereitung weiter optimiert werden.

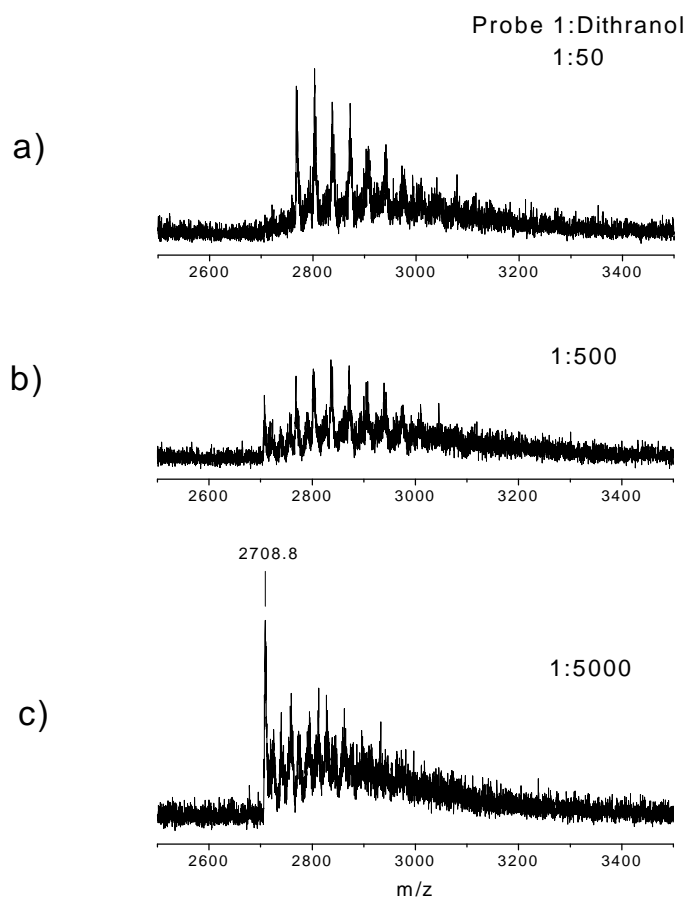


Abbildung 65: Massenspektren der Probe 1 nach Mischung unter Kühlung mit flüssigen N_2 mit Dithranol bei unterschiedlichen molaren Verhältnissen: a) 1:50; b) 1:500; c) 1:5000

Die mit Dithranol bei Raumtemperatur vorbereiteten Proben sind etwas „klebrig“ wodurch die Homogenisierung des Analyten im Matrix-Pulver erschwert wird. Um Analyt und Matrix unter diesen Gegebenheiten zu homogenisieren, wurden die gleichen Mischungen unter Kühlung mit flüssigen Stickstoff präpariert, da bei tiefen Temperaturen Versprödung eintreten sollte. Der Vergleich von Abbildung 65 mit Abbildung 64 zeigt die daraus resultierenden verbesserten Massenspektren. Aus den Ergebnissen können zwei wichtige Punkte abgeleitet werden: Zum einen ist die Matrixunterstützung für die Desorption von **57** bei der Mischung 1:5000 eindeutig nachgewiesen, zum anderen zeigt das Analyt/Matrix-Mischungsverhältnis eine deutliche Auswirkung auf die relativen Signalintensitäten der unterschiedlichen Produkte in Probe 1. Auf die Quantifizierbarkeit der Massenspektren wird in Kapitel III.4.2.4 näher eingegangen.

Die Festphasenprobenvorbereitung unter Kühlung mit flüssigem N₂ ist jedoch zeitaufwendig. Es wurde daher nach einer anderen Matrix gesucht, die die Desorption von PAH **57** auch bei Raumtemperatur unterstützen kann. Andere Matrices als Dithranol wurden daher bei Raumtemperatur getestet. Abbildung 66 zeigt die erhaltenen Massenspektren mit all-trans-Retinoesäure, trans-3-(3-Indolyl)-akrylsäure (IAA), α -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure (CCA), 9-Nitroanthracen, 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) und 5-Chlorsalicylsäure (CSA) als Matrices. Bei allen Matrices außer CSA ist die Matrixunterstützung vorhanden. Weder Fragment- noch Koaleszenzsignale werden aufgenommen, und das intakte Zielmolekül **57** wird detektiert. Das Signal des Quasimolekularions **57** ist bei CCA besonders intensiv, was auf eine sehr effektive Matrixunterstützung schließen läßt. Die CCA scheint also für die Matrixunterstützung des PAHs **57** besonders angepaßt zu sein. Die relativen Signalintensitäten der unterschiedlichen Produkte hängen stark von der angewendeten Matrix ab. Auf dieses Problem wird im Kapitel III.4.2.4 näher eingegangen. Im Gegensatz zu den anderen Matrices zeigt das Massenspektrum mit CSA (s. Abbildung 66f) ein ähnliches Bild wie das LD-Massenspektrum (s. Abbildung 61, S. 123). Das Massenspektrum ist im Molekularbereich des erwarteten Produkts **57** mit einer breiten Signalverteilung überlagert, die durch den regelmäßigen Abstand von 24 Da zwischen den zahlreichenden Signalen charakterisiert ist. Die auftretenden Fragmentierung und Koaleszenz des Analyten lassen sich durch die hohe Laserleistung erklären, die für die Desorption von CSA nötig ist (Klassifizierung der Matrices nach Desorptionsschwelle s. Anhang 2) und offenbar bereits über der Fragmentierungsschwelle des Analyten liegt.

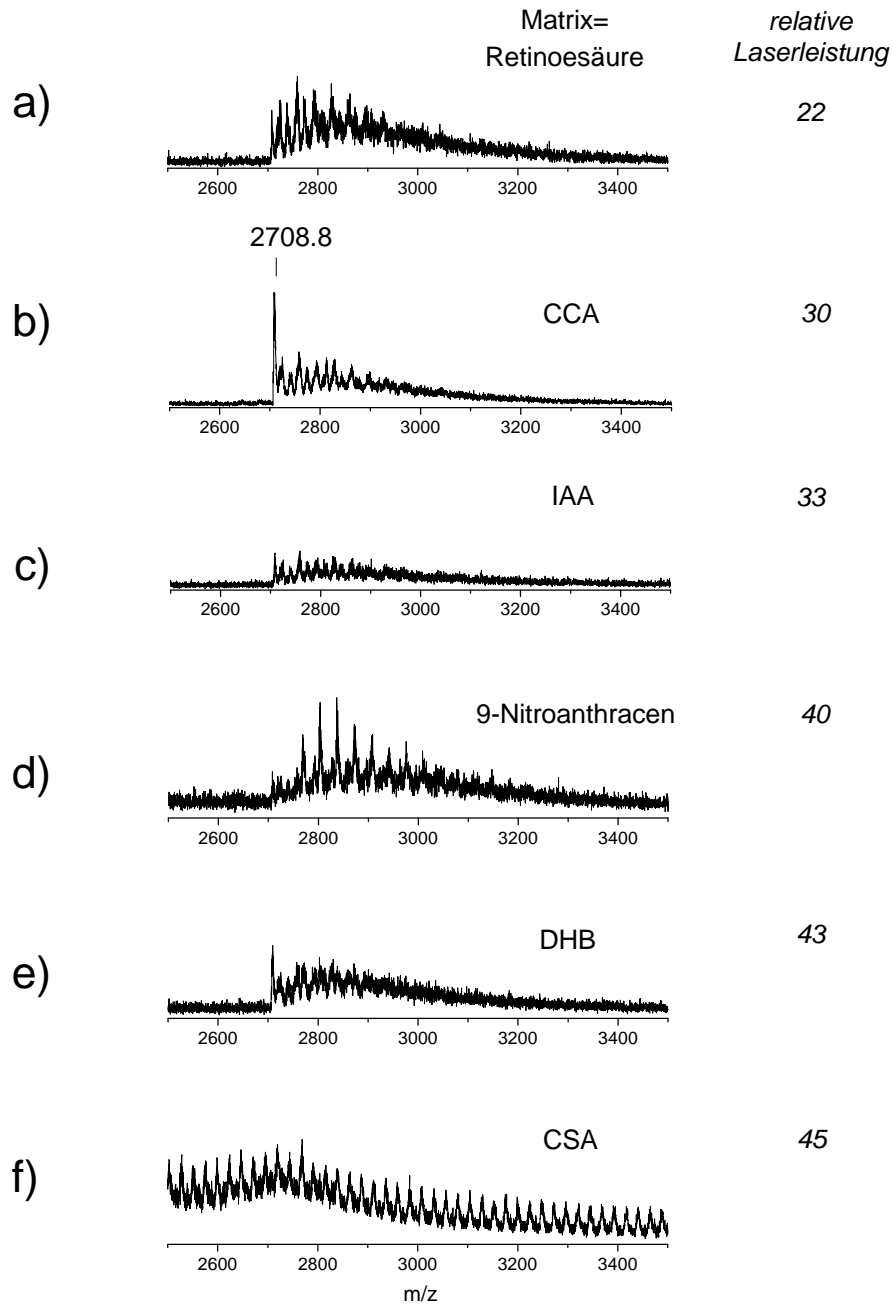


Abbildung 66: Test der Festkörperprobenvorbereitung mit unterschiedlichen Matrices. Massenspektren der Probe 1 nach Mischung bei RT mit folgenden Matrices (molares Verhältnis 1:500): a) all-trans-Retinoesäure; b) *a*-cyano-4-hydroxy-zimtsäure (CCA); c) trans-3-(3-Indolyl)-Akrylsäure (IAA); d) 9-Nitroanthracen; e) 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB); f) 5-Chlorsalicylsäure (CSA). Die Massenspektren sind nach steigender Laserleistung geordnet.

Da die angewendete Probenvorbereitung nicht auf Lösungsmittel angewiesen ist, stellt auch die Löslichkeit der Matrix keine Einschränkung mehr dar, und es können auch ganz andere organische Verbindungen statt der üblichen Matrices eingesetzt werden. Eine wesentliche Voraussetzung zum Einsatz als Matrix ist lediglich eine starke Absorption bei der Wellenlänge des N₂-Lasers. Als potentielle Matrices können daher z.B. auch Laserfarbstoffe¹²² wie 1,4-Bis(5-phenyloxazol-2-yl)benzol (POPOP), 2,5-Bis-(4-biphenyl)oxazol (BBO), 4,4'-Diphenylstilbene (DPS) oder 2-(1-Naphtyl)-5-phenyloxazol (α -NPO) getestet werden. Wie erwartet können diese Laserfarbstoffe schon bei niedriger Laserleistung desorbiert werden (Klassifizierung der Matrices s. Anhang 3). Abbildung 67 zeigt die aus einer Mischung der Probe 1 mit diesen Laserfarbstoffen gemessenen Massenspektren. Wie schon bei den herkömmlichen Matrices festgestellt werden konnte, ändern sich die relativen Signalintensitäten der Produkte je nach angewendeter Matrix deutlich. Diese auf Absorption optimierten Matrices zeigen sich dennoch für die Matrixunterstützung des erwarteten Produkts **57** weniger wirksam als CCA, die bis jetzt das intensivste Signal der gewünschten Verbindung **57** produzierte.

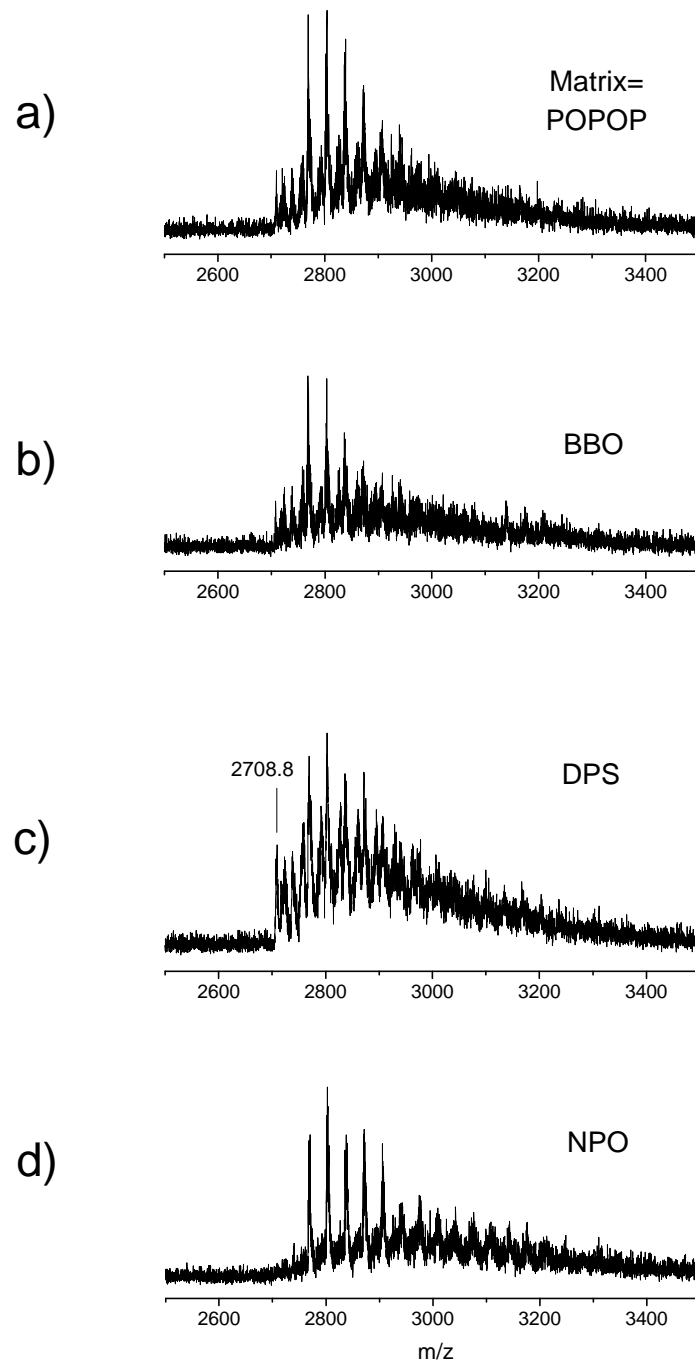


Abbildung 67: Massenspektren der Probe 1 gemessen mit Laserfarbstoffen als Matrix (molares Analyt/Matrix-Mischungsverhältnis 1:500): a) POPOP; b) BBO; c) DPS; d) NPO

Bis jetzt wurde die Matrix lediglich als Mittel für eine milde Desorption des Analyten betrachtet, während die Ionisation wahrscheinlich durch direkte Photoabsorption des Analyten erfolgt. Um die PAH-Ionenausbeute beim MALDI-Prozeß zu erhöhen, könnte eine Matrix eingesetzt werden, die gute Elektronenakzeptor-Eigenschaften aufweist. Es wäre zu erwarten, daß durch die Anwesenheit einer oxidierenden Matrix die Bildung des Analyt-Radikalkations begünstigt wird. Auf dem Gebiet der organischen Metalle sind 7,7,8,8-Tetracyanochinodimethan (TCNQ) und 2,3,5,6-Tetrafluortetracyanochinodimethan (TCNQF4) als starke Elektronenakzeptoren bekannt. Zusätzlich besitzen beide Verbindungen bei 337 nm (Wellenlänge des N₂-Lasers) eine ausgeprägte UV-Absorption. Diese Matrixkandidaten wurden mit Probe 1 bei einem molaren Analyt/Matrix-Mischungsverhältnis 1:500 getestet. Abbildung 68 zeigt die gemessenen Massenspektren.

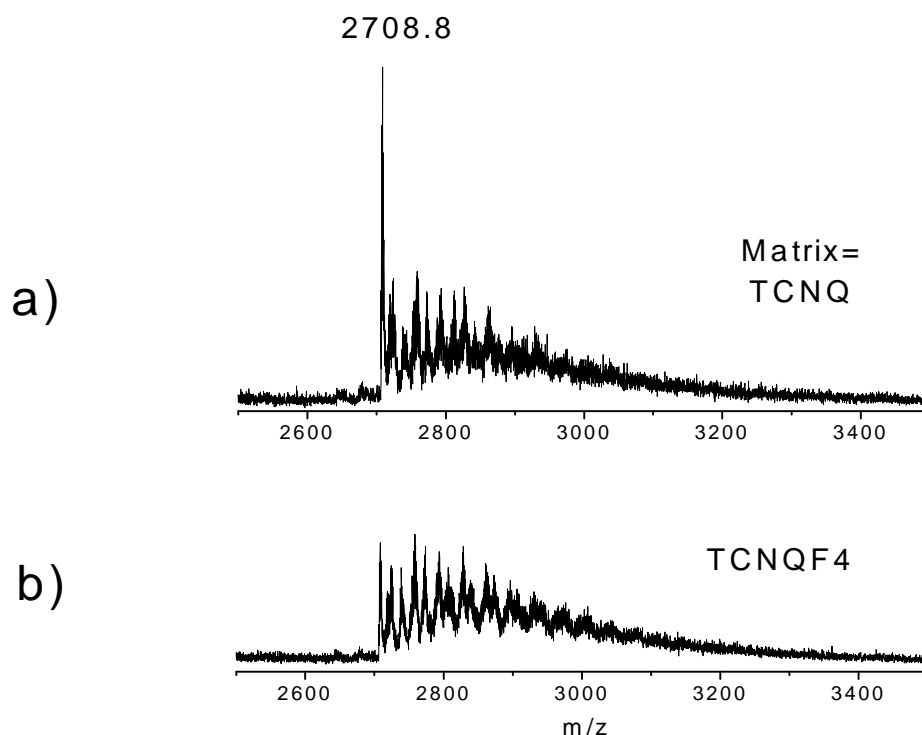


Abbildung 68: Massenspektren der Probe 1 gemessen mit einem Elektronenakzeptor als Matrix (molares Analyt/Matrix-Mischungsverhältnis 1:500): a) TCNQ; b) TCNQF4

Mit TCNQ (Abbildung 68a) wird das beste Signal (hohe Intensität, hohe Auflösung) des PAHs **57** erhalten. Die Annahme zur Ionisationsunterstützung mittels eines Elektronenakzeptors bei der Bildung von PAH-Radikalkationen konnte damit teilweise verifiziert werden. Dies könnte außerdem das intensive Signal von PAH **57** mit CCA als Matrix erklären, da die Cyano- und Carboxy-Gruppen als elektronenziehende Substituenten (Formel s. Anhang 2) dem CCA Elektronenakzeptor-Eigenschaften verleihen und so ein durch Oxidation gebildetes Analyt-Radikalkation stabilisieren könnten. Gegen diese Annahme spricht aber das mit TCNQF4 aufgenommene Massenspektrum (Abbildung 68b). TCNQF4 ist ein stärkerer Elektronenakzeptor als TCNQ und sollte daher die PAH-Ionenausbeute noch weiter erhöhen. In Wirklichkeit fällt aber die Signalintensität des PAHs **57** beim Einsatz von TCNQF4. Dieser Befund deutet an, daß neben der Elektronenakzeptor-Eigenschaften der Matrix wohl auch andere Eigenschaften wie z.B. Packungseffekte eine wesentliche Rolle für die Effektivität der Ionisation und Desorption zu spielen scheinen.

Die Vorbereitung der Probe 1 aus der Festphase mit TCNQ als Matrix, die bis jetzt zum intensivsten Signal des PAHs **57** führte, wurde weiter untersucht. Zunächst wurde das molare Analyt/Matrix-Mischungsverhältnis variiert. Der Vergleich zwischen den aus den Mischungen 1:50, 1:500 und 1:5000 (s. Abbildung 69) gemessenen Massenspektren zeigt im Gegensatz zur Probenvorbereitungen mit Dithranol (s. Abbildung 65, S. 130) wenig Unterschied hinsichtlich der relativen Signalintensitäten. Nur die gesamte Intensität ändert sich und erreicht ein Maximum bei der Mischung 1:500.

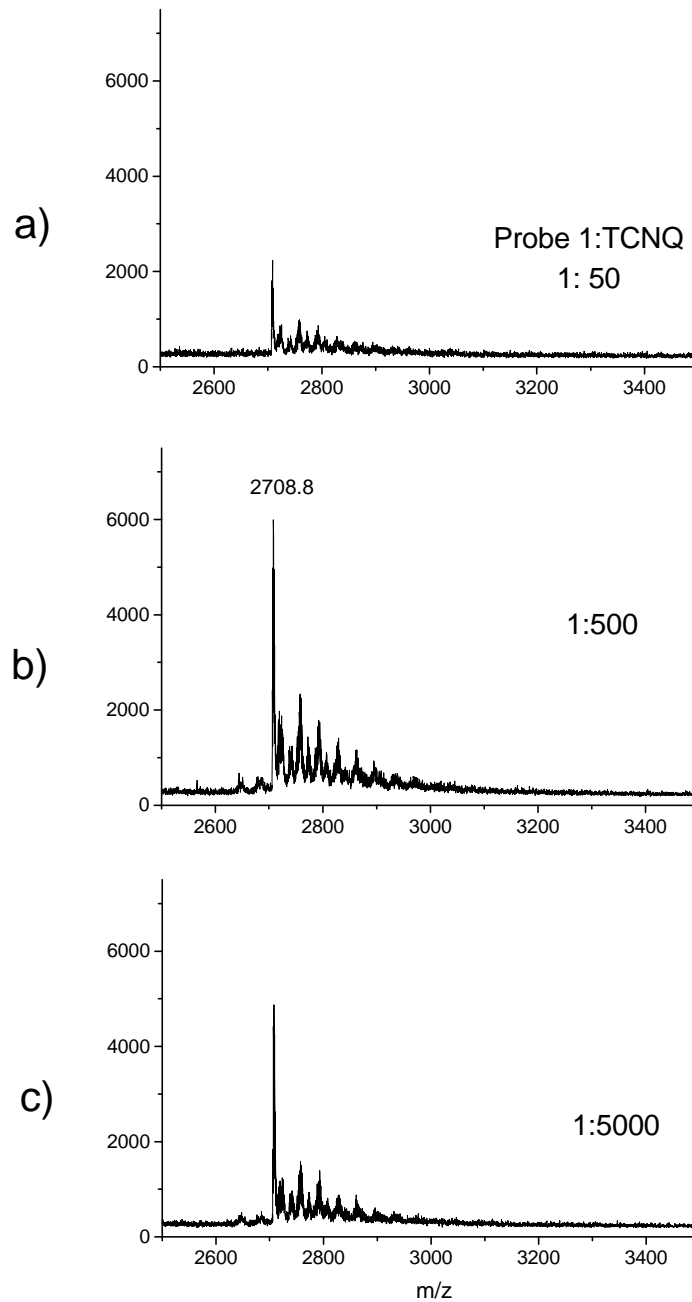


Abbildung 69: Massenspektren der Probe 1 mit TCNQ als Matrix und unterschiedlichen molaren Analyt/Matrix-Verhältnissen: a) 1:50; b) 1:500; c) 1:5000

Mit dieser Festphasenprobenvorbereitung wird die Analyt/Matrix-Mischung als Pulver auf dem Target aufgetragen. Dadurch besteht jedoch die Gefahr, die Quelle des Massenspektrometers zu verunreinigen und damit die Transmission und Massengenauigkeit zu verschlechtern. Um diese Verschmutzung zu vermeiden, kann die Analyt-Matrix-Mischung

nach dem Zermahlen in der Kugelmühle in einem für alle Mischungskomponenten „nicht-lösenden“ Lösungsmittel suspendiert und anschließend mit einem Ultraschallfingerring fünf Minuten weiter homogenisiert werden. Eine kleine Menge dieser Suspension wird dann auf das Target aufgetragen, so daß eine dünne Schicht nach Verdampfen des Lösungsmittels erhalten wird. Bei diesem Verfahren spielt die Wahl des Lösungsmittels eine entscheidende Rolle. Aus Suspensionen in Wasser, Toluol oder Cyclohexan, die TCNQ allesamt nicht lösen, werden ähnliche Massenspektren wie die ausgehend vom „trockenen“ Pulver aufgenommen. Wird dagegen THF oder Aceton verwendet, in dem sich TCNQ löst, können neben den Matrixsignalen überhaupt keine Signale der Probe 1 detektiert werden. Offensichtlich werden beim Verdampfen des Lösungsmittels die unlöslichen Produkte der Probe 1 von den sich bildenden TCNQ-Kristallen ausgeschlossen, wobei die Entmischung zum Scheitern des MALDI-Prozesses führt. Bei der Suspension in einem TCNQ nicht lösenden Lösungsmittel wurde auch versucht, die Zeit der Ultraschallbehandlung von 5 auf 60 Minuten zu erhöhen, um dadurch die Homogenisierung der Analytpartikel in der Matrix eventuell weiter zu verbessern. Die Massenspektren zeigten aber keine wesentliche Qualitätssteigerung.

Bei der Anwendung der Festphasenprobenvorbereitung mit TCNQ als Matrix ändern sich die Massenspektren kaum bei erhöhter Laserleistung. Die Fragmentierung des vollständig cyclodehydrierten PAHs **57** wurde vermieden, was für den schonenden Charakter des MALDI-Prozesses spricht. Dies ist von großer Bedeutung, um den Anwendungsbereich der MALDI-Methode für die Charakterisierung der PAHs richtig einschätzen zu können. Tatsächlich neigen absorbierende im Gegensatz zu nicht absorbierenden Analyten selbst unter milden MALDI-Desorptionsbedingungen zur Fragmentierung. Bei der Untersuchung von löslichen Tetrahydropyren(THP)-Oligomeren mit MALDI konnte gezeigt werden,⁷⁴ daß aufgrund einer intensiven Absorption bei der Wellenlänge des verwendeten N₂-Lasers der Desorptions- und Ionisationsprozeß anders als bei einem gewöhnlichen MALDI-Prozeß abläuft. Statt quasimolekularer Ionen, die durch eine Kationanlagerung gebildet werden, werden Radikalkationen detektiert. Die niedermolekularen Oligomere konnten mit direkter Laserdesorption nachgewiesen werden im Gegensatz zu den hochmolekularen Oligomeren, die die Unterstützung einer Matrix zur Erzeugung molekularer Ionen benötigen. Trotz der Matrixunterstützung wurden aber neben den intakten Molekülonen auch deren Fragmente detektiert. Die für die Überführung intakter Moleküle in die Gasphase erforderliche Matrixunterstützung findet zwar statt, die Ionisation wird aber nach einer direkten Photoabsorption durch den Analyten erzielt. Die für den matrixunterstützten

Desorptionsprozeß benötigte Laserleistung liegt über der Ionisierungsschwelle und löst neben der Ionisation des intakten Moleküls ebenso eine Fragmentierung aus. Ein solches Verhalten könnte bei der MALDI-Untersuchung der PAHs ebenfalls auftreten. Um die Grenzen der MALDI-Methode zu erweitern, sollte die Matrix eine möglichst niedrige Desorptionsschwelle besitzen, so daß die zur Desorption nötige Laserleistung generell unter der Fragmentierungsschwelle der Probe liegt. Glücklicherweise besitzt TCNQ eine sehr niedrige Desorptionsschwelle, vergleichbar mit der von all-trans-Retinoesäure, die unter den zur Zeit gängigen Matrices die niedrigste Desorptionsschwelle aufweist (s. Anhang 3). Folglich besteht mit der neuen Festphasenprobenvorbereitung die Hoffnung, noch weitaus größere PAHs als **57** ($C_{222}H_{42}$) mit MALDI analysieren zu können.

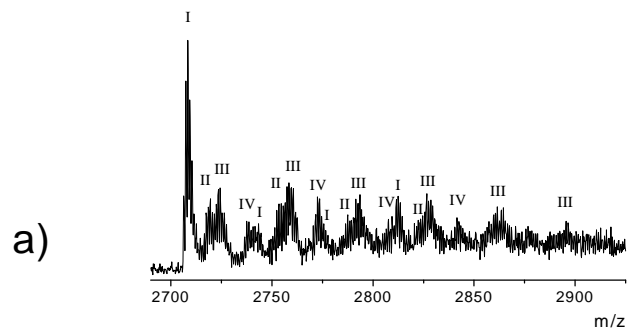
III.4.2.3 Qualitative Analyse der Cyclodehydrierungsprodukte von Oligophenylen **56** ($C_{222}H_{150}$) mit MALDI

Vor dem Einsatz der MALDI-Massenspektrometrie konnten die Cyclodehydrierungsprodukte von Oligophenylen **56** nicht charakterisiert werden. Nur die Bildung eines schwarzen, unlöslichen Produkts und die bei der Cyclodehydrierung kleinerer PAHs bereits bewährten Reaktionsbedingungen konnten auf eine wahrscheinliche Cyclodehydrierung des Vorläufers **56** schließen lassen. Eine genauere Charakterisierung der erhaltenen Produkte war aber zunächst unmöglich. Mit der gelungenen Entwicklung der MALDI-Probenvorbereitung, konnten endlich MALDI-Massenspektren dieser unlöslichen Proben aufgenommen werden. Dank der Festphasenprobenvorbereitung, die nun auch das „schwerlösliche“ TCNQ als optimierte Matrix für die Charakterisierung von PAHs zuläßt, können die Cyclodehydrierungsprodukte des Oligophenylens **56** intakt als Molekularionen in die Gasphase überführt werden. Fragmentierung und Koaleszenz werden dabei vermieden. Es stellt sich nun die Frage über die Zuordnung der zahlreichen, im Massenbereich des Zielprodukts **57** aufgenommenen Signale (s. Abbildung 69b). Entsprechen sie Gemischbestandteilen der Probe oder resultieren sie aus der Bildung von Adduktionen des Zielprodukts mit Matrix oder mit Fragmenten? Antworten auf diese Fragen liefern die folgenden Befunde. Bei einem Matrixwechsel (zwischen z.B. CCA und TCNQ) werden die gleichen Signale detektiert (s. Abbildung 66b, S. 132 bzw. Abbildung 69b, S. 137), so daß die Bildung von Adduktionen mit der Matrix ausgeschlossen werden können. Die Anwendung der gleichen Festphasenprobenvorbereitung zur Charakterisierung kleinerer PAHs führt zu keinen zusätzlichen Signalen. Darüber hinaus wird in diesem Kapitel gezeigt, daß andere

Proben, die durch Cyclodehydrierung von **56** unter verschiedenen Reaktionsbedingungen hergestellt wurden, auch eine andere Signalverteilung im Nebenproduktbereich zeigen. Aus den genannten Gründen kann mit großer Sicherheit geschlossen werden, daß alle detektierten Signale im Massenbereich des Zielprodukts **57** auf Gemischbestandteile der Probe zurückzuführen sind. Die mit der neuen Probenvorbereitung erhaltenen Massenspektren zeigen isotopenaufgelöste Peaks, die die qualitative Analyse der Probe sehr erleichtern. Anhand der gemessenen Molekulargewichte und Isotopenverteilungen sowie unter Kenntnis der angewendeten Reaktionsbedingungen können die Proben, die mit unterschiedlichen Bedingungen für die Cyclodehydrierung von **56** hergestellt wurden, charakterisiert werden.

Zunächst wird das Massenspektrum der Probe 1 betrachtet (s. Abbildung 70a). Diese Probe wurde nach Reaktion von **56** mit $\text{AlCl}_3/\text{CuOTf}_2$ (Raumtemperatur, 21 Tage) in Schwefelkohlenstoff erhalten (s. Schema 13, S. 128). Das Edukt **56** ($M_{\text{mono}}=2815.2$ g/mol) wird nicht detektiert, während das Produkt **57**, das durch den Verlust von 108 Wasserstoffatomen gebildet wird, als intensivstes Signal nachgewiesen wird ($M_{\text{mono}}=2706.3$ g/mol). Zusätzlich werden Nebenprodukte mit höheren Molekulargewichten als das des Zielmoleküls und sogar teilweise höher als das Molekulargewicht des Edukts detektiert. Aus dem gesamten Signalmuster können vier Peakserien extrahiert werden. Innerhalb jeder Verteilung liegen die Signale 34 Masseneinheiten auseinander. Dieser Massenunterschied von 34 g/mol entspricht der Differenz aus den Massen eines Chloratoms und eines Wasserstoffatoms. Dies bedeutet, daß jede Peakserie das gleiche Molekülgerüst mit einem unterschiedlichen Chlorierungsgrad beschreibt. Abbildung 70 zeigt neben dem gemessenen Massenspektrum die Simulation der vier Serien I, II, III und IV. Die Serie I entspricht der Chlorierungsreihe des Zielmoleküls **57**, wobei die Chlorierung an der Peripherie des Moleküls stattgefunden haben muß. In der Tat würde eine Chlorierung „im Inneren“ des Oligophenylens **56** eine vollständige Cyclodehydrierung verhindern und somit zu Endstrukturen mit höheren Massen (mindestens 4 g/mol mehr als eine an der Peripherie chlorierte Struktur) führen. Die Serien II, III und IV werden Teilcyclisaten mit 10, 16 bzw. 30 mehr Wasserstoffatomen als **57** (d.h. 5, 8 bzw. 15 offenen Bindungen) zugeordnet, die ebenfalls verschiedene Chlorierungsgrade aufweisen.

Messung



Simulationen

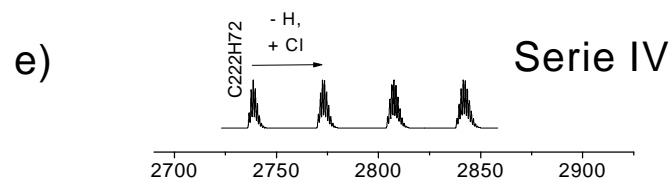
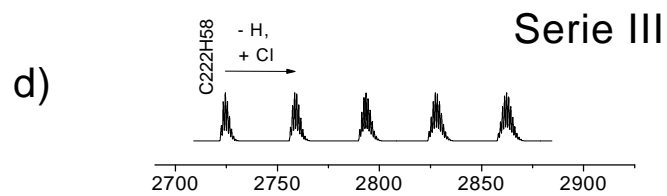
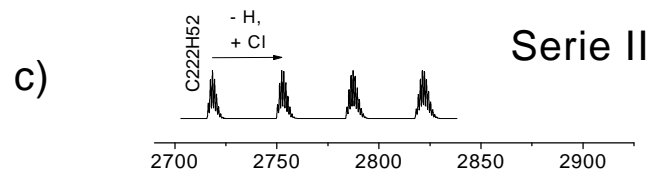
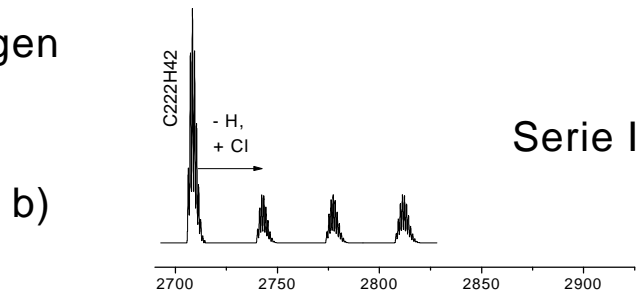


Abbildung 70: a) MALDI-Massenspektrum der Probe 1 und Simulationen der Peakserien b) I, c) II, d) III und e) IV

Ein wichtiger Punkt für die synthetische Arbeit ist herauszufinden, ob die Chlorierung eine vollständige Cyclodehydrierung behindert oder ob die Cyclodehydrierung unabhängig von der Chlorierung abgebrochen wird. Die ersten Signale der Serie II, III und IV, die unchlorierten Teilcyclisaten zugeordnet werden können, deuten eher darauf hin, daß die Cyclodehydrierung bei bestimmten Teilcyclisat-Strukturen „hängen bleibt“. Eine weitere Serie V ($C_{222}H_{102} + nCl - nH$), die sich auf eine Struktur mit 60 Wasserstoffatomen mehr als beim Zielmolekül **57** (d.h. mit 30 offenen Bindungen) bezieht, ist auf dem mit TCNQ als Matrix gemessenen Massenspektrum nicht zu erkennen (s. Abbildung 70). Diese Serie wird aber eindeutig detektiert, wenn Dithranol (s. Abbildung 65a, S. 130), 9-Nitroanthracen (s. Abbildung 66d, S. 132) oder Laserfarbstoffe (s. Abbildung 67, S. 134) als Matrix verwendet werden. Dieses Quantifizierungsproblem wird im folgenden Abschnitt betrachtet. Es ist im übrigen nicht auszuschliessen, daß andere als die bis jetzt erwähnten Nebenprodukte zusätzlich entstanden sind, deren Charakterisierung durch die Vielzahl der Signale behindert wird.

Anhand der MALDI-Massenspektren wurde der Einfluß der Reaktionszeit auf die Cyclodehydrierung mit der Kupfertriflat/Aluminiumchlorid-Kombination kontrolliert. Abbildung 71 zeigt die mit TCNQ gemessenen MALDI-Massenspektren von vier Proben, die sich auf eine Reaktionszeit von 21 Tagen (Probe 1), 10 Tagen, 1 Tag bzw. 1 Stunde beziehen. Durch Verminderung der Reaktionszeit von 21 Tagen bis zu einem Tag (Abbildung 71 a, b und c) wird die relative Intensität der chlorierten Nebenprodukte wesentlich reduziert. Wird die Reaktionszeit weiter auf nur eine Stunde (Abbildung 71d) herabgesetzt, bleibt die Cyclodehydrierung unvollständig: Das Edukt kann noch detektiert werden, während das Zielprodukt neben einer breiten Verteilung von unvollständig cyclodehydrierten Oligophenylenen kaum nachgewiesen werden kann.

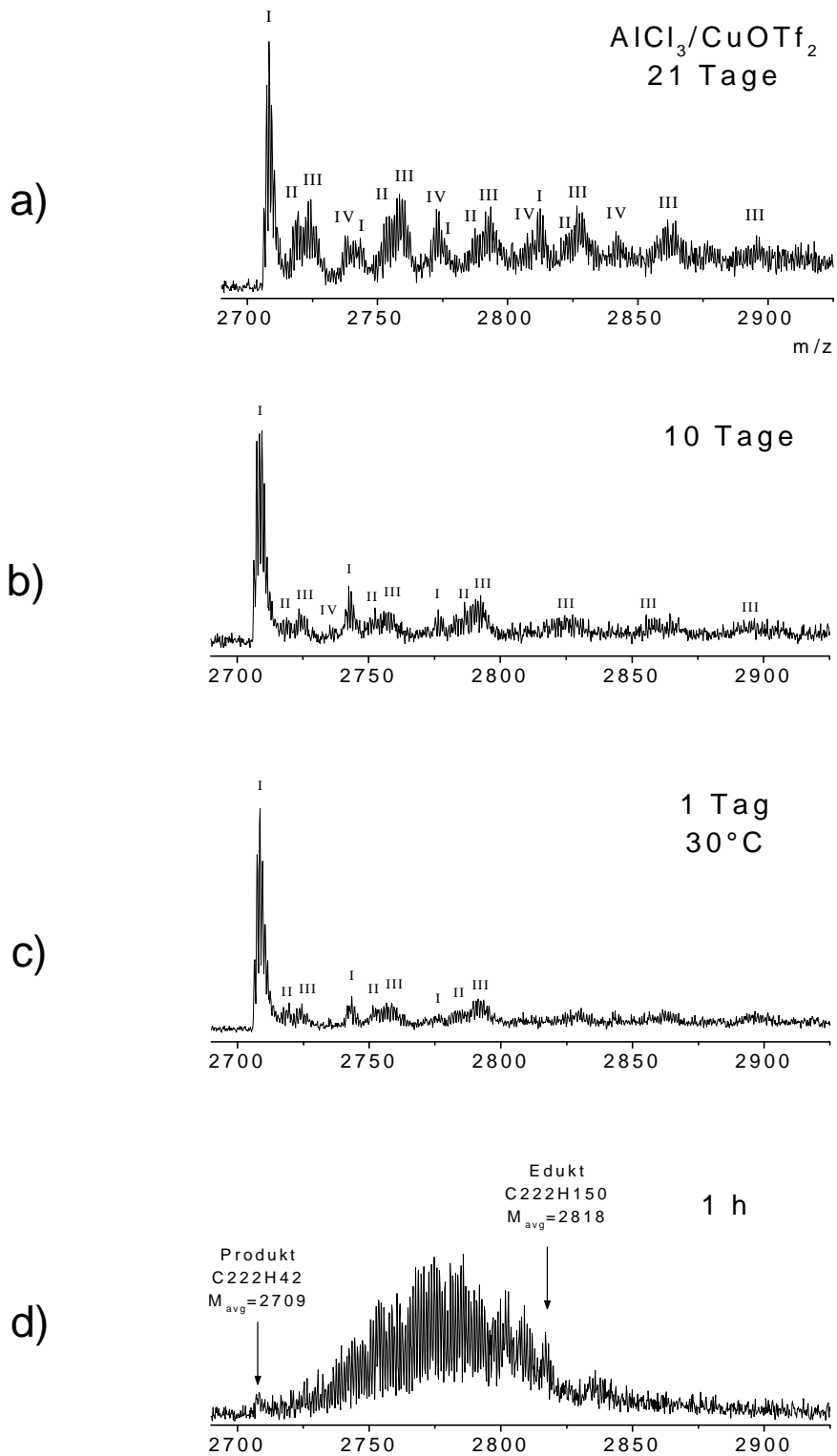


Abbildung 71: Einfluß der Reaktionszeit auf die Reaktion von **56** mit $\text{AlCl}_3/\text{Kupfertriflat}$. MALDI-TOF-Massenspektren nach : a) 21 Tagen (Probe 1); b) 10 Tagen ; c) 1 Tag, 30°C ; d) 1 Stunde

Mit Hilfe der MALDI-Massenspektrometrie konnten auch unterschiedliche Oxidationsmittel-Lewisäure Systeme verglichen werden. Abbildung 72 zeigt die Massenspektren der mit FeCl_3 , $\text{AlCl}_3/\text{CuCl}_2$, und MoCl_5 durchgeführten Cyclodehydrierungen. Mit FeCl_3 kann außer einer engen Verteilung von unvollständig cyclodehydrierten Oligophenylenen das Zielprodukt **57** nicht nachgewiesen werden. Dagegen wird es mit $\text{AlCl}_3/\text{CuCl}_2$, und MoCl_5 gebildet jedoch mit einem hohen Anteil an chlorierten Nebenprodukten. Bemerkenswert ist bei der Verwendung von MoCl_5 die relativ hohe Intensivität der Serie I, die die chlorierten Produkte des vollständig cyclodehydrierten PAHs **57** darstellt.

Um chlorierte Nebenprodukte zu dehalogenieren, wurden in Analogie zur Synthese kleinerer PAHs¹²³ das Reaktionsprodukt mit einer *tert.*-Butyllithium-Lösung behandelt.¹¹¹ Nach einer Cyclodehydrierung von **56** mit $\text{AlCl}_3/\text{CuOTf}_2$ (40°C, 1 Tag) wurde das Reaktionsgemisch über 24 Stunden bei 50°C mit *tert.*-Butyllithium-Lösung reagieren lassen und anschließend mit Methanol protoniert. Das Resultat eines solchen Reinigungsversuchs ist in Abbildung 73 dargestellt. Zum einen wird die Intensität der unchlorierten Nebenprodukte ($\text{C}_{222}\text{H}_{52}$, $\text{C}_{222}\text{H}_{58}$, $\text{C}_{222}\text{H}_{72}$) im Vergleich zum Zielprodukt **57** ($\text{C}_{222}\text{H}_{42}$) erhöht, was auf eine Entfernung der Chlorsubstituenten hindeutet. Jedoch weisen die Signale zwischen 2760 und 2800 g/mol, die aufgrund des niedrigen Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses schlecht aufgelöst sind, auf eine Substitution dieser PAHs durch *tert.*-Butyl-Gruppen hin.

