

**Entwicklung einer Multi-Purpose
Ionenquelle für die AP-MS sowie
Design und Anwendung von
APLI-Ionisationslabeln**

vom Fachbereich C (Mathematik und Naturwissenschaften)

der Bergischen Universität Wuppertal

genehmigte Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

- Doktor der Naturwissenschaften -

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von

Ralf Schiewek

(Dipl.-Chem.)

aus Wuppertal

Wuppertal, November 2008

Die Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20090039

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20090039>]

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit
von November 2005 bis November 2008
im Arbeitskreis Analytische Chemie
unter Leitung von
Herrn Prof. Dr. Siegmund Gäßler.

Diese Arbeit wurde finanziell unterstützt von der
Studienstiftung des deutschen Volkes

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

Wuppertal, den 24.11.2008

Ralf Schiewek

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn **Prof. Dr. Siegmund Gäb** für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Bereitstellung des interessanten Themas sowie für die Möglichkeit zur Umsetzung eigener Ideen.

Herrn **PD Dr. Oliver J. Schmitz** danke ich für die vielen fachlichen Gespräche, die hilfreichen Anregungen und die Übernahme des Korreferats. Zusätzlich möchte ich für die zahlreichen Publikationen danken.

Bei Herrn **Prof. Dr. Thorsten Benter** bedanke ich mich für die umfangreiche Unterstützung meiner Arbeit und die Möglichkeit, in seinen Räumlichkeiten zu arbeiten sowie für die stete Bereitschaft, als Ansprechpartner und Berater bei physikochemischen Fragestellungen zur Verfügung zu stehen.

Herrn **Dr. Klaus Brockmann** danke ich für seine stete Diskussionsbereitschaft und dafür, dass er im Bereich Technik immer mit Rat und Tat und hilfreichen Vorschlägen zur Seite gestanden hat.

Herrn **Ronald Giese** danke ich für die Hilfe bei der praktischen Umsetzung verschiedener Konzepte vor allem durch hilfreiche Tips und das Anfertigen von Konstruktionszeichnungen.

Für das Herstellen dieser Konstruktionen bedanke ich mich bei Herrn **Axel Brakelmann** und seinen Mitarbeitern der Werkstatt der Bergischen Universität Wuppertal.

Weiterhin möchte ich mich bedanken bei:

Herrn **Matthias Lorenz** für das Anfertigen von DIAV-Messungen

Herrn **René Mönnikes** für die Zusammenarbeit bei der Aufnahme der AP-REMPI-Spektren

Herrn **Dr. Marc Schellenträger** für die Hilfe beim Aufbau der GC-APLI-Kopplung am micrOTOF

Herrn **Bernd Wallmichrath** für die Hilfe bei EDV-Fragen

Herrn **Volker Wulf** für die Unterstützung durch MALDI-Messungen sowie für das erste Lesen dieser Arbeit

Herrn **Walter Turner** danke ich für die Unterstützung bei englischsprachiger Korrespondenz.

Frau **Valerie Funcke**, Frau **Anne Heinrich**, Frau **Sonja Klee**, Herrn **Hendrik Kersten** und Frau **Ana Lydia Mangas Suárez** danke ich für die angenehme und gehaltvolle, gemeinsame Zeit im Labor.

Bei Frau **Sabrina Laun** und Herrn **Christian Stader** bedanke ich mich für ihr großes Engagement bei der Durchführung ihrer Bachelor-Arbeiten.

Für die gute Zusammenarbeit in den Arbeitskreisen der Physikalischen und Analytischen Chemie und den freundschaftlichen Umgang miteinander möchte ich mich bei allen Kolleginnen und Kollegen bedanken.

Bei allen externen Kooperationspartnern bedanke ich mich für die aktive Unterstützung und den beiderseitigen „Know-how-Transfer“.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern, durch deren Bereitschaft zur Unterstützung mein Studium ermöglicht wurde.

Meinen Eltern

Abstract

Atmospheric-Pressure Laser Ionization (APLI) was developed at the University of Wuppertal as a sensitive atmospheric-pressure ionisation method for the analysis of non-polar aromatic hydrocarbons. The coupling of liquid chromatography (LC) with APLI was first realised with a Q-TOF Ultima (Waters) instrument in the form of LC-APLI-(TOF)MS. Because of its great separating power, gas chromatography presents an interesting alternative to LC. A plan was therefore drafted for coupling a gas chromatograph with the atmospheric-pressure ion source of the Q-TOF Ultima for APLI. To this end, an appropriate electrically heated transfer line was constructed. The front end of this transfer line could be mounted instead of a volatilisation stage on the otherwise unmodified atmospheric-pressure ion source. The parameters necessary to operate the source, such as the amounts of gas within the source and settings on the mass spectrometer, were optimised. The efficiency of this new coupling was demonstrated by the analysis of a number of standards (PAHs and hetero-PAHs).

On the basis of this successful coupling, APLI was also coupled with another atmospheric-pressure mass spectrometer (microTOF, Bruker Daltonics). For this, a new ion source was developed for the mass spectrometer, to replace the standard one. The central component of the new source, which can be used for LC as well as for GC versions of APLI-(TOF)MS, is a cube-shaped source body with several apertures. Various additional components, such as the volatilisation stage of liquid chromatography or the newly developed transfer line, could be mounted onto the body. After important parameters had been optimised, a number of standards as well as real samples were analysed with both the LC-APLI-(TOF)MS and GC-APLI-(TOF)MS systems, in order to show the potential of this coupling. Thus, in addition to several aromatic oligomers used in the manufacture of organic light-emitting diodes, which are difficult to analyse by other methods, transition-metal complexes used as triplet emitters were successfully analysed by LC-APLI-(TOF)MS. Among examples of the application of GC-APLI-(TOF)MS, several PAH and hetero-PAH standards were analysed, and the pyrene metabolite 1-hydroxypyrene was detected in urine. For chrysene, a detection limit of 0.5 ng/L was achieved with an injection volume of 2 μ L.

In order to use the advantages of such a flexible coupling, in which the costly high-resolution mass spectrometer serves as detector for various chromatographic applications in conjunction with the three important atmospheric-pressure ionisation methods (ESI, APCI, APPI), these methods were integrated into the design. In addition, an improved version of the GC-transfer line was developed. This new design of a Multi-Purpose API-Source (MPIS) has been made

commercially available by the company Bruker Daltonics as a flexible ion source for an atmospheric-pressure mass spectrometer.

Switching between various ionisation methods is convenient, requiring only that the alternative components be exchanged at the apertures of the source body. For example, to switch from GC-APLI-(TOF)MS to GC-APCI-(TOF)MS, only a quartz window is replaced by the APCI needle assembly. Switching between LC and GC is possible in the same way: here only the transfer line has to be replaced by a blind flange. In this design, the ionisation methods can be applied either individually or in combination as true multimode ionisation (e.g. APLI and APCI simultaneously). The efficiency of the individual modes was demonstrated with several standards. With this source, ionisation techniques such as ESI, APCI, APPI and APLI are available for both LC and GC. For LC, the additional multimode ionisation techniques APLI+ESI and APLI+APCI can be used.

APLI is a selective method for ionising non-polar aromatic compounds. On the one hand, this represents a limitation to the general applicability of the method, but on the other hand it makes it possible to ionise this class of compounds selectively in a complex matrix. Therefore ionisation labels and corresponding strategies for derivatisation were developed for LC-APLI-(TOF)MS and GC-APLI-(TOF)MS. These ionisation labels are aromatic compounds that can be detected with high sensitivity. They have an anchor group for covalent coupling with non-aromatic analytes. The derivative can then be detected sensitively by APLI. A study of REMPI spectra of several derivatives under atmospheric pressure showed that they do not differ significantly from those of the labels themselves, which indicates that the electronic proportion of the aromatic system of the derivative is not significantly influenced by the analyte. The practical application of the APLI ionisation labels was shown for LC-APLI-(TOF)MS and GC-APLI-(TOF)MS by study of a number of samples such as Brij[®] 72 and PEG 1000 and by the determination of the fatty acid content of vegetable oils and a technical fatty alcohol mixture.

Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
µM	Mikromol
4-DMAP	4-N,N-Dimethylaminopyridin
A	Ampère
Abb.	Abbildung
AD	Außendurchmesser
AP	atmospheric pressure
APCI	atmospheric pressure chemical ionization
API	atmospheric pressure ionization
APLI-MS	atmospheric pressure laser ionization mass spectrometry
APPI	atmospheric pressure photo ionization
ASAP	atmospheric solids analysis probe
BSTFA	Bis-N,O-trimethylsilyltrifluoracetamid
CEC	capillary electro chromatography
CE-LIF	Kapillarelektrophorese mit laserinduzierter Fluoreszenzdetektion
cf-FAB	continouos flow fast atom bombardment
CI	chemical ionization
CID	collision induced dissociation
da	Dalton
DA-APPI	dopant assisted atmospheric pressure photo ionization
DALI	desorption atmospheric pressure laser ionization
DART	direct analysis in real time
DESI	desorption electrospray ionization
DIAV	dynamisches Ionenakzeptanzvolumen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EIC	extracted ion chromatogram
ESAPLI	electrospray atmospheric pressure laser ionization
ESI	electrospray ionization
eV	Elektronenvolt
FA	Fettalkohol
FD-MS	Felddesorptions Massenspektrometrie

FID	Flammenionisationsdetektor
FI-MS	Feldionisations Massenspektrometrie
FS	Fettsäure
GC	Gaschromatographie
ggf.	gegebenenfalls
GPC	Gelpermeationschromatographie
HOBT	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	high performance liquid chromatography
Hz	Hertz
ID	Innendurchmesser
Kap.	Kapitel
kΩ	Kiloohm
LC	liquid chromatography
m/z	Masse / Ladungsverhältnis
MALDI	matrix assisted laser desorption ionization
MCP	micro channel plate
mJ	Millijoule
mL	Milliliter
MPEG	Methylpolyethylenglycol
MPIS	Multi purpose ion source
MPLI	medium pressure laser ionization
MS	mass spectrometry
MSTFA	N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoracetamid
Nd-YAG	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat
ng	Nanogramm
NICI	negative ion chemical ionization
nm	Nanometer
NMR	nuclear magnetic resonance
ns	Nanosekunde
OFET	organic field-effect transistor
OLED	organic light emitting diode
OPCW	Organization for the Prohibition of Chemical Weapons
OPO	optisch parametrischer Oszillator
PAK	Polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoff

PEG	Polyethylenglycol
PID	proportional integral derivative
ppm	parts per million
REMPI	resonance enhanced multiphoton ionization
RP	reversed phase
s.	siehe
SPE	solid phase extraction
SPME	solid phase micro extraction
TIC	total ion chromatogram
TMSH	Trimethylsulfoniumhydroxid
TOF	time of flight
TSP	thermospray
TTL	Transistor-Transistor-Logik
V	Volt
v/v	Volumenprozent
VUV-Strahlung	Vakuum-Ultra-Violett-Strahlung
W	Watt
z.B.	zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	LC-MS.....	1
1.2	LC-API-MS	3
1.3	Orthogonal Acceleration Time of Flight Mass Spectrometer (oa-TOF-MS).....	5
1.4	Ionisationsmethoden bei Atmosphärendruck	6
1.5	Elektrospray Ionisation (ESI).....	7
1.6	Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)	10
1.7	Atmospheric Pressure Photo Ionization (APPI).....	13
1.8	Atmospheric Pressure Laser Ionization (APLI)	16
1.8.1	Laser	18
2	Problemstellung und Zielsetzung	20
3	Ergebnisse und Diskussion.....	22
3.1	GC-APLI-(TOF)MS: Q-TOF Ultima (Waters).....	22
3.1.1	Entwicklung der Transferline	23
3.1.2	Untersuchung einer Mischung von PAKs und heterocyclischen PAKs	28
3.1.3	Möglichkeiten der Verbesserung der Transferline.....	30
3.2	LC- und GC-APLI-(TOF)MS: micrOTOF (Bruker Daltonics)	31
3.2.1	LC-APLI: Aufbau der Quelle.....	32
3.2.1.1	Optimierung wichtiger Parameter für den Betrieb der LC-APLI-Quelle	33
3.2.2	Analyse der EU Priority 15+1 PAKs mittels LC-APLI-(TOF)MS.....	38
3.2.3	GC-APLI-(TOF)MS: micrOTOF (Bruker Daltonics).....	41
3.2.3.1	GC-APLI: Aufbau der Transferline	41
3.2.3.2	Optimierung wichtiger Parameter für den Betrieb der GC-APLI-Quelle	46
3.2.4	Untersuchung einer Mischung von PAKs und heterocyclischen PAKs	49
3.2.4.1	Bestimmung von Nachweisgrenze und Linearität	50
3.2.5	Untersuchung von PAKs und ihrer Derivate in komplexer Matrix	51
3.2.5.1	Untersuchung des PAK-Gehaltes in Tocopherol A (Vitamin E).....	52
3.2.5.2	Bestimmung von 1-Hydroxypyren in Urin	55
3.2.6	Weitere Einsatzmöglichkeiten: APLI-Quellen.....	57
3.3	Aufbau einer Multi-Purpose API-Source (MPIS) für die GC- und LC-MS	58
3.3.1	Aufbau der verbesserten Transferline	59

3.3.1.1	Optimierung verschiedener Parameter zum Betrieb der neuen Transferline	63
3.3.1.2	Bestimmung des dynamischen Ionenakzeptanzvolumens der GC-APLI- Kopplung.....	66
3.3.2	Aufbau einer Multi-Purpose API-Source für die GC- und LC-MS: Integration der zusätzlichen API-Techniken	67
3.3.2.1	LC-APLI.....	69
3.3.2.2	GC-APLI	69
3.3.2.3	LC-APCI	69
3.3.2.4	GC-APCI.....	70
3.3.2.5	GC-APPI	70
3.3.2.6	LC-APLI/APCI	71
3.3.2.7	LC-ESI	71
3.3.2.8	LC-ESI/APLI	72
3.3.3	Verwendung der MPIS zur Analyse verschiedener Analytmischungen	72
3.3.3.1	LC- APLI.....	72
3.3.3.2	GC-APLI	73
3.3.3.3	DA-GC-APLI	76
3.3.3.4	DA-LC-APLI	77
3.3.3.5	LC-APCI	77
3.3.3.6	GC-APCI.....	78
3.3.3.7	GC-APPI	82
3.3.3.8	LC- ESI/APLI	83
3.3.3.9	LC-APCI/APLI	84
3.3.4	Ausblick und weitere Einsatzmöglichkeiten der MPIS.....	86
3.4	Charakterisierung von Bausteinen organischer Leuchtdioden (OLEDs) und weiterer Polymere mittels APLI.....	86
3.4.1	Organische LEDs	86
3.4.2	Triplettemitter.....	89
3.4.3	Bausteine moderner Polymere	92
3.5	Laserionisation bei Atmosphärendruck nach Desorption	94
3.5.1	Ausblick	101
3.6	Ionisationslabel in der APLI-(TOF)MS	102
3.6.1	Aufbau und Anwendung eines Ionisationslabels	103

3.6.2	Eigenschaften derivatisierter Verbindungen	107
3.6.2.1	REMPI-spektroskopische Eigenschaften derivatisierter Verbindungen	109
3.6.2.2	Modifikation des APLI-Systems zur Aufnahme von REMPI-Spektren	110
3.6.2.3	Korrektur der REMPI-Spektren mit der Laserleistung	114
3.6.3	REMPI-Spektren derivatisierter Verbindungen	116
3.6.4	APLI-(TOF)MS-Analyse von technischen Polyethylenglycolen und Pflanzenölen nach Derivatisierung.....	117
3.6.5	Aufbau und Anwendung von Ionisationslabeln in der GC-APLI-(TOF)MS.....	122
3.6.5.1	Untersuchung eines technischen Fettalkoholgemisches unter Verwendung von Ionisationslabeln mittels GC-APLI-(TOF)MS.....	125
3.6.5.2	Ausblick für die Weiterentwicklung von Ionisationslabeln für die GC- APLI-MS	133
4	Zusammenfassung	135
5	Experimenteller Teil.....	138
5.1	Lösungen und Mischungen	138
5.2	Darstellung verschiedener Verbindungen	138
5.2.1	(Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure	138
5.2.2	Reine Derivate von (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure	139
5.2.3	N- {[2-(4-Fluorphenyl)-ethylamino]-methyl}benzamid-hydrochlorid.....	140
5.2.4	N- {N-Nitroso[2-(4-Fluorphenyl)-ethylamino]-methyl}benzamid.....	140
5.2.5	1-(2-Diazoethyl)-4-fluorbenzol.....	140
5.3	Derivatisierung von Standards und Realproben.....	141
5.3.1	Derivatisierung von 1-Hydroxypyren	141
5.3.2	Probenvorbereitung einer Urinprobe.....	141
5.3.3	Allgemeine Vorschrift zur Derivatisierung von Standardverbindungen (Alkohole und Amine)	141
5.3.4	Allgemeine Vorschrift zur Derivatisierung von Standardverbindungen (Carbonsäuren).....	142
5.3.5	Derivatisierung von Brij [®] 72, PEG 1000 und MPEG 1000.....	142
5.3.6	Derivatisierung einer Mischung aus Hexadecansäure, Heptadecansäure und Octadecansäure.....	142
5.3.7	Derivatisierung von freien Carbonsäuren in Pflanzenöl	143
5.3.8	Derivatisierung der Alkohole und freien Carbonsäuren in Lorol Spezial.....	143
5.3.9	Beladen von Quarzsand mit PAKs.....	144

5.4	Durchführung verschiedener chromatographischer Trennungen und Analysen....	144
5.4.1	GC-API-MS	144
5.4.2	LC-API-MS	147
5.4.3	LC-API-MS	147
5.4.3.1	Methode 1:.....	147
5.4.3.2	Methode 2:.....	147
5.4.4	MALDI-(TOF)MS	147
5.4.5	NMR.....	148
5.5	Wechsel der Gasfüllung des Excimer-Lasers.....	148
5.6	Geräte und Materialien.....	148
5.6.1	Geräte	148
5.6.2	Chemikalien	149
6	Verzeichnisse	154
6.1	Abbildungsverzeichnis	154
6.2	Tabellenverzeichnis.....	157
6.3	Literaturverzeichnis.....	159

1 Einleitung

Seit ihrer Einführung durch J. J. Thomson zur Bestimmung der Masse des Elektrons hat die Bedeutung der Massenspektrometrie (MS) als Analysenmethode stetig zugenommen. So ist die Anwendung eines Massenspektrometers heute aus vielen analytischen Anwendungen nicht mehr wegzudenken ^[1]. Der Anwendungsbereich umspannt auf der einen Seite die Analyse von Atomen ^[2] und kleinen Molekülen ^[3 - 5] und auf der anderen Seite die Untersuchung von Makromolekülen mit einem Molekulargewicht von einigen hundert Kilodalton ^[6, 7].

Aus diesem breiten Anwendungsbereich der Massenspektrometrie wird deutlich, dass die Bestimmung des Verhältnisses aus Masse zu Ladung (m/z) in vielen Bereichen der Forschung, wie beispielsweise im Life Science Bereich, eine zentrale Rolle einnimmt ^[8, 9]. Diese Rolle ist jedoch nur dann möglich, wenn die wesentlichen Bestandteile und Funktionen eines Massenspektrometers, wie die Art der Probenaufgabe (fest, flüssig, kontinuierlich, diskontinuierlich, in Lösung, im Vakuum, bei Atmosphärendruck), die Ionisationsmethode, die Art der Massenanalyse, die Detektion und die Datenaufnahme, im Hinblick auf die konkrete Anforderung untereinander abgestimmt werden.

1.1 LC-MS

Die in den 1970er Jahren beginnende Entwicklung der Kopplung von Flüssigchromatographie (LC) und Massenspektrometrie zur LC-MS stellt eine entscheidende Weiterentwicklung in der Anwendung der Massenspektrometrie dar. Eine solche Kopplung ermöglicht die direkte Auftrennung einer komplexen Mischung, bei der die massenspektrometrische Analyse online erfolgen kann. Ein aufwendiges Sammeln einzelner Fraktionen ist nicht notwendig ^[10, 11].

Die besondere Herausforderung einer solchen Kopplung besteht darin, dass zwei eigentlich nur schwer miteinander kombinierbare Systeme, nämlich die flüssigchromatographische Trennstufe mit einem Fluss von etwa 1 mL/min und das im Hochvakuum arbeitende Massenspektrometer miteinander verbunden werden müssen. Hierbei muss das Vakuum im Analysator aufrecht erhalten werden und der Analyt die Ionenquelle erreichen ^[12, 13].

Zur Realisierung dieser Kopplung gab es verschiedenste Ansätze. Bei den frühen Ansätzen wurde das Lösungsmittel zunächst im Vakuum verdampft und die Ionisation der Analyten anschließend mit klassischen Vakuumionisationsmethoden wie der Elektronenstoßionisa-

tion ^[14] oder der chemischen Ionisation ^[15] durchgeführt ^[16, 17]. In einem Beispiel der heute nicht mehr verbreiteten Konzepte gelangte das Eluat der chromatographischen Trennstufe mit einem Fluss im Bereich von einigen nL/min bis $\mu\text{L}/\text{min}$ ^[18, 19] über eine dünne Kapillare direkt in die Ionenquelle des Massenspektrometers ^[20, 21]. Alternativ wurde das Eluat mit einem Fluss im Bereich einiger $\mu\text{L}/\text{min}$ unter Verwendung eines Vakuum-Nebulizers ^[22] oder in Form eines Jets durch ein Diaphragma in den Vakuumbereich des Massenspektrometers versprüht. Zur Ionisation konnte hier sogar das Lösungsmittel als CI-Gas genutzt werden ^[23, 24]. Ein weiteres, heute ebenfalls nicht mehr verwendetes LC-MS-Interface war das Moving-Belt-System. Das Eluat aus der flüssigchromatographischen Trennstufe wurde zunächst auf einem langsam laufenden Endlosband so lange getrocknet, bis nur noch der reine Analyt vorlag. Dann wurde der Analyt in der Ionenquelle thermisch desorbiert und anschließend ionisiert ^[25]. Ein ebenfalls unter Aufkonzentrierung arbeitendes System war das Stopped-Flow-LC-MS-System. Hier wurde das Eluat der LC in ein Reservoir geleitet und der Eluentenfluss mit einem Ventil gestoppt, sobald dieses komplett gefüllt war. Dann wurde das Lösungsmittel entfernt und der in der Fraktion enthaltene Analyt auf einem Adsorber an der Spitze des Reservoirs festgehalten und nach vollständiger Verdampfung des Lösungsmittels in die Ionenquelle desorbiert ^[26]. Beim Continuous-Flow-Fast-Atom-Bombardment (cf-FAB) wurde dem Eluat eine schwerflüchtige Substanz wie Glycerin im Prozentbereich als Matrix zugesetzt und der Analyt durch Verdampfen des Lösungsmittels im Vakuum auf dem FAB-Target in die Matrix eingebettet und dort durch Beschuss mit hochenergetischen Atomen oder Ionen ionisiert ^[27, 28].

Ein gemeinsamer Nachteil der bisher vorgestellten LC-MS-Kopplungen war die auftretende Limitation des Flusses, der auf einige $\mu\text{L}/\text{min}$ begrenzt werden musste. Hier konnte eine deutliche Verbesserung durch das Thermospray (TSP) Interface erreicht werden, mit dem Flüsse wässriger Eluenten von bis zu 2 mL/min direkt in die Ionenquelle möglich waren. Bei reduziertem Druck wurde in einer Kammer mit einem geheizten Nebulizer ein Jet aus verdampftem Lösungsmittel und kleinen Tröpfchen erzeugt. Hier erfolgte auch die Ionisation der Analyten mit oder ohne zusätzlich eingeschaltetem Filament. Die gebildeten Ionen wurden schließlich durch einen Skimmer in das Hochvakuumssystem des Massenspektrometers eingelassen ^[29 - 31].

1.2 LC-API-MS

Das Konzept der Atmosphärendruck-Ionenquellen (API) findet heute bei modernen Massenspektrometern häufig Verwendung^[32]. Diese Ionenquellen bestehen im Wesentlichen aus fünf Teilen: i) einer Flüssigkeitsaufgabereinheit (z.B. einem Nebulizer oder einer ESI-Nadel), ii) der eigentlichen Ionisationszone (z.B. die Region um die Corona bei der APCI), iii) dem Einlass für die Ionen ins Vakuumsystem (z.B. ein Skimmer oder eine Glaskapillare mit metallbedampften Enden), iv) dem Interface zwischen Atmosphärendruckregion und dem Vakuumbereich des Massenspektrometers und v) der Ionenoptik^[10]. Bei diesem Konzept ist eine große Vielfalt möglich, auf die an dieser Stelle aber nicht eingegangen werden kann.

Im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen LC-MS-Systemen findet die Ionisation in API-Quellen bei einem Druck von einer Atmosphäre statt. Vorteilhaft ist, dass der bereits in der Atmosphärendruckregion ionisierte Analyt besonders gut angereichert werden kann. Somit kann der größte Teil des verdampften Eluenten den Hochvakuumbereich des Massenspektrometers nicht erreichen^[32, 33]. Der Aufbau einer solchen Atmosphärendruck-Ionenquelle ist in Abbildung 1 am Beispiel des micrOTOFs der Firma Bruker Daltonics gezeigt.

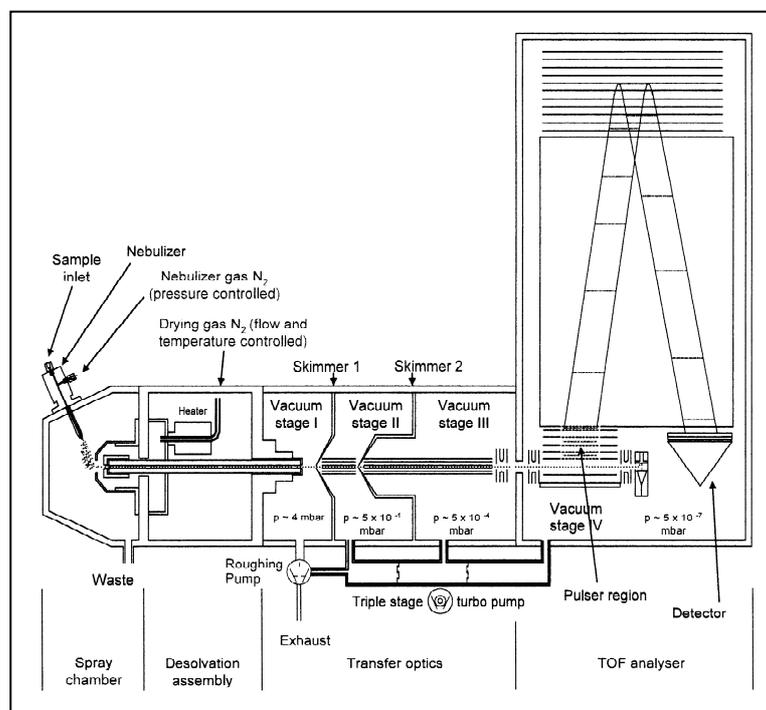


Abbildung 1: Schematischer Aufbau des micrOTOF von Bruker Daltonics

Auch diese Quelle enthält die bereits erwähnten fünf Bauteile einer modernen Atmosphärendruckquelle. In der Spraykammer (Abb. 1) wird der Analyt zusammen mit dem

Lösungsmittel über eine entsprechende Verdampfungs- bzw. Versprühstufe, die senkrecht zum Eingang des Vakuumsystems steht (Glaskapillare mit metallbedampftem Ende und 0,5 mm Innendurchmesser), versprüht und in die Gasphase überführt. Aufgrund dieser Anordnung können hier Flüsse im Bereich von 1 mL/min verwendet werden ^[34]. Ein Verschmutzen des Einlasses durch schwerflüchtige Komponenten, wie es bei früheren Konzepten auftreten konnte, bei denen der Sprayer auf gleicher Höhe oder leicht außerhalb der Achse zum MS-Einlass positioniert war ^[35 - 37], wird verhindert ^[32]. Unterstützend wirkt hierbei ein geheizter Stickstoffstrom, der die Einlasskapillare umströmt und zusätzlich die Verdampfung unterstützt ^[10, 36]. Die durch verschiedene Ionisationstechniken gebildeten Ionen werden dann zusammen mit dem als Badgas (Gas in der Ionenquelle) verwendeten Stickstoff und dem verdampften Lösungsmittel in den MS-Einlass geleitet. Dies gelingt durch den Flussgradienten und im Fall des ionisierten Analyten zusätzlich durch elektrische Felder. Ionen und Gase passieren die Glaskapillare (MS-Eingang) durch viskosen Fluss ^[36, 38]. Die Einlasskapillare endet in der ersten differentiellen Pumpstufe, die den ersten Teil des mehrstufigen Vakuumsystems bildet und einen Druck von etwa 4 mbar aufweist. Aufrecht erhalten wird dieses Vakuum durch eine mehrstufige Turbomolekularpumpe mit einer vorgeschalteten Drehschieberpumpe. Die Expansion des Gases in den Vakuumbereich der ersten differentiellen Pumpstufe führt aufgrund der adiabatischen Expansion des Gases zu einer starken Abkühlung und Ausbildung eines Jets, der auf den ersten Skimmer gerichtet ist. Die Ausbildung des Jets führt dazu, dass Moleküle mit einer höheren Masse einen geringeren Impuls senkrecht zur Achse, bestehend aus Skimmer und Kapillarende aufweisen. Damit erreichen bevorzugt schwerere Teilchen die zweite differenzielle Pumpstufe, da der Skimmer so dimensioniert ist, dass nur der zentrale Teil des Jets diesen passieren kann. Das Badgas sowie die als Eluenten verwendeten Lösungsmittel weisen in der Regel eine geringere Masse als der Analyt auf und werden daher beim Transport diskriminiert ^[33]. Wird zwischen dem Ende der Transferkapillare und dem ersten Skimmer eine ausreichend hohe Potentialdifferenz angelegt, können die gebildeten Analytionen weiter beschleunigt werden. Durch die in diesem Druckbereich noch recht häufigen Stöße kann den Analytionen genügend Energie zugeführt werden, um eine stoßinduzierte Fragmentierung (collision induced dissociation, CID) auszulösen ^[39 - 41]. Auf diese Weise können hier weitere Strukturinformationen, die über die bloße Masse des Analyten hinausgehen, gewonnen werden ^[42]. Der Transport der Ionen durch die zweite und dritte Vakuumstufe erfolgt unter Verwendung von RF-only Hexapolen. Hierdurch ist auf der einen Seite der verlustfreie Transport von Ionen über lange Distanzen und auf der anderen Seite eine Fokussierung des Ionenstrahls möglich. Darüber hinaus

können die Hexapole als Filter eingesetzt werden, um Ionen ab einer gewünschten Masse durchzulassen ^[43, 44]. Der auf die dritte differentielle Pumpstufe folgende Massenanalysator, der kein Teil der Atmosphärendruck-Ionenquelle mehr ist, trennt die Ionen nach ihrem Verhältnis aus Masse zu Ladung (m/z).

1.3 Orthogonal Acceleration Time of Flight Mass Spectrometer (oa-TOF-MS)

Die Bestimmung des Verhältnisses aus Masse zu Ladung mit einem TOF-MS wird über die Flugzeit eines in eine feldfreie Flugstrecke hinein beschleunigten Analyten erreicht. In einem oa-TOF-MS wird der aufgrund der kontinuierlichen Ionisation (z.B. ESI oder APCI) gebildete kontinuierliche Ionenstrahl nach der letzten Stufe der Ionenoptik orthogonal zur Flugrichtung der Ionen beschleunigt ^[45]. Dieser Beschleunigungspuls, der durch das Anlegen eines elektrischen Feldes erreicht wird, stellt gleichzeitig den Startzeitpunkt der massenspektrometrischen Flugzeitanalyse dar. Durch den Beschleunigungspuls werden alle sich zum Zeitpunkt des Beschleunigungspulses in der push-Einheit des Massenspektrometers befindlichen Ionen auf die gleiche kinetische Energie gebracht. In Abhängigkeit der Masse ergibt sich die in Gleichung 1 gezeigte Flugzeit.

$$t^2 = \frac{m}{z} \cdot \frac{d^2}{2eV}$$

t: Zeit

d: Flugstrecke

m: Masse des Ions

z : Ladungszahl

e : Elementarladung

V : Beschleunigungspotential

Gleichung 1: Flugzeit bei der Time of Flight Massenanalyse

Die orthogonale Beschleunigung ist notwendig, damit die in der Atmosphärendruckregion kontinuierlich gebildeten Ionen den Detektor nicht alle gleichzeitig erreichen und die Aufnahme eines Massenspektrums, welche diskontinuierlich verläuft (maximale Spektrenaufnahmerate ca. 30000 Hz), möglich wird. Mit jedem Beschleunigungspuls wird ein vollständiges Massenspektrum aufgenommen. Durch die orthogonale Beschleunigung kann auch eine höhere Massenauflösung erreicht werden, da die gebildeten Ionen in der

orthogonalen Beschleunigungsrichtung eine geringere Divergenz aufweisen. Zur weiteren Fokussierung des Ionenpaketes wird häufig, wie auch im vorliegenden System, ein elektrostatisches Reflektron eingesetzt. In dieses tauchen die Ionen in Abhängigkeit der leicht unterschiedlichen kinetischen Energie verschieden tief ein. Dies bewirkt eine zusätzliche Fokussierung, bevor die Ionen das Reflektron wieder in Richtung des Detektors verlassen^[32, 45, 46], der im Fall des vorliegenden Systems von Bruker Daltonics aus micro channel plates (MCPs) besteht.

1.4 Ionisationsmethoden bei Atmosphärendruck

Wie bereits dargestellt, ist es für die AP-Massenspektrometrie notwendig, dass die Ionen bereits in der Atmosphärendruckregion der Quelle gebildet werden. Zur Ionisation der Analyten werden dabei in Abhängigkeit der Eigenschaften der Analyten verschiedene Ionisationsmethoden verwendet^[47]. Die Elektrospray-Ionisation (ESI) ist zur Ionisation polarer Analyten und aufgrund des Auftretens von Mehrfachladungen insbesondere bei großen Biomolekülen wie Proteinen geeignet^[48, 49]. Die Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) findet eher Verwendung bei der Ionisation von mittelpolaren Substanzen^[32]. Als Ionisationsmethode zur Analyse von mittelpolaren bis unpolaren Analyten kann sowohl die APPI (Atmospheric Pressure Photoionisation) also auch die dopant assisted-APPI (DA-APPI) verwendet werden (Abb. 2)^[50 - 52]. Die Atmospheric Pressure Laser Ionisation (APLI) zeigt eine herausragende Empfindlichkeit bei der Analyse unpolarer aromatischer Verbindungen^[53].

Neben den drei wichtigsten Atmosphärendruck-Ionisationsmethoden existiert eine Vielzahl weiterer Ionisationsmethoden bei Atmosphärendruck wie die Sonic-Spray-Ionisation^[54], die Laser-Spray-Ionisation^[55] oder die Surface-activated no-discharge atmospheric pressure chemical ionization^[56].

Auch existieren Quellenkonzepte, bei denen zwei Ionisationsmethoden wie ESI+APCI^[57, 58], ESI+APPI^[59, 60], APPI+APCI^[60] und ESI+APLI^[61] parallel oder in schnellem Wechsel verwendet werden, um eine möglichst große Ionisationsausbeute für eine Vielzahl von Analyten mit unterschiedlicher Polarität zu erhalten.

Der prinzipielle Aufbau der verwendeten Ionenquellen sowie die zugrunde liegenden Mechanismen der Ionisation werden im Folgenden dargestellt.

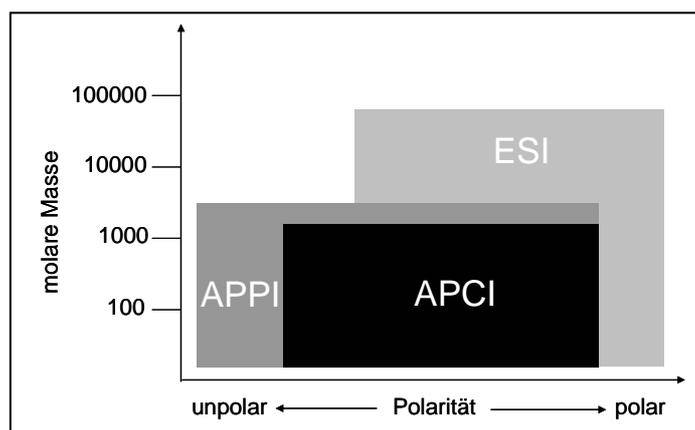


Abbildung 2: Anwendungsbereiche verschiedener AP-Ionisationsmethoden ^[62]

1.5 Elektrospray Ionisation (ESI)

ESI ist die Atmosphärendruck-Ionisationsmethode, die sicherlich die größte Verbreitung unter den AP-Ionisationsmethoden gefunden hat. Sie hat maßgeblich zum Erfolg der AP-Massenspektrometrie und deren rascher Entwicklung beigetragen ^[32].

ESI wurde von Fenn et al. ^[37, 63] aufbauend auf den Arbeiten von Dole et al. ^[64, 65] entwickelt und für die Ionisation einer Vielzahl von Verbindungen etabliert. Die eigentliche ESI-Massenspektrometrie kann in drei wesentliche Schritte unterteilt werden: i) das Vernebeln der flüssigen Phase (des Eluates) in elektrisch geladene Tröpfchen, ii) die Freisetzung der Ionen aus den elektrisch geladenen Tröpfchen und iii) der Transport der Ionen aus dem Atmosphärendruckbereich der Ionenquelle in den Vakuumbereich des Massenanalysators und der hier erfolgenden Massenanalyse ^[66].

Ziel der ESI ist es, nicht flüchtige Analyten unverändert in die Gasphase zu überführen und dabei gleichzeitig zu ionisieren.

Die Funktionsweise einer ESI-Quelle wurde bereits in Kapitel 1.2 bei der allgemeinen Darstellung der Funktionsweise einer AP-Quelle einschließlich Ionentransport durch die differentiellen Pumpstufen beschrieben. Daher wird im Folgenden nur eine kurze Darstellung der bei der eigentlichen Elektrospray-Ionisation wichtigen Prozesse gegeben. In Abbildung 3 ist der schematische Aufbau einer ESI-Quelle gezeigt.

In der ursprünglichen von Fenn et al. ^[37] entwickelten ESI-Quelle wird die flüssige Probe durch eine Metallkapillare mit einem Innendurchmesser von 100 μm in die Quelle geleitet. Unter Verwendung dieses reinen Elektrosprays können Flussraten bis zu etwa 10 –20 $\mu\text{L}/\text{min}$

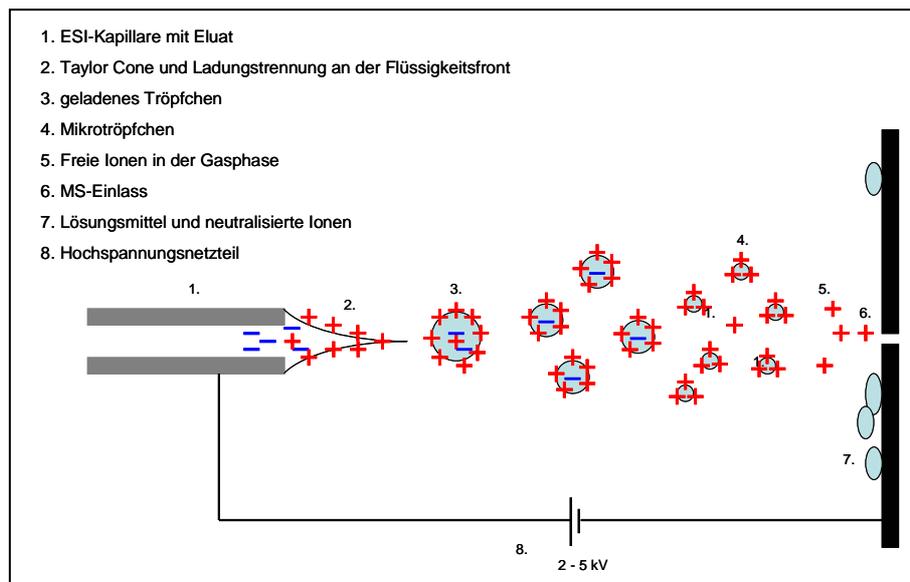


Abbildung 3: Schematischer Aufbau einer ESI-Quelle

erreicht werden ^[35 - 37]. Um größere Flussraten in Verbindung mit der ESI nutzen zu können, wurde die pneumatisch assistierte ESI eingeführt. Dabei wird die Metallkapillare, durch welche die Flüssigkeit in die Ionenquelle versprüht wird, zusätzlich von einem Gasstrom (meist Stickstoff) mit einer hohen Gasflussgeschwindigkeit umschlossen. Somit wird die Tröpfchenbildung am Ende der Kapillare unterstützt. Dies ermöglicht die Verwendung größerer Flussraten des Eluates bis zu 1 mL/min ^[34, 35].

Die an die Metallkapillare (2 - 5 kV) angelegte Hochspannung führt zu mehreren Effekten. Zum einen wird ein starkes elektrisches Feld um die Kapillare herum aufgebaut. In diesem Feld werden die positiven Ionen (wenn an die Kapillare ein positives Potential angelegt wird) am vorderen Ende der Kapillare an den Rand der Flüssigkeitsfront gedrückt. Die austretende Flüssigkeit bildet einen Taylor Cone, von dessen Ende sich kleine elektrisch geladene Tröpfchen lösen und in das umgebende Badgas übertreten ^[67, 68]. Durch die Hochspannung wird eine Ladungstrennung zwischen dem Tröpfchen, das im vorliegenden Fall eine positive Ladung trägt, und der in der Kapillare verbleibenden Flüssigkeit erreicht. Eine immer stärker werdende negative Aufladung der Flüssigkeitssäule in der Metallkapillare wird dadurch verhindert, dass es an der Kontaktfläche zwischen Flüssigkeit und Metallkapillare zu elektrochemischen Prozessen kommt. Bei diesen Prozessen tritt entweder eine Oxidation (positives Potential an der Metallkapillare) oder eine Reduktion (negatives Potential an der Metallkapillare) von gelösten Molekülen oder Ionen ein. Die Gegenelektrode bildet der auf niedrigerem Potential liegende (geerdete) MS-Einlass bzw. eine speziell hierfür in der Quelle positionierte Elektrode. Eine ESI-Quelle kann also als elektrochemische Zelle aufgefasst

werden^[69 - 71]. Damit die ESI-Quelle in der beschriebenen Weise als elektrochemische Zelle funktioniert und bei hohen Spannungen, insbesondere im Negativmodus, an der Kapillarspitze keine Entladung oder die Freisetzung von Elektronen auftritt, können dem Badgas Substanzen mit einer hohen Elektronenaffinität zugesetzt werden. Beispiele hierfür sind Sauerstoff oder Schwefelhexafluorid, die verwendet werden, um eventuell freigesetzte thermische Elektronen abzufangen^[63, 72].

Für die schlussendliche Bildung von Gasphasenionen existieren zwei mechanistische Erklärungsansätze. Zum einen das „charge residue Modell“ von Dole et al.^[64], das vom Vorhandensein bereits in Lösung vorgebildeter Ionen ausgeht. Das in der Ionenquelle gebildete Tröpfchen (ID: 1 μm) wird durch Verdunstung des Lösungsmittels immer kleiner, bis es aufgrund der immer größer werdenden Ladungsdichte zerfällt und aus diesem Vorläufer neue, kleinere Tröpfchen gebildet werden, die ihrerseits wieder zerfallen, bis schließlich Mikrotröpfchen (ID: 10 nm) übrig bleiben. Diese enthalten nur noch ein einziges geladenes Molekül mit Solvathülle, das schließlich durch Verdunstung der Solvathülle als freies Ion in die Gasphase entlassen wird^[64].

Das zweite Modell ist das „ion evaporation Modell“ von Iribarne und Thomson^[73]. Auch in diesem Modell wird die Bildung von Mikrotröpfchen aus größeren Vorläufern angenommen. Allerdings besteht hier die Annahme, dass es möglich ist, dass einzelne Ionen die Oberfläche des geladenen Tröpfchens direkt verlassen und in die Gasphase übergehen können^[73].

Im Gegensatz zu den anderen AP-Ionisationsmethoden ist die Elektrospray-Ionisation eine konzentrations- und nicht stoffmengenabhängige Ionisationsmethode^[74]. Ab einer Konzentration von etwa 10 μM ist eine Sättigung des Signals erreicht und es kommt zu keinem linearen Anstieg des Signals^[75, 76]. Dies ist dadurch zu erklären, dass ab dieser Konzentration die Oberfläche eines Tröpfchens mit geladenen Molekülen gesättigt ist und weitere geladene Moleküle die Oberfläche nicht mehr ungehindert erreichen können^[75, 77]. Sind nicht nur ein, sondern verschiedene Analyten im Tröpfchen, können Diskriminierungseffekte auftreten, wenn eine Spezies sich bevorzugt an der Oberfläche aufhält (z.B. oberflächenaktiv ist) und die andere solvatisiert im Inneren des Tröpfchens vorliegt^[78, 79].

Die Bildung eines Ions aus dem zuvor neutralen Analyten in der Elektrospray-Ionisation kann auf verschiedene Weise erfolgen: i) besitzen Analyten geeignete strukturelle Eigenschaften wie saure oder basische Gruppen, können sie bereits in der Lösung durch Aufnahme oder Abgabe eines Protons als vorgebildetes Ion vorliegen, ionische Verbindungen wie Salze (z.B. quartäre Ammoniumverbindungen) liegen nach Dissoziation ebenfalls als vorgebildete Ionen

vor ^[80]; ii) eine besondere Form der bereits in Lösung vorgebildeten Ionen stellen die durch elektrochemische Vorgänge (Oxidation oder Reduktion) in der ESI-Kapillare gebildeten Ionen dar. Diese Form der Ionisation kann bei Verbindungen mit einem geringen Ionisationspotential wie polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAKs) auftreten ^[81]; iii) besitzt das zu untersuchende Molekül keine geeignete Struktur, um in Lösung als bereits vorgebildetes Ion vorzuliegen, kann es zur Adduktbildung an den ansonsten neutralen Analyten kommen, indem etwa NH_4^+ , Na^+ , Cl^- , Acetat oder Trifluoracetat sich an den Analyten anlagern. Die Bildung dieser Addukte kann durch geeignete Zusätze zum Eluat begünstigt werden ^[82, 83]; iv) eine weitere Möglichkeit stellt die chemische Ionisation an der Tröpfchenoberfläche oder in der Gasphase dar. Werden Protonen auf ein Molekül mit ausreichender Gasphasenbasizität übertragen, kann sich durchaus ein neues Gleichgewicht einstellen. Wenn Flüssigphasen- und Gasphasenbasizität nicht übereinstimmen, kann das Vorhandensein von Verbindungen mit einer sehr hohen Gasphasenbasizität zur Diskriminierung einzelner Analyten mit einer geringeren Gasphasenbasizität führen ^[68, 84, 85].

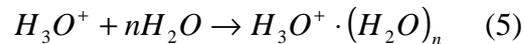
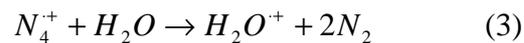
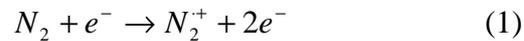
1.6 Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)

Eine Alternative zur Ionisation von mittelpolaren Verbindungen stellt die APCI dar ^[86]. Im Gegensatz zur ESI, die sich insbesondere auch für die Ionisation von großen Molekülen eignet, ist die APCI eher für die Ionisation kleiner Moleküle bis zu einigen tausend Dalton geeignet.

Die APCI wurde von Horing et al. in den 1970er Jahren entwickelt ^[87 - 90]. Diese Ionisationsmethode wurde sowohl für die Flüssig- ^[88, 90] als auch für die Gaschromatographie ^[91] verwendet. Anders als bei der klassischen chemischen Ionisation, die im Niederdruckbereich eines Massenspektrometers stattfindet, erfolgt die APCI im Atmosphärendruckbereich der Quelle ^[89]. Dies bedingt eine deutlich höhere Anzahl an Stößen, wodurch eine um bis zu drei Größenordnungen höhere Empfindlichkeit erreicht werden kann. Die größere Anzahl an Stößen bedeutet aber auch, dass in der APCI das thermodynamisch bevorzugte Reaktionsprodukt gebildet wird, während in der klassischen CI eher das kinetisch kontrollierte Produkt entsteht ^[92].

Die weite kommerzielle Verbreitung der APCI erfolgte aber erst zusammen mit der ESI, da erst zu dieser Zeit Massenspektrometer mit einer Atmosphärendruck-Ionenquelle zur Verfügung standen. Die APCI wird heute nahezu ausschließlich in Verbindung mit der Flüssigchromatographie angewandt ^[92].

Analog zur klassischen CI, die bei etwa 1 mbar durchgeführt wird ^[15], handelt es sich bei der APCI um eine chemische Ionisation, bei der über verschiedene Ionen-Molekülreaktionen schließlich die Ionisation des Analytmoleküls erreicht wird. Initiiert werden diese Reaktionen durch Elektronen ^[88, 89, 93]. Anders als in der CI, in der ein geheiztes Filament Elektronen freisetzt, das aber in der APCI aufgrund der korrosiven Bedingungen nicht zu verwenden ist, können in der APCI verschiedene Quellen für Elektronen eingesetzt werden. So wurde anfänglich eine Ni⁶³-Folie ^[89], aus der durch β -Zerfall energiereiche Elektronen austreten und später die heute noch eingesetzte Corona-Nadel ^[32, 88] als Elektronenquelle verwendet. An diese sehr spitze Nadel wird ein hohes elektrisches Potential und damit ein Feldgradient angelegt, so dass es zur Ausbildung einer Coronaentladung kommt, die kontinuierlich Elektronen freisetzt. Diese freigesetzten Elektronen induzieren Ionen-Molekülreaktionen, die schließlich zur Ionisation der Analyten führen (Reaktionen 1 - 5).



Ausgehend von dem einmal ionisierten Stickstoff kommt es zu einer Reihe weiterer Reaktionen, an denen auch Wasser als Reaktionspartner teilnimmt. Die schließlich gebildeten $H_3O^+ \cdot (H_2O)_n$ -Cluster sind für die Übertragung von Protonen auf einen Analyten mit ausreichender Gasphasenbasizität verantwortlich, so dass $[M+H]^+$ -Ionen im Positivmodus detektiert werden ^[89, 93 - 95]. Wasser kann in der Atmosphärendruckquelle als Reaktionspartner dienen, da es in Spuren immer vorhanden ist. Quellen sind der als Badgas verwendete Stickstoff ^[96] oder Lösungsmittel der RP-LC. Neben der Protonenübertragung durch $H_3O^+ \cdot (H_2O)_n$ -Cluster können noch über andere Kanäle positiv geladene Ionen gebildet werden. So lassen sich Verbindungen mit einem ausreichend geringen Ionisationspotential, wie etwa PAKs, auch mit der APCI durch direkten Ladungsaustausch in Radikalkationen überführen ^[97, 98]. Eine dritte Möglichkeit zur Ionisation neutraler Moleküle ist die Bildung von Addukten mit anderen Kationen wie NH_4^+ oder NO^+ . Dabei können Gase wie Ammoniak, Isobutan und Stickstoffmonoxid in die Ionenquelle gegeben werden, die den in den Gleichungen 1 - 5 gezeigten Reaktionsablauf beeinflussen. So führt die Zugabe von Ammoniak dazu, dass nur noch Verbindungen, die eine höhere Gasphasenbasizität als Ammoniak aufweisen, das $[M+H]^+$ -Ion bilden. Hierdurch entsteht eine gewisse Selektivität.

NO wird als Reaktandgas verwendet, um die Ladungsübertragung und damit die Bildung von Radikalkationen zu bevorzugen ^[99]. Aber nicht nur ein Reaktandgas kann in die Kette aus Ionen-Molekülreaktionen integriert werden. Es besteht auch die Möglichkeit, dass das verwendete Lösungsmittel in die Reaktionskette eingreift. Ein Beispiel hierfür ist Benzol. Das Phenylradikalkation kann sowohl als Ladungsüberträger als auch als Protonenüberträger wirken ^[87, 89].

Mittels APCI ist es ebenfalls möglich, über verschiedene Ionen-Molekülreaktionen Anionen zu bilden. Wie schon bei der Kationenbildung werden auch bei der Anionenbildung die Ionen-Molekülreaktionen durch freigesetzte Elektronen initiiert. Hierbei findet die Freisetzung der Elektronen an der Spitze der auf negativem Potential liegenden Corona-Nadel statt. Diese thermischen Elektronen können in der Quelle mit Spuren von vorhandenem Sauerstoff oder mit Wasser reagieren und Superoxidionen ($O_2^{\cdot-}$) ^[100] oder Hydroxidionen ($OH^{\cdot-}$) ^[92] bilden. Beide Spezies stellen Gasphasenbasen dar, die bei hinreichend aciden Molekülen ein Proton abstrahieren ^[92, 100]. Der Akzeptor für die thermischen Elektronen muss jedoch nicht zwangsläufig Sauerstoff oder Wasser sein, sondern kann auch der Analyt selbst sein. Die Aufnahme eines Elektrons (Electron capture APCI) führt dann zur Bildung eines Radikalanions. Dieses Anion kann nachfolgend in einen anionischen und einen radikalischen Teil (dissociative electron capture APCI) zerfallen. Aufgrund der hohen Elektronenaffinität der Pentafluorbenzylgruppe werden Elektronen mit hoher Effizienz eingefangen, so dass diese Gruppe häufig zur Derivatisierung verwendet wird ^[101, 102]. Eine weitere Möglichkeit zur Ausbildung eines Anions ist die Adduktbildung mit einem Anion wie etwa Chlorid ^[103, 104].

Bei der APCI handelt es sich um eine Ionisationsmethode, bei der die Ionisation durch Ionen-Molekülreaktionen in der Gasphase stattfindet. Hierzu muss der Analyt nach flüssigchromatographischer Trennung in die Gasphase überführt und vom Eluenten getrennt werden. Zu diesem Zweck werden elektrisch beheizte Sprayer verwendet, die aus einer pneumatisch assistierten Versprühstufe bestehen, aus der das Eluat in eine coaxial angeordnete geheizte Verdampfungszone vernebelt wird ^[32, 90]. Hier findet die eigentliche Desolvatation bei erhöhter Temperatur statt. Die Ionisationsausbeute wird deutlich verbessert, wenn die Desolvatation weitgehend vollständig verläuft ^[95]. In Abbildung 4 ist der Aufbau einer APCI-Quelle schematisch gezeigt.

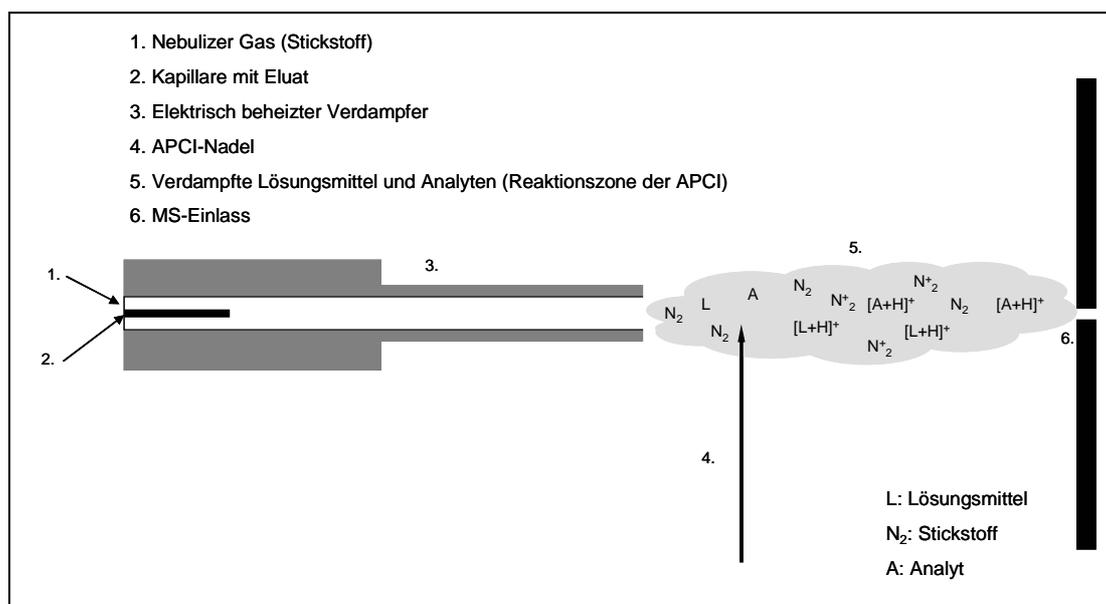
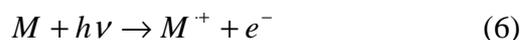


Abbildung 4: Schematischer Aufbau einer APCI-Quelle

1.7 Atmospheric Pressure Photo Ionization (APPI)

Eine dritte, immer mehr an Bedeutung gewinnende Atmosphärendruck-Ionisationsmethode ist die APPI, die zur Ionisation von mittel bis unpolaren Verbindungen im Jahr 2000 unabhängig von Robb et al.^[50] und Syage et al.^[51] in die LC-MS eingeführt wurde.

Zur Ionisation wird bei der APPI eine Edelgasentladungslampe benutzt, die Photonen im Vakuum-Ultraviolett (VUV)-Bereich (z.B. Krypton 123,9 nm (10,0 eV), 116,5 nm (10,6 eV)) emittiert^[50, 51]. VUV-Strahlung findet schon lange in der LC und GC in Form des Photoionisationsdetektors Verwendung und wird dort für die direkte Ionisation eingesetzt^[105-109]. Die mit 10 eV recht hohe Energie der verwendeten Photonen führt bei vielen Analyten zur direkten Ionisation (direkte APPI) (Reaktion 6). Das Ionisationspotential der gängigen RP-LC-Lösungsmittel wie Wasser, Acetonitril und Methanol liegt oberhalb von 10,6 eV^[50].

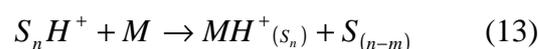
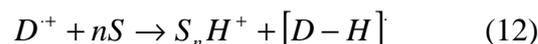
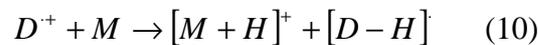
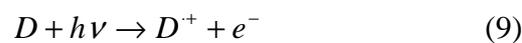


Bei der APPI wird jedoch für viele Substanzen, insbesondere wenn diese eine hohe Gasphasenbasizität aufweisen, nicht das Radikalkation beobachtet, sondern das Quasimolekülion $[M+H]^+$. Ein Mechanismus für das vermehrte Auftreten des $[M+H]^+$ -Ions wurde von Syage et al. postuliert^[110]. Dieser beruht auf Untersuchungen bei vermindertem Druck sowie thermodynamischen Überlegungen. Das $[M+H]^+$ -Ion wird gebildet, indem das primär entstehende Radikalkation ein Proton aus dem protischen Lösungsmittel abstrahiert (Reaktion 7)^[110].



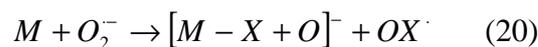
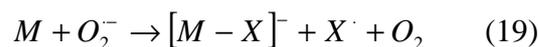
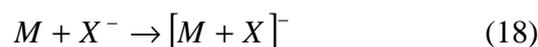
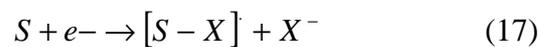
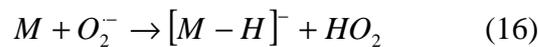
In der Regel ist die direkte Photoionenausbeute eher gering^[111]. Das ist damit zu erklären, dass neben dem Analyten noch weitere Substanzen (verdampftes Lösungsmittel aus der LC-Trennung wie H₂O, Methanol oder Acetonitril) in der AP-Ionenquelle vorhanden sind, die die VUV-Strahlung der Lampe absorbieren. Die Eindringtiefe der VUV-Strahlung ist so stark begrenzt. Bereits nach wenigen Millimetern ist diese nahezu vollständig absorbiert worden^[112].

Um die Ionisationsausbeute und damit die Empfindlichkeit der APPI dennoch zu steigern, besteht die Möglichkeit, zusätzlich zum Eluat einen Dopanten im Prozentbereich (v/v) in die Ionenquelle zu geben und damit eine deutlich effektivere Form der Ionisation zu erreichen^[50, 113, 114]. Hierzu werden Verbindungen wie Toluol^[50], Anisol^[115] oder Aceton^[50, 116] in großem Überschuss zum Analyten verwendet. Bei dieser Art der Ionisation handelt es sich nicht mehr um die direkte Einphotonenionisation des Analyten, sondern um eine chemische Ionisation, die durch die VUV-Photonen der Edelgasentladungslampe unter Einbeziehung des Dopants und des Lösungsmittels abläuft. In einem ersten Schritt wird der im Überschuss vorliegende Dopant durch direkte Einphotonenionisation ionisiert (Reaktion 9). Der ionisierte Dopant kann nun direkt mit einem Analytmolekül unter Ladungsaustausch (Reaktion 11) reagieren, wenn das Ionisationspotential des Dopants das Ionisationspotential des Analyten übersteigt. In Reaktion 10 wird ein Proton vom ionisierten Dopant auf den Analyten übertragen. Weiterhin kann dieser unter Abgabe eines Protons einen geladenen Cluster aus Lösungsmittelmolekülen bilden, welcher schließlich ein Proton auf den Analyten überträgt (Reaktion 12 und 13)^[114, 116, 117].



Neben den bereits dargestellten Wegen zur Bildung eines Quasimolekülions existiert in einer APPI-Quelle scheinbar die Möglichkeit, dass in Abhängigkeit von der Quellengeometrie und den angelegten Feldern auch ganz ohne Einwirkung von VUV-Strahlung (ausgeschaltete Lampe) ein Quasimolekülion durch Thermosprayionisation gebildet werden kann^[111].

Neben Radikalkationen und Quasimolekülionen, die durch direkte Photoionisation oder chemische Ionisation (dopant- oder lösungsmittelvermittelt) entstehen, werden in der APPI durch verschiedene Prozesse auch Anionen gebildet^[111]. Die Photoionisation und andere Prozesse in der Quelle (z.B. Freisetzung von Photoelektronen aus Metalloberflächen) führen zu thermischen Elektronen, die Ionen-Molekülreaktionen auslösen können^[118]. Der einfachste Fall ist der direkte Elektroneneinfang durch den Analyten selbst (electron capture APPI) (Reaktion 14)^[118 - 120]. Dieser Elektroneneinfang verläuft auch unter Fragmentierung des Moleküls. Bei chlorierten Lösungsmitteln kann Chlorid freigesetzt werden, das sich seinerseits an den Analyten anlagert und damit ein negativ geladenes Addukt bildet (Reaktionen 17 und 18)^[121]. Erfolgt der Elektroneneinfang nicht durch den Analyten oder das Lösungsmittel, sondern durch den in der Quelle vorhandenen Sauerstoff unter Bildung des gasphasenbasierten Superoxidradikalanions, kann es zur Deprotonierung des Analyten kommen (Reaktionen 15 und 16)^[121, 122]. Besteht eine ausreichende Elektronenaffinität anderer Spezies kann das Superoxidradikalanion oxidiert werden (Reaktion 19)^[121]. Des Weiteren ist der Austausch von Halogeniden durch Sauerstoff möglich (Reaktion 20)^[122, 123].



Für die praktische Anwendung der APPI stehen momentan zwei kommerzielle Quellentypen zur Verfügung, die sich durch ihre Geometrie unterscheiden^[111]. Eines der Systeme wurde von Syage et al.^[51] und das andere von Bruins et al.^[50] entwickelt. In beiden Systemen wird das Eluat mit einem pneumatisch assistierten und elektrisch beheizbaren Verdampfer analog zur APCI in die Gasphase überführt. Während bei dem System von Syage et al. eine 90 °-Anordnung gewählt wurde und die APPI-Lampe direkt auf den MS-Einlass gerichtet ist, bildet das Interface von Bruins et al. eine Linie mit dem MS-Einlass und enthält eine spezielle für die DA-APPI ausgelegte Reaktionsröhre aus Quarz, in welche die APPI-Lampe direkt hineinstrahlt (Abb. 5).

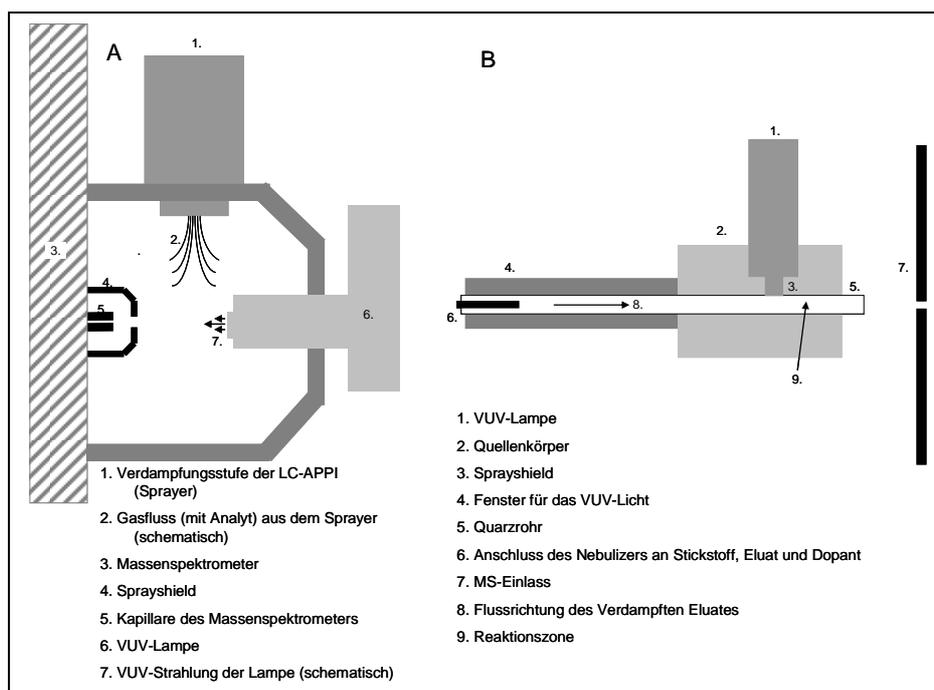


Abbildung 5: Schematischer Aufbau zweier APPI-Quellen, (A) Syage^[51], (B) Bruins^[50]

1.8 Atmospheric Pressure Laser Ionization (APLI)

Eine zweite, auf der Photoionisation beruhende Ionisationsmethode bei Atmosphärendruck ist die Atmospheric Pressure Laser Ionization (APLI). Sie wurde 2005 als Ergänzung zu den bisher beschriebenen AP-Ionisationsmethoden für die sehr empfindliche Analyse unpolarer aromatischer Verbindungen eingeführt^[53].

Da es sich bei der APLI um eine Photoionisationsmethode handelt, muss die zur Ionisation notwendige Energie von etwa 10 eV, die ausreichend ist, um das Ionisationspotential vieler unpolarer Analyten zur überschreiten, dem Molekül in Form von Licht zugeführt werden^[124, 125]. Im Gegensatz zur direkten APPI, bei der die zur Ionisation eines Moleküls notwendige Energie diesem mit nur einem Photon zugeführt wird (Einphotonenionisation)^[62], werden bei der APLI mehrere Photonen mit einer entsprechend geringeren Energie (Multiphotonenionisation) zur Ionisation verwendet. Dies geschieht in Form eines REMPI (Resonance enhanced multi photon ionization)-Prozesses^[53]. Die REMPI-Technik, die ansonsten im Vakuum zur empfindlichen und selektiven Ionisation sowie zu spektroskopischen Zwecken nach Expansion und Abkühlung der Probe in einem Jet^[124, 126 - 128] bzw. zur Ionisation in der ersten differentiellen Pumpstufe^[129, 130] eingesetzt wird, findet hier in einer Atmosphärendruck-Ionenquelle Anwendung^[53].

