

**Neue methodische Konzepte beim Einsatz der  
MALDI-(TOF)-Massenspektrometrie zur Analyse  
technischer Polymere sowie tensidischer  
Produkte auf Basis nachwachsender Rohstoffe**

vom Fachbereich C (Mathematik und Naturwissenschaften)

der Bergischen Universität Wuppertal

genehmigte Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde

- Doktor der Naturwissenschaften -

(Dr. rer. nat.)



vorgelegt von

**Volker Wulf**

(Dipl.-Chem.)

aus Stolberg (Rhld.)

Wuppertal, November 2009

Diese Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20100145

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20100145>]

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit

von Juli 2007 bis November 2009

auf Anregung von

**HERRN PROF. DR. HANS-WILLI KLING**

im Arbeitskreis Analytische Chemie

der Bergischen Universität Wuppertal

unter Leitung von

**HERRN PROF. DR. SIEGMAR GÄB.**

**DIE IN DIESER ARBEIT BESCHRIEBENE FORSCHUNG**

**WURDE FINANZIERT VON DER**

**COGNIS GMBH**

**UND DER**

**SHIMADZU EUROPA GMBH.**



Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig im Arbeitskreis Analytische Chemie unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. S. Gäb durchgeführt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Wuppertal, 23. November 2009

---

(Volker Wulf)



## Danksagung

Besonders danken möchte ich meinem Doktorvater HERRN PROF. DR. SIEGMAR GÄB für die freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe der Analytischen Chemie, die interessante Aufgabenstellung dieser Arbeit und seine stetige Unterstützung bei jeglichem Diskussionsbedarf.

Bei Herrn PROF. DR. OLIVER J. SCHMITZ bedanke ich mich für die kontinuierliche Unterstützung im Laufe dieser Arbeit und die gute Zusammenarbeit in dieser Zeit.

Mein besonderer Dank gilt auch HERRN PROF. DR. HANS-WILLI KLING für das in mich gesetzte Vertrauen und die finanzielle Unterstützung seitens des Kooperationspartners Cognis GmbH. Durch seine Unterstützung des Projektes und interessante Fachgespräche in dieser Zeit konnte die Arbeit in dieser Form umgesetzt werden.

Herrn PROF. DR. THORSTEN BENTER danke ich für einige sehr interessante und wertvolle Fachgespräche.

In hohem Maße danke ich Frau DR. MICHAELA WIRTZ für die intensive Betreuung dieser Arbeit und Koordination des gesamten Projektes. Durch sie fand eine für mich sehr erfolgreiche Unterstützung statt, die durch ausgezeichnet verlaufenden Informationsfluss und regen Gedankenaustausch gekennzeichnet war. Gleichzeitig stellte sie so eine intensive Verbindung zwischen der Industrie (Cognis GmbH) und der Analytischen Chemie der Bergischen Universität Wuppertal her.

Herrn DR. MARTIN RESCH danke ich sehr für die Unterstützung von Seiten des Kooperationspartners Shimadzu Europa GmbH. Seine freundliche Einarbeitung in das MALDI-(TOF)MS-System und die Vermittlung wichtiger Grundlagen bei der Polymeranalytik mittels MALDI-MS waren außerordentlich hilfreich. Zudem schätzte ich

jederzeit seine große Fachkompetenz. Ich bedanke mich bei ihm für die durchgeführten Analysen am MALDI-QIT-(TOF)MS.

Frau JANINE BURSA und Frau FRIEDERIKE VON RATH danke ich sehr für die Unterstützung durch ihre wissenschaftlichen Abschlussarbeiten. Durch ihren Einsatz konnten Teile dieser Forschung besonders intensiv bearbeitet und Erkenntnisse umgesetzt werden.

Bei Herrn DR. KARL-HEINZ SCHÄFFNER bedanke ich mich für hoch interessante und aussagefähige Rasterelektronenmikroskopieaufnahmen, die für diese Arbeit wichtige Erkenntnisse lieferten.

Bei Herrn DR. DAVID MELCHIOR bedanke ich mich für einige interessante Gespräche und neue Ideen bei den Projekttreffen.

Bei Herrn DR. STEFAN DROSTE und Herrn DR. ROLAND THIELE bedanke ich mich für die Vermittlung statistischer Grundlagen und die Ideen zur Erstellung der in dieser Arbeit beschriebenen Versuchspläne.

Meinen Bürokollegen ROMAN DÜCK, DENNIS KLINK, DR. RALF SCHIEWEK, DR. MARKUS THIEMANN und BERND WALLMICHATH danke ich für ein außerordentlich gutes Arbeitsklima, interessante Gespräche und viele heitere Stunden.

Ein Dank gilt Herrn MATTHIAS ALBERS für massenspektrometische Analysen am ESI-Q(TOF)MS-System und interessante Fachgespräche.

Für die Anfertigung und Modifikation einiger Geräteteile danke ich der Werkstatt der Bergischen Universität Wuppertal mit AXEL BRAKELMANN und seinen Mitarbeitern.

Herrn BERND WALLMICHRATH danke ich für die Unterstützung bei der Formatierung dieser Arbeit und die hervorragende Zusammenarbeit bei Ausdruck- und Bestellvorgängen der von mir recherchierten Literatur.

Hiermit möchte ich mich bei allen Mitgliedern des Arbeitskreises der Analytischen Chemie für das außerordentlich gute Arbeitsklima sehr herzlich bedanken.

Meiner Frau BARBARA danke ich sehr für ihre Unterstützung und große Toleranz während der gesamten Zeit. Zudem danke ich ihr für das Korrekturlesen vieler Texte und dieser Arbeit.

Meiner Familie sowie der Familie meiner Frau danke ich, dass sie mich stets auf unterschiedlichste Art und Weise unterstützt haben.



*Für Barbara*



## Abkürzungsverzeichnis

3H-PA	3-Hydroxypicolinsäure
Abb.	Abbildung
AG	Alkylpolyglucosid
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization (Chemische Ionisation unter Atmosphärendruck)
APLI	Atmospheric Pressure Laser Ionization (Laserionisation unter Atmosphärendruck)
bzw.	beziehungsweise
CI	Chemische Ionisation
CID	Collision-Induced-Dissociation
C <sub>x</sub>	Alkylkettenlänge
Da	Dalton
DC	Dünnschichtchromatographie
DCTB	2-[(2E)-3-(4- <i>tert</i> -butylphenyl)-2-methylprop-2-enylidene]-malononitril
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DIOS	Desorption/Ionization on Silicon
EDX	energy dispersive X-ray spectroscopy (Energiedispersive Röntgenspektroskopie)
EI	Elektronenstoßionisation
EO	Ethoxylate / Ethylenoxid
EO <sub>x</sub>	Ethoxylierungsgrad
ESI	Elektrosprayionisation
FA	Fettalkohol
FAEO	Fettalkoholethoxylat
FAES	Fettalkoholethersulfat
FAPO	Fettalkoholpropoxylat
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GCxGC	Comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie
GPC	Gelpermeationschromatographie
HCCA	$\alpha$ -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
HPLC-FLD	Hochleistungsflüssigchromatographie mit Fluoreszenz-Detektion
HPLC-UV	Hochleistungsflüssigchromatographie mit UV-Detektion

HT-GC	Hochtemperatur-Gaschromatographie
IR	infrarot
LC	Flüssigchromatographie
LDI	Laser Desorption/Ionization
<i>m/z</i>	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (matrixunterstützte Laser-Desorption/Ionisation)
MALDI-MS	MALDI-Massenspektrometrie
MCP	Multichannelplate
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
MS <sup>2</sup>	Tandem-Massenspektrometrie
PAK	Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe
PEG	Polyethylenglycol
PMMA	Polymethylmethacrylat
PO	Propoxylate / Propylenoxid
PO <sub>x</sub>	Propoxylierungsgrad
PS	Polystyrol
PSD	Post-Source-Decay
REK	Kontrastaufnahme der rückgestreuten Elektronen
REM	Rasterelektronenmikroskop
S/N	Signal-zu-Rausch-Verhältnis
SALDI	Surface-Assisted Laser Desorption/Ionisation (oberflächenunterstützte Laser-Desorption/Ionisation)
SEC	Size Exclusion Chromatography (Größenausschlusschromatographie)
SEK	Sekundärelektronenkontrastaufnahme
SPS	Natrium-Polystyrolsulfonat
TIC	Total Ion Count (Totalionenstrom)
TOF	Time-Of-Flight (Flugzeitanalysator)
UV	ultraviolett
vgl.	vergleiche

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und theoretische Grundlagen .....	1
1.1	MALDI-(TOF)-Massenspektrometrie .....	2
1.1.1	Das Prinzip der MALDI-(TOF)-Massenspektrometrie .....	2
1.1.1.1	Die MALDI-Ionenquelle .....	3
1.1.1.2	Der Massenanalysator .....	5
1.1.1.3	Die Detektoren .....	8
1.1.2	Methoden der MALDI-(TOF)-Massenspektrometrie und einflussnehmende Parameter .....	8
1.1.3	Der MALDI-Prozess .....	12
1.2	Stand der Polymer- und Tensidanalytik und Verwendung der MALDI- Massenspektrometrie .....	14
2	Problemstellung und Zielsetzung .....	18
3	Ergebnisse und Diskussion .....	20
3.1	Optimierung der klassischen MALDI-(TOF)MS-Analyse von Polymeren und Tensiden .....	22
3.1.1	Vergleichsmessungen an Fettalkoholethoxylaten .....	24
3.1.2	Optimierung der Salzadduktbildung .....	30
3.2	Systematische Untersuchungen zur Optimierung der MALDI-(TOF)MS- Analyse polydisperser Aktivkomponenten .....	36
3.2.1	Grundlagen der statistischen Versuchsplanung .....	37
3.2.2	Versuchsplanerstellung und Kriterien zur Beurteilung der Massenspektren .....	38
3.2.3	Interpretation und Auswertung der Ergebnisse mittels Hauptkomponentenanalyse .....	41
3.2.4	Zusammenfassung der Ergebnisse des statistischen Optimierungsansatzes .....	45
3.3	Einsatz der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung .....	48
3.3.1	Untersuchung von Polymeren .....	49

3.3.2	Verwendung von Bleistift zur matrix-freien Laser-Desorption/Ionisation .....	53
3.4	Weiterentwicklung der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung.....	60
3.4.1	Untersuchung unterschiedlicher Einflüsse bei der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung .....	61
3.4.1.1	Einfluss der Matrix.....	62
3.4.1.2	Einfluss des Targetmaterials.....	64
3.4.2	Einfluss der Probenbeschichtung des Targets auf den (MA)LDI-Prozess.....	66
3.5	MALDI-MS/MS-Experimente zur Charakterisierung von Copolymeren ....	71
3.5.1	Unterscheidung von Random- und Blockcopolymeren mittels MALDI-CID-Experimenten von Fettalkoholalkoxylaten.....	72
3.5.2	Vergleichende Studien von Hochenergie- und Niedrigenergie-CID- Experimenten zur Analyse von Fettalkoholalkoxylat-Copolymeren.....	79
3.6	Ausblick .....	86
4	Zusammenfassung .....	88
5	Experimenteller Teil.....	91
5.1	Kalibrierung des MALDI-(TOF)-Massenspektrometers.....	91
5.2	Probenvorbereitung .....	92
5.2.1	Probennahme und Vorbereitung der MALDI-Targets .....	92
5.2.2	Probenvorbereitung zu den Experimenten der Matrixvariation und Variation der Laserenergie.....	93
5.2.3	Probenvorbereitung zur Optimierung der Salzvorbereitung .....	93
5.2.4	Lösungsmittelfreie Probenvorbereitung.....	94
5.2.5	Probenvorbereitung unter Verwendung von Bleiftift .....	95
5.2.6	Probenvorbereitung unter Verwendung der Silikat-Matrix.....	95
5.2.7	Probenvorbereitung für MS/MS-Messungen .....	95
5.3	Aufnahme der Massenspektren .....	95
5.4	Rasterelektronenmikroskopie.....	97

5.5	UV/Vis-Spektrometrie .....	98
5.6	Geräte und Materialien.....	98
5.6.1	Massenspektrometrie, Rasterelektronenmikroskopie und Spektroskopie	98
5.6.2	Probenvorbereitung und Materialien.....	100
5.6.3	Weitere PC-Systeme und Software.....	102
5.7	Chemikalien .....	102
5.7.1	Technische Produkte und untersuchte Polymere.....	102
5.7.2	MALDI-Matrices.....	103
5.7.3	Lösungsmittel.....	103
5.7.4	Salze.....	104
5.7.5	weitere Chemikalien .....	104
6	Anhang.....	105
6.1	Abbildungsverzeichnis.....	116
6.2	Tabellenverzeichnis.....	121
7	Literaturverzeichnis .....	122



## Abstract

The work presented here has concentrated on the application of classical MALDI-MS methods for the analysis of products from the fat-chemical industry, such as fatty alcohol ethoxylates. For this, the influence of parameters like sample preparation or various instrument settings on the analysis of polydisperse products was examined. It was possible to show the influence of the laser energy selected and the type of classical MALDI matrix used for the MALDI mass spectra, i.e. on the polymer distributions obtained.

Preparing a classical MALDI sample requires mixing the polymer sample, the MALDI matrix and the cationizing salt in a solution and applying this solution to a MALDI target. For optimizing these classical MALDI sample preparations, the MALDI target can be coated with a salt layer and afterwards be covered with an analyte-matrix mixture based on an organic solvent. It could be observed that by means of this procedure, alkaline metal salt adducts of the analyte molecules can be obtained selectively and undesired sub-distributions can be suppressed.

On the basis of three selected products (a fatty alcohol ethoxylate, an alkyl polyglucoside and a fatty alcohol ether sulphate) the systematic studies presented in this thesis show how to optimize the MALDI-(TOF)MS analysis of polydisperse active compounds. The results presented have been achieved by a statistical experimental design, with the matrix, the solvent and the salt used being varied throughout the various experiments. For interpreting and evaluating the results gained during these experiments, principal-component analyses and single-variance analyses were used. For example, the characteristics of the potassium-adduct formation by alkyl polyglucosides could be shown in this way. It was possible to determine important parameters for preparing samples of various types of surfactants. Furthermore, it was possible to demonstrate the enormous impact of the matrix and the ionization additive used. In contrast, the solvents used only had a small, that is to say non-significant influence on the target value. For each of the three products two methods could be found, which are highly important for the MALDI analysis of the particular type of surfactant.

This work has also concentrated on the testing and enhancement of the solvent-free sample preparation. By more evenly covering the entire target surface with matrix and sample, the reproducibility of the individual mass spectra can be substantially improved. Since this is important for quantitative or semi-quantitative analysis by MALDI-MS, the advantages of this procedure become evident. Experiments have shown that alternative matrices like alu-

minium oxide or oxalic acid, which do not correspond to classical MALDI concepts, can also be used for laser desorption/ionization. Though the target material does not influence the MALDI process of a sample prepared solvent-free, it could be seen that a specific structure of the target surface has a strong influence on the resulting mass spectra. In addition to the mass spectra obtained, the results could be visualized and thus be attested by means of a scanning electron microscope. A further improvement of the solvent-free sample preparation was made by applying the analyte-matrix mixture to a notch on the target. A homogeneous allocation of sample, matrix and salt of high homogeneity could be observed, which ensured a high lasershot-to-lasershot-reproducibility. Furthermore, these results made it possible to disprove the theory that an interaction of laser light and target surface is of importance for the MALDI processes in lower mass ranges. Experiments with solvent-free prepared samples showed that processes of laser desorption/ionization and matrix-assisted laser desorption/ionization take place. While the ionization in the lower mass range is explainable by laser desorption/ionization processes, a classical MALDI matrix is required to explain the analysis of the polymers in the higher mass range. Hence, in a mass range of 500 - 2000 Da, one could predict an area in which both ionization mechanisms can be applied. This fact is of high importance for qualitative and (semi-)quantitative analyses of technical products.

MALDI-Tandem mass spectrometry has been efficiently used to characterize copolymers, for example to differentiate between random and block copolymers. By using different CID techniques and varying the adduct ions, differences in the fragmentation pattern of fatty alcohol alkoxylate copolymers could be exposed. Since lithium makes it possible to visualize most of the fragmentation ions in the MS/MS-spectra and thus provides the best information about the products analysed, advantages in the usage of lithium as a cationizing agent could be seen.

# 1 Einleitung und theoretische Grundlagen

„Das Leben ist ein gewaltiges Wunder, wir nähern uns wissenschaftlich den Erklärungen an, aber eine Frage bleibt doch immer bestehen: Warum das alles? Hier glaube ich an Gott.“

Gerhard Ertl

\* 1936

Nobelpreisträger für Chemie 2007

In den vergangenen Jahrzehnten stieg die Anzahl polydisperser Aktivkomponenten unterschiedlicher Zusammensetzung, Struktur und Größe sowie deren Anwendungsmöglichkeiten stark an. Besonders synthetische Polymere auf Basis nachwachsender Rohstoffe haben sich durch ein erhöhtes Umweltbewusstsein, welches sich besonders in Forschung und Industrie durch ein nachhaltiges Denken zeigt, immer mehr durchsetzen können. Durch den Einsatz unterschiedlicher Monomere bei der Polymersynthese und durch spezielle Reaktionsführungen ist es möglich, multifunktionale und auf spezielle Anwendungen maßgeschneiderte Produkte zu erhalten.

An die Polymeranalytik werden deshalb hochkomplexe Anforderungen gestellt. Oftmals reichen einfache Aussagen über die mittlere Polymerkettenlänge eines Produktes nicht aus. Vielmehr wird eine vollständige Charakterisierung der Polymere erwartet, um die Eigenschaften eines Produktes zu optimieren, die Produktion eines industriellen Produktes wirtschaftlich rentabel zu erhalten und eine gleichbleibende Qualität des Produktes zu gewährleisten.

Demnach hat die Polymeranalytik die Aufgaben, die chemische Zusammensetzung der Produkte zu bestimmen, die Anordnung der Polymerbausteine innerhalb einer Polymerkette zu ermitteln, Endgruppen zu identifizieren und das Molekulargewicht bzw. die Molekulargewichtsverteilung zu analysieren.

## 1.1 MALDI-(TOF)-Massenspektrometrie

Die Bedeutung der modernen Massenspektrometrie hat in den letzten Jahren stark zugenommen. Um große, schwerflüchtige Moleküle wie Proteine, Oligonukleotide, Zucker und synthetische Polymere zerstörungsfrei zu ionisieren und diese großen Ionen für die massenspektrometrische Analyse in die Gasphase zu überführen, wurden in den 1980er Jahren neue sanfte Ionisationsmethoden entwickelt [1]. Sowohl die Elektrosprayionisation (*Electrospray Ionization*, ESI), die auf Arbeiten von DOLE et al. zurückgeht und in den 1980er Jahren durch FENN et al. erstmals analytisch angewandt wurde [2-4], als auch die matrixunterstützte Laser-Desorption/Ionisation (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*, MALDI), die in den späten 1980er Jahren parallel von KARAS / HILLENKAMP und TANAKA et al. entwickelt wurde [5-7], haben die Analytik auf diesem Gebiet grundlegend verändert. Im Jahre 2002 wurde für die Entwicklung dieser sanften Ionisationstechniken der Nobelpreis für Chemie an FENN (ESI) [8] und TANAKA (MALDI) [9] verliehen. Diese Verfahren sind bis heute in vielen Bereichen optimiert und weiterentwickelt worden und werden weit verbreitet zur Routineanalytik eingesetzt. Trotzdem sind die grundlegenden Mechanismen dieser Prozesse bis heute nicht zufriedenstellend geklärt.

### 1.1.1 Das Prinzip der MALDI-(TOF)-Massenspektrometrie

Das MALDI-(TOF)-Massenspektrometer besteht, wie auch andere Massenspektrometer-Bauformen, aus drei Hauptkomponenten: der Ionenquelle, dem Massenanalysator und der Detektoreinheit. In der MALDI-Ionenquelle werden die Analyten mit Hilfe eines Lasers mobilisiert und ionisiert. Danach erfolgt die Beschleunigung der Ionen in einem elektrischen Feld und die Auftrennung der geladenen Analyten nach ihrer Flugzeit. Diese aufgetrennten Ionenpakete können dann von einem Detektorsystem registriert werden.

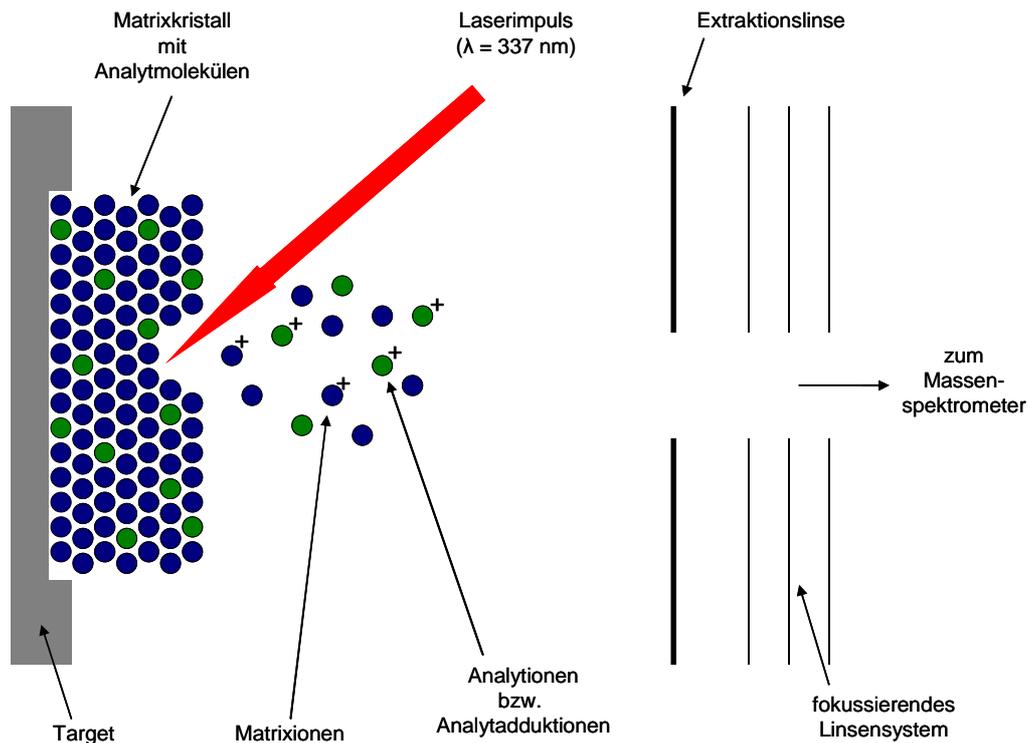
In den folgenden Unterkapiteln ist der Aufbau eines MALDI-(TOF)-Massenspektrometers beschrieben und das allgemeine Prinzip dieser Methode dargestellt.

#### 1.1.1.1 Die MALDI-Ionenquelle

Die Ionenquelle besteht aus einer geladenen Metallelektrode, welche auch als Probenträger dient und als (MALDI)-Target bezeichnet wird und einer geerdeten Beschleunigerelektrode. Bei der klassischen Probenpräparation wird die Probe zu meist mit einem 100 bis 100000-fachen Überschuss an Matrixsubstanz vermischt und auf das Target aufgetragen. Dieses wird in die unter Vakuum stehende Probenkammer der Ionenquelle eingebracht. In einem diskontinuierlichen Prozess wird dann die in die Matrix eingebettete Probe durch gepulstes Laserlicht bestrahlt. Dabei findet der Stickstofflaser bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 337 \text{ nm}$  die häufigste Anwendung in der UV-MALDI. Trotzdem werden zum Teil auch Infrarotlaser zur sogenannten IR-MALDI genutzt [10-12].

Das Prinzip der Ionenerzeugung ist ähnlich der klassischen Laser-Desorption/Ionisation (LDI), bei der aber aufgrund der direkten Energieübertragung nur unfragmentierte Molekülionen von Polymeren bis etwa 3000 Da, in seltenen Fällen auch bis etwa 10 kDa, entstehen können [13, 14]. Beim MALDI-Prozess hingegen geht man davon aus, dass das UV-Licht dazu dient, eine UV-Licht-absorbierende Matrix anzuregen. Im Folgeschritt überträgt die Matrix dann die Energie auf den in der Matrix verteilten Analyten, der ionisiert in die Gasphase übergeht [11, 15]. Eine schematische Darstellung einer MALDI-Ionenquelle und des stattfindenden Desorptions-/Ionisations-Prozesses ist in Abbildung 1 gezeigt.

Der exakte Prozess der Ionenbildung ist bisher leider ungeklärt und Gegenstand einiger Veröffentlichungen, die jedoch zum Teil auf unbewiesenen Vermutungen basieren [12, 16].



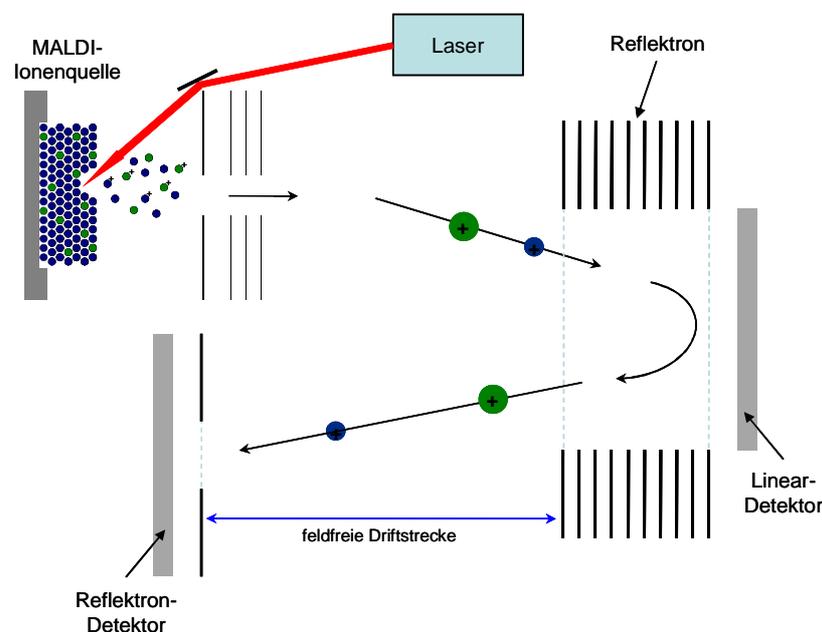
**Abbildung 1:** Schematische Darstellung einer MALDI-Ionenquelle nach [11, 17].

Eine bestimmte Zeit nach dem Laserimpuls und der damit verbundenen Desorption/Ionisation der Analytionen wird die Beschleunigungsspannung hinzugeschaltet, sodass die Ionen in dem elektrischen Feld mit einem Potential von meist 20 kV beschleunigt und nach dem Passieren eines geerdeten Gitters bzw. einer geerdeten Ionenlinse in die feldfreie Driftstrecke des Massenanalysators gelangen. Das Problem bei MALDI-Ionenquellen ist der unterschiedliche Zeitpunkt der Entstehung der Ionen und die damit verbundene Energieverteilung. Dies führt zu einer Signalverbreiterung und dadurch zu einer geringeren Massenauflösung. Aus diesem Grund bedienen sich moderne MALDI-Massenspektrometer der sogenannten „*Delayed Extraction*“-Technik [18-21]. Hierbei wird eine zweistufige Beschleunigungszone dazu verwendet, die beim Laserschuss entstehenden Ionen erst nach einer Verzögerung aus der Ionenquelle herauszubeschleunigen. Dem Target (Potential  $V_1$ ) folgt eine erste Lochblende (Potential  $V_2$ ) und eine weitere geerdete Lochblende. Zur Verzögerung wird zunächst kein Potential zwischen Target und der ersten Blende angelegt. Ionen mit größerer Geschwindigkeit bei gleichem  $m/z$ -Verhältnis wandern in dieser Zeit

schneller an die erste Blende als langsamere Ionen. Durch das Anlegen des gepulsten Potentials entsteht ein elektrostatisches Gradientenfeld. Dadurch erfahren die langsameren Ionen ein stärkeres elektrostatisches Extraktionsfeld als die schnelleren. Die Ionen können anschließend fokussiert von einem konstanten Potential auf ihre Endgeschwindigkeit beschleunigt werden. Um eine gute massenspektrometrische Auflösung zu erhalten, ist es nötig die „Delayed Extraction“-Einstellungen für jedes Produkt und jeden Massenbereich zu optimieren [18].

### 1.1.1.2 Der Massenanalysator

In der MALDI-Massenspektrometrie werden fast ausschließlich Flugzeitmassenspektrometer (*Time-of-Flight*, TOF) verwendet. Da sowohl die MALDI-Quelle als auch der TOF-Analysator diskontinuierlich arbeiten, hat sich diese Kombination als besonders nützlich herausgestellt. Der schematische Aufbau eines MALDI-(TOF)-Massenspektrometers ist in Abbildung 2 dargestellt.



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung des Aufbaus eines MALDI-(TOF)-Massenspektrometers nach [10].

Im Gegensatz zu Quadrupol- oder Sektorfeld-Massenspektrometern, die ein elektrisches und / oder magnetisches Feld zur Trennung der Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis ( $m/z$ ) nutzen, messen TOF-MS-Instrumente die Flugzeit der Ionen in einer feldfreien Driftröhre. Als großer Vorteil dieser Technik gilt, dass der gesamte Massenbereich einer Probe simultan analysiert werden kann. Außerdem ist der MALDI-Laserpuls ideal als Startsignal für die massenspektrometrische Messung geeignet. Somit können die Ionenflugzeiten durch Messung der Differenz zwischen Startsignal des Lasers und dem Auftreffen der Ionen auf dem Detektor ermittelt werden und sind, bei einer festgelegten Beschleunigungsspannung, proportional zu der Quadratwurzel des Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses ( $m/z$ ), wie Gleichung 1 belegt.

$$\frac{m}{z} = \frac{2 \cdot U}{s^2} \cdot t^2 \quad (\text{Gleichung 1})$$

m	Masse des Ions
z	Anzahl der Ladungen
U	Beschleunigungsspannung
t	Flugzeit
s	Wegstrecke

Die meisten MALDI-Massenspektrometer können im sogenannten Linear- und im Reflektronmodus betrieben werden. Im Linearmodus passieren die beschleunigten Ionen das Flugrohr und treffen am Ende auf den Lineardetektor (vgl. Abbildung 2). Zwar sind in dieser Einstellung sehr große Ionen trennbar, jedoch ist als Nachteil das geringere Auflösungsvermögen zu nennen.

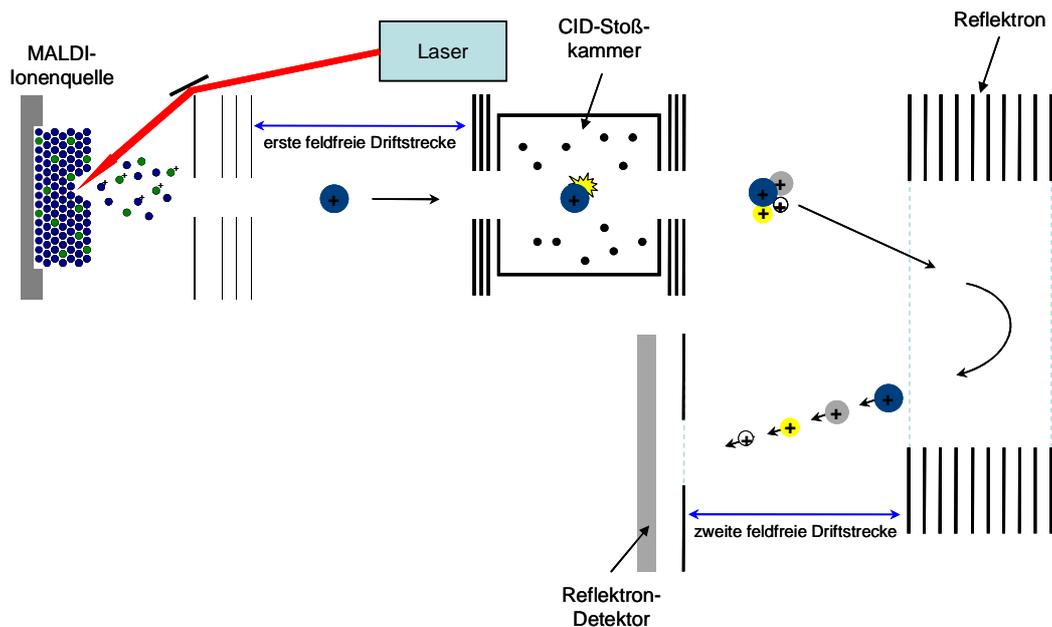
### *Einsatz eines Reflektrons*

Dieses Problem kann durch den Einsatz eines Reflektrons behoben werden, welches meist leicht gewinkelt kurz vor dem Lineardetektor im TOF-Flugrohr angebracht ist. Es erzeugt ein mehrstufiges, elektrisches Feld, wodurch die Ionen in ihrer Flugbahn reflektiert und am Reflektrondetektor registriert werden. Ionen mit gleichem  $m/z$ -

Verhältnis aber unterschiedlicher kinetischer Energie werden hier fokussiert. Dadurch kommt es zur erheblichen Verbesserung der massenspektrometrischen Auflösung [22, 23].

#### *MALDI-Tandem-(TOF)-Massenspektrometrie*

Zur Strukturanalyse von Biomolekülen und Polymeren werden neben den klassischen MS<sup>1</sup>-Analysen häufig sogenannte Tandem-(TOF)MS-Experimente (MS/MS oder MS<sup>2</sup>) durchgeführt. Hierbei können strukturspezifische Merkmale der Analyten über die Detektion von metastabilen Ionen erhalten werden, die sich entweder direkt in der Ionenquelle bilden oder durch *Post-Source-Decay* (PSD) der Molekülonen im Massenanalysator generiert werden [10]. Zudem kann durch den Stoß der Analytionen mit neutralen Gasmolekülen oder -atomen (z.B. Edelgasatomen) diese Fragmentierung gezielt durchgeführt werden. Diese Technik wird als „*Collision-Induced-Dissociation*“ (CID, stoßinduzierter Zerfall) bezeichnet. Hierbei wird zunächst nach einer ersten Massenseparation das sogenannte „Vorläuferion“ oder „*precursor ion*“ über ein „*Bradbury-Nielsen-Gate*“ aus dem analysierten Massenbereich herausgefiltert [24]. Nach dem Passieren einer mit Edelgas gefüllten Stoßkammer (*Collision Cell*) und dem darin stattfindenden stoßinduzierten Zerfall des Ion, erfolgt die Trennung der Fragmentionen im zweiten Teil, also im Reflektoren, des Massenspektrometers (s. Abbildung 3) [25, 26].



**Abbildung 3:** Schematische Darstellung des Aufbaus eines MALDI-Tandem-(TOF)-Massenspektrometers nach [10].

### 1.1.1.3 Die Detektoren

Als Detektor werden bei der MALDI-(TOF)-Massenspektrometrie gewöhnlich Sekundärelektronenvervielfacher in Form von „*Microchannel Plates*“ (MCP) verwendet. Diese bestehen aus einer großen Anzahl von Mikrokanälen, die von innen mit einem Halbleitermaterial beschichtet sind. Trifft nun ein Ion auf diese Innenfläche, emittiert diese Sekundärelektronen, die in den MCPs beschleunigt, vervielfacht und anschließend in ein elektrisches Signal umgewandelt werden [11, 27].

## 1.1.2 Methoden der MALDI-(TOF)-Massenspektrometrie und einflussnehmende Parameter

Um eine Polymerprobe mittels MALDI-(TOF)MS zu analysieren, ist es meist notwendig, zuvor eine Methodenoptimierung durchzuführen. Je nach Anforderung an die zu messende Probe, müssen häufig unterschiedliche Parameter optimiert werden, die Einflüsse auf das Analyseergebnis haben können.

Dabei sind Einstellungen am Massenspektrometer selbst von großer Bedeutung. Die

Wahl des TOF-Modus' (Linearmodus oder Reflektronmodus) und die Einstellung der für die Analyse benötigten Laserenergie können einen großen Einfluss auf das Ergebnis der MALDI-Messung haben. Dabei sollte die Laserenergie so gewählt werden, dass es nicht zur Fragmentierung der Ionen kommt. Trotzdem sollte das Spektrum möglichst hoch aufgelöst sein, ohne dass eine zu hohe Laserenergie zu einer Verschiebung der Signale im Spektrum führt [28].

Die wichtigsten Parameter in der MALDI-(TOF)MS-Analyse von synthetischen Polymeren stellen die Präparation der Probe und die Auswahl an geeigneter Matrix und Kationisierungsreagenz dar. Bei der klassischen „*Dried Droplet*“-Methode werden zunächst sowohl die Analytsubstanz als auch die Matrix in einem organischen Lösungsmittel getrennt voneinander gelöst, anschließend in einem geeigneten Mischungsverhältnis gemischt und diese Mischung in flüssiger Form auf das MALDI-Target aufgegeben [15]. Neben dieser klassischen Probenpräparation haben sich auch andere Aufgabentechniken durchsetzen können, die im Kapitel 3.3 beschrieben werden.

Eine klassische MALDI-Matrix sollte eine chemische Struktur aufweisen, die als Chromophor dient um Energie zu absorbieren. Die Hauptabsorption der Matrixsubstanz sollte im Bereich der eingesetzten Laserwellenlänge liegen [29]. Demnach basieren die Strukturen der klassischen Matrices hauptsächlich auf aromatischen Systemen, die je nach Anwendung funktionalisiert sind. So wird durch Säuregruppen und acide Hydroxyfunktionen die Protonenübertragung auf einige Analyten begünstigt und die Löslichkeit und Kristallisation der Matrices verbessert [12, 15].

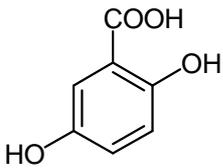
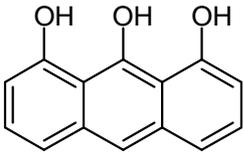
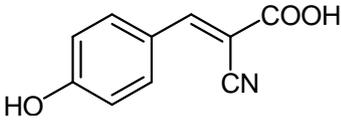
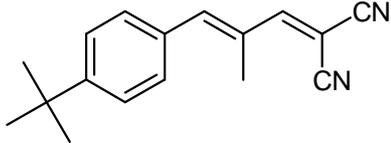
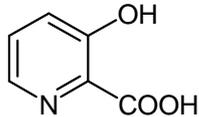
Durch das Vakuum in der Ionenquelle und der hohen vorliegenden Energiedichte, müssen MALDI-Matrices zudem sehr stabil sein, damit es unter diesen Einflüssen nicht zu Zerstörungen kommt. Außerdem sollten Matrixsubstanzen mit den Analyten keine Nebenreaktionen eingehen, wodurch es eventuell zu Verlusten des Analyten kommen könnte. Zudem ging man lange davon aus, dass der Analyt und die Matrix, in Abhängigkeit der Art der Probenpräparation (z.B. beim Verdampfen des Lösungsmittels), eine Cokristallisation miteinander eingehen müssten, um den Ana-

lyten dem MALDI-Prozess zugänglich zu machen [12, 15]. Dies konnte jedoch unter anderem von PRZYBILLA et al. und TRIMPIN et al. widerlegt werden und wird anhand der Ergebnisse in den Kapiteln 3.3 und 3.4 näher diskutiert [30, 31].

Bei einigen klassischen MALDI-Matrices handelt es sich um Derivate der Benzoesäure oder der Zimtsäure wie die 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) oder die  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure (HCCA). Aber auch andere Substanzen und Mehrkomponentensysteme konnten erfolgreich für unterschiedliche MALDI-Applikationen angewandt werden [12, 15, 32-38]. In dem Review-Artikel "MALDI time-of-flight mass spectrometry of synthetic polymers" von NIELEN sind die üblichen Probenvorbereitungsmethoden, darunter auch die Wahl der geeigneten MALDI-Matrices, zur Analyse der gängigsten synthetischen Polymere zusammengestellt [39].

Die in dieser Arbeit verwendeten klassischen MALDI-Matrices sind 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) [40-42], 1,8,9-Anthracenatriol ([1,8-Dihydroxy-9[10H]-anthracenon], Dithranol) [43, 44],  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure (HCCA) [45-48], 2-[(2E)-3-(4-*tert*-butylphenyl)-2-methylprop-2-enylidene]malononitril (DCTB) [49, 50] und 3-Hydroxypicolinsäure (3H-PA) [51]. Die Strukturen dieser MALDI-Matrices sind in Tabelle 1 dargestellt.

Sollte die Probe nach der bereits vorgestellten, klassischen Methode vorbereitet werden, ist das Lösungsmittel so zu wählen, dass sich Analyt, Matrix und Kationisierungsreagenz möglichst gleich gut darin lösen. Eine Grundvoraussetzung zur effektiven Energieübertragung und zum Erhalt von optimalen Spektren ist die Homogenität der Probe auf der Targetoberfläche. Ist diese nicht gegeben, indem sich zum Beispiel beim Verdampfen des Lösungsmittels zu große Kristalle bilden können und sich der Analyt somit nicht gleichmäßig mit der verwendeten Matrix auf dem Target anlagert, kann es zu Diskriminierungseffekten und zu schlechten Spektrenreproduzierbarkeiten kommen. Um Inhomogenitäten zu vermeiden, wurden einige Verbesserungen des Verfahrens vorgeschlagen. Durch die Polarität des Lösungsmittels, das bedeutet die Verdampfbarkeit, und unterschiedliche Mischungsverhältnisse bei Lösungsmittelgemischen kann zum Beispiel die Kristallgröße gesteuert werden.

Matrix	Struktur
2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB)	
1,8,9-Anthracenol (Dithranol)	
$\alpha$ -Cyano-4-hydroxy- zimtsäure (HCCA)	
2-[(2E)-3-(4- <i>tert</i> - butylphenyl)-2-methylprop- 2-enylidene]malononitril (DCTB)	
3-Hydroxypicolinsäure (3H-PA)	

**Tabelle 1:** Übersicht über die in dieser Arbeit verwendeten klassischen MALDI-Matrices.

Ein weiteres Beispiel ist die sogenannte „*Thin-Layer*“-Präparation, bei der der Analyt aus einer wässrigen Lösung auf das MALDI-Target pipettiert und nach Verdampfen des Lösungsmittels mit Matrixlösung überschichtet wird. Das sich bildende Matrix-Analyt-Gemisch weist eine erheblich verbesserte Reproduzierbarkeit der daraus resultierenden Massenspektren auf [52]. Weitere alternative Techniken und einige in dieser Arbeit optimierte Methoden werden im Teil „Ergebnisse und Diskussion“ in den Kapiteln 3.3 und 3.4 näher erläutert.

Alternativ zu den im festen Zustand vorliegenden UV-MALDI-Matrices wurde von ARMSTRONG et al. die Verwendung von ionischen Flüssigkeiten als Matrix beschrieben [53]. Durch die bessere Verteilung auf der Oberfläche ist hierbei das Matrix-zu-Analytverhältnis über die gesamte Probe relativ konstant. Dies konnte von FUKUYAMA et al. durch Ermittlung der Ionenintensitätsverteilung einiger Analyten gezeigt werden [54]. Allerdings sind die meisten kommerziell erhältlichen ionischen Flüssigkeiten für diese Form der Anwendung weniger gut geeignet [53, 54].

Ein zusätzlicher Parameter, zumindest bei der MALDI-Analytik von polymeren Substanzen, ist die Wahl eines geeigneten Kationisierungshilfsmittels. Während die Ionisation von Biomolekülen oftmals über einen Protonentransfer abläuft, ist bei synthetischen Polymeren ein Zusatz von Metallsalzen notwendig. Diese Art der Ionenbildung wird in den Kapiteln 1.1.3 und 3.1.2 nochmals ausführlich erläutert.

Demnach ist die Durchführbarkeit und der Erhalt eines qualitativ hochwertigen MALDI-Spektrums von vielen unterschiedlichen Parametern abhängig, die für jede analytische Fragestellung neu herausgestellt und optimiert werden müssen.

### 1.1.3 Der MALDI-Prozess

Die Mechanismen der MALDI-Ionisation und der Desorption sind noch nicht vollständig verstanden [15]. Es existieren mehrere Theorien, die sich grundlegend in die Gruppe der primären Ionisation (Ionisation aus Neutralteilchen) und in die Gruppe der sekundären Ionisation (Bildung der Ionen aus Folgereaktionen und Intermediaten) unterteilen lassen [12]. Im folgenden Teil sollen einige Modelle vorgestellt werden, die zurzeit diskutiert und für den MALDI-Prozess angenommen werden.

Ein Modell der Ionenbildung basiert auf der Annahme, dass neutrale Analytmoleküle im Matrixkristall eingelagert sind. Als initiierender Schritt wird nach KARAS et al. [55] und EHRING et al. [56] eine Mehrphotonenionisation der Matrixmoleküle vermutet. Zur Bildung der Radikalkationen der Matrixmoleküle ist ein Zwei-Photonen-Prozess notwendig, bei dem ein angeregtes Matrixmolekül innerhalb seiner kurzen

Lebensdauer (einige ns) zur Ionisation von einem zweiten Photon getroffen werden muss. Dies ist, aufgrund der hohen Leistungsdichten bei den eingesetzten Lasern, ein durchaus anzunehmender Prozess. Die ionisierten Matrixmoleküle übertragen anschließend die Ladung über einen Transfermechanismus auf den Analyten [12, 15, 55-57]. Allerdings könnten die Ionisationsenergien der Matrixmoleküle in der festen Phase wesentlich höher sein, als in der Gasphase, sodass der angenommene Zwei-Photonen-Prozess zur Ionisation nicht ausreicht [12].

Ein weiterer Ansatz zur Erklärung der Ionisation ist das *Energy Pooling* [12]. Hierbei wird davon ausgegangen, dass es neben den angesprochenen Mehrphotonenprozessen, zu thermischen bzw. photochemischen Prozessen kommt. Die Energie kann hierbei von Matrixmolekülen zu Matrixmolekülen und von der ionisierten Matrix wieder auf die Analytmoleküle übertragen werden. Dabei können Mechanismen ablaufen, die auf stoßinduzierte Ionisationen hochangeregter Moleküle zurückzuführen sind [12, 58]. Beim MALDI-Prozess können zudem unterschiedliche Protonierungsreaktionen ablaufen. So schlagen zum Beispiel LIAO und ALLISON eine Säure-Base-Reaktion des angeregten Matrixmoleküls mit dem Analyten zu den entsprechenden Protonenadduktradikalkationen in der Ablationswolke (dem *Plume*) vor [12, 59].

Eine Ionisation in Clustern wurde dagegen von KARAS et al. als „*Lucky Survivor*“-Modell vorgeschlagen [60, 61]. Hierbei wird eine statistische Ladungsverteilung während des Ablationsprozesses angenommen. Die Ionisation wird durch eine Ladungstrennung verursacht, wobei die desorbierten Cluster einen Überschuss an Ionen tragen. Zur Bildung der Cluster ist jedoch anzunehmen, dass die Analyten zunächst nicht als Neutralteilchen, sondern – dem  $pK_s$  des Gesamtsystems entsprechend – in Molekülverbänden vorliegen [12, 15, 57, 58, 60, 61].

Das für die Ionisation von Polymeren wichtigste Modell der MALDI-Ionisierung ist die Kationisierung durch einwertige Metallsalzen [11, 14, 15]. Hierfür existiert die Theorie, dass die Ionen in der Matrix/Analyt-Mischung gebildet werden und es anschließend zur Desorption des Analytaddukts kommt [62]. Aber auch die Theorie der Gasphasenkationisierung wurde von einigen Arbeitsgruppen diskutiert [12,

63-66].

Durch die niedrigen Protonenaffinitäten der Polymere wird die Adduktbildung zum Beispiel mit Kalium- oder Natriumionen zu den entsprechenden  $[M+K]^+$ - bzw.  $[M+Na]^+$ -Ionen begünstigt, was anhand vieler Beispiele gezeigt wurde [67-71]. Die unterschiedlichen Kationenaffinitäten führen zu der Ausbildung von verschiedenstarken Komplexen mit den Polymerketten in der Gasphase. Dies kann zu unterschiedlichen Intensitäten der entsprechenden Alkalimetallsalzaddukte führen und zum Teil bei der Polymeranalyse mittels MALDI-MS gezielt ausgenutzt werden [72, 73]. Beispielsweise werden zur Analyse von aromatischen Polymeren, wie Polystyrol, meist gut lösliche Silber-(I)- oder Kupfer-(I)-Salze verwendet, da gerade diese Ionen besonders gut mit dem  $\pi$ -Elektronensystem der Aromaten in Wechselwirkung treten und somit eine Kationisierung der polydispersen Analyten begünstigt wird [28, 68, 74-77].

## **1.2 Stand der Polymer- und Tensidanalytik und Verwendung der MALDI-Massenspektrometrie**

Zur Polymer- und Tensidanalytik sind viele unterschiedliche Methoden angewandt worden, die in unterschiedlichem Maße in der Routineanalytik polydisperser Substanzen eingesetzt werden. Neben den klassischen nasschemischen Verfahren, ist hier besonders die Ionenchromatographie (IC) [78, 79], die Dünnschichtchromatographie (DC oder TLC) [80, 81] und die Kapillarelektrophorese (CE) [82-86] zu nennen. Zur Analyse von Polymerverteilungen ist die Gelpermetationschromatographie (GPC), die auch Größenausschlußchromatographie (*Size Exclusion Chromatography*, SEC) genannt wird, eine sehr erfolgreiche und die am meisten verwendete Methode [87, 88]. Aber auch die Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) und die moderne Gaschromatographie (GC) mit unterschiedlichen Detektorsystemen sind für die Trennung und Detektion polymerer Tensidanalyten im niedrigen Mas-

senbereich (unter ca. 700 Da) geeignete Methoden. So lassen sich zum Beispiel Fettalkoholethoxylate (FAEO) oder Alkylpolyglucoside (AG) an den freien OH-Gruppen mit UV- oder Fluoreszenzmarkern derivatisieren und mittels HPLC-UV oder HPLC-FLD analysieren [89-93]. Bei der Anwendung der GC-Technik kommt häufig die Hochtemperaturgaschromatographie (HT-GC) zum Einsatz, da sie nicht nur auf Oligomere im unteren Massenbereich einer Polymer- bzw. Tensidverteilung limitiert ist [94-96]. Der Einsatz multidimensionaler Trenntechniken konnte bereits erfolgreich gezeigt werden. So wurde in unserem Arbeitskreis die comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie gekoppelt an ein EI-(TOF)-Massenspektrometer (GCxGC-(TOF)MS) zur Trennung von Tensidproben und Tensidmischungen eingesetzt [97-101]. Von DÜCK et al. konnten diese Methoden erfolgreich auf ein GCxGC-EI/CI-qMS-System übertragen werden [102-104]. Auch wurde die erfolgreiche Anwendung der comprehensive Flüssigchromatographie (LCxLC) bei Trennungen von (Co)polymeren gezeigt, allerdings konnte sich diese Methode noch nicht in der Routineanalytik durchsetzen [105-108].