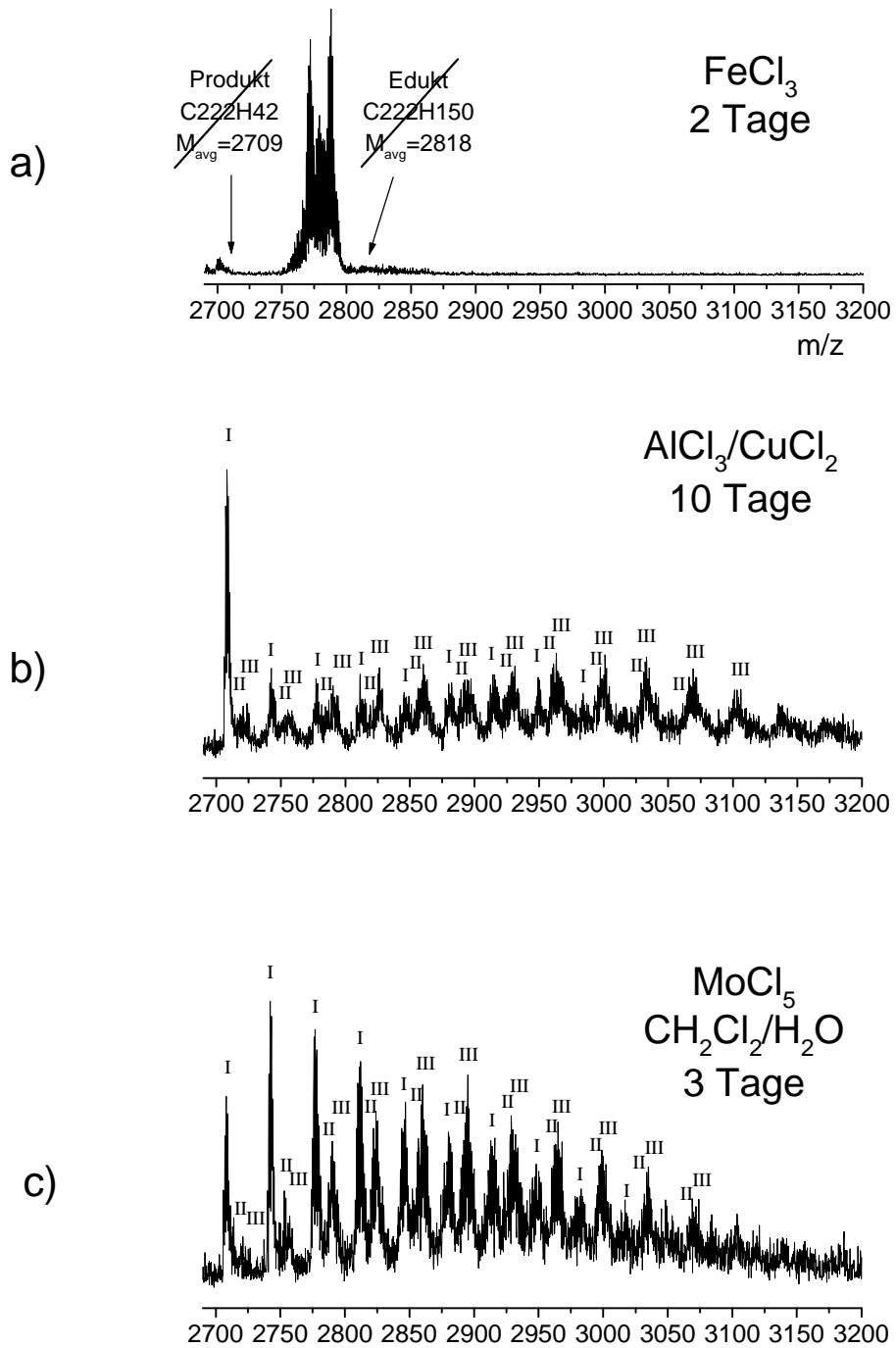


Abbildung 72: Wirkung des Oxidationsmittel/Lewisäure-Systems auf die Cyclodehydrierung von **56**. a) FeCl_3 , 2 Tage ; b) $\text{AlCl}_3/\text{CuCl}_2$, 10 Tage; c) MoCl_5 , 3 Tage

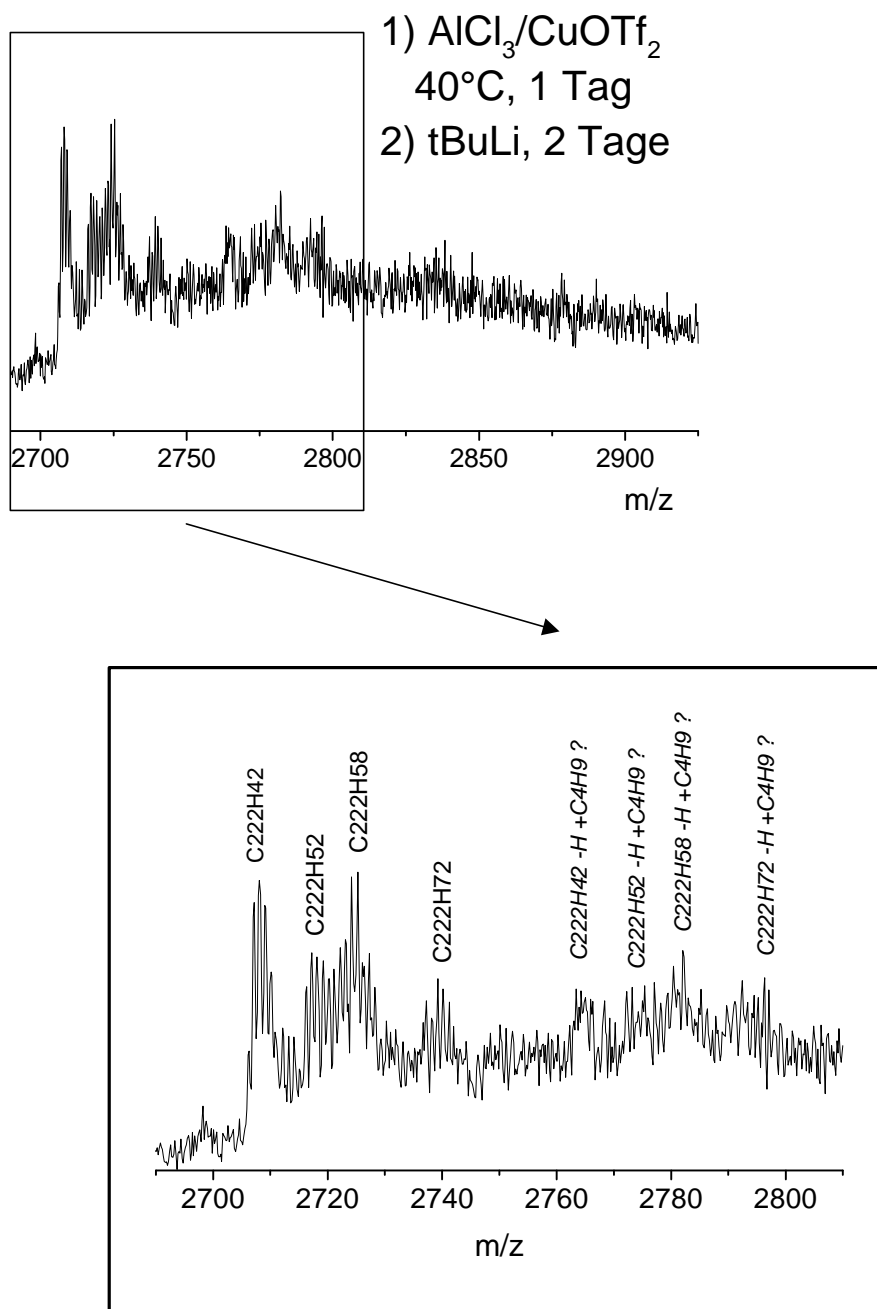


Abbildung 73: Beseitigung der Chlorierung durch Behandlung mit tBuLi.

All diese Beispiele zeigen die Aussagekraft, die bei der qualitativen Charakterisierung unlöslicher PAH-Proben mit MALDI erzielt werden kann. Sicherlich können die Massenspektren nicht als eindeutiger Strukturbeweis angesehen werden, jedoch konnten anhand dieser Untersuchungen die Summenformeln des Produkts **57** sowie die von Nebenprodukten bestimmt werden. Im Falle des Zielmoleküls besteht kein Zweifel an seiner Identität, da keine andere Struktur, die sich z.B. durch Umlagerung gebildet haben könnte, mit der exakten $C_{222}H_{42}$ -Summenformel in Einklang bringen läßt. In Hinsicht auf die detektierten Nebenprodukte steht der Chlorierungsgrad sowie die Summenformel der Teilcyclisate fest, dagegen wäre eine genaue Strukturzuweisung aufgrund der Vielzahl an Möglichkeiten bisher nur wenig sinnvoll. Anhand der Überprüfung der Proben durch MALDI-Massenspektrometrie können ferner die Reaktionsbedingungen für die Synthese gesteuert werden. Dennoch wäre eine zusätzliche quantitative Aussage wünschenswert, um den Reinheitsgrad des Produkts **57** bestimmen zu können.

III.4.2.4 Semi-quantitative Analyse des Cyclodehydrierungsproduktes von Oligophenolen **56 mit MALDI-Massenspektrometrie**

Die qualitative Zusammensetzung der Proben, die nach Cyclodehydrierung des Vorläufers **56** erhalten wurden, kann aktuell nur mit der MALDI-Massenspektrometrie bestimmt werden. Darüber hinaus wäre eine Schätzung des Reinheitsgrades dieser Proben wünschenswert. Sollten die Massenspektren die tatsächlichen Verhältnisse widerspiegeln, würden die relativen Intensitäten bzw. die Signalflächen dem Mischungsverhältnis der verschiedenen Moleküle in der Probe entsprechen. Dies ist aber nur gültig, wenn die unterschiedlichen Moleküle einer Mischung die gleichen Desorptions- und Ionisierungswahrscheinlichkeiten besitzen. Diese Bedingung ist bei der MALDI-Methode (sowie bei allen massenspektrometrischen Methoden) nur selten erfüllt, so daß Vorsicht bei der Quantifizierung geboten ist. Diesbezüglich werden im nächsten Kapitel Beispiele anhand anderer Analyttypen aufgezeigt, die das allgemeine Quantifizierungsproblem weiter behandeln, während dieser Abschnitt sich ausschließlich der quantitativen Charakterisierung des PAHs **57** widmet.

Mit der Annahme, daß die relativen Intensitäten der Signale im Massenspektrum dem wirklichen Mischungsverhältnis der Ziel- und Nebenprodukte entsprechen, erreicht in der „besten“ Probe, d.h. in der Probe mit dem geringsten Anteil an Nebenproduktsignalen ($AlCl_3/CuOTf_2$, $30^\circ C$, 1 Tag), der Anteil an Zielprodukt **57** einen Wert von 37%

(Massenspektrum s. Abbildung 71, S. 143). Diese Zahl ist allerdings nur zuverlässig, wenn Ziel- und Nebenprodukte die gleichen Desorptions- und Ionisierungswahrscheinlichkeiten besitzen. Die einzige Überprüfungsmöglichkeit wäre, aus getrennten Ziel- und Nebenprodukten eine künstliche Mischung mit abgewogenen Anteilen vorzubereiten und diese vorgegebenen Mischungsverhältnisse mit den relativen Intensitäten im MALDI-Massenspektrum zu vergleichen. Leider können die unlöslichen Nebenprodukte von dem ebenso unlöslichen Zielprodukte nicht abgetrennt werden, so daß der Reinheitsgrad des PAHs **57** in der „besten“ Probe nicht direkt bestimmt werden kann. Hinweise über die Reinheit von PAH **57** können jedoch mit den folgenden Mischungsversuchen gegeben werden.

Zunächst wird eine Mischung aus Probe 2 (die „beste“ Probe, erzeugt mit $\text{AlCl}_3/\text{CuOTf}_2$, 30°C , 1 Tag) und dem Edukt **56** betrachtet. Das MALDI-Massenspektrum des reinen Edukts (s. Abbildung 74a) zeigt zudem, daß der Analyt unterschiedlich ionisiert werden kann. Sowohl das Radikalkation als auch die Natrium- und Kalium-Adduktionen werden detektiert, wobei das Radikalkation das intensivste Signal aufweist. Nach Mischen des Edukts **56** mit der Probe 2 in äquimolaren Mengen und Vermischung mit TCNQ in der Kugelmühle wird das in Abbildung 74c dargestellte MALDI-Massenspektrum gemessen. Die Integration der Signale zeigt eine Überbetonung des Edukts **56** durch einen Faktor 145 im Vergleich mit dem PAH **57**.

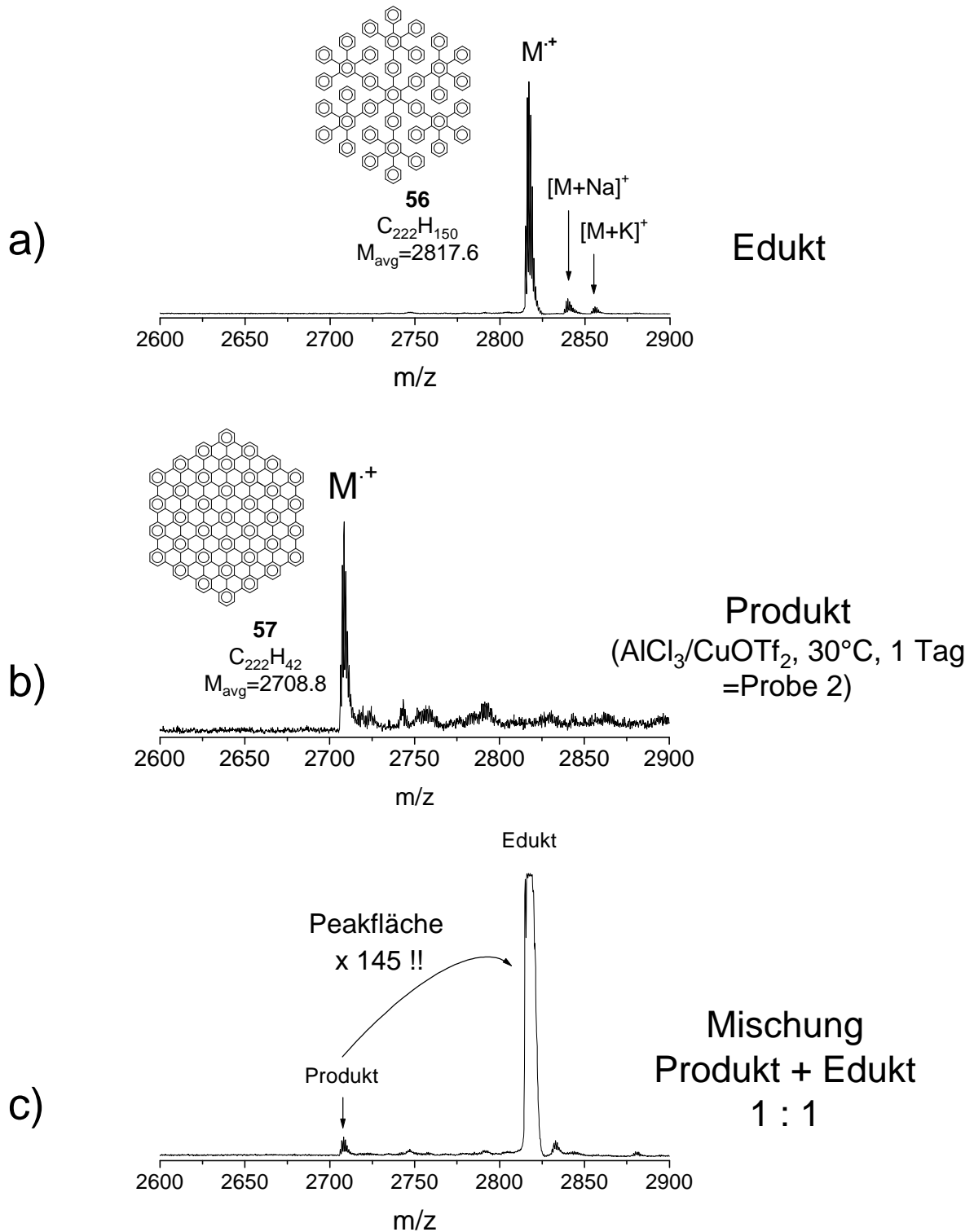


Abbildung 74: MALDI-Massenspektren von: a) dem Edukt **56**; b) der Probe 2; c) der Mischung Edukt/Probe 2 (1:1)

Als weiterer Versuch wird die Probe 2 mit Nebenprodukten gemischt. Im vorherigen Kapitel wurde bereits gezeigt, daß die mit FeCl_3 durchgeführte Cyclodehydrierung ausschließlich Nebenprodukte d.h. Teilcyclisate bildet. Das Massenspektrum ist noch einmal in Abbildung 75a dargestellt. Die Massenverteilung der Teilcyclisate ist eng ($2750 < m/z < 2800$) und entspricht den Nebenprodukten, die zwischen ca. 42 bis 92 Wasserstoffatomen mehr (d.h. mit ca. 21 bzw. 46 offenen Bindungen) als das Zielprodukt **57** besitzen. Die schwachen Signale bei m/z 2700 stammen offensichtlich von Fragmenten der Teilcyclisate und könnten durch Verlust eines Phenylrings entstanden sein. Nach Mischen dieser Probe mit der gleichen Masse an Probe 2 und Aufbereitung mit TCNQ in der Kugelmühle wird das in Abbildung 75c dargestellte MALDI-Massenspektrum gemessen. Die Integration der Signale zeigt eine Überbetonung der Nebenprodukte um einen Faktor 285 im Vergleich zu PAH **57**. Wird nun die Intensität der Nebenprodukte in der Probe 2 durch diesen Faktor 285 geteilt, so läßt sich ein Reinheitsgrad von 99% für PAH **57** berechnen. Diese Zahl stellt nur einen Richtwert dar, da diese künstliche Mischung keine exakte Simulation der synthetisierten Probe darstellt. In der Tat wird bei diesem Mischungsversuch PAH **57** mit Teilcyclisaten verglichen, die über 40 Wasserstoffatome mehr besitzen. Dagegen ist die Cyclodehydrierung bei der mit $\text{AlCl}_3/\text{CuOTf}_2$ erhaltenen Proben weiter fortgeschritten, da die Nebenprodukte nur zwischen 10 und 30 mehr Wasserstoffatome als PAH **57** beinhalten, d.h. nur maximal 15 offene Bindungen haben. Leider kommt dieselbe Nebenproduktverteilung wie in Probe 2 nicht isoliert von PAH **57** vor, so daß die durchgeführte Quantifizierung nur einen Näherungswert liefern kann. Außerdem konnte aufgrund der geringen verfügbaren Substanzmenge keine Mischungsreihe, sondern nur eine Mischung vorbereitet werden. Eine Mischungsreihe wäre aber zu empfehlen, da der „Response-Factor“ (d.h. das Intensitätsverhältnis zwischen den Ziel- und Nebenproduktsignal) nicht unbedingt proportional zum Mischungsverhältnis ist.^{124,125} Aus den Mischungsversuchen kann dennoch abgeleitet werden, daß Nebenprodukte (Teilcyclisate) im Vergleich mit dem PAH **57** stark überbetont werden, so daß die Probe 2 wahrscheinlich einen wesentlich höheren Reinheitsgrad aufweist, als dies den reinen Signalintensitäten im Massenspektrum entsprechen würde.

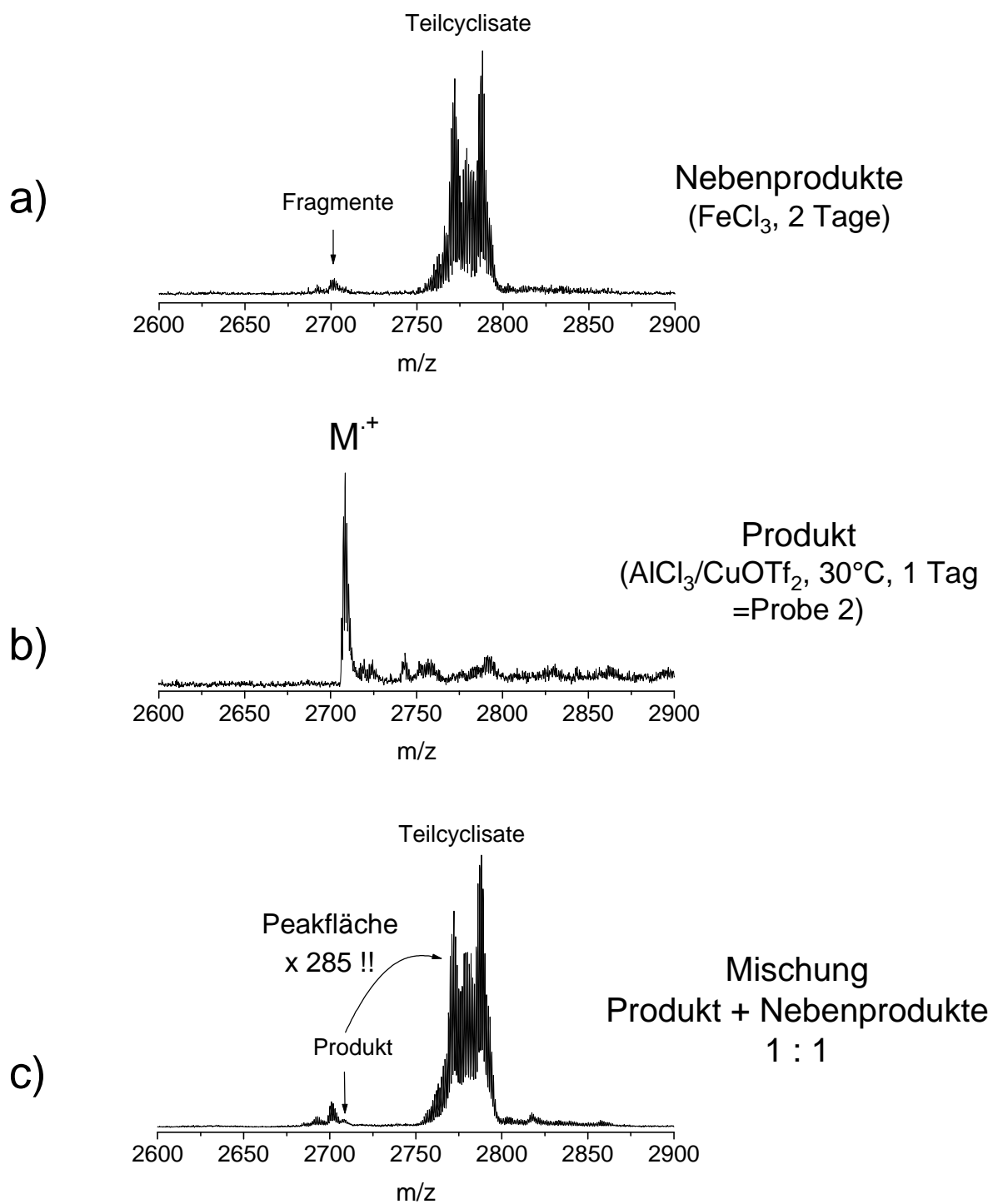


Abbildung 75: MALDI-Massenspektren von: a) Nebenprodukte erhalten durch Cyclodehydrierung von **56** mit FeCl₃; b) der Probe 2; c) der Mischung Nebenprodukte / Probe 2 (1:1)

Es stellt sich nun die Frage, warum die Teilcyclisate im Vergleich mit dem scheibenartigen Molekülen von PAH **57** beim MALDI-Prozeß dermaßen überbetont werden. Interessante Hinweise hierfür können die LD-Massenspektren von Edukt **56** und dessen Teilcyclisaten liefern. Durch direkten Beschuß des Eduktes mit dem N₂-Laser kann das Quasimolekularion des Analyten **56** noch intakt in die Gasphase überführt werden (s. Abbildung 76).

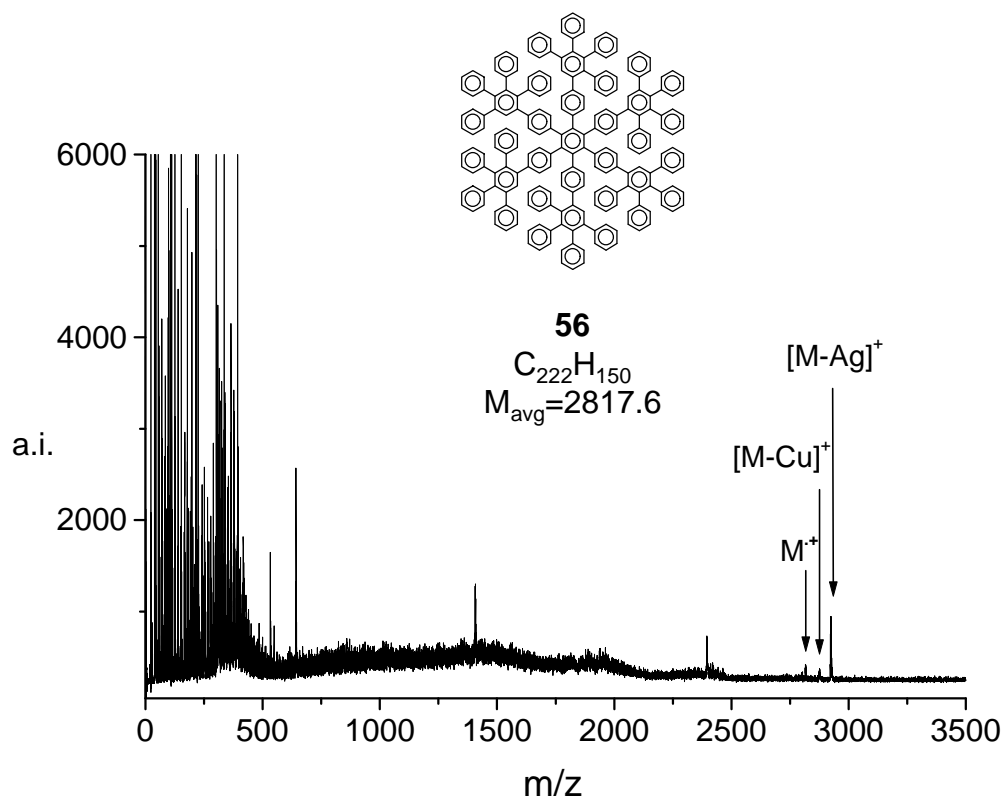


Abbildung 76: LD-Massenspektrum des Edukts **56**

Zusätzlich können die Kupfer- und Silber-Adduktionen neben dem Radikalkationsignal detektiert werden. Die Bildung des Silber-Adduktions (sowie wahrscheinlich die des Kupfer-Adduktions) wird wahrscheinlich durch die Beweglichkeit des Edukts **56** ermöglicht, so daß das Silberkation zwischen zwei Aromaten in einer Sandwichstruktur komplexiert werden kann. Bei diesem LD-Massenspektrum kann eine intensive Fragmentierung nicht vermieden werden. Aufgrund des relativ hohen Molekulargewichts des Edukts **56** ($M=2817$ g/mol) war diese Beobachtung vorhersehbar. Werden nun die Teilcyclisate, die nach Cyclodehydrierung von **56** mit $FeCl_3$ erhalten wurden, mit LD gemessen, bleibt die Fragmentierung auffallend

gering (s. Abbildung 77a). Dies kann durch eine höhere Stabilität der Teilcyclisate im Vergleich zum Vorläufer **56** erklärt werden. Der Vergleich zwischen LD- und MALDI-Massenspektren (s. Abbildung 77b bzw. c) zeigt für den Massenbereich der intakten Teilcyclisate ($2750 < m/z < 2800$) eine sehr große Übereinstimmung. Bedenkt man nun, daß das vollständig cyclisierte Produkt **57** mit LD nicht direkt charakterisiert werden kann, wäre es nun interessant zu bestimmen, ab welchem Cyclodehydrierungsgrad ein Teilcyclisat mit LD nicht mehr analysierbar ist. Dafür wurde eine Probe mit LD gemessen, die aus einer Cyclodehydrierung von **56** mit $\text{AlCl}_3/\text{CuOTf}_2$ schon nach einer Stunde entnommen wurde (s. Abbildung 78a und b). Während MALDI (s. Abbildung 78c) eine breite Massenverteilung von Teilcyclisaten abbildet, die sich vom Molekulargewicht des Vorläufers **56** bis zu dem des vollständig cyclisierten Zielprodukts **57** erstreckt ($2709 < m/z < 2818$), wird mit LD (s. Abbildung 78b) eine deutlich engere Signalverteilung detektiert ($2750 < m/z < 2810$).

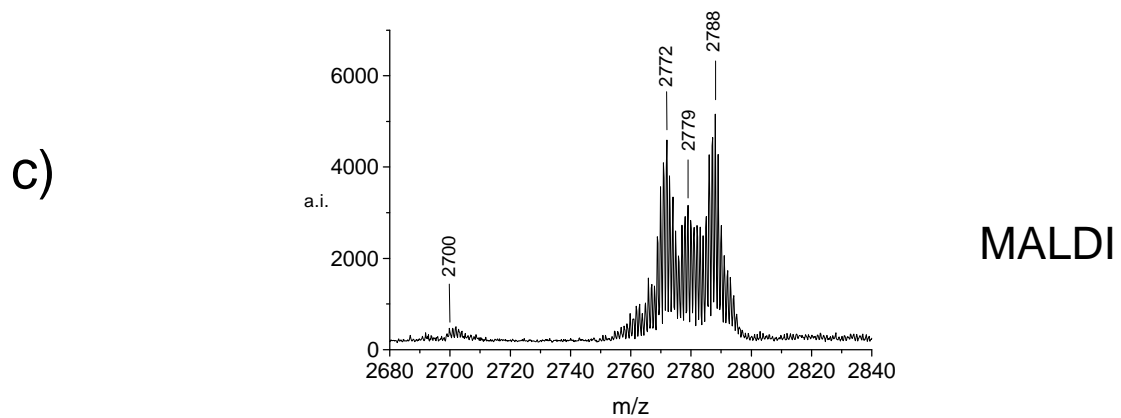
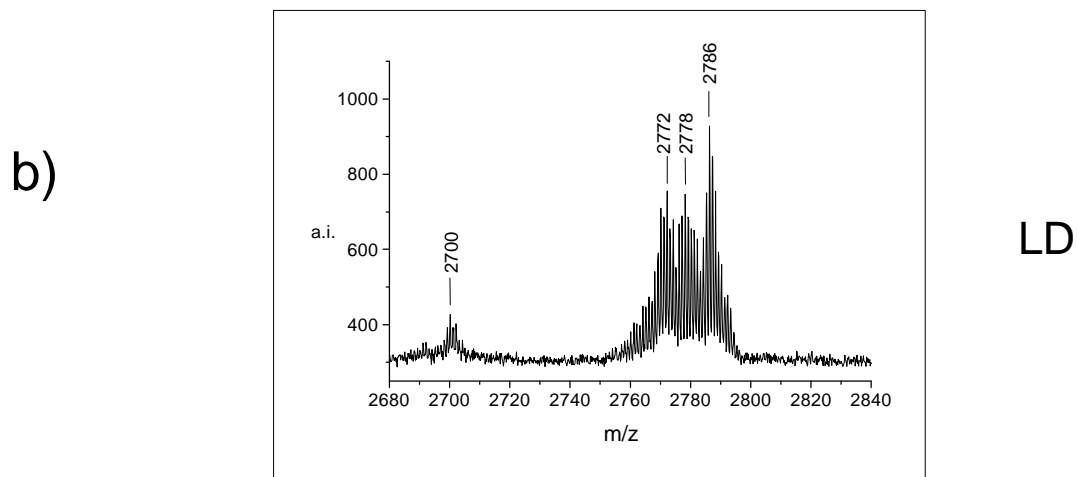
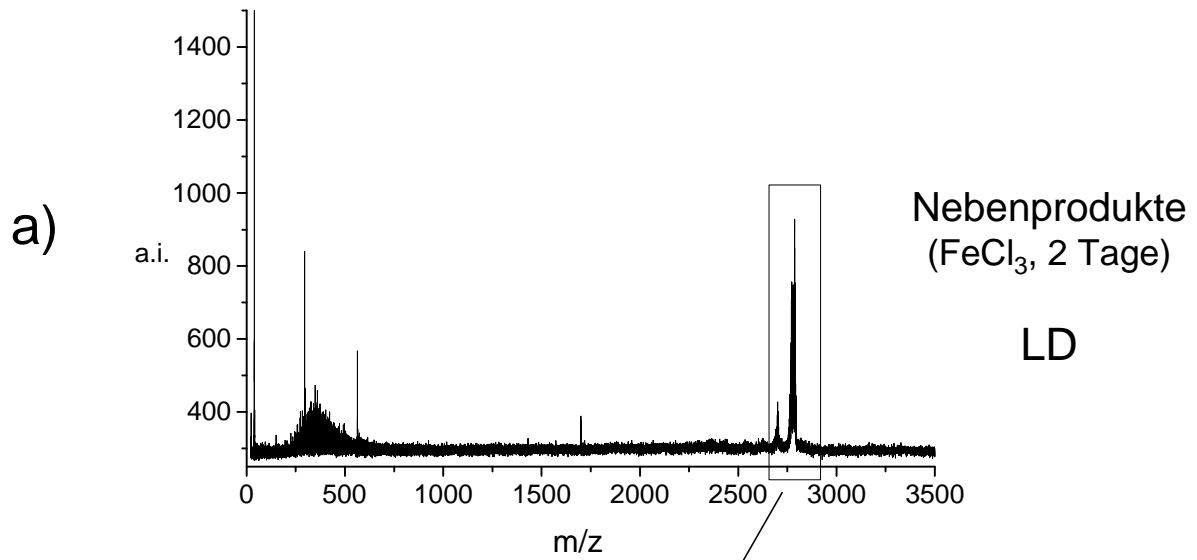


Abbildung 77: a) LD-Massenspektrum der Nebenprodukte erhalten nach Cyclodehydrierung von **56** mit FeCl₃ b) Ausschnitt des Molekularionbereichs von Abbildung 77a; c) MALDI-Massenspektrum der gleichen Probe

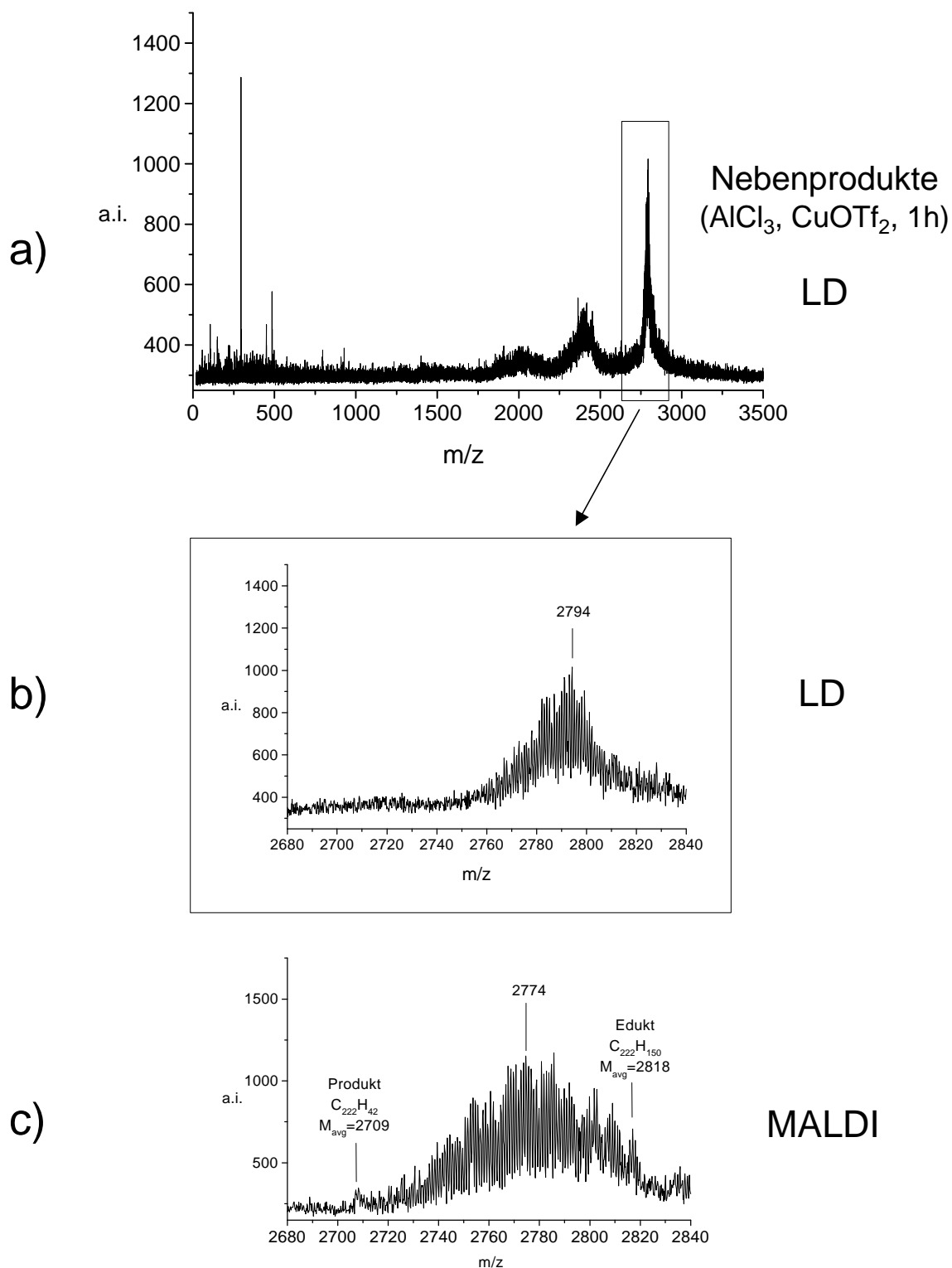
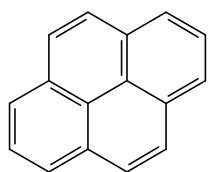


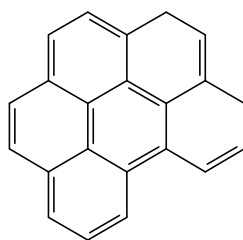
Abbildung 78: a) LD-Massenspektrum der Nebenprodukte erhalten durch Abbruch der mit $\text{AlCl}_3/\text{CuOTf}_2$ durchgeführten Cyclodehydrierung von **56** nach 1h und b) Ausschnitt des Molekularionbereichs von Abbildung 78a; c) MALDI-Massenspektrum der gleichen Proben

Nur Teilcyclisate mit einem Molekulargewicht zwischen ca. 2750 und 2810 g/mol können also mit LD intakt desorbiert werden. Als Erklärung dafür könnten einerseits die Kohäsionsenergie in der Festphase und andererseits die Fragmentierungsschwelle als limitierende Faktoren angesehen werden. Bei einer fortgeschrittenen Cyclisierung ist das Stapeln der Moleküle (wenn auch nur partiell) immer wahrscheinlicher und dadurch die Kohäsionsenergie in der Festphase immer höher, so daß die Desorption mit LD unmöglich wird. Ein extremes Beispiel stellt das Zielprodukt **57** dar, das wahrscheinlich als Kristallit vorliegt und mit LD nicht mehr analysierbar ist. Bei wenig cyclisierten Produkten ist dagegen, wie dies beim Edukt **56** auch der Fall ist, die Tendenz zur Fragmentierung sehr hoch. Daher ist die Desorption des intakten Moleküls nur eingeschränkt bzw. gar nicht möglich. Dementsprechend sind nur Teilcyclisate, die in der Festphase noch nicht zu fest gebunden aber schon gegenüber einer Fragmentierung widerstandsfähig sind, in der Lage, mit LD intakt zu desorbieren. Diese LD-Massenspektren könnten also helfen, die Überbetonung der Teilcyclisate gegenüber dem Produkt **57** bei der MALDI-Messung zu verstehen. Nach Mischen der Probe mit TCNQ sind die Moleküle des PAHs **57** wahrscheinlich noch in einer Kristallstruktur gebunden, selbst wenn die Größe der Aggregate durch den Mahlprozeß zurückgegangen ist. Dadurch ist die Matrixunterstützung zwar möglich, aber weniger effizient als bei Molekülen, die ungestapelt d.h. in der Matrix homogener verteilt sind, wie es bei den Teilcyclisaten wahrscheinlich der Fall ist.

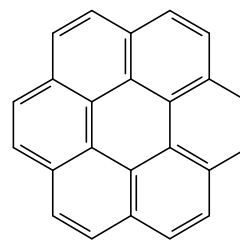
Das Hauptproblem für die Quantifizierbarkeit der MALDI-Massenspektren ist offensichtlich auf die unterschiedlichen Desorptionswahrscheinlichkeiten der Produkte zurückzuführen. Jedoch soll im folgenden der Frage nachgegangen werden, inwiefern die Ionisierungswahrscheinlichkeit die Quantifizierung ebenfalls verfälschen kann. Die PAHs werden durch Photoabsorption ionisiert. Damit der Analyt ionisiert werden kann, muß die Energie der absorbierten Photonen das Ionisierungspotential (IP) überschreiten. Das Ionisierungspotential von kleinen PAHs (z.B. Pyren, Benzo[ghi]perylen, Coronen) beträgt ca. 7 eV,^{126,127} so daß mit dem N₂-Laser (337 nm d.h. 3,68 eV/Photon) mindestens zwei Photonen absorbiert werden müssen, um das Analytmolekül zu ionisieren.^{128,129}



Pyren



Benzo[ghi]perylen



Coronen

Bei ausgedehnten PAHs wie **57** oder dessen Teilcyclisate sollten ebenfalls die Absorption von mindestens zwei Photonen vorausgesetzt werden. Wenn die Wellenlänge des Lasers einem „real intermediate electronic state“ entspricht, wird der „Querschnitt“ zur Ionisation stark erhöht. Es wird dann von „resonance-enhanced multiphoton ionization“ (REMPI) oder von „resonant two-photon ionization“ (R2PI) -im besonderen Fall einer zwei-Photon-Ionisation- gesprochen.¹³⁰ Beim R2PI-Prozeß bringt das erste Photon das Analytmolekül vom Grundzustand zu einem „excited electronic state“ ($S_0 \rightarrow S_1$), und das zweite Photon ionisiert das Molekül (s. Abbildung 79a). Wenn die Wellenlänge des Lasers dagegen keinem „real intermediate electronic state“ (s. Abbildung 79b) entspricht, sinkt die Ionisationswahrscheinlichkeit.

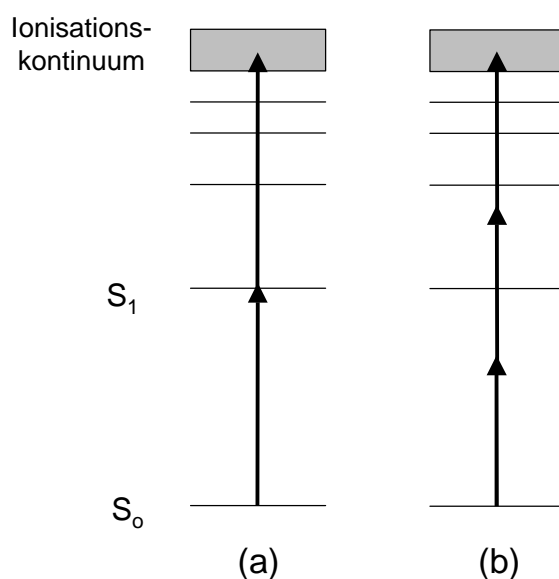


Abbildung 79: „Energy-level diagram“ zeigen Multiphoton Ionisierung (MPI): a) „resonant two-photon ionization“ (R2PI); b) nonresonant MPI

Für die verschiedenen Produkte der Cyclodehydrierung von **56** werden unterschiedliche UV-Spektren erwartet. Im allgemeinen ist eine bathochrome Verschiebung des UV-Spektrums mit Erhöhung des Cyclodehydrierungsgrades zu erwarten. Bei unserer MALDI-Messung hängt die Ionisierungswahrscheinlichkeit mit der Absorption bei 337 nm zusammen. Wie stark sich die Ionisierungswahrscheinlichkeiten zwischen verschiedenen Produkten unterscheiden, hängt stark vom Zeitpunkt der Ionisierung ab. Die Ionisierung kann im Prinzip vor oder erst nach der Desorption stattfinden. In der Festphase weisen die Teilcyclisate sowie PAH **57** breite Absorptionsbanden auf, so daß sich die Ionisierungswahrscheinlichkeiten der unterschiedlichen Produkte bei 337 nm nicht drastisch unterscheiden sollten. In der Gasphase bei Raumtemperatur besteht das UV-Spektrum aromatischer Kohlenwasserstoffe ebenfalls aus einem Absorptionskontinuum, das auf eine hohe Anzahl an „populated vibrational and rotational states“ zurückzuführen ist. In diesem Fall wäre auch keine drastische Änderung der Ionisierungswahrscheinlichkeiten in Abhängigkeit von der Struktur der Teilcyclisate oder des PAH **57** zu erwarten. Einige Forschungsarbeiten deuten aber darauf hin, daß die Analytmoleküle bei der Matrix-unterstützten Laserdesorption einer deutlichen Kühlung unterliegen.^{131,132,133} Eine sehr effiziente Methode zur Kühlung von Gasmolekülen ist die „supersonic jet expansion“,^{134,135} mit der sicherlich viel niedrigere Temperaturen (ca. 10K) als mit dem MALDI-Prozeß erreicht werden können. Es lohnt sich an dieser Stelle, einige Experimente kurz zu erwähnen, die wichtige Informationen über die Ionisierungswahrscheinlichkeit kalter Gasmoleküle liefern. Mit einer „supersonic jet expansion“ werden Gasmoleküle soweit gekühlt, daß nur niedrige „rotational and vibrational energy levels“ im Grundzustand der Moleküle besetzt werden.^{136,137} Folglich wird ein UV-Spektrum, das bei Raumtemperatur breite Banden zeigt, in ein Spektrum mit scharfer, diskreter Struktur umgewandelt. Werden nun solche extrem gekühlten Gase mit einem Laser variierender Wellenlänge ionisiert, werden sehr hochaufgelöste Ionisierungsspektren erhalten.^{138,139,140} Diese feine Struktur ermöglicht eine sogenannte „optische Selektivität“. Dieser Begriff wird anhand zweier Beispiele erklärt: 1) die isotopenselektive Ionisierung von Benzol^{141,142} und 2) die selektive Ionisierung eines Gemisches von Indolderivaten.¹⁴³ In Abbildung 80 ist der mit „resonant two-photon ionization“ (R2PI) erzeugte Ionenstrom als Funktion der Wellenlänge des eingesetzten Laserlichts für zwei Isotope des Benzols dargestellt. Der obere Graph zeigt das Ionisierungsspektrum des „leichten“ Isotops $^{12}\text{C}_6\text{H}_6$ während der untere Graph das Ionisierungsspektrum des „schweren“ Isotops $^{13}\text{C}^{12}\text{C}_5\text{H}_6$ abbildet.

