



UNIVERSITÄT PADERBORN
Die Universität der Informationsgesellschaft

Kopplung einer Ultrahochleistungs- Flüssigchromatographie und eines Elektrospray-Massenspektrometers

Doktorarbeit

Zur Erlangung des akademischen Grades des

Doktor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

Universität Paderborn

Fakultät für Naturwissenschaften

Department Chemie

Gutachter:

Prof. Dr. Dirk Kuckling

PD Dr. Hans Egold

eingereicht von: M. Sc. Marie-Theres Berg (*geb. Picker*)

geboren am 08. Dezember 1991 in Werl

Eingereicht am: 15. September 2020

Verteidigt am: 02. November 2020

Meiner Familie und meinen Freunden.

„Nur wer gegen den Strom schwimmt gelangt zur Quelle.“

Albert Precht

Diese Arbeit wurde in einem Zeitraum vom 03. Oktober 2016 bis zum 31. Juli 2020 im Fachbereich für Organische und Makromolekulare Chemie der Universität Paderborn unter der Leitung von Prof. Dr. Dirk Kuckling angefertigt. Teile dieser Arbeit wurden bereits zur Publikation akzeptiert (M.-T. Berg, C. Mertens, F. Du Prez, T. D. Kühne, A. Herberg, D. Kuckling, *RSC Adv.*, **2020**, accepted).

Gutachter: Prof. Dr. Dirk Kuckling
PD Dr. Hans Egold

Eingereicht am: 15. September 2020

Verteidigt am: 02. November 2020

Abstract

Polymers, as well as their applications, have developed significantly over the past decades. They are used in many different areas and often replace other common materials. The replacement of biological models has also been extensively studied. The wide variation in macroscopic properties of polymeric materials is based on structural properties on the molecular level. In order to adapt the materials to their desired application, a specific design of the polymer structure is necessary. Appropriate analysis methods are required to understand and verify this.

Size exclusion chromatography (SEC) is a widely used technique in polymer chemistry to analyze molecular weight and molecular weight distributions. It can not only display the mean values of the molecular weight, but also the entire distribution and thus, using two different mean values, provide information about the important factor of polydispersity. More recent developments in this area offer the possibility of carrying out these measurements in significantly shorter times by ultra-high-performance liquid chromatography systems (UHPLC). Another important method for polymer analysis is mass spectrometry (MS). Electrospray-MS (ESI-MS) and matrix-assisted laser desorption/ ionization-MS (MALDI-MS) are the two most widely used techniques in mass spectrometry. Both are able to ionize high molecular weight analytes and thus make many polymers accessible to mass spectrometry. Ion mobility separation (IMS) can be particularly useful in ESI-MS. The multiple charges often observed in this ionization method can be separated thus simplifying the interpretation of the obtained mass spectra. Furthermore, structurally different analytes can be separated according to the collision cross section with the help of the IMS. Thus, separation of polymers with different conformations or architectures is possible.

The combination of these three methods (UHPLC-SEC, ESI-MS and IMS) provides a wealth of information about the polymers studied. In this work such a coupling was used to successfully separate sequence-defined oligomers in mixtures and to identify the components of the mixture. For the investigation of degradation processes of polymers, it could be shown that this coupling has advantages over the individual methods.

Kurzzusammenfassung

Polymere sowie ihre Einsatzgebiete haben sich über die letzten Jahrzehnte stark weiterentwickelt. Sie werden in vielen verschiedenen Bereichen eingesetzt und ersetzen häufig bereits bekannte Materialien. Auch der Ersatz von biologischen Vorbildern ist bereits stark beforscht. Diese breite Variation von makroskopischen Eigenschaften der polymeren Materialien basiert auf strukturellen Beschaffenheiten auf molekularer Ebene. Um die Materialien auf ihre geplante Anwendung anzupassen, ist daher ein gezielter Aufbau der Polymerstruktur notwendig. Um diesen zu verstehen und überprüfen zu können, werden passende Analysemethoden benötigt.

Die Größenausschlusschromatographie (SEC) ist in der Polymerchemie eine viel genutzte Technik zur Analyse der Molmasse und der Molmassenverteilung. Sie kann nicht nur die mittleren Molmassen wiedergeben, sondern die gesamte Verteilung. Damit können mit Hilfe von zwei verschiedenen Mittelwerten der Verteilung auch Informationen über den wichtigen Faktor der Polydispersität erhalten werden. Neuere Entwicklungen auf diesem Gebiet bieten mit Ultrahochleistungsflüssigchromatographie-Systemen (UHPLC) die Möglichkeit, diese Messungen in deutlich kürzeren Zeiten durchzuführen. Eine andere für die Polymeranalytik wichtige Methode ist die Massenspektrometrie (MS). Elektrospray-MS (ESI-MS) und Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisations-MS (MALDI-MS) sind die beiden in der Massenspektrometrie am meisten genutzten Methoden. Beide sind in der Lage hochmolekulare Analyten zu ionisieren und machen so viele Polymere der Massenspektrometrie zugänglich. Die Ionenmobilitätsseparation (IMS) kann dabei besonders in der ESI-MS nützlich sein. Die häufig in dieser Ionisierungsmethode beobachteten Mehrfachladungen können hier aufgetrennt werden, und so die Analyse der erhaltenen Massenspektren vereinfachen. Des Weiteren können mit Hilfe der IMS strukturell unterschiedliche Analyte voneinander getrennt werden. So sind Trennungen von Polymeren mit unterschiedlichen Konformationen oder Architekturen möglich.

Die Kombination dieser drei Methoden (UHPLC-SEC, ESI-MS und IMS) bietet eine große Fülle an Informationen über die untersuchten Polymere. In dieser Arbeit wurde eine solche Kopplung genutzt, um erfolgreich sequenzdefinierte Oligomere in Mischungen zu trennen und die Bestandteile der Mischung zu identifizieren. Auch für die Untersuchung von Abbauprozessen bei Polymeren konnte gezeigt werden, dass diese Kopplung Vorteile gegenüber den einzelnen Methoden aufweist.

Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG.....	1
1.1.	PROBLEMSTELLUNG	1
1.2.	ZIELSTELLUNG	2
1.3.	AUFGABENSTELLUNG	3
2.	THEORETISCHE GRUNDLAGEN.....	5
2.1.	MASSENSPEKTROMETRIE	5
2.1.1.	Ionisierungsmethoden	5
2.1.2.	Analysatoren	11
2.1.3.	Detektoren	15
2.1.4.	Ionenmobilitätsseparation	16
2.2.	CHROMATOGRAPHIE	22
2.2.1.	Gaschromatographie.....	26
2.2.2.	Flüssigchromatographie	28
2.2.3.	Detektoren	34
2.3.	KOPPLUNGSSYSTEME.....	35
2.3.1.	Kopplung von Chromatographie und Massenspektrometrie	35
2.3.2.	Tandem-Massenspektrometrie	37
2.4.	POLYMERE	39
2.4.1.	Radikalische Polymerisation.....	41
2.4.2.	Sequenzdefinierte Polymere	44
2.4.3.	Smarte Polymere	47
2.5.	DICHTEFUNKTIONALTHEORIE	48
3.	EXPERIMENTELLER TEIL.....	51
3.1.	CHEMIKALIEN UND MATERIALIEN	51
3.1.1.	Allgemeine Chemikalien	51
3.1.2.	Polymere	51
3.1.3.	Sequenzdefinierte Oligomere	52
3.2.	APC	54

3.3.	SYNAPT™ - MASSENSPEKTROMETER.....	55
3.3.1.	Ionisierungsparameter.....	55
3.3.2.	IMS Parameter	56
3.3.3.	MALDI-Messungen	57
3.4.	OFFSET-BESTIMMUNG.....	58
3.4.1.	Variation des Splitters	58
3.4.2.	Flusseinstellung	58
3.4.3.	Optimierung des Ionentransfers	59
3.5.	PROBENZUSAMMENSETZUNGEN.....	59
3.6.	BERECHNUNGEN.....	61
3.6.1.	Beispiele für Inputdateien.....	61
3.7.	SYNTHESE DER KAMM-POLYMERE	64
4.	AUSWERTUNG	66
4.1.	OFFSET-BESTIMMUNG.....	66
4.1.1.	Wahl des Splitters	66
4.1.2.	Flusseinstellung	67
4.1.3.	Optimierung des Ionentransfers	69
4.2.	SEQUENZDEFINIERTER OLIGOMERE	74
4.2.1.	Theoretische Berechnungen	74
4.2.2.	Optimierung APC-Trennung.....	78
4.2.3.	Optimierung der IMS-Trennung.....	83
4.2.4.	Variation der Monomere.....	89
4.2.5.	Einfluss von Stereoinformationen in den Oligomeren	93
4.2.6.	Vergleich der Monomersysteme.....	98
4.2.7.	Messungen mit der Kopplung.....	99
4.2.8.	Zyklische IMS.....	109
4.3.	ABBAUUNTERSUCHUNGEN MIT DER KOPPLUNG	115
4.4.	IMS VON PMMA, PEG UND POEGMA IM VERGLEICH.....	124
5.	ZUSAMMENFASSUNG	132
6.	AUSBLICK.....	135

7.	ANHANG	137
8.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	146
9.	FORMELVERZEICHNIS	149
10.	LITERATURVERZEICHNIS	154
11.	DANKSAGUNG	165
12.	EIDESSTAATLICHE ERKLÄRUNG	166
13.	ANERKENNUNG DER PROMOTIONSORDNUNG.....	167

1. Einleitung

1.1. Problemstellung

Die Einsatzgebiete von Polymeren werden immer größer. In vielen Lebensbereichen ersetzen sie bereits andere Materialien wie Glas, Holz oder Metall. Dafür müssen die Polymere je nach Einsatzgebiet bestimmte Eigenschaften aufweisen. Diese wiederum werden stark von der Polymerstruktur beeinflusst. Dabei weist bereits ein Homopolymer eine Mischung von Makromolekülen mit unterschiedlichen Kettenlängen und Endgruppen auf. Umso komplexer der Aufbau eines Polymers wird, desto mehr Verteilungen können dabei vorliegen (Abbildung 1).

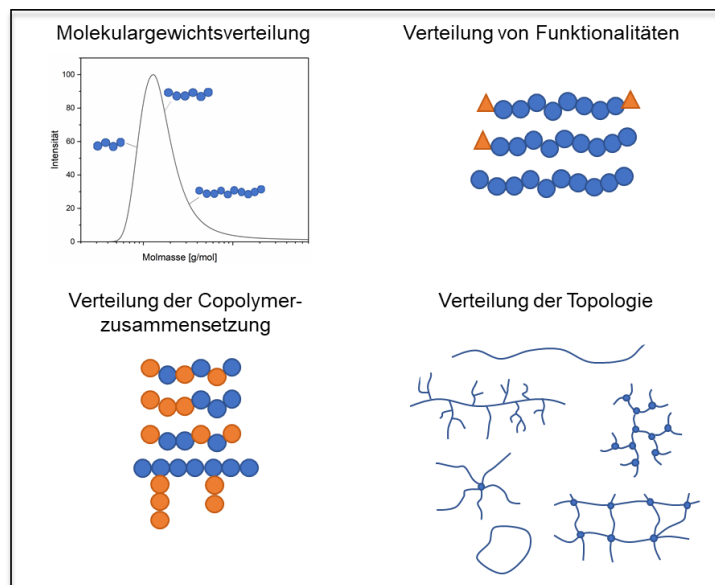


Abbildung 1: Die Heterogenitäten innerhalb eines Polymers können abhängig von seiner Komplexität zwischen einer Verteilung der Molmasse, Unterschieden der Funktionalitäten, Verteilungen der Monomere innerhalb von Copolymeren und Unterschieden in den Architekturen variieren.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten die Struktur und Verteilungen von Polymeren zu analysieren. Mit IR oder NMR Spektroskopie zum Beispiel können nützliche Informationen bezüglich der Art und Konzentration des Monomers oder funktioneller Gruppen erhalten werden.^[1] Mit diesen Methoden ist es allerdings nicht möglich, Aussagen über die molekularen Verteilungen zu treffen. Alle erhaltenen Informationen stellen Mittelwerte über die Verteilungen dar. Mittlere Molmassen, nicht aber deren Verteilungen, sind auch mit statischer oder dynamischer Lichtstreuung, Osmometrie oder Viskosimetrie zugänglich.^[2] Um Informationen über die zugrundeliegenden Verteilungen zu erhalten, werden meist chromatographische Methoden genutzt. Derlei Methoden trennen die Proben anhand verschiedener Charakteristika und können an andere informative Techniken gekoppelt werden (Infrarotspektroskopie, Kernspinresonanzspektroskopie (NMR), Lichtstreuung, Massenspektrometrie). Aus diesen Untersuchungen können allerdings nur dann aussagekräftige Daten erhalten werden, wenn sowohl Trenntechnik als auch Polymerchemie ausreichend verstanden sind.^[3] Polymere werden häufig mit Hilfe der Größenausschlusschromatographie (SEC) untersucht. Diese

trennt die Probe anhand ihres hydrodynamischen Volumens auf, sodass eine Trennung in Bezug zu der Kettenlänge und damit bezogen auf die Molmasse erreicht wird. So werden nicht nur die mittlere Molmasse, sondern auch die Verteilung zugänglich.^[4] Diese Methode arbeitet ausdrücklich ohne Wechselwirkungen zwischen Analyt und Säule, sodass es notwendig sein kann, dass verschiedene SEC Systeme genutzt werden müssen, um eine große Reihe an Polymeren zugänglich zu machen.^[5] Mit herkömmlichen SEC Systemen kann eine Messung zwischen 30 und 60 Minuten in Anspruch nehmen, abhängig von der Anzahl und Länge der genutzten Säulen und damit der erzielten Auflösung. Neuere Entwicklungen haben Ultrahochleistungs-Flüssigchromatographie (UHPLC) Systeme zugänglich gemacht. Derartige Systeme arbeiten mit hoch robusten Säulenmaterialien und höheren Porenvolumina als herkömmliche SEC Systeme.^[6] Ein solches System ist die Advanced Polymer Chromatography™ (APC) der Firma Waters.

Zur genaueren strukturellen Untersuchung von Polymeren, zum Beispiel Sequenzanalysen, reichen chromatographische Methoden nicht aus. Die Massenspektrometrie kann als hochempfindliche Methode Aufschluss über chemische Zusammensetzungen und Endgruppen von Polymeren liefern.^[7] Die Verbindung von Ionenmobilitätsseparation (IMS) und Massenspektrometrie konnte bereits als wirksame Methode in der Polymeranalyse etabliert werden. Diese Methode wurde bereits zur Trennung und Identifizierung von Proteinstrukturen, Kohlenhydratisomeren und Strukturisomeren sowie Konformeren verschiedener Polymere eingesetzt.^{[8]–[11]} Für die Aufklärung von Sequenzen wird klassischerweise die Tandem-Massenspektrometrie genutzt.^{[12]–[15]} Das gezielte Fragmentieren erlaubt die Sequenzanalyse über das Auslesen der Massendifferenzen zwischen den Fragmenten. Diese Methode kann aufgrund von komplexen Fragmentierungsmustern ein hohes Maß an Verständnis der Probe erfordern sowie viel Zeit für die Auswertung beanspruchen. Eine alternative zur Tandem-Massenspektrometrie könnte die Kopplung von UHPLC, IMS und MS darstellen. Diese Verbindung macht ein breites Spektrum an Informationen über eine Probe in einer kurzen Messzeit zugänglich, sodass sie auch für komplexere Proben von Interesse ist.

1.2. Zielstellung

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung von Polymeren und Oligomeren mit dem gekoppelten System aus der Advanced Polymer Chromatography™ und einem Synapt G2™ Massenspektrometer mit ESI und eingebautem Ionenmobilitätsspektrometer. Dabei wird vor allem untersucht, ob sich strukturelle Isomere von sequenzdefinierten Oligomeren trennen und identifizieren lassen. Dazu müssen alle Komponenten der Kopplung für die Trennung optimiert werden. Die experimentell erreichten Unterschiede zwischen den Isomeren sollen mit theoretisch berechneten Modellen verglichen werden.

Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit soll die Untersuchung von Abbauprodukten lichtsensitiver Polymere mit der APC-ESI-IMS Kopplung sein. Im Fokus steht dabei neben der Untersuchung der verschiedenen Endgruppenserien auch der Vergleich verschiedener Ionisierungsbedingungen in ihrem Einfluss auf die beobachteten Abbauprodukte.

Als ein zusätzlicher Exkurs soll das IMS Verhalten von zwei Homopolymeren und dem Kamm-Polymer aus diesen beiden miteinander in Abhängigkeit von der Länge der Seitenkette untersucht werden. Dazu sollen die Kamm-Polymere mit Hilfe der Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerisation (RAFT) aus dem Makromonomer Oligoethylenglykolmethacrylat (OEGMA) synthetisiert werden.

1.3. Aufgabenstellung

In dieser Arbeit sollen die Möglichkeiten der Kopplung aus einer UHPLC, in Form der Advanced Polymer Chromatography™, und Synapt G2™ ESI-Massenspektrometer mit eingebautem Ionenmobilitätsspektrometer anhand von zwei Systemen getestet werden. Das erste System besteht aus sequenzdefinierten Oligomeren. Diese Oligomere können als molekulare Datenspeicher genutzt werden und benötigen eine einfache und schnelle Möglichkeit der Datenanalyse. Dazu soll die Kopplung der genannten Systeme verwendet werden. Die UHPLC wird als Trennmöglichkeit einer Mischung mit verschiedenen Kettenlängen der Oligomere genutzt, während die Analyse der Sequenz der Probe und die Zuordnung der enthaltenen Monomere mit Hilfe der Ionenmobilitätsseparation und Massenspektrometrie erfolgen soll. Für dieses Ziel müssen alle Komponenten der Kopplung auf die Ansprüche angepasst werden. Die APC muss hinsichtlich der Trenntemperatur, dem Eluentensystem, der Flussgeschwindigkeit, und der Säulenbeschaffenheit optimiert werden. Der Übergang von APC zum Massenspektrometer muss an die abweichenden Ansprüche der Flussgeschwindigkeiten der Ionenquelle angepasst werden, dazu sollen verschiedene Flusstrenner getestet werden. Die Trennung über die Ionenmobilität wird hinsichtlich der maximal erreichbaren Driftzeitunterschiede optimiert. Dazu werden zunächst theoretische Modelle der Ionen in der Gasphase mit unterschiedlichen Addukten für verschiedene Ladungszustände berechnet, bevor diese Modelle mit den experimentellen Ergebnissen verglichen werden. Die experimentelle Ionenseparation ist abhängig von verschiedenen Einstellungen der IMS-Zelle, daher werden neben unterschiedlichen Ionisierungszusätzen und Ladungszuständen auch verschiedene Wellengeschwindigkeiten des elektrischen Feldes in der Zelle untersucht. Abschließend sollen die optimierten Bedingungen auf die Kopplung übertragen werden.

Das zweite untersuchte System ist eine Abbaureihe eines lichtsensitiven Polymers. Das untersuchte Polymer basiert auf o-Nitrobenzylderivaten und degradiert schnell unter UV-Bestrahlung. Dieser Abbauprozess soll dabei mit der Kopplung verfolgt werden. Zur

Überprüfung der Vollständigkeit aller beobachteten Signale ist es zusätzlich nötig einzelne Massenspektren mit verschiedenen Ionenquellen zu untersuchen

Polymere können in der Gasphase in Abhängigkeit von ihrer Kettenlänge und dem Ladungszustand verschiedene Faltungsmuster annehmen. Poly(ethylenglykol) (PEG) ist bekannt dafür mit steigender Kettenlänge von einer geknäulten Struktur in eine kompaktere zu wechseln, sodass in Ionenmobilitätsspektren Wendepunkte zu beobachten sind. Als ein zusätzlicher Exkurs soll der Einfluss von PEG Einheiten in der Seitenkette eines Poly(methylmethacrylat) (PMMA) auf die Struktur in der Gasphase hinsichtlich dieser Wendepunkte untersucht werden. Dazu sollen mit Hilfe der kontrollierten radikalischen Polymerisation verschiedene Kamm-Polymere mit unterschiedlich langen Seitenketten synthetisiert werden.

2. Theoretische Grundlagen

2.1. Massenspektrometrie

Das Grundprinzip der Massenspektrometrie (MS) wurde im Jahre 1968 von Hermann Kienitz zusammengefasst.^[16] Er postulierte, dass es das Ziel ist aus organischen und anorganischen Verbindungen in geeigneter Weise – thermisch, über elektrische Felder, durch Beschuss mit energiereichen Elektronen/Photonen/Ionen – Ionen zu erzeugen. Die so erzeugten Ionen sollten anschließend nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z -Verhältnis) getrennt und qualitativ sowie quantitativ erfasst werden. Die Ionentrennung soll dabei durch statische/dynamische elektrische oder magnetischen Felder erfolgen.

Diese Definition hat seitdem nicht an Gültigkeit verloren, muss allerdings durch die neuen technischen Entwicklungen ergänzt und angepasst werden. So ist die Ionisierung inzwischen auch durch energiereiche neutrale oder elektronisch angeregte Atome, elektrostatisch aufgeladene Mikrotropfen und andere Methoden möglich.^[17] Auch die Ionentrennung ist nicht mehr auf elektrische oder magnetische Felder angewiesen. Mit Hilfe des Flugzeitanalysators (*engl.*: time-of-flight, ToF) ist auch die Trennung der Ionen im feldfreien Raum möglich.^[17]

Unabhängig von den genutzten Ionisierungsmethoden und Analysatoren ist ein Massenspektrometer immer aus den gleichen Bausteinen aufgebaut (Abbildung 1). Zunächst der Probeneinlass, welcher unter Atmosphärendruck oder Vakuum betrieben werden kann, gefolgt vom Hochvakuumbereich des MS. In diesem wird zunächst die Ionenquelle passiert. Daran angeschlossen ist der Bereich des Massenanalysators. Die Analyse kann dabei simultan mit mehr als nur einer Trennmethode durchgeführt werden. Den Abschluss bildet der Detektor, welcher die Ionen anhand ihres m/z -Verhältnisses registriert und die Daten an einen Computer weiterleitet. Dieser kann dann das typische Massenspektrum abbilden.

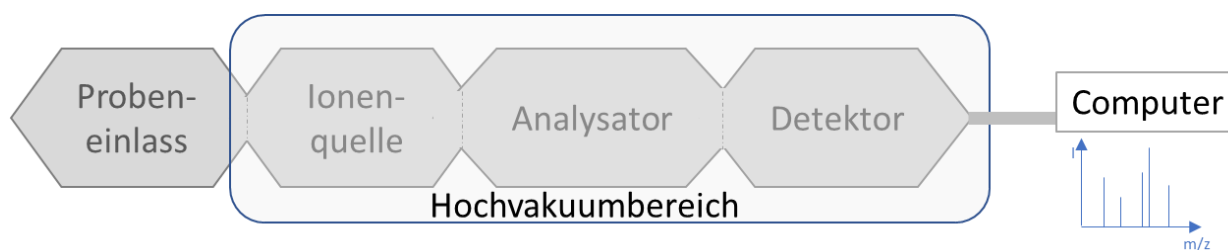


Abbildung 2: Schematischer Aufbau eines Massenspektrometers.

2.1.1. Ionisierungsmethoden

Über die letzten Jahrzehnte haben sich viele Ionisierungsmethoden neu- und weiterentwickelt. Einige über lange Zeit verwendeten Methoden haben in ihrer Bedeutung durch die Entwicklung ihrer Nachfolger drastisch abgenommen. Jedoch lassen sich alle Methoden grundsätzlich anhand ihrer Anwendung und Fähigkeit die Moleküle (gezielt) fragmentiert oder unfragmentiert

zu ionisieren (relative Härte bzw. Sanftheit der Methode) in Kategorien unterteilen (Abbildung 3).^[18]

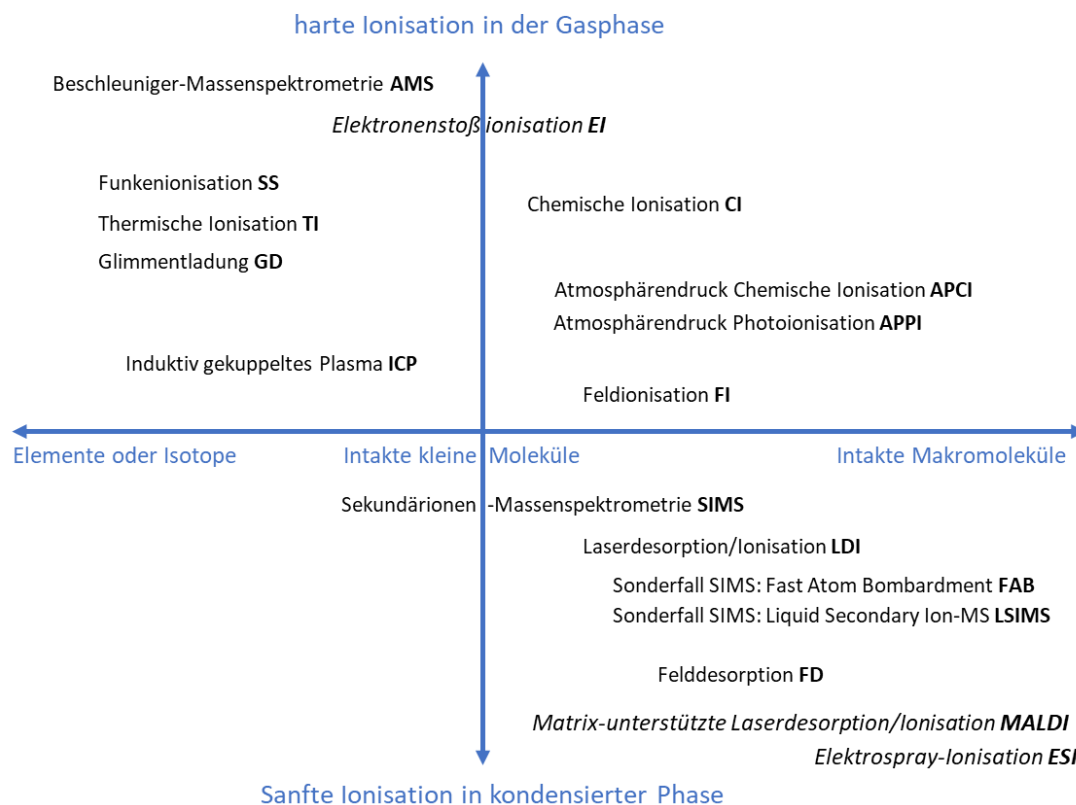


Abbildung 3: Ionisierungsmethoden für unterschiedliche Anwendung, eingeteilt anhand ihrer Sanftheit und einsetzbaren Massenbereichs.^[18]

Im Folgenden sollen drei Ionisierungsmethoden näher erläutert werden. Die Elektronenstoßionisation (EI) ist die klassische Ionisationsmethode in der organischen Chemie. Sie kann für Analyten mit nieder- bis mittelpolaren Eigenschaften im Molmassenbereich bis zu 1.000 Da angewendet werden. Wie in Abbildung 3 deutlich wird, zählt sie zu den harten Ionisierungsmethoden und erzeugt daher neben dem unfragmentierten Molekülionenpeak immer auch Fragmentpeaks. Dem gegenüber stehen Methoden wie die Matrix-unterstützte Laserdesorption/Ionisation (MALDI) und die Elektrospray-Ionisation (ESI), beide Methoden gehören zu den sanften Ionisierungsmethoden und arbeiten daher zerstörungsfrei und sind in der Lage auch Makromoleküle mit mehreren kDa zu ionisieren.

2.1.1.1. Elektronenstoßionisation

Die EI ist das klassische Verfahren der Ionisation. Dabei wird der Analyt zunächst in einen hochverdünnten gasförmigen Zustand überführt. Bei Drücken von etwa $1 \cdot 10^{-9}$ bar sind bimolekulare Wechselwirkungen auszuschließen, sodass von hochverdünnten Teilchen ausgegangen werden kann.^[17] Anschließend werden die gasförmigen Analyten mit energiereichen Elektronen (einige zehn Elektronenvolt) beschossen. Dabei kommt es zur Ausbildung eines positiv geladenen Radikals, das Molekülion genannt wird. Während der Kollision von Analyt und Elektron kommt es zu einem Energieübertrag.^{[19],[20]} Bei günstiger

Lage kann die übertragene Energie die zur Ionisation notwendige Energie übersteigen, sodass ein Elektron aus der Elektronenhülle des Analyten entfernt wird, wodurch das Molekülion entsteht. Ein weniger günstiges Zusammentreffen kann hingegen zur elektronischen Anregung statt der gewünschten Ionisierung führen. Auch ist eine Bildung von Fragmentionen, metastabilen Ionen, umgelagerten Ionen und mehrfach geladenen Ionen möglich, was zur Folge hat, dass die Auswertung der Daten an Komplexität gewinnt.^[19] In Ausnahmefällen ist auch die Bildung von negativen Radikationen durch das „Einfangen“ eines Elektrons durch ein Neutralteilchen möglich.^[21]

Die Primärelektronen für die Ionisierung werden durch die thermoionische Emission einer Glühkathode erzeugt. Die Glühkathode ist normalerweise ein widerstandsfähiger Metalldraht aus Rhenium oder Wolfram. Dabei ergeben sich Betriebstemperaturen von bis zu 2.000 °C, geringere Betriebstemperaturen können durch die Verwendung von thoriierten Iridium- oder Rheniumdrähten ermöglicht werden.^[22]

2.1.1.2. Matrix-unterstützte Laserdesorption/Ionisation

Die Methodik der MALDI basiert auf der Ende der 1960er Jahre entwickelten Laserdesorption/Ionisation (LDI).^{[23],[24]} Die LDI konnte sich für die Analyse von Biomolekülen^[25] vor allem mit Massen über 2.000 Da^[26] nicht durchsetzen, da hier, anders als bei niedermolekularen organischen Salzen und lichtabsorbierenden organischen Verbindungen^[23], ein erheblicher Aufwand notwendig ist, um aussagekräftige Massenspektren erhalten zu können. Für solche Proben hat sich jedoch die Methodik der MALDI bewährt.

Im Vergleich zur LDI wird bei der MALDI eine stark lichtabsorbierende Verbindung genutzt, welche mit dem Analyten kokristallisiert wird. Durch die Einstrahlung eines energiereichen Lasers lassen sich so Molekülmassen bis in den MDa-Bereich ionisieren und untersuchen.^[27] Somit erweist sich diese Methode als vielseitig und hochempfindlich.^{[28],[29]} In der heutigen Forschung wird die Ionisierung mit MALDI unter anderem erfolgreich in den Forschungsbereichen der Life Science^{[28],[30]} und anderer Polymerforschung^[31] eingesetzt. Dabei ist der Mechanismus der Ionisierung noch immer Gegenstand der aktuellen Forschung.^[32] Untersucht werden dabei verschiedene Aspekte, so zum Beispiel der Einfluss der Energiedichte des Lasers auf die Ionenausbeute, die zeitliche Entwicklung des Desorptionsprozesses und die Frage, ob präformierte Ionen oder in der Gasphase formierte Ionen die Quelle für detektierte Ionen darstellen.^{[33],[34]} Es kommen dabei mehrere Prozesse zur Ionenerzeugung in Frage. Aus Studien an Peptiden ist zum Beispiel bekannt, dass sich ein abnehmender pH-Wert in der Matrix-Analyt-Lösung positiv auf die Ionenausbeute auswirkt, was auf vorgebildete $[M+H]^+$ -Ionen schließen lässt.^[17] Auch Gasphasenprozesse, in denen Ionen noch einige hundert Mikrometer über der Probenoberfläche innerhalb der Plasmawolke gebildet werden, sind denkbar.^[35] Über die Jahre wurden noch viele weitere Modelle

entwickelt. Welcher Prozess dabei die Ionenerzeugung individuell steuert, hängt stark von der Kombination aus Matrix, Analytmolekül, vorhandenen Additiven sowie etwaigen Verunreinigungen ab.^[17] In jedem Fall gilt, dass die Bestrahlung der Oberfläche aus kristallisiertem Matrix-Analyt-Gemisch mit einem Laser zu der Ausbildung einer Plasmaschicht führt. Diese ist im Mittel ohne Ladung, da sie sowohl positive als auch negative Ionen enthält.

Für das Erhalten hochaufgelöster MALDI-Spektren ist es wichtig, die Matrix an den zu untersuchenden Analyten anzupassen. Hauptaufgabe der Matrix ist es, das Analytmolekül nach dem Verdampfen des Lösungsmittels in einem festen Zustand zu verdünnen und bei Bestrahlung als primärer Energieabsorber zu dienen.^[34] Die Matrix muss daher verschiedene Ansprüche erfüllen. Sie darf sich nicht im Vakuum der Quelle verflüchtigen, sollte daher also einen niedrigen Dampfdruck besitzen und muss die Wellenlänge des Lasers in effektiver Weise absorbieren. Dabei können verschiedene Wellenlängen im UV- oder IR-Bereich verwendet werden.

Da der Matrix eine besondere Bedeutung zufällt, wurden in den letzten Jahren viele verschiedene Matrices entwickelt, um möglichst viele Analyten einer Messung zugänglich zu machen.^[36] Eine Auswahl an Matrix-Verbindungen ist in Abbildung 4 dargestellt.

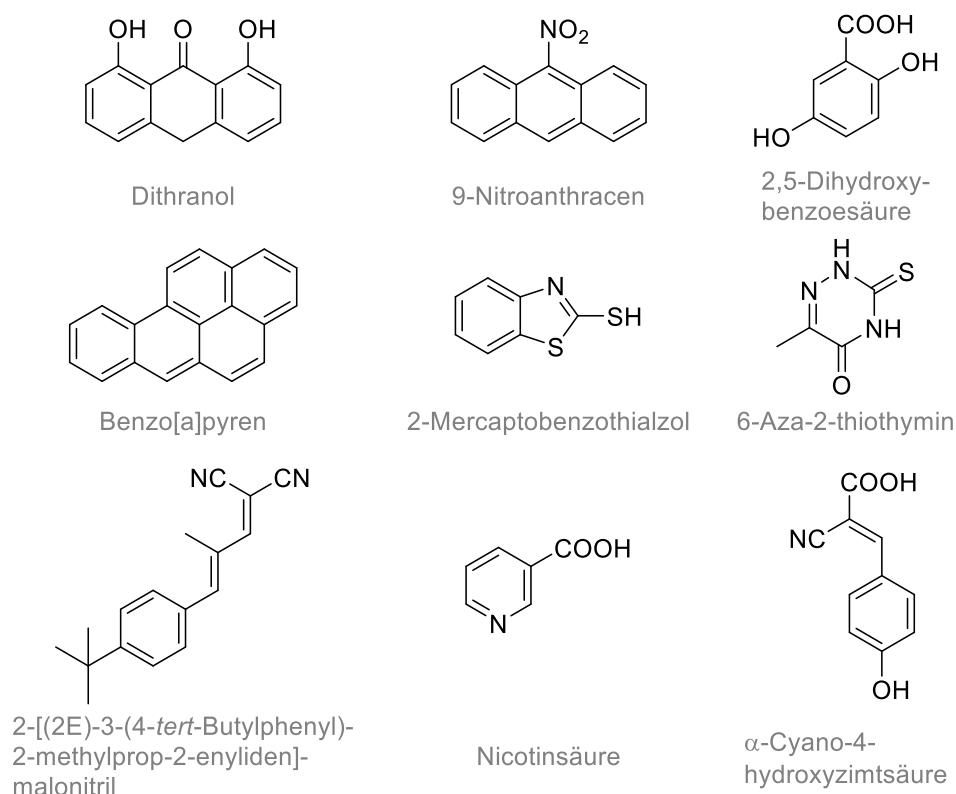


Abbildung 4: Auswahl gängiger MALDI-Matrices.

In ungünstigen Fällen kann es passieren, dass nur eine Kombination von Matrix und Analyt zu guten Spektren führt. Im Allgemeinen kann aber festgestellt werden, dass die Kombination aus Analyten und Matrix mit ähnlichen Polaritäten zu MS-Spektren hoher Qualität führt. Um die Qualität der Spektren zu optimieren, sollte ein gutes Signal-zu-Rausch-Verhältnis erreicht

werden. Hierzu wird üblicherweise das molare Verhältnis von Matrix zu Analyt im Bereich von 1.000:1 bis 100.000:1 eingestellt. Dieses Verhältnis sorgt zudem dafür, dass die Fragmentierung der Analyten nur in geringem Maße geschieht.^[37]

Obwohl innerhalb der Lösung der Analyt auch mehrfach protoniert oder deprotoniert vorliegen kann^[28], werden in MALDI-MS Spektren fast ausschließlich einfach geladene Ionen beobachtet. Erklärt wird dieser Aspekt durch das sogenannte Lucky-Survivor-Modell:^[34] Es kommt fortwährend zur Neutralisation durch Rekombination von positiv und negativ geladenen Bestandteilen des Plasma. Dabei ist die Wahrscheinlichkeit zur Rekombination umso höher, je höher der Ladungszustand des Ions ist. Auch die geringe Anzahl der detektierten negativen Ionen lässt sich dadurch erklären, dass die schnellen Elektronen die ersten Bestandteile des Plasmas sind, welche durch die Rekombination verloren gehen, sodass es zu einem positiven Ladungsüberschuss kommt.

2.1.1.3. Elektrospray-Ionisation

Im Gegensatz zu EI und MALDI ist die ESI eine der Ionisierungsmethoden, welche unter Atmosphärendruck arbeitet. Hierbei werden die Analyten während der Ionisation aus einer flüssigen Phase in die Gasphase überführt. Dies ermöglicht es, dass diese Methode besonders gut geeignet ist, um sie mit der Flüssigchromatographie (*engl.* Liquid chromatography, LC) kombiniert zu betreiben.^[38] Die Ionisierungsmethoden der EI, CI, MALDI und ESI sind die am meisten genutzten Ionisierungsmethoden in der modernen Massenspektrometrie.^[39] Im Vergleich zu CI und EI stellt die ESI dabei eine sogenannte sanfte Ionisierungsmethode dar. Sie eignet sich sehr gut für große, nichtflüchtige Moleküle, welche bereitwillig Ladung annehmen.^{[40],[41]} Die flüssige Phase ist eine stark verdünnte Lösung des Analyten in einem flüchtigen Lösungsmittel. Um intermolekulare WW auszuschließen, wird üblicherweise mit Konzentrationen zwischen 10^{-6} und 10^{-4} M gearbeitet. Der Analyt wird schrittweise in das Hochvakuum des Massenspektrometers überführt. Die Tatsache, dass während der Ionisierung mehrfach geladene Ionen entstehen, erlaubt die Analyse hochmolekularer Analyten, da das resultierende m/z -Verhältnis, auf der Massenskala der meisten kommerziell verwendeten Massenanalysatoren detektiert werden kann.^[41]

Es ist eine weite Spanne von Lösungsmitteln für die Methode zugänglich, es kann zwischen unpolar bis hochpolar, protisch/aprotisch und flüchtig bis mäßig flüchtig variiert werden (z.B. Diethylether, Tetrahydrofuran, Isopropanol, Acetonitril, Wasser).^[17] Die untersuchten Analyten hingegen müssen polar oder ionisch sein. Gänzlich unpolare Analyten sind für die ESI unzugänglich.

Zur Ionisation in einer ESI-Quelle wird die Analytlösung durch eine dünne Stahlkapillare mit einem Innendurchmesser von etwa 75 μm bei einem Fluss von 5-20 $\mu\text{l/min}$ in ein elektrisches

Feld gesprüht. Das elektrische Feld wird durch die hohe Spannungsdifferenz zwischen der Stahlkapillare (3-4 kV) und der etwa 1 cm entfernten Eintrittsöffnung zu dem verwendeten Analysator aufgebaut. Die Feldstärke von etwa 10^6 V/m am offenen Ende der Kapillare führt zu einer Ladungstrennung innerhalb der Elektrolytlösung, infolge derer der Meniskus der Flüssigkeitsoberfläche zu einem Konus deformiert wird, dieser wird *Taylor-Konus* genannt.^[42] Die angelegte Feldstärke sorgt dafür, dass die Oberflächenspannung der Flüssigkeit gebrochen wird und ausgehend vom Konus ein feiner Flüssigkeitsstrahl in Richtung der Gegenelektrode, der Eintrittsöffnung, emittiert wird. Die Spitze des *Taylor-Konus* ist gleichzeitig der Punkt der höchsten Ladungsdichte, sodass der Strahl einen großen Überschuss an positiven bzw. negativen Ionen trägt. Die Natur der Ionen hängt von der an der Kapillare angelegten Spannung ab. Der Strahl zerfällt anschließend durch die Abstoßung der Ladungen schnell in kleine Tröpfchen (Abbildung 5).^[43]

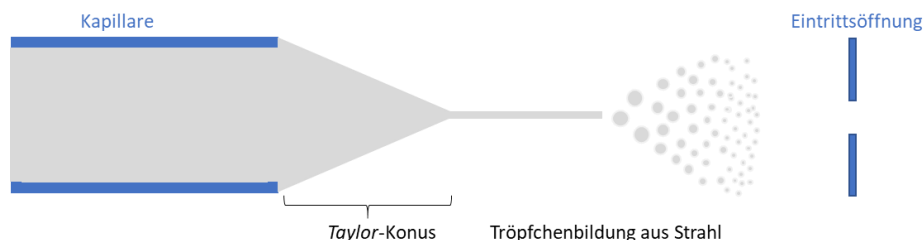


Abbildung 5: Tröpfchenbildung an der ESI-Kapillare ausgehend vom Taylor-Konus.

Die geladenen Tröpfchen driften schnell auseinander und erzeugen so ein feines Spray, welches der Methode ihren Namen gegeben hat. Grund dafür ist die Coulomb-Abstoßung zwischen den Teilchen. Die ursprünglichen Tröpfchen haben dabei eine Größe von etwa einem Mikrometer. Diese werden durch stetiges Verdampfen des Lösungsmittels immer weiter verkleinert, bis es zum sogenannten *Rayleigh-Limit* ^[44] kommt. An dieser Grenze ist die entstandene elektrostatische Abstoßung innerhalb der Sphäre größer als ihre Oberflächenspannung, sodass die Sphäre in mehrere, noch kleinere Sphären zerfällt. Dies wird *Coulomb-Explosion* genannt. Neuere Forschungen haben gezeigt, dass der Vorgang weniger eine tatsächliche Explosion, als eher eine erneute Ausbildung eines Konus mit Kegelstrahl ist (s. Abbildung 6 roter Tropfen), sehr ähnlich zu dem an der Kapillare ablaufenden Vorgang.^[45] Weiteres Verdampfen des Lösungsmittels führt zu erneuten Spaltungen der ursprünglichen Sphäre sowie der neuen kleineren Sphären. Es entstehen so sehr kleine Tröpfchen, welche als mehrfach solvatisierte Ionen betrachtet werden können (Abbildung 6). Aus diesen entstehen im Anschluss die Gasphasen-Ionen. Die Bildung freier Ionen kann über zwei verschiedene Mechanismen erklärt werden.^[46]

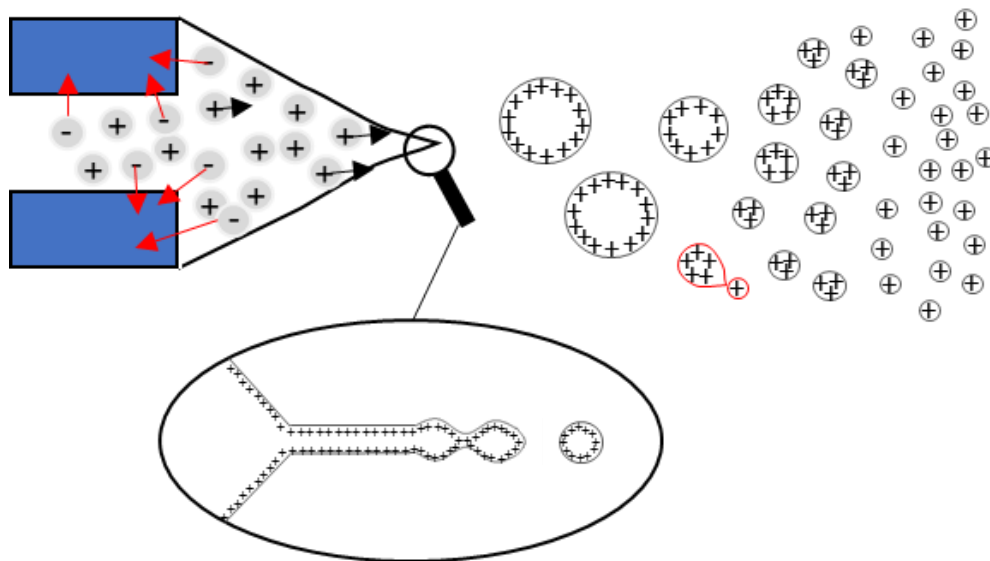


Abbildung 6: Entstehung der Ionen ausgehend vom Taylor-Konus an der ESI-Kapillare, beispielhaft dargestellt für den Betrieb einer ESI-Quelle im positiven Modus.

Das ältere der beiden Modelle, das *Modell des geladenen Rückstands* (engl. charged residue model, CRM), nimmt an, dass geladene (Makro-)Ionen aus sehr kleinen Tröpfchen entstehen, welche nur noch ein Molekül enthalten und geht auf Dole *et al.* aus dem Jahre 1968 zurück.^[47] Wenn aus diesen Tropfen das letzte Lösungsmittel verdunstet, wird die Ladung direkt auf das (Makro-)Molekül übertragen. Dieser Mechanismus legt nahe, dass rein statistisch betrachtet auch Aggregate mehrerer Moleküle gebildet werden sollten. Dies konnten Winger *et al.* auch mit Hilfe eines Quadrupol-Massenspektrometers für Proteine beobachten.^[48]

Iribane und Thomson entwickelten im Jahre 1976 einen weiteren Mechanismus.^[49] Im *Modell der Ionenverdampfung* (engl. ion evaporation model, IEM) wird angenommen, dass die Ionen direkt von der Oberfläche des geladenen Tröpfchens verdampfen, sobald die elektrische Kraft des Feldes im Tröpfchen ausreichend groß ist, um die Solvatisierungsenergie des Ions aufbringen zu können. Es konnte gezeigt werden, dass ab einem Tröpfchenradius von 10 nm die Ionenverdampfung die Tröpfchenspaltung ablöst.^[50] Gerade für kleine Ionen ist das IEM experimentell gut belegt, allerdings lässt sich die theoretische Ableitung nicht effektiv auf große Ionen wie zum Beispiel Proteine übertragen. Für derartige Ionen bietet das CRM die plausible Erklärung.^[46]

2.1.2. Analysatoren

Für den Betrieb der Massenspektrometer wurden über die Zeit viele verschiedene Massenanalysatoren entwickelt, welche zwar alle die entstandenen Ionen anhand ihres m/z -Verhältnisses trennen, aber dabei unterschiedlichste Prinzipien nutzen. Eine Auswahl verschiedener Analysatoren ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Auswahl verschiedener Massenanalysatoren und ihre Funktionsprinzipien.

Analysator		Funktionsprinzip
Flugzeit	ToF	Trennung der Ionen im feldfreien Raum anhand ihrer Flugzeit nach vorheriger Beschleunigung
Linearer Quadrupol	Q	Trennung der Ionen anhand stabiler Trajektorien innerhalb eines linearen Radiofrequenz-Quadrupolfeldes
Orbitrap		Trennung durch Schwingungsfrequenz während Kreisbewegung im elektrischen Feld
Magnetisches Sektorfeld	B	Trennung durch Lorentz-Kraft nach Ablenkung im Magnetfeld

Das Prinzip des magnetischen Sektorfeld-Analysators lässt sich leicht anhand eines 180 ° Sektors erklären. Die Ionen betreten das Sektorfeld in leicht unterschiedlichen Winkeln. Aufgrund des Magnetfeldes werden sie auf eine Kreisbahn abgelenkt. Der Radius dieser Kreisbahn ist vom m/z -Verhältnis abhängig. Das bedeutet, dass Ionen mit demselben m/z -Verhältnis das Sektorfeld variiert durch den Eintrittswinkel in einem begrenzten Bereich wieder verlassen. Für Ionen mit unterschiedlichem m/z -Verhältnis gilt, dass ein kleineres Verhältnis zu einer kleineren Ablenkung und damit einem kleineren Radius führt (Abbildung 7).

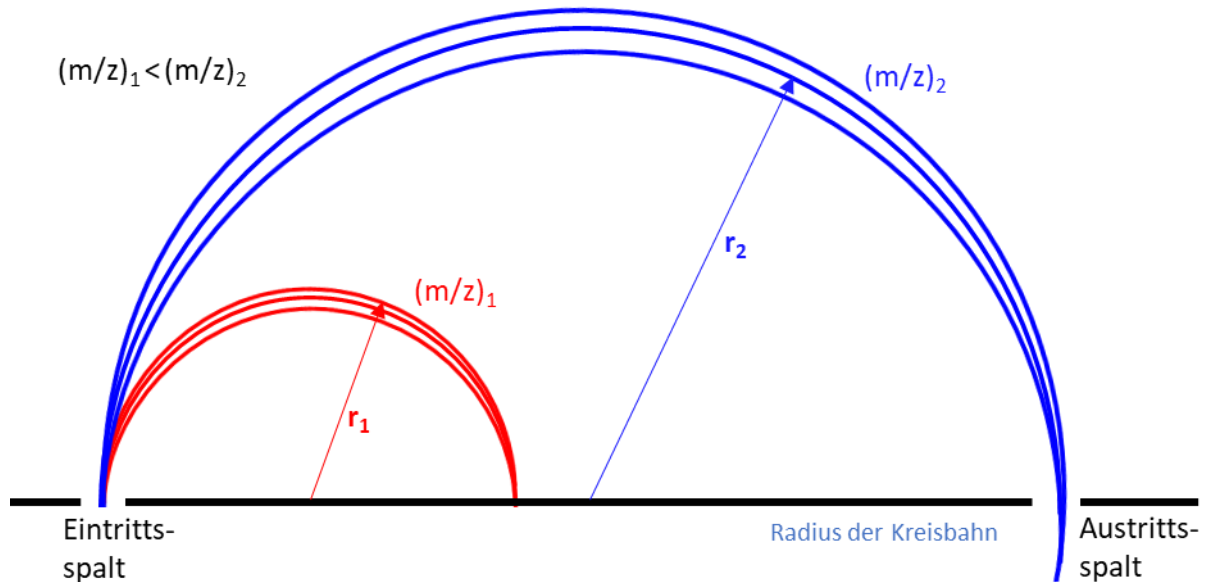


Abbildung 7: Ablenkung der Ionen durch das Magnetfeld, mit $(m/z)_1 < (m/z)_2$, sodass gilt $r_1 < r_2$.

Für den Betrieb des Sektorfeld-Analysators ergeben sich dabei zwei verschiedene Möglichkeiten. Zum einen die von Dempster eingeführte Variante,^[51] bei der ein variables Magnetfeld genutzt wird, um die Ionen, welche das Sektorfeld über den Austrittsspalt verlassen können, anhand ihres m/z -Verhältnisses zu scannen. Die Zuordnung der Ionen zum registrierten m/z -Verhältnis kann dabei durch die Magnetfeldstärke getroffen werden. Zum anderen ist die Ausstattung des Analysators mit einer Bildplatte möglich, welche die

Identifikation des m/z -Verhältnisses über den Radius der Flugbahn bei konstantem Magnetfeld erlaubt.