Die Ionisation verläuft dabei unter Absorption mehrerer Photonen, wobei das Molekül zunächst in einen realen (REMPI) oder virtuellen angeregten Zustand (Multi Photonen Ionisation) überführt wird, aus dem durch Absorption eines weiteren Photons die Ionisation erfolgt. Beim REMPI-Prozess können in beiden Absorptionsschritten Photonen derselben Wellenlänge ((n+n) REMPI) oder auch verschiedener Wellenlängen ((n+m) REMPI) zur Ionisation verwendet werden ^[124, 126, 127, 131]. Ein Zweifarbenexperiment ist aufgrund der notwendigen Synchronisation von zwei Lasern experimentell anspruchsvoller. Die Indices n und m bezeichnen die Anzahl der absorbierten Photonen. Damit REMPI erfolgreich für die Ionisation eingesetzt werden kann, ist eine ausreichend hohe Laserstrahlungsdichte im Bereich von $10^6 - 10^7 \text{ W/cm}^2$ erforderlich, die jedoch keine Multiphotonenionisation über virtuelle Zustände zulässt. Es können bis zu 10 % aller im Laserfokus befindlichen Moleküle ionisiert werden ^[124, 126, 131]. Um eine ausreichend hohe Photonenflussdichte für den REMPI-Prozess zu erzeugen, wird in der APLI ein luftgekühlter, gepulster „Table-Top“ KrF* Excimer-Laser mit einer Pulsbreite von 5 - 8 ns und einer maximalen Repetitionsrate von 200 Hz verwendet. Die Emissionswellenlänge des Excimer-Lasers beträgt 248 nm (5 eV), so dass für die Ionisation eines Analyten die Absorption von zwei Photonen notwendig ist ((1+1) REMPI) (Reaktionen 21 und 22) (vgl. Abb. 6) ^[53].

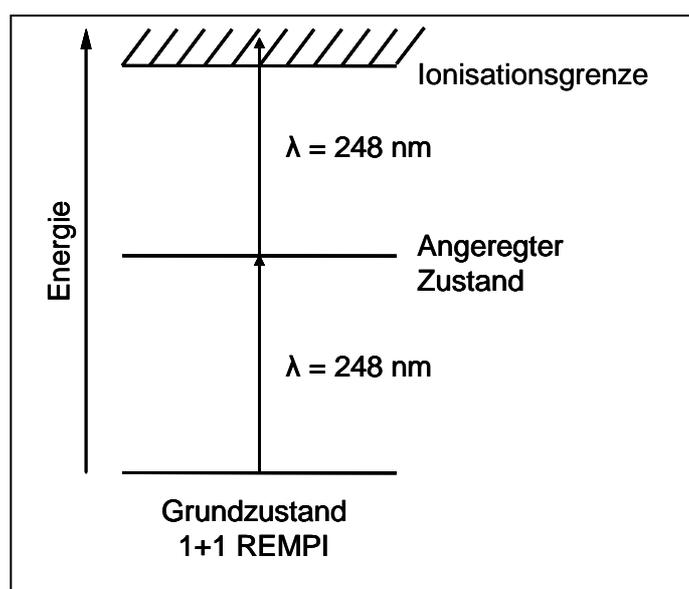
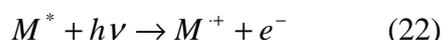


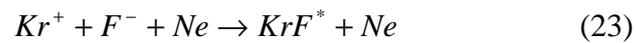
Abbildung 6: Schematische Darstellung eines 1+1 REMPI-Prozesses

Unter den Bedingungen der APLI ergibt sich eine Selektivität für aromatische Verbindungen. Diese Substanzklasse weist im nahen UV-Bereich hohe Absorptionsquerschnitte und hohe Lebensdauern des ersten angeregten Zustandes auf ^[53, 126]. Insbesondere polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe besitzen im Bereich 4 bis 7 eV eine hohe Zustandsdichte. Durch die experimentellen Bedingungen liegen thermisch angeregte Moleküle vor, so dass die Zustände unaufgelöst vorliegen und damit eine hohe Übergangswahrscheinlichkeit bei der Verwendung eines Excimer-Lasers gegeben ist. Andere in der Quelle befindliche Moleküle (Stickstoff als Badgas, Spuren von Sauerstoff, Wasser, Lösungsmittel wie Acetonitril, Methanol, Hexan), sind bei der verwendeten Wellenlänge transparent. Damit ist eine direkte Wechselwirkung zwischen Laserlicht und Analyt möglich, die aufgrund des REMPI-Mechanismus zur selektiven Ionisation führt ^[53, 131]. Die APLI ist eine echte Photoionisationsmethode unter AP-LC-MS Bedingungen. Aufgrund der geringen Menge an zugeführter Überschussenergie und der Möglichkeit diese durch Stöße an das Badgas abzugeben, ist die APLI eine sanfte Ionisationsmethode ^[53, 131]. Als Quelle kann für die APLI eine normale AP-Ionenquelle verwendet werden. Nach Überführen des Eluats in die Gasphase mit Hilfe einer geheizten, pneumatisch unterstützten Verdampfungsstufe werden die Analyten mittels Laserlicht ionisiert. Zur Einkopplung des Laserlichts in die Ionenquelle werden Quarzfenster verwendet ^[53].

1.8.1 Laser

In der APLI wird ein gepulster Laser verwendet, um UV-Strahlung mit der notwendigen Energie (248 nm, 5 eV) und der für REMPI notwendigen Energiedichte zur Verfügung zu stellen. Bei dem verwendeten Lasersystem handelt es sich um einen kompakten Edelgas-halogenid Excimer-Laser ^[53]. Wie bei jedem Laser muss auch beim KrF* Excimer-Laser eine Besetzungsinversion erreicht werden, damit das Medium zum Lasen angeregt werden kann. Im Gegensatz zu den Drei- und Vierniveausystemen, die bei Festkörperlasern und anderen Gaslasern verwendet werden ^[132], ist ein KrF* Excimer-Laser ein Zweiniveausystem. Dieses besteht aus dem gebundenen angeregten Zustand des KrF* Excimers und einem repulsiven Grundzustand, was zur Besetzungsinversion im Excimer-Laser führt ^[133, 134]. Um das Excimer aus Kr und F zu erzeugen, wird in der Lasercavity ein unter ca. 6 bar stehendes Gemisch bestehend aus Neon als Puffergas in großem Überschuss sowie Krypton und Fluor verwendet. Die Erzeugung des KrF* in angeregten Zustand erfolgt nach Präionisation durch eine gepulste

elektrische Hochspannungsentladung im Gasgemisch nach den folgenden Reaktionen 23 und 24 ^[135]:



Dieses System kann erfolgreich eingesetzt werden, wenn das Gasgemisch ausreichend gekühlt wird. Im verwendeten Lasersystem wird dies durch eine Umwälzung im Reservoir und der Wärmeabgabe an die luftgekühlte Wandung erreicht. Durch spontane Emission und die dadurch induzierte Emission im Lasermedium kommt es schließlich zu Abgabe eines Laserpulses mit einer Wellenlänge von 248 nm, der durch ein Fenster nach nur einem Umlauf aus der Cavity ausgekoppelt wird ^[133].

2 Problemstellung und Zielsetzung

Die Atmospheric Pressure Laser Ionization (APLI) ist eine an der Bergischen Universität neu entwickelte Ionisationsmethode zur Kopplung der Flüssigchromatographie (LC) mit der Massenspektrometrie. Sie kann zur empfindlichen und selektiven Ionisation unpolarer aromatischer Kohlenwasserstoffe eingesetzt werden und ist in Form der LC-APLI-(TOF)MS-Kopplung bisher an einem kommerziellen Massenspektrometer (Q-TOF Ultima, Waters) verfügbar.

Die Gaschromatographie (GC) stellt aufgrund der höheren Trennleistung eine interessante Alternative zur LC dar. Daher soll zunächst die Kopplung der GC mit der APLI-(TOF)MS zur GC-APLI-(TOF)MS am Q-TOF Ultima realisiert werden. Hierzu ist die Konstruktion einer geeigneten Transferline zur Verbindung des Gaschromatographen mit der Atmosphärendruckionenquelle des Massenspektrometers erforderlich. Gleichzeitig sollen die zum Betrieb der Kopplung notwendigen Einstellungen am Massenspektrometer optimiert werden. Damit die APLI auch an einem anderen kommerziellen Massenspektrometer (micrOTOF, Bruker Daltonics) eingesetzt werden kann, soll für dieses ein Quellenkonzept einschließlich einer neuen Transferline entwickelt werden. Dieses Konzept sieht vor, sowohl die LC als auch die GC unter Verwendung eines Quellenkörpers mit dem Massenspektrometer zu koppeln.

Die Vorteile einer solchen flexiblen Kopplung, bei der das teure Massenspektrometer als Detektor für verschiedene chromatographische Anwendungen dient, sollen auch in Verbindung mit anderen Ionisationsmethoden genutzt werden können. Daher wird in einem weiteren Schritt versucht, die drei wichtigsten Atmosphärendruckionisationsmethoden (ESI, APCI, APPI) ebenfalls in das Konzept zu integrieren. Dieser Schritt schließt auch die Entwicklung einer neuen Transferline ein. Auf diese Weise soll eine Multi-Purpose API-Source (MPIS) für die LC- und GC-API-MS entwickelt werden. Dabei soll die ursprüngliche Flexibilität des Ansatzes zum einfachen und schnellen Wechsel zwischen einzelnen Ionisationsmethoden sowie zwischen LC und GC erhalten bleiben. Die Leistungsfähigkeit der entwickelten Kopplungen soll anhand der Analyse von Standards und Realproben gezeigt werden.

Im letzten Teil der Arbeit sollen für die APLI geeignete Ionisationslabel zur Anwendung in der LC und GC entwickelt und die gebildeten Derivate mittels Atmosphärendruck-REMPI-Spektren spektroskopisch charakterisiert werden. Diese Label sollen die Ionisation

nichtaromatischer Verbindungen mittels APLI ermöglichen. Die Anwendbarkeit des Konzeptes soll anhand praktischer Beispiele gezeigt werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

Um das Potential einer Ionisationsmethode in der Massenspektrometrie möglichst umfassend nutzen zu können, ist die Kopplung des Massenspektrometers mit einer chromatographischen Trennstufe vorteilhaft. Auf diese Weise gelangen auch bei komplexen Proben die Analyten nacheinander in die Ionenquelle des Massenspektrometers. Dies verringert die Gefahr von unerwünschten Diskriminierungseffekten (z.B. Ionensuppression^[136] in API-Quellen) und erleichtert die Auswertung der erhaltenen Massenspektren. Zur Ionisation der Analyten werden hierbei spezielle Ionenquellen in Verbindung mit einer Ionisationsmethode verwendet.

Im Folgenden werden für verschiedene im Rahmen dieser Arbeit entwickelte AP-Ionenquellen sowohl das Konzept und der Aufbau der jeweiligen Quelle sowie die Kopplung mit einer chromatographischen Trennstufe (LC oder GC), als auch unterschiedliche Anwendungen der jeweiligen Quelle bei der Analyse verschiedener Proben und hier als spezielles Beispiel die Entwicklung und Anwendung von Ionisationslabeln für die APLI-MS vorgestellt. Die Entwicklung der AP-Quellen und -Kopplungen wird ausgehend von der APLI-MS und der anschließenden Integration weiterer AP-Ionisationsmethoden (ESI, APCI, APPI) in dasselbe AP-Quellenkonzept gezeigt.

3.1 GC-APLI-(TOF)MS: Q-TOF Ultima (Waters)

Die APLI als Methode zur Ionisation von unpolaren aromatischen Kohlenwasserstoffen wurde an der Bergischen Universität Wuppertal entwickelt und sowohl mit der HPLC^[53] als auch der CEC am Q-TOF Ultima mit einer AP-Ionenquelle gekoppelt^[61]. Hierbei konnte eine außergewöhnlich hohe Empfindlichkeit im Vergleich mit den anderen API-Methoden gezeigt werden, mit der aromatische Kohlenwasserstoffe, insbesondere PAKs, ionisiert und nachgewiesen werden können^[53]. Die für diese Kopplungen verwendeten Ionenquellen basierten im Wesentlichen auf der Standard-APCI- bzw. der nano-ESI-Quelle des Q-TOF Ultima. Als Modifikation wurde in beiden Fällen die Möglichkeit geschaffen, den Laserstrahl eines Excimer-Lasers in die Ionenquelle einzukoppeln^[53, 61]. Ansonsten wurde z.B. für die HPLC-Kopplung einfach die APCI-Verdampfungsstufe des Q-TOF Ultima verwendet und die APCI-Nadel aus der Quelle entfernt^[53].

Die hohe Empfindlichkeit, mit der PAKs unter Verwendung der APLI nachgewiesen werden können in Verbindung mit der höheren chromatographischen Trennleistung der GC im Vergleich zur HPLC und den geringeren Betriebskosten (z.B. Lösungsmittel), machen die Realisierung dieser Kopplung zu einer interessanten Ergänzung der bisherigen APLI-Anwendungen.

Während die Ionisation bei Standard-GC-MS-Systemen, die mit einer CI- oder EI-Ionenquelle ausgestattet sind, bei stark vermindertem Druck stattfindet, muss die GC-APLI-MS bei Atmosphärendruck durchgeführt werden, so dass die Realisierung einer solchen Kopplung an einem AP-Massenspektrometer durchgeführt wurde. Daher wurde das bereits für die HPLC und CEC verwendete Q-TOF Ultima für die Kopplung einer GC mit der APLI-Massenspektrometrie verwendet. Anders als bei der HPLC-Kopplung, wo das flüssige Eluat aus der HPLC-Säule einfach bei Raumtemperatur durch einen geeigneten Schlauch in die APCI-Verdampfungsstufe überführt werden kann, muss bei der GC-Kopplung eine geheizte Transferline verwendet werden, um die Analyten aus dem GC-Ofen heraus in die Ionenquelle zu überführen. Eine geheizte Transferline ist notwendig, damit schwerflüchtige Analyten nicht auf dem Weg zwischen GC-Ofen und Ionenquelle wieder in der Kapillare auskondensieren.

3.1.1 Entwicklung der Transferline

Bei der Entwicklung einer Transferline sollten mehrere Aspekte berücksichtigt werden: i) ein einfacher Wechsel zwischen LC- und GC-API soll möglich sein, daher muss die Transferline mit der bereits vorhandenen API-Quelle des Q-TOF Ultima kompatibel sein; ii) eine ausreichend hohe Temperatur (regelbar) muss in der gesamten Transferline erreicht werden können, um selbst hochsiedende PAKs (z.B. Benzo[*a*]pyren) analysieren zu können; iii) der im Vergleich zu HPLC-Anwendungen geringe Gasfluss (Trägergas: 1 - 2 mL) aus der GC-Kapillare muss den Einlass des Massenspektrometers erreichen, ohne zu sehr verdünnt bzw. verwirbelt zu werden, damit eine ausreichende Empfindlichkeit erreicht werden kann und die Peakform eine Integration des Signals zulässt.

In Zusammenarbeit mit der Firma Quma Elektronik & Analytik GmbH, Wuppertal wurde ein Konzept für Konstruktion und Bau dieser ersten Transferline für die GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am Q-TOF Ultima entwickelt und realisiert. Eine kurze Beschreibung des

Konzeptes unter Berücksichtigung der oben dargestellten Anforderungen wird im Folgenden gegeben.

Wesentliche Anforderungen an die Transferline waren, wie oben dargestellt, die Kompatibilität mit der API-Quelle des Q-TOF Ultima sowie die Möglichkeit zu einem schnellen Wechsel zwischen LC- und GC-Methoden, so dass diese Aspekte bei der Planung und Realisierung der Transferline im Mittelpunkt standen.

Die Heizung der Transferline sollte elektrisch unter Verwendung eines Widerstandsdrahtes erfolgen, wobei zur Messung der Temperatur ein PT-100 Temperaturfühler eingesetzt wurde. Die Temperatur sollte von der verwendeten GC (DANI 1000 MPC) unter Nutzung des freien Aus- und Eingangs zur Temperaturregelung externer Geräte gesteuert werden. Für den inneren Aufbau der Transferline wurde die Verwendung einer vom GC-Ofen bis in die Ionenquelle durchgehenden Metallkapillare (ID: 0,5 mm) vorgesehen. Dies ist notwendig, um die GC-Kapillare direkt aus dem GC-Ofen durch die Transferline in die Ionenquelle des Massenspektrometers führen zu können. Geheizt werden sollte diese Metallkapillare mit einem U-förmig vom hinteren zum vorderen Ende der Transferline verlaufenden Heizdraht. Um eine möglichst homogene Temperaturverteilung innerhalb der Transferline zu erzielen, wurde der Widerstandsdraht nicht in direkten Kontakt mit der Metallkapillare gebracht, sondern über Quarzsand, der wiederum durch einen umgebenden Glasseidemantel gehalten wurde. Zur thermischen Isolation nach außen wurde die Transferline mit einer Wärmedämmung umgeben. In Abbildung 7 ist schematisch der Aufbau der Transferline anhand eines Querschnittes gezeigt.

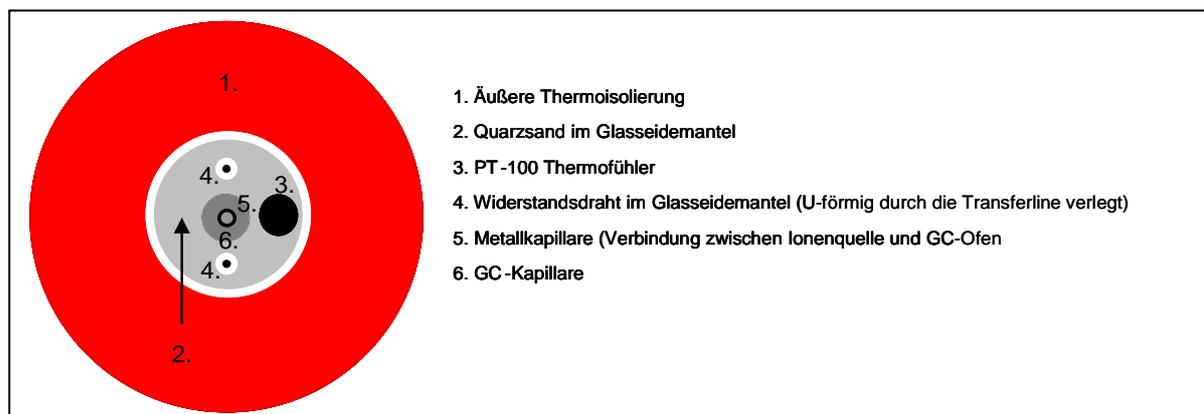


Abbildung 7: Schematischer Aufbau der GC-Transferline für das Q-TOF Ultima

Für den Wechsel zwischen den Ionisationsmethoden ESI und APCI an der API-Quelle des Q-TOF Ultima muss jeweils nur die „Versprühstufe“ für die Flüssigkeit, also die ESI-Kapillare mitsamt der Halterung bzw. die APCI-Verdampfungsstufe, im Folgenden als „Probe“ bezeichnet, ausgetauscht werden. Damit auch für die GC-Kopplung ein einfacher Wechsel zwischen LC-Kopplung und der GC-APLI möglich wurde, wurde der vordere Teil der Transferline in seiner äußeren Form der ESI-Probe nachempfunden und der hintere Teil (ca. 35 cm), wie oben beschrieben, flexibel gestaltet, so dass die Transferline anstelle der jeweiligen LC-Probe an der API-Quelle montiert und die GC auf einem Beistelltisch vor dem Massenspektrometer aufgestellt werden konnte. Damit das Massenspektrometer für die GC-APLI-Messungen im APCI-Modus betrieben werden konnte, wurden an der Halterung der Probe, also dem Teil der Transferline, der in die Ionenquelle hineinragt, Kontaktstifte angebracht. Diese Kontaktstifte verbanden die beiden Kontaktflächen an der API-Quelle über einen 1 k Ω Widerstand. Auf diese Weise wurde das Vorhandensein der APCI-Probe simuliert. Ein solches Vorgehen war für LC-APLI-Messungen nicht notwendig, da hier die originale APCI-Probe als Verdampfungsstufe verwendet wurde. In Abbildung 8 ist der experimentelle Aufbau der GC-APLI-(TOF)MS auf einem Foto und in Abbildung 9 zur besseren Übersicht die Probe der GC-Transferline sowie deren Position in der API-Quelle des Q-TOF Ultima schematisch dargestellt.

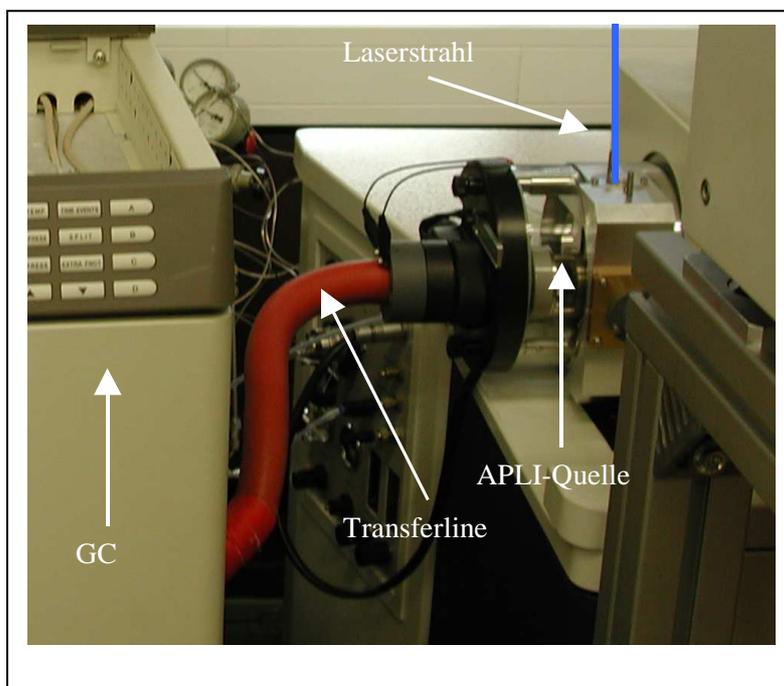


Abbildung 8: Experimenteller Aufbau der GC-APLI-(TOF)MS am Q-TOF Ultima

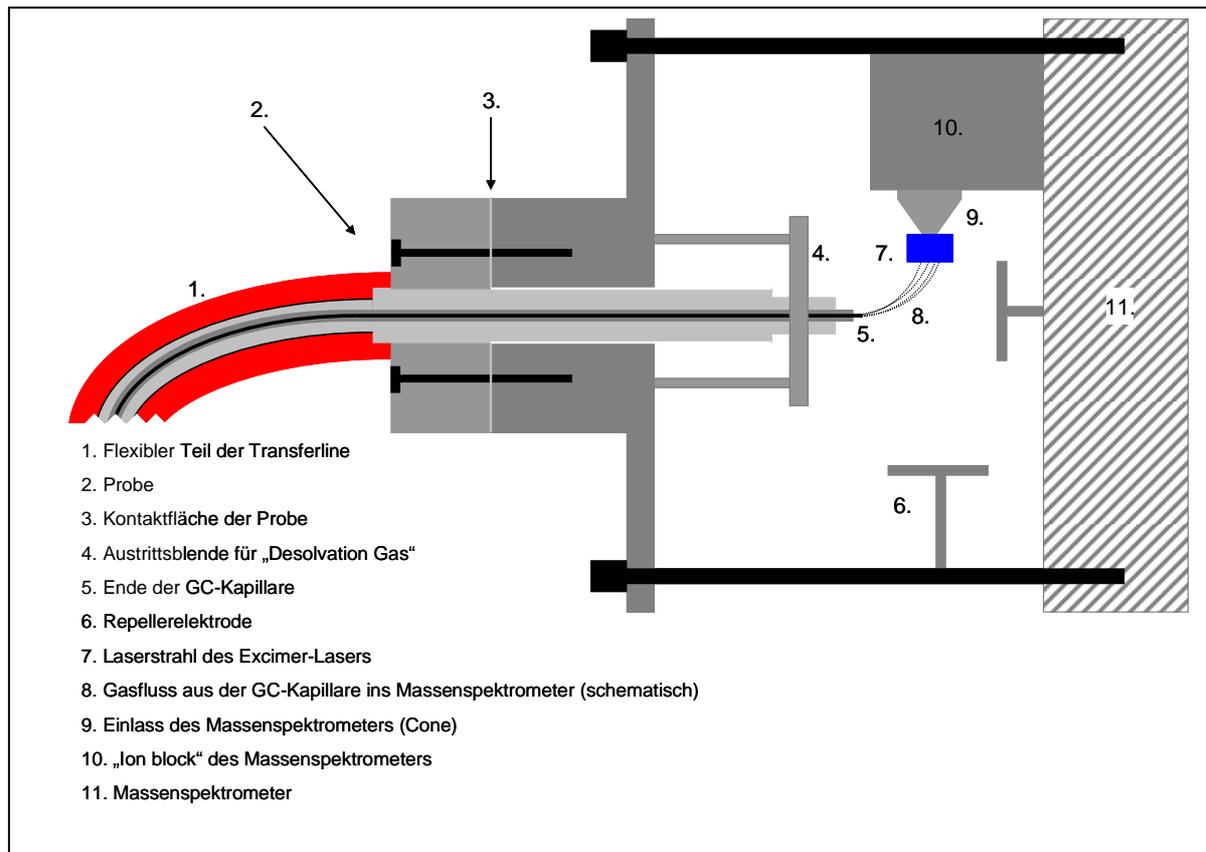


Abbildung 9: Schematischer Aufbau der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am Q-TOF Ultima

Für die Kopplung eines Gaschromatographen mit dem Q-TOF Ultima ist es von entscheidender Bedeutung, dass das Eluat der GC auch tatsächlich den Einlass des Massenspektrometers (vgl. Abb. 9 Punkt 9) erreichen kann. Hierzu muss das Eluat einen Bogen von 90° durchlaufen. Damit der Gasstrom in der API-Quelle einen möglichst kurzen Weg zurücklegt, wurde die Position der Tiefenverstellung an der Quelle so gewählt, dass die Probe für alle Experimente maximal in den Quellenkörper hineinreichte. Das Massenspektrometer selbst weist am Cone eine Pumprate von etwa 180 L/h auf, während der Gasstrom aus der GC-Kapillare im Gegensatz hierzu nur etwa 1 - 2 mL/min (maximal 120 mL/h) beträgt. Sowohl für ESI als auch für APCI werden durch die Probe weitaus größere Gasvolumina in die Quelle eingebracht, da in beiden Fällen ein großer Gasstrom notwendig ist, um das flüssige Eluat in der jeweiligen Probe in die Gasphase zu überführen. Im Fall der GC stehen diese großen Gasflussraten aus der Probe jedoch nicht zur Verfügung, so dass das fehlende Gasvolumen, das nicht aus dem Gasfluss aus der GC-Kapillare bereit gestellt werden kann, anderweitig in die Quelle eingebracht werden muss. Dies ist notwendig, damit kein Gas aus dem Gasüberlauf der API-Quelle und damit aus der Umgebungsluft

beziehungsweise aus dem Abluftsystem des Labors, das mit dem Überlauf verbunden ist, angesaugt werden kann und somit Verunreinigungen in die Quelle gelangen könnten, welche die Analyse durch Bildung eines hohen Untergrundes stören könnten. In der API-Quelle des Q-TOF Ultima stehen neben dem eigentlichen „Desolvation Gas“ als Gasstrom, der direkt die Verdampfung der Flüssigphase in der Probe unterstützen soll, noch das „Dry Gas“, das coaxial um das Ende der Probe aus einer heizbaren Blende der Quelle zugeführt wird (vgl. Abb. 9 Punkt 4), sowie das „Cone Gas“, welches dem Analytstrom aus Richtung des Einlasses des Massenspektrometers (vgl. Abb. 9 Punkt 9) entgegenströmt, zur Verfügung.

Um den Gasstrom aus der GC-Kapillare tatsächlich vor den Einlass des MS strömen zu lassen, konnte an dieser Stelle nur die in der Quelle vorhandene Gasflussdynamik ausgenutzt und versucht werden, diese mit den beiden anderen Gasflüssen nicht ungünstig zu beeinflussen, so dass der in Abbildung 9 schematisch skizzierte Gasfluss aus der GC-Kapillare möglich wurde (vgl. Abb. 9 Punkt 8).

Weitere Parameter, die das erhaltene Signal beeinflussen können und daher optimiert werden mussten, sind die exakte Position des Laserstrahls (vgl. Abb. 9 Punkt 7) vor dem MS-Einlass und die am Repeller (vgl. Abb. 9 Punkt 6) angelegte Spannung. Da bei der Analyse von PAKs generell Radikalkationen gebildet werden, ist die optimale Position des Laserstrahls direkt vor dem Einlass des Massenspektrometers ^[137]. Die am Repeller anliegende positive Gleichspannung erzeugt ein elektrisches Feld, das die gebildeten Kationen in Richtung des Cone beschleunigt. Dies ist wichtig, da der Cone selbst auf einem positiven Potential (ca. 50 V) liegt, das automatisch vom Massenspektrometer dort angelegt wird und nicht abgeschaltet werden kann.

In der Quelle lagen mit dem „Desolvation Gas“, dem „Cone Gas“ und der Spannung am Repeller drei Parameter vor, mit denen die Gasflussdynamik bzw. die Ionenflugbahn beeinflusst werden konnte.

Ein erster Funktionstest der oben beschriebenen Transferline zeigte, dass die erwünschte Endtemperatur von 320 °C mit der verwendeten Heizspannung von 12 V nicht erreicht werden konnte und die Heizleistung von 2,1 W/cm nicht ausreichend war. Daher wurde zunächst die Heizleistung von 2,1 W/cm auf 4,3 W/cm angehoben, indem die verwendete Heizspannung mit Hilfe eines anderen Trafos auf 17 V erhöht wurde. Durch diese erste Veränderung des ursprünglichen Konzeptes konnte die gewünschte Temperatur von 320 °C in der Transferline erreicht werden. Die erhöhte Heizleistung der Transferline führte zu einer deutlich höheren Wärmeabgabe der Transferline an die Umgebung, wodurch die API-Quelle, insbesondere die Durchführung der Probe auf ca. 230 °C erwärmt wurde.

Die generelle Funktionsweise der Transferline wurde durch die GC-Analyse einer Anthracenlösung getestet.

Nachdem für das Anthracen tatsächlich ein Signal erhalten werden konnte, wurden die oben beschriebenen Parameter, also die beiden Gasflüsse und die Repellerspannung optimiert. Hierzu wurde wiederholt die Anthracenlösung injiziert und unter den jeweils veränderten Parametern analysiert. Für die Repellerspannung konnte mit dieser Methode ein optimaler Wert von 200 V ermittelt werden. Bezüglich der Gasflüsse zeigte sich, dass jeder Versuch, das „Cone Gas“ zu verwenden, zu einer drastischen Verringerung bzw. dem völligen Verschwinden der Signalintensität des Anthracensignals führte. Es wird daher vermutet, dass die dem Analytstrom entgegen gerichtete Strömung des „Cone Gases“ den Analytgasstrom daran hindert, den Einlassbereich des Massenspektrometers überhaupt zu erreichen. Daher konnte nur das „Desolvation Gas“ verwendet werden, um den zusätzlichen Gasbedarf in der API-Quelle bereit zu stellen und für einen möglichst optimalen Gasfluss in der API-Quelle hin zum Einlass des Massenspektrometers zu sorgen. Ein optimaler Wert konnte hier bei einem Fluss von 290 L/h erreicht werden.

3.1.2 Untersuchung einer Mischung von PAKs und heterocyclischen PAKs

Nachdem die Quellenparameter, also die Gasflüsse in der Quelle und die Spannung am Repeller, möglichst optimal eingestellt waren, wurde eine Mischung bestehend aus PAKs und heterocyclischen PAKs (Tab. 1) mittels der GC-APLI-(TOF)MS untersucht. Das erhaltene Chromatogramm dieser Analyse ist in Abbildung 10 dargestellt. Es wurde für alle Analyten das Radikalkation M^+ detektiert.

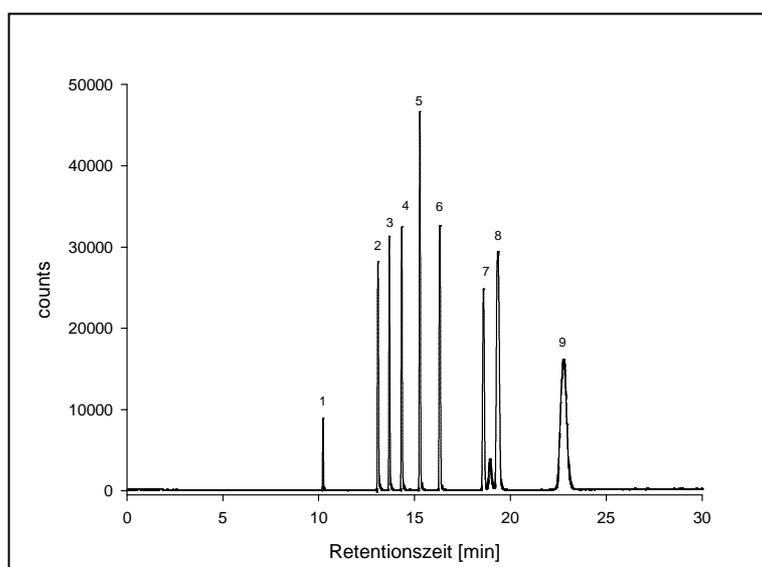
Wie im erhaltenen Chromatogramm zu erkennen, wurde mit der oben beschriebenen GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung ein Gaschromatogramm an einem AP-Massenspektrometer erhalten, das eigentlich für den Einsatz in der Flüssigchromatographie entwickelt wurde. Hierzu konnte die Standard-API-Quelle des Q-TOF Ultima verwendet werden, indem eine Transferline eingesetzt wurde, die dem vorderen Teil der ESI-Probe nachempfunden war.

Ausgehend von dieser erfolgreichen GC-APLI-(TOF)MS-Analyse wurde die Nachweisgrenze für die untersuchten Verbindungen (Phenanthren, 2-Methylantracen, 2-Ethylantracen, Pyren) als niedriger als 100 ng/L bestimmt (3s-Konzept nach Kaiser und Specker ^[138]). Abbildung 11 zeigt die GC-APLI-(TOF)MS-Analyse dieser Verbindungen im Bereich der Nachweisgrenze.

Nr.	Name	m/z	Konzentration [$\mu\text{g/L}$]
1	Dibenzofuran	168	1000 (Abb. 10)
2	Phenanthren	178	100 (Abb. 10) bzw. 0,1 (Abb. 11)
3	Carbazol	167	1000 (Abb. 10)
4	2-Methylantracen	192	100 (Abb. 10) bzw. 0,1 (Abb. 11)
5	2-Ethylantracen	206	100 (Abb. 10) bzw. 0,1 (Abb. 11)
6	Pyren	202	100 (Abb. 10) bzw. 0,1 (Abb. 11)
7	5,11-Dihydro-6H-benzocarbazol	219	1000 (Abb. 10)
8	11H-Benzocarbazol	217	Verunreinigung
9	Benzo[<i>a</i>]pyren	252	100 (Abb. 10)

Tabelle 1: Komponenten der PAK-Mischung

Die ermittelten Nachweisgrenzen für die aromatischen Verbindungen zeigen das sehr hohe Potential der GC-APLI-(TOF)MS zur Untersuchung von PAKs. Selbst mit diesem einfachen, noch nicht in allen Einzelheiten optimierten Aufbau konnte eine Empfindlichkeit erreicht werden, welche die mit einem Standard-GC-System erreichbare Empfindlichkeit deutlich übertrifft.



**Abbildung 10: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Mischung von PAKs und Hetero-PAKs
(experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.1)**

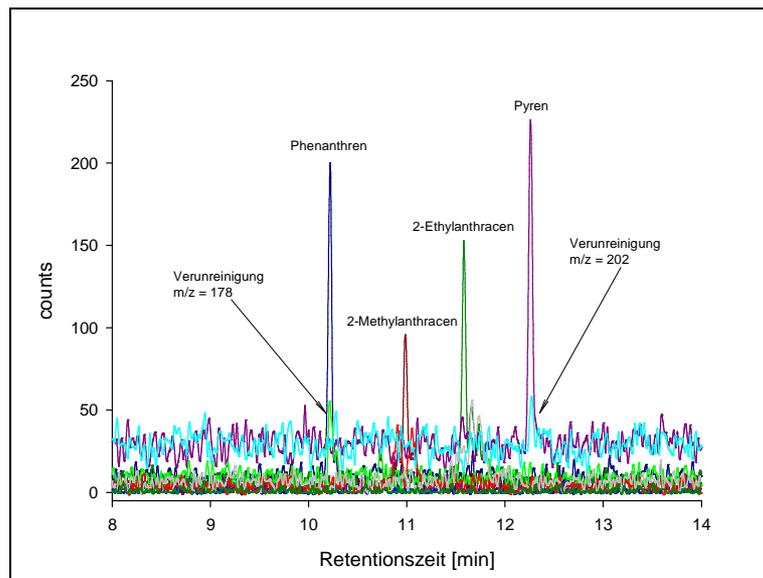


Abbildung 11: Untersuchung einer PAK-Mischung im Bereich der Nachweisgrenze (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.1)

3.1.3 Möglichkeiten der Verbesserung der Transferline

Die oben vorgestellte Kopplung eines Gaschromatographen mit einem AP-Massenspektrometer stellt eine erste, möglichst einfache Lösung dar, die vielversprechende Ansätze für die Entwicklung weiterer GC-API-MS-Kopplungen im Rahmen dieser Arbeit (vgl. Kap. 3.2 und 3.3) enthält.

Nachdem die generelle Machbarkeit einer solchen Kopplung am Q-TOF Ultima gezeigt werden konnte, wurden Möglichkeiten der Verbesserung vorgeschlagen.

Problematisch bei der vorgestellten Kopplung ist die Notwendigkeit, den Gasstrom aus der GC-Kapillare über eine relativ weite Strecke (2 - 3 cm) nur aufgrund der Gasflussdynamik in Richtung des MS-Einlasses zu bringen. Ein Versuch, den Winkel von 90° zu vermeiden, indem die Probe der Transferline an der Stelle des Repellers in die Quelle eingebracht wurde und diesen ersetzte, führte zu einer deutlichen Verschlechterung der Signalintensität. Der auf positivem Potential liegende MS-Einlass könnte hier eine mögliche Ursache sein, so dass das vordere metallische Ende der Transferline als Repeller verwendet wurde. Auch diese Veränderung führte nicht zu einer deutlichen Verbesserung der Signalintensität. Möglicherweise wirkt sich die Gasflussdynamik in der Quelle ungünstig auf den Gasfluss aus der GC-Kapillare aus.

Daher könnte die Verwendung eines „Sheath Gases“, welches coaxial um das Ende der GC-Kapillare aus der Spitze der Probe austritt, zu einem stabileren Gasfluss in Richtung des MS-Einlasses führen.

Auch die Heizung der Transferline mittels Heizdraht und Wärmeleitung über den Quarzsand ist nicht ideal. In Verbindung mit dem verwendeten PT-100 (Durchmesser: 5 mm) kann dies zu einer nicht korrekten Temperaturbestimmung in der gesamten Transferline führen, da sich das PT-100 im flexiblen Teil der Transferline befand. Die Wärmeabstrahlungseigenschaften der Probe selbst unterscheiden sich aber von denen im hinteren Teil der Transferline, so dass die Verwendung von zwei geregelten Heizkreisen eine bessere Lösung darstellen sollte.

3.2 LC- und GC-APLI-(TOF)MS: micrOTOF (Bruker Daltonics)

Aufgrund der am Q-TOF Ultima erfolgreich durchgeführten LC-^[53, 61] und GC-APLI-(TOF)MS-Messungen wurde von der Firma Bruker Daltonics im Rahmen einer Kooperation zwischen den Arbeitskreisen der Analytischen- und Physikalischen Chemie der Bergischen Universität Wuppertal ein micrOTOF Massenspektrometer (Abb. 12) zur Verfügung gestellt, um auch für dieses Massenspektrometer eine APLI-Quelle zu konstruieren und zu verwenden. Eine Beschreibung der Quelle sowie Beispiele für deren erfolgreiche Anwendung finden sich in den folgenden Abschnitten.



Abbildung 12: micrOTOF mit neu entwickelter LC-APLI-Quelle

3.2.1 LC-APLI: Aufbau der Quelle

Das micrOTOF wird, wie alle Massenspektrometer der Firma Bruker Daltonics, mit einer APOLLO Ionenquelle (Abb. 13) ausgeliefert. Diese Ionenquelle ist standardmäßig für die Verwendung im ESI-Modus ausgelegt. Des weiteren stand eine APCI-Quelle zur Verfügung.

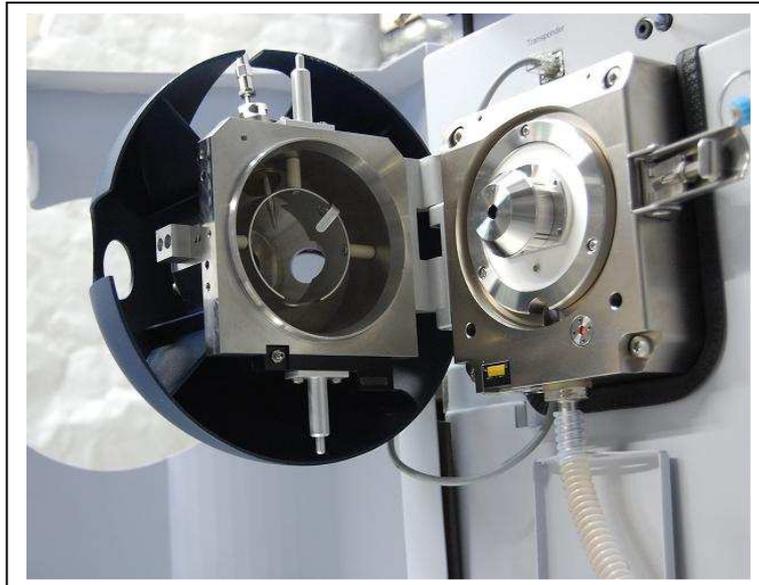


Abbildung 13: Geöffnete Standard-ESI-Quelle am micrOTOF

Analog zu den Experimenten am Q-TOF Ultima sollte die APLI auch am micrOTOF basierend auf der APCI-Quelle aufgebaut werden. Dazu sollte auch hier wieder eine Verdampfungsstufe (Sprayer) verwendet werden, um das Eluat der Flüssigchromatographie in die Gasphase zu überführen. Der Laser sollte vor dem Einlass (parallel zum MS) in die Ionenquelle eingekoppelt werden. Da eine Einkopplung des Laserstrahls mit der Geometrie des APOLLO-Quellenkörpers nicht möglich war, da für den Einbau eines Fensters keine ausreichend große Fläche zur Verfügung stand, wurde ein neuer Quellenkörper basierend auf der APOLLO-Quelle konstruiert.

Für den Aufbau des Quellenkörpers wurde die APOLLO-Quelle insofern als Vorbild verwendet, als dass im Wesentlichen die Position der APCI-Verdampfungsstufe relativ zum Einlass des Massenspektrometers beibehalten wurde. Es wurde jedoch die Möglichkeit geschaffen, die Position des Sprayers mittels Mikrometerschraube senkrecht zum Massenspektrometer um etwa 0,7 cm zu verschieben, um eine möglichst optimale Position für ein bestmögliches Analytsignal einstellen zu können. Um eine aufwendige Neukonstruktion des Sprayers zu vermeiden, wurde die Verdampfungsstufe von der mitgelieferten APCI-Quelle demontiert und auf dem neuen Quellenkörper der APLI-Quelle als Verdampfungsstufe

angebracht. Auf diese Weise stand eine vollständige APLI-Quelle mit Verdampfungsstufe und Fenstern für den Ein- und Austritt des Laserstrahls zur Verfügung (Abb. 14).



Abbildung 14: Neu entwickelte LC-APLI-Quelle am microTOF

Die generelle Funktionsfähigkeit der neuen APLI-Quelle wurde zunächst mit einer Lösung Anthracen ($0,1 \mu\text{M}$ in ACN) überprüft. Dazu wurde diese Lösung per Direktinfusion mittels Spritzenpumpe in die APLI-Quelle injiziert und das Massenspektrometer im APCI-Modus, aber ohne APCI-Nadel, betrieben. Weitere Veränderungen am Massenspektrometer waren bis auf den Austausch der Verschlussklammer für die Quelle gegen einen verschraubbaren Verschluss für die neue Quelle zur Durchführung von APLI-Messungen nicht notwendig. Nach dem Austausch der Standardquelle gegen die APLI-Quelle konnte das für den generellen Funktionstest injizierte Anthracen als Radikalkation (M^+ bei $m/z = 178$) detektiert werden. Damit konnte die Funktionsfähigkeit der neuen APLI-Quelle am microTOF gezeigt werden.

3.2.1.1 Optimierung wichtiger Parameter für den Betrieb der LC-APLI-Quelle

Nachdem die Funktion der APLI-Quelle anhand einer Anthracenlösung gezeigt werden konnte, sollten nun wichtige Parameter in der neuen Quelle und am Massenspektrometer identifiziert und anschließend optimiert werden. Ein Ziel war es, eine möglichst optimale Empfindlichkeit sowie eine weitgehende Standardisierung vieler Parameter für APLI-

Messungen zu erreichen. Für diese Optimierung wurden zunächst die folgenden Parameter als wichtig angesehen:

- i) die Position des Laserstrahls vor dem Einlass des Massenspektrometers (Sprayshield) (vgl. Abb. 15),
- ii) die Position des Sprayers (Abstand Sprayer zu Sprayshield in der Horizontalen) (vgl. Abb. 15),
- iii) Einstellungen am Massenspektrometer bezüglich der Ionenquelle und des Ionentransports in Hochdruck- und Vakuumbereich des Massenspektrometers,
- iv) Repetitionsrate des Excimer-Lasers,
- v) Eluentenfluss der Flüssigchromatographie.

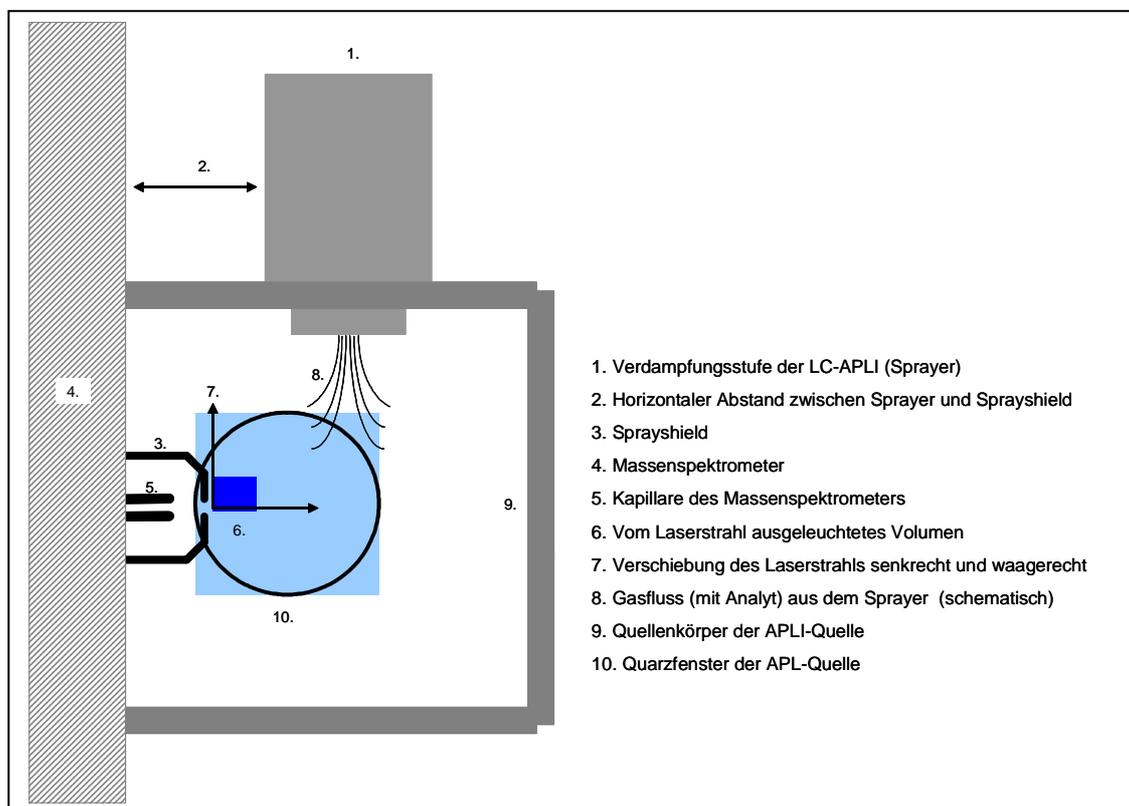


Abbildung 15: Schematischer Aufbau der LC-APLI-Quelle

Eine Optimierung der Parameter wurde zunächst zweckmäßigerweise unter Verwendung einer Anthracenlösung durchgeführt, indem diese mittels Spritzenpumpe per Direktinfusion in die Ionenquelle injiziert wurde. Die Direktinfusion des Analyten in die Ionenquelle ermöglicht die Optimierung der Parameter in einer einfachen Art und Weise, da ein konstantes Analytsignal erhalten wird, das durch Veränderungen einzelner Parameter beeinflusst werden kann. Die Auswirkungen einer Parameterveränderung können direkt

erkannt und bewertet werden. Da sich das Optimum eines Parameters in Abhängigkeit weiterer Parameter möglicherweise verschiebt, wurden die Parameter zunächst einzeln nacheinander optimiert und dann anschließend bereits optimierte Parameter in zufälliger Reihenfolge erneut optimiert und die Lage des Optimums überprüft. Des Weiteren wurden die Parameter in Abhängigkeit verschiedener Analyten (Nicotin als $[M+H]^+$ -Bildner, Anthracen und Benzo[*a*]pyren als Bildner von Radikalkationen mit unterschiedlichen Massen) bestimmt, um allgemeine und analytspezifische Parameter zu unterscheiden.

Als erster Parameter wurde die optimale Position des Laserstrahls vor dem Sprayshield ermittelt. Diese Position war für die drei untersuchten Analyten gleich und ist schematisch in Abbildung 15 dargestellt. Wie dort gezeigt, befindet sich die optimale Position des Laserstrahls nicht auf der Symmetrieachse des Sprayshields, also zentral vor der kreisförmigen Öffnung des Sprayshields, sondern ist aus der Symmetrieachse nach oben in Richtung des Sprayers verschoben. Dieses Optimum deutet möglicherweise darauf hin, dass die Gasflussdynamik in der Quelle neben dem Potential an der Einlasskapillare (-1000 V) eine entscheidende Rolle beim Transport der gebildeten Ionen im Atmosphärenbereich der Quelle vor dem MS-Einlass spielen kann. Diese Vermutung wird durch das von Lorenz et al. bestimmte dynamische Akzeptanzvolumen ^[139] an dieser Quelle unterstützt. Auch hier wurde eine asymmetrische Verteilung des Maximums der Ionenakzeptanz ermittelt.

Um nach notwendigen Reinigungsarbeiten oder dem Wechsel der API-Quellen von beispielsweise ESI auf APLI nicht jedes Mal eine Analytlösung für die Justage des Lasers auf die optimale Position verwenden zu müssen, wurde ein Flansch mit einer fluoreszierenden Keramik hergestellt, der anstelle des Blindflansches vor das Austrittsfenster montiert wird. Anhand des abgebildeten Laserstrahls auf der Keramik kann die einmal optimierte Position des Laserstrahls schnell und einfach reproduziert werden (Abb. 16).

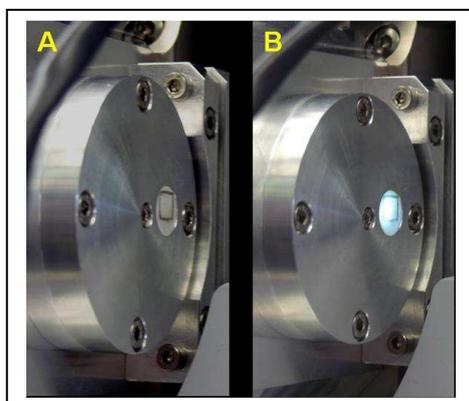


Abbildung 16: Verwendung der Justageplatte zur Justage des Laserstrahls, A nicht optimale Position, B optimale Position des Laserstrahls wird durch die fluoreszierende Keramik angezeigt

Der nächste optimierte Parameter war die Position des Sprayers (Abstand des Sprayers zum Sprayshield in der Horizontalen). Hier konnte nur eine leichte Abhängigkeit der Signalintensität festgestellt werden, wenn der Sprayer in die am weitesten in Richtung des MS einstellbare Position gebracht wurde.

Ein weitaus komplexeres Bild zeigte die Optimierung der am Massenspektrometer einstellbaren Parameter für die Ionenquelle und die Ionentransmission. Eine genaue Beschreibung der einzelnen Parameter kann der Dokumentation der micrOTOF control Software von Bruker Daltonics entnommen werden. Während für die reinen Quellenparameter, also die in Abbildung 17 blau gedruckten Werte, welche in optimierter Form angegeben sind, ein weitgehend analytunabhängiges Verhalten aufweisen, sind die Parameter, welche die Ionentransmission auf der Vakuumseite des Massenspektrometers beeinflussen, stark von der jeweiligen Masse des untersuchten Analyten abhängig. Hierbei sind insbesondere die drei rot geschriebenen Parameter (Abb. 17) von besonderer Bedeutung und müssen gegebenenfalls für das jeweilige m/z-Verhältnis eines Analyten neu optimiert werden. Die in Abbildung 17 dargestellten Parameter stellen einen optimierten Wert für Anthracen dar.

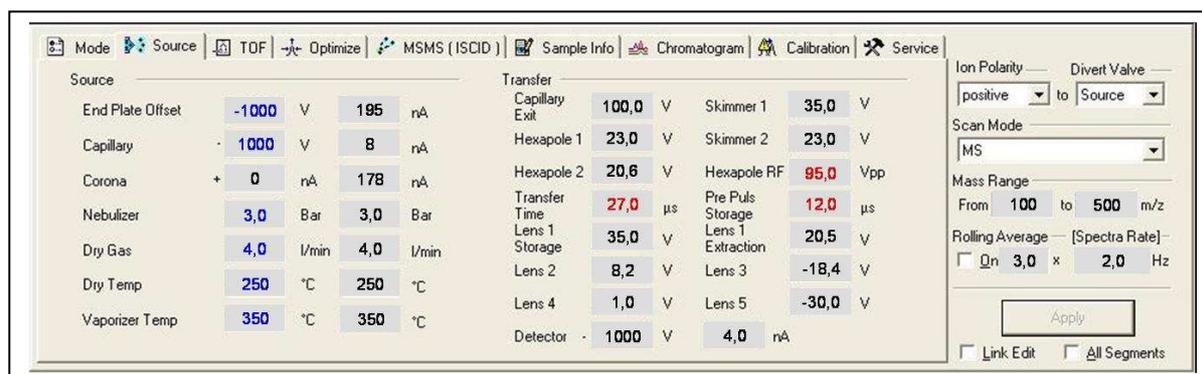


Abbildung 17: Ausschnitt aus der micrOTOF control Software, Übersicht über wichtige MS-Parameter

Generell konnte eine sehr starke Abhängigkeit der Empfindlichkeit von den jeweils gewählten Parametern festgestellt werden, die über mehrere Größenordnungen reichen kann. Für die Analyse einer Probe mit einer möglichst hohen Empfindlichkeit ist daher die Optimierung der MS-Parameter bzw. deren optimale Einstellung ein wichtiges Kriterium.

Im Gegensatz zu den anderen AP-Ionisationsmethoden (ESI, APCI, APPI) handelt es sich bei der APLI um eine diskontinuierliche Ionisationsmethode. Es können nur Ionen gebildet werden, während ein Lichtpuls des Excimer-Lasers (Pulsbreite: ca. 8 ns) leuchtet. Ansonsten ist die Bildung von Ionen nicht möglich. Daher wurde die Abhängigkeit der Signalintensität bei der Analyse einer Anthracenlösung von der Repetitionsrate des Lasers bestimmt. Hierzu

wurde diese schrittweise von 10 Hz auf 300 Hz erhöht und die Signalintensität als Funktion der Repetitionsrate ermittelt (Abb. 18).

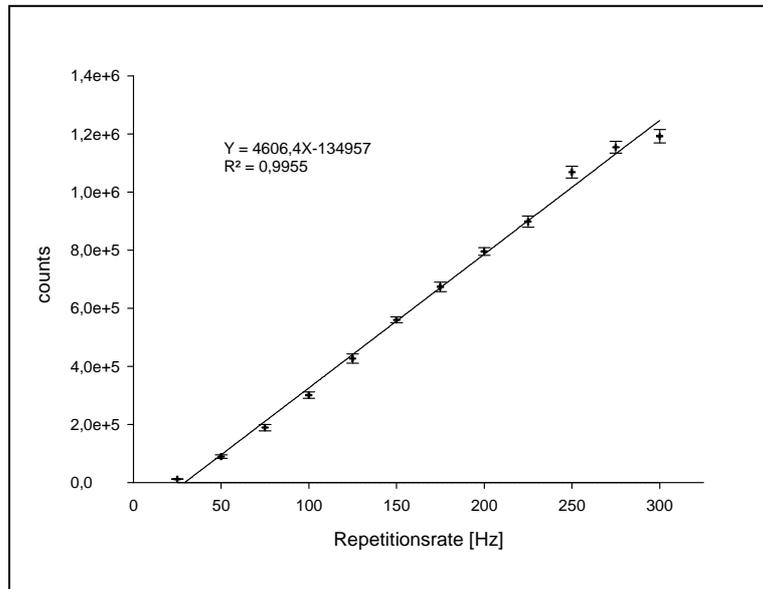


Abbildung 18: Bestimmung der optimalen Repetitionsrate des Lasers

Wie in Abbildung 18 gezeigt, besteht zwischen der Repetitionsrate und der Signalintensität ein nahezu linearer Zusammenhang. Erst bei etwa 250 Hz weicht der Zugewinn an Signalintensität von einem linearen Verhalten ab und wird schwächer. Bei der Auswahl einer geeigneten Repetitionsrate des Lasers und der Pulsenergie sollten zwei Aspekte berücksichtigt werden. Da die Gesamtlebensdauer des Lasers (Gasfüllung, Elektroden, Cavity) eine Funktion der Schussanzahl ist und sowohl das für die Füllung verwendete Gasgemisch als auch eine Überarbeitung der Cavity mit einem hohen Kostenaufwand verbunden sind, ist an dieser Stelle ein Kompromiss zwischen geringfügigen Empfindlichkeitsgewinnen und einer möglichst hohen Standzeit des Lasersystems erforderlich. Als guter Kompromiss hat sich hier bei Verwendung des Excimer-Lasers ATL EX 300 SI der Firma ATL eine Repetitionsrate im Bereich von 150 – 250 Hz bei einer Pulsenergie von 5 mJ erwiesen. Mit diesen Einstellungen ist ein Dauerbetrieb des Lasers über 10 – 12 Stunden mit einer Gasfüllung möglich.

Die letzte optimierte Größe war der Flüssigkeitsfluss. Hier sollte überprüft werden, ob es wie bei der APPI ^[59, 112] ebenfalls eine deutliche Abhängigkeit der Signalintensität vom verwendeten Fluss gibt. Hierzu wurde die Flussrate durch den Sprayer im Bereich von 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ bis auf 500 $\mu\text{L}/\text{min}$ erhöht und die Signalintensität als Funktion des Flusses untersucht (Abb. 19).

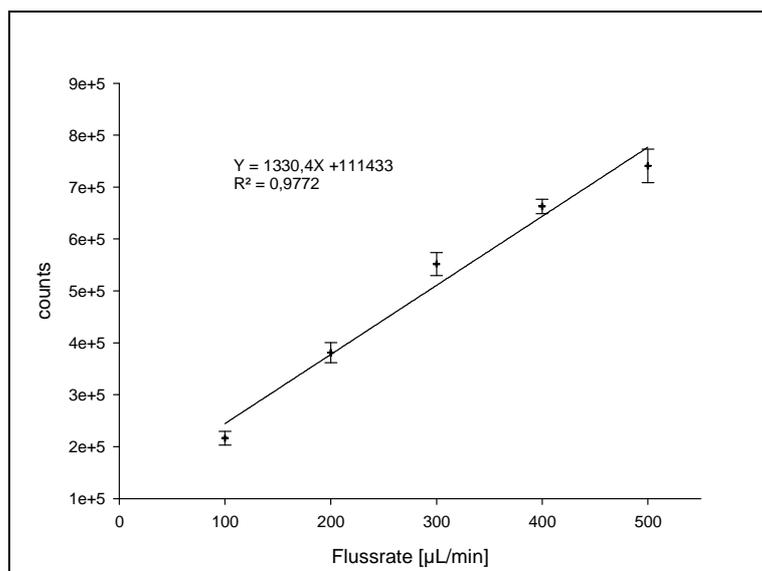


Abbildung 19: Bestimmung der Signalintensität in Abhängigkeit vom Flüssigkeitsfluss (von der Stoffmenge)

Wie in Abbildung 19 gezeigt, besteht ein weitgehend linearer Zusammenhang zwischen der Signalintensität und der Flussrate. Wird die Flussrate erhöht, erhöht sich die Stoffmenge des Analyten in der Quelle in der gleichen Weise. Die LC-APLI-(TOF)MS verhält sich also wie ein stoffmengenabhängiger Detektor. Dieses Verhalten kann dadurch erklärt werden, dass das Laserlicht nicht mit der Matrix, also Lösungsmitteln und Gasen in der Quelle wechselwirkt. Es findet tatsächlich eine direkte Ionisation des Analyten statt, ohne dass es zur Absorption von Photonen im Lösungsmittel wie etwa bei der VUV-Strahlung einer APPI-Lampe und einer anschließenden chemischen Ionisation der Analyten ^[112] oder aber Ionensuppression aufgrund von Coulombabstoßung kommen würde. Diese Eigenschaft der APLI in Kombination mit dem Sprayer, der für große Flussraten ausgelegt ist, erlaubt die direkte Kopplung mit einer flüssigchromatographischen Trennstufe, ohne dass die Flussmenge einen kritischen Parameter darstellen würde.

3.2.2 Analyse der EU Priority 15+1 PAKs mittels LC-APLI-(TOF)MS

Aufgrund des kanzerogenen Potentials polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe wie Benzo[*a*]pyren ^[140 - 143] ist eine sensitive Detektion dieser Substanzklasse notwendig. Um das Potential der neu entwickelten LC-APLI-(TOF)MS Quelle zu demonstrieren, wurden die von der Europäischen Union als Priority 15+1 PAKs klassifizierten Substanzen untersucht ^[144] (vgl. Tab. 2).

Nr.	Name	m/z	Konzentration [$\mu\text{g/L}$]
10	Benzo[<i>c</i>]fluoren	216	3,6
11	Cyclopenta[<i>c,d</i>]pyren	226	4,4
12	Benzo[<i>a</i>]anthracen	228	6,4
13	Chrysen	228	5,4
14	5-Methylchrysen	242	7,4
15	Benzo[<i>b</i>]fluoranthen	252	5,2
16	Benzo[<i>j</i>]fluoranthen	252	9,1
17	Benzo[<i>k</i>]fluoranthen	252	3,9
18	Benzo[<i>a</i>]pyren	252	9,8
19	Benzo[<i>g,h,i</i>]perylen	276	5,4
20	Indeno[<i>1,2,3-cd</i>]pyren	276	3,8
21	Dibenzo[<i>a,h</i>]pyren	278	5,3
22	Dibenzo[<i>a,e</i>]pyren	302	7,0
23	Dibenzo[<i>a,h</i>]pyren	302	6,9
24	Dibenzo[<i>a,i</i>]pyren	302	8,6
25	Dibenzo[<i>a,l</i>]pyren	302	5,7

Tabelle 2: EU 15+1 Priority PAKs

In Abbildung 20 ist das erhaltene Chromatogramm der HPLC-APLI-(TOF)MS-Analyse dieser PAK-Mischung abgebildet.

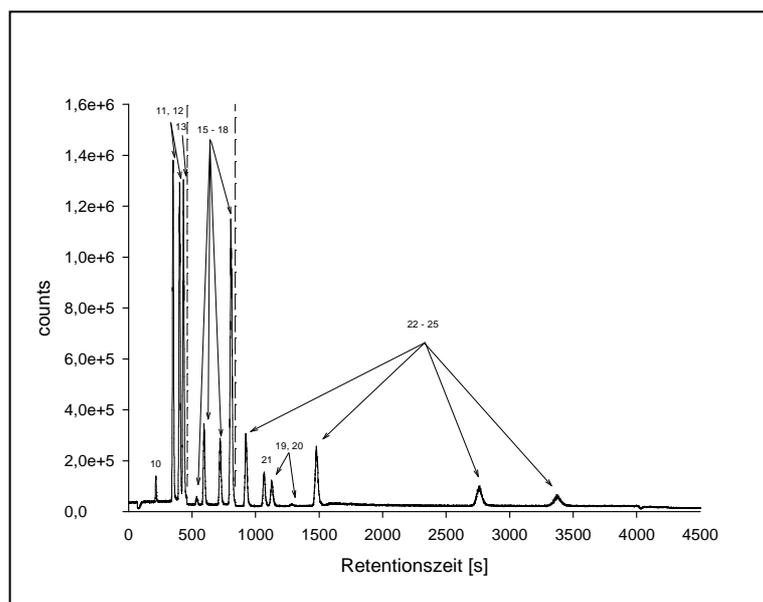


Abbildung 20: LC-APLI-(TOF)MS-Analyse der EU Priority 15+1 PAKs (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.3.1)

Die Analyse wurde unter Verwendung der Segmentfunktion der micrOTOF control Software durchgeführt. Hierdurch bestand für jedes Segment die Möglichkeit, während der chromatographischen Analyse bestimmte MS-Parameter zu verwenden, die dann im nächsten Segment wieder auf andere Analyten (m/z-Verhältnisse) angepasst wurden, so dass die Analytabhängigkeit der Ionentransmissionsparameter ausgeglichen werden konnte. Somit konnten zu jedem Zeitpunkt des chromatographischen Laufes für die jeweiligen Analyten möglichst optimale MS-Parameter, nach vorheriger Optimierung, gewählt werden. Die Verwendung der Segmente wurde notwendig, um über den vorhandenen Bereich an m/z-Verhältnissen eine möglichst optimale Empfindlichkeit zu erhalten. Da in dieser Mischung jeweils mehrere isomere PAKs derselben Masse enthalten waren und zur Analyse nicht jeder einzelne PAK als Standardverbindung zur Verfügung stand, war eine Zuordnung aller Signale nicht möglich. Daher werden Signale mit gleicher Masse nicht unterschieden.

In der untersuchten Konzentration konnten 15 der 16 Verbindungen mit Ausnahme von Cyclopenta[cd]pyren detektiert werden. Die Ausnahmestellung dieser Verbindung bezüglich der erreichbaren Nachweisgrenze (20 µg/L nach Kaiser und Specker ^[138]) im Vergleich zu den erreichten Nachweisgrenzen für Benzo[a]anthracen (32 ng/L) und Chrysen (27 ng/L) (Abb. 21) kann vermutlich mit der veränderten elektronischen Struktur dieser Verbindung gegenüber den reinen PAKs ^[145] erklärt werden.

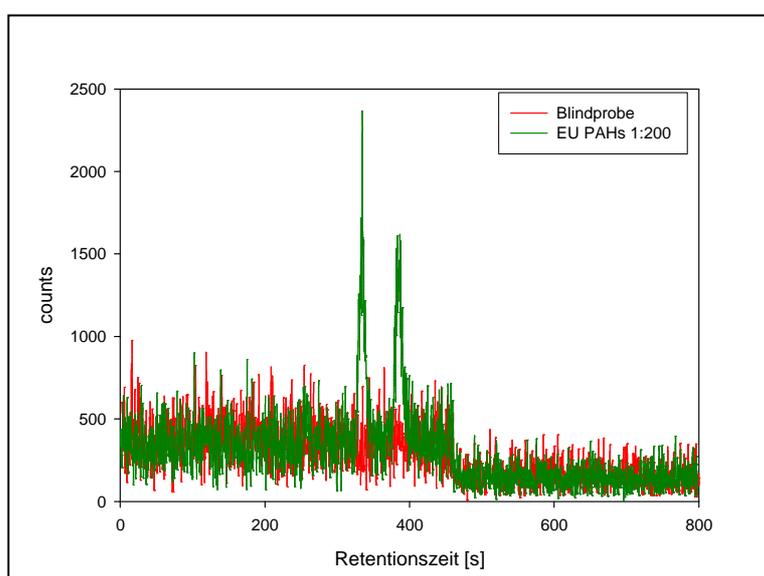


Abbildung 21: Bestimmung der Nachweisgrenze für Benzo[a]anthracen und Chrysen mittels LC-APLI-(TOF)MS (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.3.1)

Da es sich nicht um einen Aromaten mit planarer Struktur wie bei den 15 anderen Verbindungen ^[146] handelt, verläuft hier die Ionisation mittels REMPI bei 248 nm

möglicherweise nicht so effektiv. Die hier erreichten Nachweisgrenzen zeigen im Vergleich mit Literaturwerten ^[144], wo eben diese 15+1 PAKs mittels HPLC-LIF untersucht wurden, eine etwa um den Faktor 50 geringere Nachweisgrenze. Dieses Beispiel zeigt die erfolgreiche chromatographische Trennung einer Standardmischung in Verbindung mit der großen Empfindlichkeit, welche mit der APLI-(TOF)MS unter Verwendung der oben dargestellten APLI-Quelle für das micrOTOF erreicht werden kann.