Die Kopplung von Trennmethoden mit der Massenspektrometrie erlaubt die schnelle Identifizierung der Probenbestandteile und ermöglicht zum größten Teil zudem eine quantitative Analyse dieser Substanzen. So konnten sich besonders die Kopplung der HPLC mit der chemischen Ionisierung unter Atmosphärendruck (APCI) und der Electrospray Ionisation (ESI) durchsetzen [109-117]. Beispielsweise konnte die ESI-MS zur Charakterisierung von (Co)polymeren angewendet werden [118, 119]. Jedoch ist diese Form der Ionisierung in der Analytik von polydispersen synthetischen Polymeren etwas problematisch, da je nach Polymer Mehrfachladungen eines jeden Monomers detektiert werden. Dies kann zu Überlagerungen der Molekularverteilungen führen, wodurch die erhaltenen Massenspektren nicht oder nur schwer interpretierbar werden.

In den letzten Jahren hat sich die Ionenmobilitätsspektrometrie-Massenspektrometrie (IMS-MS) in Verbindung mit einer ESI-Ionenquelle zur Analyse komplexer Polymerproben als besonders hilfreich herausgestellt. Arbeiten von TRIMPIN et al. zeigen, dass

mit dieser Technik nicht nur Aussagen über die Hauptanalyten möglich sind, dern auch mögliche Nebenkomponenten des Polymers bestimmt werden können [120, 121].

Eine andere, 2008 von SCHIEWEK et al. vorgestellte massenspektrometrische Methode zur Analyse von polymeren Tensiden im unteren Massenbereich (bis etwa 1000 Da) beschreibt die Derivatisierung mit einem Ionisationslabel und die anschließende Analyse mittels Laserionisation unter Atmosphärendruck (APLI) [122].

Die in dieser Arbeit zum Einsatz kommende MALDI-Technik wurde schon in den 1990er Jahren zur Analyse niedrigmolekularer Polymere eingesetzt [123, 124]. Die ersten Arbeiten, die eine qualitative Analyse von Tensiden mit Hilfe der MALDI-Massenspektrometrie beschreiben, wurden 1995 von BARRY et al. vorgestellt [125]. In ihrer Publikation „MALDI-TOF-MS: Eine neue analytische Technik zur Charakterisierung von Produkten auf Basis nachwachsender Rohstoffe“ beschrieben BERCHTER et al. als erstes die MALDI-TOF-MS-Analyse ethoxylierter Fettalkohole und Alkylpolyglucoside [126].

Die Anwendung der MALDI-Massenspektrometrie zur Analyse von Polymeren und Tensiden wurde in den darauffolgenden Jahren intensiv erforscht. Besonders die Charakterisierung von ethoxylierten Tensiden und die Analyse von Polyether-Copolymeren sind hierbei herauszustellen [127-130].

Um eine mögliche Massendiskriminierung im unteren Massenbereich von niedrigethoxylierten Tensiden zu umgehen, konnten erfolgreich Derivatisierungen der Analyten mit Phthalsäureanhydrid vor der MALDI-Analyse angewendet werden [131]. CUMME et al. [80], JUST et al. [129] und BARRY et al. [132] verglichen Daten aus MALDI-Messungen mit denen anderer Analyseverfahren (CE, DC, HPLC, FTIR). Auch wurden mögliche Probleme, die bei MALDI-Analysen von komplexen Polymermischungen auftreten können, diskutiert [133-135].

Es wurde bereits die Kopplung der Flüssigchromatographie an ein MALDI-Massenspektrometer realisiert. Hierbei sind einige Methoden entwickelt worden, die die Analyse von komplexen Polymermischungen vereinfachen [136-144]. Allerdings

arbeiten diese Methoden oftmals mit Offline-Kopplungen des GPC- bzw. HPLC-Trennsystems über unterschiedliche Probenaufgabesysteme an das MALDI-Spektrometer. Einige erste Versuche zeigen aber, dass auch eine Online-Kopplung über eine ESI-Ionenquelle an ein AP-IR-MALDI-System möglich ist [145].

Das MALDI-Verfahren hat sich bis heute sehr gut in der Analytik von polymeren Substanzen etablieren können. Seit 2006 existiert in Deutschland eine DIN-Norm zur „Bestimmung der Molmasse und Molmassenverteilung von polymeren Spezies durch matrixunterstützte Laser-Desorptions/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie“ [146].

## 2 Problemstellung und Zielsetzung

Die matrixunterstützte Laser-Desorption/Ionisation (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*, MALDI) ist eine Ionisationsmethode in der Massenspektrometrie, mit der sich große, polydisperse Substanzen und Substanzgemische ionisieren lassen. Die MALDI-Massenspektrometrie stellt demnach, neben anderen analytischen Verfahren, ein wichtiges Hilfsmittel der Polymeranalytik, also der direkten Darstellung der Oligomer- bzw. Polymermassenverteilungen, dar. Bei der MALDI-(TOF)MS-Analyse ist die Probenvorbereitung von großer Wichtigkeit, da hierdurch die Probenhomogenität auf der Targetoberfläche und folglich die Reproduzierbarkeit der erhaltenen MALDI-Massenspektren maßgeblich beeinflusst wird.

In der vorliegenden Arbeit sollen zunächst klassische Methoden der MALDI-Analytik auf Produkte der fettchemischen Industrie (z.B. Fettalkoholalkoxylate) angewendet werden. Diese Produkte werden von der Firma Cognis GmbH (Düsseldorf, D), welche diese Arbeit finanziell unterstützt, zur Verfügung gestellt. Im Anschluss sollen dann Methoden entwickelt und angewendet werden, die die MALDI-(TOF)MS-Analyse von polydispersen, technischen Produkten vereinfachen und analytisch relevante Aussagen über die Produkte zulassen.

In einem weiteren Teil der Arbeit werden anhand einiger Produkte systematische Untersuchungen zur Optimierung der MALDI-(TOF)MS-Analyse tensidischer Polymere durchgeführt. Die Ergebnisse aus diesen Vergleichsmessungen sollen mit Hilfe von statistischen Verfahren ausgewertet und graphisch dargestellt werden, um die optimalen Probenvorbereitungsmethoden für unterschiedliche Tensidklassen herauszustellen.

Bei der geplanten Verwendung einer lösungsmittelfreien Probenvorbereitung werden Einflüsse wie die eingesetzte Matrix und das Targetmaterial untersucht. Um eine homogenere Probenoberfläche, das heißt eine gleichmäßigere Belegung der Targetoberfläche mit Matrix und Analyt zu erhalten, kann diese Art der Probenvorberei-

tung weiterentwickelt und an die in dieser Arbeit relevanten Substanzen angepasst werden. Zudem soll der Frage nachgegangen werden, ob zur Laser-Desorption/Ionisation von Produkten im unteren Massenbereich überhaupt eine Matrix notwendig ist und wie sich die lösungsmittelfreie Probenvorbereitung darauf auswirkt.

Zur Charakterisierung von Copolymeren soll die MALDI-Tandem-Massenspektrometrie Anwendung finden. Dabei wird überprüft, wie diese Technik bei der Unterscheidung von Random- und Block-Copolymeren eingesetzt werden kann und welchen Einfluss unterschiedliche MS/MS-Techniken sowie Arten der sich bildenden Adduktionen auf die Fragmentationenspektren der Fettalkoholalkoxylat-Copolymere haben.

### 3 Ergebnisse und Diskussion

„Aufgabe der Naturwissenschaft ist es nicht nur, die Erfahrung zu erweitern, sondern in diese Erfahrung eine Ordnung zu bringen“

Niels Bohr

\* 1885 + 1962

Nobelpreisträger für Physik 1922

Seit ihrer Entwicklung hat sich die MALDI-Massenspektrometrie (MALDI-MS) als Verfahren zur Analyse industrieller Polymere und tensidischer Aktivkomponenten durchsetzen können, da es die direkte Darstellung der Oligomer- bzw. Polymerionenverteilung ermöglicht. Die bedeutendsten Vorteile der MALDI-MS in der Polymeranalytik sind die Bildung von meist einfach geladenen Anolytionen, die Unabhängigkeit der Analytpolarität vom Ionisationsprozess und die genaue Analyse von individuellen Oligomermassen.

Wie auch bei anderen Analysenmethoden wird die MALDI-Analyse durch eine Vielzahl von Parametern beeinflusst. Zum einen ist hierbei die Art der Probenvorbereitung zu nennen, bei der gerade die Auswahl einer geeigneten Matrix-Analyt-Kombination von größter Bedeutung ist. Aber auch die Wahl des Lösungsmittels und des kationisierenden Salzzusatzes sind nicht zu vernachlässigen. Zum anderen lassen sich durch unterschiedliche Einstellungen am MALDI-(TOF)MS, wie zum Beispiel die Variation der Laserenergie und/oder die Wahl des TOF-Modus', die Analyseergebnisse beeinflussen.

Um diese Einflüsse bei einer MALDI-(TOF)MS-Analyse technischer Polymere sowie tensidischer Produkte auf Basis nachwachsender Rohstoffe am besten nutzen zu können, wurden in dieser Arbeit neue methodische Ansätze entwickelt, die in den folgenden Unterkapiteln näher dargestellt und diskutiert werden.

Die vorliegende Arbeit gliedert sich im Wesentlichen in zwei Teile. Im ersten Teil

---

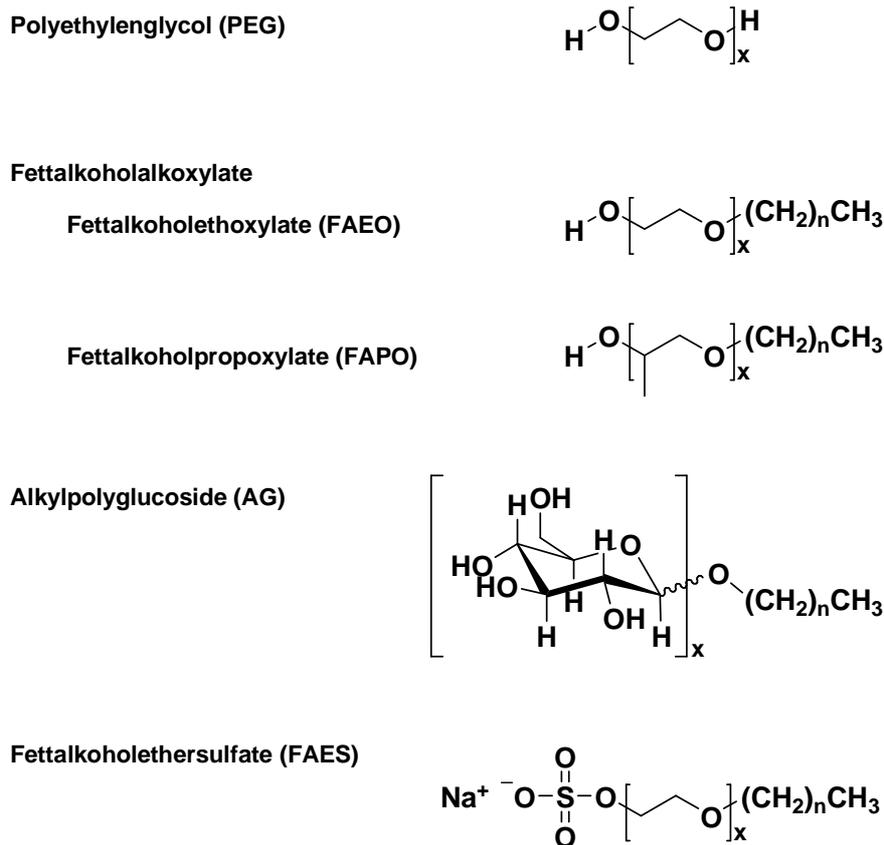
werden die Ergebnisse systematischer Untersuchungen und verschiedene neue Ansätze der Probenvorbereitung zur MALDI-(TOF)MS-Analyse technischer Polymere dargestellt. Im Anschluss daran werden die Ergebnisse aus MALDI-Tandem-(TOF)MS-Experimenten zur Charakterisierung von Copolymeren diskutiert.

Die in dieser Arbeit verwendeten Produkte sind in Abbildung 4 dargestellt. Sie basieren zum Teil auf oleochemischen Fettalkoholen, die durch unterschiedliche großtechnische Prozesse chemisch modifiziert werden. So können zum Beispiel Fettalkoholethoxylate (FAEO) durch basenkatalysierte Reaktion von Fettalkoholen mit Ethylenoxid – auch als Ethoxylierung bekannt – erhalten werden, die durch eine anschließende Sulfatierung in die entsprechenden Fettalkoholethersulfate (FAES) umgesetzt werden können. Fettalkoholalkoxylate lassen sich zudem durch gezielte Abfolge von Ethoxylierungen, Propoxylierungen und/oder Butoxylierungen (und weiteren) als Copolymere herstellen. Weitere Informationen hierzu sind in Kapitel 3.5 zusammengestellt. Die Umsetzung von reduzierenden Zuckern mit Fettalkoholen führt zu Alkylpolyglucosiden (AG). Durch Homopolymerisation von Ethylenoxid entsteht Polyethyenglycol (PEG), welches in dieser Arbeit als Standard und Vergleichssubstanz dient.

Durch den Einsatz technischer Alkoholgemische unterschiedlicher Kettenlängen (meist C<sub>8</sub> bis C<sub>18</sub>) und der Möglichkeit, den Polymerisierungsgrad (x) beliebig einstellen zu können, ist eine große Variabilität in der Zusammensetzung der Produkte möglich. Demnach stellen moderne Polymere bzw. Tenside keine klar definierten chemischen Verbindungen, sondern Gemische unterschiedlicher Oligomere dar.

Die in dieser Arbeit analysierten Substanzen finden zum Beispiel in Waschmitteln, flüssigen Waschrezepturen, Reinigungsmitteln und Körperpflegemitteln Verwendung. Aber auch als Emulgatoren, Dispersionsmittel und als Additive in industriellen, technischen Anwendungen werden diese Produkte eingesetzt.

Weitere Informationen zu dem Herstellungsprozess und den spezifischen Anwendungen der Produkte können anderen Arbeiten von DÜCK [102], WULF [97], HÜBNER [99] und TAHERI [101] entnommen werden.



**Abbildung 4:** Strukturformeln und Abkürzungen der polydispersen Produkte, die in dieser Arbeit analysiert wurden und als Standards Verwendung fanden.

### 3.1 Optimierung der klassischen MALDI-(TOF)MS-Analyse von Polymeren und Tensiden

Eine der wichtigsten Aufgaben in der modernen analytisch-chemischen Praxis ist die Methodenoptimierung. Nur durch eine geeignete Optimierung der Analysenparameter und einer präzisen Kalibrierung des Analysensystems können sowohl qualitative als auch quantitative Ergebnisse erzielt werden.

In der MALDI-Massenspektrometrie von Polymeren werden die Ergebnisse durch eine Vielzahl von Parametern beeinflusst. Einerseits kann die Probe selbst durch ihre chemische Zusammensetzung die Desorption und Ionisation maßgeblich verändern. Andererseits können die verwendete Matrix, die Konzentrationsverhältnisse von Matrixsubstanz und Analyt, das Lösungsmittel und das verwendete Kationisie-

runungssalz Einfluss auf die erhaltene Polymerverteilung nehmen [147-149]. So konnten YALCIN et al. zeigen, dass sich in Abhängigkeit vom verwendeten Lösungsmittelgemisch die Qualität der MALDI-Spektren von Polystyrol 7000 und PMMA 3750 ändert [150]. ARAKAWA et al. beobachteten ebenfalls einen starken Einfluss vom Lösungsmittelgemisch und der Matrixkonzentration bei der MALDI-Analyse von Natrium-Polystyrolsulfonat (SPS) im negativen Ionenmodus [151]. Da synthetische Polymere eine Verteilung der einzelnen Kettenlängen und zum Teil auch der vorhandenen Endgruppen aufweisen, müssen die Methoden der Probenvorbereitung so angepasst werden, dass es zu einer effektiven Kationisierung der Polymermoleküle kommt und Massendiskriminierungseffekte verhindert werden [149].

Weitere, nicht zu vernachlässigende Parameter sind die Geräteeinstellungen am MALDI-MS [148, 152]. Von WETZEL et al. wurde 2006 gezeigt, dass sich hierbei besonders die Parameter Detektorspannung, Laserenergie und *Extraction-Delay-Time* bei der Analyse einer Polystyrol 9000-Verteilung unter Verwendung einer Dithranol-Matrix signifikant auswirken [148].

Zur qualitativen Analyse von Polymeren, zum Beispiel zur Ermittlung von Polymerverteilungen, aber auch zur Bestimmung von strukturspezifischen Charakteristika, wie der Analyse von Endgruppen und Copolymerzusammensetzungen, konnte die klassische „*Dried Droplet*“-Probenvorbereitungsmethode [15] erfolgreich eingesetzt werden. Die Präparation aus der flüssigen Phase führt jedoch durch das langsame Verdampfen des Lösungsmittels zu Inhomogenitäten und damit Konzentrationschwankungen des Analyten auf dem Target. Durch diesen Effekt sind quantitative Messungen, die sowohl bei polymeranalytischen als auch bei bioanalytischen Fragestellungen von großem Interesse sind, entweder überhaupt nicht oder nur in Ausnahmefällen möglich. Untersuchungen der letzten Jahre haben einige Probleme bei der Quantifizierung mittels MALDI-MS aufgedeckt. [58, 153-162]. Fehler durch Probeninhomogenitäten und Signal-Suppressionen lassen sich aber durch die Verwendung von internen Standards herabsetzen. Diese Standards sollten jedoch dem Analyten entsprechende Kristallisationseigenschaften aufweisen, was vor einer Quantifi-

zierung weitere Untersuchungen erfordert. Außerdem muss die Anzahl der Laserschüsse auf die Probe stark erhöht werden, um die schlechte Schuss-zu-Schuss-Reproduzierbarkeit im Mittel zu verbessern und somit aus dem Mittelwert aller erhaltenen Spektren das korrekte Analyt-zu-Standard-Verhältnis ermitteln zu können. Um diese genannten Einflüsse besser zu verstehen und Aussagen über die optimalen Parameter bei der MALDI-MS-Analyse technischer, polydispenser Substanzen zu treffen, ist es nötig, Vergleiche anhand ausgesuchter Produkte vorzunehmen. Nur so wird es in Zukunft möglich sein, Methoden zu entwickeln, die eine quantitative Aussage über Polymerbestandteile – zum Beispiel in einer technischen Mischung – erlauben. In den folgenden Teilen ist dargestellt, wie die auf bekannten Methoden basierenden Probenvorbereitungen auf die entsprechenden Produkte der fettchemischen Industrie übertragen wurden. Anhand der sich ergebenden Einflüsse der Probenvorbereitungsmethoden und der Geräteparameter erfolgte eine Optimierung dieser Methoden.

Alle in dieser Arbeit gezeigten MALDI-Spektren, bis auf einige in Teil 3.5.2 dargestellten, wurden mit einem Shimadzu Biotech AXIMA Performance™ (Shimadzu Biotech, Manchester, UK) MALDI-Reflektron-TOF Massenspektrometer aufgenommen. Die wichtigsten Geräteparameter sind im experimentellen Teil (Kapitel 5) zusammengestellt.

Das MALDI-Massenspektrometer wurde vor jeder Messreihe mit einem Polyethylenglycolstandard (PEG 2000) kalibriert. Die Kalibrierungsmethode und das MALDI-Spektrum zur Massenkalisierung sind in Kapitel 5.1 zu finden.

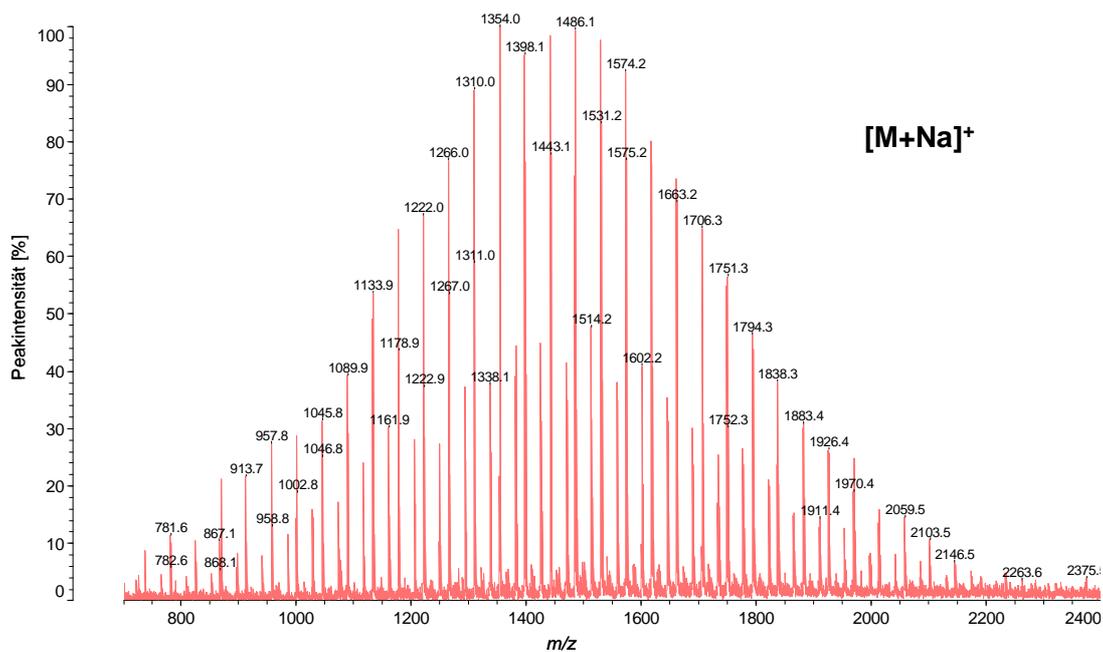
### **3.1.1 Vergleichsmessungen an Fettalkoholethoxylaten**

Um einen Überblick zu erhalten, wie sich die bereits vorgestellten Substanzen mit der MALDI-Massenspektrometrie analysieren lassen, wurden zunächst Vergleichsmessungen an Fettalkoholethoxylaten durchgeführt. Dabei wurden einige der zuvor genannten Parameter variiert, um das Verhalten der Analyten bei der MALDI-MS-

Analyse näher herauszustellen und daraus eine Optimierung der Methode zu erreichen.

Als Beispiel für die Messung eines oleochemischen tensidischen Produktes ist in Abbildung 5 das MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines Fettalkoholethoxylats gezeigt. Dieses Produkt besteht aus ethoxylierten Fettalkoholen mit den Kettenlängen C<sub>12</sub> und C<sub>14</sub>, also Dodecyl- und Tetradecylendgruppen (bzw. Dodecanol und Tetradecanol als Polymerstartermolekülen), mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30 (FA-C<sub>12/14</sub>-EO<sub>30</sub>). Zur Analyse wurde das Produkt in Tetrahydrofuran (THF) gelöst (2 mg · mL<sup>-1</sup>). Als Matrix wurde HCCA verwendet, welches in einer Konzentration von 10 mg · mL<sup>-1</sup> in THF gelöst wurde. Nach dem Mischen von 20 µL Matrix-Lösung und 20 µL Probelösung mit 2 µL einer NaCl-Lösung (0,1 mol · L<sup>-1</sup> in THF) erfolgte die Auftragung von 0,5 µL Mischung auf die Targetoberfläche. Die MALDI-Messung wurde im positiven Reflektron-TOF-Modus durchgeführt. Die Geräteeinstellungen sind in Kapitel 5.3 dargestellt.

Die unterschiedlichen Massenverteilungen, die aus den beiden C-Ketten resultieren, sind deutlich zu erkennen. Hierbei wird die Hauptverteilung durch die Ethylenoxidaddukte des Dodecanols und die erste Unterverteilung durch die Ethylenoxidaddukte des Tetradecanols gebildet. Ein mittlerer Ethoxylierungsgrad von 30 bedeutet bei der Verteilung nicht unbedingt, dass ihr Maximum bei einer Oligomermasse liegt, die 30 EO entspricht, sondern dass das errechnete Mittel aus allen enthaltenen Massen der Verteilung bei einem Polymerisierungsgrad von 30 liegt. Diese beiden Verteilungen entstehen durch Adduktbildung der entsprechenden neutralen Oligomeren mit Na<sup>+</sup>-Ionen. Es bilden sich hierbei hauptsächlich [M+Na]<sup>+</sup>-Ionen. Jedoch fällt bei genauerer Betrachtung des Spektrums auf, dass sich auch andere Addukte bilden können (zum Beispiel durch andere Salzionen, die das Produkt bereits enthält). Diese führen zu weiteren Unterverteilungen.



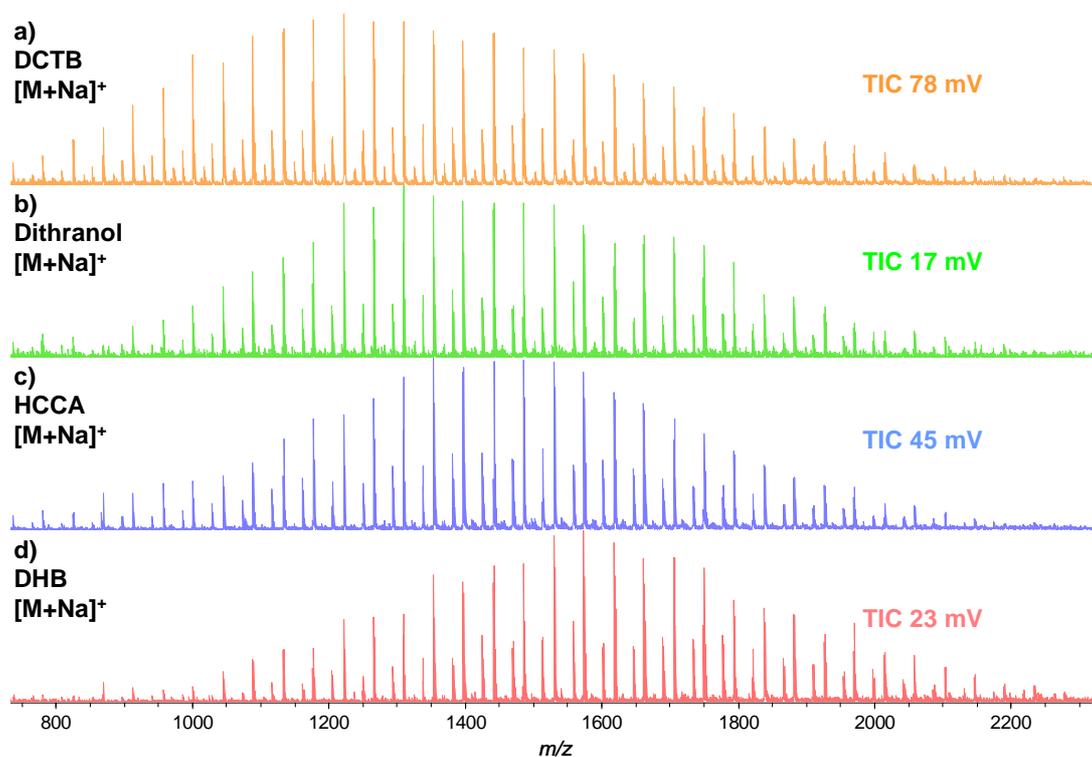
**Abbildung 5:** MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines  $C_{12}/C_{14}$ -Fettalkoholethoxylats mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30.

Probenvorbereitung: Probe  $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix HCCA  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, NaCl-Lösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in THF), Mischen der Einzelkomponenten ( $20 \mu\text{L}$  Matrix-Lösung +  $20 \mu\text{L}$  Probelösung +  $2 \mu\text{L}$  Salzlösung), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Mischung auf die Targetoberfläche.

Dieses einfache Beispiel zeigt bereits, wie komplex tensidische Polymere aufgebaut sein können und wie leicht die MALDI-Messung der Polymerverteilungen äußeren Einflüssen unterliegt. So erschwert zum Beispiel die Bildung von unbekanntem Salzaddukten die Auswertung einer Messung, und die nicht vollständige Salzadduktbildung mit einem definierten Kation kann eine Verschiebung der Verteilung verursachen (vgl. Kapitel 3.1.2). Hinzu kommt, dass die Massendifferenz zwischen Natrium und Kalium 16 beträgt. Genau diese Massendifferenz ist z.B. auch durch zwei ethoxylierte Fettalkohol-Oligomerreihen darstellbar, die sich in einer  $C_2H_4$ -Gruppe und einer EO-Gruppe unterscheiden (z.B.  $FA-C_{14}-EO_{20}$  und  $FA-C_{12}-EO_{21}$ ). Dies kann bei der Analyse einer unbekanntem Substanz und einer unzureichenden Massenauflösung bzw. -genauigkeit eine exakte Identifizierung der Komponenten erschweren. Um diese hier gezeigte Analyse des Produktes mit anderen Analysemethoden zu vergleichen und die Genauigkeit der Methode zu überprüfen, wurden zusätzlich

ESI-MS-, APCI-MS- und NMR-Analysen durchgeführt bzw. durch die Firma Cognis GmbH in Auftrag gegeben. Dabei zeigten alle Methoden nahezu gleiche Ergebnisse, die auch der Verteilung in Abbildung 5 entsprechen. Ein Beispiel für eine ESI-Q(TOF)MS-Analyse ist in Abbildung 39 im Anhang (Kapitel 6) dargestellt.

Ein weiterer zu untersuchender Faktor ist der Einfluss der verwendeten Matrix. In Abbildung 6 sind Messungen des oben genannten Fettalkoholethoxylats gezeigt, bei denen die Matrix variiert wurde. Bei den Messungen wurde darauf geachtet, dass die Geräteparameter konstant blieben, sodass zum Beispiel stets eine gleiche Laserenergie vorlag.

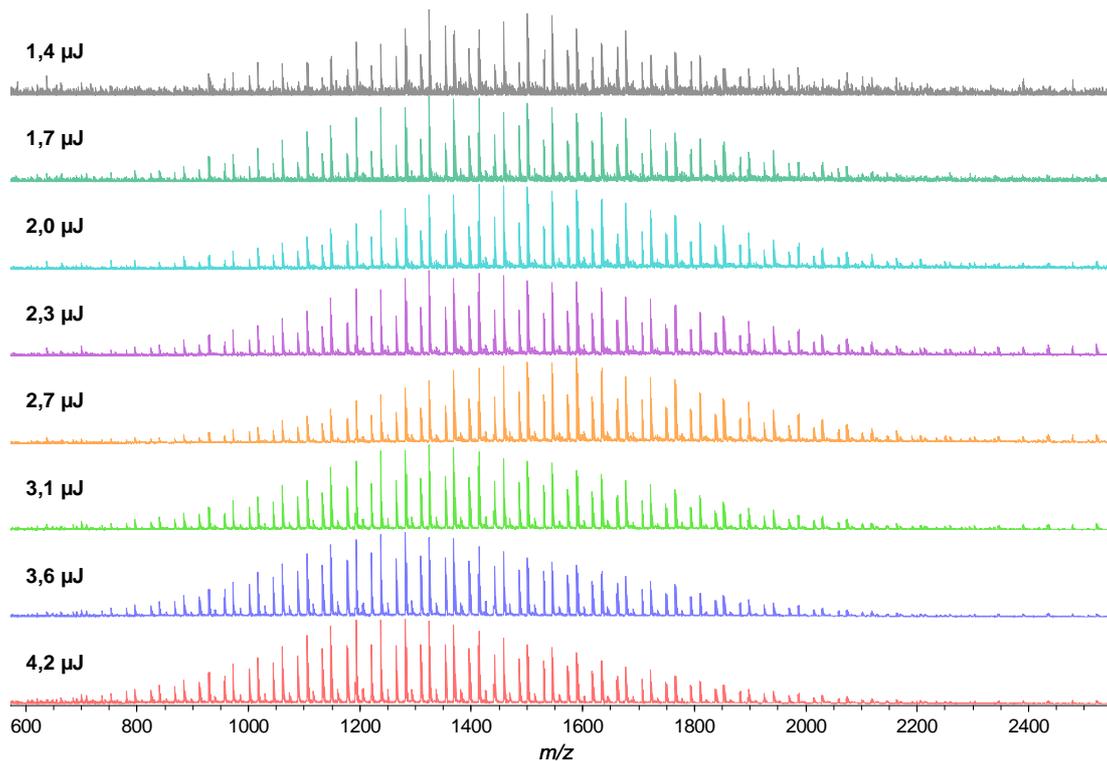


**Abbildung 6:** MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines  $C_{12}/C_{14}$ -Fettalkoholethoxylats mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30 unter Verwendung von DCTB (a), Dithranol (b), HCCA (c) und DHB (d) als Matrix.

Probenvorbereitung: Probe  $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, NaCl-Lösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in THF), Mischen der Einzelkomponenten ( $20 \mu\text{L}$  Matrix-Lösung +  $20 \mu\text{L}$  Probelösung +  $2 \mu\text{L}$  Salzlösung), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Mischung auf die Targetoberfläche.

Es zeigte sich, dass die Matrix einen Einfluss auf die Lage der gemessenen Polymerverteilung hat. Unter Verwendung von DHB (Abbildung 6d) ist die Verteilung zu höheren Massen verschoben. Dagegen weist das Spektrum mit DCTB als Matrix (Abbildung 6a) eine Verteilung bei wesentlich kleineren Massen auf. Beim Vergleich der Gesamtionenausbeuten für den gezeigten Massenbereich, welche in Relation zu den TIC-Werten des Detektors stehen, fällt auf, dass sich abhängig von der Matrix erhebliche Unterschiede zeigen. Dies kann mehrere Gründe haben. Zum einen ist es möglich, dass es zu Massendiskriminierungen kommt, die sich von Matrix zu Matrix stark unterscheiden. Zum anderen kann sich die Probenvorbereitung im Hinblick auf eine Cokristallisation von Probe und Matrix auswirken, durch die der MALDI-Prozess begünstigt werden kann.

Die Laserenergie, die bei der Aufnahme von MALDI-Spektren variierbar ist, stellt einen weiteren Parameter dar, der hier diskutiert werden soll. Die Abhängigkeit des resultierenden Spektrums von der eingestellten Energie ist in Abbildung 7 wieder anhand des Fettalkoholethoxylats gezeigt. Hierbei wurde die Energie des auftreffenden Laserlichtes, bei gleichbleibender Matrix, zwischen 1,4  $\mu\text{J}$  und 4,2  $\mu\text{J}$  (bezogen auf die vom Laserlicht illuminierte Fläche mit einem Durchmesser von etwa 100  $\mu\text{m}$  auf dem MALDI-Target) verändert. Bei einer Laserenergie von 1,4  $\mu\text{J}$  zeigen sich zwar einige Massensignale, jedoch weist das Spektrum ein sehr geringes Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N) auf, was in keiner Weise für eine hohe Qualität spricht. Mit Erhöhung der Energie tritt eine weitaus bessere Desorption/Ionisation ein, sodass sich zwischen 2,0  $\mu\text{J}$  und 2,7  $\mu\text{J}$  eine durchaus akzeptable Spektrenqualität erzielen lässt.



**Abbildung 7:** MALDI-(TOF)-Massenspektren eines C<sub>12</sub>/C<sub>14</sub>-Fettalkoholethoxylats mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30 bei Variation der Laserenergie.

Probenvorbereitung: Probe 2 mg · mL<sup>-1</sup> in THF, Matrix DCTB 10 mg · mL<sup>-1</sup> in THF, NaCl-Lösung (0,1 mol · L<sup>-1</sup> in THF), Mischen der Einzelkomponenten (20 µL Matrix-Lösung + 20 µL Probelösung + 2 µL Salzlösung), Auftragung von 0,5 µL Mischung auf die Targetoberfläche.

Ein Problem ergibt sich bei höheren Laserenergien. Ab einem bestimmten Wert ergeben sich Spektren, bei denen die Verteilung zu niedrigeren Massen verschoben ist (Abbildung 7; 3,1 µJ). Offenbar ist die Laserenergie zu hoch, um sie vollständig von der Matrix zu absorbieren und zur „weichen“ Desorption der Analyten zu nutzen. Durch die hohen Energiedichten im Matrix-Analyt-Mischkristall können sich Fragmentierungen der Analytmoleküle ergeben, deren Ionen bei niedrigeren Massen detektiert werden. Allerdings lässt sich diese Aussage nicht vollständig bestätigen, da bei der Desorption/Ionisation auch andere Mechanismen zum Tragen kommen könnten, die zu Diskriminierungen in bestimmten Massenbereichen führen.

### 3.1.2 Optimierung der Salzadduktbildung

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, werden Analyten in der MALDI-Massenspektrometrie oft in der Form  $(M+X)^+$  ( $M$  = Analytmolekül;  $X$  = Kation) detektiert. Eine mögliche Erklärung liefert die Theorie der „Gasphasenkationisierung“, die eine Ionen-Molekülreaktion zwischen dem Polymer ( $M$ ) und dem Kation ( $X^+$ ) zu einem Polymer-Kation-Addukt ( $MX^+$ ) beschreibt [12, 163]. Anders als bei der MALDI-Analyse von Proteinen, bei der die Ionisierung aufgrund der relativ hohen Protonenaffinität durch eine Protonierung erreicht wird und Salze meist störende Nebeneffekte bewirken, die oft durch gezielte Entsalzungen verringert werden [164-167], erfolgt die Ionisation von neutralen industriellen Polymeren durch Anlagerung einwertiger Kationen wie  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cs^+$  und  $Ag^+$ , die bei der klassischen „Dried Droplet“-Probenvorbereitungsmethode als Salzlösung der Matrix-Analyt-Lösung zugesetzt werden [12, 67, 168-171]. Einerseits ergibt sich daraus ein klarer Vorteil, da diese Addukte meist sehr stabil sind und hauptsächlich einfach geladene Ionen entstehen, was bei der ESI als alternative Ionisationsmethode für die massenspektrometrische Analyse nicht immer der Fall ist. Andererseits führt eine relativ hohe Salzkonzentration, die das synthetische Produkt aufweisen kann, zu einem großen Problem. Bedingt durch die Art der technischen Syntheseführung enthalten besonders alkoxylierte Polymere (hier: Fettalkoholethoxylate und Fettalkoholpropoxylate) unbestimmte Anteile von z.B. Natrium- und/oder Kaliumionen. Die technische Umsetzung eines Alkohols mit Ethylenoxid zu einem Alkoholethoxylat wird meist in einer basenkatalysierten, anionischen Ringöffnungspolymerisation an einen Alkoholstarter durchgeführt, wobei als Katalysator Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid oder ein Gemisch einiger Salze eingesetzt wird [172]. Da hierbei keine hochreinen Salze Verwendung finden, enthalten diese Produkte Alkaliionen unterschiedlicher Art.

Je nach Verwendung des technischen Produktes ist es oftmals nicht nötig, diese Ionen aus dem Produkt zu entfernen. Dies führt zu einem Problem bei der MALDI-(TOF)MS-Analyse, da zum Beispiel neben der Molekulargewichtsverteilung der Natriumaddukte eine zweite Verteilung im MALDI detektiert wird, deren Ionen

durch die entsprechenden Kaliumaddukte gebildet werden (s. auch Kapitel 3.1.1).

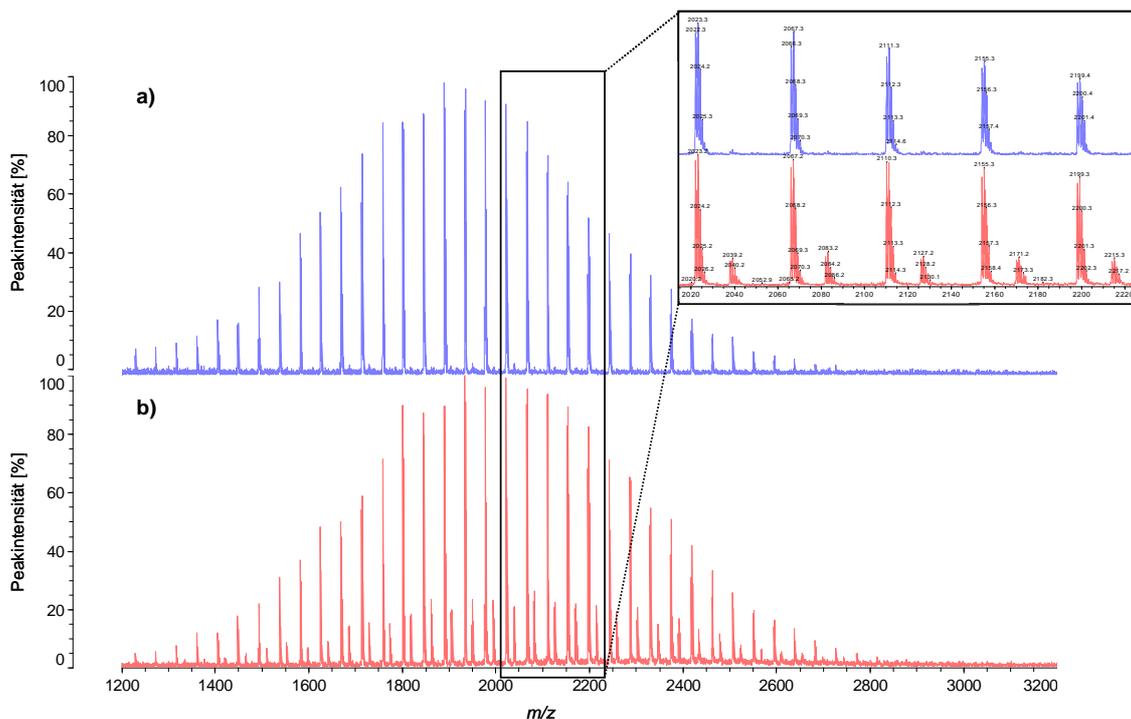
Ein weiteres Problem, welches sich bei der klassischen Probenpräparation ergibt, ist die relativ schlechte Löslichkeit einiger Salze in organischem Lösungsmittel. Durch das Hinzugeben des kationisierenden Agens zu der Probelösung, also der Mischung aus Matrix und Analyt in einem organischen Lösungsmittel, geht nur ein kleiner Teil der Kationen in Lösung. Dadurch können die in der Probe enthaltenen Kationen während der Ionisierung nicht besonders gut durch die hinzugegebenen ausgetauscht, d.h. aus den bestehenden Clustern in der Gasphase verdrängt werden. Dies kann zum Beispiel zu parallel vorliegenden Na/K-Doppelverteilungen führen. Für eine übersichtliche Analyse des polydispersen Produktes und der korrekten Bestimmung der Verteilungsparameter ist jedoch nur eine Adduktverteilung erwünscht.

Zur Optimierung der Kationisierung von Polymeren in der Gasphase wurden für eine effiziente MALDI-Analyse in den letzten Jahren Untersuchungen zu Konformationseffekten und energetischen Eigenschaften durchgeführt und einige neue Techniken entwickelt [12, 39, 170, 171, 173-176]. So wurde zum Beispiel von MEIER und SCHUBERT die sogenannte „*Multiple-Layer Spotting*“-Technik eingeführt, bei der die einzelnen Komponenten (Matrix, Salz und Probe) im Mehrschichtsystem auf das Target aufgetragen werden [176].

In Anlehnung an diese Technik wurde für die MALDI-Analyse der in dieser Arbeit relevanten Analyten eine ähnliche Art der Salzzugabe entwickelt. Dazu wurden 2  $\mu\text{L}$  einer wässrigen Natrium- oder Kaliumchloridlösung mit einer Konzentration von  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  direkt auf das gereinigte und getrocknete Target-Well (Spot auf dem MALDI-Target) gegeben (siehe Seite 35, Abbildung 11a). Als Alternative wurden auch Salzlösungen (1,3  $\mu\text{L}$ ) mit einer Konzentration von  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in einer 1:1-Mischung aus Methanol und Wasser verwendet. Dies führt zu einer besseren Benetzung der Edelstahloberfläche. Nach einer Trockenzeit von etwa 20 - 30 Minuten erfolgte die Auftragung von Matrix- und Probelösung aus einem organischen Lösungsmittel, bei der die zuvor gebildeten Salzkristalle nicht aufgelöst werden. Durch diese Trennung von Salzzugabe und Polymer/Matrix-Applikation konnte der Anteil

von Salzionen auf dem Well erhöht und die Probe bzw. die Matrix in einem geeigneten Lösungsmittel aufgetragen werden.

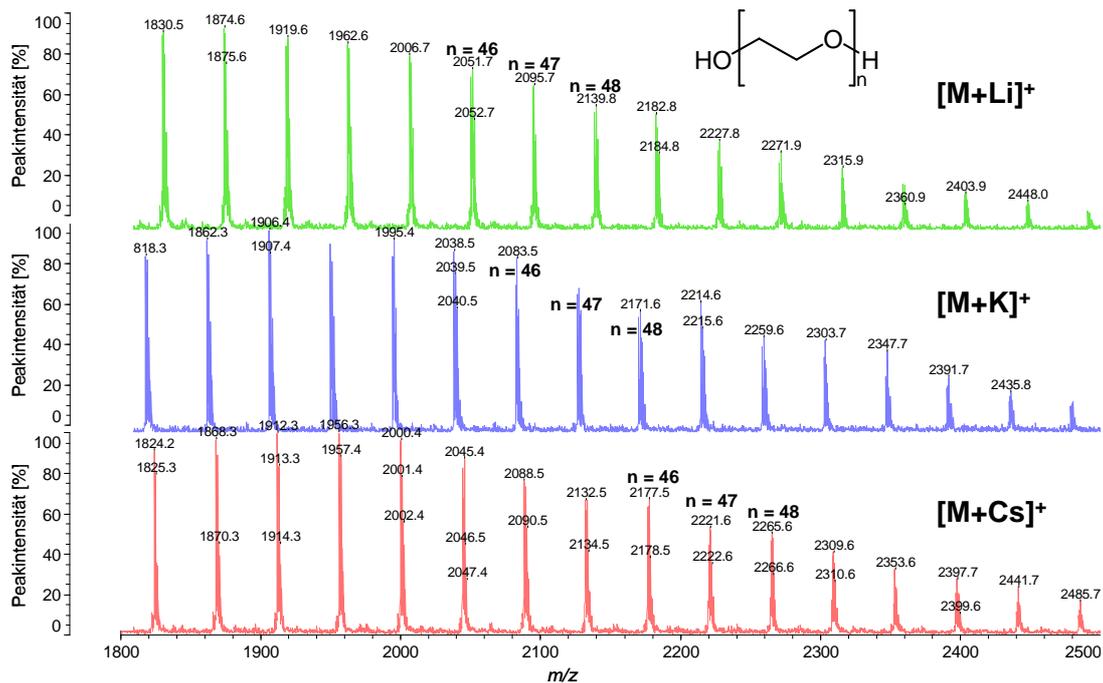
Das Ergebnis dieser optimierten Salz- bzw. Probeaufgabetechnik ist in Abbildung 8 am Beispiel des PEG 2000-Standards darstellt. Abbildung 8b zeigt einen Ausschnitt des MALDI-Spektrums von PEG 2000 ohne Zugabe von Alkalisalzen. Es ist deutlich die Ausbildung sowohl von Natrium- als auch von Kaliumaddukten zu erkennen. Unter Verwendung der Salzvorbereitung mit Natriumchloridlösung lassen sich nur die entsprechenden Natriumaddukte detektieren (Abbildung 8a). Es kommt demnach zum kompletten Austausch der Kalium- durch Natriumionen, was sich in nur einer, wesentlich übersichtlicheren Verteilung zeigt.



**Abbildung 8:** MALDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 2000 mit NaCl-Vorbereitung des Targets (a) und ohne Zusatz von Salz (b).

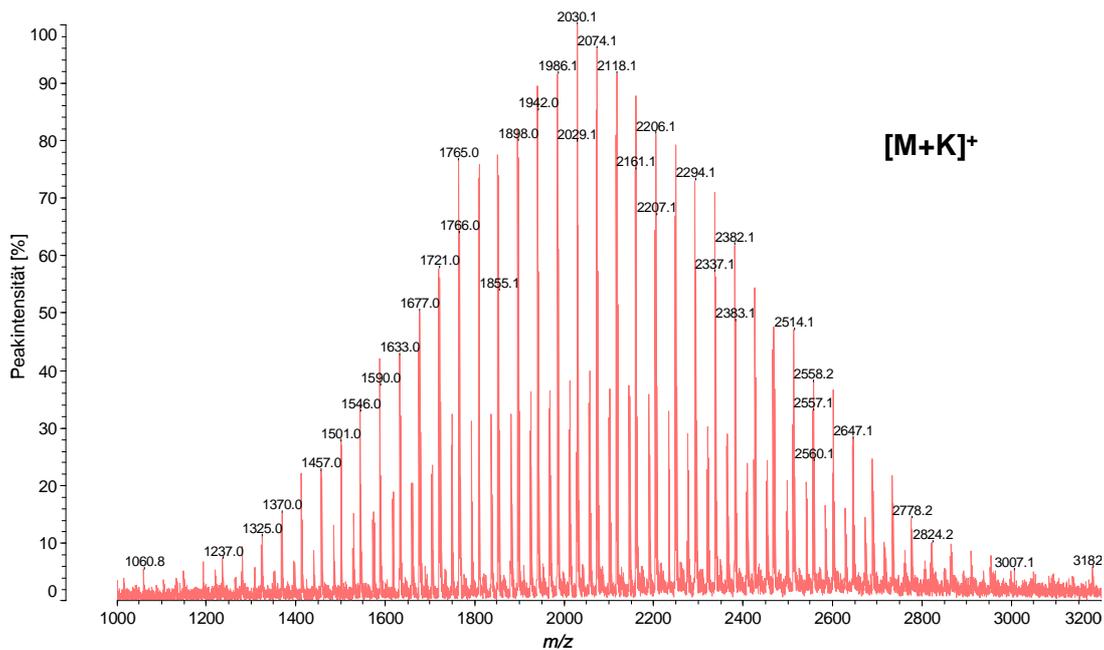
Probenvorbereitung: Probe  $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in Methanol, Matrix DHB  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in Methanol, Mischen der Einzelkomponenten ( $20 \mu\text{L}$  Matrix-Lösung +  $20 \mu\text{L}$  Probelösung), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Mischung auf die Targetoberfläche. Bei (a) Vorbereitung des Targets mit  $2 \mu\text{L}$  einer wässrigen NaCl-Lösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

Dass dieses Probenvorbereitungsverfahren auch auf andere Alkaliionen übertragbar ist, zeigen die Spektren in Abbildung 9. Dabei zeigt die Verwendung von schweren Ionen, wie hier das Caesiumion, einen Vorteil, da die Verteilung durch die höhere Masse des adduktbildenden Ions in einen höheren Massenbereich verschoben wird und somit Ionen im niedrigen Massenbereich, die zum Teil durch Verunreinigungen oder Matrixcluster gebildet werden, nicht stören.