Der Quadrupol Analysator hingegen arbeitet mit einem Radiofrequenzfeld. Der Aufbau des Analysators besteht aus vier zylindrischen Stabelektroden, welche sich in einer quadratischen Anordnung befinden. Die jeweils gegenüberliegenden Stäbe bilden Elektrodenpaare mit demselben – aus einer Gleichstrom- und einer Wechselstromkomponente bestehenden – Potenzial. Die Wechselfeldspannung beider Elektrodenpaare sind mit einer hochfrequenten Radiofrequenz-Spannung versehen und um 180° Phasen verschoben. Tritt ein Ion in z -Richtung in den Quadrupol ein, so wird es gemäß seiner Ladung abgelenkt, da es von den Stäben mit der seiner Ladung entgegengesetzten Ladung eine Anziehung erfährt. Durch die angelegte Wechselfeldspannung wird dem Ion wieder in entgegengesetzter Richtung abgelenkt, bevor es zum Zusammenstoß mit der Elektrode und damit zur Entladung kommt (Abbildung 8). Entladene Moleküle werden im Vakuum entfernt. Ob ein Ion entladen wird (Abbildung 8 rote Bewegung), oder auf einer stabilen Trajektorie (Abbildung 8 grüne Bewegung) den Quadrupol durchquert, hängt von dem m/z -Verhältnis des Ions ab. Bei gegebenen Gleich- und Wechselstrompotenzialen ist nur ein begrenzter Rahmen von m/z -Verhältnissen in der Lage den Quadrupol zu durchqueren. Durch Änderung der Potenziale kann dieser Rahmen variiert werden. Innerhalb von kurzer Zeit kann der Massenbereich einer Messung auf diese Weise abgescannt werden. Im selben Maße kann der Quadrupol auch als Massenfilter eingesetzt werden, in dem nur ein bestimmter m/z -Bereich für den Scan berücksichtigt wird.^[52]

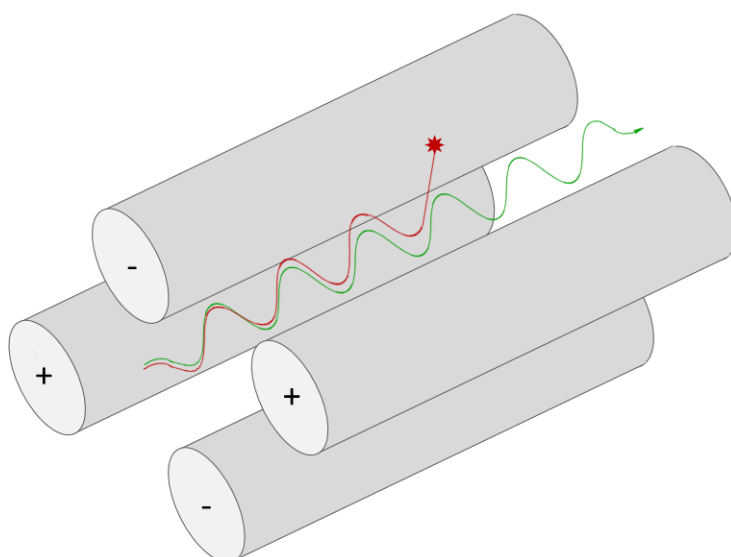


Abbildung 8: Ionen auf Trajektorien innerhalb des Quadrupolanalysators, mit einer stabilen Trajektorie (grün) und einer instabilen Trajektorie (rot).

Ein sehr gebräuchlicher Analysator ist der Flugzeitanalysator. Er ist der einzige Analysator, welcher die Ionen in einem feldfreien Raum trennt. Das grundlegende Prinzip ist dabei simpel. Die Ionen werden entlang einer Strecke bekannter Länge gemäß ihrer Flugzeit getrennt. Sie

starten alle zur gleichen Zeit und mit der gleichen kinetischen Energie. Das Ion wird zu Beginn der Strecke durch das Durchqueren eines Potentials beschleunigt. Die aufgenommene elektrische Energie wird dabei in kinetische Energie umgewandelt.

$$E_{el} = qU = ezU = E_{kin} = \frac{1}{2}m_i v^2 \quad (1)$$

mit E_{el} : elektrische Energie

q : Ladung des Ions

U : Potential

e : Elementarladung

z : Anzahl der Elementarladungen des Ions

E_{kin} : kinetische Energie

m_i : Masse des Ions i

v : Geschwindigkeit des Ions

Annähernd kann angenommen werden, dass das Ion aus der Ruhelage heraus beschleunigt wird, es lässt sich daher die resultierende Geschwindigkeit des Ions in Abhängigkeit von seiner Masse aufstellen.

$$v = \sqrt{\frac{2ezU}{m_i}} \quad (2)$$

Da die Geschwindigkeit selbst eine schlecht zugängliche Messgröße darstellt, wird stattdessen die Zeit genutzt, welche das Ion benötigt, um eine gegebene Strecke zurückzulegen.

$$t = \frac{s}{v} \quad (3)$$

mit t : benötigte Zeit

s : zurückgelegte Strecke

Wird diese Beziehung in Gleichung (2) eingefügt und zu m_i/z umgestellt, ergibt sich nachstehende Gleichung, welche die Abhängigkeit dieses Quotienten von den Geräteparametern wiedergibt.

$$\frac{m_i}{z} = \frac{2eUt^2}{s^2} \quad (4)$$

Diese Beziehung wird im ToF für die Trennung der Ionen ausgenutzt.^[17] Es ist dabei wichtig, dass alle Ionen zur gleichen Zeit, mit derselben Ausgangsenergie und in dieselbe Richtung starten, damit das Prinzip angewendet werden kann. Daher ist, sofern nicht eine gepulste Ionisierungsmethode genutzt wird, ein Element notwendig, welches alle diese Parameter festlegt. Dazu wird ein sogenannter Puscher genutzt, welcher die Ionen stoßweise mit dem Potential U in den Analysator einführt.

Außerdem ist aus Gleichung (4) ersichtlich, dass die Auflösung des Analysators umso besser ist, je länger die Strecke s ist. Dazu wurde bereits 1994 von Mamyrin der Reflektor entwickelt.^[53] Mit Hilfe dieses Ionenspiegels war es möglich, die Flugstrecke nicht mehr ausschließlich linear zu vergrößern. Dadurch wird es ermöglicht, dass die Flugstrecke aber nicht der Analysator wesentlich vergrößert wird. Der eigentliche Nutzen des Reflektors ist allerdings die Ionenfokussierung. Dabei werden die Ionen mit unterschiedlicher kinetischer Energie zeitlich fokussiert. Für einen einfachen Reflektor wird das realisiert, indem gegenüber des Ioneneinlass am Ende des feldfreien Raums ein retardierendes elektrisches Feld

aufgebaut wird. Dies geschieht durch mehrere, ringförmige Elektroden, welche aufeinandergestapelt sind. Das Elektrodenpotenzial nimmt dabei mit zunehmendem Abstand zum Elektroneneinlass zu. Die Reflektorspannung wird auf das 1,05 - 1,1-fache der Beschleunigungsspannung eingestellt. Die Ionen dringen dabei in den Reflektor ein, bis ihre kinetische Energie aufgrund des Elektrodenpotenzial verloren ist, anschließend erfahren sie eine Reflektion mit derselben kinetischen Energie. Das bedeutet, dass die kinetische Energie der Ionen bei einem derartigen Vorgang unverändert bleibt, die Flugzeit der Ionen aber korrigiert wird, da die Eindringtiefe in den Reflektor von der kinetischen Energie beeinflusst wird. Die Flugzeitkorrektur verbessert deutlich die Auflösung des ToF-Analysators.^{[54]–[56]} Eine Erhöhung der Flugstrecke bedeutet gleichzeitig auch eine Erhöhung der Streuung der Ionen, sodass es bei zu langen Flugröhren zu Ionenverluste durch große Ausbreitungswinkel und weiterer Streuung nach Stößen kommen kann. Dieser Umstand bedeutet gleichzeitig einen Verlust der Gesamtleistung. Mit dem Einsatz des Reflektors kann die Auflösung allerdings noch erhöht werden, da die ursprüngliche Energieverteilung der Ionen weitgehend kompensiert werden kann.^[17] Die mathematische Herleitung dieser Prinzipien ist in der Literatur nachzulesen.^{[55],[56],[57]}

2.1.3. Detektoren

Der Weiterentwicklung von Detektoren wurde in der Vergangenheit deutlich weniger Aufmerksamkeit geschenkt als der Entwicklung neuer Ionisierungs- oder Trennmethode. Die Anforderungen, welche an einen Detektor gestellt werden, sind jedoch vielfältig. Hier ein kleiner Überblick:^[58]

- Einheitliche Ionendetektionseffizienz
- Gutes Signal-zu-Rausch-Verhältnis
- Hohe Stabilität
- Simultane Detektion
- Abdeckung über weiten Massenbereich, ohne Massendiskriminierung
- Schnelles Ansprechverhalten bei geringer Erholzeit
- Hohes Sättigungslevel

Es existieren verschiedene Ansätze der Detektion. Die einfachste Variante ist dabei der Faraday-Becher. In einer becherförmigen Elektrode werden die Ladungen der Ionen abgegeben, wodurch der abfließende elektrische Strom beim Durchfließen eines hochohmigen Widerstandes eine Spannung erzeugt. Dieser Detektor wird noch heute genutzt, um die Häufigkeitsverteilung von Isotopenmassen mit sehr hoher Genauigkeit aufzulösen.^[59]

Häufig wird der Sekundärelektronenvervielfacher (*engl.* secondary electron multiplier, SEM) genutzt. In dieser Methode werden durch die am Detektor eintreffenden Ionenströme aus der

Oberfläche eines Metalls oder Halbleiters Sekundärelektronen emittiert. Diese werden in Richtung einer gegenüberliegenden weiteren Elektrode beschleunigt, da diese zweite Elektrode auf einem größeren positiven Potenzial gehalten wird. Beim Auftreffen werden erneut Elektronen emittiert. Dieser Vorgang wird mit etwa 12 bis 18 Diodenstufen durchgeführt (siehe Abbildung 9 a). Es resultiert ein Strom, der ausreichend groß ist, um von einem Vorverstärker wahrgenommen werden zu können. Der Vorverstärker erhöht den Strom erneut um den Faktor 10^6 bis 10^9 . Die Anzahl der emittierten Sekundärelektronen an einer Elektrode ist abhängig von der Geschwindigkeit des eintreffenden Partikels sowie der notwendigen Elektronenaustrittsarbeit an der Elektrodenoberfläche. Abhängig von der angelegten Spannung liegt die Verstärkung eines SEMs im Bereich von 10^6 bis 10^8 .^[60]

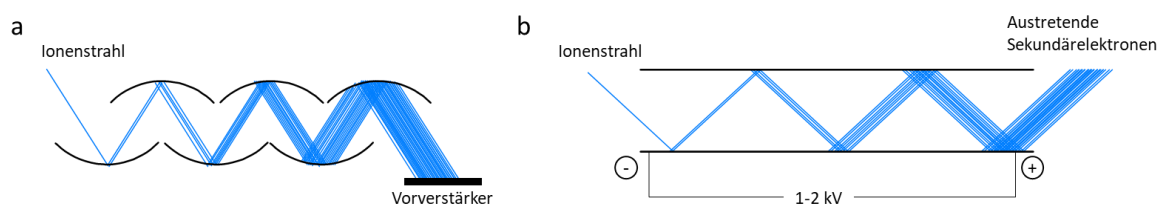


Abbildung 9: Funktionsprinzip eines Elektronenvervielfachers. a) innerhalb eines SEM mit einzelnen Dynoden, b) als lineare Elektronenvervielfacherröhre.

Eine andere Möglichkeit die Elektronenvervielfachung zu nutzen ist innerhalb der Elektronenvervielfacherröhre. (*engl.* channel electron multiplier, CEM). Die Verstärkung innerhalb des CEM hängt von der Länge und dem Durchmesser der Röhre ab (Abbildung 9 b). Die am Anfang der Röhre angelegte starke Spannung, fällt über die Länge kontinuierlich ab. Daher wird ein Material mit hohem Widerstand eingesetzt, welches diesen Spannungen widerstehen kann. In linearen Röhren ist die Verstärkung auf 10^4 begrenzt, eine höhere Verstärkung kann mit einem gebogenen Design erreicht werden.^[61]

2.1.4. Ionenmobilitätsseparation

Die Ionenmobilitätsseparation (IMS) ist eine Technik zur Ionentrennung in der Gasphase. Es gibt verschiedene IMS Geräte, welche alle mit unterschiedlichen Techniken zur Trennung arbeiten. Allen gemein ist, dass sie die Unterschiede der Ionenmobilität in einem elektrischen Feld ausnutzen. Zusätzlich nutzen einige einen Driftgasfluss, welcher positiv zur Trennung beiträgt. Die traditionelle Konfiguration ist die Driftröhren IMS (*engl.* drift tube IMS, DT-IMS). Die Ionen bewegen sich innerhalb einer Driftröhre in der Gegenwart eines neutralen Gases durch ein homogenes, kontinuierliches E-Feld.^{[62],[63]} Ionen, welche einem elektrischen Feld ausgesetzt sind, werden entlang der Feldlinien beschleunigt; Kollisionen mit dem Neutralgas (Driftgas genannt^[62]) führen zur Streuung in zufällige Richtungen. Die Driftröhre besteht aus einer Reihe von Stapelringe Elektroden mit nahezu einheitlichem E-Feld, auf Detektorseite der Röhre wird das Driftgas mit entgegengesetzter Flussrichtung zu den Ionen innerhalb der Kammer zugeführt. Große Ionen kollidieren dabei häufiger mit Driftgas-Molekülen und

benötigen daher länger, um die Driftröhre zu durchqueren als kleinere Moleküle. Abbildung 10 zeigt den schematischen Aufbau eines DT-IMS.

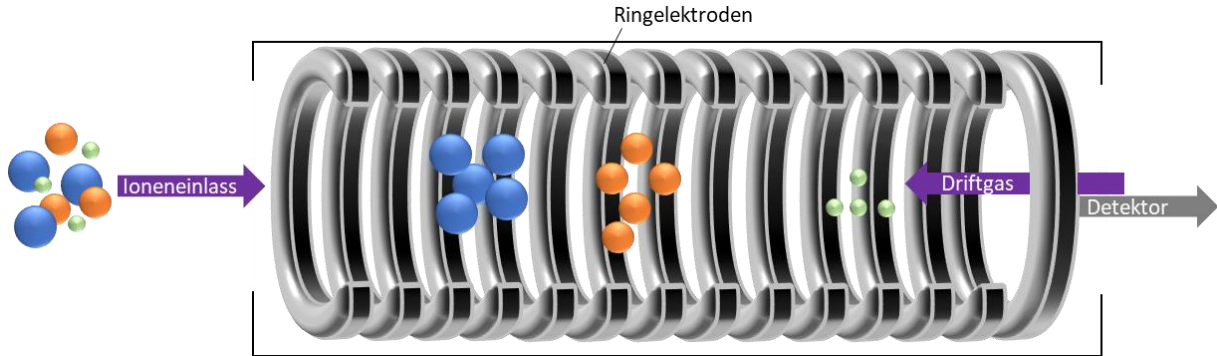


Abbildung 10: Schematische Darstellung des DT-IMS.^[64]

Bei konstantem E-Feld stellt sich für die Ionen eine konstante Geschwindigkeit ein, die sich aus der beschleunigenden Wirkung durch das E-Feld und der verlangsamenen Reibung durch die Kollisionen zusammensetzt. Für schwache E-Felder ist die Geschwindigkeit proportional zur E-Feldstärke. Ein elektrisches Feld gilt als schwach, wenn die mittlere Ionenenergie, welche durch das Feld aufgenommen werden kann, im Vergleich zur thermischen Energie der Driftgasmoleküle klein ist. Nach Mason und McDaniel gilt folgende Gleichung:^[65]

$$v = KE \quad (5)$$

mit K : Mobilität des Ions [cm^2/Vs]

E : elektrisches Feld [V/cm]

Für die Zeit, welche ein Ion benötigt, um die Driftröhre zu durchqueren ergibt sich demnach:

$$t_D = L/KE \quad (6)$$

mit t_D : Driftzeit des Ions [s]

L : Länge der Driftröhre [cm]

Die Mobilität des Ions wirkt dabei als Proportionalitätsfaktor, sie ist anhängig vom Ion-Gas-Paar sowie antiproportional zur Zahlendichte N (Anzahl der Moleküle pro Volumen). Im Bereich von schwachen E-Felder kann K als konstant betrachtet werden. Für hohe Werte des Verhältnisses der E-Feldstärke zu der Zahlendichte des Driftgases (E/N) stellt sich hingegen eine Abhängigkeit der Mobilität vom E-Feld ein.^[66] Für kleine E/N Werte lässt sich mithilfe der Impulsübertragungstheorie die Mason-Champ Gleichung aufstellen.^[67]

$$K = \frac{3}{16} \sqrt{\frac{2\pi}{\mu k_B T}} \frac{ze}{N\Omega} \quad (7)$$

mit $\mu = \frac{mM}{m+M}$: reduzierte Masse des Ion (Masse m) – Gas (Masse M) – Paares [u]

k_B : Boltzmann – Konstante [$1,38065 \cdot 10^{-23} \text{ C}$]

T : Temperatur des Gases [K]

z : Anzahl der Elementarladungen [$-$]

e : Elementarladung [$1,602 \cdot 10^{-19} \text{ C}$]

N : Zahlendichte des Driftgases [m^{-3}]

Ω : Kollisionsquerschnitt [\AA^2]

Der Kollisionsquerschnitt (*engl.* collision cross section, CCS) ist dabei ein Maß für die Größe von Ionen. In diesem Kontext ist er bestimmt durch das Ion-Driftgas-Wechselwirkungs-Potenzial in allen drei Dimensionen und der Energieverteilung der Partikel. Der CCS hat die Dimension einer Oberfläche. Er wird häufig genutzt, um Analyten zu charakterisieren, da er zum einen übertragbar auf andere Systeme ist und zum anderen unter Zuhilfenahme von prognostizierten Anwarterstrukturen zur Identifikation unbekannter Analyten genutzt werden kann.^[68]

Eine weitere häufig verwendete Methode ist die Wanderwellen IMS (*engl.* traveling wave IMS, TW-IMS). Die wird in Kapitel 2.1.4.1 näher erläutert. Neben diesen beiden prominenten Methoden, gibt es auch weniger prominente Varianten der Ionenmobilitätsseparation.

So gibt es die Hochfeld-Ionenmobilitätsseparation mit asymmetrischer Wellenform (*engl.* high field asymmetric waveform IMS, FAIMS), welche die Unterschiede in der Mobilität innerhalb hoher elektrischer Felder nutzt. Diese Methode ist ein Ionenfilter. Es wird innerhalb des Gerätes ein stark zeitabhängiges elektrisches Feld als periodische asymmetrische Wellenform implementiert, wobei dieses E-Feld als Dispersionsfeld bezeichnet wird. Eine angelegte Kompensationsspannung mit einem Intensitätsfeld E_C erlaubt einem spezifischen Ion mit spezifischer, von E abhängiger, Mobilität das Gerät zu durchqueren und zum Detektor zu gelangen.^[69]

Eine andere Methode ist der Differentialmobilitätsanalysator (DMA). Hier werden die Ionen durch zwei Elektroden mit unterschiedlichem Potenzial bewegt. Senkrecht dazu ist ein Gasfluss angelegt, welcher für eine Streuung der Ionen sorgt. Der Winkel der Streuung ist dabei abhängig von dem Verhältnis der Geschwindigkeit der Ionen zur Flussgeschwindigkeit des Gases. Nur Ionen mit einer bestimmten elektrischen Mobilität können den DMA durch den Austrittsspalt verlassen.^[70]

Andere Methoden, welche hier nicht weiter erklärt werden sind die trapped IMS^[71], open loop IMS^[72], transversal modulation IMS^[73] und das overtone mobility spectrometer^[74].

2.1.4.1. Wanderwellen-IMS

Auch die Wanderwellen-IMS-Zelle besteht aus gestapelten Ringelektroden. Die benachbarten Ringelektroden werden an gegenüberliegende Phasen einer Radiofrequenz (RF)-Spannung angebunden. Dieser radiale Ioneneinschluss führt zu einer hohen Übertragungseffizienz. Ein wiederholendes Muster von Spannungsimpulsen treibt die Ionen durch die Röhre. Dabei überlagert eine gepulste Gleichspannung nacheinander an jeder Elektrode die RF-Spannung. Nach einer festen Impulsverweilzeit wird die Spannung auf die nächste Elektrode übertragen. Die Ionen erfahren das elektrische Feld der Welle und bewegen sich in entsprechender Richtung durch die Röhre (Abbildung 11 oben).^{[75],[76]}

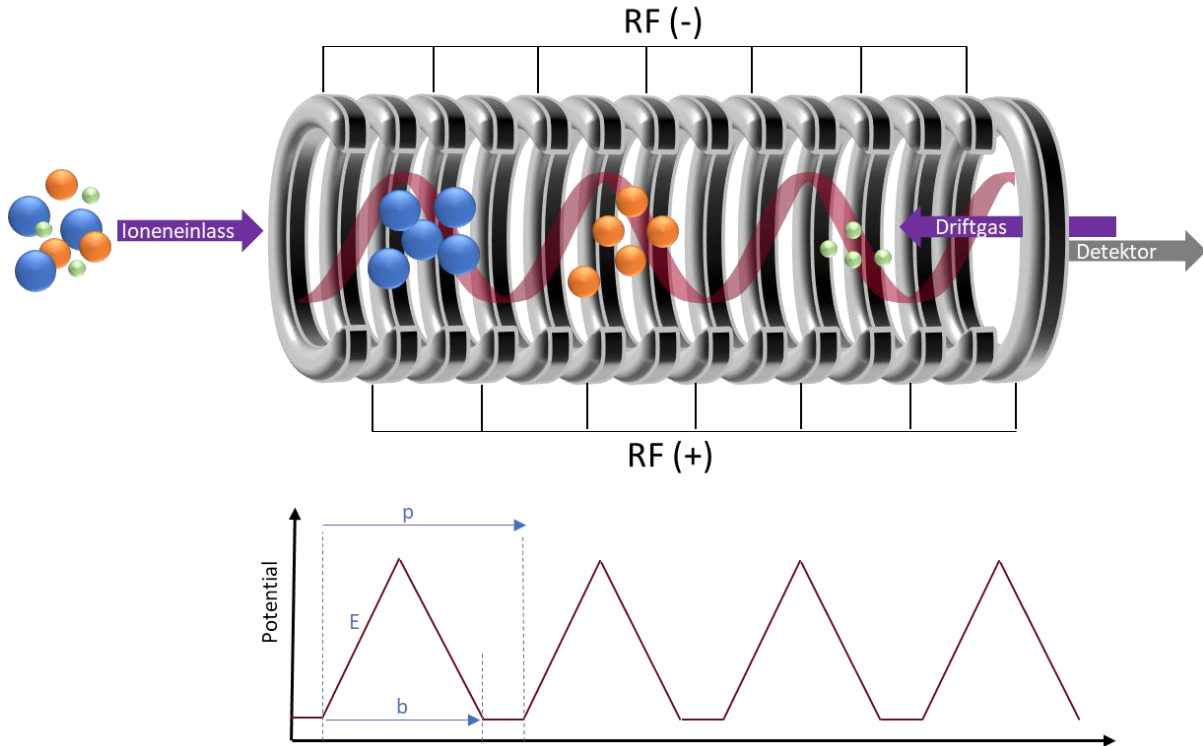


Abbildung 11: Schema der TW-IMS-Zelle (oben) mit dem Potenzialverlauf (unten) über die Länge der Zelle.^{[76],[77]}

Ähnlich wie in der DT-IMS werden die Ionen dabei nach ihrer Größe getrennt, auch hier benötigen größere Ionen aufgrund vermehrter Kollisionen mit dem Driftgas mehr Zeit, um die Röhre zu durchqueren. Die Bewegung der Ionen hängt vom Verhältnis c der maximalen Geschwindigkeit des Ions zur Wellengeschwindigkeit der elektrischen Wellen ab.

$$c = v_{\max}/s = KE_{\max}/s \quad (8)$$

mit s : Länge der elektrischen Welle [m/s] E_{\max} : max. elektrisches Feld [V/cm]

Für $c \ll 1$ findet nur eine kleine axiale Verschiebung statt, sodass das Ion unterhalb der Welle die Zelle durchquert, für $c > 1$ wird das Ion vor der Welle hergeschoben, während im Falle von $c \approx 1$ das Ion auf der Wellenfront „surft“. Im letzten Fall nimmt das Ion eine mittlere Geschwindigkeit an, welche ähnlich zur Wellengeschwindigkeit ist, wird aber gelegentlich von der Welle überholt.^[76] Mit Hilfe der Basisbreite b der Welle und ihrer Länge p , lässt sich für den einfachsten Fall des Wellenprofils – ein einfacher dreieckiger Potenzialverlauf (Abbildung 11 unten) – die Driftzeit eines Ions herleiten.^[76] Unter der Annahme, dass der ideale Fall eingestellt werden kann, und der feldfreie Raum zwischen den Wellen minimiert ist ($p = b$) kann die Driftzeit nach Gleichung (9) ausgedrückt werden.

$$t_D = Ls/(KE)^2 \quad (9)$$

Im Vergleich zu DT-IMS (Gleichung (6)) lässt sich hier feststellen, dass die Driftzeit quadratisch von der Mobilität abhängig ist.

Die TW-IMS kommt in verschiedensten Bereichen zur Anwendung. So werden zum Beispiel Proteine^[78] und ihre Komplexe^[79], mikro-RNA^[80] und Übergangsmetallkomplexe^[81] mit dieser Methode untersucht. Auch in der Metabolomik-Analyse findet die TW-IMS Anwendung.^[82]

Im Rahmen dieser Arbeit soll die TW-IMS eingesetzt werden, um die Sequenzanalyse von kontrolliert aufgebauten, sequenzdefinierten Oligomeren zu ermöglichen. Ähnliche Ansätze finden sich bereits in der Literatur. Lutz *et al.* haben die TW-IMS genutzt, um die über MS/MS zugänglichen Sequenzen zu entschlüsseln. Sie konnten dabei zeigen, dass die IMS eine hilfreiche Methode zur Entschlüsselung von Sequenzen bei Poly(-Alkoxyamin-Phosphodiestern) ist.^[83]

2.1.4.2. Zyklische IMS

Die jüngsten Forschungen im Bereich der IMS-Systeme fokussieren sich auf die Verbesserung der Auflösung der IMS-Trennkapazität. Das Auflösungsvermögen dieser Systeme ist diffusionslimitiert, für DT- und TW-IMS ist es abhängig von der Länge der Driftröhre, dem elektrischen Feld, der Ladung der Ionen und der Temperatur des Driftgases.^{[76],[84]}

$$R \sim \sqrt{\frac{LEq}{T}} \quad (10)$$

mit R : Auflösungsvermögen

Entsprechend gibt es Ansätze, die Auflösung über eine Verlängerung der Driftstrecke^[85], eine Erhöhung des elektrischen Feldes^[86] und der Verringerung der Driftgastemperatur^[87] zu verbessern. Einige neue Konzepte basieren auf dem interessanten Versuch die Driftstrecke zu verlängern, ohne das Gerät signifikant zu vergrößern. Eine solche Variante ist der von Merenbloom *et al.* entwickelte Mehrfachdurchlauf-Zyklotron.^[88] Für eine Verlängerung der Driftstrecke eignen sich TW-IMS Systeme besonders, da anders als für DT-IMS Systeme hier keine gleichzeitige Erhöhung des E-Feldes benötigt wird. Auch sind sie ideal geeignet für den Einsatz in kreisförmigen Separatoren mit mehreren Durchgängen, da das elektrische Potenzial zu Beginn und Ende des Systems identisch ist.^[89] Auf Grundlage dieser Überlegungen wurde das zyklische TW-IMS (cIMS) Gerät der Firma *Waters* entwickelt.^[90]

Im Gegensatz zum Zyklotron von Merenbloom *et al.* können hier auch Ionen mit unterschiedlichen Mobilitäten gleichzeitig mehrere Durchläufe vollführen. Das Auflösungsvermögen steigt dabei proportional zur Wurzel der Anzahl an Durchgängen.

Der Separator besteht aus zwei Bereichen. Zum einen dem Ein- und Auslassbereich, welcher in der optischen Ionenachse des Massenspektrometers liegt, und zum anderen dem Hauptkörper des Trennapparates. Zusammen ergeben diese beiden Bereiche einen 98 cm langen Trennapparat. Das Design des Ein-/Auslass-Bereiches ermöglicht den Einlass, die Trennung der Ionen und ihren Auslass, ohne die Ionentransmission oder Mobilitätsauflösung

zu beeinflussen. Die in diesem Bereich verbauten Elektroden erlauben einen Betrieb der TW-IMS in Einlass bzw. Auslass Richtung (-x- bzw. x-Richtung) oder in dazu orthogonaler Richtung, was der Trennrichtung entspricht.

Der Hauptkörper des Separators besteht aus 608 Elektroden, welche einen rechteckigen, 0,5 cm x 5 cm großen Ionentransmissionstunnel bilden. An jeweils benachbarten Platten liegen gegensätzliche Phasen einer Hochfrequenzspannung an. Die Wanderwellen werden mit einem Wiederholungsmuster von 4 Platten erzeugt. Die ersten beiden Platten sind „eingeschaltet“ und die folgenden beiden sind „ausgeschaltet“. Die Welle bewegt sich mit Ausbreitungsschritten von zwei Platten in y-Richtung.^[91] Während des Trennvorgangs sind die Elektroden des Ein-/Auslassbereiches in Sequenz zu denen im Hauptbereich geschaltet.

Die Bauweise des Gerätes mit zwei Ionen Speichern vor und nach dem Separator ermöglicht es, die Ionen jederzeit aus dem Hauptbereich in einen Speicher zu entlassen. Damit ergibt sich die Möglichkeit neben mehrfach IMS (IMS^n) Messungen auch Kombinationen mit aktivierten und fragmentierten Spezies zu erreichen. Es ist mit diesem System möglich spezifische Teile einer Analytprobe zu entnehmen, und gezielt zu aktivieren, fragmentieren, oder einzeln weiter zu separieren. Die technischen Details dieser Betriebsweisen sind in der Literatur zu finden.^[89]

2.1.4.3. Theoretische Berechnungen

Die strukturelle Interpretation von IMS-Daten wird oft durch molekulare Modellierung unterstützt. Vor allem für unbekannte Proben ist dies eine wichtige Methode. Diese basiert darauf, CCS-Daten für mögliche Kandidatenstrukturmodelle zu berechnen und diese mit den experimentellen Werten zu vergleichen.^[92] Die meisten entwickelten Modelle schießen zu diesem Zweck Puffergas auf einen Analyten innerhalb einer Monte-Carlo Integration des Kollisionsintegrals. Die Hauptunterschiede resultieren aus dem Kompromiss aus Geschwindigkeit und physischer Genauigkeit durch die zugrunde liegenden Annahmen.^[68]

Im Folgenden werden einige Methoden kurz erläutert. Nähere Informationen sind der Literatur zu entnehmen.^{[93]–[95]}

Die rechnerisch aufwändigste, und damit zeitintensivste, Methode ist die Trajektorienmethode (TM). Dieses Modell berücksichtigt Wechselwirkungen mit großer und kurzer Reichweite sowie die Verteilung der thermischen Ionengeschwindigkeit.^[94] Diese Voraussetzungen sind vor allem für kleine Moleküle in Stickstoff wichtig. Der hohe Zeitaufwand resultiert aus den zahlreichen Kraftauswertungen aller Trajektorien.^{[96]–[98]} Der Ersatz von Trajektorienberechnungen durch eine lokale Kollisionswahrscheinlichkeitsnäherung (LCPA) kann den Zeitaufwand reduzieren.^[99] Eine weitere Verbesserung wurde durch die Anpassung

an molekulare Puffergase eingeführt, dazu werden auch unelastische Streuungen berücksichtigt.^{[93],[100],[101]}

Andere Methoden sind das Modell der elastischen Streuung harter Kugeln (EHSS) für größere Analyten^[102] – dieses Modell berücksichtigt keine Wechselwirkungen mit großer Reichweite, da sich gezeigt hat, dass diese für größere Analyten im Schnitt weniger Einfluss ausüben^{[101],[103]} – sowie das Modell der Streuung an Isoflächen mit Elektronendichte (SEDI), welches eine verbesserte Definition für Ionenoberflächen aufweist^[104]. Eine prominente Methode ist die Projektionsnäherung (PA)^[92], welche die Gasstreuungseffekte unter der Annahme von rotationsgemittelten Projektionsflächen als CCS ignoriert. Für große Analyten wie Proteine ist daher der PA-CCS die Metrik der Selbstokklusion des Analyten.^[105] Die Domänenzerlegung kann das Ergebnis für große Strukturen verbessern.^{[98],[106]} Diese Methode eignet sich für nichtatomare Strukturen, einschließlich Perlenmodelle^[107] und Elektronendichten.^{[98],[108]} Aufbauend auf PA hat sich die Methode der projizierten Überlagerungsnäherung (PSA) entwickelt. Diese arbeitet mit einer Mittelfeldnäherung für Streuung basierend auf Oberflächeneigenschaften des Analyten. Dabei werden weitreichende Wechselwirkungen über entfernungs- und temperaturabhängige Kollisionswahrscheinlichkeiten angeglichen.^[96] Dieses Modell kann nicht kugelförmige Analyten besser verarbeiten als PA.

Es gibt verschiedene Anwendungen, welche in der Lage sind, eine oder mehrere dieser Modelle zu nutzen, um den CCS einer Verbindung zu berechnen. Eine davon ist die Anwendung mobcal.

2.2. Chromatographie

Die Chromatographie stellt eine leistungsstarke Trennmethode dar, welche in ihren Anwendungsmöglichkeiten in den letzten Jahrzehnten stark weiterentwickelt wurde und daher in allen Bereichen der Naturwissenschaften Einsatz findet. Begründet wurde diese Trennmethode auf den ersten Adsorptionsuntersuchungen von Chlorophyll des russischen Botanikers Mikhail Tswett aus dem Jahre 1903.^[109]

Über die letzten Jahrzehnte haben sich viele verschiedene Techniken entwickelt. Allen gemein ist, dass das Trennprinzip auf dem Übergang der zu trennenden Komponente zwischen zwei nicht mischbaren Phasen beruht. Dazu wird die Probe in einer mobilen Phase gelöst. Diese mobile Phase kann ein Gas, eine Flüssigkeit oder ein überkritisches Fluid sein. Anschließend wird diese Phase über eine mit ihr nicht mischbare stationäre Phase geführt. An dieser Stelle kann in zwei verschiedene Arten der Chromatographie unterteilt werden: Die innere Chromatographie geschieht im Flachbett. Hier werden alle Komponenten der Probe über die gleiche Zeitspanne getrennt, während sie unterschiedlich lange Wegstrecken zurücklegen. Die Detektion erfolgt noch im Trennbett. Zu dieser Art gehört zum Beispiel die Dünnschichtchromatographie. Die zweite Art ist die äußere Chromatographie. In diesem Fall

wird von allen Komponenten der gleiche Weg zurückgelegt, wofür sie unterschiedliche Zeiten benötigen. Diese Art liegt in der klassischen Säulenchromatographie vor. Die Detektion erfolgt äußerlich im Anschluss an das Durchqueren der Säule.^[4] Im Folgenden soll sich auf die Säulenchromatographie beschränkt werden.

Werden die Phasen so gewählt, dass sich die Probenkomponenten unterschiedlich in ihnen verteilen, erfolgt aufgrund von Mobilitätsunterschieden die Aufspaltung in diskrete Banden, was eine quantitative und qualitative Analyse der Komponenten ermöglicht. Neben der bereits genannten Möglichkeit die Arten der Chromatographie zu unterscheiden, gibt es auch die Möglichkeit der Einteilung nach den Typen der mobilen und stationären Phasen sowie die zugrunde liegenden Gleichgewichte beim Übergang der Analytkomponenten zwischen den Phasen. Anhand der genutzten mobilen Phasen kann grob in Gaschromatographie, Flüssigchromatographie und überkritische Fluidchromatographie unterschieden werden.

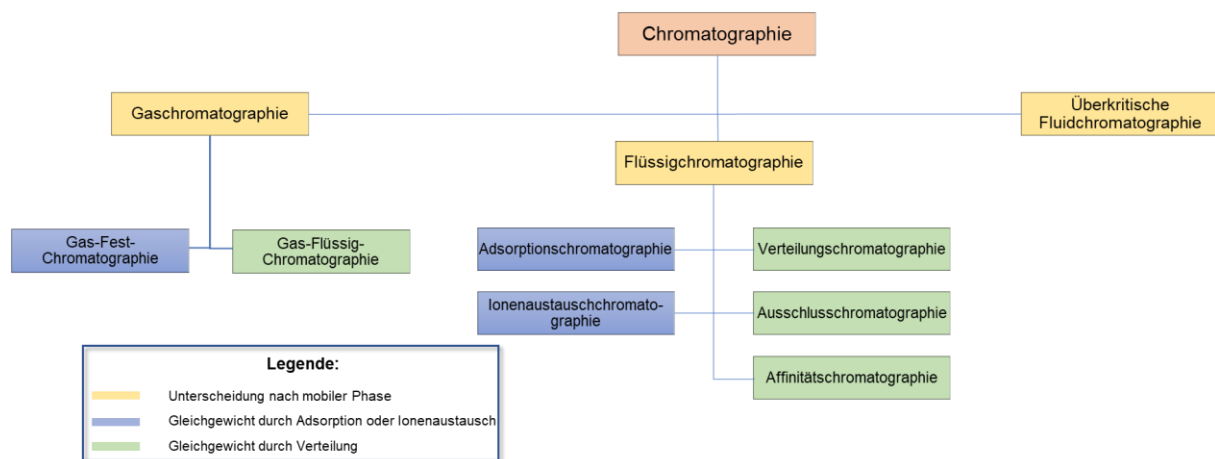


Abbildung 12: Überblick über die Arten der Chromatographie und ihre Einteilung.^[110]

Die Trennung innerhalb der Säule erfolgt über die Elutionstechnik. Die stationäre Phase ist auf der Oberfläche der Säule fixiert, während sich die mobile Phase zwischen der Füllung verteilt. Zu Beginn der Trennung wird der in der mobilen Phase gelöste Analyt am Kopf der Säule aufgebracht. Mit Nachlieferung von frischer mobiler Phase an dem Kopf der Säule wird der Analyt anschließend durch die Säule transportiert. Dabei erfolgen Übergänge der Analytkomponenten aus der mobilen Phase in die stationäre Phase. Komponenten, welche länger in der stationären Phase zurückgehalten werden, benötigen mehr Zeit, um die Säule zu durchqueren und werden so von anderen Komponenten getrennt. Der in der mobilen Phase gelöste Analytteil wird dabei als Eluent bezeichnet und verteilt sich während der Wanderung durch die Säule immer weiter zwischen den beiden Phasen. Daher wird neben der Bandentrennung der einzelnen Komponenten auch immer eine Bandenverbreiterung beobachtet, die aus der statistischen Verteilung der Aufenthaltsdauer einer Komponenten in der stationären Phase resultiert.^{[4],[110]} Die resultierende Peakbreite steht dabei in direktem Zusammenhang mit der Trennleistung der Säule. Werden die Trennbedingungen richtig

gewählt, kann erreicht werden, dass die Verbreiterung der Peaks langsamer auftritt als ihre Trennung, grundsätzlich nimmt beides mit steigender Säulenlänge zu.

Die Leistungsfähigkeit der Säule ist anteilig abhängig von den Geschwindigkeitskonstanten der Reaktionen, welche für das Verteilungsgleichgewicht zwischen den Phasen verantwortlich sind. Es lässt sich für eine Analytkomponente A folgende Verteilungskonstante formulieren:

$$A_M \rightleftharpoons A_S$$

$$K_C = \frac{(a_A)_S}{(a_A)_M} \quad (11)$$

mit A_x : Anteil von Analytkomponente A in Phase x
M: mobile Phase
S: stationäre Phase
 K_C : Verteilungskonstante
 $(a_y)_x$: Aktivität der Analytkomponente y in Phase x

Liegen niedrige Konzentrationen und nicht-ionische Substanzen vor, kann die Aktivität auch durch die Konzentration der Komponenten ersetzt werden.

$$K_C = \frac{(C_A)_S}{(C_A)_M} \quad (12)$$

mit $(c_y)_x$: Konzentration der Analytkomponente y in Phase x

Obwohl die Verteilungskonstante eine grundlegende chromatographische Größe darstellt, kann sie nicht direkt experimentell gemessen werden. Daher wird häufig die Retentionszeit genutzt, welche als Messgröße vorliegt und eine Funktion der Verteilungskonstante darstellt.

Als Maß der mittleren Wanderungsgeschwindigkeit der mobilen Phase kann dabei die sogenannte Totzeit oder Durchflusszeit genutzt werden. Diese entspricht der Aufenthaltsdauer einer Komponente in der mobilen Phase und kann mit Hilfe von Substanzen bestimmt werden, welche nicht in der stationären Phase zurückgehalten werden. Die Zeit, welche eine Substanz von Probeninjektion bis Detektor benötigt, wird als Retentionszeit bezeichnet und setzt sich aus den Zeiten, welche die Substanz in der stationären und mobilen Phase verbringt, zusammen.

$$t_R = t_S + t_M \quad (13)$$

mit t_R : Retentionszeit [s]
 t_S : Aufenthaltsdauer in stationärer Phase [s]
 t_M : Aufenthaltsdauer in mobiler Phase \equiv Totzeit [s]

Damit lässt sich auch eine mittlere lineare Geschwindigkeit der Moleküle durch die Säule formulieren.

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad (14a)$$

$$\bar{u} = \frac{L}{t_M} \quad (14b)$$

mit \bar{v} : mittlere lineare Geschwindigkeit des Analyten [cm/s]
 \bar{u} : mittlere lineare Geschwindigkeit der Moleküle der mobilen Phase [cm/s]
L: Länge der Säule [cm]

Die Einführung des Retentionsfaktors erlaubt den Vergleich von Wanderungsgeschwindigkeiten von Analyten auf unterschiedlichen Säulen, da er weder von der Säulengeometrie noch vom Volumenstrom abhängig ist. Er schafft auch die mathematische Verbindung der Verteilungskonstante und der Retentionszeit.^[110]

$$k_x = \frac{K_x \cdot V_S}{V_M} = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (15)$$

mit k_x : Retentionsfaktor des Analyten x
 K_x : Verteilungskonstante des Analyten x
 V_S : Volumen der stationären Phase
 V_M : Volumen der mobilen Phase

In der klassischen Theorie der Chromatographie wird die Säuleneffizienz quantitativ über die Definition von Trennstufenhöhen (Bodenhöhen) und Trennstufenzahl (Bodenzahl) bestimmt. Dieser liegt die Annahme von Synge und Martin zugrunde, dass angenommen werden kann, dass die Säule aus diskreten, eng aneinandergrenzenden, schmalen Lagen aufgebaut ist. Auf jeder dieser Lagen stellt sich ein Verteilungsgleichgewicht der Analyten zwischen den Phasen ein.^[111]

$$N = \frac{L}{H} \quad (16a)$$

$$H = \frac{\sigma^2}{L} \quad (16b)$$

mit N : Bodenzahl \equiv Anzahl an theoretischen Böden
 H : Bodenhöhe [cm]
 L : Länge der Säule [cm]
 σ^2 : Varianz der Messung [cm²]

Unter Betrachtung von Gleichung (16b) kann die Bodenhöhe auch als der Säulenabschnitt am Ende der Säule zwischen L und $L - \sigma$ betrachtet werden. Unter Zugrundelegung der Gaußverteilung entspricht die Bodenhöhe dann mathematisch einem Anteil von 34 % des Analyten.

Werden weiterhin Gauß-förmige Peaks angenommen, kann die Varianz auch in den folgenden experimentell zugänglichen Definitionen ausgedrückt werden.

$$\sigma = \frac{L \cdot w}{4 \cdot t_R} \quad (17)$$

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2 \quad (17a)$$

$$H = \frac{L \cdot w^2}{16 \cdot t_R^2} \quad (17b)$$

mit N : Bodenzahl \equiv Anzahl an theoretischen Böden
 H : Bodenhöhe [cm]
 L : Länge der Säule [cm]
 w : Basispeakbreite [s]

Diese Bestimmung gilt allerdings als recht unzuverlässig, weshalb häufig eine andere als zuverlässiger geltende Definition für die Bodenzahl genutzt wird:

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{w_{1/2}} \right)^2 \quad (18)$$

mit N : Bodenzahl \equiv Anzahl an theoretischen Böden
 $w_{1/2}$: Halbwertsbreite des Peaks [s]

Sollen die Bodenzahl oder Bodenhöhe für den Vergleich der Leistungsfähigkeit zweier Säulen genutzt werden, ist es zwingend notwendig für den Vergleich den gleichen Analyten zur Bestimmung zu verwenden.

Zur Charakterisierung der Gesamtselektivität einer Säule hilft die Betrachtung der chromatographischen Auflösung. Die Auflösung beschreibt die Breite der Trennung zweier Banden und ist damit ein quantitatives Maß für die Fähigkeit zwei Analyten zu trennen.

$$R_s = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{w_A + w_B} \quad (19)$$

mit $(t_R)_x$: Retentionszeit der Komponente x [s]
 w_x : Basispeakbreite der Komponente x [s]

Die Auflösung kann unter anderem durch die Variation von Temperatur, Zusammensetzung und Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase sowie Säulenlänge und Partikelgröße des Packungsmaterials beeinflusst werden.^[110]

2.2.1. Gaschromatographie

Als Gaschromatographie wird die Trennung eines Analyten mit einer gasförmigen mobilen Phase an einer festen (Gas-Fest-Chromatographie, *engl.* gas-solid-chromatography GSC) oder flüssigen (Gas-Flüssig-Chromatographie, gas-liquid-chromatography GLC) stationären Phase bezeichnet. Die Nutzung einer flüssigen stationären Phase ist dabei die deutlich häufiger genutzte Variante, weshalb diese auch als Gaschromatographie (GC) bezeichnet wird. In der GSC erfolgt die Trennung der Analytkomponenten in Folge physikalischer Adsorptionsprozesse an der Oberfläche der stationären Phase. Da diese Prozesse einen nichtlinearen Charakter aufweisen kommt es bei dieser Technik zu einem starken Tailing des Peaks (Abklingen des Peaks nach dem Maximum deutlich langsamer als Anstieg vor dem Maximum). Für die GLC werden flüssige Phasen auf der Oberfläche der inerten Säulenpackung oder an den Wänden von Kapillaren immobilisiert. Zur Trennung wird der Analyt zunächst verdampft und anschließend von dem Trenngas durch die Säule transportiert. Zwischen dem Analyten und der mobilen Phase treten dabei keinerlei Wechselwirkungen auf, das Trenngas dient ausschließlich dem Transport des Analyten.^[4]

Um die Einflüsse von Temperatur und Druck berücksichtigen zu können, werden in der Theorie der GC Volumina statt Zeiten als Einheit verwendet:

$$V_R = t_R \cdot F \quad (20a)$$

$$(20b)$$

$$V_M = t_M \cdot F$$

mit V_R : Retentionvolumen [ml]
 V_M : Totvolumen [ml]
 F : Volumenstrom [ml/s]

Prinzipiell werden zwei Arten von Säulen in der GC verwendet. Zum einen gepackte Säulen welche zwischen 1 und 5 m lang sein können. In dieser Säulenart ist die stationäre Phase als dünner Flüssigkeitsfilm auf feinverteilten inerten festen Trägern adsorbiert. Alternativ kann die stationäre Phase auch chemisch an das Trägermaterial gebunden werden. Dies hat den Vorteil, dass keine immobilisierte Flüssigkeit während des Elutionsvorgangs aus der Säule gespült werden kann (Ausbluten), weshalb diese Säulen höhere Lebensdauern und Temperaturstabilitäten aufweisen. Typische Trägermaterialien sind Kieselgel oder Kieselgur, poröse Glaskugeln oder Polymere. Diese liegen als kleine einheitliche sphärische Teilchen mit einem Durchmesser von 150 - 250 µm und spezifischen Oberflächen zwischen 0,5 und 4 m²/g vor. Die Teilchen sind chemisch inert und thermisch sowie mechanisch stabil.

Die zweite Säulenart wird durch die Kapillarsäulen gebildet. In diesen Säulen wird kein Packungsmaterial benötigt. Die stationäre Phase ist entweder direkt als dünner Flüssigkeitsfilm auf der Kapillarwand aufgetragen oder die innere Oberfläche ist mit einem Trägermaterial beschichtet, welches mit der stationären Phase imprägniert ist. Diese Säulen können bis zu 100 m lang sein und zeigen daher bessere Trennvermögen als die gepackten Säulen. Eine Flüssigkeit, die als stationäre Phase verwendet werden soll, muss eine geringe Flüchtigkeit (optimal ist ein Siedepunkt von mindestens 100 °C oberhalb der Säulenbetriebstemperatur), hohe thermische Stabilität, hohe chemische Inertheit sowie für die Trennung passende Lösungsmittleigenschaften (Verhältnis der Verteilungskoeffizienten der Komponenten sowie Retentionsfaktoren in vergleichbarem Bereich) aufweisen.^[110] Als stationäre Phasen werden häufig Polysiloxan-Derivate verwendet, aber auch ionische Flüssigkeiten werden in den letzten Jahren immer stärker erforscht, da sie hohe Selektivitäten aufweisen, während sie an die Effizienz der Polysiloxane noch nicht heranreichen.^[112] Probleme können durch Silanolgruppen des Packungsmaterials oder der Kapillarwände entstehen. Polare oder polarisierbare Probenkomponenten können daran durch physikalische Adsorption zurückgehalten werden. Dieses Problem wird durch Desaktivierung der Oberflächen behoben. Die Desaktivierung erfolgt durch Silanisierung mit Dimethylchlorsilan.

Die Säulentemperatur ist in der GC eine wichtige Variable. Sie hat einen direkten Einfluss auf die Trennung und auf die Elutionszeiten. Die optimale Temperatur hängt dabei vom Siedepunkt des Analyten und dem gewünschten Trennungsgrad ab.^[110] Um eine deutliche Trennung von Analytkomponenten zu erreichen, müssen sich die Verteilungskoeffizienten der Komponenten deutlich unterscheiden. Sind die Verteilungskoeffizienten allerdings zu klein, kommt es zu sehr kurzen Retentionszeiten und damit einer unvollständigen Trennung.

Genauso können sehr große Verteilungskoeffizienten zu sehr langen Retentionszeiten führen. Eine gewisse Löslichkeit des Analyten in der stationären Phase ist notwendig, weshalb stationäre Phase und Analyt eine ähnliche Polarität aufweisen sollten. Die Auftrennung zweier Komponenten wird durch ihre relative Flüchtigkeit bestimmt. Für chemisch verwandte Verbindungen ist der Aktivitätskoeffizient die Trenngrundlage.

Die Wechselwirkungen, welche typischerweise zwischen Analyt und stationärer Phase auftreten, sind London-Kräfte, also unspezifische Dispersionskräfte, Keesom-Kräfte (Orientierungskräfte zwischen permanenten Dipolen), Debye-Kräfte (Induktionskräfte zwischen permanenten und induzierten Dipolen) und chemische Bindungskräfte in Form von Ladungs-Übertragungs-Komplexen.^[4]

2.2.2. Flüssigchromatographie

Die klassische Flüssigchromatographie (*engl.* liquid chromatography, LC) von Mikhail Tswett aus dem Jahre 1906 arbeitet mit Glassäulen, die einen Innendurchmesser von 1-5 cm und Längen von 50-500 cm aufweisen.^[109] Die Säulen sind mit einem mit Feststoffpartikeln (Trägermaterial) mit einem Durchmesser von 150 bis 200 µm gefüllt, auf welchen eine Flüssigkeit adsorbiert ist. In dieser Methode kann die Leistung nur durch Verkleinerung der Korngrößen des Trägermaterials verbessert werden, wobei die notwendigen Drücke nicht mehr mit der Glassäule zu vereinbaren sind. Theoretische Grundlage dazu ist die Abhängigkeit der Bodenhöhe vom Massentransferkoeffizienten. Dieser ist proportional zum Quadrat des Teilchendurchmessers, weshalb dessen Verringerung die Bodenhöhe stark herabsetzt.