3.2.3 GC-APLI-(TOF)MS: micrOTOF (Bruker Daltonics)

Nachdem die neu hergestellte Quelle für das micrOTOF erfolgreich für die LC-APLI-(TOF)MS eingesetzt wurde, sollte nun auch eine GC-APLI-Kopplung unter Verwendung dieses Quellenkörpers aufgebaut werden, um einen möglichst schnellen und einfachen Wechsel zwischen LC- und GC-Methoden zu ermöglichen. Dabei sollten die Erfahrungen, die bei der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am Q-TOF Ultima (vgl. Kap. 3.1 und 3.2) gemacht wurden, berücksichtigt werden und mögliche Verbesserungen im Konzept der Transferline für die GC-APLI-(TOF)MS Anwendung finden.

3.2.3.1 GC-APLI: Aufbau der Transferline

Wie schon beim Aufbau der Transferline für das Q-TOF beschrieben (s. Kap 3.1.1), ist auch hier die wesentliche Funktion der Transferline, ein Kondensieren der Analyten nach erfolgter GC-Trennung in der Kapillare zwischen GC-Ofen und Ionenquelle zu verhindern. Aufgrund der Erfahrungen mit der Transferline, welche für die GC-APLI-Kopplung am Q-TOF Ultima verwendet wurde, wurde das Konzept des Aufbaus modifiziert. Eine kurze Beschreibung des Konzeptes für die GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am micrOTOF wird im Folgenden gegeben. Auch bei dieser Transferline wurde die Verbindung zwischen GC-Ofen und Ionenquelle mit einer Metallkapillare hergestellt, durch welche die GC-Kapillare bis in die eigentliche Ionenquelle geschoben werden kann. Im Gegensatz zum vorherigen Konzept sollte die Wärmeübertragung auf die auf 110 cm verlängerte Metallkapillare jedoch nicht mehr indirekt mittels Wärmetransportmedium (Sand) erfolgen, sondern direkt auf die Kapillare. Des weiteren wurde die Möglichkeit der unterschiedlichen Wärmeabstrahlung zwischen Probe und flexiblem Teil der Transferline berücksichtigt, indem die Heizung der Kapillare in zwei separat geregelte Heizzonen aufgeteilt wurde, um möglicherweise große

Temperaturinhomogenitäten in der Transferline zu vermeiden. Damit ein direkter Wärmeübertrag auf die Metallkapillare möglich wurde, sollte diese mit Widerstandsdraht direkt geheizt und eine Temperatur von mindestens 350 °C erreicht werden können. Hierzu wurde geeigneter Widerstandsdraht in engen Windungen für die jeweilige Heizzone um die Kapillare selbst gewickelt und ein Thermoelement Typ K in diese Wicklung aufgenommen. Damit es aufgrund der metallischen Kapillare und des nicht isolierten Heizdrahtes zu keinem Kurzschluss kam, wurde die Metallkapillare mittels eines Glasseideschlauches, welcher unter der Wicklung des Heizdrahtes über die Kapillare gezogen wurde, isoliert. Nach außen hin wurde die Heizwicklung ebenfalls mit Glasseideband elektrisch isoliert, damit der geheizte innere Teil der Transferline in die metallische Ummantelung der Transferline bzw. die Probe eingebaut werden konnte. Eine weitere Beschreibung der Probe wird weiter unten in diesem Kapitel gegeben.

Die Steuerung der Transferlineheizung sollte nicht mehr über die GC selbst erfolgen, sondern über eine eigens hierfür konstruierte externe Steuerung, um eine größere Flexibilität bei der Verwendung eines Gaschromatographen zu erreichen. Für die hier dargestellten Versuche wurde erneut der bereits zuvor verwendete DANI 1000 GPC Gaschromatograph eingesetzt. Die Steuerung (Abb. 22) wurde auf der Basis von zwei Mikroprozessor-gesteuerten PID-Reglern zur Temperaturkontrolle aufgebaut, wobei der Laststrom über jeweils ein Halbleiter-Relais geschaltet wurde.



Abbildung 22: Foto der Transferlinesteuerung

Damit die Heizleistung der beiden Heizzonen geregelt werden konnte, wurde für die Spannungsversorgung der Heizung ein regelbarer Ringkerntrafo verwendet. Eine

Ausgangsspannung von 30 V bei einer Heizleistung von 3 W/cm für die vordere und von 2,1 W/cm für die hintere Heizzone konnten hier als geeignet ermittelt werden, um auf der einen Seite ein zügiges Aufheizen der Transferline zu ermöglichen (2 - 3 min) und auf der anderen Seite nicht soviel Energie mit jedem Heizpuls zur Verfügung zu stellen, dass die Heizdrähte innerhalb des Pulses überhitzt wären. Dieses Überhitzen würde sowohl zur Zerstörung der Glasseideisolierung (temperaturbeständig bis 480 °C ^[147]) als auch zur Zerstörung der Heizdrähte selbst führen.

Die Steuerung für die Temperaturkontrolle sollte nicht nur in der Lage sein, die Temperatur in der GC-Transferline auf einen definierten Wert (konstant) zu regeln, sondern auch die Verwendung der Transferline als zweiten GC-Ofen, wie er in der comprehensiven zweidimensionalen Gaschromatographie verwendet wird, zu ermöglichen ^[148]. Dies stellt aufgrund der Länge der Transferline von ca. 1 m eine interessante Möglichkeit dar. Dafür wurden die über das „peripheral user interface“ der verwendeten DANI GC ausgegebenen „Start-“ und „Stopsignale“, also Signale, die den Beginn beziehungsweise das Ende eines GC-Laufes signalisieren, verwendet und die Kommunikation zwischen GC und Temperaturregelung hergestellt und ggf. der Beginn und das Ende einer Temperaturrampe (Steigerung der Temperatur in °/min) signalisiert. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Möglichkeit der Verwendung der Transferline als zweiter GC-Ofen nicht genutzt, obwohl die Möglichkeit hierzu auf Seiten der Steuerung gegeben war. Es wurden alle Analysen unter Verwendung dieser Transferline mit konstanter Transferlinetemperatur durchgeführt. Das „peripheral user interface“ wurde ebenfalls benutzt, um „Start-“ und „Stopsignale“ an das verwendete Massenspektrometer über dessen Schnittstelle, hier „Start in“ und „Stop in“, zu senden, um eine Synchronisation zwischen Beginn und Ende eines GC-Laufes und dem Beginn bzw. Ende der Datenaufzeichnung zu erreichen. Eine genaue Beschreibung der Schnittstellen kann den jeweiligen Bedienungsanleitungen ^[149, 150] entnommen werden.

Die Probe, also der Teil der Transferline, der in die APLI-Quelle hineinreicht, wurde im Gegensatz zur Transferline für das Q-TOF Ultima mit zusätzlichen Austrittsöffnungen für ein Sheath Gas versehen, dessen Flussrate mittels eines Massflow Controlers im Bereich von 0 – 2 L/min geregelt werden konnte. Die Austrittsöffnungen wurden hier coaxial um die aus der Transferline austretende GC-Kapillare angeordnet (Abb. 23).

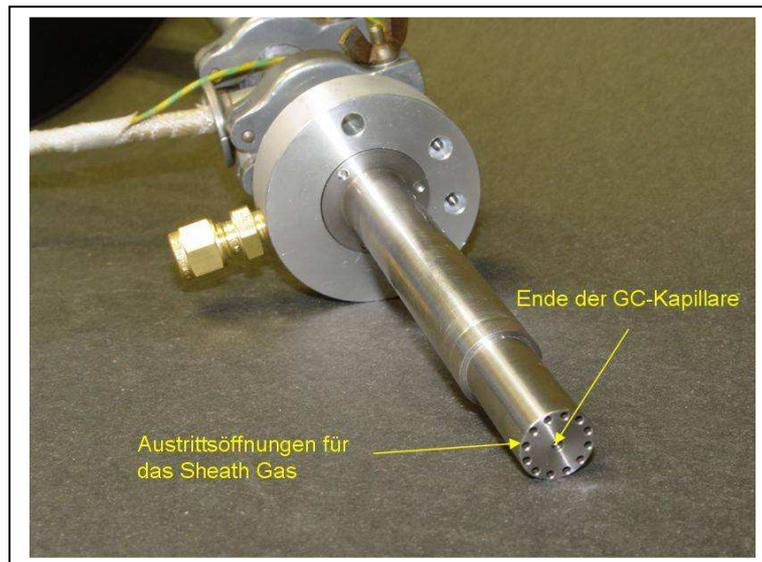


Abbildung 23: Transferline der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung in Frontansicht

Die zusätzliche Möglichkeit zur Verwendung eines Sheath Gases in Verbindung mit der in Abbildung 23 gezeigten Anordnung der Austrittsöffnungen sollte die Möglichkeit geben, den aus der GC-Kapillare austretenden Gasstrom zu umhüllen und diesen so in der Ionenquelle zu stabilisieren und somit die Strecke zwischen dem Ende der Transferline und dem Einlass ins Massenspektrometer zu überwinden, ohne dass es zu großen Verlusten beziehungsweise Verwirbelungen in der Ionenquelle kommen würde. Die Verwendung des Sheath Gases sollte darüber hinaus die Möglichkeit bieten, die Gasflussdynamik in der Quelle aktiv beeinflussen zu können. Damit sollte das passive Anströmen des MS-Einlasses überwunden werden.

Um eine möglichst optimale Anströmung des MS-Einlasses mit dem Gasstrom aus der GC-Kapillare und dem Sheath Gas zu erreichen, sollte für diese GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung das Ende der Transferline in einer Linie mit dem Sprayshield angeordnet werden. Damit musste der Gasstrom nicht wie beim Q-TOF Ultima um 90 ° umgelenkt werden. Vorteilhaft bei dieser direkten Anordnung der Transferline vor dem Sprayshield ist weiterhin, dass sowohl für das Sprayshield als auch für die eigentliche MS-Kapillare, die den Einlass ins Vakuumsystem bildet, die Möglichkeit besteht, im Positivionenmodus ein negatives Potential anzulegen und damit die gebildeten positiven Ionen in Richtung des MS-Einlasses zu beschleunigen.

Zur Realisierung einer solchen Anordnung der Transferline unter Verwendung des APLI-Quellenkörpers wurde dessen Flexibilität genutzt, indem nur der große Flansch, welcher die Quelle bei der Verwendung für die LC-APLI mit einem Fenster abschließt (Abb. 14), gegen einen Flansch mit einer geeigneten Durchführung für die Probe der Transferline ausgetauscht wurde. Auf diese Weise konnte die Transferline in das Konzept der Quelle integriert werden.

In den Abbildungen 24 und 25 wird der Aufbau der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am micrOTOF schematisch und auf einem Foto gezeigt.

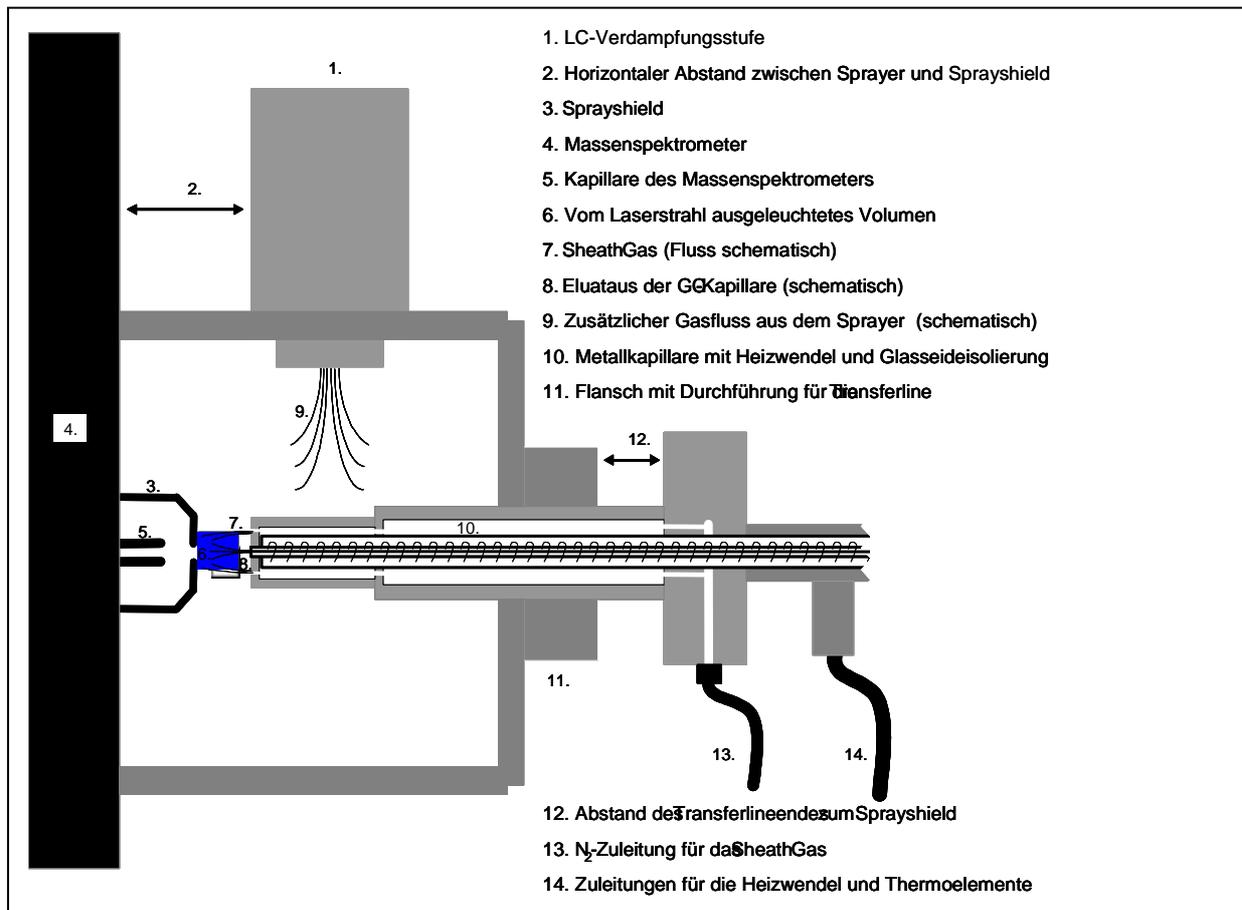


Abbildung 24: Schematischer Aufbau der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am micrOTOF

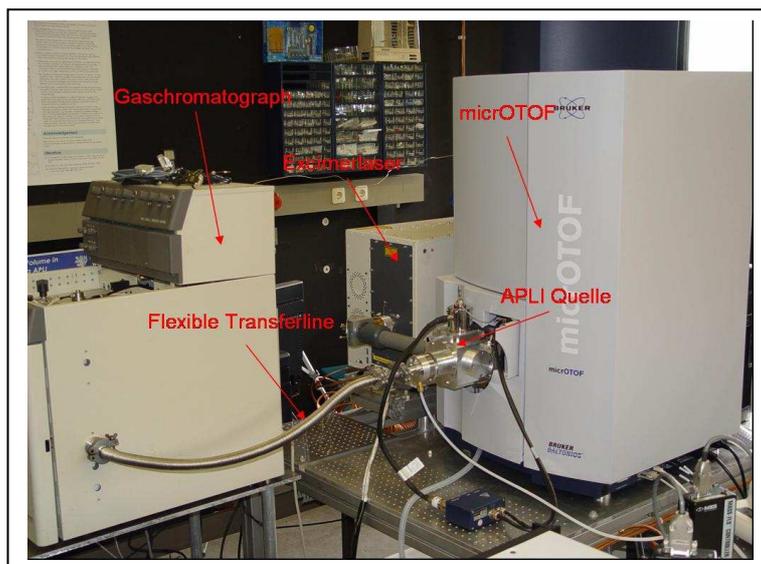


Abbildung 25: Foto des experimentellen Aufbaus der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am micrOTOF

Das mircOTOF weist an der MS-Einlass-Kapillare eine Pumprate von etwa 120 L/h Gasvolumen auf, wie durch Messung mit einem kalibrierten Gasflussmessgerät ermittelt werden konnte. Dieses Gasvolumen kann nicht nur durch den Gasstrom aus der GC-Kapillare und das Sheath Gas bereitgestellt werden, so dass eine weitere Quelle für die Differenz an Gasvolumen im Konzept der Kopplung vorgesehen werden musste, um ein Ansaugen von Gas aus dem „Gasüberlauf“ der APLI-Quelle zu verhindern. Um weiteren apparativen Aufwand und mögliche Kosten zu vermeiden, sollte der Sprayer, der bei der LC-Kopplung für das Versprühen des Eluates verwendet wird (Abb. 24 Punkt 1), für das zusätzlich benötigte Gasvolumen genutzt werden. Die Steuerung dieses Gasvolumens kann über das Massenspektrometer unter dem Punkt „Nebulizer“ (vgl. Abb. 27) erfolgen. Ein Wert von 3 bar entspricht hier etwa einem Fluss von 110 L/h. Bei der Verwendung des Sprayers als zusätzliche Gasquelle muss jedoch beachtet werden, dass der Gasfluss senkrecht zum Gasfluss aus der GC-Kapillare steht (Abb. 24 Punkt 8 und 9). Da dieser viel größer ist, besteht die Möglichkeit, den Gastransport zwischen GC-Kapillare und MS-Einlass zu stören. Denkbar ist in diesem Zusammenhang, dass der Gasstrom aus der GC-Kapillare verwirbelt oder vom MS-Einlass weggedrückt wird. Das „Dry Gas“, also der aus der kreisförmigen Öffnung des Sprayshieldes austretende Gasstrom, war als zusätzliche Gasquelle in der GC-APLI-(TOF)-MS-Kopplung nicht verwendbar, da dieser genau auf das Ende der Transferline und damit auf das Ende der GC-Kapillare gerichtet ist. Aufgrund dieses austretenden Gasstroms war ein Transport der Analyten über die Distanz zum MS-Einlass nicht mehr effektiv möglich.

3.2.3.2 Optimierung wichtiger Parameter für den Betrieb der GC-APLI-Quelle

Für einen ersten erfolgreichen Funktionstest der neu erstellten GC-APLI-(TOF)MS und für die im Folgenden dargestellten Optimierungen wurde erneut eine Anthracenlösung verwendet. Damit die Analysenzeiten (Wartezeiten) bis zum Auftreten eines Signals im Bereich weniger Sekunden gehalten werden konnten, wurde für die Optimierungen zunächst eine sehr kurze GC-Kapillare (ca. 1,5 m) verwendet. Erst nachdem eine weitgehende Optimierung der Parameter erfolgt war, wurde eine Kapillarsäule mit einer Länge von 30 m für chromatographische Trennungen eingesetzt. Für die Veränderung eines Parameters war mindestens eine erneute Injektion (1 bzw. 2 μL) erforderlich, um die Auswirkung anhand des Signals zu erkennen und zu bewerten. Alle Injektionen wurden manuell durchgeführt, da für den verwendeten Gaschromatographen kein Autosampler zur Verfügung stand. Das oben

dargestellte Konzept für die GC-APLI beinhaltet eine größere Anzahl an Parametern, die optimiert werden mussten, um das Potential der GC-APLI am micrOTOF möglichst umfassend bezüglich der Empfindlichkeit nutzen zu können. Ein kurzer Überblick über die optimierten Parameter wird im Folgenden gegeben:

- i) Bestimmung des optimalen Abstandes zwischen Sprayshield und Ende der Transferline (vgl. Abb. 24 Punkt 12),
- ii) möglicher Überstand des GC-Kapillarendes über die Transferline hinaus,
- iii) Abstand des Sprayers (vgl. Abb. 24 Punkt 1) zum Sprayshield in der Horizontalen (vgl. Abb. 24 Punkt 2),
- iv) Flussrate des Sheath Gases,
- v) Position des Lasers,
- vi) Repetitionsrate des Lasers,
- vii) Einstellungen am Massenspektrometer bezüglich der Ionenquelle und des Ionentransports im Hochdruck- und Vakuumbereich des Massenspektrometers.

Anhand der Anzahl von mindestens sieben Parametern, die für eine erste Optimierung ausgewählt wurden, ist erkennbar, dass die GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung sehr viele Freiheitsgrade aufweist, welche die optimale Performance dieser Kopplung beeinflussen. Daher stellen die Ergebnisse der Optimierung einen ersten Ansatz dar, der in erster Linie dazu dienen sollte, eine funktionstüchtige GC-Kopplung bereit zu stellen und das Potential dieser Kopplung abschätzen zu können. Weitere Untersuchungen zur Optimierung der Parameter sowie weitere Verbesserungen finden sich in Kapitel 3.3.1.1.

Als erster Parameter wurde der Abstand zwischen Sprayshield und dem Ende der Transferline optimiert. Bei dieser Optimierung spielten mehrere Aspekte eine Rolle. Zunächst sollte das Ende der Transferline so nahe wie möglich an den MS-Einlass herangebracht werden. Die Überlegung war dabei, das Ende der GC-Kapillare direkt in die Ansaugzone der MS-Kapillare zu bringen, um somit einen möglichst ausgeprägten Gradienten in Richtung des Massenspektrometers und einen störungsfreien Transport des Gases aus der GC-Kapillare zum MS-Eingang zu erhalten. Auf der anderen Seite muss aber ein ausreichend großer Abstand verbleiben, damit der Laserstrahl vor dem Sprayshield eingekoppelt werden kann, ohne dass es aufgrund des Abstandes zu einer Verwirbelung des Gasstromes kommen würde. Hierdurch würden sowohl eine Peakverbreiterung als auch eine Verringerung der Signalintensität auftreten. Bezüglich des Abstandes zwischen Sprayshield und Transferlineende wurde ein Wert von ca. 0,7 cm als optimal ermittelt.

Die nächsten beiden optimierten Parameter waren ein möglicher Überstand der GC-Kapillare über das eigentliche Ende der Transferline hinaus und die Flussrate des Sheath Gases. Die Funktion des Sheath Gases ist insofern kritisch, als diese den Gasstrom aus der GC-Kapillare umhüllen und damit eine annähernd laminare Strömung in Richtung des MS-Einlasses erzeugen soll. Ist dieser Fluss zu klein, bleibt die stabilisierende Wirkung möglicherweise aus, ist er zu groß, so besteht die Möglichkeit, dass vom Sprayshield zurückströmendes Gas zu turbulenterem Verhalten vor dem MS-Einlass führt. In Verbindung mit einem Überstand der GC-Kapillare von 1 - 2 mm konnte bei einem Sheath Gasfluss von 250 mL/min die größte Empfindlichkeit erreicht werden. Für den Laser wurde für diese Kopplung eine Position symmetrisch vor der kreisförmigen Öffnung des Massenspektrometers als optimal angesehen (vgl. Abb. 24 Punkt 6). Das Ende der GC-Kapillare ist genau auf das Zentrum des Sprayshieldes gerichtet. Der Analyt kommt bei dieser Anordnung nicht aus dem senkrecht zum Sprayshield angeordneten Gasstrom des Sprayers, so dass keine Verschiebung der optimalen Laserposition aus der Symmetrieebene zu erwarten ist. Damit der Laserstrahl des verwendeten OPTEX pro Excimer-Lasers zwischen Transferline, GC-Kapillare und Sprayshield in die Quelle eingekoppelt werden konnte, wurde dieser mittels einer Quarzlinse (Nominalbrennweite 15 cm) von 1 cm² auf 0,25 cm² fokussiert (Abb. 26).



Abbildung 26: Einkopplung des Laserstrahls in die GC-APLI-Quelle

Für die optimale Repetitionsrate des Lasers wurden die Einstellungen aus der LC-APLI-(TOF)MS-Kopplung aufgrund der bereits dargestellten Überlegungen übernommen. Die am Massenspektrometer vorgenommenen Einstellungen können auch für die GC-APLI-(TOF)MS in eher allgemeine (Quellenparameter, blau) und aufgrund des m/z -Verhältnisses

analytspezifische Parameter (Ionentransmission, rot) eingeteilt werden. Diese Parameter sind in Abbildung 27 in der Form dargestellt, wie sie für die Bestimmung der Nachweisgrenze von Chrysen (vgl. Kap. 3.2.4.1) mit dieser GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung verwendet wurden.

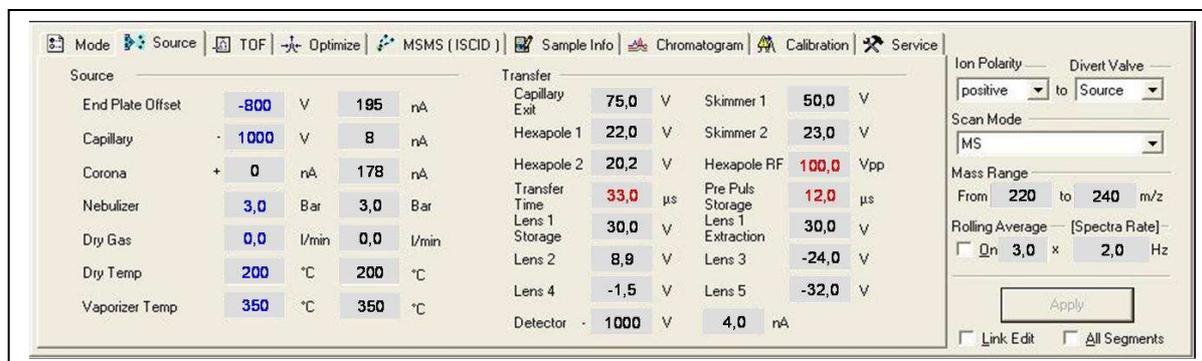


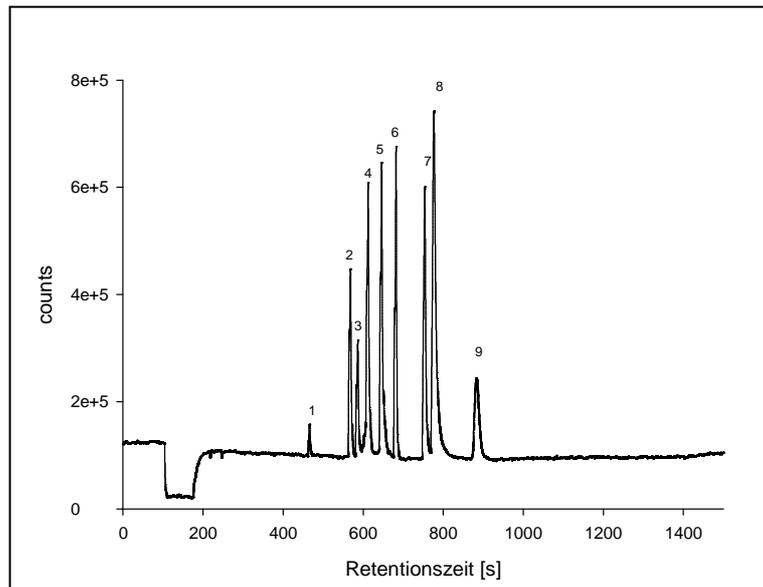
Abbildung 27: Ausschnitt aus der mircoTOF control Software, Parameterübersicht

Mit dem oben beschriebenen Aufbau und Parametern sollte nun das Potential der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am Beispiel verschiedener Analysen gezeigt werden.

3.2.4 Untersuchung einer Mischung von PAKs und heterocyclischen PAKs

Nachdem, wie oben beschrieben, wesentliche Parameter für den Betrieb der GC-APLI-(TOF)MS-Quelle optimiert worden waren, sollte nun gezeigt werden, dass mit der aufgebauten Kopplung eine Substanzmischung chromatographisch zu trennen und anschließend zu detektieren ist. Es sollte also die generelle Funktionsfähigkeit der Kopplung für eine Analyse gezeigt werden. Zu diesem Zweck wurde erneut die Mischung aus PAKs und heterocyclischen PAKs analysiert, die schon bei den GC-APLI-(TOF)MS-Messungen am Q-TOF Ultima verwendet wurde (vgl. Kap. 3.1.2), allerdings um den Faktor 10 verdünnt, so dass für die PAKs eine Konzentration von 10 μg/L und für die heterocyclischen PAKs eine Konzentration von 100 μg/L vorlag. Das bei dieser Analyse erhaltene Chromatogramm ist in Abbildung 28 dargestellt und zeigt die gute Selektivität und Sensitivität der für das mircoTOF aufgebauten GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung. Es konnten alle Testsubstanzen nachgewiesen und mit einer nahezu gaußförmigen Peakform detektiert werden. Anhand dieser Analyse konnte zum einen die Funktionsfähigkeit der Transferline und zum anderen der effektive Transport des Analyten aus der GC-Kapillare in den MS-Einlass unter Beweis gestellt werden. Die Transferline weist offenbar keine kalten Stellen auf, an denen schwerer flüchtige Analyten wie etwa Benzo[a]pyren auskondensieren und damit der Analyse nicht

mehr zugänglich wären. Beide Heizzonen machten es möglich, die Transferline auf die notwendige Temperatur von 320 °C zu erwärmen.



**Abbildung 28: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Mischung aus PAKs und hetero-PAKs
(experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.2)**

3.2.4.1 Bestimmung von Nachweisgrenze und Linearität

Mit der APLI steht eine Methode zur Verfügung, mit der PAHs besonders empfindlich nachgewiesen werden können. Um nun auch die am mircOTOF neu aufgebaute GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung bezüglich Nachweisgrenze zu charakterisieren, wurde eine Verdünnungsreihe einer Chrysenlösung hergestellt und diese inklusive Blindproben mittels GC-APLI-(TOF)MS analysiert. Auf diese Weise konnte nach dem 3s-Konzept von Kaiser und Specker^[138] für Chrysen eine Nachweisgrenze von 5 ng/L bei einem Injektionsvolumen von 1 µL ermittelt werden. In Abbildung 29 ist das Chromatogramm der Analyse der Chrysenlösung mit einem Gehalt von 5 ng/L dargestellt. Als für die Quantifizierung wichtige Größe wurde die Linearität der Methode ebenfalls anhand dieser Chrysenlösung im Bereich von 50 ng/L bis 2,5 µg/L mit 7 Kalibrierpunkten bestimmt. Der Korrelationskoeffizient der Kalibriergeraden ergab sich zu $R^2 = 0,997$.

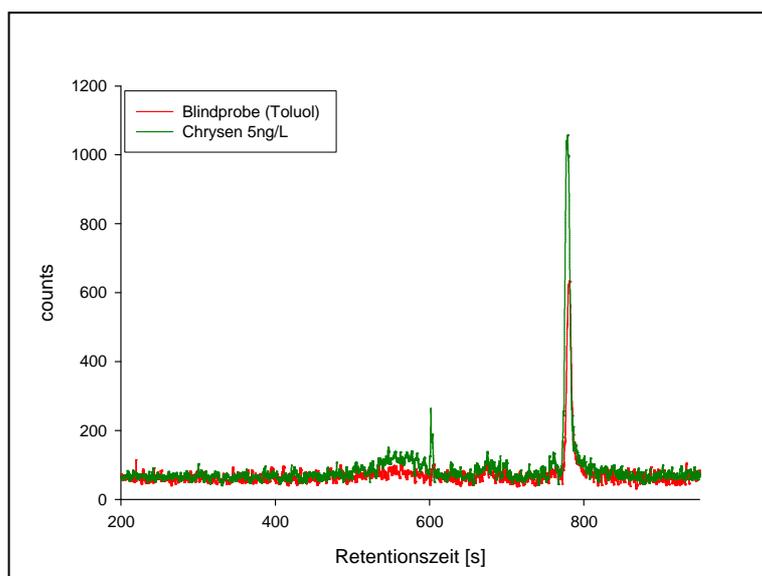


Abbildung 29: Bestimmung der Nachweisgrenze für Chrysen, flexible Transferline
(experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.2)

3.2.5 Untersuchung von PAKs und ihrer Derivate in komplexer Matrix

Der Nachweis und die Bestimmung polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe als Kontaminanten in unterschiedlichen Matrices stellt auf der Grundlage gesetzlicher Bestimmungen aus Gründen der Produktqualität oder aus wissenschaftlichem Interesse eine analytische Herausforderung dar. So ist oftmals eine aufwendige und damit kostenintensive Probenvorbereitung notwendig, um auf der einen Seite störende Matrixkomponenten zu entfernen und auf der anderen Seite die nur in Spuren vorhandenen PAKs anzureichern, so dass diese schließlich zur Analyse in hinreichender Konzentration vorliegen. Jeder dieser Probenvorbereitungsschritte muss dabei in der Regel für die spezielle Matrix entwickelt und validiert werden. Auch besteht bei jedem zusätzlichen Schritt die Möglichkeit, dass eine Kontamination der Probe durch die verwendeten Lösungsmittel oder durch sonstige Materialien, wie SPE-Kartuschen, erfolgt. Diese Kontamination muss dann in aufwendigen Messungen, sofern sie systematisch ist, ermittelt und anschließend das Analyseergebnis korrigiert werden. Für eine einfache und schnelle Durchführung solcher Analysen ist es notwendig, die zu untersuchenden Proben mit einer möglichst geringen Anzahl an Probenvorbereitungsschritten analysieren zu können.

Der Ionisationsmechanismus der APLI über den 1+1 REMPI-Prozess und die damit verbundene Selektivität für die Ionisation aromatischer Verbindungen eröffnet bei der Probenvorbereitung die Möglichkeit, die Matrix nur in einem geringeren Ausmaß oder im

Idealfall gar nicht zu entfernen, da diese nicht ionisiert wird und somit die Analyse nicht stören kann. Über die Selektivität hinaus können Verbindungen aus der Klasse der PAKs mit einer besonderen Empfindlichkeit nachgewiesen werden, so dass möglicherweise die für andere Analysenmethoden notwendigen Anreicherungsschritte nicht mehr notwendig sind.

3.2.5.1 Untersuchung des PAK-Gehaltes in Tocopherol A (Vitamin E)

Ein Beispiel für die Anwendbarkeit der GC-APLI-(TOF)MS zur Untersuchung von PAKs in einer komplexen Matrix unter Verzicht einzelner Schritte der Probenvorbereitung war Tocopherol A. Dieses Tocopherol A wird von der Fa. Cognis GmbH aus natürlichen Rohstoffen gewonnen, nämlich durch Destillation von Pflanzenölen. Da das Produkt bei der Destillation erhitzt werden muss, besteht die Möglichkeit der Bildung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen, die eine unerwünschte Verunreinigung darstellen. Die Überwachung des Gehaltes ist für die Aufrechterhaltung und Dokumentation der Produktqualität notwendig. Die Untersuchung wird in einem externen Labor (Eurofins Analytik GmbH), das hierfür zertifiziert ist, für ein breites Spektrum an PAKs mit Benzo[*a*]pyren und Dibenzo[*a,h*]pyren als Leitsubstanzen ^[151] durchgeführt. Hierbei liegen die Konzentrationen der überwachten PAKs im niedrigen µg/kg-Bereich (Grenzwert Benzo[*a*]pyren: 2 µg/kg). Zur Analyse der PAKs sind zwei Probenvorbereitungsschritte, nämlich die Gelpermeationschromatographie (GPC) und die Coffeinextraktion zur Entfernung der Matrixbestandteile notwendig. Selbst nach diesen Schritten liegt noch eine recht komplexe Matrix mit einer großen Anzahl an verschiedenen Verbindungen in der Probe vor ^[152]. Damit eine zuverlässige Quantifizierung mittels GC-(EI)MS nach Large-Volume-Injektion (50 µL), die notwendig ist, um die erforderliche Empfindlichkeit zu erreichen, durchgeführt werden kann, wird die Probe vor der Probenvorbereitung mit deuterierten Standards versetzt.

Es sollte nun beispielhaft an Proben mit einem geringem PAK-Gehalt untersucht werden, ob es möglich ist, diese Proben ebenfalls mittels GC-APLI-(TOF)MS unter Verwendung eines geringeren Injektionsvolumens (2 µL) zu analysieren und auf Schritte der Probenvorbereitung bei der GC-APLI-(TOF)MS-Analyse zu verzichten. Zu diesem Zweck wurden eine vom zertifizierten Analysenlabor bereits analysierte Probe, die sowohl Benzo[*a*]pyren (0,7 µg/kg) als auch Benzo[*e*]pyren (2,3 µg/kg) enthalten sollte, sowie die entsprechenden Blindproben und Proben zur Responsefaktorbestimmung, erneut mittels GC-APLI-(TOF)MS nach verschiedenen Schritten der Probenvorbereitung ohne Verwendung eines Large-Volume-Injektors analysiert. So wurden die nur verdünnte Probe, die Probe nach der GPC-

Aufreinigung und schließlich die Probe nach der vollständigen Probenvorbereitung untersucht. Für die nur 1:1 bis 1:10 mit Isooctan verdünnte Probe (Tocopherol A ist eine viskose Substanz) war der Nachweis von PAKs selbst nach der Addition eines deuterierten PAK-Standards in einer Konzentration von 100 µg/L nicht möglich. Vermutlich kam es hier zu einer Diskriminierung des Analyten im Liner des GC. Dagegen konnten nach dem ersten bzw. zweiten Probenvorbereitungsschritt sowohl die als interner Standard verwendeten deuterierten PAKs als auch das Benzo[*a*]pyren und Benzo[*e*]pyren nachgewiesen werden. In den Abbildungen 30 und 31 sind die erhaltenen Chromatogramme der GC-APLI-(TOF)MS-Analyse dargestellt.

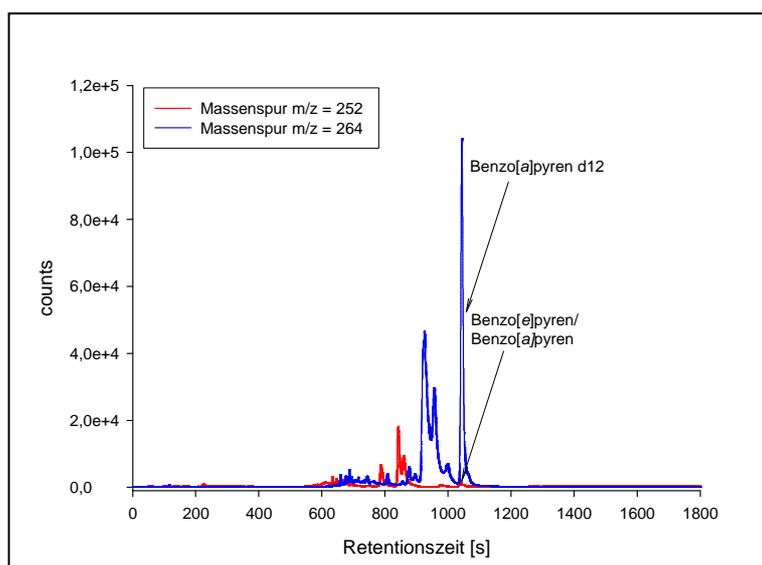


Abbildung 30: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse von Tocopherol nach GPC-Aufreinigung (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.3)

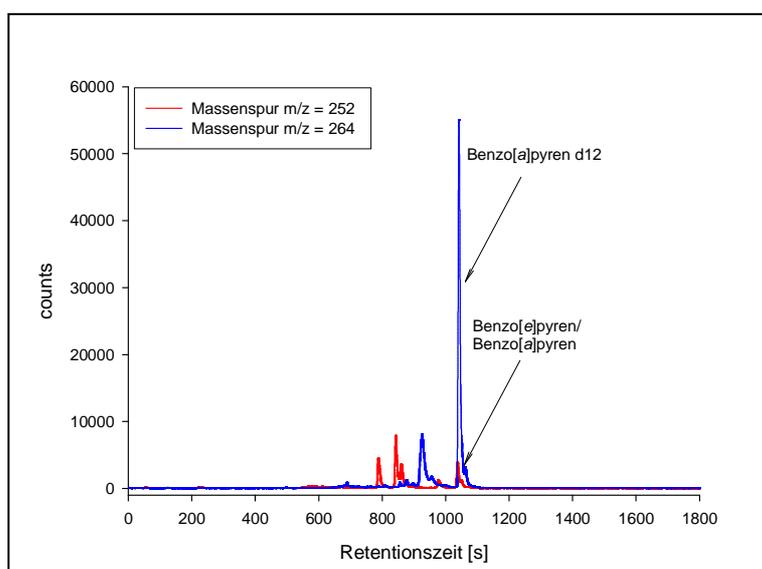


Abbildung 31: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse von Tocopherol nach vollständiger Aufreinigung (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.3)

Wie in den Abbildungen 30 und 31 zu erkennen ist, konnte in beiden untersuchten Proben sowohl Benzo[*a*]pyren als auch das Benzo[*e*]pyren sowie der verwendete interne Standard nachgewiesen werden, so dass auch eine Quantifizierung durchgeführt werden konnte. Die über den internen Standard ermittelten Konzentrationen von 0,25 µg/kg für Benzo[*a*]pyren und 0,35 µg/kg für Benzo[*e*]pyren für die vollständig aufgearbeitete Probe und 0,26 µg/kg für Benzo[*a*]pyren und 0,55 µg/kg für Benzo[*e*]pyren für die nur mittels GPC aufgereinigte Probe ergaben eine deutliche Abweichung von den durch das externe Labor ermittelten Werten, insbesondere beim Benzo[*e*]pyren. Daher wurden die Proben mit einer Benzo[*e*]pyrenlösung aufgestockt, um eine zweite Quantifizierung unabhängig vom internen Standard vornehmen zu können. Bei der erneuten Analyse der aufgestockten Proben wurde für die vollständig aufgearbeitete Probe ein Gehalt von 0,5 µg/kg und für die nur mittels GPC aufgereinigte Probe ein Gehalt von 1,0 µg/kg bestimmt. Der Vergleich der ermittelten Werte untereinander, aber auch der Vergleich mit Werten des externen Labors weisen deutliche Unterschiede auf. Möglicherweise hat die Differenz in der Konzentration zwischen Analyt und internem Standard und die daraus resultierende Differenz in der Signalintensität zu den erhaltenen Abweichungen geführt, was auf ein durch Matrixeffekte verursachtes nichtlineares Verhalten hinweist. Aber auch der Vergleich der durch das externe Labor und der mittels Standardaddition ermittelten Konzentrationen zeigt Unterschiede im Benzo[*e*]pyrengehalt, so dass hier entweder mit Hilfe der GC-APLI-(TOF)MS ein zu geringer Wert oder aber durch das externe Labor (Einfachbestimmung) ein zu hoher Wert für Benzo[*e*]pyren ermittelt wurde.

Demnach ist es unter Verwendung der APLI möglich, in einer komplexen Matrix wie dem durch Destillation von Pflanzenöl gewonnen Tocopherol A PAKs nachzuweisen. Im Vergleich zum Standardverfahren ist der Aufwand bei der Probenvorbereitung deutlich geringer. Das Injektionsvolumen lässt sich um den Faktor 25 verringern. Für eine eindeutige quantitative Aussage wären weitere Untersuchungen von Proben dieser Art notwendig, bei denen beispielsweise Methyl- oder Monofluor-PAKs als in bekannter Konzentration zugesetzte Analyten, die im Tocopherol normalerweise nicht vorkommen, bestimmt werden. Damit ließe sich die Quantifizierung mit einem deuterierten Standard verifizieren und auftretende Interferenzen durch die Matrix erkennen.

3.2.5.2 Bestimmung von 1-Hydroxypyren in Urin

Die Vorteile der APLI-(TOF)MS, also das hohe Nachweisvermögen für PAKs in Verbindung mit der erreichbaren Selektivität und der im Vergleich zur HPLC-LIF zusätzlich zur Verfügung stehenden Masseninformation sollten genutzt werden, um das Anwendungspotential der APLI für das Monitoring der humanen PAK-Exposition aufzuzeigen. Ein Marker für umweltbedingte PAK-Exposition^[153, 154] sowie für die beim Rauchen auftretende Belastung mit PAKs ist das 1-Hydroxypyren^[155, 156], das im Urin als Pyrenmetabolit unter Verwendung von verschiedenen Techniken (HPLC-LIF, GC-MS) nach Anreicherung mittels SPE (reversed phase, normal phase, SPME) und zuvor erfolgter enzymatischer Hydrolyse des Glucuronids und ggf. einer Derivatisierung nachgewiesen werden kann^[157 - 162]. Bei Rauchern kann 1-Hydroxypyren im Vergleich zu Nichtrauchern in erhöhtem Maße nachgewiesen werden^[163, 164].

Für die GC-APLI-(TOF)MS sollten die Probenvorbereitungsschritte so weit wie möglich vereinfacht werden. Zu diesem Zweck wurde zunächst untersucht, in welcher Form das 1-Hydroxypyren der Analyse am besten zugänglich ist. Hierzu wurde sowohl eine Lösung von underivatisiertem 1-Hydroxypyren (6,6 µg/L) (Abb. 32) als auch eine Lösung derselben Konzentration, bei der das 1-Hydroxypyren mittels TMSH (Trimethylsulfoniumhydroxid) im Liner der GC in den Methylether bzw. mit einer Mischung aus BSTFA (Bis-N,O-trimethylsilyltrifluoracetamid) und MSTFA (N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoracetamid) bei 80 °C im Trockenschrank in den entsprechenden Silylether überführt wurde.

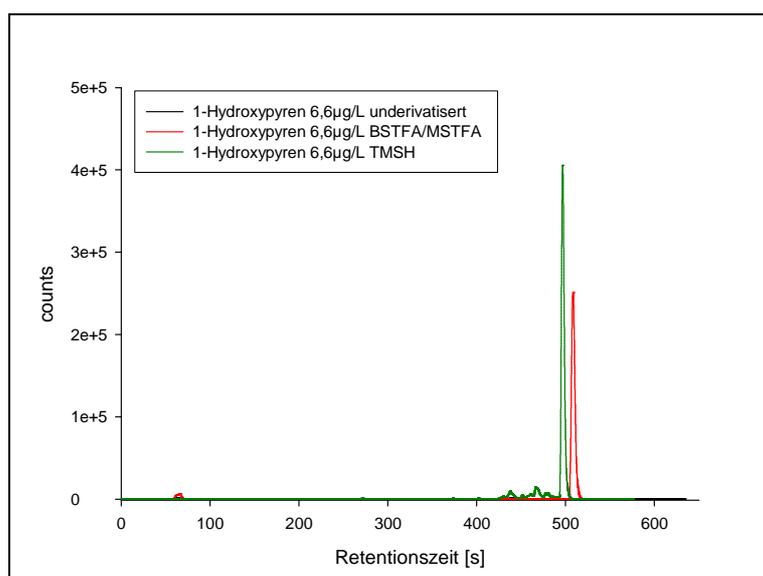


Abbildung 32: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse zum Vergleich von 1-Hydroxypyren derivatisiert und underivatisiert (experimentelle Parameter s. Kap. 5.3.1 und 5.4.1.4)

Der Vergleich der erhaltenen Chromatogramme zeigt deutlich, dass das 1-Hydroxypyren nur detektiert werden kann, wenn die Hydroxylgruppe derivatisiert ist. Dieser deutliche Zuwachs an Empfindlichkeit im Fall des derivatisierten 1-Hydroxypyrens lässt sich vermutlich auf eine Folgereaktion des gebildeten Radikalkations in der APLI-Quelle zurückführen. Viele Hydroxyarylverbindungen weisen im angeregten Zustand eine große Acidität auf, wodurch das Proton der Hydroxylgruppe an einen Akzeptor abgegeben werden kann ^[165, 166]. Im Fall des 1-Hydroxypyrenradikalkations könnte der Reaktionspartner Wasser sein, welches sich in Spuren immer in der Atmosphärendruckquelle befindet. Durch die Abgabe des Protons an eine Matrixkomponente in der APLI-Quelle würde das gebildete Ion seine Ladung verlieren und damit massenspektrometrisch nicht mehr erfasst werden können.

Daher wurde für die Probenvorbereitung eine Derivatisierung mit der bereits erfolgreich eingesetzten BSTFA/MSTFA-Mischung vorgesehen. Als einziger weiterer Schritt wurde eine SPE-Säule zur Probenvorbereitung verwendet. Mit Hilfe dieser Säule sollte das 1-Hydroxypyren in der Probe angereichert und Salze sowie das Wasser aus der Urinprobe entfernt werden. Um mit einer möglichst realen Probe arbeiten zu können, wurde eine von Herrn Gerhard Scherer, ABF GmbH München, freundlicherweise zur Verfügung gestellte Urinprobe, die zur Spaltung der enthaltenen Glucoronide bereits enzymatisch vorbehandelt war, verwendet. Diese wurde mit 1-Hydroxypyren auf eine Konzentration von 500 ng/L eingestellt, was der zu erwartenden Belastung eines Rauchers entspricht. Anschließend wurde die Probe extrahiert und silyliert. In Abbildung 33 ist das erhaltene Chromatogramm der GC-APLI-(TOF)MS-Analyse der verdünnten Probe dargestellt.

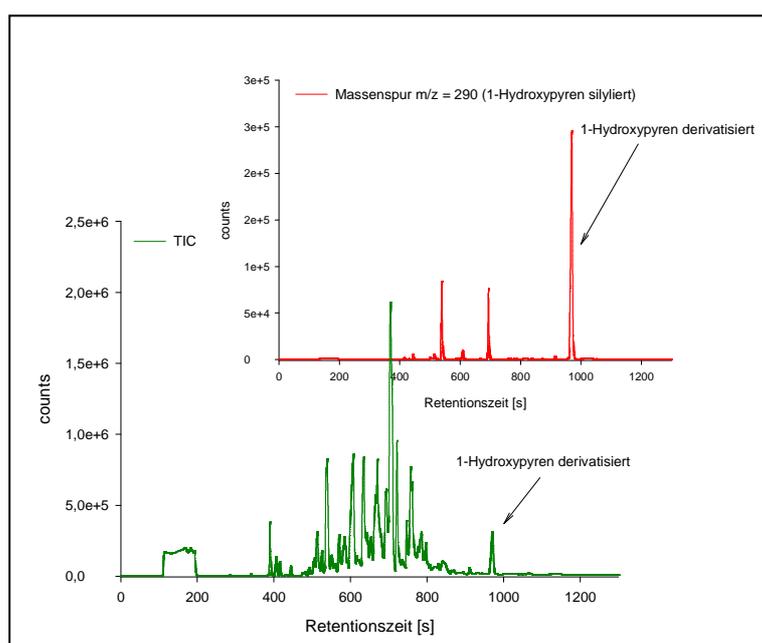


Abbildung 33: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Urinprobe (experimentelle Parameter s. Kap. 5.3.1. und 5.4.1.5)

Mit der durchgeführten GC-APLI-(TOF)MS-Analyse konnte das 1-Hydroxypyren in der zugesetzten Konzentration nachgewiesen werden. Damit wurde gezeigt, dass die APLI-(TOF)MS eine Methode darstellt, mit der ein Marker der PAK-Exposition nach Derivatisierung in einer biologisch relevanten Konzentration erfasst werden kann.

Im TIC-Chromatogramm der untersuchten Probe sind neben dem Signal für das derivatisierte 1-Hydroxypyren noch eine Vielzahl weiterer Signale zu erkennen, deren Identität im Rahmen dieser Arbeit nicht aufgeklärt wurde. Es besteht jedoch die Vermutung, dass es sich bei diesen Substanzen nicht ausschließlich um unpolare aromatische Verbindungen handelt, sondern hier möglicherweise andere Substanzen bzw. Substanzklassen ionisiert wurden. Möglicherweise haben einzelne Verbindungen der untersuchten Probe die Wirkung eines Dopants und führen unter Verlust der eigentlichen Selektivität der APLI durch Ladungsaustausch oder Protonentransfer zur Ionisation weiterer Komponenten der Probe.

Die sowohl an den Tocopherolproben als auch an der Urinprobe durchgeführten Untersuchungen zeigen das hohe Potential der GC-APLI-(TOF)MS zur Untersuchung aromatischer Verbindungen in verschiedenen Matrices unter den Aspekten Nachweisvermögen und vereinfachte Probenvorbereitung. Der genaue Umfang dieses Anwendungspotentials kann in weiteren, den Rahmen dieser Arbeit übersteigenden Studien gezeigt werden. Hierbei sind neue Methoden der Probenvorbereitung für verschiedenste Fragestellungen zu entwickeln und validieren.

3.2.6 Weitere Einsatzmöglichkeiten: APLI-Quellen

Der Aufbau einer APLI-Kopplung am micrOTOF konnte, wie oben beschrieben, sowohl für die Flüssigchromatographie als auch die Gaschromatographie durch die Konstruktion einer geeigneten Quelle und einer Transferline realisiert werden. Daraus ergaben sich verschiedene Anwendungsmöglichkeiten in Form der LC- und der GC-APLI-(TOF)MS. Über die oben gezeigten Anwendungsbeispiele hinaus besteht die Möglichkeit, die APLI in umweltanalytischen Fragestellungen wie etwa der Bestimmung der PAK-Belastung in Sedimenten oder aber im medizinischen Bereich bei der Bestimmung von aromatischen exogenen DNA-Addukten wie zum Beispiel dem Benzo[*a*]pyren-Addukt einzusetzen.

Ein besonderes Merkmal dieser Kopplungen besteht darin, dass sowohl für die LC- als auch für die GC-APLI ein und derselbe Quellenkörper verwendet werden kann. Für den Wechsel zwischen der Flüssig- und der Gaschromatographie muss nur ein Flansch am Quellenkörper entfernt und gegen die Transferline ausgetauscht werden (oder umgekehrt). Ansonsten kann

die Quelle ohne weitere Änderungen verwendet werden. Diese Flexibilität zum direkten Wechsel zwischen LC- und GC-Methoden stellt eine einfache und kostengünstige Alternative zur Verwendung verschiedener kompletter Ionenquellen bzw. ganzer analytischer Systeme (z.B. eines GC-MS-Systems) dar. Darüber hinaus steht sowohl für die LC als auch die GC ein System zur Verfügung, mit dem eine Massengenauigkeit im Bereich von kleiner 2 ppm erreicht werden kann ^[167], was diese flexible Kopplung für die LC und GC für weitere Anwendungsbereiche wie das Metabolit-Profilierung oder das Multiple-Target-Screening zu einer interessanten Option werden lässt. Das kostenintensive Massenspektrometer kann als Detektor mit hoher Massengenauigkeit auf diese Weise für ein sehr viel breiteres Spektrum an Analyten genutzt werden. Das mit diesem System massenspektrometrisch analysierbare Analytspektrum ist an dieser Stelle nicht mehr von der Chromatographiemethode (GC oder LC) abhängig, sondern von der Ionisationsmethode selbst. Während mittels APLI das Spektrum unpolarer aromatischer Verbindungen abgedeckt werden kann, ist für die Ionisation polarerer Verbindungen die Verwendung anderer Ionisationsmethoden wie der APCI oder ESI notwendig. Um die Vorteile der bisher nur für GC- und LC-APLI genutzten Ionenquelle für ein möglichst großes Analytspektrum zugänglich zu machen, sollte die vorhandene Quelle zu einer „Multi-Purpose API-Source“ für die GC und LC erweitert werden. Zur Erweiterung der Quelle sollte diese durch die Verwendung geeigneter Anbauteile so ausgestattet werden, dass für die Flüssigchromatographie ESI, APCI, APLI und für die Gaschromatographie APCI, APPI und APLI, sowie für die Flüssigchromatographie Multimode-Ionisationstechniken, z.B. ESI und APLI (ESAPLI) gleichzeitig zur Verfügung stehen.

3.3 Aufbau einer Multi-Purpose API-Source (MPIS) für die GC- und LC-MS

Um das micrOTOF mit einer Ionenquelle auszustatten, die sowohl für die LC als auch die GC verwendet werden und dabei die Ionisation eines breiten Analytspektrums ermöglichen kann, sollte der bereits für die GC- und LC-APLI verwendete Quellenkörper benutzt werden und zu einer Multi-Purpose API-Source für die GC- und die LC-MS erweitert werden. Bei dieser Erweiterung sollte das oben vorgestellte flexible Konzept beibehalten werden, sowie der einfache Wechsel zwischen den Ionisationsmethoden und den Trenntechniken im Vordergrund stehen.

Hierzu sollten die Möglichkeiten für die APLI uneingeschränkt in dieser Quelle weiterhin genutzt werden können und die Verwendung weiterer Ionisationsmethoden möglichst auf eine einfache Art und Weise in das bisherige Quellenkonzept integriert werden.

Vor dem Hintergrund der durch die Firma Bruker Daltonics zu dem Zeitpunkt der Planung vorgesehenen kommerziellen Einführung und zum Zeitpunkt des Verfassens der vorliegenden Arbeit vorgenommenen Einführung dieser Quelle als ein Teil der Produktpalette von Bruker Daltonics^[167] sollte zunächst die Transferline als der zentrale Bestandteil der GC-API-Option aus verschiedenen Gesichtspunkten heraus in einer verbesserten Version neu konstruiert, optimiert und erprobt werden (s. Kap. 3.3.1). Anschließend sollten die weiteren Ionisationsmethoden in die Quelle integriert werden.

3.3.1 Aufbau der verbesserten Transferline

Zur Erweiterung der bereits für die LC- und GC-APLI am micrOTOF verwendeten Ionenquelle zu einer Multi-Purpose API-Source sollte auch die Transferline für die GC-Kopplung neu konstruiert werden. Diese Neukonstruktion erschien aus mehreren Gründen notwendig (s. unten). Hierbei sollten die Erfahrungen mit der bisher verwendeten flexiblen Transferline mitberücksichtigt werden und die Neukonstruktion unter den nachstehenden Gesichtspunkten erfolgen:

- i) vereinfachte Herstellung
- ii) robustere Bauform
- iii) Möglichkeit zur Kleinserienproduktion

Während die zuvor (vgl. Kap. 3.2.3.1) aufgebaute und für die GC-APLI erfolgreich eingesetzte Transferline noch eher eine erfolgreiche Laborversion mit vielen Optionen in der Verwendung (2 Heizzonen, Möglichkeit zur Verwendung als 2. GC-Ofen für die GCxGC-Kopplung) darstellte, sollte diese neue Transferline als Standardkomponente mit einer erreichbaren Temperatur von 350 °C und einer Gesamtlänge von 30 cm für die neue Ionenquelle konstruiert werden, bei der die zuvor erfolgreich eingeführten Merkmale wie das Sheath Gas für die neue Transferline erhalten bleiben sollten.

Um einen möglichst einfachen und robusten Aufbau zu ermöglichen, sollte das Konzept in der Form verändert werden, dass durch den geänderten inneren Aufbau der Transferline (s. unten) der Widerstandsdraht als Heizmedium ebenso entfallen konnte wie die Verwendung von zwei Heizzonen (vgl. Kap 3.2.3.1). Als Folge dieser Veränderungen im Konzept sollte ebenfalls auf einen flexiblen Teil an der Transferline verzichtet werden, um an dieser Stelle

eine größere Robustheit des Systems zu erzeugen, obwohl hierdurch die Flexibilität in der Positionierung des Gaschromatographen vor dem Massenspektrometer eingeschränkt wird. Die Beweglichkeit des hinteren Endes der Transferline beinhaltet zwei mögliche Probleme, die durch die Verwendung eines komplett starren Aufbaus vermieden werden sollten. Da die GC-Kapillare nur auf der Seite des GC-Ofens fixiert werden kann (s. Abb. 35), führen unbeabsichtigte Bewegungen am beweglichen Teil der Transferline möglicherweise zu einem veränderten Krümmungsradius und damit zu einer veränderten Position der GC-Kapillare in der Ionenquelle, was die Performance der Kopplung negativ beeinflussen kann. Des Weiteren kann das häufige Knicken der Transferline zum Verschleiß der isolierenden Glasseide führen, wodurch möglicherweise ein Kurzschluss entstehen könnte, der zum Versagen der Transferlineheizung führen würde. Daher wurde zur Erhöhung der Standfestigkeit und vor dem Hintergrund von möglichen häufigen Wechseln zwischen GC- und LC-Methoden auf den beweglichen Teil der Transferline und die Verwendung von Glasseide als Isolationsmaterial verzichtet. Für die Kleinserienproduktion wäre dieser Aufbau zu aufwendig und ggf. nicht ausreichend reproduzierbar, so dass hier eine alternative Lösung zum Erwärmen der Metallkapillare, die die Ionenquelle mit dem GC-Ofen verbindet, verwendet werden sollte. Für diese alternative Lösung wurde vorgesehen, die Metallkapillare selbst als Heizung zu verwenden und diese in einem isolierenden Glasrohr in der metallischen Hülle der Transferline zu führen, um auf diese Weise eine nahezu homogene Wärmeabstrahlung zu erreichen. Aufgrund des unterschiedlichen spezifischen Widerstandes des Edelstahl der Kapillare und des Kupfers der Zuleitungen ist es möglich, durch Anlegen einer kleinen Gleichspannung (ca. 5 V) hoher Stromstärke (ca. 15 – 20 A) die Metallkapillare selbst zu erwärmen. Eine weitere Heizung, wie etwa durch Heizpatronen, konnte somit entfallen.

Zur Temperaturmessung und Regelung sollte erneut ein Thermoelement Typ K in Verbindung mit dem schon bei der zuvor realisierten flexiblen Transferline erfolgreich eingesetzten mikroprozessorgesteuerten PID-Regler verwendet werden. Aufgrund der geringen Wärmekapazität der Edelstahlkapillare ($AD = 1,6 \text{ mm}$) war die Verwendung eines Thermoelementes, das selbst eine geringe Wärmeleitfähigkeit aufwies, notwendig. Auch der Verbindungspunkt zwischen Thermoelement und Kapillare musste eine möglichst geringe Wärmekapazität aufweisen, damit am Punkt der Temperaturmessung keine Inhomogenität in der Temperaturverteilung erzeugt wurde („kalte Stelle“) und somit die Temperaturmessung verfälscht wurde. Eine Verbindung mit zu großer Wärmekapazität an dieser Stelle würde zu einer gegenüber dem Messwert im restlichen Teil der Transferline erhöhten Temperatur führen. Dies könnte zu verstärktem Säulenbluten beziehungsweise einer Zerstörung des Films

auf der Kapillare führen und damit die chromatographische Trennung sowie die Basislinie negativ beeinflussen. Daher wurde ein Thermoelement mit einem Durchmesser von nur 0,25 mm verwendet, das mittels Silberlot direkt an die geheizte Metallkapillare angelötet wurde, um einen direkten, haltbaren metallischen Wärmeübergang auf das Thermoelement zu erreichen. In den Abbildungen 34 und 35 ist die neue Transferline schematisch und in Form eines Fotos abgebildet.

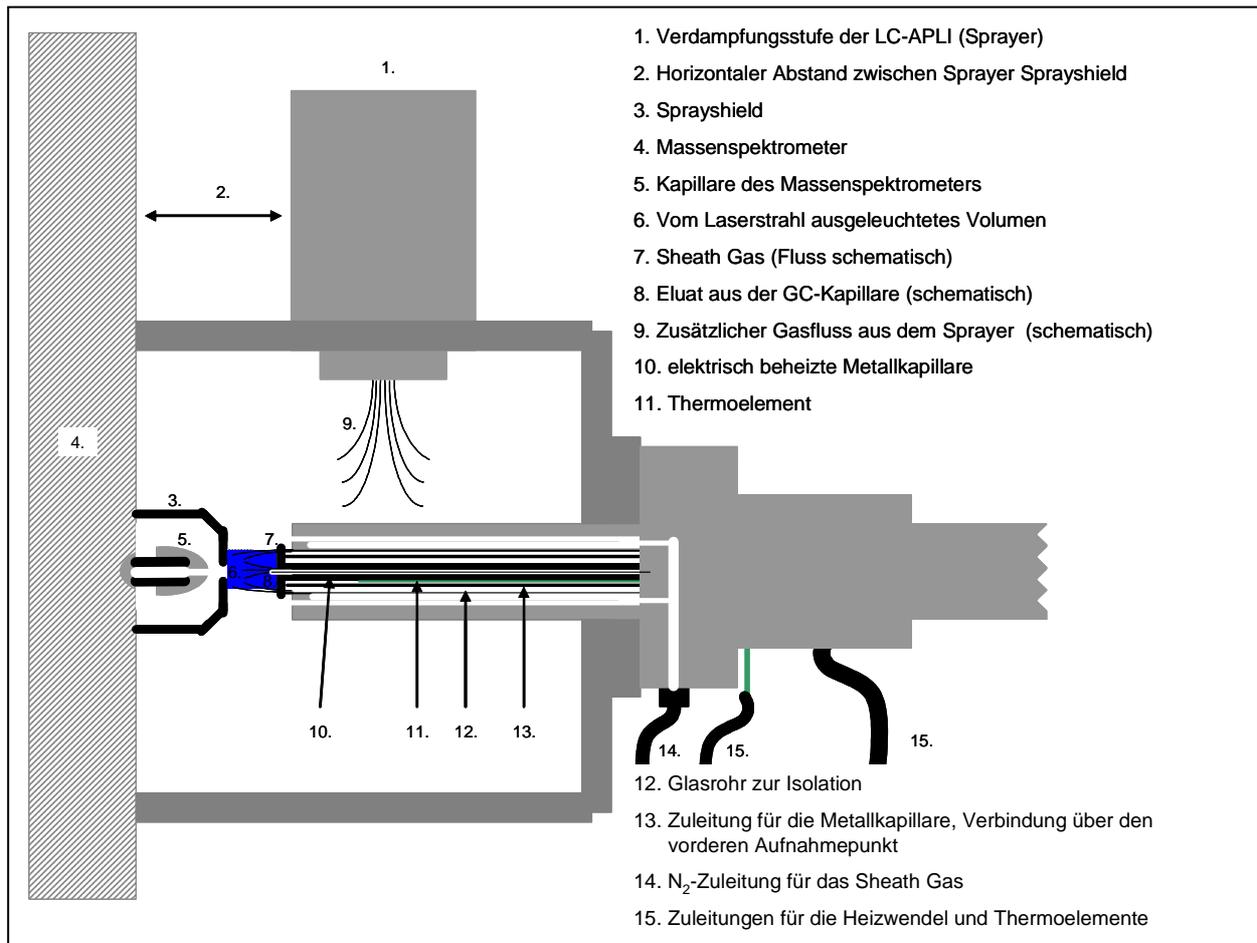


Abbildung 34: Schematische Darstellung der GC-Kopplung für die MPIS

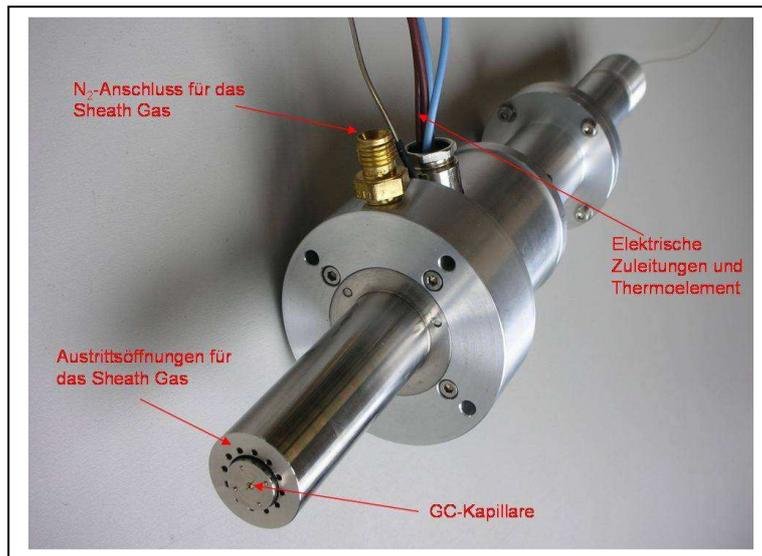


Abbildung 35: GC-Transferline der MPIS

Wie bereits oben kurz dargestellt, wurde für die Temperaturregelung erneut ein PID-Regler verwendet. Dieser wurde in eine eigens für den Betrieb der Transferline aufgebaute Steuerung (Abb. 36) integriert.



Abbildung 36: Steuerung zur Temperaturregelung der GC-Transferline für die MPIS

Diese Steuerung beinhaltet neben dem PID-Regler selbst noch ein Schaltnetzteil ($U_{\text{Ausgang}} = 5\text{V DC}$, $P_{\text{Max}} = 150\text{ W}$), mit dem die zum Heizen der Kapillare benötigte Gleichspannung erzeugt wird, so dass eine mittlere Heizleistung von $2,5\text{ W/cm}$ zur Verfügung steht. Der Lastausgang dieser Steuerung wird von zwei MOSFET-Transistoren als Teil einer eigens hierfür aufgebauten elektronischen Schaltung gebildet. Neben der autonomen Temperaturregelung mit Hilfe des eingebauten Temperaturreglers kann die Heizspannung

ebenfalls extern mittels TTL-Pulsen gesteuert werden. Dies erscheint besonders interessant, wenn für die Temperaturregelung z.B. ein Computer mit geeigneter Hard- und Software verwendet werden soll, um die Temperaturregelung für die Transferline in eine bereits bestehende Softwarelösung, wie etwa die micrOTOF control Software zu integrieren. Im Fall der Benutzung des TTL-Einganges würde der PID-Regler deaktiviert, um somit eine unbeabsichtigte „Doppelkontrolle“ der Temperatur zu verhindern. Die Temperaturregelung kann entweder mittels Regler erfolgen oder aber extern mittels TTL-Pulsen.