**Abbildung 9:** MALDI-(TOF)-Massenspektren von Polyethylenglycol 2000 unter Verwendung der Salzvorbereitung des Targets mit LiCl, KCl und CsCl.

Diese optimierte Probenvorbereitung konnte problemlos auf oleochemische tensidische Produkte übertragen werden. So zeigt Abbildung 10 das MALDI-Spektrum eines hochethoxylierten Fettalkohols. Durch die Vorbereitung des Targets mit Kaliumchlorid lassen sich bevorzugt die  $[M+K]^+$ -Ionenreihen der  $C_{12}EO_x$ - bzw. der  $C_{14}EO_x$ -Oligomeren darstellen.

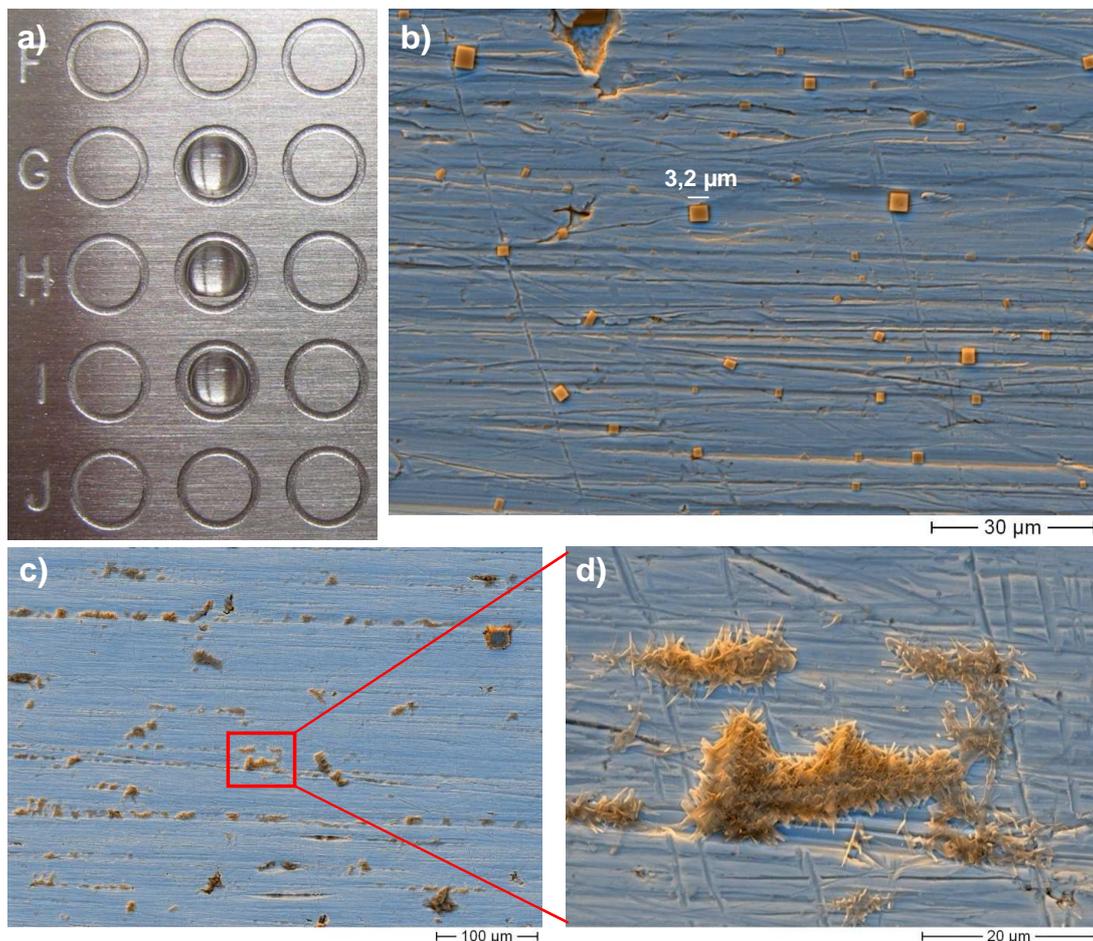


**Abbildung 10:** MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines hochethoxylierten C<sub>12</sub>/C<sub>14</sub>-Fettalkoholgemisches aus einer Probenpräparation mit KCl-Vorbeschichtung (Matrix: DCTB, Lösungsmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Trotz der selektiveren Adduktbildung könnte diese Art der Probenvorbereitung hinsichtlich einer quantitativen oder semi-quantitativen Analyse zu einigen Problemen führen. Eines der wichtigsten Kriterien, um eine quantitative oder semi-quantitative Analyse von polymeren Substanzen mit MALDI-MS zu ermöglichen, ist, wie bereits zuvor angedeutet, die Homogenität der Analyt/Matrix/Salz-Mischung auf der Oberfläche des Targets. Zur bildlichen Darstellung der Oberfläche und chemischen Beschaffenheit der auf dem MALDI-Target abgelagerten Komponenten wurden im Rahmen dieser Arbeit im Labor von Herrn Dr. Schäffner (Solingen) Aufnahmen mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) durchgeführt. Dazu wurde ein Cambridge Instruments S 360 (Cambridge Instruments, Cambridge, UK) und ein ZEISS Leo 438 VPI (Zeiss, Oberkochen, D) verwendet.

Abbildung 11b zeigt eine REM-Aufnahme der Oberfläche eines mit Kaliumchlorid beschichteten MALDI-Targets. Die KCl-Kristalle liegen im Größenbereich zwischen 1 und 5 µm, wobei die Furchen des gebürsteten Edelstahls ideale Orte für die Bildung von Kristallisationskeimen darstellen. Somit ordnen sich die Salzkristalle bevorzugt

dort an. Wird nun zu dieser Vorbeschichtung ein Polymer/Matrix-Gemisch aus einem organischen Lösungsmittel aufgetragen, lagern sich diese organischen Komponenten (Analyt + Matrix) bevorzugt an den bereits vorhandenen Salzkristallen an. Dies ist in Abbildung 11c und in der Vergrößerung eines Ausschnitts (Abbildung 11d) zu sehen. Aus spektroskopischen Untersuchungen mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) konnte ermittelt werden, dass sich die organischen Kristallite an der Oberfläche der Salzkristalle befinden. Das EDX-Spektrum hierzu ist in Abbildung 44 im Anhang (Kapitel 6) dargestellt. Betrachtet man jedoch die zufällige Verteilung der Analyt/Matrix/Salz-Substanzzonen auf dem Target (Abbildung 11c) und bedenkt, dass der Durchmesser der vom Laserlicht illuminierten



**Abbildung 11:** Foto der Beschichtung der Target-Wellen mit Salzlösung (a), REM-Aufnahme der mit Salz beschichteten Targetoberfläche (b) und REM-Aufnahmen der Targetoberfläche nach Salzvorbeschichtung und Auskristallisation der anschließend aufgetragenen Matrix/Analyt-Mischung (c+d).

Fläche auf der Targetoberfläche etwa 100  $\mu\text{m}$  beträgt, wird deutlich, dass die erforderliche Homogenität der Probe für eine quantitative oder semi-quantitative Analyse von polymeren Substanzen mit MALDI-MS unter Verwendung dieser Probenvorbereitung nicht gegeben ist. Nur durch eine ausreichend hohe Anzahl akkumulierter Laserschüsse lassen sich zum Teil Auswirkungen der Probeninhomogenität auf die Reproduzierbarkeit der erhaltenen Massenspektren verringern.

### **3.2 Systematische Untersuchungen zur Optimierung der MALDI-(TOF)MS-Analyse polydisperser Aktivkomponenten**

Anhand einiger Beispiele konnte gezeigt werden, welche Faktoren die MALDI-Analyse von polymeren Verbindungen beeinflussen und durch welche Parameter eine Optimierung der MALDI-Analysen möglich ist.

Um diese verschiedenen Einflussgrößen in ihrer Auswirkung auf die MALDI-(TOF)MS-Analyse von ausgewählten polydispersen Aktivkomponenten zu untersuchen, wurden mit Hilfe eines Versuchsplans Kombinationen aus Matrices, Lösungsmitteln und Ionisationshilfsmitteln (Salze) systematisch analysiert und ausgewertet.

Die Erstellung und Nutzung eines statistischen Versuchsplans (*Design of Experiments*, DoE) konnte bereits von GRUENDLING et al. erfolgreich für die Optimierung der Ionenquellenparameter bei der Größenausschlusschromatographie-ESI-MS von synthetischen Polymeren eingesetzt werden [177]. LAPOLLA et al. und ZAIMA et al. nutzten einen statistischen Ansatz zur Darstellung und Interpretation von MALDI-MS-Daten [178, 179] und MEIER et al. entwickelten und optimierten neu synthetisierte MALDI-Matrices mit Hilfe einer Hauptkomponentenanalyse (*Principle Component Analysis*, PCA) [180].

Dieses Kapitel beinhaltet Ergebnisse aus der wissenschaftlichen Abschlussarbeit „Optimierung der MALDI-TOF-MS Analyse von polydispersen Aktivkomponenten

---

für Reinigungs- und Pflegeprodukte“ von BURSA [181].

### 3.2.1 Grundlagen der statistischen Versuchsplanung

Um eine hohe Anzahl an Einzeldaten aus vergleichenden Messungen zu erhalten, kann der „klassische Ansatz“, also die Variation eines Parameters bei Konstanthalten der anderen Parameter, gewählt werden. Da diese Vorgehensweise relativ umständlich ist – eine große Anzahl von Daten muss gesichtet werden – und die Gefahr besteht, dass systematische Fehler als signifikante Wechselwirkung erkannt werden, wurde in der vorliegenden Arbeit eine statistische Versuchsplanung durchgeführt. Dabei wurde ein Versuchsplan erstellt, der die Aufgabe hat, alle erhaltenen Datenkombinationen der Einzelparameter strukturiert darzustellen [181].

Daraus kann ein sogenanntes Screening-Design entwickelt werden, das aufzeigt, welche Parameter einen signifikanten Einfluss auf die einzelnen Messgrößen haben und wie die einzelnen Parameter sich gegenseitig beeinflussen. Dies dient dazu, die Effekte mit größtem positiven Einfluss herauszustellen, um die Methode hinsichtlich der untersuchten Parameter zu optimieren. Anhand ausgewählter und festgelegter Parameter, die einen Einfluss auf die Messgröße(n) zeigen könnten, werden obere und untere Rahmenwerte definiert. Dadurch ist es möglich, ein Design auszuwählen und einen Versuchsplan zu erstellen [181].

Um die Reproduzierbarkeit der Messungen zu überprüfen und so die Verlässlichkeit der Einzelmesswerte zu erhöhen, können Wiederholungsmessungen in den Versuchsplan integriert werden. Der Plan sollte in einer zufälligen Reihenfolge bearbeitet werden, um systematische Fehler auszugleichen [181].

Die anschließende Auswertung des Screenings setzt sich aus unterschiedlichen Schritten zusammen. Zum einen ist die Berechnung der Effekte der Parameter und ihrer Wechselwirkung erforderlich, zum anderen kann der experimentelle Fehler ermittelt werden und darüber hinaus sollten die Effekte auf ihre Signifikanz hin überprüft werden [182].

Aus den erhaltenen Messwerten lassen sich durch die sogenannten Hauptkomponentenanalysen (*Principal Component Analysis*, PCA) die umfangreichen Datensätze vereinfachen, strukturieren und graphisch veranschaulichen. Die PCA ist ein Verfahren der multivariaten Statistik, bei der die ursprünglichen Variablen (also die eigentlichen Messgrößen) in die sogenannten Hauptkomponenten (PC) überführt werden. Dies erfolgt durch eine Achsentransformation. Hierbei wird die erste Hauptkomponentenachse (PC1) in den bestehenden Datenraum gelegt, so dass die Varianz dieser Daten gegen ein Maximum läuft. Dann wird eine zweite Achse orthogonal zu PC1 in den Raum gelegt, so dass auch hier die Restvarianz minimiert wird. In ähnlicher Art kann mit weiteren Hauptkomponenten verfahren werden [182, 183]. Zusätzlich zu dieser beschriebenen Hauptkomponentenanalyse eines Datensatzes führt die sogenannte Varianzanalyse (*Analysis of Variance*, ANOVA) zu einer Aufschlüsselung der Einzeleinflüsse der Parameter auf die Messgrößen. Die beiden Verfahren liefern danach in etwa die gleichen Erkenntnisse, jedoch kann durch die Varianzanalyse eine genauere Information über den Grund eines Einflusses auf eine definierte Messgröße erhalten werden. Sie ist demnach ein Mittel um zu entscheiden, ob sich die Werte einer Zielvariablen in verschiedenen Gruppen der Stichprobe signifikant unterscheiden. Somit lassen sich die Einflüsse der einzelnen Parameter untereinander vergleichen, wodurch herausgestellt werden kann, welche Parameter einen hohen bzw. geringen Einfluss auf das Messergebnis haben [181, 182].

### **3.2.2 Versuchsplanerstellung und Kriterien zur Beurteilung der Massenspektren**

Zur übersichtlichen Darstellung soll im Folgenden auf die Ergebnisse der vergleichenden Untersuchungen von drei Produkten eingegangen werden. Dazu zählt ein Fettalkoholethoxylat mit einer  $C_{16/18}$ -Fettalkoholverteilung und einem mittleren EO-Grad von 30 (Eumulgin® B 3), ein Alkylpolyglucosid mit einer  $C_{12/14}$ -Alkylkettenverteilung und einem Hauptglucosilierungsgrad von 1 (Glucopon® 600 CS UP)

und einem niedrig ethoxylierten Fettalkoholethersulfat mit einer C<sub>12/14</sub>-Fettalkoholverteilung (Texapon® N 70).

Jedes Produkt wurde zu Vergleichszwecken mit vier verschiedenen Matrices, fünf unterschiedlichen Salzen und vier Lösungsmitteln gemessen, wobei jeweils eine Doppelbestimmung durchgeführt wurde. Zusätzlich wurde die lösungsmittelfreie (solid/solid) Probenvorbereitung angewandt, auf die später in den Kapiteln 3.3 und 3.4 näher eingegangen wird. Als Matrices wurden für diese vergleichenden Messungen Dithranol, DHB, HCCA und Bleistift des Härtegrades 5B (vgl. Kapitel 3.3.2) eingesetzt. Lithiumchlorid (LiCl), Kaliumchlorid (KCl), Caesiumchlorid (CsCl), Calciumchlorid (CaCl<sub>2</sub>) und Silbertrifluoracetat (AgTFA) wurden als Salzvorbereitung auf das Target gegeben (vgl. Kapitel 3.1.2). Als Lösungsmittel dienten Aceton, Dichlormethan, Methanol und Tetrahydrofuran.

Es wurde ein *full factorial design* ausgewählt, bei dem alle möglichen Faktorenkombinationen, also alle Kombinationen einer Probe mit allen Matrices, allen Salzen und allen Lösungsmitteln, in den Versuchsplan eingehen. Ein reduziertes Design, wie es häufig bei DoE-Plänen herangezogen wird, konnte hier nicht angewendet werden, da es sich bei den ausgewählten Variablen ausschließlich um Kategorievariablen handelt.

Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurde die Laserenergie bei der Aufnahme der MALDI-MS-Spektren so angepasst, dass diese für die Analyse eines Produktes stets in einem gleichbleibenden Bereich lag und das Detektorsignal (TIC) von Messung zu Messung gleich war. Die experimentelle Umsetzung war aufwändig, da die verwendeten Matrices mit variierenden Analyten zu sehr unterschiedlichen Ionisierungsausbeuten führen und der Totalionenstrom von Spektrum zu Spektrum unterschiedlich groß sein kann. Bei der Verwendung von Bleistift als Matrix ist diese Anpassung nicht möglich, hier wurde immer mit einer deutlich geringeren Laserenergie gearbeitet. Eine Übersicht über die am Gerät eingestellten Laserenergien und die Massenbereiche des Ionendeflektors sind in Tabelle 5 im Anhang (Kapitel 6) zu finden.

Zur Bewertung dieser vergleichenden Messungen wurden das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N) des Peaks bei der mittleren Polymerkettenlänge und die Spektrenqualität (Q) herangezogen. Da letztere einen nicht durch Zahlen darstellbaren Faktor beschreibt, wurden folgende Kriterien in die Bewertung der Spektrenqualität einbezogen:

- Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Massenpeaks in der gesamten Verteilung
- Anzahl der Monomereinheiten des Moleküls mit dem höchsten Signal (Ethoxylierungsgrad bzw. Glucosilierungsgrad)
- Differenz des Hauptmassenpeaks zum mittleren Polymerisierungsgrad
- Salzaddukte bzw. zusätzliche Salzaddukte
- Diskriminierungen von bestimmten Massen (und eine daraus resultierende Verschiebung der Gesamtpolymerverteilung)
- Unterverteilungen, die durch die unterrepräsentierten zusätzlichen Alkylketten im Massenspektrum auftreten

Diese Kriterien sind die Grundlage einer guten oder einer schlechten Spektrenqualität. Die verschiedenen Qualitätsstufen reichen dabei von 0 (dies entspricht einer schlechten Qualität) bis zu 4 (dies entspricht einer sehr guten Qualität). Um die Massenspektren in die verschiedenen Qualitätsklassen einzuordnen, wurden die in der Tabelle 2 zusammengestellten Kriterien genutzt.

Beurteilungskriterien: Fettalkoholethoxylat					
S/N *	≤ 20	21 - 40	41 - 60	61 - 100	> 100
EO-Differenz	> 10	10 - 7	6 - 4	3 - 2	1 - 0
Hauptverteilung	schmal, verschoben	schmal, verschoben	schmal	breit	breit
Unterverteilung	sehr groß	groß	mittel	klein	klein
Salzverteilung	> zwei Verteilungen	große zweite Verteilung	kleine zweite Verteilung	eine Verteilung	eine Verteilung
Qualität	0 (schlecht)	1 (schlecht)	2 (ausreichend)	3 (gut)	4 (sehr gut)

Beurteilungskriterien: Alkylpolyglucosid					
S/N *	≤ 20	21 - 80	81 - 140	141 - 200	> 200
Hauptverteilung	1 - 2 Glucoseeinheiten	3 - 4 Glucoseeinheiten	5 - 7 Glucoseeinheiten	8 - 10 Glucoseeinheiten	> 10 Glucoseeinheiten
Salzverteilung	> eine Verteilung	eine Verteilung	eine Verteilung	eine Verteilung	eine Verteilung
Qualität	0 (schlecht)	1 (schlecht)	2 (ausreichend)	3 (gut)	4 (sehr gut)

Beurteilungskriterien: Fettalkoholethersulfat					
S/N *	≤ 20	21 - 60	61 - 80	81 - 100	>100
Polymerverteilung	bis 5 EO	5 - 10 EO	bis 10 EO	10 - 15 EO	15 EO
Qualität	0 (schlecht)	1 (schlecht)	2 (ausreichend)	3 (gut)	4 (sehr gut)

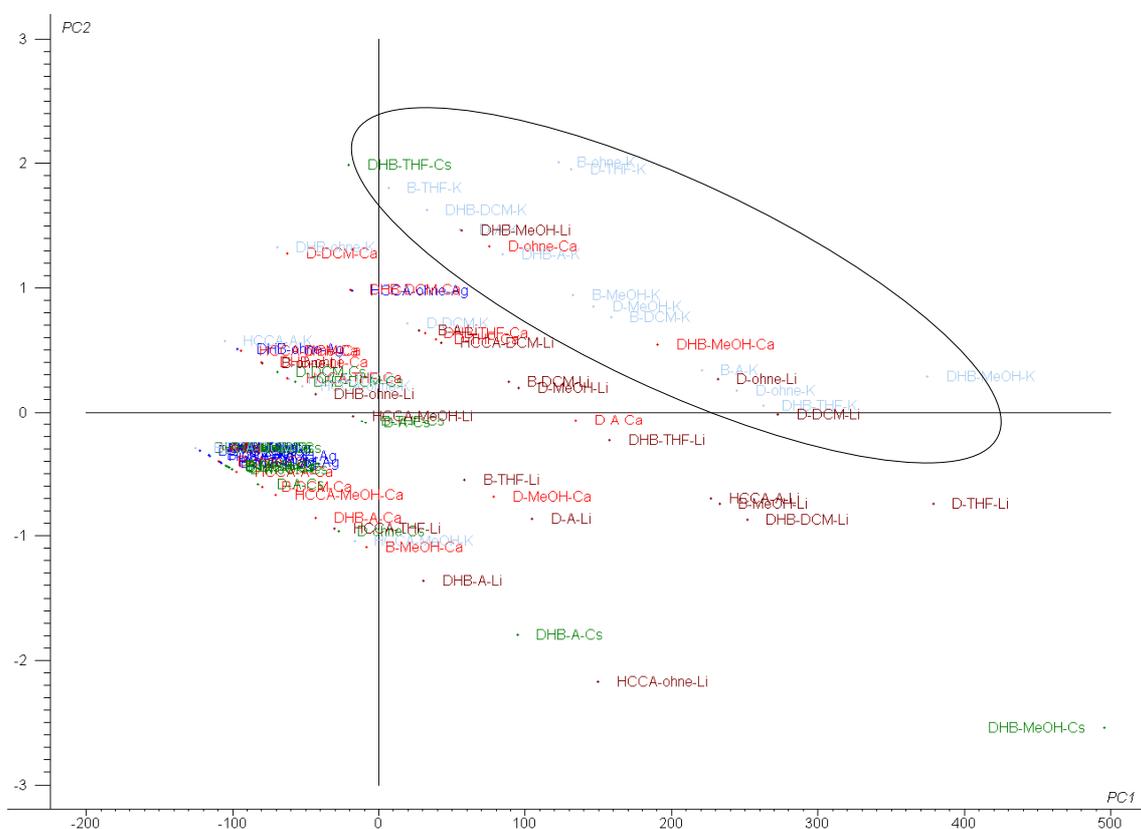
\* Signal-zu-Rauschverhältnis der Massenpeaks in der gesamten Verteilung

**Tabelle 2:** Kriterien zur Beurteilung und Klassifizierung der Massenspektren für die statistische Auswertung der Vergleichsmessungen.

### 3.2.3 Interpretation und Auswertung der Ergebnisse mittels Hauptkomponentenanalyse

Die Hauptkomponentenanalyse (PCA) des Alkylpolyglucosids in Abbildung 12 zeigt die untersuchten Kombinationen in Abhängigkeit der ersten (PC1) und der zweiten (PC2) Hauptkomponente. Dabei wird PC1 hauptsächlich vom S/N-Verhältnis beein-

flusst, der Parameter Spektrenqualität (Q) wirkt sich am stärksten auf PC2 aus. Da das Signal-zu-Rausch-Verhältnis auch mit in die Bewertung der Spektrenqualität eingeht, wird die Hauptkomponente PC2 daher auch stark durch den Parameter S/N beeinflusst. Die Kombinationen mit hohen S/N-Werten sind steigend mit PC1 angeordnet. Je größer die Hauptkomponente PC2, desto besser ist die Qualität der Einzelspektren. Demnach lassen sich aus der Abbildung Spektren mit hohen S/N-Verhältnissen und hohen Qualitäten durch hohe Werte von PC1 und PC2 ablesen.



Farbkodierung: Lithium (braun), Kalium (hellblau), Calcium (rot), Caesium (grün), Silber (blau)  
 Abkürzungen: DHB (2,5-Dihydroxybenzoesäure), HCCA ( $\alpha$ -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure), D (Dithranol), B (Bleistift 5B)  
 MeOH (Methanol), THF (Tetrahydrofuran), A (Aceton), DCM (Dichlormethan),  
 ohne (lösungsmittelfreie Probenvorbereitung)  
 Li (Lithiumchlorid), K (Kaliumchlorid), Cs (Caesiumchlorid), Ca (Calciumchlorid), Ag (Silbertrifluoracetat)

**Abbildung 12:** Grafische Darstellung der Hauptkomponentenanalyse mit farblicher Markierung der unterschiedlichen Salzaddukte (Salz-PCA) des Alkylpolyglucosids.

Die Qualitätsgruppierungen bei den verschiedenen Messungen des Produktes sind deutlich zu erkennen und die unterschiedlichen Salzgruppen sind in dieser Haupt-

komponentenanalyse des Alkylpolyglucosids verschieden gefärbt.

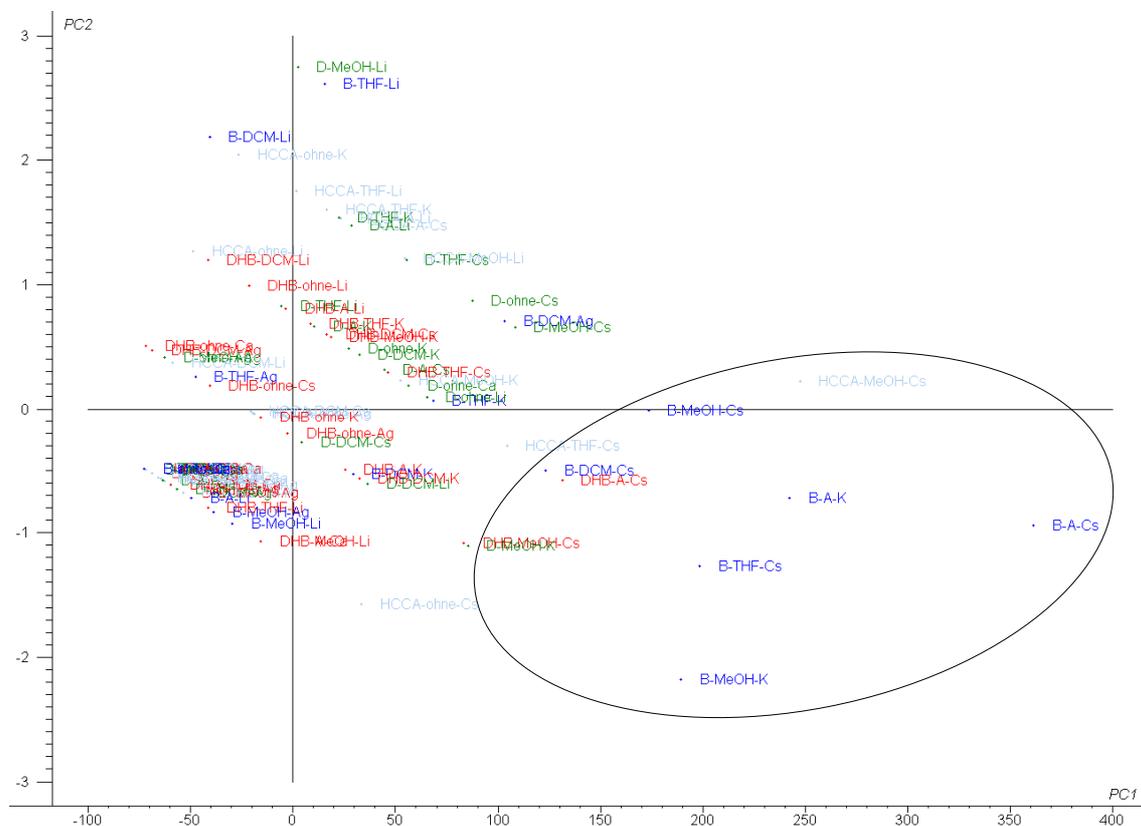
Bei genauer Betrachtung fallen die hellblau eingefärbten Kombinationen auf (schwarzes Oval). Bei diesen Analysen, welche mit Kalium als kationisierendem Agens durchgeführt wurden, treten die beiden höchsten Qualitätsstufen am häufigsten auf. Zudem lässt sich eine Besonderheit der Lithiumaddukte aufzeigen. Bei diesen Messungen sind zwar alle Qualitätsstufen vertreten, dennoch zeigt sich ein eindeutiger Trend zu hohen S/N-Verhältnissen. Die beste Probenvorbereitungskombination stellt in diesem systematischen Vergleich die Verwendung von Dihydroxybenzoesäure, Methanol und Kalium dar, da hiermit die höchsten Signal-zu-Rausch-Verhältnisse (bis zu  $S/N = 500$ ) und die höchsten Qualitätsstufen erreicht werden konnten.

Direkte Vergleiche in den einzelnen Parametersätzen konnten über Einzelvarianzanalysen erzielt werden. Danach haben die Salze Lithium- und Kaliumchlorid die größten positiven Einflüsse auf die resultierenden Messungen.

Diese Effekte lassen sich dadurch erklären, dass beide Ionen eine starke Koordination mit dem Glucosering eingehen. Von BOTEK et al. und ANTONOPOULOS et al. wurden die Enthalpien zur Bildung von Komplexen der  $\beta$ -D-Glucopyranose mit Alkalimetallionen berechnet, Strukturen zu diesen Komplexen bestimmt und Ionisierungsausbeuten in der MALDI-Ionenquelle ermittelt [184, 185]. Demnach liegt die Komplexbildungsenthalpie der gebildeten Lithiumaddukte etwa um den Faktor 2,2 niedriger als die der entsprechenden Kaliumaddukte, was für die Verwendung eines Lithiumsalzes bei der MALDI-Analyse von Alkylpolyglucosiden spricht. Trotzdem sind die Kombinationen von Kalium mit DHB in Methanol oder DHB in THF nicht zu vernachlässigen. Dies zeigen die Ergebnisse der Kaliumaddukte im Bezug auf die Qualitätsstufen.

In Abbildung 13 ist die Hauptkomponentenanalyse des Fettalkoholethersulfats gezeigt. Die beiden Achsen der Hauptkomponenten PC1 und PC2 sind hierbei genau so zu betrachten, wie in Abbildung 12. Auch hier werden die Werte von PC1 bzw. PC2 hauptsächlich durch S/N bzw. die Spektrenqualität und S/N beeinflusst. Aller-

dings sind nicht die unterschiedlichen Salze, sondern die verwendeten Matrices farblich markiert.



Farbkodierung: 2,5-Dihydroxybenzoesäure (rot),  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure (hellblau), Dithranol (grün), Bleistift 5B (blau)  
 Abkürzungen: DHB (2,5-Dihydroxybenzoesäure), HCCA ( $\alpha$ -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure), D (Dithranol), B (Bleistift 5B) MeOH (Methanol), THF (Tetrahydrofuran), A (Aceton), DCM (Dichlormethan), ohne (lösungsmittelfreie Probenvorbereitung) Li (Lithiumchlorid), K (Kaliumchlorid), Cs (Caesiumchlorid), Ca (Calciumchlorid), Ag (Silbertrifluoracetat)

**Abbildung 13:** Grafische Darstellung der Hauptkomponentenanalyse mit farblicher Markierung der unterschiedlichen Matrices (Matrix-PCA) des Fettalkoholethersulfats.

In der graphischen Auswertung der Vergleichsmessungen fällt besonders die blau gekennzeichnete Matrixgruppierung auf (schwarzes Oval). Bei diesen Kombinationen, die sich durch hohe S/N-Werte auszeichnen, wurde Bleistift als Matrix (vgl. Kapitel 3.3.2) verwendet. Bleistift hat den höchsten positiven Einfluss auf die MALDI-Massenspektren im Vergleich zu allen anderen untersuchten Parametern. In einer zusätzlich erstellten Einzelvarianzanalyse der verwendeten Salze zeigte sich, dass

sich die Verwendung von Caesiumchlorid in den hier gezeigten Kombinationen stark positiv auf die S/N-Verhältnisse der Spektren auswirkt. So ist zum Beispiel der Einfluss von Cs<sup>+</sup>-Ionen auf die S/N-Verhältnisse aller untersuchten Kombinationen etwa um den Faktor sieben größer als der Einfluss von Ag<sup>+</sup>-Ionen.

Zur Bildung von einfach positiv geladenen Ionen bei der Ionisierung von Fettalkoholethersulfaten ist die Anlagerung von zwei Kationen notwendig. Dabei bildet das erste Kation zunächst einen neutralen Komplex mit dem Anionentensid. Die Bildung von Doppel-Kationenaddukten bei der MALDI-Analyse von Alkylphenolethoxysulfonaten wurde bereits von BENOMAR et al. ausgenutzt. Sie konnten zeigen, dass im MALDI-Prozess bei Verwendung von Lithiumsalzen [M-Na+2Li]<sup>+</sup>-Ionen entstehen [186]. Bei der Verwendung von Caesiumsalzen zeigt sich in den Massenspektren der Fettalkoholethersulfate, wie bereits in Kapitel 3.1.2 beschrieben, eine Verschiebung der Polymermassenverteilung (gebildet durch [M+2Cs]<sup>+</sup>-Ionen) zu höheren Massen [174]. Diese Verschiebung ist vorteilhaft, da auf diese Weise die Signale nicht durch Matrixbestandteile beeinflusst werden können. Betrachtet man hierbei noch die Besonderheiten des Bleistiftes und dessen Verwendung als MALDI-Matrix im niedrigeren Massenbereich, lassen sich die gezeigten Kombinationen besonders gut für die FAES-Analyse anwenden.

Eine ausführliche Diskussion aller erstellten Hauptkomponenten- und Varianzanalysen und die Ergebnisse weiterer untersuchter Produkte sind in der wissenschaftlichen Abschlußarbeit von BURSA zusammengestellt [181].

### **3.2.4 Zusammenfassung der Ergebnisse des statistischen Optimierungsansatzes**

In den vorangehenden Unterkapiteln wurden am Beispiel ausgewählter Tensidklassen die Ergebnisse einer systematischen Untersuchung, bei der wichtige Parameter der Probenvorbereitung für die MALDI-(TOF)MS-Analyse variiert wurden, dargestellt und diskutiert.

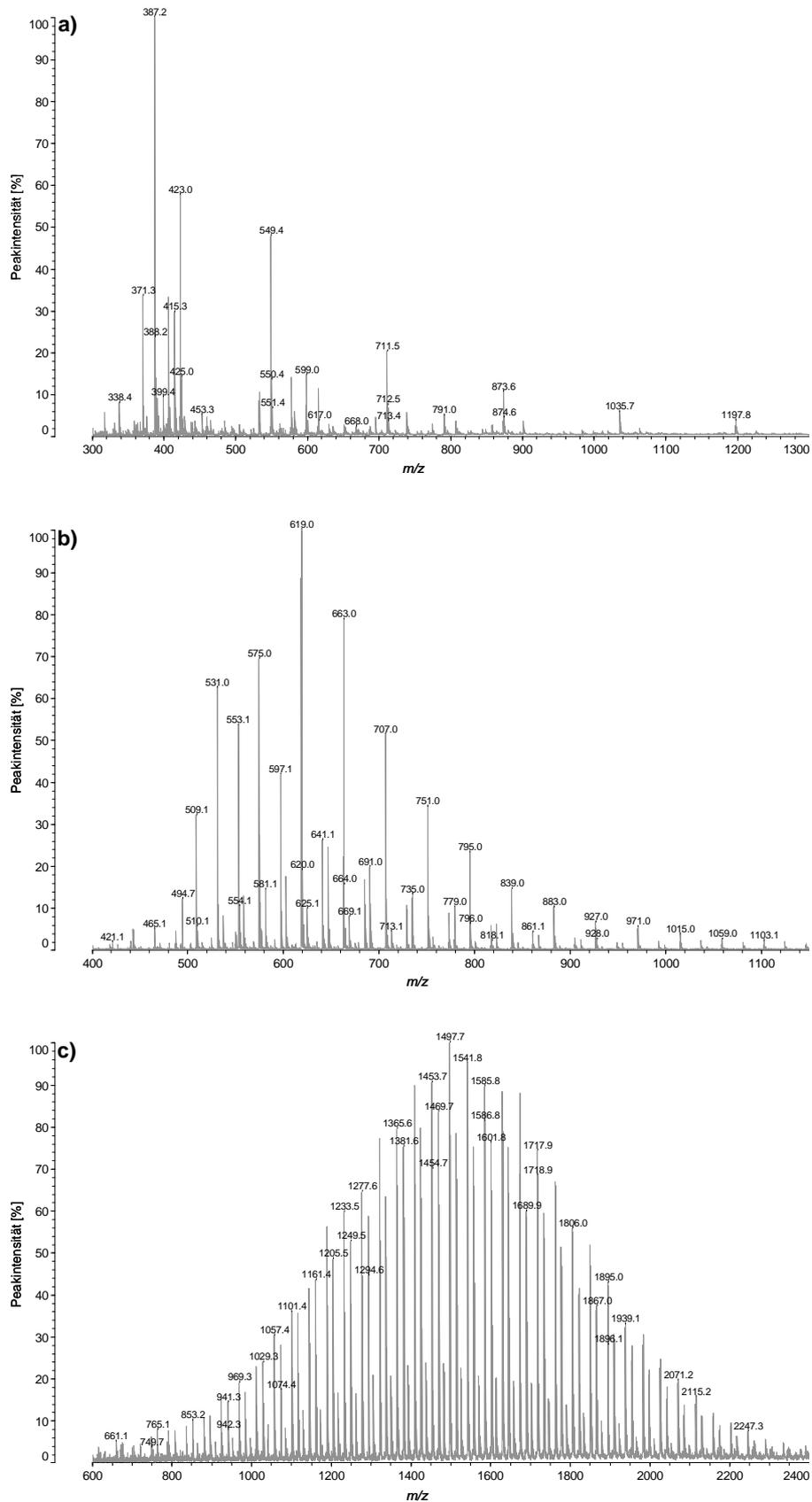
Durch die erstellten Versuchspläne und die durchgeführten Hauptkomponentenanalysen ist es möglich, Aussagen über wichtige Parameter der Probenvorbereitung für unterschiedliche Tensidklassen zu treffen. In Tabelle 3 sind unter den Begriffen Methode 1 und Methode 2 Parameter aufgeführt, die für die MALDI-Analyse der jeweiligen Tensidklasse sehr gute Resultate ergeben haben. Die resultierenden MALDI-(TOF)-Massenspektren von drei untersuchten Produkten zeigt Abbildung 14.

Tensidklasse	Methode 1	Methode 2
Alkylpolyglucoside	DHB Methanol Kalium	Dithranol THF Kalium
Fettalkoholethersulfate	Bleistift (5B) Aceton Caesium	Bleistift (5B) Dichlormethan Caesium
Fettalkoholethoxylate	Dithranol Aceton Kalium	Dithranol Methanol Kalium

**Tabelle 3:** Wichtige Parameter bei der Probenvorbereitung von Alkylpolyglucosiden, Fettalkoholethersulfaten und Fettalkoholethoxylaten für die MALDI-(TOF)MS-Analyse.

Zusätzliche Einzelvarianzanalysen konnten zeigen, dass der Einfluss der verwendeten Matrix und dem eingesetzten Ionisationshilfsmittel, also dem zugesetzten Salz hoch ist. Dagegen zeigen die verwendeten Lösungsmittel einen geringen bzw. nicht signifikanten Einfluss auf die hier interessierenden Zielgrößen. Demnach scheint die einzige Funktion des Lösungsmittels das Lösen und die gleichmäßige Verteilung von Matrix/Analyt-Mischung auf dem Target zu sein. Ein direkter Einfluss auf den MALDI-Prozess ist somit nicht gegeben.

Durch die Verwendung der statistischen Versuchspläne konnten die Einflüsse der verschiedenen Parameter bei der Probenvorbereitung für die MALDI-(TOF)MS-Analyse gut herausgestellt und veranschaulicht werden.



**Abbildung 14:** MALDI-(TOF)-Massenspektren eines Alkylpolyglucosids (DHB-Methanol-KCl) (a), eines Fettalkoholethersulfats (Bleistift-Aceton-CsCl) (b) und eines Fettalkoholethoxylats (Dithranol-Aceton-KCl) (c).

Zur systematischen Erfassung und Darstellung der Kombinationen bietet sich die Nutzung eines solchen Plans an, auch wenn in diesem Fall keine kontinuierlichen Variablen herangezogen wurden und daher die Anzahl der Experimente nicht verringert werden konnte. Systematische Auswirkungen konnten gerade bei der großen Anzahl an möglichen Kombinationen effizient ermittelt, grafisch dargestellt und diskutiert werden.

### **3.3 Einsatz der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung**

Die MALDI-Analyse von polydispersen Aktivkomponenten, die als Tenside eingesetzt werden, erfordert meist eine exakte Darstellung der Analytionen in einem Massenbereich zwischen 50 und 5000 Da. Dabei kann die Analyse von kleinen Molekülen und kleineren Oligomeren, deren Massenbereich unter 1000 Da liegt, problematisch sein [187, 188]. Das Hauptproblem sind chemische Hintergrundsignale, die hauptsächlich durch Ionisierung der MALDI-Matrix und deren Verunreinigungen gebildet werden. Dadurch kann es zu einer Detektorsättigung im niedrigen Molekularbereich kommen [187].

WEIDNER und FALKENHAGEN beobachteten zudem einen sehr großen Einfluss des bei der klassischen Probenvorbereitung verwendeten Lösungsmittels auf die MALDI-Analyse. Sie konnten mit Hilfe der MALDI-Imaging Massenspektrometrie zeigen, dass es bei der Analyse von Polybutylenglycol unter Verwendung von HCCA als Matrix und Methanol als Lösungsmittel zu einer Massenseparation der Homologen auf dem Targetspot kommt. Das Verdampfen des Lösungsmittels bei dieser „*Dried Droplet*“-Probenaufgabe führt demnach zu einem Konzentrationsgradienten der polymeren Bestandteile in den einzelnen Spots [189-191]. Ähnliche Experimente wurden auch von QIAO et al. durchgeführt, bei denen die Verteilung der Analyten bei der MALDI-Analyse von Biomolekülen untersucht wurde [192]. Diese beschriebenen Effekte begünstigen keineswegs eine homogene Verteilung des Analyten auf der

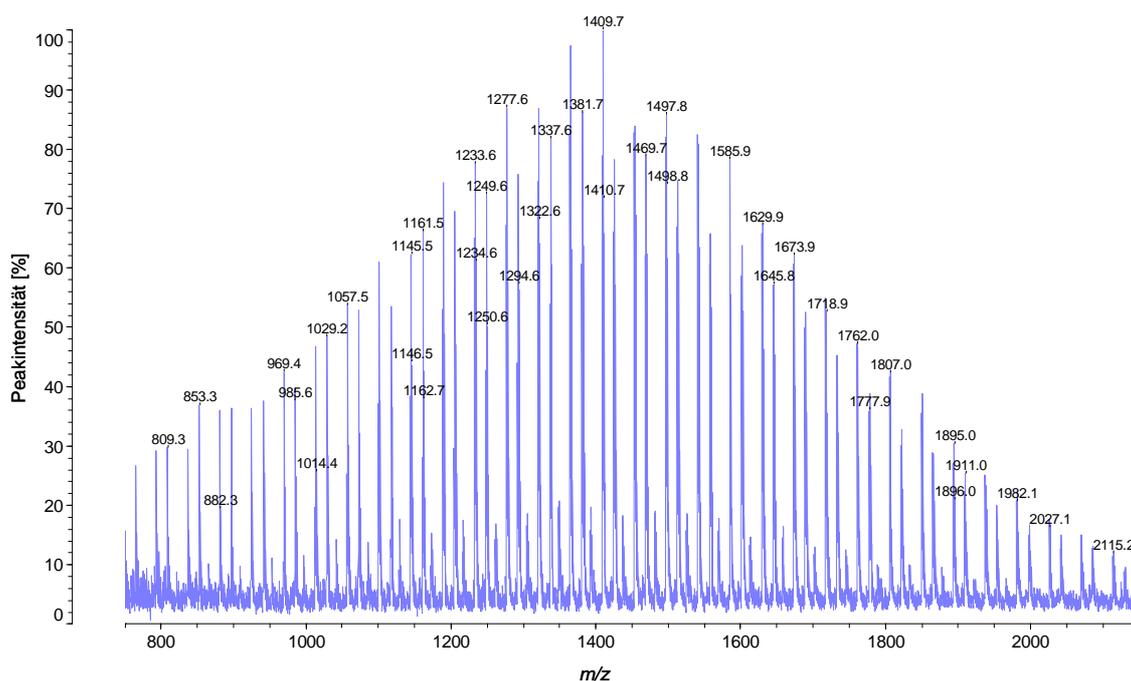
MALDI-Targetoberfläche und sollten durch den Einsatz alternativer Probenvorbereitungsverfahren herabgesetzt oder sogar gänzlich vermieden werden.

Neben einigen anderen alternativen Probenvorbereitungsmethoden konnte sich in den letzten Jahren besonders die lösungsmittelfreie (*solvent-free*) Probenvorbereitung durchsetzen, die in der Literatur in veränderter Form auch als *solid/solid-* oder als *vortex*-Methode bekannt ist. Bereits im Jahr 2000 wurde von SKELTON et al. und PRZYBILLA et al. ein Verfahren angewandt, mit dem es möglich war, unlösliche Polymere und große polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) mittels fester Probenvorbereitung der MALDI-Analyse zugänglich zu machen [30, 193]. Die verwendete Technik zum Vermischen der einzelnen Bestandteile wurde dabei von anderen Arbeitsgruppen variiert. So veröffentlichten zum Beispiel PRUNS et al. eine Methode, bei der die Substanzen in einem Mörser miteinander verrieben wurden [194]. TRIMPIN et al. benutzten zur lösungsmittelfreien Probenvorbereitung eine kleine Kugelmühle [31, 195] und HANTON et al. verwendeten eine Methode, bei der die Substanzen in einem Glasvial auf einem Vortexer gemischt wurden [196, 197]. Das direkte Mischen von Polymerprobe und fester Matrix ohne zusätzlich benötigtes Lösungsmittel konnte daraufhin für viele unterschiedliche Polymerklassen, Biomoleküle und metallorganische Syntheseprodukte erfolgreich angewandt werden [198-211].

### 3.3.1 Untersuchung von Polymeren

Aufbauend auf diesen Arbeiten wurde die Anwendbarkeit der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung für die hier relevanten Analyten getestet. Dazu wurden die festen Probenbestandteile, also die Matrix, das kationisierende Salz und das zu analysierende Polymer zusammen mit drei gesäuberten Stahlkugeln (Durchmesser etwa 3 mm) in ein 1,5 mL GC-Glasvial gefüllt. Es wurden 2,5 mg Probe, 10 mg Matrix und 10 mg Salz eingewogen. Anschließend wurden die Bestandteile etwa eine Minute bei 1800 U/min auf einem Vortexer durchmischt. Das vorsichtige Auftragen erfolgte durch Verreiben der Mischung auf dem MALDI-Target mit Hilfe eines Mikrospatels.

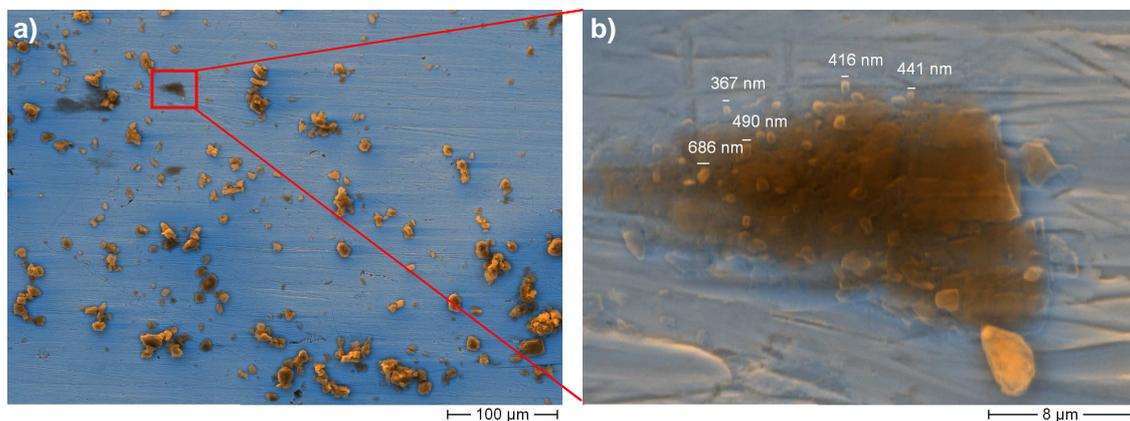
Demnach ist zwar bei dieser Technik die aufgebrauchte Substanzmenge wesentlich größer als bei der klassischen Probenvorbereitung, entspricht aber dem gleichen Verhältnis von Probe zu Matrix. Der Vorteil dieser Arbeitsweise besteht in der guten Durchmischung von Probe und Matrix. Als Beispiel für die Anwendbarkeit dieser neuen Art der Probenvorbereitung ist das MALDI-Spektrum eines Fettalkoholethoxylats mit mittlerem Ethoxylierungsgrad in Abbildung 15 gezeigt.



**Abbildung 15:** MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines Fettalkoholethoxylats mit mittlerem Ethoxylierungsgrad nach lösungsmittelfreier Probenpräparation (Matrix: DHB, Salz: KCl).

Zwar lassen sich nach dieser lösungsmittelfreien Probenpräparation qualitativ hochwertige Massenspektren erhalten, die zum größten Teil auch hohe Reproduzierbarkeiten aufweisen, dennoch führt die hier beschriebene Methode zu keiner homogenen Oberfläche, da größere Kristalle des Salzes oder der Matrix eine vollständige Durchmischung und gleichmäßige Auftragung der Mischung auf das Target verhindern. Abbildung 16a zeigt eine REM-Aufnahme der Targetoberfläche nach der hier beschriebenen lösungsmittelfreien Probenvorbereitung. Das Analyt/Matrix/Salz-

Gemisch ist stark inhomogen auf der Oberfläche verteilt. Dabei schwankt die Partikelgröße zwischen 1 und 40  $\mu\text{m}$ . Daneben existieren auf der Oberfläche kleinere Bereiche (s. Vergrößerung in Abbildung 16b), in denen feinere Strukturen mit Partikelgrößen im oberen Nanometerbereich beobachtet werden können. Im Vergleich dazu liegt die mittlere Partikelgröße der typischen MALDI-Präparationen, die aus der flüssigen Phase aufgetragen werden, bei etwa 10 bis 100  $\mu\text{m}$ . Diese feinen Strukturen bei der solid/solid-Probenvorbereitung entstehen durch Verreiben der unterschiedlichen Bestandteile im GC-Vial. Die gewünschte Homogenität läge aber erst dann vor, wenn die gesamte Targetoberfläche mit Substanz bedeckt wäre.