Heute gibt es viele verschiedene Methoden der LC, denen allen die flüssige mobile Phase gemein ist. Sie unterscheiden sich in den zugrundeliegenden Trennmechanismen und/oder der stationären Phase.^[110]

- Verteilungschromatographie
- Adsorptions- oder Flüssig-Fest-Chromatographie
- Ionenaustausch- bzw. Ionenchromatographie
- Ausschlusschromatographie
- Affinitätschromatographie
- Chirale Chromatographie

Zur Steigerung der Leistung werden in diesen Methoden kleinere Teilchen (3-10 µm) mit hohen Drücken verwendet. In solchen Systemen wird von Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie (*engl.* high performance liquid chromatography, HPLC) gesprochen. Da heute fast ausschließlich unter Druck gearbeitet wird, werden LC und HPLC oft synonym verwendet. Die HPLC ist eine sehr empfindliche und anpassungsfähige Technik, da sich die verschiedenen Methoden gegenseitig in ihrem Anwendungsgebiet ergänzen.

Die Säulen der HPLC bestehen für gewöhnlich aus 5 bis 25 cm langen Stahlrohren mit einem Innendurchmesser von 3-5 mm. Seit den 1980er Jahren sind auch Mikrosäulen von 3-7,5 cm Länge und 1-4,6 mm Innendurchmesser erhältlich. Die Teilchengrößen des Packungsmaterials variieren dabei zwischen 3,5 oder 10 µm bzw. 3 und 5 µm für Mikrosäulen. Mikrosäulen bieten den Vorteil von höheren Messgeschwindigkeiten mit geringerem Lösungsmittelverbrauch. Zwei verschiedene Arten von Packungsmaterialien können in der HPLC verwendet werden. Zum einen filmüberzogene, nicht poröse sphärische Glas- oder Kunststoffteilchen. Die Überzugsfilme bestehen dabei zum Beispiel aus einer dünnen Schicht aus Kieselgel, Aluminiumoxid oder Polystyroldivinylbenzolkunstharzen. Die andere Möglichkeit ist der Einsatz von porösen Mikropartikeln mit sehr engen Partikelgrößenverteilungen. Diese bestehen meist direkt aus Kieselgel, Aluminiumoxid, Polystyroldivinylbenzolkunstharzen oder Ionenaustauscherharzen.^[110]

Neben der bereits diskutierten Bandenverbreiterung innerhalb der Säule kann bei der HPLC auch säulenexterne Bandenverbreiterung auftreten. Dabei entsteht beim Transport des Eluenten durch die Kapillaren des Systems (Injektor, Detektor, Verbindungen zwischen den Bauteilen) ein laminares Strömungsprofil. In der Mitte der Kapillaren liegen höhere Fließgeschwindigkeiten vor als an ihren Wänden. In der GC können solche Effekte durch Diffusion ausgeglichen werden. Gleiches ist in Flüssigkeiten aufgrund der kleineren Diffusionskoeffizienten nicht möglich. Daher müssen, besonders für Säulen mit geringem Durchmesser, die Innendurchmesser säulenexterner Komponenten reduziert werden ($\leq 0,25$ mm).^[110]

Allgemein können vier verschiedene Trennprinzipien in einer LC zugrunde liegen: Adsorption, Verteilung, Ionenaustausch und Ausschluss. Diese Prinzipien treten kaum isoliert, sondern meistens zu Teilen gleichzeitig auf. Für die meisten Methoden sind zwei Arbeitsweisen denkbar. Zum einen die isokratische, in der mit einer gleichbleibenden Lösungsmittelzusammensetzung gearbeitet wird, und zum anderen die Gradientenelution. In Zweiterer wird die Lösungsmittelzusammensetzung laufend nach einem bestimmten Programm während der Elution verändert.^[4]

Auf zwei der genannten Methoden der LC soll im Folgenden näher eingegangen werden.

Verteilungschromatographie

Die Verteilungschromatographie ist die am häufigsten genutzte flüssigchromatographische Methode. Sie wurde ursprünglich für polare, ungeladene Verbindungen mit relativen Molmassen von weniger als 2.000 g/mol genutzt, heute ist auch die Analyse von ionischen Verbindungen möglich. Die stationäre Phase ist eine mit der mobilen Phase nicht mischbare Flüssigkeit, die in zwei Formen vorliegen kann. Zum einen ist die Verwendung von

immobilisierten Flüssigkeiten möglich (Flüssig-Flüssig-Chromatographie). Diese wird durch physikalische Adsorption auf dem Trägermaterial gebunden. Das Trägermaterial besteht dabei meist aus Kieselgel oder Aluminiumoxid. Mit solchen stationären Phasen lässt sich keine Gradientenelution nutzen, da dies zum Ausbluten der Säule führen würde.

Die andere Form der stationären Phase ist die Verwendung von chemisch gebundenen Phasen, wie sie auch in der GC verwendet werden. Diese sind mit der Gradientenelution kompatibel und die Trägermaterialien bestehen fast ausschließlich aus Kieselgel oder basieren darauf. Es werden einheitlich poröse Teilchen mit Durchmessern von 3 bis 5 µm eingesetzt, deren vollständig hydrolysierte Oberfläche aus chemisch reaktiven Silanolgruppen bestehen. Diese werden meist mit Siloxanen beschichtet. Nicht umgesetzte Silanolgruppen müssen auch hier deaktiviert werden, was häufig durch ‚Überkronen‘ mit Chlortrimethylsilan geschieht.^[110]

Die Wahl der Polaritäten der Phasen ist abhängig von dem Lösungsverhalten des Analyten, weshalb sich zwei Arten der Verteilungschromatographie ergeben.

Für in unpolaren Lösungsmitteln gut lösliche Analyten wird die sogenannte Normalphasenchromatographie angewendet. In diesem Falle ist die stationäre Phase aus einer hoch polaren Verbindung hergestellt, während die mobile Phase im Vergleich unpolarer ist. Es lässt sich dabei beobachten, dass die unpolarsten Komponenten zuerst eluieren. Wird die Polarität der mobilen Phase erhöht, nehmen die Elutionszeiten aller Komponenten ab.

Für Analyten, welche eine hohe Löslichkeit in polaren Medien aufweisen, wird hingegen die Umkehrphasenchromatographie verwendet. In diesem Falle ist die mobile Phase die polare Komponente des Systems, während die stationäre Phase unpolar ist. Daher eluieren hier die polarsten Komponenten zuerst, und die Elutionszeiten nehmen mit steigender Polarität der stationären Phase zu. Zur Herstellung von stationären Phasen, für die Umkehrphasenchromatographie, werden die Silanolgruppen des Trägermaterials mit Alkylchlorsiloxanen umgesetzt. Diese richten sich senkrecht zur Kornoberfläche des Trägermaterials aus, sodass bürstenartige Oberflächen entstehen.^[4]

Da in der Verteilungschromatographie signifikante Wechselwirkungen zwischen den Analyten und der mobilen Phase auftreten, müssen stationäre und mobile Phase gut abgestimmt werden, um die Trennung zu optimieren. Dies geschieht im Wesentlichen über die Polarität: sind die Polaritäten von mobiler Phase und Analyt zu ähnlich, ist die resultierende Retentionszeit zu kurz, sind sie zu unterschiedlich ist die Retentionszeit zu lang.

Größenausschlusschromatographie

Die Größenausschlusschromatographie (*engl.* size exclusion chromatography, SEC) wird auch als Gelpermeationschromatographie bezeichnet und wird vor allem zur Trennung

hochmolekularer Analyten eingesetzt. In dieser Methode basiert die Trennung der Komponenten auf ihrer Größe.^[113]

Die Säulen sind in dieser Methode gepackt mit porösen Kieselgel- oder Polymerteilchen mit Durchmessern zwischen 5 und 10 µm. Die Polymerteilchen können dabei zum Beispiel aus quervernetztem Styrol-Divinylbenzol-Copolymeren bestehen. Die Porengrößen der Teilchen sind dabei durch den Anteil aus Divinylbenzol gegeben, da dieses den Vernetzungsgrad bestimmt. Da dieses Polymer selbst unpolar ist, kann es auch nur mit unpolaren mobilen Phasen verwendet werden. Heutzutage sind auch hydrophile Gele (z.B. sulfonierte Divinylbenzol- oder Polyacrylamidharze) erhältlich, welche polare mobile Phasen zugänglich machen. Das Kieselgel jedoch zeigt den Polymer-basierten Trennmaterialien gegenüber einige Vorteile, wie zum Beispiel die Stabilität gegenüber hohen Drücken, die Toleranz einer Bandbreite von Lösungsmitteln und hohen Temperaturen. Es hat allerdings den Nachteil, dass es zu Adsorption neigt und den Abbau des Analyten katalysieren kann.

In beiden Fällen liegt innerhalb der Säule ein Netzwerk aus gleichmäßigen Poren vor, welches vollständig von der mobilen Phase durchdrungen ist. Die Analytmoleküle können genauso wie die Moleküle der mobilen Phase in die Poren diffundieren. Im Gegensatz zu den anderen Methoden der LC liegen hier keine chemischen oder physikalischen Wechselwirkungen zwischen der stationären Phase und dem Analyten vor.^[110] Die Trennung der Komponenten erfolgt über ihre Aufenthaltsdauer in den Poren, welche durch die effektive Größe der Moleküle bestimmt wird. Es lassen sich daher drei Bereiche von Molekülgrößen für eine Säule bestimmen. Moleküle, welche größer sind als die durchschnittliche Porengröße, können nicht in die Poren eindringen. Ihnen steht nur das Volumen zwischen den Teilchen der Packung zu Verfügung, sie eluieren daher als erstes. Dahingegen können Moleküle, welche sehr viel kleiner als die durchschnittliche Porengröße sind, ungehindert im Gel permeieren. Ihnen steht das gesamte Volumen der Säule zu Verfügung, weshalb sie zuletzt eluieren. Zwischen diesen beiden Extremfällen werden die Moleküle anhand ihrer Größe an der Säule fraktioniert. Die Größe bestimmt, welcher Anteil des Porenvolumens dem Molekül zu Verfügung steht, und wie lange es daher braucht, um die Säule zu durchqueren. Mathematisch lässt sich das den Molekülen zur Verfügung stehende Volumen nach Gleichung (21) ausdrücken.

$$V_E = V_0 + K \cdot V_p \quad (21)$$

mit V_E : Elutionsvolumen [ml]

V_0 : Zwischenkornvolumen \equiv Totvolumen [ml]

V_p : Porenvolumen [ml]

K : zugänglicher Anteil des Porenvolumens \equiv Verteilungskoeffizient

In der SEC können die Elutionsvolumina mit Hilfe von Kalibrierkurven ausgewertet werden, um Informationen über die Molmassen der Moleküle zu erhalten. Dazu werden Standardsubstanzen verwendet, deren Molmassen, chemische Struktur und Architektur

bekannt sind und welche ähnliche Eigenschaften wie der Analyt aufweisen. Da in der SEC die Volumina des Analyten in Lösung (hydrodynamische Volumina) ausschlaggebend für die Trennung und damit die Elutionsvolumen sind, sollte die Standardsubstanz im idealen Fall ähnliche hydrodynamische Volumina bei den gleichen Molmassen zeigen. Grundlage dieser Kalibrierung ist der logarithmische Zusammenhang zwischen dem Elutionsvolumen und der relativen Molekülmasse (Abbildung 13 b). Im mittleren Molekülgrößenbereich kann dieser Zusammenhang über eine Gerade ausgedrückt werden:

$$\lg(M) = a - b \cdot V_E \quad (22)$$

mit M : Molmasse [g/mol]
 a, b : Regressionsparameter

In Abbildung 13 sind die verschiedenen Bereiche für Moleküle in der SEC verdeutlicht. Moleküle, welche größer sind als die Ausschlussgrenze der Poren zeigen einen Verteilungskoeffizient von $K = 0$. Unabhängig von Größenverteilungen eluieren diese Moleküle alle mit dem gleichen Elutionsvolumen $V_E = V_0$ (Abbildung 13 a $V_E = 4,8 \text{ ml}$). Dieses Volumen kennzeichnet gleichzeitig den Beginn des linearen Bereichs der Kalibrierkurve. Am anderen Extremum sind die Moleküle kleiner als die Permeationsgrenze (Abbildung 13 a $V_E = 11,0 \text{ ml}$). Auch hier kann keine weitere Trennung der Moleküle nach ihrer Größe erfolgen. Der Verteilungskoeffizient ist für alle Moleküle gegeben mit $K = 1$, daher zeigen auch hier alle Moleküle dasselbe Elutionsvolumen $V_E = V_0 + V_p$. Dieses Volumen kennzeichnet gleichzeitig das Ende des linearen Bereichs (Abbildung 13 b).

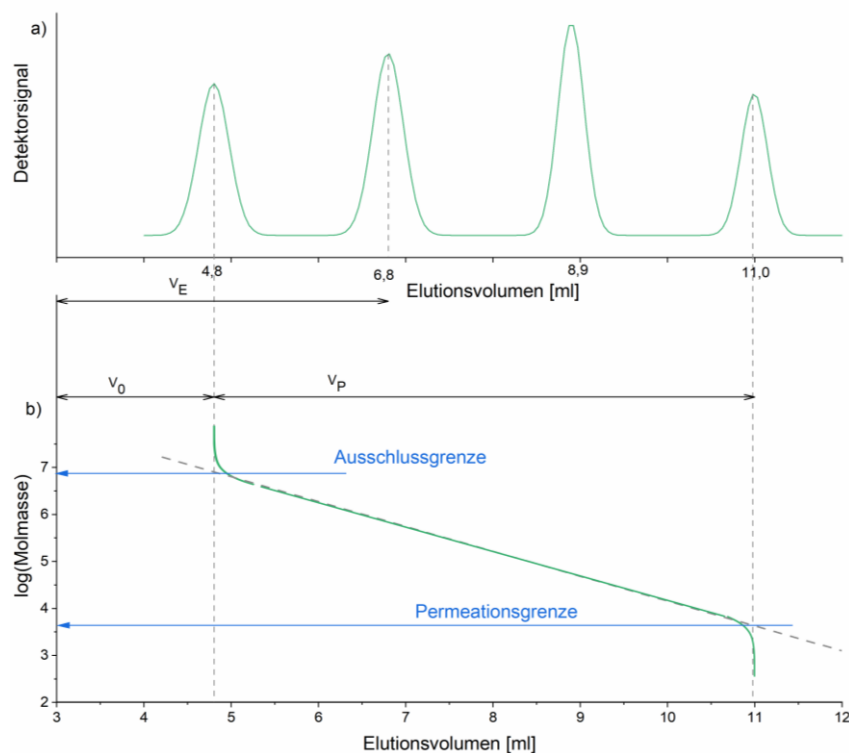


Abbildung 13: Elutionsvolumina für vier Komponenten mit unterschiedlicher Größe (a) und der Zusammenhang mit der Kalibrierfunktion der SEC (b).^[4]

SEC Systeme mit Styrol-Divinylbenzol basierenden Säulen werden häufig eingesetzt, um Polymere zu analysieren. Elutionszeiten solcher Systeme liegen in der Regel zwischen 30 und 60 Minuten. Um sicherzustellen, dass keine Wechselwirkungen zwischen Analyt und Säule auftreten, kann es notwendig sein verschiedene SEC-Systeme, welche verschiedene Lösungsmittel verwenden, zu nutzen, um eine große Reihe an Polymeren zugänglich zu machen. An dieser Stelle kommt erschwerend hinzu, dass die herkömmlichen Säulen nicht oder nur langsam auf neue Lösungsmittel umgestellt werden können. So sind Lösungsmittelwechsel meist nicht nur sehr zeitaufwendig, sondern auch mit Verlusten der Trenneffizienz verbunden.^[5]

Das in dieser Arbeit genutzte System ist die im letzten Jahrzehnt entwickelte Advanced Polymer Chromatography™ (APC) der Firma Waters. Dieses System ist ein Ultrahochleistungs-SEC System (UHPLC). Derartige Systeme arbeiten mit Ethylen verbrückten Hybrid (BEH)-Packungen in den Säulen. Diese sind im Vergleich zu den Styrol-Divinylbenzol-Teilchen stabiler gegen höhere Drücke und zeigen auch eine höhere Stabilität für verschiedene Lösungsmittel.^[114] Für die APC konnte in den letzten Jahren eine große Variation an Lösungsmitteln als mögliche mobile Phase etabliert werden.^[115] Auch konnte an einer kleinen Auswahl gezeigt werden, dass der Prozess des Lösungsmittelwechsels, welcher gewöhnlich mit einem Umquellen der Säulenpackung und dem daraus resultierenden Verlust an Säuleneffizienz verbunden ist, für diese Säulen kein Problem darstellt. Styrol-Divinylbenzol basierende Säulenpackungen quellen in der mobilen Phase. Dabei werden sowohl die Poren zugänglich als auch potenziell Bereiche zwischen den Teilchen innerhalb der Säule unzugänglich. Soll die mobile Phase gewechselt werden, muss beachtet werden, dass die Säulenpackung in dem neuen Lösungsmittel ein anderes Quellverhalten zeigen kann. Daher muss der Wechsel langsam und mit geringen Flussgeschwindigkeiten durchgeführt werden, und es kann zu vermehrten unzugänglichen Bereichen in der Säule kommen. Dies ist der Grund für den erwähnten Verlust der Trenneffizienz. BEH basierende Säulen zeigen kaum Quellungen und können daher schnell umgespült werden. Summers, Shia und Fountain konnten zeigen, dass auch der mehrmalige Wechsel der mobilen Phase zu wiederholbaren Trennleistungen mit Unterschieden <2% führen.^[116] Messzeiten der APC variieren je nach Säulenlänge und Flussrate zwischen 4 und 7 Minuten, während die Trennleistung der Säulen mit denen der herkömmlichen SEC vergleichbar bleibt.^[117]

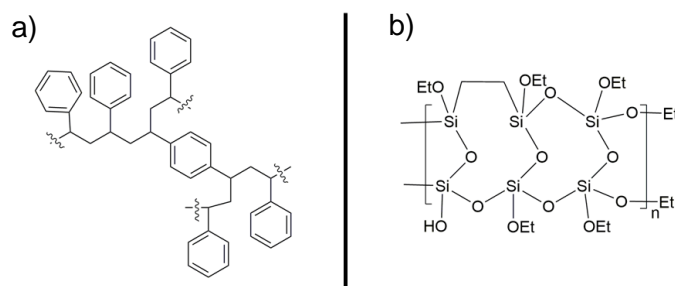


Abbildung 14: Struktur der Styrol-Divinylbenzol-Copolymere (a) und Ethylen verbrückte Polysilane (b).

2.2.3. Detektoren

Für die LC und SEC stehen viele verschiedene Detektoren in verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten zu Verfügung. Es gibt zwei Möglichkeiten diese Detektoren zu unterteilen. Die erste Möglichkeit differenziert auf Grundlage der Eigenschaft, welche zur Detektion genutzt wird. Unterteilt wird danach in zwei Gruppen. Detektoren der ersten Gruppe nutzen die Änderung einer Eigenschaft des Eluenten in Anwesenheit des Analyten (z.B. Brechungsindex (*engl.* refractive index, (RI), Dielektrizitätskoeffizient oder Dichte). In der zweiten Gruppe hingegen, werden Eigenschaften ausgenutzt, die nur der Analyt, nicht aber die mobile Phase alleine aufweist (z.B. UV-Absorption, Fluoreszenz, Diffusionsstrom).^[110] Die andere Möglichkeit der Einteilung unterteilt in physikalische und chemische Detektoren. Können die Detektoren in Kombination synergetisch zusammenarbeiten, um zum Beispiel Informationen bezüglich Polymerarchitektur und Thermodynamik verdünnter Lösung zugänglich zu machen, handelt es sich um physikalische Detektoren. Chemische Detektoren ergänzen sich hingegen nur additiv in ihren Ergebnissen (UV/Vis, Infrarot (IR), NMR, MS, u.a.).^[5] Am häufigsten finden konzentrationsempfindliche Detektoren Anwendung. Diese messen das entsprechende Signal in Abhängigkeit zur Konzentration des Analyten an jeder von der Säule eluierenden Schicht. Beispiele für solche Detektoren sind RI, UV/Vis und IR. Die Funktionsweise von zwei dieser Detektoren wird nachfolgend genauer erläutert.

Differenzialrefraktometer:

Die Konzentration c einer Lösung kann in Abhängigkeit von den Brechungsindices der Lösung n_l , des reinen Lösungsmittels n_0 und des reinen Analyten n_p ausgedrückt werden. Durch diesen Zusammenhang lässt sich die Abhängigkeit des Brechungsindex der Lösung von der Analytkonzentration ableiten, welche im Funktionsprinzip dieses Detektors genutzt wird.^[5]

$$n_l \propto n_0 + (n_p - n_0)c \quad (23)$$

In RI-Detektoren ist die Messzelle in zwei Hälften geteilt: die Messhälfte und die Referenzhälfte. Ein Lichtstrahl durchquert dabei beide Hälften der Zelle. Diese sind durch eine Wand getrennt, deren Winkel so gewählt wird, dass unterschiedliche Brechungsindices in beiden Lösungen zur Krümmung des einfallenden Strahls führen. Die resultierende Verschiebung des Strahls in Bezug auf die photosensitive Oberfläche einer Photodiode verursacht dabei eine Änderung des Ausgangssignals. Der Vorteil dieser Detektoren ist, dass sie auf nahezu alle Substanzen ansprechen und zuverlässig und unabhängig von Fließgeschwindigkeiten sind. Voraussetzung für die Messung einer Substanz ist nach Gleichung (23), dass sich ihr Brechungsindex von dem des Lösungsmittels unterscheidet. Brechungsindices sind allerdings stark temperaturabhängig und erfordern daher eine Temperierung auf ein tausendstel Grad genau. Mit der Gradientenelution sind sie auf Grund des Abgleiches mit der Referenzhälfte nicht kompatibel.^[110]

UV/Vis-Detektoren:

Diese Detektoren basieren auf Ultraviolett-Absorption und sind weit verbreitet in LC- und SEC-Systemen. Voraussetzung für deren Funktion ist die Verwendung einer mobilen Phase, welche UV-durchlässig ist, und eines Analyten, der im ultravioletten Bereich absorbiert. Zur Analyse wird die Gesetzmäßigkeit nach Lambert-Beer genutzt:^[5]

$$A = \lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (24)$$

mit *A*: Absorbanz

*I*₀: Intensität des einfallenden Lichts

I: Intensität des transmittierten Lichts

ε: molarer Extinktionskoeffizient [dm³/(mol · cm)]

c: Konzentration der absorbierenden Substanz [mol/dm³]

d: Schichtdicke [dm]

Das Volumen der Messzelle wird dabei so gering wie möglich gehalten, um auch die säulenexterne Bandenverbreiterung so gering wie möglich zu halten. Oft werden Zweistrahlgeräte verwendet. Dabei wird ein Strahl direkt durch die mit Eluent gefüllte Durchflusszelle geleitet, während der Zweite als Referenzstrahl verwendet wird. Durch Vergleich beider Strahlen kann ein Chromatogramm erstellt werden, wobei die Absorbanz gegen die Zeit aufgetragen wird.^[110]

Aufgrund der Belastbarkeit und Unabhängigkeit gegenüber den Fließgeschwindigkeiten soll in dieser Arbeit ein RI-Detektor für das SEC-System verwendet werden.

2.3. Kopplungssysteme

Die Informationen, welche aus einer Analysemethode gewonnen werden, können durch die Kopplung von zwei Methoden noch potenziert werden. Dabei kann es sich um die Verbindung der gleichen Technik, wie zum Beispiel Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS), der GC/GC, oder zwei verschiedener Techniken handeln. Eine Vielzahl solcher Kopplungen werden routinemäßig im Laborbetrieb eingesetzt. Dazu zählen unter anderem die Kopplung von Chromatographie- und Spektroskopiemethoden (GC/MS, LC/MS, LC/UV/Vis, u.a.). Besonders effektiv sind Kopplungen dann, wenn sie online, das heißt simultan, betrieben werden können.^[4]

2.3.1. Kopplung von Chromatographie und Massenspektrometrie

Die beiden meist genutzten chromatographischen Methoden für eine Kopplungen mit der Massenspektrometrie sind GC- und LC-Methoden.

Besonders die Kapillar-GC eignet sich für derartige Kopplungen. Der Trägergasstrom ist so klein, dass er direkt in die Ionisationskammer geleitet werden kann. Häufig werden dafür sogenannte offene Kopplungen verwendet, in denen eine lose Verbindung zwischen der

Trennsäule, welche unter Normaldruck arbeitet, und der evakuierten Ionenquelle genutzt wird. Die Verbindung von GC-Systemen mit gepackten Säulen und MS-Systemen benötigt dagegen Separatoren. Diese reduzieren den Gasstrom, indem sie mit dem Strahlprinzip arbeiten. Der Gasstrom wird durch eine Düse ins Vakuum geleitet, wobei die schwereren Analytmoleküle angereichert werden und über das Transferrohr zur Ionenquelle gelangen, während die leichteren Trägergasmoleküle im Vakuum abgesaugt werden. Zur Kopplung mit der GC sind Quadrupol- und Magnetfeldsektor-MS-Systeme kommerziell erhältlich, welche direkt auf den Betrieb in der Kopplung ausgelegt sind. Während diese Geräte die Möglichkeit bieten, vollständige Massenspektren für jeden Peak aufzunehmen oder sich auf eine einzelne Masse zu konzentrieren, kann mit einfachen GC/MS-Kopplungen nicht zwischen Isomeren unterschieden werden.

Die LC/MS-Kopplungen können wertvolle Informationen für Vielkomponentensysteme liefern, lassen sich aber meist nicht direkt realisieren. Da nur „Microbore“-Säulen bei Flussgeschwindigkeiten (10-50 µl/min) arbeiten, welche mit den Ionisationstechniken der Massenspektrometrie vereinbar sind, wurden für LC/MS-Kopplungen verschiedene Schnittstellen entwickelt:

- Moving-Belt-Interface: Der Analyt und das Solvenz werden auf einem Transportband durch eine beheizte Kammer bewegt. Dabei wird das Lösungsmittel verdampft und der Analyt zur Ionisierung weiterbefördert.
- Partikelstrahlinterface: Diese Schnittstelle ähnelt dem Separator der GC/MS-Kopplung. Der Eluent wird bei einem Fluss von 0,1-1 ml/min mit Helium als Hilfsgas zerstäubt und bei 50 °C und 0,3 bar in eine Desolvationskammer überführt. Dort wird das Lösungsmittel verflüchtigt und in der nächsten Kammer von den aufkonzentrierten Analytmolekülen getrennt, da diese aufgrund ihres höheren Impulses weiter zur MS-Ionenquelle gelangen. Der Analyt wird bei 250 °C verdampft und mit EI oder CI ionisiert. Diese Schnittstelle kann mit Normal- und Umkehrphasenchromatographie betrieben werden, da das Lösungsmittel allerdings gut verdampfbar sein muss, wird es vor allem für unpolare und mäßig polare Verbindungen verwendet.
- Thermosprayinterface: Die Verdampfung bzw. Versprühung der mobilen Phase mit Flussgeschwindigkeiten bis zu 2 ml/min erfolgt in einer beheizbaren Kapillare. Dabei erfolgt eine direkte Ionisierung des aus Solvenz und Analyt bestehenden Aerosols über einen Ladungsaustausch. Zu diesem Zweck muss dem Eluenten bereits ein Salz zugegeben werden. Diese Ionisierung ist relativ weich, weshalb kaum bis gar keine Fragmentierung des Analyten beobachtet werden kann. Voraussetzung für diese Schnittstelle ist die Löslichkeit des Salzes in der mobilen Phase, daher eignen sich besonders polare Verbindungen an Umkehrphasen.

- Ionisation unter Atmosphärendruck: Einige Ionisationstechniken der MS werden unter Atmosphärendruck betrieben. Diese können in den Kopplungen gut genutzt werden. Die ESI zum Beispiel kann mit kleinen Flussraten von 1-20 µl betreiben werden und eignet sich für mäßig bis stark polare, ionische oder makromolekulare Verbindungen. Eine andere Möglichkeit ist die Nutzung der APCI. Hier wird durch einen beheizten pneumatischen Zerstäuber ein Aerosol erzeugt, welches anschließend durch Koronaentladung in ein Plasma überführt wird. Die Ionisation der Analyten wird durch Ionen aus dem Lösungsmittel oder Pufferbestandteilen induziert. Eine dritte Möglichkeit bietet die APPI. Dabei erfolgt die Ionisation durch Photonen aus einer UV-Lampe. Um den Analyten mit guter Wahrscheinlichkeit ionisieren zu können, werden allerdings Dotanten (z.B. Toluol) als Vermittler zwischen Photon und Analyt benötigt, da andernfalls bevorzugt Lösungsmittelmoleküle ionisiert werden.

In dieser Arbeit soll das SEC-System mit einem ESI-Massenspektrometer gekoppelt werden. Dazu wird der Eluent nach der Säule mit Hilfe eines Splitters getrennt, sodass die Flussmenge, welche in die Ionenquelle geleitet wird, mit den Anforderungen der ESI kompatibel ist. Der größere Anteil des Flusses wird in den RI-Detektor der SEC geleitet.

2.3.2. Tandem-Massenspektrometrie

Unter Tandem-Massenspektrometrie werden alle Techniken verstanden, bei denen massenselektierte Ionen einer weiteren massenspektrometrischen Analyse unterzogen werden.^[118] Sie wird auch häufig als Massenspektrometrie-Massenspektrometrie (MS/MS)-Kopplung bezeichnet. Diese Techniken machen Massenspektren vorausgewählter, fragmentierter Ionen zugänglich. Voraussetzung für diese Messungen sind zwei Stufen der m/z Analyse in dem genutzten Gerät. Im ersten Massenanalysator werden die Ionen selektiert, und das Vorläufer (Precursor)-Ion ausgewählt. Es folgt eine Überführung in eine Wechselwirkungszone, in welcher das Precursor-Ion fragmentiert wird, und anschließend eine weitere Massenanalyse der Produktionen im zweiten Massenanalysator.^[110] Eine derartige Durchführung wird auch als *Tandem-in-Space* bezeichnet. Die beiden Massenanalysatoren sind räumlich voneinander getrennt, und die Dissoziation erfolgt in einem Zwischenfragment. Diese Durchführung ist grundsätzlich in allen Geräten mit kontinuierlichem Ionenstrahl möglich.^[119]

Eine andere Möglichkeit wird *Tandem-in-Time* genannt. Dabei werden in einem einzigen Analysator die Schritte der Ionenselektion, -aktivierung und Produktionen-Analyse zeitlich nacheinander durchgeführt. Eine örtliche Trennung liegt nicht vor.^[119]

Über MS/MS-Experimente sind je nach Durchführung verschiedene Spektrentypen zugänglich. Produktionenspektren werden erhalten, wenn der erste Massenanalysator auf

einen bestimmten m/z -Wert eingestellt wird, während der zweite Analysator über den gesamten m/z -Bereich scannt. Dabei werden alle Produktionen eines Vorläuferions erfasst. Dahingegen kann ein Vorläuferionenspektrum erhalten werden, wenn umgekehrt der erste Massenanalysator über den gesamten Bereich scannt, und der zweite Analysator auf das m/z -Verhältnis eines bestimmten Fragmentions eingestellt wird. Diese Durchführung ermöglicht es, Mitglieder einer Stoffklasse innerhalb einer Mischung zu identifizieren und Konzentrationen zu bestimmen, da diese häufig gleiche Produktionen bilden. Eine letzte Möglichkeit ist die Aufnahme von Neutralverlustspektren. Dazu scannen beide Analysatoren über den m/z -Bereich, haben dabei aber einen definierten Abstand. So kann festgestellt werden, welche Vorläuferionen den gleichen Verlust eines bestimmten Neutralteilchens (z.B. CO_2 oder H_2O) zeigen.^[110] Häufig wird die Bezeichnungsweise MS^n genutzt, um die Stufenanzahl der Massenanalyse in Tandem-MS-Experimenten zu kennzeichnen.

Die Dissoziation der Vorläuferionen kann auf verschiedene Arten erreicht werden. Es sollen im Anschluss nur einige ausgewählte genannt werden. Der einfachste Fall ist der von metastabilen Ionen, welche selbständig nach einer bestimmten Zeit zerfallen, ohne dass zusätzliche Aktivierung benötigt wird. In diesen Fällen ist es wichtig, den zeitlichen Aufenthalt der Precursor-Ionen im ersten Analysator so einzustellen, dass der Zerfall zwischen beiden Analysen stattfindet. Eine andere Methode ist die stoßinduzierte Dissoziation (*engl.* collision-induced dissociation, CID). Diese stellt die wichtigste Aktivierungsmethode dar.^[120] Dabei erfolgt die Dissoziation ansonsten stabiler Ionen über den Zusammenstoß mit einem inerten Stoßgas. Dieses Gas (He , N_2 , oder Ar) liegt in der Stoßzelle mit einem Druck vor, welcher deutlich über dem umgebenden Hochvakuum liegt, die Ausbreitung des Gases erfolgt dabei über Diffusion.^[121] Eine weitere Möglichkeit ist die Dissoziation in Folge einer Steigerung der inneren Energie der Precursor-Ionen. Dies geschieht durch Stöße mit der Oberfläche von Festkörpern (*engl.* surface-induced dissociation, SID).^{[122],[123]} Dabei wird der einfallende Ionenstrahl so gelenkt, dass er im 45° Winkel auf eine Oberfläche (Zell- oder Einfangwände) trifft. Die Analyse erfolgt durch einen senkrecht zum Ionenstrahl stehenden linearen Quadrupol-Analysator.^{[122],[124]} Über die Anordnung kann die Energie der einfallenden Ionen und damit der Grad der Fragmentierung gesteuert werden. Diese Methode wird erfolgreich zur Strukturaufklärung von Proteinen eingesetzt.^[125] Auch der Einsatz chemisch modifizierter Oberflächen, zum Beispiel in Form von dünnen Filmen, zur besseren Dissoziation ist dabei möglich.^[110] Die letzte hier erwähnte Methode ist die Elektroneneinfangdissoziation (*engl.* electron-capture dissociation, ECD). Dabei wird von dem Precursor-Ion ein Elektron eingefangen. Dies führt zur Verschiebung des Ladungszustandes, während zunächst die Masse unverändert bleibt. Voraussetzung ist dementsprechend ein Precursor-Ion, welches mindestens eine Zweifachladung aufweist, damit es im weiteren Zustand noch geladen bleibt. Weiterhin muss das Ion vor dem Elektroneneinfang eine gerade Anzahl an Elektronen

aufweisen, sodass das entstehende Radikal-Ion dissoziieren kann. Die bei der Neutralisation frei werdende Energie wird in innere Energie umgewandelt, und löst dabei eine spontane Dissoziation aus.^[17] Große, mehrfachgeladene Ionen sind dabei von Vorteil, da der Querschnitt zum Elektroneneinfang grob mit dem Quadrat der Ionenladung zunimmt.^[126] Manchmal kann auch hier ein Hilfsgas zugesetzt werden, um die Dissoziation zu unterstützen.^[110] Bei der ECD handelt es sich um eine im Vergleich neue Methode^{[126],[127]} mit einer breiten Anwendung in der Sequenzierung von Biomolekülen.^[128]

Für die Analyse von Polymeren kann die Tandem-MS in unterschiedlichen Bereichen eingesetzt werden. Es können individuelle Endgruppen identifiziert werden^[129], Copolymersequenzen aufgedeckt^[130] und zwischen Architekturen unterschieden werden.^[131] Auch zur Peptidentifikation wird MS/MS eingesetzt. Um die häufig komplizierten Fragmentspektren auszuwerten, wird dabei auf eine Sequenzdatenbank zurückgegriffen.^[132] Auch in der Metabolomik kommt MS/MS zur Identifikation der Komponenten einer Mischung zum Einsatz. Die genutzten Spektralbibliotheken sind dabei häufig unvollständig, sodass die Analysen deutlich erschwert werden, und viele Metabolome unbekannt bleiben.^[133]

2.4. Polymere

In Körper und Umwelt sind vielfältige Makromoleküle zu finden. Man kann sie in natürliche, wie zum Beispiel Polysaccharide (Cellulose), Polypeptide (Enzyme) und Polynucleotide (DNA) und synthetische Makromoleküle unterteilen. Anders als ihre natürlichen Analoga sind synthetische Polymere in der Regel polydispers. Das bedeutet, sie haben keine einheitliche Molmasse, sondern eine Verteilung verschiedener Kettenlängen und Molmassen. Daher lassen sich unterschiedliche Mittelwerte bestimmen, deren Art abhängig ist von dem Verfahren, welches zu der Bestimmung genutzt wird.

Man unterscheidet:

- Zahlengewichtete mittlere Molmasse \overline{M}_n (Zahlenmittel), welche zum Beispiel durch Osmometrie bestimmt werden kann

$$\overline{M}_n = \frac{1}{N} \sum_i N_i \cdot M_i \quad (25)$$

mit N_i : Zahl der Moleküle mit Molmasse M_i
 M_i : Molmasse der Moleküle i
 N : Gesamtzahl der Moleküle

- Massengewichtete mittlere Molmasse \overline{M}_w (Massenmittel), zum Beispiel durch Lichtstreuung bestimmt

$$\overline{M}_w = \frac{1}{m} \sum_i m_i \cdot M_i = \frac{\sum_i N_i \cdot M_i^2}{\sum_i N_i \cdot M_i} \quad (26)$$

mit m_i : Masse der Moleküle mit Molmasse M_i
 m : Gesamtmasse der Moleküle

- Viskositätsgewichtete mittlere Molmasse \overline{M}_η (Viskositätsmittel), gewonnen durch Viskositätsmessungen

$$\overline{M}_\eta = \left(\frac{\sum_i N_i \cdot M_i^{\alpha+1}}{\sum_i N_i \cdot M_i} \right)^{1/\alpha} \quad (27)$$

mit α : Exponent der Kuhn – Mark – Houwink – Sakurada – Gleichung

- Z-gewichtete mittlere Molmasse \overline{M}_z aus Sedimentationsexperimenten

$$\overline{M}_z = \frac{\sum_i N_i \cdot M_i^3}{\sum_i N_i \cdot M_i^2} \quad (28)$$

Die Unterschiede zwischen diesen Mittelwerten können als ein Maß für die Breite einer Molmassenverteilung genutzt werden. Die Polydispersität \mathfrak{D} ist das Verhältnis von Gewichtsmittel zu Zahlenmittel.^[134]

$$\mathfrak{D} = \frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n} \geq 1 \quad (29)$$

mit \mathfrak{D} : Polydispersität

Die Messungen mit SEC können die gesamte Molmassenverteilung eines Polymers zeigen, und damit auch alle Mittelwerte (Abbildung 15) zugänglich machen.

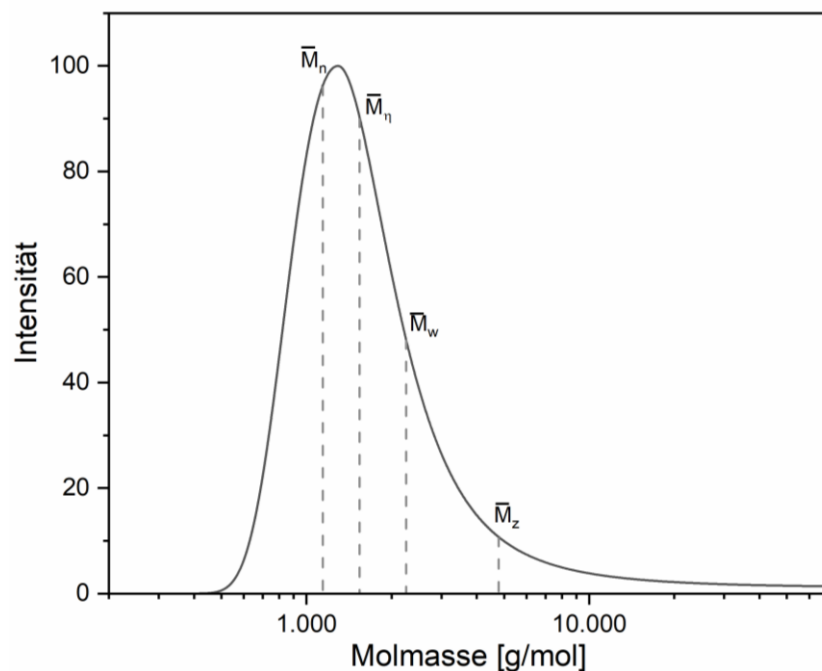


Abbildung 15: Beispielhafte Molmassenverteilung eines Polymers mit den mittleren Molmassen aus einer SEC-Messung.

Neben der Molmassenverteilung können bei synthetischen Polymeren noch andere Arten von Heterogenitäten vorliegen (Abbildung 16). Diese stammen aus den statistischen Prozessen, welche in jeder Polymerisation vorliegen, wie zum Beispiel Initiation, Wachstum, Terminierung und Übertragungsreaktionen. Es ergeben sich drei zusätzliche Arten von Heterogenitäten.^{[7],[135]}

- Verteilung von Funktionalitätstypen: Endfunktionalitäten, Multifunktionalitäten, Seitenkettenfunktionalitäten, etc.
- Verteilung der Copolymerzusammensetzungen: zufällig, alternierend, blockartig, gepopft,
- Verteilung der Topologie: zyklisch, linear, sternförmig, verzweigt, dendritisch, netzwerkartig

Molekulare Heterogenitäten

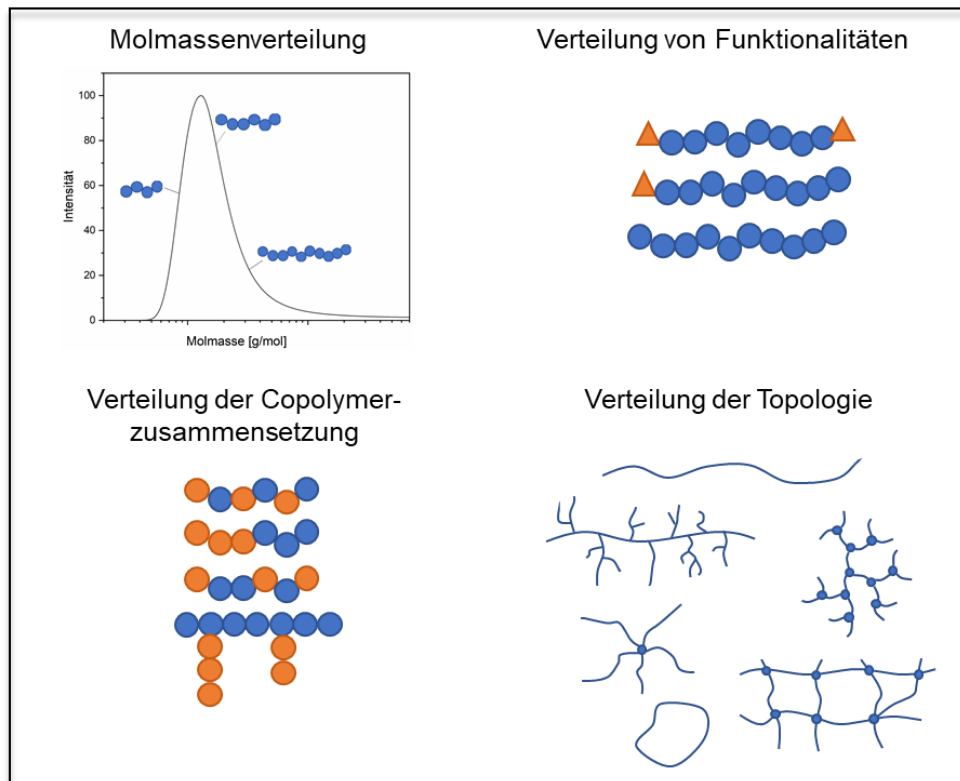


Abbildung 16: Die Heterogenitäten innerhalb eines Polymers können abhängig von seiner Komplexität zwischen einer Verteilung der Molmasse, Unterschieden der Funktionalitäten, Verteilungen der Monomere innerhalb von Copolymeren und Unterschieden in den Architekturen variieren.

Über die Polymerisationsart kann die Breite der Verteilungen beeinflusst werden. So werden mit kontrollierten radikalischen Polymerisationen zum Beispiel Polydispersitäten von $\bar{D} \leq 1,2$ erreicht.^[136] Auch die Endgruppenfunktionalitäten, Copolymerzusammensetzungen und Topologien können über solche Methoden gut kontrolliert werden.^[137]

2.4.1. Radikalische Polymerisation

Zur Synthese von Polymeren stehen verschiedenen Methoden zu Verfügung.^[138] Sie können zum Beispiel durch radikalische und anionische Polymerisationen oder Kondensationsreaktion hergestellt werden. Die in dieser Arbeit hergestellten Polymere werden mit einer radikalischen Polymerisation synthetisiert. Radikalische Polymerisationen können in freie und verschiedene kontrollierte radikalische Polymerisationen unterteilt werden.

Die freie radikalische Polymerisation kann in vier Reaktionsschritte unterteilt werden: Initiatorzerfall, Kettenstart, Kettenfortpflanzung (Propagation) und Kettenabbruch (Terminierung) (Abbildung 17 a-d).^[139] Der Initiatorzerfall erfolgt entweder thermisch, durch Lichteinwirkung oder infolge einer Redoxreaktion. Typische im Labor eingesetzte Initiatoren sind Azobisisobutyronitril (AIBN) und Dibenzoylperoxid (DBP). Die entstandenen Radikale können anschließend mit dem ersten Monomer in einer radikalischen Addition reagieren und so die Kette starten (Abbildung 17 b). Die erneute radikalische Addition weiterer Monomermoleküle führt zur Propagation und damit dem Aufbau der Polymerkette (Abbildung 17 c). Eine Kette kann abgebrochen werden, indem entweder eine Kombinationsreaktion zweier Polymerradikale zu einer inaktiven Kette führt oder eine Disproportionierung erfolgt (Abbildung 17 d 1 bzw. 2). Bei der Disproportionierung führt die Übertragung eines Wasserstoffradikals einer Kette auf einer andere zu zwei inaktiven Ketten. Diese unterscheiden sich in den entstandenen Endgruppen. Während die eine Kette mit Erhalt des Wasserstoffradikals eine gesättigte Endgruppe aufweist, zeigt die andere eine ungesättigte Endgruppe (Abbildung 17 d).

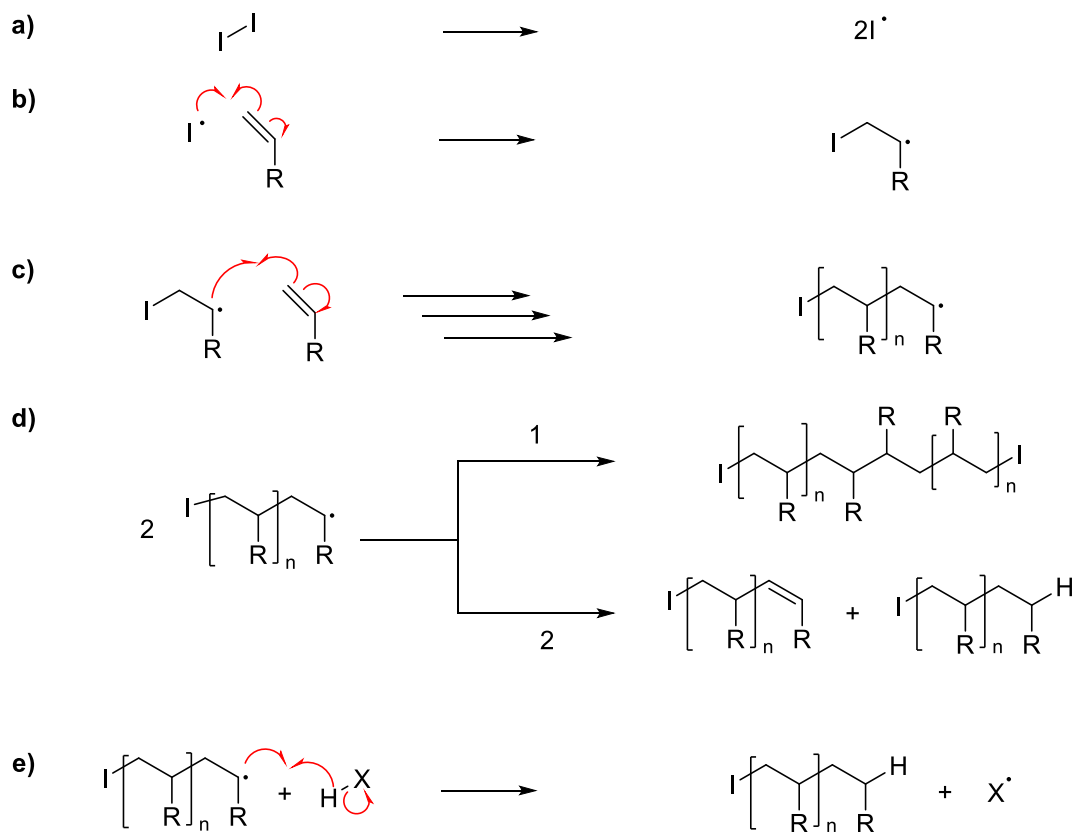


Abbildung 17: Teilschritte der freien radikalischen Polymerisation.

Zusätzlich zu diesen Reaktionen können auch Übertragungsreaktionen auftreten (Abbildung 17 e). Es gibt zwei Arten von Übertragungsreaktionen. Beide führen zum Abbruch der Polymerkette. Die erste Art der Übertragung erfolgt mit einem Molekül, welches selbst nicht in der Lage ist, eine neue Polymerkette zu starten (z.B. Lösungsmittel, oder Verunreinigungen),

da stabile Radikale gebildet werden. Damit wird die kinetische Kette ebenfalls abgebrochen. Die zweite Art der Übertragung erfolgt hingegen mit einem Molekül, welches als Kettenstarter dienen kann. Derartige Moleküle werden oft gezielt zugesetzt und dazu genutzt, die Molmasse zu regeln. Sie werden Übertragungsreagenzien genannt.^[139]

Die freie radikalische Polymerisation zeigt einige Nachteile. So ist die Einstellung der mittleren Molmasse nur geringfügig möglich. Die Initiatorkonzentration übt einen Einfluss auf die erzielte Molmasse aus, da sie die Anzahl der gestarteten Ketten beeinflusst, doch sie wirkt sich damit gleichzeitig auf die gesamte Polymerisationsgeschwindigkeit aus. Auch der Einsatz von Übertragungsreagenzien kann die Molmasse beeinflussen, dennoch ist eine gezielte Einstellung der mittleren Molmasse nur über eine dritte Komponente möglich. Es werden gewöhnlich Molmassenverteilungen mit Polydispersitäten zwischen 1,5 und 2,5 erreicht. Dies lässt sich durch den Initiatorzerfall, welcher über eine breite Zeitspanne stattfindet, und die Statistik der Kettenabbrüche erklären. Die geringe Lebensdauer der Radikale verhindert gleichzeitig eine gezielte Endgruppenfunktionalisierung und damit den Aufbau von komplexeren Polymerarchitekturen.

Aufgrund dieser Nachteile haben sich die kontrollierten radikalischen Polymerisationen entwickelt. Das Hauptaugenmerk dieser Techniken liegt auf der Verlängerung der Lebensdauer der Polymerradikale, sodass eine bessere Kontrolle über Abbruchsreaktionen und damit über die erzielte Molmasse erreicht werden kann. Die Betrachtung von Abbildung 17 d zeigt, dass die Abbruchsreaktion quadratisch von der Radikalkonzentration abhängig ist, während die Wachstumsreaktion eine lineare Abhängigkeit zeigt. Die Minimierung der gesamten Radikalkonzentration würde sich daher stärker auf den Abbruch als auf das Wachstum auswirken.