In Abbildung 37 ist die neue GC-API-Kopplung unter Verwendung des zu diesem Zeitpunkt für die Kopplung zur Verfügung stehenden Gaschromatographen Agilent 7890A dargestellt.

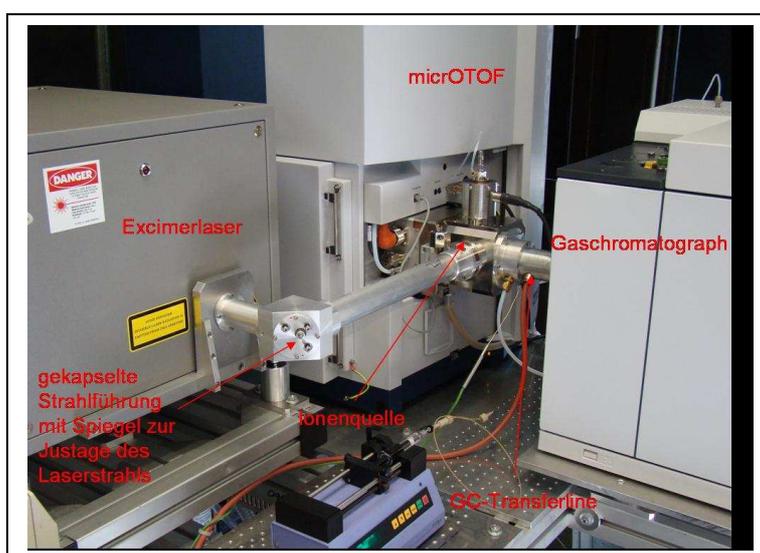


Abbildung 37: Aufbau der GC-Option der MPIS

3.3.1.1 Optimierung verschiedener Parameter zum Betrieb der neuen Transferline

Wie schon für die zuvor realisierte flexible Lösung sollten auch für diese Transferline einige Parameter optimiert werden, um eine möglichst hohe Effektivität beim Transfer des Gasstroms aus der GC-Kapillare heraus in den Einlass des Massenspektrometers zu ermöglichen. Die hierbei für eine Optimierung als besonders wichtig angesehenen Parameter ergaben sich zum einen aus dem leicht veränderten Ende der Transferline (Abb. 38) und zum anderen aus den Erfahrungen bei der Parameteroptimierung für die flexible Transferline, so dass im Wesentlichen die folgenden Parameter optimiert wurden:

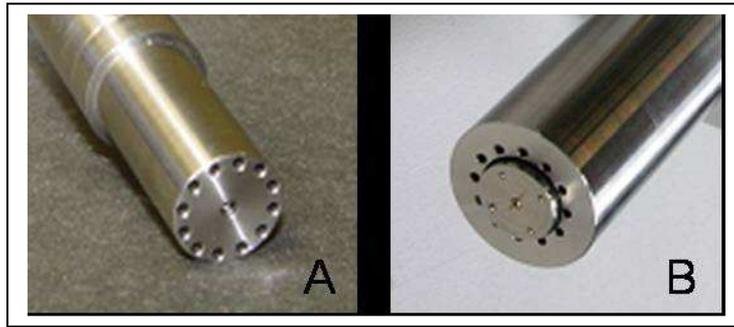


Abbildung 38: Vergleich der in die Ionenquelle hineinragenden Enden der flexiblen (A) und starren (B) Transferline

- i) der Abstand der Transferline zum Sprayshield in der Horizontalen
- ii) die Flussrate des Sheath Gases
- iii) Einstellungen am Massenspektrometer bezüglich der Ionenquelle und des Ionentransports im Hochdruck- und Vakuumbereich des Massenspektrometers

Für die notwendigen Optimierungen wurde die APLI als Ionisationsmethode verwendet, da mit dieser Ionisationstechnik bereits ausreichende Erfahrungswerte zur Verfügung standen und insbesondere ein Vergleich mit den zuvor erzielten Ergebnissen, etwa bezüglich der Nachweisgrenze, möglich war.

Um die Optimierung der oben genannten Parameter zu vereinfachen, sollten hier nicht mehr Einzelinjektionen in Verbindung mit einer möglichst kurzen GC-Kapillare vorgenommen werden. Wie schon bei der Optimierung für die LC-Kopplung sollte ein konstantes Analytsignal verwendet werden. Dieser Ansatz bedeutete, dass ein konstanter Analytstrom in die Ionenquelle hinein erzeugt werden musste. Da kein geeignetes PAK-Prüfgas verfügbar war, wurde eine alternative Möglichkeit gesucht. Zu diesem Zweck wurde ein verschließbarer Metallzylinder (Abb. 39) eingesetzt. Dieser wurde mit einem PAK (hier Benzo[*a*]pyren) befüllt und im GC-Ofen positioniert (Abb. 39). Zu- und Ableitung des Trägergases erfolgten mit einer GC-Kapillare, so dass das Trägergas das Benzo[*a*]pyren überströmen und aufgrund des Dampfdruckes, ggf. nach Erwärmen des GC-Ofens, eine ausreichende Gasphasenkonzentration erreicht wurde. Das Benzo[*a*]pyren wurde somit zusammen mit dem Trägergas in Form eines konstanten Analytstroms in die Ionenquelle eingetragen.

Zunächst wurden auf Basis der schon bestehenden Erfahrungen und unter Berücksichtigung äußerer Gegebenheiten, wie etwa der Notwendigkeit, den Laserstrahl in die Quelle einkoppeln zu können, der optimale Abstand zwischen Sprayshield und dem Ende der Transferline anhand des Analytsignals bestimmt. Hierbei konnte ein Wert von 7,5 mm als optimaler Wert

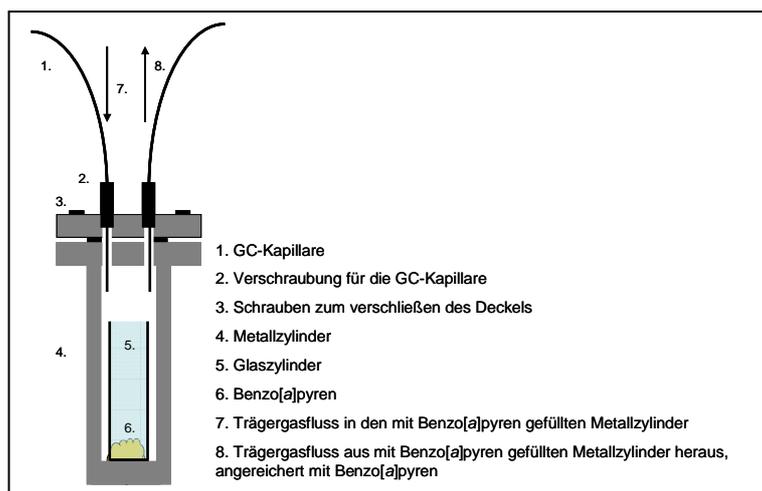


Abbildung 39: Schematische Darstellung des verwendeten Metallzylinders zur Erzeugung eines konstanten Analytflusses

ermittelt werden. Anschließend wurde eine möglichst passende Parametereinstellung in der microTOF control Software für eine empfindliche Detektion des Benzo[a]pyrens vorgenommen, wobei auf eine Darstellung der Parameter verzichtet wird.

Für die nun stark vereinfachte Bestimmung eines am besten geeigneten Wertes der Flussrate des Sheath Gases wurde diese beim optimierten Abstand von 7,5 mm des Transferlineendes zum Sprayshield bestimmt. Hierzu wurde der Fluss mittels Massflow Controller im Bereich von 0 – 1000 mL/min in Schritten zu 100 mL/min erhöht und das erhaltene Analytsignal in Abhängigkeit des Sheath Gasflusses aufgezeichnet (Abb. 40).

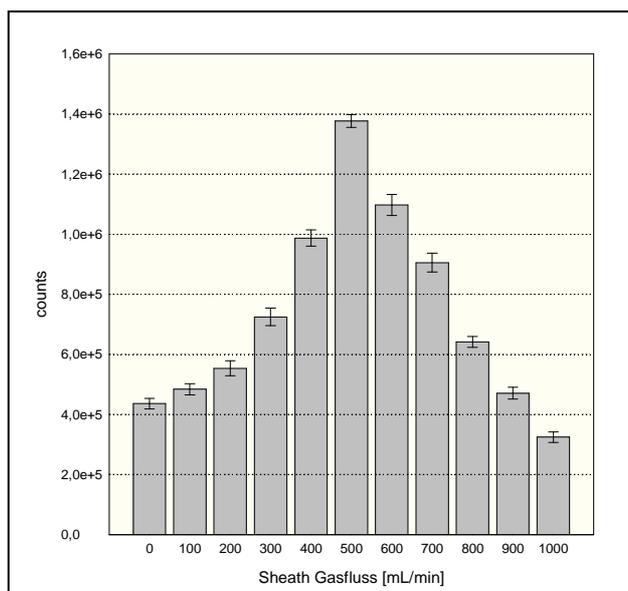


Abbildung 40: Bestimmung des optimalen Sheath Gasflusses

Wie in Abbildung 40 zu erkennen, wurde bei einer Flussrate des Sheath Gases von 500 mL/min ein maximales Analytsignal erhalten. Diese Flussrate von 500 mL/min für das Sheath Gas wurde somit für alle weiteren Analysen mit diesem System als optimal angesehen.

3.3.1.2 Bestimmung des dynamischen Ionenakzeptanzvolumens der GC-APLI-Kopplung

Um über die in Abbildung 40 gezeigte integrale Information der Gesamtintensität des Analytsignals hinaus Informationen zu erhalten, wurde das orts aufgelöste dynamische Ionenakzeptanzvolumen (DIAV), also die Anzahl der den Detektor in Abhängigkeit des Ionisationsortes erreichenden Ionen, nach der von Lorenz et al. ^[137] entwickelten Methode bestimmt. In Abbildung 41 ist der Vergleich der DIAVs für drei unterschiedliche Flussraten des Sheath Gases (0 L/min, 0,5 L/min, 1,0 L/min) bei ansonsten unveränderten Parametern gezeigt.

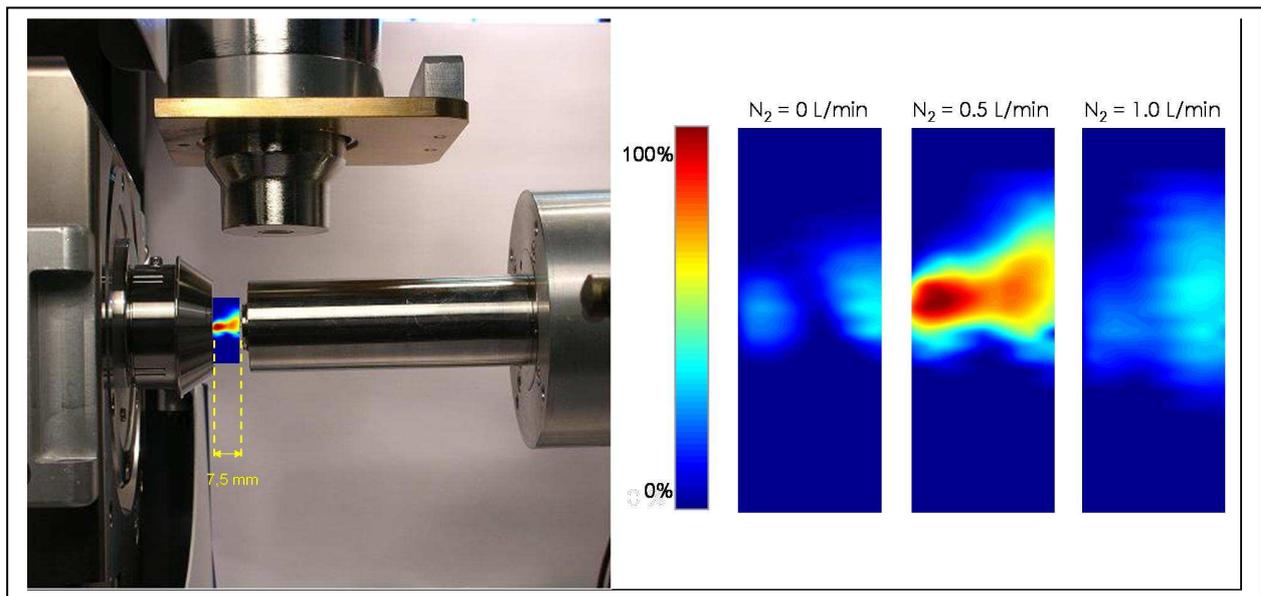


Abbildung 41: Bestimmung des dynamischen Ionenakzeptanzvolumens der GC-APLI-Kopplung mit Benzo[a]pyren als Analyten

Es ist klar zu erkennen, dass die Flussrate des Sheath Gases einen deutlichen Einfluss auf das DIAV hat. Nur im Fall einer Flussrate von 500 mL/min ist eine optimale Umhüllung des Gasstroms aus der GC-Kapillare möglich. Der Gasstrom aus der GC-Kapillare wird in gewünschter Weise stabilisiert und in Richtung des MS-Einlasses geleitet, so dass hier die höchste Empfindlichkeit erreicht werden kann.

Durch die Bestimmung des DIAV konnte ein wichtiger Einblick in die Funktionsweise des Sheath Gases erlangt werden und die zuvor nur postulierte Umhüllung des Gasstroms aus der GC-Kapillare durch das Sheath Gas bewiesen werden. Auf diese Weise stehen nun wichtige Informationen zur Gasflussdynamik in der Quelle zur Verfügung.

3.3.2 Aufbau einer Multi-Purpose API-Source für die GC- und LC-MS:

Integration der zusätzlichen API-Techniken

Nachdem für den Aufbau der Multi-Purpose API-Source (MPIS) nun eine geeignete GC-Transferline zur Verfügung stand, sollten die Möglichkeiten zur Verwendung der anderen AP-Ionisationsmethoden ESI, APCI, Dopant assisted (DA)-APLI APPI, DA-APPI sowie Multimode-Ionisationstechniken überprüft und in das Konzept der Quelle integriert werden.

Dieses wurde ausgehend vom bestehenden Quellenkörper (vgl. Abb. 14) aufgebaut und wird im Folgenden dargestellt. Für die jeweiligen Ionisationsmethoden werden die Analysen von unterschiedlichen Substanzgemischen gezeigt.

Der in Abbildung 14 gezeigte Quellenkörper besteht im Wesentlichen aus einem Aluminiumwürfel mit 5 Öffnungen (A - E in Abb. 42) und einem zylindrischen Innenraum mit einem Durchmesser von 87 mm. Mit Ausnahme der Öffnungen A und C hängt die Verwendung aller weiteren Öffnungen von der gestellten Aufgabe ab. Entsprechende mittels O-Ring abgedichtete Flansche können dort montiert werden. Eine kurze Erläuterung der Funktionen der Öffnungen, wie sie bei der MPIS in der vorliegenden Arbeit genutzt wurden, wird im Folgenden gegeben:

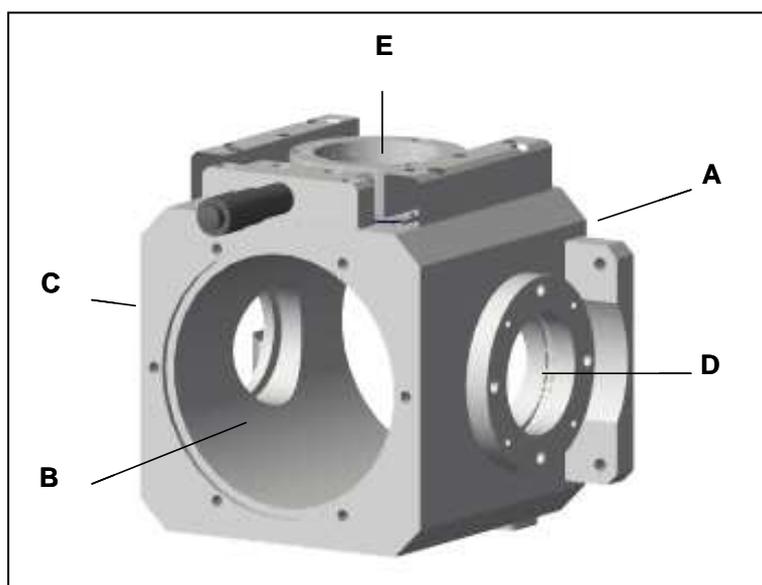


Abbildung 42: Quellenkörper der MPIS, schematische Darstellung

Öffnung A bildet die Verbindung zwischen dem Körper der Ionenquelle und dem entsprechenden Gegenstück an der Quellenaufnahme des Massenspektrometers.

Öffnung B ist die größte Öffnung der Quelle und unterliegt einer unterschiedlichen Verwendung. Während diese bei der LC-APLI und der LC-ESI mittels Blindflansch, der beispielsweise ein Glasfenster enthält, verschlossen wird, ermöglicht diese Öffnung bei der LC-APCI die Aufnahme des Nadelhalters. In der GC-APCI, GC-APPI und GC-APLI wird an dieser Stelle die Transferline montiert (vgl. Kap. 3.2.3.1).

Öffnung C erlaubt über ein 40 mm Quarzfenster den Einlass des Laserstrahles, sowohl in der LC- als auch in der GC-APLI.

Öffnung D bildet im Fall der APLI den Auslass für den Laserstrahl. Das Quarzfenster ist entweder mit einem Blindflansch oder einer Schablone zur Justage des Laserstrahls von außen abgedeckt (vgl. Abb. 16). Im Fall der GC-APCI, der GC-APPI und der LC-APPI werden das Austrittsfenster und der Blindflansch ersetzt. Hier werden die APCI-Nadel mit Halter bzw. eine Befestigung für die APPI-Lampe montiert (Abb. 44 und 45).

Öffnung E dient zur Montage der jeweiligen Verdampfungsstufe. Bei der ESI wird hier die ESI-Nadel montiert, während bei APCI, APPI und APLI die beheizbare Verdampfungsstufe eingebaut wird. Diese Verdampfungsstufe wird ebenfalls genutzt, um den für die GC-APLI und GC-APPI zusätzlichen Gasbedarf zur Verfügung zu stellen (vgl. Kap. 3.2.3.1). Darüber hinaus wird die Verdampfungsstufe bei der dopant assisted-GC-APLI und GC-APPI (DA-GC-APLI, DA-GC-APPI) für die Dosierung eines geeigneten Dopanten, z.B. Toluol, in die Quelle verwendet. Auch die Zugabe von Kalibriersubstanzen für eine interne Massenkalisierung während der Analyse wäre möglich.

Um bei der Verwendung des Klasse 4 Excimer-Lasers für die APLI eine ausreichende Lasersicherheit gewährleisten zu können, wurde bei dieser Quelle der Strahlengang verschlossen. Dazu wurden zwei Aluminiumrohre mit einem Durchmesser von 45 mm und ein würfelförmiger Halter, in dessen Zentrum ein von außen justierbarer dielektrischer Spiegel eingebaut wurde (Abb. 37), verwendet.

Im Folgenden wird ausgehend vom Quellenkörper der apparative Aufbau zum Einsatz der jeweiligen Ionisationsmethode kurz dargestellt.

3.3.2.1 LC-APLI

Der Aufbau für die LC-APLI-Option der MPIS unterscheidet sich nicht vom bereits dargestellten Aufbau der LC-APLI-Quelle für das mircoTOF (vgl. Kap. 3.2.1), auf dem die MPIS basiert.

3.3.2.2 GC-APLI

Der Aufbau für die GC-APLI-Option der MPIS unterscheidet sich nicht vom bereits dargestellten Aufbau der GC-APLI-Quelle für das mircoTOF (vgl. Kap. 3.2.3). Eine Ausnahme bildet die für die MPIS neu entwickelte Transferline (vgl. Kap. 3.3.1).

3.3.2.3 LC-APCI

Um die LC-APCI-Kopplung mit dem vorliegenden Quellenkonzept zu realisieren, wurde der Fensterflansch in Öffnung B gegen einen Adapterflansch ausgetauscht, an welchem die Originalhalterung der APCI-Nadel von Bruker Daltonics montiert wurde (Abb. 43). Zur Verdampfung des Eluates wurde die Verdampfungsstufe an Öffnung E angebracht. Für den Wechsel zwischen LC-APLI und LC-APCI ist es nicht notwendig, den geschlossenen Strahlengang zu demontieren.

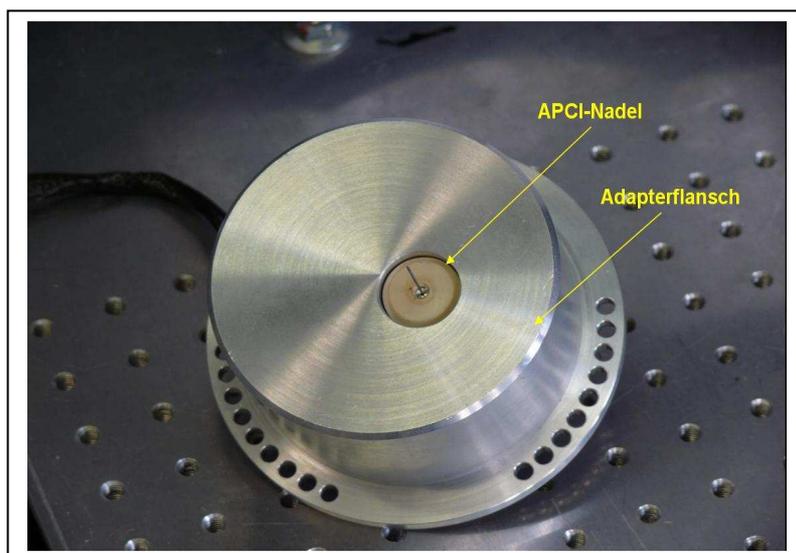


Abbildung 43: Adapterflansch mit APCI-Nadel für die LC-APCI-Kopplung an der MPIS

3.3.2.4 GC-APCI

Zum Aufbau der GC-APCI-Option wurde der Adapterflansch von Öffnung B entfernt und durch die schon für die GC-APLI verwendete Transferline ersetzt. Das Austrittsfenster an Öffnung D wurde durch eine APCI-Nadel mit Halterung ersetzt (Abb. 44). Diese APCI-Nadel entspricht im Wesentlichen der, welche von Bruker Daltonics für die LC-APCI verwendet wird. Es wurde lediglich eine Verlängerung aus Edelstahl eingefügt (Abb. 44), um die Nadelspitze in die Nähe des aus der Transferlinespitze austretenden Sheath Gases zu positionieren.

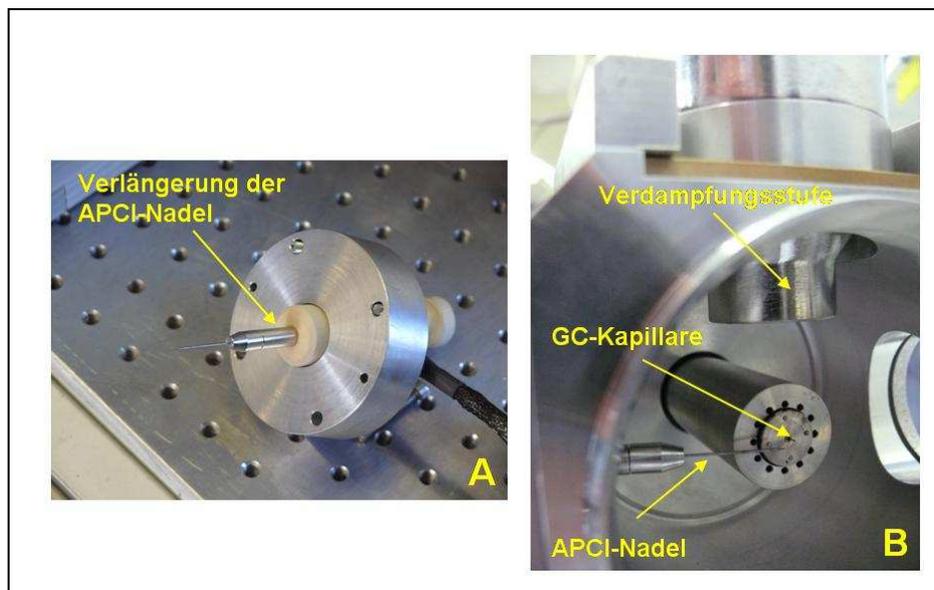


Abbildung 44: Adapterflansch mit APCI-Nadel für die GC-APCI-Kopplung (A) und Position der Nadel in der MPIS (B)

Der Nadelhalter und damit die Nadel wurden bezogen auf die Längsachse der Transferline in einem Winkel von 13° montiert. Die Flussraten des Sheath Gases und des zusätzlichen Gasflusses durch die Verdampfungsstufe wurden für die APCI von der APLI ohne Änderungen übernommen.

3.3.2.5 GC-APPI

Um die MPIS im GC-APPI-Modus betreiben zu können, wurde die GC-Transferline an Öffnung B des Quellenkörpers montiert und das Quarzfenster von Öffnung D entfernt und an dessen Stelle ein abgeschrägter Halter für die APPI-Lampe sowie die Lampe selbst

angebracht (Abb. 45). Damit das VUV-Licht zwischen dem vorderen Ende der Transferline und dem Sprayshield in die Quelle eingekoppelt werden konnte, wurde die Lampe bezogen auf die Längsachse der Transferline in einem Winkel von 13° angebracht. Die Lampe wurde so tief wie möglich in die Quelle hineingeschoben. Die bei der APLI optimierten Flussraten des Sheath Gases und des zusätzlichen Gasflusses durch die Verdampfungsstufe wurden ohne weitere Änderung übernommen.

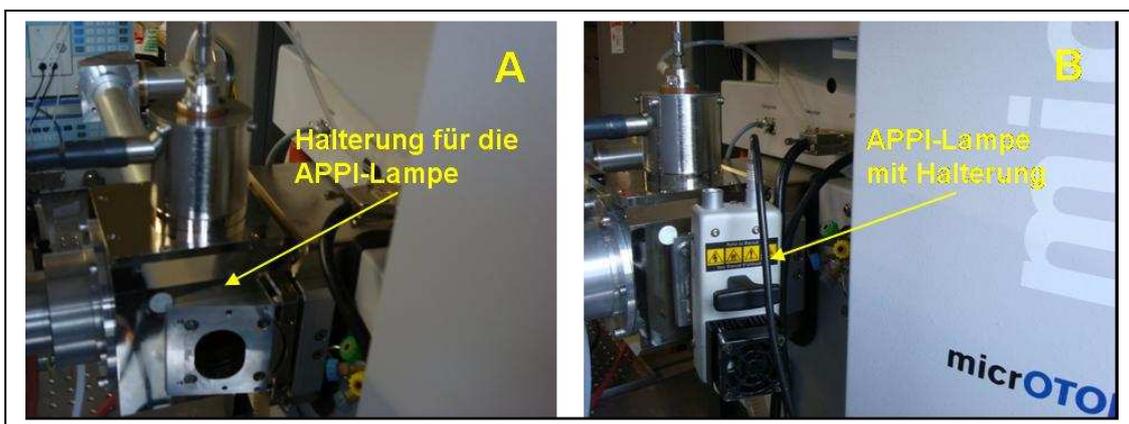


Abbildung 45: APPI-Option der MPIS, Aufnahme für die APPI-Lampe (A) und an der Quelle montierte APPI-Lampe mit Halterung (B)

3.3.2.6 LC-APLI/APCI

Für diese Multimode-Ionisation, bestehend aus APCI und APLI, wurde der Aufbau für die LC-APCI verwendet. Im Unterschied zur reinen APCI wurde zusätzlich noch der Laser, wie bei der LC-APLI, eingeschaltet, so dass beide Ionisationsmethoden parallel verwendet werden konnten.

3.3.2.7 LC-ESI

Um die MPIS im ESI-Modus betreiben zu können, wurde die bisher für die APCI- und APLI-Experimente verwendete Verdampfungsstufe von Öffnung E entfernt. Unter Verwendung eines geeigneten schrägen Adapters wurde die originale ESI-Nadel von Bruker Daltonics montiert (Abb. 46). Eine Demontage des geschlossenen Strahlengangs ist nicht notwendig.

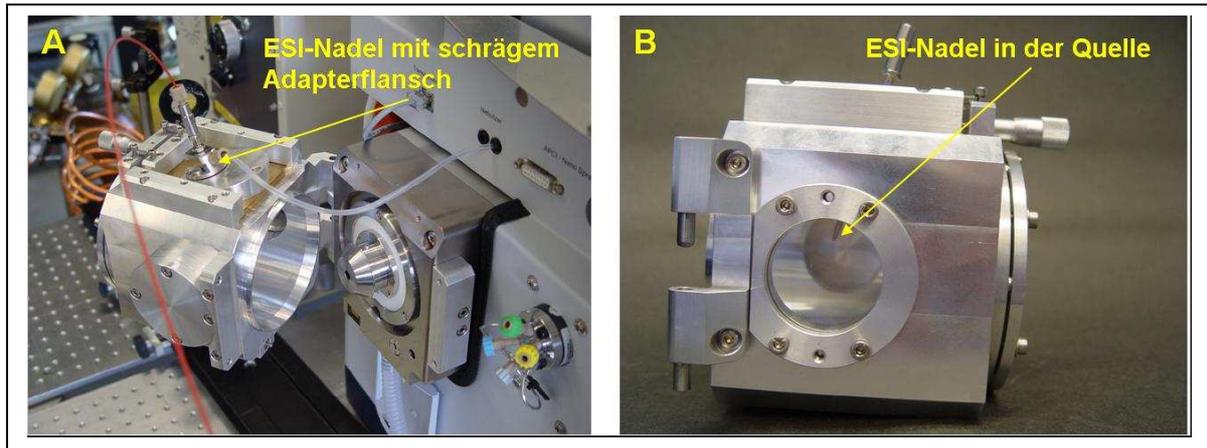


Abbildung 46: ESI-Aufbau der MPIS in der Ansicht von oben (A) und in Seitenansicht (B)

3.3.2.8 LC-ESI/APLI

Für diese Multimode-Ionisation, bestehend aus ESI und APLI, wurde der Aufbau für die LC-ESI verwendet. Im Unterschied zur reinen ESI wurde zusätzlich der Laser, wie bei der LC-APLI, eingeschaltet, so dass beide Ionisationsmethoden parallel genutzt werden konnten.

3.3.3 Verwendung der MPIS zur Analyse verschiedener Analytmischungen

Um das Potential der neuen MPIS darzustellen, wurden mit den oben beschriebenen Ionisationstechniken verschiedene Analytmischungen, nämlich eine PAK Mischung (Tab. 3), zwei Pestizidmischungen (Tab. 4 und 5) sowie zwei weitere Mischungen (Tab. 6 und 7) untersucht.

3.3.3.1 LC- APLI

Die LC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer PAK-Mischung wurde bereits in Kap. 3.2.2 bei der Entwicklung der LC-APLI-Quelle für das micrOTOF als Beispiel dargestellt und diskutiert. Da diese beiden Quellen identisch sind, kann auf weitere Beispiele verzichtet werden.

3.3.3.2 GC-APLI

Um das Potential der neuen GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung zu demonstrieren, wurde unter Verwendung der bereits zuvor optimierten Parameter (vgl. Kap. 3.3.1.1 und 3.3.1.2) eine PAK-Mischung analysiert, die aus insgesamt 26 Verbindungen (Tab. 3) mit einer Konzentration von 2 µg/L für PAKs und 2,5 µg/L für deuterierte PAKs zusammengesetzt war.

Nr.	Name	m/z	Konzentration [µg/L]
26	Acenaphthalin	154	2,0 und 2,5 (26d)
27	Anthracen	178	2,0
28	2,8-Dimethyldibenzothiophen	212	2,0
29	Dibenzothiophen	184	2,0
30	2-Methyldibenzothiophen	198	2,0
31	Naphthalin	128	2,0 und 2,5 (31d)
32	1-Methylfluoranthren	216	2,0
33	1,2,8-Trimethylphenanthren	220	2,0
34	2,4-Dimethylphenanthren	206	2,0
35	Perylen	252	2,0
36	Benzo[ghi]perylen	276	2,0 und 2,5 (36d)
37	Benzo[a]anthracen	228	2,0
38	Triphenylen	228	2,0
39	2-Methylphenanthren	196	2,0
40	2,4,7-Trimethyldibenzothiophen	226	2,0
41	Benzo[a]pyren	252	2,0 und 2,5 (10d)
42	Fluoranthren	202	2,0 und 2,5 (42d)
43	Benzo[k]fluoranthren	252	2,0 und 2,5 (43d)
44	1-Methylchrysen	242	2,0
45	2-Methylnaphthalin	142	2,0
46	2,3,5-Trimethylnaphthalin	170	2,0
47	Chrysen	228	2,0
48	Phenanthren	178	2,0 und 2,5 (48d)
49	Fluoren	166	2,0
50	Benzo[c]phenanthren	228	2,0

51	Benzo[<i>j</i>]fluoranthen	252	2,0
52	1,2,6-Trimethylphenanthren	220	2,0
53	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyren	276	2,0
54	Benzo[<i>b</i>]fluoranthen	252	2,0
55	2,3-Benzanthracen	228	2,0
56	6-Ethylchrysen	256	2,0
57	1,6-Dimethylnaphthalin	156	2,0
58	Benzo[<i>e</i>]pyren	252	2,0
59	Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracen	278	2,0
60	Pyren	202	2,0
61	1-Methylnaphthalin	142	2,0

d: deuterierter PAK

Tabelle 3: PAK-Mischung

In Abbildung 47 ist das TIC-Chromatogramm dieser Analyse dargestellt. Da nicht alle Verbindungen als reiner Standard verfügbar waren, ist aufgrund des Vorhandenseins von PAK-Isomeren eine eindeutige Zuordnung nicht in allen Fällen möglich.

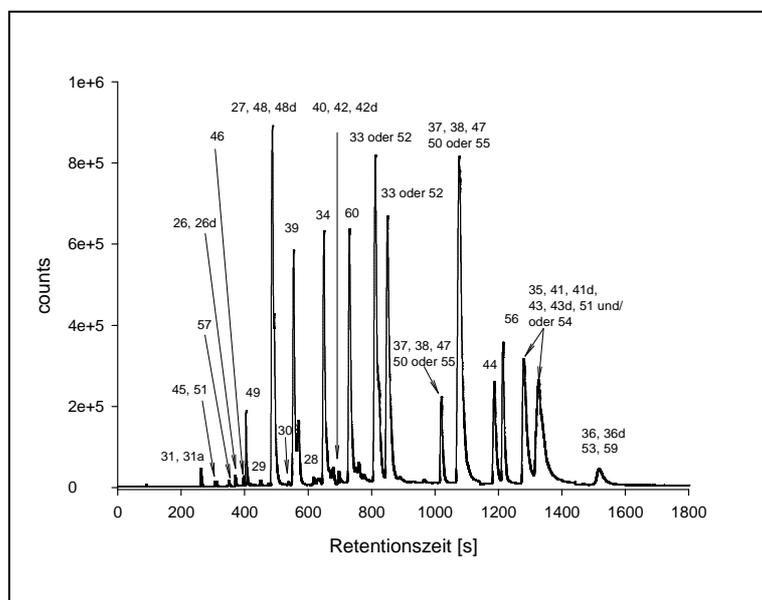


Abbildung 47: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse der PAK-Mischung (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.6)

Anhand des TIC ist erkennbar, dass selbst bei einer deutlich erhöhten Ofentemperatur kein Anstieg der Basislinie zu erkennen ist, der auf Säulenbluten zurückzuführen wäre. Aufgrund

der selektiven Ionisation in der APLI können entsprechende von der Säule freigesetzte Siloxane, die das Säulenbluten verursachen, nicht ionisiert werden. Es kommt somit zu keinem Anstieg der Basislinie und damit auch nicht zum Verlust an Empfindlichkeit.

Um die Leistungsfähigkeit der zuvor beschriebenen flexiblen und der neu entwickelten Transferline zu vergleichen, wurden die Nachweisgrenzen für Anthracen d10 (5 ng/L, 1 μ L Injektionsvolumen) Benzo[*a*]pyren (5 ng/L, 1 μ L Injektionsvolumen) und Chrysen (0,5 ng/L, 2 μ L Injektionsvolumen) bestimmt ^[138] (Abb. 48). Die zuvor für Chrysen erreichte Nachweisgrenze von 5 ng/L bei einem Injektionsvolumen von 1 μ L konnte nun um den Faktor 5 verringert werden. Eine Erklärung hierfür sind einerseits verbesserte Parameter in der mircOTOF control Software für den Ionen transport auf der Vakuumseite des MS, andererseits verbesserte Quellenparameter (Abb. 49), sowie ein optimiertes Anströmungsverhalten des Gasstroms aus der GC-Kapillare auf den Einlass des Massenspektrometers in Verbindung mit dem Sheath Gasstrom.

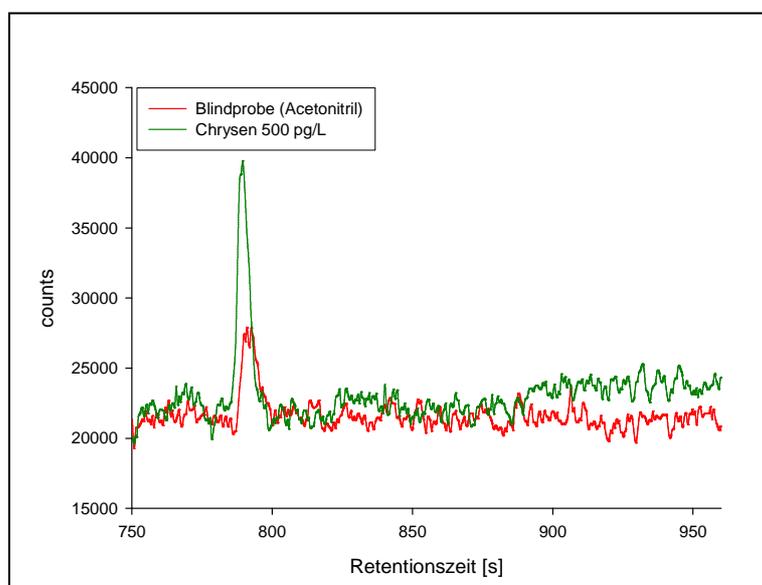


Abbildung 48: Bestimmung der Nachweisgrenze für Chrysen (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.7)

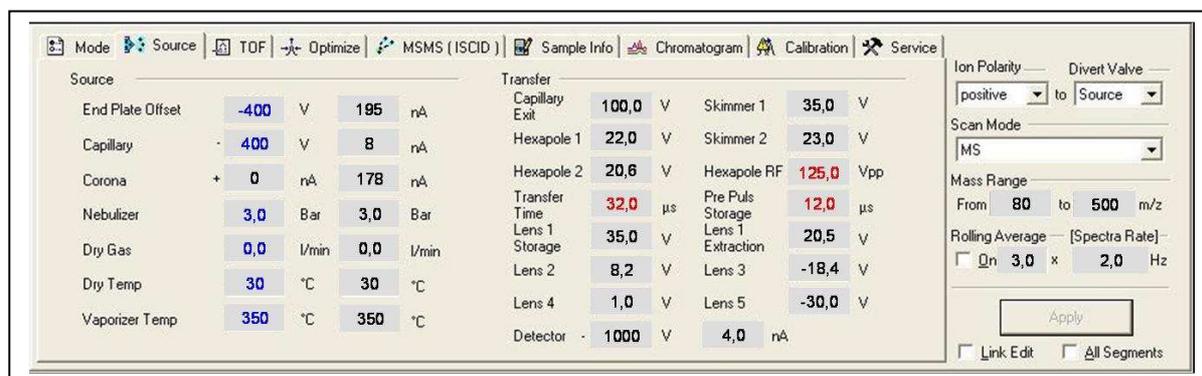


Abbildung 49: Ausschnitt aus der mircOTOF control Software (Parameterübersicht)

3.3.3.3 DA-GC-APLI

Der erfolgreiche Einsatz eines Dopants in der GC-APLI konnte anhand einer Lösung von Nicotin gezeigt werden. Hierzu wurde zunächst Nicotin (100 µg/L, 1 µL Injektionsvolumen) ohne Dopant (Toluol) und anschließend unter Zugabe von 50 µL/min Toluol durch die heiße Verdampfungsstufe untersucht. Ohne Dopant wurde für Nicotin sowohl ein Signal für das Radikalkation als auch das Quasimolekülion $[M+H]^+$ mit nahezu gleicher Intensität erhalten. Die Zugabe des Dopants führte zu einem deutlichen Anstieg der Intensität des $[M+H]^+$ -Signals (etwa 10-fach) (Abb. 50). Die Übertragung eines Protons auf den Analyten kann direkt über den Dopant erfolgen. Eine andere Möglichkeit besteht in der Übertragung eines Protons auf Matrixkomponenten, wie etwa Wasser, in der Quelle. Es bilden sich reaktive Cluster, die in der Lage sind, Protonen auf das Nicotin als gasphasenbasisches Molekül zu übertragen [115, 168]. Durch die Verwendung eines geeigneten Dopants kann der Anwendungsbereich der APLI deutlich erweitert werden. Sowohl unpolare Analyten als auch polarere Analyten lassen sich auf diese Weise durch Protonentransfer in $[M+H]^+$ -Ionen überführen. Auch die direkte Ladungsübertragung vom Dopant auf den Analyten ist möglich, sofern das Ionisationspotential des Dopants über dem des Analyten liegt. Beispiele für den Einsatz von Charge-Transfer-Dopants waren die Verwendung von Chlor- oder Brombenzol sowie weitere Benzol- und Toluolderivate [169].

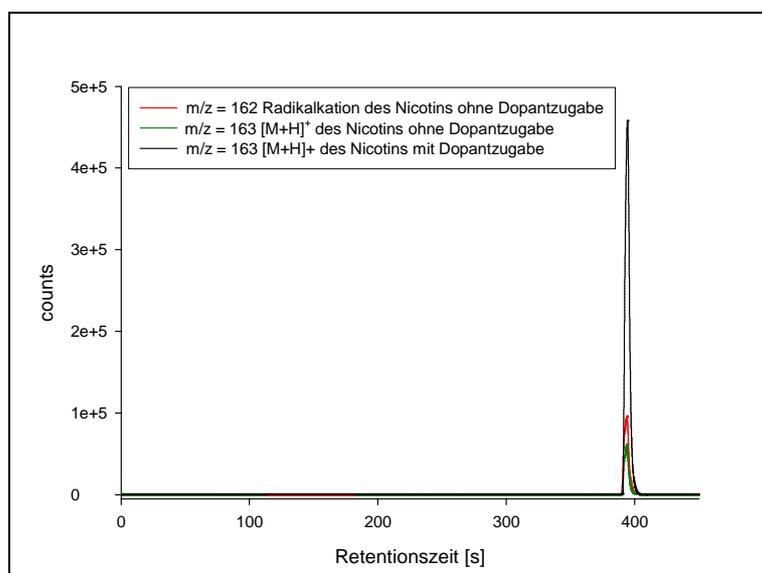


Abbildung 50: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse von Nicotin mit und ohne Toluol als Dopant (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.8)

3.3.3.4 DA-LC-APLI

Die Verwendung eines Dopants ist auch in der LC-APLI möglich. Hier wird der Dopant direkt zum Lösungsmittel oder nach erfolgter chromatographischer Trennung mit einem T-Stück dem Eluat der flüssigchromatographischen Trennstufe zugesetzt. Auch hier führt der Dopant zu einer direkten oder indirekten Ladungsübertragung auf den Analyten. Ein Beispiel für die Anwendbarkeit in der DA-LC-APLI war die erfolgreiche Ionisation von Palmitinsäuremethylester und *N,N'*-Diethyldodecansäureamid. Es handelt sich um zwei Substanzen, die aufgrund des Fehlens einer aromatischen Struktur nicht direkt mit der APLI ionisierbar sind und ohne die Zugabe eines Dopants nicht ionisiert werden könnten. Erst die Zugabe von Toluol (2 % v/v) zum Lösungsmittel führte zur erfolgreichen Detektion beider Analyten in Form des Quasimoleküls.

3.3.3.5 LC-APCI

Um die Funktion der LC-APCI-Option der MPIS zu zeigen, wurde eine Mischung analysiert, die aus fünf verschiedenen Herbiziden (Tab. 4) mit einer Konzentration von je 50 µg/L zusammengesetzt war.

Nr.	Name	m/z ([M+H] ⁺)	Konzentration [µg/L]
62	Desethylatrazin	188	50
63	Cyanazin	241	50
64	Simazin	202	50
65	Atrazin	216	50
66	Terbutylazin	230	50

Tabelle 4: Herbizidmischung für die LC-APCI-(TOF)MS-Analyse

Diese Mischung wurde mittels HPLC chromatographisch getrennt (20 µL Injektionsvolumen). Das erhaltene Chromatogramm ist in Form der einzelnen Massenspektren der Quasimoleküle in Abbildung 51 gezeigt.

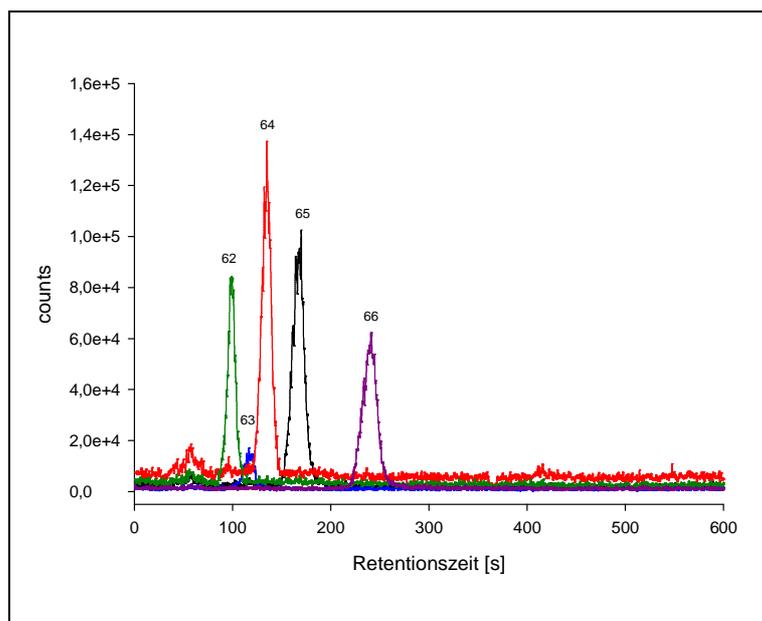


Abbildung 51: LC-APCI-(TOF)MS-Analyse einer Herbizidmischung (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.3.2)

3.3.3.6 GC-APCI

Die APCI wurde 1973 von Horning et al. ^[89] beschrieben. Hierbei wurde ein β -Strahler als Elektronenquelle verwendet. 1975 wurde der β -Strahler ebenfalls von Hornig et al. durch eine APCI-Nadel ersetzt ^[88]. In der Folge erschienen mehrere Arbeiten über die Verwendung einer GC-APCI-Kopplung. Im Wesentlichen wurden Nitroverbindungen und Chloraromaten untersucht ^[91, 170 - 178]. Trotz vielversprechender Ergebnisse hat sich diese Technik nicht zu einer Mainstream-Applikation entwickelt. Es standen seinerzeit keine kommerziellen Geräte zur Verfügung. Die Kopplung der APCI mit einem modernen Massenspektrometer konnte 2005 von McEwan et al. gezeigt werden ^[179].

Der Aufbau der GC-APCI ist, wie in Kap. 3.3.2.4 beschrieben, einfach zu realisieren. Von entscheidender Bedeutung ist die genaue Position der Spitze der APCI-Nadel, die zu deutlichen Unterschieden in der erreichten Empfindlichkeit führte. Daher wurde versucht, die Position der APCI-Nadel in der Ionenquelle unter Verwendung von Distanzringen mit einer Dicke von 1 mm, die unter dem Halter der APCI-Nadel positioniert wurden, reproduzierbar einzustellen. Darüber hinaus wurden die Parameter in der micrOTOF control Software für die GC-APCI optimiert (Abb. 52).

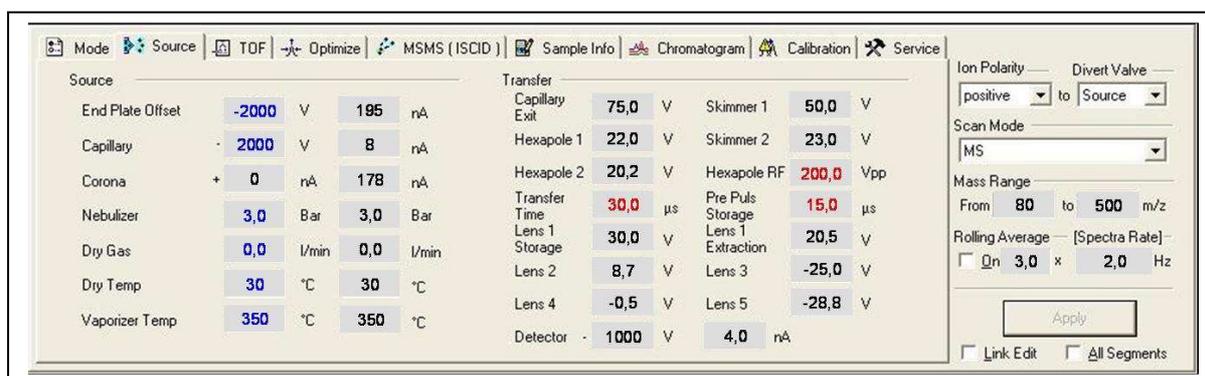


Abbildung 52: Ausschnitt aus der micrOTOF control Software, Parameterübersicht

Nachdem mit diesen Optimierungen für Palmitinsäuremethylester eine Nachweisgrenze von 1 µg/L erreicht werden konnte, wurden zwei Mischungen untersucht. Zum einen wurde eine Standardmischung mit verschiedenen Pestiziden (Tab. 5) und zum anderen eine Mischung von sieben verschiedenen Substanzen (Tab. 6), die von der „Organization for the prohibition of chemical weapons“ (OPCW) als Testsubstanzen vorgeschlagen werden, analysiert.

Nr.	Name	m/z ($[M+H]^+$)	Nachweis in der Konzentration [40 µg/L]
67	Desethylatrazin	188	d.
68	Cyanazin	241	d.
69	Simazin	202	d.
70	Atrazin	216	d.
71	Terbutylazin	230	d.
72	Chloroxuron	291	n.d.
73	Chlorpropham	214	d.
74	Chlortoluron	213	n.d.
75	Crimidin	172	d.
76	Desethyl-desisopropylatrazin	146	d.
77	Desisopropylatrazin	174	d.
78	Diuron	233	d.
79	Fenuron	165	d.
80	Isoproturon	207	n.d.
81	Linuron	249	d.
82	Metamitron	203	d.
83	Metazachlor	278	d.

84	Methabenzthiazuron	222	d.
85	Metobromuron	259	d.
86	Metolachlor	284	d.
87	Metoxuron	229	n.d.
88	Metribuzin	215	d.
89	Monolinuron	215	d.
90	Prometryn	242	d.
91	Propazin	230	d.
92	Propham	180	d.
93	Sebuthylazin	230	d.
94	Terbutryn	242	d.

d.: detektiert; n.d.: nicht detektiert

Tabelle 5: Pestizidmischung für die GC-APCI-(TOF)MS-Analyse

In Abbildung 53 ist das erhaltene Chromatogramm der Analyse der Pestizidmischung (40 µg/L, 1 µL Injektionsvolumen) gezeigt.

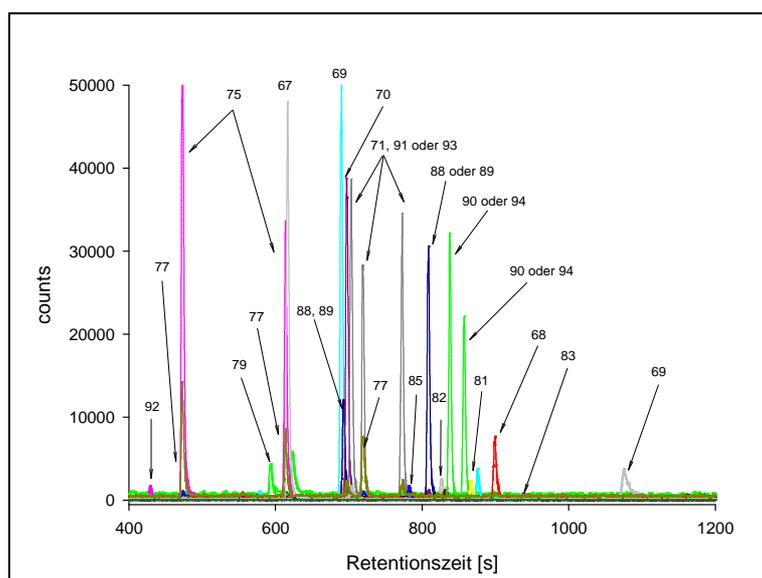


Abbildung 53: GC-APCI-(TOF)MS-Analyse einer Pestizidmischung (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.9)

Von den 28 in der Mischung enthaltenen Pestiziden konnten 24 in Form des $[M+H]^+$ -Ions nachgewiesen werden. Nur in vereinzelten Fällen war eine Fragmentierung zu beobachten. So trat beim Propazin der Verlust einer Isopropylgruppe auf.

Das Chromatogramm der OPCW-Mischung (Tab. 6) (1 μL Injektionsvolumen) ist in Abbildung 54 dargestellt.

Nr.	Name	m/z ($[\text{M}+\text{H}]^+$)	Konzentration [$\mu\text{g/L}$]
95	Trimethylphosphat	141	10
96	2,6-Dimethylphenol	123	10
97	2-Chloro-6-methylanilin	142	10
98	Tributylphosphat	267	10
99	Dibenzothiophen	185	10
100	Malathion	331	10
101	Methylstearat	299	10

Tabelle 6: OPCW-Mischung

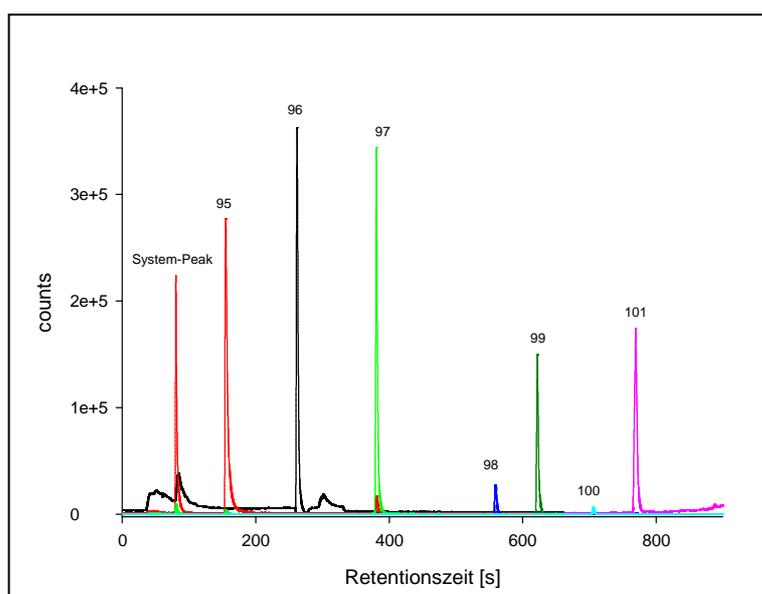


Abbildung 54: GC-APCI-(TOF)MS-Analyse der OPCW-Mischung (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.9)

Auch in diesem Fall konnten alle sieben Komponenten der Mischung mit einer guten Empfindlichkeit nachgewiesen werden.

Die Bildung des $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Ions der untersuchten Analyten beruht auf einer vom Luftstickstoff (N_2) ausgehenden Abfolge von Reaktionen, bei der schließlich H_3O^+ oder Cluster von H_3O^+ mit Wassermolekülen, die als Spuren in der Quelle vorhanden sind, gebildet werden. Im letzten Schritt erfolgt die Übertragung eines H^+ -Ions auf den Analyten ^[89]. Aufgrund der geringen Wasserkonzentration und der erhöhten Temperatur in der API-Quelle sollten die

protonierten Wassercluster eher klein sein und daher eine recht hohe Acidität aufweisen^[94, 95]. Damit besteht die Möglichkeit, dass auch Analyten mit einer geringeren Gasphasenbasizität wie etwa Fettsäuremethylester, die in der LC-APCI nur schlecht ionisierbar sind^[180], mit der GC-APCI-(TOF)MS empfindlich nachgewiesen werden.

3.3.3.7 GC-APPI

Als zweite auf der Photoionisation basierende Ionisationsmethode wurde die APPI in das Konzept der MPIS integriert. Hierzu wurde der bereits oben beschriebene experimentelle Aufbau verwendet. Im Gegensatz zur APLI, mit der nur aromatische Verbindungen effizient ionisiert werden können, sind mit der APPI aufgrund der zur Ionisation verwendeten Photonen mit Energien von 10 eV und 10,6 eV, die über dem Ionisationspotential vieler organischer Verbindungen liegen, auch nichtaromatische Substanzen analysierbar. Die Kopplung der GC mit der APPI an ein modernes AP-Massenspektrometer, das eigentlich für die Kopplung mit der LC entwickelt wurde, ist bereits erfolgreich durchgeführt worden^[181 - 183]. Durch die Integration der APPI stünde eine weitere Ionisationsmethode für die MPIS zur Verfügung, womit das Spektrum an analysierbaren Verbindungen erweitert werden könnte. Um die Anwendbarkeit der GC-APPI-Kopplung im Konzept der MPIS zu zeigen, wurde eine Mischung verschiedener Substanzen (Tab. 7) untersucht. Das nach der Analyse erhaltene Chromatogramm ist in Abbildung 55 gezeigt.

Nr.	Name	m/z ($[M+H]^+$)	Konzentration [$\mu\text{mol/L}$]
102	Nicotin	163	0,1
103	Tributylphosphat	267	0,1
104	N,N'-Diethyldodecan- säureamid	256	0,1
105	Atropin	290	0,1
106	Hexazinon	253	0,01

Tabelle 7: Analytmischung für die GC-APPI-(TOF)MS-Analyse

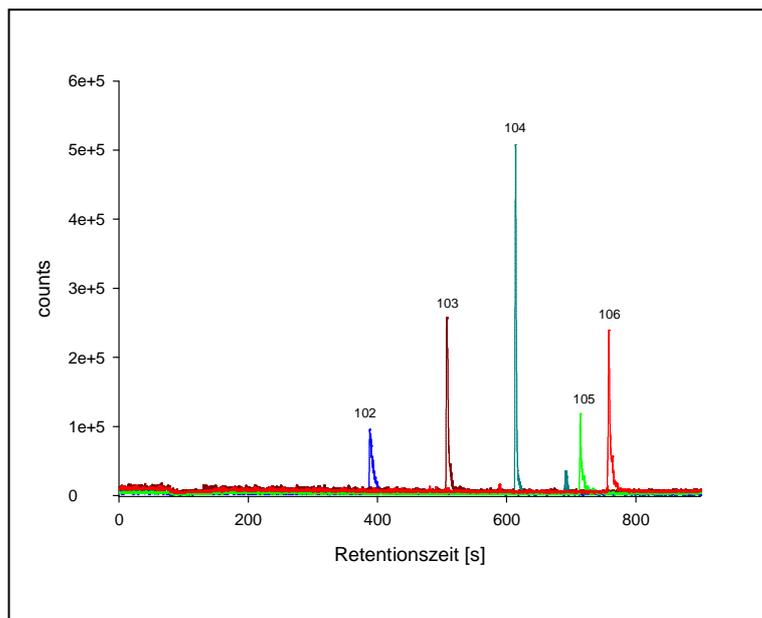


Abbildung 55: GC-APPI-(TOF)MS-Analyse einer APPI-Analytmischung (experimentelle Parameter siehe Kap. 5.4.1.7)

3.3.3.8 LC- ESI/APLI

Die Kombination der ESI und der APLI wurde 2005 von Droste et al. ^[61] bei der Kopplung der CEC mit der APLI unter Verwendung eines nano-ESI-Interfaces als ESI/APLI beschrieben. Diese Methode ermöglicht zum einen die Analyse von polaren neben sehr unpolaren Analyten und zum anderen die Analyse thermisch labiler Verbindungen. Letztere können mittels Elektrospray, im Vergleich zur geheizten Verdampfungsstufe, bei einer deutlich geringeren Belastung für den Analyten versprüht werden. Diese Multimode-Ionisationstechnik kann einfach realisiert werden, indem der Laser in das ESI-Spray eingekoppelt wird. Als ein Anwendungsbeispiel ist in Abbildung 56 die Analyse einer Mischung von Pyren und Nicotin (je 1 μM) gezeigt. Pyren wird effektiv mittels APLI, nicht aber mit ESI ionisiert. Mit ausgeschaltetem Laser (Spektrum oben) wurde nur das $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Ion des Nicotins ($m/z = 163$) detektiert, während bei eingeschaltetem Laser zusätzlich zum Nicotin das Signal des Radikalkations von Pyren ($m/z = 202$) detektiert werden konnte.

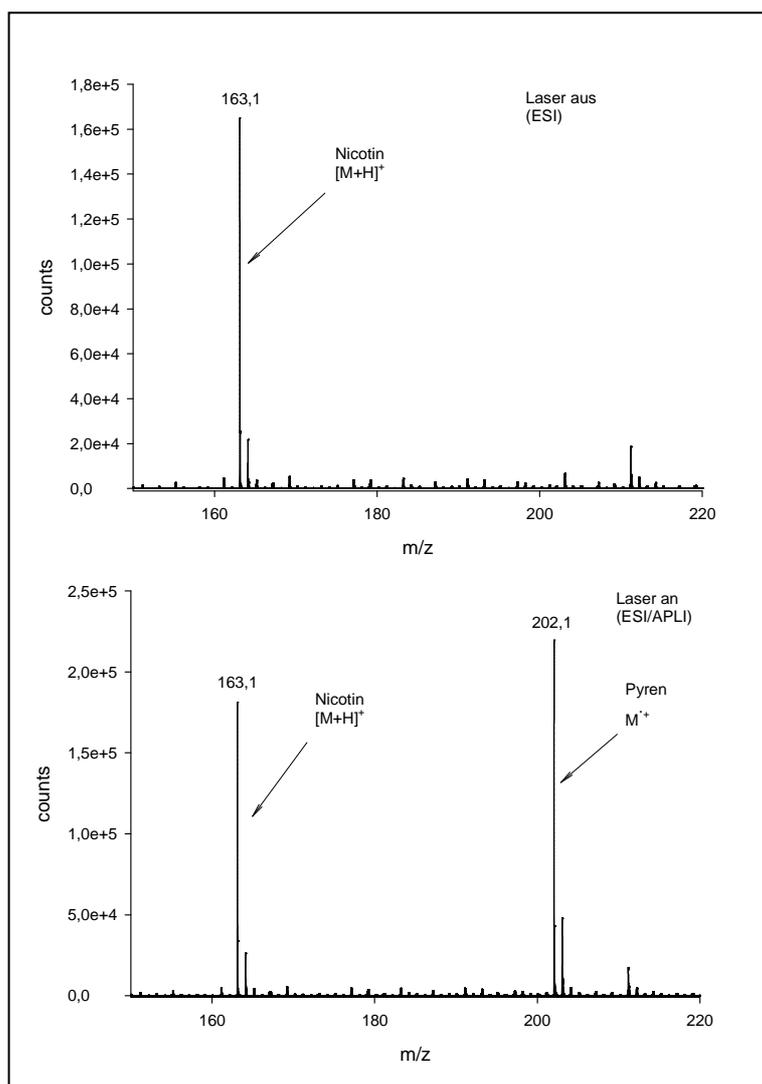


Abbildung 56: Vergleich der ESI und der ESI/APLI am Beispiel von Nicotin und Pyren

3.3.3.9 LC-APCI/APLI

Die Standardmethode zur Analyse polarer Verbindungen ist ESI. Mittelpolare bis unpolare Analyten können mittels APCI oder DA-APPI ionisiert werden. Die APLI zeigt eine außergewöhnlich hohe Empfindlichkeit bei der Ionisation von unpolaren aromatischen Verbindungen. Unter Verwendung der MPIS wurde an dieser Stelle eine neue Multimode-Ionisationstechnik realisiert, mit der der Bereich der mittelpolaren Verbindungen (unpolaren aromatischen und nichtaromatischen Verbindungen) abgedeckt und somit die Bandbreite der analysierbaren Verbindungen in Vergleich zur reinen APLI deutlich erweitert werden konnte. Um das Potential dieser Multimodetechnik zu demonstrieren, wurde eine Mischung von Stearinsäuremethylester (10 μM) und Benzo[*a*]pyren (1 μM) zunächst nur mittels APCI (Abb. 57, oberes Spektrum) und anschließend mittels Kombination von APCI und APLI

(Abb. 57, unteres Spektrum) untersucht. Während bei der Verwendung der APCI nur das $[M+H]^+$ -Ion des Stearinsäuremethylesters detektiert wurde, konnte bei gleichzeitig eingeschaltetem Laser zusätzlich das Signal des Radikalkations von Benzo[*a*]pyren beobachtet werden.

Da mit dieser Multimode-Ionisationstechnik der Bereich der aromatischen unpolaren Verbindungen bis mittelpolaren Verbindungen effektiv erfasst wird, weist diese Technik möglicherweise das höchste Anwendungspotential auf. Allerdings sind hierzu weitere Untersuchungen notwendig, die aber den Rahmen dieser Arbeit übersteigen.

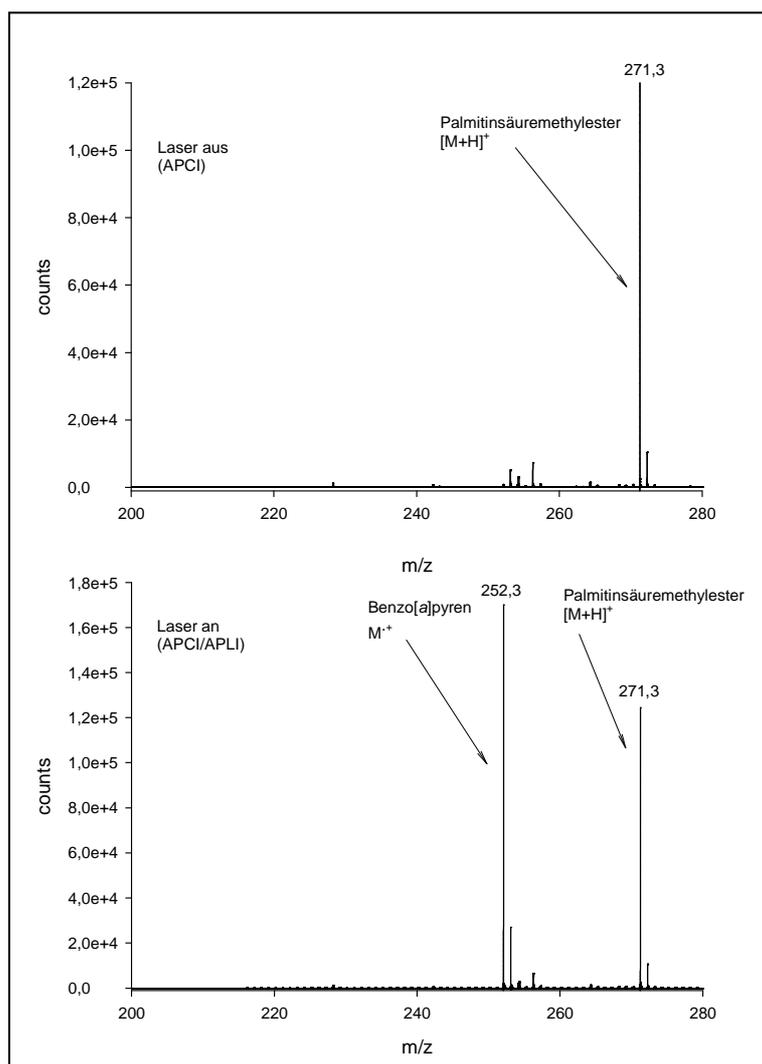


Abbildung 57: Vergleich der APCI und APCI/APLI am Beispiel von Palmitinsäuremethylester und Benzo[*a*]pyren

3.3.4 Ausblick und weitere Einsatzmöglichkeiten der MPIS

Aufgrund der Vielseitigkeit des vorgestellten Konzeptes der MPIS wäre es interessant, diese Quelle auch an anderen Massenspektrometern der Firma Bruker Daltonics, wie etwa einer Ion Trap oder einem FT-ICR-MS, einzusetzen. Damit ließen sich die Möglichkeiten dieser Massenspektrometertypen in Verbindung mit dem flexiblen Konzept der neuen Quelle nutzen. Das kostenintensive Massenspektrometer könnte auf diese Weise als Detektor für ein breites Spektrum von Analyten in Verbindung mit unterschiedlichen Chromatographie-systemen (LC und GC) und Ionisationsmethoden verwendet werden. Durch weitere Kombination der Ionisationsmethoden zu Multimodetechniken bestünde die Möglichkeit, den Anwendungsbereich über die bisher gezeigten Beispiele hinaus zu erweitern. So könnte auch die APPI mit anderen Ionisationstechniken kombiniert und in Konzepte für die LC und GC integriert werden.