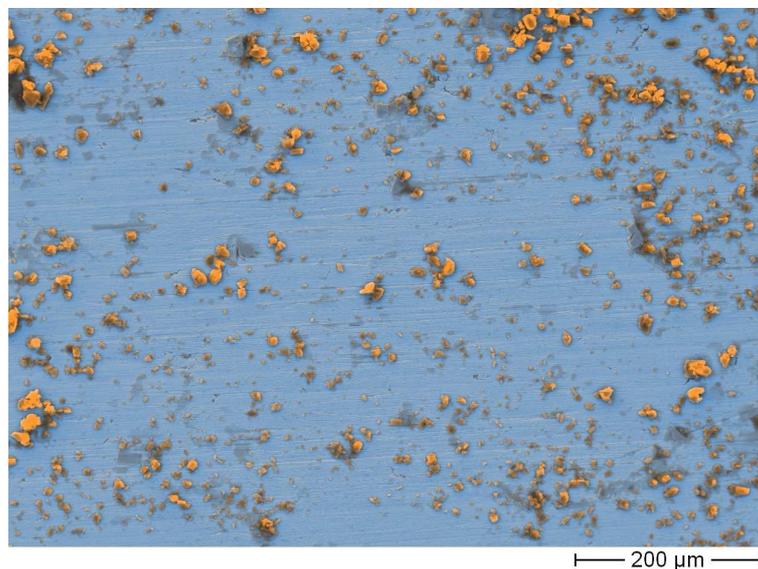


**Abbildung 16:** REM-Aufnahmen der Targetoberfläche nach lösungsmittelfreier Probenvorbereitung (Probe: PEG 2000, Matrix: DHB, Salz: KCl).

Von HANTON et al. wurden Partikelgrößen von 4 - 10  $\mu\text{m}$  bei der festen Probenvorbereitung von PMMA 2000 unter Verwendung von Indolacrylsäure (IAA) als Matrix festgestellt. Nach den Ergebnissen dieser Autoren führt die lösungsmittelfreie Probenvorbereitung mittels Vortex-Methode zu einer homogenen Verteilung von Matrix, Probe und kationisierendem Agens auf der Oberfläche [212]. Dies ist anhand der in dieser Arbeit durchgeführten Experimente mit unterschiedlichen Proben- und Matrixbestandteilen nicht zu bestätigen. Zwar kommen die chromatographischen Effekte des Lösungsmittels bei dieser Methode nicht zum Tragen, doch ist die Oberfläche auch weiterhin nicht gleichmäßig mit dem Matrix/Analyt-Gemisch belegt.

Variationen in der Mischzeit der Proben auf dem Vortexer zeigten im Gegensatz zu den Ergebnissen von HANTON et al. [197] keine signifikanten Änderungen in den erhaltenen Massenspektren. Dieser Einfluss hängt offenbar stark von der Konsistenz der Analyten ab und hat sich bei den hier untersuchten Proben nicht ausgewirkt.

Durch Kombination der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung und der Vorbeschichtung des Targets mit Salz konnte der negative Einfluss vermindert werden, der durch das relativ grobkörnige Salz verursacht wird. Hierzu wurde das Target, wie im Kapitel 3.1.2 beschrieben, zunächst mit einer methanolisch/wässrigen Salzlösung beschichtet. Danach erfolgte die Applikation der Mischung aus fester Probe und Matrix. Die REM-Aufnahme in Abbildung 17 zeigt, dass sich die Analyt/Matrix-Bestandteile etwas besser verteilen und auch in kleineren Strukturen vorliegen (gelb eingefärbte Substanzflecken). Nach hier nicht dargestellten REM-Messungen liegen die Partikelgrößen zwischen 1 und 20  $\mu\text{m}$ , wobei im Hinblick auf die Homogenität der Probe diese Partikelgrößenverteilungen von großem Interesse sind.



**Abbildung 17:** REM-Aufnahme der Targetoberfläche nach Vorbeschichtung mit Kaliumchlorid und Aufbringen der lösungsmittelfreien Probenpräparation, Mischung aus Matrix und Probe (Probe: PEG 2000, Matrix: DHB).

Die Ergebnisse der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung haben Hinweise auf eine homogenere Verteilung der Probenbestandteile auf der Targetoberfläche geliefert.

---

Um diese Methode für die qualitative und/oder semi-quantitative Routineanalyse tensidischer Komponenten zu nutzen, war eine Optimierung notwendig. Die Weiterentwicklung dieser Probenvorbereitung und neue Erkenntnisse daraus werden in Kapitel 3.4 beschrieben und diskutiert.

### **3.3.2 Verwendung von Bleistift zur matrix-freien Laser-Desorption/Ionisation**

Seit den ersten analytischen Applikationen der MALDI-Massenspektrometrie wurde intensiv an der Erforschung neuer geeigneter Matrices gearbeitet. Zurzeit existiert keine Matrix, die für jede Analytklasse verwendet werden kann, und oft sind empirische Untersuchungen notwendig, um die am besten geeignete Matrix/Analyt-Kombination herauszufinden. Demnach ist es gerade bei der Analyse von Molekülen und Molekülverteilungen im Massenbereich unter 1000 Da oftmals sehr zeitaufwendig herauszufinden, ob eine Matrix für die jeweilige Problemstellung geeignet ist oder nicht [213].

Um MALDI-Matrices oder matrixähnliche Substanzen bzw. Mehrkomponentengemische mit großer Anwendungsbreite zu entwickeln, konnten sich Methoden der Probenvorbereitung durchsetzen, die die Oberfläche des Targets beeinflussen und somit die Laser-Desorption/Ionisation begünstigen. Ausgehend von TANAKA et al., die 30 nm Cobaltpartikel suspendiert in Glycerin als MALDI-Matrix verwendeten [6], setzten sich besonders auf Graphit und Silicium basierende Methoden durch. So nutzten SUNNER et al. Graphitpulver und Graphitflocken, die in Glycerin suspendiert wurden, für die Analyse von Peptiden und Proteinen und nannten diese Methode *Surface-Assisted Laser Desorption/Ionisation* (SALDI) [214]. Von DALE et al. wurden 2 µm Graphitpartikel der gelösten Matrix zugesetzt, um eine relativ universelle Anwendung zu ermöglichen [215].

BLACK et al. haben im Jahr 2006 gezeigt, dass diese Art der matrix-freien Laser-Desorption/Ionisation vereinfacht werden kann, indem der Target-Spot mit einem

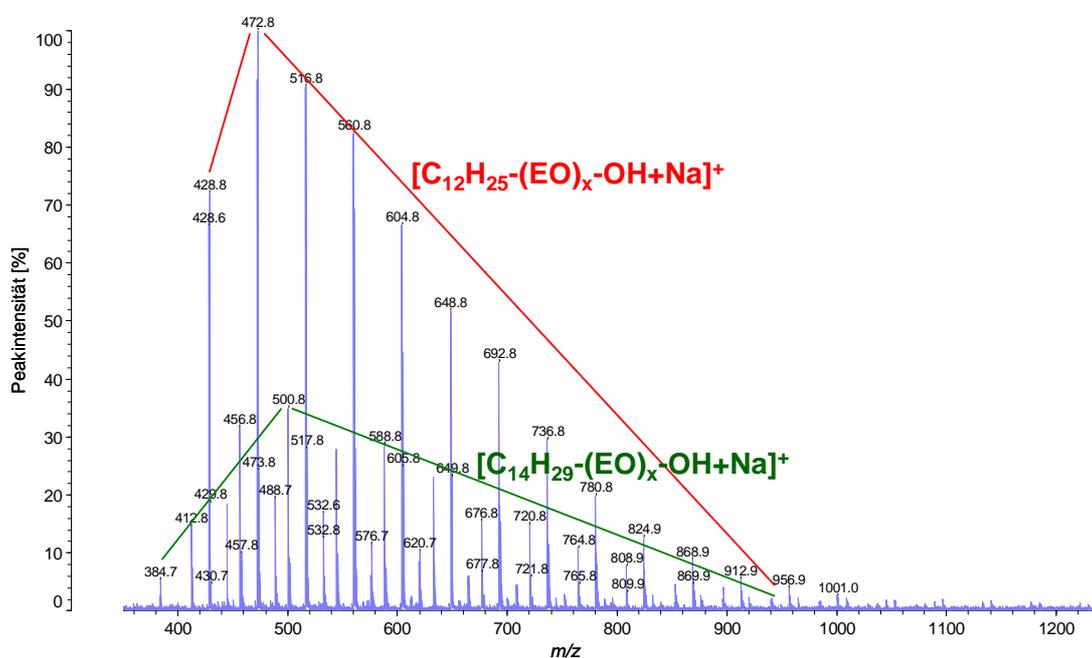
Bleistift ausgemalt wird. Auf diese Beschichtung wird dann als weitere Schicht die Probe, gelöst in einem Lösungsmittel, aufgetragen [216]. Dabei ist zu beachten, dass die Qualität der sich ergebenden Massenspektren stark von dem Härtegrad des verwendeten Bleistifts abhängt. So untersuchten LANGLEY et al., welche Härtegrade für diverse Anwendungen eine Verwendung finden [217].

Als Vorteil des Bleistiftes ist die amorphe Struktur beim Abrieb zu nennen, wodurch es zu einer homogenen Verteilung der Substanzen auf dem Target kommt. Außerdem ist bei der Verwendung von Bleistift keine zusätzliche Salzzugabe notwendig, da die kationisierenden Ionen bereits im Bleistiftabrieb enthalten sind. Diese Art der Matrix ist zudem für Analysen im niedrigen Massenbereich geeignet, da keine störenden Matrixionen bzw. -cluster gebildet werden können.

Die Mine eines Bleistifts besteht hauptsächlich aus Graphit, welches mit Anteilen an Ton und diversen Bindemitteln gebrannt wird. Der Härtegrad kann über den Anteil an Ton eingestellt werden. Je höher der Graphitanteil, desto weicher ist die Mine. Dabei liegen die Graphitanteile zwischen 20 und 90 %. Leider gibt es keine internationale Normierung für die Härtegrade und somit für die Mischungsverhältnisse bei Bleistiften. In Deutschland werden die Härtegrade in Klassen von 9B (sehr weich) über HB (mittelweich) zu 9H (sehr hart) eingeteilt [218, 219].

Die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente basieren auf den Arbeiten von BERGER-NICOLETTI et al., die Bleistift als Matrix zur Analyse von funktionalisierten Polymeren einsetzen [220]. Durch Variation des Bleistifthärtegrades wurde diese Art der matrix-freien Laser-Desorption/Ionisation für ein Gemisch aus niedrig ethoxylierten Fettalkoholen der Kettenlängen  $C_{12}$  und  $C_{14}$  optimiert. Es stellte sich heraus, dass die Härtegrade 4B, 5B und 6B (Castell® 9000, Faber-Castell, Stein/Nürnberg, D) dafür besonders gut geeignet sind. Abbildung 18 zeigt das Massenspektrum des Ethoxylats unter Verwendung der Bleistiftmethode, bei der das Target-Well mit einem Bleistift des Härtegrades 5B mit etwas größerem Druck bemalt wurde. Danach wurden  $0,5 \mu\text{L}$  des in Dichlormethan gelösten Produktes ( $2,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) auf die vorbeschichtete Oberfläche gegeben. Zu sehen sind die beiden  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ionenreihen der

$C_{12}$ - und  $C_{14}$ -Ethoxylatverteilungen. Nach dem Abgleich der ermittelten Massen mit denen der berechneten Polymerverteilung zeigen sich, auch ohne Zugabe eines kationisierenden Agens, bevorzugt die Ionenreihen der entsprechenden Natriumaddukte. Dies stellt einen Vorteil dieser Methode gegenüber den matrixunterstützten Methoden dar. Der Hauptvorteil liegt allerdings darin, dass eine genaue Abbildung der Polymerverteilung im unteren Massenbereich (hier ~ 350 - 950 Da) möglich ist, ohne dass es zu unerwünschten Interferenzen mit den sonst vorhandenen Matrixbestandteilen in diesem Massenbereich kommt.



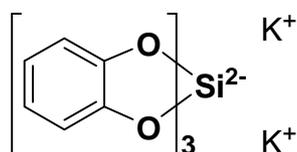
**Abbildung 18:** Massenspektrum eines niedrigethoxylierten  $C_{12/14}$ -Fettalkoholgemisches nach Targetvorbeschichtung mit Bleistift (5B) und Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  des in Dichlormethan gelösten Produktes ( $2,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ).

Um das Funktionsprinzip dieser Methode und die Wirkungsweise des Bleistifts näher herauszustellen, war es nötig, die Zusammensetzung des Bleistiftfabriebs zu untersuchen und somit die MALDI-Aktivität von im Bleistift enthaltenen Nebenprodukten auszuschließen.

Da keine Informationen über die genaue Zusammensetzung der Bleistiftminen über den Hersteller bezogen werden konnten, wurden von verschiedenen Härtegraden

qualitative und quantitative Röntgenfluoreszenzanalysen (RFA) herangezogen, die von der Firma Cognis GmbH zur Verfügung gestellt wurden. Die Ergebnisse daraus zeigten, dass der Bleistiftabrieb (Härtegrad 3B - 7B) hauptsächlich Silicium und Aluminium enthält, was auf einen hohen Anteil an Alumosilikaten aus dem eingebrachten Ton zurückzuführen ist. Demnach lässt sich die Funktion des Bleistifts ähnlich der oben beschriebenen SALDI-Technik darstellen. Durch eine Oberflächenvergrößerung mithilfe von Graphit und Silikat wird die klassische Desorption/Ionisation der Analyten begünstigt. Anhand dieser Daten wurde versucht, die „Bleistift-Matrix“ mit verschiedenen Silikaten und Graphit in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen nachzustellen. Diese Versuche konnten jedoch nicht erfolgreich zur Analyse der hier untersuchten Produkte eingesetzt werden.

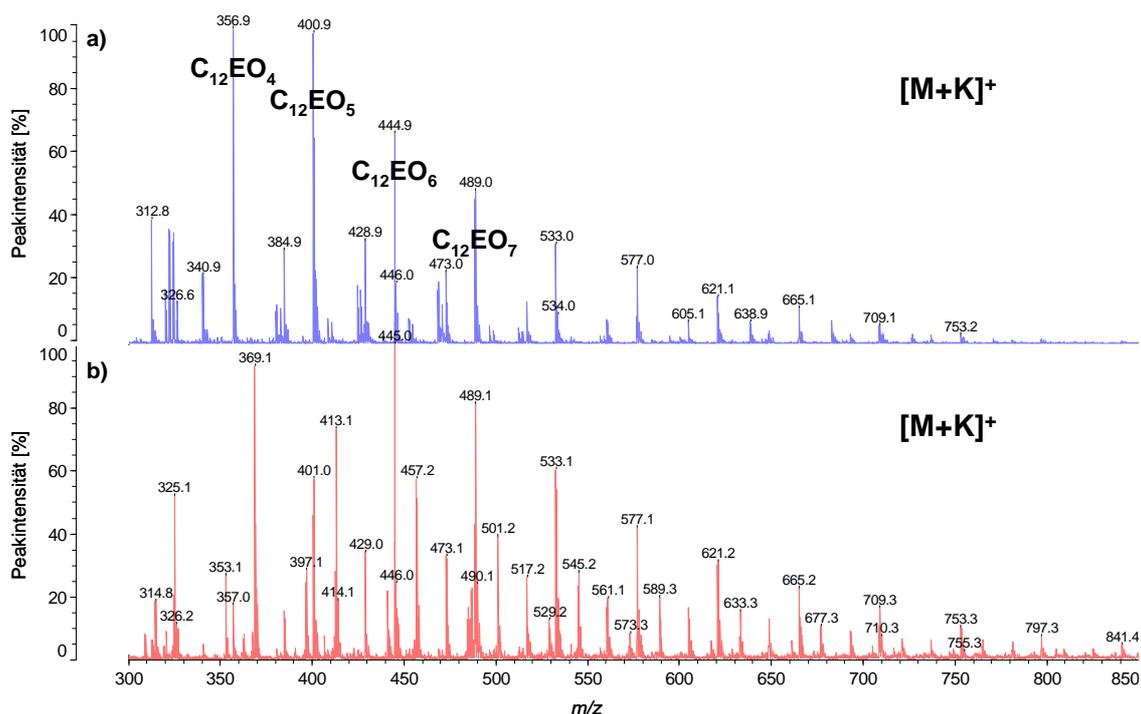
Es konnte jedoch eine Alternative zur Bleistift-Matrix entwickelt werden. Mit Hilfe der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung, wie sie in Kapitel 3.3.1 beschrieben ist, und der Oberflächenunterstützung eines Silikats konnten Massenspektren von Analyten im unteren Massenbereich mit einer noch größeren Reproduzierbarkeit aufgenommen werden. Dafür wurde das Dikaliumsalz des Tris(1,2-benzoldiolato-*O,O'*)silikats verwendet (Struktur siehe Abbildung 19). Ähnlich der lösungsmittelfreien Probenpräparation wurden 15 mg des Silikats mit 2,5 mg flüssiger, leicht viskoser Probe mit Hilfe von drei 3 mm Stahlkugeln in einem GC-Vial auf dem Vortexer verrieben und die entstehende Paste mit einem Mikrospatel dünn auf das MALDI-Target aufgebracht.



**Abbildung 19:** Struktur des Dikalium-tris(1,2-benzoldiolato-*O,O'*)silikats.

Abbildung 20a zeigt das erhaltene Laser-Desorptions/Ionisations-Spektrum, kurz LDI-Spektrum, eines niedrigethoxylierten  $C_{12/14}$ -Fettalkoholgemisches, welches zu-

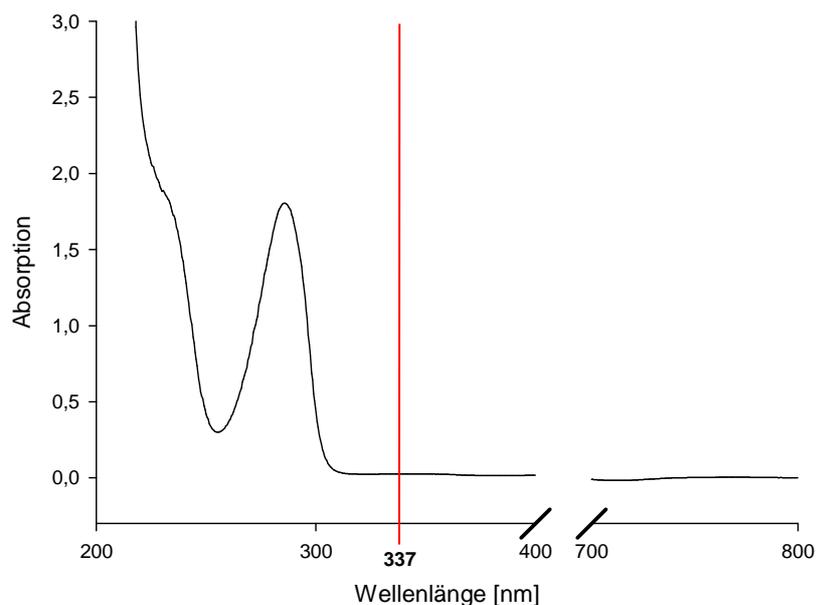
sammen mit dem Silikat auf das Target aufgetragen wurde. Im Vergleich dazu zeigt Abbildung 20b das MALDI-Spektrum desselben Produktes nach klassischer Probenvorbereitung unter Verwendung von Methanol, DHB und Kaliumchlorid. Die Differenzierung zwischen LDI und MALDI ist hier notwendig, da an dieser Stelle nicht genau geklärt ist, ob die Ionisierung mit Hilfe des vorgestellten Silikats über einen MALDI- oder den klassischen Laser-Desorptions/Ionisations-Mechanismus abläuft.



**Abbildung 20:** LDI-(TOF)-Massenspektrum eines niedrigethoxylierten  $C_{12/14}$ -Fettalkoholgemisches nach lösungsmittelfreier Probenvorbereitung mit dem Dikaliumsalz des Tris(1,2-benzoldiolato- $O,O'$ )silikats (a) und MALDI-(TOF)-Spektrum derselben Substanz nach klassischer Probenvorbereitungsmethode (b).

Mit dieser neuen Art der Probenvorbereitung lassen sich Massenspektren erzeugen, in denen die oben beschriebenen Vorteile erkennbar sind. Von dem niedrigethoxylierten Fettalkoholgemisch werden mit dem verwendeten Silikat bevorzugt die EO-Oligomeren mit niedriger Masse ionisiert und analysiert, was anhand der großen Intensitäten von  $C_{12}EO_4$  und  $C_{12}EO_5$  gut zu erkennen ist. Das Spektrum in Abbildung 20a zeigt fast keine Beeinflussung der Analytionen durch Verunreinigungen aus dem

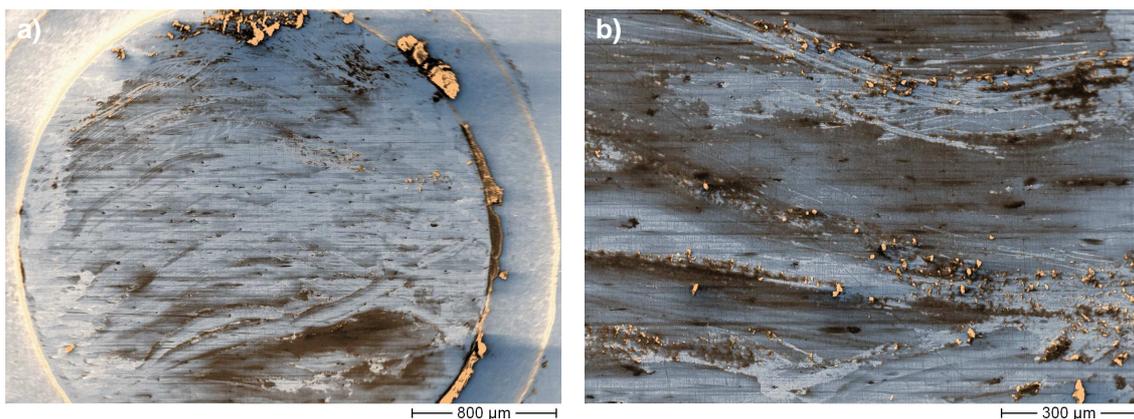
eingesetzten Silikat. Das Silikat wird als Anion im Positivmodus des Massenspektrometers nicht in Richtung des Analysators beschleunigt und kann demnach auch nicht detektiert werden, was zu einem wesentlich besseren Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Spektren führt. Durch das direkte Einbringen der Kaliumionen als Gegenionen zum Silikatanion, wird die Bildung der entsprechenden Kaliumaddukte begünstigt. Zunächst wurde vermutet, dass es durch den organisch-aromatischen Charakter der verwendeten Substanz zu einer Absorption des Laserlichtes kommt und somit die Ionisierung der Analyten unterstützt wird. Allerdings zeigt das UV/Vis-Spektrum des Silikats in Abbildung 21 eine Hauptabsorption bei etwa 290 nm, sodass anzunehmen ist, dass das Laserlicht der Wellenlänge 337 nm (N<sub>2</sub>-Laser) von dieser Substanz nicht absorbiert wird. Da die Absorption jedoch in Wasser gemessen wurde, kann auch davon ausgegangen werden, dass sich das Absorptionsmaximum dieser Substanz in der festen Phase (also im Kristallgitter) bzw. im *plume* zu höheren Wellenlängen verschiebt. Da jedoch über die genauen Prozesse keine Nachweise vorliegen und die thermodynamische Beeinflussung der Einzelreaktionen in dem Moment der Laser-Desorption nicht verstanden ist, können zurzeit keine weiteren Aussagen dazu gemacht werden.



**Abbildung 21:** UV/Vis-Absorptionsspektrum des Tris(1,2-benzoldiolato-O,O')silikats in Wasser.

Sollte durch das Auftragen des Silikats auf das MALDI-Target jedoch eine nanostrukturierte Oberfläche entstehen, wie bereits in 3.3.1 diskutiert, ist nicht auszuschließen, dass die Laserenergie besser auf der Oberfläche verteilt wird. Die Nanopartikel stellen dann ein Medium dar, ähnlich wie das in Glycerin suspendierte Metallpulver, das von TANAKA et al. verwendet wurde [6, 9], das die eingestrahnten Photonen durch Streuung und Teilabsorption in thermische Energie umwandelt. Sollte nun die Partikelgröße in der Größenordnung der Wellenlänge des eingestrahnten Lichts liegen, könnte sich die Wahrscheinlichkeit erhöhen, dass Energie des gestreuten Lichts aufgenommen wird [9]. Diese Prozesse werden höchstwahrscheinlich thermodynamisch kontrolliert, da die Energie in den oberen Schichten des Silikats verteilt und die Desorption somit ermöglicht wird. Es liegt der Schluss nahe, dass das hier verwendete Silikat die Oberflächenstruktur und damit die Laser-Desorption/Ionisation erheblich verbessert.

Um einen Eindruck zu vermitteln, wie die Applikation des Silikats die Oberfläche des Targets beeinflusst, sind in Abbildung 22 REM-Aufnahmen gezeigt. Während in Abbildung 22a das gesamte Well dargestellt ist, zeigt Abbildung 22b eine Vergrößerung daraus.



**Abbildung 22:** REM-Aufnahme (a) und REM-Vergrößerung (b) der Targetoberfläche, die mit einer Mischung aus Fettalkoholethoxylat und dem Dikalium-tris(1,2-benzoldiolato-*O,O'*)silikat beschichtet wurde.

Zwar führt das Auftragen des Substanzgemisches mit dem Spatel zu einigen Furchen in der aufgetragenen Probe, dennoch erscheint hier die Belegung der Targetoberfläche mit dem Silikat/Proben-Gemisch homogener als bei den REM-Aufnahmen in den Abbildungen 16a und 17 (Kapitel 3.3.1, feste Probenvorbereitung) zu sein. Diese verbesserte Proben/Matrix-Homogenität konnte auch durch EDX-Experimente bestätigt werden. Ein EDX-Spektrum ist als Beispiel in Abbildung 45 im Anhang dargestellt.

### **3.4 Weiterentwicklung der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung**

Ausgangspunkt für eine Weiterentwicklung der lösungsmittelfreien Probenpräparation waren die Erkenntnisse, welche in Kapitel 3.3 beschrieben sind. Demnach konnten der Einfluss der Oberfläche bei der MALDI- bzw. der LDI-Analyse von polydispersen Produkten beobachtet und alternative Techniken zu der klassischen auf Lösungsmittel basierenden Probenvorbereitung erfolgreich angewendet werden. Um die lösungsmittelfreie Probenvorbereitung für die in dieser Arbeit untersuchten Produkte effektiv nutzen zu können, war es von großem Interesse, die Parameter Targetmaterial, Targetoberfläche (Oberflächenstruktur), Matrix oder Matrix-Alternativen und die Art der lösungsmittelfreien Probenpräparation sowie die Applikation der Probe auf dem Target systematisch zu untersuchen. Dazu dienten als Vergleichsprodukte ein C<sub>12/14</sub>-Fettalkoholethoxylat mit einem mittleren EO-Grad von 6 und mehrere Polyethylenglycole. Das Fettalkoholethoxylat wurde ausgewählt, da dieses Produkt bei Raumtemperatur eine leicht viskose Flüssigkeit ist und sich somit gut für die solid/solid-Probenvorbereitung eignet und sich die Polymerverteilung des Produktes in einem Massenbereich befindet, in dem fast alle in dieser Arbeit untersuchten Produkte liegen.

Die lösungsmittelfreie Probenvorbereitung wurde derart modifiziert, dass 1 mL-Rundkolben mit Schliffstopfen anstelle der GC-Glasvials Verwendung fanden. Die

Stahlkugeln wurden bei einem Teil der Untersuchungen gegen Glaskugeln (Messradius ~ 3 mm) ausgetauscht, da diese, je nach vorbereiteter Probe, eine bessere Durchmischbarkeit der Bestandteile ermöglichte.

Dieses Kapitel beinhaltet Ergebnisse aus der wissenschaftlichen Abschlussarbeit „Systematische Untersuchung bestimmter Einflussgrößen bei der MALDI-TOF-MS Analyse von oleochemischen, technischen Polymeren für Reinigungs- und Pflegeprodukte“ von VON RATH [221].

### **3.4.1 Untersuchung unterschiedlicher Einflüsse bei der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung**

Bei der systematischen Untersuchung der Einflüsse der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung wurden neben Dithranol als klassische MALDI-Matrix auch andere Substanzen auf ihre Eignung als Matrix überprüft. Dazu wurden neben den in Kapitel 3.3.2 beschriebenen Matrix-Alternativen zusätzlich Oxalsäure und Aluminiumoxidpulver eingesetzt. Diese wurden ausgewählt, da Oxalsäure zwar eine bestimmte Acidität aufweist ( $pK_{s1} = 1,42$ ), jedoch keinen aromatischen Charakter besitzt. Aluminiumoxid hingegen verfügt über keine dieser Eigenschaften. Zusätzlich wurde ein HPLC-Phasenmaterial verwendet, welches eine definierte Partikelgröße von 3  $\mu\text{m}$  aufwies (Fluosil 60 PFP 3  $\mu\text{m}$ , Dr. Maisch, Ammerbuch-Entringen, D). Wie bereits in Kapitel 3.3 beschrieben, zeigten diverse Arbeiten, dass der Einsatz von Nano- oder Submikropartikeln den Desorptions/Ionisations-Prozess begünstigen [6, 214, 215, 222, 223].

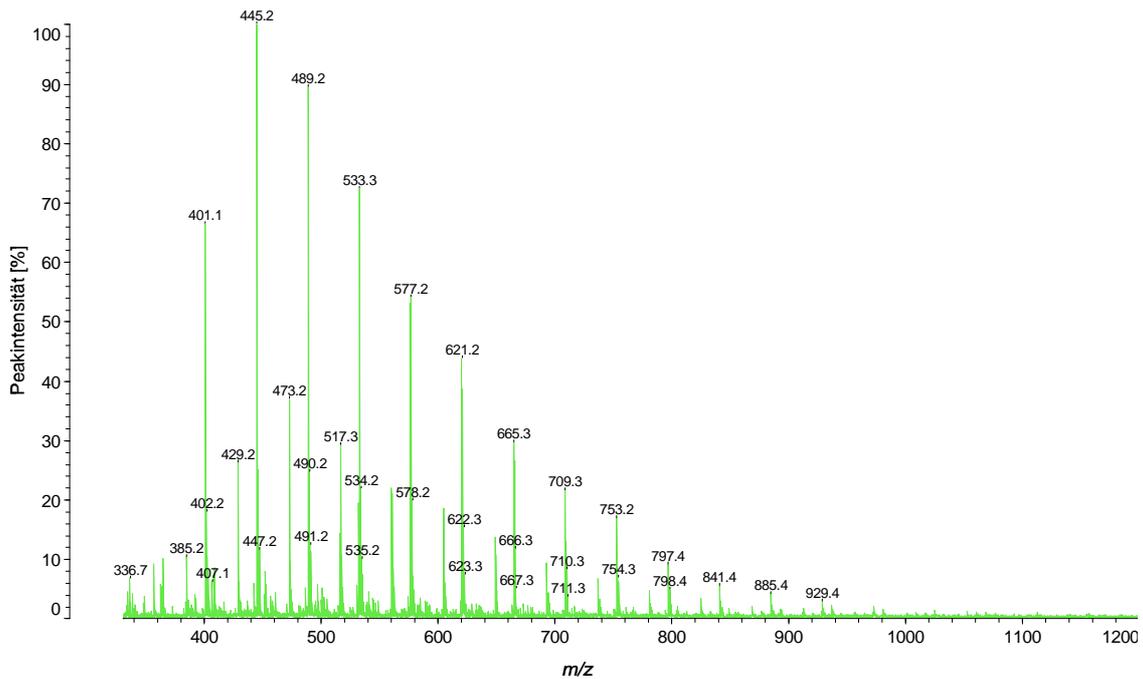
Als Targets wurden, neben dem Standardtarget (gebürsteter Edelstahl), ein Aluminiumtarget und ein Siliciumwafer verwendet. Für den Wafer wurde in ein normales Stahltarget eine Aussparung eingefräst und dieser mit Leit-Tabs (Plano, Wetzlar, D) darin fixiert. Diese Alternative beruht auf Untersuchungen von KIM et al., nach denen die Ionisierung von Biomolekülen durch die MALDI-Technik unter Verwendung unbehandelter Si-Oberflächen erreicht werden kann [224].

Als adduktbildendes Agens wurde bei allen Messungen Kaliumchlorid eingesetzt. Dieses wurde jedoch vor der Anwendung sieben Stunden in einer Kugelmühle gemahlen, wodurch ein feines Pulver mit sehr kleinen Partikelgrößen von bis zu unter  $1\ \mu\text{m}$  entstand, das gut mit den anderen festen Bestandteilen vermischt werden konnte.

Auch die in diesem Teil der Arbeit untersuchten Analysenkombinationen wurden, wie auch die MALDI-MS-Daten in Kapitel 3.2, mittels Hauptkomponentenanalyse ausgewertet. Die Analysen- und Auswertungskriterien, die graphischen Darstellungen der Hauptkomponentenanalysen und deren genaue Beschreibung sind in der wissenschaftlichen Abschlussarbeit von VON RATH zusammengestellt [221].

### **3.4.1.1 Einfluss der Matrix**

Beim Vergleich der erhaltenen Ergebnisse, die auf der lösungsmittelfreien Probenpräparation basieren, wurden überraschenderweise für alle Kombinationen mit Aluminiumoxid, Oxalsäure und Dithranol die gleichen Qualitätsstufen erreicht. Diese Substanzen lieferten als Matrix bzw. Matrix-Alternativen qualitativ hochwertige Massenspektren und auch die Verwendung der  $3\ \mu\text{m}$ -HPLC-Phase führte zu aussagefähigen Massenspektren des Fettalkoholethoxylatproduktes. Folglich sind UV-absorbierende Matrices mit aromatischen Strukturmerkmalen und aciden H-Atomen für die Ionisierung in diesem niedrigen Massenbereich nicht zwingend erforderlich. Aus dieser vergleichenden Studie ist in Abbildung 23 ein Massenspektrum gezeigt, das mit einer auf ein Edelmetalltarget aufgetragenen Kombination aus Fettalkoholethoxylat, Oxalsäure und Kaliumchlorid erhalten wurde.



**Abbildung 23:** LDI-(TOF)-Massenspektrum eines ethoxylierten Fettalkoholgemischs nach lösungsmittelfreier Probenpräparation (Matrix: Oxalsäure, Salz: KCl).

Die Untersuchungen belegen, dass die Energieübertragung zur Desorption/Ionisation nach fester Probenvorbereitung nicht an aromatische Gruppen und acide H-Atome gebunden ist. Es konnte durch Vergleichsmessungen bestätigt werden, dass die Matrix die Ionenausbeute beeinflusst und Massendiskriminierungen oder Verstärkungen bestimmter Massenbereiche im LDI-Spektrum verursacht.

Um den Desorptions-/Ionisations-Prozess für diese hier beschriebenen matrixfreien Methoden besser zu verstehen, ist es nötig, einige wichtige Vorgänge bei der klassischen MALDI-Methode zu bedenken. Auf diese wurde bereits in Kapitel 1 näher eingegangen und eine ausführliche Beschreibung findet sich im Review von DREISEWERD [225]. Demnach ist eine Reihe von Parametern, wie die Laser-Bestrahlung (z.B. Wellenlänge, Pulsdauer), die Materialeigenschaften (z.B. Probenmorphologie, Analyt/Matrix-Wechselwirkung) und die Dynamik in der entstehenden Desorptionswolke (z.B. Geschwindigkeits- und Energieverteilungen der Ionen) wichtig für den MALDI-Prozess. Analytisch betrachtet sollten die besten MALDI-Ergebnisse mit einer Matrix erhalten werden, deren Absorptionsmaximum in der

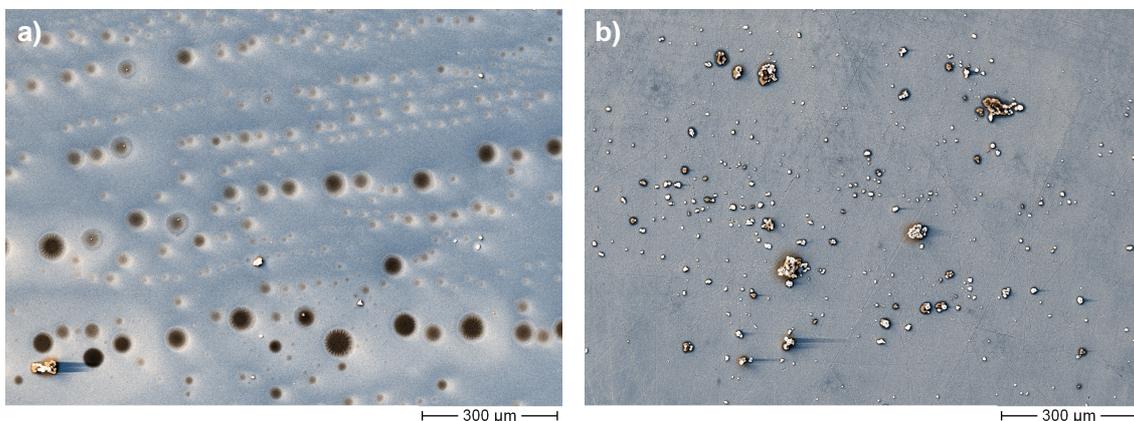
Nähe der Wellenlänge des Laserlichtes liegt und in der Lage ist, eine geeignete Verteilung mit dem Analyten auf der Targetoberfläche einzugehen. Somit steht die Effizienz dieses Prozesses in Zusammenhang mit der absorbierten Energie und der anschließenden Energieübertragung [225, 226].

Matrixfreie Methoden der Laser-Desorption/Ionisation zeigen zum Teil ähnliche Mechanismen wie der klassische MALDI-Prozess. Beide Methoden nutzen einen Laserpuls, um den Analyten anzuregen und zu desorbieren. Allerdings ist die Substratoberfläche beim MALDI-Prozess nur indirekt an der Bildung von Ionen in der Gasphase beteiligt. Hingegen werden beim matrixfreien LDI-Prozess Ionen durch Laserbestrahlung der Substratoberfläche gebildet. Somit muss die Oberfläche in der Lage sein, die Laserenergie an den Analyten zu übertragen [226, 227]. WEI et al. haben gefunden, dass die LDI-Analyse von niedrigmolekularen Analyten an der Oberfläche von porösem Silicium ohne Zusatz von Matrixsubstanzen möglich ist [228, 229]. Dieses Verfahren ist unter der Bezeichnung „*Desorption/Ionization on Silicon*“ (DIOS) bekannt geworden und konnte erfolgreich eingesetzt werden [226, 230-232]. Zudem wurden Nanopulver und Nanopartikel zur matrixfreien LDI genutzt [226, 233-236]. Nach diesen Erkenntnissen lassen sich auch die in diesem Kapitel dargestellten Ergebnisse erklären. Die Strukturierung der Oberfläche durch den Einsatz von Materialien, die das Laserlicht nicht absorbieren, führt durch die Laserlichtstreuung und anschließende Desorption/Ionisation zu qualitativ hochwertigen Analyseergebnissen im niedrigen Massenbereich.

### 3.4.1.2 Einfluss des Targetmaterials

Hauptkomponentenanalysen haben gezeigt, dass der Einfluss des verwendeten Targetmaterials wesentlich kleiner ist als der Einfluss der Matrix. Die untersuchten Targetmaterialien lassen keinen signifikanten Einfluss auf die Qualität der Spektren und die S/N-Werte erkennen. Allerdings konnte herausgefunden werden, dass sich die Oberflächenstrukturierung des Targets sehr stark auf die resultierenden Massen-

spektren auswirkt. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass eine bestimmte Struktur in der Oberfläche des Targets von Vorteil für die massenspektrometrische Analyse ist. Zum einen haftet die Probe auf einer rauen Oberfläche besser und kann somit gleichmäßiger aufgetragen werden. Zum anderen könnte das Laserlicht an der Oberfläche gestreut werden, was zu einer effizienteren Energieübertragung und somit zu einer besseren Ablation der Probe führt. Dass die Beschaffenheit der Oberfläche bedeutend für die Probenapplikation auf das MALDI-Target ist, konnte durch Versuche mit einem Siliciumwafer belegt werden. Die REM-Aufnahmen in Abbildung 24 zeigen die Waferoberfläche nach lösungsmittelfreier Probenvorbereitung. In Abbildung 24a ist der unbehandelte Wafer zu sehen, wobei sich das aufgetragene Produkt/Matrix-Gemisch (schwarze Stellen) ungleichmäßig auf dem glatten Target abgelagert. Dagegen wurde der Wafer in Abbildung 24b vor dem Auftragen der Probe mit einem 800er Schleifpapier aufgeraut.



**Abbildung 24:** REM-Aufnahmen eines Gemisches aus Fettalkoholethoxylat, Dithranol und Kaliumchlorid nach Aufbringen auf eine unbehandelte Siliciumwaferoberfläche (a) und eine mit 800er Schleifpapier behandelten Siliciumwaferoberfläche (b).

Die Aufnahmen zeigen einen deutlichen Unterschied der Oberflächen. Auf dem unbehandelten Wafer lagert sich nur sehr wenig Salz (weiße Strukturen) an der Oberfläche an, da diese zu glatt ist. Dagegen können sich in den feinen Furchen des aufgerauten Wafers Salzkristalle anlagern, die dann vom Polymer und der Matrix um-

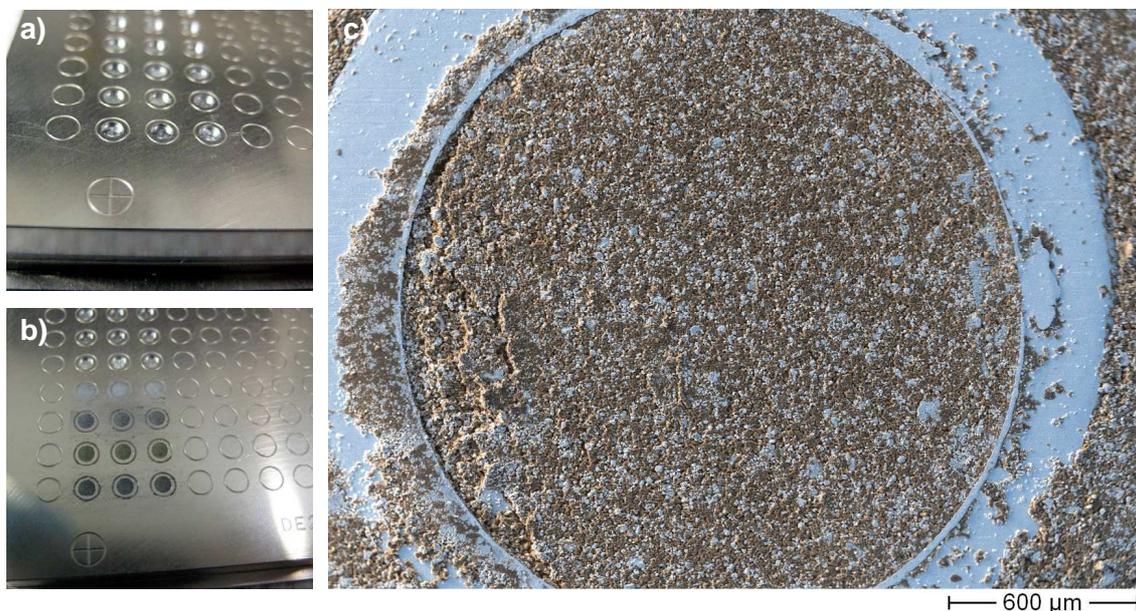
geschlossen werden (dunkle Schatten in Abbildung 24b). Die resultierenden Massenspektren bestätigten diesen Unterschied und zeigten, dass das Salz als Kationisierungshilfsmittel in direkter räumlicher Nähe zur Probe für eine hohe Ionisierungsausbeute und eine hohe Qualität der Massenspektren notwendig ist.

### 3.4.2 Einfluss der Probenbeschichtung des Targets auf den (MA)LDI-

#### Prozess

Um zu zeigen, welchen Einfluss das Target auf den MALDI-Prozess selbst hat, wurden in ein 10 mm starkes Aluminiumtarget Löcher von 2 mm Durchmesser und einer Tiefe von 500  $\mu\text{m}$  gefräst (Abbildung 25a). In diese Ausfräsungen konnte das Proben/Matrix/Salz-Gemisch eingebracht und mit einem breiten Mikrospatel glatt abgezogen werden (Abbildung 25b).

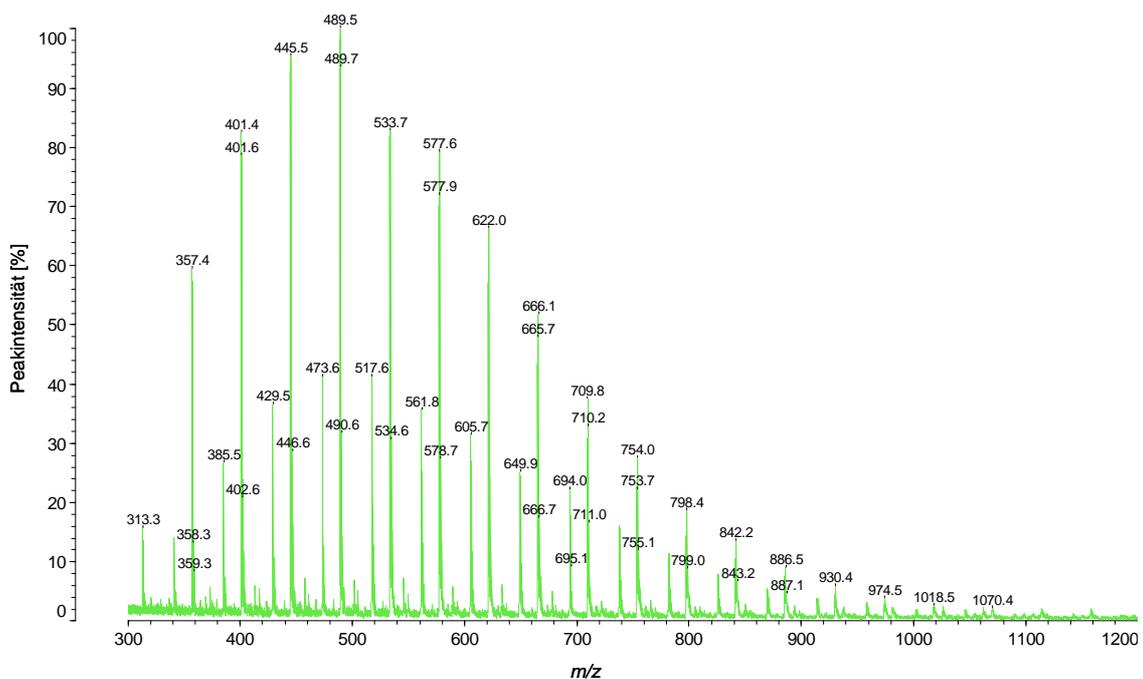
Die REM-Aufnahme in Abbildung 25c zeigt, dass bei der Probenauftragung in ein Targetloch eine homogene Mischung mit einer relativ glatten Oberfläche entsteht.



**Abbildung 25:** Foto des Aluminium-Targets mit Ausfräsungen (a), Foto des Aluminium-Targets nach Auffüllen der Ausfräsungen mit Probe, Matrix und Salz (b) und REM-Aufnahme der Oberfläche einer befüllten Targetausfräsung (c).

Kohlenstoffhaltige Substanzzonen (also Matrix- und/oder Probenbestandteile) sind in dieser REM-Aufnahme dunkelgrau/braun, das Salz und die Aluminiumoberfläche hellblau dargestellt. Die Verteilung von Probe, Matrix und Salz ist sehr gleichmäßig, so dass es zu einer guten Laserschuss-zu-Laserschuss-Reproduzierbarkeit kommt.

Ein Massenspektrum, das im Anschluss an diese neue Probenaufgabetechnik aufgenommen wurde, ist in Abbildung 26 dargestellt. Zur Probenpräparation wurden Fetalkoholethoxylat, Aluminiumoxid und Kaliumchlorid lösungsmittelfrei vermischt. Das Spektrum zeichnet sich durch eine sehr gute Qualität und ein gutes S/N-Verhältniss aus. Zudem sind auch in diesem Spektrum keine zusätzlichen, unerwünschten Salzunterverteilungen zu erkennen.



**Abbildung 26:** LDI-(TOF)-Massenspektrum eines ethoxylierten Fettalkoholgemischs nach lösungsmittelfreier Probenpräparation und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen (Matrix: Aluminiumoxid, Salz: KCl).