Diese Idee wird in den verschiedenen Ansätzen der kontrollierten radikalischen Polymerisation genutzt. Die aktiven Polymerketten werden auf unterschiedliche Weise reversibel in eine inaktive (schlafende) Spezies überführt. Dadurch wird die Radikalkonzentration deutlich verringert und nur die aktive Spezies kann Wachstums- oder Abbruchsreaktionen durchlaufen. Eine schnelle Gleichgewichtseinstellung sowie eine schnelle und vollständige Initiierung ermöglichen dabei eine gute Kontrolle über die mittlere Molmasse bei einer engen Molmassenverteilung.^[138] Die Methoden der kontrollierten radikalischen Polymerisation unterscheiden sich nur in der Natur des Gleichgewichts zwischen der schlafenden und der aktiven Spezies. Eine Variante beruht auf der Überführung der Polymerradikale in die schlafende Spezies mit Hilfe von stabilen Radikalen oder Übergangsmetallkomplexen. In diesen Fällen stellt sich das Gleichgewicht basierend auf dem Persistent Radical Effect (PRE) ein. Die anfänglichen Kettenabbrüche führen zu einem Überschuss des persistenten Radikals, welches mit den aktiven Kettenradikalen zur schlafenden Spezies kombinieren kann. So

verschiebt sich das Gleichgewicht auf die Seite der schlafenden Spezies.^[140] Die schlafende Spezies kann durch Wärme, Licht oder Katalysatoreinfluss aktiviert werden. Die bekanntesten Methoden, welche mit diesem Prinzip arbeiten sind die Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) und die Nitroxide-mediated Radical Polymerization (NMRP).^[141]

In dieser Arbeit soll die Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization (RAFT) genutzt werden, um Poly(oligoethylenglykolphosphazolat) (POEGMA) herzustellen. Diese Methode der kontrollierten radikalischen Polymerisation basiert auf der Minimierung der Kettenabbrüche mit Hilfe eines schnellen Austauschgleichgewichts. Ein Transferreagenz, in diesem Fall das RAFT-Reagenz, überträgt die Radikalfunktion von einer Kette auf eine andere (Abbildung 18).

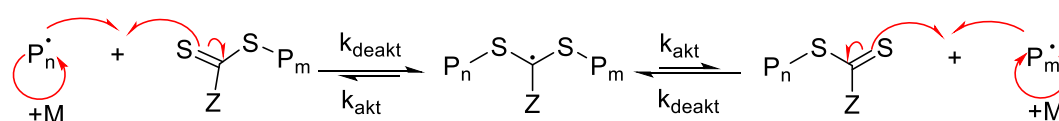


Abbildung 18: zentrales Gleichgewicht des Kettenwachstums der RAFT.

Das Transferreagenz übernimmt daher die Rolle der schlafenden Spezies. Die Kontrolle der Polymerisation folgt aus der deutlich höheren Austauschgeschwindigkeit im Vergleich mit der Abbruchgeschwindigkeit.^[142] Es stellt sich in der RAFT-Polymerisation ein Gleichgewicht zwischen der schlafenden Spezies und zwei wachsenden Ketten $\text{P}_n\cdot$ und $\text{P}_m\cdot$ ein. Eine schnelle Austauschgeschwindigkeit sorgt dabei für ein gleichmäßiges Wachstum beider Ketten und damit auch für eine enge Molmassenverteilung.^[143] Dafür wird ein strukturell gut an die Aktivität des Monomers angepasstes RAFT-Reagenz benötigt. Es ist eine große Varianz an RAFT-Reagenzien verfügbar, sodass auch viele Monomere dieser Methode zugänglich sind.^[144] RAFT-Reagenzien sind gewöhnlich Thiocarbonylverbindungen mit einem Z-Rest am Carbonyl-C und einem R-Rest am Schwefelatom. Der Z-Rest wirkt stabilisierend auf die C=S-Bindung, während der R-Rest im Gleichgewicht als Abgangsgruppe fungiert und selbst ein stabiles Radikal ausbildet. Der R-Rest kann als Initiator einer neuen Kette dienen. Die strukturellen Einflüsse auf die Aktivität der RAFT-Reagenzien und die Kriterien zur Auswahl des passenden Reagenzes für das vorliegende Monomersystem sind in der Literatur diskutiert.^{[143],[144]}

Mit den Methoden der NMRP, ATRP und RAFT kann die zahlenmittlere Molmasse von Polymeren eingestellt, komplexe Architekturen aufgebaut und Polydispersitäten kleiner 1,3 erreicht werden. Auch über die Endgruppen ist eine Kontrolle möglich.^[142]

2.4.2. Sequenzdefinierte Polymere

Während des letzten Jahrzehntes hat sich die Synthese von sequenzdefinierten Makromolekülen zu einem schnell wachsenden Forschungsgebiet innerhalb der Polymerchemie entwickelt.^{[145],[146],[147]} Der Wunsch, Makromoleküle mit definierter

Kettenlänge, Monomerreihenfolge und Topologie zu synthetisieren, wird durch die einzigartige Struktur-Eigenschafts-Beziehung von Biomolekülen begründet.^{[148],[149]} Obwohl die jüngsten Fortschritte in den Bereichen der organischen und makromolekularen Chemie bereits Synthesewege zu sequenzdefinierten Makromolekülen mit unterschiedlichen Rückgradzusammensetzungen bieten, erreichen derartige Strukturen noch nicht das gleiche Potenzial wie die biologischen Vorbilder.^[149]

Eine der am weitesten verbreiteten Strategien zur Synthese von sequenzdefinierten Oligomeren besteht in der iterativen Kupplung verschiedener Einheiten.^{[146],[147]} Diese Reaktionen können in Lösung durchgeführt werden, wobei die wachsende Kette häufig an einem vernetzten Polymerharz immobilisiert ist. Diese Strategie hat zwei Vorteile. Zum einen kann die Aufarbeitung auf einen einfachen Wasch- und Filtrationsschritt beschränkt werden, und zum anderen kann eine Automatisierung mit einem Flüssigkeitshandhabungsroboter durchgeführt werden.^[147] Weiterhin kann am Ende des schrittweisen Kettenaufbaus das Produkt mit Hilfe einer spaltbaren Bindung aus dem Harz isoliert werden. Derartige Methoden wurden zum Beispiel von Hartmann *et al.* eingesetzt, um Glykololigoamide für antibakterielle Behandlungen zu synthetisieren^[150] und von Lutz *et al.* zur Herstellung eines hochmolekularen Polyphosphats.^[151] Inzwischen gibt es Ansätze zum Aufbau sequenzdefinierter Oligomere, welche ohne den Einsatz von Schutzgruppenchemie auskommen, indem hocheffiziente, orthogonale Reaktionen eingesetzt werden.^[152] Für biologische und bioinspirierte Makromoleküle existieren sogar gut etablierte (semi)automatische Prozesse, welche für die Synthese von sequenzdefinierten Oligonucleotiden^[153] und Oligopept(o)iden^{[152],[154]} eingesetzt werden können. Der Einsatz von Schutzgruppen wird dabei durch den Gebrauch einer sogenannten Submonomer Strategie, wie erstmals durch Zuckermann *et al.* 1992 gezeigt^{[152],[155]}, vermieden.

In den letzten Jahren wurde ein auf Thiolactonen basierender zweistufiger Ansatz zur Synthese multi-funktioneller sequenzdefinierter Oligomere eingeführt.^{[156],[157]–[159]} Das Thiolacton besitzt dabei als zyklischer Thioester eine latente Thiolfunktionalität. Diese kann durch die Reaktion mit einem primären Amin freigesetzt werden. In dem erwähnten Ansatz wird ein immobilisiertes Thiolacton vorgelegt, welches zusätzlich eine Amineinheit aufweist. Mit Hilfe von Aminoalkoholen wird eine selektive Ringöffnung durchgeführt. Dadurch wird *in situ* ein Thiol freigesetzt, welches mit einem Acrylat umgesetzt werden kann. In einem zweiten Schritt kann erneut eine Thiolactongruppe über die zurückbleibende Alkoholeinheit eingeführt werden. Dazu wird α -Isocyanato- γ -thiolacton mit der Alkoholgruppe umgesetzt (Abbildung 19). Eine große Auswahl von Acrylatkomponenten ermöglicht es, verschiedenste Funktionalitäten in die Seitenkette der Oligomere einzuführen.^[157] Dieses Thiolacton-Protokoll konnte erfolgreich automatisiert werden und ist Grundlage der in dieser Arbeit verwendeten sequenzdefinierter Oligomere.^{[158],[159]} Der große Vorteil dieser Methode ist, dass keine

Verteilung von Kettenlängen oder Heterogenitäten in der Monomerreihenfolge erhalten werden. Die erhaltenen Oligomere sind nach der Aufarbeitung monodispers in Bezug auf Kettenlänge, Zusammensetzung, Funktionalität und Topologie.

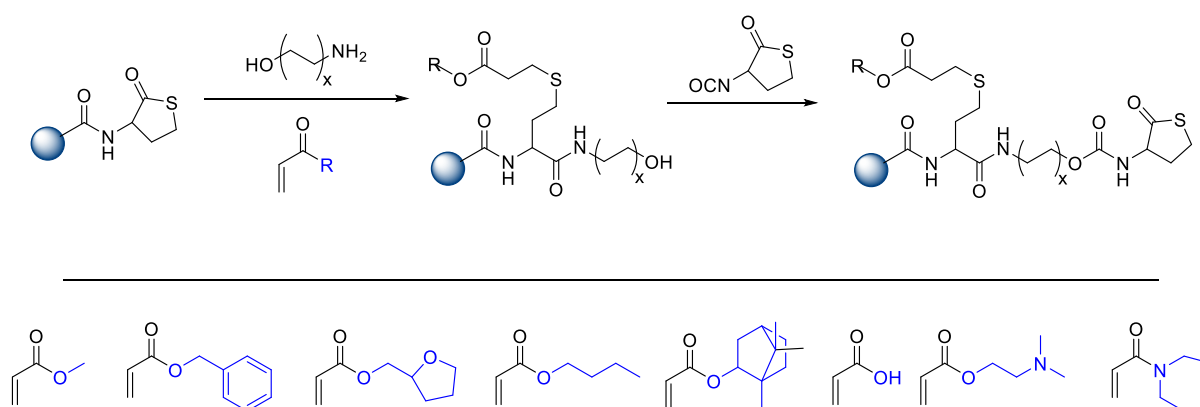


Abbildung 19: Synthesebeispiel für sequenzdefinierte Oligomere über ein zweistufiges Thiolacton-basierendes Protokoll (oben).^[157] Beispiele für mögliche Acrylatkomponenten (unten).

Ein solche Kontrolle über Sequenzen von Polymeren ermöglicht auch eine erhöhte Kontrolle über die makromolekularen Eigenschaften in verschiedenen Maßstäben.^[160] Auf der Nanoebene ermöglichen sequenzdefinierte Makromoleküle interessante Ansätze für das Design von Materialien mit fortgeschrittenen Eigenschaften im Vergleich zu den bisher verwendeten Blockcopolymere.^[161] Beispielsweise ermöglicht die Kontrolle über Sequenzen eine Feinabstimmung der Materialzersetzungseigenschaften, die für biomedizinische Anwendungen wie zum Beispiel nachhaltige Arzneimittelabgabe von großer Bedeutung sein können.^[162] In einem anderen Zusammenhang bieten diese Makromoleküle vielversprechende Ansätze zur molekularen Datenspeicherung durch Verwendung von Monomereinheiten als Bits.^[163] Abhängig von der Größe der einzelnen Monomereinheiten variiert die Größe der Bits zwischen 2 und 10 Å. Dies bedeutet eine höhere Informationsdichte als in herkömmlichen Speichermedien.^[160] Auch eine Erweiterung des „Monomer-Alphabets“ ist möglich, sodass die Informationen nicht in binärer Form gespeichert werden müssen.^[164]

Bei einer derartigen Verwendung der sequenzdefinierten Makromoleküle wird auch eine entsprechende Charakterisierungsmethode benötigt, die eine Dekodierung der Sequenz ermöglicht. Die heutzutage am häufigsten angewandte Methode ist die Tandem-Massenspektrometrie. Die Sequenz wird dabei fragmentiert und kann anhand der Massendifferenzen zwischen den Fragmenten decodiert werden.^{[12]–[15]}

Die in dieser Arbeit untersuchten Oligomere sollen mit der IMS identifiziert werden. Diese Methode konnte schon erfolgreich zur Trennung und Identifizierung von Proteinstrukturen, Kohlenhydratisomeren und Strukturisomeren eingesetzt werden.^{[11],[95],[165]} Auch für die Sequenzanalyse und die Identifizierung von Konformationen von Polymeren lässt sich die IMS nutzen.^{[8]–[10]}

2.4.3. Smarte Polymere

Synthetische Polymermaterialien sind über die letzten Jahrzehnte immer vielseitiger und vielfältiger in ihrer Anwendung geworden. Sie förderten dadurch die Entwicklung neuer Technologien und führten so auch durch ihre geringen Herstellungskosten, ihre hohe Stabilität und Langlebigkeit^[166] zu einer starken Steigerung ihrer Nutzung. Zum Beispiel haben smarte Polymere die Fähigkeit auf interne und externe Stimuli zu reagieren und dabei eine Eigenschaftsänderung zu durchlaufen. Sie ersetzen daher bereits teilweise traditionelle biologisch abbaubare Polymere, welche zum Beispiel für medizinische Anwendung eingesetzt werden.^[167] Dabei können verschiedene Eigenschaftsänderungen adressiert werden ausgehend von Größe, Oberfläche, Permeabilität, Form und mechanischen sowie optischen Eigenschaften. Auch die verwendbaren Trigger sind vielfältig, wie zum Beispiel Temperatur^[168], pH-Wert^{[169],[170]}, Licht^[171], Ultraschall^[172], elektrische und magnetische Felder^[173], Enzyme^[174] oder Redox-Bedingungen.^[175] Diese Tatsache macht smarte Polymere für eine Reihe von biomedizinischen Anwendungen wie Biosensoren, Arzneimittelabgabe, Tissue Engineering, Diagnose und Genabgabe attraktiv.^{[169],[176]}

Der Einsatz im Bereich der Pharmakotherapie ist besonders interessant durch die Möglichkeit, die Wirkstofffreigabe zu adressieren und somit gesundes Gewebe zu schonen.^[177] In diesem Zusammenhang ist auch der Stimulus Licht sehr wichtig. Er bietet die Möglichkeit Abbau und Wirkstofffreigabe über die Strahlungsparameter zu steuern, und so gezielt auf die Anwendungsbedingungen anzupassen. Dazu werden verschiedene photolabile Schutzgruppen verwendet. Beispiele hierfür sind *o*-Nitrobenzyllderivate (oNB)^{[178],[179]}, Coumarine^[180] und Azobenzyllderivate.^[181] Besonders oNB-beihaltende Polymere sind stark beforscht. Ihr Einsatz in amphiphilen Bürstenpolymeren sorgt dafür, dass nach der Bestrahlung das resultierende Polymer hydrophil wird und gebildete Mizellen wieder aufgelöst werden.^[182] Almutairi *et al.* wiesen für oNB-basierte Polymere im Einsatz als Arzneimittelabgabe-System einen schnellen und vollständigen Abbau nach UV Bestrahlung nach.^[183]

In dieser Arbeit soll mit Hilfe der Kopplung aus APC und IMS-MS der Abbau eines oNB-basierten Polymers untersucht werden. Das dazu verwendete Polymer wurde über eine Schmelzpolykondensation mit Lithiumacetylacetonat als Katalysator analog zu der Arbeit von Sun *et al.* hergestellt.^[179]

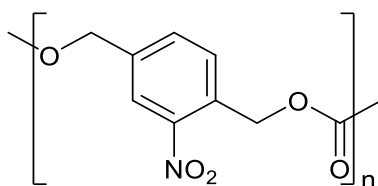


Abbildung 20: Struktur des oNB-basierenden Polymers, welches in dieser Arbeit untersucht wird.

2.5. Dichtefunktionaltheorie

Die Dichtefunktionaltheorie (DFT) dient zur Berechnung von Molekülstrukturen und -eigenschaften. Gegenüber anderen Methoden, wie den Hartree-Fock-Rechnungen, bietet sie die Vorteile eines geringeren Rechenaufwands sowie kürzerer Rechenzeiten. Zusätzlich kann in einigen Fällen eine bessere Übereinstimmung mit dem Experiment erreicht werden.^[134] Sie basiert auf den Hohenberg-Kohn (HK)-Theoremen und ist die exakte Darstellung des quantenmechanischen Vielteilchenproblems. Dazu wird die Einteilchendichte zugrunde gelegt.^[184] Die Energie des Moleküls wird als Funktion der Elektronendichte $E[\rho]$ dargestellt, welches selbst eine Funktion des Ortes ist $\rho(r)$ (Gleichung(30)).

$$E[\rho] = E_{kin} + E_{p,EK} + E_{p,EE} + E_{Aus}[\rho] \quad (30)$$

mit $E[\rho]$: Energie des Moleküls

ρ : Einteilchendichte

E_{kin} : kinetische Energie

$E_{p,EK}$: potentielle Energie der Elektron – Kern – Anziehung

$E_{p,EE}$: potentielle Energie der Elektron – Elektron – Abstoßung

$E_{Aus}[\rho]$: Austausch – Korrelations – Energie

Die Grundzüge dieses Ansatzes gehen auf die Thomas-Fermi (TF)-Theorie zurück. Die ursprüngliche Form der TF-Theorie zeigt falsches asymptotisches Verhalten für große und kleine r . Seit dem wurden einige Erweiterungen durch Dirac, Fermi und Amaldi eingeführt, welche nur zu geringen Verbesserungen geführt haben.^[185] Erst der Ansatz von Slater, welcher die Hartree-Fock (HF)-Theorie mit der TF-Theorie verband, bot einen Rahmen für eine Klasse von Methoden zur Berechnung der elektronischen Struktur von Molekülen. Der HF-Theorie entnahm er dabei die Berechnung der kinetischen Energie über die Wellenfunktion. Anschließend wurde der Energieaustausch gemäß der TF-Theorie über alle besetzten Zustände gemittelt.^[186] Die Integration von TF und diesem Ansatz (Hartree-Fock-Slater (HFS)-Näherung) führt zu der DFT, damit kann die DFT als exakte quantenmechanische Erweiterung der TF betrachtet werden.

Hohenberg-Kohn-Theoreme

In der konventionellen Betrachtung bestimmt das externe, von der Kernanordnung erzeugte, Potenzial mit der Elektronenanzahl N den Hamilton Operator. Damit sind prinzipiell alle Eigenschaften des Grundzustandes festgelegt. In den Theoremen von Hohenberg und Kohn wird diese Festlegung durch die Einteilchendichte getätigt.^[187]

1. HK: Die Einteilchendichte bestimmt gemeinsam mit einer, physikalischen unbedeutenden, Konstante eindeutig das externe Potenzial, dabei ist die Energie des Grundzustandes ein Funktional der Dichte.^[185]

$$E_0 = E[\rho]$$

Dabei legt die Einteilchendichte über eine Normierungsbedingung die Zahl der Elektronen und damit die Wellenfunktion des Grundzustandes fest.

Ein Variationsprinzip wird genutzt, um über die Grundzustandsdichte das Funktional der Gesamtenergie stationär zu machen.

2. HK: Für $\rho'(r)$ mit $\rho'(r) \geq 0$ (für alle r) gilt:

$$\int \rho'(r) d^3r = N_e$$

Die mit $\rho'(r)$ berechnete Energie ist dabei immer größer als die exakte Grundzustandsenergie.

$$E[\rho'] \geq E_0$$

Mit $E[\rho'] = E_0$ für $\rho'(r) = \rho(r)$ ^[185]

Wird die Energie als differenzierbar angenommen kann mit einer festen Teilchenzahl eine Euler-Lagrange Gleichung hergeleitet werden.

$$\frac{\partial E[\rho]}{\partial \rho(r)} = \mu \quad (31)$$

mit μ : Lagrange Parameter

Der Lagrange-Parameter kann dabei als chemisches Potenzial interpretiert werden.

Erst das dritte HK-Theorem gibt einen ersten Ansatz über die konkrete Form des Funktionals der Gesamtenergie.

3. HK: Die Gesamtenergie eines N -Elektronensystems in einem lokalen, externen Potenzial, lässt sich so darstellen, dass es in ein universelles Funktional $F_{HK}(\rho)$ und das externe Potenzial $V_{ext}(r)$ geteilt wird.

$$E(\rho) = \int \rho(r) V_{ext}(r) d^3r + E_{kin}[\rho] + V_{ee}[\rho] = V_{ext}[\rho] + F_{HK}[\rho]$$

$F_{HK}[\rho]$ ist dabei unabhängig von dem externen Potenzial und setzt sich aus der kinetischen Energie und der Elektron-Elektron-Wechselwirkung V_{ee} zusammen. ^[185]

Da $F_{HK}[\rho]$ unabhängig von dem externen Potenzial ist, hat es in Bezug auf seine Abhängigkeit von ρ in allen Systemen dieselbe Form. Es stellt einen systemunabhängigen Teil der Gleichung dar. Der Übergang von einem System auf ein anderes ist damit nur mit einer Änderung der Gleichung der Dichte verbunden. Diese Zerlegung der Energie ermöglicht die Behandlung des N -Elektronenproblems unabhängig von Annahmen über spezielle Systeme.

Kohn-Sham-Darstellung

Das zentrale Problem der DFT ist die Darstellung des Funktionals $F_{HK}[\rho]$. Dabei ist vor allem die Darstellung der kinetischen Energie wichtig, da diese einen großen Beitrag zur Gesamtenergie liefert, und die direkte Berechnung schlechte Ergebnisse liefert, was in der TF-Theorie zu sehen ist. ^[185]

Ein Lösungsansatz, welcher heute die Basis der meisten DFT Rechnungen bildet, stammt aus dem Jahre 1965 von Kohn und Sham.^[188] Die kinetische Energie wird in einen wechselwirkungsfreien Teil $T_0[\rho]$ und einen verbleibenden Korrekturterm $T_c[\rho]$ zerlegt. Ersterer wird dabei exakt dargestellt. Unter Anwendung des Variationsprinzips lässt sich erneut eine Euler-Lagrange Gleichung aufstellen.

$$\frac{\partial T_0[\rho]}{\partial \rho(r)} + v_{eff}(r) = \mu \quad (32)$$

$$v_{eff}(r) = v_{ext}(r) + \int \frac{\rho(r')d^3r'}{|r-r'|} + v_{xc}[\rho(r)] \quad (33)$$

mit T_0 : kinetische Energie ohne Wechselwirkungen

v_{eff} : lokales, effektives Potential

v_{ext} : externes Potential

v_{xc} : Austauschkorrelationspotential

Dabei ist v_{xc} der einzige nicht exakt bestimmbarer Beitrag. Für die explizite Darstellung von $T_0[\rho]$ ist es notwendig, die Variation an dieser Stelle nach Orbitalen, anstatt nach der Dichte durchzuführen. Dies wird mit der kanonischen Form der Kohn-Sham (KS)-Gleichung durchgeführt.^[185]

$$\left\{ \frac{-\Delta}{2} + v_{eff}(r) \right\} \Psi_i(r) = \left\{ \frac{-\Delta}{2} + v_{ext}(r) + \int \frac{\rho(r')d^3r'}{|r-r'|} + v_{xc}[\rho(r)] \right\} \Psi_i(r) \quad (34)$$

mit Δ : Laplace – Operator

Ψ_i : Eigenfunktion der Orbitale

Solche KS-Gleichungen müssen iterativ und selbstkonsistent gelöst werden. Dazu wird mit einer beliebigen Elektronendichte gestartet, womit das Austauschkorrelationspotential berechnet wird. Anschließend können damit die KS-Gleichungen gelöst werden, was zum Erhalt von Orbitalen führt. Mit diesen kann eine neue Näherung der Elektronendichte getätigt werden, was den Kreis der Berechnungen erneut startet. Diese Schritte werden solange wiederholt, bis sowohl Dichte als auch Austauschkorrelationspotential innerhalb bestimmter Grenzen Konstanz zeigen.^[134]

Diese Darstellung über Orbitale gleicht die wesentlichen Defekte der TF-Theorie aus, es müssen allerdings N Gleichungen für $\Psi_i(r)$ gelöst werden, während mit der Verwendung von $\rho(r)$ nur eine Gleichung gelöst werden musste.^[185]

In dieser Arbeit soll die DFT als Grundlage^[189] der Berechnungen theoretischer Modelle sequenzdefinierter Oligomere in einer Umgebung, welche der IMS-Zelle ähnelt, dienen. Dazu werden die Strukturen über dynamisches simuliertes Abkühlen mit anschließender Geometrieoptimierung angepasst.

3. Experimenteller Teil

3.1. Chemikalien und Materialien

3.1.1. Allgemeine Chemikalien

Alle in dieser Arbeit genutzten Lösungsmittel sowie Salze sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

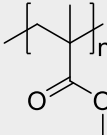
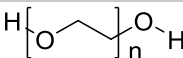
Tabelle 2: Allgemeine genutzte Chemikalien, deren Hersteller und Reinheit.

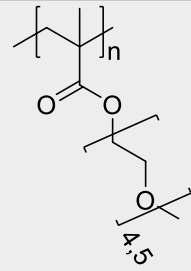
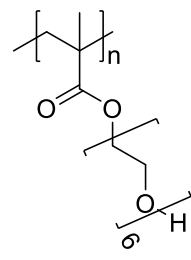
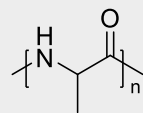
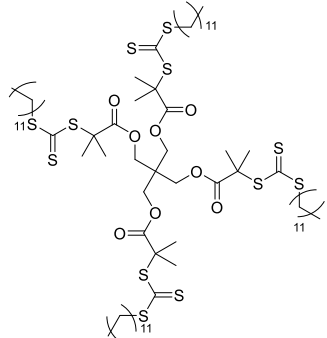
Chemikalie	Hersteller	Reinheit
Tetrahydrofuran (THF)	VWR	99,7 %
<i>N,N</i> -Dimethylformamid (DMF)	Sigma Aldrich	99,8 %
OEGMA300	Sigma Aldrich	-
OEGMA360	Sigma Aldrich	-
OEGMA950	Sigma Aldrich	-
1,4-Dioxan	Grüssing	99,5 %
2-Cyano-2-propyl dithiobenzoat (CPDB)	Strem Chemicals	97 %
AIBN	Fluka	98 %
Diethylether	Stockmeier	Techn.
Chloroform- d_1	Deutero	99,8 %
Acetonitril (ACN)	Carl Roth	99,95 %
Lithiumiodid (LiI)	Alfa Aesar	99,99 %
Natriumiodid (NaI)	Alfa Aesar	99,50 %
Kaliumiodid (KI)	Sigma Aldrich	99,00 %
Caesiumiodid (CsI)	Alfa Aesar	99,998 %

3.1.2. Polymere

Es wurden verschiedene Polymere innerhalb dieser Arbeit eingesetzt. Die folgende Tabelle fasst die zahlenmittleren Molmassen dieser Polymere und ihre Bezugsquelle zusammen.

Tabelle 3: Verwendete Polymere mit zahlenmittlerer Molmasse, Bezugsquelle und Struktur.

Polymer	M_n [g/mol]	Bezugsquelle	Struktur
PMMA2000	2.000 ^a	PSS	
PEG2000	2.000 ^a	Fluka	

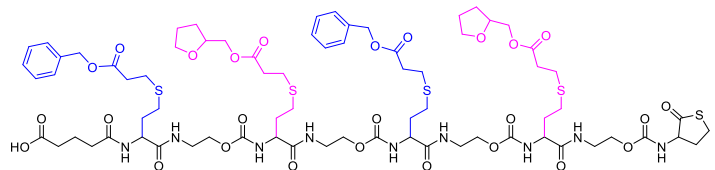
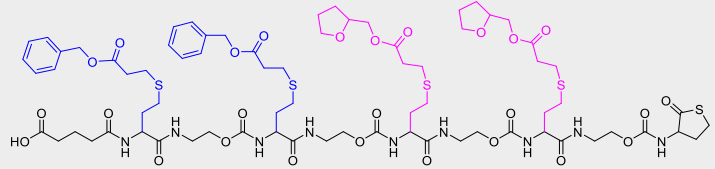
MP-P3	3.390 ^b	s.h.	
MP-P4	2.950 ^b	s.h.	
Poly-D,L-alanin	1.000-5.000 ^a	Sigma-Aldrich	
Stern-RAFT-Reagenz	1.520,68	-	

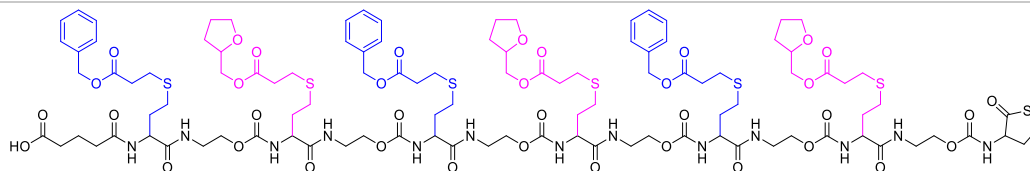
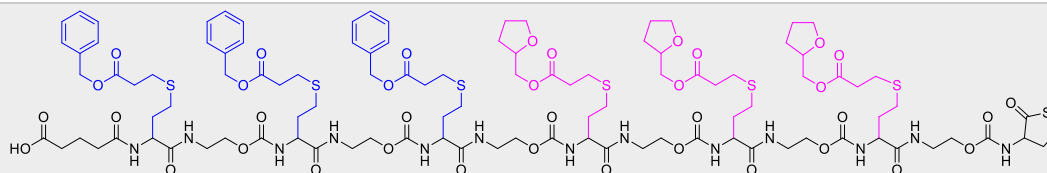
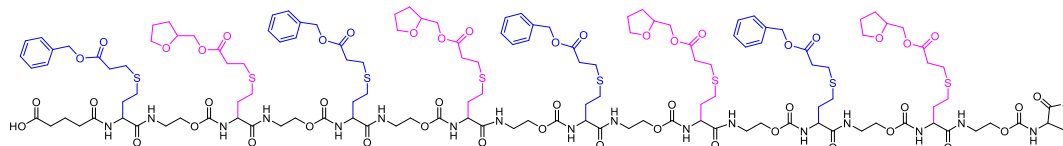
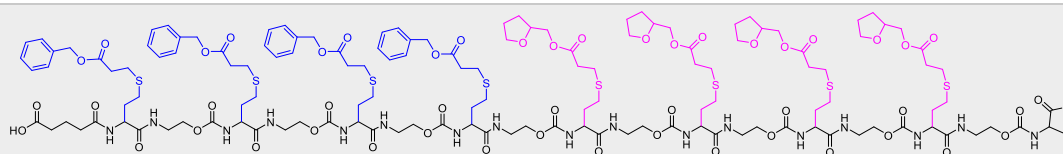
^a Herstellerangabe; ^b Bestimmt mit APC, PMMA Kalibrierung, (Eluent THF/DMF v/v 4/1)

3.1.3. Sequenzdefinierte Oligomere

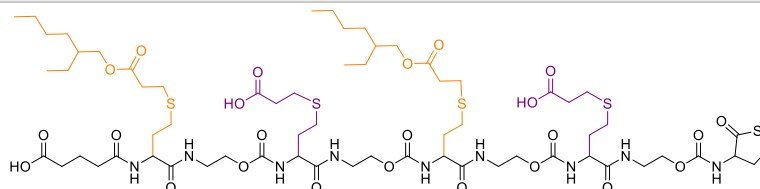
Die in dieser Arbeit analysierten sequenzdefinierten Oligomere wurden mit dem in Kapitel 2.4.1 erläuterten zweistufigen Thiolacton Protokoll hergestellt.^{[158],[159]} Es wurden verschiedene Monomere und Kettenlängen untersucht. Die Monomere unterscheiden sich dabei in der Seitenkette, nicht aber im Rückgrat.

Tabelle 4: Übersicht über die untersuchten sequenzdefinierten Oligomere.

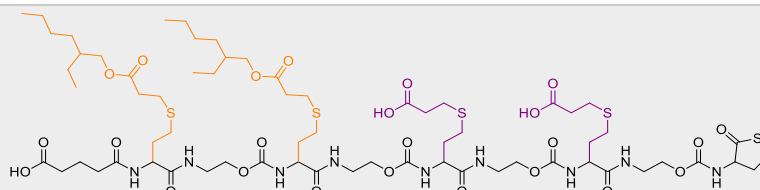
Name	Struktur
BT₂	
B₂T₂	

BT₃B₃T₃BT₄B₄T₄

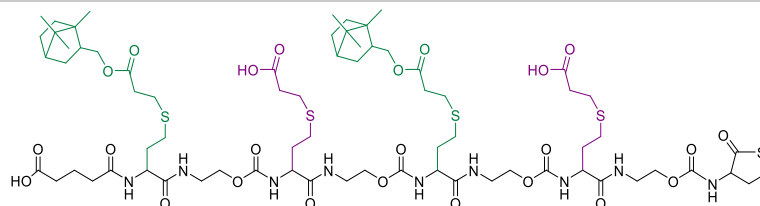
MP-A1



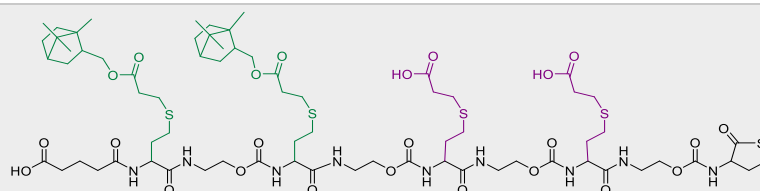
MP-B1



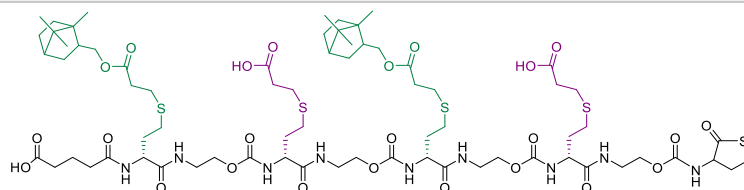
MP-A2

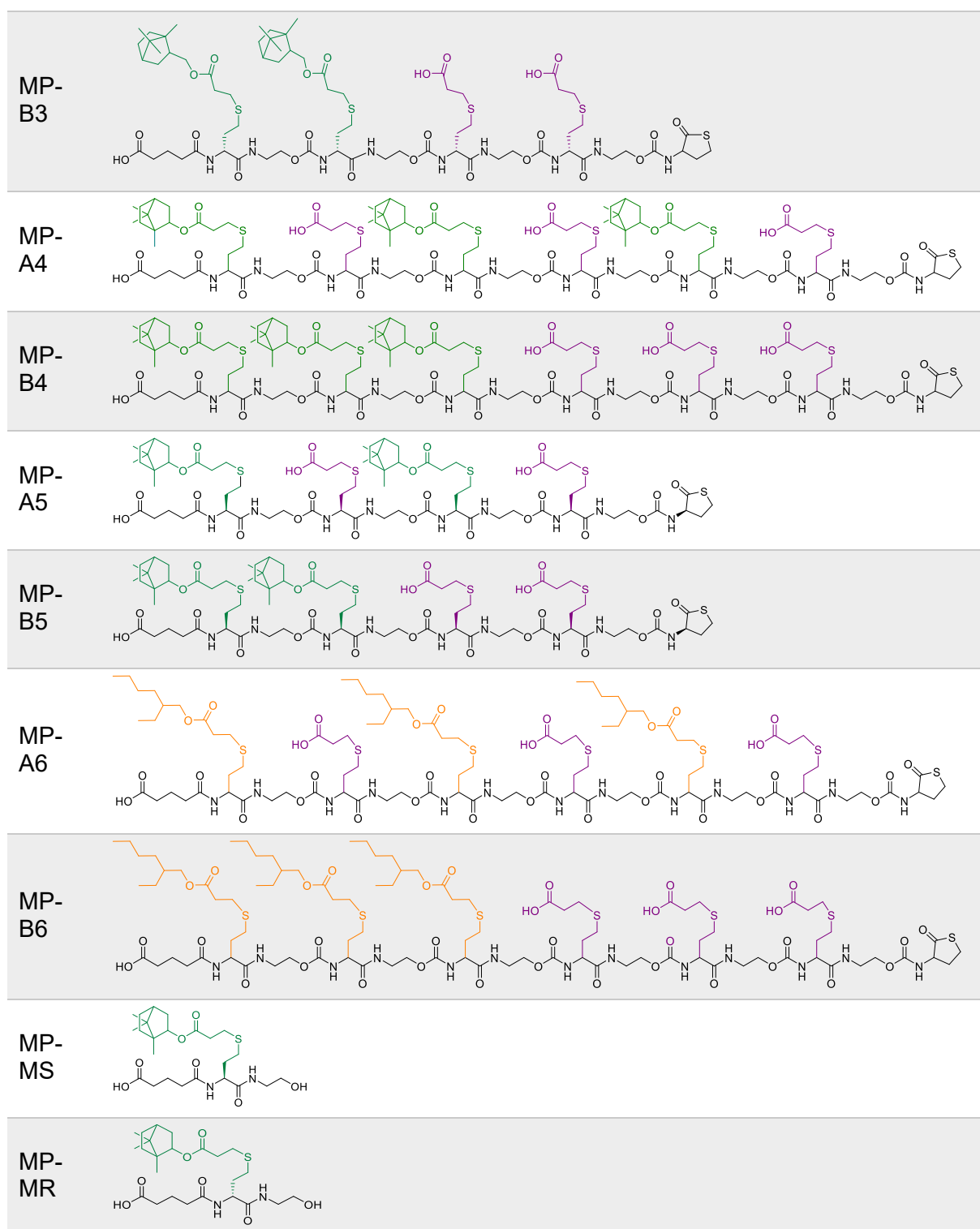


MP-B2



MP-A3





3.2. APC

Für die SEC-Trennung wurde die Advanced Polymer Chromatography™ der Firma Waters genutzt. Die Datenauswertung erfolgt mit der Software Empower 3™.

Die Einstellungen der Messungen sind in Tabelle 5 aufgelistet. Sofern nicht anders angegeben, wurden diese Einstellungen für alle Messungen genutzt.

Tabelle 5: Spezifikationen des APC Systems.

Komponente			
Pumpe, Degasser, Injektor	Acquity Isocratic Solvent Manager		
Säulen	A)	Acquity APC XT 125 Å Acquity APC XT 45 Å	B) Acquity APC XT 45 Å Acquity APC XT 45 Å
Säulenmaterial	Polyethoxysilan		
Detektor	Acquity APC RI-Detektor		
Eluent	A)	THF/DMF (v/v 4/1)	B) THF/ACN (v/v 7/3)
	K-A)	THF/DMF (v/v 4/1) +10 mg/l NaI	K-B) THF/ACN (v/v 7/3) +10 mg/l NaI
Injektionsvolumen	20 µl		
Flussrate	0,7 ml/min		

3.3. Synapt™ - Massenspektrometer

Das genutzte Massenspektrometer ist ein Synapt™ G2 High-Definition-Massenspektrometer (HDMS) der Firma Waters. Es verfügt über einen Flugzeitanalysator und eine optional nutzbare Ionenmobilitätskammer. Das Gerät wurde mit Natriumiodid in einem Massenbereich von 50-5.000 m/z kalibriert. Die Aufnahme und Auswertung der Daten erfolgte mit der Software *Masslynx V4.2™* der Firma Waters und *Polymerix 3.0.0™* der Firma Sierra Analytics.

Für Stand-alone Messungen wurden die Probenlösungen über eine Spritzenpumpe und eine PEEK SIL Kapillare mit einer Flussgeschwindigkeit von 20 µl/min in die ESI-Quelle eingegeben.

3.3.1. Ionisierungsparameter

Im Folgenden sind die Ionisierungsparameter der ESI Quellen für die verwendeten Proben aufgeführt. Die Parameter unterschieden sich abhängig vom verwendeten Salzzusatz. Für Messungen mit der Kopplung aus APC und Synapt wurde ausschließlich Natriumiodid als Salzzusatz verwendet. Die Parameter von Stand-alone-Messungen und Kopplungsmessungen stimmen überein.

Tabelle 6: Ionisierungsparameter mit verschiedenen Salzzusätzen.

Einstellung* Probe	Lithiumiodid			Natriumiodid			Kaliumiodid			Caesiumiodid		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Stern-RAFT-Reagenz	–	–	–	2,0	100	3,0	–	–	–	–	–	–
PMMA 2000	–	–	–	3,0	150	4,3	–	–	–	–	–	–
PEG 2000	–	–	–	2,0	80	2,0	–	–	–	–	–	–
Kamm	–	–	–	2,0	80	2,0	–	–	–	–	–	–
BT₂/ B₂T₂	3,0	80	0,5	2,0	80	0,5	3,0	80	3,0	3,0	80	3,0
BT₃/ B₃T₃	3,0	80	0,5	2,0	80	0,5	3,0	80	3,0	3,0	80	3,0
BT₄/ B₄T₄	3,0	80	0,5	2,0	80	0,5	3,0	80	3,0	3,0	80	3,0
MP-A1 / MP-B1	3,0	50	1,0	3,0	60	1,0	2,0	80	0,5	3,0	50	1,0
MP-A2 / MP-B2	3,0	50	1,0	3,0	100	1,0	2,0	80	0,5	3,0	50	1,0
MP-A3 / MP-B3	3,0	50	1,0	3,0	100	1,0	2,0	80	0,5	3,0	50	1,0
MP-A4 / MP-B4	3,0	80	1,0	3,0	80	1,0	3,0	60	1,0	3,0	60	0,5
MP-A5 / MP-B5	–	–	–	3,0	100	1,0	–	–	–	–	–	–
MP-A6 / MP-B6	–	–	–	3,0	60	1,0	–	–	–	–	–	–
MP-MS / MP-MR	–	–	–	3,0	50	1,0	–	–	–	–	–	–
oNB	–	–	–	4,0	120	0,5	–	–	–	–	–	–
MIX A	–	–	–	2,0	80	0,5	–	–	–	–	–	–
MIX B	–	–	–	3,0	120	1,0	–	–	–	–	–	–
MIX C	–	–	–	2,0	100	1,0	–	–	–	–	–	–
MIX D	–	–	–	2,0	80	0,5	–	–	–	–	–	–

* 1: Kapillarspannung [kV]; 2: Spannung Probenkegel [V]; 3: Spannung Extraktionskegel [V]

3.3.2. IMS Parameter

Die IMS Parameter werden an die jeweilige Probe angepasst. Im Folgenden sind alle IMS-Parameter der in dieser Arbeit untersuchten Proben aufgeführt. Die Offset-Bestimmungen fanden ohne aktive Nutzung der IMS-Zelle statt.

Sequenzdefinierte Oligomere

Alle sequenzdefinierten Oligomere wurden mit sechs verschiedenen IMS-Einstellungen untersucht. Die gewählten Einstellungen waren für diese Proben identisch, unabhängig von ihrer Eignung für die individuelle Probe. Es wurde nicht zwischen den Messreihen mit unterschiedlichen Salzzusätzen unterschieden.

Tabelle 7: IMS Einstellungen der Messungen mit den sequenzdefinierten Oligomeren.

Parameter	IMS 1	IMS 2	IMS 3	IMS 4	IMS 5	IMS 6
Wellengeschwindigkeit [m/s]	300	400	500	900	1200	1500
Wellenhöhe [V]	40	40	40	40	40	40

Abbauuntersuchungen

Das oNB-basierte Polymer sowie seine Abbauprodukte wurden mit den gleichen IMS Einstellungen gemessen, um die Vergleichbarkeit der Spektren zu garantieren.

Tabelle 8: IMS Einstellungen des oNB-basierten Polymers und seiner Abbauprodukte.

Parameter	IMS
Wellengeschwindigkeit [m/s]	800
Wellenhöhe [V]	40

IMS von PMMA, PEG und POEGMA im Vergleich

Der IMS-Vergleich wurde mit den Proben PMMA2000, PEG2000 und den Kammpolymeren MP-P003 und MP-P004 durchgeführt. Die IMS wurde dabei mit zwei verschiedenen Einstellungen getestet.

Parameter	IMS 1	IMS 2
Wellengeschwindigkeit [m/s]	1100	900
Wellenhöhe [V]	40	40

3.3.3. MALDI-Messungen

Die Messungen wurden auf dem Waters Synapt™ G2 mit einem Nd-YAG Laser mit einer Wellenlänge von 355 nm und einer Pulsbreite von 3 ns aufgenommen. Zur Aufnahme der MALDI-Spektren wurden die Probenlösungen (2 mg/ml in THF/DMF v/v 4/1) mit einer 2,5-Dihydroxybenzoesäure-Matrix gemischt. Die Matrix wurde mit einer Konzentration von 15 mg/ml in einem Gemisch aus Acetonitril und Wasser (70/30) gelöst. Das Mischungsverhältnis von Probe zu Matrix betrug 1:10. Jeweils 1 µl der Lösungen wurde auf die Platten aufgetragen und über Nacht getrocknet.

3.4. Offset-Bestimmung

Die Kopplung der APC und des SynaptTM wurde mit verschiedenen Methoden durchgeführt. Abbildung 21 zeigt das grundsätzliche Schema der Kopplung.

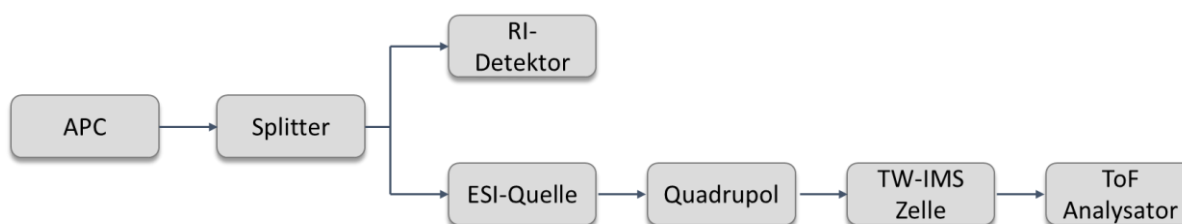


Abbildung 21: Schema der Kopplung von APC und SynaptTM.

3.4.1. Variation des Splitters

Es wurden zur Kopplung drei verschiedene Verbindungstypen getestet. Sofern nicht anders erwähnt wurde das T-Stück (Tabelle 9 D) zur Kopplung genutzt.

Tabelle 9: Verschiedene zur Kopplung genutzte Verbindungstypen.

	Splitter-Typ	Flusseinstellung	
A	Kein Splitter	Flussrate der APC	
B	Vario-Split	Einstellbar über den Splitter	
C	T-Stück HPLC	Einstellbar über Verbindungsstück zur MS Quelle	
D	T-Stück UHPLC	Einstellbar über Verbindungsstück zur MS Quelle	

3.4.2. Flusseinstellung

Für den Einsatz des T-Stücks (Tabelle 9 C und D) ist die Flussteilung (Verhältnisse der Flüsse zu RI-Detektor und ESI) abhängig vom Verbindungsstück zur ESI und die richtige Einstellung unerlässlich. Verschiedene PEEK SIL Kapillaren wurden dazu getestet.

Tabelle 10: Verschiedene Kapillaren zur Verbindung von Splitter und ESI-Quelle.

Kapillare	Länge	Innendurchmesser
A	50 cm	100 µm
B	2 x 50 cm	100 µm
C	20 cm	50 µm
D	50 cm	50 µm

Sofern nicht anders erwähnt wurde die Kapillare D (Tabelle 10) zur Kopplung verwendet.

3.4.3. Optimierung des Ionentransfers

Um den Offset beider Detektoren während der Kopplung zu bestimmen, wurden verschiedene Parameter der Ionisationskammer verändert. Dies diente zur Optimierung des Ionen Chromatogramms und der vereinfachten Auswertung. Im Folgenden sollen alle variierten Parameter und deren Werte in einer Tabelle zusammengefasst werden. Alle Messungen erfolgten mit der Probe Stern-RAFT-Reagenz (Tabelle 3).

Tabelle 11: Variation der Parameter in der Ionisationskammer. Die Standardparameter sind fett markiert.

Desolvations- Temperatur [°C]	Quelltemperatur [°C]	Desolvations- Gasstrom [l/h]	Cone Gasstrom [l/h]
350	120	500	30
500	150	600	50
600		800	
650		1000	

Sofern nicht anders erwähnt, werden die in Tabelle 11 markierten Standardwerte für die Messungen genutzt.

3.5. Probenzusammensetzungen

Die Probenzusammensetzungen sind abhängig von der Probenart und auch von dem System. Die Probenlösungen, welche mit der Kopplung gemessen wurden, wurden im Eluentensystem der APC gelöst. Im Folgenden sind die Probenzusammensetzungen und Eluentensysteme der jeweiligen Messungen aufgeführt.

Offset-Bestimmung

Das Stern-RAFT-Reagenz wurde für die Offset-Bestimmung im Eluentensystem K-A mit einer Konzentration von 2 mg/ml gelöst.

Sequenzdefinierte Oligomere

Die sequenzdefinierten Oligomere wurden für die ESI-Messungen in einem Gemisch von Tetrahydrofuran und Acetonitril (v/v 7/3) mit einer Konzentration von 2 mg/ml gelöst. Die

Salzlösungen für diese Messungen wurde mit einer Konzentration von 2 mg/ml in dem gleichen Lösungsmittelgemisch angesetzt. Anschließend wurde die Messlösung hergestellt, indem 90 Volumenanteile des Lösungsmittelgemisches mit 5 Volumenanteilen Probenlösung und 5 Volumenanteilen der jeweiligen Salzlösung vermischt wurden.

Für die Messungen mit dem gekoppelten System wurde die Eluentlösung K-B verwendet. Die Proben werden mit einer Konzentration von 2 mg/ml gelöst.

Die Zusammensetzungen der mit der Kopplung gemessenen Mischungen sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 12: Zusammensetzungen der Mischungen der sequenzdefinierten Oligomere.

Mischung	Komponenten				Mischungsverhältnis [g/g]
Mix A	BT ₂	B ₃ T ₃	B ₄ T ₄		1/1/1
Mix B	MP-A2	MP-A4			1/1
Mix C	MP-B2	MP-A1	MP-A4	BT ₃	1/1/1/1
Mix D	BT ₂	BT ₃	BT ₄		1/1/1

Abbauuntersuchungen

Die Proben der Abbauuntersuchung wurden für die ESI-Messungen in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Acetonitril (v/v 7/3) mit einer Konzentration von 2 mg/ml gelöst. Die Natriumiodidlösung für diese Messungen wurde mit einer Konzentration von 2mg/ml in dem gleichen Lösungsmittelgemisch angesetzt. Anschließend wurde die Messlösung hergestellt, indem 90 Volumenanteile des Lösungsmittelgemisches mit 5 Volumenanteilen Probenlösung und 5 Volumenanteilen der Natriumiodidlösung vermischt wurden.

Für die Messungen mit dem gekoppelten System wurde die Eluentlösung K-B verwendet. Die Proben wurden mit einer Konzentration von 2 mg/ml gelöst.

IMS von PMMA, PEG und POEGMA im Vergleich

Die Proben PMMA2000, PEG2000 und die Kamm-Polymere MP-P003 und MP-P004 (Tabelle 3) wurden für die ESI-Messungen in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und *N,N*-Dimethylformamid (v/v 4/1) mit einer Konzentration von 2 mg/ml gelöst. Die Natriumiodidlösung für diese Messungen wurde mit einer Konzentration von 2 mg/ml in dem gleichen Lösungsmittelgemisch angesetzt. Anschließend wurde die Messlösung hergestellt, indem 990 Volumenanteile des Lösungsmittelgemisches mit 5 Volumenanteilen Probenlösung und 5 Volumenanteilen der Natriumiodidlösung vermischt wurden.