3.4 Charakterisierung von Bausteinen organischer Leuchtdioden (OLEDs) und weiterer Polymere mittels APLI

Die stetige Entwicklung neuer Materialien auf der Basis von organischen Polymeren, wie sie etwa in organischen Leuchtdioden oder Funktionspolymeren eingesetzt werden, stellt gleichzeitig immer neue Anforderungen an die analytischen Methoden, die zu ihrer Charakterisierung verwendet werden. In den folgenden Abschnitten wird die APLI-(TOF)MS als neue, vielversprechende Methode zur Charakterisierung von Mono- und Oligomeren an einigen Beispielen vorgestellt.

3.4.1 Organische LEDs

Der Effekt der Elektrolumineszenz, also der Freisetzung von Licht aus einem Material durch das Anlegen eines äußeren elektrischen Feldes wurde erstmals 1936 von Destiau et al. ^[184] für ein anorganisches Pulver, bestehend aus einer Mischung von Zinksulfid und Phosphor, beschrieben. Die Elektrolumineszenz entsteht hierbei durch das Anlegen des elektrischen Feldes an einen Halbleiter. Durch dieses Feld werden im Halbleitermaterial Löcher und Elektronen erzeugt, deren Rekombination zur Ausbildung angeregter Zustände im Halbleiter führt, die unter Aussendung eines Photons relaxieren können. Die Größe der Bandlücke in der

aktiven Schicht des Halbleiters, in der die Rekombination stattfindet, ist für die Wellenlänge, des emittierten Lichtes verantwortlich. In den frühen 1960er Jahren wurden Leuchtdioden mit einer Emissionswellenlänge im sichtbaren Bereich durch die Kombination anorganischer Materialien (Kombinationen von Elementen der Hauptgruppen III und IV) entwickelt ^[185].

1963 wurde der Elektrolumineszenzeffekt schließlich auch für ein organisches Molekül, nämlich Anthracen, beobachtet ^[186]. Erst durch den Einsatz des hoch fluoreszierenden Polymers Poly(p-phenylenvinyl), das durch thermische Umwandlung eines Vorläufers erhalten wurde, konnte die OLED-Herstellung vereinfacht werden ^[187]. Problematisch bei einem einschichtigen Aufbau war jedoch die Tatsache, dass das verwendete Polymer ein intrinsischer p-Halbleiter ist und daher die Rekombinationszone in der Nähe der Kathode liegt, was zu einer geringen Effizienz und Lebensdauer führt. Durch die Verwendung einer Zweischichtanordnung konnte die Rekombinationszone ins Innere der OLEDs verlagert und somit die Lebensdauer und interne Effizienz erhöht werden ^[188] (Abb. 58).

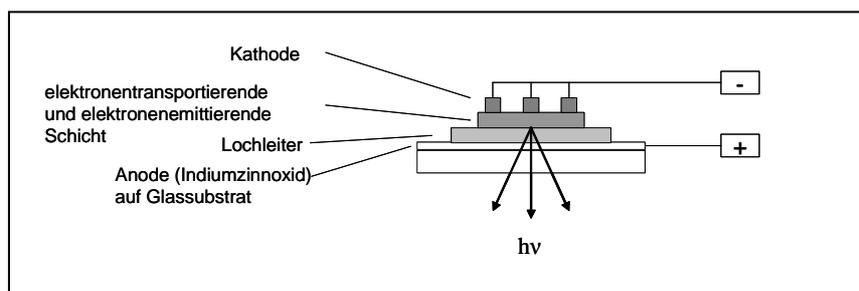


Abbildung 58: Schematischer Zweischichtaufbau einer organischen Leuchtdiode ^[188]

Hierbei können als Elektronentransportschicht verschiedene Polymere unter anderem auch fluorierte Oligomere mit einem konjugierten π -System ^[189] verwendet werden. Aufgrund des sehr unpolaren Charakters solcher Oligomere ist die massenspektrometrische Analyse mitunter schwierig durchzuführen, da die Ionisation in einer API-Quelle mittels ESI oder APCI problematisch sein kann. In Abbildung 59 sind drei im Arbeitskreis von Prof. Scherf (Makromolekulare Chemie) an der Bergischen Universität Wuppertal hergestellte Verbindungen gezeigt, die in OLEDs als amorphe Matrix in der Elektronentransportschicht eingesetzt werden sollten.

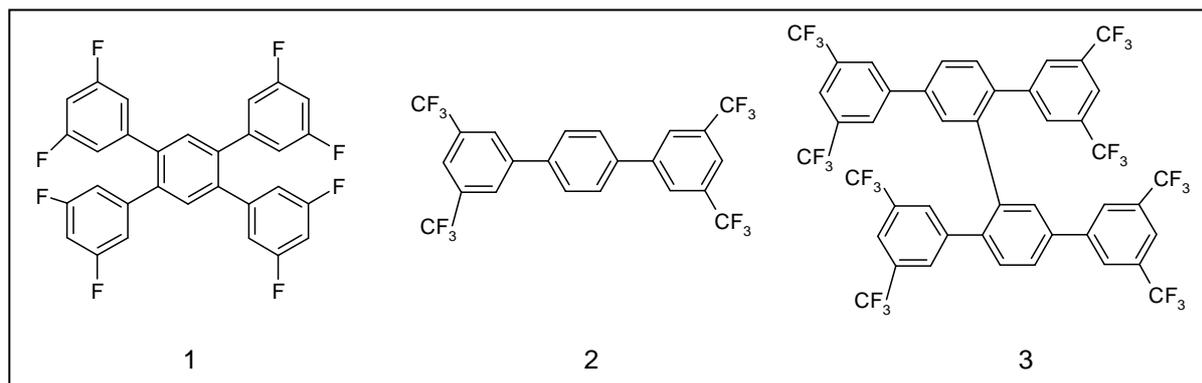


Abbildung 59: Oligomere für den Einsatz als Elektronentransportschicht

Zur Charakterisierung der Verbindungen (Abb. 59) sollte neben der NMR-Spektroskopie die Massenspektrometrie eingesetzt werden. Aufgrund des aromatischen konjugierten π -Systems in allen drei Verbindungen sollte die Analyse mittels der APLI-(TOF)MS erfolgen. Hierzu wurden Lösungen mit einer Konzentration von 1 - 10 μM mittels Spritzenpumpe direkt injiziert. In Abbildung 60 ist exemplarisch das erhaltene Isotopenmuster des Radikalkations der Verbindung 3 mit dem in der Data Analysis Software von Bruker simulierten Spektrum für die angenommene Summenformel gegenübergestellt. Sowohl über die erhaltenen Massen als auch über die Isotopenmuster der Verbindungen konnte die Identität sowie die Reinheit der als Elektronentransportschicht vorgesehenen Oligomere bestätigt werden.

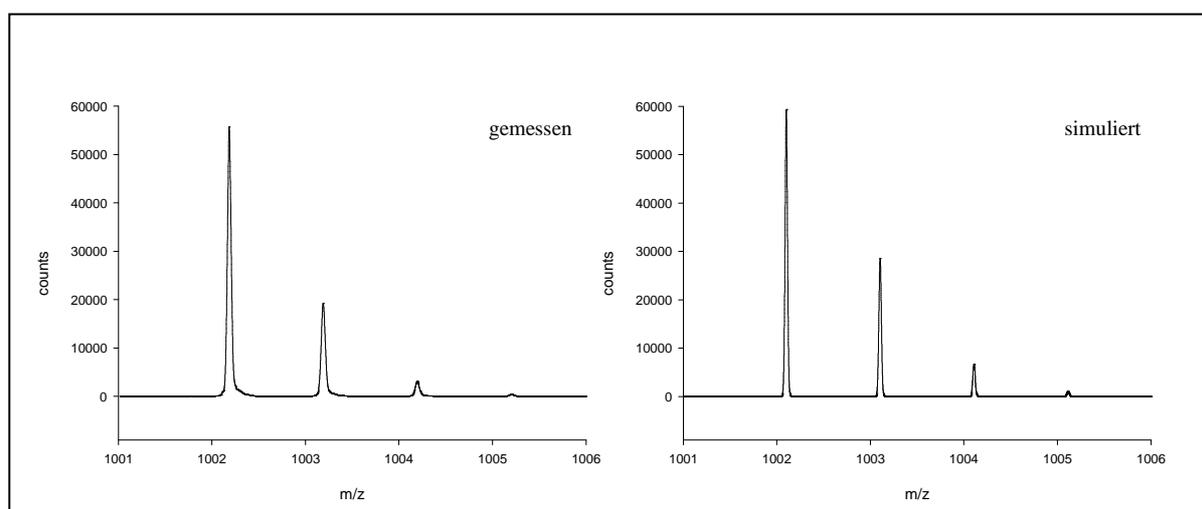


Abbildung 60: Isotopenmuster des M^+ der Verbindung 3, gemessen (oben) und simuliert (unten)

3.4.2 Triplettmitter

Eine weitere Erhöhung der Effizienz organischer Leuchtdioden kann durch die Verwendung von Triplettmittern erreicht werden. Bei der Rekombination von Elektronen und Löchern in Mehrschichtsystemen kann die Energie in Form von Strahlung oder Exitonen abgegeben werden. Diese Exitonen haben entweder eine Singulett- oder Triplett-Natur^[190] und können ihrerseits zur Anregung phosphoreszierender Metallkomplexe verwendet werden. Im Fall von Pt^{II} und Ir^{III} weisen diese eine so hohe Spin-Bahn-Kopplung auf, dass Singulett- und Triplettzustände bei Raumtemperatur mischen können, was zu einer sehr effizienten Phosphoreszenzquantenausbeute selbst bei Raumtemperatur führt. Dadurch, dass sowohl die Singulett- als auch Triplettzustände zur Anregung der Metallkomplexe verwendet werden können^[191 - 193], ist für OLEDs zumindest theoretisch eine interne Quanteneffizienz von 100 % möglich^[194].

In Abbildung 61 sind vier im Arbeitskreis von Prof. Holder (Funktionspolymere) an der Bergischen Universität Wuppertal hergestellte Iridiumkomplexe gezeigt, die in OLEDs als Triplettmitter eingesetzt werden sollen. Wie bereits weiter oben für die fluorierten Oligomere diskutiert, sind auch für diese Verbindungen eine eindeutige Charakterisierung sowie eine Bestimmung der Reinheit notwendig, da bei der Verwendung von Iridiumkomplexen mit einer anderen als der gewünschten Zusammensetzung die Phosphoreszenzeigenschaften sich deutlich ändern können und damit eine andere Farbe ergeben. Als schonende und möglichst fragmentierungsarme Ionisationsmethode für die gezeigten Verbindungen wurde auch hierfür die APLI verwendet. Aufgrund der aromatischen Liganden der gezeigten Iridiumkomplexe sollte die Ionisation mittels REMPI unter APLI-Bedingungen möglich sein. Zur APLI-(TOF)MS-Analyse wurde eine Lösung (1 μ M) des jeweiligen Iridiumkomplexes per Direktinfusion in die APLI-Quelle injiziert.

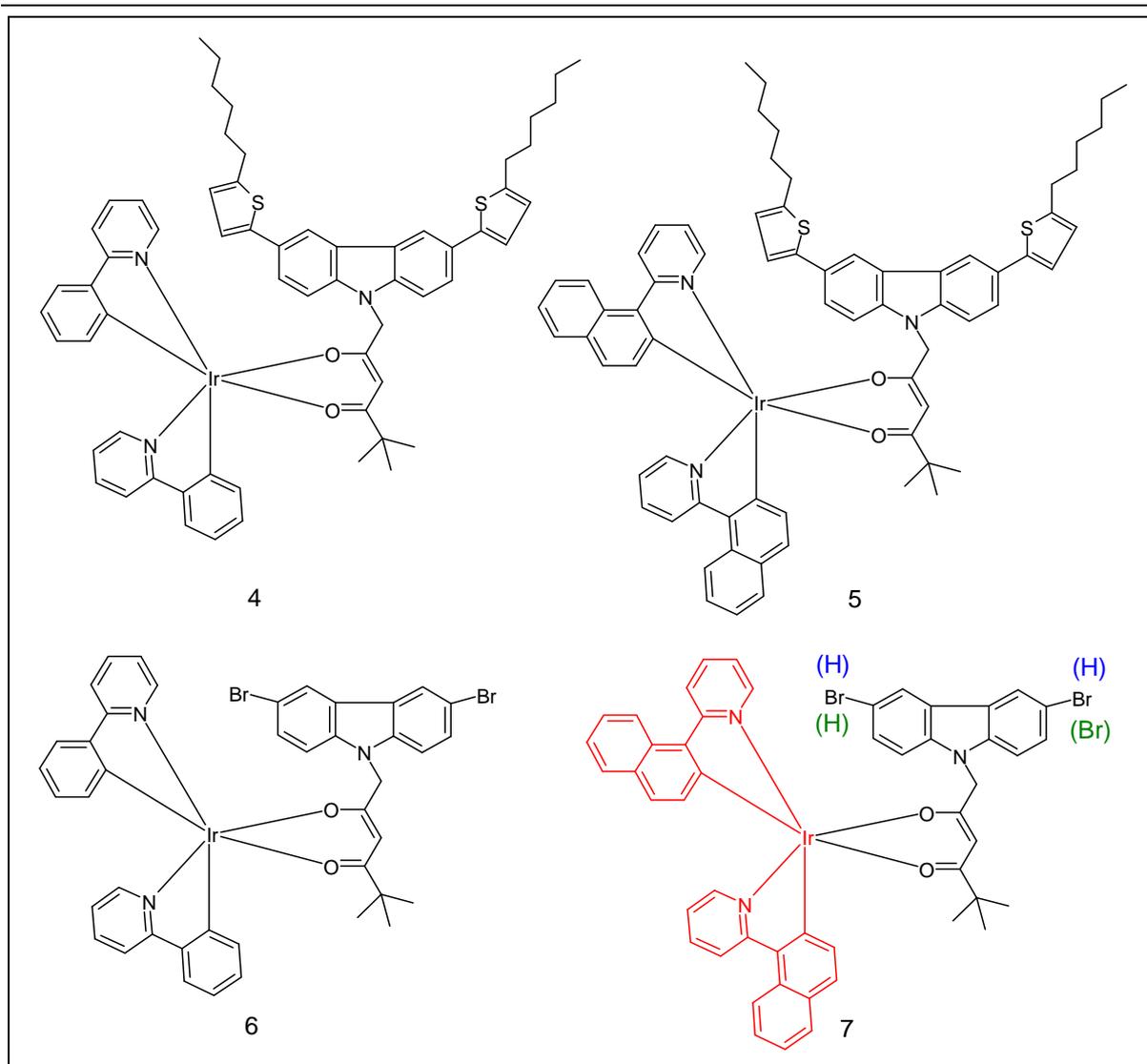


Abbildung 61: Übersicht über untersuchte Tripletttemitter

In den Abbildungen 62 und 63 ist das mittels APLI-(TOF)MS-Analyse erhaltene Massenspektrum des Iridiumkomplexes 7 ($C_{50}H_{38}IrBr_2N_3O_2$) exemplarisch dargestellt. Während die Massenspektren der Komplexe 4 - 6 im Wesentlichen nur das zu erwartende Isotopenmuster der Radikalkationen zeigen, sind im Massenspektrum des Komplexes 7 noch weitere Signale enthalten. Diese Signale entsprechen nicht etwa Verunreinigungen im Lösungsmittel, sondern können aufgrund der Masse und des Isotopenmusters eindeutig dem Komplex 7, Synthesenebenprodukten bzw. Teilen dieses Komplexes zugeordnet werden. Eine Zuordnung der Signale im Massenspektrum von 7 ist in den Abbildungen 61 und 62 gezeigt.

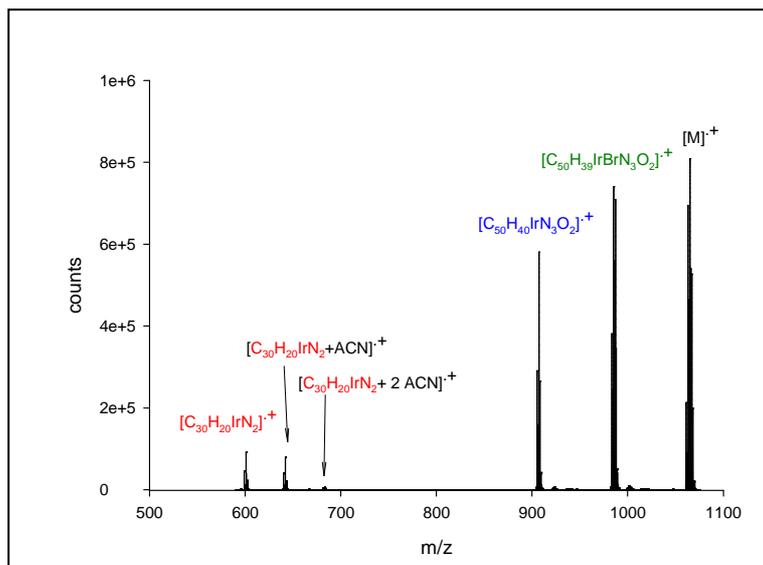


Abbildung 62: Massenspektrum des iridiumbasierten Triplettemitters 7

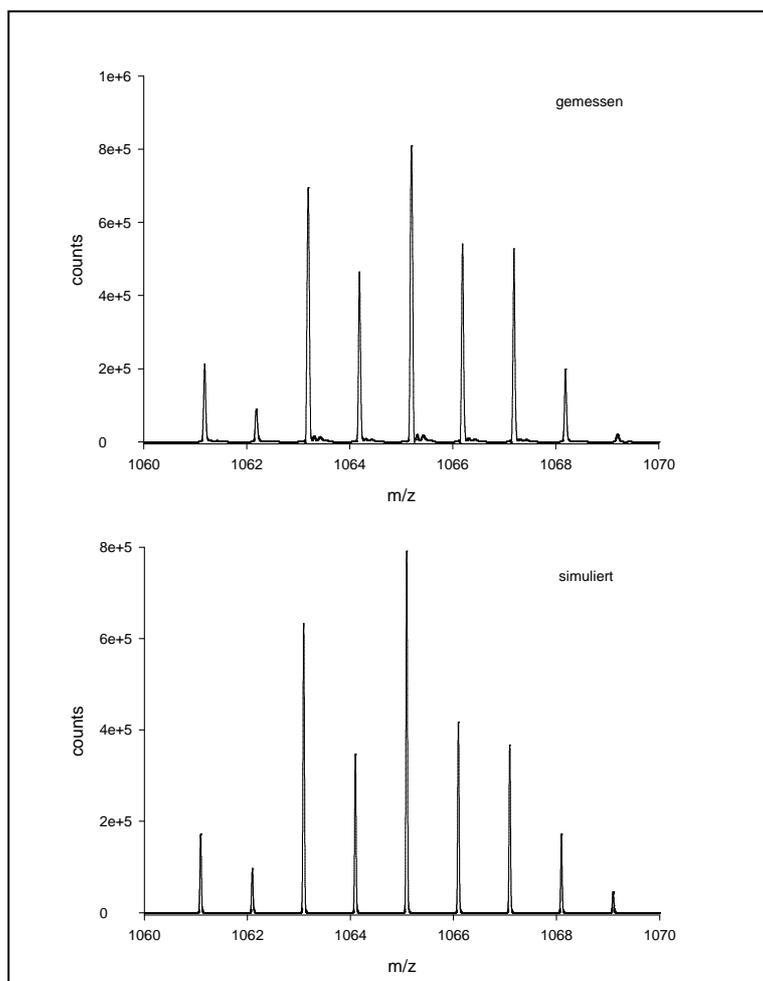


Abbildung 63: Isotopenmuster des M^+ des Triplettemitters 7 (gemessen: oben, simuliert: unten)

3.4.3 Bausteine moderner Polymere

Moderne Werkstoffe mit besonderen Eigenschaften basieren oftmals auf speziellen Polymeren. Diese Polymere können z.B. Blockpolymere sein. Die genaue Zusammensetzung ist für die späteren Eigenschaften und damit die Anwendungsmöglichkeiten verantwortlich. Daher ist, wie schon im Fall der OLEDs, eine genaue Charakterisierung der verwendeten Monomere/Oligomere notwendig. Die APLI-(TOF)MS auch zur Charakterisierung solcher Monomere und Oligomere zu verwenden, sollte am Beispiel verschiedener an der Bergischen Universität Wuppertal im Arbeitskreis von Prof. Scherf (Makromolekulare Chemie) dargestellten Verbindungen gezeigt werden. Eine Übersicht der untersuchten Verbindungen ist in Abbildung 64 wiedergegeben.

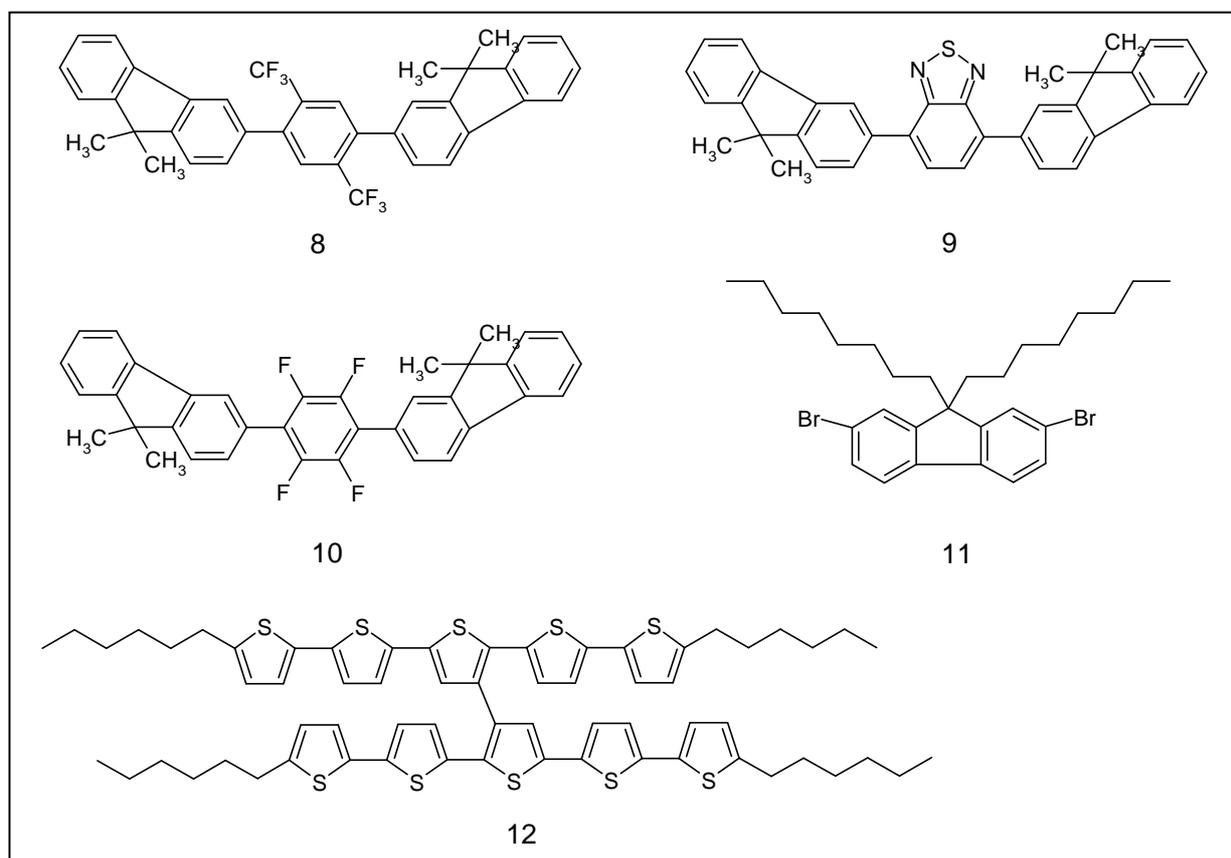


Abbildung 64: Bausteine moderner polymerer Materialien

Während die Verbindungen 8 - 10 Zwischenprodukte für die Synthese von Spezialmembranen darstellen, ist das 2,7-Dibrom-9,9-dioctylfluoren (11) ein Monomer für die Herstellung eines Polyfluorens, das in OLEDs eingesetzt werden kann. Das Oligothiophen (12) kann als Bestandteil organischer Feldeffekttransistoren (OFET) genutzt werden.

Beispielhaft ist in Abbildung 65 das Massenspektrum der Verbindung 11 dem mit der Data Analysis Software simulierten Massenspektrum gegenübergestellt.

Der Vergleich der tatsächlich gemessenen und simulierten Spektren zeigte in allen fünf untersuchten Fällen eine eindeutige Übereinstimmung des Isotopenmusters. Beim Oligothiophen (12) konnte anhand der Masse und des Isotopenmusters ein Nebenprodukt nachgewiesen werden, bei dem eine Hexylkette durch Wasserstoff ersetzt ist.

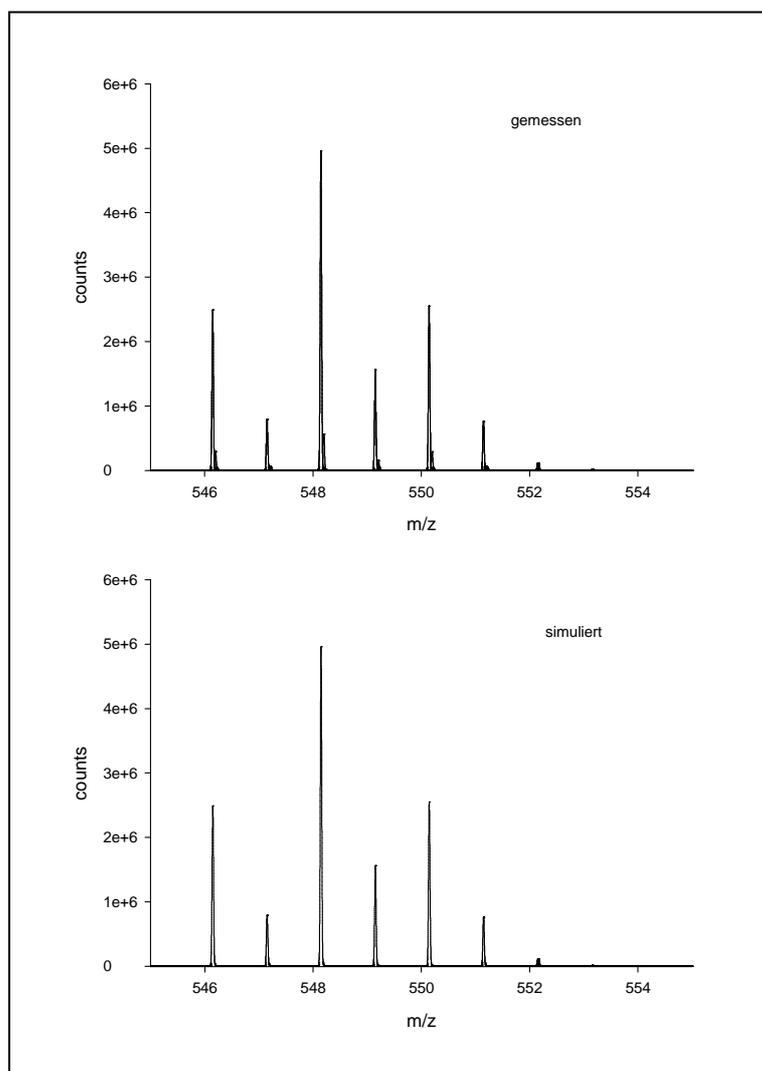


Abbildung 65: Isotopenmuster des M^+ der Verbindung 11 (gemessen: oben und simuliert: unten)

Die an verschiedenen Bausteinen moderner polymerer Materialien durchgeführten Untersuchungen haben gezeigt, dass diese Substanzen erfolgreich mittels APLI-(TOF)MS charakterisiert werden können. Hierbei ließen sich insbesondere sehr unpolare Analyten ionisieren, die mit anderen Methoden nur schwer ohne Fragmentierung zu erfassen sind. Darüber hinaus war es möglich, neben den Hauptprodukten in einigen Fällen Nebenprodukte nachzuweisen und zu identifizieren, die möglicherweise bei einer späteren Verwendung der

jeweiligen Monomere/Oligomere zu einer unerwünschten Beeinträchtigung z.B. einer OLED geführt hätten. Diese Ergebnisse zeigen, dass die APLI eine Ergänzung zu den bisher verwendeten Techniken (z.B. NMR, FI-MS, FD-MS) für die Charakterisierung moderner Werkstoffe auf Polymerbasis sein kann, wenn diese an mindestens einer Stelle eine aromatische Struktur aufweisen.

3.5 Laserionisation bei Atmosphärendruck nach Desorption

Der Bedarf an Oberflächen adsorbierte Analyten, wie etwa Betäubungsmittel, Explosivstoffe usw. möglichst schnell und einfach analysieren zu können, hat zur Entwicklung verschiedener neuer Analysetechniken geführt. Beispiele sind DESI (Desorption electrospray ionization) ^[195], DART (Direct analysis in real time) ^[196] und ASAP (atmospheric solids analysis probe) ^[197]. Bei der DESI-Technik wird die zu untersuchende Oberfläche in das Elektrospray einer ESI-Quelle positioniert. Auf diese Weise werden polare Verbindungen, die sich auf der Oberfläche befinden, desorbiert und ionisiert ^[195]. Bei der Verwendung einer DART-Quelle werden mittels Gasentladung elektronisch- und schwingungsangeregte Atome bzw. Moleküle (He, N₂), die in einem heißen Gasstrom auf eine Oberfläche treffen, verwendet, um einerseits zu desorbieren und andererseits zu ionisieren. Anwendungen der DART-Technik liegen beispielsweise in der schnellen und einfachen Detektion von Schmerzmitteln in fester Matrix (z.B. Acetaminophen in einer Tablette) oder Explosivstoffen auf Oberflächen ^[196]. Bei der ASAP-Technik wird eine feste bzw. flüssige Probe auf einem Glasröhrchen in eine APCI-Quelle gebracht. Mit einem heißen Gasstrom werden Analytmoleküle von der Oberfläche desorbiert und anschließend mit der APCI ionisiert ^[197].

Mit diesen drei Verfahren ist die Möglichkeit gegeben, polare Verbindungen auf Oberflächen oder in fester Matrix direkt und ohne aufwendige Probenvorbereitung massenspektrometrisch zu untersuchen.

Um das Spektrum analysierbarer Substanzen zu erweitern, sollte untersucht werden, ob die APLI nach Desorption der an Oberflächen adsorbierten aromatischen Verbindungen eingesetzt werden kann. Bei einem solchen Verfahren (Desorption Atmospheric Pressure Laser Ionization, DALI) sollte ein möglichst einfacher experimenteller Aufbau für die Desorption und Laserionisation verwendet werden. Die Untersuchung von aromatischen Substanzen an Oberflächen mittels APLI erforderte zunächst ein Konzept für die drei wesentlichen Prozesse:

- i) Desorption der Analyten
- ii) Transport der desorbierten Analyten vor den Einlass des Massenspektrometers
- iii) Ionisation der Analyten mittels Excimer-Laser (KrF oder ArF)

Für die Desorption kamen im Wesentlichen zwei Konzepte in Frage, nämlich die thermische Desorption unter Verwendung eines geheizten Gasstromes bzw. die Desorption mit einem zweiten Laser im Infrarotbereich (Nd-YAG, CO₂, Laserdiode). Da an dieser Stelle ein möglichst einfacher Aufbau im Vordergrund stand und die Verwendung von zwei Lasern (bei der Verwendung von zwei gepulsten Lasern wäre möglicherweise eine Synchronisation notwendig gewesen) einen erheblich höheren experimentellen Aufwand bedeutet hätte, wurde zunächst die Desorption mit einem geheizten Gasstrom als geeignet angesehen. Die generelle Anwendbarkeit eines geheizten Gasstroms zur effizienten Desorption eines Analyten von der Oberfläche wurde bereits bei DART und auch bei ASAP gezeigt.

Um das Gas (Helium) für die Desorption zu erhitzen, wurde dieses mit einer Flussrate von 3 L/min durch elektrisch beheizte Teflonschläuche (2 m Länge) der Fa. Horst (Lorsch) geleitet und auf diese Weise auf eine Temperatur von 200 °C erwärmt. Damit ein möglichst einfacher Transport der Analyten zum Einlass des verwendeten Massenspektrometers (Q-TOF Ultima) erfolgen konnte, wurde dieses ohne den eigentlichen Quellenkörper betrieben. Der Einlass des Massenspektrometers war nicht abgeschirmt und hatte direkten Kontakt zur Laborluft. Der Austritt des Desorptionsgases war so ausgerichtet, dass der MS-Einlass direkt angeströmt wurde (Abb. 66). Analog zur LC-APLI-Kopplung wurde der Laserstrahl auch für DALI direkt vor dem MS-Einlass positioniert. Für einen ersten Funktionstest des dargestellten Aufbaus wurde eine Glaskapillare verwendet, die zuvor in eine Pyrenlösung getaucht wurde (2 µM). Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde die Kapillare zur Analyse in den heißen Gasstrom gehalten und das desorbierte Pyren mittels Laser ionisiert. Das bei dieser Analyse erhaltene Chromatogramm sowie das Massenspektrum sind in Abbildung 67 gezeigt. Danach konnte das DALI-Konzept erfolgreich zum Nachweis von Pyren auf einer Glasoberfläche eingesetzt werden. Der Nachweis gelang nur, wenn das Röhrchen zur Desorption in den heißen Gasstrom gehalten wurde (vgl. Abb. 67, Massenspektrum 0,3 min). Sowohl Desorption als auch Transport des desorbierten Analyten zum Einlass des Massenspektrometers sowie Ionisation konnten mit dem in Abbildung 66 gezeigten einfachen Aufbau realisiert werden, so dass eine schnelle und einfache Desorptions- und Ionisationstechnik zur Untersuchung von aromatischen Analyten auf Oberflächen zur Verfügung steht.

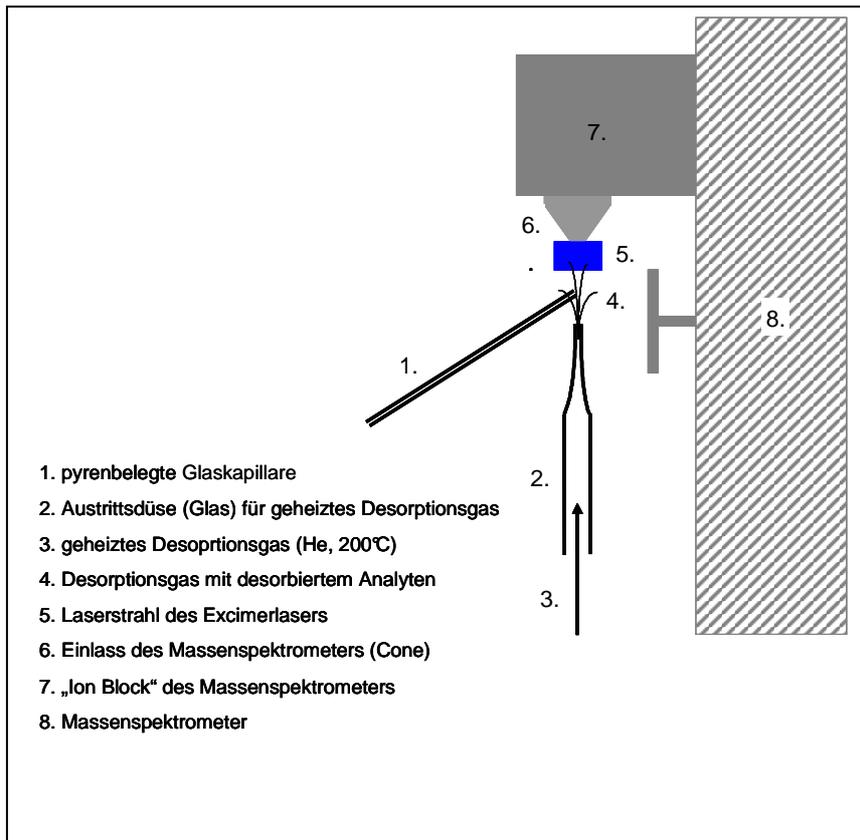


Abbildung 66: Schematischer Aufbau der Desorption Atmospheric Pressure Laser Ionization (DALI)

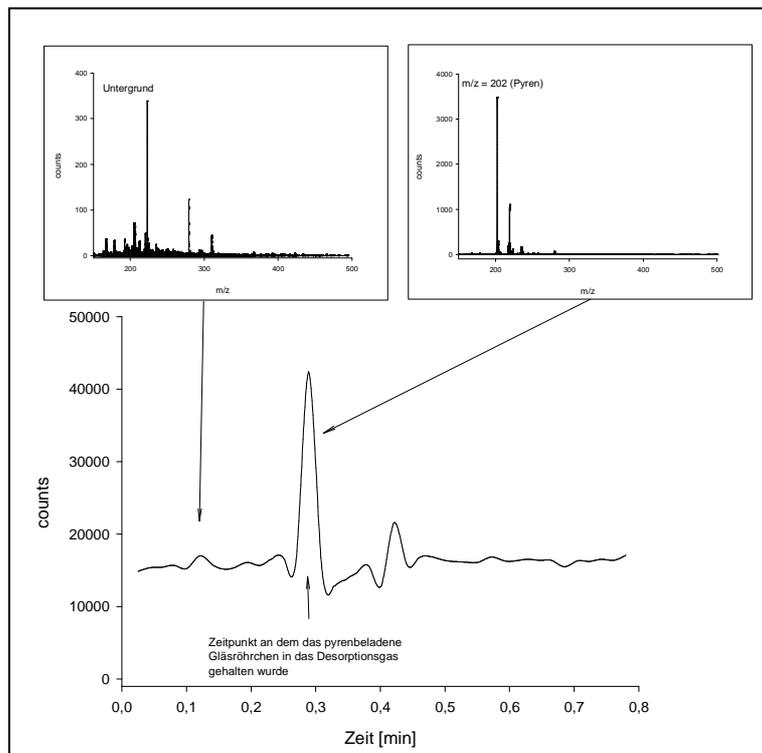


Abbildung 67: Chromatogramm (TIC) und Massenspektren der DALI-Analyse von Pyren auf einer Glaskapillare

Um eine darüber hinausgehende Anwendbarkeit der DALI zu zeigen, wurde jeweils das Blatt einer *Ficus Benjamina* (Birkenfeige) aus einem Raucherzimmer und einem Nichtraucherzimmer mittels DALI untersucht. Als Marker für den Zigarettenkonsum im jeweiligen Raum wurde Nicotin ausgewählt, das sich mit dem Zigarettenrauch auch auf Pflanzenoberflächen abscheidet. Analog zum vorherigen Experiment wurde nun jeweils ein Blatt vor den austretenden heißen Gasstrom gehalten. Während im Fall des Blattes aus dem Raucherzimmer ein sehr intensives Signal für Nicotin bei $m/z = 163$ ($[M+H]^+$) detektiert wurde, konnte beim Blatt aus dem Nichtraucherzimmer keinerlei Nicotin nachgewiesen werden (Abb. 68).

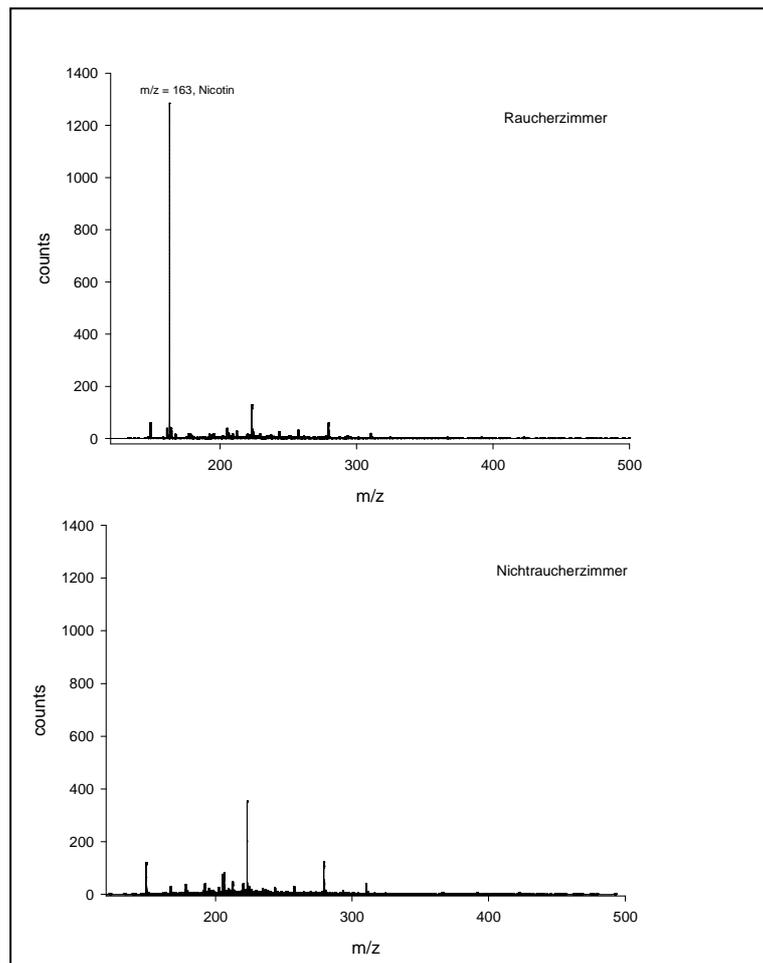


Abbildung 68: Massenspektren der DALI-Analyse eines Blattes einer *Ficus Benjamina* aus einem Raucherzimmer (oben) und einem Nichtraucherzimmer (unten)

Die Detektion des Nicotins und die damit erfolgreiche Differenzierung der Herkunft des untersuchten Blattes zeigt das Anwendungspotential bei der schnellen und einfachen Untersuchung einer Oberfläche auf eventuelle Schadstoffbelastungen.

Solche Schadstoffbelastungen können auch in Böden auftreten. Das Vorkommen von PAKs in Böden stellt aufgrund der Kanzerogenität von z.B. Benzo[*a*]pyren ein Gesundheitsrisiko dar, so dass für die Belastung mit diesen Substanzen gesetzliche Höchstwerte bestehen.

Zur Identifikation und Quantifizierung von PAKs in Böden sind aufwendige Extraktions- und Probenvorbereitungsverfahren mit anschließender instrumenteller Analytik notwendig. Daher war es von Interesse, ob die DALI in Form eines Schnelltests Hinweise liefern kann. So wäre eine schnelle Entscheidung in Bezug auf eine weitergehende Analyse einer Bodenprobe möglich. Dazu war es zunächst notwendig, eine geeignete Vorrichtung zu entwickeln, mit der die Probe desorbiert werden konnte. Aufgrund der feinkörnigen Struktur von Boden wurde der Versuchsaufbau in der Weise geändert, dass die Probe in eine mit Glaswolle verschlossene Pasteurpipette gefüllt und mit geheiztem Helium (3 L/min) durchströmt wurde (Abb. 69). Wie schon im vorherigen Experiment wurde auch hier der Einlass des Massenspektrometers mit dem Desorptionsgas direkt angeströmt und der Laser vor dem MS-Einlass positioniert. Ein Funktionstest wurde unter Verwendung von Quarzsand als kontaminationsfreie feinkörnige Oberfläche durchgeführt, die zuvor mit Benzo[*a*]pyren d12 (20 ppm) beladen wurde (vgl. Kap. 5.3.9). Aufgrund der zu geringen Temperatur des Desorptionsgases von 200 °C konnte keine vollständige Desorption erreicht werden. Daher wurde das Probenröhrchen zusätzlich mit einem Heißluftföhn auf eine Temperatur von 280 - 290 °C erwärmt, um die Desorption der Analyten zu verbessern (Abb. 70).

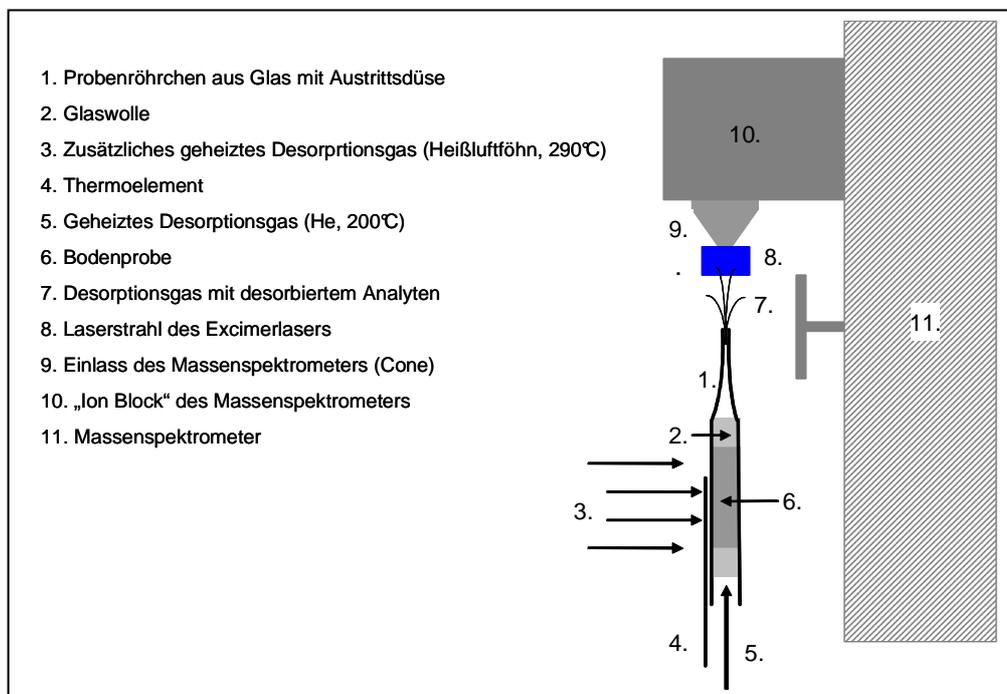


Abbildung 69: Schematischer Aufbau der Desorption Atmospheric Pressure Laser Ionization (DALI) für die Untersuchung von Bodenproben

Nachdem unter Verwendung von Quarzsand, der mit einem PAK beladen war, die generelle Funktionsfähigkeit des DALI-Aufbaus gezeigt werden konnte, sollte eine reale Bodenprobe untersucht werden. Der Gehalt an Benzo[*a*]pyren und weiteren PAKs mit $m/z = 252$, die in der vorliegenden DALI-Untersuchung als Summe detektiert wurden, war bereits von einem unabhängigen Labor (Chemisches Laboratorium Dr. R. Füllung, Remscheid) bestimmt worden. Der PAK-Gehalt wurde mit den folgenden Werten angegeben: Benzo[*b*]fluoranthen 1,0 mg/kg, Benzo[*k*]fluoranthen 0,41 mg/kg, Benzo[*a*]pyren 0,78 mg/kg.

Die bei der Untersuchung der Bodenprobe vorliegenden Bedingungen, also Sauerstoffabschluss, das Vorhandensein organischen Materials (Huminstoffe) und eine erhöhte Temperatur machten es notwendig, die Desorptionstemperatur sorgfältig auszuwählen und zu überwachen, damit diese einerseits hoch genug für eine ausreichende Desorption, andererseits nicht zu hoch, um unter den gegebenen Bedingungen PAKs aus dem organischen Material selbst ^[198 - 200] zu bilden, war. Damit sollte ein falsch positives Ergebnis vermieden werden. In Abbildung 71 ist die Untersuchung einer Bodenprobe bei 290 °C und 450 °C dargestellt, die PAKs ($m/z = 252$) enthielt und zum Vergleich mit Benzo[*a*]pyren d12 (20 ppm) aufgestockt wurde.

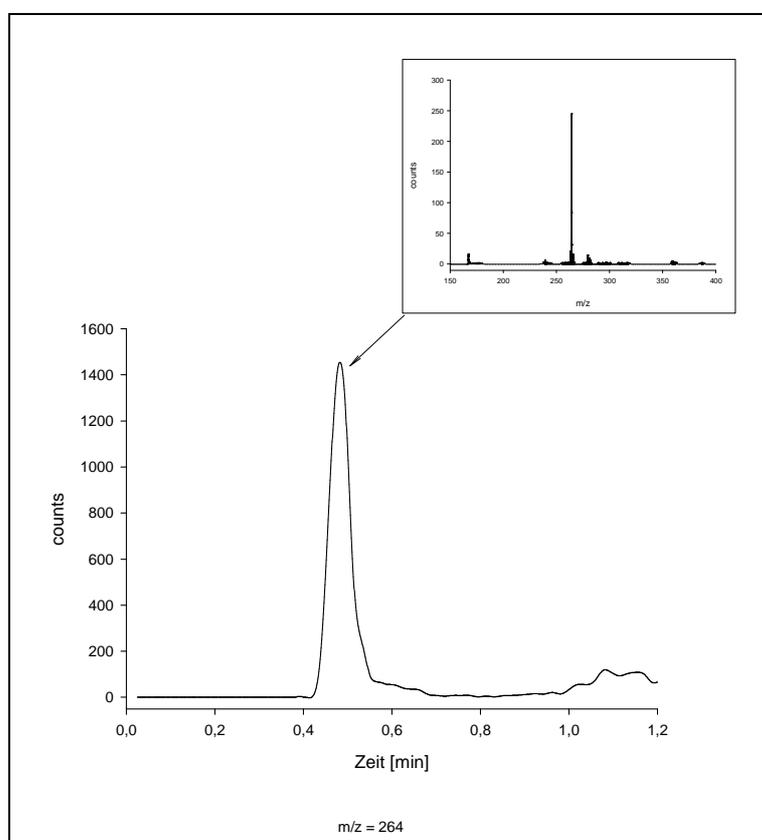


Abbildung 70: DALI-Analyse von Quarzsand, der mit Benzo[*a*]pyren d12 (2 ppm) belegt wurde, Massenspur $m/z = 264$ (unten), Massenspektrum (oben)

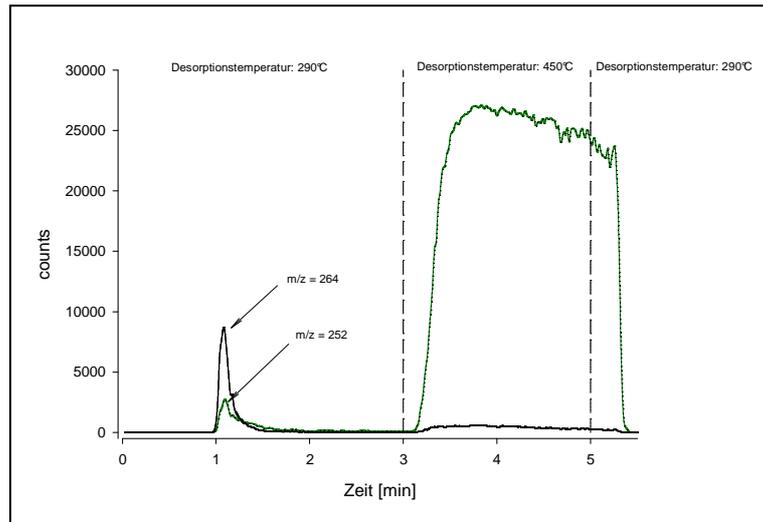


Abbildung 71: Untersuchung einer Bodenprobe mittels DALI bei 290 °C und 450 °C
Desorptionstemperatur

Bei einer Desorptionstemperatur von 290 °C wurden zunächst die in der Probe enthaltenen PAKs (vgl. Abb. 71, 1 min) desorbiert, wobei die Massensignale in Form von Peaks aufgezeichnet wurden. Die Erhöhung der Desorptionstemperatur auf 450 °C führte zu einem starken Anstieg der Massenspur $m/z = 252$. Ein gleichartiger Anstieg der Massenspur $m/z = 264$ (Benzo[*a*]pyren d12) wurde nicht beobachtet. Die Erhöhung der Desorptionstemperatur auf 450 °C hat offensichtlich zur Bildung von PAKs aus dem organischen Material der Probe geführt. Eine Desorptionstemperatur vom 290 °C ist demnach für Untersuchungen dieser Art geeignet. Diese Temperatur wurde mit einem Thermoelement überwacht, das neben dem Probenröhrchen angebracht wurde (Abb. 69). Da neben PAKs häufig auch Öle und Teerprodukte eine Kontamination in Boden darstellen, wurde mit dem oben beschriebenen Verfahren ebenfalls eine kreosotbelastete Bodenprobe untersucht. Das bei dieser Analyse erhaltene Massenspektrum ist in Abbildung 72 gezeigt.

Am Beispiel der Bodenproben konnte gezeigt werden, dass die DALI-Technik für die Untersuchung der Belastung von Boden mit PAKs und anderen Aromaten in Form eines Schnelltests geeignet ist. Somit wäre eine effiziente Untersuchung großer Areale möglich, da der analytische Aufwand deutlich reduziert werden könnte.

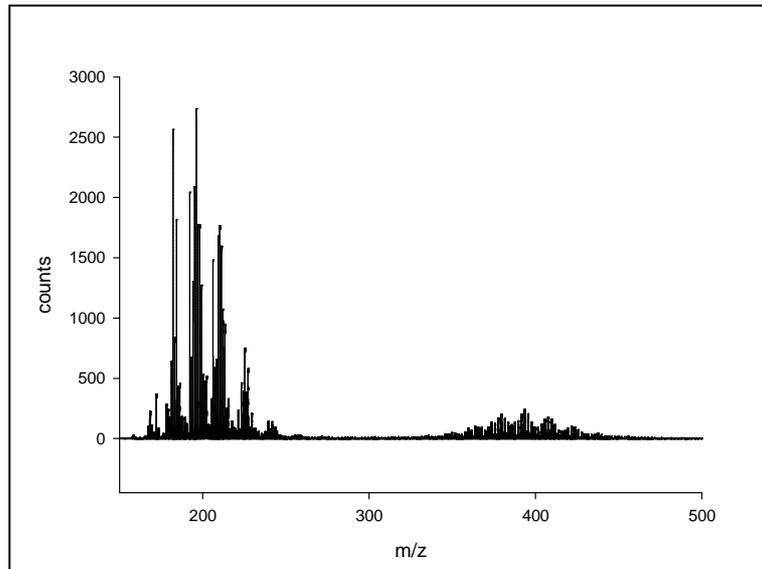


Abbildung 72: DALI-Analyse einer kreosotbelasteten Bodenprobe

3.5.1 Ausblick

Diese ersten erfolgreichen Experimente zeigen das Potential der DALI-Technik. Zukünftig könnte bei der Untersuchung von Bodenproben beispielsweise ein elektrisch geheizter Aufbau verwendet werden, um die Desorption reproduzierbar und wenn notwendig sogar schrittweise in Form eines Temperaturprogramms durchzuführen. Die Verwendung eines solchen Aufbaus würde gleichzeitig die Möglichkeit bieten, eine geschlossene Quelle zu verwenden, mit der der Anwender vor einer PAK-Exposition geschützt werden könnte. Darüber hinaus ermöglicht die Verwendung eines festen Quellenaufbaus, das Probenröhrchen reproduzierbar vor dem MS-Einlass zu positionieren und den Laserstrahl in einer geschlossenen Anordnung in die Quelle zu führen, so dass auch an dieser Stelle potentielle Gefahren für den Anwender minimiert werden können.

Die peakförmigen Signale mit $m/z = 252$ und 264 (Benzo[*a*]pyren d12) (vgl. Abb. 71 bei ca. 1 min), die auch bei der Untersuchung des mit Benzo[*a*]pyren d12 beladenen Quarzsandes erhalten wurden, lassen die Vermutung zu, dass im erhitzten Teil der Probe eine nahezu vollständige Desorption der PAKs erreicht werden konnte. Damit sollte eine semiquantitative Bestimmung der PAK-Belastung einer Bodenprobe mit Hilfe eines internen Standards möglich sein.

Auch durch die bereits erwähnte Verwendung eines Desorptionslasers in Verbindung mit einem Positionierungs-laser im UV-Bereich könnten die Anwendungsmöglichkeiten der DALI-

Technik deutlich erweitert werden. Mit einem fokussierten Desorptionslaser ließen sich definierte kleine Areale einer Oberfläche desorbieren und anschließend ionisieren. DALI könnte so zu einer Technik erweitert werden, mit der ein Imaging von kontaminierten Oberflächen möglich wäre.

3.6 Ionisationslabel in der APLI-(TOF)MS

Die Verwendung von Derivatisierungsreagenzien in der Analytischen Chemie ist eine weit verbreitete Technik, die in den verschiedensten Gebieten Anwendung findet. So werden in der Gaschromatographie etwa Silylether oder Methylester gebildet um die Polarität der Analyten zu verringern und damit die GC-Gängigkeit aber auch die Stabilität des Analyten zu erhöhen [201 - 205]. Ein weiteres Konzept in der Gaschromatographie ist die Verwendung von fluorhaltigen Reagenzien in Verbindung mit einem Elektroneneinfangdetektor oder der NICI (Negative Ion Chemical Ionization) [204, 206]. Die Verwendung solcher Substanzen dient in erster Linie dazu, die Empfindlichkeit, mit der eine Verbindung nachgewiesen werden kann, zu erhöhen. Ein weiteres großes Einsatzgebiet von Derivatisierungsreagenzien ist die Laser-induzierte Fluoreszenz [207]. Hier wird ein bei einer bestimmten Wellenlänge fluoreszierendes Molekül kovalent mit dem Analyten verbunden, der entweder eine zu geringe oder keine native Fluoreszenz aufweist, so dass der derivatisierte Analyt mit großer Empfindlichkeit nachgewiesen werden kann [208 - 212]. Durch die Wahl geeigneter Derivatisierungsbedingungen kann darüber hinaus eine Selektivität hinsichtlich bestimmter funktioneller Gruppen erreicht werden, indem beispielsweise die Parameter so gewählt werden, dass nur Amine derivatisiert werden können [208, 210, 211]. Auf diese Weise wird eine empfindliche und selektive Detektion verschiedenster Analyten (z.B. Proteine, Arzneimittel, Betäubungsmittel) nach erfolgter chromatographischer Trennung möglich [209]. Dieses Konzept sollte auf die APLI-(TOF)MS übertragen werden, wobei hier der Fluorophor durch eine ionisierbare Gruppierung ersetzt wird.

Mit der APLI-(TOF)MS steht eine Methode zur Verfügung, mit der selektiv und sensitiv aromatische Verbindungen analysiert und detektiert werden können. Um diese Vorteile der APLI auf nichtaromatische Systeme zu erweitern, wurde das Konzept eines Ionisationslabels realisiert. Ein solches Label ist eine Verbindung, die unter den Bedingungen der APLI ionisiert werden kann. Sie besitzt ein aromatisches System, das über eine geeignete funktionelle Gruppe kovalent an den Analyten gebunden werden kann. Ein solcher Ionisationsmarker besteht aus drei wesentlichen Komponenten: i) dem Ionophor, also dem

Teil des Moleküls, welcher durch den 1+1 REMPI-Prozess ionisiert werden soll, ii) einem geeigneten Spacer, also einer Einheit, die auf der einen Seite den Ionophor vom Analyten trennt, damit keine unerwünschten Wechselwirkungen auftreten können und die auf der anderen Seite eine sterische Hinderung bei der Reaktion zwischen Analyt und Ionophor verhindert, indem ein hinreichend großer Abstand gewährleistet wird und iii) einer reaktiven Ankergruppe, über welche mit einer Derivatisierungsreaktion die kovalente Verknüpfung des Analyten mit dem Ionisationslabel hergestellt werden kann. Diese drei Elemente des Ionisationslabels können für die jeweilige konkrete Anwendung individuell gestaltet und gegebenenfalls den Bedingungen angepasst werden. Zu den äußeren Bedingungen zählen die Wellenlänge des verwendeten Standardlasersystems (z.B. 248 nm KrF*, oder 266 nm vierte Harmonische eines Nd-YAG Lasers), die zu derivatisierende funktionelle Gruppe (Carbonsäure, Amin, Alkohol etc.), die verwendete Derivatisierungsreaktion und die Matrix, in welcher die Derivatisierungsreaktion stattfinden soll.

3.6.1 Aufbau und Anwendung eines Ionisationslabels

Zunächst sollte untersucht werden, ob das Konzept des Ionisationslabels, welches von Fernandes-Whaley et al. bereits in Jet-REMPI-Systemen zur Online-Untersuchung von Aldehyden und Aminen unter Verwendung von Benzaldehyd und Phenylhydrazon^[213] und von Srinivasan et al. bei der Untersuchung eines mit Anthracen derivatisierten Nucleotids mittels Laserdesorption und Postionisation^[214] erfolgreich angewendet wurde, auf die APLI übertragbar ist.

Dazu wurden die oben dargestellten Bestandteile des Ionisationslabels, also Ionophor, Spacer und Ankergruppe ausgewählt. Da die Ionisation mit einem KrF-Excimer-Laser durchgeführt werden sollte, musste ein Ionophor verwendet werden, der bei dieser Wellenlänge eine gute Ionisierbarkeit aufweist. Im Hinblick auf die große Empfindlichkeit, mit der PAKs mittels APLI-(TOF)MS nachgewiesen werden können, wurde eine Verbindung dieser Klasse als Ionophor, nämlich Anthracen, ausgewählt. Anthracen stellt mit drei aromatischen Ringen ein System dar, welches etwa um den Faktor 10 - 100 empfindlicher nachweisbar ist als das nächst kleinere System Naphthalin. Ein signifikanter Anstieg der Empfindlichkeit ist bei größeren aromatischen Systemen wie Pyren oder Benzo[a]pyren nicht mehr zu beobachten. Auch Parameter wie die Löslichkeit und die Möglichkeit der chromatographischen Trennung sprechen für einen Ionophor mit einem möglichst kleinen Molekulargewicht. Für den Spacer wurde zunächst eine Kettenlänge von drei Gliedern als ausreichend angenommen. Dieser

sollte keine reine Kohlenwasserstoffeinheit darstellen, sondern eine Etherbindung aufweisen, um die Möglichkeit zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen und eine gewisse Polarität ins Molekül einzubringen. Auf diese Weise sollte die Löslichkeit in gängigen Lösungsmitteln wie Acetonitril und Methanol, die in der Flüssigchromatographie häufig eingesetzt werden, verbessert werden. Viele organische Moleküle von biologischer Relevanz, aber auch industriell genutzte Verbindungen, weisen in ihrer Struktur eine Hydroxyl- oder Aminofunktion auf. Daher wurde bei der Entwicklung des ersten Ionisationslabels ein Ansatz gewählt, mit dem diese beiden funktionellen Gruppen derivatisiert werden können. Da sowohl die Hydroxyl- als auch die Aminogruppe als Nucleophil wirken können, wurde für das Ionisationslabel eine Carboxylgruppe als Ankergruppe ausgewählt. Diese kann nach Aktivierung mit einem geeigneten Reagenz unter schonenden Bedingungen, die auch mit biologisch relevanten Molekülen kompatibel sind, aktiviert und in einen Ester bzw. ein Amid überführt werden. Zur Derivatisierung kann Dicyclohexylcarbodiimid unter Verwendung einer Hilfsbase, 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin (4-DMAP) im Fall von Alkoholen und 1-Hydroxybenzotriazol (HOBT) im Fall von Aminen, benutzt werden ^[215, 216]. Daher wurde zunächst eine geeignete Verbindung, (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure (Kap. 5.2.1), ausgehend von 9-Anthracenmethanol und Bromessigsäure in ausreichender Menge dargestellt. In Abbildung 73 ist allgemein der Mechanismus der Derivatisierung von Alkoholen und Aminen mit (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure abgebildet.

Dabei wird die (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure zunächst mit der jeweiligen Hilfsbase kovalent verknüpft und anschließend auf die funktionelle Gruppe des Analyten (Alkohol bzw. Amin) unter Freisetzung der katalytisch wirkenden Hilfsbase übertragen.

Um das dargestellte Konzept zu verifizieren, wurden nichtaromatische Standardverbindungen, also Verbindungen die mittels APLI nicht ionisierbar sind, untersucht. Es wurden Verbindungen mit unterschiedlicher Molekülgröße ausgewählt, die sowohl Hydroxyl- als auch Aminofunktionalitäten aufwiesen. Nach der Derivatisierung wurde die Probe verdünnt und anschließend per Direktinfusion über eine Spritzenpumpe in die APLI-Quelle des Massenspektrometers injiziert. In Abbildung 74 sind die Massenspektren von vier derivatisierten Verbindungen (Ethanol, Cholesterin, *n*-Dodecylamin und Ölsäure) dargestellt. Unter den gewählten Derivatisierungsbedingungen wurde erwartet, dass jeder Analyt selektiv in das entsprechende Derivat überführt wird. Darüber hinaus sollte, wie bei der Ionisation der reinen PAKs mittels APLI, das Radikalkation (M^+) mit $m/z = M(\text{Analyt}) + M((\text{Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure}) - M(\text{H}_2\text{O})$ gebildet werden.

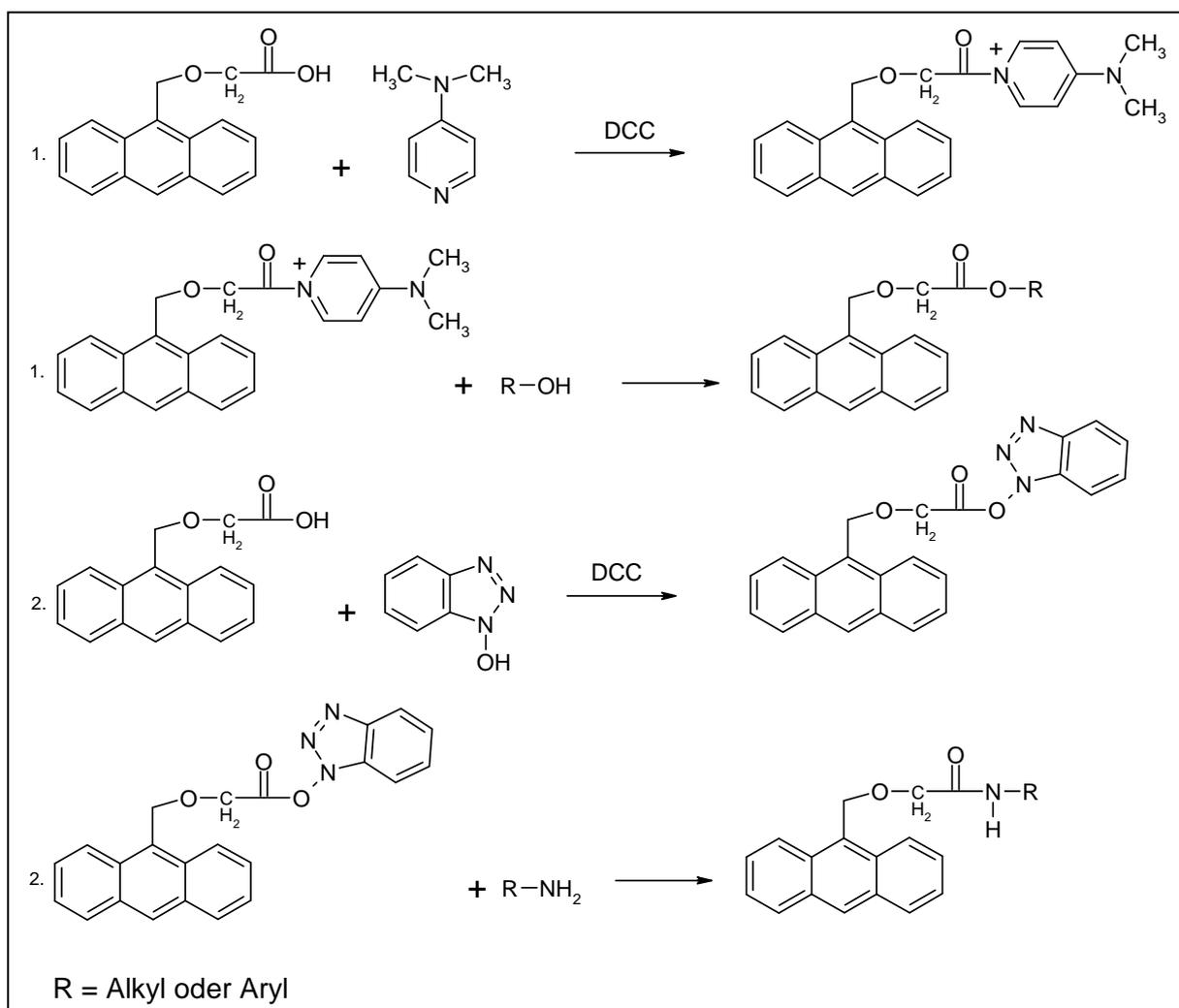


Abbildung 73: Mechanismus der Derivatisierung von Alkoholen und Aminen mit einem APLI-Ionisationslabel ((Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure) unter Carbodiimidaktivierung ^[216, 217]

Die in Abbildung 74 dargestellten Massenspektren bestätigen die Erwartung und zeigen, dass das generelle Konzept der Verwendung von Ionisationslabeln in der APLI-MS erfolgreich eingesetzt werden kann. Demnach war die als geeignet angenommene Kettenlänge des Spacers von drei Gliedern ausreichend, um auch ein sterisch anspruchsvolles Molekül wie Cholesterin zu derivatisieren. Die in den Massenspektren neben dem erwarteten Massensignal des Radikalkations auftretenden Signale im Bereich von $m/z = 200$ stellen Verunreinigungen in der Ionenquelle etwa durch Anthracen ($m/z = 178$) dar. Zu einem geringen Anteil ist auch ein Fragment mit $m/z = 191$ zu beobachten.