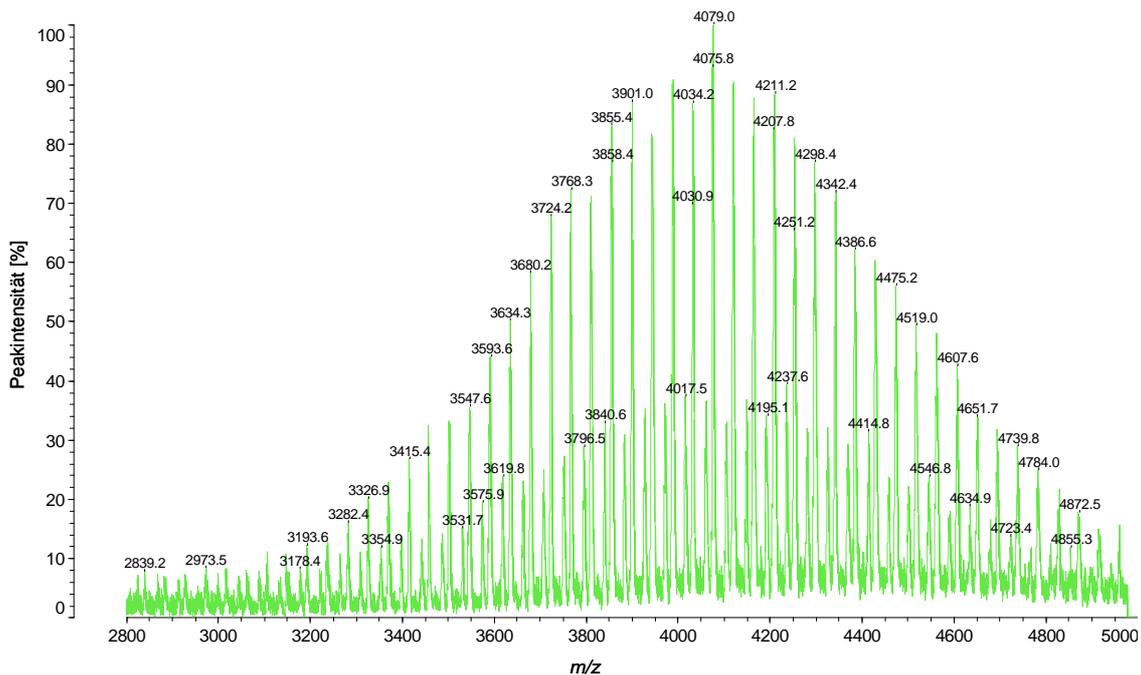
Obwohl die exakte Eindringtiefe des Laserlichtes bei den hier durchgeführten Experimenten nicht genau bekannt ist, ist davon auszugehen, dass bei einer Schichtdicke von 500  $\mu\text{m}$  und den relativ geringen Laserenergien keine direkte Wechselwirkung

des Laserlichts mit der Metalloberfläche des Targets für den Desorptions-/Ionisationsprozess möglich ist. Auch zeigten REM-Aufnahmen von beschossenen Targets keine Kraterbildung. In der Literatur werden Eindringtiefen der Photonen beim UV-MALDI-Prozess von etwa 50 bis maximal 200 nm diskutiert [237]. Demnach kann die Theorie von KNOCHENMUSS et al. [238], die die Ionenausbeuten aus dünnen MALDI-Proben-Filmen auf die Austrittsarbeit des Targetmaterials beziehen, bei dem hier dargestellten Beispiel keine geeignete Erklärung bieten.

Auch die Annahme einer „Schockwelle“, die zur Desorption der Analytmoleküle führen soll und die bei der Laserablation in Flüssigkeiten auf Metalloberflächen angenommen wird [239-241], kann nach diesen Befunden nicht zur Erklärung herangezogen werden. Die Art der Kristallisation bzw. Kondensation der Probenbestandteile auf der Oberfläche des Targets ist wahrscheinlich zu ungleichmäßig und „weich“ und reicht somit nicht aus, um eine mögliche Schockwelle durch die Probe hindurch zu leiten.

Vermutlich wird das Laserlicht an der Oberfläche der präparierten Probe, welche durch die festen Bestandteile ohnehin strukturiert ist, reflektiert und gestreut. Die oberen Probenschichten werden thermisch angeregt. Demzufolge können auch Analyten aus den unter der Oberfläche liegenden Schichten dem Desorptionsprozess zugänglich gemacht werden. Die Energie des Lasers kann besser genutzt werden, wodurch die Intensität der Signale ansteigt.

Diese neue Probenaufgabetechnik, also das Einbringen der Probenmischung in die Ausfräsungen des Targets, wurde auch am Beispiel ausgewählter PEG-Standards in anderen Massenbereichen (PEG 1000, PEG 2000, PEG 4000) auf ihre Anwendbarkeit getestet. Die meisten Messungen ergaben Spektren, die die angenommene Produktverteilung in einer, der Polymerherstellung entsprechenden Gaußverteilung darstellen. In Abbildung 27 ist das Massenspektrum von Polyethylenglycol 4000 gezeigt. Mit dem bereits zuvor verwendeten Aluminiumoxid wurde keine schlechtere Spektrenqualität erhalten als mit der klassischen, für das Spektrum in Abbildung 27 genutzten, Matrix Dithranol.



**Abbildung 27:** MALDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 4000 nach lösungsmittelfreier Probenpräparation und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen (Matrix: Dithranol, Salz: KCl).

Aus dem Spektrum in Abbildung 27 ist gut ersichtlich, dass sowohl das S/N-Verhältnis als auch die Massenauflösung im Vergleich zu den vorher gezeigten Reflextron-TOF-Messungen gering sind. Eine mögliche Erklärung könnte die, im Vergleich zu der Auftragung auf die glatte Targetoberfläche, etwas unebene Substanzoberfläche sein. Hierdurch schließt die Substanz nicht genau mit der Targetoberfläche ab und es kommt folglich durch die verwendeten „*Extraction Delay*“-Einstellungen zu einer Verteilungsbreite der Ionenflugzeiten aufgrund unterschiedlicher Startzeiten.

Im Hinblick auf die Anwendung dieser Probenaufgabetechnik sollten zur Lösung dieser Probleme die Messbedingungen, vor allem die Einstellungen an der Ionenoptik des Massenspektrometers, überdacht und gegebenenfalls neu entwickelt werden. Ebenfalls sollte für den Einsatz der lösungsmittelfreien Probenpräparationen in den Target-Ausfräsungen bei MALDI bzw. LDI-Messungen eine spezielle Massenkali-

brierungsmethode erarbeitet und evaluiert werden.

Abschließende Versuche haben gezeigt, dass die Verwendung einer klassischen MALDI-Matrix in höheren Massenbereichen notwendig ist. Dazu wurden das bereits hier beschriebene Fettalkoholethoxylat, PEG 1000, PEG 2000 und PEG 4000 jeweils nur mit einem Überschuss an Kaliumchlorid vermischt in die Ausfräsungen gegeben und anschließend massenspektrometrisch analysiert. Dabei zeigte sich, dass das Massenspektrum des niedrigethoxylierten Fettalkoholethoxylats darstellbar ist und das erhaltene Spektrum einer Qualität entspricht, wie es auch aus den vorangegangenen Experimenten mit Aluminiumoxidzusatz (vgl. Abbildung 26) erhalten werden konnte. Von den Polyethylenglycolen 1000 und 2000 ließen sich ebenfalls Massenspektren aufnehmen, jedoch wurden die Verteilungen durch Massendiskriminierungen und/oder mögliche Fragmentierungsreaktionen unsymmetrisch dargestellt. PEG 4000 ließ sich ohne Zusatz von Matrix oder Matrixersatz nicht analysieren. Die Spektren zu den hier diskutierten Ergebnissen finden sich in den Abbildungen 46 - 49 im Anhang.

Es lässt sich zusammenfassend feststellen, dass die Prozesse der matrixfreien Laser-Desorption/Ionisation bzw. der matrixunterstützten Laser-Desorption/Ionisation bei der hier vorgestellten Probenvorbereitung in unterschiedlichen Massenbereichen ablaufen. Während die Ionisierung im unteren Massenbereich bis ca. 1000 Da mit einer matrixfreien Probenpräparation (oder einer in diesem Kapitel dargestellten Probenvorbereitung mit alternativen Matrixsubstanzen) zu hohen Ionenausbeuten und somit zu qualitativ hochwertigen Spektren führt, ist für die Analyse des höheren Massenbereichs eine Matrix notwendig. Demnach könnte sich der Ionisationsmechanismus im unteren Massenbereich durch die Theorie der matrixfreien Laser-Desorption/Ionisation erklären lassen. Im Gegensatz dazu greift im höheren Massenbereich die klassische MALDI-Theorie, da hier nur nach Zusatz von geeigneten Substanzen eine Desorption und eine Ionisierung (Kationisierung) der Analyten möglich ist. Nach diesem Modell könnte sich in einem bestimmten Massenbereich (500 - 2000 Da) eine Mischzone ausbilden, in der beide genannten Ionisationsmechanismen

parallel ablaufen, was für die qualitative und (semi-)quantitative massenspektrometrische Analyse technischer Produkte von großer Bedeutung wäre.

### **3.5 MALDI-MS/MS-Experimente zur Charakterisierung von Copolymeren**

Amphiphile Block-Copolymere, die zum Beispiel Poly(ethylenoxid) (EO) und Poly(propylenoxid) (PO) enthalten, sind kommerziell von großer Wichtigkeit. Diese Produkte, zu denen auch die Fettalkoholalkoxylate gehören, werden in vielen unterschiedlichen Anwendungsgebieten eingesetzt. So dienen sie zum Beispiel als nicht-ionische Tenside in Wasch- und Reinigungsmitteln für den häuslichen oder industriellen Gebrauch und finden – aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften – in vielen industriellen Bereichen (z. B. als Beschichtungs- und Polymerisationsadditive, Stabilisatoren oder in Agrochemikalien) Verwendung.

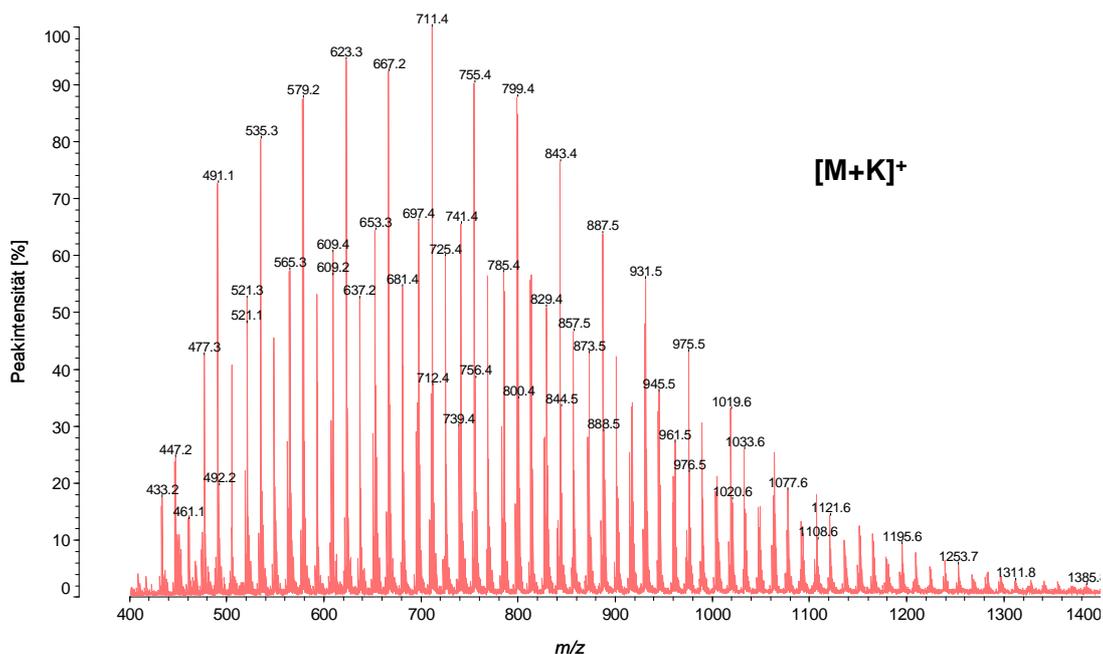
Aufgrund der Variation der molekularen Charakteristika dieser synthetischen Copolymere, die sich durch die Art des Herstellungsverfahrens beeinflussen lassen, werden Verbindungen mit anwendungsoptimierten Eigenschaften hergestellt [242]. So können funktionelle synthetische Polymere aus unterschiedlichen Monomereinheiten aufgebaut sein, die sich wiederum an unterschiedliche Polymer-Starter-Moleküle anpolymerisieren lassen. Die sich ergebende Produktvielfalt stellt hohe Anforderungen an die Analytik dieser Substanzen. Besonders die Ermittlung der Molekulargewichtsverteilung, die Bestimmung des Verhältnisses an Monomeranteilen und die Endgruppenanalytik sind von großer Bedeutung. Veränderungen dieser Parameter können signifikante Effekte auf die Leistungsfähigkeit des Produktes haben [243].

Als Schlüsseltechniken zur Charakterisierung dieser Parameter stehen die kernmagnetische Resonanzspektroskopie (NMR) und die Massenspektrometrie (MS) zur Verfügung. So wurden zur Charakterisierung von Ethylenoxid- und Propylenoxidaddukten in einigen Arbeiten erfolgreich die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektroskopie

angewandt [244-246]. Bei Anwendung von massenspektrometrischen Methoden sind bis zu einem bestimmten Massenbereich ESI-MS-Verfahren einsetzbar, um Übersichtsspektren zu erhalten. Als vielseitige Methode hat sich zudem die *matrix-assisted laser desorption/ionization* (MALDI) Massenspektrometrie [28, 123, 247-251] etabliert. Die Anwendung der Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) zur Analyse dieser Produktklasse wurde von LATTIMER [252] eingeführt und auf viele unterschiedliche massenspektrometrische Methoden übertragen [133, 253-255], wodurch deutlich mehr Informationen über die Struktur der Analyten – also der Vorläuferionen – erhalten werden. So wurde die Endgruppencharakterisierung von Polypropylenglykolen (PPG) mittels ESI-MS/MS im Jahre 2008 von JACKSON et al. vorgestellt [243] und auch die Kopplung einer MALDI-Quelle an ein Tandem-Massenspektrometer hat bei der Charakterisierung der Polyether durch ihre Fragmentspektren bei MALDI-PSD (*Post-Source-Decay*) und der klassischen MALDI-CID (*Collision-Induced-Dissociation*) Technik sehr viele Applikationen ermöglicht [256-263].

### **3.5.1 Unterscheidung von Random- und Blockcopolymeren mittels MALDI-CID-Experimenten von Fettalkoholalkoxylaten**

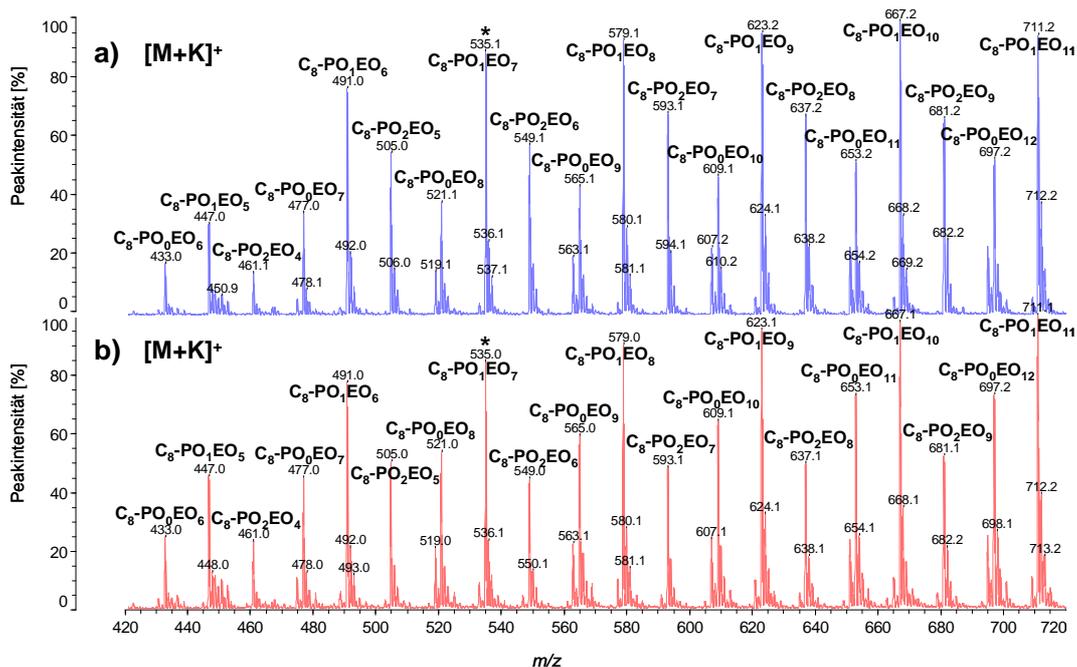
Zur Copolymercharakterisierung wurde die lösungsmittelbasierte Probenvorbereitung nach Salzvorbereitung auf einem Standard-Stahltarget angewendet. Abbildung 28 zeigt das MALDI-(TOF)-Übersichtsmassenspektrum eines alkoxylierten Fettalkohols. Dieses Produkt basiert auf Octanol ( $C_8$ ) als Polymer-Starter-Molekül, welches „im Block“ zunächst propoxyliert und anschließend ethoxyliert wurde. Der Polymerverteilung entsprechen die unterschiedlichen Propoxylierungs- und Ethoxylierungsgrade, die mit höherer Masse ansteigen.



**Abbildung 28:** MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines Octanol-PO/EO-Block-Copolymers.

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \text{ } \mu\text{L}$  KCl-Lösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \text{ } \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.

Ein Ausschnitt aus dem Übersichtsmassenspektrum ist in Abbildung 29b gezeigt und dem  $\text{MS}^1$ -Spektrum des entsprechenden Random-Polymers (Abbildung 29a) gegenübergestellt. Jedes der beiden Massenspektren weist drei unterschiedliche Verteilungen auf. Die Hauptverteilung wird durch die einfach propoxylierten Spezies beschrieben. Daneben existieren in beiden Spektren die Reihen der zweifach propoxylierten Spezies und der reinen Ethylenoxid-Addukte, also  $\text{PO}_2\text{EO}_x$  und  $\text{PO}_0\text{EO}_x$ . Beim Vergleich der Massenpeaks der nicht propoxylierten Spezies und der zweifach propoxylierten Fettalkoholethoxylate fällt auf, dass im Random-Produkt die Peak-Intensitäten letzterer höher sind. Beim Block-Copolymer ist im Vergleich dazu bei der reinen Ethoxylat-Verteilung eine höhere Peakintensität zu erkennen. Die Unterverteilung mit der niedrigsten Peakintensität entspricht hierbei der  $\text{PO}_2\text{EO}_x$ -Spezies, also der zweifach propoxylierten Stufe.



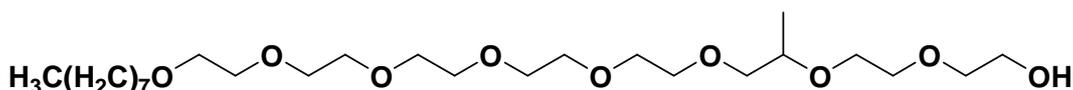
**Abbildung 29:** Ausschnitte der MALDI-(TOF)-Massenspektren eines Octanol-PO/EO-Random-Copolymers (a) und eines Octanol-PO/EO-Block-Copolymers (b).

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \text{ } \mu\text{L}$  KCl-Lösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \text{ } \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.

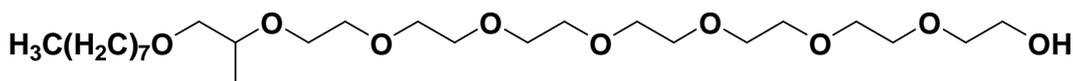
Anhand des Übersichtsspektrums können keine eindeutig interpretierbaren Unterschiede manifestiert werden. Die beschriebenen Verteilungen ermöglichen zwar erste Aussagen über die unterschiedlichen Verhältnisse in den Peakintensitäten, lassen jedoch keine eindeutige Unterscheidung zu, ob es sich bei dem analysierten Produkt um ein Random- oder Block-Copolymer handelt.

Um strukturanalytische Merkmale näher herauszustellen, wurden MS/MS-Experimente durchgeführt, in denen unter anderem von den  $C_8$ -PO<sub>1</sub>EO<sub>7</sub>-Oligomeren ( $m/z$  535) der beiden Produkte CID-Spektren gemessen wurden. Die Strukturen dieser Oligomere sind in Abbildung 30 gezeigt, wobei die Struktur des Random-Polymers nur ein Beispiel darstellt. Die Propoxy-Gruppe kann hier an jeder Position in der Polymerkette lokalisiert sein.

a) Random-Oligomer  
z.B.



b) Block-Oligomer



**Abbildung 30:** Strukturformeln der  $C_8\text{-PO}_1\text{EO}_7$ -Oligomeren; (a) Random-Oligomer als Beispiel einer möglichen Struktur, (b) Block-Oligomer mit PO-Gruppe direkt am Fettalkohol lokalisiert.

Zur Erzeugung der Fragmentspektren wurden die Precursor-Ionen mit dem entsprechenden  $m/z$ -Verhältnis von 535 mit Hilfe des Ion-Gates selektiert (siehe Abbildung 29, mit \* gekennzeichnete Massensignale). Diese sind in den Massenspektren (Abbildung 31) deutlich hervorgehoben. In der CID-Stoßkammer, die sich in der Mitte des TOF-Analysators befindet, wurde mit Helium ein konstanter Druck von  $3,5 \cdot 10^{-6}$  mbar eingestellt. Infolge von Hochenergiestößen setzte eine Fragmentierung der Precursor-Ionen ein. Da beide Spektren mit Kalium als kationisierendem Salzzusatz erzeugt wurden, trat in beiden die Masse 39 (nicht vergrößerter Massenbereich) auf. Die entstehenden MS/MS-Fragmentationen zeigen eine wesentlich geringere Peakintensität als die entsprechenden  $\text{MS}^1$ -Signale. Daher ist der Fragmentmassenbereich in den beiden Massenspektren um den Faktor 100 vergrößert dargestellt.

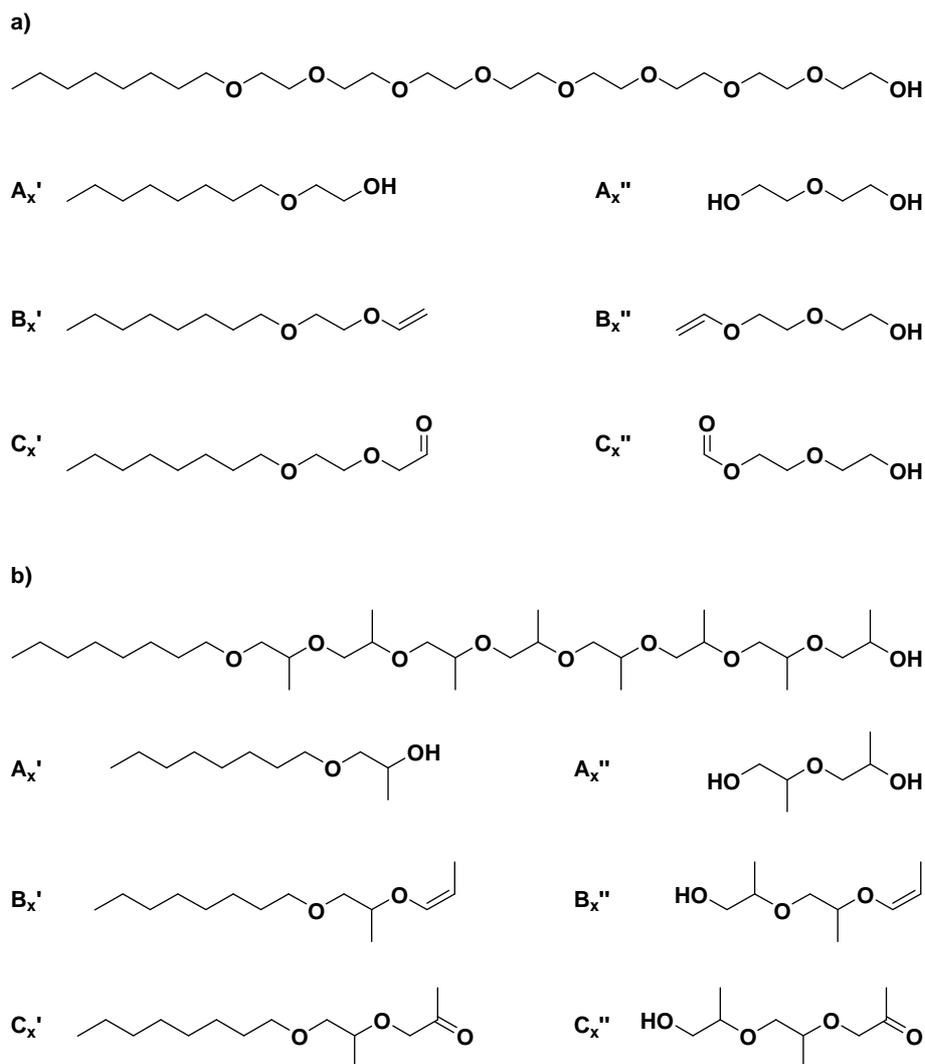
Durch die relativ hohe Stoßenergie kommt es bei der angewandten CID-Technik zu einer Vielzahl von Fragmentmassen, die sich anhand der Strukturen zum Teil zuordnen lassen. Einige wichtige Fragmentierungspositionen sind in den eingefügten Strukturen in Abbildung 31 farblich markiert. Dabei muss beachtet werden, dass ein Stoß, der zur Fragmentierung dieser asymmetrisch aufgebauten Moleküle an einer bestimmten Position führt, zwei Fragmentationen unterschiedlicher Art erzeugen kann.



Bei der Betrachtung der Spektren fällt zunächst kein signifikanter Unterschied auf, da beide MS<sup>2</sup>-Experimente nahezu dieselben Fragmente erzeugen. Jedoch zeigen sich hier, wie bereits in den MS<sup>1</sup>-Spektren, Unterschiede in der Peakintensität einzelner Fragmentmassen. Vergleicht man die Fragmentmassen  $m/z$  158 und  $m/z$  172 in beiden Spektren, so fällt auf, dass sich die Intensität der beiden zueinander umkehrt. Die Masse  $m/z$  172 ist im Vergleich zum Massenpeak  $m/z$  158, im CID-Spektrum des Block-Produktes kleiner als im CID-Spektrum des Random-Produktes. Die Ursache hierfür dürfte die Stabilisierung des entstehenden Ions über die Methylgruppe im möglichen Random-Produkt sein. Wie bereits oben beschrieben, ist die Stellung der PO-Gruppe im Random-Polymer nicht definiert, sodass dieses Ion (in der vorgeschlagenen Struktur) stabilisiert und in einer höheren Intensität gemessen wird. Im Vergleich hierzu muss die Bildung des Fragments  $m/z$  158 deutlich geringer sein. Vergleicht man dazu das Block-Polymer, so ist die Bildung des Fragments  $m/z$  158 bei einer Spaltung des Moleküls an dieser Position die einzige mögliche Fragmentierung, welche stattfinden kann, da hierbei die PO-Gruppe fest am Fettalkohol-Starter lokalisiert ist. Demnach lassen sich über die beschriebenen Peakintensitäten der einzelnen Fragmentmassen Aussagen über die Herstellungsart (Random- oder Blockpolymerisation) des Polymers treffen. Ein zusätzliches Unterscheidungsmerkmal sind die Fragmentationen  $m/z$  226 beim Random-Produkt und  $m/z$  210 beim Block-Polymer. Sie sind spezifisch für die unterschiedlichen Produktklassen, da diese Fragmente nur bei der gezeigten Anordnung gebildet werden können, also dem Fettalkoholfragment mit einer EO-Gruppe beim Random-Produkt und dem Fettalkoholfragment mit nicht variabler PO-Gruppe beim Block-Produkt.

Um die entstandenen Fragmente näher zu beschreiben, waren Arbeiten von JACKSON et al. hilfreich, in denen mögliche Strukturen von Polyether-Fragmenten, die bei MALDI-MS/MS-Experimenten dieser Polymersubstanzklasse auftreten, vorgeschlagen wurden [258]. Hieraus lassen sich jeweils für reine Ethoxylate bzw. Propoxylate drei Hauptfragmentreihen (A-C) identifizieren (s. Abbildung 32), wobei die Fragmentierung von zwei Seiten des Moleküls betrachtet werden kann (z.B.  $A_x'$  und  $A_x''$ ).

Die A-Reihen beschreiben hierbei Fragmente mit freien Hydroxylgruppen. Fragmentierungen, die zu einer Doppelbindung (endständigen Vinyl-Gruppe bei EO) führen, werden als B-Reihe beschrieben und die Bildung einer Carbonyl-Funktion (bei EO zum entsprechenden Aldehyd; bei PO zum entsprechenden Keton) als C-Reihe.



**Abbildung 32:** Strukturen der möglichen Fragmentreihen A, B und C bei der stoßinduzierten Dissoziation von reinen C<sub>8</sub>-Fettalkoholethoxylaten (a) und reinen C<sub>8</sub>-Fettalkoholpropoxylaten (b) nach [258].

Durch diese möglichen Fragmentreihen ließen sich die erhaltenen CID-Spektren der Precursor-Ionen  $m/z$  535 auswerten und entsprechende Strukturen den Fragmentmassen zuordnen. So konnten zum Beispiel die Reihen des Typs B eindeutig zuge-

ordnet werden. Eine nähere Diskussion dieser Strukturzuordnung soll im folgenden Unterkapitel aufgegriffen werden.

### **3.5.2 Vergleichende Studien von Hochenergie- und Niedrigenergie-CID-Experimenten zur Analyse von Fettalkoholalkoxylat-Copolymeren**

Um weitere Informationen über die Fragmentreihen zu erhalten, die sich bei CID-Experimenten von Fettalkoholalkoxylaten zeigen, wurden im folgenden Teil zwei unterschiedliche MALDI-CID-MS/MS Techniken verglichen, mit denen die Strukturanalyse von Copolymeren möglich sind.

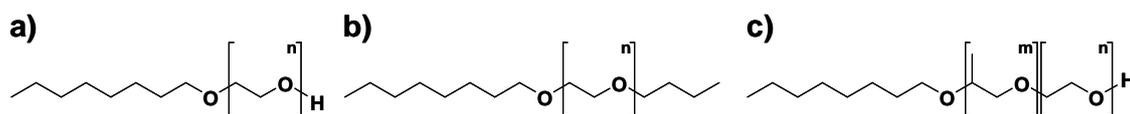
Zum einen wurden – wie auch im Kapitel 3.5.1 – Hochenergie-CID-Experimente durchgeführt. Dazu diente das bereits vorgestellte MALDI-(TOF)MS-System (AXIMA Performance™, Shimadzu Biotech, Manchester, UK). Zum anderen war es möglich, Niedrigenergie-CID-Spektren an einem Quadrupol-Ion-Trap-TOF-Massenspektrometer mit entsprechender MALDI-Quelle (MALDI-QIT-(TOF)MS, AXIMA Resonance™, Shimadzu Biotech, Manchester, UK) aufnehmen zu lassen. Hierbei diente Argon als Stoßgas. Die Messungen am AXIMA Resonance™ wurden von Herrn Dr. Martin Resch (Shimadzu Europa GmbH) bei Shimadzu Biotech in Manchester durchgeführt.

Die Besonderheit beim QIT-System liegt darin, dass die Fragmentierungsgas- und die relative Stoßenergie kontrolliert und somit qualitativ hochwertige CID-MS/MS-Experimente durchgeführt werden können [262-264]. Zudem lassen sich weitere Fragmentspektren aus Vorläuferionen erzeugen und analysieren ( $MS^n$ ), was in den folgenden Experimenten jedoch nicht angewandt wurde.

Zusätzlich zu der Variation der CID-Technik sollte in den vergleichenden Messungen der Einfluss des kationisierenden Agens näher herausgestellt werden. Wie bereits in den vorherigen Kapiteln beschrieben, ist die Wahl des kationisierenden Agens entscheidend für die erfolgreiche MALDI-Analyse von synthetischen Polymeren. Einige Publikationen haben gezeigt, dass gerade das Kation einen erheblichen

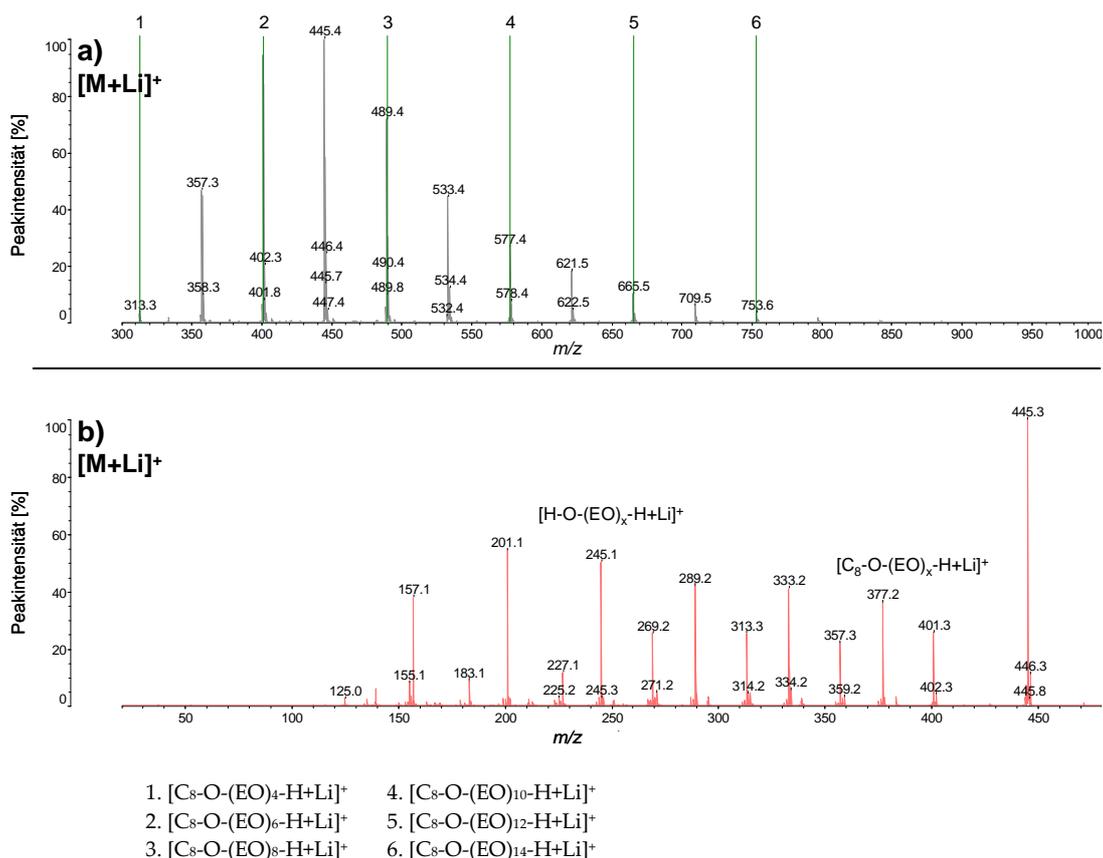
Einfluss auf die Ergebnisse von MALDI-MS/MS-Messungen hat [262, 265-269]. Aus diesem Grund wurden neben den in Kapitel 3.5.1 beschriebenen Kalium-Addukten auch von den entsprechenden Lithium- und Natrium-Addukten Fragmentspektren aufgezeichnet.

Als Analyten dienten bei diesen Versuchen ein Octanolethoxylat (Struktur s. Abbildung 33a), ein Octanolethoxylat mit einem n-Butyl-Endcapping (Struktur s. Abbildung 33b) und ein Octanol-PO/EO-Block-Copolymer (Struktur s. Abbildung 33c). Im Folgenden wird allerdings nur auf die Ergebnisse des reinen Octanolethoxylats eingegangen. Die Spektren der beiden anderen Produkte sind in den Abbildungen 50 -53 im Anhang (Kapitel 6) zusammengestellt.



**Abbildung 33:** Strukturen der analysierten Fettalkoholalkoxyat-Copolymeren: Octanolethoxylat (a), Octanolethoxylat mit n-Butyl-Endcapping (b) und Octanol-PO/EO-Block-Copolymer (c).

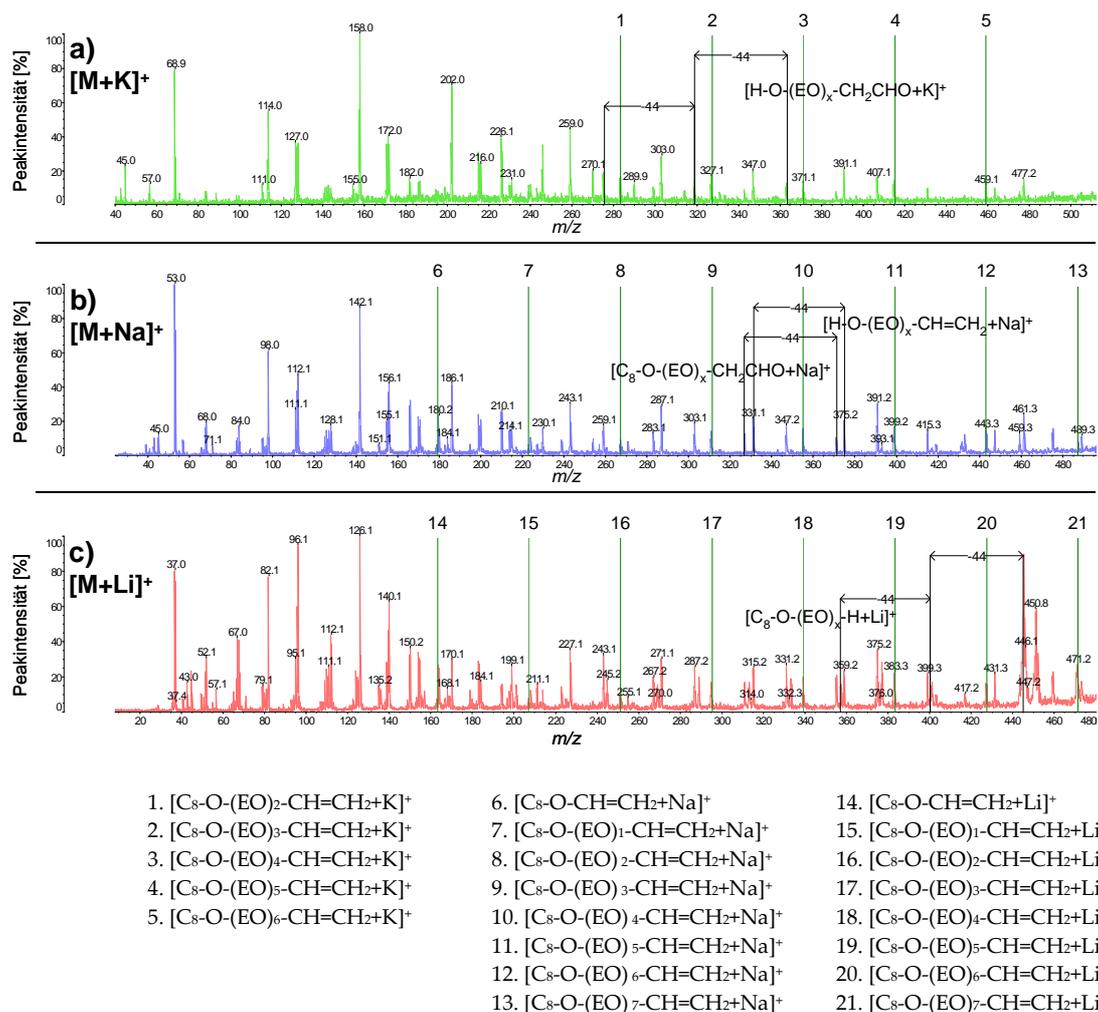
Die Abbildung 34a zeigt das MALDI-QIT-TOF-Übersichtsspektrum ( $[M+Li]^+$ ) des analysierten Produktes. Das Spektrum weist eine unsymmetrische Molmassenverteilung auf, in der das Peakintensitätsmaximum bei einem Polymerisationsgrad von sieben ( $m/z$  445) liegt. Das Niedrigenergie-CID-Spektrum des Lithium-Addukts ist in Abbildung 34b gezeigt.



**Abbildung 34:** MALDI-QIT-(TOF)-Massenspektrum des Fettalkoholethoxylats (a) und MALDI-Niedrigenergie-MS/MS-Spektrum des Precursor-Ions  $m/z$  489 ( $[M+Li]^+$ ) dieses Produktes (b).

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \mu\text{L}$  LiCl-Lösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.

Aus den Spektren der Alkali-Addukte wurden drei unterschiedliche Precursor-Ionen für die CID-Experimente ausgewählt ( $[M+Li]^+$   $m/z$  489,  $[M+Na]^+$   $m/z$  505 und  $[M+K]^+$   $m/z$  521). In Abbildung 35a-c sind die entsprechenden Hochenergie-CID-Spektren dargestellt. Die Skalierung der  $m/z$ -Achsen ist hierbei so an die Massen der Alkaliionen angepasst, dass Fragmente gleichen Typs übereinander dargestellt sind. Schon im direkten Vergleich fällt auf, dass beim durchgeführten MALDI-QIT-MS/MS-Experiment (Abbildung 34b) eine wesentlich geringere Anzahl an Fragmenten entsteht. Das Spektrum beinhaltet hauptsächlich die in Abbildung 32a dargestellten  $A_x'$  und  $A_x''$  Fragment-Reihen.



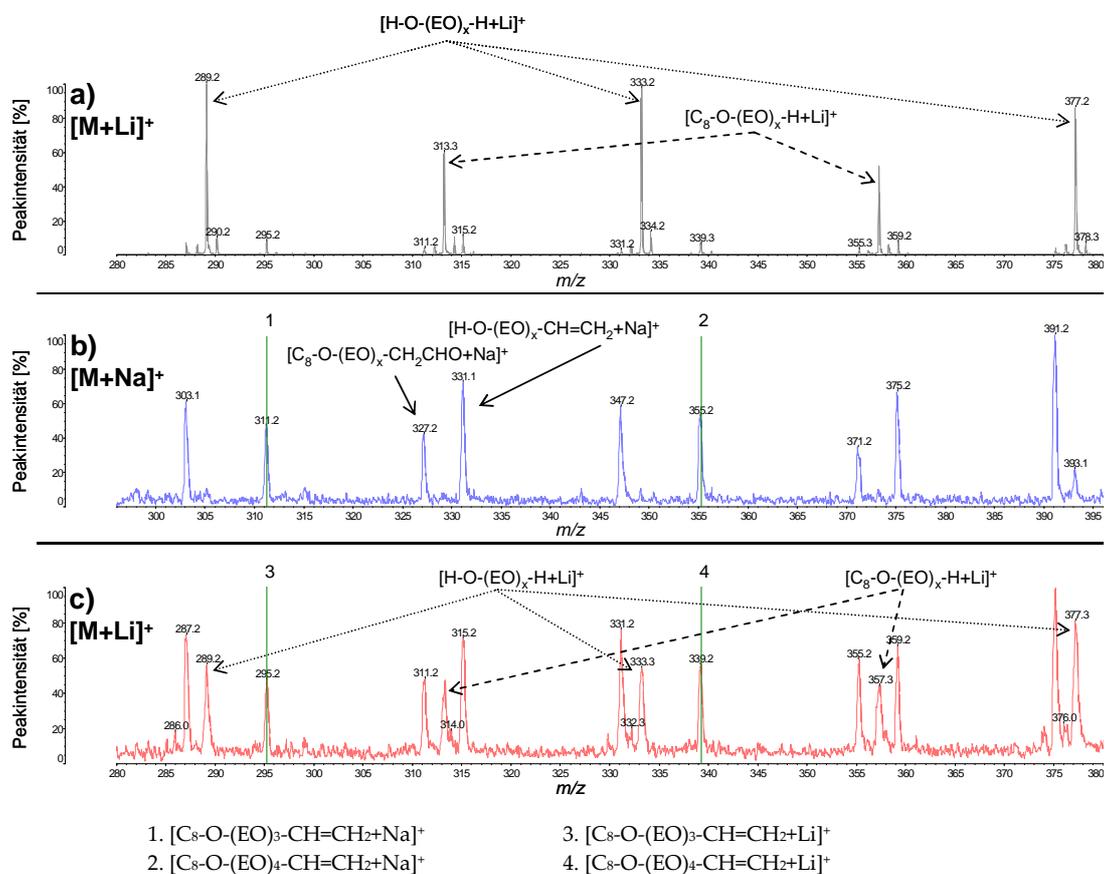
**Abbildung 35:** MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren des Fettalkoholethoxylats als Kalium-Addukt (a, Precursor-Ion  $m/z$  521), als Natrium-Addukt (b, Precursor-Ion  $m/z$  505) und als Lithium-Addukt (c, Precursor-Ion  $m/z$  489).

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \mu\text{L}$  Salzlösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.

Die Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren weisen dagegen eine größere Anzahl von Fragmentionen auf. So lassen sich im Spektrum in Abbildung 35b die Fragmentionen des Typs B<sub>x</sub>' (zum Beispiel die Ionenreihe  $[\text{H-O-(EO)}_x\text{-CH=CH}_2 + \text{Na}]^+$ ) und des Typs C<sub>x</sub>' (zum Beispiel die Ionenreihe  $[\text{C}_8\text{-O-(EO)}_x\text{-CH}_2\text{CHO} + \text{Na}]^+$ ) zuordnen.

Vergleicht man die drei Hochenergie-CID-Spektren der verschiedenen Alkali-Addukte, so sind beim Lithium-Addukt zusätzliche Stoßfragmente zu erkennen.

Dies wird anhand der Ausschnitte in Abbildung 36 näher beschrieben.



**Abbildung 36:** Ausschnitt aus dem MALDI-Niedrigenergie-CID-MS/MS-Spektrum des Precursor Ions  $m/z$  489 ( $[M+Li]^+$ ) des Fettalkoholethoxylats (a) im Vergleich zu den MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren des gleichen Produktes als Natrium-Addukt (b, Precursor Ion  $m/z$  505) und als Lithium-Addukt (c, Precursor Ion  $m/z$  489).

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \mu\text{L}$  Salzlösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.

Es zeigt sich, dass die Massenfragmente, die sich im Hochenergie-CID-MALDI-MS/MS aus dem Lithiumaddukt bilden, exakt denen der MALDI-QIT-TOF-Experimente entsprechen. Demnach bilden sich auch bei Anwendung der Hochenergie-CID-Technik mit Lithium als kationisierendem Agens die entsprechenden Hydroxylgruppen-terminierten Fragmente, also die der Reihen  $A_{x'}$  und  $A_{x''}$ . Auf-

grund des kleinen Radius' des  $\text{Li}^+$ -Kations und der damit verbundenen hohen Ladungsdichte, die zu einem hohen kovalenten Bindungsanteil führt, kann dieses Ion stärker an die Hydroxylfunktion gebunden werden. Es bildet somit stabilere Addukte als Natrium- und Kaliumionen.

Entsprechende Ergebnisse wurden auch bei vergleichenden Messungen der anderen beiden Produkte (Abbildung 33b und 33c) erhalten, deren Massenspektren im Anhang (Kapitel 6, Abbildungen 50 - 53) dargestellt sind. So zeigt zum Beispiel das FAEO-Produkt mit dem n-Butyl-Endcapping im Niedrigenergie-CID-Spektrum Fragmentreihen, die sowohl von der Octyl- als auch von der Butyl-Endgruppe betrachtet werden können.

Die Besonderheiten von Lithium bei MS/MS-Experimenten von Polyethern wurden bereits 1992 von LATTIMER [252] herausgestellt und von HOTELING et al. [270] und SELBY et al. [271] angewandt. Darauf aufbauend wurden von OKUNO et al. [263] und HANTON et al. [262] Arbeiten veröffentlicht, in denen die Fragmentierung der Lithium-Addukte von ethoxylierten Tensiden und Polyethylen- / Polypropylenglykolen bei MALDI-QIT-TOF-Experimenten gezeigt und diskutiert wird. Bei der MALDI-Analyse von Fettsäuren konnten TRIMPIN et al. Doppel-Lithium-Addukte bei der Fragmentierung beobachten [272].

Aus diesen Arbeiten läßt sich eine mögliche Erklärung für die Fragmentbildung bei Fettalkoholethoxylaten, aber auch bei den anderen analysierten Produkten, herleiten. Die Energie, die in einem Niedrigenergie-Fragmentierungsvorgang auf ein Lithium-Addukt übertragen wird, reicht offenbar aus, um ausschließlich die Fragmentreihen  $A_x'$  und  $A_x''$  zu erzeugen. Ein Vorschlag für die Spaltung der ethoxylierten Fettalkohole ist eine Umlagerungsreaktion, bei der das Lithiumion über einen möglichen Übergangszustand an das endständige Sauerstoffatom anlagert, und anschließend eine Eliminierung von Ethylen stattfindet (Abbildung 37a). Die Fragmentreihen  $B_x$  und  $C_x$ , die hauptsächlich in den Hochenergie-CID-Spektren der Natrium- und Kalium-Addukte nachzuweisen sind, könnten durch eine 1,4-H-Eliminierungsreaktion gebildet werden. Die Abbildung 37b zeigt diese Fragmentierungsreaktion, welche zu



Diese Art von Umlagerungsreaktionen und damit verbundenen Fragmentierungsschritten sind typisch für CID-Experimente und wurden bei der Analyse diverser Produkte beobachtet [263, 270, 271, 273-275].

Es lässt sich zusammenfassen, dass die Verwendung unterschiedlicher CID-Techniken und die Variation der Adduktionen zur Charakterisierung von Copolymeren zu großen Unterschieden in den Fragmentspektren führen. Dabei stellt die Niedrigenergie-CID-MALDI-Tandem-Massenspektrometrie in Verbindung mit Lithiumsalzen als Kationisierungsreagenzien eine besondere Rolle dar, was für eine schnelle und effiziente Charakterisierung dieser Polymere von großer Bedeutung ist. Um eine Unterscheidung von Random- und Blockcopolymeren zu ermöglichen, wie sie bereits in Kapitel 3.5.1 diskutiert wurde, können die erhaltenen Ergebnisse genutzt werden, um selektiv Fragmentationen zu erzeugen und somit die Strukturen von unbekanntem Proben aufzuklären.

### 3.6 Ausblick

Im Hinblick auf die Anwendung der lösungsmittelfreien Probenvorbereitungstechnik bei der MALDI-(TOF)MS-Analyse von oleochemischen, technischen Polymeren sind weitere Untersuchungen notwendig, um diese Methode für (semi-)quantitative Ansätze nutzen zu können. Für Messungen, die nach der Auftragung in Target-Ausfräsungen erfolgen, sollten Einstellungen an der Ionenoptik des Massenspektrometers überdacht und gegebenenfalls neue Messbedingungen gewählt werden. Zudem ist hierfür eine spezielle Massenkali­brierungsmethode notwendig, die erarbeitet und evaluiert werden sollte. Nur so können vergleichende Reproduzierbarkeitsmessungen erhalten und diese Methode auf höhere Massenbereiche und Polymerarten übertragen werden.

Um die erhaltenen Ergebnisse der MS/MS-Experimente in Zukunft für die Analyse unbekannter Produkte zu nutzen, sind zunächst noch weitere systematische Untersuchungen erforderlich. Hierbei ist unter anderem zu klären, wie sich die herausge-

stellten Besonderheiten der Lithiumadduktbildung auf die Fragmentierungen höher alkoxylierter Produkte und anderer Copolymere auswirken. Zusätzlich ist von großem Interesse, zu klären, ob sich bei der Fragmentierung von EO-, PO- und anderen Alkoxyataddukten mit höherem Polymerisierungsgrad bevorzugte Eliminierungs- bzw. Umlagerungsreaktionen zeigen. Nur so lassen sich zukünftig Strukturen unbekannter Substanzen mit Hilfe der MALDI-Tandem-Massenspektrometrie aufklären.