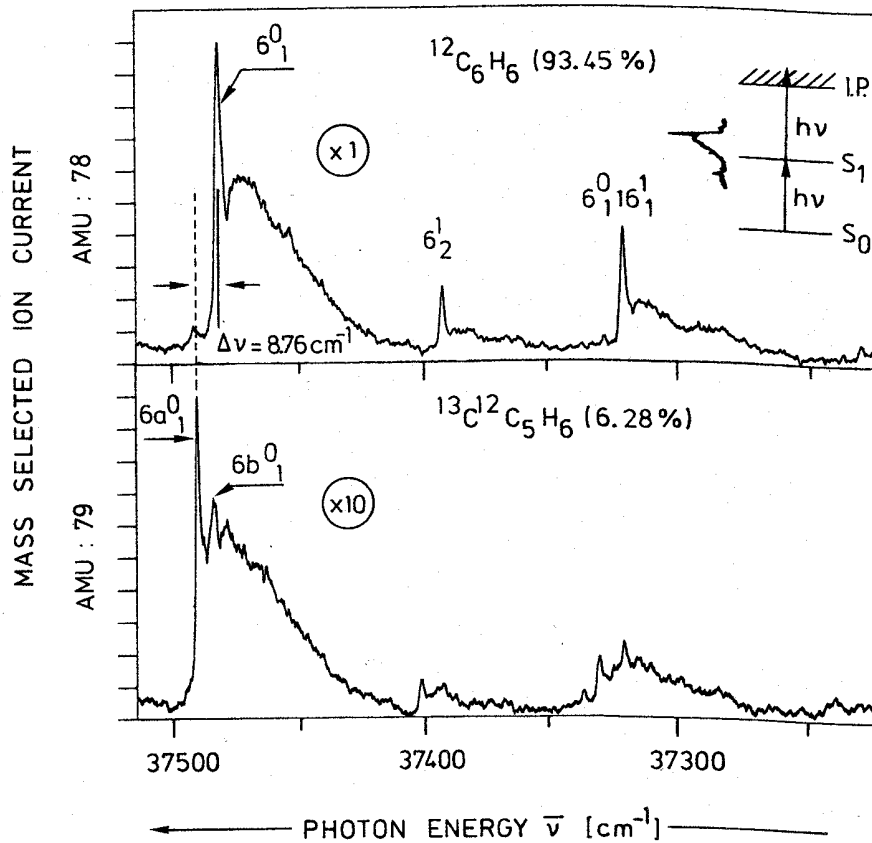


Abbildung 80: Oberer Graph: Massenselektierter Ionenstrom von Ionen mit $m/z=78$ (¹²C₆H₆); Unterer Graph: Massenselektierter Ionenstrom von Ionen mit $m/z=79$ (¹³C¹²C₅H₆)

Eine Blau-Verschiebung ($\Delta v=8.76 \text{ cm}^{-1}$ d.h. $\Delta \lambda=-0,055 \text{ nm}$) des Ionisierungsspektrums vom schweren zum leichten Isotop ist eindeutig meßbar. Folglich führt das Einstellen der Laserwellenlänge zur blauen Seite der Ionisierungsbande von ¹²C₆H₆ zu einer erhöhten Ionisierungseffizienz des schweren Isotops ¹³C¹²C₅H₆. Abbildung 81 zeigt die Massenspektren des natürlichen Isotopengemisches von Benzol, die für unterschiedliche Laserwellenlänge erhalten wurden. Wenn der Laser auf der „hot“ Ionisierungsbande von ¹²C₆H₆ eingestellt ist, wird dieses Isotop im Vergleich zur natürlichen „Häufigkeit“ stark überbetont. Der Anreicherungsfaktor ($A_{78/79}$) des „leichten“ Benzolisotops ($m/z=78$) im Vergleich zur natürlichen Häufigkeit des „schweren“ Isotops ($m/z=79$) erreicht einen Wert von 2. Durch eine stufenweise Einstellung der Laserwellenlänge hin zu kürzeren Wellenlängen wird dagegen eine effizientere Ionisierung und damit eine Anreicherung der schweren Benzolisotope im Massenspektrum erzielt (z.B. $A_{79/78}=35$ im zweiten

Massenspektrum). Die reelle Isotopenzusammensetzung des Benzols ist also in diesen Massenspektren nicht mehr zu erkennen.

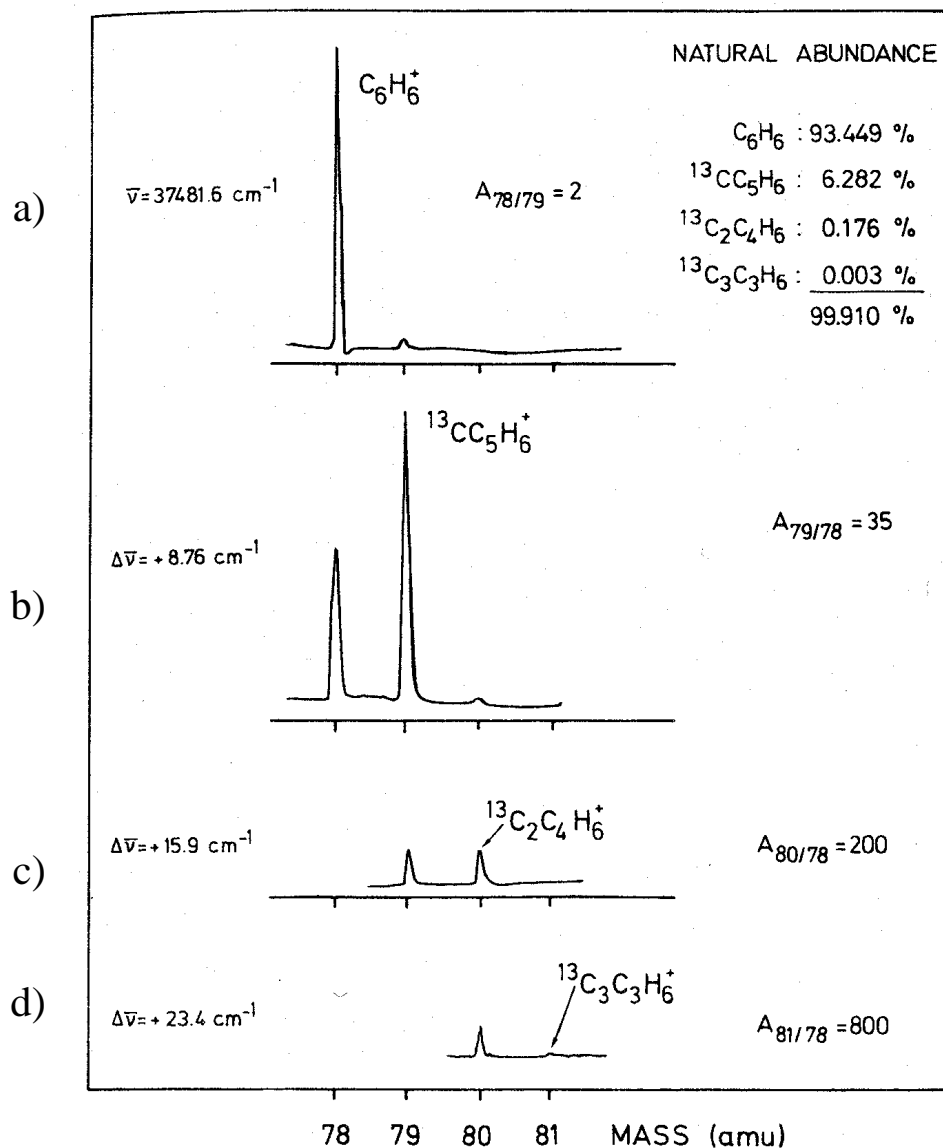


Abbildung 81: Massenspektren von Benzol mit natürlicher Isotopenhäufigkeit (s. „inset“) nach „resonance-enhanced two-photon ionization“ (R2PI) bei verschiedenen Laserwellenlängen: a) $37481,6 \text{ cm}^{-1}$ (266.79 nm); b) $37490,36 \text{ cm}^{-1}$ (266.74 nm); c) $37497,5 \text{ cm}^{-1}$ (266.68 nm); d) $37505,0 \text{ cm}^{-1}$ (266.63 nm)

Die optische Selektivität des Ionisierungsprozesses kann auch anhand einer Mischung zweier Indolderivate illustriert werden.¹⁴³ Abbildung 82a und Abbildung 82b zeigen die „resonant two-photon ionization“ (R2PI) Spektren von Tryptamin (m/z 160) und Tryptophol (m/z 161).

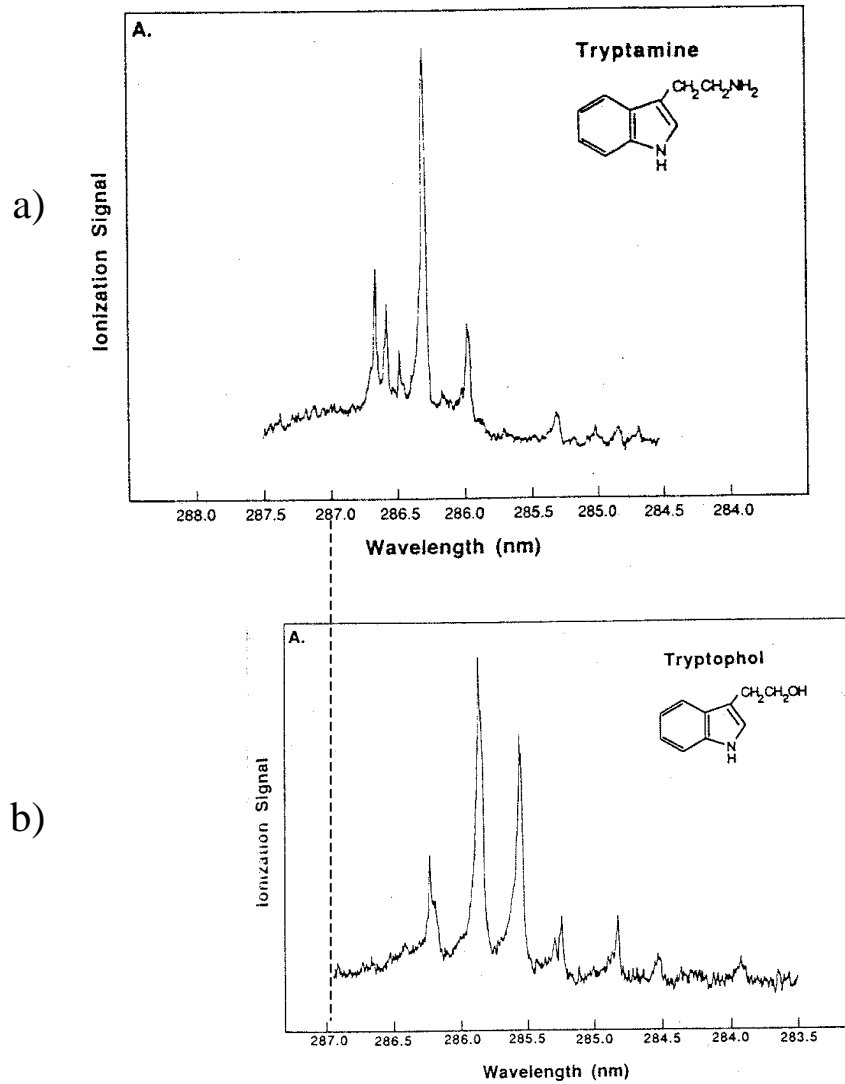


Abbildung 82: Ausschnitt aus dem mit „resonance-enhanced two-photon ionization process“ (R2PI) erhaltenen Ionisierungsspektrums von: a) Tryptamin; b) Tryptophol.

Bei einer 1:1 Mischung dieser zwei Indolderivate und Messen eines Massenspektrums dieses Gemisches bei einer bestimmten Laserwellenlänge kann die Zusammensetzung im Massenspektrum völlig verfälscht wiedergegeben werden (s. Abbildung 83). Wenn der Laser auf 286,3 nm (s. Abbildung 83a) eingestellt ist, wird der Tryptaminpeak im Massenspektrum überbetont, da die Wellenlänge in Resonanz mit der starken Tryptaminbande ist. Die Verschiebung der Laserwellenlänge auf 285,27 nm (Abbildung 83b) führt zu zwei Peaks von ungefähr gleicher Intensität im Massenspektrum, was durch die gleich intensiven Ionisierungsbanden von Tryptamin und Tryptophol zurückzuführen ist.

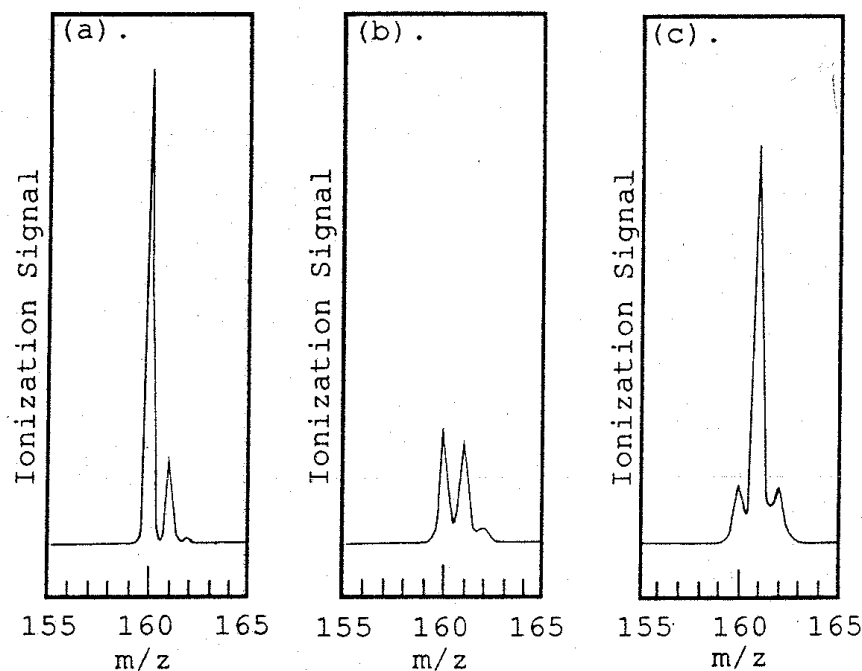


Abbildung 83: R2PI-Massenspektren einer 1:1 Mischung von Tryptamin ($m/z=160$) und Tryptophol ($m/z=161$) erhalten bei drei leicht verschiedenen Laserwellenlängen: a) 286,30 nm; b) 285,27 nm; c) 285,59 nm.

Wird schließlich der Laser auf 285,59 nm (Abbildung 83c) eingestellt, kann im Massenspektrum ein überbetontes Signal für Tryptophol detektiert werden, da dieses Indolderivat eine starke Ionisierungsbande bei 285,59 nm besitzt. Diese hohe Selektivität bei der Ionisierung von gekühlten Analytmischungen in der Gasphase zeigt, wie stark sich der Unterschied in der Ionisierungswahrscheinlichkeit auswirken kann. Dieser Unterschied in der Ionisierungseffizienz hängt jedoch stark vom Kühlungsgrad der zu ionisierenden Analytmoleküle ab. Je kälter ein Gasmolekül ist, desto feiner wird die Struktur seines Absorptions- bzw. Ionisierungsspektrums und um so besser können die Produkte eines Gemisches differenziert werden. Beim MALDI-Prozess ist die Kühlung der Gasmoleküle sicherlich nicht so effizient wie bei einer „supersonic jet expansion“, jedoch könnte die Ionisierungswahrscheinlichkeit auch ein wichtiger Parameter bei der Quantifizierung der Produkte der Cyclodehydrierung von **57** sein, vorausgesetzt, daß die Ionisierung in der Gasphase stattfindet.

Diese ganze Betrachtung zeigt, wie schwierig es ist, den Reinheitsgrad einer Probe anhand seines MALDI-Massenspektrums zu ermitteln. Die einzige Möglichkeit, um eine quantitative Aussage über die Zusammensetzung von Produktgemischen anhand der Massenspektren

treffen zu können, besteht darin, nach Isolation jedes Produkts vom Reaktionsgemisch eine künstliche Mischung mit abgewogenen Anteilen dieser isolierten Substanzen vorzubereiten. Anhand einer Mischungsreihe kann der „Response“-Faktor als Funktion des Mischungsverhältnisses ermittelt und daraus die Zusammensetzung im Produktgemisch bestimmt werden.

Bevor dieses Thema abgeschlossen werden kann, soll noch auf ein weiteres Quantifizierungsproblem eingegangen werden. Bei den unterschiedlichen Probenvorbereitungen für Probe 1 wurde eine starke Schwankung der Relativintensitäten der Nebenprodukte im Vergleich zum Hauptprodukt festgestellt. Dies ist besonders frappierend beim Wechsel zu anderen Matrix-Substanzen. Mit dem Einsatz von 9-NA oder Laserfarbstoffen als Matrix wird z.B. die Serie V, die der Chlorierungsreihe von Teilcyclisaten mit 30 offenen Bindungen zugeordnet wurde, als Hauptprodukt nachgewiesen (s. Abbildung 66d, S. 132 bzw. Abbildung 67, S. 134). Dagegen verschwindet diese Serie zugunsten der anderen Serien I, II, III und IV (vollständig cyclodehydrierte Struktur bzw. Teilcyclisate mit 5, 8 bzw. 15 offenen Bindungen) bei anderen Matrices als CCA oder TCNQ (s. Abbildung 66b, S. 132 bzw. Abbildung 68a, S. 135). Offensichtlich spielt die Struktur der angewendeten Matrix eine wichtige Rolle bei der Bevorzugung der zu desorbierenden Moleküle. Darüber hinaus kann das Analyt-zu-Matrix-Mischungsverhältnis ebenfalls die Relativintensitäten der Nebenprodukte im Vergleich zum Hauptprodukt beeinflussen. Bei Verwendung von Dithranol als Matrix (s. Abbildung 65, S. 130) ändert sich das Signalmuster je nach Analyt-zu-Matrix-Mischungsverhältnis drastisch. Die Signallerie V (Teilcyclisate mit 30 offenen Bindungen) kann beim Mischungsverhältnis 1:50 eindeutig detektiert werden. Beim Erhöhen des Mischungsverhältnisses auf 1:500 verliert diese Serie an Intensität gegenüber den Serien I, II, III und IV (vollständig cyclodehydrierte Struktur bzw. Teilcyclisate mit 5, 8 bzw. 15 offenen Bindungen) und verschwindet vollständig beim Mischungsverhältnis 1:5000. Aufgrund der vorherigen Betrachtungen anhand der LD-Massenspektren von Teilcyclisaten (s. Abbildung 78, S. 155) kann diese Abhängigkeit von der Probenvorbereitung folgenderweise erklärt werden. Bei einer Verdünnung von nur 1:50 in Dithranol wird die Matrixunterstützung wahrscheinlich nicht ausreichend erzielt oder lediglich für Teilcyclisate der Serie V, die mit 30 offenen Bindungen ohnehin leicht desorbierbar sind. Bei einer weiteren Verdünnung und somit einer besseren Homogenisierung der Probe in Dithranol wird die Matrixunterstützung effizienter, so daß die anderen Serien detektiert werden. Beim Mischungsverhältnis 1:5000 ist die Serie V schließlich verschwunden, wahrscheinlich weil ihr

Anteil gegenüber dem der anderen Produkte der Serien I, II, III und IV in der Probe vernachlässigbar ist.

Die Quantifizierung ist sicherlich ein schwieriges Thema bei der Interpretation der MALDI-Massenspektren von PAHs. Dennoch konnte dank der neuen Probenvorbereitung die qualitative Zusammensetzung der PAH-Proben detailliert aufgeklärt werden. Dies ist von besonderem Interesse, da diese Proben ohne die entwickelte lösungsmittelfreie Probenvorbereitung für MALDI vollkommen uncharakterisiert wären. Mit Hilfe des MALDI-Massenspektrums konnte die Bildung des PAHs **57** eindeutig nachgewiesen werden. Anhand der mit diesen PAH-Proben gewonnenen Erkenntnisse konnten darüber hinaus die unerwarteten zusätzlichen Signale zugeordnet werden. Sie resultieren nicht aus einem massenspektrometrischen Artefakt (Adduktion aus Produkt und Matrix bzw. Fragment), sondern entsprechen Gemischbestandteilen der PAH-Probe. Mit den Ergebnissen der MALDI-Analytik konnten Informationen über die Strukturen dieser Nebenprodukte gewonnen sowie Reaktionsanalytik betrieben werden. Die bereits betrachtete Cyclodehydrierung von Oligophenolen **53** führt ebenfalls zu einem Produktgemisch. Das LD-Massenspektrum der erhaltenen Probe war in Abbildung 59b, S. 120 dargestellt und zeigte im Vergleich mit Abbildung 59a die von Kimihiro Yoshimura erzielte Verbesserung der Probenvorbereitung für LD-Messungen. In den gezeigten Beispielen lag der Schwerpunkt in der Verbesserung der Meßbedingungen während die Interpretation der qualitativen Zusammensetzung dieser Probe Gegenstand des folgenden Kapitels ist.

III.4.2.5 Interpretation des LD-Massenspektrums von PAH **54**

Das nach Optimierung der LD-Probenvorbereitung aufgenommene LD-Massenspektrum des Cyclodehydrierungsproduktes von **53** ist in Abbildung 84a noch einmal dargestellt. Neben der Isotopenverteilung des erwarteten PAH **54** (Simulation s. Abbildung 84b) werden zusätzliche Signale bei etwas höheren Masseneinheiten detektiert. Diese unerwarteten Signale können aus der überlagerten Isotopenverteilung von Nebenprodukte mit den Summenformeln $C_{114}H_{34}$ (s. Abbildung 84c) und $C_{114}H_{36}$ (s. Abbildung 84d) resultieren. Das gemessene LD-Massenspektrum kann daher durch ein Gemisch aus $C_{114}H_{30}/C_{114}H_{34}/C_{114}H_{36}$ im Intensitätsverhältnis 1:1:0,54 simuliert werden (s. Abbildung 84e). Zu welchen chemisch plausibeln Strukturen können nun diese Strukturformeln mit 4 bzw. 6 Wasserstoffatomen mehr als PAH **54** zugeordnet werden?

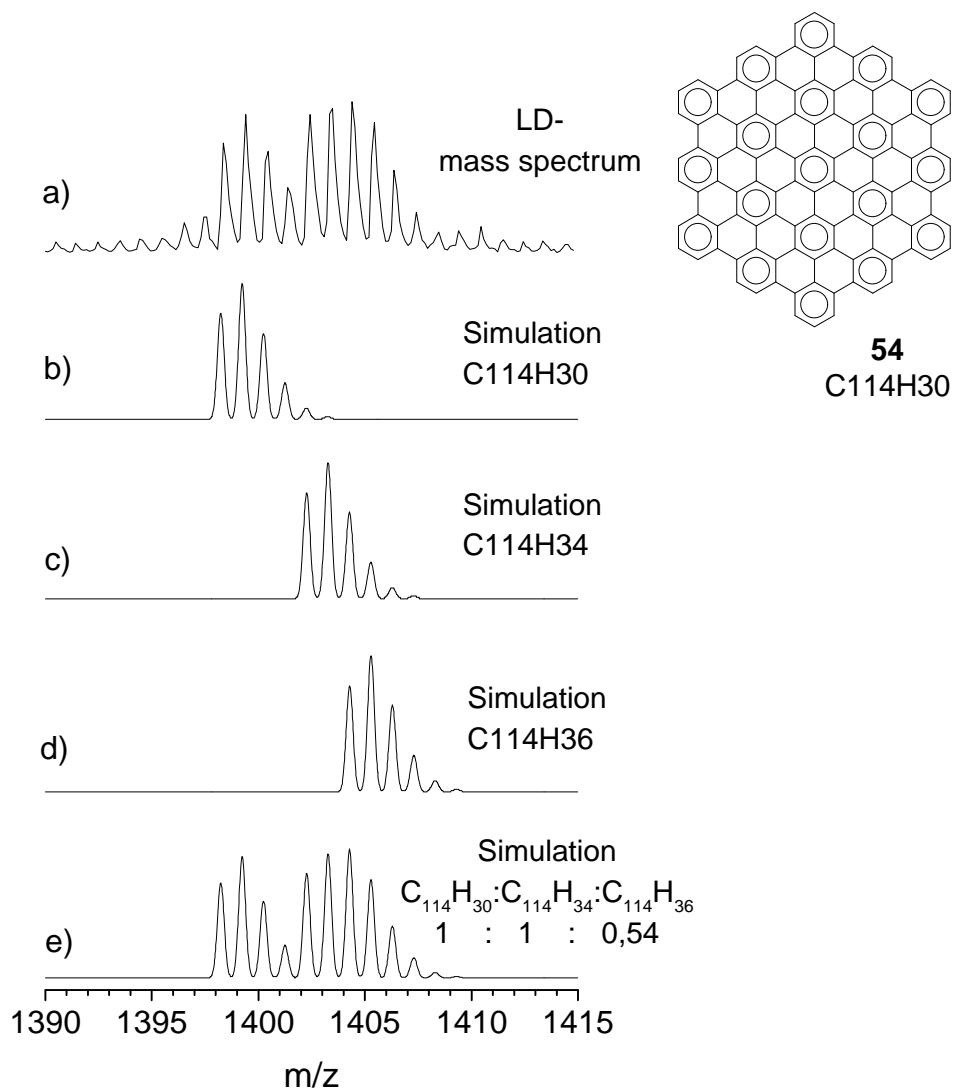
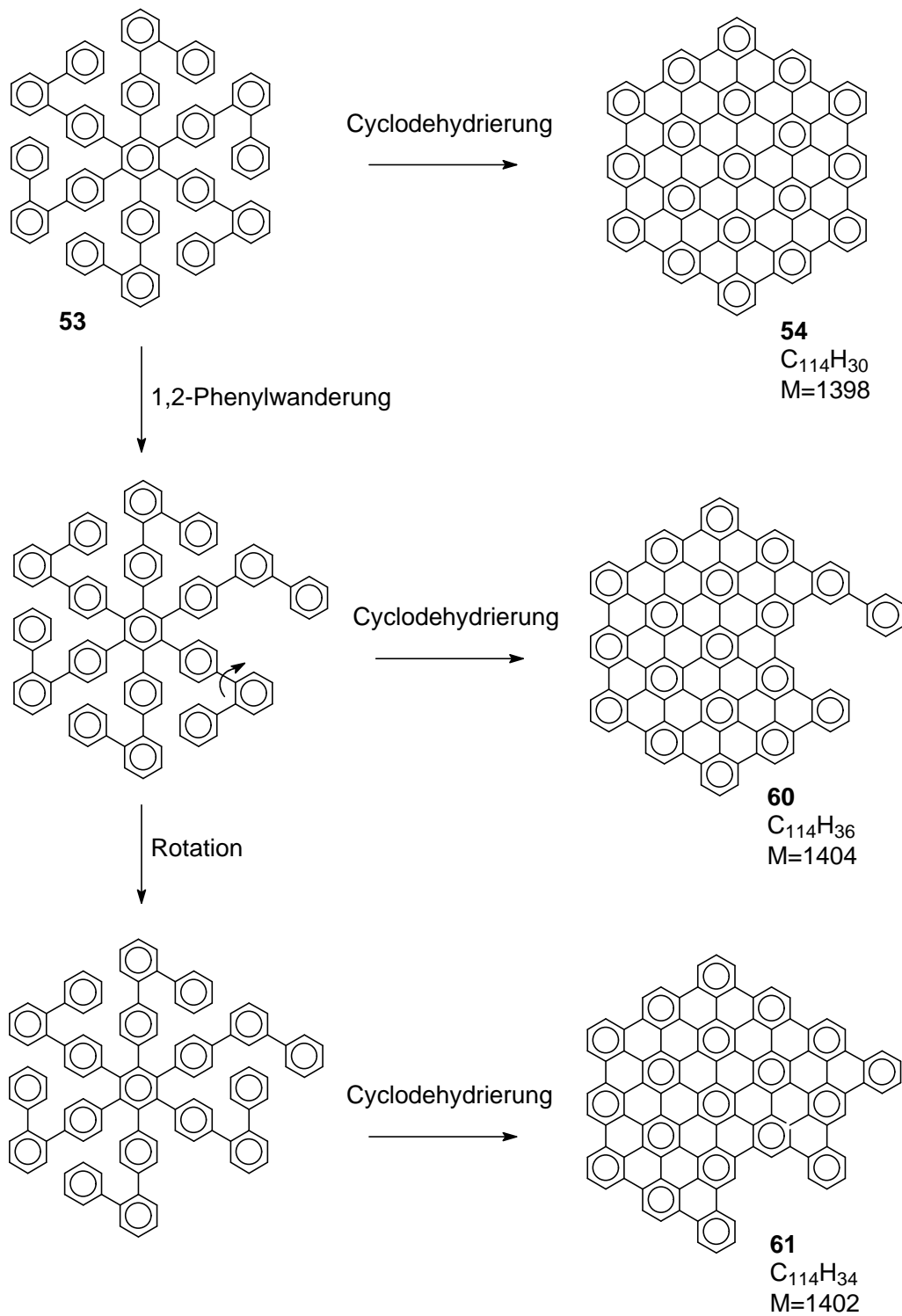


Abbildung 84: a) LD-Massensspektrum des Cyclodehydrierungsprodukts von **53** und Simulation der Isotopenverteilung von: b) erwarteten PAH **54** (C₁₁₄H₃₀); c) Nebenprodukt C₁₁₄H₃₄; d) Nebenprodukt C₁₁₄H₃₆; e) Gemisch aus PAH **54** und Nebenprodukten mit Intensitätsverhältnis 1:1:0,54

Es liegt zunächst die Vermutung nahe, daß es sich bei diesen Nebenprodukten um Teilcyclisate d.h. um noch nicht vollständig cyclodehydrierte Zwischenprodukte handelt. Bei kleineren PAHs können solche Teilcyclisate durch Verlängerung der Reaktionszeit beseitigt werden. Im Falle der Cyclodehydrierung von **53** können aber diese Nebenprodukte selbst nach längeren Reaktionszeiten immer noch nachgewiesen werden.¹¹¹ Offensichtlich entsprechen diese Nebenprodukte nicht Teilcyclisaten sondern besitzen Strukturdefekte, die eine weitere Cyclodehydrierung unmöglich machten. Bestimmte Umlagerungsreaktionen können zu Strukturen mit den Strukturformeln C₁₁₄H₃₄ und C₁₁₄H₃₆ führen. Wie in Schema 14

dargestellt, könnte eine Phenylwanderung auftreten und nach anschließender Cyclodehydrierung zu den Strukturen **60** und **61** führen, die tatsächlich 6 bzw. 4 Wasserstoffatome mehr als PAH **54** besitzen.



Schema 14: Erklärungsmöglichkeit der Nebenprodukt-Bildung bei der oxidativen Cyclodehydrierung von **53** zum PAH **54** ($AlCl_3/CuOTf_2$, CS_2 , RT)

Diese Erklärung ist jedoch schwer überprüfbar, da bis jetzt nur die Molmassen der Nebenprodukte bestimmbar sind. Die einzige Stütze für diese Interpretation ist die in der Literatur berichtete Umlagerung von *ortho*-Terphenyl.¹⁴⁴ Bei der Behandlung von *ortho*-Terphenyl mit Aluminium(III)chlorid wurden bei niedrigen Temperaturen Umlagerungen zu *meta*- und *para*-Terphenyl beobachtet. Dieses Ergebnis könnte das eigenartige Verhalten des Vorläufers **53**, der ebenfalls *ortho*-Terphenyluntereinheiten beinhaltet, erklären.

Der hier betrachtete PAH **54** (C₁₁₄H₃₀) kann wie andere kleinere PAHs auch noch mit Laserdesorption charakterisiert werden. Im Rahmen der bereits dargelegten Entwicklung der neuen MALDI-Probenvorbereitung (s. Kapitel III.4.2.2, S. 125), die zur Charakterisierung des ausgedehnten PAHs **57** (C₂₂₂H₄₂) absolut notwendig ist, wurden auch einige Tests an kleinen PAHs durchgeführt. Daraus ergaben sich bemerkenswerte Ergebnisse außerhalb der PAH-Thematik, die im nächsten und letzten Kapitel der PAH-Untersuchung beschrieben werden sollen. Es handelt sich, um die Detektion von Oligomeren und Silber-Adduktionen bei der MALDI-Messung von PAH-Analyten.

III.4.2.6 Detektion von Oligomeren und Silber-Adduktionen bei der MALDI-Messung von PAHs

Die Festphasenprobenvorbereitung, die die MALDI-Charakterisierung des äußerst ausgedehnten PAHs **57** ermöglichte (s. Kap. III.4.2.2, S. 125), wurde ebenfalls für die Messung von kleinen PAHs geprüft. Insbesondere wurde dem Unterschied zwischen LD- und MALDI-Messungen nachgegangen. Abbildung 85 zeigt den Vergleich zwischen den LD- und MALDI-Massenspektren des PAHs **62**, dessen Darstellung in Schema 15 abgebildet ist. Bei der Gegenüberstellung fällt auf, daß bei MALDI (s. Abbildung 85b) eine Reihe von Oligomeren (Dimer bis Tetramer) im Unterschied zur Laserdesorption (s. Abbildung 85a) detektiert werden kann. Die gemessenen Massen entsprechen genau dem Vielfachen des Molekulargewichts von PAH **62**. Somit kann auf die Bildung von rein physikalischen Oligomeren geschlossen werden (s. Übereinstimmung der gemessenen und simulierten Isotopenverteilung in Abbildung 85c).

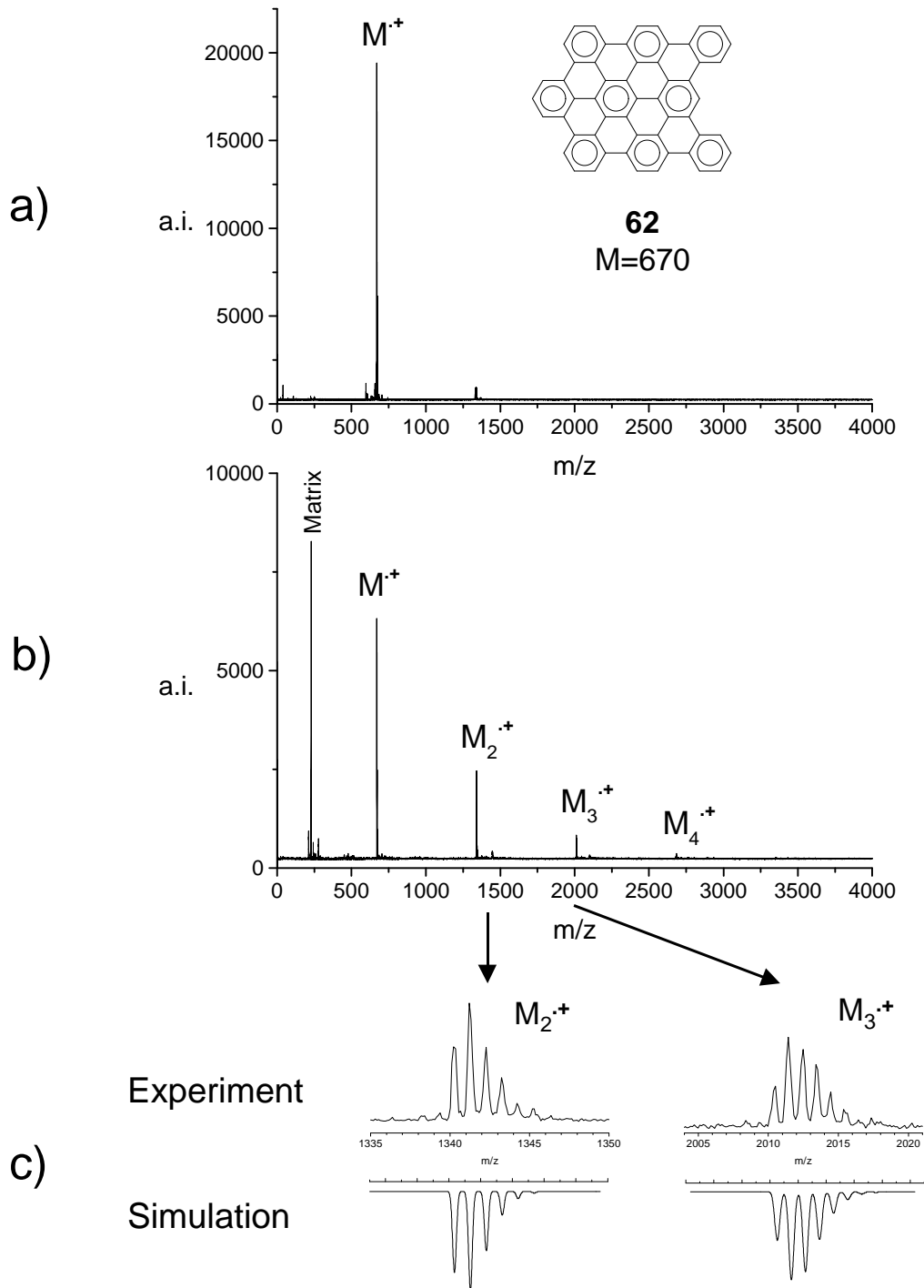
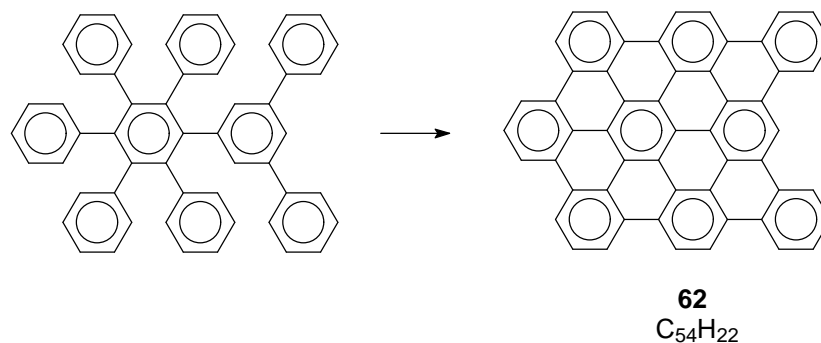
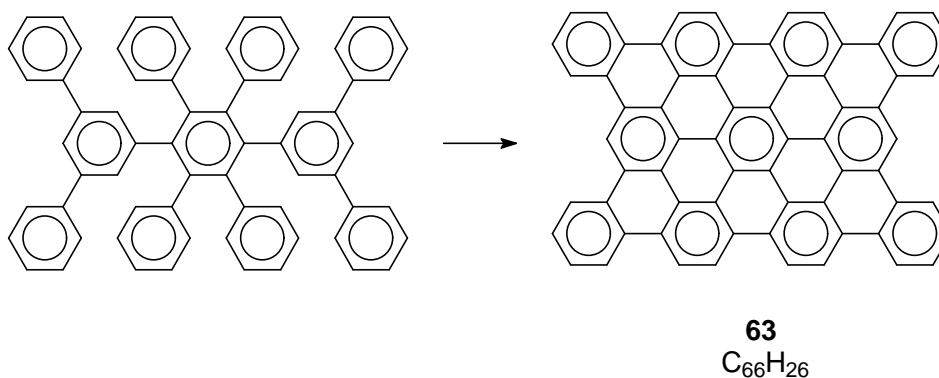


Abbildung 85: a) LD- und b) MALDI-TOF-Massenspektren des PAHs **62** (für MALDI wurde Dithranol als Matrix verwendet).

Chemische Oligomere (d.h. kovalent gebundene) wären dagegen bei zwei, vier bzw. sechs Masseneinheiten weniger detektierbar, da für die Bildung jeder kovalenten Bindung zwei Wasserstoffatome entfernt werden müssten.



Schema 15. Bildung von PAH 62. $AlCl_3/CuOTf_2$, CS_2 , RT



Schema 16. Bildung von PAH 63. $AlCl_3/CuOTf_2$, CS_2 , RT

Es stellt sich nun die Frage, ob diese Oligomere als solche desorbiert oder erst in der Gasphase gebildet werden. Um dies zu beantworten, wurden die PAHs **62** und **63** gemischt (Darstellung s. Schema 16) und zusammen mittels der Festphasenprobenvorbereitung mit der Matrix homogenisiert. Das hiervon gemessene MALDI-Massenspektrum in Abbildung 86 zeigt die Bildung von gemischten Oligomeren.

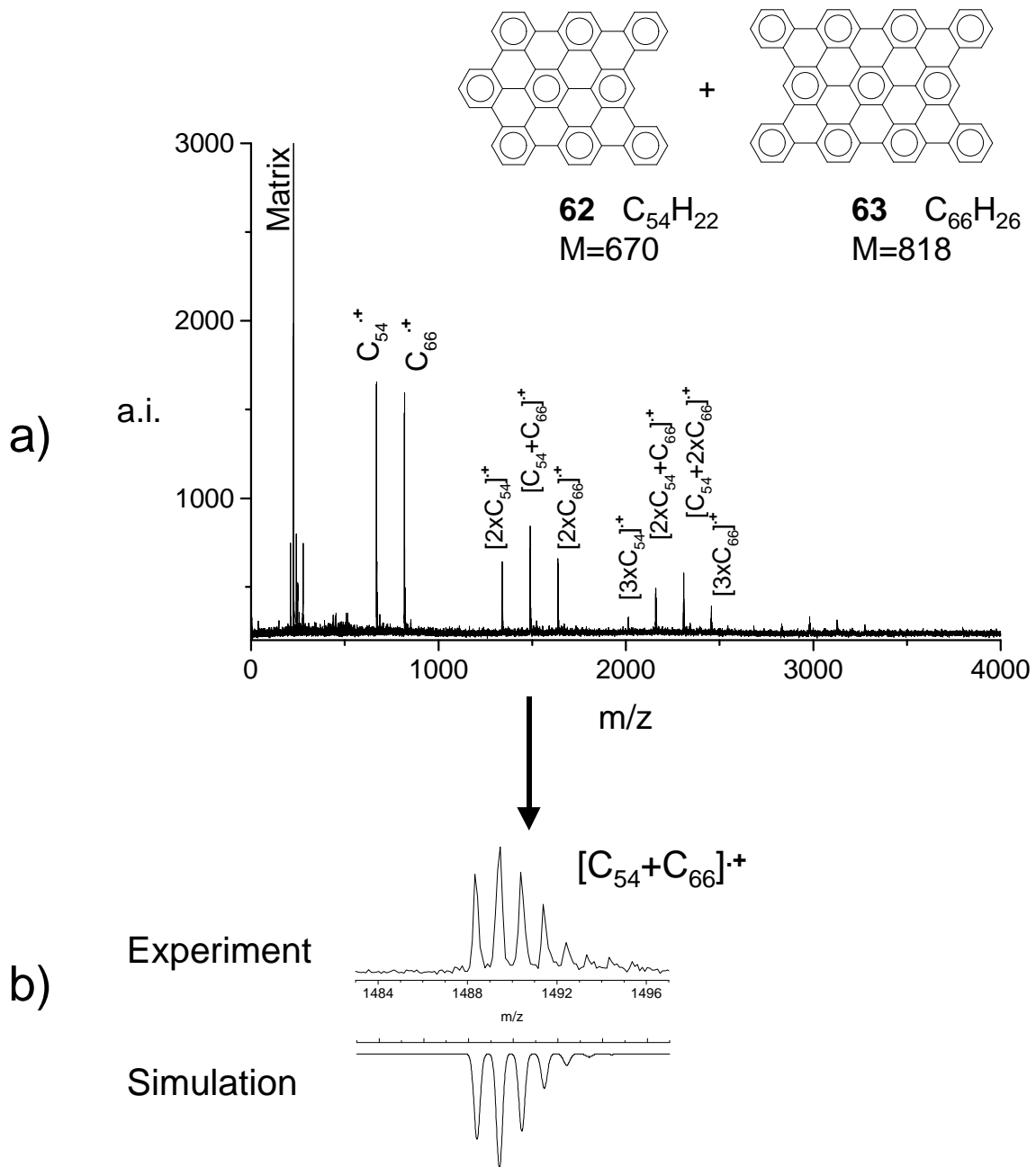
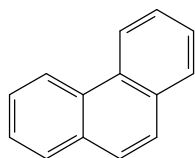


Abbildung 86: MALDI-Massenspektrum der mechanischen Mischung aus PAH 62, 63 und Dithranol als Matrix

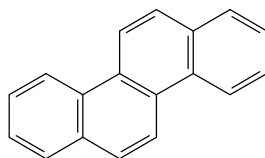
Prinzipiell könnten sie bereits vor der Desorption in der kondensierten Phase gebildet werden, wofür jedoch eine besonders feine Mischung (bis zur molekularen Ebene) der zwei Molekülsarten 62 und 63 erforderlich wäre. Bedenkt man noch, daß die PAH-Analyten in der Matrix „verdünnt“ sind (Molverhältnis: 1:500 bis 1:1000), scheint die Annäherung von

zwei Molekülen **62** und **63** zur Bildung eines gemischten Dimers eher ungünstig. Dagegen wird die Bildung dieser Oligomeren in der Gasphase als viel wahrscheinlicher eingestuft. Die Oligomere können als PAH-Stapel aufgefaßt werden, in dem die positive Ladung über mehrere Einheiten verteilt ist. Diese Oligomerenbildung, die das MALDI- von dem LD-Massenspektrum unterscheidet, kann folgendermaßen begründet werden: Beim LD-Prozeß könnte der Analyt zunächst ionisiert und anschließend desorbiert werden, was zur Entstehung von überwiegend geladenen Molekülen in der Gasphase führen würde. Dagegen könnte bei MALDI der Analyt durch Matrixunterstützung zunächst als Neutalmolekül desorbiert und erst in der Gasphase durch Photoabsorption ionisiert werden. Aus der Mischung von Neutalmolekülen und Radikalkationen könnten dann geladene Oligomere gebildet werden. Eine andere mögliche Erklärung für den Unterschied zwischen den LD- und MALDI-Massenspektren könnte auch durch die „Milde“ des MALDI-Prozesses begründet werden. MALDI ist wesentlich schonender bei der Desorption/Ionisation als LD und kann daher die Dissoziation der gebildeten Oligomeren verhindern. Dagegen sind die Moleküle bei LD viel stärker angeregt, um solche relativ labilen Aggregate stabil zu halten.