3.6. Berechnungen

Für die quantenchemischen Berechnungen wurden die beiden Proben BT_3 und B_3T_3 mit vier verschiedenen Ionen und drei Ladungszuständen untersucht (Tabelle 13).

Tabelle 13: Übersicht über die durchgeführten Berechnungen.

Ion	Ladungszustand	Probe
-	-	$\text{BT}_3 / \text{B}_3\text{T}_3$
Lithium	+1/+2	$\text{BT}_3 / \text{B}_3\text{T}_3$
Natrium	+1/+2	$\text{BT}_3 / \text{B}_3\text{T}_3$
Kalium	+1/+2	$\text{BT}_3 / \text{B}_3\text{T}_3$
Caesium	+1/+2	$\text{BT}_3 / \text{B}_3\text{T}_3$

Für alle Berechnungen wurden zunächst mit Hilfe des Programms *ChemDraw 19.0* XYZ-Dateien der Strukturen erstellt. Die Ionen wurden dabei willkürlich, in der Struktur platziert. Die tatsächlichen Berechnungen erfolgen mit den Programmen *cp2k*^[190] und *VMD*^[191].

Dazu mussten zunächst für beide ungeladenen Strukturen Stream-Dateien generiert werden. Dies geschieht mit dem *CgenFF*-Programm^{[192]–[194]} über den *ParamChem*-Online-Server. Mit Hilfe des Programmes *cp2k* ließ sich anschließend eine PSF Datei erstellen, welche Informationen über die Ladung und Masse der Atome im Molekül enthält. Die Ladungen mussten durch die Stream-Dateien angepasst werden. Gemeinsam mit der über *VMD* erstellten pdb-Datei lieferte diese Datei Informationen zur Topologie und Geometrie der Moleküle. Eine CHARMM Kraftfeld-Parameterdatei (*par_all36_genff.prm*)^{[192],[194]} wurde für die numerischen Konstanten zur Berechnung von Kräften und Energien innerhalb des Moleküls benötigt. Für die Berechnungen der geladenen Moleküle wurden zusätzlich Lennard-Jones-Parameter benötigt^[195], welche der Parameterdatei zugefügt wurden. Alle anschließenden Vorgänge wurden mit der *cp2k*-Software durchgeführt. Zuerst erfolgte eine Energieoptimierung – Entfernung von Bereichen mit hoher potenzieller Energie – und eine anschließende Geometrieoptimierung, welche die Struktur lokal optimierte. Dazu wurde eine Zelle von 150 \AA^3 zugrunde gelegt. Das simulierte Abkühlen wurde anschließend mit einer Starttemperatur von 1500 K und einer Annealing-Konstante von 0.9999990837 in 10^6 Schritten durchgeführt.

Die abschließend erhaltenen Strukturdaten konnten in eine *mobcal* Inputdatei eingefügt werden, um theoretische CCS-Werte daraus zu berechnen.

3.6.1. Beispiele für Inputdateien

Die folgenden Tabellen zeigen den beispielhaften Aufbau der genutzten *cp2k* Inputdateien, sowie den Aufbau der *mobcal* Datei.

Tabelle 14: Beispiele für Inputdateien für die Erstellung einer PSF-Datei und für die Energieoptimierung mit cp2k.

PSF-Datei	Energieoptimierung
<pre> &GLOBAL PROJECT Probe RUN_TYPE NONE &END GLOBAL &FORCE_EVAL METHOD FIST &MM &FORCEFIELD IGNORE_MISSING_CRITICAL_PARAMS TRUE &END FORCEFIELD &POISSON &EWALD GMAX 101 &END EWALD &END POISSON &END MM &SUBSYS &TOPOLOGY &DUMP_PSF FILENAME =Probe.PSF &END DUMP_PSF COORD_FILE_NAME Probe.xyz COORDINATE XYZ &GENERATE BONDPARM COVALENT CREATE_MOLECULES TRUE &END GENERATE &END TOPOLOGY &CELL ABC 150 150 150 PERIODIC NONE &END CELL &KIND DEFAULT ELEMENT H BASIS_SET NONE POTENTIAL NONE GHOST &END KIND &END SUBSYS &END FORCE_EVAL </pre>	<pre> &GLOBAL PROJECT Probe_energy RUN_TYPE ENERGY &END GLOBAL &FORCE_EVAL METHOD FIST &MM &FORCEFIELD PARMTYPE CHM PARM_FILE_NAME Parameter.prm &END FORCEFIELD &POISSON PERIODIC XYZ POISSON_SOLVER PERIODIC &EWALD EWALD_TYPE SPME ALPHA 0.35 GMAX 181 O_SPLINE 6 &END EWALD &END POISSON &END MM &SUBSYS &TOPOLOGY CONN_FILE_FORMAT PSF CONN_FILE_NAME Probe.PSF COORD_FILE_NAME Probe.pdb COORDINATE PDB &END TOPOLOGY &CELL ABC 150 150 150 PERIODIC XYZ &END CELL &END SUBSYS &END FORCE_EVAL </pre>

Tabelle 15: Beispiele für Inputdateien für die Geometrieoptimierung und das simulierte Abkühlen.

Geometrieoptimierung	simuliertes Abkühlen
<pre> &GLOBAL PROJECT Probe RUN_TYPE GEO_OPT &END GLOBAL &MOTION &GEO_OPT MAX_DR 3E-003 MAX_FORCE 5E-004 MAX_ITER 5000 OPTIMIZER LBFGS TYPE MINIMIZATION &LBFGS MAX_H_RANK 25 &END LBFGS &END GEO_OPT </pre>	<pre> &GLOBAL PROJECT Probe RUN_TYPE MD &END GLOBAL &EXT_RESTART RESTART_DEFAULT TRUE RESTART_FILE_NAME Probe-1.restart &END EXT_RESTART &MOTION &MD ENSEMBLE NVE STEPS 1000000 TIMESTEP 0.5 TEMPERATURE 1500 ANNEALING 0.9999990837 </pre>

```

&PRINT
&TRAJECTORY
  FORMAT PDB
&END TRAJECTORY
&END PRINT
&END MOTION

&FORCE_EVAL
METHOD FIST
&MM
&FORCEFIELD
  PARMTYPE CHM
  PARM_FILE_NAME Parameter.prm
&END FORCEFIELD
&POISSON
  PERIODIC XYZ
  POISSON_SOLVER PERIODIC
&EWALD
  EWALD_TYPE SPME
  ALPHA 0.35
  GMAX 181
  O_SPLINE 6
&END EWALD
&END POISSON
&END MM
&SUBSYS
&TOPOLOGY
  CONN_FILE_FORMAT PSF
  CONN_FILE_NAME Probe.PSF
  COORD_FILE_NAME Probe-1.pdb
  COORDINATE PDB
&END TOPOLOGY
&CELL
  ABC 150 150 150
  PERIODIC XYZ
&END CELL
&END SUBSYS
&END FORCE_EVAL

```

```

&PRINT
&ENERGY
  &EACH
    MD 10
  &END EACH
&END ENERGY
&PROGRAM_RUN_INFO
  &EACH
    MD 1000
  &END EACH
&END PROGRAM_RUN_INFO
&CENTER_OF_MASS
  &EACH
    MD 100000
  &END EACH
&END CENTER_OF_MASS
&END PRINT
&END MD
&PRINT
&TRAJECTORY
  FORMAT PDB
  &EACH
    MD 1000
  &END EACH
&END TRAJECTORY
&RESTART_HISTORY OFF
&END RESTART_HISTORY
&RESTART
  &EACH
    MD 1000
  &END EACH
&END RESTART
&END PRINT
&END MOTION

&FORCE_EVAL
METHOD FIST
&PRINT
&PROGRAM_RUN_INFO
  &EACH
    MD 1000
  &END EACH
&END PROGRAM_RUN_INFO
&END PRINT
&MM
&FORCEFIELD
  PARMTYPE CHM
  PARM_FILE_NAME Parameter.prm
&END FORCEFIELD
&POISSON
  PERIODIC XYZ
  POISSON_SOLVER PERIODIC
&EWALD
  EWALD_TYPE SPME
  ALPHA 0.35
  GMAX 181
  O_SPLINE 6
&END EWALD
&END POISSON
&PRINT
&DIPOLE
  &EACH
    MD 100000
  &END EACH
&END DIPOLE
&END PRINT
&END MM
&SUBSYS

```

```

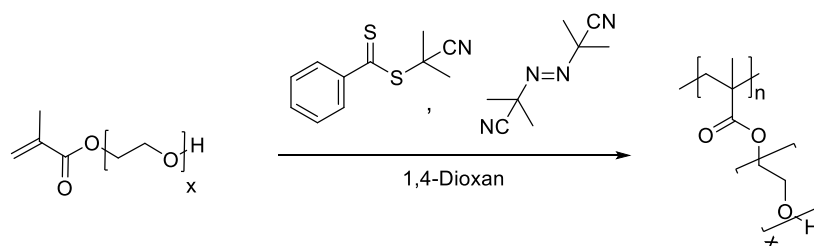
&TOPOLOGY
CONN_FILE_FORMAT PSF
CONN_FILE_NAME Probe.PSF
COORD_FILE_NAME Probe-pos-1.pdb
COORDINATE PDB
&END TOPOLOGY
&CELL
ABC 150 150 150
PERIODIC XYZ
&END CELL
&END SUBSYS
&END FORCE_EVAL

```

Tabelle 16: Aufbau einer mobcal Inputdatei.

mobcal					
B3T3 einfach geladen 2Na+					
1					
315					
ang					
none					
1.0000					
x	y	z	Atommasse	Atomladung	

3.7. Synthese der Kamm-Polymere



Die Synthese der Kamm-Polymere erfolgte analog zur Forschung der Arbeitsgruppe um Theato.^[196]

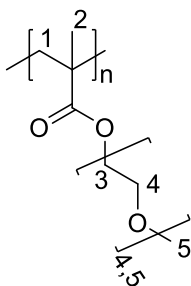
AIBN, OEGMA und CPDB wurden in einer Stickstoffvorlage mit 5 ml 1,4-Dioxan versetzt. Die Reaktionslösung wurde mit einem Septum verschlossen und anschließend 15 Minuten mit Argon gespült. Die Polymerisation erfolgte für 3 Stunden bei 70 °C unter Rühren und wurde durch Einfrieren in flüssigem Stickstoff abgebrochen. Die Reaktionslösung wurde mit THF verdünnt und zweimal in eisgekühltem Diethylether gefällt. Das violette Produkt wurde unter Vakuum getrocknet.

Tabelle 17: Syntheseparameter der Polymerisationen der Kamm-Polymere.

Probe	n_{Monomer} [mmol]	n_{CPDB} [mmol]	n_{AIBN} [mmol]	X Peg ^a	M_n [g/mol] ^b	\bar{D} ^b
MP-P003	1	0,079	0,012	4,5	3.390	1,12
MP-P004	1	0,095	0,012	6	2.950	1,14
MP-P005	1	0,25	0,012	19	-	-

^a Anzahl der durchschnittlichen PEG-Einheiten in der Seitenkette ^b bestimmt mit APC, PMMA Kalibrierung, (Eluent THF/DMF v/v 4/1)

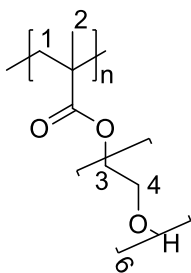
Charakterisierung des Produkts MP-P003:



$^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz, CDCl_3)

δ (ppm) = 0,72-2,06 (5H, 2- CH_3 , 1- CH_2 , br); 3,37 (3H, 5- CH_3 , br); 3,49- 3,73 (14H, 3- CH_2 , 4- CH_2 , br); 4,03-4,26 (2H, 3- CH_2 , br).

Charakterisierung des Produkts MP-P004:



$^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz, CDCl_3):

δ (ppm) = 0,68-1,14 (3H, 2- CH_3 , br); 1,70-2,14 (3H, 1- CH_2 , 5-OH, br); 3,46-3,88 (22H, 3- CH_2 , 4- CH_2 , br); 3,88-4,26 (2H, 3- CH_2 , br).

4. Auswertung

4.1. Offset-Bestimmung

Zur Bestimmung des Offsets des RI-Detektors und des Massenspektrometers während einer gekoppelten Messung wurde ein sternförmiges RAFT-Reagenz genutzt. Dieses bietet den Vorteil einer eindeutigen Masse von 1.520 g/mol, welche deutlich innerhalb des Trennbereichs der APC liegt, und lässt sich mit einer Einfachladung im Massenspektrum detektieren.

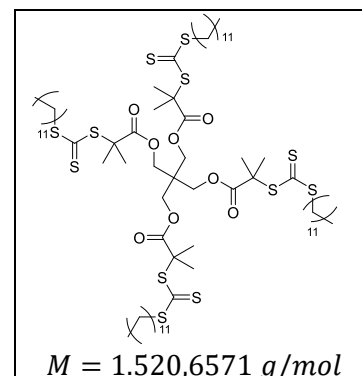


Abbildung 22: Struktur und Masse der Probe Stern-RAFT-Reagenz

4.1.1. Wahl des Splitters

Um die Kopplung zu optimieren, musste zunächst die Art des Splitters ausgewählt werden, mit dem der Elutionsmittelfluss nach dem Passieren der Säulen aufgeteilt wurde. Es wurden drei verschiedene Splittertypen getestet. Zunächst wurde ein Vario-Split (QuickSplit Adjustable Flow Splitter von Analytical Scientific Instruments) getestet. Anschließend wurden zwei T-Typ-Splitters (Standard-HPLC-T-Typ-Splitter und neuer UPLC-T-Typ-Splitter der Firma Waters) mit unterschiedlichen Innenvolumina verwendet. Zusätzlich wurde eine Messung durchgeführt, indem der Fluss ohne vorherige Aufteilung direkt in die ESI-Quelle eingebracht wurde. Diese Messung zeigte eine signifikant höhere Messzeit, da der Gesamtfluss des APC auf 0,1 ml/min anstelle von 0,7 ml/min reduziert werden musste, um mit den anderen Messungen in Bezug auf den Massenfluss vergleichbar zu sein. In Abbildung 23 ist der Totalionenstrom (*engl.* total ion current, TIC) des Analyten während der Messungen mit den verschiedenen Splittern und mit direkter Infusion zu sehen. Es ist gut zu erkennen, dass der TIC als chromatographische Spur keine gute Wahl ist. Er stellt die Summe aller Ionenintensitäten eines Scans dar, was auch Untergrundsignale einschließt. Die TIC-Intensität wird daher von vielen Faktoren beeinflusst. Erstens führen bereits minimale Spuren guter ionisierbarer Verunreinigungen zu großen Schwankungen der TIC-Intensität und zweitens wirken sich auch verschiedene Arten von Ladungszuständen auf das Signal des TIC aus. Daher können die Einzelelutionsprofile (SEP) (auch *extracted ion chromatogram* (XIC)) besser mit der RI-Spur der APC verglichen werden. Diese SEPs können erhalten werden, indem der Analytmassenpeak integriert und das entsprechende Chromatogramm des Analyten rekonstruiert wird. Das Erstellen solcher SEPs kann mit der Waters *MassLynx*-Software durchgeführt werden.

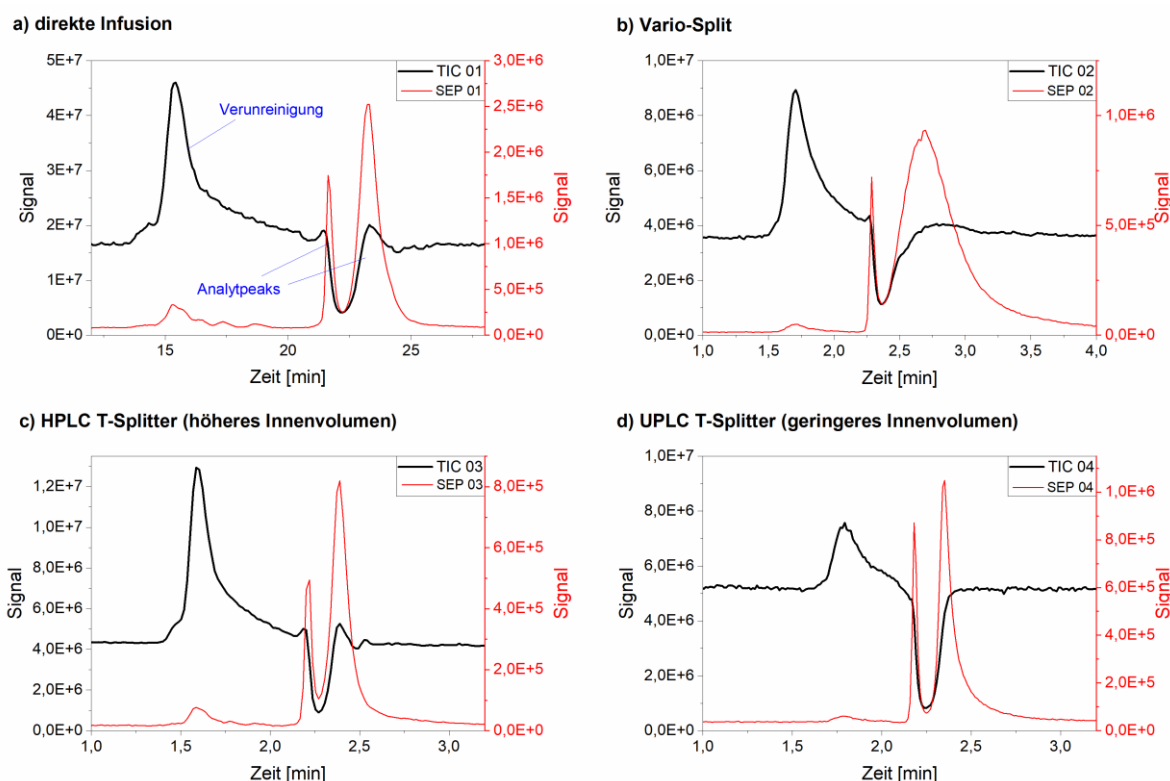


Abbildung 23: TIC und SEP des Stern-RAFT-Reagenz für die vier Verbindungsarten im Vergleich.

Das TIC-Chromatogramm der Messung mit dem einstellbaren Strömungsteiler (Abbildung 23 b) zeigt ein breites Peak-Tailing, was auch im SEP der Probe deutlich wird. Beide Varianten des T-Typ-Splitters und die Direktinfusion zeigen im TIC-Chromatogramm und im SEP nahezu die gleichen Profile. Der Vario-Split hat das höchste interne Volumen, was der Grund für das Peak-Tailing sein kann. Daher stellt der T-Splitter mit dem niedrigsten internen Volumen (Abbildung 23 d) eine gute Wahl für die Flussteilung dar. Dieser Splitter wird in allen folgenden Messungen verwendet.

4.1.2. Flusseinstellung

Der nächste Schritt war die Optimierung der Verbindung zwischen dem Splitter und der ESI-Quelle in Bezug auf das Verhältnis zwischen der Durchflussrate zur ESI-Quelle und dem RI-Detektor. Nach Auswahl des T-Splitters war die richtige Einstellung des Durchflussverhältnisses durch den Kapillarwiderstand erforderlich. Dieser Widerstand wird unter anderem durch die Länge und den Innendurchmesser der Kapillare bestimmt. Die zu diesem Zweck verwendeten Kapillaren bestehen aus PEEK SIL (weitere Einzelheiten siehe Abbildung 24), da herkömmliche PEEK-Kapillaren durch Kontakt mit bestimmten Lösungsmitteln, einschließlich THF, quellen können. Herkömmliche PEEK-Kapillaren bestehen vollständig aus Poly(etheretherketon) (PEEK), während die PEEK SIL kapillaren aus PEEK beschichtetem Silika hergestellt werden. Zusätzlich wurde für den Anschluss an die ESI-Quelle ein nicht leitendes Material benötigt, was die Verwendung von Edelstahlkapillaren ausschließt.

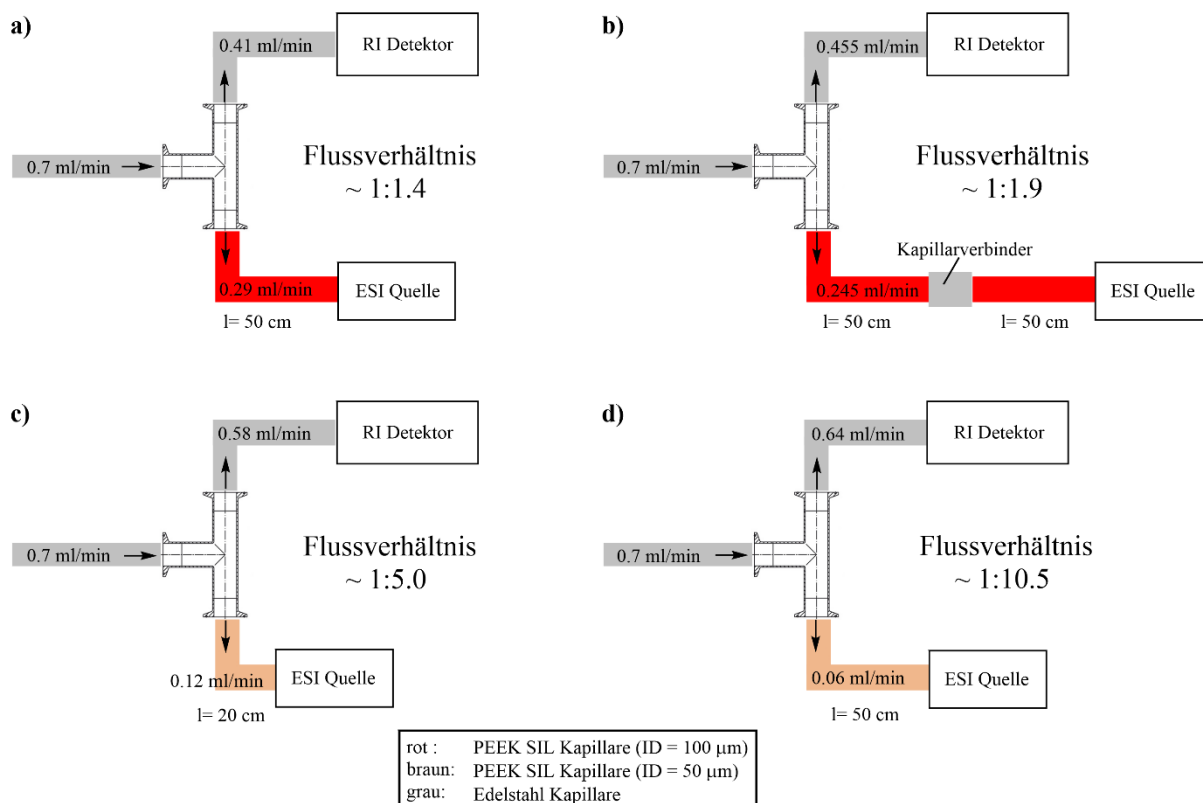


Abbildung 24: Bestimmte Flussverhältnisse (ESI:RI) mit verschiedenen Kapillarlängen und Innendurchmessern.

Dieses Verhältnis muss an die Messbedingungen angepasst werden. Im vorliegenden Fall muss jede Kontamination des Massenspektrometers mit DMF oder dem Polymer minimiert werden. Daher sollte die Flussrate zur ESI-Quelle so klein wie möglich sein, aber hoch genug, um gute Intensitäten in den Massenspektren zu erhalten. Ein Screening verschiedener Strömungsverhältnisse wurde durchgeführt, um die optimale Einstellung zu finden (Abbildung 24). Mit dem gezeigten Satz von Kapillaren war es möglich, die Flussraten an die ESI-Quelle im Bereich von 0,2 ml/min bis 0,06 ml/min anzupassen. Unter Berücksichtigung einer typischen Injektionseinstellung (Analytkonzentration: 2 mg/ml, Injektionsvolumen: 20 µl) entsprechen die oben genannten Flussraten Analytmassenströmen von $5,5 \cdot 10^{-3}$ mg/min bzw. $29,6 \cdot 10^{-3}$ mg/min. Die direkte Probeninfusion in die ESI-Quelle (z. B. unter Verwendung einer Spritzenpumpe) erfolgt standardmäßig bei Analytmassenströmen von $2 \cdot 10^{-3}$ mg/min. Somit könnte die Flussrate vom Splitter zur ESI-Quelle weiter verringert werden, insbesondere für gut ionisierbare Polymere wie PEG.

An den SEP des Analyten ist zu erkennen, dass die Intensität der Spektren mit verschiedenen Durchflussraten in einem konstanten Bereich bleibt (Abbildung 25). Daher wurde für weitere Messungen die PEEK SIL-Kapillare mit einer Länge von 50 cm und einem Innendurchmesser von 50 µm gewählt (d), um eine minimale Kontamination der MS mit DMF oder der Probe sicherzustellen.

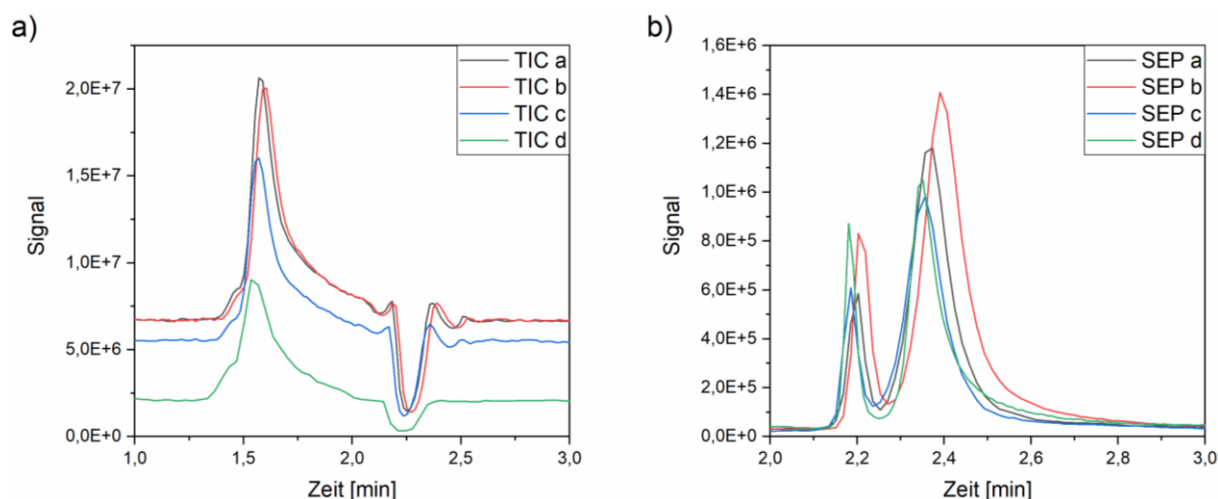


Abbildung 25: TIC (a) und SEP (b) für die Messungen mit verschiedenen Kapillaren zur Verbindung (a-d entsprechend der Aufbauten in Abbildung 24).

4.1.3. Optimierung des Ionentransfers

Vor der Detektorversatzbestimmung muss die Form der SEP-Kurve berücksichtigt werden. Trotz der oben genannten Vorteile des SEP als chromatographische Spur können die bisher aufgezeichneten SEP-Spuren nicht direkt zur Offsetbestimmung verwendet werden. Die SEP-Signale zeigen ein klares bimodales Profil (Abbildung 25 b), was den Vergleich von SEP- und RI-Spuren erschwert (Abbildung 26). Die hinsichtlich der erreichten Intensität optimierten Ionisationsparameter haben keinen Einfluss auf die SEP-Spur.

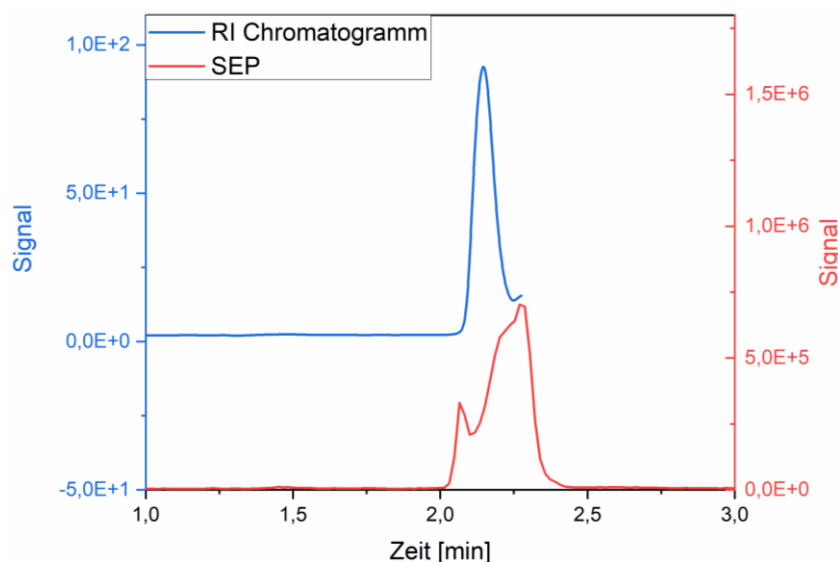


Abbildung 26: RI- und SEP-Spur des Stern-RAFT-Reagenz im direkten Vergleich, gemessen mit Standardparametern.

Die Bimodalität resultiert daher nicht aus einer Fragmentierung der Probe, da dies auch bei höheren Spannungen am Probenkegel nicht beobachtet werden konnte. Es ist bekannt, dass die Möglichkeit von Fragmentierungen bei Verwendung höherer Kegelspannungen besteht. In diesem Fall wurde mit dem Analyten auch für höhere Kegelspannungen keine Fragmentierung beobachtet.

Es wird daher davon ausgegangen, dass das bimodale Profil nicht auf eine Fragmentierung des Analyten zurückzuführen ist. Um das Profil des SEP im Vergleich zum monomodalen Profil des RI-Chromatogramms zu verbessern, wurden verschiedene Quellenparameter optimiert.

Der erste untersuchte Parameter ist dabei die Quelltemperatur. Es wurden zwei verschiedene Temperaturen getestet. Die Standardeinstellung ist dabei 120°C. Der direkte Vergleich der SEP zeigt keine deutliche Veränderung der Bimodalität (Abbildung 27 a).

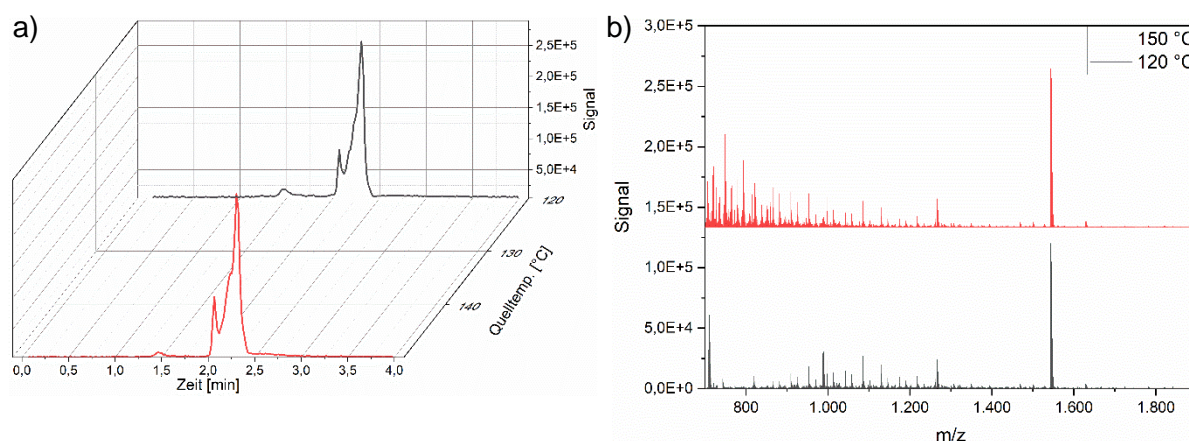


Abbildung 27: SEP des Stern-RAFT-Reagenz für beide Quelltemperaturen (a) und die Massenspektren zu beiden Messungen (b).

Im Vergleich der zugehörigen Massenspektren kann allerdings beobachtet werden, dass die Verunreinigungen prominenter werden. Auch eine zunehmende Fragmentierung kann nicht ausgeschlossen werden. Daher wurde im Folgenden mit dem Standardwert der Quelltemperatur weitergearbeitet.

Als nächstes wurde die Temperatur des Zerstäubergases (desolvation temperature) variiert. Die Erhöhung dieser Temperatur führt zum einen zu höheren Signalintensitäten und zum anderen zu einer verbesserten Peakform. Es ist weiterhin eine Unregelmäßigkeit im Peak zu erkennen, diese zeigt sich allerdings nur noch in Form einer Schulter.

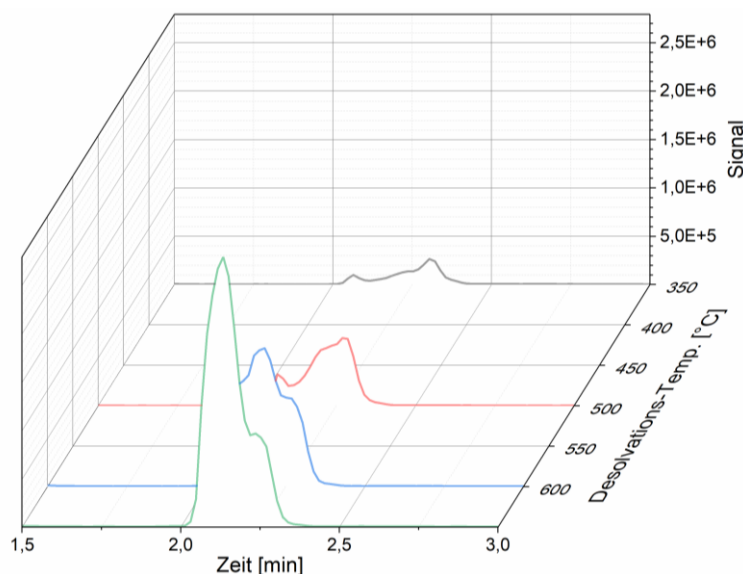


Abbildung 28: SEPs des Stern-RAFT-Reagenz unter Variation der Desolvations-Temperatur.

Auch im Vergleich der Massespektren lässt sich keine weitere Fragmentierung erkennen. Die Zwei Fragmente, welche bei m/z -Werten von etwa 1.000 und 1.300 zu beobachten sind, zeigen den gleichen Intensitätsanstieg wie der eigentliche Massenpeak (Abbildung 29).

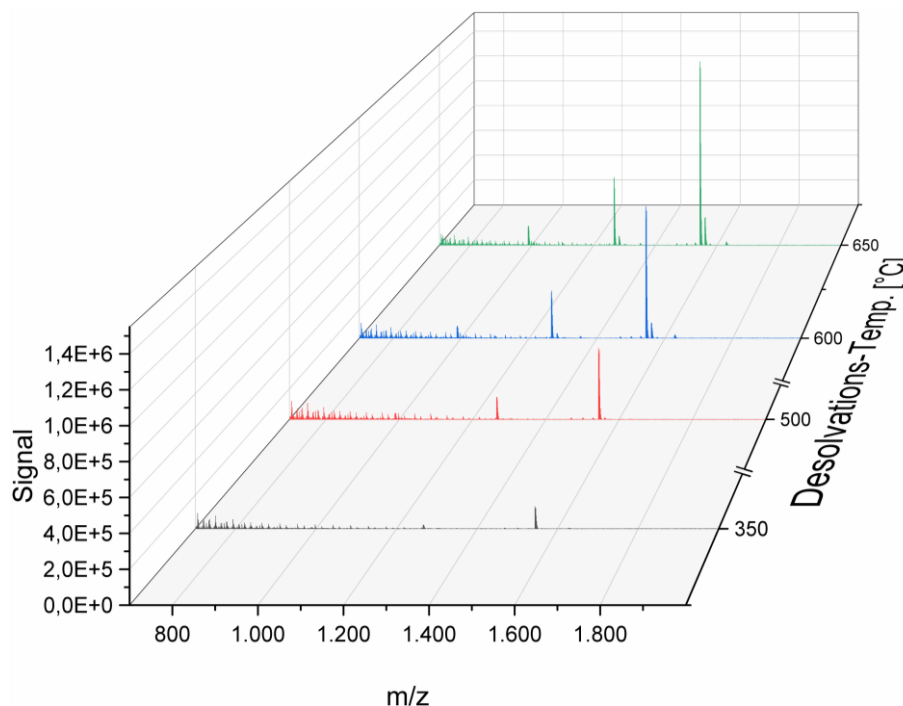


Abbildung 29: Massespektren des Stern-RAFT-Reagenz mit verschiedenen Zerstäubergastemperaturen.

Diese Ergebnisse legen nahe, dass die erhöhte Temperatur des Zerstäubergases für die Offsetbestimmung genutzt werden sollte. Grundsätzlich sollte diese Temperatur nur vorsichtig erhöht werden, da weniger stabile Analyte unter derartig hohen Temperaturen deutliche Fragmentierung aufweisen können. Für die weiteren Messungen für die Offsetbestimmung wurde die Temperatur des Zerstäubergases auf 650 °C eingestellt.

Als nächste Parameter können die Gasströme des Kegel- und Zerstäubergases variiert werden. Um sicherzustellen, dass die Intensität der Ionen nicht beeinflusst wird, können beide Werte nur innerhalb bestimmter Grenzen verändert werden.

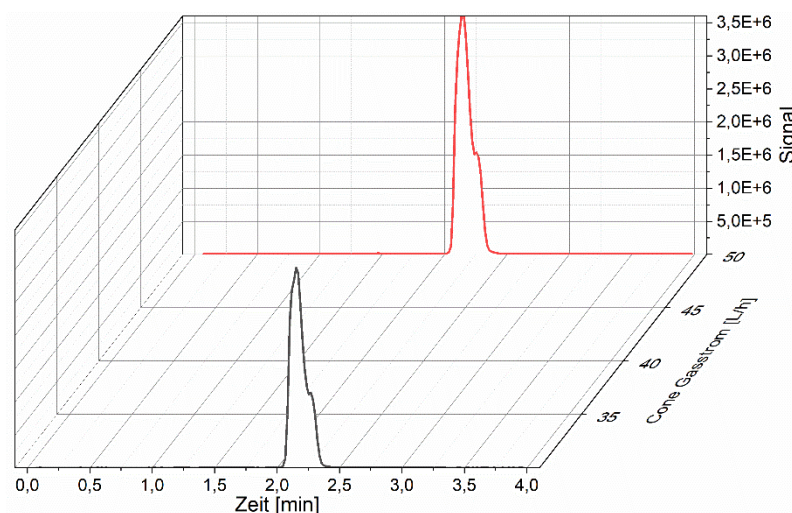


Abbildung 30: Einfluss der Veränderung des Kegelgasstroms (Cone-Gasstrom) auf den SEP.

Die Veränderung des Cone-Gasstroms zeigt keinen Einfluss auf den Peak des SEP (Abbildung 30). Auch das Massenspektrum der Probe zeigt unter verändertem Gasstrom keine weitere Fragmentierung (Abbildung 31). Da keine Verbesserungen oder Verschlechterungen zu beobachten sind, wurde der Gasstrom für die folgenden Messungen auf 50 l/h eingestellt, um die Intensität zu erhöhen.

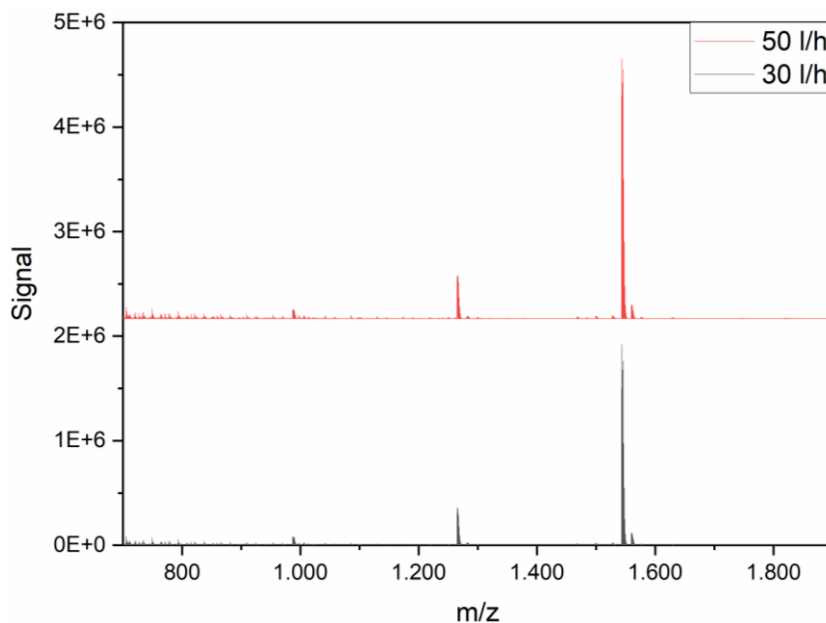


Abbildung 31: Massenspektren des Stern-RAFT-Reagenz mit verschiedenen Cone-Gasströmen.

Der letzte Parameter ist der Gasstrom des Zerstäubergases. Dieser ist standardmäßig auf 600 l/h eingestellt, und kann sowohl verringert als auch erhöht werden. Das Zerstäubergas dient zum Evaporieren des Lösungsmittels während der Ionisierung. Der Gasstrom kann daher die Geschwindigkeit dieses Vorgangs beeinflussen.

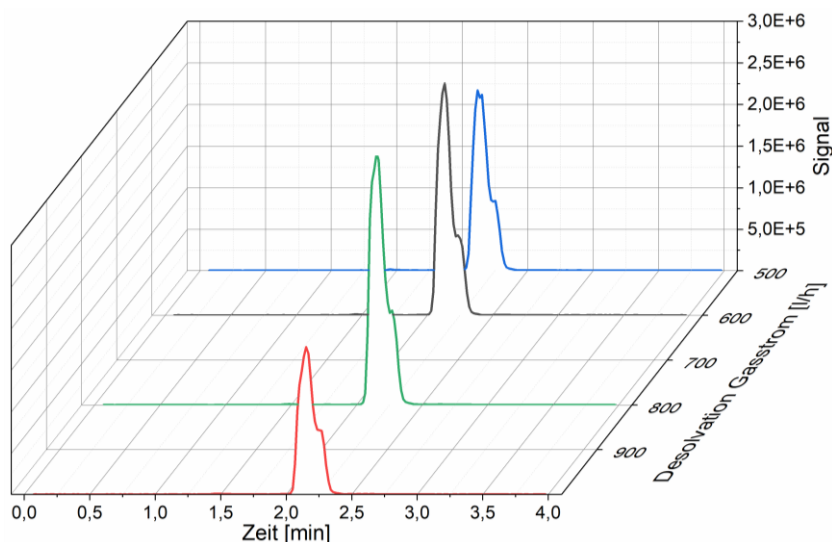


Abbildung 32: SEPs des Stern-RAFT-Reagenz mit verschiedenen Zerstäubergasströmen.

Es ist deutlich zu erkennen, dass die Verringerung des Gasstromes zu einem schlechterem SEP führt, während zu hohe Gasströme zu Intensitätsverlusten führen (Abbildung 32 blau und rot).

Die Massespektren zeigen auch mit zunehmenden Gasströmen die Intensitätsverluste des SEP. Dabei scheinen die Fragmentationen im Vergleich stärker ausgeprägt (Abbildung 33 rote Linie 1.000 m/z und 1.300 m/z).

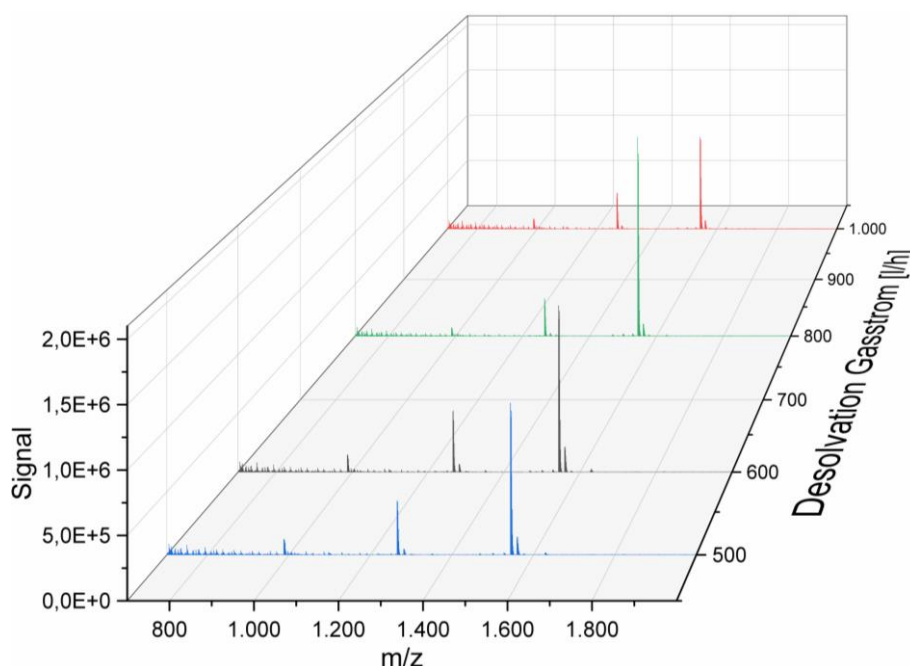


Abbildung 33: Massespektren der Messungen mit verschiedenen Zerstäubergasströmen.

Die Veränderung des Zerstäubergasstromes führt nicht zu einer weiteren Verbesserung des SEP, allerdings konnte für 800 l/h eine höhere Intensität beobachtet werden. Daher wurde auch hier für weitere Untersuchungen dieser Wert genutzt.

Die für die Messung des Offsets der beiden Detektoren genutzten Parameter der Ionisationskammer sind in Tabelle 18 zusammengefasst

Tabelle 18: Gegenüberstellung der Standardwerte und optimierter Werte innerhalb der Ionisationskammer.

Parameter	Standardwert	Optimierter Wert
Quellentemperatur [°C]	120	120
Zerstäubergastemperatur [°C]	350	650
Cone Gasstrom [l/h]	30	50
Zerstäubergasstrom [l/h]	600	800

Die Optimierung der Ionisation des Stern-RAFT-Reagenz ermöglicht es den Detektorversatz zu bestimmen und zu korrigieren.

Der bestimmte Versatz beträgt 0,054 min für einen Fluss von 0,7 ml/min und eine Flussteilung mit einem Verhältnis von 1:10,5 (ESI:RI).

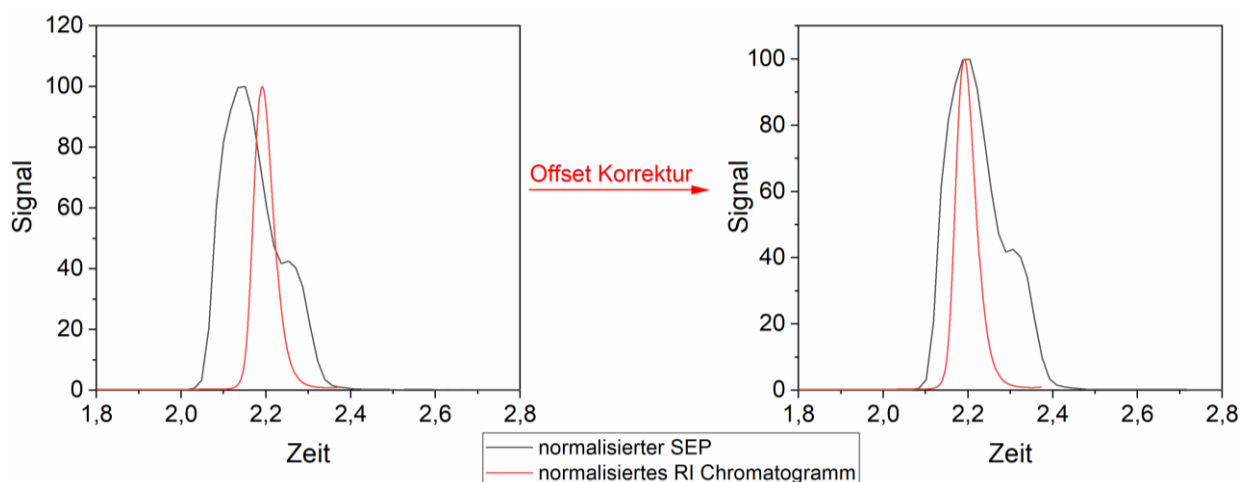


Abbildung 34: Korrektur des Versatzes von RI-Detektor und TIC /SEP.

4.2. Sequenzdefinierte Oligomere

Im Folgenden sollen sequenzdefinierte Oligomere auf ihre Trennbarkeit mit IMS und APC untersucht werden. Dazu wurden zunächst theoretische Modelle von zwei Hexameren erstellt, um die CCS-Werte der Strukturen zu berechnen, und so die grundsätzliche Trennbarkeit in der IMS-Zelle abschätzen zu können.

4.2.1. Theoretische Berechnungen

Der Vorgang der Berechnungen wurde in Kapitel 3.6 beschrieben. Es wurden die zwei Hexamere BT_3 und B_3T_3 untersucht. Beide sind aus zwei Monomeren aufgebaut, die Tetrahydrofuran- bzw. Benzylseitenketten aufweisen. Sie unterscheiden sich in der Abfolge der Monomere. Zu Beginn wurden zunächst die ungeladenen Strukturen berechnet.

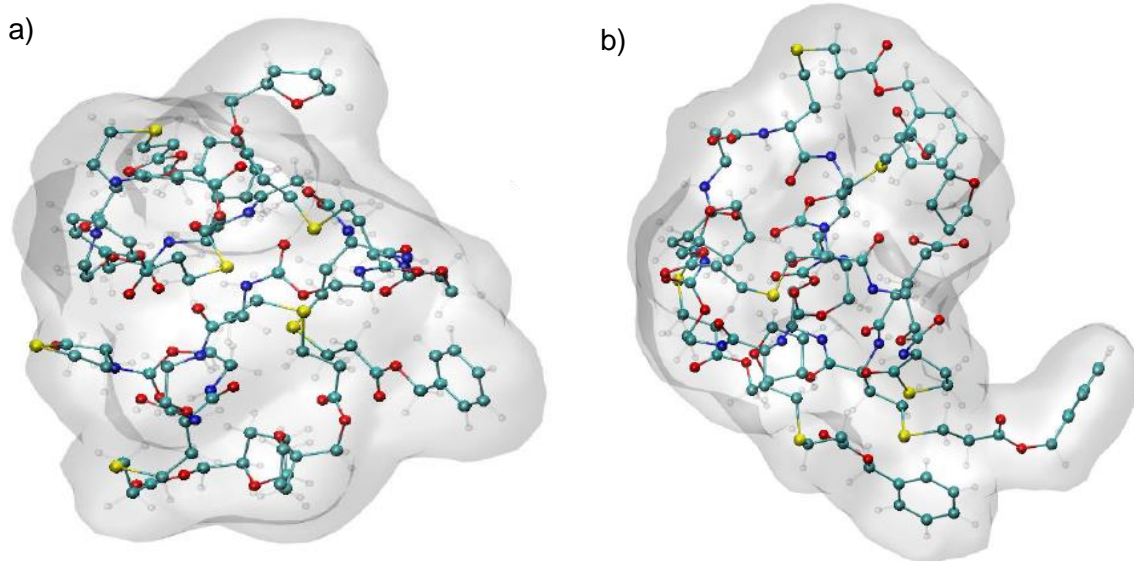
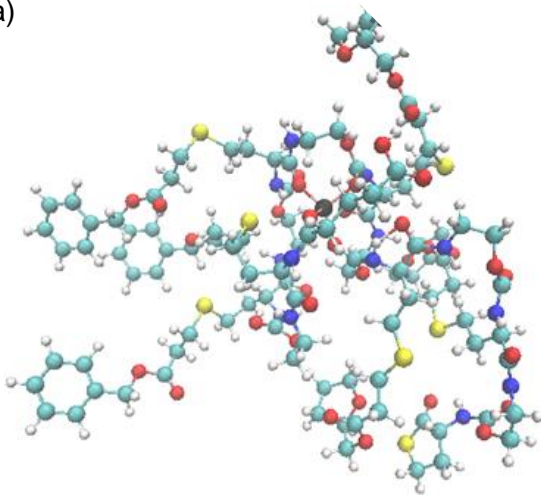


Abbildung 35: Optimierte Strukturen der Hexamere B_3T_3 (a) und BT_3 (b).