## 4 Zusammenfassung

Ein Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war die Anwendung der klassischen MALDI-MS-Analytik auf Produkte der fettchemischen Industrie. Die Untersuchungen umfassten die Beeinflussung der Analyse polydisperser Produkte durch Parameter wie die Probenvorbereitung und diverse Geräteeinstellungen. So konnte der Einfluss der Laserenergie und die Art der verwendeten klassischen MALDI-Matrix auf die Massenspektren, d.h. auf die erhaltenen Polymerverteilungen, gezeigt werden. Eine Verbesserung der klassischen MALDI-Probenvorbereitung, bei der die Polymerprobe, die MALDI-Matrix und das kationisierende Salz als Lösungen gemischt und auf das MALDI-Target gegeben werden, wurde durch eine Salzvorbereitung des MALDI-Targets und anschließendes Auftragen des Analyt/Matrix-Gemisches aus einem organischen Lösungsmittel erreicht. Es zeigte sich, dass durch diese neue Technik selektiv Alkalimetallsalzaddukte der Analytmoleküle entstehen und unerwünschte, durch andere Metallsalzionen hervorgerufene, Unterverteilungen unterdrückt werden.

Am Beispiel ausgewählter Produkte (einem Fettalkoholethoxylat, einem Alkylpolyglucosid und einem Fettalkoholethersulfat) wurden in dieser Arbeit systematische Untersuchungen zur Optimierung der MALDI-(TOF)MS-Analyse polydisperser Aktivkomponenten durchgeführt. Die Messungen, bei denen die Matrix, das Lösungsmittel und das verwendete Salz bei der Probenvorbereitung variiert wurden, beruhen auf einem statistischen Versuchsplan. Die Interpretation und die Auswertung der Ergebnisse erfolgte über Hauptkomponentenanalysen und Einzelvarianzanalysen. Daraus konnte unter anderem die Auswirkung der Kaliumadduktbildung auf die Spektrenqualität der Alkylpolyglucoside herausgestellt werden. Es war möglich, Aussagen über wichtige Parameter der Probenvorbereitung für unterschiedliche Tensidklassen zu treffen. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass der Einfluss der verwendeten Matrix und des eingesetzten Ionisationshilfsmittels sehr hoch ist. Da-

---

gegen hatten die verwendeten Lösungsmittel einen geringen bzw. nicht signifikanten Einfluss auf die Zielgrößen. Für die drei Produkte konnten je zwei Methoden erarbeitet werden, die für die MALDI-Analyse der jeweiligen Tensidklasse von großer Bedeutung sind.

Ein weiterer Schwerpunkt lag in der Erprobung und Weiterentwicklung der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung. Durch eine gleichmäßigere Belegung der Targetoberfläche mit Matrix und Probe kam es zu einer besseren Reproduzierbarkeit der einzelnen Massenspektren, was in Hinblick auf eine quantitative bzw. semi-quantitative Analyse mittels MALDI-MS erforderlich ist. Untersuchungen zum Einfluss der Matrix und des Targetmaterials zeigten, dass im niedrigen Massenbereich (z.B. bei niedrigethoxylierten Fettalkoholen) Matrix-Alternativen wie Aluminiumoxid oder Oxalsäure, die nicht dem klassischen MALDI-Konzept entsprechen, zur Laser-Desorption/Ionisation verwendet werden können. Zwar hat das Targetmaterial keinen Einfluss auf den MALDI-Prozess einer lösungsmittelfrei vorbereiteten Probe, jedoch zeigte sich, dass eine bestimmte Oberflächenstrukturierung des Targets sich sehr stark auf die resultierenden Massenspektren auswirkt. Zusätzlich zu den erhaltenen Massenspektren konnten die Ergebnisse durch Visualisierung der Targetoberfläche mit Hilfe von REM-Aufnahmen bestätigt werden. Eine Weiterentwicklung der lösungsmittelfreien Probenvorbereitung war das Aufbringen des Analyt/Matrix-Gemisches in eine Ausfräsung des Targets. Damit ergab sich eine homogene, gleichmäßige Verteilung von Probe, Matrix und Salz und eine daraus folgende gute Laserschuss-zu-Laserschuss-Reproduzierbarkeit. Zudem konnte anhand dieser Ergebnisse die Theorie widerlegt werden, dass eine Wechselwirkung des Laserlichtes mit der Oberfläche des Targets für den MALDI-Prozess im niedrigen Massenbereich notwendig ist.

Aus den Versuchen zur lösungsmittelfreien Probenpräparation ging hervor, dass sowohl die Laser-Desorption/Ionisation als auch die matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation ablaufen können. Während die Ionisierung im unteren Massenbereich über den Laser-Desorptions/Ionisations-Prozess erklärbar ist, ist für die

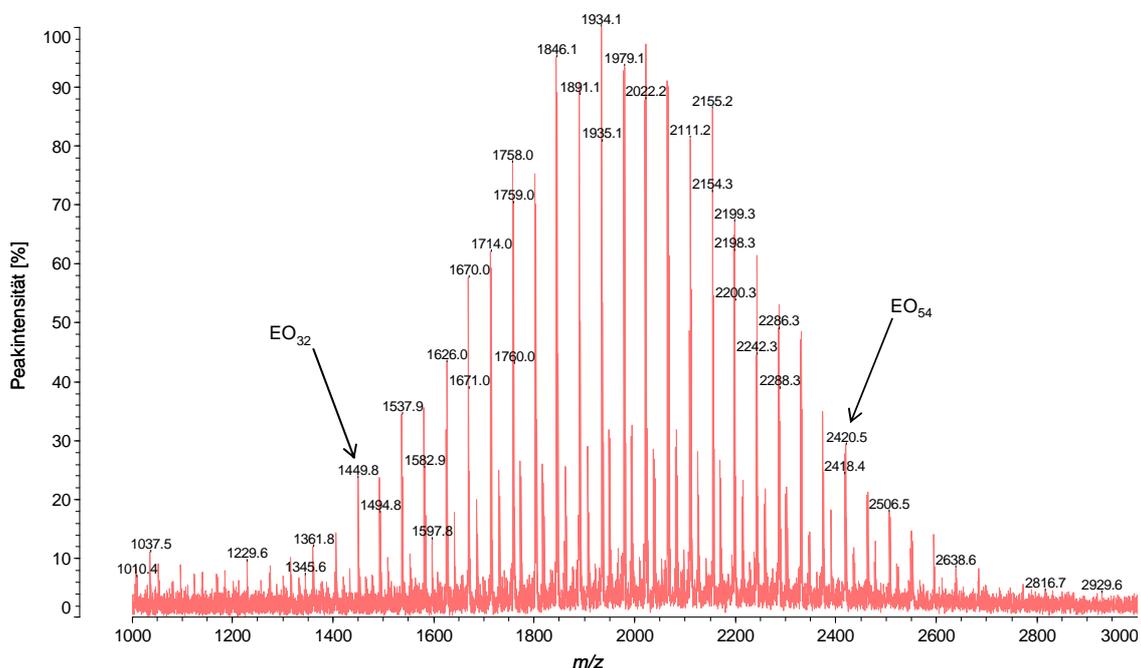
Analyse des höheren Massenbereiches eine klassische MALDI-Matrix notwendig. Demnach könnte sich in einem Massenbereich von etwa 500 - 2000 Da eine Mischzone ausbilden, in der beide Ionisationsmechanismen eine Rolle spielen, was für eine qualitative und (semi-)quantitative Analyse technischer Produkte von großer Bedeutung ist.

Zur Charakterisierung von Copolymeren, z.B. bei der Unterscheidung von Random- und Block-Copolymeren, wurde die MALDI-Tandem-Massenspektrometrie erfolgreich eingesetzt. Durch die Verwendung unterschiedlicher CID-Techniken und Salze konnten Unterschiede in den Fragmentspektren von Fettalkoholalkoxylat-Copolymeren herausgestellt werden. Dabei zeigten sich Vorteile bei der Verwendung von Lithium als adduktbildendes Kation, da durch dieses die meisten Fragmentationenreihen in den MS/MS-Spektren darstellbar waren und sich somit umfassende Informationen zu den analysierten Produkten ermitteln ließen.

## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Kalibrierung des MALDI-(TOF)-Massenspektrometers

Die Kalibrierung des MALDI-(TOF)-Massenspektrometers wurde mit Polyethylenglycol 2000 durchgeführt. Dazu wurde PEG 2000 in Methanol (Konzentration:  $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) gelöst. Als Matrix wurde DHB in Methanol (Konzentration:  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) verwendet. Nach dem Mischen der Einzelkomponenten ( $20 \mu\text{L}$  DHB-Lösung +  $20 \mu\text{L}$  PEG-Lösung) wurden ohne Zugabe einer Salzlösung  $0,5 \mu\text{L}$  dieser Mischung auf die Targetoberfläche aufgetragen. Die Aufnahme des Massenspektrums erfolgte immer bei einer festgestellten Laserenergie und bei gleich eingestelltem Ion-Gate. Ein Beispiel für ein PEG 2000-Kalibrierspektrum ist in Abbildung 38 gezeigt.



**Abbildung 38:** MALDI-(TOF)-Massenspektrum des PEG 2000 zur Kalibrierung des Massenspektrometers.

Die Massenkali­brierung erfolgte mit Hilfe der Kalibrierfunktion der Shimadzu Biotech Lauchpad Software anhand der  $[M+Na]^+$ -Ionenreihe. Es wurden die gemessenen

Massen im Massenbereich zwischen dem Oligomer  $n = 32$  (1449,8 Da) und dem Oligomer  $n = 54$  (2418,4 Da) mit den berechneten Massen verglichen und damit korrigiert, wobei die Toleranz der Peakerkennung bei  $\pm 500$  mDa lag.

Für einige Messungen im unteren Massenbereich wurde die Kalibrierung um die registrierten Massen von Kalium (39 Da) oder Natrium (23 Da) und den MALDI-Matrix-Addukten erweitert.

## 5.2 Probenvorbereitung

### 5.2.1 Probennahme und Vorbereitung der MALDI-Targets

Die Probennahme ist entscheidend für korrekte Analysenergebnisse und eine genaue massenspektrometrische Darstellung der Polymerverteilungen. Die meisten Proben wurden von der Firma Cognis GmbH (Düsseldorf, D) zur Verfügung gestellt. Diese wurden zum Teil als Abfüllung direkt aus der Produktion entnommen. Bei einigen hier untersuchten Polymerproben im unteren Massenbereich (z.B. bei niedrigethoxylierten Fettalkoholen) war es demnach für eine homogene Probennahme notwendig, diese Abfüllungen aufzuschmelzen. Dafür wurden die Proben im Trockenschrank für etwa 30 - 60 Minuten auf 65 - 85°C erwärmt. Dabei waren die Dauer und die Temperatur der Erwärmung abhängig von der Probe. Es war darauf zu achten, dass die Temperatur nicht zu hoch eingestellt war, da sonst niedermolekulare Substanzen entweichen konnten. Dieses hätte zu verfälschten Analysenergebnissen geführt.

Nach dem kompletten Aufschmelzen der Probe konnte diese mit einem Spatel durchmischt werden. Zum Teil wurden davon Aliquote von etwa 10 mL entnommen, um bei folgenden Probenentnahmen eine kleinere Substanzmenge aufzuschmelzen zu können.

Bei hochschmelzenden Polymerproben war dieses Aufschmelzen nicht geeignet. Hierbei wurde die Probe mit einem Spatel homogenisiert und eine Mischprobe entnommen.

Alle in dieser Arbeit verwendeten Edelstahl-MALDI-Targets wurden vor dem Gebrauch mechanisch mit Hilfe einer Bürste und gewöhnlichem Geschirrspülmittel vorgereinigt. Anschließend erfolgte die Reinigung der Targets im Ultraschallbad in einer Lösung aus 5 - 10 Vol.-% Ameisensäure in Methanol. Nach dem Abspülen mit Wasser wurden die Targets bei 85°C in einer Laborgeschirrspülmaschine gereinigt. Es folgte ein Abspülen mit Methanol und Aceton.

Bei den Targets aus Aluminium wurde der Reinigungsschritt in der Laborgeschirrspülmaschine ausgelassen.

Nach der Reinigung wurden alle Targets für mindesten 10 Stunden bei 75°C im Trockenschrank gelagert.

### **5.2.2 Probenvorbereitung zu den Experimenten der Matrixvariation und Variation der Laserenergie**

Die Proben wurden zu  $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF gelöst. Die unterschiedlichen Matrixlösungen wurden zu einer Konzentration von  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF angesetzt. Als Salzlösung diente eine NaCl-Lösung in THF (Konzentration:  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Aus diesen Lösungen der Einzelkomponenten wurde eine Mischlösung hergestellt, indem  $20 \text{ } \mu\text{L}$  der Matrix-Lösung,  $20 \text{ } \mu\text{L}$  der Proben-Lösung und  $2 \text{ } \mu\text{L}$  der Salz-Lösung zusammenpipettiert wurden. Von dieser Lösung wurden  $0,5 \text{ } \mu\text{L}$  auf die Targetoberfläche aufgetragen.

Bei den Experimenten zur Variation der Laserenergie wurde DCTB als Matrix verwendet.

### **5.2.3 Probenvorbereitung zur Optimierung der Salzvorbereitung**

Zur Salzvorbereitung des Targets wurden  $2 \text{ } \mu\text{L}$  einer wässrigen Salzlösung mit einer Konzentration von  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  direkt auf das gereinigte und getrocknete Target-Well gegeben. Als Alternative wurden auch Salzlösungen ( $1,3 \text{ } \mu\text{L}$ ) mit einer Kon-

zentration von  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in einer 1:1-Mischung aus Methanol und Wasser verd.

Nach einer Trockenzeit von etwa 20 - 30 Minuten (bei Raumtemperatur) erfolgte die Auftragung der Mischung aus Matrix- und Probelösung aus einem organischen Lösungsmittel.

### 5.2.4 Lösungsmittelfreie Probenvorbereitung

Zur lösungsmittelfreien Probenvorbereitung wurden 2 mg Probe und 10 mg Matrix zusammen mit drei gesäuberten Stahlkugeln in ein 1,5 mL GC-Vial gefüllt und 45 Sekunden bei 1800 U/min auf dem Vortex Schüttler durchmischt.

Die Aufgabe der Mischung auf das Target erfolgte mit einem Spatel. Es wurde eine Spatelspitze der Mischung vorsichtig auf den verschiedenen mit Salz vorbeschichteten Probenflächen verrieben.

Alternativ erfolgte die lösungsmittelfreie Probenvorbereitung in einem kleinen Rundkolben mit Schliffstopfen (~ 1 ml Volumen). Es wurden 2,5 mg Probe, 10 mg Matrix (bzw. Matrixalternative) und 10 mg Salz zusammen eingewogen. Nach Zugabe von drei Glaskugeln (Durchmesser ca. 3 mm), wurden die Substanzen für eine Minute bei 2200 U/min auf einem Vortex Schüttler durchmischt.

Anschließend wurde das Gemisch mit einem kleinen Spatel dünn auf dem Target verrieben und der Überstand entfernt.

Die Ausfräsungen im Aluminium-Target (Durchmesser: 2 mm; Tiefe: 500  $\mu\text{m}$ ) wurden komplett mit dem Gemisch gefüllt und anschließend mit einem breiten Spatel glatt abgezogen, sodass eine plane Oberfläche mit dem Target entstand.

### 5.2.5 Probenvorbereitung unter Verwendung von Bleistift

Das Target-Well wurde mit einem Bleistift des entsprechenden Härtegrades (Castell® 9000, Faber-Castell, Stein/Nürnberg, D) mit etwas größerem Druck bemalt, sodass die gesamte Oberfläche mit Bleistift bedeckt war. Anschließend erfolgte das Aufbringen von 0,5 µL des in Dichlormethan gelösten Produktes (Konzentration: 2,5 mg · mL<sup>-1</sup>) auf die vorbeschichtete Oberfläche.

### 5.2.6 Probenvorbereitung unter Verwendung der Silikat-Matrix

Ähnlich der lösungsmittelfreien Probenpräparation wurden 15 mg des Dikaliumtris(1,2-benzoldiolato-*O,O'*)silikats mit 2,5 mg flüssiger, leicht viskoser Probe mit Hilfe von drei 3 mm Stahlkugeln in einem GC-Vial auf dem Vortex Schüttler verrieben und die entstehende Paste mit einem Mikrospatel dünn auf das MALDI-Target aufgebracht.

### 5.2.7 Probenvorbereitung für MS/MS-Messungen

Für die unterschiedlichen CID-Vergleichsmessungen wurden die Proben zu 4 mg · mL<sup>-1</sup> in THF gelöst. Als Matrix wurde Dithranol in THF (10 mg · mL<sup>-1</sup>) verwendet. Es erfolgte das Mischen von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1. Das MALDI-Target wurde mit 1,3 µL der entsprechenden Salzlösung (0,1 mol · L<sup>-1</sup> in Methanol/H<sub>2</sub>O, Volumenverhältnis 1:1) vorbeschichtet. Nach einer Trockenzeit von etwa 30 Minuten erfolgte die Auftragung von 0,5 µL Matrix-Probenmischung auf die Targetoberfläche.

## 5.3 Aufnahme der Massenspektren

Zur Aufnahme, Auswertung und Archivierung der MALDI-Massenspektren wurde die Software Shimadzu Biotech Launchpad™ (verschiedene Softwareversionen,

Shimadzu Biotech, Manchester, UK) verwendet.

Da zu den unterschiedlichen, im Verlauf dieses Projektes durchgeführten, MALDI-Analysen verschiedene Geräteeinstellungen nötig waren, werden hier nur die wichtigsten Parameter beschrieben, die auch in Tabelle 4 zusammengestellt sind.

Detektormodus	Reflektron
Massenbereich	0,0 - 5000,0 Da
maximale Laserwiederholungsrate	5,0 Hz
Profile	441 pro Target-well
Laserschüsse	2 akkumuliert pro Profil
Raster	21 × 21 Profile (441 Profile)
Rastertyp	quadratisch
Rasterausführungsform	Serpentinenmuster
Anzahl der Spektren	882
<i>delayed extraction</i>	optimiert für 2500,0 Da

**Tabelle 4:** Geräteeinstellungen für die Aufnahme der meisten MALDI-Massenspektren

Die MALDI-Spektren wurden alle im Reflektron-Modus gemessen. Dabei betrug der aufgenommene Massenbereich 0,0 - 5000,0 Da. Der Laser wurde auf eine maximale Wiederholungsrate von 5,0 Hz eingestellt. Zur Analyse wurde ein Raster ausgewählt, durch das in quadratischer Form 21 × 21 Einzelprofile erstellt wurden. Dabei ergab sich jedes Profil durch die Akkumulation von 2 Einzelspektren. Somit ist jedes in dieser Arbeit gezeigte Massenspektrum eine Akkumulation aus 882 Einzelspektren. Bei den meisten aufgenommenen Spektren wurde eine *delayed extraction* verwendet, die für die Masse 2500,0 Da optimiert war.

Die Laserenergie konnte mit Hilfe der Software in den Einheiten 0 - 180 ausgewählt werden. Bei den meisten Messungen lag dieser Wert zwischen 40 und 85.

Zur Analyse mittels MS/MS wurde zunächst das MS<sup>1</sup>-Spektrum der Substanz klas-

sisch dargestellt. Danach erfolgte die Selektierung des Precursor Ions mit Hilfe des Ion-Gates. Durch eine erweiterbare Kalibrierung (*fragment fit*) konnte dann die Masse des Precursor Ions mit in die Kalibrierung integriert werden, um die entstehenden Fragmentationmassen korrekt darzustellen. Im Anschluss erfolgte dann eine Erhöhung des Drucks in der Stoßkammer mit Helium (konst. Druck von  $3,5 \cdot 10^{-6}$  mbar) und die Messung des MS/MS-Spektrums. Dafür wurde die maximale Laserwiederholungsrate auf 25,0 Hz erhöht. Jedes der oben beschriebenen 441 Profile wurde bei diesen Experimenten aus der Akkumulation von 10 Einzelspektren erhalten.

Mit Hilfe der Funktion *polymer analysis* der Software Shimadzu Biotech Launchpad™ war es möglich, Massenspektren mit berechneten Verteilungen zu vergleichen und Zusammensetzungen von Copolymeren zu analysieren.

## 5.4 Rasterelektronenmikroskopie

Alle in dieser Arbeit dargestellten Rasterelektronenmikroskopieaufnahmen wurden im Labor von Herrn Dr. Schäffner (Solingen) an einem Cambridge Instruments S 360 (Cambridge Instruments, Cambridge, UK) und einem ZEISS Leo 438 VPI (Zeiss, Oberkochen, D) angefertigt.

Einige analysierte Oberflächen wurden vor den Aufnahmen mit etwa 10 nm Gold besputtert.

Anhand der gemischten bzw. gewichteten Sekundärelektronenkontrast- und Rückstoelektronenkontrastbilder ergibt sich eine Farbdarstellung, die - bei den gewählten Grundeinfärbungen - schwerere Elemente im Periodensystem blau bzw. hell hervorhebt. Kohlenstoffhaltige Substanzzonen erscheinen braun. Dadurch erhält man eine erste elementspezifische Darstellung.

Alle gezeigten EDX-Element-Spektren sind bei 20 kV aufgenommen worden.

## 5.5 UV/Vis-Spektrometrie

Zur Aufnahme der UV/Vis-Spektren des organischen Silikats wurde das Produkt in Wasser gelöst und verdünnt. Es erfolgte eine Absorptionsmessung im Wellenlängenbereich von 800 bis 200 nm. Dabei betrug die Scanrate  $60 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ .

## 5.6 Geräte und Materialien

### 5.6.1 Massenspektrometrie, Rasterelektronenmikroskopie und Spektroskopie

- MALDI-(TOF)MS-System

AXIMA Performance™, Shimadzu Biotech, Manchester, UK

Ionenquelle MALDI, gepulst, Positiv-Modus, *Pulsed Extraction*

Laser Stickstofflaser, 337 nm, fixierter Fokus

Pulsbreite 3 ns

Nominal-Laserenergie 100  $\mu\text{J}$ /Laserschuss

Analysator Reflektron-TOF, Driftstrecke 2,0 m

Stoßkammer 20 keV Hochenergie CID MS/MS

Stoßgas Helium 5.0

Detektor MCP (Reflektron-Modus)

Analysenbetrachtung monochromatische CCD Kamera

25-fache Vergrößerung

Probenteller (Targets) Edelstahl-Target, 2 mm dick (384 Wells)

Aluminium-Target, 10 mm dick (384 Wells)

Aluminium-Target, 10 mm dick

72 Ausfräsungen

(500  $\mu\text{m}$  tief, 2 mm Durchmesser)



Microspec WDX

Oxford Instruments, Oxford, UK

2x Oxford Pentafet + SDD

Oxford Instruments, Oxford, UK

- UV/Vis-Spektrometer

Einstrahlspektralphotometer Cary 50 Scan, Varian, Darmstadt, D

Quarzglasküvette SUPRASIL® 100-QS (3,5 mL; 10 mm), Hellma, Müllheim, D

PC-System Intel® Core™2 Duo E4500; 1,18 GHz; 1,0 GB RAM

Software Cary WinUV, Version 3.0, Varian, Darmstadt, D

### 5.6.2 Probenvorbereitung und Materialien

Feinwaage BA 210 S (210 g/max, d = 0,1 mg), Satorius, Göttingen, D

Feinwaage BP 221 S (220 g/max, d = 0,1 mg), Satorius, Göttingen, D

Analysenwaage M2P (2 g/max), Satorius, Göttingen, D

Vortex Schüttler Minishaker MS2, IKA®-Labortechnik, Staufen, D

Vortex Schüttler REAX 2000, Heidolph, Schwabach, D

Tischzentrifuge MiniSpin®, Eppendorf, Hamburg, D

Trockenschrank Function Line T6, Heraeus®-Instruments, Hanau, D

Ultraschallbad USR 30 H, Merck eurolab, Bruchsal, D

Heißluftgebläse PHG 500 (1400 W), Bosch, Gerlingen, D

Wasseraufbereitungssystem, GenPure UV-TOC/UF, TKA, Niederelbert, D

Multi®-Reaktionsgefäß 0,65 mL, Roth, Karlsruhe, D

Rotilabo®-Reaktionsgefäß 1,5 mL, Roth, Karlsruhe, D

Transferpette®, 0,1 - 1 µL, Brand, Wertheim, D

Transferpette®, 0,5 - 10 µL, Brand, Wertheim, D

Transferpette®, 10 - 100 µL, Brand, Wertheim, D

Transferpette®, 100 - 1000 µL, Brand, Wertheim, D

Pipettenspitzen für Transferpette®, 100 - 1000 µL (blau), Roth, Karlsruhe, D

Pipettenspitzen für Transferpette®, 100 - 1250 µL (extra lang, farblos),  
Sarstedt, Nümbrecht, D

Pipettenspitzen für Transferpette®, 1 - 200 µL (gelb), Roth, Karlsruhe, D

Pipettenspitzen für Transferpette®, 0,5 - 10 µL (farblos), Sarstedt, Nümbrecht, D

Pipettenspitzen für Transferpette®, Plastibrand NanoCap™ 0,1 - 20 µL (farblos),  
Brand, Wertheim, D

GC-Vial G1 (klar; 1,5 mL), CS-Chromatographie, Langerwehe, D

Schraubkappe G8, CS-Chromatographie, Langerwehe, D

Dichtscheibe G8-1.3, CS-Chromatographie, Langerwehe, D

Glas-Rundkolben (~ 1 ml Volumen), Roth, Karlsruhe, D

Stahlkugeln, Fabrikat Martin, nach DIN 5401, Material 1,3505,  
Abmessungen 2,0 mm, 3,0 mm und 4,0 mm, Isometall, Pleidelsheim, D

Glasperlen (Durchmesser: 2,85 - 3,3 mm), Roth, Karlsruhe, D

Transferpipette 3,5 mL (PE), Sarstedt, Nümbrecht, D

Rührspatel (klar, PS), Roth, Karlsruhe, D

Schraubdeckeldosen 20 mL, Roth, Karlsruhe, D

Bleistifte Castell® 9000 (Härtegrade 4B, 5B, 6B), Faber-Castell, Stein/Nürnberg, D

Bleistiftminen (Härtegrad B, Durchmesser 2 mm) TK 9071,  
Faber-Castell, Stein/Nürnberg, D

Siliciumwafer, Wacker, Burghausen, D

Leit-Tabs, 12,0 mm Durchmesser, Plano, Wetzlar, D

Leit-Tabs, 9,0 mm Durchmesser, Plano, Wetzlar, D

KIMTECH® Science Präzisionstücher (weiß; 11,4 x 21,3 cm),  
Kimberly-Clark, Koblenz, D

### 5.6.3 Weitere PC-Systeme und Software

- Zusammengestellte PC-Systeme verschiedener Hersteller (nur Angabe der CPU und RAM)

AMD Athlon™ 64 X2 Dual Core 4600+; 2,4 GHz; 1,0 GB RAM

AMD Athlon™ X2 Dual Core QL-60; 1,9 GHz; 3,0 GB RAM

AMD Athlon™ XP 2800+; 2,09 GHz; 2,0 GB RAM

- Software

Windows XP Professional, Microsoft

Windows Vista Home Premium, Microsoft

Windows 2000 Professional, Microsoft

Office XP Professional, Microsoft

Office 2003 Professional, Microsoft

Office 2007 Home and Student, Microsoft

The Unscrambler®, Version 9.8, CAMO Software AS., Oslo, N

The Unscrambler®, Version 7.5, CAMO Software AS., Oslo, N

Reference Manager Professional Edition, Version 10, ISI ResearchSoft

ChemDraw Ultra®, Version 7.0.1, CambridgeSoft

CorelDRAW®, Version 12.0.0.458, Corel

SigmaPlot®, Version 8.02, SPSS

## 5.7 Chemikalien

### 5.7.1 Technische Produkte und untersuchte Polymere

Dehydol® LS 30, Cognis GmbH, Düsseldorf, D

Dehydol® LS 3 - N, Cognis GmbH, Düsseldorf, D

Dehydol® LS 6, Cognis GmbH, Düsseldorf, D

Dehydol® O4 DEO, Cognis GmbH, Düsseldorf, D

---

Dehydol<sup>®</sup> O 10, Cognis GmbH, Düsseldorf, D  
Dehydol<sup>®</sup> LT 7, Cognis GmbH, Düsseldorf, D  
Eumulgin<sup>®</sup> B 3, Cognis GmbH, Düsseldorf, D  
Eumulgin<sup>®</sup> CS 50, Cognis GmbH, Düsseldorf, D  
Disponil<sup>®</sup> LS 500, Cognis GmbH, Düsseldorf, D  
Glucopon<sup>®</sup> 600 CS UP, Cognis GmbH, Düsseldorf, D  
Texapon<sup>®</sup> N 70, Cognis GmbH, Düsseldorf, D  
Dehypon<sup>®</sup> O 054, Cognis GmbH, Düsseldorf, D

Zudem wurden weitere Alkoxyolat-Proben verwendet, die als Forschungsprodukte für diese Arbeit synthetisiert und von der Firma Cognis GmbH (Düsseldorf, D) zur Verfügung gestellt wurden. Diese werden hier nicht gesondert aufgeführt.

Polyethylenglycol 1000 (PEG 1000), Sigma-Aldrich, Steinheim, D  
Polyethylenglycol 2000 (PEG 2000), Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, D  
Polyethylenglycol 4000 (PEG 4000), Sigma-Aldrich, Steinheim, D

### 5.7.2 MALDI-Matrices

2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB), puriss. p.a., Sigma-Aldrich, Steinheim, D  
1,8,9-Anthracenatriol (Dithranol), puriss. p.a., Sigma-Aldrich, Steinheim, D  
 $\alpha$ -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure (HCCA), puriss. p.a., Sigma-Aldrich, Steinheim, D  
2-[(2E)-3-(4-*tert*-butylphenyl)-2-methylprop-2-enylidene]malononitril (DCTB),  
puriss. p.a., Sigma-Aldrich, Steinheim, D  
3-Hydroxypicolinsäure (3H-PA), > 99 %, Sigma-Aldrich, Steinheim, D

### 5.7.3 Lösungsmittel

Methanol, ROTIPURAN<sup>®</sup>,  $\geq 99,9$  % p.a., Roth, Karlsruhe, D  
Methanol (HPLC), Acros Organics, New Jersey, USA

Tetrahydrofuran, ROTIPURAN®, ≥ 99,5 % p.a., Roth, Karlsruhe, D

Dichlormethan, ROTIPURAN®, ≥ 99,5 % p.a., Roth, Karlsruhe, D

Aceton, ROTIPURAN®, ≥ 99,8 % p.a., Roth, Karlsruhe, D

Aceton, HiPerSolv CHROMANORM (HPLC), VWR, Darmstadt, D

Iso-Octan, ROTIPURAN®, ≥ 99,5 % p.a., Roth, Karlsruhe, D

Acetonitril, ROTIPURAN®, ≥ 99,5 % p.a., Roth, Karlsruhe, D

#### 5.7.4 Salze

Lithiumchlorid, wasserfrei, puriss. p.a., Sigma-Aldrich, Steinheim, D

Natriumchlorid, puriss. p.a., Sigma-Aldrich, Steinheim, D

Kaliumchlorid, puriss. p.a., Sigma-Aldrich, Steinheim, D

Kaliumchlorid, ≥ 99 %, Sigma-Aldrich, Steinheim, D

Caesiumchlorid, zur Analyse, Merck, Darmstadt, D

Silbertrifluoracetat, ≥ 99,99 %, Sigma-Aldrich, Steinheim, D

#### 5.7.5 weitere Chemikalien

Dikalium-tris(1,2-benzoldiolato-*O,O'*)silikat, 97 %, Sigma-Aldrich, Steinheim, D

Fluosil 60 PFP (3 µm), Dr. Maisch, Ammerbuch-Entringen, D

Ameisensäure, puriss. p.a., Sigma-Aldrich, Steinheim, D

Aluminiumoxid, Pulver (< 10 µm), 99,7 %, Sigma-Aldrich, Steinheim, D

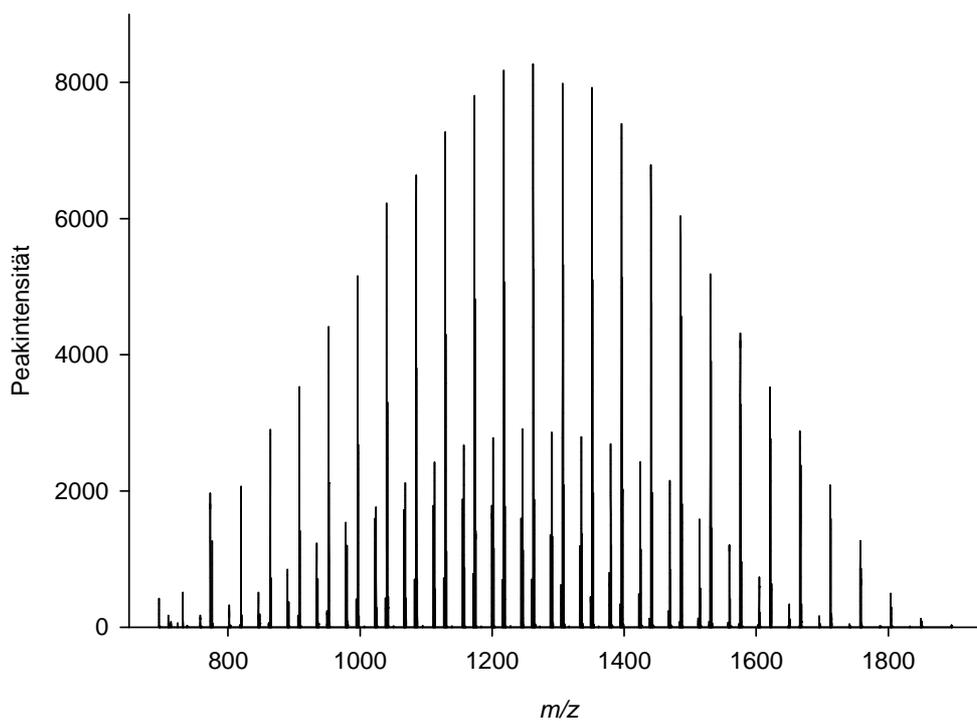
Aluminium, Pulver, Sigma-Aldrich, Steinheim, D

Oxalsäure (Dihydrat), zur Analyse, Merck, Darmstadt, D

Helium, Reinheit 5.0, Messer, Sulzbach, D

Wasser (reinst), Analytische Chemie der Bergischen Universität Wuppertal

## 6 Anhang



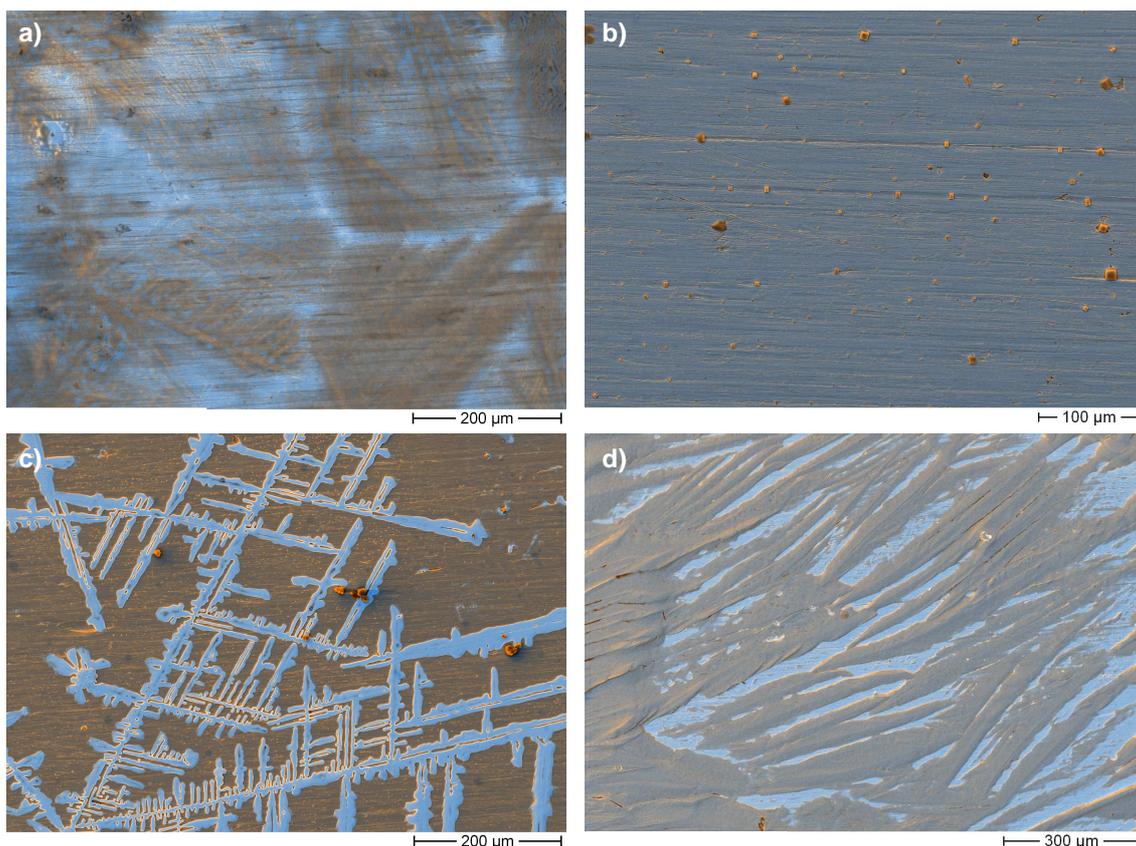
**Abbildung 39:** ESI-Q(TOF)-Massenspektrum des  $C_{12}/C_{14}$ -Fettalkoholethoxylats mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30 nach Direktinjektion mit Hilfe einer Spritzenpumpe der in Wasser gelösten Tensidprobe.

(Ionisationsmodus: ESI negativ; aufgenommener Massenbereich: 500 bis 2000 Da; Scanzeit: 1 s; Kapillarspannung: 2,0 kV; Ionenquellentemperatur: 150°C; Desolvation-Temperatur: 200°C).

---

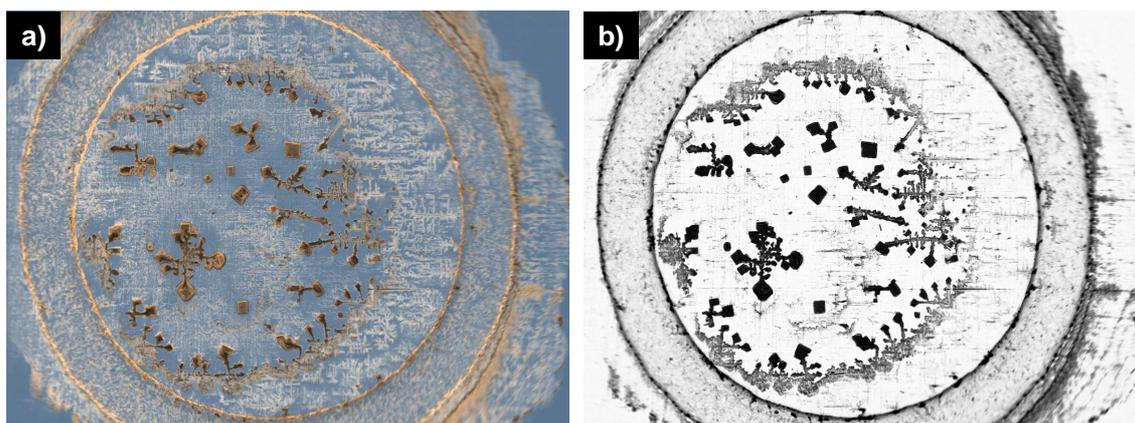
Probe	Matrix	Laserenergie	Ion-Gate [Da]
Eumulgin® B 3 (FAEO)	Bleistift (5B)	57	300
	DHB	67	500
	Dithranol	60	300
	HCCA	45	300
Glucopon® 600 CS UP (AG)	Bleistift (5B)	35	300
	DHB	55	250
	Dithranol	55	250
	HCCA	40	300
Texapon® N 70 (FAES)	Bleistift (5B)	35	250
	DHB	67	250
	Dithranol	65	250
	HCCA	47	250

**Tabelle 5:** Einstellungen von Laserenergie und Ion-Gate bei den vergleichenden Messungen der Produkte Eumulgin® B 3, Glucopon® 600 CS UP und Texapon® N 70.



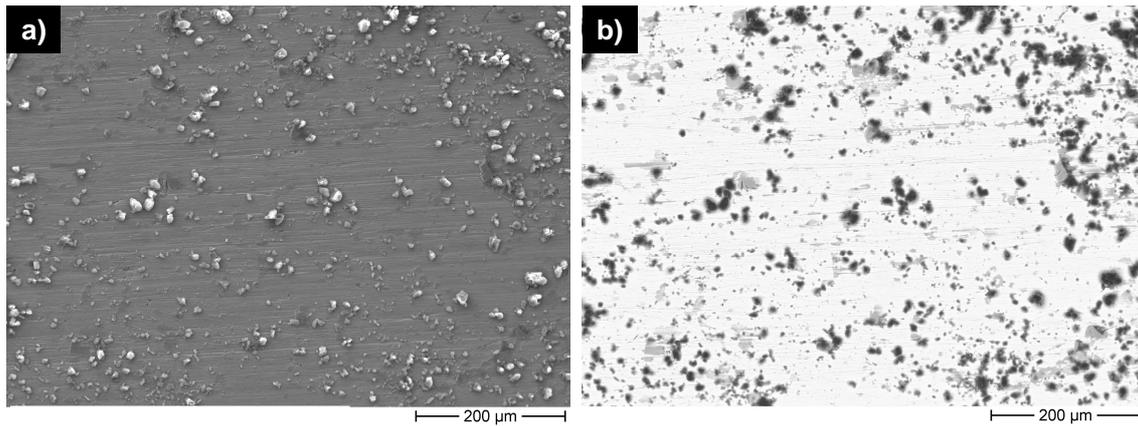
**Abbildung 40:** REM-Aufnahmen der mit Lithiumchlorid (a), Kaliumchlorid (b), Caesiumchlorid (c) und Silbertrifluoracetat (d) beschichteten Targetoberfläche.

Probenvorbereitung: Beschichtung des gereinigten Target-Wells mit 2 µL einer wässrigen Salzlösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

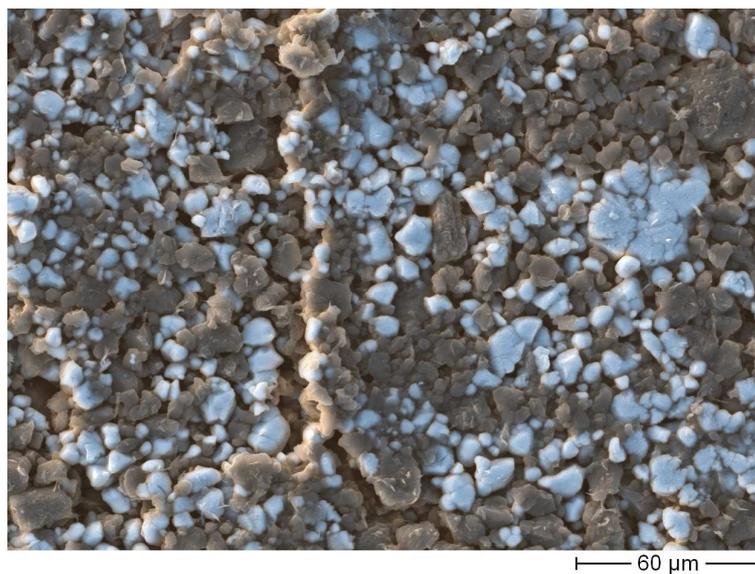


**Abbildung 41:** REM-Aufnahme (a) und Kontrastaufnahme der rückgestreuten Elektronen (REK) (b) des mit Kaliumchlorid (aus Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ ) beschichteten Target-Wells.

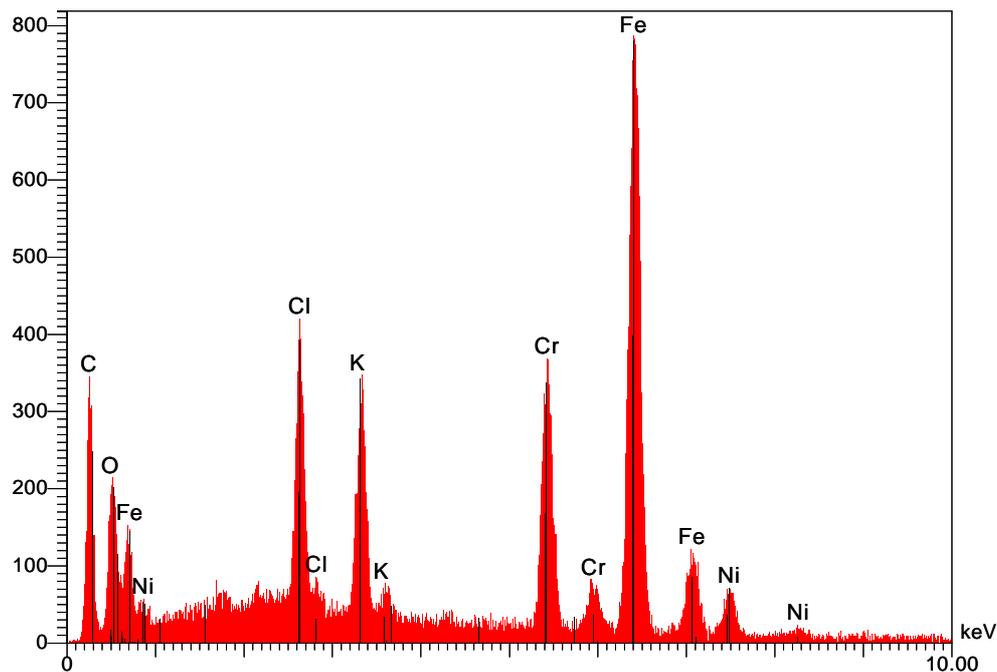
Probenvorbereitung: Beschichtung des gereinigten Target-Wells mit 1,3 µL Salzlösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1).



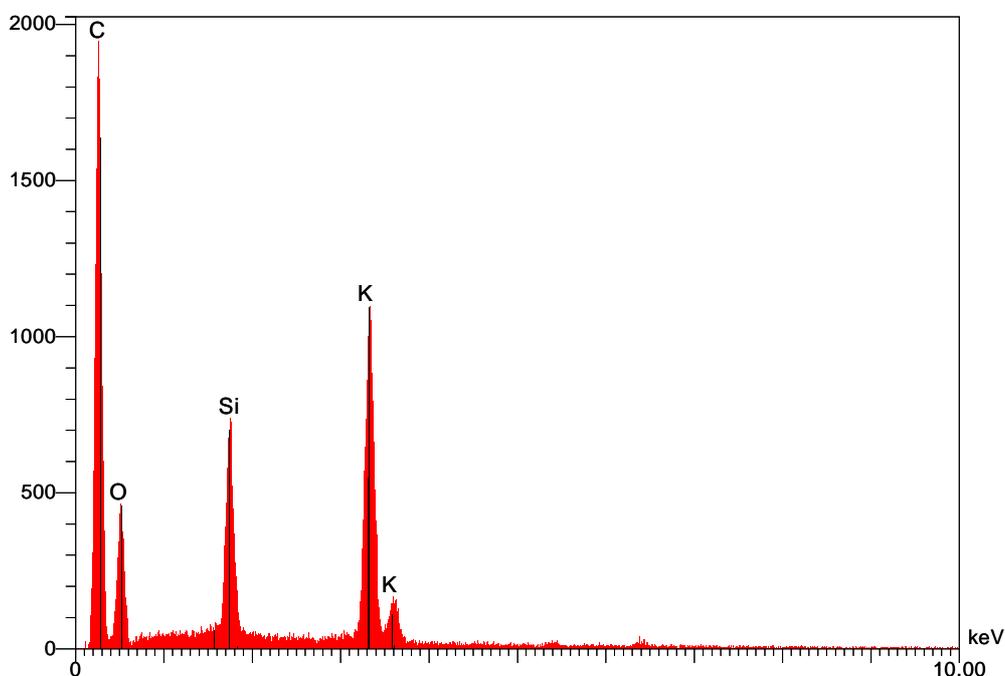
**Abbildung 42:** Sekundärelektronenkontrastaufnahme (SEK) (a) und Kontrastaufnahme der rückgestreuten Elektronen (REK) (b) der Targetoberfläche nach Vorbeschichtung mit Kaliumchlorid und Aufbringen der lösungsmittelfreien Probenpräparation, Mischung aus Matrix und Probe (Probe: PEG 2000, Matrix: DHB).



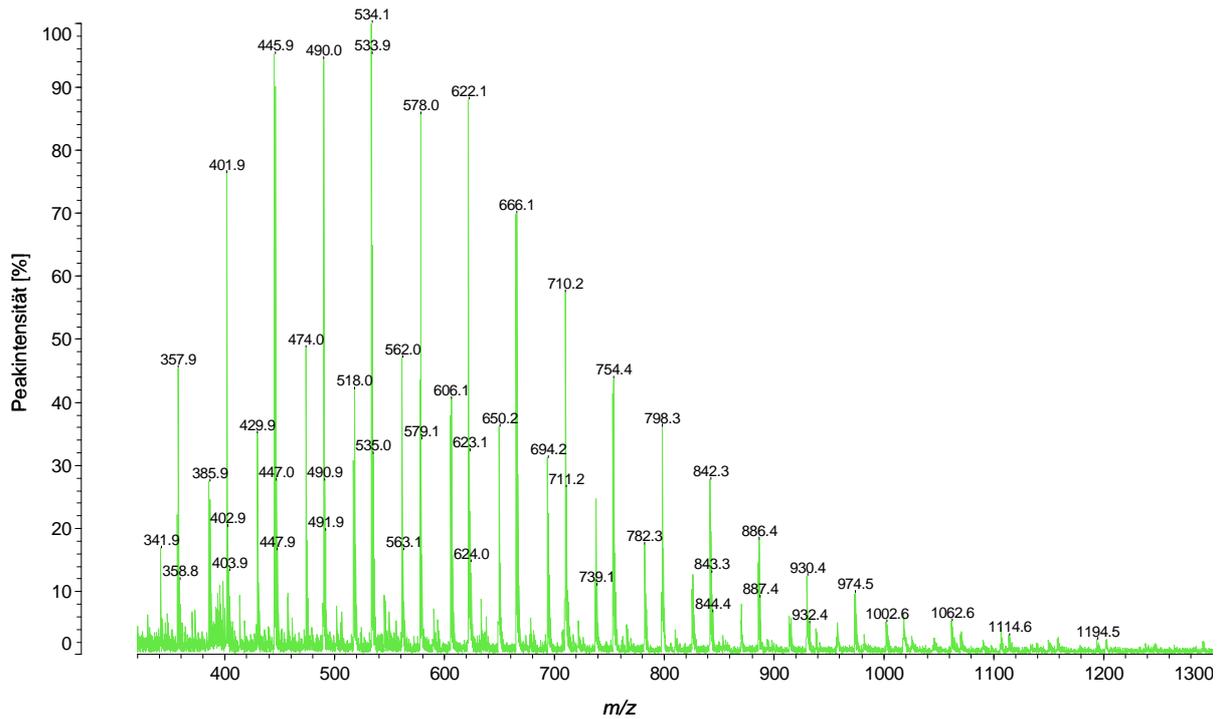
**Abbildung 43:** Vergrößerung aus der REM-Aufnahme der Oberfläche einer befüllten Targetausfräsung.