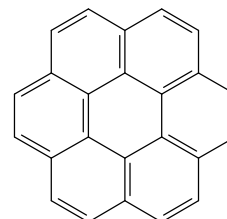
Eine weiteres interessantes Ergebnis wurde bei der Betrachtung der Ionisierungsart von PAH erhalten. Aufgrund der Absorption der PAHs bei der Wellenlänge des verwendeten N₂-Lasers (337 nm) läuft der Ionisationsprozeß anders als bei einem gewöhnlichen MALDI-Prozeß ab. Statt quasimolekularer Ionen, die durch eine Kationanlagerung oder Protonierung gebildet werden, werden Radikalkationen detektiert. Dies wurde bisher allgemein bei absorbierenden Analytmolekülen beobachtet.^{73,74,75} In der Literatur wurde bereits über protonierte^{145,146} oder mit Natrium-kationisierte¹⁴⁷ PAHs berichtet. Die Protonierung trägt wenig zur Ionisation von PAHs bei, und die Bildung von $[M+Na]^+$, die bei kleinen PAHs (z.B. Phenanthren, Chrysen) intensiv ist, läßt mit zunehmender Größe des aromatischen Systems nach, so daß schon beim Coronen überwiegend Radikalkationen detektiert werden.



Phenanthren



Chrysen



Coronen

Nicht literaturbekannt ist bisher die Ionisation von PAHs durch Anlagerung eines Silberkations, die jedoch bei unseren Untersuchungen ebenfalls nachgewiesen wurde überprüft. Abbildung 87 zeigt das mit der Mischung PAH **62**/Dithranol/ $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Ag}$ erhaltene Massenspektrum.

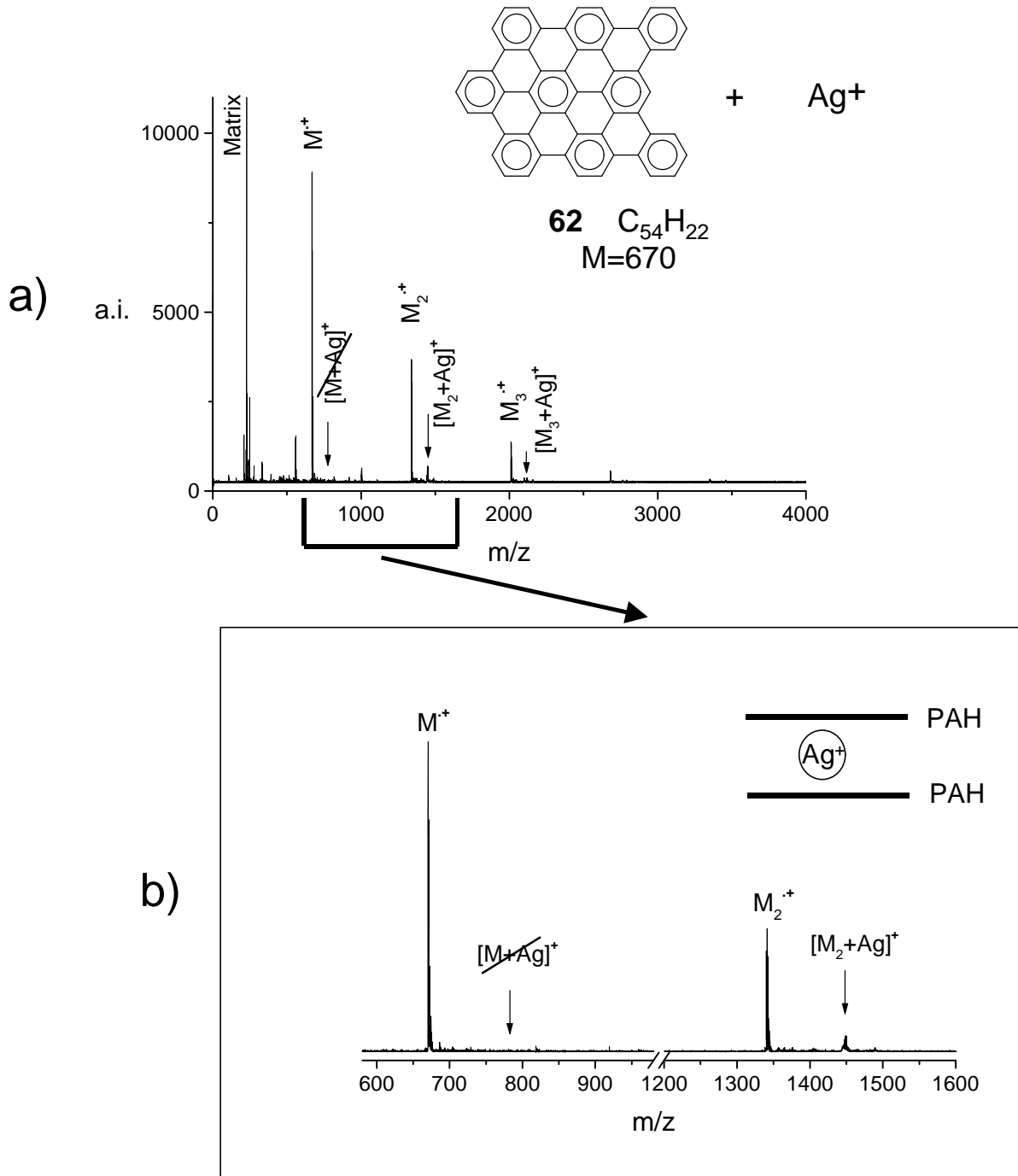


Abbildung 87. MALDI-Massenspektrum von **62** bei Zusatz von Silbertrifluoracetat als Kationisierungsagens. Hinweis auf eine Sandwichstruktur der Silberadduktionen

Während das $[M+Ag]^+$ -Addukt nicht detektiert wird, taucht neben dem Radikalkation-Signal der Dimeren ein Signal des mit Ag^+ kationisierten Dimeren auf. Die Signalintensität des Silberadduktions ist gering im Vergleich zu der des Radikalkationsignals. Daher ist diese Ionisierungsart für PAHs nicht von großer Bedeutung. Dennoch ist die Bildung von Silberadduktionen, die nicht beim PAH-Monomeren, sondern erst bei PAH-Dimeren detektiert werden, bemerkenswert, da diese Beobachtung die Annahme stützt, daß Silberadduktionen von aromatischen Analyten eine Sandwichstruktur erfordern.¹⁴⁸ Diese Sandwichstruktur kann im Falle von scheibenförmigen PAH-Analyten erst bei der Entstehung von Dimeren ermöglicht werden. Dieses Ergebnis ist bedeutsam für die Aufklärung der Struktur von anderen Silberadduktionen aus aromatischen Analyten, die z.B. bei der MALDI-Messung von Polystyrol erforderlich sind.

In diesem Teil der Arbeit wurde die MALDI-Probenvorbereitung für die Charakterisierung von PAHs angepaßt. Dabei wurde bewiesen, daß eine Probenvorbereitung ohne Beteiligung von Lösungsmitteln ebenfalls der MALDI-Prozeß gewährleisten kann. Dank dieser Entwicklung der MALDI-Methode konnte das unlösliche PAH **57** ($C_{222}H_{42}$) charakterisiert werden. Darüber hinaus wurde TCNQ zum ersten Mal als Matrix bei der MALDI-Methode erfolgreich eingesetzt. TCNQ hat sich zur Charakterisierung unlöslicher PAHs als besonders geeignet erwiesen. Die genauen Gründe dafür sind wegen der bisher noch relativ geringen Kenntnisse über den MALDI-Prozeß noch schwierig zu verstehen. Desweiteren ist noch unklar, ob TCNQ nur die Desorption der PAHs unterstützt oder die Ionisation zusätzlich begünstigt. Wenn dies der Fall ist, sollte die Matrix TCNQ für die Charakterisierung anderer Analyte, die als Radikalkationen ionisiert werden, ebenfalls gut geeignet sein. Diese Ionisierungsart wird bei der MALDI-Methode ausschließlich für Analyten beobachtet, die bei der Laserwellenlänge signifikant absorbieren.^{73,74,75} Die absorbierenden Substanzen neigen aber während des MALDI-Prozesses zur Fragmentierung. Demzufolge ist es notwendig, die Laserleistung möglichst zu reduzieren, so daß der Analyt vor der Laserstrahlung „geschützt“ wird. Auch hierfür ist TCNQ eine interessante Matrix, da dessen Desorptionsschwelle sehr niedrig liegt (s. Klassifizierung der Matrices nach Desorptionsschwelle in Anhang 2). Die vermuteten Vorteile der Matrix TCNQ werden im ersten Teil des nächsten Kapitels bei der Untersuchung von löslichen, konjugierten Polymeren (Poly-*para*-phenylen (PPP), Poly-*para*-phenylenethinylen (PPE) geprüft, die ebenfalls bei 337 nm absorbieren.

III.5. Bedeutung der Probenvorbereitung bei der MALDI-Massenspektrometrie

Aus den zwei letzten Kapiteln des Hauptteils geht die Bedeutung der Probenvorbereitung bei der MALDI-Methode deutlich hervor. Der Erfolg des MALDI-Prozesses hängt entscheidend davon ab, ob ein Analyt intakt in die Gasphase überführt werden kann. Desweiteren wurde das Problem der Quantifizierung bei der Untersuchung des PAH-Gemisches veranschaulicht. Die Relativintensitäten der unterschiedlichen Produktsignale zeigen eine deutliche Abhängigkeit von der Probenvorbereitung. In diesem Kapitel soll anhand weiterer Beispiele die Wirkung der Probenvorbereitung auf das MALDI-Massenspektrum untersucht werden. Der erste Teil widmet sich Analyten wie Poly-*para*-phenylen und Poly-*para*-phenylenethinylen, die bei der Wellenlänge des Stickstofflasers absorbieren. Diese Substanzen haben für die MALDI-Methode eine atypische Ionisierungsart, da sie Radikalkationen bilden anstatt wie sonst üblich ein Kation anzulagern. Außerdem neigen sie aufgrund ihrer starken UV-Absorption zur Fragmentierung. Die neue Matrix TCNQ, die für solche Substanzen prädestiniert scheint, soll in diesem Zusammenhang hinsichtlich ihrer Eignung zur Vermeidung von „in-source“-Fragmentierung untersucht werden. Zum Abschluß dieses Kapitels wird das Problem der Quantifizierung einer Polymerverteilung kurz betrachtet. Insbesondere wird anhand einiger Beispiele der Einfluß der Matrix sowie des Kations auf die Wiedergabe der Polymerverteilung dargestellt.

III.5.1 Einfluß der Matrix auf das Fragmentierungsverhalten von konjugierten Polymeren

III.5.1.1 Problematik der Charakterisierung von konjugierten Polymeren

Konjugierte Polymere besitzen ein ausgedehntes π -System, das sich über das ganze Molekül erstreckt. Das einfachste konjugierte Polymer besteht aus einer Polyenkette mit alternierenden Ein- und Zweifachbindungen. Andere Beispiele schließen aromatische Bausteine wie Benzol, Thiophen, Pyrrol oder „Hybride“ aus olefinischen und aromatischen Einheiten wie Stilben oder Phenylvinyle ein. Das ausgedehnte π -System ist mit einem starren Rückgrat kombiniert, das dem konjugierten Polymer besondere elektronische und optische Eigenschaften verleiht. Die Starrheit des π -Systems begrenzt andererseits die Löslichkeit der Verbindung. Obwohl

sich die Materialwissenschaft hauptsächlich auf Feststoffeigenschaften konzentriert, ist eine ausreichende Löslichkeit für die Synthese, die Charakterisierung sowie für die Verarbeitung notwendig. Die Löslichkeit der konjugierten Polymere kann durch die Einführung von Seitenketten (z.B. Alkyl- od. Alkoxy substituenten) unterstützt werden. Allerdings hat diese Methode einige Nachteile. Die Seitenketten können die π -Konjugation beeinflussen, indem sie eine Torsion in der Kette verursachen oder ein enges Stapeln der Moleküle in der Festphase behindern.

Trotz der löslichkeitsvermittelnden Seitenketten sind die konjugierten Polymere aufgrund ihrer Starrheit eine Herausforderung für die konventionellen polymeranalytischen Methoden. Eine Charakterisierung mittels GPC, der am meisten eingesetzten Methode in der Polymeranalytik, ist problematisch. Die GPC beruht auf der Trennung von Polymeren nach ihrem hydrodynamischen Volumen, das in Beziehung zum Molekulargewicht steht. Steife Stäbchen unterscheiden sich aber im hydrodynamischen Volumen drastisch von der Knäuelstruktur, und eine übliche, auf Polymerstandards (wie z.B. Polystyrol) basierende Kalibrierung darf für die Molekulargewichtsbestimmung nicht mehr angewendet werden.

MALDI wurde bereits für die Charakterisierung solcher Systeme erfolgreich eingesetzt.^{74,75} Unabhängig von der Molekulargewichtsbestimmung ist auch die Charakterisierung der Endruppen von großer Bedeutung. Die Endgruppen können in der Tat zu den physikalischen Eigenschaften eines Oligomers beitragen und müssen gegebenenfalls bei der Materialuntersuchung berücksichtigt werden. Wie im Kapitel III.2.2.2.2 bereits erwähnt, verhalten sich allerdings die konjugierten Polymere bei der MALDI-Analyse eigenartig. Statt Adduktionen (mit Protonen oder zugesetzten Metall-Kationen) zu bilden, werden sie als Radikalkationen ionisiert. Dies ist auf ihre Absorption des Laserlichts zurückzuführen, die eine Photoionisation auslöst. Außerdem neigen diese absorbierenden Analyten während des MALDI-Prozesses zur Fragmentierung. Diese Eigenschaft kann für die MALDI-Charakterisierung kritisch werden. Es ist oft schwierig, ein „in-source“-Fragment von einem Nebenprodukt im Massenspektrum zu unterscheiden, außerdem kann die Fragmentierung so intensiv werden, daß das intakte Analytmolekül nicht mehr nachgewiesen werden kann. Um die „in-source“-Fragmentierung zu beschränken bzw. zu vermeiden, soll die Laserleistung möglichst niedrig bzw. gerade an der Ionisationsschwelle des Analyten gehalten werden. Daher sollte eine Matrix mit einer niedrigen Desorptionsschwelle benutzt werden, die möglichst noch unter der Ionisationsschwelle des Analyten liegt. Diese Voraussetzung ist

allerdings nicht ausreichend, um die „in-source“-Fragmentierung zu vermeiden. Sollte die Ionisationsschwelle über der Fragmentierungsschwelle des Analyten liegen, wird die Photoionisation eine Fragmentierung unvermeidlich auslösen. Sollte aber die Ionisation nicht nur durch Laseranregung stattfinden, sondern durch eine Matrix unterstützt werden, könnte eine Fragmentierung vielleicht noch umgangen werden. Die matrixunterstützte Ionisation müßte eine niedrigere Schwelle als die Photoionisation besitzen und könnte prinzipiell unter der Fragmentierungsschwelle liegen. Sollte die neue Matrix TCNQ, die eine relativ niedrige Desorptionsschwelle besitzt (s. Klassifikation der Matrices in Anhang 2), die Bildung der Radikalkationen tatsächlich unterstützen, könnte sie vielleicht die Fragmentierung der konjugierten Polymeren vermeiden. Diese Möglichkeit wurde an Poly-*para*-phenylen- und Poly-*para*-phenylenethinylene-Proben getestet.

III.5.1.2 Charakterisierung mit MALDI: Einfluß der Matrix auf das Fragmentierungsverhalten

III.5.1.2.1 Untersuchung eines Poly-*para*-phenylens

Das untersuchte Poly-*para*-phenylen wurde von Marcus Remmers im Rahmen seiner Doktorarbeit synthetisiert.¹⁴⁹ Die Polykondensation basierte auf einer Palladium-katalysierten Suzuki-Reaktion.¹⁵⁰

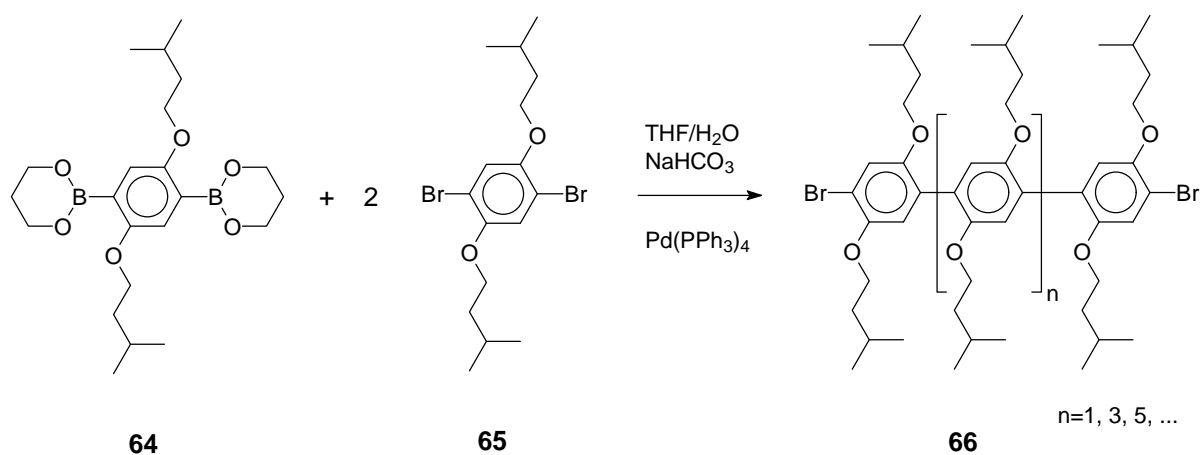


Abbildung 88: Synthese des untersuchten PPP's 66

Die geschützte 1,4-Phenylendiboronsäure **64** wurde mit einem zweifachen Überschuß an 1,4-Dibrombenzol **65** umgesetzt und führte zum Poly-*para*-phenylen **66** (s. Abbildung 88). Durch den Überschuß an Dibrom-Monomer **65** wurden nahezu ausschließlich nur Oligomere

(Polymerisationsgrad bis 17-19) erhalten, die eine ungerade Zahl von Phyleneinheiten und Bromendgruppen an beiden Kettenenden besitzen.⁷⁵ Aufgrund des relativ hohen Molekulargewichts der Wiederholungseinheiten (298 g/mol) konnten die Oligomere mit Hilfe der präparativen Chromatographie abgetrennt werden. Diese Trennung wird oft bei der Untersuchung konjugierter Polymere durchgeführt.¹⁵¹ Die monodispersen Oligomere können so systematisch mit steigender Kettenlänge auf ihre elektronischen und optischen Eigenschaften hin untersucht werden. Die so gewonnenen Resultate können dazu benutzt werden, um Eigenschaften des Polymers zu verstehen und vorherzusagen. Die monodispersen Oligomere dienen auch zum Studium ihrer Massenspektren, ohne den störenden Einfluß von Fragmenten anderer Kettenlängen. Somit wird also die Zuordnung der auftretenden Fragmente eindeutig.

Zunächst soll die im MALDI-Massenspektrum auftretende Fragmentierung des Oligo-*para*-phenylens **66** näher untersucht werden. Zur Demonstration wurde das Heptamer verwendet.

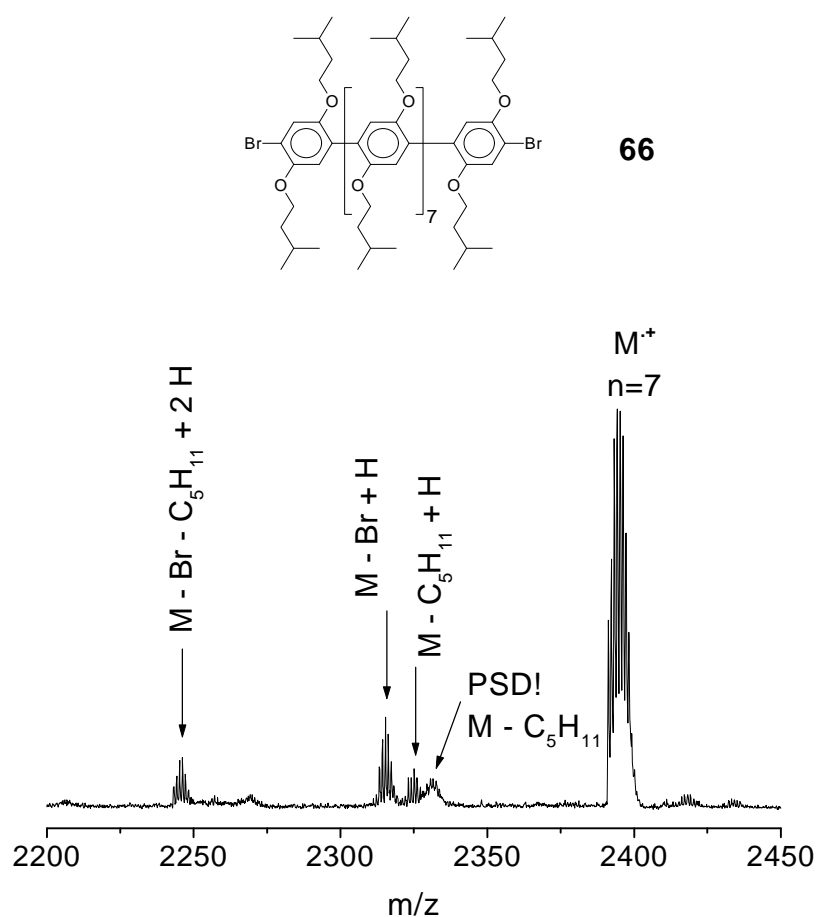
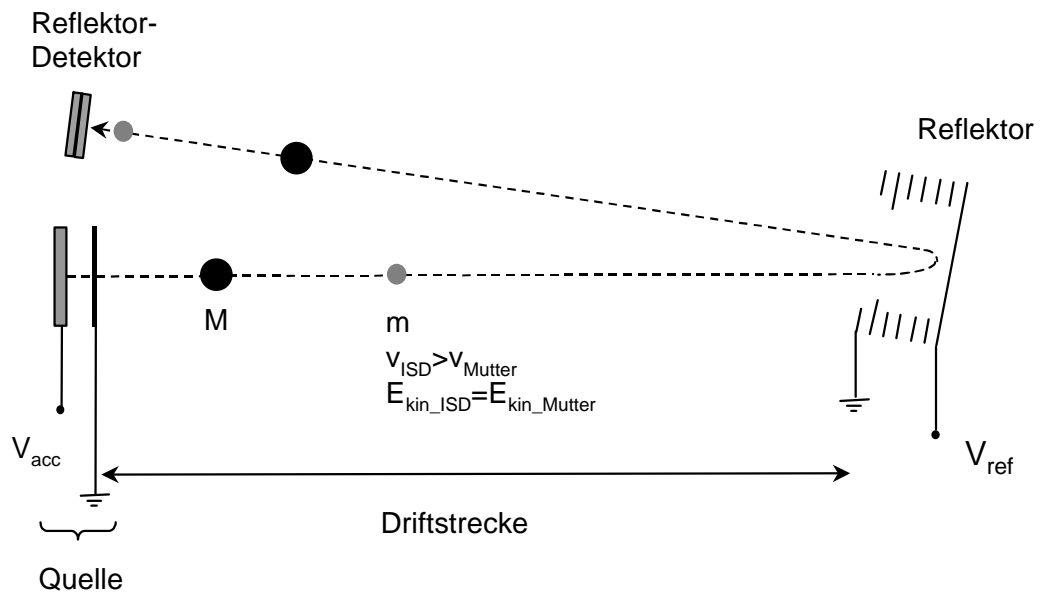


Abbildung 89: MALDI-Massenspektrum des Heptamers von PPP **66** im Reflektormodus mit Dithranol als Matrix

Abbildung 89 zeigt das im Reflektormodus mit Dithranol als Matrix aufgenommene MALDI-Massenspektrum. Neben dem Mutterionenpeak werden Fragmentionen unterschiedlicher Art detektiert: „in-source“- und „post-source“-Fragmentionen. Die „in-source“-Fragmentionen entstehen in der Quelle des Massenspektrometers und werden wie intakte Ionen vom anliegenden elektrischen Feld beschleunigt. Sie sind daher schwer von potentiellen Gemischbestandteilen einer Probe zu unterscheiden. Meistens werden „in-source“-Fragmentionen durch ihrer Signalintensität erkannt, da beim Erhöhen der Laserleistung die relative Signalintensität eines „in-source“-Fragmentions im Vergleich zu der Signalintensität seines Mutterions zunimmt. Bei der Messung von Oligo-*para*-phenylen **66** (s. Abbildung 89) entstehen die „in-source“-Fragmentionen durch Verlust einer Bromendgruppe, einer Pentylseitenkette oder beider. Auffallend ist, daß diese „in-source“-Fragmentionen nicht genau bei der zu erwartenden Massen detektiert werden. Die durch den Verlust einer Bromendgruppe oder einer Pentylseitenkette gebildeten Fragmentionen werden bei einer Masseneinheit mehr als der theoretischen Masse detektiert. Bei dem Verlust von sowohl einer Bromendgruppe als auch einer Pentylseitenkette wird das Fragmention bei zwei Masseneinheiten höher als der theoretischen Masse detektiert. Offensichtlich findet bei den „in-source“-Fragmentionen einer schnellen Hydrierung der Bruchstelle vor der Ionisation statt. Bei etwas höheren Massen als der durch den Verlust einer Pentylseitenkette entstandenen „in-source“-Fragmentions wird ein „post-source“-Fragmention detektiert, das ebenfalls durch den Verlust einer Pentylseitenkette gebildet wird. Ein „post-source“-Fragmention erreicht den Reflektordetektor erst nach seinem Homologen, das in der Quelle schon entstanden ist. Dies wird in Abbildung 90 veranschaulicht.

a) Mutterion und „in-source“-Fragmentation (ISD)



b) „post-source“-Fragmentation (PSD)

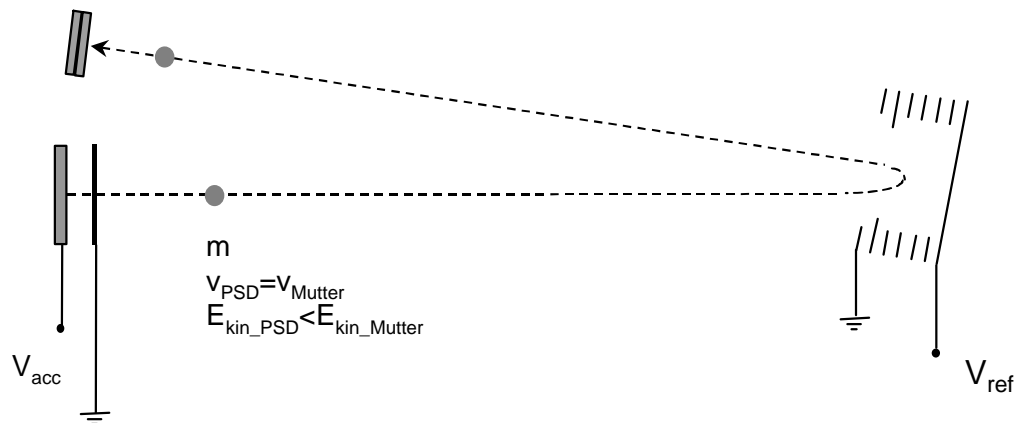


Abbildung 90: Flugzeiten von a) Mutterion M und „in-source“- Fragmention, und b) „post-source“-Fragmention

Das „in-source“-Fragmentation hat eine kleinere Masse und folglich eine höhere Geschwindigkeit als dessen Mutterion (s. Abbildung 90a). Das „post-source“-Fragmentation wird aber erst nach der Beschleunigungsphase gebildet und besitzt in der Driftstrecke die gleiche Geschwindigkeit wie das Mutterion (s. Abbildung 90b). Es hat also eine gewisse Verspätung in Vergleich zu seinem Homologen, das bereits in der Quelle gebildet wurde. Im Reflektor dringt das „post-source“-Fragmentation aufgrund seiner kleineren kinetischen Energie nicht so tief ein wie das Mutterion bzw. wie das „in-source“-Fragmentation. Dementsprechend wird seine Flugzeit verkürzt, und das „post-source“-Fragmentation kommt am Reflektordetektor vor dem Mutterion und kurz nach dem „in-source“-Fragmentation an. Um die unterschiedlichen Flugzeiten der „in-source“- und „post-source“-Fragmentationen noch einmal zu verdeutlichen, kann die Meßanordnung des Massenspektrometers variiert werden (s. Abbildung 91). Im Linearmodus (s. Abbildung 91b) sind nur die „in-source“-Fragmentationen zu beobachten, da das „post-source“-Fragmentation zum gleichen Zeitpunkt wie das Mutterion den Lineardetektor erreicht. Wird nun das Mutterion mit dem elektrischen Gate selektiert – d.h. „in-source“-Fragmentationen werden vor dem Reflektor ausgeblendet-, kommen nur die „post-source“-Fragmentationen am Reflektordetektor an (s. Abbildung 91c). Nach Kalibrierung dieser „post-source“-Fragmentationen rückt dann das Fragment zu seinem richtigen Molekulargewicht (s. Abbildung 91d). Dieses PSD-Fragmentation ist im Gegensatz zu seinem „in-source“-Homologen nicht hydriert worden. Dies ist einleuchtend, da eine Wasserstoffübertragung in der Quelle mit sehr großer Wahrscheinlichkeit stattfinden kann, während sie im Flug aufgrund der selteneren Zusammenstöße kaum möglich ist.

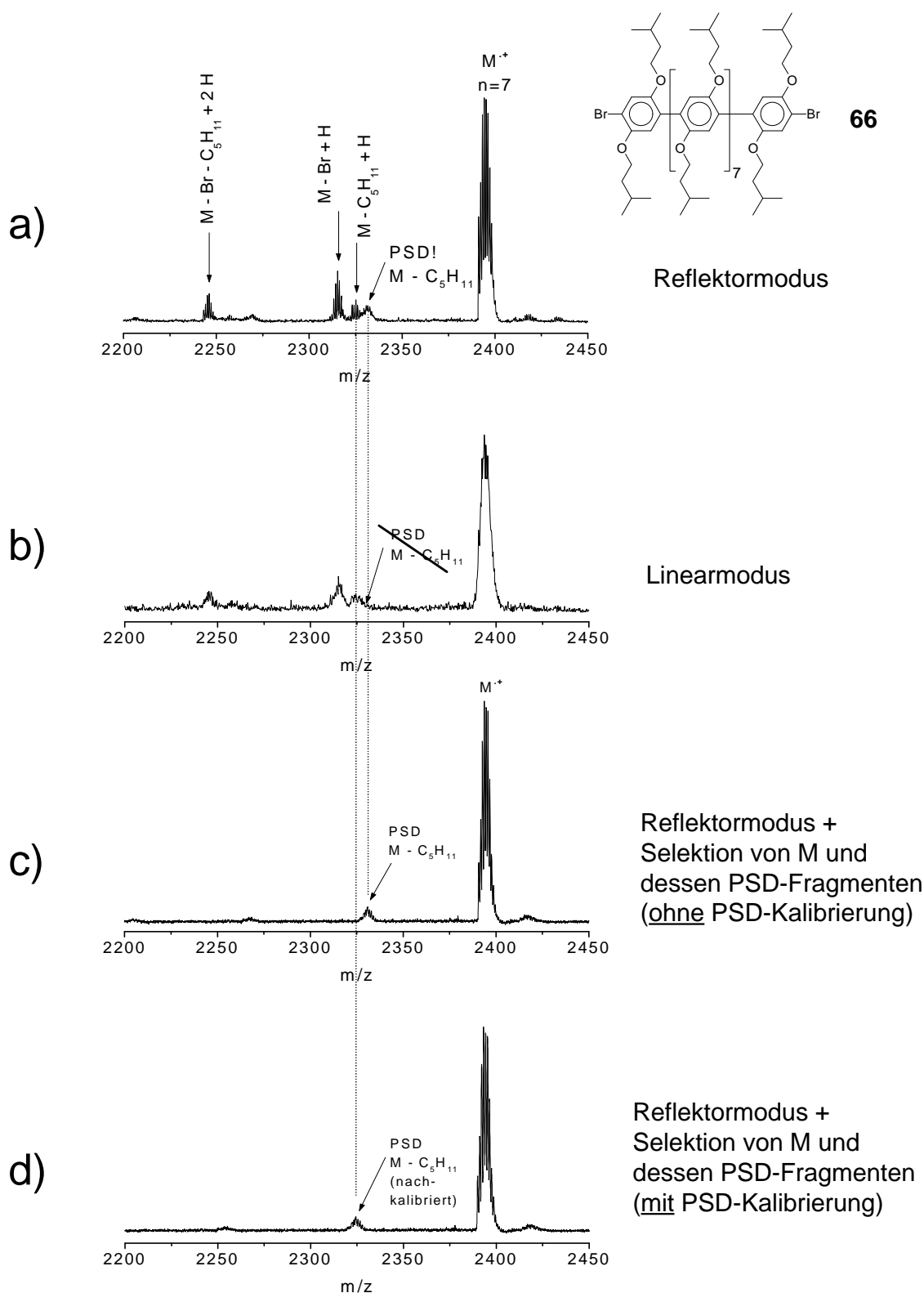


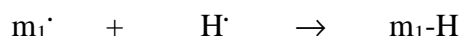
Abbildung 91: MALDI-Massenspektren des Heptamers von PPP **66** mit Dithranol als Matrix: Änderung der Meßanordnung. a) Reflektormodus, b) Linearmodus, c) nach Selektion des Quasimolekularions und dessen PSD-Fragmente, ohne PSD-Kalibrierung, d) nach Selektion des Quasimolekularions und dessen PSD-Fragmente, mit PSD-Kalibrierung

An dieser Stelle sei angemerkt, daß beim PSD ausschließlich Pentylseitenketten und keine Bromendgruppe abgespalten werden. Dies liegt wahrscheinlich an der unterschiedlichen Art der Anregungsmechanismen sowie am Zeitpunkt der Fragmentierungen. Das Ionisierungspotential von PPP liegt ungefähr bei 6 eV.¹⁵² Seine Photoionisation mit einem N₂-Laser (337nm d.h. 3,68 eV) erfordert also die Absorption mehr als eines Photons: Dies wird als „multi-photon ionization“ (MPI) bezeichnet. Die Bromendgruppen des PPP's **66** haben vermutlich einen erheblichen Einfluß auf dessen Photoionisation. Es ist bekannt, daß halogenierte Aromaten schneller strahlungslosen Übergängen (meistens durch „internal conversion“) unterliegen,¹⁵³ die die MPI beeinträchtigen. Durch strahlungslosen Übergängen wird Energie aus dem angeregten elektronischen Zustand (S₁) schnell entweichen, bevor ein zweites Photon die Ionisation induzieren kann. Moleküle, die mehr als zwei Photonen absorbieren, ohne dabei zu ionisieren, neigen dann zur schnellen Fragmentierung, da die eingebrachte Anregungsenergie deutlich die Bindungsenergien überschreitet.¹⁵⁴ Die gebildeten Fragmente werden dann gegebenenfalls ionisiert. In diesem Fall könnte vor der Ionisation des Fragmentes noch die beobachtete Wasserstoffabsättigung (s. o.) stattfinden. Dieser Prozeß kann, wie folgt, zusammengefaßt werden:

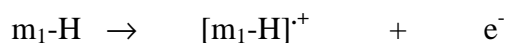
(1) *Fragmentierung des neutralen Analyten:*



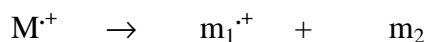
(2) *Hydrierung des Fragments:*



(3) *Multiphotonenionisation des hydrierten Fragments:*



Dabei könnte im Falle von PPP **66** das abgespaltene Fragment m₂ eine Bromendgruppe oder eine Alkylseitenkette darstellen. Im Gegensatz zu dieser „in-source“-Fragmentierung, die in der Quelle des Massenspektrometers stattfindet, tritt „post-source decay“ erst nach der Beschleunigungszone ein. Ihre Aktivierungsenergie stammt aus Zusammenstößen beim Desorptionsprozeß und bei der anschließenden Beschleunigung. Das PSD kann folgenderweise beschrieben werden:



Ein bemerkenswerter Unterschied zwischen der „in-source“-Fragmentierung (wie sie hier interpretiert wird) und dem PSD ist, daß die in der Quelle entstandenen Fragmente aus neutralen Molekülen gebildet werden, während die PSD-Fragmente aus Molekularionen stammen. Dies könnte eine Erklärung sein, warum beim PSD keine Bromendgruppe abgespalten wird. Die Halogensubstituenten können sich als Elektronendonatoren verhalten,¹⁵⁵ indem sie ihre einsamen Elektronenpaare dem aromatischen Ring zur Verfügung stellen und somit zur Stabilisierung des Radikalkations beitragen. Ihre Abspaltung ist daher ungünstig.

Um auf die Charakterisierung vom PPP zurückzukommen, verkompliziert eine „post-source“-Fragmentierung zwar das Massenspektrum, kann aber ausgeklammert werden. Zum einen kann die Natur des Fragments sowie das entsprechende Mutterion bestimmt werden, indem das vermutliche Mutterion mit dem elektrischen Gate selektiert wird (wie in Abbildung 91c und d). Zum anderen kann das PSD-Fragmentation durch eine Messung im Linearmodus „ignoriert“ werden (s. Abbildung 91b). Die nicht beeinflussbare Fragmentierung findet in der Quelle statt. Abbildung 92 zeigt die Wirkung der Laserleistung auf die Fragmentierung und belegt, warum mit einer möglichst niedrigen Laserleistung gearbeitet werden soll, damit die Fragmentierung nur eingeschränkt stattfindet. Im Falle von Dithranol als Matrix für diesen Analyten kann aber die Fragmentierung nicht gänzlich vermieden werden. Es soll nun getestet werden, ob eine Änderung der Matrix die Fragmentierung verhindern kann. Sollte TCNQ die angenommene Eigenschaft tatsächlich besitzen, die Bildung von Radikalkationen zu unterstützen, wäre eine Verbesserung der Messung zu erwarten.

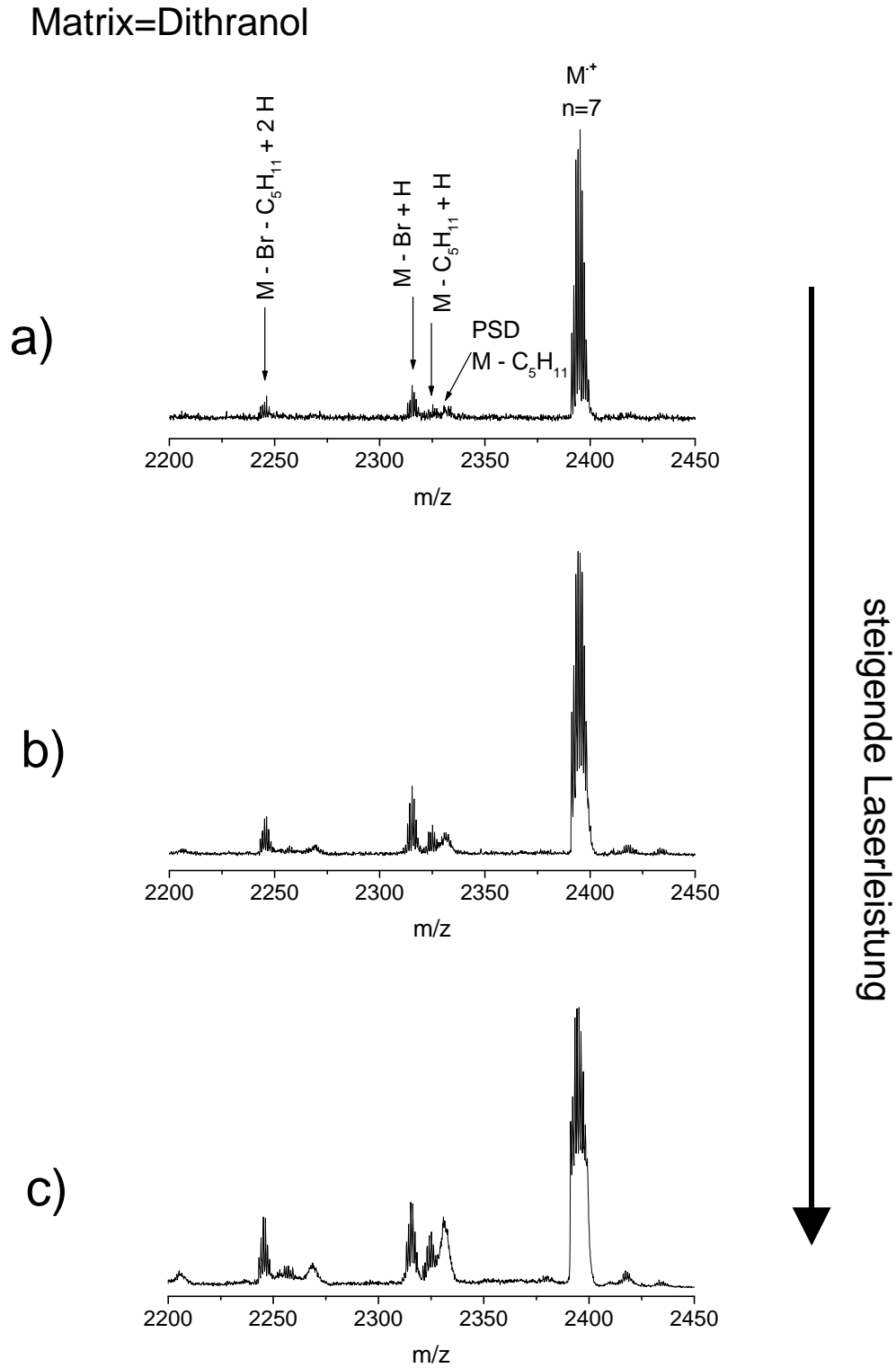


Abbildung 92: Wirkung der Laserleistung auf das MALDI-Massenspektrum des Heptamers von PPP 66 mit Dithranol als Matrix. a) Laserleistung bei der Desorptionsschwelle, b) etwas höhere Laserleistung, c) noch höhere Laserleistung

Abbildung 93a zeigt das mit TCNQ im Reflektor aufgenommene MALDI-Massenspektrum des Heptamers **66**. Neben dem Mutterionsignal wird nur das PSD-Fragment detektiert. Die „in-source“-Fragmentierung konnte aber vermieden werden. Sie tritt nur durch Erhöhung der Laserleistung auf (s. Abbildung 93b), allerdings nur schwach gegenüber dem PSD. Um diesen positiven Trend der Resultate zu belegen, wird ein Vergleichspektrum mit all-trans-Retinoesäure als Matrix aufgenommen. Es soll belegen, ob die Desorptionsschwelle der Matrix einen ausschlaggebenden Parameter darstellt.