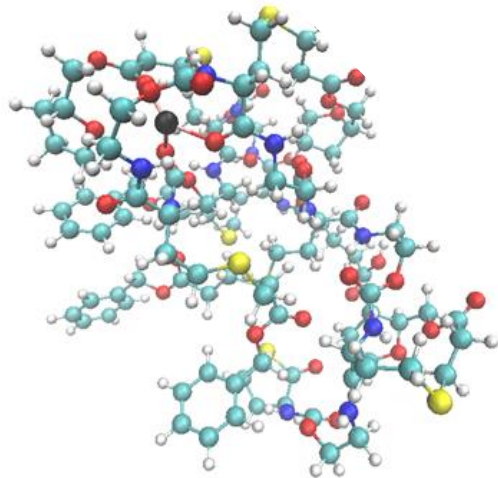
Der Vergleich der beiden ungeladenen Strukturen (Abbildung 35) zeigt bereits, dass unterschiedliche Formen in der Gasphase angenommen werden. Im Folgenden werden die

Strukturen der einfach geladenen Hexamere mit den vier verschiedenen Ionen dargestellt und verglichen.

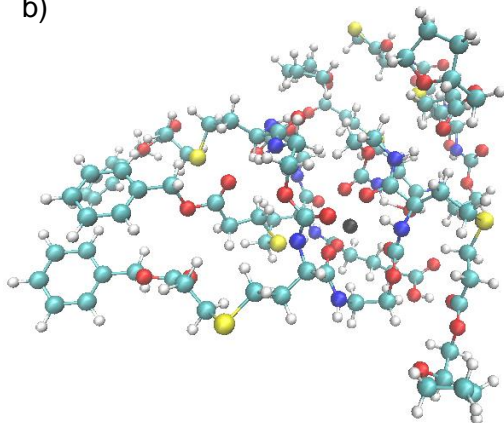
a)



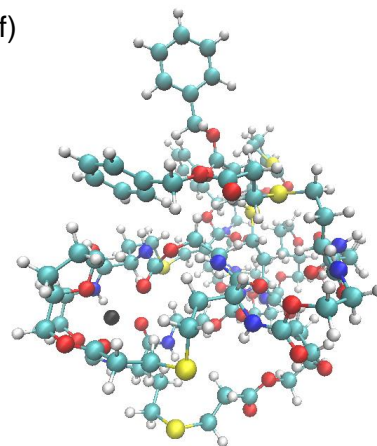
e)



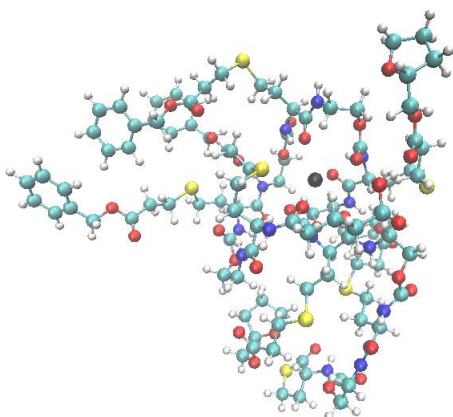
b)



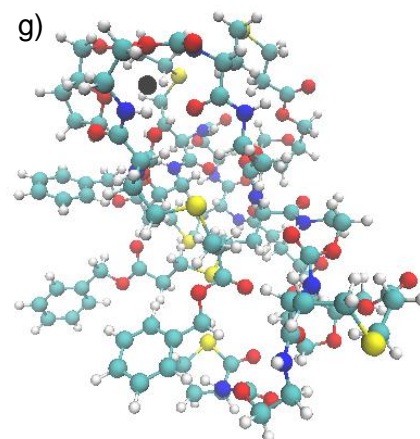
f)



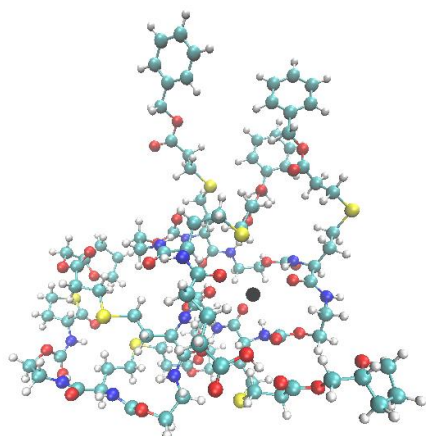
c)



g)



d)



h)

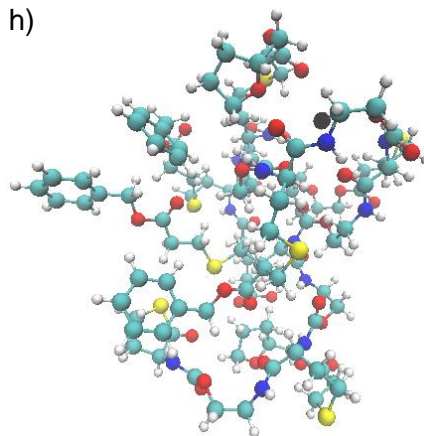
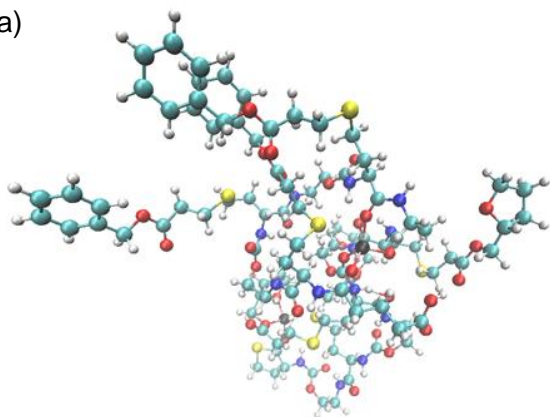


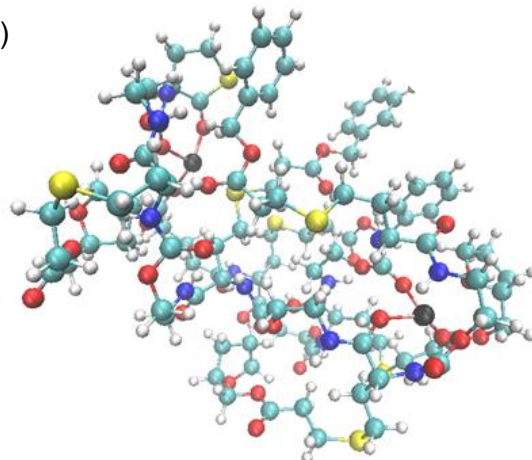
Abbildung 36: Optimierte Strukturen der einfach geladenen Hexamere B_3T_3 (links) und BT_3 (rechts) mit den Ionen Lithium (a und e), Natrium (b und f), Kalium (c und g) und Caesium (d und h). [Farblegende: Kohlenstoff- grün, Wasserstoff – weiß, Schwefel – gelb, Sauerstoff – rot, Stickstoff – blau, Ion – schwarz.]

Es lässt sich deutlich erkennen, dass das blockartige Hexamer (B_3T_3), welches im ungeladenen Zustand noch eine globuläre Form angenommen hat, mit dem Zusatz eines Ions eine offenerere Struktur annimmt als das alternierende Isomer. Zusätzlich lässt sich erkennen, dass mit steigender Ionengröße (Abbildung 36 a zu d, bzw. e zu h) die Strukturen kompaktere Formen annehmen. Die gleichen Untersuchungen wurden mit den doppelten geladenen Hexameren durchgeführt.

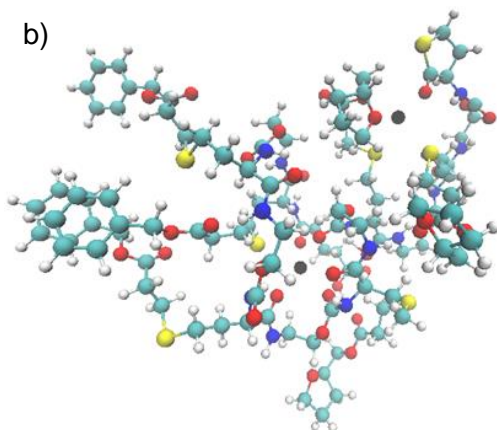
a)



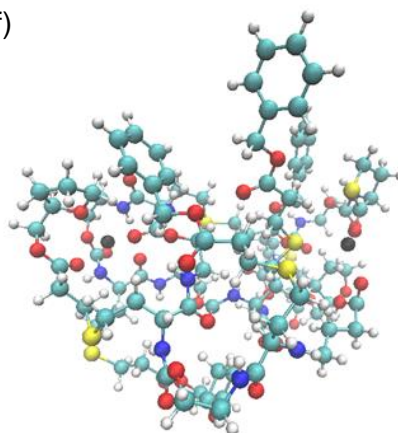
e)



b)



f)



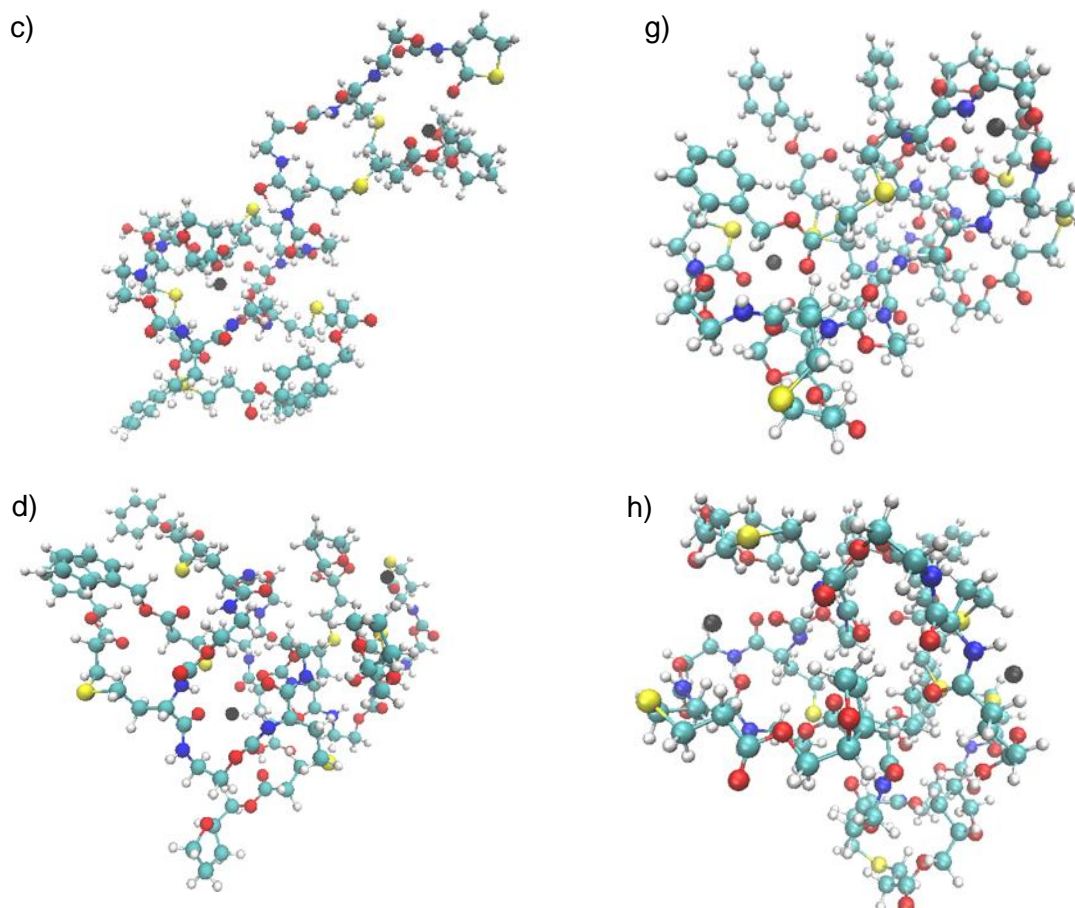


Abbildung 37: Optimierte Strukturen der zweifach geladenen Hexamere B_3T_3 (links) und BT_3 (rechts) mit den Ionen Lithium (a und e), Natrium (b und f), Kalium (c und g) und Caesium (d und h). [Farblegende: Kohlenstoff – grün, Wasserstoff – weiß, Schwefel – gelb, Sauerstoff – rot, Stickstoff – blau, Ion – schwarz]

Auch hier lässt sich eine kompaktere Form für das alternierende Isomer feststellen. Die Entwicklung der Größen der Strukturen mit der Ladung sowie im Vergleich beider Isomere lässt sich schlecht mit den Strukturen allein bewerten. Daher wurde mit Hilfe des Programms *mobcal* der Kollisionsquerschnitt für die Strukturen berechnet. Genutzt wurde dazu die TM-Methode.

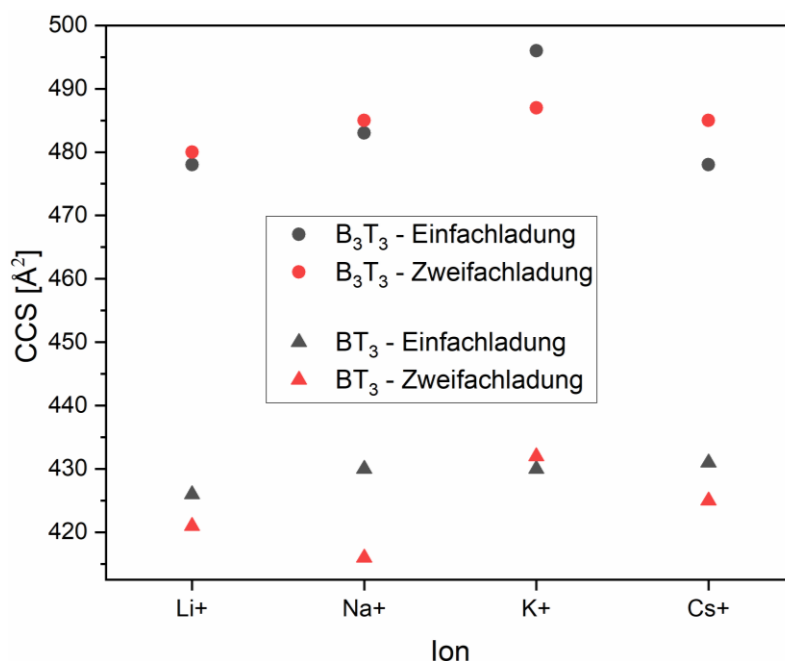


Abbildung 38: Berechnete CCS-Werte beider Isomere für Einfach- (schwarz) und Zweifachladung (rot) für alle betrachteten Ionen.

Abbildung 38 zeigt, dass die Einfachladung des alternierenden Isomers (schwarze Dreiecke) kaum Änderungen im CCS aufweisen unabhängig vom genutzten Ion. Das blockartige Isomer hingegen zeigt zunächst einen Anstieg und dann wieder einen Abfall des Querschnitts für die Einfachladung (schwarze Punkte). Grundsätzlich ist für mehrfach geladene Ionen mit höheren Ladungszuständen eine bessere Auflösung zu erwarten.^{[197],[198]} Im Vergleich beider Isomere in der Struktur ihrer Zweifachladungen fällt auf, dass beide einem ähnlichen Verlauf eines leichten Anstieges mit einem Abfall zur Struktur mit Caesium folgen. Die Ausnahme bildet dabei das Natriumaddukt des alternierenden Hexamers. Der Abfall in dem CCS-Wert dieser Struktur kann nicht erklärt werden.

Zusammengefasst kann aufgrund der Berechnungen angenommen werden, dass beide Isomere aufgrund der Unterschiede von 50 bis 60 Å² gut in der IMS zu trennen sein sollten.

4.2.2. Optimierung APC-Trennung

Die ersten Messungen der Oligomere wurden auf dem APC-System mit der Säulenkombination A (Tabelle 5) und dem Eluentensystem B (Tabelle 5) durchgeführt. Es zeigt sich, dass eine Mischung von drei Oligomeren mit den gleichen Monomereinheiten in alternierender Reihenfolge und unterschiedlichen Kettenlängen von der APC nicht getrennt werden kann. Untersucht wurden die Proben BT₂, BT₃ und BT₄.

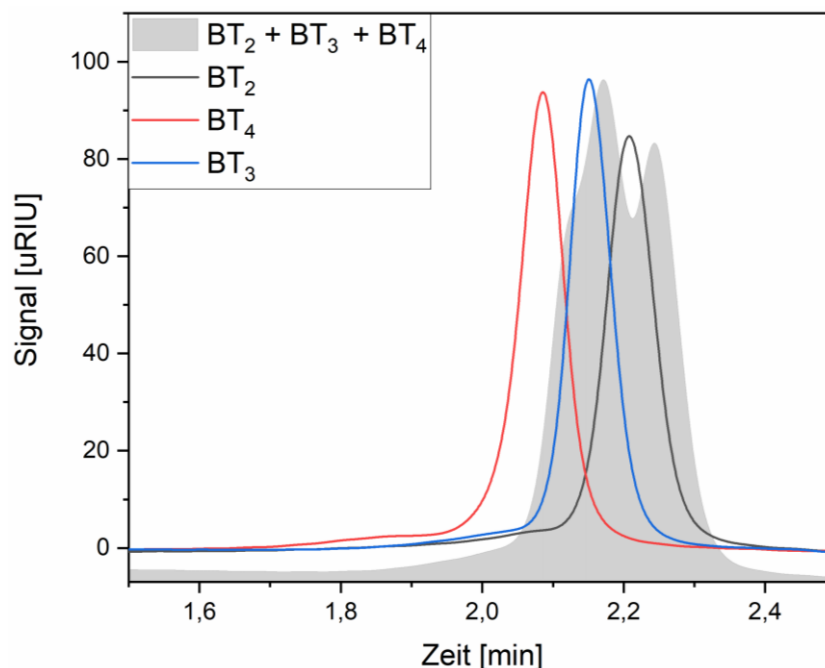


Abbildung 39: RI-Spur der APC für Messungen der Proben BT_2 , BT_3 und BT_4 und deren Mischung mit der Säulenkombination A (Tabelle 5).

Während die Messungen der einzelnen Oligomere noch deutlich unterschiedliche Peakmaxima zeigen, ist in der Mischung keine klare Trennung zu erkennen. Das zuerst eluierende Oktamer ist in der Mischung nur als leichte Schulter zu erkennen, das Tetramer zeigt noch eine zweite Peakspitze (Abbildung 39).

Um die Trennung zu verbessern, wurden die Messungen mit einer anderen Säulenkombination wiederholt (Tabelle 5 Säulenkombination B). Die im Folgenden genutzten Säulen sind insgesamt länger als die Säulen im Experiment zu Abbildung 39. Das bedeutet, dass neben einer Verbesserung der Trennung auch eine längere Messzeit erwartet wird. Die hier genutzten Säulen haben eine Porengröße von 45 Å. Laut Herstellerangaben ist diese Porengröße für einen Molmassenbereich von 200 bis 5.000 g/mol geeignet. Alle untersuchten Oligomere fallen in diesen Massenbereich.

Mit der neuen Säulenkombination zeigt sich eine deutliche Verbesserung der Trennleistung (Abbildung 40). Schon die Einzelmessungen zeigen eine bessere Trennung, welche in der Mischung bestätigt wird. Für alle Oligomere werden Peakmaxima erwartet, welche in guter Übereinstimmung mit denen der Einzelmessung sind. Zusätzlich sind die Peaks von Hexamer und Tetramer soweit getrennt, dass von einer Basislinientrennung gesprochen werden kann. Für beide Säulenkombinationen kann mit Hilfe von Gleichung (18) die Bodenzahl der Säule berechnet werden, um die tatsächliche Trennleistung quantitativ abzuschätzen. Für die Säulenkombination A ergibt sich eine Bodenzahl von etwa 5.000, während die Säulenkombination B eine Bodenzahl von fast 11.000 zeigt (berechnet in Bezug auf die Probe BT_3). Das entspricht ungefähr den Erwartungen. Die Säulenlänge für den Trennbereich 200-5.000 g/mol hat sich von der Kombination A zu B verdreifacht. Allerdings ist die zweite Säule

der Kombination A mit einer Porengröße von 125 Å für einen Massenbereich von 1.000 bis 30.000 g/mol ausgelegt, und unterstützt daher die Trennung der Oligomere zusätzlich. Diese Säule wurde in der Kombination B nicht eingesetzt.

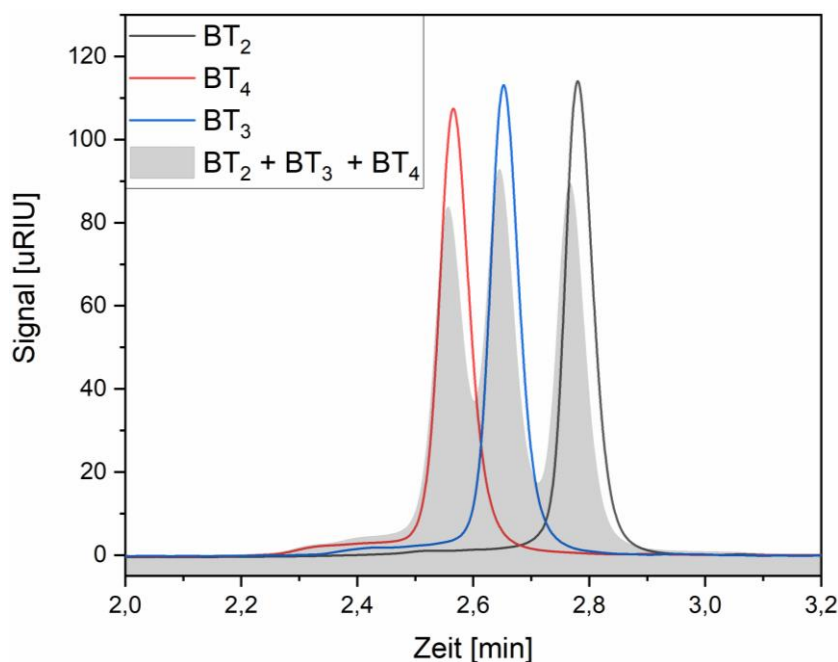


Abbildung 40: RI-Spur der APC für Messungen der Proben BT_2 , BT_3 und BT_4 und deren Mischung mit der Säulenkombination B (Tabelle 5).

Weiterhin wurde die Trennung mit der APC hinsichtlich der Betriebstemperatur der Säulen untersucht, um die optimale Temperatur für die Trennung zu finden.

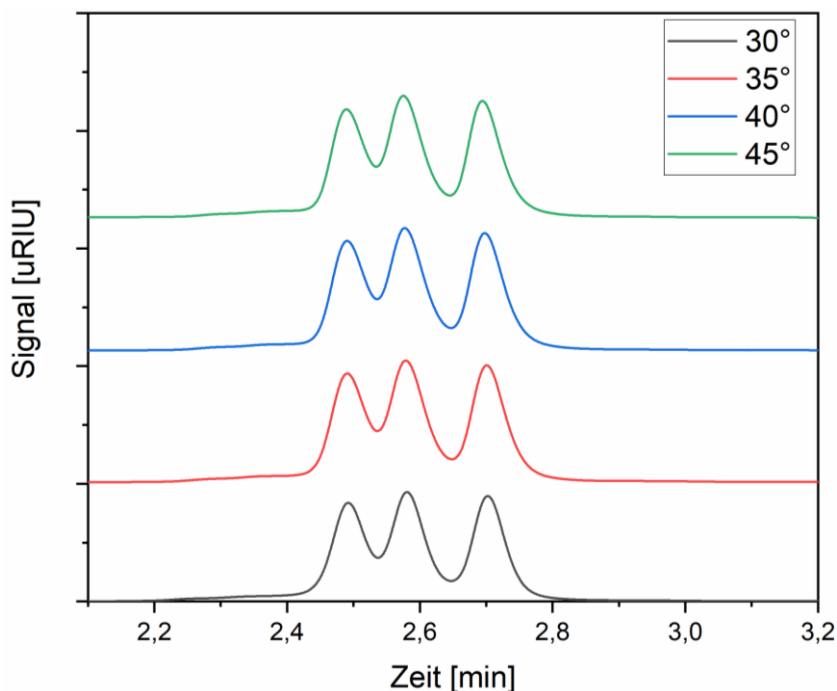


Abbildung 41: RI-Spuren der Mischung der Proben BT_2 , BT_3 und BT_4 für verschiedene Betriebstemperaturen der Säulen.

Ein direkter Vergleich der Mischungsprofile für verschiedene Säulentemperaturen zeigt optisch keine Änderung (Abbildung 41). Sowohl die Intensität der Signale als auch der Grad der

Trennung ist von der Temperatur scheinbar nicht beeinflusst. Um diese Aussage quantitativ treffen zu können, wird erneut mit der Probe BT₃ die Bodenzahl der Messungen mit Hilfe der Gleichung (18) berechnet (Abbildung 42).

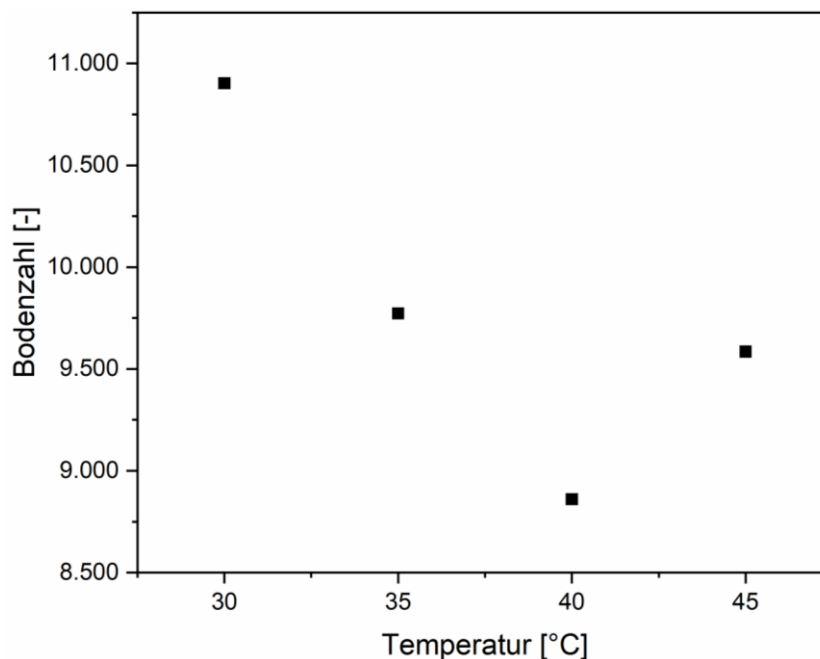


Abbildung 42: Bodenzahlen der Messung der Probe BT₃ mit verschiedenen Temperaturen.

Es zeigt sich, dass die Bodenzahl mit steigender Temperatur zunächst abnimmt, um ab 45 °C wieder anzusteigen. Ob höhere Bodenzahlen für noch höhere Temperaturen erreicht werden können, kann auf Grund der Siedepunkte der verwendeten Lösungsmittel nicht getestet werden. Auch kleinere Betriebstemperaturen können durch die Gegebenheiten des Säulenofens nicht realisiert werden. Daher wird die bestmögliche Trennung für eine Betriebstemperatur von 30 °C erreicht. Für eine SEC-Trennung wird, aufgrund der Temperaturunabhängigkeit des Verteilungskoeffizienten zwischen mobiler und stationärer Phase, keine Änderung der Trennleistung erwartet. Dass sich ein Temperatureinfluss beobachten lässt, kann ein Indiz für eine geringe Wechselwirkung von Analyt und Säule sein.

Als letztes wurde an dieser Stelle die Flussrate verändert. Fünf verschiedene Flussraten wurden hinsichtlich der Trennleistung untersucht (Abbildung 43). Es lässt sich vor allem für die Trennung von Oktamer und Hexamer erkennen, dass mit abnehmender Flussrate eine Verbesserung eintritt. Während bei einer Flussrate von 0,7 ml/min die beiden Peaks noch auf der Hälfte in einander übergehen, sind sie bei einer Flussrate von 0,55 ml/min bereits bis zum unteren Drittel getrennt.

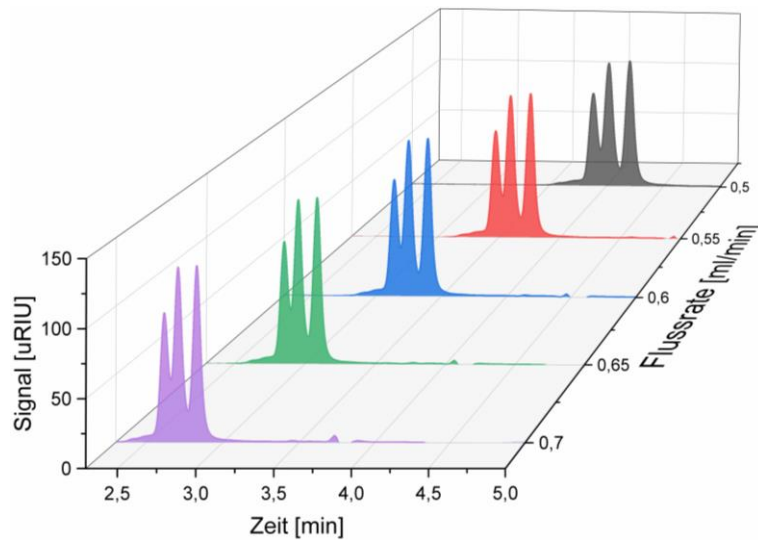


Abbildung 43: RI-Spuren der Mischung der Proben BT_2 , BT_3 und BT_4 mit verschiedenen Flussraten.

Um die Trennleistung konkret beurteilen zu können, wird erneut ein Vergleich der Bodenzahlen nach Gleichung (18) durchgeführt.

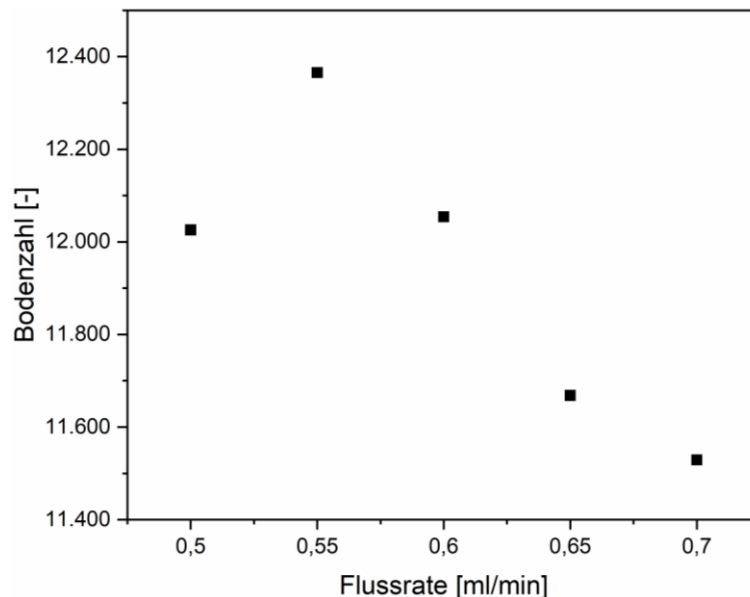


Abbildung 44: Bodenzahlen der Messung der Probe BT_3 mit verschiedenen Flussgeschwindigkeiten.

Es kann beobachtet werden, dass die Bodenzahl mit steigender Flussrate zunächst ansteigt, dann allerdings nach einem Höhepunkt bei 0,55 ml/min wieder abnimmt. Dies deckt sich mit den Beobachtungen aus dem Vergleich der RI-Spuren der Mischung. Es lässt sich vermuten, dass für kleinere Flussraten (unter 0,55 ml/min) die säulenexterne Bandenverbreiterung durch Diffusion soweit zunimmt, dass die Trennleistung darunter leidet. Die Ergebnisse zeigen, dass die beste Trennung mit einer Flussrate von 0,55 ml/min erreicht werden kann. Allerdings bedeutet eine Verringerung der Flussrate auch gleichzeitig eine höhere Messzeit. In Hinblick auf die Kopplung ist daher ein Kompromiss aus Messzeit und Trennleistung notwendig. Für die folgenden Messungen wurde aufgrund der geringen Verbesserung mit kleineren Flussraten eine Flussrate von 0,7 ml/min genutzt.

4.2.3. Optimierung der IMS-Trennung

Die ersten Untersuchungen wurden mit den Proben B_3T_3 und BT_3 am Synapt™ durchgeführt. Es wurden verschiedene Einstellungen der IMS-Trennung sowie verschiedene Salzzusätze getestet, um die Driftzeitunterschiede zwischen den Isomeren zu maximieren.

Die getesteten Wellengeschwindigkeiten variieren zwischen 300 m/s und 1500 m/s, während Lithiumiodid, Natriumiodid, Kaliumiodid und Caesiumiodid als Salzzusätze getestet wurden.

Alle Ionen der Salze zeigen daher nur Einfachladungen und steigen im Ionenradius von

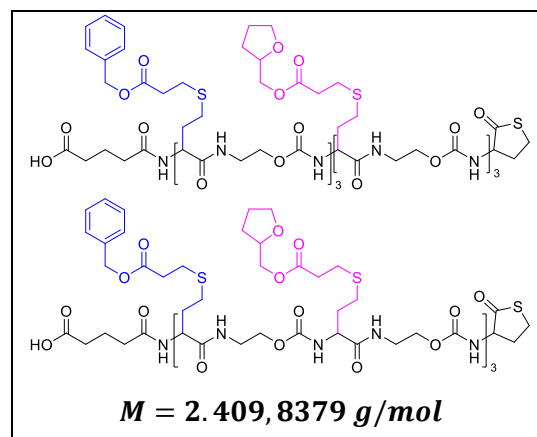


Abbildung 45: Proben B_3T_3 (oben) und BT_3 (unten) und ihre Masse.

76 pm auf 167 pm.^[199] Die Hexamere zeigen nur für die Zweifachladung ausreichend Intensität für eine Detektion mit IMS. Ausgewertet werden die Signale, welche zweimal das Ion des Salzzusatzes angelagert haben. Alle Messungen wurden als dreifach Bestimmung durchgeführt.

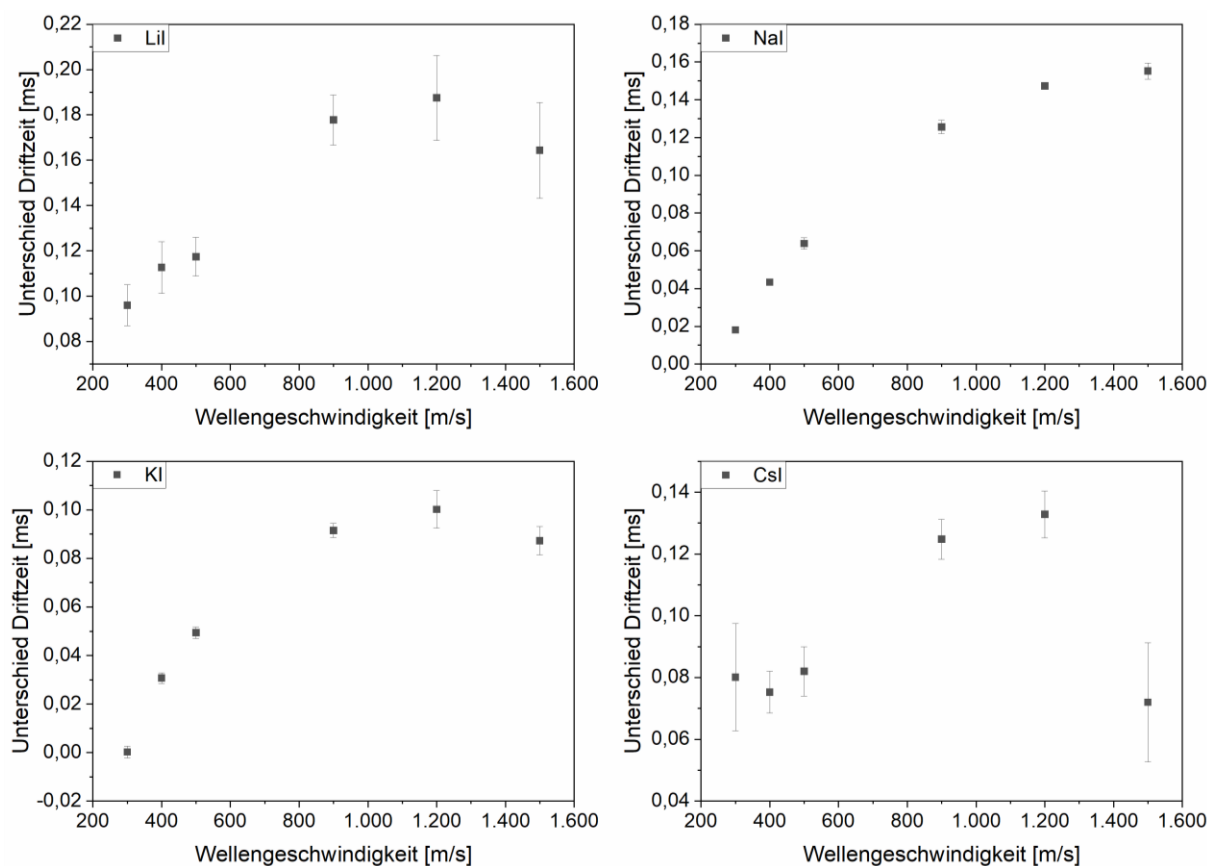


Abbildung 46: Driftzeitdifferenzen der Hexamere B_3T_3 und BT_3 mit Lithiumiodid, Natriumiodid, Kaliumiodid und Caesiumiodid als Salzzusatz in Abhängigkeit von der Wellengeschwindigkeit in der IMS-Zelle.

Alle Salzzusätze zeigen einen vergleichbaren Trend der Proben mit steigender Wellengeschwindigkeit. Die Unterschiede der Driftzeiten steigen mit den

Wellengeschwindigkeiten an. Dieser Verlauf entspricht den Erwartungen nach Gleichung (9). Unerwartet hingegen ist das Erreichen eines Plateaus, was sich für die Proben mit Lithiumiodid, Natriumiodid und Kaliumiodid erkennen lässt (Abbildung 46). Für Caesiumiodid sinkt die Differenz der Driftzeiten deutlich mit der höchsten Wellengeschwindigkeit. Dieser Abfall ist für alle Salzzusätze zu beobachten, aber für das größte Ion am ausgeprägtesten. Des Weiteren lässt sich beobachten, dass die Fehler der Messung in allen Fällen kleiner sind als die Differenzen der Driftzeiten. Dies spricht prinzipiell für einen tatsächlichen Unterschied der Form der Isomere und eine theoretische Trennbarkeit. Es ist auffällig, dass die Proben mit Lithium und Caesium im Vergleich zu Natrium und Kalium deutlich größere Fehler aufweisen. Dies ist wahrscheinlich durch die Intensität der Signale zu erklären. Während mit Kalium und Natrium gute Intensitäten der Addukte in den Massenspektren zu erreichen sind, überwiegen für Lithium und Caesium andere Addukte. Die in den Probengefäßen vorhandenen Natrium- und Kaliumionen liegen in ausreichender Konzentration in der Lösung vor, dass eine Ionisation mit diesen Ionen bevorzugt ist. Angesichts der kleineren Fehler, sowie der erreichten Differenzen ist für die Hexamere Natriumiodid die beste Wahl als Salzzusatz.

Für die späteren Identifizierungen von Isomeren sollen die CCS-Werte der Proben statt ihrer Driftzeiten genutzt werden. Daher muss das System der IMS kalibriert werden. Dies wird mit Polyalanin durchgeführt, da für dieses Polymer die CCS-Daten in der Literatur für drei Ladungszustände bekannt sind.^[200]

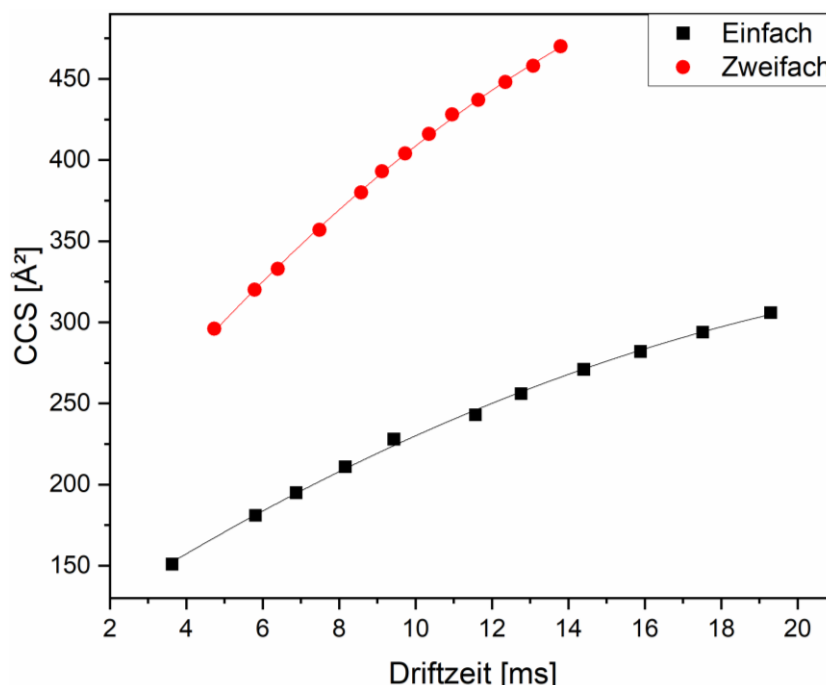


Abbildung 47: Kalibrierungskurven für die Einfachladung und die Zweifachladung mit Polyalanin mit einer Wellengeschwindigkeit von 500 m/s.

Diese Kalibrierungen können genutzt werden, um die CCS-Werte der Hexamere zu bestimmen. Die Wellengeschwindigkeit hat keinen Einfluss auf die CCS-Wert. Daher kann für die Bestimmung dieser Werte eine beliebige Messung genutzt werden, solange die Kalibrierung

mit der gleichen Wellengeschwindigkeit durchgeführt wurde. Die experimentellen Werte können mit den theoretischen Werten, welche in Kapitel 4.2.1 dargestellt wurden verglichen werden (Abbildung 48).

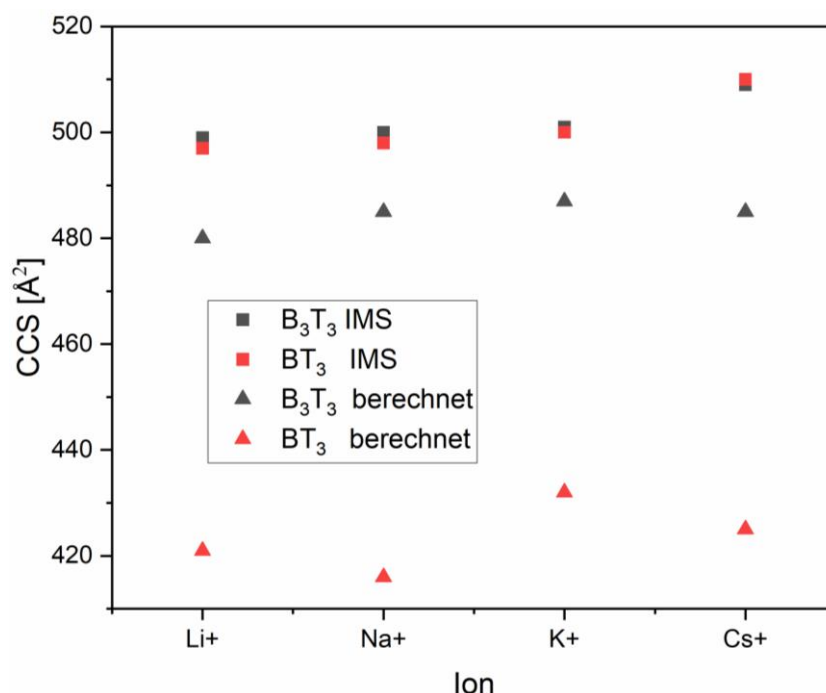


Abbildung 48: CCS-Werte der Hexamer B_3T_3 (schwarze Symbole) und BT_3 (rote Symbole) aus den theoretischen Berechnungen (Dreiecke) und der IMS (Quadrate) für unterschiedliche Addukte.

Dieser Vergleich zeigt zwei offensichtliche Unterschiede. Zum einen sind die Differenzen zwischen beiden Isomeren in der theoretischen Bestimmung mit 50 bis 60 Å² deutlich größer als die etwa 2 Å², welche in der IMS erreicht werden. Und zum anderen sind die in der IMS erreichten Werte größer als die der theoretischen Berechnung. Mit Ausnahme des Caesiumaddukts ist allerdings die Tendenz des blockartigen Isomers als jenes Isomer mit der größeren Form identisch. Dieser Vergleich zeigt, dass die theoretischen Berechnungen an dieser Stelle nur als Richtwert aber nicht zum quantitativen Vergleich und Bewertungen herangezogen werden können. Weiterhin zeigen die CCS-Werte der Addukte untereinander keine großen Unterschiede, sodass anhand dieser Auswertung anzunehmen ist, dass der Salzzusatz keinen Einfluss auf die Form der Isomere ausübt.

Um den Einfluss der Wellengeschwindigkeit besser beurteilen zu können, werden diese Messungen mit Oligomeren anderer Kettenlängen wiederholt. Zunächst werden hier die Tetramere B_2T_2 und BT_2 betrachtet. Für die Tetramere ist die Einfachladung mit besserer Intensität nach der IMS-Zelle zu beobachten als die Zweifachladung. Auch diese Proben wurden mit Dreifachbestimmung gemessen. Als Salzzusatz wurde nur Natriumiodid genutzt. Die Driftzeitverteilungen (Abbildung 50) beider Proben im Vergleich zeigen, dass zum einen die Intensitäten beider Proben mit steigender Wellengeschwindigkeit abnehmen, sodass die Messungen mit Wellengeschwindigkeiten von 900 m/s und mehr sehr schlechte Signal-Rausch-Verhältnisse zeigen.

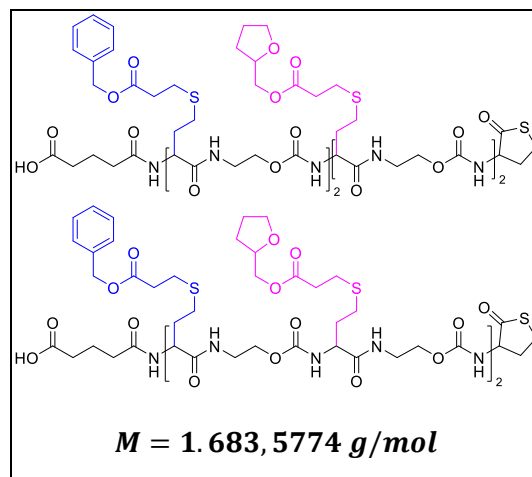


Abbildung 49: Proben B_2T_2 (oben) und BT_2 (unten) und ihre Masse.

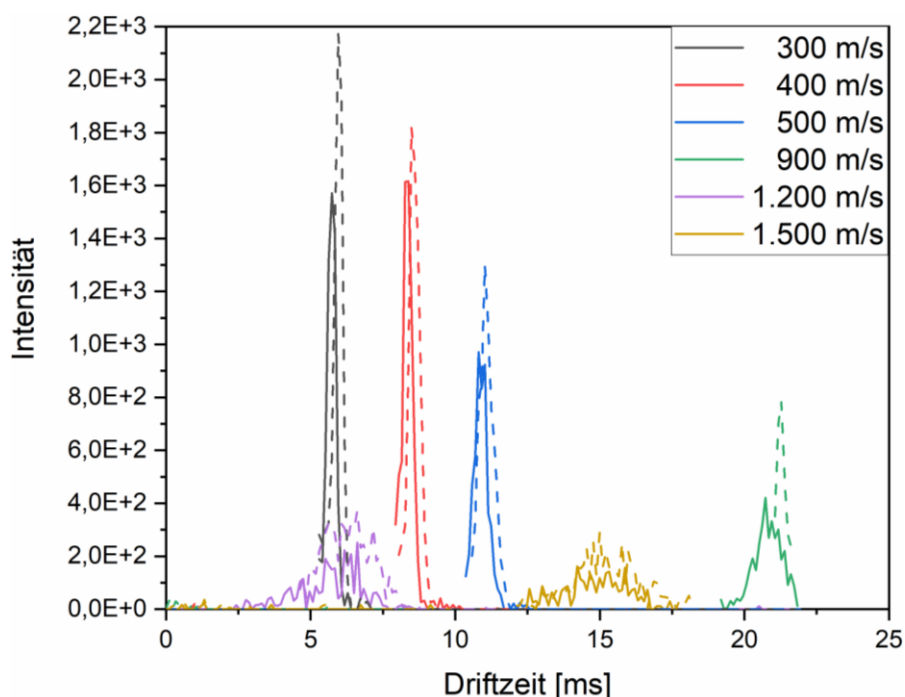


Abbildung 50: Driftzeitverteilungen der Proben B_2T_2 (gestrichelte Linie) und BT_2 (durchgezogene Linie) mit verschiedenen Wellengeschwindigkeiten.

Des Weiteren ist deutlich zu sehen, dass die Probe B_2T_2 höhere Intensitäten aufweist als das alternierende Isomer. Die Oktamere B_4T_4 und BT_4 zeigen nicht so große Unterschiede in der Intensität untereinander (Abbildung 52). Aber auch hier lässt sich eine Abnahme der Intensität mit der höheren Wellengeschwindigkeit beobachten. Eine Ausnahme stellt die Messung mit einer Wellengeschwindigkeit von 300 m/s, welche auch eine sehr kleine Intensität zeigt. Alle Intensitäten, sind allerdings nicht im Bereich des Rauschens und für die Auswertung ausreichend. Die Wellengeschwindigkeit von 1.500 m/s führt dabei allerdings zu einer Driftzeit, welche auf der Grenze des Messfensters ist. Da dieses Messfenster nicht verändert werden kann, werden Ionen, welche Driftzeiten über 20 ms aufweisen, formal mit kleineren Driftzeiten registriert, da sie im folgenden Messfenster detektiert werden. Die Verteilung dieser Wellengeschwindigkeit ist daher geteilt. Die schnellere Hälfte ist noch im ersten Messfenster, während die langsamere Hälfte der Verteilung erst im nächsten Messfenster aufgenommen wird. Diese Messung ist daher für die Auswertung unbrauchbar.

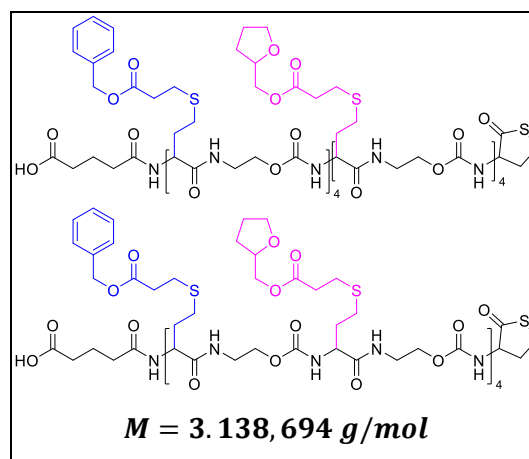


Abbildung 51: Proben B_4T_4 (oben) und BT_4 (unten) und ihre Masse.