Da mit dem beschriebenen Ionisationslabel nur Alkohole und Amine, aber keine Carbonsäuren erfasst werden können, wurde ein weiteres Ionisationslabel, nämlich 9-Anthracenmethanol eingesetzt. Auch mit diesem Label kann erneut die bereits dargestellte Derivatisierungsreaktion unter Verwendung von Dicyclohexylcarbodiimid verwendet werden.

Hierbei wird die Säurefunktion des Analyten aktiviert und dieser dann auf das 9-Anthracenmethanol unter Bildung eines Esters übertragen. Die geringere Länge des Spacers stellte bei den untersuchten Standardverbindungen kein Problem dar. In Abbildung 74 ist das Massenspektrum der Analyse von derivatisierter Ölsäure mittels APLI-(TOF)MS (Direktinfusion der verdünnten Reaktionslösung) gezeigt. Wie bereits bei den oben beschriebenen Analyten wurde auch im Fall der Ölsäure nur das Radikalkation detektiert.

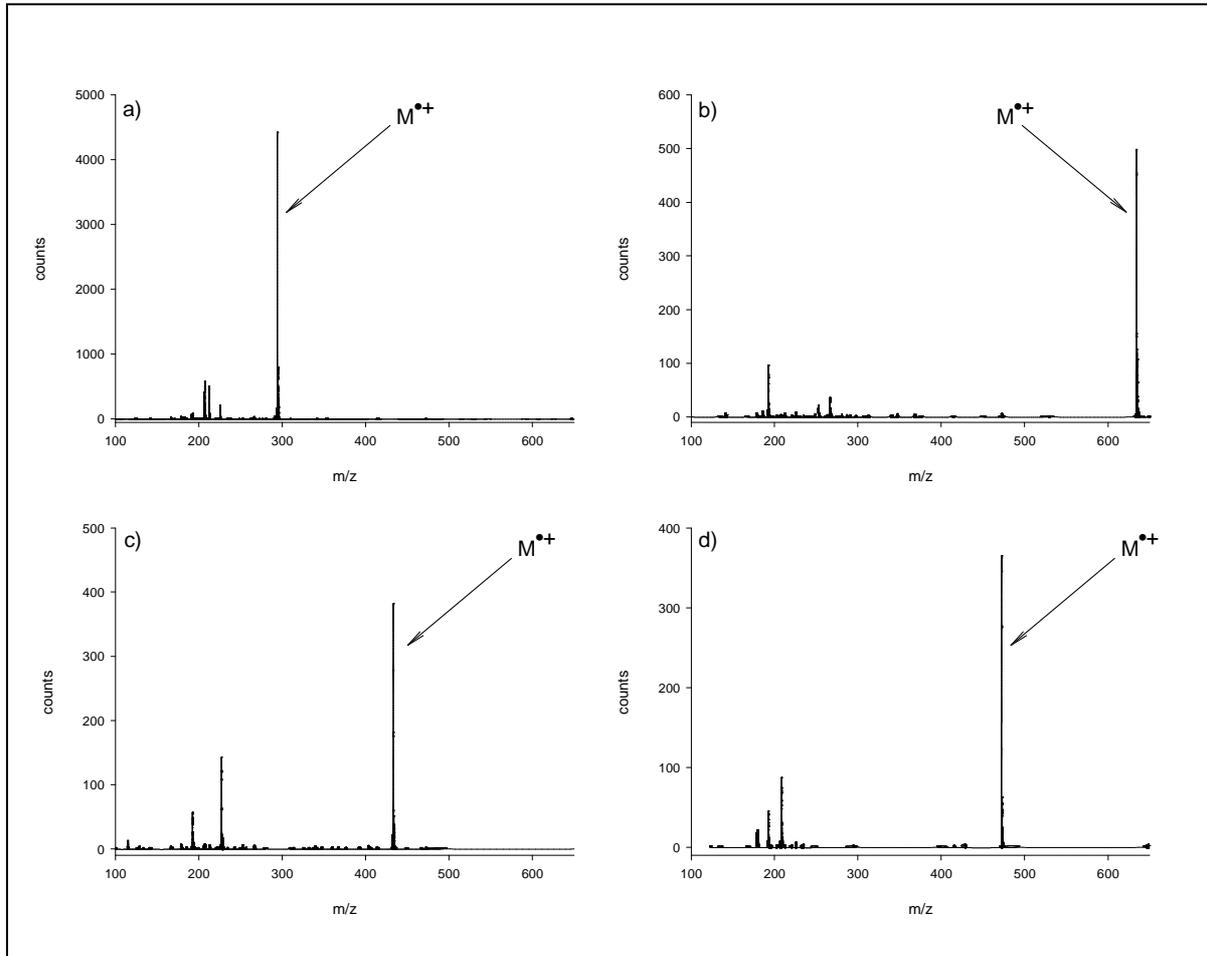


Abbildung 74: APLI-(TOF)MS-Analyse von Ethanol (a), Cholesterin (b), Dodecylamin (c) nach Derivatisierung mit (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure und Ölsäure (d) nach Derivatisierung mit 9-Anthracenmethanol

3.6.2 Eigenschaften derivatisierter Verbindungen

Aufgrund der erfolgreichen Anwendung der Ionisationslabel für Standardverbindungen ergeben sich Fragen bezüglich der Eigenschaften der gebildeten Derivate. Alle mit Anthracen(-9-ylmethoxy)essigsäure derivatisierten Verbindungen weisen in Form des Ionisationslabels eine strukturelle Gemeinsamkeit auf. In den drei zuerst erwähnten Beispielen unterscheiden sich die Derivate nur durch das Molekulargewicht des Analyten und die Art der gebildeten Verknüpfung (Ester oder Amid). Die Funktionalität, an der das Ion mittels 1+1 REMPI-Prozess gebildet wird, ist in Form des Anthracensystems gleich. So ergibt sich die Frage, ob der kovalent verknüpfte Analyt einen Einfluss auf den REMPI-Prozess und damit die Ionenausbeute ausübt, wie etwa bei der Anwendung eines Fluoreszenzlabels in der CE-LIF-Analyse von Nucleotiden ^[218, 219]. Bei letzterem ist die Fluoreszenzquantenausbeute vom derivatisierten Analyten abhängig. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit der Einführung von Korrekturfaktoren ^[219]. Sollte der REMPI-Prozess dagegen analytunabhängig verlaufen, wäre es möglich, Mischungen sehr ähnlicher Analyten (z.B. Polyethylenglycole), bei denen eine gleiche Derivatisierungsausbeute angenommen werden kann, direkt zu untersuchen, ohne dass das Muster der Verteilung beeinflusst wird. Darüber hinaus könnte bei bekannter Derivatisierungsausbeute die Quantifizierung verschiedener Analyten direkt durchgeführt werden. Hierzu könnte ein interner Standard verwendet werden, der ebenfalls derivatisiert wird. Um die Fragestellung des Analyteinflusses auf den REMPI-Prozess zunächst halbquantitativ zu bearbeiten, wurden die Derivate von Ethanol, Cholesterin und n-Dodecylamin präparativ hergestellt (s. Kap. 5.2.2). Diese reinen Derivate ermöglichen den direkten Vergleich untereinander, ohne dass die unterschiedliche Derivatisierungsausbeute berücksichtigt werden müsste. Dazu wurden Lösungen mit einer Konzentration von je 0,1 μM des jeweiligen Derivates in Acetonitril hergestellt und diese mittels APLI-(TOF)MS (Direktinfusion mittels Spritzenpumpe) am micrOTOF analysiert. Zu beachten ist bei der Verwendung des micrOTOFs, dass die Einstellungen der Ionentransmissionsparameter (Hexapol RF, Pre puls storage und Transfer Time) für jeden Massenbereich, insbesondere bei Massen bis m/z 350, optimiert werden müssen. In Abbildung 75 sind die EICs der jeweiligen Massen der Derivate dargestellt.

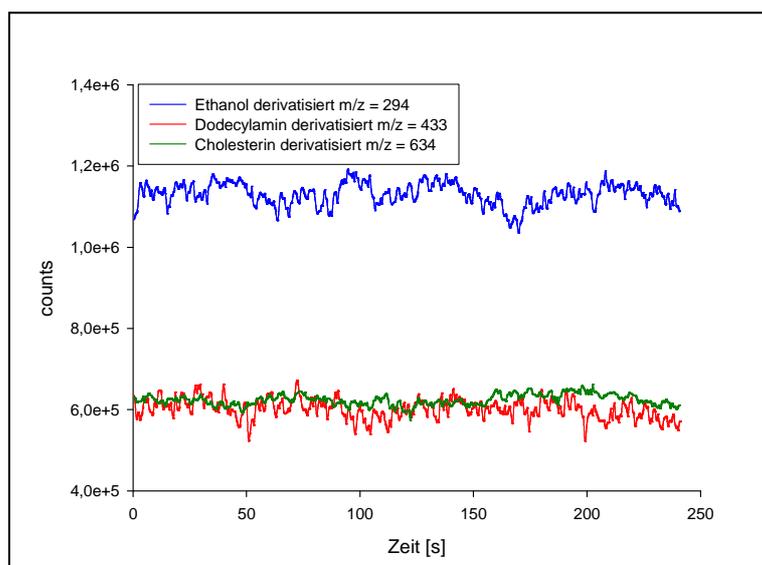


Abbildung 75: Vergleich der Signalintensität bei der APLI-(TOF)MS-Analyse von Ethanol, Cholesterin und n-Dodecylamin nach Derivatisierung mit (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure

Die Anzahl der detektierten Ionen, bei ansonsten identischen Bedingungen (Laserleistung, Repetitionsrate), ist für die beiden Analyten mit höherem Molekulargewicht (n-Dodecylamin und Cholesterin) etwa gleich (ca. 6×10^5 counts), für den leichteren Analyten Ethanol dagegen ist sie etwa doppelt groß ($1,1 \times 10^6$ counts).

Die Anzahl der detektierten Ionen liegt jedoch für alle drei Derivate in der gleichen Größenordnung, obwohl die Art der Verknüpfung (Ester bzw. Amid) unterschiedlich ist. Der etwa doppelt so hohe Wert für das Ethanolderivat könnte mehrere Gründe haben: i) Es findet eine Wechselwirkung zwischen Analyt und Ionophor statt, die möglicherweise mit zunehmender Größe des Analyten konstant wird, ii) die Verdampfung des Derivates in der geheizten Verdampfungsstufe ist bei geringeren Molekülmassen effektiver und daher gelangt mehr Analyt in die Ionenquelle, iii) die Optimierungen an den Ionentransmissionsparametern waren für die Analyten mit der höheren Molekülmasse nicht ausreichend, es hätten noch Optimierungen z.B. am Linsensystem der Ionenoptik erfolgen müssen.

Die durchgeführten Untersuchungen an den reinen Derivaten ließen an dieser Stelle keinen eindeutigen Schluss zu, ob eine Wechselwirkung zwischen Analyt und Ionophor auftritt, die den REMPI-Prozess beeinflusst, oder ob der gewählte Spacer diese Wechselwirkung effektiv verhindert. Die dargestellten Ergebnisse können von einigen Faktoren abhängig sein, so dass eine weitere Methode gewählt wurde, um die Frage zu klären, ob die Ionisationsausbeute unabhängig vom derivatisierten Analyten ist.

3.6.2.1 REMPI-spektroskopische Eigenschaften derivatisierter Verbindungen

Da über den einfachen Vergleich der Anzahl der detektierten Ionen bei Direktinfusion keine eindeutige Aussage über eine Wechselwirkung zwischen Analyt und Ionophor getroffen werden konnte, sollten die spektroskopischen Eigenschaften der Derivate untersucht werden. Anhand von spektroskopischen Daten besteht die Möglichkeit, Aussagen über mögliche Wechselwirkungen zwischen Analyt und Ionophor zu erhalten, da diese Wechselwirkungen elektronischer Natur sind und damit das elektronische System beeinflusst wird. Eine solche Beeinflussung würde durch eine Rot- oder Blauverschiebung einer Bande, oder aber das Verschwinden bzw. Entstehen einer neuen Bande im REMPI-Spektrum deutlich werden.

Für jedes Molekül, das im REMPI-Prozess ionisiert wird, kann auch ein dazugehöriges REMPI-Spektrum aufgenommen werden. Die Aufnahme des Spektrums erfolgt in der Regel mit einem Lasersystem mit durchstimmbarer Wellenlänge, also mit einem Farbstofflaser oder mit einem optisch parametrischen Oszillator (OPO). Zur Darstellung des REMPI-Spektrums wird die Anzahl der detektierten Ionen eines Analyten als Funktion der Wellenlänge des Laserlichtes aufgezeichnet. Im vorliegenden Fall könnte durch den Vergleich der Spektren von (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure mit denen der derivatisierten Analyten (Ethanol, Cholesterin, n-Dodecylamin) eine Wechselwirkung zwischen Analyt und Ionophor nachgewiesen werden.

Die Aufnahme von REMPI-Spektren erforderte den Aufbau eines vollständig neuen Experimentes. Oftmals werden REMPI-Spektren in einem Überschalljet-REMPI-System gemessen, um die zu untersuchenden Analyten abzukühlen. Dies dient dazu, Spektren mit möglichst guter Auflösung einzelner Energiezustände und Übergänge zu erhalten. So können Aussagen über die elektronische Struktur der untersuchten Moleküle bzw. eine selektive Ionisation ausgewählter Moleküle (z.B. verschiedene Dioxine, chlorierte Biphenyle) in analytischen Anwendungen erzielt werden ^[124, 220 - 223].

Für die Untersuchungen an den Derivatisierungsreagenzien und Derivaten für die APLI war ein experimenteller Aufbau mit einem Jet-System nicht geeignet, da dieses die Bedingungen der APLI nicht widerspiegelt. In der APLI findet die Ionisation bei Atmosphärendruck statt. Dementsprechend weisen die Moleküle eine Temperatur nicht unter Raumtemperatur auf. Diese Bedingungen führen dazu, dass eine Verbreiterung von Banden auftritt und einzelne Molekülzustände nicht mehr so stark aufgelöst vorliegen ^[224].

Um unter möglichst ähnlichen Bedingungen arbeiten zu können, wurde der APLI-Aufbau (Excimer-Laser, micrOTOF mit APLI-Ionenquelle und Computer für die Steuerung des Massenspektrometers sowie die Datenaufnahme) modifiziert.

Eine kurze Beschreibung mit den notwendigen Veränderungen an Hard- bzw. Software des micrOTOFs wird im Folgenden gegeben.

3.6.2.2 Modifikation des APLI-Systems zur Aufnahme von REMPI-Spektren

Die APLI-Ionenquelle des Massenspektrometers wurde für die Aufnahme der REMPI-Spektren unverändert weiterverwendet. Vorteilhaft hieran war die Tatsache, dass so eine kontinuierliche Analytzufuhr über die Standardverdampfungsstufe leicht realisiert werden konnte.

Während als Lichtquelle für die Photoionisation im APLI-Aufbau ein Excimer-Laser mit fester Wellenlänge (KrF* 248 nm) verwendet wurde, erforderte die Aufnahme von REMPI-Spektren die Verwendung eines Lasers mit veränderbarer Wellenlänge. Zu diesem Zweck wurde in einem ersten Schritt anstatt des Excimer-Lasers ein OPO-System als Laser in das Experiment eingekoppelt. Der verwendete OPO konnte UV-Licht im Bereich von 220 – 300 nm mit einer spektralen Auflösung von 0,04 nm bei 248 nm, einer maximalen Repetitionsrate von 10 Hz, einer Pulsbreite von 8 ns sowie einer Ausgangsleistung von 0,1 – 1,5 mJ erzeugen. Die Steuerung des OPOs erfolgte mit einem von Mönnikes et al. ^[225] in der Programmiersprache LabVIEW entwickelten Computerprogramm. Mit diesem Programm konnte die gewünschte Wellenlänge vorgegeben sowie die jeweils nächste zu messende Wellenlänge automatisch durch das Verfahren von Kristallen im OPO eingestellt werden. Die Einstellung der nächsten Wellenlänge erfolgte als eine Funktion der Zeit. So wurde die Wellenlänge z.B. alle 13 s um einen bestimmten Wert z.B. 0,5 nm erhöht. Die maximale Repetitionsrate des OPO-Systems ist im Vergleich zu der standardmäßig in der APLI verwendeten Repetitionsrate des Excimer-Lasers von 200 – 300 Hz deutlich geringer. Unter Verwendung der Standardeinstellungen des micrOTOFs für die Datenaufnahme bei der LC-MS-Kopplung (Summation von 10000 push pull Pulsen bei einer Frequenz von 20 kHz zu einem Massenspektrum entsprechend einer Spektrenrate von 2 Hz) bedeutet dies für die APLI, dass ein Einzelspektrum aus der Addition der während maximal 150 Laserschüssen gebildeten Ionen besteht. Hierbei wird mit jedem Laserschuss ein zunächst 8 ns breites Ionenpaket erzeugt, das auf dem Weg zwischen Ionenquelle und orthogonaler Beschleunigungsstufe eine Verbreiterung auf ca. 130 ms erfährt ^[226, 227]. Diese Verbreiterung

des Ionenpaketes führt bei den hohen Laserfrequenzen dazu, dass für das oa-TOF ein kontinuierlicher Ionenstrom, also eine kontinuierliche Ionenquelle, vorgetäuscht wird ^[226, 227]. Bei der Verwendung des OPOs hingegen würde ein Datenpunkt aus maximal fünf aufsummierten Laserschüssen bestehen, so dass hier die Schuss zu Schuss Varianz (bis zu 20 %) in Verbindung mit der nicht mehr ausreichend hohen Repetitionsrate zum Vortäuschen einer kontinuierlichen Ionenquelle zu einer großen Standardabweichung des Messsignals bei geringer Empfindlichkeit führen würde. Um aber eine möglichst geringe Standardabweichung und eine ausreichende Signalintensität zu erhalten, wurde eine Anzahl von 100 aufsummierten Laserschüssen als ausreichend angesehen. Für ein REMPI-Spektrum muss allerdings nicht nur bei einer einzelnen Wellenlänge gemessen werden. Es ist vielmehr für ein Spektrum notwendig, bei verschiedenen Wellenlängen zu messen (hier mit einer Auflösung von 0,1 bzw. 0,5 nm), die automatisch hintereinander abgescannt werden.

Im bisherigen Aufbau erfolgte die Datenaufnahme über die micrOTOF control Software in der Form, die für die Aufnahme von Daten von Chromatogrammen üblich ist. Es wurden die gezählten counts gegen die jeweilige Zeit, bei der das Massenspektrum aufgenommen wurde, aufgetragen. Diese Art der Auswertung würde dazu führen, dass die Zuordnung zwischen Wellenlänge und gemessenem Massenspektrum auf Basis der Messzeit erfolgt. Problematisch bei dieser Art der Zuordnung ist, dass hierbei die Zeit, in der die Kristalle im OPO verfahren werden müssen, nicht berücksichtigt wird. Diese Zeitspanne, in der ein Kristall im OPO verfahren wird, ist nicht in allen Fällen automatisch gleich lang. Hier bestünde selbst bei Berücksichtigung einer mittleren Verfahrzeit die Möglichkeit, dass sich in dem gemessenen und aufsummierten Spektrum Einzeldaten befinden, die bei zwei verschiedenen Wellenlängen gemessen wurden. Dies würde zu einer Verfälschung der Messergebnisse führen. Um zu gewährleisten, dass für einen Datenpunkt die Messung tatsächlich nur bei einer einzigen Wellenlänge erfolgt, wurde ein Eingriff in das Triggersystem des micrOTOFs vorgenommen. Die interne Uhr des Massenspektrometers wurde von der orthogonalen Beschleunigungsstufe getrennt, so dass das Massenspektrometer die Orthogonalbeschleunigung nicht mehr automatisch auslösen konnte und hier die Möglichkeit geschaffen wurde, das Massenspektrometer extern mittels TTL (Transistor-Transistor-Logik)-Signalen zu triggern.

Als Quelle für diese externen TTL-Signale wurde ein „counter“, der auf das Aufwärtszählen von 0 – 300000 eingestellt wurde, verwendet. Bei jedem Zählschritt wurde ein TTL-Puls an das Massenspektrometer abgegeben und damit genau eine Orthogonalbeschleunigung ausgelöst. Als Zeitbasis für den „counter“ wurde eine Uhr mit einer Frequenz von 30 kHz gewählt, so dass im Massenspektrometer eine Anzahl von 30000 Orthogonal-

beschleunigungen innerhalb einer Sekunde bzw. 300000 über einen Zeitraum von zehn Sekunden zu einem einzelnen Massenspektrum aufsummiert wurden. Diese Zeit der Summation entspricht genau den zehn Sekunden, die notwendig sind, um 100 Laserschüsse des OPO aufzusummieren. Es bestand hier also die Möglichkeit unter Verwendung des „counters“ Massenspektren über einen von „außen“ definierten Zeitraum aufzunehmen, nämlich während der Zeit, in der der „counter“ bis 300000 aufwärts zählt. Ansonsten erfolgen keine Orthogonalbeschleunigungspulse.

Dieser Zeitrahmen wurde vom OPO, oder genauer von der Bewegung der OPO-Kristalle, vorgegeben. Wenn die OPO-Kristalle eine vorgegebene Position und damit Wellenlänge erreicht hatten, wurde ein „start“ Signal an den „counter“ gegeben, der mit dem Zählvorgang und damit mit der Aufnahme von Massenspektren bis zum Zählerstand von 300000 begann. Ein „reset“ und erneutes „start“ Signal für den „counter“ erfolgte, nachdem die OPO-Kristalle automatisch auf die nächste zu messende Wellenlänge eingestellt waren.

Die nächste Wellenlänge wurde nach jeweils 13 Sekunden eingestellt, so dass hinreichend Zeit zur Verfügung stand, die benötigten 100 Laserschüsse aufzusummieren. Die langen Zeiträume, in denen an das Massenspektrometer keine Triggerpulse erfolgten (insbesondere beim Verfahren der OPO-Kristalle) führte dazu, dass die micrOTOF control Software eine Fehlermeldung des Digitizers anzeigte. Dies führte zum Abbruch der Messung, so dass an dieser Stelle ein Eingriff in die Software selbst erfolgen musste. In der Konfigurationsdatei für die Datenaufnahme wurde der maximale Setzwert für die Wartezeit des Digitizers auf 999999 μ s erhöht und damit das Auftreten der Fehlermeldung verhindert.

Durch diese Veränderungen am micrOTOF wurde es nun möglich, jeder Wellenlänge ein Massenspektrum mit einem genau definierten Anfang und Ende zuzuordnen. Des Weiteren wurde die Korrelation zwischen verwendeter Wellenlänge und Massenspektrum durch diesen Aufbau stark erleichtert, da nun jeweils ein Massenspektrum (als Datenpunkt) jeweils einer Wellenlänge zugeordnet ist und die aufwendige Zuordnung über die Zeit entfallen kann.

Die aus einem REMPI-Prozess resultierende Ionenausbeute kann sehr stark von der verwendeten Laserintensität abhängig sein (im Fall des 1+1 REMPI bis maximal quadratisch). Da es mit dem verwendeten OPO nicht möglich war, über den untersuchten Wellenlängenbereich eine konstante Laserleistung zu erhalten, war es notwendig, die Laserenergie während der Messung aufzunehmen, um anschließend das erhaltene REMPI-Spektrum mit der Laserleistung zu korrigieren. Zur Aufnahme der Laserleistung wurde hinter dem Austrittsfenster der APLI-Ionenquelle der Messkopf eines Laserleistungsmessgerätes positioniert, so dass diese während der gesamten Messung aufgezeichnet werden konnte.

Über einen Analogausgang des Messgerätes konnten die Messdaten ausgelesen und ebenfalls mit einem von Mönnikes erstellten LabVIEW-Programm mit einer Auflösung von 1 Hz gespeichert werden. Die Zuordnung der Laserleistung (Mittelwert über 5 Messwerte) zur jeweiligen Wellenlänge und damit zum REMPI-Spektrum erfolgte über die Messzeit.

Die Datenauswertung, also die Umsetzung der von der micROTOF control Software aufgezeichneten Daten, sowie die Korrektur dieser Daten mit der Laserleistung (s. Kap. 3.6.2.3) und die Ausgabe von xy-Daten für die grafische Darstellung des Spektrums erfolgten ebenfalls mit einem von Mönnikes erstellten LabVIEW-Programm.

Durch die dargestellten Erweiterungen und Modifikationen am bisherigen APLI-Aufbau war es nun möglich, REMPI-Spektren bei Atmosphärendruck unter APLI-ähnlichen Bedingungen aufzunehmen.

In Abbildung 76 ist der experimentelle Aufbau schematisch dargestellt.

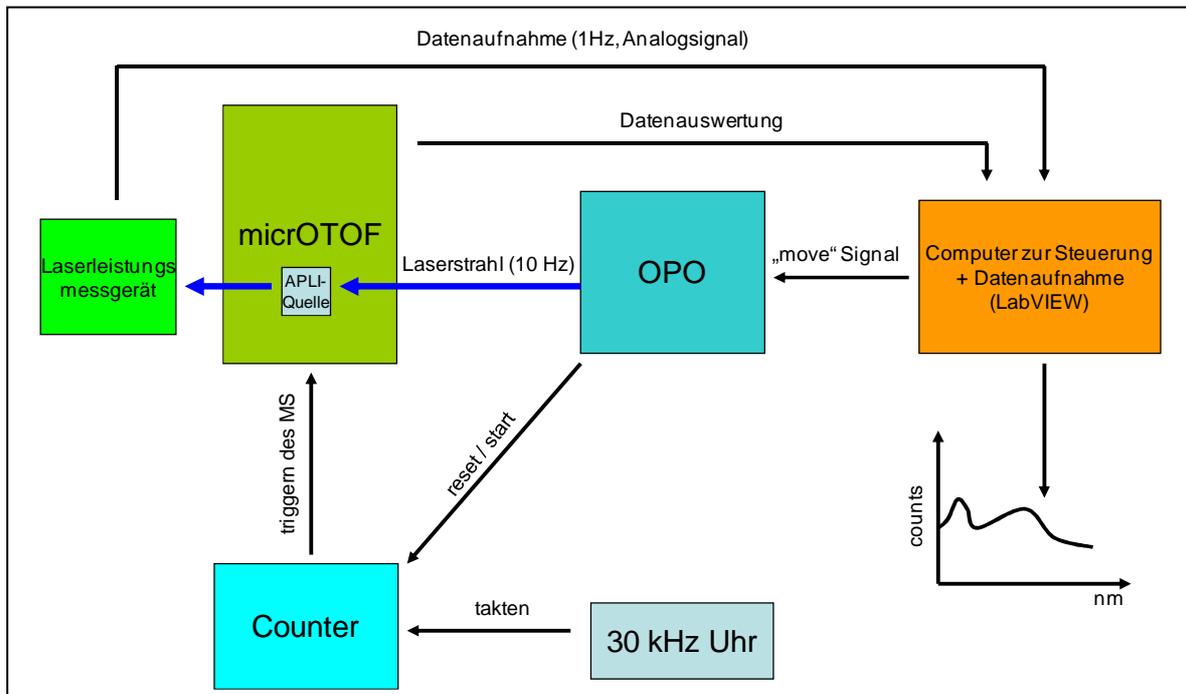


Abbildung 76: Schematischer Aufbau des AP-REMPI-Experimentes

Abbildung 77 zeigt das bereits mit der Laserleistung korrigierte REMPI-Spektrum von Anthracen.

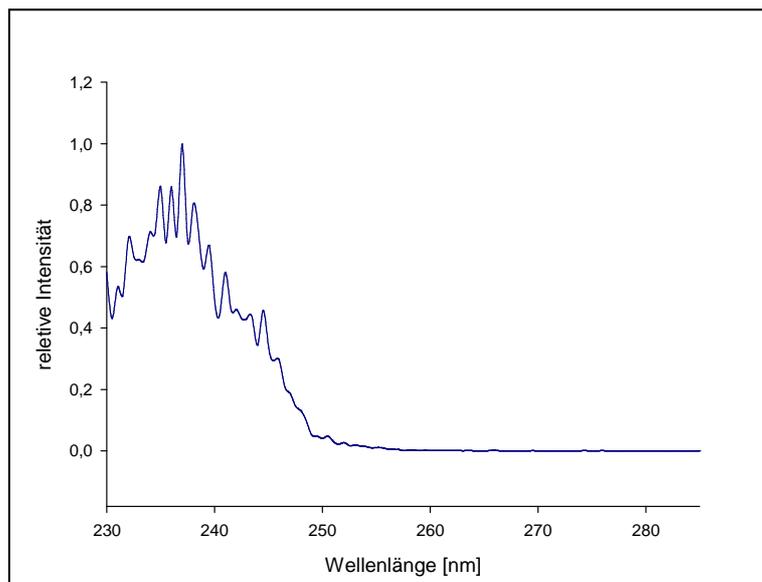


Abbildung 77: AP-REMPI-Spektrum von Anthracen

3.6.2.3 Korrektur der REMPI-Spektren mit der Laserleistung

Der Zusammenhang zwischen der Laserleistung und der Ionenausbeute eines REMPI-Prozesses wurde von Zakheim et al. ^[228] in einem kinetischen Modell beschrieben. Der Einfluss der Laserleistung kann bei einem 1+1 REMPI-Prozess maximal quadratisch und minimal gar nicht eingehen. Dies ist der Fall, wenn eine Sättigung bei einem Übergang auftritt.

Um den Einfluss der Laserleistung auf den REMPI-Prozess experimentell zu bestimmen, wurden die untersuchten Verbindungen bei einer Wellenlänge, aber verschiedener Laserleistung analysiert. Die dabei erhaltenen Messwerte wurden dann in einem log/log-Plot dargestellt. Aus der Steigung der erhaltenen Geraden ergibt sich ein Wert für den Einfluss der Laserleistung. Ein solcher log/log-Plot ist in Abbildung 78 zu sehen. Es ist allerdings auch möglich, dass bei dieser Darstellung kein linearer Zusammenhang auftritt (vgl. Abb. 79). Eine Erklärung dafür ist, dass im Bereich der verwendeten Leistungsdichte der Übergang zur Sättigung des ersten angeregten Zustandes erfolgt. Bei den hier verwendeten Energiedichten wird dies möglich, da die untersuchten aromatischen Verbindungen einen sehr hohen Absorptionsquerschnitt für UV-Licht besitzen. Ein solches nichtlineares Verhalten würde die spätere Interpretation der Spektren deutlich erschweren. Daher wurde im vorliegenden Experiment zur Untersuchung der Ionisationslabel im linearen Bereich des Einflusses der Laserleistung gearbeitet.

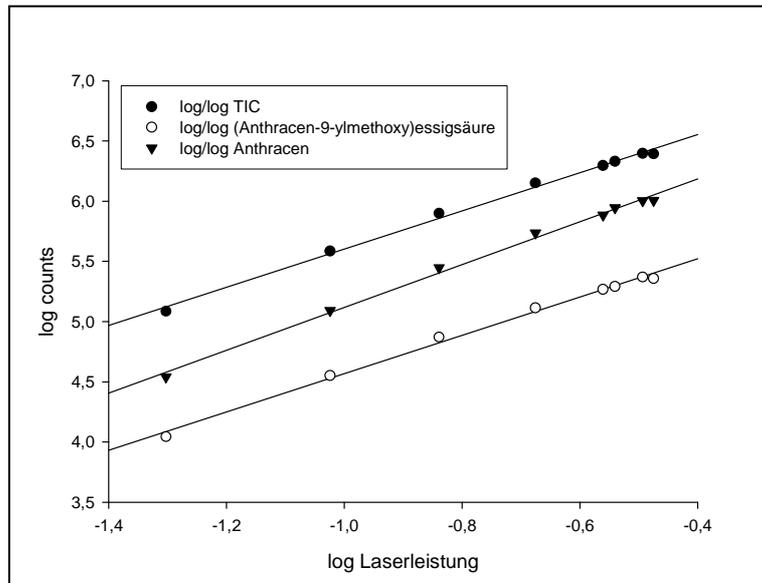


Abbildung 78: log/log-Plot, linearer Fall

Dies konnte dadurch erreicht werden, dass der in die APLI-Quelle eingekoppelte Laserstrahl mit einer Linse stark aufgeweitet wurde, so dass nur ein kleiner Teil (ca. 2,5 %) des Strahls für die Ionisation zur Verfügung stand.

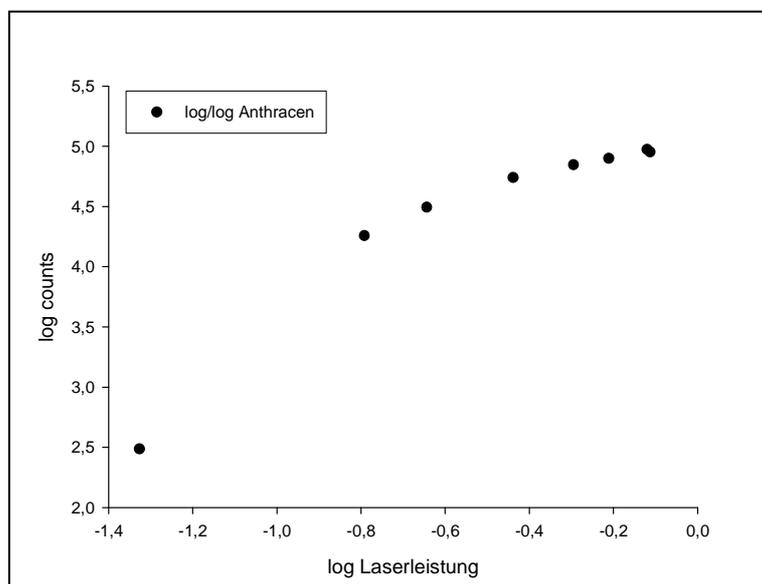


Abbildung 79: log/log-Plot, nicht linearer Fall

3.6.3 REMPI-Spektren derivatisierter Verbindungen

Der oben beschriebene experimentelle Aufbau wurde verwendet, um AP-REMPI-Spektren der (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure sowie der Ethanol-, Cholesterin- und n-Dodecylaminderivate aufzunehmen. In Abbildung 80 sind die mit der Laserleistung korrigierten REMPI-Spektren dieser Verbindungen dargestellt. Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren wurden die absoluten Intensitäten der Signale normiert.

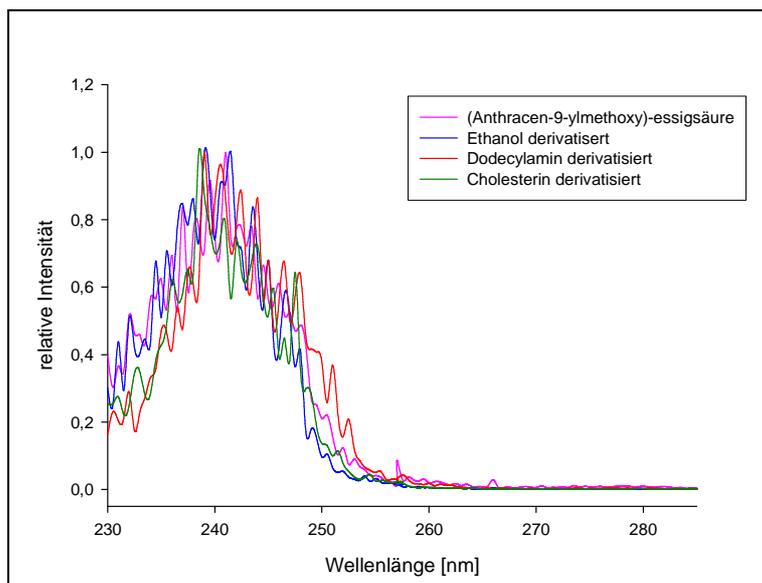


Abbildung 80: AP-REMPI-Spektren des APLI-Ionisationslabels und verschiedener Derivate

Der Vergleich der Spektren zeigt keinen deutlichen Unterschied, obwohl es sich um vier unterschiedliche Moleküle handelt, die nur in Form des Ionophors und des Spacers gleich sind. Die Übereinstimmung der REMPI-Spektren belegt, dass scheinbar keine Wechselwirkung zwischen Analyt und Ionophor auftritt, die ausreichend groß wäre, um den REMPI-Prozess zu beeinflussen. Eine tatsächliche Veränderung in der elektronischen Struktur, wie der Vergleich der REMPI-Spektren von Anthracen mit (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure zeigt, führt zu einer Verschiebung der Kante im REMPI-Spektrum (Abb. 81).

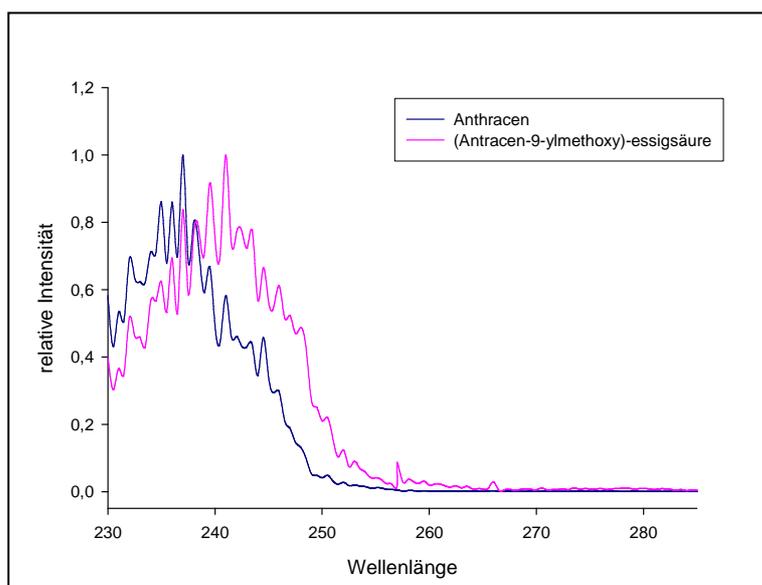


Abbildung 81: Vergleich der AP-REMPI-Spektren von Anthracen und (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure

Anhand der gemessenen REMPI-Spektren konnte gezeigt werden, dass der derivatisierte Analyt keinen starken Einfluss auf den Ionophor ausübt und es daher möglich sein sollte, für verschiedene Analyten eine nahezu identische Ionisierungsausbeute zu erhalten.

3.6.4 APLI-(TOF)MS-Analyse von technischen Polyethylenglycolen und Pflanzenölen nach Derivatisierung

Um die praktische Anwendbarkeit der hergestellten Ionisationslabel und der Derivatisierungsreaktionen zu zeigen, wurden zwei verschiedene Arten von Proben untersucht. Zum einen wurden die Verteilungsmuster in drei technischen Polyethylenglycol-Gemischen und zum anderen die in zwei verschiedenen Pflanzenölen vorliegenden freien Fettsäuren bestimmt.

Diese Proben wurden ausgewählt, um zwei verschiedene Aspekte bei der Anwendung von Ionisationslabeln zu zeigen: Zum einen die korrekte Wiedergabe der Mengenverhältnisse sehr ähnlicher Substanzen in einer Probe und zum anderen die selektive Bestimmung von Analyten in einer komplexen Matrix. Polyethylenglycole werden durch die alkalische Ringöffnungspolymerisation von Ethylenoxid hergestellt, so dass für das gebildete Polymer eine von den Reaktionsbedingungen abhängige Verteilung um eine mittlere Anzahl an Ethylenoxidwiederholeinheiten erhalten wird ^[229]. Zur Analyse wurden ein reines Polyethylenglycol mit einem mittleren Molekulargewicht von 1000 Da (PEG 1000),

Polyethylenglycol mit einem mittleren Molekulargewicht von 1000 Da und einem Methylenkapping (MPEG 1000) sowie Brij[®] 72, ein nichtionisches Tensid bestehend aus einem ethoxylierten Fettalkohol (1-Octadecanol) mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von $n = 2$ eingesetzt ^[230]. Diese Gemische wurden nach Derivatisierung per Direktinfusion injiziert und mittels APLI-(TOF)MS (Abb. 82 - 84) analysiert. Brij[®] 72 wurde zum Vergleich zusätzlich mittels MALDI-(TOF)MS untersucht (Abb. 85).

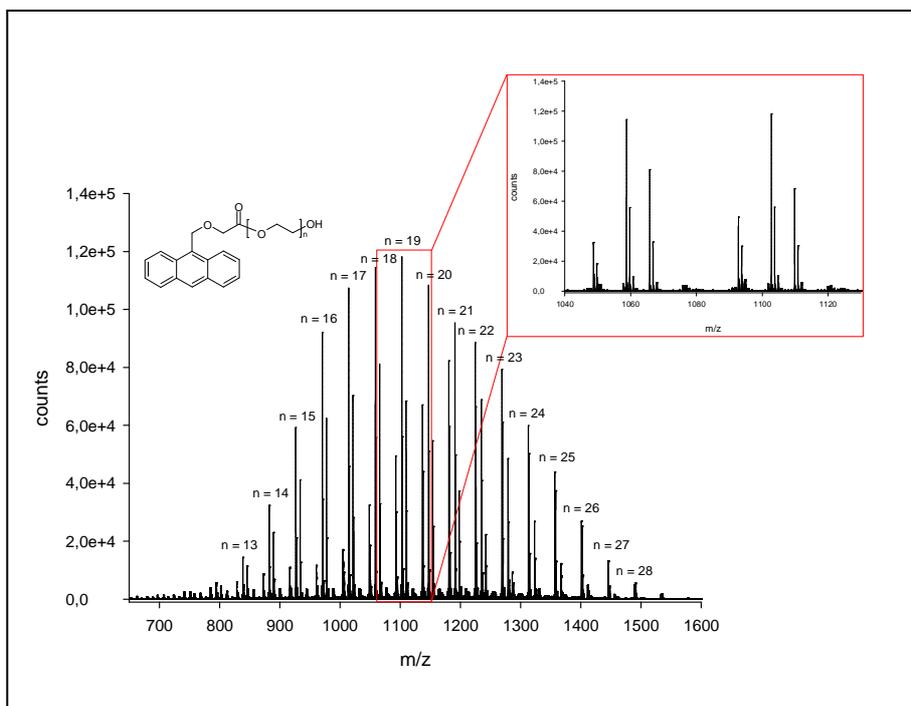


Abbildung 82: APLI-(TOF)MS-Analyse von PEG 1000 nach Derivatisierung (s. Kap. 5.3.5)

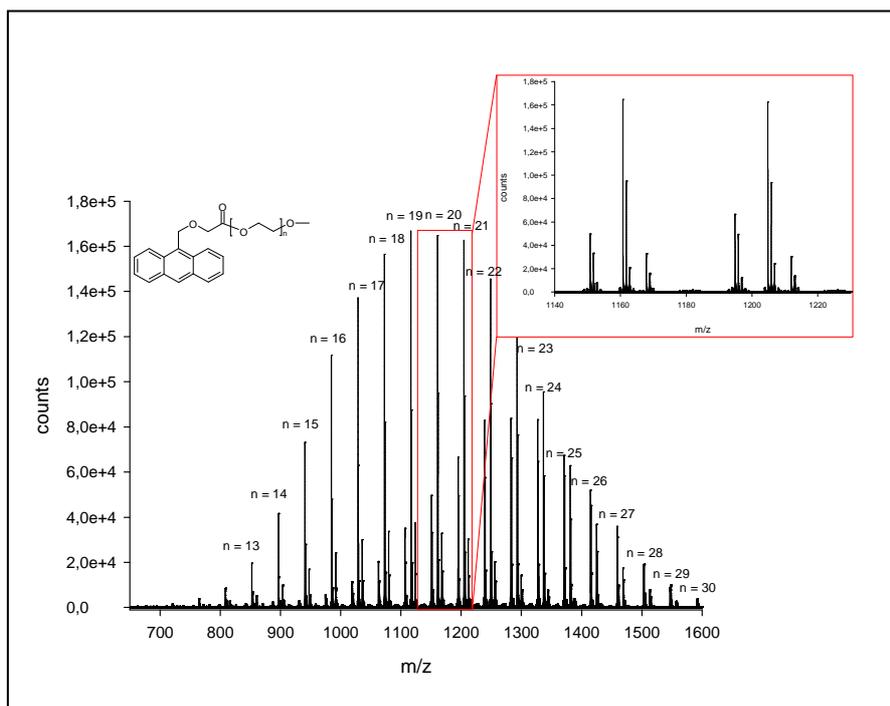


Abbildung 83: APLI-(TOF)MS-Analyse von MPEG 1000 nach Derivatisierung (s. Kap. 5.3.5)

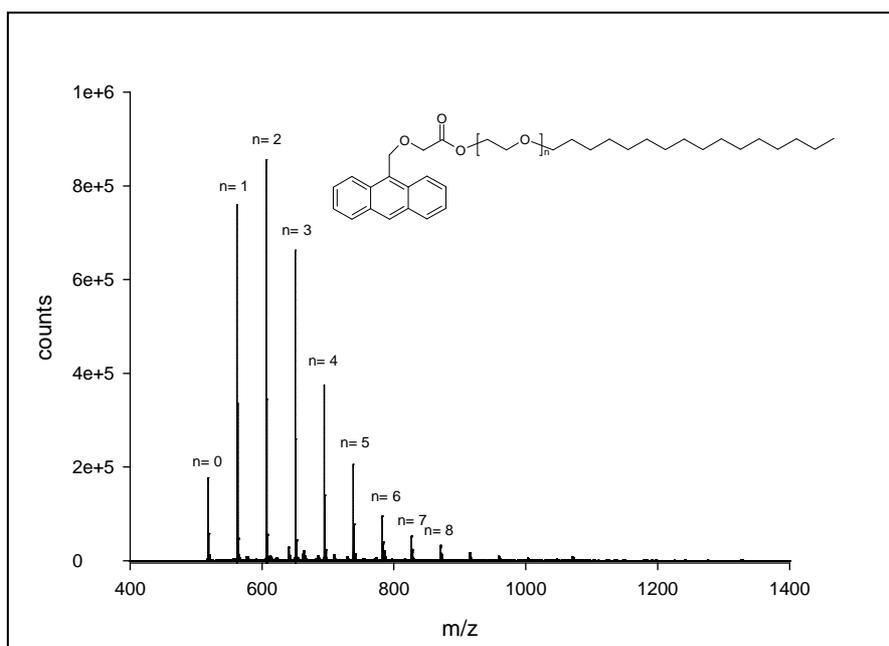


Abbildung 84: APLI-(TOF)MS-Analyse von Brij® 72 nach Derivatisierung (s. Kap. 5.3.5)

Wie in den Massenspektren (Abb. 82 und 83) gezeigt, wurde sowohl für das PEG 1000 als auch das MPEG 1000 eine Verteilung gemessen, die der erwarteten Gaußverteilung ^[231 - 233] weitgehend entspricht, während für das Brij® 72 sowohl mit APLI- als auch mit MALDI-(TOF)MS (Abb. 84 und 85) eher eine Schulz-Flory-Verteilung gemessen wurde, wie sie für kurzkettinge Polymere zu erwarten ist ^[234 - 236].

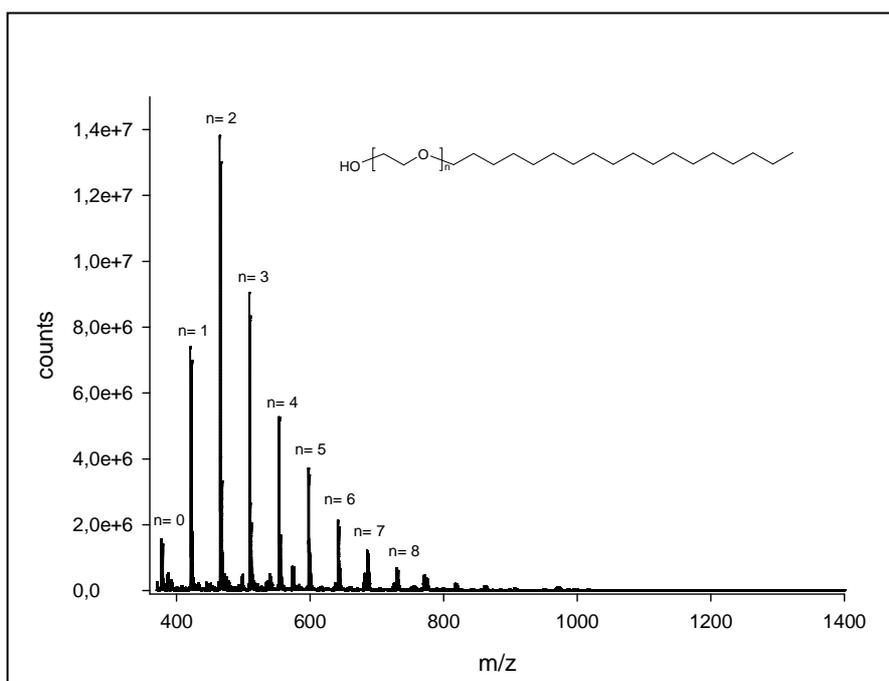


Abbildung 85: MALDI-(TOF)MS-Analyse von Brij® 72 mit 2,5-Dihydroxybenzoesäure als Matrix und Silbertrifluoracetat als Kationisierungsreagenz (s. Kap. 5.4.4)

Durch die Verwendung der APLI-Ionisationslabel war es möglich, die Verteilung dieser Polymere zu analysieren und insofern korrekt wiederzugeben, als dass die erwarteten Verteilungsfunktionen erhalten wurden. Im Fall des PEG 1000 und des MPEG 1000 zeigt das Massenspektrum jedoch nicht nur die erwartete Verteilung der Polyethylenglycole, sondern noch zwei weitere Verteilungen, deren Messwerte sich jeweils um 44 Da unterscheiden. Diese Verteilungen basieren vermutlich nicht auf Fragmenten. Es handelt sich hier wahrscheinlich auch um Polyethylenglycole, die in den technischen Gemischen vorliegen. Sie weisen jedoch noch weitere Strukturelemente auf, die in der vorliegenden Arbeit nicht ermittelt werden konnten.

Bei der Bestimmung der freien Fettsäuren in Pflanzenölen sollte gezeigt werden, dass es möglich ist, durch die Verwendung von APLI-Ionisationslabeln eine Selektivität bezüglich einzelner Komponenten in einer komplexen Matrix zu erreichen. Olivenöl besteht im Wesentlichen aus Triglyceriden, aber auch aus einer Vielzahl von Nebenkomponten ^[237]. Sowohl die Triglyceride als auch die Fettsäuren können mittels APLI nicht direkt ionisiert werden. Werden die Fettsäuren mit 9-Anthracenmethanol verestert, ist es möglich, diese als Fettsäureester des Anthracenmethanols mittels APLI-(TOF)MS nachzuweisen und auf diese Weise eine Selektivität zu erreichen. Die Quantifizierung der freien Fettsäuren im Pflanzenöl sollte mit Heptadecansäure als internem Standard, der zusammen mit den freien Säuren in der Pflanzenölmatrix derivatisiert wird, erfolgen.

Um die Annahme zu überprüfen, dass bei sehr ähnlichen Substanzen (z.B. Substanzen einer homologen Reihe) aufgrund der gleichen Ionisationseffizienz der Derivate eine gleiche Anzahl an counts im Massenspektrum detektiert wird, wurde eine Fettsäuremischung derivatisiert und analysiert. Abweichend von den im Sonnenblumen- und Olivenöl auftretenden Fettsäuren ^[238] wurde zunächst eine äquimolare Mischung aus Palmitinsäure, Heptadecansäure und Stearinsäure untersucht. Dabei wurden im Massenspektrum für Palmitinsäure 155513, für Heptadecansäure 150620 und für Octadecansäure 153296 counts detektiert (Mittelwert = 153343 ± 2493 , 1,6 % relative Standardabweichung). An diesem Beispiel wird deutlich, dass die direkte Quantifizierung aufgrund der gleichen Derivatisierungsausbeuten und Ionisationseffizienz der Derivate möglich ist. Daher wurde eine Probe von Sonnenblumen- und Olivenöl jeweils mit Heptadecansäure als internem Standard (0,5 % (m/m) bei Sonnenblumenöl und 0,1 % (m/m) bei Olivenöl) versetzt und mit 9-Anthracenmethanol unter Dicyclohexylcarbodiimid-Vermittlung sowie 4-DMAP als Hilfsbase derivatisiert. Das durch Direktinfusion der verdünnten Derivatisierungslösung nach APLI-(TOF)MS-Analyse erhaltene Massenspektrum ist in Abbildung 86 gezeigt.

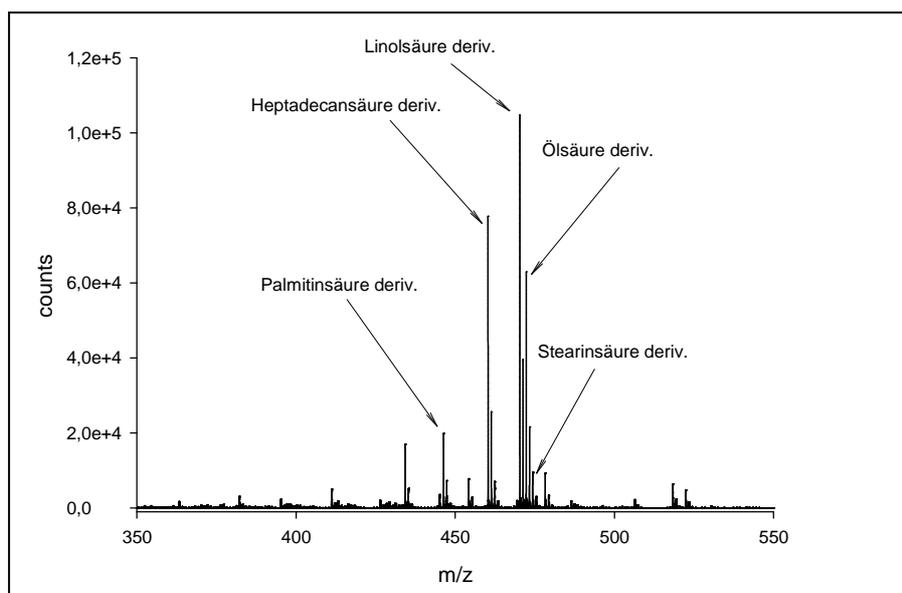


Abbildung 86: APLI-(TOF)MS-Analyse von Sonnenblumenöl nach Aufstockung mit 0,5 % (m/m) Heptadecansäure und Derivatisierung mit 9-Anthracenmethanol (s. Kap. 5.3.6)

Wie im gezeigten Massenspektrum erkennbar, sind im Wesentlichen nur die Signale zu erkennen, die zu den im Sonnenblumenöl vorhandenen freien Fettsäuren (Palmitinsäure, Linolsäure, Ölsäure, Stearinsäure) sowie dem Standard gehören. Über den zugesetzten internen Standard konnte der Gehalt an freien Fettsäuren im jeweiligen Öl bestimmt werden. Um die mittels APLI-(TOF)MS ermittelten Werte zu verifizieren, wurde für beide Pflanzenöle die Gesamtacidität nach DIN EN ISO 660 ^[239] als Vergleichswert bestimmt (vgl. Tabelle 8).

Fettsäure:	Gehalt an freier Säure [%]			
	Olivenöl extra nativ		Sonnenblumenöl	
	APLI-(TOF)MS	DIN EN ISO 660	APLI-(TOF)MS	DIN EN ISO 660
Palmitinsäure	0,06	n.b.	0,14	n.b.
Linolsäure	0,02	n.b.	0,80	n.b.
Ölsäure	0,12	n.b.	0,40	n.b.
Stearinsäure	0,01	n.b.	0,04	n.b.
Gesamtsäure-	0,21	0,23	1,37	1,47
konzentration				

n.b.: nicht bestimmbar

Tabelle 8: Bestimmung des prozentualen Gehaltes an freien Fettsäuren in Pflanzenölen

Anhand der auf unabhängigen Wegen durchgeführten Quantifizierung konnte die selektive Derivatisierung und Ionisation bestimmter Bestandteile einer Probe unter Verwendung der APLI-Ionisationslabel gezeigt werden. Eine Anwendungsmöglichkeit dieser Methode besteht für Fragestellungen, bei denen eine Unterschusskomponente in einer chemisch unterscheidbaren Matrix analysiert werden soll, ohne dass die Matrix zu unerwünschten Störungen bei der Ionisation (Matrixeffekte) oder zu Belastungen des Massenspektrometers führt. Sie ist auch dort von Vorteil, wo aufgrund der chemischen Ähnlichkeit der Analyten eine nahezu identische Derivatisierungsausbeute vorausgesetzt werden kann und somit eine direkte Quantifizierung ohne die Bestimmung von Responsefaktoren erfolgen soll.

3.6.5 Aufbau und Anwendung von Ionisationslabels in der GC-APLI-(TOF)MS

Die große Empfindlichkeit mit der polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe mittels GC-APLI-(TOF)MS nachgewiesen werden können in Verbindung mit der im Vergleich zur HPLC höheren Trennleistung macht die Verwendung eines Ionisationslabels für die GC zu einem interessanten Konzept.

Beim Design eines solchen Ionisationslabels steht neben den bereits für die LC-APLI-(TOF)MS dargestellten Aspekten noch die GC-Gängigkeit und damit die Molekülmasse im Vordergrund. Dementsprechend muss es ein Ziel sein, ein möglichst geringes Molekulargewicht für das Label selbst anzustreben, um die analysierbaren Analyten nicht auf Moleküle mit kleinem Molekulargewicht zu beschränken.

Für den Ionophor des Ionisationslabels kommen somit insbesondere Systeme in Frage, die nur aus einem aromatischen Ring bestehen. Einkernige aromatische Systeme besitzen im Unterschied zu den PAKs eine geringere Zustandsdichte, so dass die verwendete Wellenlänge des Ionisationslasers einen großen Einfluss auf die Ionisationsausbeute haben kann. Für die Auswahl eines geeigneten Benzolderivates mit einer möglichst hohen Ionisationsausbeute bei einer Festfrequenzlaserwellenlänge wurden erneut REMPI-Spektren aufgenommen. In den Abbildungen 87 - 89 sind die mittels Medium Pressure Laser Ionization (MPLI) gemessenen REMPI-Spektren von Toluol, p-Xylol und 4-Fluortoluol dargestellt ^[225].

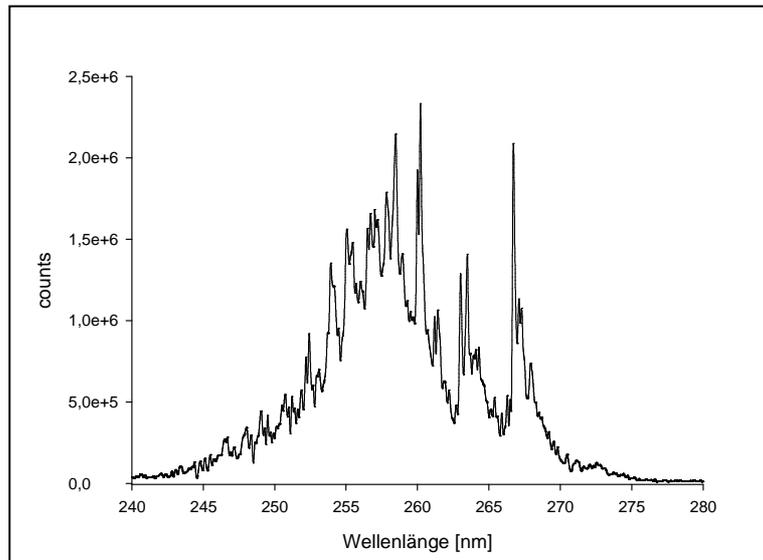


Abbildung 87: MPLI-REMPI-Spektrum von Toluol

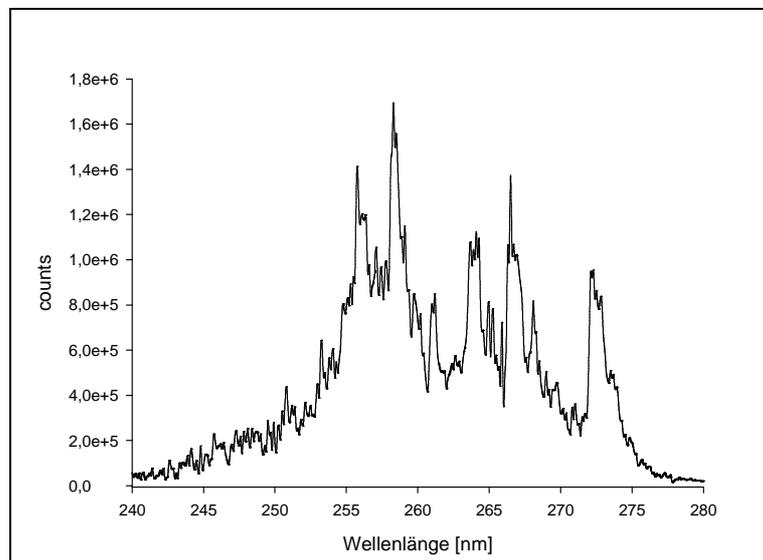


Abbildung 88: MPLI-REMPI-Spektrum von p-Xylol

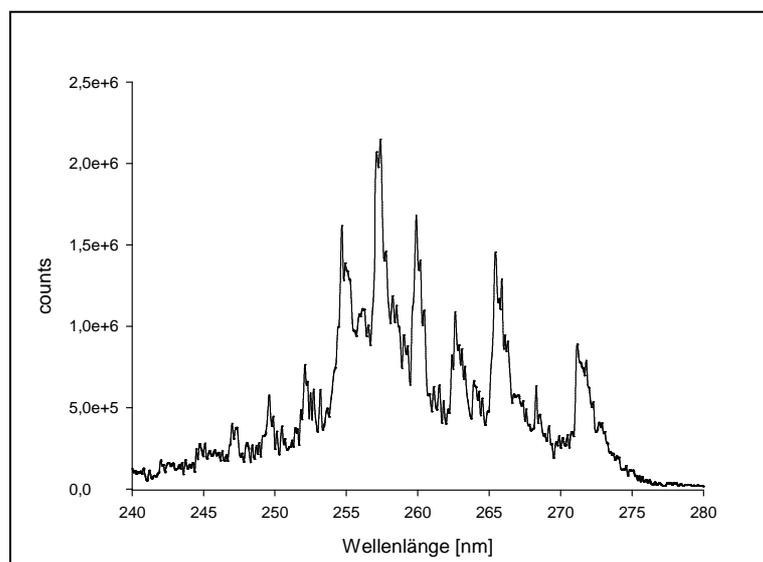


Abbildung 89: MPLI-REMPI-Spektrum von 4-Fluortoluol

In allen drei Spektren ist eine Bande im Bereich um 266 nm, also der vierten Harmonischen eines Nd-YAG Lasers, zu erkennen. Im Fall des 4-Fluortoluols befindet sich diese Bande genau auf der Festfrequenzlaserwellenlänge von 266 nm.

Bei diesen drei und auch bei anderen Benzolderivaten ist eine gute REMPI-Ionenausbeute eher im Wellenlängenbereich um 266 nm zu erwarten als bei 248 nm. Bei 248 nm ist die REMPI-Ionenausbeute bei einem PAK wie Anthracen gegenüber 4-Fluortoluol etwa um einen Faktor 500 erhöht.

Um ein Ionisationslabel auf Basis des 4-Fluortoluols aufzubauen, musste der Ionophor in ein vollständiges Label eingebunden werden. Ausgegangen wurde von der Vorstellung, dass weder die Erweiterung des 4-Fluortoluols um eine funktionelle Gruppe noch die spätere kovalente Anbindung eines Analyten die spektroskopischen Eigenschaften des Ionophors verändern würde. Sollte dies der Fall sein und etwa eine Blauverschiebung im REMPI-Spektrum auftreten, so bestünde durchaus die Möglichkeit, einen anderen Ionophor, zum Beispiel auf Basis des p-Xylols, zu wählen. Die Einbindung des 4-Fluortoluols in ein vollständiges Ionisationslabel kann dabei je nach gewünschter Derivatisierungsreaktion und Analyt erfolgen. Als einfaches Beispiel sollte zunächst eine Alkoholmischung derivatisiert und analysiert werden. Hierzu wurde das 4-Fluortoluol um eine Carboxylgruppe zur 4-Fluorphenylelessigsäure erweitert und mit der weiter oben beschriebenen Derivatisierungsreaktion unter Dicyclohexylcarbodiimid-Aktivierung in die jeweiligen Ester der Alkohole überführt. Da ein Festfrequenzlaser mit einer Wellenlänge von 266 nm während der Messungen nicht zur Verfügung stand, wurden alle im Folgenden beschriebenen Messungen mit einem KrF* Excimer-Laser bei 248 nm durchgeführt. In Abbildung 90 ist das

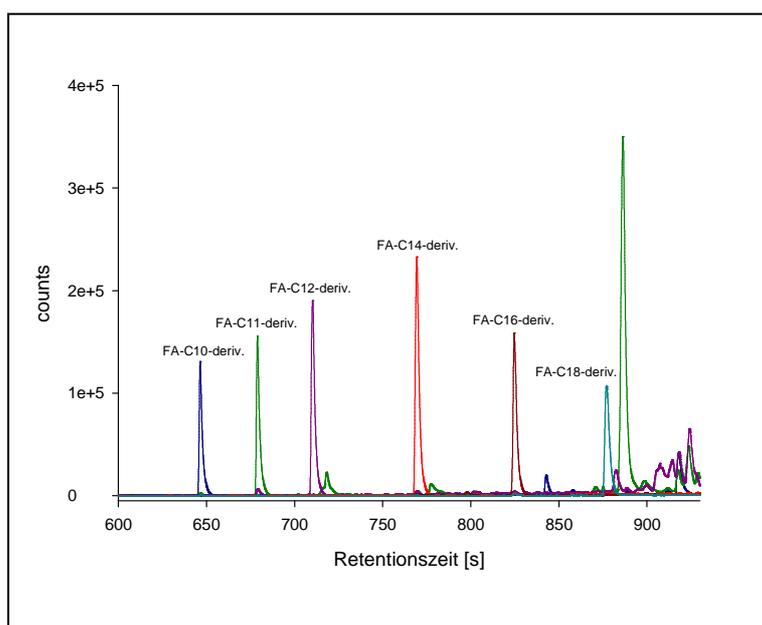


Abbildung 90: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Fettalkoholmischung nach Derivatisierung mit 4-Fluorphenylelessigsäure (experimentelle Parameter s. Kap. 5.4.1.7)

Chromatogramm (Massenspuren) der GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Mischung von Fettalkoholen (Decanol, Undecanol, Dodecanol, Tetradecanol, Hexadecanol und Octadecanol), die mit 4-Fluorphenyllessigsäure derivatisiert wurden, dargestellt.

Im gezeigten Chromatogramm ist deutlich zu erkennen, dass die sechs derivatisierten Alkohole mittels GC getrennt werden konnten. Ihr Nachweis erfolgte massenspektrometrisch als Radikalkation. Damit konnte das Konzept, das bereits erfolgreich in der LC eingesetzt wurde, nun unter Verwendung eines „kleinen“ Ionisationslabels auf die GC übertragen werden.