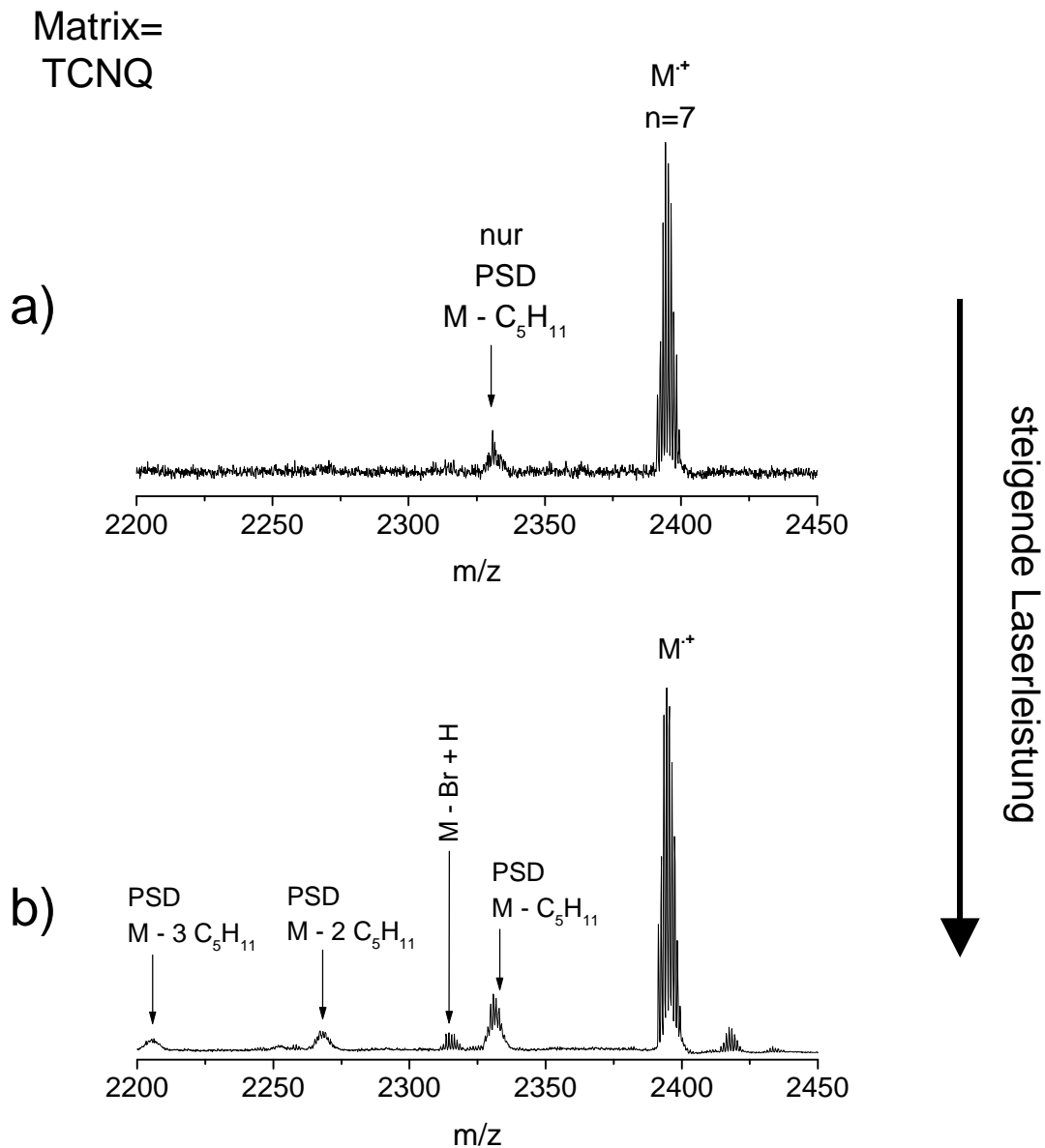


Abbildung 93: Reflektor-MALDI-Massenspektrum des Heptamers von PPP **66** mit TCNQ als Matrix und Änderung mit steigender Laserleistung. a) Laserleistung bei der Desorptionsschwelle, b) höhere Laserleistung

Mit all-trans-Retinoesäure als Matrix kann eine deutlich niedrigere Laserleistung als mit allen anderen Matrices verwendet werden (s. Klassifikation der Matrices nach Desorptionsschwelle in Anhang 2). Dennoch konnte die „in-source“-Fragmentierung nicht vermieden werden (s. Abbildung 94a). Dies zeigt, daß eine niedrige Desorptionsschwelle der Matrix nicht ausreicht, und unterstützt die Vermutung, daß die Matrix zusätzlich die Ionisation unterstützen muß, wie es bei TCNQ offenbar der Fall ist. Dabei wird die Ionisationsschwelle soweit herabgesetzt, daß sie unter der Fragmentierungsschwelle liegt. Der Analyt kann dann „schonend“ ionisiert werden, ohne dabei zu fragmentieren.

Matrix=
all-trans-Retinoesäure

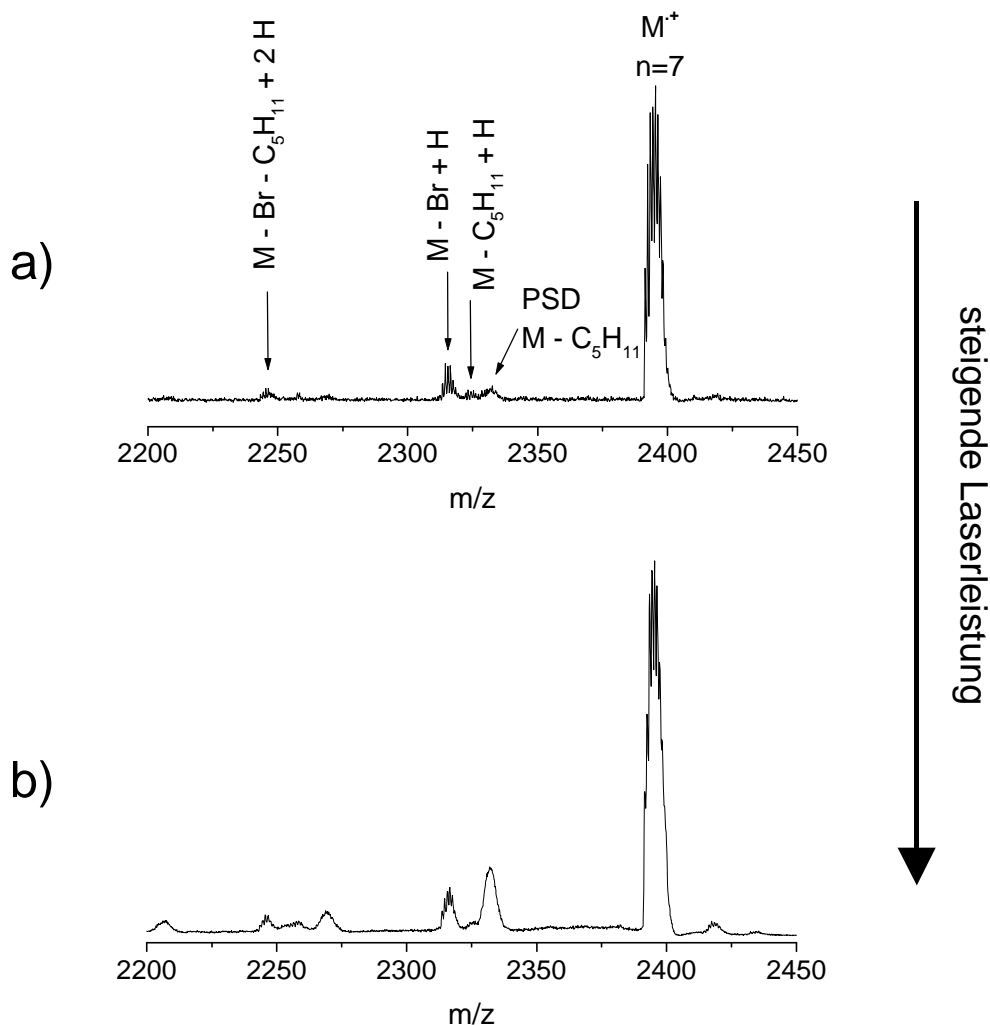


Abbildung 94: Reflektor-MALDI-Massenspektrum des Heptamers von PPP 66 mit all-trans-Retinoesäure als Matrix und Änderung mit steigender Laserleistung. a) Laserleistung bei der Desorptionsschwelle, b) höhere Laserleistung

Im Rahmen dieser Untersuchung war die unerwartete Begünstigung des PSD durch Verwendung von TCNQ als Matrix zu erkennen. Der Vergleich zwischen den mit den unterschiedlichen Matrices aufgenommenen PSD-Massenspektren zeigt es noch deutlicher (s. Abbildung 95).

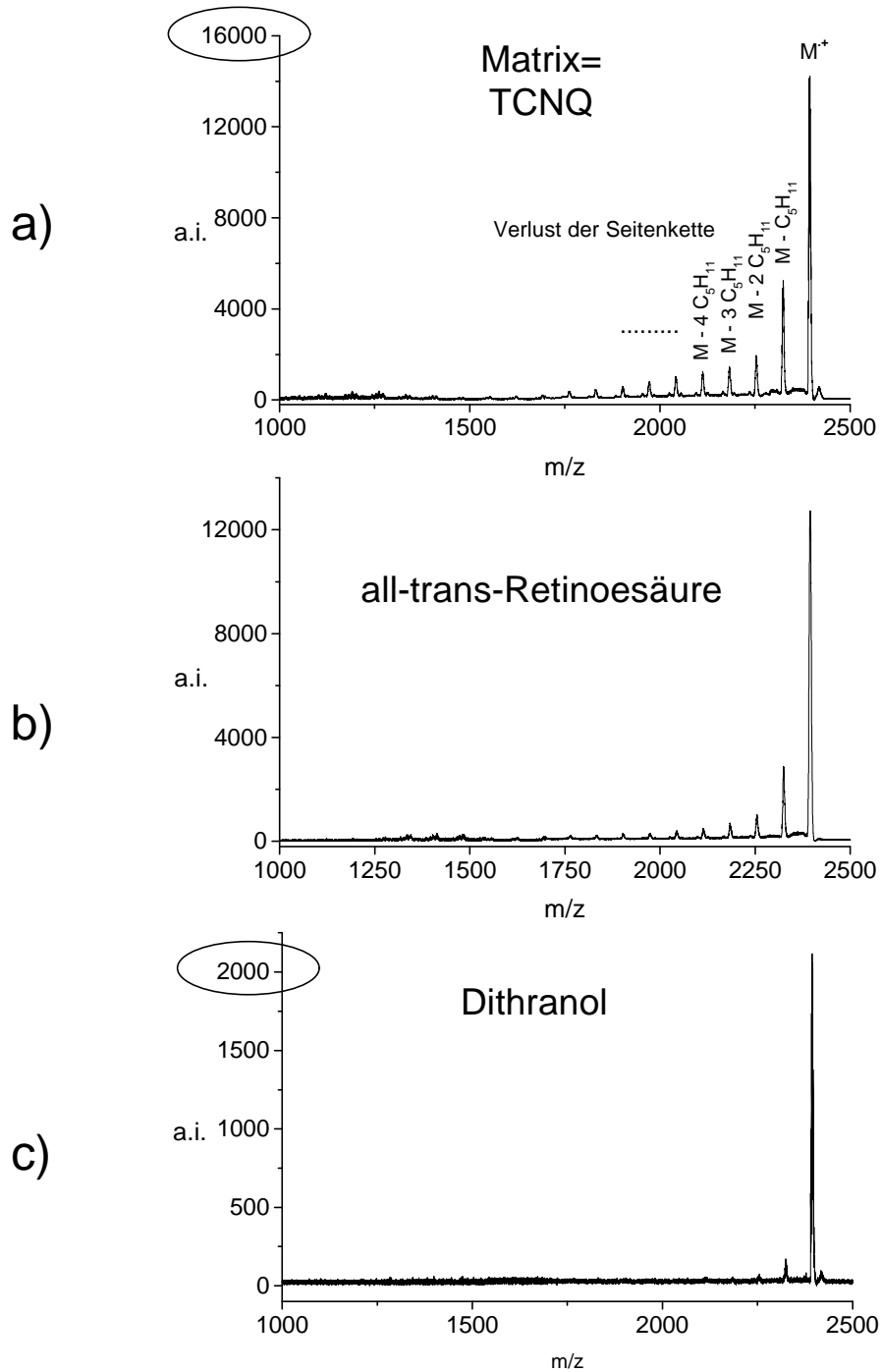


Abbildung 95: Einfluß der Matrix auf das PSD-Massenspektrum des Nonamers von PPP 66. a) TCNQ, b) all-trans-Retinoesäure, c) Dithranol als Matrix

Die Messung eines PSD-Massenspektrums ist mit Dithranol erschwert (s. Abbildung 95c), da der Analyt bereits in der Quelle stark fragmentiert. Dagegen bleibt das Mutterion mit TCNQ von der Laseranregung verschont (s. hohe Intensität des Mutterions in Abbildung 95a), unterliegt jedoch einem intensiven PSD, der sich im Verlust der Seitenkette zeigt. Im Falle vom Analyt PPP **66** ist die aus dem PSD-Fragmentierungsmuster gewonnene Strukturinformation sicherlich gering, jedoch ist das Ergebnis prinzipiell bedeutsam. Es ist wichtig zu wissen, daß durch Änderung der Matrix ein PSD-Massenspektrum „empfindlicher“ Analyten aufgenommen werden kann und daraus gegebenenfalls wichtige Strukturinformationen extrahiert werden können, die mit anderen Matrices quasi unzugänglich sind.

Die Begünstigung des PSD's durch die Anwendung von TCNQ als Matrix wurde im Rahmen dieser Arbeit auch mit anderen Analyten festgestellt. Abbildung 96a zeigt das mit TCNQ aufgenommene MALDI-Massenspektrum vom Oligophenylen **56**, das bereits im Kapitel III.4.2 betrachtet wurde. Dieser Analyt wird auch durch Bildung von Radikalkationen ionisiert. Die „post-source“-Fragmentierung ist mit TCNQ unvermeidlich, während sie bei einer Messung mit Dithranol nicht auftritt (s. Abbildung 96b). Bei diesem Spektrenvergleich muß besonders auf den Intensitätsunterschied zwischen den Quasimolekularionensignalen hingewiesen werden. Das mit TCNQ erzeugte intensive Analytsignal ist ein weiterer Hinweis darauf, daß diese Matrix die Bildung von Radikalkationen fördert.

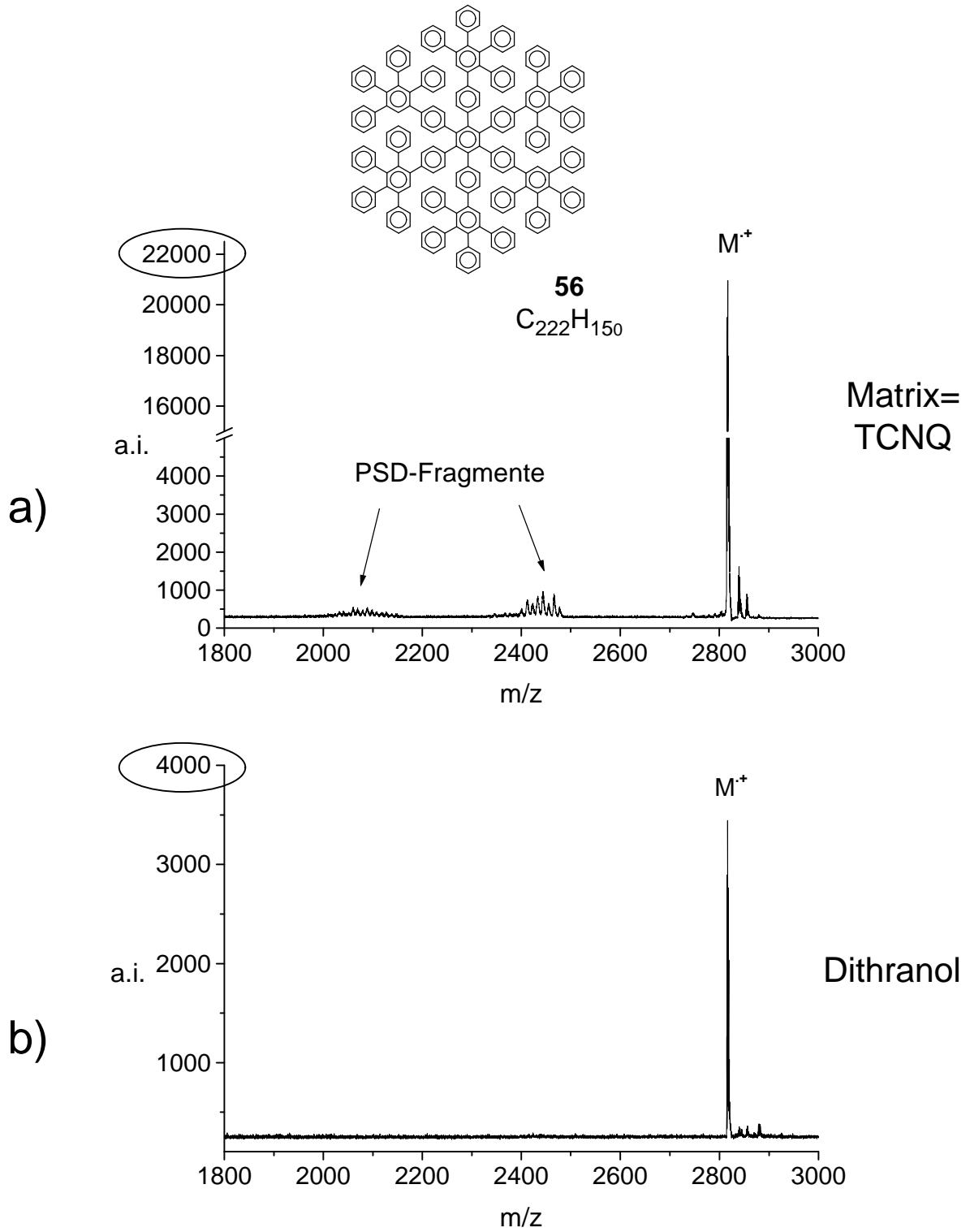


Abbildung 96: Einfluß der Matrix auf das MALDI-Massenspektrum des Oligophenylens **56**. a) TCNQ, b) Dithranol als Matrix

Die Aufklärung des PSD-Massenspektrums (s. Abbildung 97) im Fall des Oligophenylens **56** ist leider schwierig. Dem Verlust einer Phenyleinheit, einer bzw. zweier $C_{30}H_{21}$ -„Arme“ können Signale zugeordnet werden, jedoch ist die Interpretation vieler anderer Signale problematisch. Innerhalb der Signalverteilungen bei m/z 2000 bzw. 2400 beträgt der Abstand zwischen zwei aufeinander folgenden Peaks 12-14 g/mol. Dies spricht für die Abspaltung von einzelnen C-Atomen bzw. CH_2 -Einheiten.

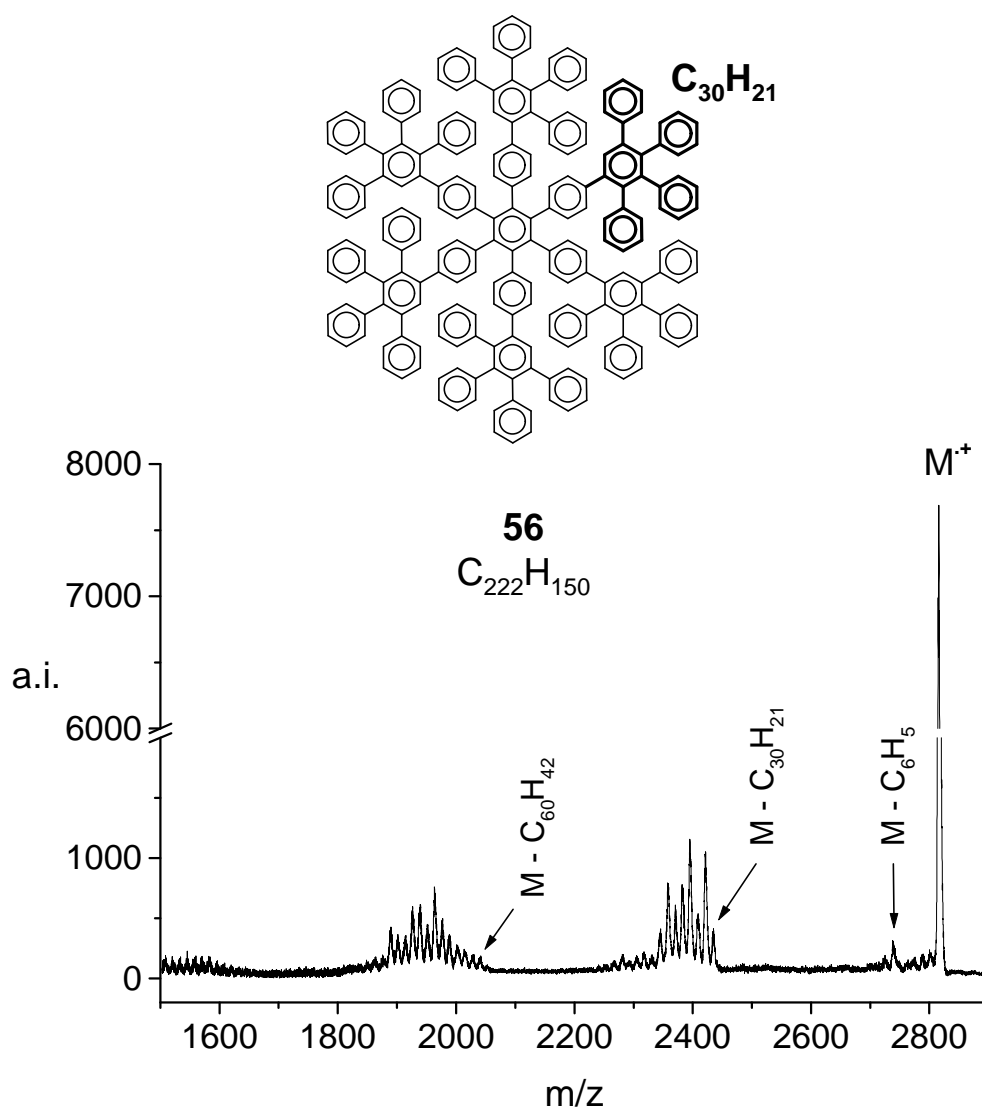
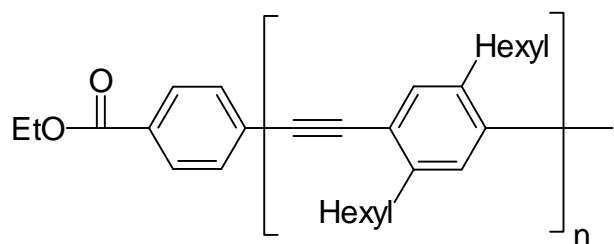
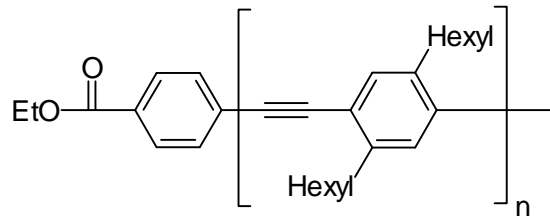


Abbildung 97: PSD-Massenspektrum des Oligophenylens **56** mit TCNQ als Matrix

III.5.1.2.2 Untersuchung eines Poly-para-phenylenethinylens

**23**

Als anderes konjugiertes Polymer wurde das bereits im Kapitel III.2.2 erwähnte Poly-para-phenylenethinylene **23** untersucht. Es handelt sich dabei um einen Vorläufer des PPE-Blocks **24**, der für die Synthese des PPE-*b*-PEO-Copolymers eingesetzt wurde. Die von Viola Francke durchgeführte Synthese wurde bereits im Kapitel III.2.2 beschrieben (s. S. 67). Das PPE **23** ist mit einem Iodat und einer para-Ethoxycarbonyl-phenyl-Gruppe terminiert. Bei dieser Probe wurde im Gegensatz zum untersuchten PPP **66** keine Abtrennung der Oligomere durchgeführt. Die Probe ist also polydispers und enthält Oligomere mit einem Polymerisationsgrad bis zu neun.⁶⁷ Abbildung 98a zeigt das mit Dithranol aufgenommene MALDI-Massenspektrum. Die Hauptverteilung, die der erwarteten Struktur entspricht, wird durch eine zusätzliche Signalverteilung überlagert, die mit dem Symbol „x“ im Massenspektrum gekennzeichnet ist. Ihre Zuordnung ist in Abbildung 98b geklärt. Bei der „in-source“-Fragmentierung wird die Iodendgruppe abgespalten, woraus zwei Fragmentionentypen resultieren. Zum einen wird das Fragment mit Wasserstoff gesättigt. Das resultierende [M-I+H]-Fragmention wird detektiert. Dies ist in Übereinstimmung mit dem für PPP **66** beobachteten Prozeß (s. III.5.1.2.1, S. 176). Zum anderen verliert das Fragment zusätzlich zum Iodat ein weiteres Wasserstoffatom, so daß das [M-I-H]-Fragmention ebenfalls entsteht. Die in Abbildung 99 vorgeschlagene Struktur, die einen Ringschluß beinhaltet, könnte die Bildung dieses [M-I-H]-Fragmentions erklären. Die Charakterisierung dieser zwei Fragmentionen [M-I+H] und [M-I-H] wird durch die hohe Auflösung des Massenspektrometers ermöglicht. Die Isotope können getrennt voneinander detektiert werden wodurch die partielle Überlappung der Isotopenverteilungen beider Spezies aufgedeckt wird.



23

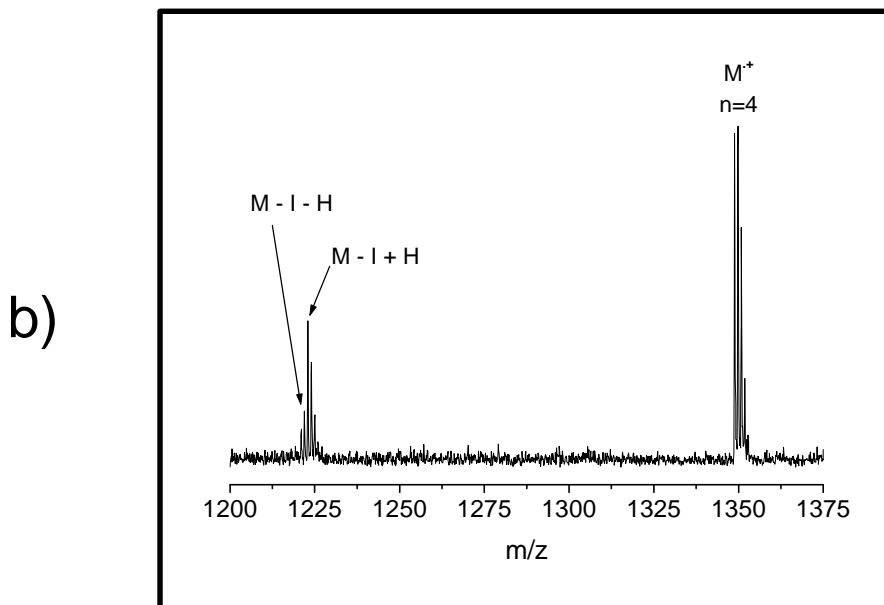
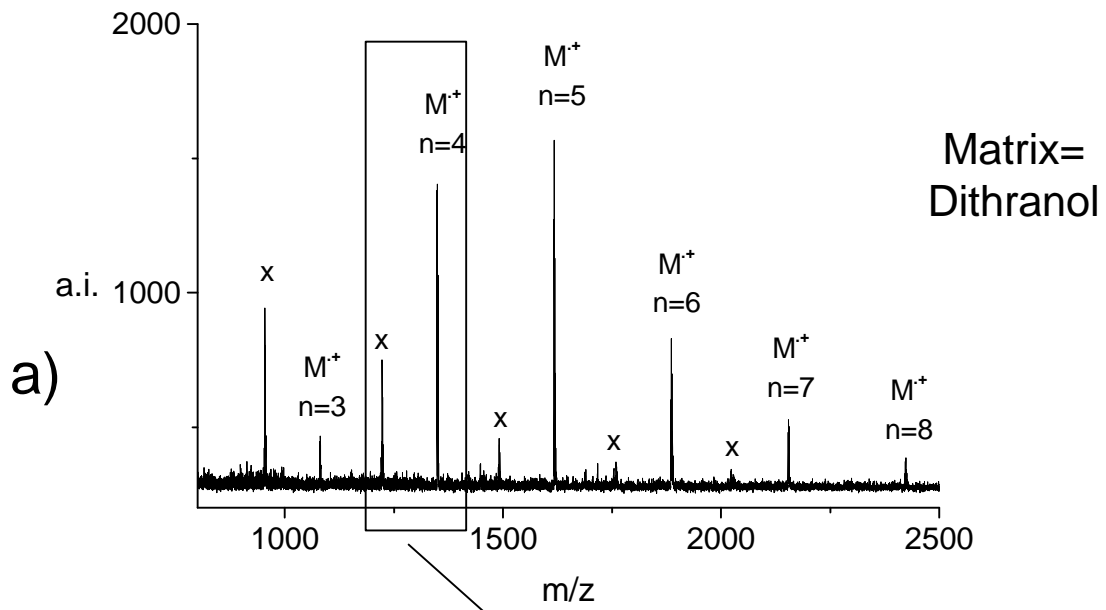


Abbildung 98: a) MALDI-Massenspektrum von PPE 23 mit Dithranol als Matrix und b) Ausschnitt

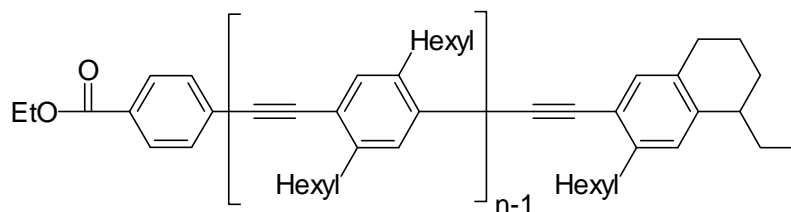


Abbildung 99: Vorgeschlagene Struktur für das $[M-I-H]$ -Fragment

Bei der Probe PPE **23** wird kein „post-source“-Fragment detektiert, solange die Laserleistung an der Desorptionsschwelle liegt. Wird nun die Laserleistung absichtlich erhöht, um ein PSD-Massenspektrum aufzunehmen (s. Abbildung 100), wird das gleiche Ergebnis wie im Falle des PPPs **23** erhalten. Es wird nur der Verlust der Seitenkette und keine Abspaltung des Iodatoms bei PSD beobachtet. Dies unterstreicht wieder den Unterschied im Fragmentierungsmechanismus zwischen „ISD“ (In-source decay) von ungeladenen Molekülen und PSD von geladenen Molekülen, der in Kapitel III.5.1.2.1 bereits interpretiert wurde.

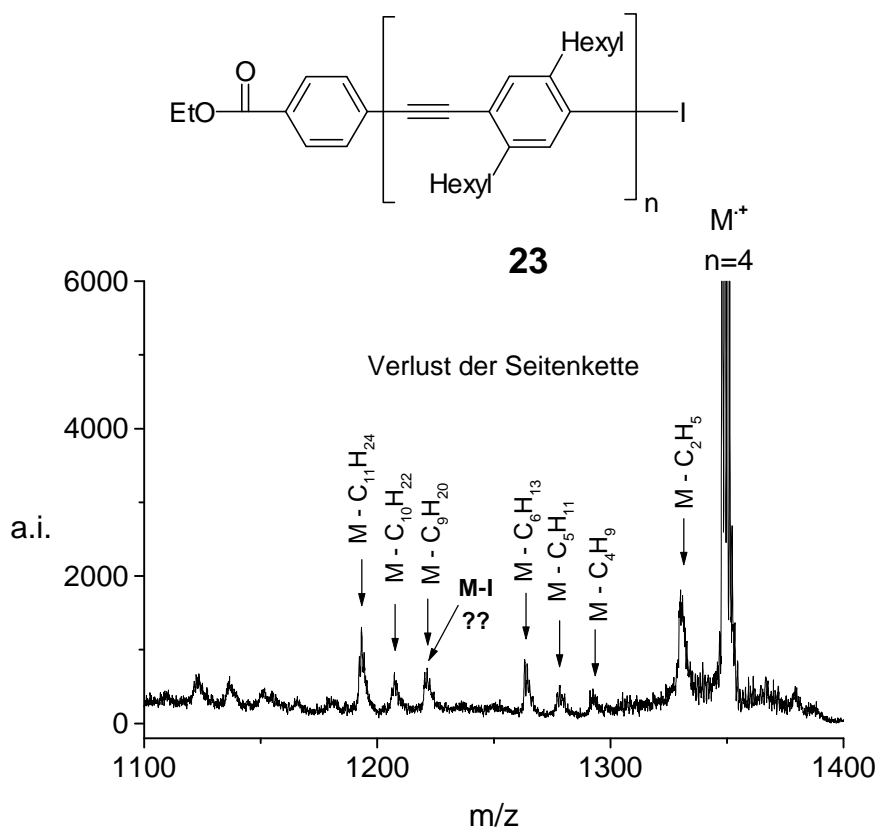


Abbildung 100: PSD-Massenspektrum des Tetramers von PPE **23**

Die Messung von PPE **23** wird nun im Hinblick auf die „in-Source“-Fragmentierung mit TCNQ wiederholt. Das entsprechende MALDI-Massenspektrum ist in Abbildung 101 dargestellt. Die „in-source“-Abspaltung der Iodendgruppe wird nahezu vollständig vermieden. Nur wenig intensive Fragmentsignale können noch erkannt werden.

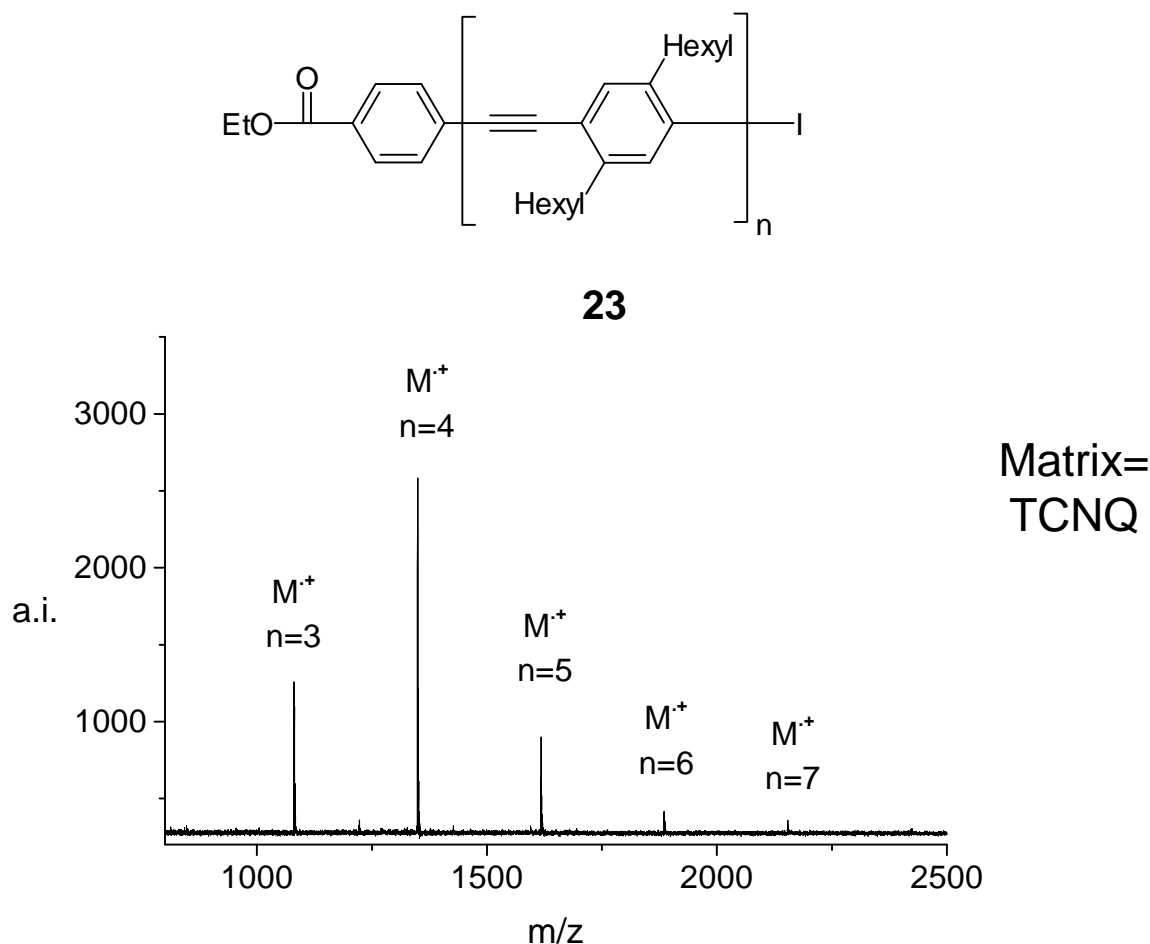


Abbildung 101: MALDI-Massenspektrum von PPE **23** mit TCNQ als Matrix

Eine Messung mit all-trans-Retinoesäure wurde ebenso durchgeführt. Das Massenspektrum (s. Abbildung 102) zeigt ebenfalls einen starken Rückgang der Iodabspaltung. Dagegen wird eine weitere, mit dem Symbol „+“ gekennzeichnete Peakverteilung detektiert. Dieser Verteilung kann jedoch keiner einfachen Fragmentierung des Analyten zugeordnet werden. Die Interpretation muß zunächst zurückgestellt werden, wird aber zu einem späteren Zeitpunkt noch diskutiert.

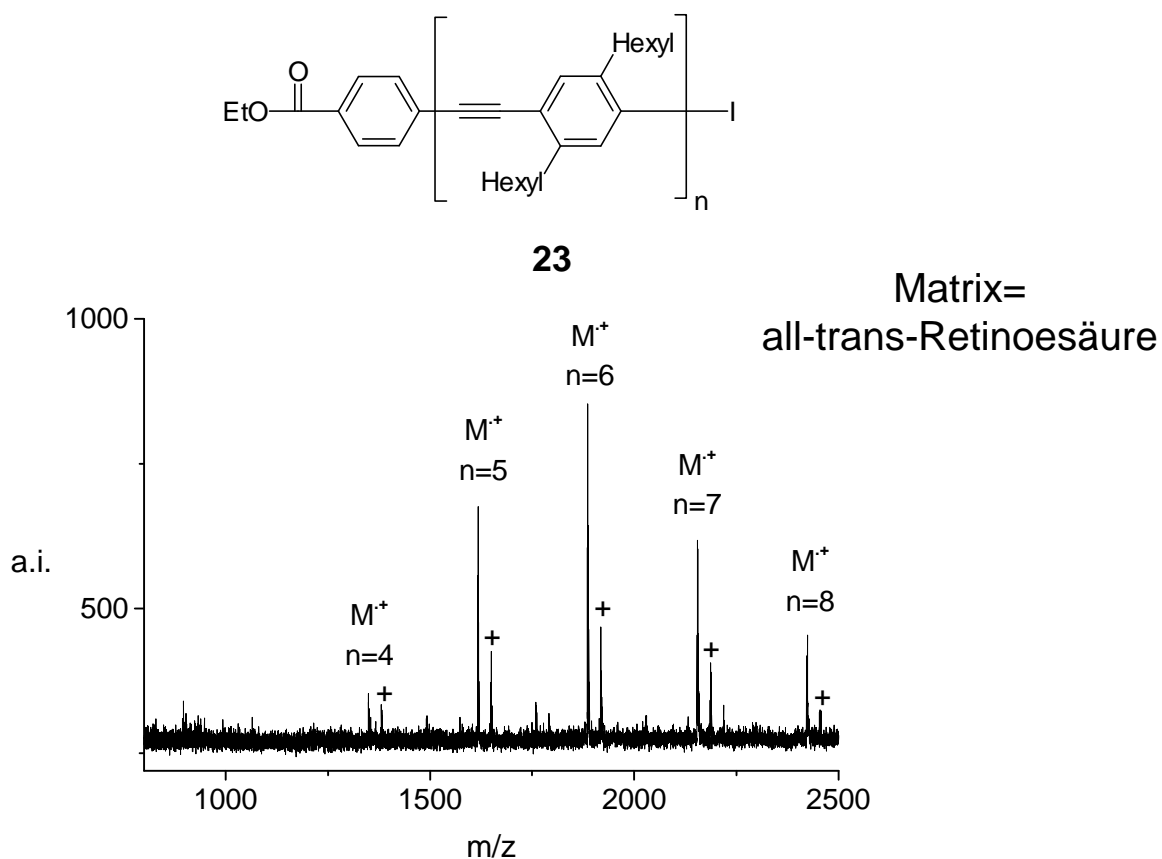


Abbildung 102: MALDI-Massenspektrum von PPE **23** mit all-trans-Retinoesäure als Matrix

In den mit variierten Matrices aufgenommenen Massenspektren von PPE **23** ist der Unterschied in der gemessenen Molekulargewichtsverteilung auffallend. In Abbildung 103 sind noch einmal die Massenspektren gegenübergestellt. Die niedermolekularen Oligomere ($n=3, 4$) werden mit TCNQ sehr intensiv wiedergegeben (s. Abbildung 103a), während sie mit Retinoesäure kaum zu detektieren sind (s. Abbildung 103c). Dafür können mit Retinoesäure „hochmolekulare“ Oligomere ($n=8, 9, 10$) detektiert werden, die im Massenspektrum mit TCNQ fast nicht sichtbar sind. Das Massenspektrum mit Dithranol (s. Abbildung 103b) liefert eine Intensitätsverteilung, die zwischen den mit TCNQ und Retinoesäure erhaltenen Verteilungen liegt, wenn die Signalintensität der Fragmentionen zu den betreffenden Mutterionen aufaddiert wird (s. punktierte Linie in Abbildung 103b). Dieses Quantifizierungsproblem bei der Charakterisierung von synthetischen Polymeren wird im nächsten Absatz anhand anderer Proben näher untersucht.

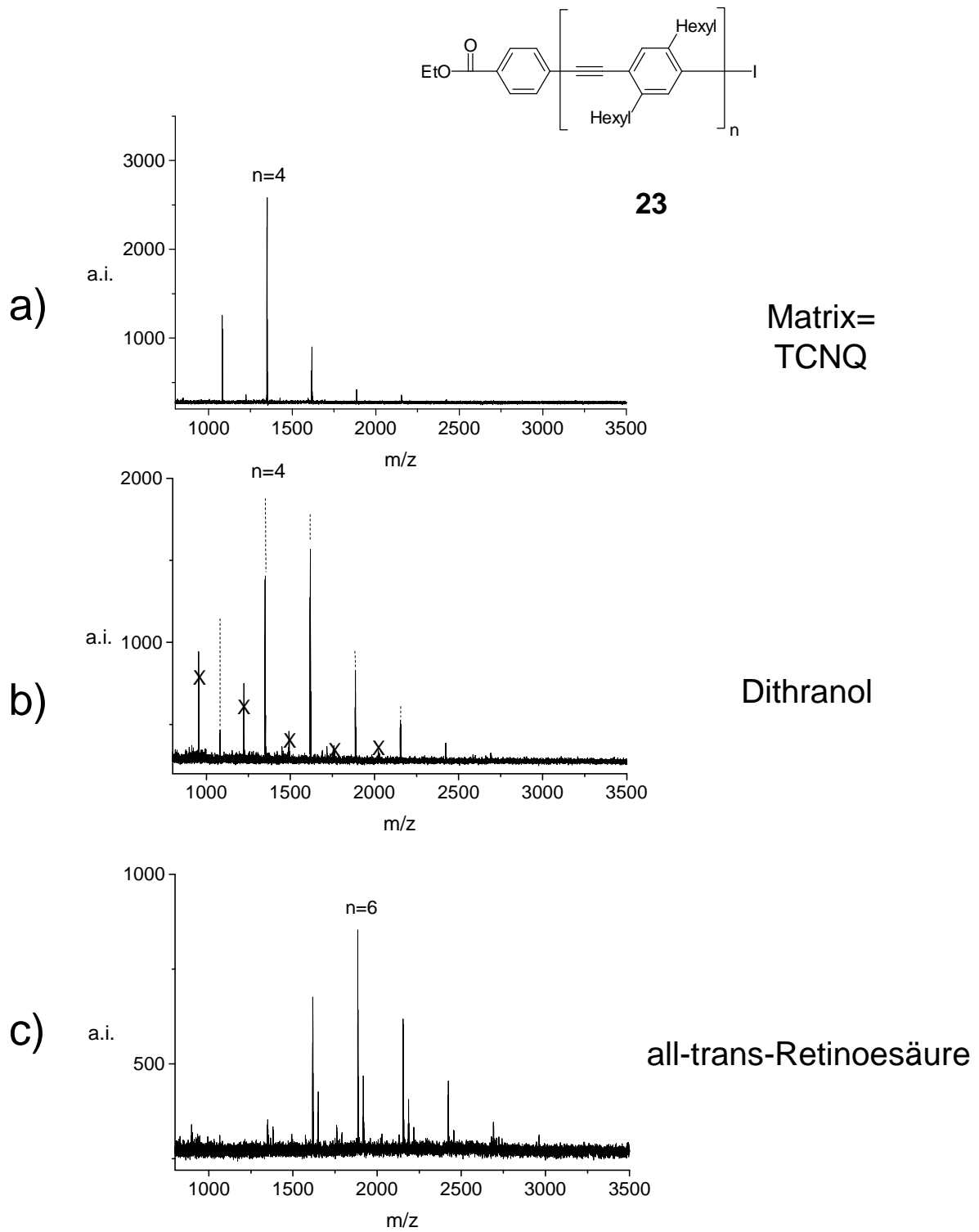
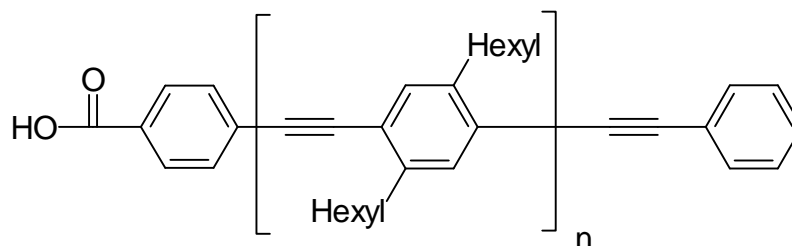


Abbildung 103: Einfluß der Matrix auf die Massenverteilung von PPE 23: a) TCNQ, b) Dithranol, c) all-trans-Retinoesäure

III.5.2 Einfluß der Matrix auf die Polymerverteilung

Bei den ursprünglichen Anwendungen der MALDI-Massenspektrometrie zur Analyse synthetischer Polymere bestand die Hoffnung, neben der Bestimmung der absoluten Massen einzelner Polymerketten auch die Massenverteilung direkt zu ermitteln. Für sehr enge Verteilungen ($M_w/M_n=1,01-1,05$) stimmen die durch MALDI bestimmten Molekulargewichtsmittelwerte mit denen der konventionellen Charakterisierungsmethode gut überein.¹⁸ Bei breiteren Verteilungen ergibt MALDI allerdings zu kleine Molekulargewichtsmittelwerte.²⁰ Bei einer Polydispersität von 1,1 kann die Abweichung der M_w -Werte zwischen MALDI und GPC schon bis zu 20% erreichen. Im Massenspektrum sind die hohen Molekulargewichte der Verteilung eindeutig unterbewertet. Es gibt dafür zahlreiche Gründe. Zum einem sind sie instrumenteller Natur. Die Detektorempfindlichkeit ist z.B. ein kritischer Punkt. Die Detektoren sind bei der Massenspektrometrie Häufigkeitsdetektoren, während die GPC Massendetektoren (basierend auf UV-Absorption, Refraktionsindex oder Lichtstreuung) einsetzt. Dies führt zu unterschiedlichen Detektorempfindlichkeiten. Sehr geringe Mengen hochmolekularer Polymeren werden mit der GPC noch detektiert, während diese Signale hoher Massen bei der Massenspektrometrie leicht im Rauschen verloren gehen. Die Detektorsättigung ist ferner ein einschränkender Parameter für die Quantifizierung der Polymerverteilung mit Massenspektrometrie.¹⁵⁶ Abgesehen von den Detektionsproblemen müssen darüber hinaus die in der Quelle des Massenspektrometers gebildeten Polymerionen ein Spiegelbild der Polymerverteilung sein, die in der Probe vorliegt. Dies bedeutet, daß die Desorptions- sowie die Ionisierungswahrscheinlichkeit für alle Kettenlängen identisch sein sollte. Dies ist aber von mehreren Parametern abhängig. Die Laserleistung spielt dabei eine Rolle. Für eine effiziente Desorption brauchen hochmolekulare Polymere eine höhere Laserleistung als niedermolekulare und ein Kompromiß, bei dem alle Polymeranteile mit gleicher Effektivität desorbiert werden, läßt sich nicht finden.¹⁵⁷ Einen weiteren Parameter stellt die Probenvorbereitung dar. Matrices sowie Kationisierungsagentien wirken sich auf die Form der Polymerverteilung aus.^{124,125} Der Einfluß der Matrix wurde anhand der Messung von PPE **23** im vorherigen Absatz bereits veranschaulicht. In diesem Teil sollen noch weitere Beispiele behandelt werden. Dafür wurden zwei Polymere ausgewählt, wovon das eine als Radikalkation ionisiert wird, das andere jedoch Adduktionen bildet.