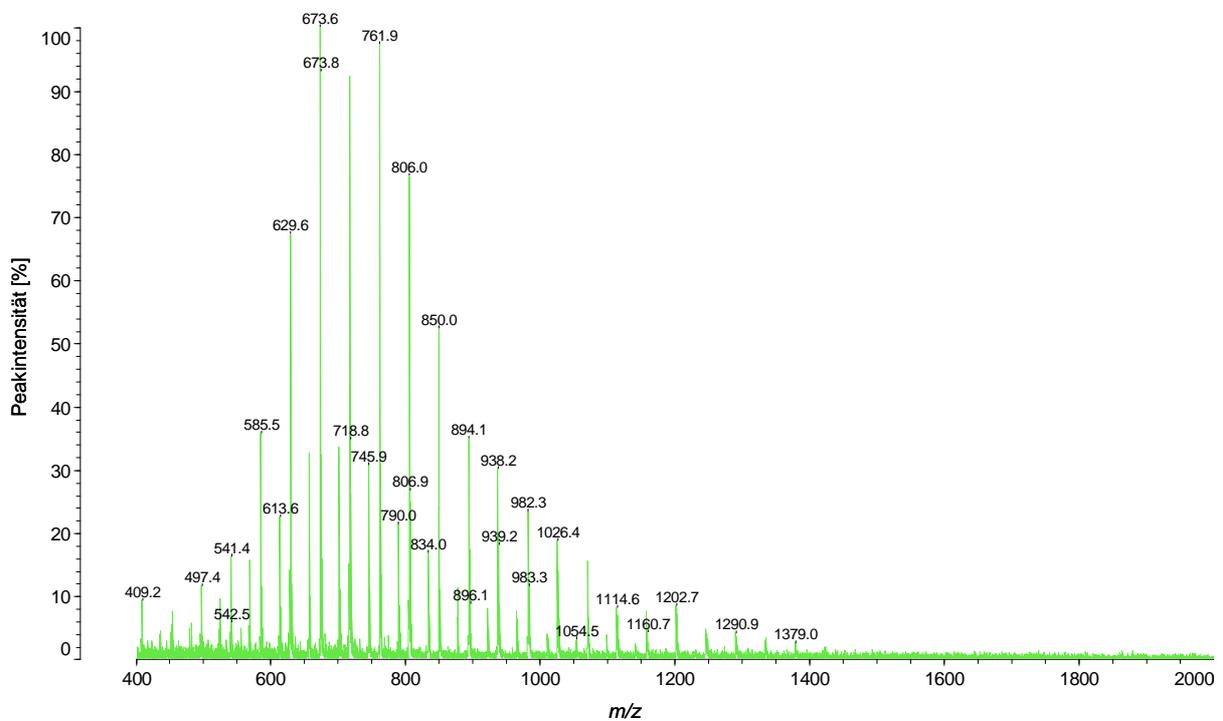
**Abbildung 44:** EDX-Spektrum (Punktanalyse) der Substanzzone auf der Edelstahl-Targetoberfläche nach Salzvorbeschichtung und Auskristallisation der anschließend aufgetragenen Matrix/Analyt-Mischung.



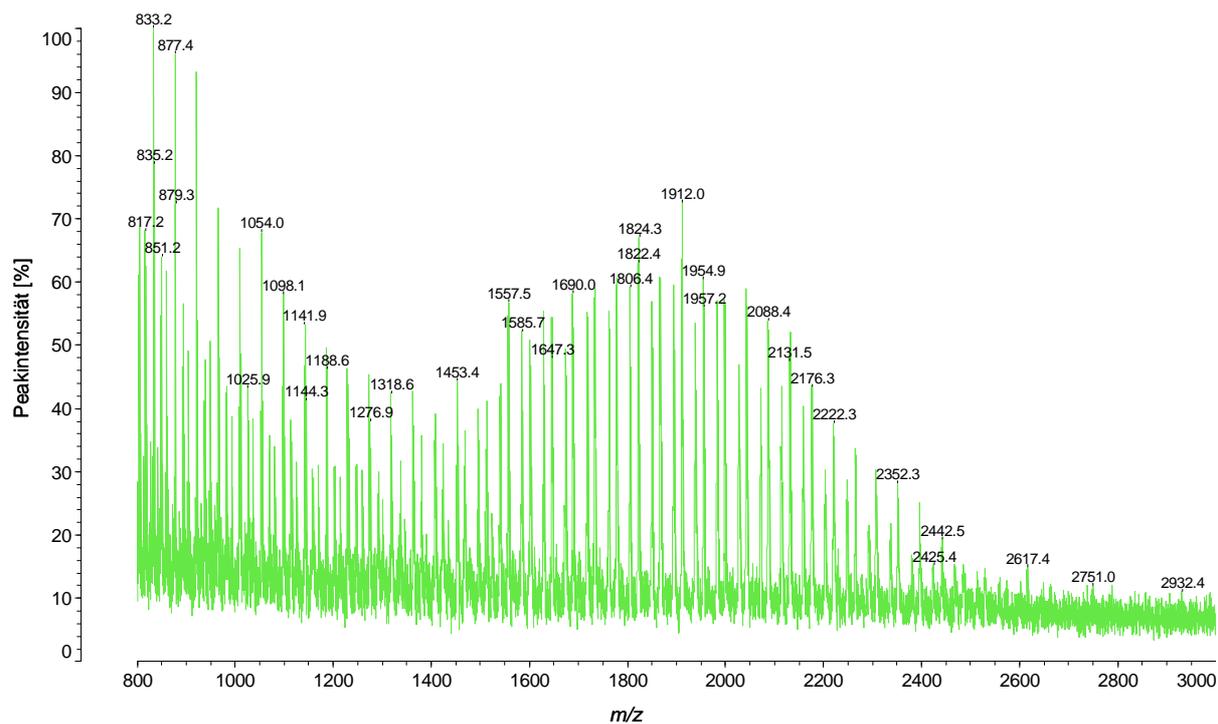
**Abbildung 45:** EDX-Spektrum (Punktanalyse) der Substanzzone auf der Edelstahl-Targetoberfläche nach lösungsmittelfreier Probenvorbereitung eines niedrigethoxylierten Fettalkoholethoxylats mit Dikalium-tris(1,2-benzoldiolato-*O,O'*)silikat.



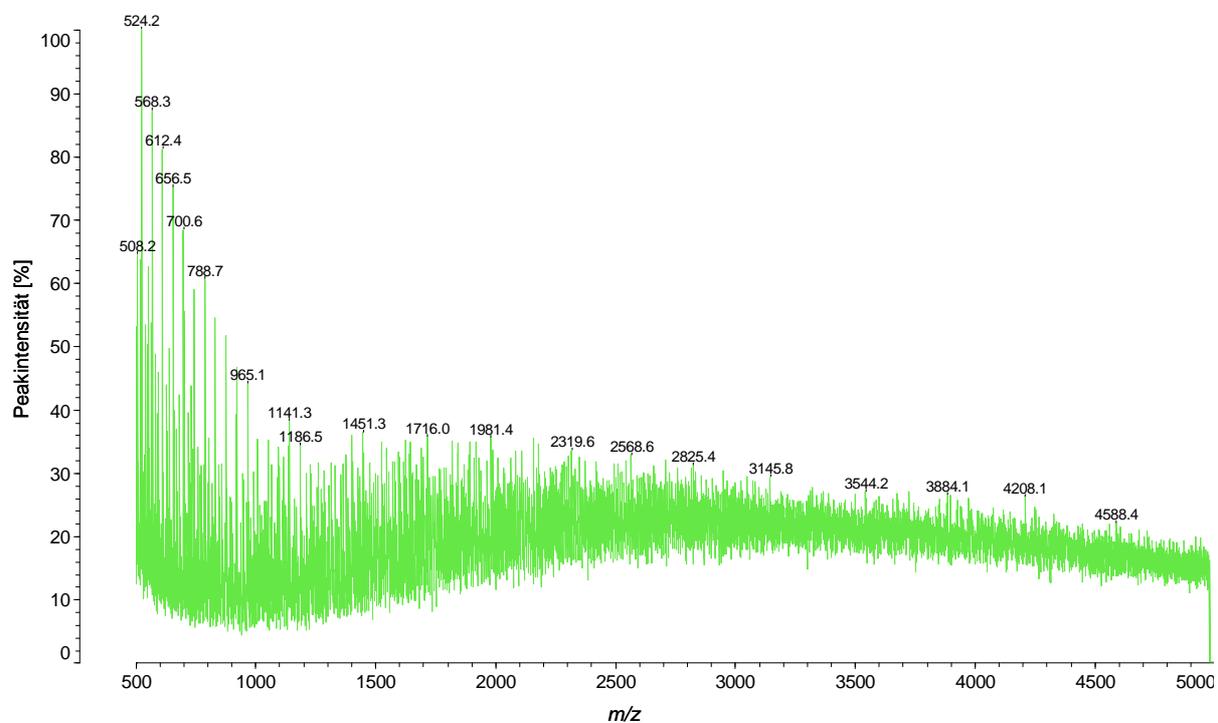
**Abbildung 46:** LDI-(TOF)-Massenspektrum eines niedrigethoxylierten Fettalkohols nach lösungsmittelfreier Probenpräparation nur mit Kaliumchlorid und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen.



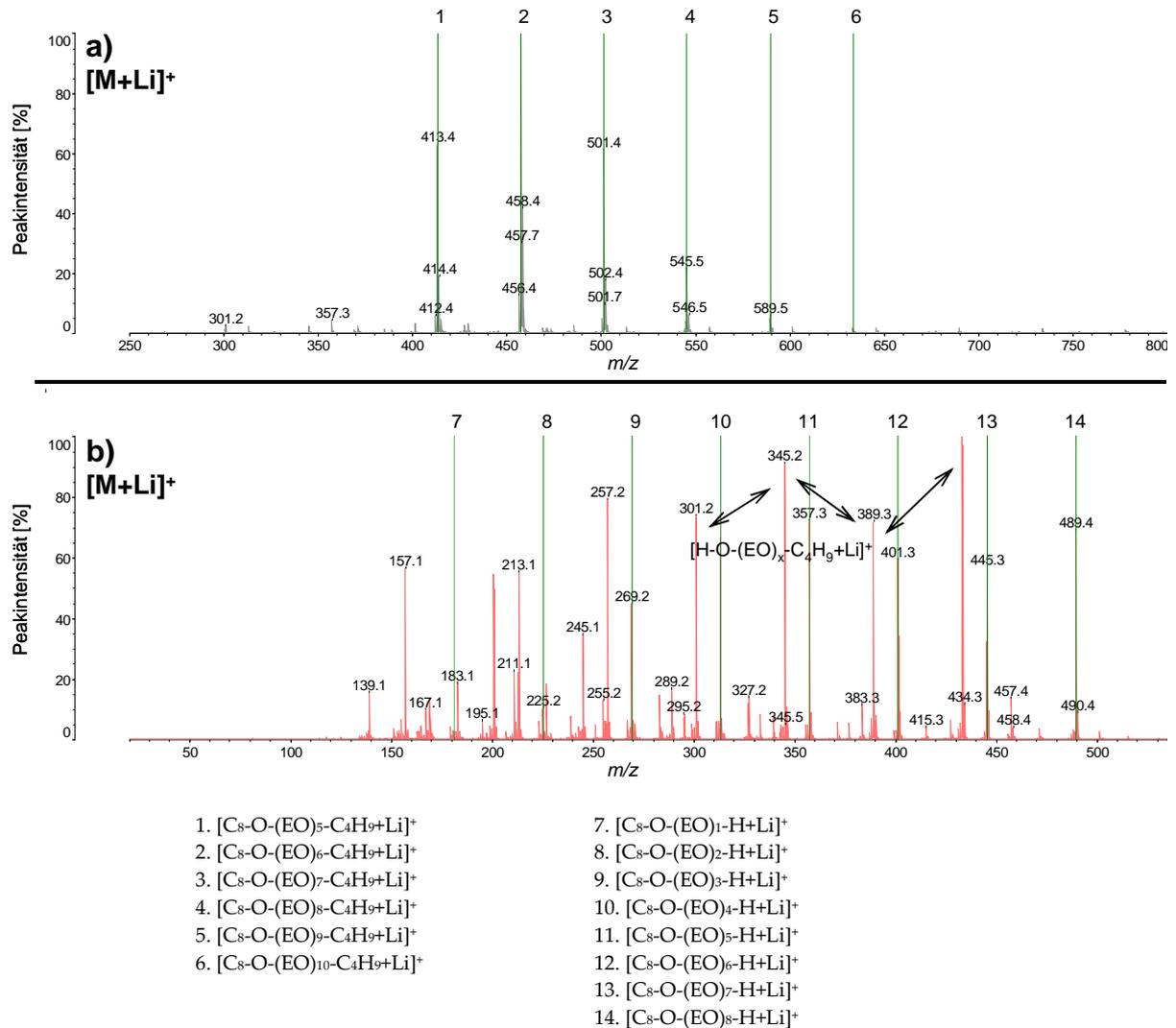
**Abbildung 47:** LDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 1000 nach lösungsmittelfreier Probenpräparation nur mit Kaliumchlorid und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen.



**Abbildung 48:** LDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 2000 nach lösungsmittelfreier Probenpräparation nur mit Kaliumchlorid und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen.

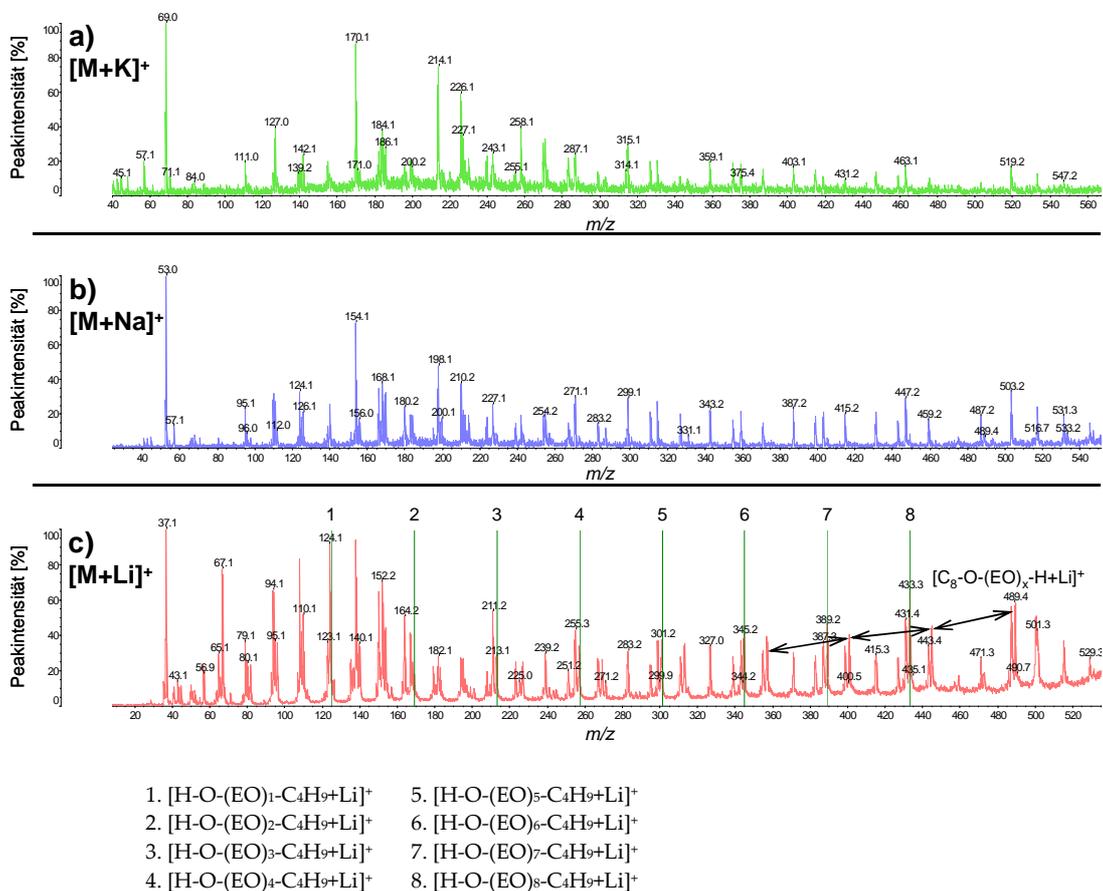


**Abbildung 49:** LDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 4000 nach lösungsmittelfreier Probenpräparation nur mit Kaliumchlorid und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen.



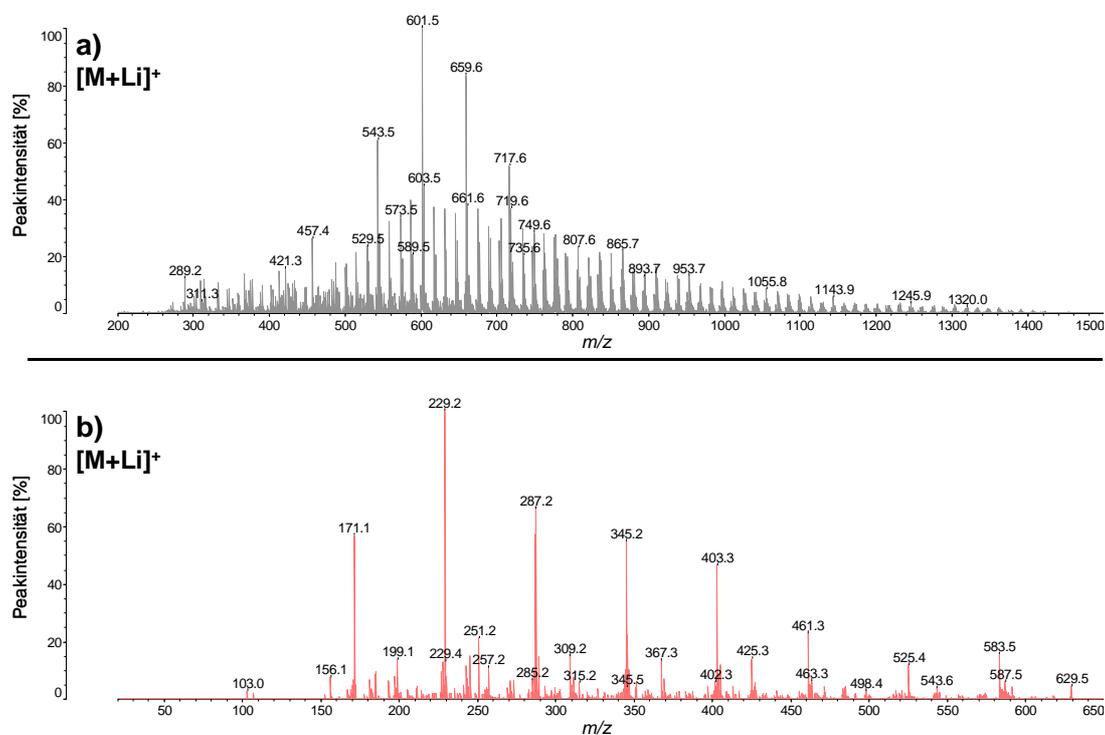
**Abbildung 50:** MALDI-QIT-(TOF)-Massenspektrum des Octanoethoxylats mit n-Butyl-Endcapping (a) und MALDI-Niedrigenergie-MS/MS-Spektrum des Precursor-Ions  $m/z$  545 ( $[M+Li]^+$ ) dieses Produktes (b).

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \mu\text{L}$  Salzlösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.



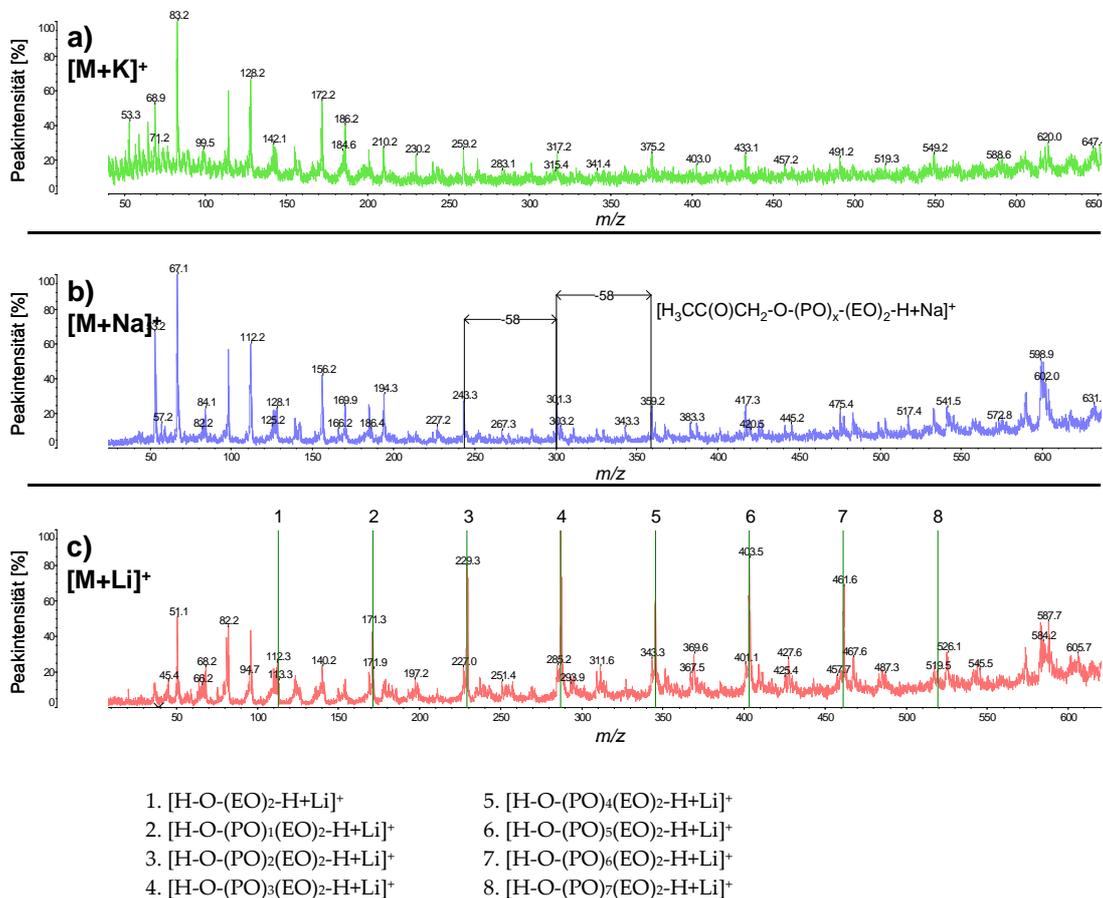
**Abbildung 51:** MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren des Octanolethoxylats mit n-Butyl-Endcapping als Kalium-Addukt (a, Precursor-Ion *m/z* 577), als Natrium-Addukt (b, Precursor-Ion *m/z* 561) und als Lithium-Addukt (c, Precursor-Ion *m/z* 545).

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \mu\text{L}$  Salzlösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.



**Abbildung 52:** MALDI-QIT-(TOF)-Massenspektrum des Octanol-PO/EO-Block-Copolymers (a) und MALDI-Niedrigenergie-MS/MS-Spektrum des Precursor-Ions  $m/z$  631,5 ( $[M+Li]^+$ ) dieses Produktes (b).

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \mu\text{L}$  Salzlösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.



**Abbildung 53:** MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren des Octanol-PO/EO-Block-Copolymers als Kalium-Addukt (a, Precursor-Ion  $m/z$  663,5), als Natrium-Addukt (b, Precursor-Ion  $m/z$  647,5) und als Lithium-Addukt (c, Precursor-Ion  $m/z$  631,5).

Probenvorbereitung: Probe  $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Matrix Dithranol  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  in THF, Mischung von Probenlösung und Matrixlösung im Volumenverhältnis 1:1, Targetvorbeschichtung mit  $1,3 \mu\text{L}$  Salzlösung ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , Volumenverhältnis 1:1), Auftragung von  $0,5 \mu\text{L}$  Matrix-Probenmischung auf die getrocknete Targetoberfläche.

## 6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung einer MALDI-Ionenquelle	4
Abbildung 2: Schematische Darstellung des Aufbaus eines MALDI-(TOF)- Massenspektrometers	5
Abbildung 3: Schematische Darstellung des Aufbaus eines MALDI-Tandem- (TOF)-Massenspektrometers	8
Abbildung 4: Strukturformeln und Abkürzungen der polydispersen Produkte	22
Abbildung 5: MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines C <sub>12</sub> /C <sub>14</sub> -Fettalkoholethoxylats mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30	26
Abbildung 6: MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines C <sub>12</sub> /C <sub>14</sub> -Fettalkoholethoxylats mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30 unter Verwendung von DCTB , Dithranol, HCCA und DHB als Matrix	27
Abbildung 7: MALDI-(TOF)-Massenspektren eines C <sub>12</sub> /C <sub>14</sub> -Fettalkoholethoxylats mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30 bei Variation der Laserenergie	29
Abbildung 8: MALDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 2000 mit NaCl- Vorbeschichtung des Targets und ohne Zusatz von Salz	32
Abbildung 9: MALDI-(TOF)-Massenspektren von Polyethylenglycol 2000 unter Verwendung der Salzvorbereitung des Targets mit LiCl, KCl und CsCl	33
Abbildung 10: MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines hochethoxylierten C <sub>12</sub> /C <sub>14</sub> - Fettalkoholgemisches aus einer Probenpräparation mit KCl-Vorbereitung	34
Abbildung 11: Foto der Beschichtung der Target-Wellen mit Salzlösung, REM- Aufnahme der mit Salz beschichteten Targetoberfläche und REM-Aufnahmen der Targetoberfläche nach Salzvorbereitung und Auskristallisation der anschließend aufgetragenen Matrix/Analyt-Mischung	35
Abbildung 12: Grafische Darstellung der Hauptkomponentenanalyse mit farblicher Markierung der unterschiedlichen Salzaddukte (Salz-PCA) des Alkylpolyglucosids	42
Abbildung 13: Grafische Darstellung der Hauptkomponentenanalyse mit	

---

farblicher Markierung der unterschiedlichen Matrices (Matrix-PCA) des Fettalkoholethersulfats	44
Abbildung 14: MALDI-(TOF)-Massenspektren eines Alkylpolyglucosids (DHB-Methanol-KCl), eines Fettalkoholethersulfats (Bleistift-Aceton-CsCl) und eines Fettalkoholethoxylats (Dithranol-Aceton-KCl)	47
Abbildung 15: MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines Fettalkoholethoxylats mit mittlerem Ethoxyierungsgrad nach lösungsmittelfreier Probenpräparation	50
Abbildung 16: REM-Aufnahmen der Targetoberfläche nach lösungsmittelfreier Probenvorbereitung (Probe: PEG 2000, Matrix: DHB, Salz: KCl)	51
Abbildung 17: REM-Aufnahme der Targetoberfläche nach Vorbeschichtung mit Kaliumchlorid und Aufbringen der lösungsmittelfreien Probenpräparation	52
Abbildung 18: Massenspektrum eines niedrigethoxylierten C <sub>12/14</sub> -Fettalkoholgemisches nach Targetvorbeschichtung mit Bleistift (5B) und Auftragung von 0,5 µL des in Dichlormethan gelösten Produktes	55
Abbildung 19: Struktur des Dikalium-tris(1,2-benzoldiolato-O,O')silikats	56
Abbildung 20: LDI-(TOF)-Massenspektrum eines niedrigethoxylierten C <sub>12/14</sub> -Fettalkoholgemisches nach lösungsmittelfreier Probenvorbereitung mit dem Dikaliumsalz des Tris(1,2-benzoldiolato-O,O')silikats und MALDI-(TOF)Spektrum derselben Substanz nach klassischer Probenvorbereitungsmethode	57
Abbildung 21: UV/Vis-Absorptionsspektrum des Tris(1,2-benzoldiolato-O,O')silikats in Wasser	58
Abbildung 22: REM-Aufnahme und REM-Vergrößerung der Targetoberfläche, die mit einer Mischung aus Fettalkoholethoxylat und dem Dikalium-tris(1,2-benzoldiolato-O,O')silikat beschichtet wurde	59
Abbildung 23: LDI-(TOF)-Massenspektrum eines ethoxylierten Fettalkoholgemischs nach lösungsmittelfreier Probenpräparation	63
Abbildung 24: REM-Aufnahmen eines Gemisches aus Fettalkoholethoxylat, Dithranol und Kaliumchlorid nach Aufbringen auf eine unbehandelte	

---

Siliciumwaferoberfläche und eine mit 800er Schleifpapier behandelten Siliciumwaferoberfläche	65
Abbildung 25: Foto des Aluminium-Targets mit Ausfräsungen, Foto des Aluminium-Targets nach Auffüllen der Ausfräsungen mit Probe, Matrix und Salz und REM-Aufnahme der Oberfläche einer befüllten Targetausfräsung	66
Abbildung 26: LDI-(TOF)-Massenspektrum eines ethoxylierten Fettalkoholgemischs nach lösungsmittelfreier Probenpräparation und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen (Matrix: Aluminiumoxid, Salz: KCl)	67
Abbildung 27: MALDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 4000 nach lösungsmittelfreier Probenpräparation und Probenaufgabe in die Target- Ausfräsungen	69
Abbildung 28: MALDI-(TOF)-Massenspektrum eines Octanol-PO/EO-Block- Copolymers	73
Abbildung 29: Ausschnitte der MALDI-(TOF)-Massenspektren eines Octanol- PO/EO-Random-Copolymers und eines Octanol-PO/EO-Block-Copolymers	74
Abbildung 30: Strukturformeln der C <sub>8</sub> -PO <sub>1</sub> EO <sub>7</sub> -Oligomeren	75
Abbildung 31: MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren der Precursor-Ionen <i>m/z</i> 535 der C <sub>8</sub> -PO <sub>1</sub> EO <sub>7</sub> -Oligomere des Octanol-PO/EO-Random-Copolymers und des Octanol-PO/EO-Block-Copolymers	76
Abbildung 32: Strukturen der möglichen Fragmentreihen A, B und C bei der stoßinduzierten Dissoziation von reinen C <sub>8</sub> -Fettalkoholethoxylaten und reinen C <sub>8</sub> -Fettalkoholpropoxylaten	78
Abbildung 33: Strukturen der analysierten Fettalkoholalkoxylat-Copolymeren: Octanolethoxylat, Octanolethoxylat mit n-Butyl-Endcapping und Octanol- PO/EO-Block-Copolymer	80
Abbildung 34: MALDI-QIT-(TOF)-Massenspektrum des Fettalkoholethoxylats und MALDI-Niedrigenergie-MS/MS-Spektrum des Precursor-Ions <i>m/z</i> 489 ([M+Li] <sup>+</sup> ) dieses Produktes	81

- 
- Abbildung 35: MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren des Fettalkoholethoxylats als Kalium-Addukt (Precursor-Ion  $m/z$  521), als Natrium-Addukt (Precursor-Ion  $m/z$  505) und als Lithium-Addukt (Precursor-Ion  $m/z$  489) 82
- Abbildung 36: Ausschnitt aus dem MALDI-Niedrigenergie-CID-MS/MS-Spektrum des Precursor Ions  $m/z$  489 ( $[M+Li]^+$ ) des Fettalkoholethoxylats im Vergleich zu den MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren des gleichen Produktes als Natrium-Addukt (Precursor Ion  $m/z$  505) und als Lithium-Addukt (Precursor Ion  $m/z$  489) 83
- Abbildung 37: MS/MS-Fragmentierungsreaktion von Lithium-Addukten der Fettalkoholethoxylatoligomeren unter Eliminierung von Ethylen zu den Fragmentreihen  $A_x'$  und 1,4-H-Eliminierung zu den Reihen  $B_x'$  und  $C_x''$  85
- Abbildung 38: MALDI-(TOF)-Massenspektrum des PEG 2000 zur Kalibrierung des Massenspektrometers 91
- Abbildung 39: ESI-Q(TOF)-Massenspektrum des  $C_{12}/C_{14}$ -Fettalkoholethoxylats mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 30 nach Direktinjektion mit Hilfe einer Spritzenpumpe der in Wasser gelösten Tensidprobe 105
- Abbildung 40: REM-Aufnahmen der mit Lithiumchlorid, Kaliumchlorid, Caesiumchlorid und Silbertrifluoracetat beschichteten Targetoberfläche 107
- Abbildung 41: REM-Aufnahme und Kontrastaufnahme der rückgestreuten Elektronen (REK) des mit Kaliumchlorid (aus Methanol/ $H_2O$ ) beschichteten Target-Wells 107
- Abbildung 42: Sekundärelektronenkontrastaufnahme (SEK) und Kontrastaufnahme der rückgestreuten Elektronen (REK) der Targetoberfläche nach Vorbeschichtung mit Kaliumchlorid und Aufbringen der lösungsmittelfreien Probenpräparation, Mischung aus Matrix und Probe 108
- Abbildung 43: Vergrößerung aus der REM-Aufnahme der Oberfläche einer befüllten Targetausfräsung 108
- Abbildung 44: EDX-Spektrum (Punktanalyse) der Substanzzone auf der Edelstahl-

---

Targetoberfläche nach Salzvorbereitung und Auskristallisation der anschließend aufgetragenen Matrix/Analyt-Mischung	109
Abbildung 45: EDX-Spektrum (Punktanalyse) der Substanzzone auf der Edelstahl-Targetoberfläche nach lösungsmittelfreier Probenvorbereitung eines niedrigethoxylierten Fettalkoholethoxylats mit Dikalium-tris(1,2-benzoldiolato- <i>O,O'</i> )silikat	109
Abbildung 46: LDI-(TOF)-Massenspektrum eines niedrigethoxylierten Fettalkohols nach lösungsmittelfreier Probenpräparation nur mit Kaliumchlorid und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen	110
Abbildung 47: LDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 1000 nach lösungsmittelfreier Probenpräparation nur mit Kaliumchlorid und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen	110
Abbildung 48: LDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 2000 nach lösungsmittelfreier Probenpräparation nur mit Kaliumchlorid und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen	111
Abbildung 49: LDI-(TOF)-Massenspektrum von PEG 4000 nach lösungsmittelfreier Probenpräparation nur mit Kaliumchlorid und Probenaufgabe in die Target-Ausfräsungen	111
Abbildung 50: MALDI-QIT-(TOF)-Massenspektrum des Octanolethoxylats mit n-Butyl-Endcapping und MALDI-Niedrigenergie-MS/MS-Spektrum des Precursor-Ions $m/z$ 545 ( $[M+Li]^+$ ) dieses Produktes	112
Abbildung 51: MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren des Octanolethoxylats mit n-Butyl-Endcapping als Kalium-Addukt (Precursor-Ion $m/z$ 577), als Natrium-Addukt (Precursor-Ion $m/z$ 561) und als Lithium-Addukt (Precursor-Ion $m/z$ 545)	113
Abbildung 52: MALDI-QIT-(TOF)-Massenspektrum des Octanol-PO/EO-Block-Copolymers und MALDI-Niedrigenergie-MS/MS-Spektrum des Precursor-Ions $m/z$ 631,5 ( $[M+Li]^+$ ) dieses Produktes	114
Abbildung 53: MALDI-Hochenergie-CID-MS/MS-Spektren des Octanol-PO/EO-	

---

Block-Copolymers als Kalium-Addukt (Precursor-Ion $m/z$ 663,5), als Natrium-Addukt (Precursor-Ion $m/z$ 647,5) und als Lithium-Addukt (Precursor-Ion $m/z$ 631,5)	115
---	-----

## 6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die in dieser Arbeit verwendeten klassischen MALDI-Matrices	11
Tabelle 2: Kriterien zur Beurteilung und Klassifizierung der Massenspektren für die statistische Auswertung der Vergleichsmessungen	41
Tabelle 3: Wichtige Parameter bei der Probenvorbereitung von Alkylpolyglucosiden, Fettalkoholethersulfaten und Fettalkoholethoxylaten für die MALDI-(TOF)MS-Analyse	46
Tabelle 4: Geräteeinstellungen für die Aufnahme der meisten MALDI-Massenspektren	96
Tabelle 5: Einstellungen von Laserenergie und Ion-Gate bei den vergleichenden Messungen der Produkte Eumulgin® B 3, Glucopton® 600 CS UP und Texapon® N 70	106

## 7 Literaturverzeichnis

- [1] J. Griffiths, A brief history of mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **2008**, *80*, 5678 - 5683
- [2] M. Dole, L. L. Mack, R. L. Hines, Molecular Beams of Macroions, *Journal of Chemical Physics* **1968**, *49*, 2240 - 2249
- [3] C. M. Whitehouse, R. N. Dreyer, M. Yamashita, J. B. Fenn, Electrospray Interface for Liquid Chromatographs and Mass Spectrometers, *Analytical Chemistry* **1985**, *57*, 675 - 679
- [4] J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong, C. M. Whitehouse, Electrospray Ionization-Principles and Practice, *Mass Spectrometry Reviews* **1990**, *9*, 37 - 70
- [5] M. Karas, F. Hillenkamp, Laser Desorption Ionization of Proteins with Molecular Masses Exceeding 10000 Daltons, *Analytical Chemistry* **1988**, *60*, 2299 - 2301
- [6] K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida, Protein and Polymer Analyses up to  $m/z$  100 000 by Laser Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1988**, *2*, 151 - 153
- [7] F. Hillenkamp, M. Karas, Matrix-assisted laser desorption/ionisation, an experience, *International Journal of Mass Spectrometry* **2000**, *200*, 71 - 77
- [8] J. B. Fenn, Electrospray wings for molecular elephants (Nobel lecture), *Angewandte Chemie-International Edition* **2003**, *42*, 3871 - 3894
- [9] K. Tanaka, The origin of macromolecule ionization by laser irradiation (Nobel lecture), *Angewandte Chemie-International Edition* **2003**, *42*, 3860 - 3870
- [10] P. B. O'Connor, F. Hillenkamp, MALDI Mass Spectrometry Instrumentation, in: MALDI MS - A Practical Guide to Instrumentation, Methods and Applications, F. Hillenkamp, J. Peter-Katalinic, **2007**, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [11] J. H. Gross, Mass Spectrometry - A Textbook, **2004**, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
- [12] R. Zenobi, R. Knochenmuss, Ion formation in MALDI mass spectrometry, *Mass Spectrometry Reviews* **1998**, *17*, 337 - 366
- [13] L. M. Nuwaysir, C. L. Wilkins, W. J. Simonsick, Analysis of Copolymers by Laser Desorption Fourier-Transform Mass-Spectrometry, *Journal of the*

---

*American Society for Mass Spectrometry* **1990**, 1, 66 - 71

- [14] L. Li, MALDI-MS for Polymer Characterization, in: MALDI MS - A Practical Guide to Instrumentation, Methods and Applications, F. Hillenkamp, J. Peter-Katalinic, **2007**, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [15] F. Hillenkamp, M. Karas, The MALDI Process and Method, in: MALDI MS - A Practical Guide to Instrumentation, Methods and Applications, F. Hillenkamp, J. Peter-Katalinic, **2007**, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [16] M. Gluckmann, A. Pfenninger, R. Kruger, M. Thierolf, M. Karas, V. Horneffer, F. Hillenkamp, K. Strupat, Mechanisms in MALDI analysis: surface interaction or incorporation of analytes?, *International Journal of Mass Spectrometry* **2001**, 210, 121 - 132
- [17] A. El-Aneed, A. Cohen, J. Banoub, Mass Spectrometry, Review of the Basics: Electrospray, MALDI, and Commonly Used Mass Analyzers, *Applied Spectroscopy Reviews* **2009**, 44, 210 - 230
- [18] R. S. Brown, J. J. Lennon, Mass Resolution Improvement by Incorporation of Pulsed Ion Extraction in A Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization Linear Time-Of-Flight Mass-Spectrometer, *Analytical Chemistry* **1995**, 67, 1998 - 2003
- [19] M. Guilhaus, V. Mlynski, D. Selby, Perfect timing: Time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1997**, 11, 951 - 962
- [20] S. M. Colby, T. B. King, J. P. Reilly, Improving the Resolution of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass-Spectrometry by Exploiting the Correlation Between Ion Position and Velocity, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1994**, 8, 865 - 868
- [21] M. L. Vestal, Modern MALDI time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Mass Spectrometry* **2009**, 44, 303 - 317
- [22] T. J. Cornish, R. J. Cotter, A Curved-Field Reflectron for Improved Energy Focusing of Product Ions in Time-Of-Flight Mass-Spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1993**, 7, 1037 - 1040
- [23] B. A. Mamyrin, Laser-Assisted Reflectron Time-Of-Flight Mass-Spectrometry, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1994**, 131, 1 - 19
- [24] N. E. Bradbury, R. A. Nielsen, Absolute Values of the Electron Mobility in Hydrogen, *Physical Review* **1936**, 49, 388 - 393

- [25] T. J. Cornish, R. J. Cotter, Tandem Time-Of-Flight Mass-Spectrometer, *Analytical Chemistry* **1993**, *65*, 1043 - 1047
- [26] R. J. Cotter, B. D. Gardner, S. Iltchenko, R. D. English, Tandem time-of-flight mass spectrometry with a curved field reflectron, *Analytical Chemistry* **2004**, *76*, 1976 - 1981
- [27] M. Wolf, Multi-Channel-Plates, *Physik in unserer Zeit* **1981**, *12*, 90 - 95
- [28] A. M. Belu, J. M. DeSimone, R. W. Linton, G. W. Lange, R. M. Friedman, Evaluation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry for Polymer Characterization, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1996**, *7*, 11 - 24
- [29] D. A. Allwood, R. W. Dreyfus, I. K. Perera, P. E. Dyer, Optical absorption of matrix compounds for laser-induced desorption and ionization (MALDI), *Applied Surface Science* **1997**, *110*, 154 - 157
- [30] L. Przybilla, J. D. Brand, K. Yoshimura, H. J. Rader, K. Mullen, MALDI-TOF mass spectrometry of insoluble giant polycyclic aromatic hydrocarbons by a new method of sample preparation, *Analytical Chemistry* **2000**, *72*, 4591 - 4597
- [31] S. Trimpin, A. Rouhanipour, R. Az, H. J. Rader, K. Mullen, New aspects in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: a universal solvent-free sample preparation, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2001**, *15*, 1364 - 1373
- [32] H. Pasch, W. Schrepp, MALDI-TOF Mass Spectrometry of Synthetic Polymers, **2003**, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York
- [33] P. Zollner, E. R. Schmid, G. Allmaier, K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/Glycerol - A new liquid matrix system for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of hydrophobic compounds, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1996**, *10*, 1278 - 1282
- [34] Z. Guo, L. He, A binary matrix for background suppression in MALDI-MS of small molecules, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2007**, *387*, 1939 - 1944
- [35] D. S. Cornett, M. A. Duncan, I. J. Amster, Matrix-Assisted Laser Desorption at Visible Wavelengths Using A Two-Component Matrix, *Organic Mass Spectrometry* **1992**, *27*, 831 - 832
- [36] L. Hua, T. Y. Low, W. Meng, M. B. Chan-Park, S. K. Sze, Novel polymer composite to eliminate background matrix ions in matrix assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry, *Analyst* **2007**, *132*, 1223 - 1230

- [37] N. X. Xu, Z. H. Huang, J. T. Watson, D. A. Gage, Mercaptobenzothiazoles: A new class of matrices for laser desorption ionization mass spectrometry, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1997**, *8*, 116 - 124
- [38] Z. X. Wu, F. A. Fernandez-Lima, L. M. Perez, D. H. Russell, A New Copper Containing MALDI Matrix That Yields High Abundances of [Peptide + Cu](+) Ions, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2009**, *20*, 1263 - 1271
- [39] M. W. F. Nielen, MALDI time-of-flight mass spectrometry of synthetic polymers, *Mass Spectrometry Reviews* **1999**, *18*, 309 - 344
- [40] K. Strupat, M. Karas, F. Hillenkamp, 2,5-Dihydroxybenzoic Acid - A New Matrix for Laser Desorption Ionization Mass-Spectrometry, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1991**, *111*, 89 - 102
- [41] F. Hillenkamp, M. Karas, R. C. Beavis, B. T. Chait, Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass-Spectrometry of Biopolymers, *Analytical Chemistry* **1991**, *63*, A1193 - A1202
- [42] J. Kampmeier, K. Dreisewerd, M. Schurenberg, K. Strupat, Investigations of 2,5-DHB and succinic acid as matrices for IR and UV MALDI. Part I: UV and IR laser ablation in the MALDI process, *International Journal of Mass Spectrometry* **1997**, *169*, 31 - 41
- [43] C. M. Kassis, J. M. DeSimone, E. W. Linton, G. W. Lange, R. M. Friedman, An investigation into the importance of polymer-matrix miscibility using surfactant modified matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1997**, *11*, 1462 - 1466
- [44] R. H. Carr, A. T. Jackson, Preliminary matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight and field desorption mass spectrometric analyses of polymeric methylene diphenylene diisocyanate, its amine precursor and a model polyether prepolymer, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1998**, *12*, 2047 - 2050
- [45] R. C. Beavis, T. Chaudhary, B. T. Chait, Alpha-Cyano-4-Hydroxycinnamic Acid As A Matrix for Matrix-Assisted Laser Desorption Mass-Spectrometry, *Organic Mass Spectrometry* **1992**, *27*, 156 - 158
- [46] M. George, J. M. Y. Wellemans, R. L. Cerny, M. L. Gross, K. Li, E. L. Cavalieri, Matrix Design for Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization - Sensitive Determination of PAH-DNA Adducts, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1994**, *5*, 1021 - 1025
- [47] R. Lidgard, M. W. Duncan, Utility of Matrix-Assisted Laser-Desorption Ioni-

- zation Time-Of-Flight Mass-Spectrometry for the Analysis of Low-Molecular-Weight Compounds, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1995**, *9*, 128 - 132
- [48] F. O. Ayorinde, E. Elhilo, C. Hlongwane, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of canola, castor and olive oils, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1999**, *13*, 737 - 739
- [49] L. Ulmer, J. Mattay, H. G. Torres-Garcia, H. Luftmann, Letter: The use of 2-[(2E)-3-(4-tert-butylphenyl)-2-methylprop-2-enylidene]malononitrile as a matrix for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *European Journal of Mass Spectrometry* **2000**, *6*, 49 - 52
- [50] T. Brown, N. L. Clipston, N. Simjee, H. Luftmann, H. Hungerbuhler, T. Drewello, Matrix-assisted laser desorption/ionization of amphiphilic fullerene derivatives, *International Journal of Mass Spectrometry* **2001**, *210*, 249 - 263
- [51] K. J. Wu, A. Steding, C. H. Becker, Matrix-Assisted Laser Desorption Time-Of-Flight Mass-Spectrometry of Oligonucleotides Using 3-Hydroxypicolinic Acid As An Ultraviolet-Sensitive Matrix, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1993**, *7*, 142 - 146
- [52] B. A. Garcia, P. J. Heaney, K. Tang, Improvement of the MALDI-TOF analysis of DNA with thin-layer matrix preparation, *Analytical Chemistry* **2002**, *74*, 2083 - 2091
- [53] D. W. Armstrong, L. K. Zhang, L. F. He, M. L. Gross, Ionic liquids as matrixes for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **2001**, *73*, 3679 - 3686
- [54] Y. Fukuyama, S. Nakaya, Y. Yamazaki, K. Tanakat, Ionic liquid matrixes optimized for MALDI-MS of sulfated/sialylated/neutral oligosaccharides and glycopeptides, *Analytical Chemistry* **2008**, *80*, 2171 - 2179
- [55] M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, F. Hillenkamp, Matrix-Assisted Ultraviolet-Laser Desorption of Nonvolatile Compounds, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1987**, *78*, 53 - 68
- [56] H. Ehring, M. Karas, F. Hillenkamp, Role of Photoionization and Photochemistry in Ionization Processes of Organic-Molecules and Relevance for Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass-Spectrometry, *Organic Mass Spectrometry* **1992**, *27*, 472 - 480
- [57] L. Jessome, N. Y. Hsu, Y. S. Wang, C. H. Chen, Matrix-assisted laser desorption/ionization mechanism study with dihydroxybenzoic acid isomers as