3.6.5.1 Untersuchung eines technischen Fettalkoholgemisches unter Verwendung von Ionisationslabeln mittels GC-APLI-(TOF)MS

Fettalkohole sind wichtige Ausgangsstoffe für die Herstellung von tensidischen Komponenten, die etwa in Wasch- und Pflegemitteln eingesetzt werden. Ein Verfahren zur Herstellung von Fettalkoholen basiert auf nachwachsenden Rohstoffen. Hierbei werden pflanzliche Fette zunächst in die jeweiligen Fettsäuremethylester überführt und diese anschließend mit Wasserstoff katalytisch zum Fettalkohol reduziert^[240]. Die Trennung des Fettalkoholgemisches erfolgt durch Destillation. Ein überwachtetes Qualitätskriterium bei der Produktion von Fettalkoholen ist der Gehalt an freier Fettsäure. Dieser Gehalt ist nach erfolgter Reduktion ein Maß für die oxidative Belastung der Fettalkohole während der Produktion und danach. Er wird oftmals als Summenparameter nach DIN EN ISO 660^[239] in Form der Säurezahl bestimmt^[241]. Eine Einzelkomponentenanalytik, also die Detektion einzelner Fettsäuren, ist mit diesem Verfahren nicht möglich. Problematisch bei der Untersuchung eines solchen Fettalkoholgemisches mittels GC-FID oder GC-MS ist, dass sich eine Nebenkomponente im Subprozentbereich nur schwer analysieren lässt. Der Fettalkohol als Hauptkomponente kann zu einer Diskriminierung der Fettsäuren beispielsweise bei der Verdampfung im Injektor oder zur Sättigung des Detektors führen. Für die Integration in den Produktionsprozess in Form einer „at line“ Anbindung kommt eine aufwendige Probenvorbereitung (z.B. Extraktion, Anreicherung, Analyse) aus zeitlicher Sicht nicht in Frage, so dass hier das Konzept der APLI-Ionisationslabel Anwendung finden sollte. Durch eine geeignete Derivatisierungsreaktion kann die unterschüssige Säure im Fettalkoholgemisch mit einem Ionisationslabel derivatisiert und dann selektiv mit der APLI ionisiert werden. Fettalkohole stören die Analyse nicht, da diese mittels APLI nicht direkt ionisierbar sind. Um die generelle Anwendbarkeit dieses Konzeptes auf eine solche Fragestellung hin zu

überprüfen, wurde das technische Fettalkoholgemisch „Lorol Spezial“ der Firma Cognis bezüglich der Alkohole und der enthaltenen Säure untersucht.

Informationen über das Fettalkoholgemisch können dabei dem in Tabelle 9 gezeigten Datenblatt entnommen werden.

Spezifikation	Methode	Spezifikationsbereich
Säurezahl	ISO 660	0 - 0,1
Verseifungszahl	ISO 3657	0 - 0,5
OH-Zahl	DGF C-V 17a	285 - 293
Wassergehalt	ISO 760	0 - 0,1
Kettenlängenverteilung [%]	Gaschromatographie	
C 10 FA		0 - 2
C 12 FA		70 - 75
C 14 FA		24 - 30
C 16 FA		0 - 2

Tabelle 9: Datenblatt von Lorol Spezial

Zunächst wurden die in der Probe enthaltenen Fettalkohole mit 4-Fluorphenylelessigsäure derivatisiert und anschließend mittels GC-APLI-(TOF)MS analysiert. In Abbildung 91 ist das erhaltene Chromatogramm abgebildet.

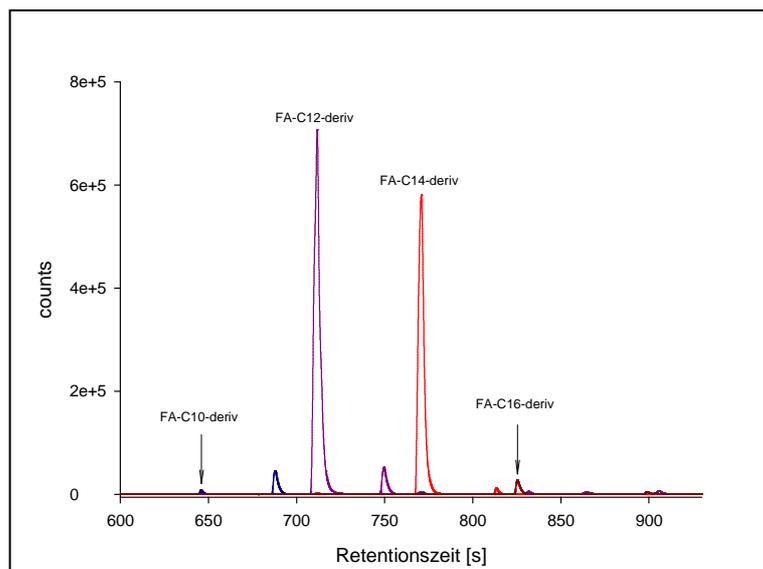


Abbildung 91: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse von Lorol Spezial nach Derivatisierung mit 4-Fluorphenylelessigsäure (experimentelle Parameter s. Kap. 5.3.8 und 5.4.1.7)

Wie erwartet, sind die Signale der als Hauptkomponenten vorliegenden Alkohole (Dodecanol und Tetradecanol), aber auch die der Nebenkomponten Decanol und Hexadecanol zu erkennen. Demnach ist es mit dem verwendeten Ionisationslabel möglich, die Fettalkohole in diesem technischen Gemisch in die Ester der 4-Fluorphenylessigsäure zu überführen. Die in der Spezifikation (Tab. 9) angegebenen Gehalte der Alkohole werden weitestgehend richtig wiedergegeben.

Neben den Alkoholen sollten auch die Fettsäuren im Fettalkoholgemisch analysiert werden. Hierzu musste unter Berücksichtigung der Alkoholmatrix eine geeignete Derivatisierungsreaktion ausgewählt werden, bei der die Alkohole den Reaktionsablauf nicht stören und es nicht zur unerwünschten Bildung von Estern der Fettalkohole kam. Als mögliche Derivatisierungsreaktion wurde zunächst die Umsetzung mit einem Diazoalkan untersucht (Abb. 92).

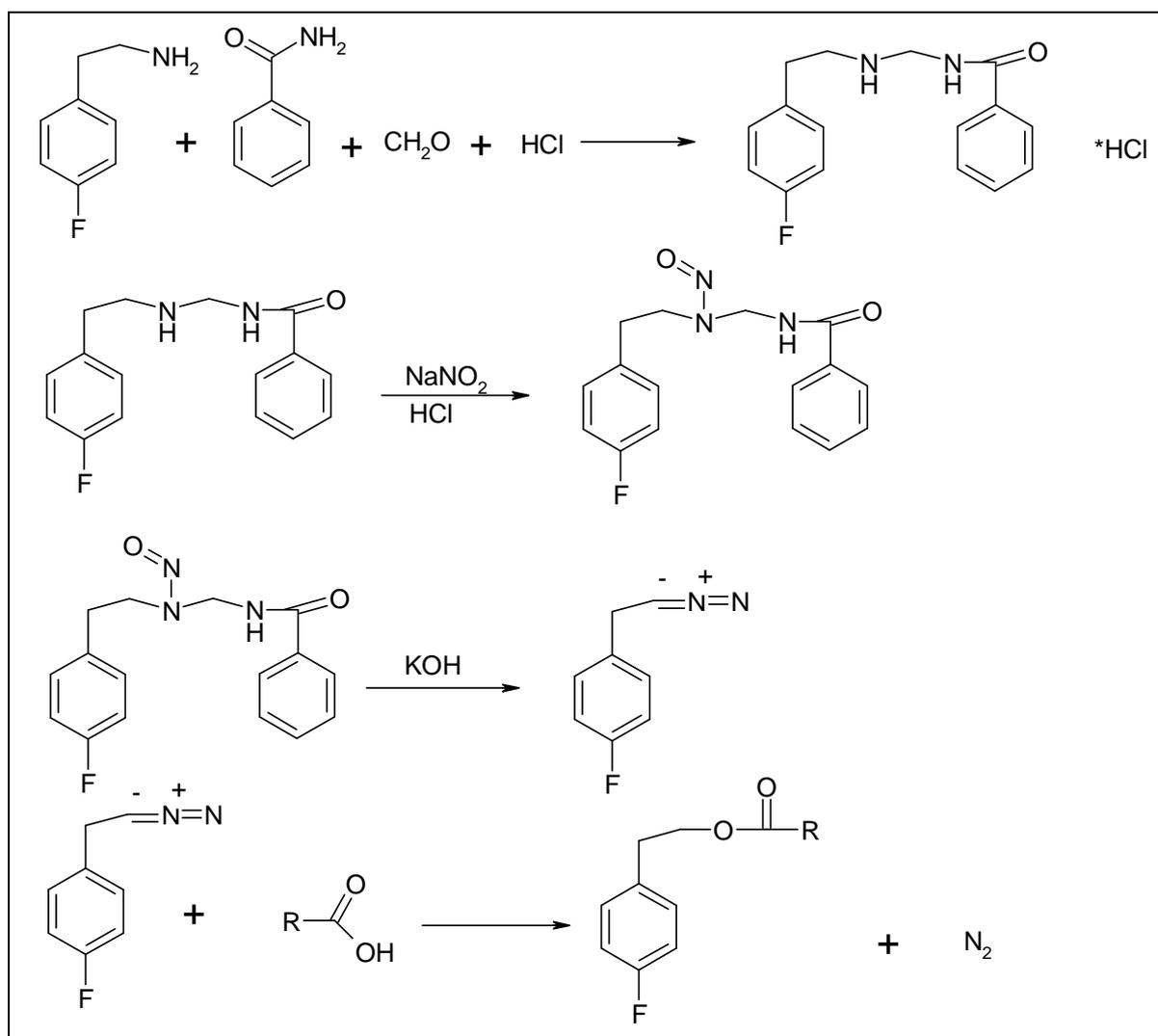


Abbildung 92: Darstellung eines Diazoalkanderivates und anschließende Derivatisierung von Fettsäuren ^[242, 243]

Analog zum Diazomethan, mit dem Derivatisierungsreaktionen in Methanol durchgeführt werden können, wobei das Methanol sogar katalytisch auf die Veresterungsreaktion wirkt^[244], sollte unter Stickstofffreisetzung der jeweilige Ester der Fettsäuren gebildet werden. Ausgehend von 4-Fluorphenethylamin wurde zunächst, wie in Abbildung 92 dargestellt, eine geeignete Verbindung (N-{N-Nitroso[2-(4-Fluorphenyl)-ethylamino]-methyl}benzamid) für die Freisetzung des Diazoalkans hergestellt^[242, 243]. Diese wurde mit KOH schließlich in das Diazoalkan überführt.

Mit dem freigesetzten Diazoalkan (vgl. Abb. 92), sowohl dem 2-(4-Fluorphenyl)diazoethan als auch dem 2-Phenyldiazoethan, wurden verschiedene Standardverbindungen wie Palmitinsäure und Essigsäure umgesetzt. Entgegen der Erwartung konnte für keine der untersuchten Standardverbindungen die erwartete Masse des jeweiligen Derivates mittels APLI-(TOF)MS nachgewiesen werden. An dieser Stelle waren zwei Erklärungen möglich: i) Die Derivatisierungsreaktion verläuft nicht in der erwarteten Art und Weise und der Ester wird gar nicht gebildet oder ii) die Derivatisierungsreaktion verläuft wie erwartet, aber das gebildete Produkt konnte nicht mittels APLI-(TOF)MS (zumindest in der untersuchten Konzentration (100 μ M)) nachgewiesen werden. Um eine der beiden Möglichkeiten zu verifizieren, war die Untersuchung einer reinen Standardverbindung (Ester) notwendig. Da das 4-Fluorphenethylacetat nicht als Standard verfügbar war, wurde stattdessen das strukturverwandte Phenethylacetat verwendet. Obwohl sich beide Verbindungen vermutlich in ihren spektroskopischen Eigenschaften unterscheiden, sollte dieser Unterschied erst bei Verwendung eines Lasers mit einer Wellenlänge von 266 nm ins Gewicht fallen. Bei der Verwendung Excimer-Lasers (248 nm) sind in beiden Fällen keine optimalen spektroskopischen Voraussetzungen gegeben (vgl. Abb. 87, 89).

In einer Messreihe wurde das Phenethylacetat in verschiedenen Konzentrationen bis maximal 100 μ M mittels GC-APLI-(TOF)MS analysiert. Eine derart hohe Konzentration war notwendig, um überhaupt ein Signal zu erhalten, welches dem Phenethylacetat zugeordnet werden konnte. Entgegen der Erwartung wurde das Phenethylacetat nicht als Radikalkation nachgewiesen. Das beobachtete Signal bei $m/z = 163$ entspricht dem $[M-H]^+$ -Ion des Phenethylacetates. Als strukturverwandte Verbindung wurde ebenfalls Benzylacetat mit einer Konzentration von 100 μ M mittels GC-APLI-(TOF)MS analysiert. Damit sollte eine möglicherweise ungünstige Spacerlänge beim Phenethylacetat ausgeschlossen werden, durch die eine bevorzugte Fragmentierung zum Styrol hin erfolgen kann. Bei der GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Mischung von Phenethylacetat und Benzylacetat (je 100 μ M) wurde das Phenethylacetat wieder als $[M-H]^+$ detektiert, während für das Benzylacetat ein $[M+H]^+$ -

Signal erhalten wurde. Für die geringe Empfindlichkeit, mit der beide Acetate nachgewiesen wurden, scheinen Folgereaktionen des primär gebildeten Radikalkations unter den Bedingungen in der Atmosphärendruckquelle verantwortlich zu sein. In der MPLI-MS konnte für beide Verbindungen das Radikalkation detektiert werden. Toluol und 4-Fluortoluol, sowie die mittels 4-Fluorphenyllessigsäure dargestellten Derivate waren in einer deutlich geringeren Konzentration in der APLI-MS als Radikalkation nachweisbar. Im Bezug auf die Derivatisierung der im „Lorol Spezial“ vorhandenen Fettsäuren mit 2-(4-Fluorphenyl)diazoethan bedeutet dies, dass die gewünschten Produkte durchaus gebildet wurden, diese aber nicht empfindlich genug mittels GC-APLI-(TOF)MS nachgewiesen werden konnten. Daher musste für die Derivatisierung der Fettsäuren ein anderes Derivatisierungskonzept gefunden werden.

In diesem zweiten Konzept sollte der Ionophor ebenfalls auf dem 4-Fluortoluol basieren. Daher musste eine Derivatisierungsreaktion verwendet werden, die auch in der Alkoholmatrix der Probe die Bildung eines Fettsäurederivates zulässt. Da die Bildung eines Esters aufgrund der oben beschriebenen Probleme nicht mehr in Frage kam, wurde die Bildung des Amids mit 4-Fluorphenethylamin ausgewählt. Bei der Umsetzung der Fettsäuren wurde erneut auf die Dicyclohexylcarbodiimid-Aktivierung zurückgegriffen (Abb. 73). Unter geeigneten Reaktionsbedingungen war es möglich, diese Reaktion in einer Alkoholmatrix durchzuführen. Hierbei wurde die im Vergleich zum Alkohol größere Nucleophilie des Amins ausgenutzt, durch die nur das Amin in der Lage ist mit dem intermediär gebildeten Fettsäure-1-benzotriazolester zum Amid zu reagieren, nicht aber der Alkohol unter Bildung eines Esters. In Abbildung 93 ist das mittels GC-APLI-(TOF)MS erhaltene Chromatogramm der Analyse einer Mischung von Pentadecansäure, Hexadecansäure und Heptadecansäure in Undecanol als Alkoholmatrix nach erfolgter Derivatisierung mit 4-Fluorphenethylamin gezeigt.

Alle drei Fettsäuren konnten unter den gewählten Bedingungen in das jeweilige Amid überführt werden. Aufgrund der hohen Gasphasenbasizität wurden die Amide jedoch nicht als Radikalkationen, sondern als Quasimoleküle $[M+H]^+$ detektiert.

Im Anschluss an die erfolgreiche Analyse der Fettsäurestandardmischung wurde das technische Alkoholgemisch „Lorol Spezial“ mit Pentadecansäure (0,1 % bzw. 0,01 % (m/m)) als interner Standard versetzt bzw. zusätzlich mit Dodecansäure und Tetradecansäure aufgestockt und in der beschriebenen Weise mit 4-Fluorphenethylamin derivatisiert und analysiert (Abb. 94).

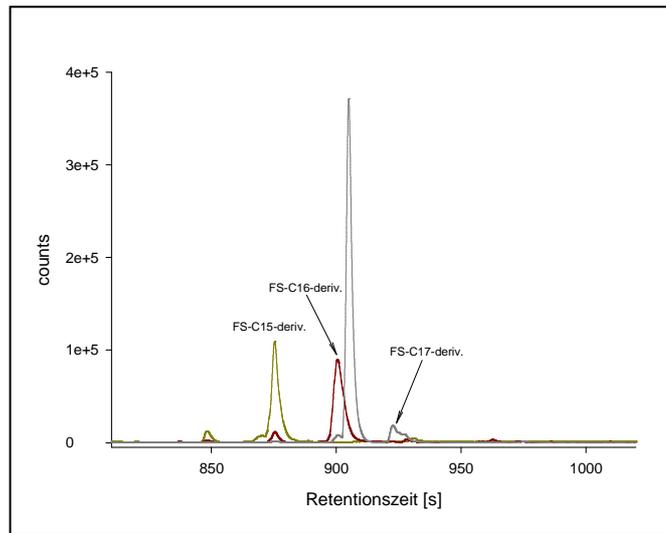


Abbildung 93: GC-APLI(TOF)MS-Analyse verschiedener in Undecanol gelöster Fettsäuren nach Derivatisierung mit 4-Fluorphenethylamin (experimentelle Parameter s. Kap. 5.3.8 und 5.4.1.7)

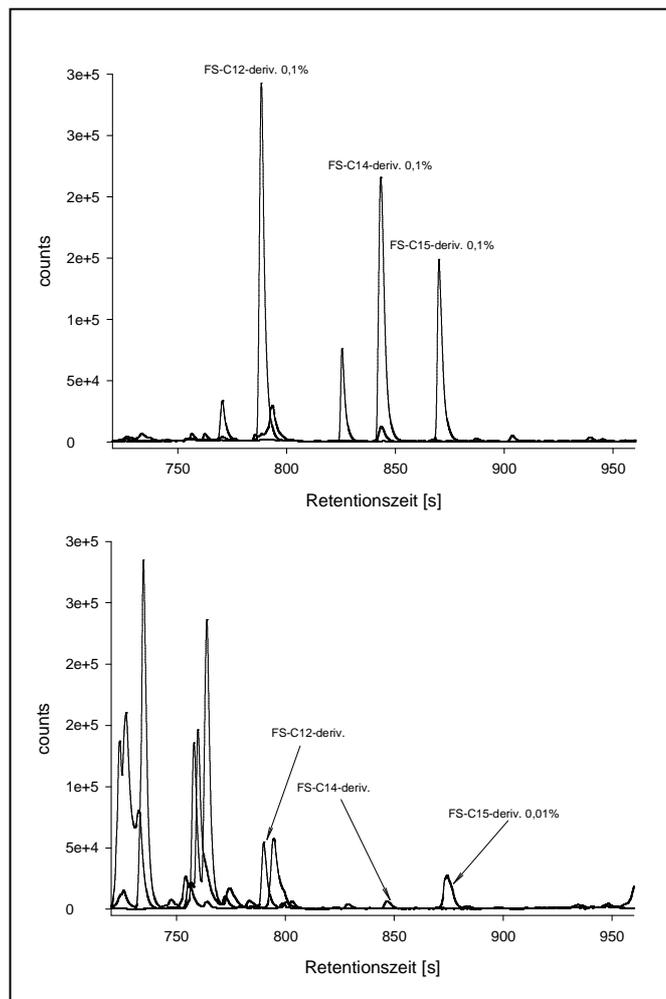


Abbildung 94: Vergleich der GC-APLI(TOF)MS-Analysen von Lorol Spezial nach Versetzen mit Pentadecansäure 0,01% (m/m) (1:5 verdünnt) (oben) bzw. nach Versetzen mit Pentadecansäure (0,1 %) und Aufstocken mit Dodecansäure und Tetradecansäure je 0,1 % (m/m) (1:50 verdünnt) (unten) und Derivatisierung mit 4-Fluorphenethylamin (experimentelle Bedingungen s. Kap. 5.3.8 und 5.4.1.7)

In beiden Fällen, mit und ohne Aufstocken, konnten neben dem internen Standard sowohl Dodecansäure als auch Tetradecansäure nachgewiesen werden. Die erhaltenen Signale der Fettsäurederivate lagen jedoch recht nahe an der Nachweisgrenze, so dass mit diesem Ionisationslabel möglicherweise nicht alle in der Probe vorhandenen Fettsäuren detektiert werden konnten.

Eine Möglichkeit, ein größeres Nachweisvermögen zu erreichen, wäre die Anwendung der DA-GC-APLI-(TOF)MS. Die Zugabe eines Dopants kann jedoch durchaus problematisch sein, da nicht nur die Derivate, sondern auch weitere Verbindungen, die eine ausreichend hohe Gasphasenbasizität aufweisen, ionisiert werden können. Trotz dieses möglichen Selektivitätsverlustes wurde eine derivatisierte Probe unter DA-GC-APLI-(TOF)MS-Bedingungen analysiert. Im Vergleich mit der zuvor durchgeführten GC-APLI-(TOF)MS-Analyse wurde jedoch kein deutlicher Zugewinn an Signalintensität festgestellt.

Wie in der LC-APLI-(TOF)MS sollte auch in der GC-APLI-(TOF)MS ein Anthracenderivat als Ionisationslabel eingesetzt werden, auch wenn das hohe Molekulargewicht des Labels möglicherweise zu Diskriminierungseffekten während der GC-Analyse führen könnte.

Ausgehend von den oben dargestellten Überlegungen wurde 9-Diazomethylantracen als neues Label ausgewählt, um die Fettsäuren in „Lorol Spezial“ zu bestimmen. 9-Diazomethylantracen wird in der HPLC als Fluoreszenzlabel für die Analyse von Fettsäuren eingesetzt ^[245 - 248], so dass damit bereits die generelle Verwendbarkeit dieser Verbindung zur Derivatisierung von Fettsäuren dokumentiert war. Der gebildete Ester ist identisch mit dem aus 9-Anthracenmethanol und einer Fettsäure unter Carbodiimid-Aktivierung erhaltenen Derivat. Um die GC-Gängigkeit der gebildeten Ester zu untersuchen, wurde zunächst eine Standardmischung aus Dodecansäure, Tridecansäure, Tetradecansäure, Pentadecansäure, Hexadecansäure, Heptadecansäure und Octadecansäure entsprechend einer Säurekonzentration von 0,001 % (m/m) je Säure in Undecanol mit 9-Diazomethylantracen (0,1 mM gelöst in Methanol) derivatisiert. Abbildung 95 zeigt das Chromatogramm der GC-APLI-(TOF)MS-Analyse. Die Endtemperatur des Temperaturprogramms von 340 °C und die Transferlinetemperatur von ebenfalls 340 °C reichten aus, alle gebildeten Fettsäurederivate der Standardmischung zu erfassen.

Unter den für die Standardmischung erfolgreich eingesetzten Derivatisierungs- und Analysenbedingungen wurde nun eine mit Heptadecansäure (0,001 % (m/m)) versetzte Probe des „Lorol Spezial“ derivatisiert und nach Verdünnung analysiert (Abb. 96).

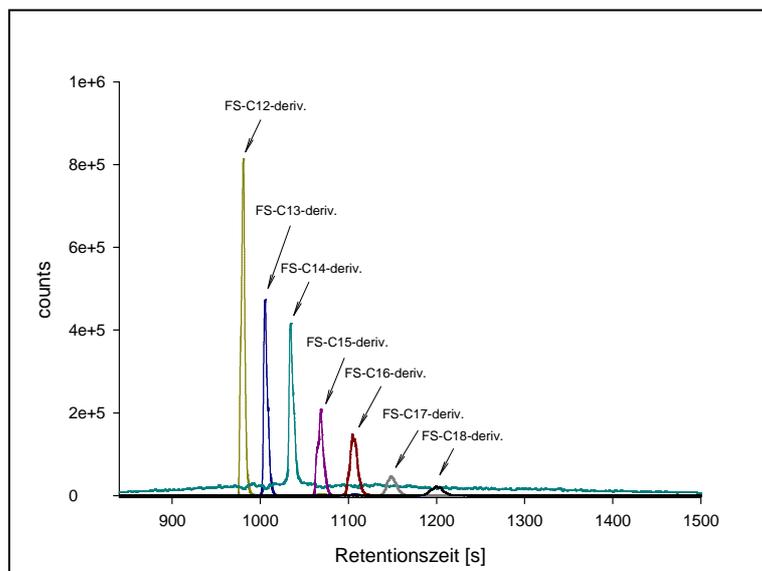


Abbildung 95: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse eines Fettsäuregemisches nach Derivatisierung mit 9-Diazomethylantracen (experimentelle Bedingungen s. Kap. 5.4.1.10)

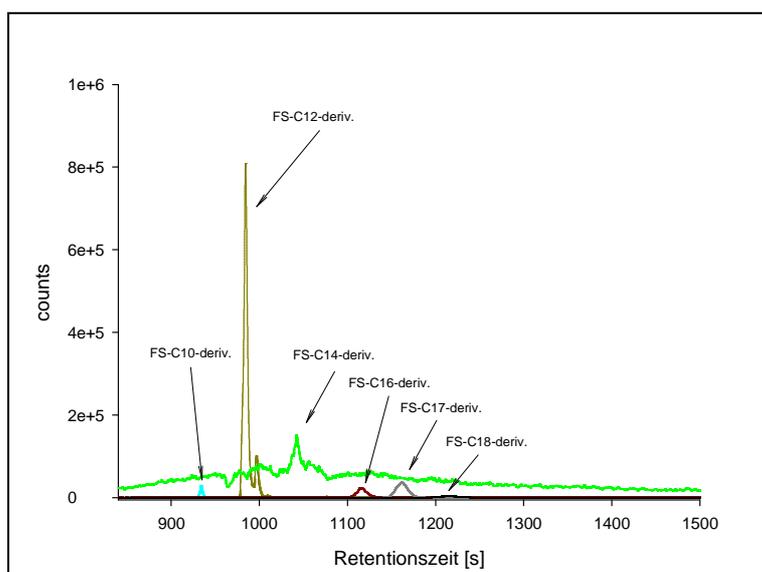


Abbildung 96: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse der freien Fettsäuren in Lorol Spezial nach Versetzen mit 0,001 % Heptadecansäure (m/m) als interner Standard und Derivatisierung mit 9-Diazomethylantracen (experimentelle Bedingungen s. Kap. 5.3.8 und 5.4.1.10)

Bei Verwendung des Anthracenlabels waren aufgrund der höheren Empfindlichkeit der gebildeten Carbonsäurederivate neben Dodecansäure und Tetradecansäure ebenfalls Decansäure, Hexadecansäure und Octadecansäure im Lorol Spezial nachweisbar. Mit Hilfe des verwendeten internen Standards (0,001 % Heptadecansäure) konnte eine Quantifizierung

der einzelnen Carbonsäuren erfolgen ($n = 2$) (Tabelle 10). Ein Vergleich mit der DIN-Methode war bei dieser Probe aufgrund des sehr geringen Gehaltes an freien Fettsäuren nicht möglich.

Fettsäure	Gehalt an freier Säure [%]
Dodecansäure	$1,05 \times 10^{-3} \pm 2,3 \times 10^{-5}$
Tetradecansäure	$2,23 \times 10^{-4} \pm 7,4 \times 10^{-5}$
Hexadecansäure	$1,86 \times 10^{-4} \pm 2,2 \times 10^{-5}$
Octadecansäure	$2,78 \times 10^{-4} \pm 2,8 \times 10^{-5}$
Gesamtgehalt an freier Fettsäure	$1,73 \times 10^{-3} \pm 4,6 \times 10^{-5}$
Spezifizierter Bereich	$0 - 3,6 \times 10^{-2}$

Tabelle 10: Bestimmung des Gehaltes an freien Fettsäuren in Lorol Spezial

Durch die Verwendung des 9-Diazomethylantracens war es möglich, Carbonsäuren mit ausreichender Empfindlichkeit im Bereich um 10 ppm (m/m) in einer technischen Alkoholmischung als Marker für oxidative Belastung des Produktes während der Produktion zu bestimmen. Damit bietet die GC-APLI-(TOF)MS in Verbindung mit einer geeigneten Derivatisierungsreaktion die Möglichkeit einer Einzelkomponentenanalytik von Verbindungen, die z.B. im Rahmen eines Qualitätsmonitorings von Interesse sind.

3.6.5.2 Ausblick für die Weiterentwicklung von Ionisationslabeln für die GC-APLI-MS

In den vorherigen Kapiteln wurden das Konzept, die Entwicklung und die Anwendung von Ionisationslabeln für die APLI vorgestellt. Mit den dargestellten Aspekten sind die Entwicklung und Anwendung von Ionisationslabeln aber noch nicht endgültig abgeschlossen und es verbleiben weitere Schritte, die gemacht werden können.

Bei der Verwendung von GC-Ionisationslabeln auf Basis des 4-Fluortoluols war bei allen durchgeführten Untersuchungen nur ein KrF* Excimer-Laser mit einer Wellenlänge von 248 nm verfügbar. Da der verwendete Ionophor jedoch bei 266 nm eine optimale Ionenausbeute besitzt, führt die Verwendung eines entsprechenden Lasers sicherlich zu einer Erhöhung der Empfindlichkeit. Die erhöhte Empfindlichkeit bei 266 nm kann aber nur dann erreicht werden, wenn die spektroskopischen Eigenschaften des Derivates mit denen des

4-Fluortoluols übereinstimmen und auch bei einem Derivat die Bande im REMPI-Spektrum tatsächlich noch bei 266 nm liegt und keine Blau- oder Rotverschiebung eingetreten ist.

Die bisher beschriebenen Entwicklungsmöglichkeiten bezogen sich im Wesentlichen auf die Ionisation und den Ionophor. Allerdings ist die Weiterentwicklung auch auf der Seite der reaktiven Ankergruppe möglich. So könnten weitere Derivatisierungsreagenzien z.B. auf der Basis von Silanen (z.B. Chlor [2-(4-fluorphenyl)-ethyl]dimethylsilan) dargestellt und verwendet werden. Auch die Derivatisierung weiterer funktioneller Gruppen wie etwa der Carbonylgruppe in Aldehyden und Ketonen könnte durch die Bildung einer Schiff'schen Base oder eines Hydrazons erreicht werden. Die Entwicklung einer Derivatisierungsstrategie für Analyten, die im wässrigen Medium vorliegen, wie etwa Nukleotide nach erfolgtem DNA-Verdau, bietet ein hohes Anwendungspotential z.B. für die Detektion von DNA-Addukten.

In diesem Zusammenhang könnte z.B. auch ein „Derivatisierungskit“ auf der Basis von Festphasenreagenzien entwickelt werden. Hierbei würde das jeweilige Ionisationslabel beispielsweise auf eine festphasengebundene Hilfsbase (4-DMAP oder HOBT) übertragen und für die eigentliche Derivatisierungsreaktion nur noch das Polymer in die Probe gegeben werden. Nach erfolgter Reaktion könnte das Derivatisierungsreagenz einfach abfiltriert und die Probe analysiert werden, ohne dass das Chromatographiesystem mit Derivatisierungsreagenzien belastete würde.

Durch diese und weitere Entwicklungen besteht die Möglichkeit, das Konzept der Ionisationslabel für die APLI weiterzuentwickeln und die Anwendbarkeit über die bisher gezeigten Beispiele hinaus zu erweitern.

4 Zusammenfassung

Die Atmospheric Pressure Laser Ionization (APLI) wurde an der Bergischen Universität Wuppertal als empfindliche Atmosphärendruck-Ionisationsmethode zur Analyse unpolarer aromatischer Kohlenwasserstoffe entwickelt. Die Kopplung der Flüssigchromatographie (LC) mit der APLI wurde zuerst am Q-TOF Ultima (Waters) in Form der LC-APLI-(TOF)MS realisiert. Die Gaschromatographie (GC) stellt aufgrund der höheren Trennleistung eine interessante Alternative zur LC dar. Daher wurde zunächst ein Konzept zur Kopplung eines Gaschromatographen mit der Atmosphärendruck-Ionenquelle des Q-TOF Ultima für die APLI erarbeitet. Dazu wurde eine geeignete elektrisch beheizte flexible Transferline gebaut. Das vordere Ende dieser Transferline konnte anstelle einer Verdampfungsstufe in der ansonsten unmodifizierten Atmosphärendruck-Ionenquelle montiert werden. Die zum Betrieb der Quelle notwendigen Parameter, wie die Gasflussmengen innerhalb der Quelle und Einstellungen am Massenspektrometer wurden optimiert. Die Leistungsfähigkeit dieser neuen Kopplung wurde am Beispiel der Analyse verschiedener Standards (PAKs und hetero-PAKs) demonstriert.

Ausgehend von der erfolgreichen Umsetzung dieser ersten Kopplung wurde die APLI auch an einem weiteren Atmosphärendruck-Massenspektrometer (micrOTOF, Bruker Daltonics) verwirklicht. Dazu wurde eine neue Ionenquelle für das Massenspektrometer entwickelt, welche die Standardionenquelle ersetzt. Zentraler Bestandteil dieses Quellenkonzeptes, das sowohl für die LC- als auch für die GC-APLI-(TOF)MS verwendet werden kann, ist ein würfelförmiger Quellenkörper mit verschiedenen Öffnungen. In diese können verschiedene Anbauteile, wie die Verdampfungsstufe für die Flüssigchromatographie oder die für diese Kopplung neu entwickelte Transferline montiert werden. Um das Potential dieser Kopplung nach der Optimierung wichtiger Parameter zu zeigen, wurden verschiedene Standards und Realproben sowohl mit der LC- als auch der GC-APLI-(TOF)MS analysiert. So konnten verschiedene bei der Herstellung von organischen Leuchtdioden verwendete aromatische Oligomere, die mit anderen Methoden nur schwer analysierbar sind, sowie als Triplettemitter verwendete Übergangsmetallkomplexe erfolgreich mit der LC-APLI-(TOF)MS untersucht werden. Als Anwendungsbeispiele für die GC-APLI-(TOF)MS wurden unter anderem mehrere PAK- und hetero-PAK-Standards analysiert, in Urin wurde der Pyrenmetabolit 1-Hydroxypyren nachgewiesen. Für Chrysen konnte eine Nachweisgrenze von 0,5 ng/L bei einem Injektionsvolumen von 2 μ L erreicht werden.

Um die Vorteile einer solchen flexiblen Kopplung, bei der das teure hochauflösende Massenspektrometer als Detektor für verschiedene chromatographische Anwendungen dient, auch in Verbindung mit den drei wichtigen Atmosphärendruck-Ionisationsmethoden (ESI, APCI, APPI) nutzen zu können, wurden diese in das Quellenkonzept integriert. Darüber hinaus wurde die GC-Transferline zu einer verbesserten Version weiterentwickelt. Dieses neue Konzept einer Multi-Purpose API-Source (MPIS) wird mittlerweile von der Firma Bruker Daltonics in Form eines kommerziellen Produktes als flexible Ionenquelle für Atmosphärendruck-Massenspektrometer vertrieben.

Zum einfachen Wechsel zwischen verschiedenen Ionisationsmethoden müssen nur einzelne Anbauteile an den Öffnungen des Quellenkörpers gegeneinander ausgetauscht werden. Beispielsweise muss für einen Wechsel zwischen GC-APLI-(TOF)MS und GC-APCI-(TOF)MS nur ein Quarzfenster gegen eine APCI-Nadel mit Halterung ausgetauscht werden. Auf die gleiche Weise ist ein Wechsel zwischen LC und GC möglich. Hier muss lediglich ein Blindflansch gegen die Transferline ausgetauscht werden. Die Ionisationsmethoden können in diesem Konzept einzeln oder aber in Kombination als echte Multimode-Ionisation (z.B. APLI und APCI gleichzeitig) angewendet werden. Die Leitungsfähigkeit der einzelnen Modi der MPIS wurde am Beispiel verschiedener Standards gezeigt. Mit dieser Quelle stehen sowohl für die LC als auch die GC Ionisationstechniken wie ESI, APCI, APPI und APLI zur Verfügung. Für die LC können darüber hinaus Multimode-Ionisationstechniken bestehend aus APLI+ESI und APLI+APCI eingesetzt werden

Die APLI ist eine selektive Methode zur Ionisation von unpolaren aromatischen Verbindungen. Dies stellt auf der einen Seite eine Einschränkung bei der allgemeinen Anwendbarkeit dieser Ionisationsmethode dar, ermöglicht aber andererseits die selektive Ionisation dieser Substanzklasse in einer komplexen Matrix. Daher wurden Ionisationslabel und entsprechende Derivatisierungskonzepte für die LC- und GC-APLI-(TOF)MS entwickelt. Diese Ionisationslabel sind aromatische Verbindungen, die mittels APLI empfindlich nachgewiesen werden können und eine Ankergruppe besitzen, um eine kovalente Verknüpfung mit dem nichtaromatischen Analyten herzustellen. Das gebildete Derivat kann dann mit der APLI empfindlich nachgewiesen werden. Die Untersuchung der REMPI-Spektren verschiedener Derivate bei Atmosphärendruck hat gezeigt, dass sich diese nicht signifikant von den Labeln unterscheiden, was auf ein durch den Analyten unbeeinflusstes aromatisches System am Ionisationslabel hindeutet. Die praktische Anwendbarkeit der APLI-Ionisationslabel konnte durch Untersuchung verschiedener Proben wie Brij[®] 72, PEG 1000

und durch die Bestimmung des Gehaltes freier Fettsäuren in Pflanzenölen oder in einem technischen Fettalkoholgemisch für die LC- und GC-APLI-(TOF)MS unter Beweis gestellt werden.

5 Experimenteller Teil

5.1 Lösungen und Mischungen

Zur Herstellung von Lösungen wurden Stammlösungen (z.B. mit einer Konzentration von 100 mg/L) durch Auflösen des Feststoffes im jeweiligen Lösungsmittel hergestellt und die schlussendliche Konzentration durch schrittweises Verdünnen der Stammlösungen eingestellt. Bei Mischungen wurden die Stammlösungen zum Herstellen der Mischung verwendet und diese anschließend ebenfalls durch schrittweises Verdünnen auf die benötigte Konzentration eingestellt.

5.2 Darstellung verschiedener Verbindungen

5.2.1 (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure

Zu einer Suspension von ölfreiem Natriumhydrid (1,3 g 53 mmol) in 75 mL wasserfreiem Tetrahydrofuran (THF) werden langsam 5 g Anthracenmethanol (24 mmol) in 50 mL wasserfreiem THF hinzugegeben. Danach wird diese Lösung bei Raumtemperatur gerührt, bis die Gasentwicklung beendet ist. Hiernach werden 2,1 g Bromessigsäure (15 mmol) in 50 mL wasserfreiem THF zu dieser Lösung gegeben und die gesamte Mischung für 1 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktionslösung werden 10 mL Methanol langsam zugegeben. Hiernach werden 500 mL Wasser zur THF-Phase gegeben, die wässrige Phase abgetrennt und mit konzentrierter HCl-Lösung angesäuert. Hierauf wird die wässrige Phase 3 mal mit 100 mL Diethylether extrahiert und die vereinigte organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet. Die getrocknete organische Phase wird bei reduziertem Druck entfernt und das erhaltene Produkt (2,7 g, Ausbeute: 66,6 %) in Hochvakuum getrocknet.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 4,35$ (s, 2H), 5,75 (s, 2H), 7,2 - 8,6 (m, 9H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 65,5, 66,7, 123,8, 125,1, 126,8, 127,8, 129,2, 131,2, 131,4, 173,2$

Masse (APLI-(TOF)MS): theoretisch: 266,0937, gemessen: 266,0988

5.2.2 Reine Derivate von (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure

1) Cholesterin: Es werden 50 mg (0,19 mmol) (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure, 58 mg (0,15 mmol) Cholesterin, 100 mg (0,49 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 5 mg (0,04 mmol) 4-(Dimethylamino)pyridin in 2 mL Dichlormethan gelöst und für 2 h unter Rühren auf eine Temperatur von 35 °C erwärmt. Hiernach wird der gebildete Niederschlag abfiltriert und 1 mL der Lösung weiterverwendet und säulenchromatographisch (Kieselgel 60 0,063 – 0,200 mm Teilchengröße) unter Verwendung einer Mischung von Essigsäureethylester und Cyclohexan 5:95 aufgearbeitet. Es wurden 34,5 mg (72 %) des Cholesterinderivates als gelber Feststoff erhalten.

2) Dodecylamin: Es werden 0,5 g polymergebundenes 1-Hydroxybenzotriazol (Aktivität: 1,0 mmol/g) in 20 mL Dichlormethan suspendiert. Zu dieser Suspension werden 0,4 g (1,5 mmol) (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure und 450 mg (2,5 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid gegeben und die Mischung für 2,5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das mit (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure beladene polymergebundene 1-Hydroxybenzotriazol abfiltriert und anschließend mit 2 mal 30 mL Dimethylformamid und 3 mal 30 mL Diethylether gewaschen. Danach werden Lösungsmittelreste unter reduziertem Druck entfernt.

Hiernach wurden 120 mg des mit (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure beladenen polymergebundenen 1-Hydroxybenzotriazols in 1 mL Dichlormethan suspendiert und 13,9 mg (0,075 mmol) n-Dodecylamin zu dieser Suspension gegeben und diese Mischung für 3,5 h einer Temperatur von 34 °C im Thermomixer inkubiert. Anschließend wird das Polymer abfiltriert, mit 1 mL Dichlormethan nachgewaschen und die vereinigte organische Phase säulenchromatographisch (Kieselgel 60 0,063 – 0,200 mm Teilchengröße) unter Verwendung einer Mischung von Essigsäureethylester und Cyclohexan 50:50 aufgearbeitet. Es wurden 16,5 mg (50 %) des n-Dodecylaminderivates als gelber Feststoff erhalten.

3) Ethanol: Es werden 50 mg (0,19 mmol) (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure, 6,9 mg (0,15 mmol) Ethanol, 100 mg (0,49 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 5 mg (0,04 mmol) 4-(Dimethylamino)pyridin in 2 mL Dichlormethan gelöst und für 2 h unter Rühren auf eine Temperatur von 35 °C erwärmt. Hiernach wird der gebildete Niederschlag abfiltriert und 1 mL der Lösung weiterverwendet und säulenchromatographisch (Kieselgel 60 0,063 – 0,200 mm Teilchengröße) unter Verwendung einer Mischung von Essigsäureethyl-

ester und Cyclohexan 20:80 aufgearbeitet. Es wurden 28,5 mg (64,6 %) des Ethanolderivates als gelber Feststoff erhalten.

5.2.3 N-{{2-(4-Fluorphenyl)-ethylamino}-methyl}benzamid-hydrochlorid

Zu einer Lösung von 13,9 g (0,1 mol) 4-Fluorphenethylamin in 100 mL HCl-Lösung (1,0 mol/L) werden zunächst 10 g Formaldehydlösung (37 %ig) und anschließend 12,1 g (0,1 mol) Benzoesäureamid in 100 mL Ethanol gegeben. Diese Mischung wird für 30 min unter Rühren auf 35 °C erwärmt und danach das Lösungsmittel bei reduziertem Druck entfernt. Der erhaltene blassgelbe Feststoff wird aus ca. 800 ml Ethanol umkristallisiert. Nach Umkristallisation und Trocknung des farblosen Feststoffes werden 11,8 g (38,3 %) erhalten.

5.2.4 N-{{N-Nitroso[2-(4-Fluorphenyl)-ethylamino]-methyl}benzamid

Zu einer Suspension von 4,6 g (15 mmol) N-{{N-Nitroso[2-(4-Fluorphenyl)-ethylamino]-methyl}benzamid in 350 mL Wasser werden bei 50 °C 0,75 mL einer konzentrierten HCl Lösung und anschließend 1,25 g (18 mmol) Natriumnitrit in 4,5 mL Wasser langsam zugetropft. Nach beendeter Zugabe der Natriumnitritlösung wird die Reaktionsmischung für weitere 30 min bei 50 °C gerührt. Danach wird die Reaktionsmischung 3 mal mit je 100 mL Chloroform extrahiert, die vereinigte organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach Umkristallisation aus wenig Ethanol und Trocknung im Hochvakuum des blassgelben Feststoffes werden 3,86 g (85,4 %) erhalten.

5.2.5 1-(2-Diazoethyl)-4-fluorbenzol

In 1,5 mL einer Lösung von 100 mg (2,3 mmol) KOH in Methanol/Wasser (90/10 v/v) werden 250 mg N-{{N-Nitroso[2-(4-Fluorphenyl)-ethylamino]-methyl}benzamid suspendiert und diese Suspension mit 3 mL Hexan überschichtet. Anschließend wird diese Mischung für 30 min unter kräftigem Rühren auf 40 °C erwärmt. Die Entstehung des Diazoalkans wird durch eine intensive Gelbfärbung der Reaktionslösung angezeigt.

5.3 Derivatisierung von Standards und Realproben

5.3.1 Derivatisierung von 1-Hydroxypyren

1: Silylierung:

Es werden 10 mg 1-Hydroxypyren in 400 μL einer Mischung aus 5:1 (v/v) MSTFA/BSTFA gelöst und für 1 h bei 80 °C im Trockenschrank gelagert. Anschließend wird die Mischung schrittweise mit Toluol auf eine Konzentration von 6,6 $\mu\text{g/L}$ verdünnt.

2: Methylierung:

66 μL einer Lösung von 1-Hydroxypyren (10 $\mu\text{g/L}$) in Acetonitril wird mit 33 μL einer TMSH-Lösung (0,2 mmol/L in Methanol) gemischt und ohne weitere Schritte der Probenvorbereitung direkt in die GC injiziert.

5.3.2 Probenvorbereitung einer Urinprobe

Es werden 5 mL der Urinprobe mit 50 μL einer 1-Hydroxypyrenlösung (50 $\mu\text{g/L}$) versetzt, um eine 1-Hydroxypyrenkonzentration in der Probe von 500 ng/L zu erhalten. Diese Probe wird anschließend auf eine zuvor konditionierte (1 mal mit 3 mL Acetonitril und 2 mal mit 3 mL destilliertem Wasser waschen) SPE-Säule (ABS-Elut, Nexus, 3 mL) gegeben und danach mit 1 mL destilliertem Wasser nachgespült. Die Elution der Analyten erfolgt mit 1,5 mL Acetonitril. Dieses wird im Stickstoffstrom entfernt und der Rückstand mit einer 5:1 (v/v) MSTFA/BSTFA-Mischung versetzt und für 1 h bei 80 °C im Trockenschrank aufbewahrt. Zur anschließenden Analyse wird die Probe 1:20 mit Toluol verdünnt.

5.3.3 Allgemeine Vorschrift zur Derivatisierung von Standardverbindungen (Alkohole und Amine)

Es werden 25 mg (0,095 mmol) (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure, mit 0,075 mmol des Standards, 50 mg (0,24 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 5 mg (0,04 mmol) 4-(Dimethylamino)pyridin im Fall von Alkoholen und 5 mg 1-Hydroxybenzotriazol (0,037 mmol) für Amine in 1 mL Dichlormethan gelöst und für 2 h im Thermomixer bei 35 °C inkubiert.

Zur anschließenden Analyse wird die Lösung entsprechend verdünnt.

5.3.4 Allgemeine Vorschrift zur Derivatisierung von Standardverbindungen (Carbonsäuren)

Es werden 19,5 mg (0,095 mmol) 9-Anthracenylmethanol, 0,075 mmol des Standards, 50 mg (0,24 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 5 mg (0,04 mmol) 4-(Dimethylamino)pyridin in 1 mL Dichlormethan gelöst und für 2 h im Thermomixer bei 35 °C inkubiert.

Zur anschließenden Analyse wird die Lösung entsprechend verdünnt.

5.3.5 Derivatisierung von Brij[®] 72, PEG 1000 und MPEG 1000

Zu einer Lösung von 20 mg des Polyethoxylates in 1 mL Dichlormethan werden 25 mg (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure und 5 mg (4-Dimethylamino)pyridin und diese bei 35 °C für 2,5 h im Thermomixer inkubiert. Hiernach werden 75 mg polymergebundenes Tris(2-aminoethyl)amin in die Lösung gegeben und diese erneut für 30 min im Thermomixer inkubiert, um den Überschuss an (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure zu entfernen. Danach wird das polymergebundene Tris(2-aminoethyl)amin abfiltriert und die Lösung für die APLI-(TOF)MS-Analyse verdünnt.

5.3.6 Derivatisierung einer Mischung aus Hexadecansäure, Heptadecansäure und Octadecansäure

Zu einer Lösung, die Hexadecansäure, Heptadecansäure und Octadecansäure jeweils mit einer Konzentration von 10 mmol/L enthält, werden 8,3 mg 9-Anthracenmethanol, 33 mg N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid und 2,5 mg (4-Dimethylamino)pyridin gegeben und diese bei 35 °C für 2,5 h im Thermomixer inkubiert. Anschließend wird die Mischung für die APLI-(TOF)MS-Analyse verdünnt.

5.3.7 Derivatisierung von freien Carbonsäuren in Pflanzenöl

Zu einer Lösung von 100 mg des Pflanzenöls mit 0,5 % bzw. 0,1 % Heptadecansäure (m/m) als internem Standard in 1 mL Dichlormethan werden 50 mg polymergebundenes N-benzyl-N'-cyclohexylcarbodiimid, 2,5 mg (4-Dimethylamino)pyridin und 5 mg 9-Anthracen-methanol gegeben und diese Mischung bei 35 °C für 2,5 h im Thermomixer inkubiert. Anschließend wird das N-benzyl-N'-cyclohexylcarbodiimid abfiltriert und die Mischung für APLI-(TOF)MS-Analyse weiter verdünnt.

5.3.8 Derivatisierung der Alkohole und freien Carbonsäuren in Lorol Spezial

1: Derivatisierung der Alkohole in Lorol Spezial mit 4-Fluorphenylessigsäure

Zunächst werden 100 mg Lorol Spezial in 5,8 mL Dichlormethan gelöst. 100 µL dieser Lösung werden zu einer Lösung von 3 mg 4-Fluorphenylessigsäure, 2 mg 4-(Dimethylamino)pyridin und 50 mg polymergebundenes N-benzyl-N'-cyclohexylcarbodiimid in 900 µL Dichlormethan gegeben. Diese Mischung wird für 2,5 h bei 35 °C im Thermomixer inkubiert.

2: Derivatisierung mit 4-Fluorphenethylamin

100 mg des Lorol Spezial werden mit Pentadecansäure 0,01 % (m/m) als internem Standard versetzt und in 1 mL Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung werden 5,2 mg 4-Fluorphenethylamin, 16 mg N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid und 2 mg 1-Hydroxybenzotriazol gegeben. Diese Lösung wird bei 35 °C für 2,5 h im Thermomixer inkubiert und anschließend für die GC-APLI-(TOF)MS-Analyse verdünnt.

3: Derivatisierung mit 9-Diazomethylantracen

100 mg des Lorol Spezial werden mit 0,001 % (m/m) Heptadecansäure als internem Standard versetzt und in 1 mL einer 9-Diazomethylantracenlösung (0,1 mmol/L in Methanol) gelöst und für 6 h unter Lichtausschluss aufbewahrt. Anschließend wird die Lösung für die GC-APLI-(TOF)MS-Analyse verdünnt.

Die Derivatisierung von Standardverbindungen erfolgt unter Verwendung der oben angegebenen Derivatisierungsvorschriften, indem 1-Undecanol als Ersatzmatrix für das Lorol

Spezial verwendet wird. Die jeweils enthaltenen Fettsäuren werden in einer entsprechenden Konzentration vor der Derivatisierung zugesetzt.

5.3.9 Beladen von Quarzsand mit PAKs

5 mL einer PAK-Lösung (20 mg/L) in ACN werden zu 5 g Quarzsand gegeben und das Lösungsmittel nach kräftigem Rühren im Stickstoffstrom entfernt.

5.4 Durchführung verschiedener chromatographischer Trennungen und Analysen

5.4.1 GC-API-MS

Für die GC-API-Kopplung werden zwei Gaschromatographen (Agilent 7890A und DANI MPC 1000), ausgestattet mit einer HP-5ms bzw. faktorFour VF 5-ms (30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke), verwendet. Beide Systeme werden im Splittless Modus des Injektors betrieben und die Injektion (1 bzw. 2 µL) manuell durchgeführt. Als Trägergas werden Helium und Stickstoff verwendet. Eine Übersicht über verschiedene Temperaturprogramme ist im Folgenden gegeben:

5.4.1.1 Methode 1:

Gaschromatograph: DANI MPC 1000

Transferline: 320 °C

Injektortemperatur: 330 °C

Trägergas: N₂, 1,90 bar (konstanter Druck)

Temperaturprogramm: 60 °C 1 min halten, 20 °/min bis auf 265 °C, 0 min halten, 25 °/min bis auf 330 °C, 20 min halten

5.4.1.2 Methode 2:

Gaschromatograph: DANI MPC 1000

Transferline: 320 °C

Injektortemperatur: 320 °C

Trägergas: N₂, 1,90 bar (konstanter Druck)

Temperaturprogramm: 60 °C 1 min halten, 20 °/min bis auf 265 °C, 0 min halten, 35 °/min bis auf 320 °C, 10 min halten

5.4.1.3 Methode 3:

Gaschromatograph: DANI MPC 1000

Transferline: 320 °C

Injektortemperatur: 320 °C

Trägergas: N₂, 1,90 bar (konstanter Druck)

Temperaturprogramm: 60 °C 1 min halten, 25 °/min bis auf 240 °C, 0 min halten, 4 °/min bis auf 275 °C, 25 °/min auf 320 °C, 6,25 min halten

5.4.1.4 Methode 4:

Gaschromatograph: DANI MPC 1000

Transferline: 320 °C

Injektortemperatur: 320 °C

Trägergas: N₂, 1,90 bar (konstanter Druck)

Temperaturprogramm: 60 °C 1 min halten, 20 °/min bis auf 320 °C, 10 min halten

5.4.1.5 Methode 5:

Gaschromatograph: DANI MPC 1000

Transferline: 320 °C

Injektortemperatur: 320 °C

Trägergas: N₂, 1,90 bar (konstanter Druck)

Temperaturprogramm: 60 °C 1 min halten, 15 °/min bis auf 265 °C, 0 min halten, 25 °/min bis auf 320 °C, 10 min halten

5.4.1.6 Methode 6:

Gaschromatograph: DANI MPC 1000

Transferline: 320 °C

Injektortemperatur: 320 °C

Trägergas: N₂, 1,90 bar (konstanter Druck)

Temperaturprogramm: 60 °C 1 min halten, 25 °/min bis auf 200 °C, 0 min halten, 2 °/min bis auf 216 °C, 10 °/min auf 320 °C, 10 min halten

5.4.1.7 Methode 7:

Gaschromatograph: Agilent 7890 A

Transferline: 330 °C

Injektortemperatur: 330 °C

Trägergas: He, 1,25 mL/min (konstanter Fluss)

Temperaturprogramm: 80 °C 1 min halten, 17,5 °/min bis auf 320 °C, 10 min halten

5.4.1.8 Methode 8:

Gaschromatograph: DANI MPC 1000

Transferline: 320 °C

Injektortemperatur: 320 °C

Trägergas: N₂, 1,90 bar (konstanter Druck)

Temperaturprogramm: 60 °C 1 min halten, 20 °/min bis auf 200 °C, 0 min halten

5.4.1.9 Methode 9:

Gaschromatograph: DANI MPC 1000

Transferline: 300 °C

Injektortemperatur: 300 °C

Trägergas: N₂, 1,90 bar (konstanter Druck)

Temperaturprogramm: 100 °C 1 min halten, 15 °/min bis auf 300 °C, 10 min halten

5.4.1.10 Methode 10:

Gaschromatograph: Agilent 7890 A

Transferline: 340 °C

Injektortemperatur: 330 °C

Trägergas: He, 1,25 mL/min (konstanter Fluss)

Temperaturprogramm: 80 °C 1 min halten, 17,5 °/min bis auf 340 °C, 10 min halten

5.4.2 LC-API-MS

Die direkte Injektion gelöster Proben für die LC-API-(TOF)MS-Analyse erfolgt mit Hilfe einer Spritzenpumpe (Plus 11, Harvard Apparatus) in einem typischen Flussbereich von 100 - 500 $\mu\text{L}/\text{min}$.

5.4.3 LC-API-MS

Für die LC-API-MS-Analysen wurde ein HPLC-System (L-6200A Pumpe, AS-2000A Autosampler, D 6000A Computer Interface, Merck Hitachi) mit einer Pinnacle II PAH Säule (50x 4,6 mm, 4 μm Partikelgröße) verwendet. Zur Analyse wurden verschiedene Gradienten eingesetzt und 20 μL der jeweiligen Probe injiziert. Eine kurze Übersicht über die verwendeten Methoden ist im Folgenden gezeigt.

5.4.3.1 Methode 1:

Zeit [min]	Acetonitril [%]	Wasser [%]	Fluss [mL]
0	85	15	0,7
25	100	0	0,7
65	100	0	0,7
70	85	15	0,7
75	85	15	0,7

5.4.3.2 Methode 2:

Isokratisch: Acetonitril 67 %, Wasser 33 %, Fluss 0,5 mL/min

5.4.4 MALDI-(TOF)MS

Für die MALDI-(TOF)MS-Analysen wurde ein Massenspektrometer (Shimadzu AXIMA PerformanceTM) mit Stickstofflaser (337 nm, 3 ns Pulsbreite) im Positivmodus mit Reflektron und 20 kV Beschleunigungspotential verwendet. Das Massenspektrum wurde durch die Akkumulation von 441 Profilen (2 Laserschüsse pro Profil, 5 Hz Repetitionsrate) erhalten.

Als Matrix wurde 2,5-Dihydroxybenzoesäure verwendet. Zur Probenvorbereitung wurde das Brij[®] 72 in Tetrahydrofuran (4 g/L) gelöst und 20 µL dieser Lösung mit 20 µL einer Lösung der Matrix (10 g/L) gemischt. 0,5 µL dieser Probenmischung wurden auf ein MALDI-Target gespottet, das zuvor mit 2 µL einer Silbertrifluoracetatlösung (0,1 mol/L) versehen wurde.

5.4.5 NMR

¹H- und ¹³C-NMR-Spektren werden mit einem Bruker ARX 400 NMR-Spektrometer und deuterierten Lösungsmitteln als interne Standards aufgenommen. Alle chemischen Verschiebungen werden in ppm angegeben.

5.5 Wechsel der Gasfüllung des Excimer-Lasers

Wenn das zum Betrieb des Excimer-Lasers verwendete „Premix“ keine ausreichende Laserleistung mehr zulässt, wird die Lasercavity mit einer neuen Gasfüllung versehen. Dazu wird eine in der Laserkontrollsoftware implementierte Routine verwendet, mit der der Gasaustausch automatisch durchgeführt werden kann.

5.6 Geräte und Materialien

5.6.1 Geräte

Analysenwaage <i>M2P</i> , 2 g/max.	Sartorius, Göttingen
APPI-Lampe	Micromass, Eschborn
Durchflussmesser <i>FM-360</i>	Tylan, München
Durchflussregler <i>I179A</i>	MKS Instruments, Wilmington, MA, USA
Feinwaage <i>BP 221S</i> , 220 g/max., d = 0,1 mg	Sartorius, Göttingen
Gaschromatograph <i>Agilent 7890 A</i>	Agilent Technologies Inc., Shanghai, China
Gaschromatograph <i>DANI 1000 MPC</i>	Dani, Monza, Italien
GC-Säule <i>factorFour VF-5ms</i> , 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke	Varian, Darmstadt
GC-Säule <i>HP-5ms</i> , 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke	Agilent Technologies, Waldbronn

HPLC-Pumpe <i>L-6200 A</i>	
HPLC-Autosampler <i>AS-2000 A</i>	Merck Hitachi, Tokyo, Japan
PC-Schnittstelle <i>D 6000 A</i>	
HPLC-Säule <i>Pinnacle II PAH</i> , 50x4,6 mm, 4 µm Partikelgröße	Restek, Bellefonte, PA, USA
Laser <i>Spitlight 600</i>	Innolas, Krailing
KrF*-Laser <i>ATLEX-300-SI</i> , 248 nm	ATL, Wermelskirchen
KrF*-Laser <i>OPTex excimer laser</i>	Lambda Physik, Göttingen
MALDI <i>Shimadzu AXIMA Performance™</i>	Kratos Analytical PLC, Manchester, UK
Massenspektrometer <i>micrOTOF</i>	Bruker Daltonik, Bremen
Massenspektrometer <i>QTOF-Ultima</i>	Micromass, Eschborn
Mikroliter-Spritze, 10 µL	Hamilton, Bonaduz, Schweiz
OPO <i>VISIR 2 + SHG</i>	GWU-Lasertechnik, Erftstadt-Friesheim
SPE-Säule <i>Nexus ABS-Elut</i> , 3 mL	Varian, Darmstadt
Spritzenpumpe <i>Plus 11</i>	Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA
Temperaturregler <i>JumoITRON</i>	M.K. Juchheim, Fulda
Thermoelement Typ <i>K</i>	Newport Electronics, Deckenpfronn
Thermomixer <i>comfort</i> incl. 0,5 und 2 mL Aufsatz	Eppendorf, Hamburg
Transferpetten [®] , 1-10 µL, 10-100 µL, 100-1000 µL	Brand, Wertheim
Trockenschrank <i>T 6</i> , 1,22 kW	Heraeus, Hanau

5.6.2 Chemikalien

11 <i>H</i> -Benzo[<i>a</i>]carbazol	Dr. Rogers, Florida State University, USA
1-Hydroxybenzotriazol	Merck, Darmstadt
1-Hydroxypyren	Sigma Aldrich, Steinheim
2,5-Dihydroxybenzoesäure	Sigma Aldrich, Steinheim
2,6-Dimethylphenol	Sigma Aldrich, Steinheim
2-Chloro-6-methylanilin	Sigma Aldrich, Steinheim
2-Ethylanthracen	Sigma Aldrich, Steinheim

2-Methylantracen	Sigma Aldrich, Steinheim
4-(Dimethylamino)pyridin	Merck Schuchardt, Hohenbrunn
4-Fluorphenethylamin	Sigma Aldrich, Steinheim
4-Fluorphenylelessigsäure	Sigma Aldrich, Steinheim
4-Fluortoluol	Sigma Aldrich, Steinheim
5, 11-Dihydro-6 <i>H</i> -benzo[<i>a</i>]carbazol	Dr. Rogers, Florida State University, USA
9-Anthracenmethanol	Merck Schuchardt, Hohenbrunn
9-Diazomethylantracen	Sigma Aldrich, Steinheim
9 <i>H</i> -Carbazol	Dr. Rogers, Florida State University, USA
Acetonitril	Sigma Aldrich, Steinheim
Acetonitril	Fisher Scientific, Loughborough, UK
Acetonitril	Merck, Darmstadt
Anthracen	Sigma Aldrich, Steinheim
Anthracen d10	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg
Atrazin	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg
Atropin	Sigma Aldrich, Steinheim
Benzo[<i>a</i>]pyren	Sigma Aldrich, Steinheim
Benzo[<i>a</i>]pyren d12	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg
Benzoessäureamid	Merck, Darmstadt
Benzylacetat	Sigma Aldrich, Steinheim
Brij [®] 72	Sigma Aldrich, Steinheim
Bromessigsäure	Merck Schuchardt, Hohenbrunn
Cholesterin	Merck, Darmstadt
Chrysen	Sigma Aldrich, Steinheim
Cyanazin	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg

Cyclohexan	Merck, Darmstadt
Cyclopenta[<i>cd</i>]pyren 100 ng/μL	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg
Decanol	Merck, Darmstadt
Desethylatrazin	Riedel-de Haën, Seelze
Dibenzithiophen	Sigma Aldrich, Steinheim
Dibenzofuran	Dr. Rogers, Florida State University, USA
Dichlormethan	Fisher Scientific, Loughborough, UK
Diethylether	Sigma Aldrich, Steinheim
Dimethylformamid	Merck Schuchardt, Hohenbrunn
Dodecansäure	Fluka Chemie, Buchs, Schweiz
Dodedanol	Merck, Darmstadt
Essigsäure	Roth, Karlsruhe
Essigsäureethylester	Fisher Scientific, Loughborough, UK
Ethanol	Roth, Karlsruhe
EU 15+1 priority PAH-mixture (s. Tab. 2)	European Commission's Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgien
Formaldehyd 37 %-Lösung	Roth, Karlsruhe
Füllhorn Sonnenblumenöl	Akzenta, Wuppertal
Helium 5.0	Air Liquide, Düsseldorf
Helium 5.0	Gase.de, Sulzbach
Heptadecansäure	Sigma Aldrich, Steinheim
Hexadecanol	Merck, Darmstadt
Hexadecansäure	Sigma Aldrich, Steinheim
Hexazinon	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg
Kaliumhydroxid	Roth, Karlsruhe

Experimenteller Teil

Kieselgel 60	Merck, Darmstadt
KrF-Premix	Spectra Gases, Babenhausen
KrF-Premix	Messer Griesheim, Sulzbach
La Villa Olivenöl	Aldi, Wuppertal
Malathion	Sigma Aldrich, Steinheim
Methanol	Fisher Scientific, Loughborough, UK
Methylpolyethylenglycol 1000	Cognis, Düsseldorf
Methylstearat	Sigma Aldrich, Steinheim
<i>N, N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid	Sigma Aldrich, Steinheim
<i>N, N'</i> -Diethyldodecansäureamid	Sigma Aldrich, Steinheim
<i>N, O</i> - Bistrimethylsilyl-trifluoracetamid (BSTFA)	Macherey-Nagel, Düren
Natriumhydrid, 97 % (ölfrei)	Sigma Aldrich, Steinheim
Natriumnitrit	Merck, Darmstadt
Natriumsulfat	Sigma Aldrich, Steinheim
<i>N</i> -Benzyl- <i>N'</i> -cyclohexylcarbo-diimid, polymergebunden	Sigma Aldrich, Steinheim
n-Dodecylamin	Sigma Aldrich, Steinheim
Nicotin	Sigma Aldrich, Steinheim
<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -trimethylsilyl-trifluoracetat (MSTFA)	Macherey-Nagel, Düren
Ocatadecanol	Merck, Darmstadt
Octadecansäure	Sigma Aldrich, Steinheim
Ölsäure	Sigma Aldrich, Steinheim
PAK-Mischung (s. Tab 3)	Environmental Agency, Furance, UK
Palmitinsäuremethylester	Fluka Chemie, Buchs, Schweiz
Pentadecansäure	Fluka Chemie, Buchs, Schweiz

Pestizidmix 34 (s. Tab 5)	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg
Phenanthren	Sigma Aldrich, Steinheim
Phenethylacetat	Sigma Aldrich, Steinheim
Phenethylamin	Fluka Chemie, Buchs, Schweiz
Polyethylenglycol 1000	Cognis, Düsseldorf
Pyren	Sigma Aldrich, Steinheim
Salzsäure	Roth, Karlsruhe
Silbertrifluoracetat	Sigma Aldrich, Steinheim
Simazin	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg
Stickstoff 5.0	Air Liquide, Düsseldorf
Stickstoff 5.0	Gase.de, Sulzbach
Terbutylazin	Dr. Ehrenstorfer, Augsburg
Tetradecanol	Merck, Darmstadt
Tetradecansäure	Fluka Chemie, Buchs, Schweiz
Tetrahydrofuran	Roth, Karlsruhe
Toluol	Merck, Darmstadt
Tributylphosphat	Sigma Aldrich, Steinheim
Tridecansäure	Fluka Chemie, Buchs, Schweiz
Tridest	Reinstwasseranlage, Bergische Universität Wuppertal
Trimethylphosphat	Sigma Aldrich, Steinheim
Trimethylsulfonium-Hydroxid (TMSH), 0,2 mol/L in Methanol	Macherey-Nagel, Düren
Tris(2-aminoethyl)amin, polymergebunden	Sigma Aldrich, Steinheim
Undecanol	Merck, Darmstadt

Alle Chemikalien wurden in der höchsten verfügbaren Reinheit und ohne weitere Aufreinigung verwendet.