III.5.2.1 Radikalkationenbildung als Ionisierungsmechanismus

**20**

Die Struktur des PPE's **20** unterscheidet sich von PPE **23** nur in den Endgruppen. Es ist mit einer Phenylethynyl- und einer 4-Carboxyphenyl-Gruppe terminiert. Über die Synthese wurde ebenfalls im Kapitel III.2.2 berichtet. Abbildung 104 zeigt den Vergleich zwischen den Massenspektren, die mit unterschiedlichen Matrices aufgenommen wurden. Die gemessenen Intensitätsverteilungen folgen der gleichen Tendenz wie im Falle von PPE **23**. Mit TCNQ werden die kürzeren Oligomeren bevorzugt, während Retinoesäure die längeren überbetont. Dieser Unterschied in den relativen Peakintensitäten der Oligomere je nach verwendeter Matrix könnte durch verschiedene Desorptions- oder Ionisationswahrscheinlichkeiten verursacht werden. Um die Rolle der Desorptionswahrscheinlichkeit zu prüfen, wird ein anderes Polymer untersucht, das nicht als Radikalkation, sondern als Adduktion ionisiert wird. Dafür wurde das PEO-*b*-PPE-Block-Copolymer **21** ausgewählt, das aus dem PPE **20** gebildet worden ist (s. Synthese in Kapitel III.2.2).

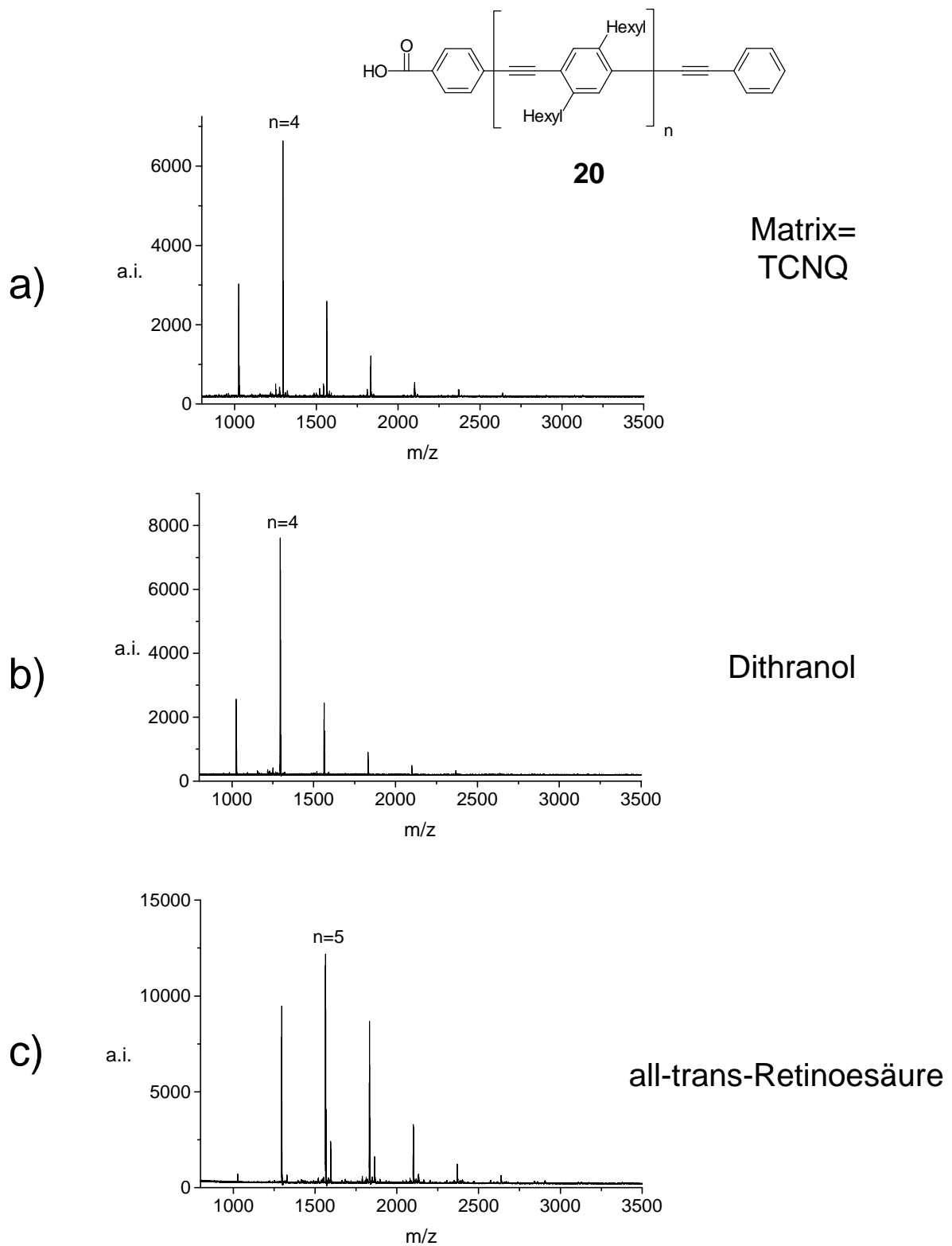


Abbildung 104: Einfluß der Matrix auf die Massenverteilung des PPEs **20**: a) TCNQ, b) Dithranol, c) all-trans-Retinoesäure

Bevor das Quantifizierungsproblem weiterhin untersucht wird, sollen noch zwei Einzelheiten der Abbildung 104 kurz klargestellt werden. Im mit TCNQ gemessenen Massenspektrum (s. Abbildung 104a) stammen die kleinen Signale vor den Hauptpeaks nicht aus einer „in-source“-Fragmentierung, sondern entsprechen „post-source“-Fragmentationen, die bei der Messung mit TCNQ leicht entstehen. Dabei werden Seitenketten abgespalten. Der zweite Punkt betrifft das mit Retinoesäure aufgenommene Massenspektrum (s. Abbildung 104c). Zusätzlich zur erwarteten Verteilung werden Nebensignale detektiert. Eine analoge Verteilung wurde bereits bei der Messung von PPE **23** mit Retinoesäure bemerkt (s. Abbildung 102 oder Abbildung 103c). Sie wurde mit dem Symbol „+“ gekennzeichnet, konnte aber nicht zugeordnet werden. Sollten diese Nebensignale durch Fragmentierung verursacht werden, kann mit Sicherheit die Abspaltung von Endgruppen ausgeschlossen werden, da deren Abstand zu PPE-Signalen bei Änderung der Endgruppen (von PPE **23** zu PPE **20**) gleich bleibt. Diesen Nebensignalen kann keine einfache Fragmentierung der Hauptkette oder der Seitenkette zugeordnet werden. Eine andere Interpretation könnte allerdings diese Nebensignale erklären, die nur bei Anwendung der Retinoesäure im Massenspektrum auftreten. Die absoluten Massen der Addukte von Retinoesäure mit den PPE-Oligomeren passen genau auf die detektierten Masse-zu-Ladungsverhältnisse dieser Nebensignale. Adduktionen des Analyten mit der Matrix werden bei MALDI selten beobachtet, jedoch läßt die durch eine Polyenkette charakterisierte Struktur von Retinoesäure (s. Abbildung 105) die Bildung eines Addukts mit PPE plausibel erscheinen.

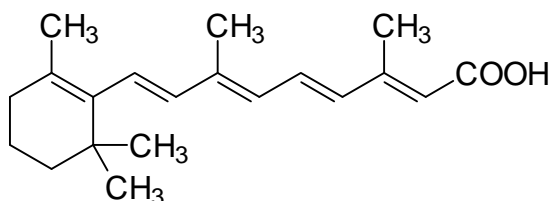
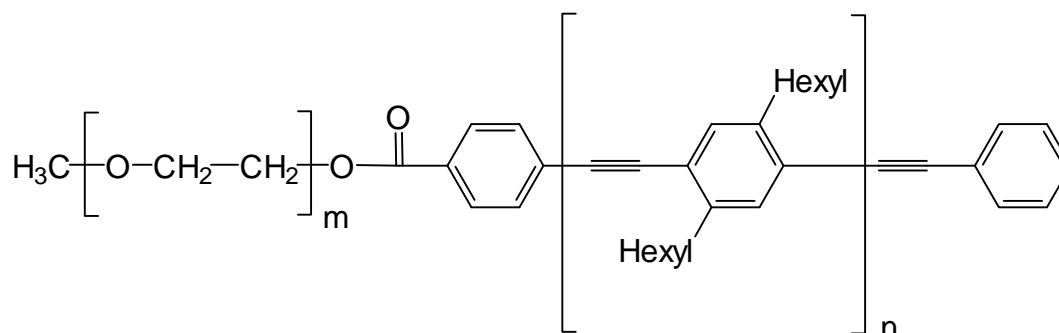


Abbildung 105: Struktur von *all-trans*-Retinoesäure

III.5.2.2 Adduktionenbildung als Ionisierungsmechanismus

**21**

Das PEO-*b*-PPE-Diblock-Copolymer **21** kann mit Alkalimetallkationen (Li^+ , Na^+ , K^+) ionisiert werden. Abbildung 106 zeigt den Vergleich zwischen den mit unterschiedlichen Matrices aufgenommenen Massenspektren. Als Kationisierungsreagenz wurde Kaliumtrifluoracetat zugesetzt. Hinsichtlich der Darstellung der Polymerverteilung wird wieder die gleiche Tendenz, wie zuvor beschrieben, beobachtet. Mit TCNQ werden niedermolekulare Oligomere überbetont. Die Verteilung mit einer PPE-Blocklänge von $n=3$ ist deutlich zu sehen, während sie mit Dithranol oder Retinoesäure kaum detektiert wird. Die hochmolekularen Oligomere werden dagegen mit Retinoesäure und noch stärker mit Dithranol bevorzugt. Die Verteilungen mit einer PPE-Blocklänge von $n=5$ bzw. 6 treten im Massenspektrum mit Dithranol und Retinoesäure deutlich hervor, während sie mit TCNQ kaum erkennbar sind. Dieser Darstellungsunterschied der Polymerverteilung je nach verwendeter Matrix tritt also bei verschiedenartigen Ionisierungsmoden auf und scheint daher eher mit der Desorptionswahrscheinlichkeit als mit der Ionisierungswahrscheinlichkeit in Beziehung zu stehen.

Die hier beobachtete Charakteristik von Retinoesäure, nach der lange Polymerketten bevorzugt desorbiert werden, ist auch durch die MALDI-„Rekordmessung“ eines Polystyrols mit einem Molekulargewicht von 1,5 Millionen Daltons bestätigt.¹⁷ Dieses bis jetzt höchstmolekulare mit MALDI detektierte Polymer konnte in der Tat nur mit Retinoesäure gemessen werden. Warum eine Matrix Polymerketten mit einer bestimmten Länge bevorzugt desorbiert, ist noch ein Rätsel. Die Wahl der Matrix ist ein weiterer Parameter, der die Darstellung der Polymerverteilung im Massenspektrum beeinflusst und folglich einer direkten Quantifizierung mit Massenspektrometrie im Wege steht.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde eine weitere, erwähnenswerte Beobachtung gemacht. Beim Vergleich zwischen verschiedenen Matrices wurden auch Massenspektren vom PEO-*b*-PPE-Diblock-Copolymer **21** ohne Kationzusatz gemessen. Üblicherweise wird das Polymer in solchen Fällen mit Kationenspuren, die als Spurenverunreinigungen in der Probe vorliegen, ionisiert. Dies wird auch für das PEO-*b*-PPE-Diblock-Copolymer **21** beobachtet, zusätzlich werden aber im Falle von TCNQ als Matrix auch Radikalkationen des Analyten detektiert (s. Abbildung 107a). Diese Ionisierungsart konnte mit anderen Matrices als TCNQ, wie es z.B. das Massenspektrum mit Retinoesäure zeigt (s. Abbildung 107b), nicht beobachtet werden. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, daß TCNQ den Ionisierungsprozeß bei der Bildung von Radikalkationen unterstützt.

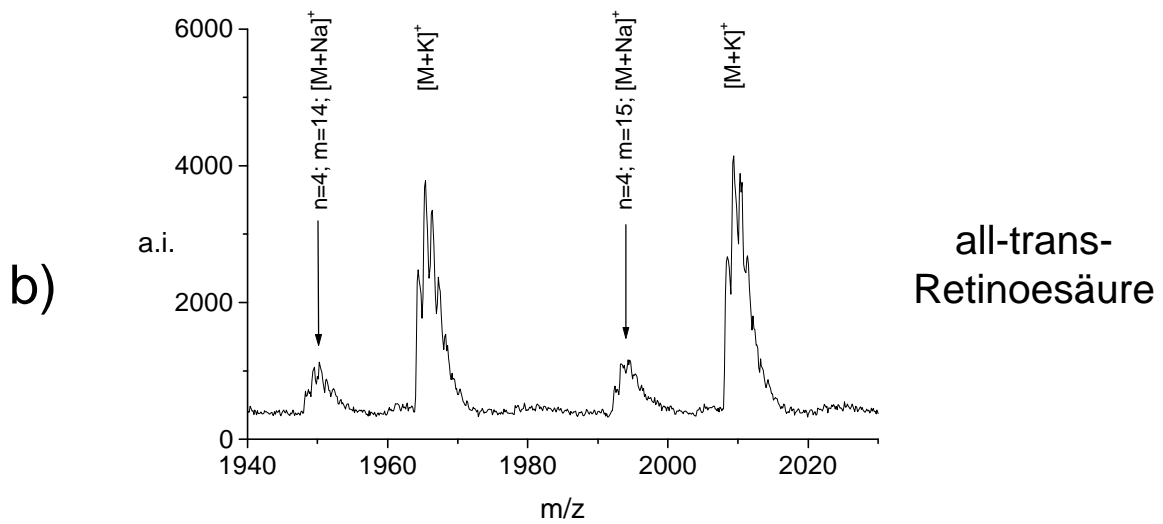
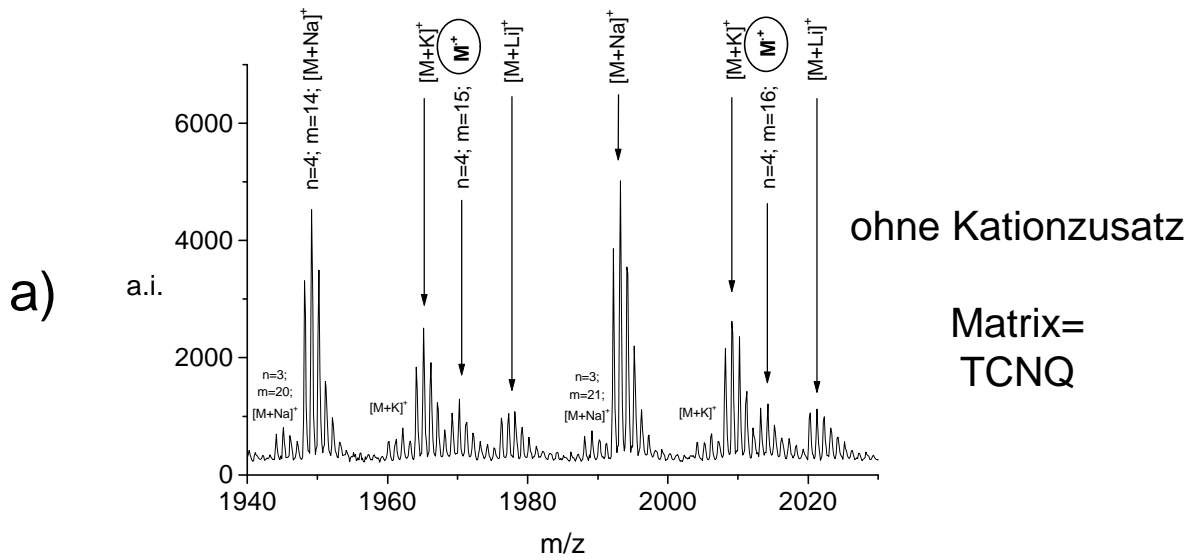
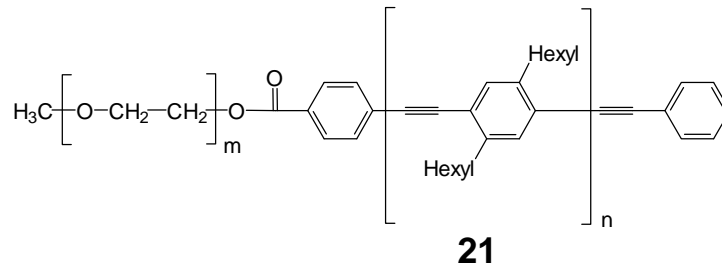
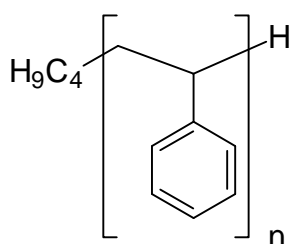


Abbildung 107: Einfluß der Matrix auf die Ionisierungsart des PEO-b-PPE-Copolymers **21** ohne Kationzusatz: a) TCNQ, b) all-trans-Retinoesäure

III.5.3 Einfluß des Kations auf die Polymerverteilung

Die Abhängigkeit der Ionisierungswahrscheinlichkeit von der Länge der Polymerkette ist auch ein wichtiger Parameter bei der Ermittlung der Molekulargewichtsverteilung mit Massenspektrometrie. Dies wurde bereits bei der Untersuchung von PMMA^{124,125} oder PEG,¹⁵⁸ die mit verschiedenen Alkalimetallkationen ionisiert wurden, festgestellt. Dabei konnte mit zunehmender Masse des Kations eine Verschiebung der Molekulargewichtsverteilung zu höheren Massen hin beobachtet werden. Während die Auswirkung dieser Kationenabhängigkeit auf die Molekulargewichtsmittelwerte bei engen Polymerverteilungen sich noch in Grenzen hält, kann die Diskrepanz bei breiteren Verteilungen dramatisch sein.¹²⁵ Dies wird hier an einem weiteren Beispiel veranschaulicht. Als untersuchtes Polymersystem wurde Polystyrol ausgewählt. Dieses kann Adduktionen mit verschiedenen Alkalimetallkationen bilden, so daß der Einfluß des Kationisierungsmetallions auf die Molekulargewichtsverteilung überprüft werden kann. Allerdings werden diese Adduktionen im Gegensatz zum silberkationisierten Polystyrol nur in geringer Ausbeute gebildet. Sobald Spuren von Silber in der Probenvorbereitung vorliegen, wird das Polystyrol überwiegend mit dem Silberkation ionisiert. Bei diesen Messungen mußten also Silberspuren absolut ausgeschlossen werden. Um die Abhängigkeit der Kationisierungswahrscheinlichkeit als Funktion der Kettenlänge deutlich zu illustrieren, wurden die Polystyrolstandards **67** und **68** mit einer äquimolaren Mischung zweier Alkalimetallkationen präpariert. Als Matrix wurde Dithranol verwendet.



67 $M_n = 2230 \text{ g/mol}$, $M_w = 2340$, $D = 1,05$

68 $M_n = 6600 \text{ g/mol}$, $M_w = 6758$, $D = 1,02$

Abbildung 108 zeigt das MALDI-Massenspektrum des Polystyrols **67**, das mit einer äquimolaren Mischung aus Natrium- und Kaliumtrifluoracetat kationisiert wurde.

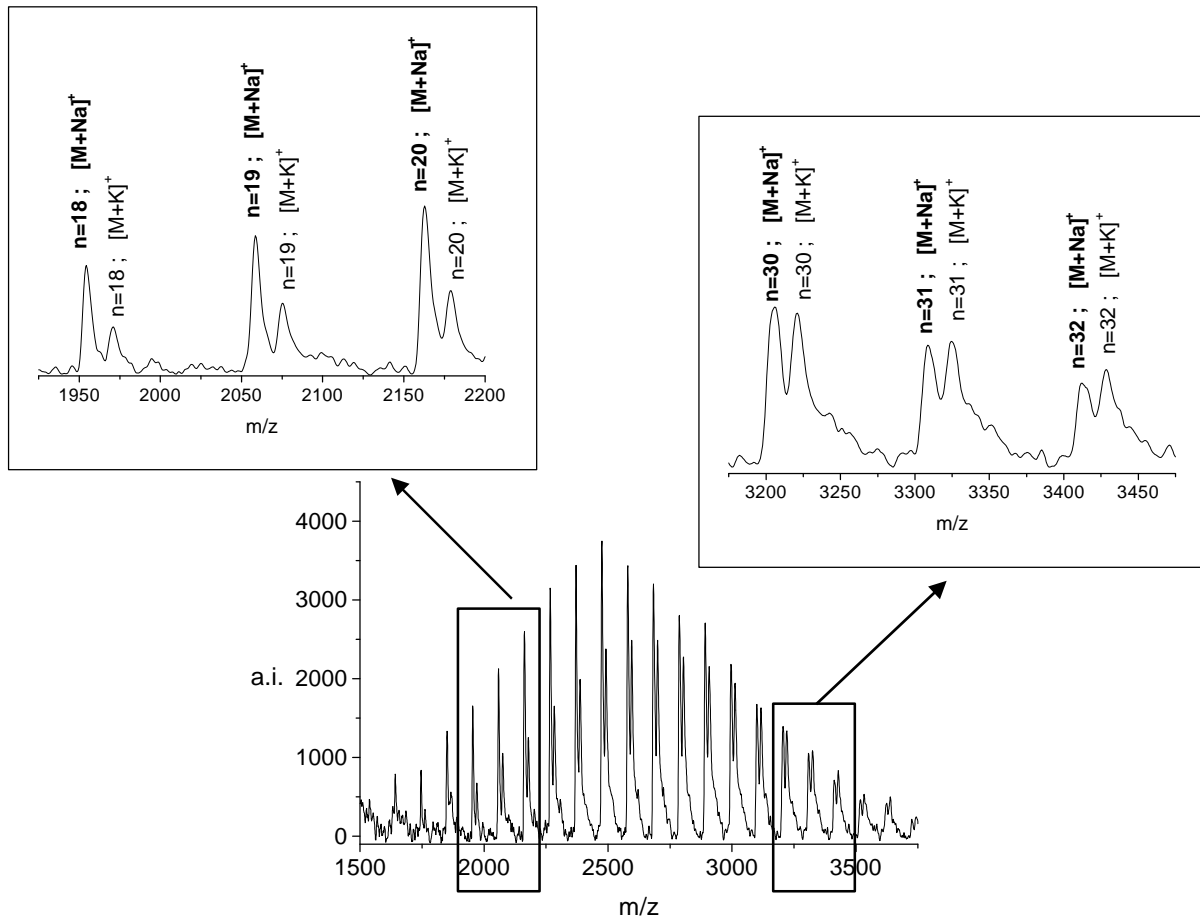


Abbildung 108: MALDI-Massenspektrum von PS 67 nach Salzgemisch-Zusatz Natrium-/Kaliumtrifluoracetat (1:1 mol.). Einfluß der zugesetzten Kationisierungskationen auf die Massenverteilung von Polystyrol

Das Signalintensitätsverhältnis zwischen zwei Adduktionen mit demselben Polymerisationsgrad verändert sich mit steigender Masse. Während bei den niedrigen Polymerisationsgraden die Signalintensität des Natriumaddukts deutlich die des Kaliumaddukts überwiegt (s. Spektrumsausschnitt für $n=18-20$), steigt mit zunehmender Kettenlänge die relative Signalintensität des Kaliumaddukts. Bei höheren Polymerisationsgraden kommt schließlich das Signal des Kaliumaddukts mit gleicher Intensität wie der des Natriumaddukts (s. Spektrumsausschnitt für $n=30-32$). Die Auswirkung auf die Molekulargewichtsverteilung ist in Abbildung 109 veranschaulicht.

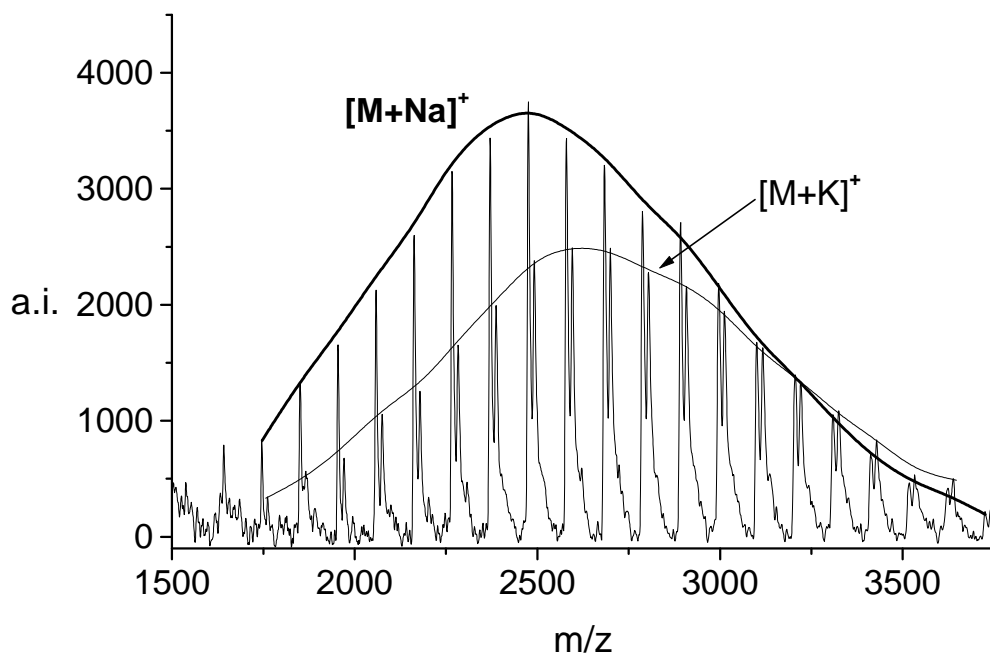


Abbildung 109. Einfluß des Kationisierungssions auf die Massenverteilung von PS **67**: Verschiebung des Schwerpunktes

Der Schwerpunkt der Massenverteilung bei der Kaliumkationisierung ist im Vergleich zur Natriumkationisierung zu höheren Massen verschoben. Um den Einfluß dieser variablen Kationisierungswahrscheinlichkeit auf eine breitere Massenverteilung deutlich zu demonstrieren, werden nun die Polystyrole **67** und **68** in äquimolaren Mengen gemischt. Diese Mischung simuliert dann eine breite Polystyrolverteilung. Abbildung 110 zeigt das MALDI-Massenspektrum des Polystyrolgemisches, das mit einer äquimolaren Mischung aus Lithium- und Natriumtrifluoracetat ionisiert wurde.

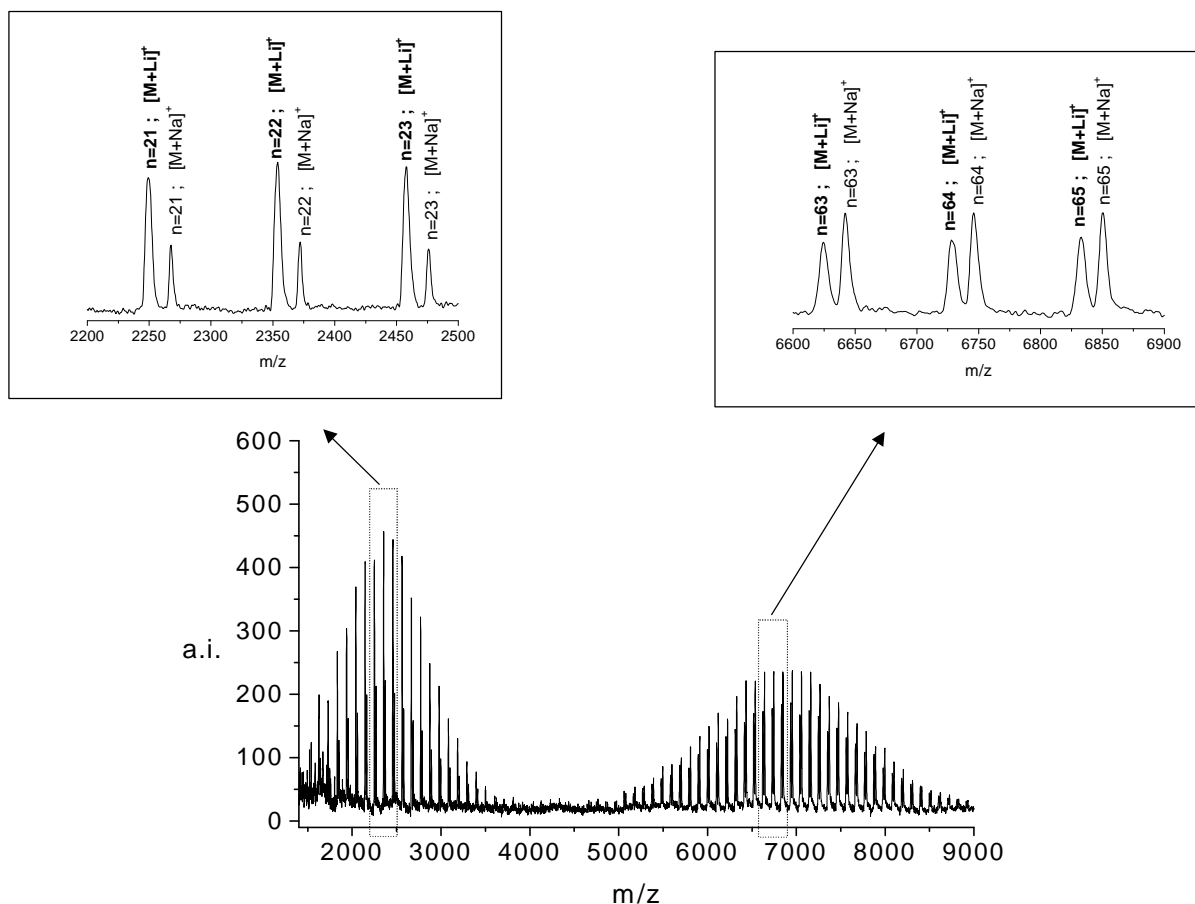


Abbildung 110: : MALDI-Massenspektrum einer Polystyrolmischung **67/68** (1:1 mol.) nach Salzgemisch-Zusatz Lithium-/Natriumtrifluoracetat (1:1 mol.). Simulation des Einflusses der zugesetzten Kationisierungionen auf die Massenverteilung

Die gleiche Tendenz wie bei der Untersuchung von Polystyrol **67** wird beobachtet. Die Signalintensität des Addukts mit dem kleineren Kation (hier Lithium) ist bei niedrigerem Polymerisationsgrad (s. Spektrumsausschnitt $n=21-23$) größer als die des größeren Kations (hier Natrium). Mit zunehmendem Polymerisationsgrad verändert sich aber das Signalintensitätsverhältnis. Die relative Signalintensität des Addukts mit dem größeren Kation (Natrium) steigt und übertrifft die des Addukts mit dem kleineren Kation (Lithium). Bei höheren Polymerisationsgraden ist nun das Signal des Natriumaddukts intensiver (s. Spektrumsausschnitt $n=63-65$). Im Falle dieser künstlichen breiten Massenverteilung ist die Auswirkung auf die zu ermittelnde Molekulargewichtsverteilung beträchtlich. Der erhebliche Unterschied in der Massenverteilungen der Lithium- und Natriumaddukten ist in Abbildung 111 veranschaulicht.

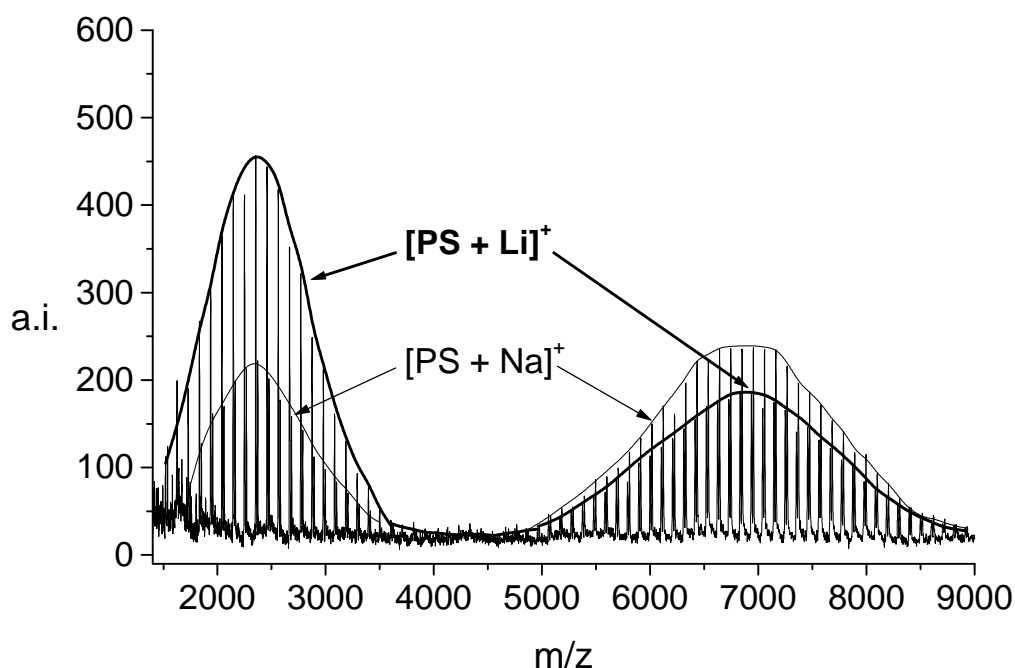


Abbildung 111: Einfluß des Kationisierungssions (zugesetzt als Salzgemisch Lithium-/Natriumtrifluoracetat (1:1 mol.)) auf die Massenverteilung der Polystyrolmischung 67/ 68 (1:1 mol.)

Warum ändert sich aber die Kationisierungswahrscheinlichkeit mit der Kettenlänge? Warum werden mit zunehmender Masse des Kations längere Polymerketten effizienter ionisiert? Dies liegt vermutlich an der relativen Stabilität der Adduktionen. Im Falle von PMMA und PEG kann die Konformation des kationisierten Oligomers in der Gasphase eine Erklärung liefern. „Molecular modelling“- und Ionenchromatographische-Experimente mit PMMA¹⁵⁹ bzw. PEG⁵⁷-Oligomeren weisen darauf hin, daß sich das Oligomer um das Alkalimetallkation derart knäuel, daß möglichst viele Sauerstoffatome mit dem Kation wechselwirken können. Das Oligomerenknäuel verhält sich als „mehrzahninger“ Ligand, und die Komplexierung des Alkalimetallkations kann analog zu der mit Kronenethern betrachtet werden.¹⁶⁰ Die relative Stabilität des Adduktions hängt von der Größe der Kavität bzw. des Oligomerknäuels ab, in dem das Kation eingebettet ist. Die Kavität muß ausreichend groß sein, um das Kation einbetten zu können, jedoch nicht zu geräumig, damit das Kation mit möglichst vielen Sauerstoffatomen in Wechselwirkung treten kann. Mit zunehmender Masse bzw. Radius des Alkalimetallkations werden also bevorzugt längere Oligomerketten komplexiert. Im Falle von Polystyrol ist weniger über die Konformation des Adduktions bekannt. Ein reiner

Kohlenwasserstoff wie PS **67** oder **68** verfügt nicht über Heteroatome, die das Alkalimetallkation komplexieren können. Als Ligand dient beim Polystyrol der aromatische Ring. Für die Silberadduktion wird eine Sandwichstruktur vermutet, wobei das Silberkation zwischen zwei parallelen Phenylringen liegt. Über die Konformation der hier betrachteten Polystyrol/Alkalimetall-Adduktionen in der Gasphase ist keine allgemeine Vorstellung bekannt. Es gibt keinen Hinweis darauf, ob das Kation mit einem, zwei oder mehreren Phenylringen wechselwirkt. Die beobachtete Tendenz, wonach längere Polymerketten mit größeren Kationen effektiver ionisiert werden, könnte aber auch durch einen anderen Aspekt erklärt werden. Die Überschussenergie des Anlagerungsprozesses von großen Kationen in der Gasphase kann bei Polymeren mit größeren Kettenlängen besser verteilt werden, da bei länger-kettigen Polymeren mehr Freiheitsgrade als bei kurz-kettigen vorhanden sind. Der Anlagerungsprozeß eines größeren Kations sollte eine höhere Überschussenergie in das Polymermolekül einbringen als ein kleineres Kation. Daher sollte für dieses größere Kation eine bessere Stabilisierung in der Gasphase eher mit längeren Polymerketten erzielt werden.

IV. Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde die MALDI-TOF-Massenspektrometrie zur Charakterisierung von Makromolekülen eingesetzt, bei denen die konventionellen polymeranalytischen Methoden nur unzureichende Informationen oder gar falsche Ergebnisse liefern. Dazu wurde eine methodische Entwicklung der MALDI-Massenspektrometrie durchgeführt. Anhand der erzielten Ergebnisse wurden darüber hinaus neue Erklärungsansätze formuliert, die zu einem besseren Verständnis des noch ungeklärten MALDI-Prozesses beitragen können. Die ersten zwei Kapitel der Arbeit wurden der Charakterisierung herkömmlicher synthetischer Polymere gewidmet. So konnte auch in Abwesenheit anderer Charakterisierungsmethoden durch die Entwicklung der MALDI-TOF-Massenspektrometrie die Struktur der untersuchten Polymere eindeutig bestimmt werden. Das entwickelte Verfahren wurde zunächst zur Charakterisierung endgruppenmodifizierter Polyethylenglykole angewendet.

Polyethylenglykole, die mit starren Substituenten wie Cholesteryl oder Fluorescein endgruppenmodifiziert sind, können mit konventionellen analytischen Methoden nur unzureichend charakterisiert werden. Die komplizierten NMR-Spektren liefern lediglich einen Molekulargewichtsmittelwert, und die GPC ermittelt aufgrund des Kalibrierungsproblems falsche Molekulargewichtsmittelwerte. Mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie konnten dagegen sowohl die absoluten Massen der Polymerketten als auch die Verschiebung der Polymerverteilung nach der Endgruppenmodifikation nachgewiesen werden. Die sehr gute Übereinstimmung der gemessenen absoluten bzw. gemittelten Molekulargewichte mit den erwarteten Werten widerlegt unter anderem eindeutig die von *Li et al.* postulierte Verkürzung der Polyethylenglykolketten während der Endgruppenmodifikation. Diese Untersuchung konnte die ausschlaggebende Rolle von unterschiedlichen Einstellungen instrumenteller Parameter bei der Messung einer Polymerverteilung verdeutlichen. Außerdem wurden am Beispiel der endgruppenmodifizierten Polyethylenglykole bisher nicht erklärbares Signale als PSD-Phänomen erkannt. Die hierfür ausgearbeitete Methode kann zur Charakterisierung anderer endgruppenmodifizierter Polymere angewendet werden. Endgruppenmodifizierte Oligomere können auf direktem Wege anhand der gemessenen absoluten Massen charakterisiert werden. Diese Daten können bei hochmolekularen Polymeren nicht erfaßt werden, die Endgruppenmodifikation kann in diesen Fällen jedoch auch durch die

charakteristische Erhöhung der Molekulargewichtsmittelwerte nachgewiesen werden. Dafür sollte das Polymer eine geringe Polydispersität ($PD < 1,06$) besitzen und mit einem ausreichend „schweren“ Substituenten endgruppenmodifiziert sein, damit die Molekulargewichtsverteilung des Polymers signifikant d.h. außerhalb statistischer Meßfehler verschoben wird.

Für die weitere Untersuchung komplizierter Polymerstrukturen, die mit konventionellen Charakterisierungsmethoden nicht bestimmt werden können, wurde eine signifikante Steigerung der Leistungsfähigkeit der MALDI-Methode durch Anwendung der Fragmentionenanalyse erzielt. Die in der Biochemie bereits etablierte Fragmentionenanalyse, die auf dem PSD-Phänomen beruht, war bisher aufgrund einer Reihe von experimentellen Problemen kaum für die Polymeranalytik eingesetzt worden. Unabhängig von einer anderen Trennungsmethode (wie z.B. GPC) können aus einer polydispersen Probe Polymerketten mit einer definierten Masse im Massenspektrometer isoliert und deren Fragmentionenmassenspektren aufgenommen werden. Es wurde anhand einer Homopolymer- und einer Copolymerprobe eindeutig bewiesen, daß diese Technik einen großen Beitrag zur Polymeranalytik leisten kann. Das komplizierte MALDI-Massenspektrum einer Polycarbonat-A-Probe, die sieben verschieden terminierte Strukturen enthält, konnte erst mit der PSD-Fragmentionenanalyse vollständig aufgeklärt werden. Eine derart komplizierte Zusammensetzung kann mit keiner der konventionellen polymeranalytischen Methoden so einfach entschlüsselt werden. Eine genaue Untersuchung des Polycarbonat-Fragmentierungsverhaltens zeigte den unerwarteten entscheidenden Einfluß von Substituenten, die in bestimmten Fällen die Endgruppenbestimmung verhindern können. Das Kationisierungsagens und die Intensität des Mutterions zeigten sich überdies als ausschlaggebende Parameter für die Aufnahme von PSD-Massenspektren.