- matrices, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2008**, 22, 130 - 134
- [58] R. Knochenmuss, A quantitative model of ultraviolet matrix-assisted laser desorption/ionization, *Journal of Mass Spectrometry* **2002**, 37, 867 - 877
- [59] P. C. Liao, J. Allison, Ionization Processes in Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization Mass-Spectrometry - Matrix-Dependent Formation of [M+H](+) Vs [M+Na](+) Ions of Small Peptides and Some Mechanistic Comments, *Journal of Mass Spectrometry* **1995**, 30, 408 - 423
- [60] M. Karas, M. Gluckmann, J. Schafer, Ionization in matrix-assisted laser desorption/ionization: singly charged molecular ions are the lucky survivors, *Journal of Mass Spectrometry* **2000**, 35, 1 - 12
- [61] M. Karas, R. Kruger, Ion formation in MALDI: The cluster ionization mechanism, *Chemical Reviews* **2003**, 103, 427 - 439
- [62] E. Lehmann, R. Knochenmuss, R. Zenobi, Ionization mechanisms in matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry: Contribution of pre-formed ions, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1997**, 11, 1483 - 1492
- [63] W. J. Erb, S. D. Hanton, K. G. Owens, A study of gas-phase cationization in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2006**, 20, 2165 - 2169
- [64] G. von Helden, T. Wyttenbach, M. T. Bowers, Conformation of Macromolecules in the Gas-Phase: Use of Matrix-Assisted Laser-Desorption Methods in Ion Chromatography, *Science* **1995**, 267, 1483 - 1485
- [65] T. Wyttenbach, G. von Helden, M. T. Bowers, Conformations of alkali ion cationized polyethers in the gas phase: polyethylene glycol and bis[(benzo-15-crown-5)-15-ylmethyl] pimelate, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1997**, 165/166, 377 - 390
- [66] J. Gidden, T. Wyttenbach, A. T. Jackson, J. H. Scrivens, M. T. Bowers, Gas-phase conformations of synthetic polymers: Poly(ethylene glycol), poly(propylene glycol), and poly(tetramethylene glycol), *Journal of the American Chemical Society* **2000**, 122, 4692 - 4699
- [67] A. T. Jackson, H. T. Yates, W. A. MacDonald, J. H. Scrivens, G. Critchley, J. Brown, M. J. Deery, K. R. Jennings, C. Brookes, Time-lag focusing and cation attachment in the analysis of synthetic polymers by matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1997**, 8, 132 - 139
- [68] A. K. Chaudhary, G. Critchley, A. Diaf, E. J. Beckman, A. J. Russell, Charac-

- terization of synthetic polymers using matrix-assisted laser desorption/ionization - Time of flight mass spectrometry, *Macromolecules* **1996**, *29*, 2213 - 2221
- [69] A. R. Hortal, P. Hurtado, B. Martinez-Haya, A. Arregui, L. Banares, Poly(ethylene glycol) cationization with alkali metals in matrix-assisted laser desorption ionization investigated with the solvent-free method, *Applied Physics A-Materials Science & Processing* **2008**, *92*, 859 - 863
- [70] A. R. Hortal, P. Hurtado, B. Martinez-Haya, A. Arregui, L. Banares, Solvent-free MALDI investigation of the cationization of linear polyethers with alkali metals, *Journal of Physical Chemistry B* **2008**, *112*, 8530 - 8535
- [71] X. W. Lou, R. W. Sinkeldam, W. van Houts, Y. Nicolas, P. G. A. Janssen, J. L. J. van Dongen, J. A. J. M. Vekemans, E. W. Meijer, Double cation adduction in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of electron deficient anthraquinone derivatives, *Journal of Mass Spectrometry* **2007**, *42*, 293 - 303
- [72] H. Rashidzadeh, Y. Wang, B. Guo, Matrix effects on selectivities of poly(ethylene glycol)s for alkali metal ion complexation in matrix-assisted laser desorption/ionization, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2000**, *14*, 439 - 443
- [73] S. D. M. Chinthaka, M. T. Rodgers, Potassium cation affinities of matrix assisted laser desorption ionization matrices determined by threshold collision-induced dissociation: Application to benzoic acid derivatives, *Journal of Physical Chemistry A* **2007**, *111*, 8152 - 8162
- [74] X. F. Shen, X. R. He, G. Q. Chen, P. Zhou, L. Huang, MALDI-TOF mass spectrometry characterization of C-60 end-capped polystyrene prepared by ATRP, *Macromolecular Rapid Communications* **2000**, *21*, 1162 - 1165
- [75] H. Rashidezadeh, B. C. Guo, Investigation of metal attachment to polystyrenes in matrix-assisted laser desorption ionization, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1998**, *9*, 724 - 730
- [76] R. Nagahata, K. Shimada, K. Kishine, H. Sato, S. Matsuyama, H. Togashi, S. Kinugasa, Interlaboratory comparison of average molecular mass and molecular mass distribution of a polystyrene reference material determined by MALDI-TOF mass spectrometry, *International Journal of Mass Spectrometry* **2007**, *263*, 213 - 221
- [77] S. Keki, G. Deak, M. Zsuga, Copper(I) chloride: a simple salt for enhancement of polystyrene cationization in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*

try **2001**, 15, 675 - 678

- [78] J. M. Ernst, Separation of Phenol Ethoxylate Homologs by Liquid-Chromatography with An Ion-Exchange Column, *Analytical Chemistry* **1984**, 56, 834 - 835
- [79] T. Okada, Chromatographic Oligomer Separation of Poly(Oxyethylenes) on K<sup>+</sup>-Form Cation-Exchange Resin, *Analytical Chemistry* **1990**, 62, 327 - 331
- [80] G. A. Cumme, E. Blume, R. Bublitz, H. Hoppe, A. Horn, Composition analysis of detergents of the polyoxyethylene type: comparison of thin-layer chromatography, reversed-phase chromatography and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* **1997**, 791, 245 - 253
- [81] R. Wintersteiger, G. Wenningerweinzierl, New Sensitive Method for the Thin-Layer Chromatographic Analysis of Substances with An Alcoholic Hydroxyl Group by Reaction with Naphthylisocyanate, *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie* **1981**, 309, 201 - 208
- [82] J. Bullock, Application of Capillary Electrophoresis to the Analysis of the Oligomeric Distribution of Polydisperse Polymers, *Journal of Chromatography* **1993**, 645, 169 - 177
- [83] R. A. Wallingford, Oligomeric separation of ionic and nonionic ethoxylated polymers by capillary gel electrophoresis, *Analytical Chemistry* **1996**, 68, 2541 - 2548
- [84] K. Heinig, C. Vogt, G. Werner, Separation of nonionic surfactants of the polyoxyethylene type by capillary electrophoresis, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **1997**, 357, 695 - 700
- [85] K. Heinig, C. Vogt, G. Werner, Separation of Nonionic Surfactants by Capillary Electrophoresis and High-Performance Liquid Chromatography, *Analytical Chemistry* **1998**, 70, 1885 - 1892
- [86] G. Vanhoenacker, D. De Keukeleire, P. Sandra, Capillary zone electrophoresis for the analysis of phthalate-derivatized hydroxyl- and amino-containing compounds, *Journal of Separation Science* **2001**, 24, 651 - 657
- [87] D. A. Skoog, J. J. Leary, *Instrumentelle Analytik*, **1996**, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg
- [88] A. M. Striegel, W. W. Yau, J. J. Kirkland, D. D. Bly, *Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography - Practice of Gel Permeation and Gel Filtration Chromatography*, **2009**, John Wiley & Sons, Hoboken (NJ)

- [89] A. Mico-Tormos, E. F. Simo-Alfonso, G. Ramis-Ramos, Determination of fatty alcohol ethoxylates by derivatization with phthalic anhydride followed by liquid chromatography with UV-vis detection, *Journal of Chromatography A* **2008**, 1203, 47 - 53
- [90] A. Mico-Tormos, F. Bianchi, E. F. Simo-Alfonso, G. Ramis-Ramos, Determination of fatty alcohol ethoxylates with diphenic anhydride derivatization and liquid chromatography with spectrophotometric detection A comparative study with other anhydrides, *Journal of Chromatography A* **2009**, 1216, 3023 - 3030
- [91] J. Goss, Reverse-Phase High-Performance Liquid-Chromatographic Determination of Primary and Secondary Aliphatic-Alcohols As Phthalate Monoesters by Uv Detection, *Chromatographia* **1994**, 38, 417 - 420
- [92] K. Lemr, M. Zanette, A. Marcomini, Reversed-Phase High-Performance Liquid-Chromatographic Separation of 1-Naphthyl Isocyanate Derivatives of Linear Alcohol Polyethoxylates, *Journal of Chromatography A* **1994**, 686, 219 - 224
- [93] M. Zanette, A. Marcomini, E. Marchiori, R. Samperi, High-performance liquid chromatographic fluorescence determination of aliphatic alcohol polyethoxylates and poly(ethylene glycol)s in aqueous samples, *Journal of Chromatography A* **1996**, 756, 159 - 174
- [94] P. Sandra, F. David, Microcolumn Chromatography for the Analysis of Detergents and Lubricants - Part 1: High Temperature Capillary Gas Chromatography (HT-CGC) and Capillary Supercritical Fluid Chromatography (CSFC), *Journal of High Resolution Chromatography* **1990**, 13, 414 - 417
- [95] H. T. Rasmussen, A. M. Pinto, M. W. Demouth, P. Touretzky, B. P. McPherson, High-Temperature Gas-Chromatography of Trimethylsilyl Derivatives of Alcohol Ethoxylates and Ethoxysulfates, *Journal of High Resolution Chromatography* **1994**, 17, 593 - 596
- [96] C. Asmussen, H. J. Stan, Determination of Non-Ionic Surfactants of the Alcohol Polyethoxylate Type by Means of High Temperature Gas Chromatography and Atomic Emission Detection, *Journal of High Resolution Chromatography* **1998**, 21, 597 - 604
- [97] V. Wulf, Analyse von Tensiden in technischen Reinigerformulierungen mittels GCxGC-(TOF)MS, **2007**, Diplomarbeit, Bergische Universität Wuppertal
- [98] V. Wulf, N. Wienand, M. Wirtz, H.-W. Kling, S. Gäb, O. J. Schmitz, Analysis of propoxylated fatty alcohols, benzalkonium chlorides and triethanolamine-based esterquat surfactants in technical products for detergents by means of

- GCxGC-EI-(TOF)MS, **2008**, Poster, 27th International Symposium on Chromatography, Münster
- [99] J. Hübner, Bestimmung von Alkylpolyglucosiden in komplexer Matrix mittels MEKC-PAD und GCxGC-(TOF)MS, **2007**, Dissertation, Bergische Universität Wuppertal
- [100] J. Hubner, R. Taheri, D. Melchior, H. W. Kling, S. Gab, O. J. Schmitz, Analysis of tensides in complex samples with comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2007**, *388*, 1755 - 1762
- [101] R. Taheri, Analyse polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe und Tenside in komplexer Matrix mittels comprehensiver zweidimensionaler Gaschromatographie, **2006**, Dissertation, Bergische Universität Wuppertal
- [102] R. Dück, Evaluierung der GCxGC qMS zur Analyse von kosmetischen Zubereitungen und tensidhaltigen Formulierungen, **2009**, Wissenschaftliche Abschlußarbeit, Bergische Universität Wuppertal
- [103] R. Dück, V. Wulf, M. Geißler, H.-U. Baier, O. J. Schmitz, H.-W. Kling, S. Gäb, M. Wirtz, Characterization of technical mixtures with comprehensive two-dimensional gas-chromatography - mass spectrometry, **2009**, Poster, ANAKON 2009, Berlin
- [104] R. Dück, V. Wulf, M. Geißler, H.-U. Baier, O. J. Schmitz, H.-W. Kling, S. Gäb, M. Wirtz, Application of chemical ionisation in comprehensive GCxGC-qMS for characterization of fatty alcohol alkoxyolate copolymers in the low molecular range up to 700 Da, **2009**, Poster, 34th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, Dresden
- [105] J. Adrian, D. Braun, H. Pasch, Two-Dimensional Liquid Chromatography: A New Tool for Discovering Polymer Heterogeneity, *LC-GC International* **1998**, *11*, 32 - 38
- [106] A. van der Horst, P. J. Schoenmakers, Comprehensive two-dimensional liquid chromatography of polymers, *Journal of Chromatography A* **2003**, *1000*, 693 - 709
- [107] X. L. Jiang, A. van der Horst, V. Lima, P. J. Schoenmakers, Comprehensive two-dimensional liquid chromatography for the characterization of functional acrylate polymers, *Journal of Chromatography A* **2005**, *1076*, 51 - 61
- [108] K. Im, Y. Kim, T. Chang, K. Lee, N. Choi, Separation of branched polystyrene by comprehensive two-dimensional liquid chromatography, *Journal of*

*Chromatography A* **2006**, 1103, 235 - 242

- [109] S. K. Huang, M. H. Rood, The analysis of alkyl-capped alcohol ethoxylates and alcohol ethoxycarboxylates from alcohol ethoxylates by atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1999**, 13, 1152 - 1158
- [110] B. Desmazieres, W. Buchmann, P. Terrier, J. Tortajada, APCI interface for LC- and SEC-MS analysis of synthetic polymers: Advantages and limits, *Analytical Chemistry* **2008**, 80, 783 - 792
- [111] V. Bernabé-Zafón, E. F. Simó-Alfonso, G. Ramis-Ramos, On the determination of underivatized fatty alcohol ethoxylates by electrospray ionization-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* **2006**, 1118, 188 - 198
- [112] P. Jandera, M. Holcapek, G. Theodoridis, Investigation of chromatographic behaviour of ethoxylated alcohol surfactants in normal-phase and reversed-phase systems using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* **1998**, 813, 299 - 311
- [113] S. Varray, J. L. Aubagnac, E. Lamaty, R. Lazaro, J. Martinez, C. Enjalbal, Poly(ethyleneglycol) in electrospray ionization (ESI) mass spectrometry, *Analisis* **2000**, 28, 263 - 268
- [114] M. T. Combs, D. D. Johnson, G. Szekely-Klepser, Use of a liquid chromatography-ion trap mass spectrometer for end-group characterization of various polyethoxylate materials, *Journal of Surfactants and Detergents* **2005**, 8, 263 - 269
- [115] S. H. Im, Y. H. Jeong, J. J. Ryoo, Simultaneous analysis of anionic, amphoteric, nonionic and cationic surfactant mixtures in shampoo and hair conditioner by RP-HPLC/ELSD and LC/MS, *Analytica Chimica Acta* **2008**, 619, 129 - 136
- [116] G. Cheguillaume, W. Buchmann, B. Desmazieres, J. Tortajada, Liquid chromatography-mass spectrometry hyphenation for exhaustive and unambiguous characterization of polyoxyethylene surfactants, *Chromatographia* **2004**, 60, 561 - 566
- [117] L. H. Huang, P. C. Gough, M. R. DeFelippis, Characterization of Poly(ethylene glycol) and PEGylated Products by LC/MS with Postcolumn Addition of Amines, *Analytical Chemistry* **2009**, 81, 567 - 577
- [118] S. M. van Leeuwen, B. H. Tan, D. W. Grijpma, J. Fejen, U. Karst, Characterization of the chemical composition of a block copolymer by liquid chromatography/mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ioniza-

- tion and electrospray ionization, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2007**, *21*, 2629 - 2637
- [119] R. Alicata, T. Barbuzzi, M. Gluffrida, A. Ballistreri, Characterization of poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-epsilon-caprolactone] copolymers by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight and electrospray ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2006**, *20*, 568 - 576
- [120] S. Trimpin, M. Plasencia, D. Isailovic, D. E. Clemmer, Resolving oligomers from fully grown polymers with IMS-MS, *Analytical Chemistry* **2007**, *79*, 7965 - 7974
- [121] S. Trimpin, D. E. Clemmer, Ion Mobility Spectrometry/Mass Spectrometry Snapshots for Assessing the Molecular Compositions of Complex Polymeric Systems, *Analytical Chemistry* **2008**, *80*, 9073 - 9083
- [122] R. Schiewek, R. Monnikes, V. Wulf, S. Gab, K. J. Brockmann, T. Benter, O. J. Schmitz, A Universal Ionization Label for the APLI-(TOF)MS Analysis of Small Molecules and Polymers, *Angewandte Chemie-International Edition* **2008**, *47*, 9989 - 9992
- [123] U. Bahr, A. Deppe, M. Karas, F. Hillenkamp, U. Giessmann, Mass-Spectrometry of Synthetic-Polymers by Uv Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization, *Analytical Chemistry* **1992**, *64*, 2866 - 2869
- [124] B. Thomson, K. Suddaby, A. Rudin, G. Lajoie, Characterisation of low molecular weight polymers using matrix assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry, *European Polymer Journal* **1996**, *32*, 239 - 256
- [125] B. Thomson, Z. Y. Wang, A. Paine, A. Rudin, G. Lajoie, Surfactant Analysis by Matrix-Assisted Laser-Desorption Time-Of-Flight Mass-Spectrometry, *Journal of the American Oil Chemists Society* **1995**, *72*, 11 - 15
- [126] M. Berchter, J. Meister, C. Hammes, MALDI-TOF-MS: A new analytical technique for characterizing products on the base of renewable resources, *Fett-Lipid* **1997**, *99*, 384 - 391
- [127] K. Raith, C. E. H. Schmelzer, R. H. H. Neubert, Towards a molecular characterization of pharmaceutical excipients: Mass spectrometric studies of ethoxylated surfactants, *International Journal of Pharmaceutics* **2006**, *319*, 1 - 12
- [128] P. Terrier, W. Buchmann, G. Cheguillaume, B. Desmazieres, J. Tortajada, Analysis of poly(oxyethylene) and poly(oxypropylene) triblock copolymers by MALDI-TOF mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **2005**, *77*, 3292 - 3300

- [129] U. Just, D. J. Jones, R. H. Auerbach, G. Davidson, K. Kappler, SFC/FTIR, SFC/APCI-MS and MALDI-TOF-MS for the Analysis of Siloxane-Ethylene Oxide Copolymers, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* **2000**, *43*, 209 - 221
- [130] H. Sato, H. Ohtani, S. Tsuge, N. Hayashi, K. Katoh, E. Masuda, K. Ohnishi, Structural characterization of polyoxymethylenes by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2001**, *15*, 82 - 88
- [131] J. P. Barry, W. J. Carton, K. M. Pesci, R. T. Anselmo, D. R. Radtke, J. V. Evans, Derivatization of low molecular weight polymers for characterization by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1997**, *11*, 437 - 442
- [132] J. P. Barry, D. R. Radtke, W. J. Carton, R. T. Anselmo, J. V. Evans, Analysis of ethoxylated polymers by capillary electrophoresis in UV-transparent polymer networks and by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* **1998**, *800*, 13 - 19
- [133] R. Chen, A. M. Tseng, M. Uhing, L. Li, Application of an integrated matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight, electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry approach to characterizing complex polyol mixtures, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2001**, *12*, 55 - 60
- [134] R. Alicata, G. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, Influence of chain end groups on the matrix-assisted laser desorption/ionization spectra of polymer blends, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2002**, *16*, 248 - 260
- [135] A. P. Morrow, O. O. Kassim, F. O. Ayorinde, Detection of cationic surfactants in oral rinses and a disinfectant formulation using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2001**, *15*, 767 - 770
- [136] S. D. Hanton, X. M. Liu, GPC separation of polymer samples for MALDI analysis, *Analytical Chemistry* **2000**, *72*, 4550 - 4554
- [137] H. Sato, N. Ichieda, H. Tao, H. Ohtani, Data processing method for the determination of accurate molecular weight distribution of polymers by SEC/MALDI-MS, *Analytical Sciences* **2004**, *20*, 1289 - 1294
- [138] U. Just, H. R. Holzbauer, M. Resch, Molar-Mass Determination of Oligomeric Ethylene-Oxide Adducts Using Supercritical-Fluid Chromatography and Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-Of-Flight Mass-

---

Spectrometry, *Journal of Chromatography A* **1994**, 667, 354 - 360

- [139] C. E. Kassis, J. M. DeSimone, R. W. Linton, E. E. Remsen, G. W. Lange, R. M. Friedman, A direct deposition method for coupling matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry with gel permeation chromatography for polymer characterization, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1997**, 11, 1134 - 1138
- [140] J. Falkenhagen, S. M. Weidner, Detection limits of matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry coupled to chromatography - a new application of solvent-free sample preparation, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2005**, 19, 3724 - 3730
- [141] J. Falkenhagen, H. Jancke, R. P. Kruger, E. Rikowski, G. Schulz, Characterization of silsesquioxanes by size-exclusion chromatography and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2003**, 17, 285 - 290
- [142] S. M. Weidner, J. Falkenhagen, S. Maltsev, V. Sauerland, M. Rinken, A novel software tool for copolymer characterization by coupling of liquid chromatography with matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2007**, 21, 2750 - 2758
- [143] S. J. Hattan, M. L. Vestal, Novel Three-Dimensional MALDI Plate for Interfacing High-Capacity LC Separations with MALDI-TOF, *Analytical Chemistry* **2008**, 80, 9115 - 9123
- [144] M. E. Openshaw, M. Mreyen, J. Hammond, Analysis of Cremophor EL by LC-MALDI, **2009**, Poster, 18th International Mass Spectrometry Conference, Bremen
- [145] E. Rapp, A. Charvat, A. Beinsen, U. Plessmann, U. Reichl, A. Seidel-Morgenstern, H. Urlaub, B. Abel, Atmospheric Pressure Free Liquid Infrared MALDI Mass Spectrometry: Toward a combined ESI/MALDI-Liquid Chromatography Interface, *Analytical Chemistry* **2009**, 81, 443 - 452
- [146] DIN 55674, Synthetische Polymere - Bestimmung der Molmasse und Molmassenverteilung von polymeren Spezies durch matrixunterstützte Laser-Desorptions/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie, **2006**, DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin
- [147] D. C. Schriemer, L. Li, Mass discrimination in the analysis of polydisperse polymers by MALDI time-of-flight mass spectrometry. 1. Sample preparation and desorption/ionization issues, *Analytical Chemistry* **1997**, 69,

4169 - 4175

- [148] S. J. Wetzel, C. M. Guttman, K. M. Flynn, J. J. Filliben, Significant parameters in the optimization of MALDI-TOF-MS for synthetic polymers, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2006**, *17*, 246 - 252
- [149] G. Montaudo, F. Samperi, M. S. Montaudo, S. Carroccio, C. Puglisi, Current trends in matrix-assisted laser desorption/ionization of polymeric materials, *European Journal of Mass Spectrometry* **2005**, *11*, 1 - 14
- [150] T. Yalcin, Y. Q. Dai, L. Li, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for polymer analysis: Solvent effect in sample preparation, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1998**, *9*, 1303 - 1310
- [151] R. Arakawa, S. Watanabe, T. Fukuo, Effects of sample preparation on matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectra for sodium polystyrene sulfonate, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1999**, *13*, 1059 - 1062
- [152] D. C. Schriemer, L. Li, Mass discrimination in the analysis of polydisperse polymers by MALDI time-of-flight mass spectrometry. 2. Instrumental issues, *Analytical Chemistry* **1997**, *69*, 4176 - 4183
- [153] Z. Takats, K. Vekey, L. Hegedus, Qualitative and quantitative determination of poloxamer surfactants by mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2001**, *15*, 805 - 810
- [154] R. Chen, N. Zhang, A. M. Tseng, L. Li, Effects of matrix-assisted laser desorption/ionization experimental conditions on quantitative compositional analysis of ethylene oxide/propylene oxide copolymers, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2000**, *14*, 2175 - 2181
- [155] R. Szyszka, D. M. Henning, S. D. Hanton, K. G. Owens, Quantitation of PEG Contaminants in Ethoxylated Surfactant Samples by MALDI TOFMS using Standard Addition and Internal Standards Methods, **2009**, Poster, 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Philadelphia (PA)
- [156] Y. Fukuyama, K. Kaneshiro, K. Taniguchi, S. Sekiya, S. Iwamoto, K. Tanaka, High versatility and quantitative capability at femto mol level of the liquid matrix 3-aminoquinoline/CHCA in MALDI mass spectrometry, **2009**, Poster, 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Philadelphia (PA)
- [157] I. Schnoll-Bitai, T. Hrebicek, A. Rizzi, Towards a quantitative interpretation

- of polymer distributions from MALDI-TOF spectra, *Macromolecular Chemistry and Physics* **2007**, 208, 485 - 495
- [158] J. Gobom, K. O. Kraeuter, R. Persson, H. Steen, P. Roepstorff, R. Ekman, Detection and quantification of neurotensin in human brain tissue by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **2000**, 72, 3320 - 3326
- [159] L. Sleno, D. A. Volmer, Some fundamental and technical aspects of the quantitative analysis of pharmaceutical drugs by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2005**, 19, 1928 - 1936
- [160] W. R. Wilkinson, A. I. Gusev, A. Proctor, M. Houalla, D. M. Hercules, Selection of internal standards for quantitative analysis by matrix assisted laser desorption ionization (MALDI) time-of-flight mass spectrometry, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **1997**, 357, 241 - 248
- [161] J. J. Corr, P. Kovarik, B. B. Schneider, J. Hendrikse, A. Loboda, T. R. Covey, Design considerations for high speed quantitative mass spectrometry with MALDI ionization, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2006**, 17, 1129 - 1141
- [162] J. E. Elsila, N. P. de Leon, R. N. Zare, Factors affecting quantitative analysis in laser desorption/laser ionization mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **2004**, 76, 2430 - 2437
- [163] S. Keki, L. S. Szilagyi, G. Deak, M. Zsuga, Effects of different alkali metal ions on the cationization of poly(ethylene glycol)s in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: a new selectivity parameter, *Journal of Mass Spectrometry* **2002**, 37, 1074 - 1080
- [164] R. C. Beavis, B. T. Chait, Rapid, Sensitive Analysis of Protein Mixtures by Mass-Spectrometry, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1990**, 87, 6873 - 6877
- [165] I. P. Smirnov, X. Zhu, T. Taylor, Y. Huang, P. Ross, I. A. Papayanopoulos, S. A. Martin, D. J. Pappin, Suppression of alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acid matrix clusters and reduction of chemical noise in MALDI-TOF mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **2004**, 76, 2958 - 2965
- [166] W. T. Jia, H. X. Wu, H. J. Lui, N. Li, Y. Zhang, R. F. Cai, P. Y. Yang, Rapid and automatic on-plate desalting protocol for MALD-MS: Using imprinted hydrophobic polymer template, *Proteomics* **2007**, 7, 2497 - 2506
- [167] E. B. Monroe, B. A. Koszczuk, J. L. Losh, J. C. Jurchen, J. V. Sweedler, Meas-

- uring salty samples without adducts with MALDI MS, *International Journal of Mass Spectrometry* **2007**, 260, 237 - 242
- [168] R. Knochenmuss, E. Lehmann, R. Zenobi, Polymer cationization in matrix-assisted laser desorption/ionization, *European Mass Spectrometry* **1998**, 4, 421 - 426
- [169] S. Bashir, P. J. Derrick, P. Critchley, P. J. Gates, J. Staunton, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of dextran and dextrin derivatives, *European Journal of Mass Spectrometry* **2003**, 9, 61 - 70
- [170] Y. Q. Wang, H. Rashidzadeh, B. C. Guo, Structural effects on polyether cationization by alkali metal ions in matrix-assisted laser desorption/ionization, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2000**, 11, 639 - 643
- [171] K. Shimada, S. Matsuyama, T. Saito, S. Kinugasa, R. Nagahata, S. Kawabata, Conformational effects on cationization of poly(ethylene glycol) by alkali metal ions in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *International Journal of Mass Spectrometry* **2005**, 247, 85 - 92
- [172] M. Di Serio, R. Tesser, A. Dimiccoli, E. Santacesaria, Kinetics of ethoxylation and propoxylation of ethylene glycol catalyzed by KOH, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2002**, 41, 5196 - 5206
- [173] R. Murgasova, D. M. Hercules, MALDI of synthetic polymers - an update, *International Journal of Mass Spectrometry* **2003**, 226, 151 - 162
- [174] J. Schiller, R. Subb, M. Petkovic, N. Hilbert, M. Muller, O. Szchornig, J. Arnold, K. Arnold, CsCl as an auxiliary reagent for the analysis of phosphatidylcholine mixtures by matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), *Chemistry and Physics of Lipids* **2001**, 113, 123 - 131
- [175] S. D. Hanton, K. G. Owens, C. Chavez-Eng, A. M. Hoberg, P. J. Derrick, Updating evidence for cationization of polymers in the gas phase during matrix-assisted laser desorption/ionization, *European Journal of Mass Spectrometry* **2005**, 11, 23 - 29
- [176] M. A. R. Meier, U. S. Schubert, Evaluation of a new multiple-layer spotting technique for matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of synthetic polymers, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2003**, 17, 713 - 716
- [177] T. Gruending, M. Guilhaus, C. Barner-Kowollik, Design of Experiment (DoE) as a Tool for the Optimization of Source Conditions in SEC-ESI-MS of

- Functional Synthetic Polymers Synthesized via ATRP, *Macromolecular Rapid Communications* **2009**, 30, 589 - 597
- [178] A. Lapolla, E. Ragazzi, B. Andretta, D. Fedele, M. Tubaro, R. Seraglia, L. Molin, P. Traldi, Multivariate analysis of matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric data related to glycooxidation products of human globins in nephropathic patients, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2007**, 18, 1018 - 1023
- [179] N. Zaima, Y. Matsuyama, M. Setou, Principal Component Analysis of Direct Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometric Data Related to Metabolites of Fatty Liver, *Journal of Oleo Science* **2009**, 58, 267 - 273
- [180] M. A. R. Meier, N. Adams, U. S. Schubert, Statistical approach to understand MALDI-TOFMS matrices: Discovery and evaluation of new MALDI matrices, *Analytical Chemistry* **2007**, 79, 863 - 869
- [181] J. Bursa, Optimierung der MALDI-TOF-MS Analyse von polydispersen Aktivkomponenten für Reinigungs- und Pflegeprodukte, **2009**, Wissenschaftliche Abschlußarbeit, Bergische Universität Wuppertal
- [182] W. Kessler, Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik, **2007**, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [183] J. K. Pruns, C. Rapp, U. Hintze, K. P. Wittern, W. A. König, Characterization of paraffin oils and petrolatum using LDI-TOF MS and principle component analysis, *European Journal of Lipid Science and Technology* **2003**, 105, 275 - 280
- [184] E. Botek, J. L. Debrun, B. Hakim, L. Morin-Allory, Attachment of alkali cations on beta-D-glucopyranose: matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight studies and ab initio calculations, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2001**, 15, 273 - 276
- [185] A. Antonopoulos, P. Bonnet, E. Botek, J. L. Debrun, B. Hakim, B. Herbreteau, L. Morin-Allory, Study of the attachment of Na<sup>+</sup> on glucose and on some of its methylated derivatives, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2003**, 17, 122 - 125
- [186] S. H. Benomar, M. R. Clench, D. W. Allen, The analysis of alkylphenol ethoxysulphonate surfactants by high-performance liquid chromatography, liquid chromatography-electro spray ionisation-mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption ionisation-mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta* **2001**, 445, 255 - 267
- [187] L. H. Cohen, A. I. Gusev, Small molecule analysis by MALDI mass spec-

- trometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2002**, 373, 571 - 586
- [188] G. J. Van Berkel, An overview of some recent developments in ionization methods for mass spectrometry, *European Journal of Mass Spectrometry* **2003**, 9, 539 - 562
- [189] S. M. Weidner, J. Falkenhagen, Imaging mass spectrometry for examining localization of polymeric composition in matrix-assisted laser desorption/ionization samples, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2009**, 23, 653 - 660
- [190] S. M. Weidner, Sample Spot Heterogeneity Investigated by MALDI - Imaging Mass Spectrometry, **2009**, Vortrag, 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Philadelphia
- [191] S. M. Weidner, J. Falkenhagen, R. D. Schulze, Sample spot heterogeneity investigated by MALDI - imaging mass spectrometry, **2009**, Poster, 18th International Mass Spectrometry Conference, Bremen
- [192] H. Qiao, G. Piyadasa, V. Spicer, W. Ens, Analyte distributions in MALDI samples using MALDI imaging mass spectrometry, *International Journal of Mass Spectrometry* **2009**, 281, 41 - 51
- [193] R. Skelton, F. Dubois, R. Zenobi, A MALDI sample preparation method suitable for insoluble polymers, *Analytical Chemistry* **2000**, 72, 1707 - 1710
- [194] J. K. Pruns, J. P. Vietzke, M. Strassner, C. Rapp, U. Hintze, W. A. König, Characterization of low molecular weight hydrocarbon oligomers by laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry using a solvent-free sample preparation method, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2002**, 16, 208 - 211
- [195] S. Trimpin, A. C. Grimsdale, H. J. Rader, K. Mullen, Characterization of an insoluble poly(9,9-diphenyl-2,7-fluorene) by solvent-free sample preparation for MALDI-TOF mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **2002**, 74, 3777 - 3782
- [196] S. D. Hanton, D. M. Parees, Extending the solvent-free MALDI sample preparation method, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2005**, 16, 90 - 93
- [197] S. D. Hanton, J. R. Stets, Determining the Time Needed for the Vortex Method for Preparing Solvent-Free MALDI Samples of Low Molecular Mass Polymers, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2009**, 20, 1115 - 1118

- [198] S. Trimpin, S. Keune, H. J. Rader, K. Mullen, Solvent-free MALDI-MS: Developmental improvements in the reliability and the potential of MALDI in the analysis of synthetic polymers and giant organic molecules, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2006**, *17*, 661 - 671
- [199] S. Trimpin, S. M. Weidner, J. Falkenhagen, C. N. Mcewen, Fractionation and solvent-free MALDI-MS analysis of polymers using liquid adsorption chromatography at critical conditions in combination with a multisample on-target homogenization/transfer sample preparation method, *Analytical Chemistry* **2007**, *79*, 7565 - 7570
- [200] S. Trimpin, C. N. Mcewen, Multisample preparation methods for the solvent-free MALDI-MS analysis of synthetic polymers, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2007**, *18*, 377 - 381
- [201] M. Mazarin, T. N. T. Phan, L. Charles, Using solvent-free sample preparation to promote protonation of poly(ethylene oxide)s with labile end-groups in matrix-assisted laser desorption/ionisation, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2008**, *22*, 3776 - 3782
- [202] A. Cristadoro, H. J. Rader, K. Mullen, Quantitative analyses of fullerene and polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures via solvent-free matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2008**, *22*, 2463 - 2470
- [203] S. Trimpin, M. L. Deinzer, Solvent-free MALDI-MS for the analysis of biological samples via a mini-ball mill approach, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2005**, *16*, 542 - 547
- [204] S. Trimpin, M. L. Deinzer, Solvent-free MALDI-MS for the analysis of beta-amyloid peptides via the mini-ball mill approach: Qualitative and quantitative advances, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2007**, *18*, 1533 - 1543
- [205] S. Trimpin, M. L. Deinzer, Solvent-free MALDI-MS for the analysis of a membrane protein via the mini ball mill approach: Case study of bacteriorhodopsin, *Analytical Chemistry* **2007**, *79*, 71 - 78
- [206] S. M. Puolitaival, K. E. Burnum, D. S. Cornett, R. M. Caprioli, Solvent-free matrix dry-coating for MALDI Imaging of phospholipids, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2008**, *19*, 882 - 886
- [207] S. Trimpin, B. Brizzard, Analysis of insoluble proteins, *Biotechniques* **2009**, *46*, 409 - 419
- [208] L. Hughes, M. F. Wyatt, B. K. Stein, A. G. Brenton, Investigation of Solvent-

- Free MALDI-TOFMS Sample Preparation Methods for the Analysis of Organometallic and Coordination Compounds, *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 543 - 550
- [209] L. J. Soltzberg, E. Hendrickson, A. McLaughlin, S. Newsy, C. Saikin, M. Trieu, Metal contamination in matrix-assisted laser desorption/ionization samples prepared with the 'vortex' solvent-free method, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2009**, *23*, 462 - 464
- [210] M. D. Eelman, J. M. Blacquiere, M. M. Moriarty, D. E. Fogg, Shining new light on an old problem: Retooling MALDI mass spectrometry for organotransition-metal catalysis, *Angewandte Chemie-International Edition* **2008**, *47*, 303 - 306
- [211] L. J. Soltzberg, J. D. Slinker, S. Flores-Torres, D. A. Bernards, G. G. Malliaras, H. D. Abruna, J. S. Kim, R. H. Friend, M. D. Kaplan, V. Goldberg, Identification of a quenching species in ruthenium tris-bipyridine electroluminescent devices, *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 7761 - 7764
- [212] S. D. Hanton, T. M. Mcevoy, J. R. Stets, Imaging the morphology of solvent-free prepared MALDI samples, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2008**, *19*, 874 - 881
- [213] C. C. Lai, L. R. Phillips, L. L. Smith, J. A. Kelley, How Low Can We Go? An Evaluation of Strategies for Small-Molecule Analysis by MALDI, **2009**, Poster, 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Philadelphia (PA)
- [214] J. Sunner, E. Dratz, Y. C. Chen, Graphite Surface Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass-Spectrometry of Peptides and Proteins from Liquid Solutions, *Analytical Chemistry* **1995**, *67*, 4335 - 4342
- [215] M. J. Dale, R. Knochenmuss, R. Zenobi, Graphite/liquid mixed matrices for laser desorption/ionization mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **1996**, *68*, 3321 - 3329
- [216] C. Black, C. Poile, J. Langley, J. Herniman, The use of pencil lead as a matrix and calibrant for matrix-assisted laser desorption/ionisation, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2006**, *20*, 1053 - 1060
- [217] G. J. Langley, J. M. Herniman, M. S. Townell, 2B or not 2B, that is the question: further investigations into the use of pencil as a matrix for matrix-assisted laser desorption/ionisation, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2007**, *21*, 180 - 190
- [218] Persönliche Mitteilung - Andreas Thies (Kundenservice, Staedler Mars

- GmbH & Co. KG, Nürnberg), **2008**
- [219] Chemisches Produktdatenblatt zur Bleistiftserie Mars Lumograph 100 (Staedler Mars GmbH & Co. KG, Nürnberg), **2007**
- [220] E. Berger-Nicoletti, F. Wurm, A. F. M. Kilbinger, H. Frey, Pencil lead as a matrix for MALDI-ToF mass spectrometry of sensitive functional polymers, *Macromolecules* **2007**, *40*, 746 - 751
- [221] F. von Rath, Systematische Untersuchung bestimmter Einflussgrößen bei der MALDI-MS Analyse von oleochemischen, technischen Polymeren für Reinigungs- und Pflegeprodukte, **2009**, Wissenschaftliche Abschlußarbeit, Bergische Universität Wuppertal
- [222] T. Watanabe, H. Kawasaki, T. Yonezawa, R. Arakawa, Surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (SALDI-MS) of low molecular weight organic compounds and synthetic polymers using zinc oxide (ZnO) nanoparticles, *Journal of Mass Spectrometry* **2008**, *43*, 1063 - 1071
- [223] T. Kinumi, T. Saisu, M. Takayama, H. Niwa, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry using an inorganic particle matrix for small molecule analysis, *Journal of Mass Spectrometry* **2000**, *35*, 417 - 422
- [224] J. K. Kim, K. K. Murray, Matrix-assisted laser desorption/ionization with untreated silicon targets, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2009**, *23*, 203 - 205
- [225] K. Dreisewerd, The desorption process in MALDI, *Chemical Reviews* **2003**, *103*, 395 - 425
- [226] D. S. Peterson, Matrix-free methods for laser desorption/ionization mass spectrometry, *Mass Spectrometry Reviews* **2007**, *26*, 19 - 34
- [227] H. Togashi, Y. Kobayashi, Effects of substrate surfaces in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2009**, *23*, 2952 - 2958
- [228] J. Wei, J. M. Buriak, G. Siuzdak, Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon, *Nature* **1999**, *399*, 243 - 246
- [229] M. P. Stewart, J. M. Buriak, Chemical and biological applications of porous silicon technology, *Advanced Materials* **2000**, *12*, 859 - 869
- [230] N. Budimir, J. C. Blais, F. Fournier, J. C. Tabet, The use of desorption/ionization on porous silicon mass spectrometry for the detection of negative ions for fatty acids, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2006**,

20, 680 - 684

- [231] S. Okuno, Y. Wada, R. Arakawa, Quantitative analysis of polypropyleneglycol mixtures by desorption/ionization on porous silicon mass spectrometry, *International Journal of Mass Spectrometry* **2005**, 241, 43 - 48
- [232] R. A. Kruse, X. L. Li, P. W. Bohn, J. V. Sweedler, Experimental factors controlling analyte ion generation in laser desorption/ionization mass spectrometry on porous silicon, *Analytical Chemistry* **2001**, 73, 3639 - 3645
- [233] Z. Guo, Q. C. Zhang, H. F. Zou, B. C. Guo, J. Y. Ni, A method for the analysis of low-mass molecules by MALDI-TOF mass spectrometry, *Analytical Chemistry* **2002**, 74, 1637 - 1641
- [234] S. F. Ren, Y. L. Guo, Oxidized carbon nanotubes as matrix for matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric analysis of biomolecules, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2005**, 19, 255 - 260
- [235] N. Amini, M. Shariatgorji, G. Thorsen, SALDI-MS Signal Enhancement Using Oxidized Graphitized Carbon Black Nanoparticles, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2009**, 20, 1207 - 1213
- [236] P. Lorkiewicz, M. C. Yappert, Titania Microparticles and Nanoparticles as Matrixes for in Vitro and in Situ Analysis of Small Molecules by MALDI-MS, *Analytical Chemistry* **2009**, 81, 6596 - 6603
- [237] A. Rohlfig, C. Menzel, L. M. Kukreja, F. Hillenkamp, K. Dreisewerd, Photoacoustic analysis of matrix-assisted laser desorption/ionization processes with pulsed infrared lasers, *Journal of Physical Chemistry B* **2003**, 107, 12275 - 12286
- [238] R. Knochenmuss, G. McCombie, M. Faderl, Ion yields of thin MALDI samples: Dependence on matrix and metal substrate and implications for models, *Journal of Physical Chemistry A* **2006**, 110, 12728 - 12733
- [239] N. Hellwig, A. Thrun, T. Muskat, J. Grotemeyer, UV-laser ablation of ionic liquid matrices, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2009**, 395, 2457 - 2463
- [240] M. Hauer, D. J. Funk, T. Lippert, A. Wokaun, Time resolved study of the laser ablation induced shockwave, *Thin Solid Films* **2004**, 453-54, 584 - 588
- [241] Y. Kawaguchi, X. Ding, A. Narazaki, T. Sato, H. Niino, Transient pressure induced by laser ablation of toluene, a highly laser-absorbing liquid, *Applied Physics A-Materials Science & Processing* **2005**, 80, 275 - 281
- [242] Z. Q. Zhang, G. Y. Xu, F. Wang, S. L. Dong, Y. Li, Characterization and de-

- multisification of poly(ethylene oxide)-block-poly(propylene oxide)-block-poly (ethylene oxide) copolymers, *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 277, 464 - 470
- [243] A. T. Jackson, S. E. Slade, K. Thalassinos, J. H. Scrivens, End-group characterisation of poly(propylene glycol)s by means of electrospray ionisation-tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS), *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2008**, 392, 643 - 650
- [244] W. Gronski, G. Hellermann, A. Wilsch-Irrgang, C-13 NMR characterization of ethylene oxide/propylene oxide adducts, *Makromolekulare Chemie-Macromolecular Chemistry and Physics* **1991**, 192, 591 - 601
- [245] F. Heatley, Y. Z. Luo, J. F. Ding, R. H. Mobbs, C. Booth, A C-13 Nuclear Magnetic Resonance Study of the Triad Sequence Structure of Block and Statistical Copolymers of Ethylene Oxide and Propylene Oxide, *Macromolecules* **1988**, 21, 2713 - 2721
- [246] L. Yang, F. Heatley, T. G. Blease, R. I. G. Thompson, Determination of the oligomer distribution in ethoxylated linear and branched alkanols using C-13-NMR, *European Polymer Journal* **1997**, 33, 143 - 151
- [247] G. Montaudo, F. Samperi, M. S. Montaudo, Characterization of synthetic polymers by MALDI-MS, *Progress in Polymer Science* **2006**, 31, 277 - 357
- [248] S. M. Weidner, S. Trimpin, Mass spectrometry of synthetic polymers, *Analytical Chemistry* **2008**, 80, 4349 - 4361
- [249] H. Larhrib, J. I. Wells, M. H. Rubinstein, G. Ricart, Characterization of PEGs using matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry and other related techniques, *International Journal of Pharmaceutics* **1997**, 147, 187 - 198
- [250] G. Montaudo, M. S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, Characterization of Polymers by Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization-Time of Flight Mass-Spectrometry - End Group Determination and Molecular-Weight Estimates in Poly(Ethylene Glycols), *Macromolecules* **1995**, 28, 4562 - 4569
- [251] C. G. de Koster, M. C. Duursma, G. J. van Rooij, R. M. A. Heeren, J. J. Boon, Endgroup Analysis of Polyethylene Glycol Polymers by Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Fourier-Transform Ion-Cyclotron Resonance Mass-Spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1995**, 9, 957 - 962
- [252] R. P. Lattimer, Tandem Mass-Spectrometry of Lithium-Attachment Ions from Polyglycols, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1992**, 3,

225 - 234

- [253] G. R. Hilton, A. T. Jackson, K. Thalassinou, J. H. Scrivens, Structural Analysis of Synthetic Polymer Mixtures Using Ion Mobility and Tandem Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry* **2008**, *80*, 9720 - 9725
- [254] J. P. Williams, G. R. Hilton, K. Thalassinou, A. T. Jackson, J. H. Scrivens, The rapid characterisation of poly(ethylene glycol) oligomers using desorption electrospray ionisation tandem mass spectrometry combined with novel product ion peak assignment software, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2007**, *21*, 1693 - 1704
- [255] K. Thalassinou, A. T. Jackson, J. P. Williams, G. R. Hilton, S. E. Slade, J. H. Scrivens, Novel software for the assignment of peaks from tandem mass spectrometry spectra of synthetic polymers, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2007**, *18*, 1324 - 1331
- [256] S. D. Hanton, D. A. Parees, K. G. Owens, MALDI PSD of low molecular weight ethoxylated polymers, *International Journal of Mass Spectrometry* **2004**, *238*, 257 - 264
- [257] A. T. Jackson, H. T. Yates, J. H. Scrivens, G. Critchley, J. Brown, M. R. Green, R. H. Bateman, The application of matrix-assisted laser desorption/ionization combined with collision-induced dissociation to the analysis of synthetic polymers, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1996**, *10*, 1668 - 1674
- [258] A. T. Jackson, M. R. Green, R. H. Bateman, Generation of end-group information from polyethers by matrix-assisted laser desorption/ionisation collision-induced dissociation mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2006**, *20*, 3542 - 3550
- [259] A. C. Crecelius, A. Baumgaertel, U. S. Schubert, Tandem mass spectrometry of synthetic polymers, *European Journal of Mass Spectrometry* **2009**, *44*, 1277 - 1286
- [260] A. J. Hotelling, K. G. Owens, Improved PSD and CID on A MALDI TOFMS, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2004**, *15*, 523 - 535
- [261] A. R. Bottrill, A. E. Giannakopoulos, C. Waterson, D. M. Haddleton, K. S. Lee, P. J. Derrick, Determination of end groups of synthetic polymers by matrix-assisted laser desorption/ionization: High-energy collision-induced dissociation, *Analytical Chemistry* **1999**, *71*, 3637 - 3641
- [262] S. D. Hanton, D. M. Parees, J. Zweigenbaum, The fragmentation of ethoxylated surfactants by AP-MALDI-QIT, *Journal of the American Society for Mass*

---

*Spectrometry* **2006**, *17*, 453 - 458

- [263] S. Okuno, M. Kiuchi, R. Arakawa, Structural characterization of polyethers using matrix-assisted laser desorption/ionization quadrupole ion trap time-of-flight mass spectrometry, *European Journal of Mass Spectrometry* **2006**, *12*, 181 - 187
- [264] R. L. Martin, F. L. Brancia, Analysis of high mass peptides using a novel matrix-assisted laser desorption/ionisation quadrupole ion trap time-of-flight mass spectrometer, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2003**, *17*, 1358 - 1365
- [265] J. H. Scrivens, A. T. Jackson, H. T. Yates, M. R. Green, G. Critchley, J. Brown, R. H. Bateman, M. T. Bowers, J. Gidden, The effect of the variation of cation in the matrix-assisted laser desorption/ionisation collision induced dissociation (MALDI-CID) spectra of oligomeric systems, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1997**, *165/166*, 363 - 375
- [266] E. Guénin, M. Lecouvey, J. Hardouin, Study of bisphosphonates by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry - influence of alkali atoms on fragmentation patterns, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2009**, *23*, 1234 - 1240
- [267] A. Baumgaertel, C. R. Becer, M. Gottschaldt, U. S. Schubert, MALDI-TOF MS coupled with collision-induced dissociation (CID) measurements of poly(methyl methacrylate), *Macromolecular Rapid Communications* **2008**, *29*, 1309 - 1315
- [268] A. T. Jackson, A. Bunn, L. R. Hutchings, F. T. Kiff, R. W. Richards, J. Williams, M. R. Green, R. H. Bateman, The generation of end group information from poly(styrene)s by means of matrix-assisted laser desorption/ionisation-collision induced dissociation, *Polymer* **2000**, *41*, 7437 - 7450
- [269] A. T. Jackson, H. T. Yates, J. H. Scrivens, M. R. Green, R. H. Bateman, Matrix-assisted laser desorption/ionization-collision induced dissociation of poly(styrene), *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1998**, *9*, 269 - 274
- [270] A. J. Hoteling, K. Kawaoka, M. C. Goodberlet, W. M. Yu, K. G. Owens, Optimization of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight collision-induced dissociation using poly(ethylene glycol), *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2003**, *17*, 1671 - 1676
- [271] T. L. Selby, C. Wesdemiotis, R. P. Lattimer, Dissociation Characteristics of  $[M+X]^+$  Ions ( $X=H, Li, K$ ) from Linear and Cyclic Polyglycols, *Journal of the*

*American Society for Mass Spectrometry* **1994**, 5, 1081 - 1092

- [272] S. Trimpin, D. E. Clemmer, C. N. Mcewen, Charge-remote fragmentation of lithiated fatty acids on a TOF-TOF instrument using matrix-ionization, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2007**, 18, 1967 - 1972
- [273] V. Anbalagan, J. N. Patel, G. Niyakorn, M. J. Van Stipdonk, McLafferty-type rearrangement in the collision-induced dissociation of Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> and Ag<sup>+</sup> cationized esters of N-acetylated peptides, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2003**, 17, 291 - 300
- [274] P. Rizzarelli, C. Puglisi, G. Montaudo, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight/time-of-flight tandem mass spectra of poly(butylene adipate), *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2006**, 20, 1683 - 1694
- [275] S. M. Weidner, J. Falkenhagen, K. Knop, A. Thunemann, Structure and end-group analysis of complex hexanediol-neopentylglycol-adipic acid copolyesters by matrix-assisted laser desorption/ionization collision-induced dissociation tandem mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2009**, 23, 2768 - 2774