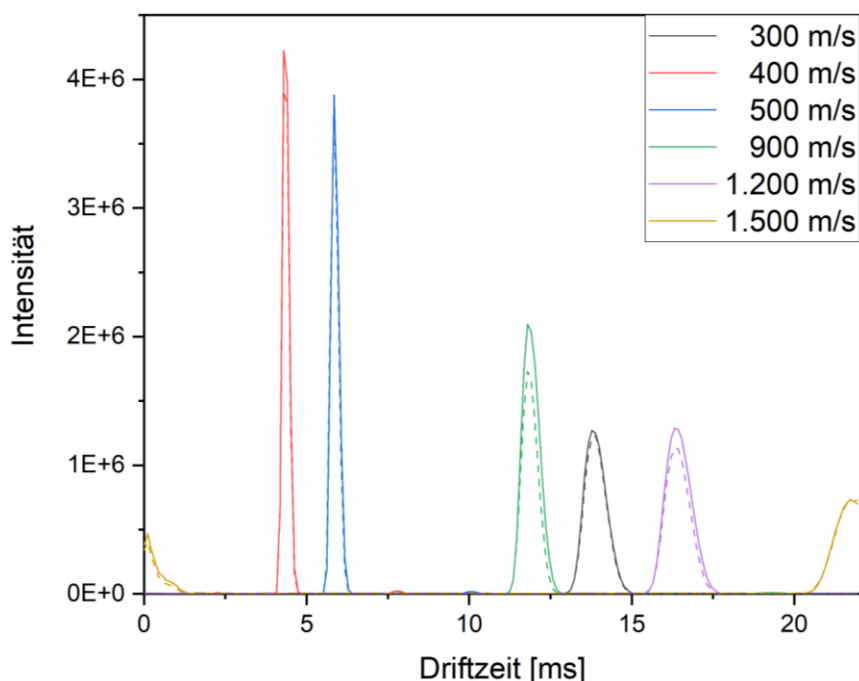


Abbildung 52: Driftzeitverteilungen der Proben B_4T_4 (gestrichelte Linie) und BT_4 (durchgezogene Linie) mit verschiedenen Wellengeschwindigkeiten.

Um einen Eindruck zu bekommen, ob die Proben den nach Gleichung (9) erwarteten Verlauf zeigen, werden die Driftzeiten korrigiert und gegen die Wellengeschwindigkeit aufgetragen.

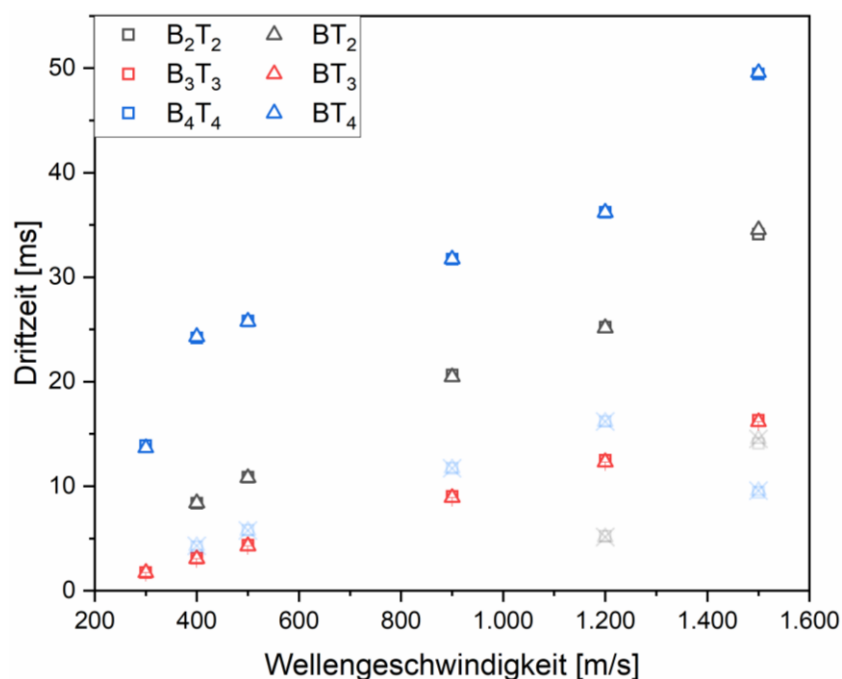


Abbildung 53: Entwicklung der Driftzeiten der Proben B₂T₂, BT₂, B₃T₃, BT₃, B₄T₄ und BT₄ in Abhängigkeit von der Wellengeschwindigkeit.

Der Anstieg aller Proben folgt dem erwarteten Verlauf. Alle Anstiege entsprechen einer Gerade, wobei die Steigungen keine großen Unterschiede aufweisen. Der Vergleich der absoluten Werte der Driftzeiten ist schwierig, da es schwer zu beurteilen ist, ob die Proben mit 300 m/s bereits über die Dauer eines Messfensters in der Zelle waren, bevor sie im zweiten Fenster detektiert werden, oder ob diese Proben im Laufe des ersten Messfensters detektiert werden. Nach den Gleichungen (7) und (9) würde eine Zunahme der Driftzeit mit steigender Masse und CCS erwartet werden. Da die Driftzeit gleichzeitig auch umgekehrt proportional zur Ladung der Ionen ist, würde im direkten Vergleich der Oligomere eine Steigerung der Driftzeit mit steigender Kettenlänge bei gleichbleibender Ladung erwartet. Die Hexamere und Oktamere entsprechen diesen Erwartungen. Da die Tetramere mit einer Einfachladung untersucht wurden, kann die größere Driftzeit dieser Proben mit dem Unterschied der Ladungen erklärt werden.

Für die Optimierung der Messbedingungen ist es interessant zu betrachten, ob alle Driftzeitunterschiede zwischen den Isomeren dem gleichen Trend folgen. Daher werden in Abbildung 54 die Differenzen der Driftzeiten in Abhängigkeit von der Wellengeschwindigkeit für alle bisher diskutierten Proben dargestellt.

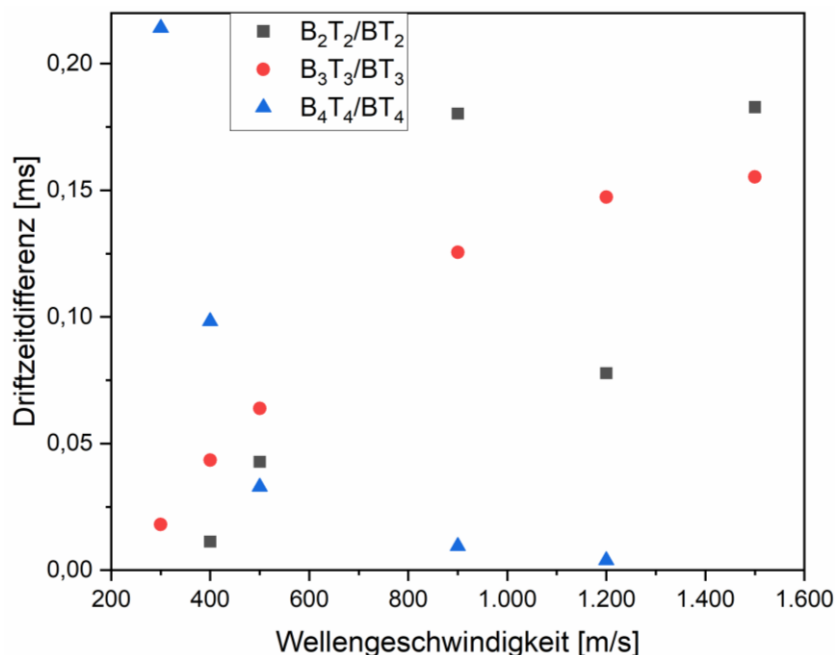


Abbildung 54: Driftzeitdifferenzen der Proben B_2T_2 , BT_2 , B_3T_3 , BT_3 , B_4T_4 und BT_4 in Abhängigkeit von der Wellengeschwindigkeit in der IMS-Zelle.

Diese Betrachtung (Abbildung 54) zeigt, dass die Driftzeitunterschiede nicht für alle Kettelängen mit der Wellengeschwindigkeit steigen. Wie bereits betrachtet zeigen die Hexamere einen Anstieg mit einem anschließenden Plateau. Die Tetramere zeigen mit Ausnahme der Probe mit 1.200 m/s einen ähnlichen Verlauf. Die Oktamere hingegen weisen einen Abfall der Unterschiede mit steigender Wellengeschwindigkeit auf. Dieser Verlauf kann über die Gleichungen nicht erklärt werden, zeigt aber, dass ein sinnvoller Kompromiss der Wellengeschwindigkeiten für eine Mischung von Oligomeren mit verschiedenen Kettenlängen gefunden werden muss.

4.2.4. Variation der Monomere

Im Folgenden wird die Anwendbarkeit der Methode auf verschiedene Monomersysteme getestet. Dazu sind zwei verschiedene Messreihen aus Tetrameren und Hexameren genutzt worden. Die erste Reihe besteht aus den Proben MP-1 und MP-6. Beide Kettenlängen werden erneut mit alternierender Sequenz (MP-A1 und MP-A6) und blockartiger Sequenz (MP-B1 und MP-B6) gemessen (Abbildung 55 und Abbildung 56).

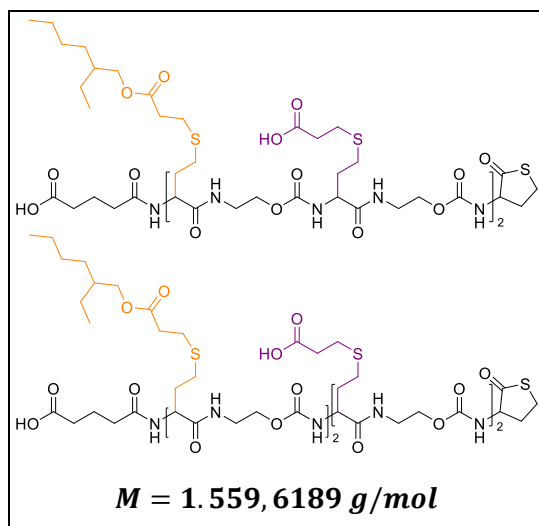


Abbildung 55: Proben MP-A1 (oben) und MP-B1 (unten) und ihre Masse.

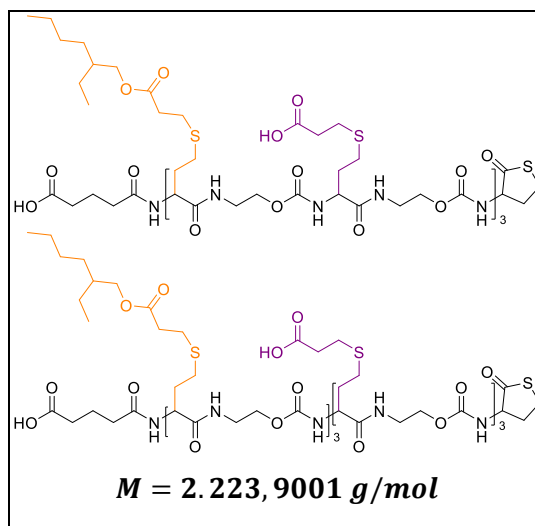


Abbildung 56: Proben MP-A6 (oben) und MP-B6 (unten) und ihre Masse.

Für diese Proben ist bereits auffällig, dass die Intensität des blockartigen Oligomers für alle Messungen größer ist. Ausnahme davon ist die Messung mit der Wellengeschwindigkeit von 300 m/s (Abbildung 57). Diese hat für das Hexamer MP-A6 eine höhere Intensität als das blockartige Isomer, während die Intensitäten der Tetramere für diese Wellengeschwindigkeit identisch sind. Für beide Kettenlängen fällt auf, dass die Intensität der Proben mit der Wellengeschwindigkeit abnimmt, wie bereits bei den vorherigen Proben beobachtet. Grundsätzlich kann vermutet werden, dass die blockartige Sequenz besser ionisierbar ist als die alternierende.

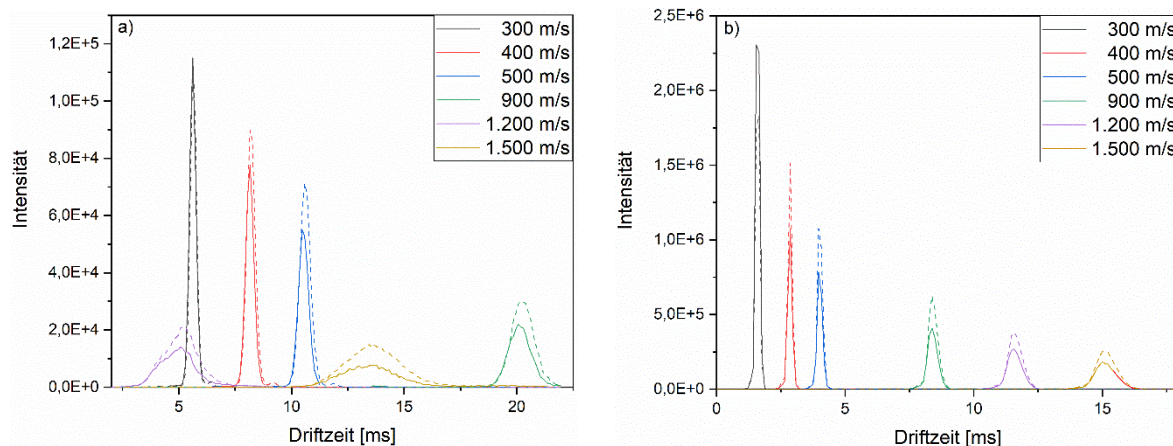


Abbildung 57: Driftzeitverteilungen der Proben MP-A1 (durchgezogene Linie) und MP-B1 (gestrichelte Linie) (a) und der Proben MP-A6 (durchgezogene Linie) und MP-B6 (gestrichelte Linie) (b) mit verschiedenen Wellengeschwindigkeiten.

Auch diese Messungen wurden als Dreifachbestimmung gemessen, sodass die Auswertung der Driftzeitunterschiede mit entsprechendem Fehler gezeigt werden kann (Abbildung 58). Auch für diese Monomere ist ein Anstieg der Driftzeitdifferenzen mit der Wellengeschwindigkeit zu erkennen. Beide Kettenlängen zeigen einen linearen Verlauf, wobei die Steigung des Hexamers deutlich geringer ausfällt, sodass für die Tetramere ein

Unterschied von etwa 0,23 ms erreicht werden kann, während für die Hexamere maximal 0,03 ms erreicht werden. Auch hier lässt sich beobachten, dass die Fehler der Messungen mit steigender Wellengeschwindigkeit deutlich zunehmen.

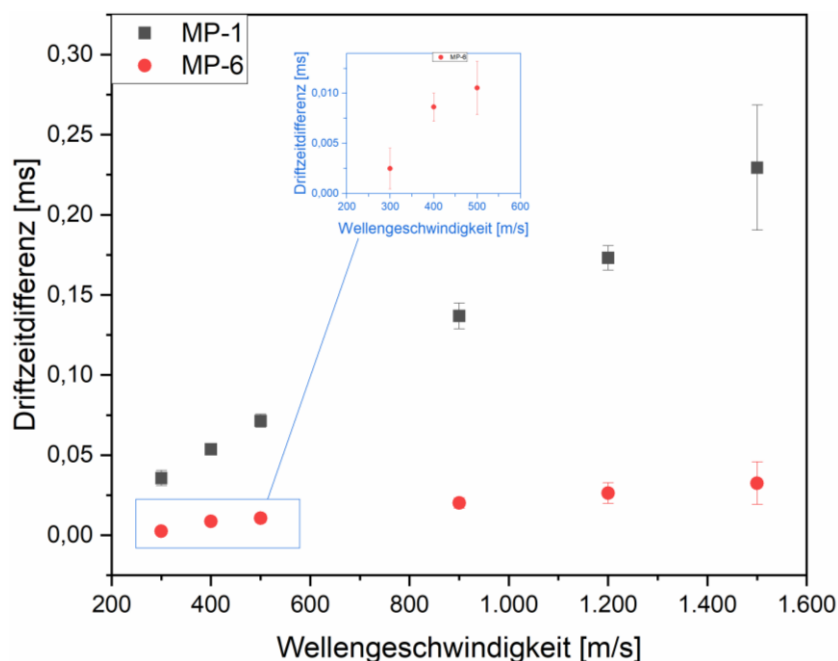


Abbildung 58: Driftzeitdifferenzen der Proben MP-1 und MP-6 in Abhängigkeit von der Wellengeschwindigkeit in der IMS-Zelle.

Die zweite untersuchte Testreihe besteht aus den Proben MP-2 und MP-4 (Abbildung 59 und Abbildung 60). Auch hier werden jeweils die alternierenden (MP-A2 und MP-A4) und blockartigen (MP-B2 und MP-B4) Proben als Tetramere und Hexamere untersucht. Ähnlich zu den Proben MP-1 und MP-6 weist auch hier eins der Monomere eine Säuregruppe in der Seitenkette auf, während das zweite Monomer eine unpolare Seitenkette besitzt. In diesem Fall endet die Seitenkette mit einem sterisch anspruchsvollen Kampfer-Derivat. Der deutliche Unterschied in Polarität und räumlichen Anspruch könnte auch zu einem Unterschied in den Formen der Ionen der alternierenden und blockartigen Sequenzen führen.

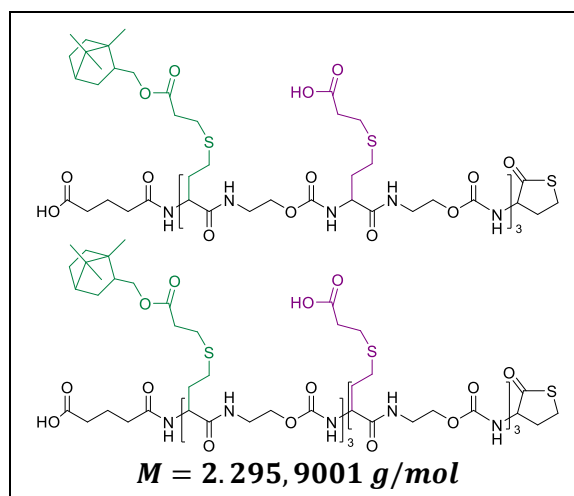
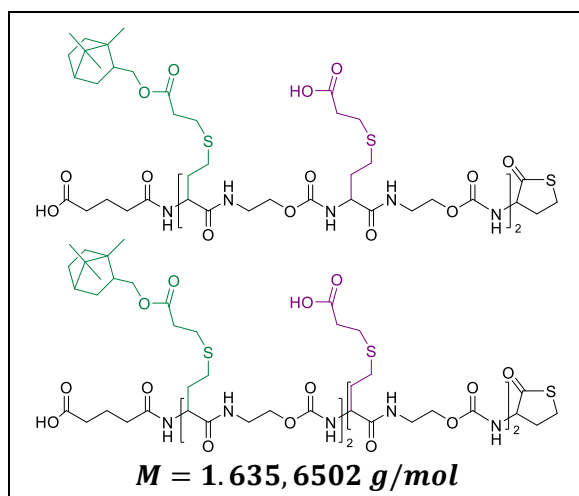


Abbildung 59: Proben MP-A2 (oben) und MP-B2 (unten) und ihre Masse.

Abbildung 60: Proben MP-A4 (oben) und MP-B4 (unten) und ihre Masse.

Auch hier werden zunächst die Verteilungen der Driftzeiten beider Isomerenpaare betrachtet (Abbildung 61 A und B). Die Tetramere zeigen wie die vorherigen Proben, einen Intensitätsunterschied zwischen dem Isomer mit alternierender Sequenz und dem mit blockartiger Sequenz. Erneut ist die Intensität des blockartigen Isomers erhöht. Die Hexamere zeigen diesen Unterschied auch, wobei hier das alternierende Isomer die höhere Intensität aufweist.

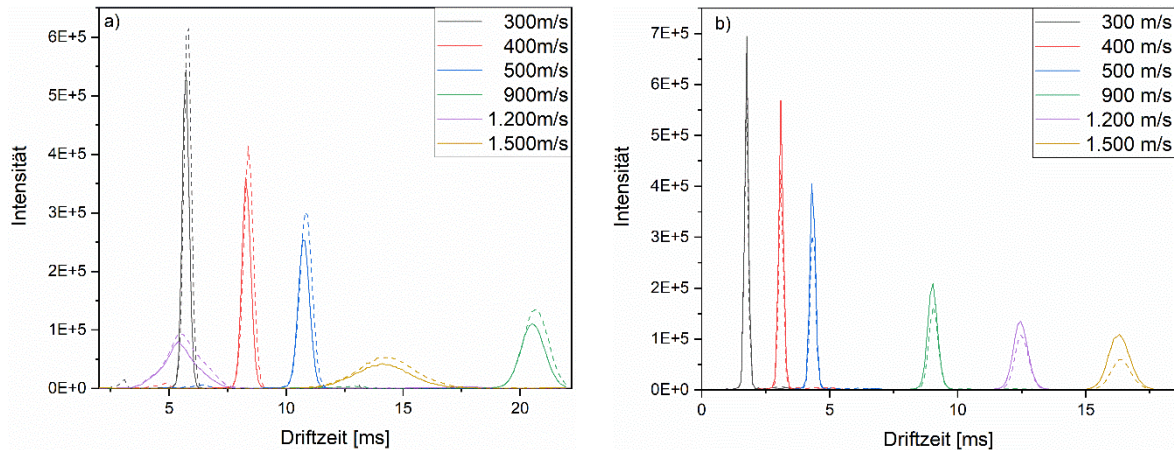


Abbildung 61: Driftzeitverteilungen der Proben MP-A2 (durchgezogene Linie) und MP-B2 (gestrichelte Linie) (a) und der Proben MP-A4 (durchgezogene Linie) und MP-B4 (gestrichelte Linie) (b) mit verschiedenen Wellengeschwindigkeiten.

An dieser Stelle kann vermutet werden, dass die Intensitätsunterschiede nicht auf der Ionisierbarkeit beider Isomere beruhen, sondern durch leichte Konzentrationsunterschiede der Messlösung hervorgerufen werden. Auch fällt erneut der Abfall der Intensitäten mit steigender Wellengeschwindigkeit für beide Isomerenpaare auf.

Die Berechnung der Driftzeitdifferenzen erfolgt auch hier mit einer Fehlerbestimmung anhand aller drei Messungen für jede Wellengeschwindigkeit (Abbildung 62). Auch hier sind die Differenzen der kürzeren Ketten größer als die der Hexamere. Beide Proben folgen grob einem linearen Trend, wobei für diese Proben die Steigung beider Geraden ähnlich ist. Auffällig sind die großen Fehlerbereiche für die Hexamere für kleine Wellengeschwindigkeiten von 300 und 400 m/s, während die Tetramere dem bisherigen Trend von steigenden Fehlern mit höheren Wellengeschwindigkeiten folgen.

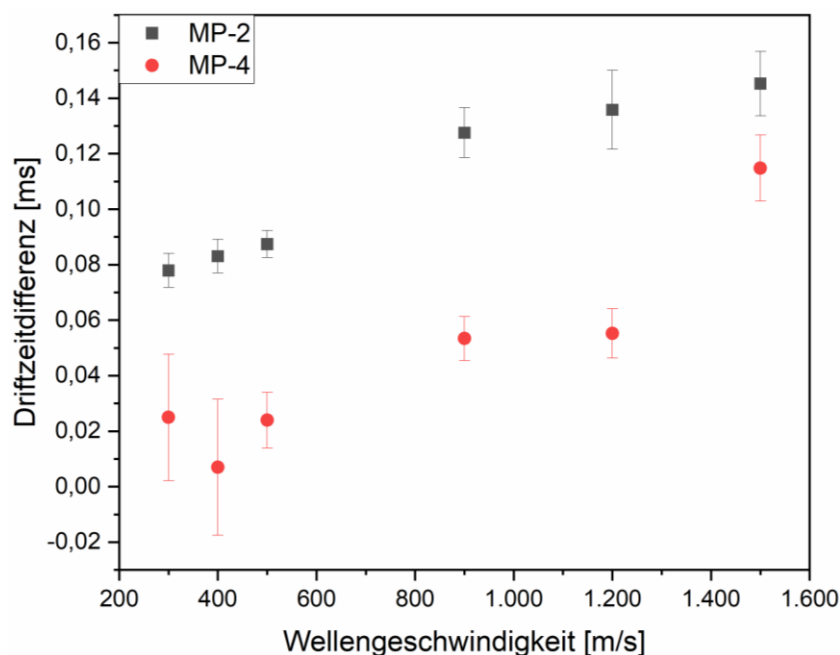


Abbildung 62: Driftzeitdifferenzen der Proben MP-2 und MP-4 in Abhängigkeit von der Wellengeschwindigkeit in der IMS-Zelle.

4.2.5. Einfluss von Stereoinformationen in den Oligomeren

Die meisten im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Oligomere wurden mit racemischem Thiolacton hergestellt. Für ein Tetramer mit vier Monomereinheiten bedeutet das, dass das Molekül fünf nicht definierte Stereozentren aufweist. Daher ist in einer solchen Probe eine Mischung aus 32 Stereoisomeren vertreten. Im Folgenden soll untersucht werden, ob diese Variation aus Stereoisomeren einen Einfluss auf die IMS-Trennung zeigt. Dazu wurden die Proben MP-A2, MP-B2, MP-A3, MP-B3, MP-A5 und MP-B5 untersucht. Diese Proben sind aus den gleichen Monomereinheiten aufgebaut und unterscheiden sich nur in der Stereoinformation des genutzten Thiolactons. Die Proben MP-2 wurden mit dem racemischen Thiolacton hergestellt, während MP-3 mit *R*-Thiolacton (*R*-Tla) und MP-5 mit *S*-Thiolacton (*S*-Tla) hergestellt wurden.

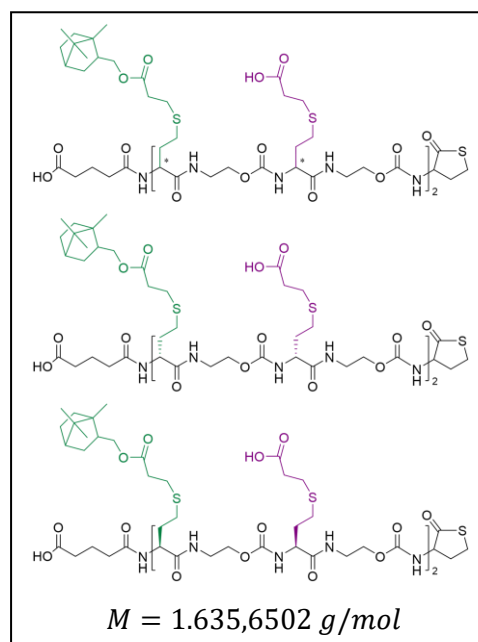


Abbildung 63: exemplarische Strukturen der Stereoisomere: MP-B2 (oben), MP-B3 (mitte) und MP-B5 (unten) sowie deren Masse.

Zunächst wird die Breite der Driftzeitverteilung der Proben exemplarisch an einer Messung mit einer Wellengeschwindigkeit von 500 m/s verglichen (Abbildung 64). Der Vergleich zeigt, dass im Falle der alternierenden Proben (Abbildung 64 a) die beiden Isomeren-reinen Proben im Vergleich zu der racemischen Probe zu kürzeren (*S*-Tla) bzw. längeren (*R*-Tla) Driftzeiten verschoben sind. Die Breite der Verteilungen bleibt davon unbeeinflusst. Für die blockartigen

Strukturen (Abbildung 64 b) lassen sich für beide Isomeren-reinen Strukturen kürzere Driftzeiten als für die racemische Probe beobachten. Auch hier zeigt sich keine Veränderung der Breite der Verteilung.

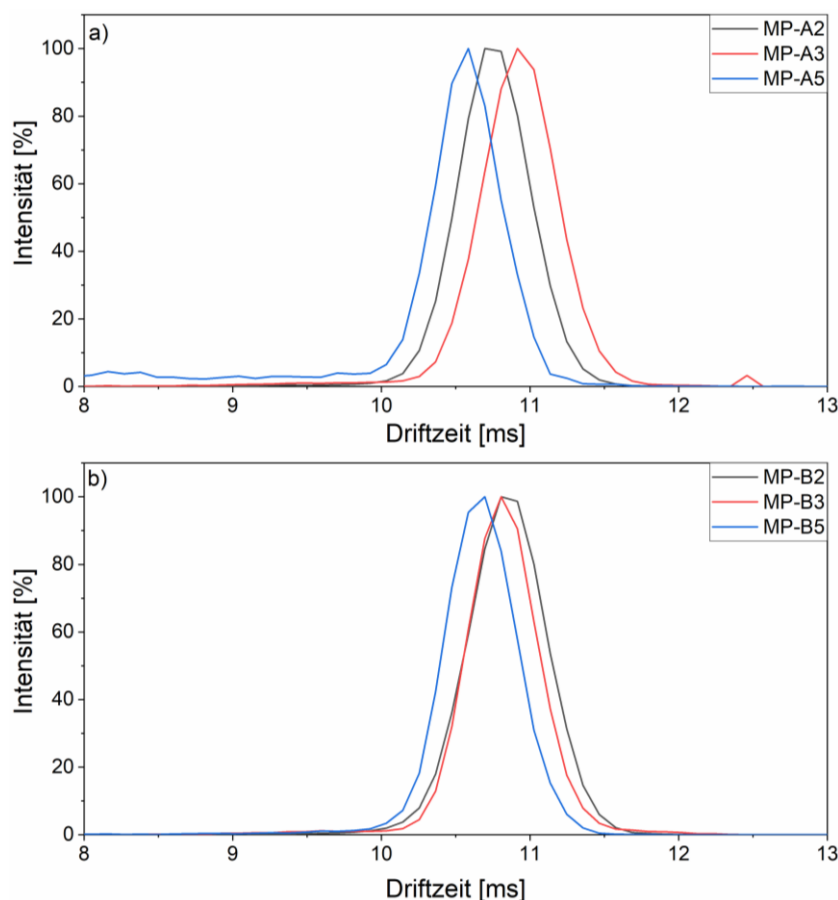


Abbildung 64: Driftzeitverteilung der Proben MP-2, MP-3 und MP-5 mit alternierender Reihenfolge der Monomere (a) und blockartiger Reihenfolge (b) gemessen mit einer Wellengeschwindigkeit von 500 m/s.

Auch diese Proben wurden mit verschiedenen Wellengeschwindigkeiten in der IMS-Zelle gemessen. Der Vergleich aller Driftzeiten zeigt für alle den gleichen linearen Trend (Abbildung 65). Die Driftzeiten der Messungen mit den Wellengeschwindigkeiten 1.200 m/s und 1.500 m/s müssen dabei korrigiert werden, da die Proben länger als die 20 ms des Messfensters in der Zelle verbleiben. Es lassen sich auch in dieser Abbildung leichte Unterschiede zwischen den Stereoisomeren erkennen, welche mit steigender Wellengeschwindigkeiten auffällender werden.

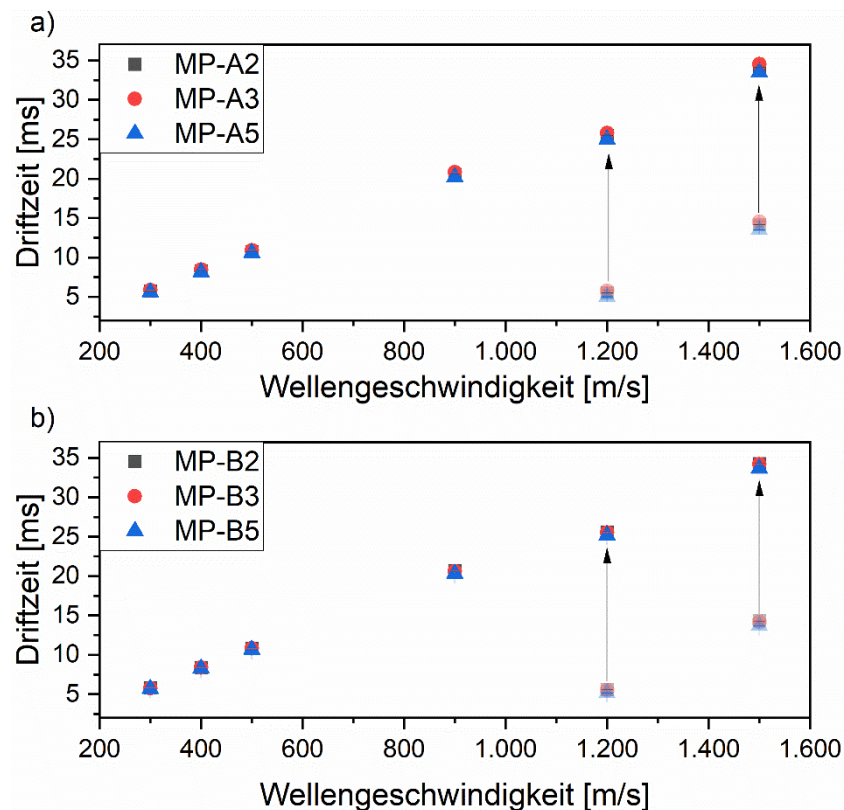


Abbildung 65: Driftzeiten der Proben MP-2, MP-3 und MP-5 mit alternierender (a) und blockartiger (b) Reihenfolge der Monomere für verschiedene Wellengeschwindigkeiten mit Dreifachbestimmung. Korrektur der Driftzeiten für 1.200 und 1.500 m/s (transparente Symbole unkorrigiert).

Erst der Vergleich der Differenzen zwischen den Sequenzisomeren der Proben zeigt Unterschiede zwischen den Stereoisomeren. Für die Probe mit *R*-Tla zeigt sich ein klarer linearer Trend der Zunahme der Driftzeitunterschiede. Während auch die anderen beiden Proben einen annähernd linearen Trend aufweisen, ist die Steigung der *R*-Tla Proben deutlich größer und zeigt im Bereich höherer Wellengeschwindigkeiten kleinere Fehler als die *S*-Tla Proben. Die Stereoinformation innerhalb der Tetramere scheint daher einen Einfluss auf die globale Struktur der Ionen in der IMS-Zelle aufzuweisen. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass auch die Unterscheidung von *R*-Tla und *S*-Tla Proben mit der IMS möglich ist. Um dies allgemein gültig belegen zu können, müssten weitere Messungen mit Stereoisomeren mit verschiedenen Monomeren und Kettenlängen durchgeführt werden.

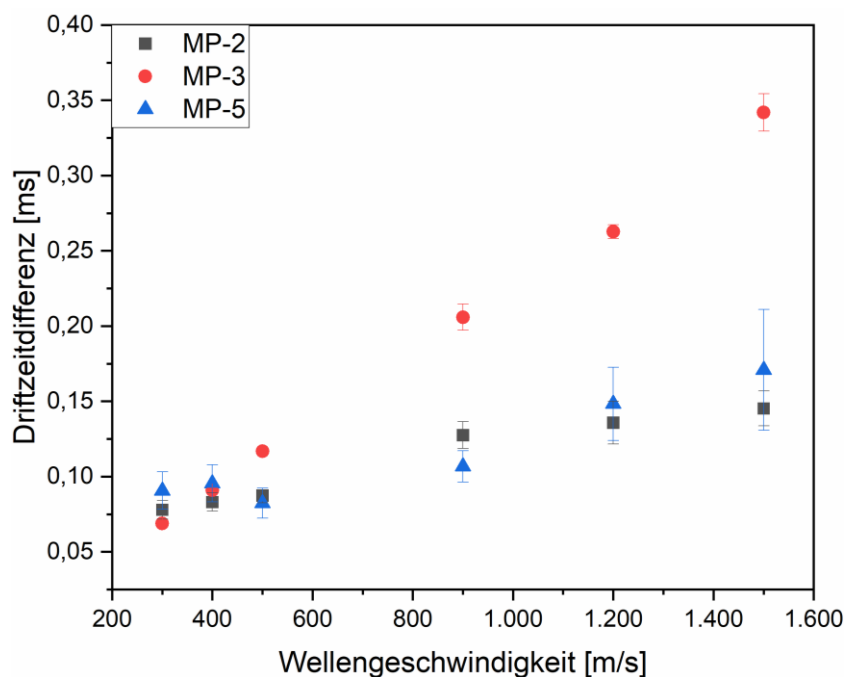


Abbildung 66: Driftzeitdifferenzen der Sequenzisomere der Proben MP-2, MP-3 und MP-5 für verschiedene Wellengeschwindigkeiten in der IMS-Zelle mit dreifach Bestimmung.

Ein solcher Test wurde mit den Monomeren MP-MS und MP-MR durchgeführt. Diese Monomere unterscheiden sich nur im Stereozentrum im Rückgrad der Struktur. Aufgrund des Stereozentrums in der Seitenkette des Monomers handelt es sich bei den Proben um Diastereomere. Die Messungen wurden mit Natriumiodid und den sechs verschiedenen Wellen-geschwindigkeiten in einer Dreifachbestimmung durchgeführt. Der erste Vergleich einer Messung jeder Einstellung zeigt wie alle Proben bisher einen Abfall der Intensität mit steigender Wellengeschwindigkeit, die Intensitätsunterschiede zwischen den Monomeren sind nicht stark ausgeprägt (Abbildung 68).

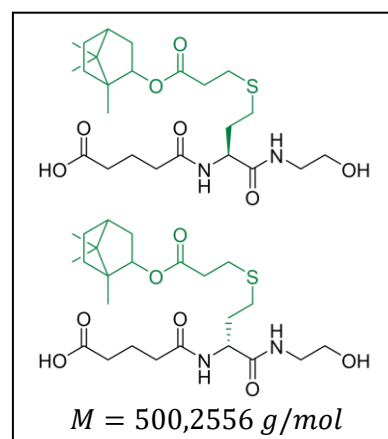


Abbildung 67: Strukturen der Monomere MP-MS (oben) und MP-MR (unten) und ihre Masse.

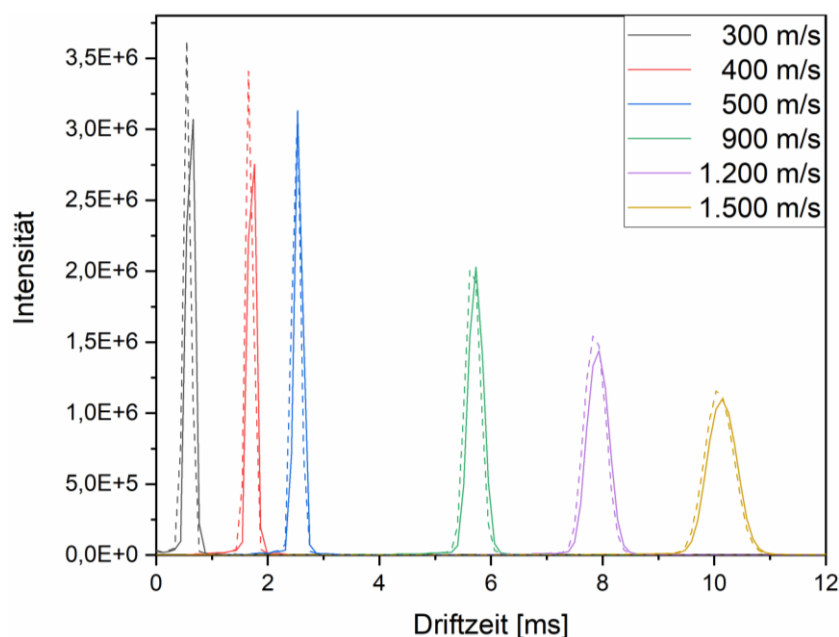


Abbildung 68: Driftzeitverteilungen der Monomere MP-MR (durchgezogene Linie) und MP-MS (gestrichelte Linie) mit verschiedenen Wellengeschwindigkeiten in der IMS-Zelle.

Auf den ersten Blick sind bereits Unterschiede zwischen den beiden Isomeren zu erkennen. Bei Auswertung der drei Messungen und Berechnung der Differenzen mit Fehlern zeigt sich allerdings eine große Abweichung innerhalb der Messungen und damit auch in den berechneten Differenzen (Abbildung 69). Dies weist darauf hin, dass die Ketten entweder zu kurz für eine Unterscheidung oder die Stereoinformation als einziger Unterschied der Strukturen zu wenig für eine Trennung sind.

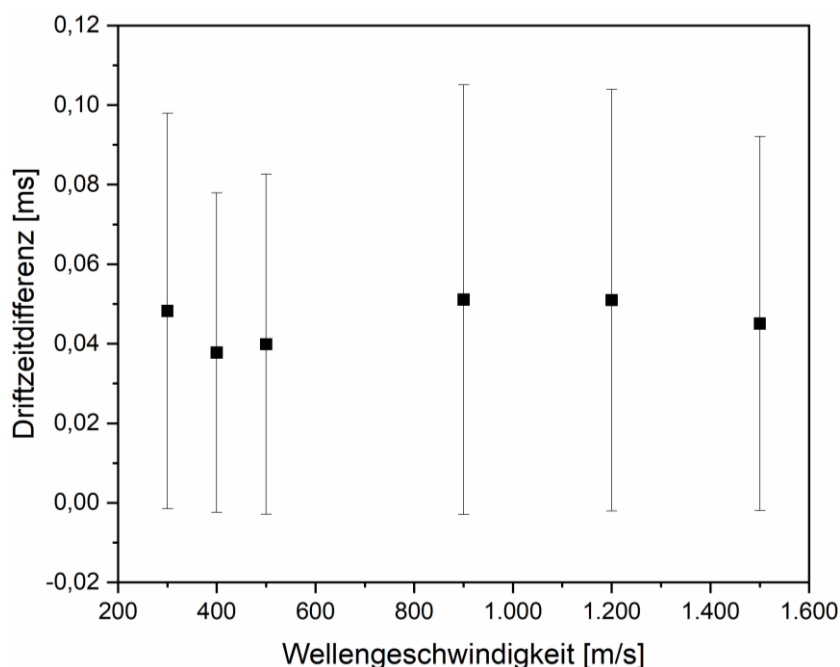


Abbildung 69: Driftzeitdifferenzen der Monomere MP-MS und MP-MR in Abhängigkeit von der Wellengeschwindigkeit in der IMS-Zelle.

4.2.6. Vergleich der Monomersysteme

Alle bisher diskutierten Ergebnisse für die einzelnen Isomerenpaare sollen im Folgenden miteinander ins Verhältnis gesetzt werden. Viele Proben zeigen für höhere Wellengeschwindigkeiten geringere Intensitäten in der Driftzeitverteilung und steigende Fehler in wiederholten Versuchen. Bei Betrachtung der Verteilungen aller Proben fällt auf, dass die Breite der Verteilung mit höheren Wellengeschwindigkeiten zunimmt. Dieser Umstand kann durch den steigenden Einfluss von Diffusionsvorgängen bei geringeren Driftgeschwindigkeiten der Ionen erklärt werden. Dies ist gleichzeitig auch ein möglicher Grund für die Abnahme der Intensität. Während die Breite der Peaks zunimmt, nimmt die Höhe ab, was formal die Abnahme der Intensität nahelegt. Die Fläche unter dem Peak bleibt dabei allerdings vergleichbar. Es handelt sich also nicht um einen tatsächlichen Intensitätsverlust. Dennoch kann diese Peakverbreiterung dazu führen, dass die Peakauflösung auf Grund von schlechtem Signal-Rausch-Verhältnis abnimmt. Weiterhin kann die Peakverbreiterung und damit die Signalabnahme auch der Grund für die steigenden Fehler der Messungen sein.

Um die Effizienz der IMS für die verschiedenen Monomersysteme vergleichen zu können, werden in Tabelle 19 die Steigungen der Ausgleichsgerade für die Differenzen zwischen den Driftzeiten der Isomere, deren Fehler und die maximal erreichte Differenz der Driftzeiten zusammengefasst.

Tabelle 19: Vergleich der Isomerenpaare in ihrer Steigung, der Genauigkeit der Ausgleichsgeraden und der maximal erreichten Driftzeitdifferenz.

Probensystem	Steigung	R ²	Max. Differenz [ms]
MP-1	$1,55 \cdot 10^{-4}$	0,9960	0,22
MP-6	$2,57 \cdot 10^{-5}$	0,9315	0,03
MP-2	$6,37 \cdot 10^{-5}$	0,9511	0,15
MP-3	$2,20 \cdot 10^{-4}$	0,9974	0,34
MP-5	$5,17 \cdot 10^{-5}$	0,6914	0,17
MP-4	$7,23 \cdot 10^{-5}$	0,8117	0,11
MP-M	$5,67 \cdot 10^{-6}$	0,2248	0,05
B ₃ T ₃ /BT ₃	$1,16 \cdot 10^{-4}$	0,92931	0,16
B ₂ T ₂ /BT ₂	Kein linearer Verlauf		0,21
B ₄ T ₄ /BT ₄	Kein linearer Verlauf		0,18

Auffällig ist, dass das erste System (BT₂ bis BT₄ bzw. B₂T₂ bis B₄T₄) die höchsten Differenzen zeigt. Dabei sind die Tetramere und Oktamere dieser Probe die einzigen Proben, welche nicht annähernd einem linearen Verlauf folgen. Auch die Hexamere dieser Probe zeigen mit einer Geradengenauigkeit von etwa 0,93 und dem beobachteten Verhalten nicht einen klassischen

Geradenverlauf. Viele der anderen Isomerenpaare zeigen auch Genauigkeiten unter 0,99 und damit eigentlich keinen Geradenverlauf. In den meisten Fällen ist dies allerdings durch einzelne Ausrutscher zu erklären. Gleichzeitig wurde die Regression mit Gewichtung durchgeführt, sodass der Fehler der einzelnen Messpunkte in die Genauigkeit der Gerade aufgenommen wird. Für alle Systeme kann beobachtet werden, dass die Differenzen der Tetramere im Vergleich mit den Hexameren größer sind. Besonders auffällig ist dieser Unterschied für die Proben MP-1 und MP-6. Da die Tetramere die einzigen Oligomere sind, welche mit einer Einfachladung gemessen werden konnten, könnte dieser Unterschied darauf zurückzuführen sein. Im Vergleich der Stereoisomerenpaare untereinander fällt auf, dass die Probe MP-5, welche mit *S*-Tla hergestellt wurde, sehr ähnliche Werte zu den mit dem racemischen Tla hergestellten Proben zeigen. Die mit *R*-Tla hergestellten Proben MP-3 hingegen zeigen die doppelten maximalen Differenzen und auch eine größere Steigung der Werte insgesamt. Diese Ergebnisse können an dieser Stelle nicht erklärt werden.

4.2.7. Messungen mit der Kopplung

Für die Messungen der Oligomere in Mischungen mit der Kopplung müssen in Bezug auf die Wellengeschwindigkeit innerhalb der IMS-Zelle Kompromisse geschlossen werden. Während mit Ausnahme der Oktamere B_4T_4 und BT_4 alle Isomerenpaare steigende Differenzen für höhere Wellengeschwindigkeiten gezeigt haben, sind auch die Fehler in diesen Bereichen deutlich gestiegen. Dennoch ist es nicht sinnvoll die höchsten Wellengeschwindigkeiten zu nutzen, da sich die Verbreiterung der Peaks für hohe Wellengeschwindigkeiten auch auf die Detektierbarkeit der Ionen auswirken kann. Mit Hinblick auf die Oktamere B_4T_4 und BT_4 , welche einen starken Abfall der Differenzen mit steigenden Wellengeschwindigkeit zeigen, wird für die Kopplung eine Wellengeschwindigkeit von 500 m/s gewählt. Diese zeigt für die übrigen Oligomeren erkennbare Differenzen und kleine Fehlerbereiche. Die Kopplung wird mit einer Flussgeschwindigkeit von 0,7 ml/min an der APC Pumpe durchgeführt. Der Fluss wird mit einem T-Stück vor dem RI-Detektor geteilt und mit Kapillaren ein Flussverhältnis von etwa 1:10,5 eingestellt, wobei der größere Teil des Flusses in den RI-Detektor geleitet wird. Das Eluentensystem besteht aus einer Mischung von THF und ACN ($V/V = 7/3$) mit einem Zusatz von Natriumiodid in einer Konzentration von 10 mg/l.

Zunächst werden alle Proben einzeln mit dem Kopplungssystem gemessen. Mit Hilfe der bestimmten Driftzeiten und einer Kalibrierung der IMS mit Polyalanin können für die Oligomere CCS-Werte bestimmt und für ihre Identifizierung genutzt werden. Dazu wird auch das gekoppelte System mit einer Wellengeschwindigkeit von 500 m/s für die Einfach- und die Zweifachladung kalibriert (Abbildung 70).

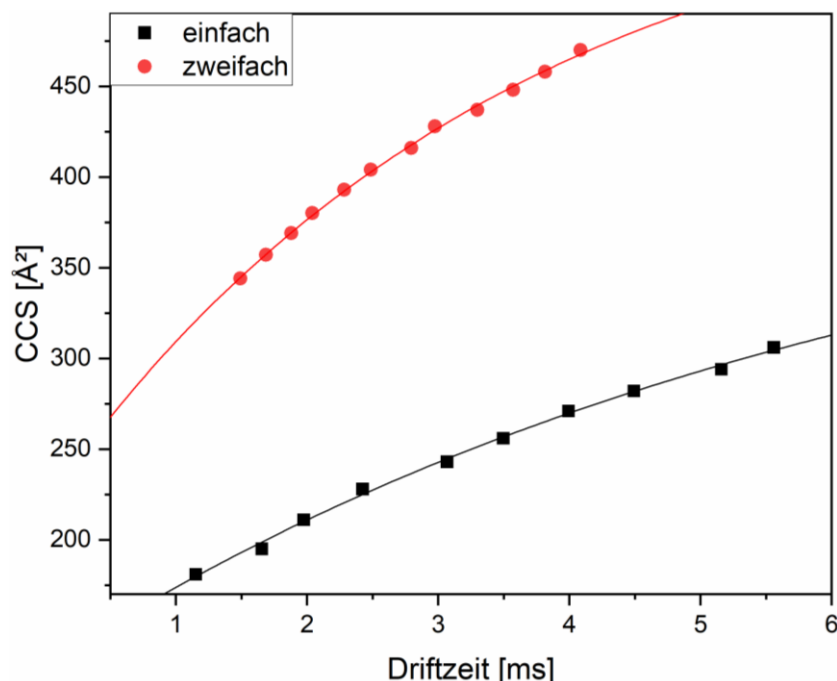


Abbildung 70: Kalibrierung der IMS-Zelle in der Kopplung mit einer Wellengeschwindigkeit von 500 m/s mit Polyalanin in der Einfach- und der Zweifachladung.

Die ersten Kopplungsmessungen wurden mit dem Säulensystem A (Tabelle 5) durchgeführt. Die Proben BT_2 , BT_3 , BT_4 , B_2T_2 , B_3T_3 und B_4T_4 zeigen sehr ähnliche Elutionszeiten in der APC (Abbildung 71 a). Für beide Oktamere ist eine Schulter im Bereich kürzerer Elutionszeiten zu erkennen, während alle Messungen einen systematischen Peak bei größeren Elutionszeiten aufweisen. Dieser letzte Peak ist das Ergebnis der Messung mit einem Lösungsmittelgemisch als Eluentensystem. Beide Lösungsmittel weisen unterschiedliche Dampfdruck auf, sodass sich die Mischungszusammensetzung über die Zeit in der Probe ändert. Es entsteht ein Lösungsmittelpeak in der Messung, dessen Intensität mit der Zeit zunimmt.