Die Zusammensetzung eines Copolymers, die im Vergleich zu einem Homopolymer nicht nur vom Polymerisationsgrad sondern auch von der Comonomerenverteilung abhängt, führt zu meist komplizierten MALDI-Massenspektren mit sich gegenseitig überlappenden Polymerverteilungen. Im konventionellen MALDI-Massenspektrum des PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers wurde die Interpretation durch zufällig überlappende Signale zusätzlich erschwert. Mit Hilfe eines PSD-Massenspektrums konnte aber die Länge des PEO- bzw. PPE-Blöcke und somit die Copolymerzusammensetzung eindeutig nachgewiesen werden. Das neue Werkzeug der MALDI-Massenspektrometrie konnte wieder eine sehr detaillierte

Charakterisierung leisten: Aus einer polydispersen Probe konnte die genaue Zusammensetzung einzelner Copolymerketten bestimmt werden. Noch kompliziertere Polymerstrukturen wie z.B. der von sternartigen Polymeren sollten mit der erweiterten MALDI-Methode ebenfalls nachweisbar sein. Eine erfolgreiche Bestimmung der Polymerstruktur ist jedoch durch die Natur des Polymers bedingt. Brauchbare Strukturinformationen können nur gewonnen werden, wenn die Sollbruchstellen auf „strategische“ Bindungen konzentriert sind. Diese Voraussetzung wurde für das Polycarbonat-A und das PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymer erfüllt, dagegen wiesen die PEO- und PPE-Homopolymere kompliziertere Fragmentierungsverhalten auf, wodurch die Endgruppen nicht eindeutig aus Fragmenten identifiziert werden konnten. Mit der angewendeten Technik, bei der die Aktivierungsenergie lediglich durch eine Änderung der Laserleistung geregelt wird, läßt sich der Fragmentierungsmechanismus kaum beeinflussen. Eine Fragmentierung, die durch Zusammenstöße mit einem nach der Beschleunigungszone eingelassenen Gas gesteuert wird, worauf das „Collision-Induced Dissociation“(CID)-Prinzip beruht, könnte sich in einigen Fällen vom PSD-Fragmentierungsmechanismus unterscheiden. Somit könnten eventuell zusätzliche Strukturinformationen gewonnen werden. Eine weitere Verbesserung der Fragmentenanalyse im Bereich der Polymeranalytik könnte in einem Wechsel des Analysatorotyps bestehen. Anstatt eines Time-of-Flight-Analysators könnte ein Sektorfeldgerät eingesetzt werden. Zum einen wird dadurch eine bessere Auflösung erzielt, die eine feinere Selektion (bis zu einzelnen Isotopen) der zu untersuchenden Polymerketten im Massenspektrometer ermöglicht. Zum anderen kann mit einem Sektorfeldgerät die Stoß-induzierte Aktivierungsenergie besser gesteuert werden.

Neben der Entwicklung der MALDI-TOF-Massenspektrometrie zur Strukturbestimmung synthetischer Polymere wurde die Einsatzmöglichkeit der Methode zum Nachweis von neuen Substanzklassen geprüft, die mit konventionellen Methoden der Polymeranalytik nahezu uncharakterisierbar waren. Die Familie der geladenen metallo-supramolekularen Strukturen wurden zuerst untersucht. Aufgrund der schwachen Bindungskräfte sowie ihres Salzcharakters können diese Verbindungen mit konventionellen Analysemethoden der Polymeranalytik nicht nachgewiesen werden. Nur die zeitaufwendige analytische Ultrazentrifugation lieferte bisher sinnvolle Ergebnisse. Mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie wurden die [2x2]-gitterartigen metallo-supramolekularen Strukturen von Dr. U. Schubert (*TU München*) sowie ein makrozyklisches Quadrat von Prof. P. Stang (*University of Utah, Salt Lake City*) erfolgreich charakterisiert. Ein bemerkenswertes Ergebnis stellte der eigenartige

Ionisierungsmechanismus dieser Verbindungen dar, der auf den Verlust von Gegenionen basiert. Erstaunlicherweise wächst die Ladungszahl der Moleküle nicht mit der Anzahl der „verlorenen“ Gegenionen, sondern nur einfach geladene Ionen konnten detektiert werden. Diese Beobachtung ließ auf eine Reduktion dieser Makroionen während des MALDI-Prozesses schließen. Durch das Verständnis der Desorptions- und Ionisationszusammenhänge konnten die Messungen dahingehend optimiert werden, daß die Zahl der dissoziierten Gegenionen sowie die Intensität der Fragmentationen verringert werden konnte. Dafür wurde eine möglichst niedrige Laserleistung eingestellt und die Matrix nach ihrer Desorptionsschwelle selektiert. Nach Klassifizierung der Matrices hinsichtlich ihrer Desorptions- und Ionisationsschwelle stellte sich all-trans-Retinoesäure als die Matrix mit der niedrigsten Desorptions- und Ionisationsschwelle heraus und erzeugte mildere Bedingungen bei der Analyse als Dithranol. Jedoch konnte das makrocyclische hexanucleare Platin-Sechseck von Prof. P. Stang (*Universtiy of Utah, Salt Lake City*) und andere Makrocyclen mit noch höheren Molekulargewichten trotz der optimierten Meßbedingungen nicht intakt detektiert werden. Da diese Proben aber bisher uncharakterisiert sind, konnte nicht bestimmt werden, ob diese Verbindungen bei der MALDI-Analyse zerfallen oder ob sie in der Probe im festen Zustand gar nicht enthalten sind, sondern sich möglicherweise nur in gelösten Zustand ausbilden. Somit ist die Grenze der MALDI-TOF-Massenspektrometrie zur Charakterisierung solcher Verbindungen schwer einzuschätzen.

Mit der Entwicklung der MALDI-TOF-Massenspektrometrie konnte der Nachweis polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAH), die eine weitere schwierig zu charakterisierende Substanzklasse darstellen, erzielt werden. Aufgrund ihrer unzureichenden Löslichkeit konnten solche Verbindungen bis zu einer gewissen Molmasse bisher nur durch Laserdesorptionsmassenspektrometrie (LD-TOF-MS) nachgewiesen werden. Mangels sonstiger Charakterisierungsmethoden war die Produktaufklärung neuer größerer PAHs wie z.B. $C_{222}H_{42}$ stark behindert. Eine Untersuchung mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie, die eine deutliche Vergrößerung des zugänglichen Massenbereichs ermöglichen sollte, war bisher jedoch nicht möglich, da die traditionelle Probenvorbereitung lösliche Verbindungen erfordert. Eine neue Probenvorbereitung, die auf die Beteiligung eines Lösungsmittels vollkommen verzichtet und somit auf unlösliche Proben anwendbar ist, wurde daher im Rahmen dieser Arbeit entwickelt. Die unlöslichen PAHs wurden dabei in der Matrix im festen Zustand homogen verteilt. Der Erfolg dieser neuen Präparationsmethode widerlegt die Notwendigkeit einer mikrokristallinen Struktur der Probe, die zuvor allgemein angenommen

wurde. Darüber hinaus wurde TCNQ als neue Matrix eingeführt und hat sich als besonders geeignet für die Charakterisierung von PAHs sowie anderer photoabsorbierender Analyten erwiesen. Unserer Vermutung nach wird mit TCNQ außer der Desorption auch die Ionisation unterstützt, die hier durch Bildung von Radikalkationen erfolgt. Erst mittels dieser erstmalig angewendeten Probenvorbereitung konnte der PAH $C_{222}H_{42}$ eindeutig charakterisiert werden. Die Fragmentierung des Analyten während des MALDI-Prozesses wurde vollständig unterdrückt, und alle Signale im Bereich des Analytsignals konnten mit Sicherheit Reaktionsprodukten zugeordnet werden. Anhand des gemessenen MALDI-Massenspektrums und in Verbindung mit Informationen über die Synthese konnte wertvolle Reaktionsanalytik betrieben werden. Die Existenz des Zielproduktes $C_{222}H_{42}$, das aus der Bildung von 54 C-C-Bindungen resultiert, wurde eindeutig nachgewiesen. Nebenprodukte wurden ebenfalls detektiert. Jedoch ließ eine semi-quantitative Analyse auf einen wesentlich höheren Reinheitsgrad der Probe als im Massenspektrum angedeutet schließen. Darüber hinaus wurden noch weitere bedeutende Ergebnisse im Zusammenhang mit der MALDI-Charakterisierung von PAHs erhalten. Zum einen wurde die Bildung physikalischer PAH-Oligomere bei der MALDI-Messung, die höchstwahrscheinlich in der Gasphase erfolgt, beobachtet. Zum anderen konnten PAH-Silberadduktionen durch Zusatz von Silbersalz bei der MALDI-Messung gebildet werden, die nicht bei einzelnen PAH-Molekülen, sondern erst bei den PAH-Oligomeren detektiert wurden. Dies untermauert unsere bisherige Vorstellung über die Struktur der Silberaddukte mit aromatischen Analyten, für die eine Sandwichstruktur angenommen wird. Der erfolgreiche Einsatz der MALDI-TOF-Massenspektrometrie zur Charakterisierung der unlöslichen PAHs stellt sicherlich einen Durchbruch in der Analyse dieser Substanzklasse dar, er leistet aber ebenfalls einen bedeutenden Beitrag zur Entwicklung der MALDI-Methode. Gegenwärtig steht die MALDI-TOF-Massenspektrometrie als einzige Methode zur Charakterisierung von sehr großen PAHs wie $C_{222}H_{42}$ zur Verfügung, und besitzt das Potential auch noch weit größere PAHs fragmentierungsfrei analysieren zu können. Anhand des MALDI-Massenspektrums können die Summenformeln der Reaktionsprodukte bestimmt werden, jedoch können daraus nicht immer die Strukturen ermittelt werden. Eine Strukturinformation könnte eventuell aus dem Fragmentierungsverhalten bzw. aus dem PSD-Massenspektrum gewonnen werden. Ein weiteres Problem bei der PAH-Analyse stellt die Quantifizierung der MALDI-Massenspektren dar. Nur mit künstlichen Mischungen aus definierten Analyten können Response-Faktoren ermittelt und somit die Verhältnisse der Gemischbestandteile in einer unbekanntenen Probe berechnet werden. Aus systematischen

Mischungen definierter PAHs können möglicherweise allgemeine Prinzipien erkannt werden, die für die Quantifizierung von PAHs (semiquantitative Abschätzung) hilfreich sind. Ein besseres Verständnis der Desorptions- und Ionisationsprozesse könnte dazu beitragen, auch MALDI-Massenspektren unbekannter Proben, die aus einem Produktgemisch bestehen, einzuschätzen. Bei den sehr großen PAHs wie $C_{222}H_{42}$ bleibt aber die chemische Abtrennung des Zielprodukts von den Nebenprodukten aufgrund der Unlöslichkeit problematisch, und somit können die Eigenschaften des Materials nicht einer definierten Verbindung zugeordnet werden. Große, sehr reine PAHs könnten durch Optimierung der Synthese gebildet werden, sie könnten aber im Prinzip auch im Massenspektrometer isoliert und akkumuliert werden. Die mit MALDI intakt desorbierten PAHs können mit dem elektronischen Gate selektiert d.h. von Nebenprodukten abgetrennt werden. Sollte dann eine Ablagerung dieser Graphitausschnitte auf einer Platte an der Stelle des Detektors gelingen, ohne daß das Molekül dabei zerfällt, würde damit eine Technik entstehen, um reine große PAHs zu sammeln. Anschließend könnte z.B. eine Visualisierung mit STM („Scanning Tunneling Microscopy“) unternommen werden. Dieses Projekt erfordert aber zunächst eine Modifikation des Analysators. Das elektronische Gate muß das Zielmolekül sehr genau selektieren können, deshalb ist der Wechsel zu einem Sektorfeldgerät empfehlenswert, das eine wesentlich bessere Auflösung als ein Time-of-Flight-Analysator besitzt und bis zu isotopenreinen Substanzen selektieren kann. Eine schwierigere Aufgabe besteht dann darin, das selektierte Molekül soweit abzubremsen, um es intakt abscheiden zu können. Die neue Probenvorbereitung, die hier für PAHs entwickelt wurde, bietet auch neue Perspektiven für die Entwicklung der MALDI-Methode. Die Probenpräparation ist nicht mehr auf die Beteiligung eines Lösungsmittels angewiesen. Dies bedeutet, daß die Probenvorbereitung nicht mehr auf ein für Analyt und Matrix gemeinsames Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelsgemisch beschränkt ist. Außerdem kann somit eine eventuelle Entmischung des Analyten von der Matrix beim Verdampfen des Lösungsmittels, das den MALDI-Prozeß dann zum Scheitern verurteilt, prinzipiell umgangen werden. Auch andere unlösliche Analyte wie z.B. unsubstituierte Poly-*para*-phenylene können prinzipiell in gleicher Weise wie die untersuchten PAHs charakterisiert werden. Schließlich könnten ebenfalls neue Matrices ohne Rücksicht auf ihre Löslichkeit getestet werden. Somit könnten auf direktem Wege spezielle Matrices der Natur des Analyten gezielt angepaßt werden. TCNQ hat sich z.B. für die Charakterisierung von PAHs als besonders geeignet erwiesen. Ähnliche Kohlenstoff-Verbindungen wie z.B. chemisch modifizierte Fullerene und Nanotubes können prinzipiell auch mit TCNQ

charakterisiert werden. Kommerziell erhältliche Nanotubes wurden bereits mittels der neuen Methode untersucht, führten aber zu keinem Erfolg. Der Grund dafür liegt vermutlich in den zu hohen Molekulargewichten der Proben, die sich im Bereich von mehreren Millionen Daltons bewegen, die mit MALDI bisher nicht erfaßt werden können. Zwischen Fullerenen und Nanopartikeln sollten aber noch Kohlenstoff-Verbindungen existieren, die mittels MALDI-Festkörperprobenvorbereitung charakterisiert werden könnten.

In der ganzen Arbeit aber besonders im Rahmen der Untersuchung der geladenen metallo-supramolekularen Verbindungen sowie bei der Messung der PAHs wurde die enorme Bedeutung der Probenvorbereitung bei der MALDI-Massenspektrometrie verdeutlicht. Der letzte Teil dieser Arbeit wurde daher ausschließlich dem Einfluß der Probenvorbereitung auf MALDI-TOF-Massenspektren gewidmet. Bei derselben Probe können einfache Modifikationen der Probenvorbereitung eine deutliche Änderung der MALDI-Massenspektren verursachen. Ein Wechsel der Matrix konnte bei den untersuchten konjugierten Polymeren deren Fragmentierungsverhalten während der Messung eindeutig beeinflussen. Diese Analyten, die bei der Wellenlänge des angewendeten N_2 -Lasers absorbieren, weisen den gleichen Ionisierungsmechanismus wie PAHs auf. Sie bilden Radikalkationen. Wie erwartet erwies sich TCNQ auch für diese Proben als besonders geeignet. Die Fragmentierung von Poly-*para*-phenylen und Poly-*para*-phenylenethinylen wurde mit TCNQ vermieden bzw. stark vermindert, während sie mit anderen Matrices wie Dithranol oder Retinoesäure unumgänglich war. Dagegen wurde mit TCNQ das „post-source decay“ begünstigt. Aus diesem unerwarteten Verhalten konnte für die Aufnahme eines PSD-Massenspektrums der PPP-Probe Nutzen gezogen werden. Im Gegensatz dazu konnten mit Dithranol kaum PSD-Fragmente detektiert werden. Ein weiteres überraschendes Ergebnis stellte der Unterschied der detektierten „in-source“- und „post-source“-Fragmente dar. Modelle, die im Zusammenhang mit der Fragmentierung den Mechanismus der Ionisation berücksichtigen, wurden als Erklärung vorgeschlagen. Darüber hinaus wurde der Einfluß der Matrix auf die Polymerverteilung bei PPE-Proben, aber auch bei der PPE-*b*-PEO-Probe deutlich demonstriert. Der Schwerpunkt der Massenverteilung wurde mit TCNQ zu niedrigeren Molekulargewichten verschoben, während er sich mit Retinoesäure zu höheren Massen verschiebt. Dieses wurde unabhängig vom Ionisierungsmechanismus beobachtet. Die Wirkung der Kationisierungsagenten auf die Kurvenform einer Polymerverteilung mit MALDI-Massenspektrometrie wurde ebenfalls untersucht. Dafür wurden Polystyrol-Proben mit äquimolaren Mischungen aus Alkalimetallkationen präpariert. Niedermolekulare Polymerketten wurden mit kleinen

Kationen bevorzugt ionisiert, während längere Polymerketten überwiegend mit größeren Kationen ionisiert wurden. Mit diesen Ergebnissen wurden die Einflüsse von Matrix und Kationen auf die MALDI-Analyse einer Polymerverteilung demonstriert. Bekanntlich provozieren andere Parameter wie Lösungsmittel, Verunreinigungsspuren ebenso wie Konzentrationsänderungen zwischen Matrix, Analyt, Kation bzw. Lösungsmittel teilweise drastische Effekte. Die Probenvorbereitung stellt einen komplexen Prozeß dar, der für jede neue Probe eingehend untersucht werden muß, bevor eine Quantifizierung der Polymerverteilung mit MALDI durchgeführt werden darf.

V. Experimenteller Teil

V.1. Allgemeine experimentelle Bedingungen

Lösungsmittel, Matrices und Kationisierungsagentien:

Lösungsmittel wurden in käuflicher p.A. Qualität eingesetzt. Die verwendeten Matrices und Kationisierungsagentien wurden ebenfalls in kommerziell erhältlicher Qualität eingesetzt.

GPC:

Gerät: Gilson von *Abimed Analystechnik GmbH* (Langenfeld)
Säulen: 3 Jordi-Gel DVB-Säulen (10x500 mm) mit 100, 1000 und 10000 Å
Detektor: Gilson Refraktivindex-Detektor

Lösungsmittel: THF

Flußrate: 0,5 ml/min

MALDI-TOF-Massenspektrometer:

Das Meßprinzip und der Aufbau der benutzten MALDI-TOF Massenspektrometer ist ausführlich im Kapitel II beschrieben. Hier sind die wichtigsten Bestandteile der angewendeten Geräte der Firma *Bruker Daltonik GmbH* (Bremen, Deutschland) kurz zusammengefaßt:

Bruker Reflex I: N₂-Laser, Pulsdauer 3 ns

MALDI-Ionenquelle: einstufige Beschleunigungszone, maximale Beschleunigungsspannung +/-35 kV; elektrostatische Linse

Deflektionpulser

Linearer Analysator mit HIMAS[®]-Spezialdetektor

Zweistufiger, gitterloser Ionenreflektor

Reflektordetektor: „dual microchannel plates“ (MCP)

1 GHz Transientenrekorder

SUN-Workstation mit Bruker XTOF Software zur Datenauswertung

Bruker Reflex II: Unterschiede zum Reflex I-Massenspektrometer:
MALDI-Ionenquelle: zweistufige, mit „delayed extraction“ ausgerüstete Beschleunigungszone (delay: 50, 150 oder 600 ns), maximale Beschleunigungsspannung +28,5 kV (-25 kV)
Elektronisches Gate zur „in-flight“-Selektion von Ionen in einem sehr engen Massenbereich (Auflösung $m/\Delta m$ ca. 100)
Linear- und Reflektordetektor: MCP, ausgerüstet mit „detector gating“

V.2. Kalibrierung des Massenspektrometers

In der Flugzeitmassenspektrometrie wird aus der Ionenflugzeit nach Umrechnung über eine Kalibrierungsfunktion ein Masse-zu-Ladungsverhältnis bestimmt. Auf Grund von systembedingten Fehlern in der Flugzeitmessung wird statt der theoretischen Gleichung 2 (s. Kap. II, S. 8) eine praktische Gleichung (s. Gleichung 17) für die Kalibrierung des Massenspektrometers verwendet. Die Kalibrierungskonstanten A und B werden aus dem Massenspektrum eines Kalibrierungsstandards berechnet.

$$\frac{m}{z} = A \cdot T^2 + B$$

Gleichung 17

Am häufigsten werden synthetische Polymerproben als positiv geladene Ionen detektiert. Das Massenspektrometer wird dann mit einer Kalibriersubstanz, die positive Ionen bildet, kalibriert. Rinderinsulin ist z.B. ein üblicher Standard, mit dem eine Zweipunktkalibrierung durchgeführt werden kann. Dazu werden 0,6 mg Rinderinsulin in einer Mischung aus 0,5 ml dest. Wasser und 0,5 ml Acetonitril gelöst. 50 μ l dieser Lösung werden entnommen, auf 1 ml mit dest. Wasser aufgefüllt und 2 μ l Trifluoressigsäure zugefügt. 10 μ l dieser Insulinlösung werden mit 10 μ l einer gesättigten Lösung der Matrix trans-3-(4-Hydroxy-3,5-Dimethoxyphenyl)-acrylsäure (Sinapinsäure) in dest. Wasser gemischt. 1 μ l dieser Mischung wird auf den Probenhalter gebracht und das Lösungsmittel im Luftstrom eines Föhns verdunstet, so daß eine dünne kristalline Schicht zurückbleibt.

Davon wird ein Spektrum, bestehend aus mindestens 20 aufaddierten Einzelspektren bei der für das Experiment benötigten Einstellung des Geräts (Linear bzw. Reflektor) und der angelegten Beschleunigungsspannung bzw. Reflektionsspannung aufgenommen. Die

eingestrahelte Laserleistung sollte etwas oberhalb der Desorption/Ionisationsschwelle liegen. Die so erhaltenen Spektren zeigen neben dem Signal des $(M...H)^+$ -Ions bei 5734,6 g/mol noch ein weiteres Signal des $(M...H_2)^{2+}$ -Ions bei 2867,8 g/mol. Mit diesen beiden Signalen werden die Flugzeiten der Ionen ihrem Masse-zu-Ladungsverhältnis zugeordnet.

In der Polymeranalytik wird aber zusätzlich zu dieser Zweipunktkalibrierung eine Mehrpunktkalibrierung mit einem Polymerstandard (z.B. Polystyrol) bevorzugt. Sie hat den Vorteil, eine größere Anzahl von Meßpunkten zu liefern, die die Zuordnung zwischen Flugzeiten und Masse-zu-Ladungsverhältnissen exakter macht.

Dazu wird ca. 0,5 mg eines Polystyrolstandards mit einer Polymerverteilung zwischen 2000 und 6000 g/mol in 1 ml THF gelöst. Zu 10 µl dieser Polymerlösung kommen nun 10 µl einer 0,1 M Lösung von 1,8,9-Trihydroxyanthracen (Dithranol) in THF. Zur resultierenden Matrix/Analyt-Mischung kommt noch 1 µl einer Lösung von Silbertrifluoracetat in THF (ca. 3 mg/ml) als Kationisierungsagens. 1 µl dieser Mischung wird auf den Probeneller aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft.

Das aufgenommene Spektrum zeigt jetzt eine Serie von Signalen, die den Flugzeiten der silberkationisierten Polystyrolketten entsprechen. Diese zahlreichen Signale können ihrem Masse-zu-Ladungsverhältnis zugeordnet werden.

V.3. Aufnahme und Kalibrierung eines FAST-Massenspektrums

Aufnahme

Das Prinzip der FAST-Methode wurde bereits im Kapitel II.3.2 erklärt. Hier sollen nur die wesentlichen Schritte für die praktische Erzeugung eines FAST-Massenspektrums resümiert werden. Nach Kalibrierung des Massenspektrometers (s. Kap. V.2) wird die zu untersuchende Substanz gemessen. Dabei wurden folgende Parameter angewendet:

Beschleunigungsspannung (IS1):	+28.5 kV
Spannung der ersten Lochblende (IS2):	+20,0 kV
Delay:	50 ns (short)
Reflektorspannung:	30,0 kV

Das Mutterion wird anhand des elektronischen Gates selektiert. Es werden dann 15 Einzelspektren (auch „Segmente“ genannt) mit immer kleiner werdenden Reflektorspannungen aufgenommen. Folgende Reflektorspannungen wurden benutzt:

Segment 1	30,00 kV	Segment 6	9,64 kV	Segment 11	2,33 kV
2	27,20 kV	7	7,26 kV	12	1,76 kV
3	22,59 kV	8	5,47 kV	13	1,45 kV
4	17,01 kV	9	4,12 kV	14	1,13 kV
5	12,80 kV	10	3,10 kV	15	0,95 kV

Für jedes Segment werden ca. 200 Shots aufaddiert. Die Laserleistung wird so gewählt, daß es zu einer starken Fragmentierung mit jedoch möglichst hoher Auflösung im Spektrum kommt.

Die aufgenommenen Fragmentensignale treten aber zunächst bei falschen Massen auf. Ihre gemessene (offensichtliche) Masse muß mit der FAST-Kalibrierung in die tatsächliche Masse

umgerechnet werden. Nach Kalibrieren jedes Segments werden nun die 15 Segmente zusammengefügt und ergeben das PSD-Fragmentmassenspektrum.

FAST-Kalibrierung

Für die FAST-Kalibrierung werden zwei Peptide mit relativ kleiner Molmasse verwendet, die viele bekannte PSD-Fragmente bilden. Mit dem ACTH clip (18-39) wird die FAST-Kalibrierung erzeugt und mit Angiotensin II überprüft.

ACTH wird wie folgt präpariert. 0,25 mg ACTH wird in 1 ml TA-Lösung (Wasser:Acetonitril:Trifluoressigsäure im Verhältnis 70:30:0,1%) gelöst. 20 µl dieser Vorratslösung werden anschließend mit 180 µl TA-Lösung verdünnt und ergeben die ACTH-Lösung. Als Matrix wurde eine gesättigte Lösung von α -Cyanozimtsäure (CCA) in der TA-Lösung verwendet. Matrix- und Analytlösung werden im Verhältnis 1:1 gemischt und 1 µl der so erhaltenen Lösung auf den Probenträger gegeben. Die Lösemittel werden im Luftstrom eines Föns verdampft, so daß eine kristalline Schicht zurückbleibt.

Die 15 Segmente eines Fragmentspektrums werden wie oben beschrieben und mit gleichen Parametern für ACTH aufgenommen. Die FAST-Kalibrierung erfolgt nun durch eine Zuordnung der auftretenden Fragmentmassen zu den tatsächlichen Molekulargewichten dieser ACTH-Fragmente. Nachdem für jedes Segment mindestens drei signifikante Signale zugeordnet worden sind, werden Korrekturfaktoren für jedes Teilspektrum berechnet. Eine Überprüfung der FAST-Kalibrierung erfolgt dann durch die Aufnahme eines FAST-Massenspektrums von Angiotensin II.

Hierzu wird 0,11 mg Angiotensin in 1ml TA-Lösung gelöst. 20 µl dieser Vorratslösung werden anschließend mit 180 µl TA-Lösung verdünnt und ergeben die Angiotensin-Lösung. 10 µl dieser Lösung werden mit 10 µl einer gesättigten Lösung von CCA in TA zusammengegeben und 1µl dieser Mischung auf den Probenträger gebracht. Nach dem Verdampfen der Lösemittel werden die Teilsegmente eines Fragmentmassenspektrums mit den selben vorgegebenen Parameter aufgenommen. Diese werden mit Hilfe der zuvor erstellten FAST-Kalibrierung zusammengefügt. Anschließend werden die gemessenen Molekulargewichte der Angiotensinfragmente mit den bekannten Fragmentmassen verglichen. Liegen hierbei noch zu hohe Abweichungen vor, muß die Zuordnung der ACTH-Fragmente korrigiert und die dadurch erhaltene neue Kalibrierung nochmals überprüft werden. Dieser Vorgang wird so oft wiederholt, bis eine genügend kleine Massenabweichung erreicht wird.

V.4. Polymeranalytische Auswertung der Massenspektren

Alle Massenspektren wurden nach einer mathematischen Glättung durch Faltung mit einer Dreiecksfunktion und Korrektur der Basislinie ausgewertet, um das Maximum (M_p), das Zahlenmittel (M_n) und das Gewichtsmittel (M_w) der Polymerverteilung und der daraus abgeleiteten Größe der Polydispersität ($PD=M_w/M_n$) zu ermitteln. Dazu wurde das Auswerteprogramm XTOF der Firma Bruker benutzt. Zur Bestimmung der Zahlen- und Gewichtsmittel wird die zwischen der Signalkurve, der Basislinie und der zwei freiwählbaren Massengrenzen (x_1, x_2) liegende Fläche in N möglichst kleine, gleich große Teilintervalle zerlegt. Die Peakfläche A_i und die entsprechende Masse M_i des i -ten Intervalls werden nach Gleichung 18 bzw. Gleichung 19 berechnet:

$$A_i = \Delta \cdot I(x_1 + i \cdot \Delta) \quad \text{wobei } i = 0 \dots N - 1 \quad \text{Gleichung 18}$$

$$M_i = x_1 + \left(i + \frac{1}{2}\right) \cdot \Delta \quad \text{wobei } i = 0 \dots N - 1 \quad \text{Gleichung 19}$$

Δ Breite eines Intervalls

$I(x)$ entsprechende Signalintensität der Abszisse x

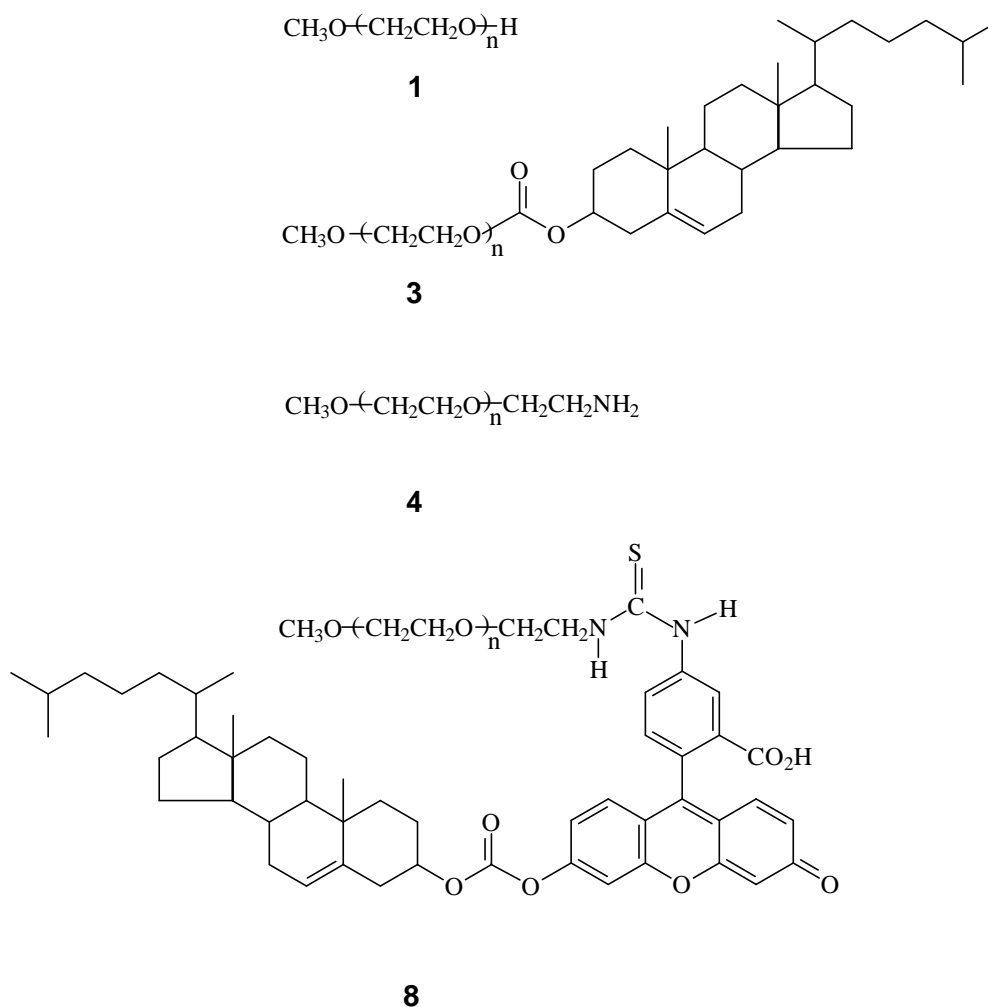
Aus den so gewonnenen Flächeninhalten A_i und den entsprechenden Massen M_i können das Zahlenmittel M_n und das Gewichtsmittel M_w der Polymerverteilung nach Gleichung 20 bzw. Gleichung 21 bestimmt werden.

$$M_n = \frac{\sum_{i=0}^{N-1} A_i \cdot M_i}{\sum_{i=0}^{N-1} A_i} \quad \text{Gleichung 20}$$

$$M_w = \frac{\sum_{i=0}^{N-1} A_i \cdot M_i^2}{\sum_{i=0}^{N-1} A_i \cdot M_i} \quad \text{Gleichung 21}$$

V.5. Durchführung der Messungen

V.5.1 Messung der endgruppenmodifizierten Polyethylenglykolproben 3 und 8 sowie deren Ausgangspolymere 1 und 4

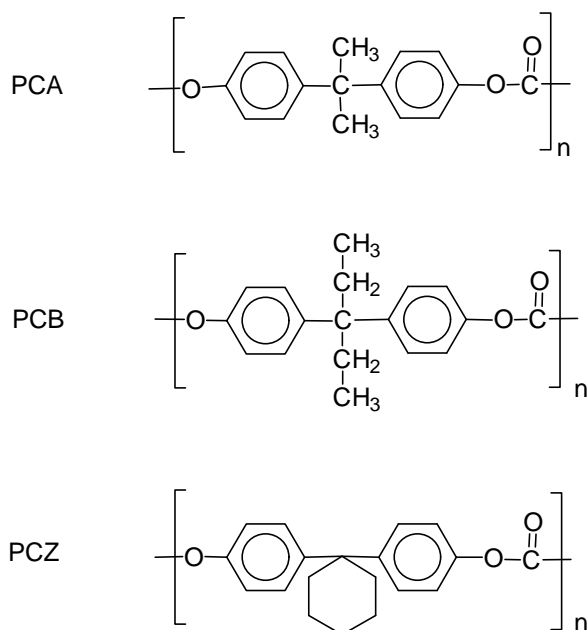


Alle Proben wurden von Astrid Lehmann (*MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung*, Berlin) zur Verfügung gestellt. Die PEG **1** und **4** wurden von den Firmen *Fluka* (Neu Ulm) bzw. *Shearwater Polymers Inc.* (USA) bezogen. Die PEG **3** und **8** wurden von Astrid Lehmann synthetisiert.

Für die MALDI-Messungen wurden die PEG-Proben in THF gelöst (0,3-0,4 mg/mL). 10 μL dieser Lösung wurden mit 10 μL einer 0,1 M Lösung von 1,8,9-Trihydroxyanthracen (=Dithranol) in THF versetzt, so daß ein molares Verhältnis von etwa 1:500-1:1000 (Analyt:Matrix) resultierte. Zu dieser Mischung wurde noch 1 μL einer Lösung von 9 mg

Kaliumtrifluoracetat in 1 mL THF zugegeben. 1 μ L dieser Mischung aus Analyt, Matrix und Kationisierungsagenz wurde auf den Probensteller aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft.

V.5.2 Messung von Polycarbonaten



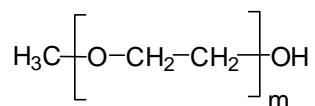
Die Proben PCA-1 und PCB wurden in unserem Institut von Thomas Wagner synthetisiert. Die Proben PCA-2 und PCZ wurden von den Firmen *Polymer Standards Service* (Mainz) bzw. *Mitsubishi Gas Chemical Co. Inc.* (Tokyo, Japan) bezogen.

Für die PSD-Messungen wurden die Proben PCA-1 und PCB zuvor mit GPC fraktioniert. Dafür wurde 1ml der Polycarbonat-Lösung (15 mg/ml) injiziert. Nach ca. 90 min. wurden die 500 μ l-Fractionen gesammelt, die die niedermolekularen Polycarbonat-Oligomeren enthielten. Die Fractionen wurden eingengt (verdunstet) und für die PSD-Messungen in 50 μ l THF wieder gelöst.

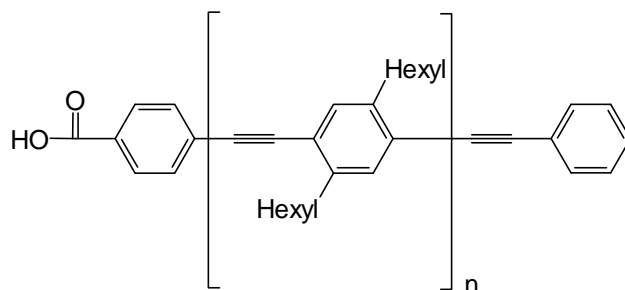
Von den Proben PCA-2 und PCZ wurde 1-1,5 mg in 1ml THF gelöst. Dithranol und Lithiumtrifluoracetat wurden mit einer Konzentration von 0,1 mol/l bzw. 0,01 mol/l in THF gelöst. Für alle Polycarbonate wurde die Analyt- mit der Matrix- und Kation-Lösung im

Verhältnis 10:10:1 (Vol.) gemischt. Anschließend wurde 1 µl dieser Mischung auf den Probenteller aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft.

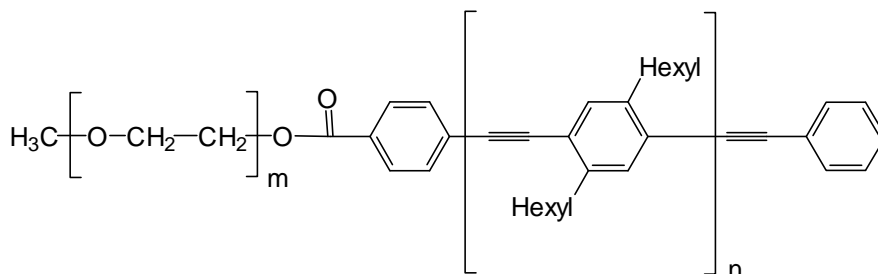
V.5.3 Messung des PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymers **21** und dessen Homopolymervorläufer PEO **19** und PPE **20**



19



20



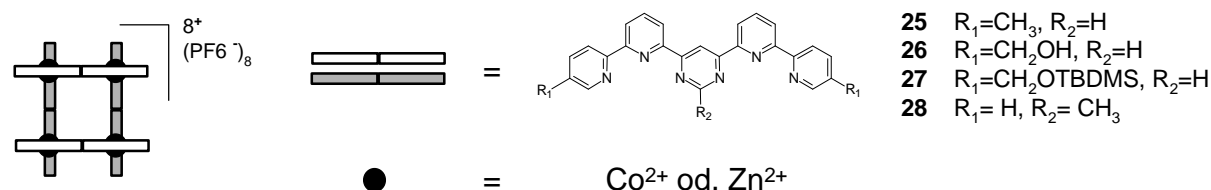
21

Alle Proben wurden von Viola Francke (Arbeitskreis Prof. Müllen, *MPI für Polymerforschung*, Mainz) zur Verfügung gestellt.

Dithranol- und Lithiumtrifluoracetat-Lösungen wurden mit einer Konzentration von 0,1 mol/l bzw. 0,01 mol/l in THF angefertigt. Für die MALDI-Messung von PEO **19** mit „matrix-suppression-effect“ wurde 1,5 mg des Analyten in 200 µl THF gelöst. Bei den Analytlösungen von PPE **20** und PPE-*b*-PEO-Diblock-Copolymer **21** wurden jeweils 0,2-0,4 mg in 500 µl THF gelöst. Für alle Proben wurde die Analyt- mit der Matrix- und ggf. Kationen-Lösung im

Verhältnis 10:10:1 (Vol.) gemischt. Bei PPE **20** wurden keine Kationen zugesetzt. Anschließend wurde 1 μL dieser Mischung auf den Probenhalter aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft.

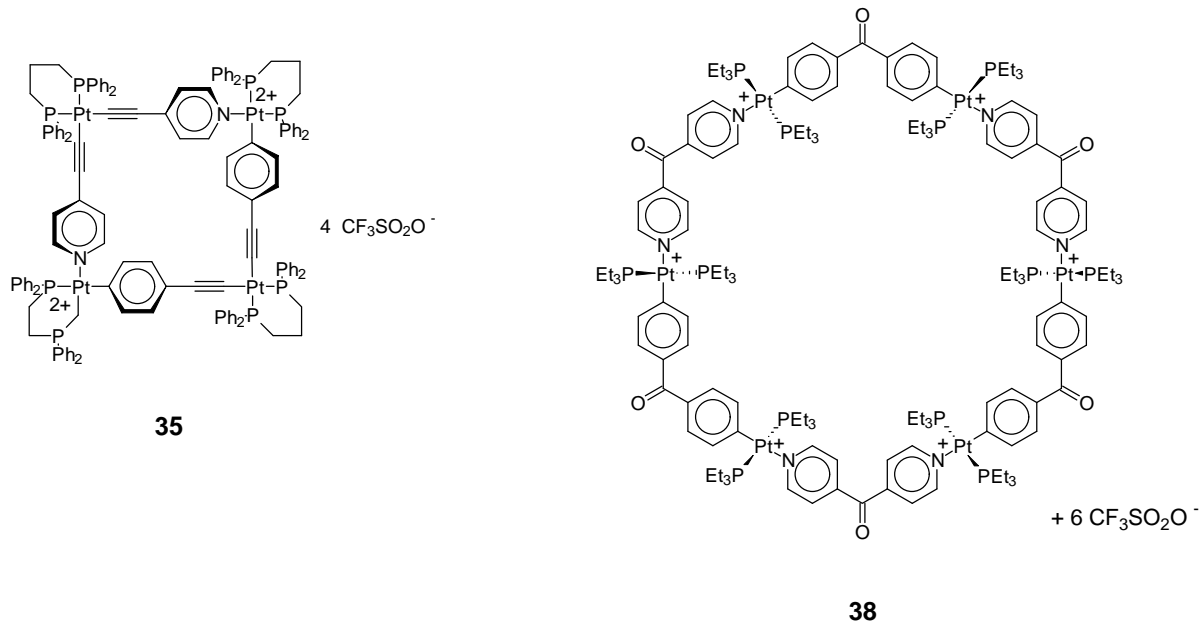
V.5.4 Messung der gitterartigen metallo-supramolekularen Verbindungen



Alle Proben wurden von Christian Weidl und Dr. Ulrich Schubert (Arbeitskreis Prof. Nuyken, *Technische Universität München*) zur Verfügung gestellt.

Die Proben ($[\text{Co}_4(\mathbf{25})_4](\text{PF}_6)_8$, $[\text{Co}_4(\mathbf{26})_4](\text{PF}_6)_8$, $[\text{Co}_4(\mathbf{27})_4](\text{PF}_6)_8$, $[\text{Zn}_4(\mathbf{25})_4](\text{PF}_6)_8$) wurden in Aceton gelöst (0,2-0,3 g/mL). Als Matrix wurde sowohl Dithranol als auch all-trans-Retinoesäure verwendet. Bei der Messung mit Dithranol wurden 10 μL der Analytlösung mit 100 μL einer 0,1 M Lösung von Dithranol in Aceton versetzt, so daß sich ein molares Verhältnis von etwa 1:10000 (Analyt:matrix) ergibt. 1 μL dieser Analyt/Matrix-Mischung wurde auf den Probenhalter aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft. Bei der Messung mit all-trans-Retinoesäure wurden 10 μL der Analytlösung mit 10 μL einer 0,05 M Lösung von all-trans-Retinoesäure in Aceton versetzt, so daß sich ein molares Verhältnis von etwa 1:500 (Analyt:matrix) ergab. 1 μL dieser Analyt/Matrix-Mischung wurde auf den Probenhalter aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft.

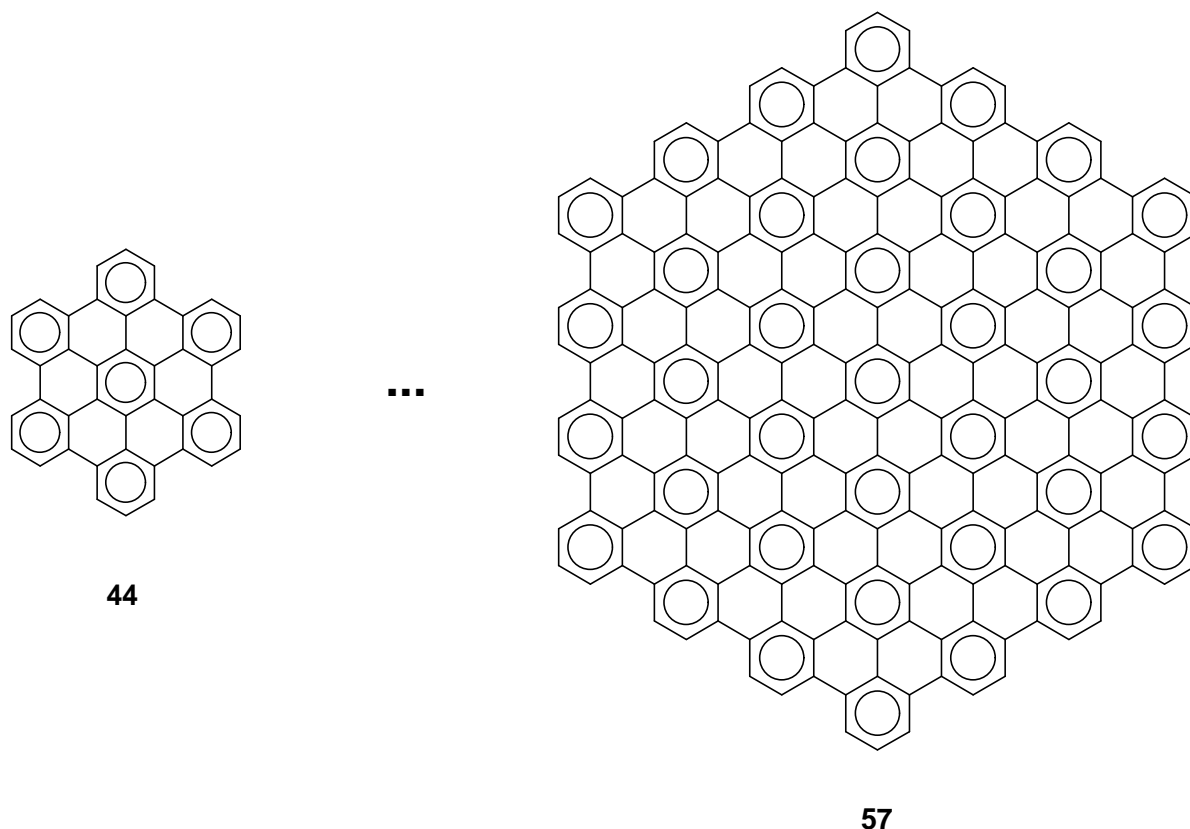
V.5.5 Messung der makrozyklischen vier- und sechskernigen Übergangsmetallkomplexe **35** bzw. **38**



Alle Proben wurden vom Arbeitskreis Prof. Stang (*University of Utah, Salt Lake City*) zur Verfügung gestellt.