6 Verzeichnisse

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematischer Aufbau des micrOTOF von Bruker Daltonics.....	3
Abbildung 2: Anwendungsbereiche verschiedener AP-Ionisationsmethoden ^[62]	7
Abbildung 3: Schematischer Aufbau einer ESI-Quelle	8
Abbildung 4: Schematischer Aufbau einer APCI-Quelle	13
Abbildung 5: Schematischer Aufbau zweier APPI-Quellen, (A) Syage ^[51] , (B) Bruins ^[50]	16
Abbildung 6: Schematische Darstellung eines 1+1 REMPI-Prozesses	17
Abbildung 7: Schematischer Aufbau der GC-Transferline für das Q-TOF Ultima.....	24
Abbildung 8: Experimenteller Aufbau der GC-APLI-(TOF)MS am Q-TOF Ultima.....	25
Abbildung 9: Schematischer Aufbau der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am Q-TOF Ultima. .	26
Abbildung 10: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Mischung von PAKs und Hetero-PAKs ..	29
Abbildung 11: Untersuchung einer PAK-Mischung im Bereich der Nachweisgrenze.....	30
Abbildung 12: micrOTOF mit neu entwickelter LC-APLI-Quelle.....	31
Abbildung 13: Geöffnete Standard-ESI-Quelle am micrOTOF	32
Abbildung 14: Neu entwickelte LC-APLI-Quelle am micrOTOF.....	33
Abbildung 15: Schematischer Aufbau der LC-APLI-Quelle	34
Abbildung 16: Verwendung der Justageplatte zur Justage des Laserstrahls.....	35
Abbildung 17: Ausschnitt aus der micrOTOF control Software.....	36
Abbildung 18: Bestimmung der optimalen Repetitionsrate des Lasers	37
Abbildung 19: Bestimmung der Signalintensität in Abhängigkeit vom Flüssigkeitsfluss.....	38
Abbildung 20: LC-APLI-(TOF)MS-Analyse der EU Priority 15+1 PAKs	39
Abbildung 21: Bestimmung der Nachweisgrenze für Benzo[<i>a</i>]anthracen und Chrysen	40
Abbildung 22: Foto der Transferlinesteuerung	42
Abbildung 23: Transferline der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung in Frontansicht	44
Abbildung 24: Schematischer Aufbau der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am micrOTOF	45
Abbildung 25: Foto des experimentellen Aufbaus der GC-APLI-(TOF)MS-Kopplung am micrOTOF	45
Abbildung 26: Einkopplung des Laserstrahls in die GC-APLI-Quelle.....	48
Abbildung 27: Ausschnitt aus der micrOTOF control Software, Parameterübersicht.....	49
Abbildung 28: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Mischung aus PAKs und hetero-PAKs ...	50
Abbildung 29: Bestimmung der Nachweisgrenze für Chrysen, flexible Transferline.....	51

Abbildung 30: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse von Tocopherol nach GPC-Aufreinigung	53
Abbildung 31: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse von Tocopherol.....	53
Abbildung 32: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse zum Vergleich von 1-Hydroxypyren derivatisiert und underivatisiert.....	55
Abbildung 33: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Urinprobe.....	56
Abbildung 34: Schematische Darstellung der GC-Kopplung für die MPIS	61
Abbildung 35: GC-Transferline der MPIS	62
Abbildung 36: Steuerung zur Temperaturregelung der GC-Transferline für die MPIS	62
Abbildung 37: Aufbau der GC-Option der MPIS	63
Abbildung 38: Vergleich der in die Ionenquelle hineinragenden Enden der flexiblen (A) und starren (B) Transferline	64
Abbildung 39: Schematische Darstellung des verwendeten Metallzylinders zur Erzeugung eines konstanten Analytflusses.....	65
Abbildung 40: Bestimmung des optimalen Sheath Gasflusses	65
Abbildung 41: Bestimmung des dynamischen Ionenakzeptanzvolumens der GC-APLI- Kopplung mit Benzo[<i>a</i>]pyren als Analyten	66
Abbildung 42: Quellenkörper der MPIS, schematische Darstellung	67
Abbildung 43: Adapterflansch mit APCI-Nadel für die LC-APCI-Kopplung an der MPIS	69
Abbildung 44: Adapterflansch mit APCI-Nadel für die GC-APCI-Kopplung (A) und Position der Nadel in der MPIS (B)	70
Abbildung 45: APPI-Option der MPIS, Aufnahme für die APPI-Lampe (A) und an der Quelle montierte APPI-Lampe mit Halterung (B)	71
Abbildung 46: ESI-Aufbau der MPIS in der Ansicht von oben (A) und in Seitenansicht (B) ..	72
Abbildung 47: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse der PAK-Mischung.....	74
Abbildung 48: Bestimmung der Nachweisgrenze für Chrysen.....	75
Abbildung 49: Ausschnitt aus der micrOTOF control Software (Parameterübersicht)	75
Abbildung 50: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse von Nicotin mit und ohne Toluol als Dopant	76
Abbildung 51: LC-APCI-(TOF)MS-Analyse einer Herbizidmischung.....	78
Abbildung 52: Ausschnitt aus der micrOTOF control Software, Parameterübersicht.....	79
Abbildung 53: GC-APCI-(TOF)MS-Analyse einer Pestizidmischung.....	80
Abbildung 54: GC-APCI-(TOF)MS-Analyse der OPCW-Mischung.....	81
Abbildung 55: GC-APPI-(TOF)MS-Analyse einer APPI-Analytmischung.....	83
Abbildung 56: Vergleich der ESI und der ESI/APLI am Beispiel von Nicotin und Pyren	84

Abbildung 57: Vergleich der APCI und APCI/APLI am Beispiel von Palmitinsäuremethyl- ester und Benzo[<i>a</i>]pyren	85
Abbildung 58: Schematischer Zweischichtaufbau einer organischen Leuchtdiode.....	87
Abbildung 59: Oligomere für den Einsatz als Elektronentransportschicht.....	88
Abbildung 60: Isotopenmuster des M ⁺ der Verbindung 3.....	88
Abbildung 61: Übersicht über untersuchte Triplettemitter	90
Abbildung 62: Massenspektrum des iridiumbasierten Triplettemitters 7	91
Abbildung 63: Isotopenmuster des M ⁺ des Triplettemitters 7.....	91
Abbildung 64: Bausteine moderner polymerer Materialien.....	92
Abbildung 65: Isotopenmuster des M ⁺ der Verbindung 11.....	93
Abbildung 66: Schematischer Aufbau der Desorption Atmospheric Pressure Laser Ionization (DALI)	96
Abbildung 67: Chromatogramm (TIC) und Massenspektren der DALI-Analyse von Pyren auf einem Glasröhrchen	96
Abbildung 68: Massenspektren der DALI-Analyse eines Blattes einer Ficus Benjamina aus einem Raucherzimmer (oben) und einem Nichtraucherzimmer (unten).....	97
Abbildung 69: Schematischer Aufbau der Desorption Atmospheric Pressure Laser Ionization (DALI)	98
Abbildung 70: DALI-Analyse von Quarzsand.....	99
Abbildung 71: Untersuchung einer Bodenprobe mittels DALI bei 290 °C und 450 °C Desorptionstemperatur	100
Abbildung 72: DALI-Analyse einer kreosotbelasteten Bodenprobe	101
Abbildung 73: Mechanismus der Derivatisierung von Alkoholen und Aminen mit einem APLI-Ionisationslabel	105
Abbildung 74: APLI-(TOF)MS-Analyse von Ethanol (a), Cholesterin (b), Dodecylamin (c)	106
Abbildung 75: Vergleich der Signalintensität bei der APLI-(TOF)MS-Analyse von Ethanol, Cholesterin und n-Dodecylamin	108
Abbildung 76: Schematischer Aufbau des AP-REMPI-Experimentes	113
Abbildung 77: AP-REMPI-Spektrum von Anthracen	114
Abbildung 78: log/log-Plot, linearer Fall	115
Abbildung 79: log/log-Plot, nicht linearer Fall	115
Abbildung 80: AP-REMPI-Spektren des APLI-Ionisationslabels und verschiedener Derivate	116

Abbildung 81: Vergleich der AP-REMPI-Spektren von Anthracen und (Anthracen-9-ylmethoxy)essigsäure	117
Abbildung 82: APLI-(TOF)MS-Analyse von PEG 1000 nach Derivatisierung	118
Abbildung 83: APLI-(TOF)MS-Analyse von MPEG 1000 nach Derivatisierung	118
Abbildung 84: APLI-(TOF)MS-Analyse von Brij [®] 72 nach Derivatisierung	119
Abbildung 85: MALDI-(TOF)MS-Analyse von Brij [®] 72 mit 2,5-Dihydroxybenzoesäure als Matrix und Silbertrifluoracetat als Kationisierungsreagenz.....	119
Abbildung 86: APLI-(TOF)MS-Analyse von Sonnenblumenöl.....	121
Abbildung 87: MPLI-REMPI-Spektrum von Toluol.....	123
Abbildung 88: MPLI-REMPI-Spektrum von p-Xylol	123
Abbildung 89: MPLI-REMPI-Spektrum von 4-Fluortoluol	123
Abbildung 90: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse einer Fettalkoholmischung nach Derivatisierung mit 4-Fluorphenylessigsäure	124
Abbildung 91: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse von Lorol Spezial nach Derivatisierung mit 4-Fluorphenylessigsäure.....	126
Abbildung 92: Darstellung eines Diazoalkanderivates und anschließende Derivatisierung von Fettsäuren	127
Abbildung 93: GC-APLI(TOF)MS-Analyse verschiedener in Undecanol gelöster Fettsäuren nach Derivatisierung mit 4-Fluorphenethylamin.....	130
Abbildung 94: Vergleich der GC-APLI-(TOF)MS-Analysen von Lorol Spezial nach Versetzen mit Pentadecansäure 0,01% (m/m) (1:5 verdünnt) (oben) bzw. nach Versetzen mit Pentadecansäure (0,1 %) und Aufstocken mit Dodecansäure und Tetradecansäure je 0,1 % (m/m) (1:50 verdünnt) (unten) und Derivatisierung mit 4-Fluorphenethylamin.....	130
Abbildung 95: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse eines Fettsäuregemisches nach Derivatisierung mit 9-Diazomethylantracen	132
Abbildung 96: GC-APLI-(TOF)MS-Analyse der freien Fettsäuren in Lorol Spezial nach Versetzen mit 0,001 % Heptadecansäure (m/m) als interner Standard und Derivatisierung mit 9-Diazomethylantracen	132

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Komponenten der PAK-Mischung.....	29
Tabelle 2: EU 15+1 Priority PAKs	39

Tabelle 3: PAK-Mischung	74
Tabelle 4: Herbizidmischung für die LC-APCI-(TOF)MS-Analyse	77
Tabelle 5: Pestizidmischung für die GC-APCI-(TOF)MS-Analyse	80
Tabelle 6: OPCW-Mischung.....	81
Tabelle 7: Analytmischung für die GC-APPI-(TOF)MS-Analyse	82
Tabelle 8: Bestimmung des prozentualen Gehaltes an freien Fettsäuren in Pflanzenölen.....	121
Tabelle 9: Datenblatt von Lorol Spezial	126
Tabelle 10: Bestimmung des Gehaltes an freien Fettsäuren in Lorol Spezial	133

6.3 Literaturverzeichnis

- [1] Griffiths, J.; „*A brief history of mass spectrometry*“; Analytical Chemistry; **80** (2008) 5678 - 5683
- [2] Bacon, J. R., Linge, K. L., Parrish, R. R. und Van Vaeck, L.; „*Atomic spectrometry update. Atomic mass spectrometry*“; Journal of Analytical Atomic Spectrometry; **23** (2008) 1130 - 1162
- [3] Nguyen, H. P. und Schug, K. A.; „*The advantages of ESI-MS detection in conjunction with HILIC mode separations: Fundamentals and applications*“; Journal of Separation Science; **31** (2008) 1465 - 1480
- [4] Saf, R., Mirtl, C. und Hummel, K.; „*Electrospray ionization mass spectrometry as an analytical tool for non-biological monomers, oligomers and polymers*“; Acta Polymerica; **48** (1997) 513 - 526
- [5] Smyth, W. F. und Brooks, P.; „*A critical evaluation of high performance liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry and capillary electrophoresis-electrospray-mass spectrometry for the detection and determination of small molecules of significance in clinical and forensic science*“; Electrophoresis; **25** (2004) 1413 - 1446
- [6] Barnes, C. A. S. und Lim, A.; „*Applications of mass spectrometry for the structural characterization of recombinant protein pharmaceuticals*“; Mass Spectrometry Reviews; **26** (2007) 370 - 388
- [7] McLafferty, F. W., Breuker, K., Jin, M., Han, X. M., Infusini, G., Jiang, H., Kong, X. L. und Begley, T. P.; „*Top-down MS, a powerful complement to the high capabilities of proteolysis proteomics*“; Febs Journal; **274** (2007) 6256 - 6268
- [8] Godin, J. P., Fay, L. B. und Hopfgartner, G.; „*Liquid chromatography combined with mass Spectrometry for C-13 isotopic analysis in life science research*“; Mass Spectrometry Reviews; **26** (2007) 751 - 774

- [9] Lane, C. S.; „*Mass spectrometry-based proteomics in the life sciences*“; *Cmls-Cellular and Molecular Life Sciences*; **62** (2005) 848 - 869
- [10] Niessen, W. M. A.; „*Advances in instrumentation in liquid chromatography mass spectrometry and related liquid-introduction techniques*“; *Journal of Chromatography A*; **794** (1998) 407 - 435
- [11] Niessen, W. M. A.; „*State-of-the-art in liquid chromatography-mass spectrometry*“; *Journal of Chromatography A*; **856** (1999) 179 - 197
- [12] Alcock, N. J. et al.; „*High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry with Transport Interfaces*“; *Journal of Chromatography*; **251** (1982) 165 - 174
- [13] Arpino, P. J.; „*On-line liquid chromatography/mass spectrometry? An odd couple!*“; *Trends in Analytical Chemistry*; **1** 154 - 158
- [14] Dempster A.J.; „*A New Method of Positive Ray Analysis*“; *Physical Review Letters*; **11** (1918) 316 - 325
- [15] Munson, M. S. B. und Field, F. H.; „*Chemical Ionization Mass Spectrometry .I. General Introduction*“; *Journal of the American Chemical Society*; **88** (1966) 2621 - &
- [16] Bruins, A. P.; „*Developments in Interfacing Microbore High-Performance Liquid-Chromatography with Mass-Spectrometry (A Review)*“; *Journal of Chromatography*; **323** (1985) 99 - 111
- [17] Mcfadden, W. H., Schwartz, H. L. und Evans, S.; „*Direct Analysis of Liquid-Chromatographic Effluents*“; *Journal of Chromatography*; **122** (1976) 389 - 396
- [18] Niessen, W. M. A. und Poppe, H.; „*Open-Tubular Liquid Chromatography-Mass Spectrometry with A Capillary-Inlet Interface*“; *Journal of Chromatography*; **385** (1987) 1 - 15

-
- [19] Niessen, W. M. A. und Poppe, H.; „*Problems in Interfacing Open-Tubular Liquid-Chromatography and Mass-Spectrometry*“; Journal of Chromatography; **394** (1987) 21 - 34
- [20] Alborn, H. und Stenhagen, G.; „*Direct Coupling of Packed Fused-Silica Liquid-Chromatographic Columns to A Magnetic-Sector Mass-Spectrometer and Application to Polar Thermolabile Compounds*“; Journal of Chromatography; **323** (1985) 47 - 66
- [21] Baldwin, M. A. und MCLAFFER, F.W.; „*Liquid Chromatography Mass Spectrometry Interface .1. Direct Introduction of Liquid Solutions Into A Chemical Ionization Mass-Spectrometer*“; Organic Mass Spectrometry; **7** (1973) 1111 - 1112
- [22] Yoshida, H., Matsumoto, K., Itoh, K., Tsuge, S., Hirata, Y., Mochizuki, K., Kokubun, N. und Yoshida, Y.; „*Improvement of Vacuum Nebulizing Interface for Direct Coupling Micro-Liquid Chromatograph with Mass-Spectrometer and Some Applications to Polar Natural Organic-Compounds*“; Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie; **311** (1982) 674 - 680
- [23] Niessen, W. M. A.; „*A Review of Direct Liquid Introduction Interfacing for Lc/Ms .2. Mass-Spectrometry and Applications*“; Chromatographia; **21** (1986) 342 - 354
- [24] Niessen, W. M. A.; „*A Review of Direct Liquid Introduction Interfacing for Lc/Ms .1. Instrumental Aspects*“; Chromatographia; **21** (1986) 277 - 287
- [25] Arpino, P.; „*Combined Liquid-Chromatography Mass-Spectrometry .1. Coupling by Means of A Moving Belt Interface*“; Mass Spectrometry Reviews; **8** (1989) 35 - 55
- [26] Lovins, R. E., Ellis, S. R., Tolbert, G. D. und McKinney, C. R.; „*Liquid Chromatography - Mass-Spectrometry - Coupling of A Liquid Chromatograph to A Mass-Spectrometer*“; Analytical Chemistry; **45** (1973) 1553 - 1556
- [27] Caprioli, R. M. und Suter, M. J. F.; „*Continuous-Flow Fast-Atom-Bombardment - Recent Advances and Applications*“; International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes; **118** (1992) 449 - 476

- [28] Ito, Y., Takeuchi, T. und Ishii, D.; „*Direct Coupling of Micro High-Performance Liquid-Chromatography with Fast Atom Bombardment Mass-Spectrometry*“; Journal of Chromatography; **346** (1985) 161 - 166
- [29] Arpino, P.; „*Combined Liquid-Chromatography Mass-Spectrometry .2. Techniques and Mechanisms of Thermospray*“; Mass Spectrometry Reviews; **9** (1990) 631 - 669
- [30] Arpino, P.; „*Combined Liquid-Chromatography Mass-Spectrometry .3. Applications of Thermospray*“; Mass Spectrometry Reviews; **11** (1992) 3 - 40
- [31] Blakley, C. R. und Vestal, M. L.; „*Thermospray Interface for Liquid-Chromatography Mass-Spectrometry*“; Analytical Chemistry; **55** (1983) 750 - 754
- [32] Niessen, W. M. A.; „*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*“; CRC Press; **97** (2006)
- [33] Niessen, W. M. A. und Tinke, A. P.; „*Liquid-Chromatography Mass-Spectrometry - General-Principles and Instrumentation*“; Journal of Chromatography A; **703** (1995) 37 - 57
- [34] Hiraoka, K., Fukasawa, H., Matsushita, F. und Aizawa, K.; „*High-Flow Liquid-Chromatography Mass-Spectrometry Interface Using A Parallel Ion-Spray*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **9** (1995) 1349 - 1355
- [35] Bruins, A. P., Covey, T. R. und Henion, J. D.; „*Ion Spray Interface for Combined Liquid Chromatography/Atmospheric Pressure Ionization Mass-Spectrometry*“; Analytical Chemistry; **59** (1987) 2642 - 2646
- [36] Whitehouse, C. M., Dreyer, R. N., Yamashita, M. und Fenn, J. B.; „*Electrospray Interface for Liquid Chromatographs and Mass Spectrometers*“; Analytical Chemistry; **57** (1985) 675 - 679
- [37] Yamashita, M. und Fenn, J. B.; „*Electrospray Ion-Source - Another Variation on the Free-Jet Theme*“; Journal of Physical Chemistry; **88** (1984) 4451 - 4459

-
- [38] Lin, B. W. und Sunner, J.; „*Ion-Transport by Viscous-Gas Flow-Through Capillaries*“; Journal of the American Society for Mass Spectrometry; **5** (1994) 873 - 885
- [39] Loo, J. A., Udseth, H. R. und Smith, D. R.; „*Collisional Effects on the Charge Distribution of Ions from Large Molecules, Formed in Electrospray-ionization Mass Spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **2** (1988) 207 - 210
- [40] Smith, R. D., Loo, J. A., Barinaga, C. J., Edmonds, C. G. und Udseth, H. R.; „*Collisional Activation and Collision-Activated Dissociation of Large Multiply Charged Polypeptides and Proteins Produced by Electrospray Ionization*“; Journal of the American Society for Mass Spectrometry; **1** (1990) 53 - 65
- [41] Voyksner, R. D. und Pack, T.; „*Investigation of Collisional-Activation Decomposition Process and Spectra in the Transport Region of An Electrospray Single-Quadrupole Mass-Spectrometer*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **5** (1991) 263 - 268
- [42] Bitsch, F., Shackleton, C. H. L., Ma, W. W., Park, G. und Nieder, M.; „*Taxoid Side-Chain Structure Determination by Electrospray-Ionization Tandem Mass-Spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **7** (1993) 891 - 894
- [43] Douglas, D. J. und French, J. B.; „*Collisional Focusing Effects in Radio-Frequency Quadrupoles*“; Journal of the American Society for Mass Spectrometry; **3** (1992) 398 - 408
- [44] Voyksner, R. D. und Lee, H.; „*Investigating the use of an octupole ion guide for ion storage and high-pass mass filtering to improve the quantitative performance of electrospray ion trap mass spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **13** (1999) 1427 - 1437
- [45] Dawson, J. H. J. und Guilhaus, M.; „*Orthogonal-acceleration Time-of-flight Mass Spectrometer*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **3** (1989) 155 - 159

- [46] Guilhaus, M., Selby, D. und Mlynski, V.; „*Orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry*“; *Mass Spectrometry Reviews*; **19** (2000) 65 - 107
- [47] Hayen, H. und Karst, U.; „*Strategies for the liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of non-polar compounds*“; *Journal of Chromatography A*; **1000** (2003) 549 - 565
- [48] Cole, R. B.; „*Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation and Applications*“; John Wiley, New York; (1997)
- [49] Fenn, J. B., Mann, M., Meng, C. K., Wong, S. F. und Whitehouse, C. M.; „*Electrospray Ionization-Principles and Practice*“; *Mass Spectrometry Reviews*; **9** (1990) 37 - 70
- [50] Robb, D. B., Covey, T. R. und Bruins, A. P.; „*Atmospheric pressure photoionisation: An ionization method for liquid chromatography-mass spectrometry*“; *Analytical Chemistry*; **72** (2000) 3653 - 3659
- [51] Syage, J. A., Evans, M. D. und Hanold, K. A.; „*Photoionization Mass Spectrometry*“; *American Laboratory*; **32** (2000) 24 - 29
- [52] Syage, J. A. und Evans, M. D.; „*Photoionization mass spectrometry - A powerful new tool for drug discovery*“; *Spectroscopy*; **16** (2001) 15 - 21
- [53] Constapel, M., Schellentrager, M., Schmitz, O. J., Gäb, S., Brockmann, K. J., Giese, R. und Benter, T.; „*Atmospheric-pressure laser ionization: a novel ionization method for liquid chromatography/mass spectrometry*“; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*; **19** (2005) 326 - 336
- [54] Hirabayashi, A., Sakairi, M. und Koizumi, H.; „*Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*“; *Analytical Chemistry*; **66** (1994) 4557 - 4559
- [55] Hiraoka, K., Saito, S., Katsuragawa, J. und Kudaka, I.; „*A new liquid chromatography mass spectrometry interface: Laser spray*“; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*; **12** (1998) 1170 - 1174

-
- [56] Cristoni, S., Bernardi, L. R., Biunno, I., Tubar, M. und Guidugli, F.; „*Surface-activated no-discharge atmospheric pressure chemical ionization*“; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*; **17** (2003) 1973 - 1981
- [57] Gallagher, R. T., Balogh, M. P., Davey, P., Jackson, M. R., Sinclair, I. und Southern, L. J.; „*Combined electrospray ionization-atmospheric pressure chemical ionization source for use in high-throughput LC-MS applications*“; *Analytical Chemistry*; **75** (2003) 973 - 977
- [58] Siegel, M. M., Tabei, K., Lambert, F., Candela, L. und Zoltan, B.; „*Evaluation of a dual electrospray ionization atmospheric pressure chemical ionization source at low flow rates (similar to 50 μ L/min) for the analysis of both highly and weakly polar compounds*“; *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*; **9** (1998) 1196 - 1203
- [59] Short, L. C., Hanold, K. A., Cai, S. S. und Syage, J. A.; „*Electrospray ionization/atmospheric pressure photoionization multimode source for low-flow liquid chromatography/mass spectrometric analysis*“; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*; **21** (2007) 1561 - 1566
- [60] Syage, J. A., Hanold, K. A., Lynn, T. C., Horner, J. A. und Thakur, R. A.; „*Atmospheric pressure photoionization II. Dual source ionization*“; *Journal of Chromatography A*; **1050** (2004) 137 - 149
- [61] Droste, S., Schellentrager, M., Constapel, M., Gäb, S., Lorenz, M., Brockmann, K. J., Benter, T., Lubda, D. und Schmitz, O. J.; „*A silica-based monolithic column in capillary HPLC and CEC coupled with ESI-MS or electrospray-atmospheric-pressure laser ionization-MS*“; *Electrophoresis*; **26** (2005) 4098 - 4103
- [62] Syage, J. A., Short, L. C. und Cai, S. S.; „*Atmospheric pressure photoionization - The second source for LC-MS?*“; *Lc Gc North America*; **26** (2008) 286
- [63] Yamashita, M. und Fenn, J. B.; „*Negative-Ion Production with the Electrospray Ion-Source*“; *Journal of Physical Chemistry*; **88** (1984) 4671 - 4675

- [64] Dole, M., Mack, L. L. und Hines, R. L.; „*Molecular Beams of Macroions*“; Journal of Chemical Physics; **49** (1968) 2240 - &
- [65] Gieniec, J., Mack, L. L., Nakamae, K., Gupta, C., Kumar, V. und Dole, M.; „*Electrospray Mass-Spectroscopy of Macromolecules - Application of An Ion-Drift Spectrometer*“; Biomedical Mass Spectrometry; **11** (1984) 259 - 268
- [66] Bruins, A. P.; „*Mechanistic aspects of electrospray ionization*“; Journal of Chromatography A; **794** (1998) 345 - 357
- [67] Kebarle, P.; „*A brief overview of the present status of the mechanisms involved in electrospray mass spectrometry*“; Journal of Mass Spectrometry; **35** (2000) 804 - 817
- [68] Kebarle, P. und Peschke, M.; „*On the mechanisms by which the charged droplets produced by electrospray lead to gas phase ions*“; Analytica Chimica Acta; **406** (2000) 11 - 35
- [69] Blades, A. T., Ikonomou, M. G. und Kebarle, P.; „*Mechanism of Electrospray Mass-Spectrometry - Electrospray As An Electrolysis Cell*“; Analytical Chemistry; **63** (1991) 2109 - 2114
- [70] Kostianen, R. und Bruins, A. P.; „*Effect of solvent on dynamic range and sensitivity in pneumatically-assisted electrospray (ion spray) mass spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **10** (1996) 1393 - 1399
- [71] Van Berkel G.J. und Zhou F.; „*Characterization of an Electrospray Ion Spruce as a Contolled-Current Electrolytic cell*“; Analytical Chemistry; **67** (1995) 2916 - 2923
- [72] Ikonomou, M. G., Blades, A. T. und Kebarle, P.; „*Electrospray Mass-Spectrometry of Methanol and Water Solutions Suppression of Electric-Discharge with Sf6 Gas*“; Journal of the American Society for Mass Spectrometry; **2** (1991) 497 - 505
- [73] Iribarne, J. V. und Thomson, B. A.; „*Evaporation of Small Ions from Charged Droplets*“; Journal of Chemical Physics; **64** (1976) 2287 - 2294

-
- [74] Ikonomou, M. G., Blades, A. T. und Kebarle, P.; „*Investigations of the Electrospray Interface for Liquid-Chromatography Mass-Spectrometry*“; Analytical Chemistry; **62** (1990) 957 - 967
- [75] Kostianen, R. und Bruins, A. P.; „*Effect of Multiple Sprayers on Dynamic-Range and Flow-Rate Limitations in Electrospray and Ionspray Mass-Spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **8** (1994) 549 - 558
- [76] Raffaelli, A. und Bruins, A. P.; „*Factors Affecting the Ionization Efficiency of Quaternary Ammonium-Compounds in Electrospray Ionspray Mass-Spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **5** (1991) 269 - 275
- [77] Zook, D. R. und Bruins, A. P.; „*On cluster ions, ion transmission, and linear dynamic range limitations in electrospray (ionspray) mass spectrometry*“; International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes; **162** (1997) 129 - 147
- [78] Cech, N. B. und Enke, C. G.; „*Relating electrospray ionization response to nonpolar character of small peptides*“; Analytical Chemistry; **72** (2000) 2717 - 2723
- [79] Tang, L. und Kebarle, P.; „*Dependence of Ion Intensity in Electrospray Mass Spectrometry on the Concentration of the Analytes in the Electrosprayed Solution*“; Analytical Chemistry; **65** (1993) 3654 - 3668
- [80] Cech, N. B. und Enke, C. G.; „*Practical implications of some recent studies in electrospray ionization fundamentals*“; Mass Spectrometry Reviews; **20** (2001) 362 - 387
- [81] Vanberkel, G. J., Mcluckey, S. A. und Glish, G. L.; „*Electrochemical Origin of Radical Cations Observed in Electrospray Ionization Mass-Spectra*“; Analytical Chemistry; **64** (1992) 1586 - 1593
- [82] Cole, R. B. und Zhu, J. H.; „*Chloride anion attachment in negative ion electrospray ionization mass spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **13** (1999) 607 - 611

- [83] Saf, R., Mirtl, C. und Hummel, K.; „*Electrospray Mass-Spectrometry Using Potassium-Iodide in Aprotic Organic-Solvents for the Ion Formation by Cation Attachment*“; Tetrahedron Letters; **35** (1994) 6653 - 6656
- [84] Amad, M. H., Cech, N. B., Jackson, G. S. und Enke, C. G.; „*Importance of gas-phase proton affinities in determining the electrospray ionization response for analytes and solvents*“; Journal of Mass Spectrometry; **35** (2000) 784 - 789
- [85] Stephenson, J. L. und Mcluckey, S. A.; „*Ion/ion reactions in the gas phase: Proton transfer reactions involving multiply-charged proteins*“; Journal of the American Chemical Society; **118** (1996) 7390 - 7397
- [86] Thurman, E. M., Ferrer, I. und Barcelo, D.; „*Choosing between atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization interfaces for the HPLC/MS analysis of pesticides*“; Analytical Chemistry; **73** (2001) 5441 - 5449
- [87] Carroll, D. I., Dzidic, I., Stillwel R. N., Horning, M. G. und Horning, E. C.; „*Subpicogram Detection System for Gas-Phase Analysis Based Upon Atmospheric-Pressure Ionization (Api) Mass-Spectrometry*“; Analytical Chemistry; **46** (1974) 706 - 710
- [88] Carroll, D. I., Dzidic, I., Stillwell, R. N., Haegele, K. D. und Horning, E. C.; „*Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry - Corona Discharge Ion-Source for Use in Liquid Chromatograph Mass Spectrometer-Computer Analytical System*“; Analytical Chemistry; **47** (1975) 2369 - 2373
- [89] Horning, E. C., Horning, M. G., Carroll, D. I., Dzidic, I. und STILLWEL.RN; „*New Picogram Detection System Based on A Mass-Spectrometer with An External Ionization Source at Atmospheric-Pressure*“; Analytical Chemistry; **45** (1973) 936 - 943
- [90] Horning, E. C., Carroll, D. I., Dzidic, I., Haegele, K. D., Horning, M. G. und STILLWEL.RN; „*Liquid Chromatograph Mass Spectrometer-Computer Analytical Systems - Continuous-Flow System Based on Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*“; Journal of Chromatography; **99** (1974) 13 - 21

-
- [91] Mitchum, R. K., Korfmacher, W. A., Moler, G. F. und Stalling, D. L.; „*Capillary Gas-Chromatography Atmospheric-Pressure Negative Chemical Ionization Mass-Spectrometry of the 22 Isomeric Tetrachlorodibenzo-P-Dioxins*“; Analytical Chemistry; **54** (1982) 719 - 722
- [92] Editors: Gross, M. L. und Caprioli, R. M.; „*Atmospheric Pressure Chemical Ionization: Principles, Instrumentation and Applications Molecular Ionization*“; Elsevier Hamburg, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Signapore, Sydney, Tokyo; The Encyclopedia of Mass Spectrometry Volume 6 Molecular Ionization (2001) 345 - 354
- [93] Dzidic, I., Carroll, D. I., Stillwell, R. N. und Horning, E. C.; „*Comparison of Positive-Ions Formed in Nickel-63 and Corona Discharge Ion Sources Using Nitrogen, Argon, Isobutane, Ammonia and Nitric-Oxide As Reagents in Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*“; Analytical Chemistry; **48** (1976) 1763 - 1768
- [94] Sunner, J., Ikonomou, M. G. und Kebarle, P.; „*Sensitivity Enhancements Obtained at High-Temperatures in Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*“; Analytical Chemistry; **60** (1988) 1308 - 1313
- [95] Sunner, J., Nicol, G. und Kebarle, P.; „*Factors Determining Relative Sensitivity of Analytes in Positive Mode Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*“; Analytical Chemistry; **60** (1988) 1300 - 1307
- [96] Carroll, D. I., Dzidic, I., Stillwell, R. N. und Horning, E. C.; „*Identification of Positive Reactant Ions Observed for Nitrogen Carrier Gas in Plasma Chromatograph Mobility Studies*“; Analytical Chemistry; **47** (1975) 1956 - 1959
- [97] Lien, G. W., Chen, C. Y. und Wu, C. F.; „*Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons by liquid chromatography/tandem mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionization or electrospray ionization with tropylium post-column derivatization*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **21** (2007) 3694 - 3700

- [98] Perez, S. und Barcelo, D.; „*Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage reference sludge by liquid chromatography-atmospheric-pressure chemical-ionization mass spectrometry*“; *Chromatographia*; **53** (2001) 475 - 480
- [99] Carroll, D. I., Dzidic, I., Horning, E. C. und Stillwell, R. N.; „*Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*“; *Applied Spectroscopy Reviews*; **17** (1981) 337 - 406
- [100] Dzidic, I., Carroll, D. I., STILLWEL.RN und Horning, E. C.; „*Gas-Phase Reactions - Ionization by Proton-Transfer to Superoxide Anions*“; *Journal of the American Chemical Society*; **96** (1974) 5258 - 5259
- [101] Karst, U.; „*Liquid chromatography-electron capture-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry*“; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*; **382** (2005) 1744 - 1746
- [102] Singh, G., Gutierrez, A., Xu, K. Y. und Blair, I. A.; „*Liquid chromatography/electron capture atmospheric pressure chemical ionization/mass spectrometry: Analysis of pentafluorobenzyl derivatives of biomolecules and drugs in the attomole range*“; *Analytical Chemistry*; **72** (2000) 3007 - 3013
- [103] Evans, C. S., Sleeman, R., Luke, J. und Keely, B. J.; „*A rapid and efficient mass spectrometric method for the analysis of explosives*“; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*; **16** (2002) 1883 - 1891
- [104] Zhao, X. M. und Yinon, J.; „*Identification of nitrate ester explosives by liquid chromatography-electrospray ionization and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry*“; *Journal of Chromatography A*; **977** (2002) 59 - 68
- [105] Driscoll, J. N. und Clarici, J. B.; „*New Photoionization Detector for Gas-Chromatography*“; *Chromatographia*; **9** (1976) 567 - 570
- [106] Driscoll, J. N.; „*Evaluation of A New Photoionization Detector for Organic-Compounds*“; *Journal of Chromatography*; **134** (1977) 49 - 55

-
- [107] Driscoll, J. N., Conron, D. W., Ferioli, P., Krull, I. S. und Xie, K. H.; „*Trace Analysis of Organic-Compounds by High-Performance Liquid-Chromatography with Photoionization Detection*“; *Journal of Chromatography*; **302** (1984) 43 - 50
- [108] Locke, D. C., Dhingra, B. S. und Baker, A. D.; „*Liquid-Phase Photo-Ionization Detector for Liquid-Chromatography*“; *Analytical Chemistry*; **54** (1982) 447 - 450
- [109] Schmermund, J. T. und Locke, D. C.; „*Universal Photoionization Detector for Liquid-Chromatography*“; *Analytical Letters*; **8** (1975) 611 - 625
- [110] Syage, J. A.; „*Mechanism of $[M+H]^+$ formation in photoionization mass spectrometry*“; *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*; **15** (2004) 1521 - 1533
- [111] Robb, D. B. und Blades, M. W.; „*State-of-the-art in atmospheric pressure photoionization for LC/MS*“; *Analytica Chimica Acta*; **627** (2008) 34 - 49
- [112] Short, L. C., Cai, S. S. und Syage, J. A.; „*APPI-MS: Effects of mobile phases and VUV lamps on the detection of PAH compounds*“; *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*; **18** (2007) 589 - 599
- [113] Itoh, N., Aoyagi, Y. und Yarita, T.; „*Optimization of the dopant for the trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by liquid chromatography/dopant-assisted atmospheric-pressure photoionization/mass spectrometry*“; *Journal of Chromatography A*; **1131** (2006) 285 - 288
- [114] Kauppila, T. J., Bruins, A. P. und Kostianen, R.; „*Effect of the solvent flow rate on the ionization efficiency in atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry*“; *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*; **16** (2005) 1399 - 1407
- [115] Kauppila, T. J., Kostianen, R. und Bruins, A. P.; „*Anisole, a new dopant for atmospheric pressure photoionization mass spectrometry of low proton affinity, low ionization energy compounds*“; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*; **18** (2004) 808 - 815

- [116] Hanold, K. A., Fischer, S. M., Cormia, P. H., Miller, C. E. und Syage, J. A.; „*Atmospheric pressure photoionization. I. General properties for LC/MS*“; Analytical Chemistry; **76** (2004) 2842 - 2851
- [117] Raffaelli, A. und Saba, A.; „*Atmospheric pressure photoionization mass spectrometry*“; Mass Spectrometry Reviews; **22** (2003) 318 - 331
- [118] Basso, E., Marotta, E., Seraglia, R., Tubaro, M. und Traldi, P.; „*On the formation of negative ions in atmospheric pressure photoionization conditions*“; Journal of Mass Spectrometry; **38** (2003) 1113 - 1115
- [119] Kawano, S., Murata, H., Mikami, H., Mukaibatake, K. und Waki, H.; „*Method optimization for analysis of fullerenes by liquid chromatography/atmospheric pressure photoionization mass spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **20** (2006) 2783 - 2785
- [120] Song, L. G., Wellman, A. D., Yao, H. F. und Adcock, J.; „*Electron capture atmospheric pressure photoionization mass spectrometry: analysis of fullerenes, perfluorinated compounds, and pentafluorobenzyl derivatives*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **21** (2007) 1343 - 1351
- [121] Song, L. G., Wellman, A. D., Yao, H. F. und Bartmess, J. E.; „*Negative ion-atmospheric pressure photoionization: Electron capture, dissociative electron capture, proton transfer, and anion attachment*“; Journal of the American Society for Mass Spectrometry; **18** (2007) 1789 - 1798
- [122] Kauppila, T. J., Kotiaho, T., Kostianen, R. und Bruins, A. P.; „*Negative ion-atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry*“; Journal of the American Society for Mass Spectrometry; **15** (2004) 203 - 211
- [123] Riu, A., Zalko, D. und Debrauwer, L.; „*Study of polybrominated diphenyl ethers using both positive and negative atmospheric pressure photoionization and tandem mass spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **20** (2006) 2133 - 2142

-
- [124] Boesl, U., Zimmermann, R., Weickhardt, C., Lenoir, D., Schramm, K. W., Kettrup, A. und Schlag, E. W.; „*Resonance-Enhanced Multiphoton Ionization - A Species-Selective Ion-Source for Analytical Time-Of-Flight Mass-Spectroscopy*“; *Chemosphere*; **29** (1994) 1429 - 1440
- [125] Tembreull, R., Sin, C. H., Pang, H. M. und Lubman, D. M.; „*Resonance Enhanced Multiphoton Ionization Spectroscopy for Detection of Azabenzene in Supersonic Beam Mass-Spectrometry*“; *Analytical Chemistry*; **57** (1985) 2911 - 2917
- [126] Boesl, U.; „*Special feature: Tutorial - Laser mass spectrometry for environmental and industrial chemical trace analysis*“; *Journal of Mass Spectrometry*; **35** (2000) 289 - 304
- [127] Nesselrodt, D. R. und Baer, T.; „*2+1 resonance enhanced multiphoton ionization spectroscopy as a tool for stereochemical and conformational analysis of substituted five- and six-membered rings*“; *Journal of Molecular Structure*; **377** (1996) 201 - 218
- [128] Uchimura, T.; „*Sensitive and selective analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins/dibenzofurans and their precursors by supersonic jet/resonance-enhanced multiphoton ionization/time-of-flight mass spectrometry*“; *Analytical Sciences*; **21** (2005) 1395 - 1400
- [129] Appel, M. F., Short, L. C. und Benter, T.; „*Development of medium pressure laser ionization, MPLI. Description of the MPLI ion source*“; *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*; **15** (2004) 1885 - 1896
- [130] Schmidt, S., Appel, M. F., Garnica, R. M., Schindler, R. N. und Benter, T.; „*Atmospheric pressure laser ionization. An analytical technique for highly selective detection of ultralow concentrations in the gas phase*“; *Analytical Chemistry*; **71** (1999) 3721 - 3729
- [131] Boesl, U.; „*Multiphoton Excitation and Mass-Selective Ion Detection for Neutral and Ion Spectroscopy*“; *Journal of Physical Chemistry*; **95** (1991) 2949 - 2962

- [132] Atkins, P. W.; „*Physikalische Chemie*“; VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim (1999)
- [133] Editors: Bass, M. und Stich, M. L.; „*Laser Handbook*“; Elsevier Science Publishing B.V.; Volume **5** (1985)
- [134] McIntyre, I. A. und Rhodes, C. K.; „*High-Power Ultrafast Excimer Lasers*“; Journal of Applied Physics; **69** (1991) R1 - R19
- [135] Tarasenko, V. F. und Yakovlenko, S. I.; „*Pulsed lasers on plasmas produced by electron beams and discharges*“; Quantum Electronics; **33** (2003) 117 - 128
- [136] Annesley, T. M.; „*Ion suppression in mass spectrometry*“; Clinical Chemistry; **49** (2003) 1041 - 1044
- [137] Lorenz, M., Schiewek, R., Brockmann, K. J., Schmitz, O. J., Gäb, S. und Benter, T.; „*The distribution of ion acceptance in atmospheric pressure ion sources: Spatially resolved APLI measurements*“; Journal of the American Society for Mass Spectrometry; **19** (2008) 400 - 410
- [138] Kaiser, H. und Specker, H.; „*Bewertung und Vergleich Von Analysenverfahren*“; Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie; **149** (1956) 46 - 66
- [139] Wissdorf, W., Lorenz, M., Brockmann, K. J., Schmitz, O. J., Gäb, S. und Benter, T.; „*Determination of the Distribution of the Ion Acceptance (DIA) in Atmospheric Pressure Ionization Sources*“ Proceedings of the 55th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (2007)
- [140] Baird, W. M., Hooven, L. A. und Mahadevan, B.; „*Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and mechanism of action*“; Environmental and Molecular Mutagenesis; **45** (2005) 106 - 114
- [141] Brookes, P. und Osborne, M. R.; „*Mutation in Mammalian-Cells by Stereoisomers of Anti-Benzo[A]Pyrene-Diolepoxide in Relation to the Extent and Nature of the Dna Reaction-Products*“; Carcinogenesis; **3** (1982) 1223 - 1226

- [142] Cavalieri, E. L., Higginbotham, S., Ramakrishna, N. V. S., Devanesan, P. D., Todorovic, R., Rogan, E. G. und Salmasi, S.; „*Comparative Dose-Response Tumorigenicity Studies of Dibenzo[A,L]Pyrene Versus 7,12-Dimethylbenz[A]Anthracene, Benzo[A]Pyrene and 2 Dibenzo[A,L]Pyrene Dihydrodiols in Mouse Skin and Rat Mammary-Gland*“; *Carcinogenesis*; **12** (1991) 1939 - 1944
- [143] Mahadevan, B., Parsons, H., Musafia, T., Sharma, A. K., Amin, S., Pereira, C. und Baird, W. M.; „*Effect of artificial mixtures of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons present in coal tar, urban dust, and diesel exhaust particulates on MCF-7 cells in culture*“; *Environmental and Molecular Mutagenesis*; **44** (2004) 99 - 107
- [144] Simon, R., Palme, S. und Anklam, E.; „*Validation (in-house and collaborative) of a method based on liquid chromatography for the quantitation of 15 European-priority polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke flavourings: HPLC-method validation for 15 EU priority PAH in smoke condensates*“; *Food Chemistry*; **104** (2007) 876 - 887
- [145] Marsh, N. D., Mikolajczak, C. J. und Wornat, M. J.; „*The effect of ethynyl substitution and cyclopenta fusion on the ultraviolet absorption spectra of polycyclic aromatic hydrocarbons*“; *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*; **56** (2000) 1499 - 1511
- [146] Violi, A.; „*Cyclodehydrogenation reactions to cyclopentafused polycyclic aromatic hydrocarbons*“; *Journal of Physical Chemistry A*; **109** (2005) 7781 - 7787
- [147] Newport Omega Electronics Inc.; „*T-4 Temperatur Messtechnik*“ (2005)
- [148] Dalluge, J., Beens, J. und Brinkman, U. A. T.; „*Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool*“; *Journal of Chromatography A*; **1000** (2003) 69 - 108
- [149] „*Compass 1.1 for micrOTOF Software / Manuals*“; Bruker Daltonik GmbH Bremen (2005)

- [150] „*Manual for DANI MPC 1000 gas chromatograph*“; Dani Monza (2008)
- [151] „*Verordnung der (EG) Nr. 208/2005 Der Kommission zur Änderung der (EG) Nr. 466/2001 im Hinblick auf polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe*“; Amtsblatt der Europäischen Union; (2005) L34/3 - L34/4
- [152] Taheri, R.; „*Analyse polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe und Tenside in komplexer Matrix mittels comprehensiver zweidimensionaler Gaschromatographie*“; Dissertation, Bergische Universität Wuppertal; (2006)
- [153] Jacob, R. und Seidel, A.; „*Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine*“; Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences; **778** (2002) 31 - 47
- [154] Srogi, K.; „*Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review*“; Environmental Chemistry Letters; **5** (2007) 169 - 195
- [155] Castano-Vinyals, G., D'Errico, A., Malats, N. und Kogevinas, M.; „*Biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental air pollution*“; Occupational and Environmental Medicine; **61** (2004)
- [156] Jongeneelen, F. J.; „*Biological Monitoring of Environmental Exposure to Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons - 1-Hydroxypyrene in Urine of People*“; Toxicology Letters; **72** (1994) 205 - 211
- [157] Chen, H. W.; „*Determination of 1-hydroxypyrene in human urine by acid hydrolysis coupled to solid-phase microextraction and semi-microcolumn liquid chromatography*“; Analytical Sciences; **23** (2007) 1221 - 1225
- [158] Grimmer, G., Jacob, J., Dettbarn, G. und Naujack, K. W.; „*Determination of urinary metabolites of polycyclic aromatic: Hydrocarbons (PAH) for the risk assessment of PAH-exposed workers*“; International Archives of Occupational and Environmental Health; **69** (1997) 231 - 239

- [159] Jongeneelen, F. J., Anzion, R. B. M. und Henderson, P. T.; „*Determination of Hydroxylated Metabolites of Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons in Urine*“; Journal of Chromatography-Biomedical Applications; **413** (1987) 227 - 232
- [160] Meloun, M. und Dluhosova, Z.; „*Precision limits and interval estimation in the calibration of 1-hydroxypyrene in urine and hexachlorbenzene in water, applying the regression triplet procedure on chromatographic data*“; Analytical and Bioanalytical Chemistry; **390** (2008) 1899 - 1910
- [161] Smith, C. J., Walcott, C. J., Huang, W. L., Maggio, V., Grainger, J. und Patterson, D. G.; „*Determination of selected monohydroxy metabolites of 2-, 3- and 4-ring polycyclic aromatic hydrocarbons in urine by solid-phase microextraction and isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry*“; Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences; **778** (2002) 157 - 164
- [162] Whiton, R. S., Witherspoon, C. L. und Buckley, T. J.; „*Improved High-Performance Liquid-Chromatographic Method for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolites in Human Urine*“; Journal of Chromatography B-Biomedical Applications; **665** (1995) 390 - 394
- [163] Hecht, S. S.; „*Human urinary carcinogen metabolites: biomarkers for investigating tobacco and cancer*“; Carcinogenesis; **23** (2002) 907 - 922
- [164] Vanrooij, J. G. M., Veeger, M. M. S., Bodelierbade, M. M., Scheepers, P. T. J. und Jongeneelen, F. J.; „*Smoking and Dietary-Intake of Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons As Sources of Interindividual Variability in the Base-Line Excretion of 1-Hydroxypyrene in Urine*“; International Archives of Occupational and Environmental Health; **66** (1994) 55 - 65
- [165] Solntsev, K. M., Huppert, D., Agmon, N. und Tolbert, L. M.; „*Photochemistry of "super" photoacids. 2. Excited-state proton transfer in methanol/water mixtures*“; Journal of Physical Chemistry A; **104** (2000) 4658 - 4669

- [166] Tolbert, L. M. und Solntsev, K. M.; „*Excited-state proton transfer: From constrained systems to "super" photoacids to superfast proton transfer*“; *Accounts of Chemical Research*; **35** (2002) 19 - 27
- [167] Arthen-Engeland, T. und Dunsbach, R.; „*New generation of GC/high resolution TOF-MS: APCI/APLI source for increased flexibility*“; *Lc Gc Europe*; (2008) 34 - 35
- [168] Robb, D. B. und Blades, M. W.; „*Effects of solvent flow, dopant flow, and lamp current on dopant-assisted atmospheric pressure photoionization (DA-APPI) for LC-MS. Ionization via proton transfer*“; *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*; **16** (2005) 1275 - 1290
- [169] Robb, D. B., Smith, D. R. und Blades, M. W.; „*Investigation of Substituted-Benzene Dopants for Charge Exchange Ionization of Nonpolar Compounds by Atmospheric Pressure Photoionization*“; *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*; **19** (2008) 955 - 963
- [170] Korfmacher, W. A. und Miller, D. W.; „*Analysis of 1-Nitropyrene and 4-Nitropyrene and 1-Nitropyrene-D9 Via Fused-Silica Gc Combined with Negative-Ion Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*“; *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*; **7** (1984) 581 - 583
- [171] Korfmacher, W. A. und Mitchum, R. K.; „*Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry of the Polychlorinated Dibenzo-Para-Dioxins*“; *Organic Mass Spectrometry*; **19** (1984) 299 - 305
- [172] Korfmacher, W. A., Fu, P. P., Chou, M. und Mitchum, R. K.; „*Analysis of Nitro-Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons Via Fused-Silica Gc Combined with Atmospheric-Pressure Ionization Ms*“; *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*; **187** (1984) 36
- [173] Korfmacher, W. A. und Rushing, L. G.; „*Analysis of 7 Nitronaphthalene Compounds Via Fused-Silica Gas-Chromatography Combined with Negative-Ion*“

- Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*"; Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications; **9** (1986) 293 - 295
- [174] Korfmacher, W. A., Rushing, L. G., Engelbach, R. J., Freeman, J. P., Djuric, Z., Fifer, E. K. und Beland, F. A.; „*Analysis of 3 Aminonitropyrene Isomers Via Fused-Silica Gas-Chromatography Combined with Negative-Ion Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*”; Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications; **10** (1987) 43 - 45
- [175] Korfmacher, W. A., Rushing, L. G. und Engelbach, R. J.; „*Application of Fused-Silica Gas-Chromatography Combined with Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry for the Analysis of Aminonitropyrenes and Methylated Aminonitropyrenes*”; Abstracts of Papers of the American Chemical Society; **194** (1987) 110
- [176] Korfmacher, W. A., Rushing, L. G., Arey, J. und Zielinska, B.; „*Utility of Fused-Silica Gas-Chromatography Combined with Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry for the Analysis of Mononitropyrenes and Mononitrofluoranthenes*”; Abstracts of Papers of the American Chemical Society; **194** (1987) 111
- [177] Korfmacher, W. A., Rushing, L. G., Engelbach, R. J., Freeman, J. P., Djuric, Z., Fifer, E. K. und Beland, F. A.; „*Analysis of 3 Aminonitropyrene Isomers Via Fused-Silica Gas-Chromatography Combined with Negative-Ion Atmospheric-Pressure Ionization Mass-Spectrometry*”; Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications; **10** (1987) 43 - 45
- [178] Mitchum, R. K., Moler, G. F. und Korfmacher, W. A.; „*Combined Capillary Gas Chromatography Atmospheric Pressure Negative Chemical Ionization-Mass Spectrometry for the Determination of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-Para-Dioxin in Tissue*”; Analytical Chemistry; **52** (1980) 2278 - 2282
- [179] McEwen, C. N. und McKay, R. G.; „*A combination atmospheric pressure LC/MS : GC/MS ion source: Advantages of dual AP-LC/MS : GC/MS instrumentation*”; Journal of the American Society for Mass Spectrometry; **16** (2005) 1730 - 1738

- [180] Byrdwell, W. C.; „*Atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for analysis of lipids*“; *Lipids*; **36** (2001) 327 - 346
- [181] Haapala, M., Luosujarvi, L., Saarela, V., Kotiaho, T., Ketola, R. A., Franssila, S. und Kostiainen, R.; „*Microchip for combining gas chromatography or capillary liquid chromatography with atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry*“; *Analytical Chemistry*; **79** (2007) 4994 - 4999
- [182] Luosujarvi, L., Karikko, M. M., Haapala, M., Saarela, V., Huhtala, S., Franssila, S., Kostiainen, R., Kotiaho, T. und Kauppila, T. J.; „*Gas chromatography/mass spectrometry of polychlorinated biphenyls using atmospheric pressure chemical ionization and atmospheric pressure photoionization microchips*“; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*; **22** (2008) 425 - 431
- [183] Mcewen, C. N.; „*GC/MS on an LC/MS instrument using atmospheric pressure photoionization*“; *International Journal of Mass Spectrometry*; **259** (2007) 57 - 64
- [184] Destriau, G.; „*Scintillations of zinc sulfides with α -rays*“; *Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique*; **33** (1936) 587 - 625
- [185] Holonyak, N. und Bevacqua, S. F.; „*Coherent (Visible) Light Emission from Ga(AsI-Xpx) Junctions*“; *Applied Physics Letters*; **1** (1962) 82 - 83
- [186] Pope, M., Magnante, P. und Kallmann, H. P.; „*Electroluminescence in Organic Crystals*“; *Journal of Chemical Physics*; **38** (1963) 2042 - &
- [187] Burroughes, J. H., Bradley, D. D. C., Brown, A. R., Marks, R. N., Mackay, K., Friend, R. H., Burns, P. L. und Holmes, A. B.; „*Light-Emitting-Diodes Based on Conjugated Polymers*“; *Nature*; **347** (1990) 539 - 541
- [188] Mitschke, U. und Bauerle, P.; „*The electroluminescence of organic materials*“; *Journal of Materials Chemistry*; **10** (2000) 1471 - 1507

-
- [189] Winkler, B., Meghdadi, F., Tasch, S., Mullner, R., Resel, R., Saf, R., Leising, G. und Stelzer, F.; „*Novel fluorinated pi-conjugated oligomers as electron transport materials in organic light emitting diodes*“; *Optical Materials*; **9** (1998) 159 - 162
- [190] Tandon, K., Ramasesha, S. und Mazumdar, S.; „*Electron correlation effects in electron-hole recombination in organic light-emitting diodes*“; *Physical Review B*; **67** (2003)
- [191] Adachi, C., Baldo, M. A., Forrest, S. R. und Thompson, M. E.; „*High-efficiency organic electrophosphorescent devices with tris(2-phenylpyridine)iridium doped into electron-transporting materials*“; *Applied Physics Letters*; **77** (2000) 904 - 906
- [192] Tokito, S., Iijima, T., Tsuzuki, T. und Sato, F.; „*High-efficiency white phosphorescent organic light-emitting devices with greenish-blue and red-emitting layers*“; *Applied Physics Letters*; **83** (2003) 2459 - 2461
- [193] Tsuzuki, T., Shirasawa, N., Suzuki, T. und Tokito, S.; „*Color tunable organic light-emitting diodes using pentafluorophenyl-substituted iridium complexes*“; *Advanced Materials*; **15** (2003) 1455 - 1458
- [194] Adachi, C., Baldo, M. A., Thompson, M. E. und Forrest, S. R.; „*Nearly 100% internal phosphorescence efficiency in an organic light-emitting device*“; *Journal of Applied Physics*; **90** (2001) 5048 - 5051
- [195] Takats, Z., Wiseman, J. M., Gologan, B. und Cooks, R. G.; „*Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization*“; *Science*; **306** (2004) 471 - 473
- [196] Cody, R. B., Laramée, J. A. und Durst, H. D.; „*Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions*“; *Analytical Chemistry*; **77** (2005) 2297 - 2302
- [197] McEwen, C. N., McKay, R. G. und Larsen, B. S.; „*Analysis of solids, liquids, and biological tissues using solids probe introduction at atmospheric pressure on commercial LC/MS instruments*“; *Analytical Chemistry*; **77** (2005) 7826 - 7831

- [198] McGrath, T., Sharma, R. und Hajaligol, M.; „*An experimental investigation into the formation of polycyclic-aromatic hydrocarbons (PAH) from pyrolysis of biomass materials*“; *Fuel*; **80** (2001) 1787 - 1797
- [199] McGrath, T. E., Chan, W. G. und Hajaligol, M. R.; „*Low temperature mechanism for the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from the pyrolysis of cellulose*“; *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*; **66** (2003) 51 - 70
- [200] Sharma, R. K. und Hajaligol, M. R.; „*Effect of pyrolysis conditions on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from polyphenolic compounds*“; *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*; **66** (2003) 123 - 144
- [201] Hopps, H. B.; „*Preparation and Reactions of Diazomethane*“; *Aldrichimica acta*; **3** (1970) 9 - 12
- [202] Little, J. L.; „*Artifacts in trimethylsilyl derivatization reactions and ways to avoid them*“; *Journal of Chromatography A*; **844** (1999) 1 - 22
- [203] Segura, J., Ventura, R. und Jurado, C.; „*Derivatization procedures for gas chromatographic mass spectrometric determination of xenobiotics in biological samples, with special attention to drugs of abuse and doping agents*“; *Journal of Chromatography B*; **713** (1998) 61 - 90
- [204] Wells, R. J.; „*Recent advances in non-silylation derivatization techniques for gas chromatography*“; *Journal of Chromatography A*; **843** (1999) 1 - 18
- [205] Yonamine, M. und Silva, O. A.; „*Confirmation of cocaine exposure by gas chromatography-mass spectrometry of urine extracts after methylation of benzoylecgonine*“; *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*; **773** (2002) 83 - 87
- [206] Krull, I. S., Swartz, M. und Driscoll, J. N.; „*Derivations for Improved Detection of Alcohols by Gas-Chromatography and Photoionization Detection (Gc-Pid)*“; *Analytical Letters Part A-Chemical Analysis*; **17** (1984) 2369 - 2384

-
- [207] Vandenesse, R. J., Velthorst, N. H., Brinkman, U. A. T. und Gooijer, C.; „*Laser-Induced Fluorescence Detection of Native-Fluorescent Analytes in Column Liquid-Chromatography, A Critical-Evaluation*“; Journal of Chromatography A; **704** (1995) 1 - 25
- [208] Chan, W. C. W., Maxwell, D. J., Gao, X. H., Bailey, R. E., Han, M. Y. und Nie, S. M.; „*Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging*“; Current Opinion in Biotechnology; **13** (2002) 40 - 46
- [209] Couderc, F., Causse, E. und Bayle, C.; „*Drug analysis by capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence*“; Electrophoresis; **19** (1998) 2777 - 2790
- [210] Garcia-Campana, A. M., Taverna, M. und Fabre, H.; „*LIF detection of peptides and proteins in CE*“; Electrophoresis; **28** (2007) 208 - 232
- [211] Lacroix, M., Poinot, V., Fournier, C. und Couderc, F.; „*Laser-induced fluorescence detection schemes for the analysis of proteins and peptides using capillary electrophoresis*“; Electrophoresis; **26** (2005) 2608 - 2621
- [212] Silva, M.; „*MEKC: An update focusing on practical aspects*“; Electrophoresis; **28** (2007) 174 - 192
- [213] Fernandes-Whaley, M., Muhlberger, F., Whaley, A., Adam, T., Zimmermann, R., Rohwer, E. und Walte, A.; „*On-line derivatization for resonance-enhanced multiphoton ionization time-of-flight mass spectrometry: Detection of aliphatic aldehydes and amines via reactive coupling of aromatic photo ionization labels*“; Analytical Chemistry; **77** (2005) 1 - 10
- [214] Srinivasan, J. R., Romano, L. J. und Levis, R. J.; „*Velocity Distributions for A Laser-Vaporized, Anthracene-Labeled Nucleotide*“; Journal of Physical Chemistry; **99** (1995) 13272 - 13279
- [215] Mikolajczyk, M. und Kielbasinski, P.; „*Recent Developments in the Carbodiimide Chemistry*“; Tetrahedron; **37** (1981) 233 - 284

- [216] Williams, A. und Ibrahim, I. T.; „*Carbodiimide Chemistry - Recent Advances*“; Chemical Reviews; **81** (1981) 589 - 636
- [217] Hassner, A. und Alexanian, V.; „*Synthetic Methods .12. Direct Room-Temperature Esterification of Carboxylic-Acids*“; Tetrahedron Letters; (1978) 4475 - 4478
- [218] Seidel, C. A. M., Schulz, A. und Sauer, M. H. M.; „*Nucleobase-specific quenching of fluorescent dyes .I. Nucleobase one-electron redox potentials and their correlation with static and dynamic quenching efficiencies*“; Journal of Physical Chemistry; **100** (1996) 5541 - 5553
- [219] Wirtz, M., Stach, D., Kliem, H. C., Wiessler, M. und Schmitz, O. J.; „*Determination of the DNA methylation level in tumor cells by capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence detection*“; Electrophoresis; **25** (2004) 839 - 845
- [220] Hafner, K., Zimmermann, R., Rohwer, E. R., Dorfner, R. und Kettrup, A.; „*A capillary-based supersonic jet inlet system for resonance-enhanced laser ionization mass spectrometry: Principle and first on-line process analytical applications*“; Analytical Chemistry; **73** (2001) 4171 - 4180
- [221] Hayes, J. M.; „*Analytical Spectroscopy in Supersonic Expansions*“; Chemical Reviews; **87** (1987) 745 - 760
- [222] Uchimura, T., Deguchi, T. und Imasaka, T.; „*Development of a narrow-band tunable picosecond dye laser and its application to excited-state lifetime measurement of a chlorinated aromatic hydrocarbon*“; Analytical Sciences; **21** (2005) 693 - 695
- [223] Zimmermann, R., Boesl, U., Weickhardt, C., Lenoir, D., Schramm, K. W., Kettrup, A. und Schlag, E. W.; „*Isomer-Selective Ionization of Chlorinated Aromatics with Lasers for Analytical Time-of-Flight Mass Spectrometry: First Results for Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins (PCDD), Biphenyls (PCB) and Benzenes (PCBz)*“; Chemosphere; **29** (1994) 1877 - 1888

- [224] Rink, J. E. und Boesl, U.; „*Mass-selected resonance-enhanced multiphoton ionisation spectra of laser-desorbed molecules for environmental analysis: 16 representative polycyclic aromatic compounds*“; European Journal of Mass Spectrometry; **9** (2003) 23 - 32
- [225] Mönnikes, R., Kersten, H., Schiewek, R., Lorenz, M., Schmitz, O. J., Gäb, S., Brockmann, K. J. und Benter, T.; „*Measurements of REMPI Spectra of Selected Ionization Labels at Reduced and Atmospheric Pressure*“; Proceedings of the 56th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics; (2008)
- [226] Klee, S.; „*Zeitaufgelöste Ionenpaket-Messungen zur Laserionisation bei Atmosphärendruck*“ Bachelor Thesis Bergische Universität Wuppertal (2008)
- [227] Lorenz, M., Klee, S., Monnikes, R., Mangas Suárez, A. L., Brockmann, K. J., Schmitz, O. J., Gäb, S. und Benter, T.; „*Atmospheric Pressure Laser Ionisation (APLI): Investigations on Ion Transport in Atmospheric Pressure Ion Sources*“ Proceedings of the 56th ASMS Conference on Mass Spectrometry an Allied Topics (2008)
- [228] Zakheim, D. S. und Johnson, P. M.; „*Rate-Equation Modeling of Molecular Multi-Photon Ionization Dynamics*“; Chemical Physics; **46** (1980) 263 - 272
- [229] Ulbricht, J.; „*Grundlagen der Synthese von Polymeren*“; Hütig&Wepf; 2. überarbeitete Auflage, Basel (1992)
- [230] Mank, R. und Kala, H.; „*The Use of Polymeric Auxiliary Products in Pharmaceutical Technology*“; Acta Polymerica; **37** (1986) 524 - 532
- [231] Dekoster, C. G., Duursma, M. C., Vanrooij, G. J., Heeren, R. M. A. und Boon, J. J.; „*Endgroup Analysis of Polyethylene-Glycol Polymers by Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization Fourier-Transform Ion-Cyclotron Resonance Mass-Spectrometry*“; Rapid Communications in Mass Spectrometry; **9** (1995) 957 - 962

- [232] Hogan, J. D. und Laude, D. A.; „*Mass Discrimination in Laser Desorption Fourier-Transform Ion-Cyclotron Resonance Mass-Spectrometry Cation-Attachment Spectra of Polymers*“; Analytical Chemistry; **64** (1992) 763 - 769
- [233] Varray, S., Aubagnac, J. L., Lamaty, E., Lazaro, R., Martinez, J. und Enjalbal, C.; „*Poly(ethyleneglycol) in electrospray ionization (ESI) mass spectrometry*“; Analisis; **28** (2000) 263 - 268
- [234] Huang, S. K. und Rood, M. H.; „*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; **13** (1999) 1152 - 1158
- [235] Seraglia, R., Traldi, P., Mendichi, R., Sartore, L., Schiavon, O. und Veronese, F. M.; „*Fast-Atom-Bombardment Mass-Spectrometry for the Determination of the Molecular-Weight Distribution of Poly(Ethylene Glycols) and Their Derivatives*“; Analytica Chimica Acta; **262** (1992) 277 - 283
- [236] Flory, P. J.; „*Fundamental Principles of Condensation Polymerization*“; Chemical Reviews; **39** (1946) 137 - 197
- [237] Garcia-Gonzalez, D. L., Aparicio-Ruiz, R. und Aparicio, R.; „*Virgin olive oil - Chemical implications on quality and health*“; European Journal of Lipid Science and Technology; **110** (2008) 602 - 607
- [238] Bockisch, M.; „*Handbuch der Lebensmitteltechnologie - Nahrungsfette -und Öle*“; Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart (Deutschland); (1993)
- [239] „*DIN EN ISO 660*“ (2005)
- [240] Fabry, B.; „*Surfactants - Properties, Raw-Materials, Production, Applications*“; Chemie in Unserer Zeit; **25** (1991) 214 - 222
- [241] Mahajan, S., Konar, S. K. und Boocock, D. G. B.; „*Determining the acid number of biodiesel*“; Journal of the American Oil Chemists Society; **83** (2006) 567 - 570

-
- [242] Sekiya, M., Ohashi, Y., Terao, Y. und Ito, K.; „*New Convenient Synthesis of Diazoalkanes from N-[(N-Nitrosoalkylamino)Methyl]Benzamides*“; Chemical & Pharmaceutical Bulletin; **24** (1976) 369 - 374
- [243] Watase, Y., Terao, Y. und Sekiya, M.; „*Synthesis of N-(Alkylaminomethyl)Amides*“; Chemical & Pharmaceutical Bulletin; **21** (1973) 2775 - 2778
- [244] Glastrup, J.; „*Diazomethane preparation for gas chromatographic analysis*“; Journal of Chromatography A; **827** (1998) 133 - 136
- [245] Barker, S. A., Monti, J. A., Christian, S. T., Benington, F. und Morin, R. D.; „*9-Diazomethylanthracene As A New Fluorescence and Ultraviolet Label for the Spectrometric Detection of Picomole Quantities of Fatty-Acids by High-Pressure Liquid-Chromatography*“; Analytical Biochemistry; **107** (1980) 116 - 123
- [246] Jakobsson, A., Ericsson, J. und Dallner, G.; „*Metabolism of Fatty-Acids and Their Incorporation Into Phospholipids of the Mitochondria and Endoplasmic-Reticulum in Isolated Hepatocytes Determined by Isolation of Fluorescence Derivatives*“; Biochimica et Biophysica Acta; **1046** (1990) 277 - 287
- [247] Nimura, N. und Kinoshita, T.; „*Fluorescent Labeling of Fatty-Acids with 9-Anthryldiazomethane (Adam) for High-Performance Liquid-Chromatography*“; Analytical Letters Part A-Chemical Analysis; **13** (1980) 191 - 202
- [248] Tojo, H., Ono, T., Kuramitsu, S., Kagamiyama, H. und Okamoto, M.; „*A Phospholipase-A2 in the Supernatant Fraction of Rat Spleen - Its Similarity to Rat Pancreatic Phospholipase-A2*“; Journal of Biological Chemistry; **263** (1988) 5724 - 5731