Sowohl Dithranol als auch Retinoesäure wurden als Matrix angewendet. Für beide Matrices wurde eine 0,1 mol/l-Lösung in CH₂Cl₂ angefertigt. 0,4-0,7 mg des Quadrats **35** wurden in 1 ml CH₂Cl₂ gelöst. 0,5-0,9 mg des Sechsecks **38** wurden ebenfalls in 1 ml CH₂Cl₂ gelöst. 10 µl der Matrixlösung wurden mit 10 µl der Analytlösung versetzt, so daß ein molares Verhältnis von etwa 1:500-1:1000 (Analyt:Matrix) resultierte. 1 µl dieser Mischung wurde auf den Probeneller gebracht und das Lösungsmittel verdampft.

V.5.6 Messung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH)



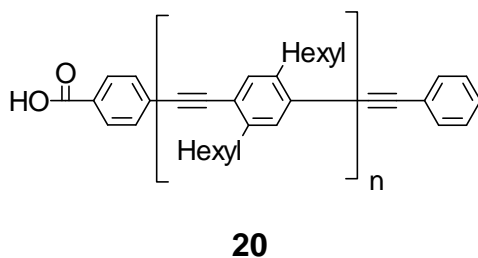
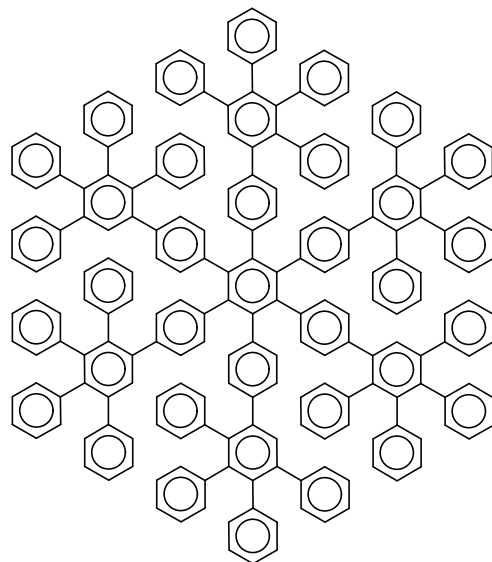
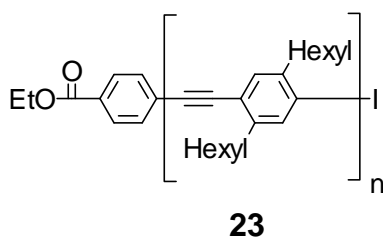
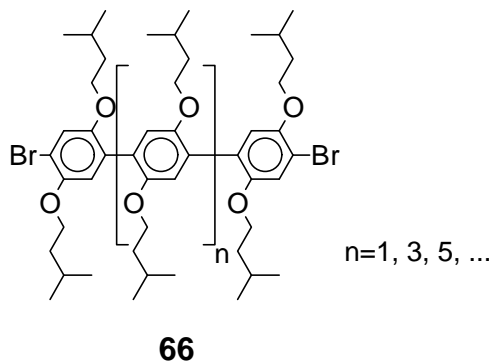
Die PAH-Proben wurden in der Synthese-Gruppe unseres Arbeitskreises hergestellt. Die intensiv untersuchten Proben der Zielverbindung **57** wurden von Johann-Diedrich Brand synthetisiert.

Für die Laserdesorption-Messungen wurden die PAH-Proben mittels eines Spatels direkt auf der Probenträger aufgerieben.

Bei der MALDI-Messungen wurden die PAH-Proben und die Matrix mit der Kugelmühle MM2000 der Firma *F. Kurt Retsch GmbH & Co. KG* (Haan, Deutschland) mechanisch zermahlen und gemischt. Als geeignete Matrix wurde 7,7,8,8-Tetracyanochinodimethan (TCNQ) für die MALDI-Messung von PAHs angewendet. 2,6 mg einer $C_{222}H_{42}$ -Probe wurden mit 10 mg TCNQ in einem Mahlbecher (rostfreier Stahl oder Wolframcarbid) gemischt und 10 min mit der Kugelmühle gemahlen. So wurde eine Pulver-Mischung mit einem molaren Verhältnis von 1:50 (Analyt/Matrix) erzeugt. Aus dieser Mischung wurden 1,5 mg abgewogen und mit 10,6 mg TCNQ ebenso in einem Mahlbecher gemischt und weitere 10

min in der Kugelmühle zermahlen. Daraus resultierte eine Pulver-Mischung mit einem molaren Verhältnis von 1:500 (Analyt/Matrix). Diese Mischung wurde entweder mittels eines Spatels direkt auf den Probenträger aufgerieben oder, um eine Verschmutzung des Massenspektrometers zu vermeiden, als Suspension aufgetragen. Dafür wurde die Pulver-Mischung in einem für alle Mischungskomponenten „nicht lösenden“ Lösungsmittel (Wasser, Toluol od. Cyclohexan) suspendiert und 5 min mit dem Ultraschallfinger HD2070 der Firma *Bandelin Electronic GmbH & Co. KG* (Berlin, Deutschland) homogenisiert. Anschließend wurde 1 µl dieser Suspension auf den Probenträger aufgetragen und das Suspensionsmittel verdampft.

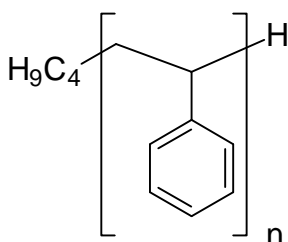
V.5.7 Messung von Laserwellenlänge-absorbierenden Proben: Poly-*para*-phenylen 66, Oligophenylen 56 und Poly-*para*-phenylenethinylen 23, 20



Die PPP-Probe **66** wurde von Marcus Remmers synthetisiert (Arbeitskreis Prof. Wegner, *MPI für Polymerforschung*, Mainz). Das Oligophenylen **56** und die PPEs **23** und **20** wurden in unserem Arbeitskreis von Johann-Diedrich Brand bzw. Viola Francke hergestellt.

Als Matrices wurden Dithranol, TCNQ und all-trans-Retinoesäure verwendet. Die Matrices wurden in THF mit einer Konzentration von 0,1 mol/l gelöst. TCNQ erzeugt bei dieser Konzentration bereits gesättigte Lösungen. Das Lösungsmittel der mit GPC fraktionierten PPP-Proben **66** wurde bereits vorher verdunstet. Jede GPC-Fraktion wurde dann in 1ml THF gelöst. Bei dem Oligophenylen **56** und bei den PPE-Proben **23** und **20** wurde 0,2-0,4 mg des Analyten in 1 ml THF gelöst. 10 µl der Matrixlösung wurden mit 10 µl der Analytlösung versetzt, so daß ein molares Verhältnis von etwa 1:500-1:1000 (Analyt:Matrix) resultierte. 1 µl dieser Mischung wurde auf den Probeneller gebracht und das Lösungsmittel verdampft.

V.5.8 Messung von Polystyrol **67** und **68**



67 $M_n = 2230$ g/mol, $M_w = 2340$, $D = 1,05$

68 $M_n = 6600$ g/mol, $M_w = 6758$, $D = 1,02$

Die Polystyrol-Standards **67** und **68** wurden von der Firma *Polymer Standards Service* (Mainz) bezogen.

Es wurden äquimolare Mischungen aus zwei Kationsalzen hergestellt:

- 1) Kationmischung 1: 1,4 mg Natrium- und 1,6 mg Kaliumtrifluoracetat in 1 ml THF
- 2) Kationmischung 2: 0,6 mg Lithium und 0,7 mg Natriumtrifluoracetat in 1 ml THF

Als Matrix wurde Dithranol als 0,1 mol/l-Lösung in THF verwendet.

Für die Polystyrol **67**-Lösung wurde 0,45 mg des Analyten in 1ml THF gelöst. Jeweils 10 µl der Matrix- und Analytlösung wurden gemischt. Zu dieser Lösung wurde noch 1 µl der Kationmischung 1 zugegeben. 1 µl dieser Lösung wurde auf den Probenträger aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft.

Die äquimolare Polystyrolmischung aus **67** und **68** wurde durch Lösen von 2,2 mg PS **67** und 6,4 mg PS **68** in 10 ml THF angefertigt. Das Verhältnis der beiden Komponenten in der Mischung wurde durch HPLC-Analyse bestätigt. Jeweils 10 μl der Matrix- und Analytlösung wurden gemischt. Zu dieser Lösung wurde noch 1 μl der Kationmischung 2 zugegeben. 1 μl dieser Lösung wurde auf den Probenträger aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft.

VI. Anhang 1: Herleitung der Veränderung der Molmassenmittelwerte des Produkts einer Endgruppenmodifikation im Verhältnis zu den Molmassenmittelwerten des Ausgangspolymer

VI.1. Definition der Zahlen- und Massenmittel des Ausgangs- und des Zielpolymer

Nach den allgemeinen Zahlen- und Massenmitteldefinitionen lauten das Zahlenmittel, \overline{M}_{nE} , und das Massenmittel, \overline{M}_{wE} , des Ausgangspolymer :

$$\overline{M}_{nE} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad \text{Gleichung 22}$$

$$\overline{M}_{wE} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}^2}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}} \quad \text{Gleichung 23}$$

M_{iE} Molmasse der Eduktmoleküle, die i Grundbausteine enthalten (später als „Molmasse der Ausgangsmoleküle der Sorte i “ bezeichnet), wobei M_{kE} die größte vorkommende Molmasse ist

n_i Molzahl der Ausgangsmoleküle der Sorte i in der Probe, die die Molmasse M_{iE} besitzen

Ebenso sind das Zahlenmittel, \overline{M}_{nP} , und das Massenmittel, \overline{M}_{wP} , des reinen Zielpolymers definiert :

$$\overline{M}_{nP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_{iP} \cdot M_{iP}}{\sum_{i=1}^k n_{iP}} \quad \text{Gleichung 24}$$

$$\overline{M}_{wP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_{iP} \cdot M_{iP}^2}{\sum_{i=1}^k n_{iP} \cdot M_{iP}} \quad \text{Gleichung 25}$$

n_{iP} Molzahl der Zielmoleküle der Sorte i, mit der Molmasse M_{iP}

Es ist zu betonen, daß die oben definierten Molmassenmittelwerte des Zielpolymers basieren auf die Molmassenverteilung des gereinigten Zielpolymers und nicht auf eine Mischung des Zielpolymers und des nicht reagierten Ausgangspolymers.

Aus Gleichung 24 und Gleichung 25 sowie der Definition von ΔM ($\Delta M = M_{iP} - M_{iE}$) folgt :

$$\overline{M}_{nP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_{iP} \cdot (M_{iE} + \Delta M)}{\sum_{i=1}^k n_{iP}} \quad \text{Gleichung 26}$$

und

$$\overline{M}_{wP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_{iP} \cdot (M_{iE} + \Delta M)^2}{\sum_{i=1}^k n_{iP} \cdot (M_{iE} + \Delta M)} \quad \text{Gleichung 27}$$

VI.2. Verbindung zwischen den Molmassenmittelwerten des Ziel- und Ausgangspolymers

In der folgenden Rechnung nimmt man an, daß die Ausbeute der Endgruppenreaktion von dem Polymerisationsgrad unabhängig ist. Das bedeutet, daß ein Bruchteil α der n_i Ausgangsmoleküle der Sorte i reagiert und ergibt $n_{iP} = \alpha \cdot n_i$ mol der Zielmoleküle der Sorte i , wobei α von dem Polymerisationsgrad unabhängig ist. Aus Gleichung 26 und Gleichung 27 folgen :

$$\overline{M}_{nP} = \frac{\sum_{i=1}^k \alpha \cdot n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)}{\sum_{i=1}^k \alpha \cdot n_i} \quad \text{Gleichung 28}$$

$$\overline{M}_{wP} = \frac{\sum_{i=1}^k \alpha \cdot n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)^2}{\sum_{i=1}^k \alpha \cdot n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)} \quad \text{Gleichung 29}$$

Da α vom Polymerisationsgrad unabhängig ist, läßt sich durch Gleichung 28 und Gleichung 29 folgendes ausdrücken :

$$\overline{M}_{nP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad \text{Gleichung 30}$$

$$\overline{M}_{wP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)^2}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)} \quad \text{Gleichung 31}$$

Dieses Ergebnis zeigt schon, daß die Zahlen- und Massenmittelwerte des Zielpolymers unabhängig vom Molenbruch α sind, solange dieser vom Polymerisationsgrad unabhängig ist.

Aus Gleichung 30 und da ΔM vom Polymerisationsgrad unabhängig ist, lässt sich das Zahlenmittel des Zielpolymers, \overline{M}_{nP} , einfach in Verbindung mit dem Zahlenmittel des Ausgangspolymers, \overline{M}_{nE} , ausdrücken :

$$\overline{M}_{nP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE} + \sum_{i=1}^k n_i \cdot \Delta M}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

$$\overline{M}_{nP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE} + \Delta M \cdot \sum_{i=1}^k n_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

$$\overline{M}_{nP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}}{\sum_{i=1}^k n_i} + \Delta M$$

$$\boxed{\overline{M}_{nP} = \overline{M}_{nE} + \Delta M}$$

Gleichung 4

Aus Gleichung 31 lässt sich ebenso das Massenmittel des Zielpolymers \overline{M}_{wP} in Verbindung mit dem Zahlenmittel \overline{M}_{nE} und dem Massenmittel \overline{M}_{wE} des Ausgangspolymers ausdrücken :

$$\overline{M}_{wP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE}^2 + 2 \cdot M_{iE} \cdot \Delta M + \Delta M^2)}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)}$$

$$\overline{M}_{wP} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot [M_{iE}^2 + M_{iE} \cdot \Delta M + \Delta M \cdot (M_{iE} + \Delta M)]}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)}$$

$$\overline{M_{wP}} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}^2 + \Delta M \cdot \sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE} + \Delta M \cdot \sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)}$$

$$\overline{M_{wP}} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}^2 + \Delta M \cdot \sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot (M_{iE} + \Delta M)} + \Delta M$$

$$\overline{M_{wP}} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}^2 + \Delta M \cdot \sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE} + \Delta M \cdot \sum_{i=1}^k n_i} + \Delta M$$

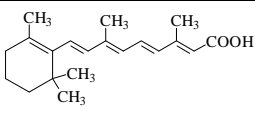
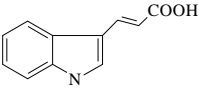
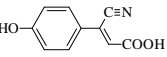
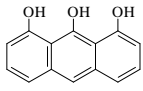
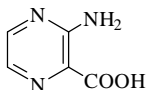
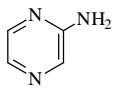
$$\overline{M_{wP}} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE} \cdot \left(\frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}^2}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}} + \Delta M \right)}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE} \cdot \left(1 + \Delta M \cdot \frac{\sum_{i=1}^k n_i}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_{iE}} \right)} + \Delta M$$

$\overline{M_{wP}} = \frac{\overline{M_{wE}} + \Delta M}{1 + \frac{\Delta M}{\overline{M_{nE}}}} + \Delta M$
--

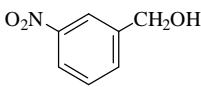
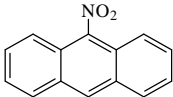
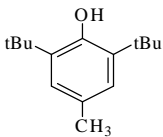
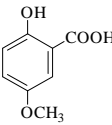
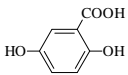
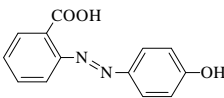
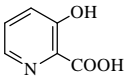
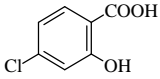
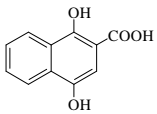
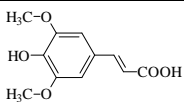
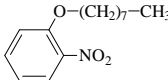
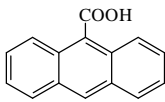
Gleichung 5

VII. Anhang 2: Klassifizierung konventioneller Matrices nach der Desorptions- und Ionisierungsschwelle

Die verfügbaren gängigen Matrices wurden nach ihrer Desorptions-/Ionisationsschwelle klassifiziert. Dafür wurde 1 µl einer 0,1 M-Lösung der Matrix in THF (oder in EtOH bzw. in Pyridin im Falle von Aminopyrazin bzw. 3-Hydroxypicolinsäure) auf den Probenträger aufgetragen. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurde die Matrix mit zunehmender Laserleistung angeregt, bis Matrixsignale detektiert wurden. Die niedrigste Laserleistung d.h. die höchste Laserabschwächung, die die Detektion des Matrixsignals gerade ermöglichte, wurde gemessen. Die Tabelle enthält die Meßergebnisse der Matrices, geordnet nach zunehmender Laserleistung für die Desorptions-/Ionisationsschwelle. Die „Leichtigkeit“ der Desorption ist durch eine hohe Laserabschwächung gekennzeichnet. All-trans-Retinoesäure ist z.B. die Matrix mit der niedrigsten Desorptions-/Ionisationsschwelle.

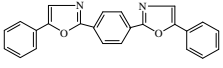
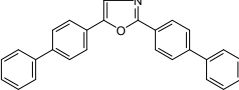
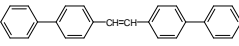
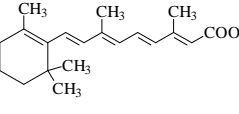
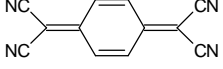
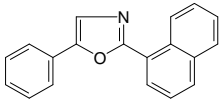
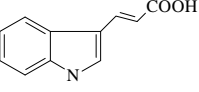
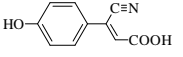
Matrix	Abk.	Formel	Molmasse (g/mol)	Laserab- schwächung
all-trans-Retinoesäure			300,44	45
trans-3-(3-Indolyl)- acrylsäure	IAA		187,20	37
α-cyano-4-hydroxy- zimtsäure	CCA		189,2	37
1,8,9-Trihydroxyanthracen			226,23	36
3-Aminopyrazin-2- carbonsäure			139,11	35
Aminopyrazin	AP		95,11	33

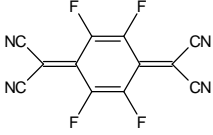
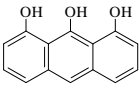
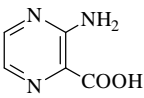
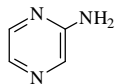
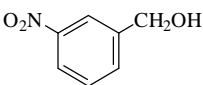
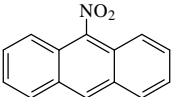
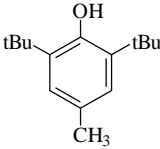
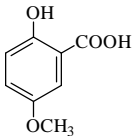
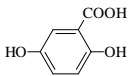
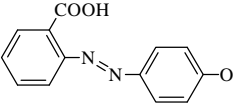
Anhang 2

Matrix	Abk.	Formel	Molmasse (g/mol)	Laserab- schwächung
3-Nitrobenzylalkohol			153,14	31
9-nitroanthracen			223,23	31
2,6-Di-tert-Butyl-4-methylphenol			220,36	30
2-Hydroxy-5-methoxybenzoesäure			168,15	29
2,5-Dihydroxybenzoesäure	DHB		154,12	27
2-(4'-hydroxybenzolato)-benzoesäure	HABA		242,23	27
3-Hydroxypicolinsäure			139,11	27
5-Chlorsalicylsäure	CSA		172,57	26
1,4-Dihydroxy-2-naphtoesäure			204,19	26
Trans-3,5-dimethoxy-4-hydroxy-zimtsäure	SA		224,21	26
2-nitrophenyloctylether	NPOE		251,33	22
9-Anthracencarbonsäure			222,24	20

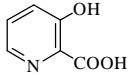
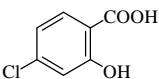
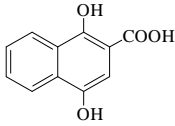
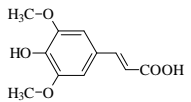
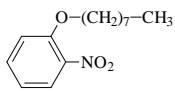
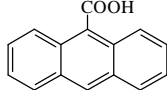
VIII. Anhang 3: Klassifizierung neuer und konventioneller Matrices nach der Desorptions- und Ionisierungsschwelle

Neuen Matrices (POPOP, NPO, DPS, BBO sowie TCNQ und TCNF4) wurden in der Klassifikation der konventionellen Matrices (s. Anhang 2) nach deren Desorptionsschwelle eingeführt:

Matrix	Abk.	Formel	Molmasse (g/mol)	Laserab- schwächung
1,4-di[2-(5-phenyl-oxazolyl)]benzene	POPOP		364,40	93
2,5-bis-(4-biphenyl)oxazol	BBO		373,45	88-89
4,4'-diphenylstilbene	DPS		212,33	88
all-trans-Retinoesäure			300,44	86
7,7,8,8-Tetracyanochinodimethan	TCNQ		204,19	85
2-(1-naphtyl)-5-phenyloxazol	α-NPO		271,32	82
trans-3-(3-Indolyl)-acrylsäure	IAA		187,20	80
α -cyano-4-hydroxy-zimtsäure	CCA		189,2	80

Matrix	Abk.	Formel	Molmasse (g/mol)	Laserab- schwächung
tetrafluortetracyanochino- dimethan	TCNQF4			79-80
1,8,9-Trihydroxyanthracen			226,23	79
3-Aminopyrazin-2- carbonsäure			139,11	
Aminopyrazin	AP		95,11	
3-Nitrobenzylalkohol			153,14	
9-nitroanthracen			223,23	
2,6-Di-tert-Butyl-4- methylphenol			220,36	
2-Hydroxy-5- methoxybenzoesäure			168,15	
2,5-Dihydroxybenzoesäure	DHB		154,12	
2-(4'-hydroxybenzolazo)- benzoesäure	HABA		242,23	

Anhang 3

Matrix	Abk.	Formel	Molmasse (g/mol)	Laserab- schwächung
3-Hydroxypicolinsäure			139,11	
5-Chlorsalicylsäure	CSA		172,57	
1,4-Dihydroxy-2-naphtoesäure			204,19	
Trans-3,5-dimethoxy-4-hydroxy-zimtsäure	SA		224,21	
2-nitrophenyloctylether	NPOE		251,33	
9-Anthracencarbonsäure			222,24	

IX. Literatur

- ¹ K.F. Arndt, G. Müller, *Polymercharakterisierung*, Hanser: München, **1996**
- ² H.D. Beckey, *Principles of Field Desorption Mass Spectrometry*, Pergamon: Oxford, **1977**
- ³ L. Prokai, *Field Desorption Mass Spectrometry*, Marcel Dekker, **1990**
- ⁴ M. Barber, R.S. Bordoli, G.J. Elliot, R.D. Sedgwick, A.N. Tyler, *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 645A
- ⁵ M. Barber, R.S. Bordoli, R.D. Sedgwick, A.N. Tyler, *Nature* **1981**, *293*, 270
- ⁶ R.P. Lattimer, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1983**, *55*, 221
- ⁷ R.D. Macfarlane, D.F. Torgerson, *Science* **1976**, *191*, 920
- ⁸ H. Feld, A. Leute, R. Zurmühlen, A. Benninghoven, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 903
- ⁹ M.A. Posthumus, P.G. Kistemaker, H.L.C. Meuzelaar, M.C. ten Neuver de Brauw, *Anal. Chem.* **1978**, *50*, 985-991
- ¹⁰ K.-D. Kupka, F. Hillenkamp, C. Schiller, *Advances in Mass Spectrometry*, Heyden & Sons: London, **1980**
- ¹¹ R.J. Cotter, *Anal. Chem.* **1987**, *195*, 45-49
- ¹² F. Hillenkamp, H. Ehring, *Mass Spectrometry in the Biological Sciences: A Tutorial*, M.L. Gross Ed., Kluwer Academic: Dordrecht
- ¹³ L. Nuwaysir, C.L. Wilkins, *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 279
- ¹⁴ L. Nuwaysir, C.L. Wilkins, W.J.Jr Simonsick, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1990**, *1*, 66
- ¹⁵ M. Karas, F. Hillenkamp, *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 2299-2301
- ¹⁶ U. Bahr, A. Deppe, M. Karas, F. Hillenkamp, U. Giessmann, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 2866-2869
- ¹⁷ D.C. Schriemer, L. Li, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 2721-2725
- ¹⁸ P.M. Lloyd, K.G. Suddaby, J.E. Varney, E. Scrivener, P.J. Derrick, D.M. Haddleton, *Eur. Mass Spectrom.* **1995**, *1*, 293-300

-
- ¹⁹ G. Montaudo, M.S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1994**, *8*, 1011-1015
- ²⁰ G. Montaudo, M.S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 453-460
- ²¹ G. Montaudo, M.S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, *Macromolecules* **1995**, *28*, 4562-4569
- ²² H. Pasch, F. Gores, *Polymer* **1995**, *36*, 1999-2005
- ²³ Y.L. Kim, D.M. Hercules, *Macromolecules* **1994**, *27*, 7855
- ²⁴ D. Garozzo, G. Impallomeni, E. Spina, L. Sturiale, G. Zanetti, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 937
- ²⁵ G. Montaudo, D. Garozzo, M.S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, *Macromolecules* **1995**, *28*, 7983-7989
- ²⁶ G. Montaudo, M. S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 1158-1163
- ²⁷ X. Fei, K.K. Murray, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 3555-3560
- ²⁸ H. Pasch, K. Rode, *J. Chromatogr. A* **1995**, *699*, 21-29
- ²⁹ F. Hillenkamp, M. Karas, R. C. Beavis, B. T. Chait, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1193-1202
- ³⁰ R.P. Krüger, *GIT Fachz. Lab.* **1995**, *3*, 189
- ³¹ R.J. Cotter, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1027A-1039A
- ³² R.S. Brown, J.J. Lennon, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1998-2003
- ³³ H.H. Willard, L.L. Merritt Jr., J.A. Dean, F.A. Settle Jr., *Instrumental methods of analysis*, Wadsworth Publishing Company: Belmont, **1988**, p.487
- ³⁴ H.H. Willard, L.L. Merritt Jr., J.A. Dean, F.A. Settle Jr., *Instrumental methods of analysis*, Wadsworth Publishing Company: Belmont, **1988**, p.355-357
- ³⁵ H.H. Willard, L.L. Merritt Jr., J.A. Dean, F.A. Settle Jr., *Instrumental methods of analysis*, Wadsworth Publishing Company: Belmont, **1988**, p.144-146

-
- ³⁶ B. Spengler, D. Kirsch, R. Kaufmann, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1991**, *5*, 198
- ³⁷ B. Spengler, D. Kirsch, R. Kaufmann, E. Jaeger, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1992**, *6*, 105
- ³⁸ B. Spengler, D. Kirsch, R. Kaufmann, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 9678
- ³⁹ R. Kaufmann, D. Kirsch, B. Spengler, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1994**, *131*, 355
- ⁴⁰ R. Kaufmann, B. Spengler, F. Lützenkirchen, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1993**, *7*, 902-910
- ⁴¹ A. Lehmann, Doktorarbeit, Universität Potsdam, **1999**
- ⁴² W.A. Goedel, A. Lehmann, *Polym. Prepr.* **1997**, *38*, 630
- ⁴³ L. Finegold, *Cholesterol in Membrane Models*, CRC, **1993**
- ⁴⁴ H. Ishiwata, A. Vertut-Doi, T. Hirose, K. Miyajima, *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 1005-1011
- ⁴⁵ S. Lee, M.A. Winnik, R.M. Whittal, Liang Li, *Macromolecules* **1996**, *29*, 3060-3072
- ⁴⁶ R.M. Whittal, Liang Li, *Macromol. Rapid Commun.* **1996**, *17*, 59-64
- ⁴⁷ R.S. Brown, J.J. Lennon, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1998
- ⁴⁸ R.D. Edmondson, D.H. Russell, *J. Am. Soc. Mass spectrom.* **1996**, *7*, 995
- ⁴⁹ R.M. Whittal, L.M. Russon, S.R. Weinberger, L. Li, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2147
- ⁵⁰ R.M. Whittal, D.C. Schriemer, L. Li, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2734
- ⁵¹ M.W.F. Nielen, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 1563
- ⁵² M.W.F. Nielen, S. Malucha, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 1194
- ⁵³ G. Montaudo, M.S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 4366-4369
- ⁵⁴ H. Mandal, A.S. Hay, *High Perform. Polym.* **1997**, *9*, 215
- ⁵⁵ H. Pasch, K. Rode, R. Gahary, D. Braun, *Angew. Makromol. Chem.* **1996**, *241*, 95
- ⁵⁶ S. Lee, T. Wyttenbach, G. von Helden, M.T. Bowers, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10159

-
- ⁵⁷ G. von Helden, T. Wyttenbach, M.T. Bowers, *Science* **1995**, 267, 1483
- ⁵⁸ A.T. Jackson, H.T. Yates, J.H. Scrivens, G. Critchley, J. Brown, M.R. Green, R.H. Bateman, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1996**, 10, 1668
- ⁵⁹ R.H. Wiley, *Macromolecules* **1971**, 4, 254
- ⁶⁰ S. Fotori, M. Giuffrida, P. Maravigna, G. Montaudo, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1983**, 21, 1567
- ⁶¹ J. Lub, G.H. Werumeus Buning, *Polymer* **1990**, 31, 1009
- ⁶² A. Horbach, H. Vernaleken, K. Weirauch, *Makromol. Chem.* **1980**, 181,111
- ⁶³ J.I. Kroschwitz, Ed., „*Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*„, Vol. 2, 2nd edition, J. Wiley & Sons, New-York **1985**
- ⁶⁴ L. H. Radzilowski, S.I. Stupp, *Macromolecules* **1994**, 27, 7747
- ⁶⁵ S.I. Stupp, V. LeBonheur, L.S. Li, K.E. Huggins, M. Keser, A. Armstutz, *Science* **1997**, 276, 384
- ⁶⁶ R. Giesa, *J. Macromol. Sci., Rev. Macromol. Chem. Phys.* **1996**, C36, 631
- ⁶⁷ V. Francke, H.-J. Räder, Y. Geerts, K. Müllen, *Macromol. Rapid Commun.* **1998**, 19, 275-281
- ⁶⁸ T.-W. Chan, A.W. Colburn, P.J. Derrick, *Org. Mass Spectrom.* **1991**, 26, 342
- ⁶⁹ P. Juhasz, B.H. Wang, K. Biemann, Proceedings of the 40th Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Washington, p. 372, ASMS, Santa Fe (**1992**)
- ⁷⁰ R. Knochenmuss, F. Dubois, M.J. Dale, R. Zenobi, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1996**, 10, 871-877
- ⁷¹ T.L. Selby, C. Wesdemiotis, R.P. Lattimer, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1994**, 5, 1081
- ⁷² K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4467
- ⁷³ P. Juhasz, C. E. Costello, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1993**, 7, 343-351

- ⁷⁴ H.-J. Räder, J. Spickermann, M. Kreyenschmidt, K. Müllen, *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 3285-3296
- ⁷⁵ M. Remmers, B. Müller, K. Martin, H.-J. Räder, W. Köhler, *Macromolecules* **1999**, *32*, 1073-1079
- ⁷⁶ J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*, VCH: Weinheim, **1995**
- ⁷⁷ J.-M. Lehn, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1347-1362
- ⁷⁸ C.H. Weidl, Diplomarbeit, Technische Universität München, **1997**
- ⁷⁹ P.J. Stang, K. Chen, A.M. Arif, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8793
- ⁸⁰ A.S. Woods, J.C. Buchsbaum, T.A. Worall, J.M. Berg, R.J. Cotter, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 4462-4465
- ⁸¹ D. Vitalini, P. Mineo, S. Di Bella, I. Fragalà, P. Maravigna, E. Scamporrino, *Macromolecules* **1996**, *29*, 4478-44857
- ⁸² Y. Dai, T.J. Katz, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1274-1285
- ⁸³ U.S. Schubert, G.S. Hanan, D. Volkmer, J.-M. Lehn, J. Hassmann, C.Y. Hahn, O. Waldmann, P. Müller, G. Baum, D. Fenske, *9th International Symposium on Molecular Recognition and Inclusion*, A. Coleman Ed., Kluwer Academic, **1998**
- ⁸⁴ G.S. Hanan, D. Volkmer, U.S. Schubert, J.-M. Lehn, G. Baum, D. Fenske, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1842-1844
- ⁸⁵ O. Waldmann, J. Hassmann, P. Müller, G.S. Hanan, D. Volkmer, U.S. Schubert, J.-M. Lehn, *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 3390
- ⁸⁶ U.S. Schubert, Post-Doc Report, université Strasbourg, 1996
- ⁸⁷ U.S. Schubert, J.-M. Lehn, J. Hassmann, C.Y. Hahn, N. Hallschmid, P. Müller, *ACS-Volume „Functional Polymers“*, Ed. Patil, **1998**
- ⁸⁸ I.A. Mowat, R.J. Donovan, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 82-90
- ⁸⁹ C.K.L. Wong, T.-W. Dominic Chan, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 513-519
- ⁹⁰ J.A. Whiteford, C.V. Lu, P.J. Stang, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2524-2533

- ⁹¹ J.A. Whiteford, E.M. Rachlin, P.J. Stang, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2643-2648
- ⁹² P.J. Stang, N.E. Persky, J. Manna, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4777-4778
- ⁹³ N.E. Persky, Ph.D. Thesis, University of Utah, **1998**
- ⁹⁴ M. Zander, *Polycyclische Aromaten - Kohlenwasserstoffe und Fullerene*, Teubner: Stuttgart, **1995**
- ⁹⁵ A. Gavezzoti, *Acta Cryst.* **1988**, *B44*, 427-434
- ⁹⁶ G.R. Desiraju, A. Gavezzoti, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 621-622
- ⁹⁷ H. Bengs, F. Closs, T. Frey, D. Funhoff, H. Ringsdorf, K. Siemensmeyer, *Liq. Cryst.* **1991**, *15*, 565-574
- ⁹⁸ D. Adam, P. Schumacher, J. Simmerer, L. Häussling, W. Paulus, K. Siemensmeyer, K.H. Etzbach, H. Ringsdorf, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 276-280
- ⁹⁹ E. Clar, *Aromatische Kohlenwasserstoff - Polycyclische Systeme*, Springer: Berlin, **1952**; E. Clar, *The Aromatic Sextet*, Wiley: London, **1972**;
- ¹⁰⁰ J.R. Dias, *Handbook of Polycyclic Hydrocarbons - Part a: Benzenoid Hydrocarbons*, Elsevier: Amsterdam, **1987**; *Top. Curr. Chem. 153 (Advances in the Theory of Benzenoid Hydrocarbons)*, **1990**
- ¹⁰¹ M. Müller, H. Mauermann-Düll, M. Wagner, V. Enkelmann, K. Müllen, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1751-1754
- ¹⁰² M. Müller, J. Petersen, R. Strohmaier, C. Günther, N. Karl, K. Müllen, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 947-950
- ¹⁰³ A. Stabel, P. Herwig, K. Müllen, J.P. Rabe, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1768-1770
- ¹⁰⁴ V.S. Iyer, M. Wehmeier, J.D. Brand, M.A. Keegstra, K. Müllen, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1676-1679
- ¹⁰⁵ F. Morgenroth, E. Reuther, K. Müllen, *Angew. Chem.* **1997**, *36*, 631-634
- ¹⁰⁶ P. Kovacic, M.B. Jones, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 357-379
- ¹⁰⁷ E. Constantin, A. Schnell, *Mass Spectrometry*, Ellis Horwood Limited, Chichester **1991**

- ¹⁰⁸ V.S. Iyer, K. Yoshimura, V. Enkelmann, R. Epsch, J.P. Rabe, K. Müllen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2696-2699
- ¹⁰⁹ M. Müller, V.S. Iyer, C. Kübel, V. Enkelmann, K. Müllen, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1679-1682
- ¹¹⁰ G.R. Desiraju, A. Gavezzotti, *Acta Cryst.* **1989**, *B45*, 473-482
- ¹¹¹ J.-D. Brand, Dissertation, Johannes Gutenberg Universität, Mainz, **1999**
- ¹¹² F. Morgenroth, E. Reuther, K. Müllen, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 647-649
- ¹¹³ C. Yeretjian, K. Hansen, F. Diederich, R.L. Whetten, *Nature*, **1992**, *359*, 44-47
- ¹¹⁴ T. Mauney, *Anal. Chim. Acta* **1987**, *195*, 337-341
- ¹¹⁵ D.N. Lineman, S.K. Viswanadham, A.G. Sharkey, D.M. Hercules, *Proceeding of the 24th Annual Conference on the Microbeam Analysis Society*, P.E. Russell Ed.: San Francisco, **1989**, 297-298
- ¹¹⁶ M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, F. Hillenkamp, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1987**, *78*, 53-68
- ¹¹⁷ K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1988**, *2*, 151-153
- ¹¹⁸ T.-W. Chan, A.W. Colburn, P.J. Derrick, *Org. Mass Spectrom.* **1992**, *27*, 5-56
- ¹¹⁹ D.S. Cornett, M.A. Duncan, I.J. Amster, *Org. Mass Spectrom.* **1992**, *27*, 831-832
- ¹²⁰ V.S.K. Kolli, R. Orlando, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1996**, *10*, 923-926
- ¹²¹ J. Sunner, E. Dratz, Y.-C. Chen, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 4335-4342
- ¹²² U. Brackmann, *Lambdachrome laser dyes*, Lambda Physik, Lasertechnik: Göttingen, **1986**
- ¹²³ M. Müller, *Dissertation*, Johannes Gutenberg Universität, Mainz **1997**
- ¹²⁴ J. Spickermann, K. Martin, H.-J. Räder, K. Müllen, H. Schlaad, A.H.E. Müller, R.-P. Krüger, *Eur. Mass Spectrom.* **1996**, *2*, 161-165
- ¹²⁵ J. Spickermann, *Dissertation*, Johannes-Gutenberg Universität Mainz, Mainz, **1997**

- ¹²⁶ S.G. Lias, J.E. Bartmess, J.F. Liebman, J.L. Holmes, R.D. Levin, W.G. Mallard, *Gas-phase Ion and Neutral Thermochemistry*; American Chemical Society: New York, **1988**
- ¹²⁷ P. Cremonesi, E. Rogan, E. Cavalieri, *Chem. Res. Toxicol.* **1992**, *5*, 346-355
- ¹²⁸ R. Tembreull, D.M. Lubman, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1299-1303
- ¹²⁹ O.P. Haefliger, R. Zenobi, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 2660-2665
- ¹³⁰ A. Vertes, R. Gijbels, F. Adams, *Laser Ionization Mass Analysis*, John Wiley & Sons, Inc.: New York, **1993**, p. 322-328
- ¹³¹ R.C. Beavis, B.T. Chait, *Chem. Phys. Lett.* **1991**, *181*, 479-484
- ¹³² A. Vertes, R. Gijbels, F. Adams, *Laser Ionization Mass Analysis*, John Wiley & Sons, Inc.: New York, **1993**, p. 139; 154-158
- ¹³³ J. Claereboudt, M. Claeys, R. Gijbels, A. Vertes, *Proc. 39th ASMS Conf. Mass Spectrom. Allied Top.*, Nashville, Tennessee, **1991**, p.322-323
- ¹³⁴ R.E. Smalley, L. Wharton, D.H. Levy, *Acc. Chem. Res.* **1977**, *10*, 139
- ¹³⁵ J.M. Hayes, G.J. Small, *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 565A
- ¹³⁶ D.H. Levy, *Science* **1981**, *214*, 263-269
- ¹³⁷ M.V. Johnston, *Trends in Anal. Chem.* **1984**, *3*, 58-61
- ¹³⁸ R. Zimmermann, C. Lerner, K.W. Schramm, A. Kettrup, U. Boesl, *Eur. Mass Spectrom.* **1995**, *1*, 341-351
- ¹³⁹ D.M. Lubman *Anal. Chem.* **1987**, *29*, 31A-40A
- ¹⁴⁰ R. Tembreull, D.M. Lubman *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 1962-1967
- ¹⁴¹ U. Boesl, H.J. Neusser, E.W. Schlag, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5058-5060
- ¹⁴² H.J. Neusser, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1987**, *79*, 141-181
- ¹⁴³ L. Li, D.M. Lubman, *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 2591-2598
- ¹⁴⁴ C.F.H. Allen, F.P. Pingert, *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64*, 1365
- ¹⁴⁵ K. Balasanmugan, S.K. Viswanadham, D.M. Hercules, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1102-1108

- ¹⁴⁶ L. Van Vaeck, J. Claereboudt, J. De Waele, E. Esmans, R. Gijbels, *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 2944-2951
- ¹⁴⁷ P.F. Greenwood, M.G. Strachan, G.D. Willett, M.A. Wilson, *Org Mass Spectrom.* **1990**, *25*, 353-362
- ¹⁴⁸ Bisher unveröffentlichte Ergebnisse
- ¹⁴⁹ M. Remmers, Titel, Dissertation, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, Jahr
- ¹⁵⁰ N. Miyaura, T. Ishiyama, H. Sasaki, M. Ishikawa, M. Satoh, A. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 314-321
- ¹⁵¹ K. Müllen, G. Wegner, *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 433-436
- ¹⁵² M.E. Vaschetto, A.P. Monkman, M. Springborg, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1999**, *468*, 181-191
- ¹⁵³ D.M. Lubman, *Lasers and mass spectrometry*, Oxford University Press, New York, **1990**, p. 356
- ¹⁵⁴ D.M. Lubman, *Lasers and mass spectrometry*, Oxford University Press, New York, **1990**, p. 503
- ¹⁵⁵ R. Tembreull, C.H. Sin, P. Li, H.M. Pang, D.M. Lubman, *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 1186-1192
- ¹⁵⁶ C.N. McEwen, C. Jackson, B.S. Larsen, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **1997**, *160*, 387-394
- ¹⁵⁷ K. Martin, J. Spickermann, H.-J. Räder; K. Müllen, *Rapid. Commun. Mass Spectrom.* **1996**, *10*, 1471-1474
- ¹⁵⁸ P.M. Lloyd, E. Scrivener, D.R. Maloney, D.M. Haddleton, P.J. Derrick, *Polym. Prepr.* **1996**, *37*, 847-848
- ¹⁵⁹ J. Gidden, A.T. Jackson, J.H. Scrivens, M.T. Bowers, *Int. J. Mass Spectrom Ion Processes* **1999**, *188*, 121-130
- ¹⁶⁰ S. Maleknia, J. Brodbelt, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4295-4298

Veröffentlichungen:

„Post-source decay fragment-ion analysis of polycarbonates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry“

L. Przybilla, H.-J. Räder, K. Müllen, *Eur. Mass Spectrom.* **1999**, 5, 133-143

„MALDI-TOF mass spectrometry of insoluble giant polycyclic aromatic hydrocarbons by a new method of sample preparation“

L. Przybilla, J.D. Brand, K. Yoshimura, H.-J. Räder, K. Müllen, accepted by *Anal. Chem.*

„Characterization of large synthetic polycyclic aromatic hydrocarbons by MALDI- and LD-TOF Mass Spectrometry“

K. Yoshimura, L. Przybilla, S. Ito, J.-D. Brand, M. Wehmeier, H.-J. Räder, K. Müllen, accepted by *Macromol. Chem. Phys.*

„Block length determination of a poly(ethylene oxide)-*b*-poly(*para*-phenylene ethynylene) diblock copolymer by means of MALDI-TOF mass spectrometry combined with fragment-ion analysis“

L. Przybilla, V. Francke, H.-J. Räder, K. Müllen, submitted to *Macromolecules*

Teilnahme an Tagungen und Workshops:

III. Kolloquium zur Anwendung der MALDI-TOF-MS zur Charakterisierung von Polymeren, 17. Mai 1999, Berlin, Vortrag: „Einfluß der Polymerstruktur auf das Fragmentierungsverhalten synthetischer Polymere“

Workshop on mass spectrometry of polymers, 1. bis 3. Dezember 1999, Catania (Italien), Posterpräsentationen: 1) „Block length determination of a rod-coil copolymer by means of MALDI-TOF mass spectrometry combined with fragment ion analysis“, 2) Post-source decay-fragment ion analysis of polycarbonate by MALDI-TOF mass spectrometry