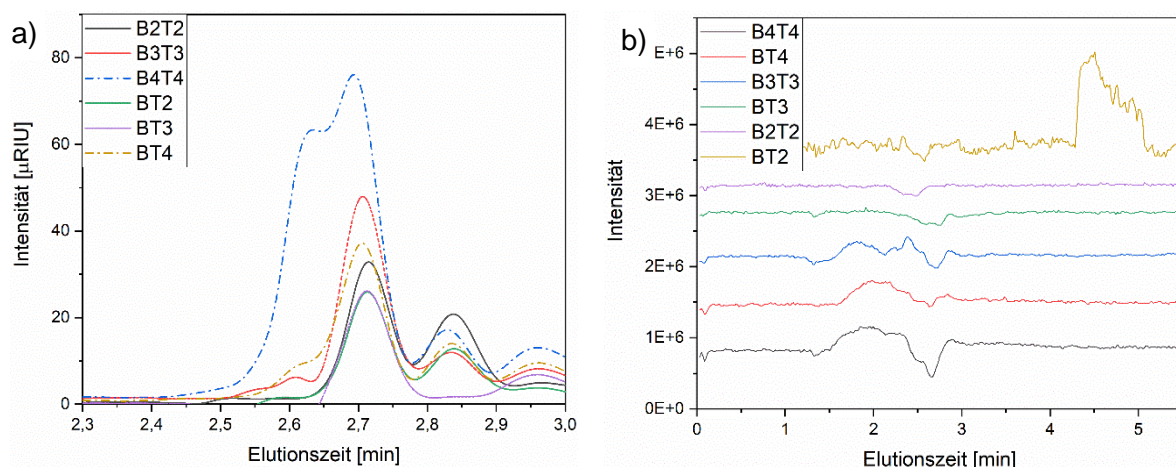


Abbildung 71: RI-Spuren der APC (a) und TICs (b) der Proben BT_2 , BT_3 , BT_4 , B_2T_2 , B_3T_3 und B_4T_4 .

Der TIC der Proben zeigt keine klaren Peaks, die Bereiche des Ausschlags sind grundsätzlich breiter als die Peaks der RI-Spur (Abbildung 71 b).

Die Proben MP-1 und MP-6 zeigen keine zusätzlichen Peaks im hochmolekularen Bereich. Die beiden Hexamere weisen allerdings ein „Durchschwingen“ der Intensität in den negativen Bereich auf (Abbildung 72 a). An dieser Stelle kann dafür keine Erklärung gefunden werden. Möglicherweise kann auch hier die Änderung der Zusammensetzung des Eluenten die Ursache sein.

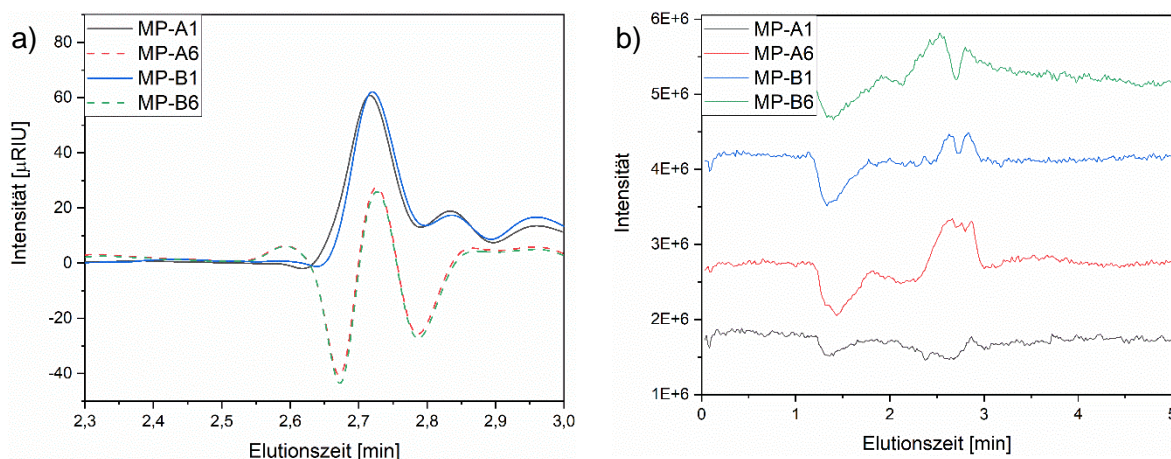


Abbildung 72: RI-Spuren der APC (a) und TICs (b) der Proben MP-A1, MP-B1, MP-A6 und MP-B6.

Der TIC (Abbildung 72 b) der Proben zeigt bessere Signalintensitäten in dem erwarteten Zeitfenster, sodass hier die Anwesenheit der Probe leichter zu erkennen ist. Auch hier lassen sich allerdings noch weitere Einflüsse auf den TIC erkennen.

Die Proben MP-2 und MP-4 weisen in der RI-Spur Peaks mit nur leicht verschobenen Elutionszeiten auf. Der Lösungsmittelpeak ist erneut ab einer Retentionszeit von 2,8 min zu erkennen (Abbildung 73 a). Die TICs dieser Proben zeigen mit Ausnahme der Probe MP-A4 kaum Veränderungen in der Intensität über die Elutionszeit (Abbildung 73 b). Dies erschwert die Identifikation der Probe.

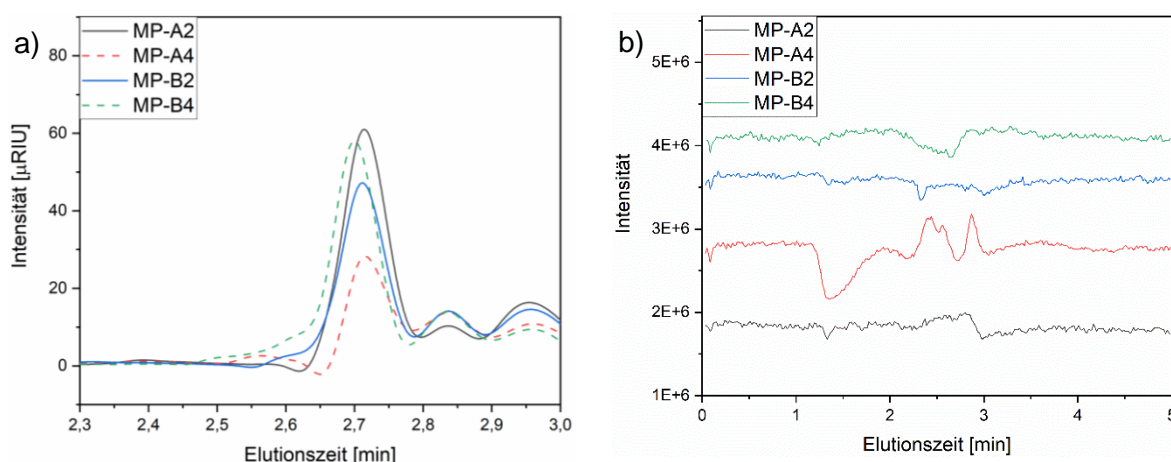


Abbildung 73: RI-Spuren der APC (a) und TICs (b) der Proben MP-A2, MP-B2, MP-A4 und MP-B4.

Auch die Stereoisomere der Probe MP-A2 wurden mit der Kopplung gemessen (Abbildung 74). Hier ist erneut das „Durchschwingen“ des Signals in den negativen Bereich in der RI-Spur der Proben MP-5 zu erkennen. Die Proben MP-3 weisen im Vergleich zu MP-5 deutlich geringere Intensitäten auf. Die Elutionszeiten der Proben sind wie erwartet sehr ähnlich. Die

TICs dieser Stereoisomeren zeigen deutliche Peaks in dem erwarteten Zeitfenster für alle vier Proben (Abbildung 74 b). Daher ist anzunehmen, dass die fehlenden Ausschläge für die Proben MP-2 nicht vorwiegend mit der Konzentration der Probe zusammenhängen, da im Vergleich der RI-Spuren der Stereoisomere deutlich wird, dass die Konzentration der Probe MP-2 zwischen denen der Proben MP-3 und MP-5 liegt. Daher wäre auch für den Verlauf der TICs zu erwarten, dass die Intensitäten der Peaks diese Verhältnisse widerspiegeln, wenn ein Zusammenhang zwischen Konzentration und TIC-Intensität vorliegt.

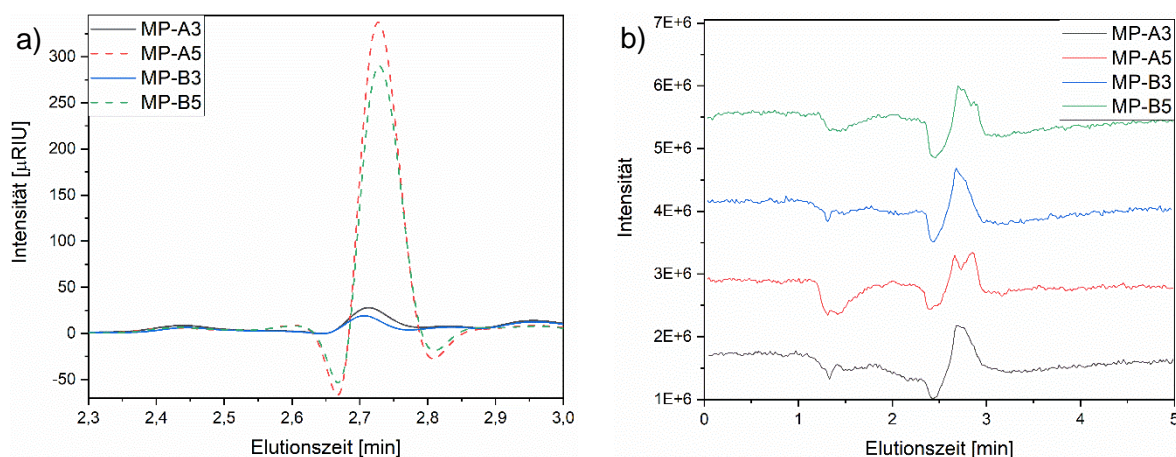


Abbildung 74: RI-Spuren (a) und TICs (b) der Proben MP-A3, MP-B3, MP-A5 und MP-B5.

Als letzte Proben wurde die Monomere MP-MS und MP-MR auf diesem System gemessen (Abbildung 75). Erneut zeigen sich negative Bereiche in der RI-Spur, wobei kein nachfolgender Lösungsmittelpeak zu beobachten ist. Der TIC beider Proben zeigt deutlich die Ausbildung von zwei Peaks, welche basisliniengetreunt vorliegen. Nur der erste Peak enthält dabei die Monomere MP-MR und MP-MS.

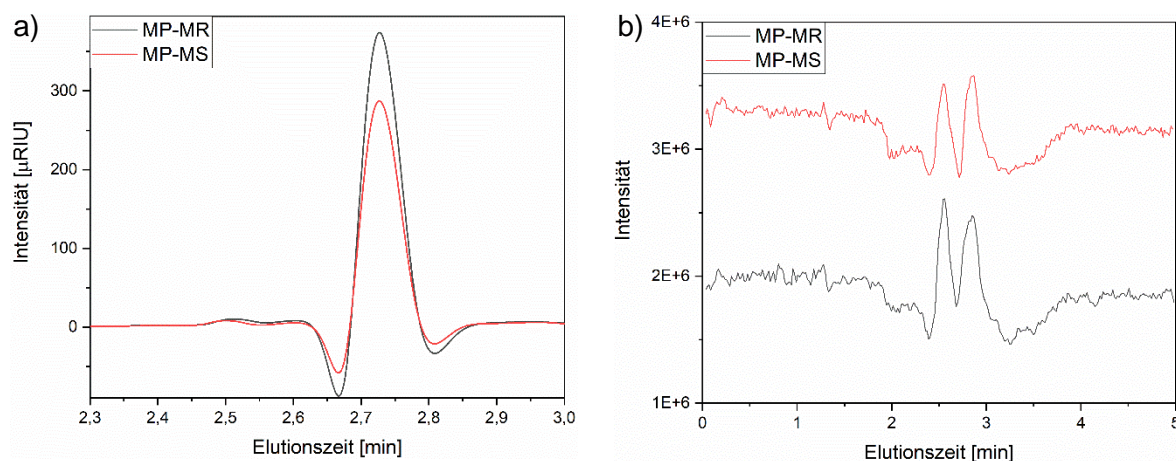


Abbildung 75: RI-Spuren (a) und TICs (b) der Proben MP-MR und MP-MS.

Für alle Proben kann die Driftzeit in der Messung mit dem gekoppelten System ermittelt werden und mit Hilfe der Kalibrierung (Abbildung 70) in CCS-Werte umgerechnet werden. Diese können in späteren Messungen zur Identifizierung der Oligomere genutzt werden.

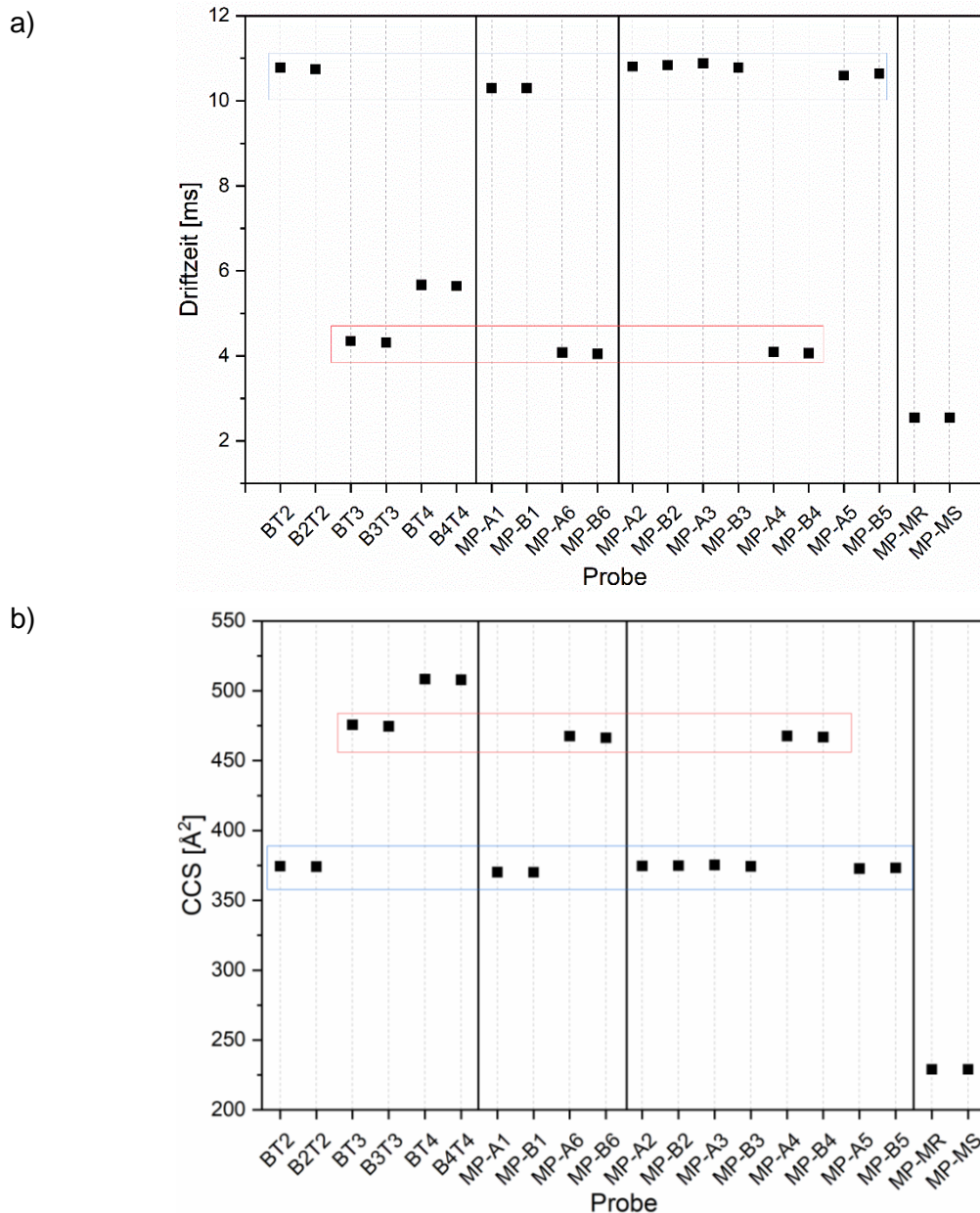


Abbildung 76: Sammlung der Driftzeiten (a) und CCS-Werte (b) aller Proben in den Messungen mit dem gekoppelten System. Bereiche der Hexamere (roter Kasten) und Tetramere (blauer Kasten) sind gekennzeichnet.

Sowohl in den Driftzeiten der Proben als auch ihren CCS-Werten (Abbildung 76 a und b) ist zu erkennen, dass die Oligomere mit der gleichen Kettenlängen in ähnlichen Bereichen liegen. Es sind dabei leichte Unterschiede zu erkennen.

Im Folgenden wird das System mit vier Mischungen getestet. Der Mix A besteht aus drei Oligomeren mit verschiedenen Kettenlängen. Die RI-Spur dieser Mischung zeigt deutlich zwei Peakbereiche, wobei der zweite Peak (ab 2,6 min Abbildung 77 a) im Bereich des Lösungsmittelpeaks liegt, und daher nicht probenspezifisch ist. An dem Probenpeak lässt sich kein Indiz für eine Mischung feststellen, der Peak ist monomodal mit einem kleinen Tailing.

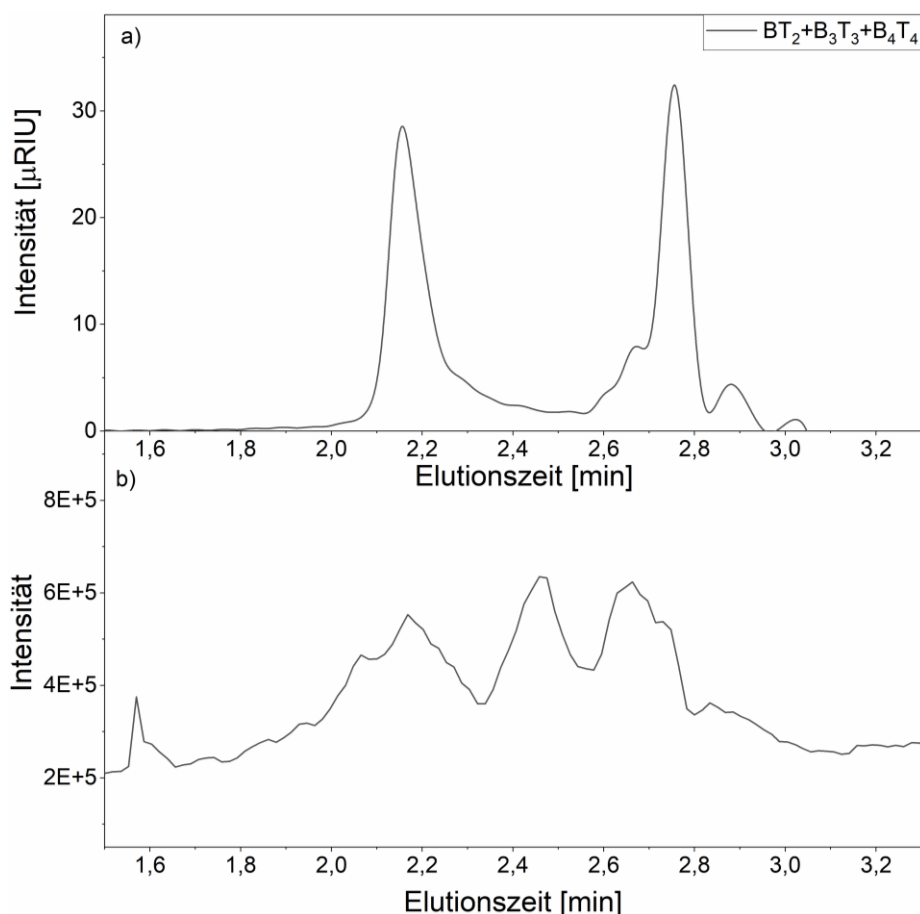


Abbildung 77: RI-Spur der Mischung von Mix A (a) und TIC (b) der Mischung.

Der TIC (Abbildung 77 b) der Mischung zeigt mehrere Peaks, wobei auch hier nur einer tatsächlich der Probe zugehörig ist, was sich durch Vergleich der Elutionszeiten in der RI-Spur und dem TIC feststellen lässt. Dieser Peak allerdings lässt zumindest eine Mischung verschiedener Proben vermuten.

Aus dem Massespektrum und dem IMS-Spektrum des ersten TIC-Peaks lassen sich die Driftzeiten der drei Proben isolieren. Ein Abgleich der daraus berechneten CCS-Werte mit den Einzelmessungen zeigt gute Übereinstimmungen. Die Abweichung ist dabei für das Oktamer am größten mit 1,3 %. Der Grund für die Abweichungen sind leichte Unterschiede in den Driftzeiten. Diese sind ausgeprägter, umso mehr Zeit zwischen Kalibrierung des Systems und der Messung der Proben vergeht.

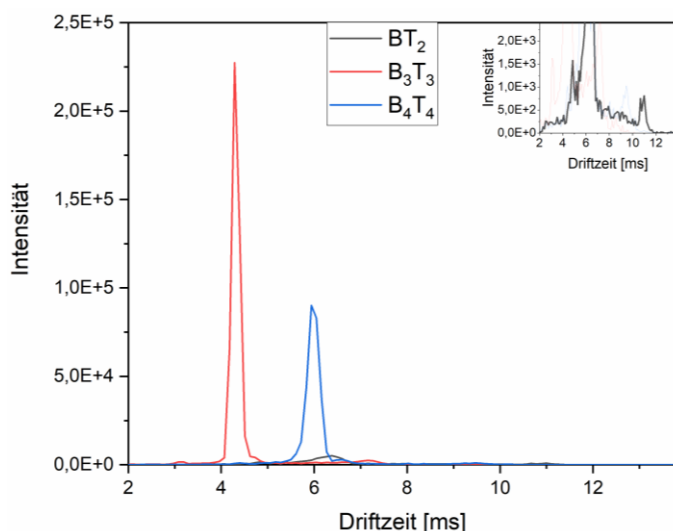


Tabelle 20: CCS-Werte aus den Einzelmessungen Mix A im Vergleich.

Probe	CCS einzeln [Å²]	CCS Mischung [Å²]
BT₂	374,45	375,40
B₃T₃	474,58	474,58
B₄T₄	507,94	514,53

Abbildung 78: Driftzeitverteilungen der Komponenten der Mischung Mix A.

Die zweite getestete Mischung, Mix B, besteht aus den Proben MP-A2 und MP-A4. Auch dieses Chromatogramm (Abbildung 79 a) zeigt keine deutlichen Zeichen einer mehr Komponenten Probe. Der Peak zeigt eine Schulter im Bereich kürzerer Elutionszeiten, aber keine zwei Peakspitzen oder getrennte Peaks, wie erwartet wäre.

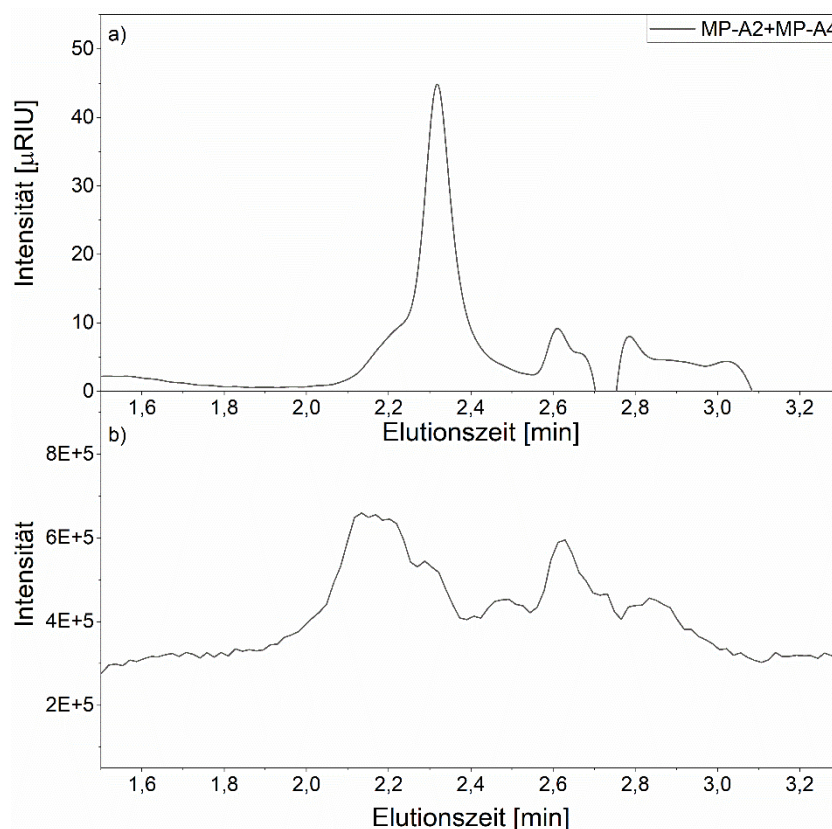


Abbildung 79: RI-Spur der Mischung Mix B (a) und TIC (b) der Mischung.

Der TIC der Mischung zeigt hingegen in dem entsprechenden Zeitfenster (2,0 bis 2,4 min Abbildung 79 b) zwei Peakspitzen, wobei hier der Peak des Hexamers (2,0-2,2 min) intensiver erscheint als der des Tetramers. In dem Chromatogramm des RI-Detektors, ist das Hexamer nur in der Schulter zu erahnen. Erneut werden aus den beiden Ausschlägen des TIC die

Driftzeiten der Komponenten isoliert (Abbildung 80) und in CCS-Werte umgerechnet (Tabelle 21).

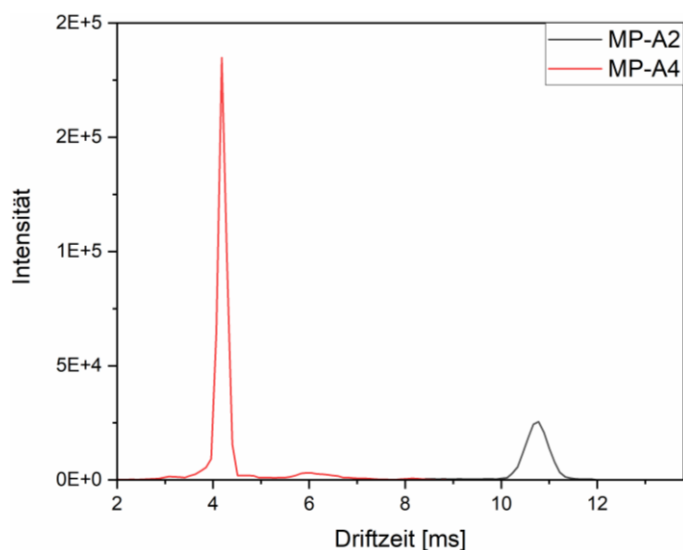


Abbildung 80: Driftzeitverteilungen der Komponenten der Mischung aus Mix B.

Tabelle 21: CCS-Werte aus den Einzelmessungen und Mix B im Vergleich.

Probe	CCS einzeln [Å²]	CCS Mischung [Å²]
MP-A2	374,69	374,11
MP-A4	467,72	459,75

Auch hier lassen sich geringe Unterschiede zwischen den beiden Werten feststellen. Der größere Unterschied ist bei dem Hexamer festzustellen (1,7 %), wobei auch hier das Tetramer die geringere Intensität in der Driftzeitverteilung aufweist.

Der Mix C besteht aus Oligomeren mit unterschiedlichen Kettenlängen und Monomerkombinationen. Die Proben MP-B2, MP-A1, MP-A4 und BT₃ werden mit gleicher Konzentration vermischt. Die RI-Spur dieser Mischung zeigt deutlich an, dass mindestens zwei Komponenten in der Mischung vorhanden sind (Abbildung 81 a). Dabei gibt es keine Schulter, oder Tailing, welche auf die anderen beiden Komponenten hinweisen. Der TIC dieser Mischung zeigt viele Peaks, wobei nicht alle in dem Zeitfenster der Probenelution liegen.

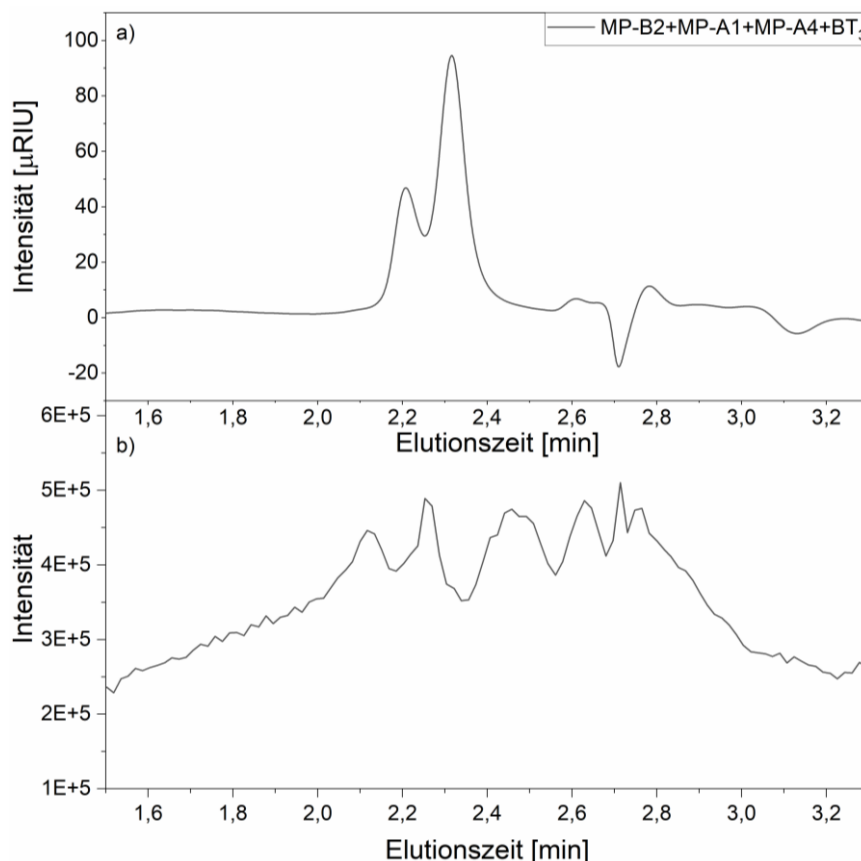


Abbildung 81: RI-Spur der Mischung Mix C (a) sowie der TIC dieser Mischung (b).

Das Extrahieren der SEPs der Komponenten zeigt, dass die Mischungskomponenten nicht die Ursache für die meisten der beobachteten Peaks sind (Abbildung 82 a). Zusätzlich lässt sich feststellen, dass kein direkter Zusammenhang zwischen den Intensitäten der Komponenten und der Kettenlänge besteht. Die Proben MP-B2 und MP-A4, welche die gleiche Monomierzusammensetzung haben, sind insgesamt mit deutlich schlechteren Intensitäten abgebildet.

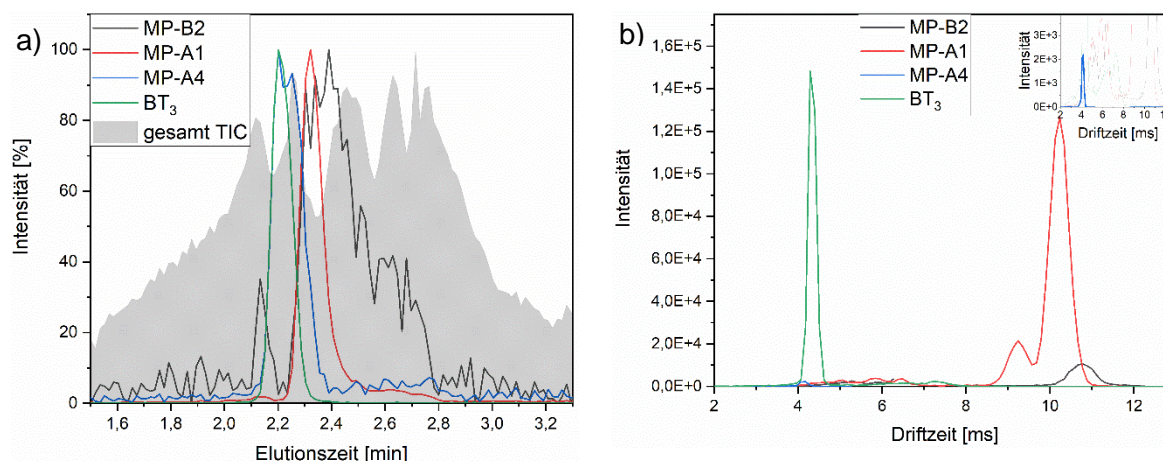


Abbildung 82: SEPs der Komponenten der Mischung Mix C (a) und die Driftzeitverteilungen dieser Mischung (b).

Die Driftzeitverteilung dieser Komponenten spiegelt diese Beobachtung auch wider (Abbildung 82 b). Der Vergleich von den CCS-Werten dieser Mischung mit den Einzelmischungen zeigt hier bis auf die Probe MP-A4 sehr gute Übereinstimmungen (Tabelle 22).

Tabelle 22: CCS-Werte der Komponenten der Mischung aus den Proben MP-B2, MP-A1, MP-A4 und BT₃ aus den Einzelmessungen und der Mischung im Vergleich.

Probe	CCS einzeln [Å²]	CCS Mischung [Å²]
MP-B2	374,90	374,57
MP-A1	370,15	369,43
MP-A4	467,72	459,68
BT₃	475,65	475,42

Im Vergleich der CCS-Werte der Probe MP-A4 aus beiden Mischungen ist ein Unterschied von 0,01 % zu beobachten (Tabelle 21 und Tabelle 22). Dieser sehr geringe Unterschied zeigt, dass auch hier prinzipiell die Bestimmung der Probe in der Mischung möglich ist, allerdings ist hier die Zeit zwischen der Messung der Probe und der Kalibrierung äußerst wichtig.

Um die Kopplung zu optimieren wurde als letzte Messung der Mix D aus den Proben BT₂, BT₃ und BT₄ mit der Säulenkombination B (Tabelle 5) durchgeführt. Diese Säulenkombination zeigte bereits in der Optimierung der APC gute Ergebnisse zur Trennung der Komponenten. Auch die Messung auf dem gekoppelten System zeigt eine gute Trennleistung in der RI-Spur (Abbildung 83 a).

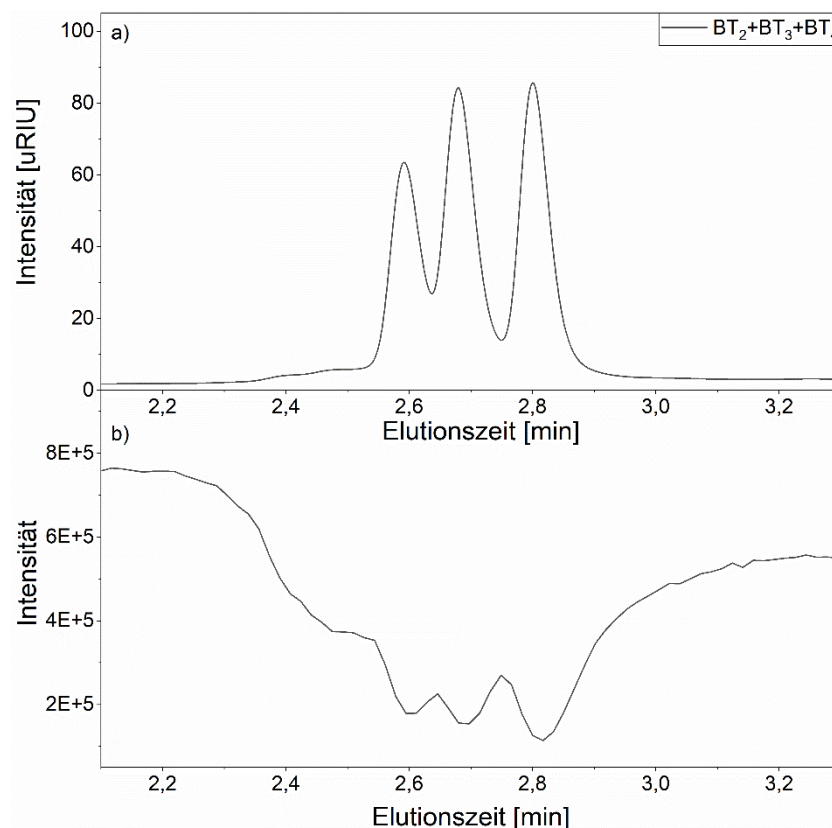


Abbildung 83: RI-Spur der Messung des Mix D aus BT₂, BT₃ und BT₄ (a) und TIC dieser Mischung (b) mit der Säulenkombination B.

Auch der TIC lässt klar drei Peaks erkennen, deren Massenspektren die Komponenten der Mischung zeigen. Daraus lassen sich erneut die Driftzeitverteilungen isolieren (Abbildung 84).

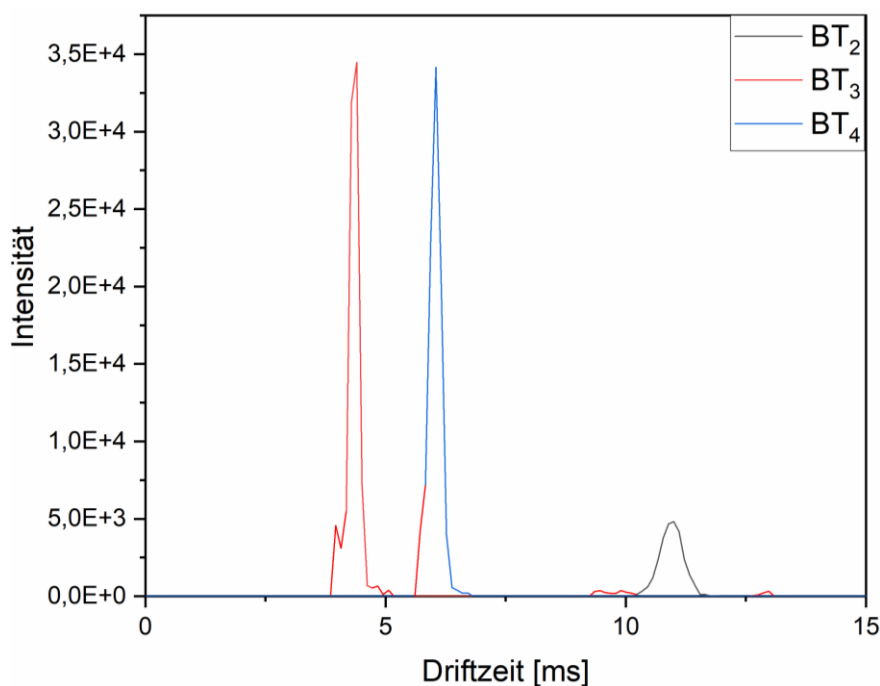


Abbildung 84: Driftzeitverteilungen der Komponenten der Mischung Mix D gemessen mit der Säulenkombination B.

Es lässt sich in den Driftzeitverteilungen erneut eine kleinere Intensität für das Tetramer beobachten, da dieses aber deutlich als Peak im TIC zu erkennen ist, stellt dies einen deutlichen Vorteil gegenüber der Säulenkombination A dar.

Zusammengefasst lässt sich für die Messungen mit Kopplung sagen, dass die Proben anhand der CCS-Werte identifiziert werden können, wenn die Kalibrierung in einem geringen zeitlichen Abstand zur Messung durchgeführt werden kann. Die Trennung der Proben auf dem APC-System ist ausschlaggebend für die Identifizierung der Komponentenanzahl in einer Mischung. Zusätzlich muss ein guter Kompromiss der Ionisierungsparameter für eine Mischung aus Oligomeren mit unterschiedlichen Monomierzusammensetzungen gefunden werden, um eine ausreichende Ionisierung aller Probenbestandteile zu garantieren.

4.2.8. Zyklische IMS

Das zyklische IMS-System wurde verwendet, um den Unterschied der Strukturformen der Isomere nachzuweisen. Falls die Abweichungen der Driftzeit der Isomere auf Unterschiede in ihrer Form zurückzuführen sind, sollte die Abweichung mit zunehmender Durchgangslänge der IMS-Trennung zunehmen. Für diese Messungen wurden die Proben B₃T₃, BT₃, B₄T₄ und BT₄ verwendet. Die Proben wurden in das Massenspektrometer eingelassen und die IMS-Trennung wurde mit unterschiedlichen Trennzeiten durchgeführt, was zu einer unterschiedlichen Anzahl von Runden um das cIMS-Gerät führte.

Die Hexamere führten 1 bis 8 Durchgänge durch, was eine Durchgangslänge zwischen 90 cm und fast 800 cm bedeutet (Abbildung 85).

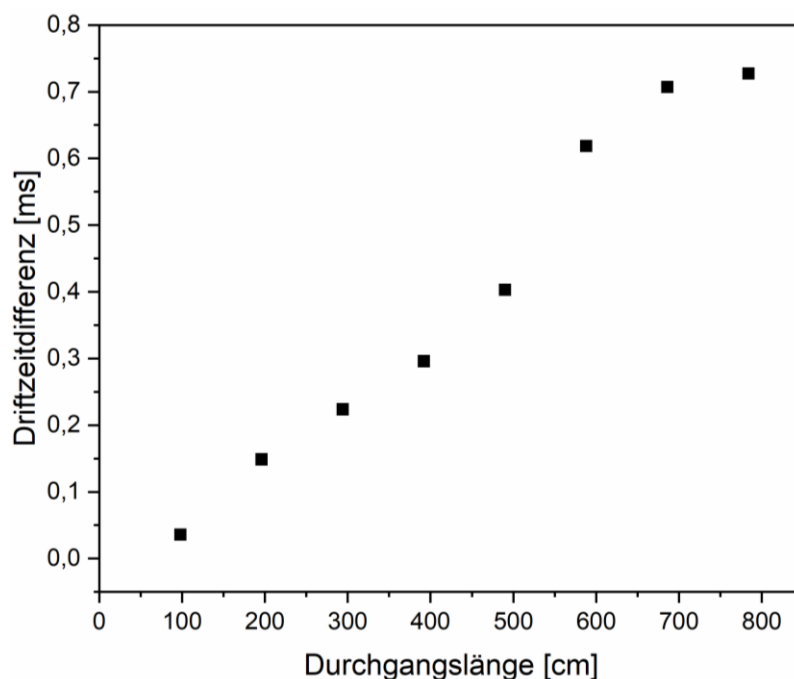


Abbildung 85: Driftzeitunterschiede der Hexamere BT_3 und B_3T_3 mit 1 bis 8 Durchgängen durch die zyklische IMS-Zelle.

Diese Messungen zeigen deutlich, dass der Unterschied zwischen beiden Proben auf unterschiedliche Formen der Strukturen zurückzuführen ist, da der Unterschied mit zunehmender Trennungspasslänge zunimmt, wie dies bei IMS-Messungen zu erwarten ist. Der Unterschied zeigt ein lineares Verhalten in Abhängigkeit von der Durchgangslänge. Basierend auf diesen Ergebnissen wäre zu erwarten, dass die Trennung einer Mischung beider Proben zu einer Trennung der beiden Peaks führen sollte.

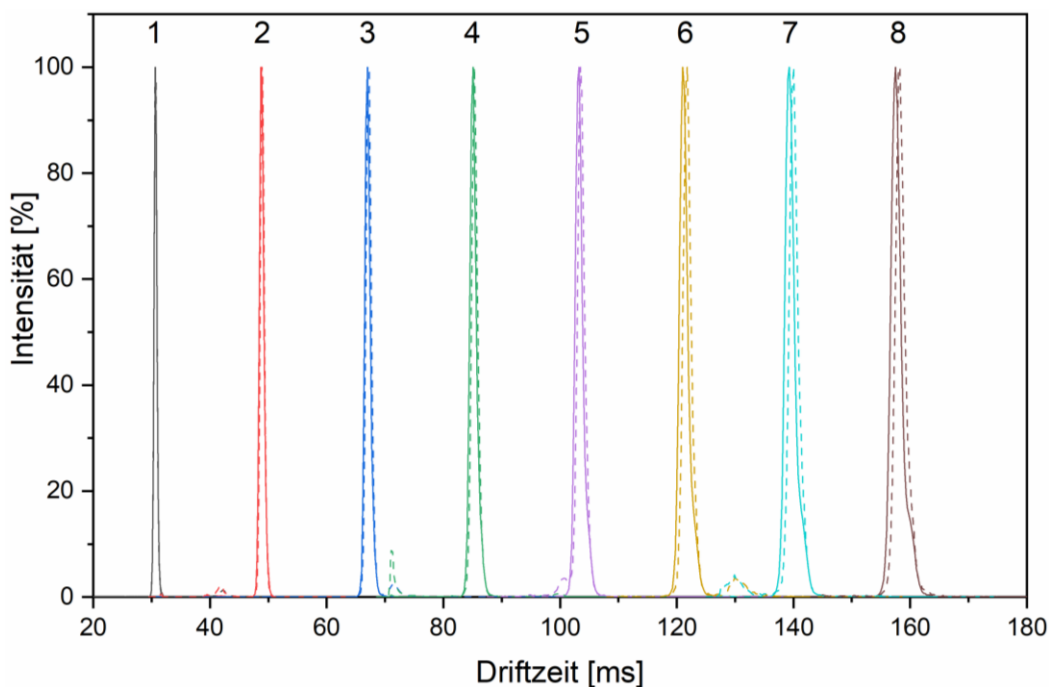


Abbildung 86: Driftzeiten der Hexamere BT_3 (durchgezogene Linie) und B_3T_3 (gestrichelte Linie) mit unterschiedlich vielen Durchgängen.

Es ist zu beobachten, dass die Driftzeitverteilungen mit jedem Durchgang breiter werden (Abbildung 86), dieser Vorgang ist durch die Diffusion der Teilchen in der Gasphase zu erklären. Des Weiteren lässt sich erkennen, dass die Trennung der Proben besser wird, aber es nicht zu einer klaren Trennung der Peaks kommt (Abbildung 86 160 ms). Die Messung einer Mischung beider Isomere zeigt, dass auch nach 800 cm Trennlänge keine Peaktrennung oder ein Hinweis (Ausbildung von Schultern oder zusätzlichen Peakspitzen) auf mehrere Spezies in den Driftzeitverteilungen zu erkennen ist (Abbildung 87).

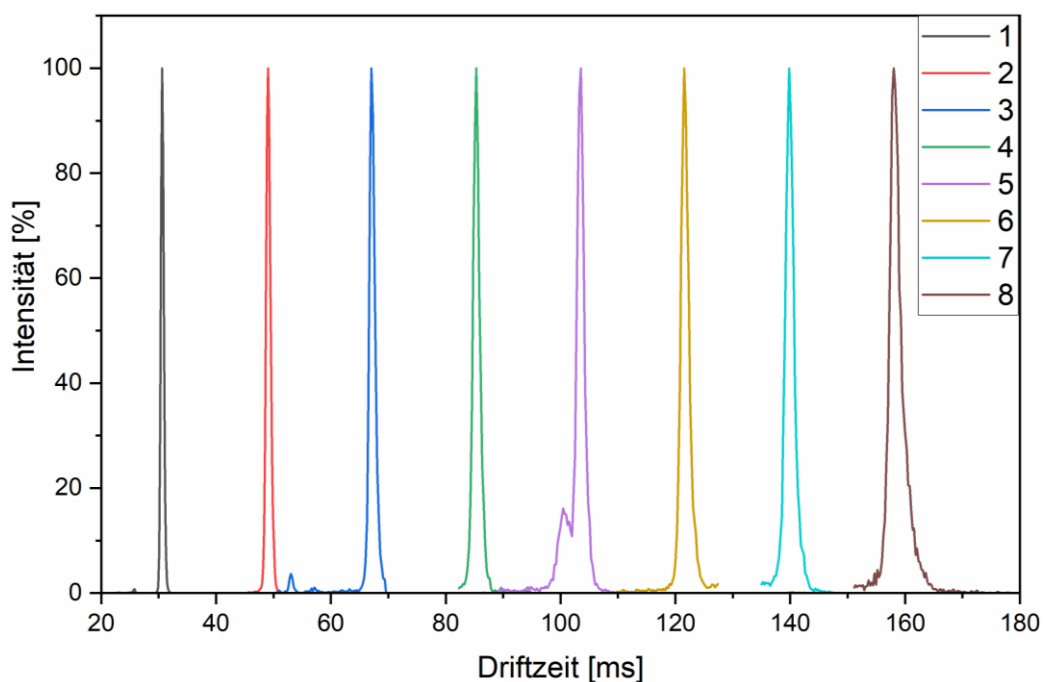


Abbildung 87: Driftzeitverteilungen der Mischung der Hexamere BT_3 und B_3T_3 mit unterschiedlich vielen Durchgängen um die cIMS-Zelle.

Dies legt nahe, dass nur eine der beiden Proben in der Mischung ionisiert wird, während die andere unterdrückt wird. Um diese Theorie zu testen, wurden MS/MS-Experimente sowohl mit einzelnen Proben als auch mit der Mischung durchgeführt. Beide Proben zeigen unterschiedliche Fragmente (Abbildung 88), so dass dies ein möglicher Hinweis auf die vorliegende Probe in der Mischung ist, ohne dass die Fragmente identifiziert werden müssen.

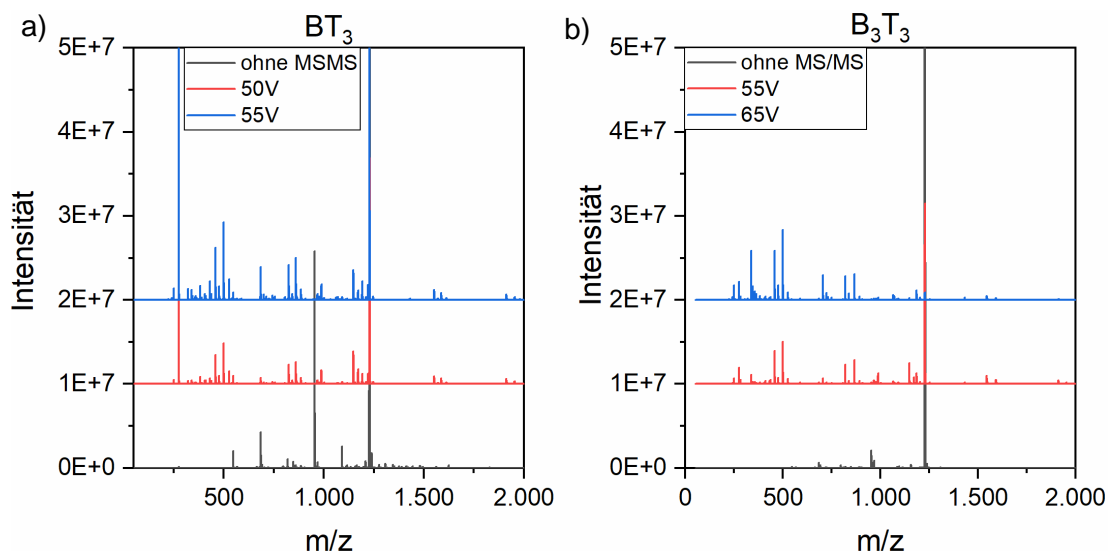


Abbildung 88: MS/MS Spektren der Proben BT_3 (a) und B_3T_3 (b) mit unterschiedlichen Aktivierungsenergien.

Eine Identifizierung der Fragmente war mit den vorliegenden Methoden nicht möglich. Es ist allerdings zu sehen, dass die alternierende Struktur bereits bei geringeren Aktivierungsenergien Fragmentierung aufweist, und auch deutliche Unterschiede in den Fragmentierungsmustern. Beide Proben zeigen einfach geladene Fragmente in den Molmassenbereichen von 1,500 bis 2,000 g/mol, wobei die Probe mit blockartiger Sequenz in diesem Bereich stärker fragmentiert. Der direkte Vergleich des Fragmentierungsmusters der Mischung mit denen der einzelnen Isomeren (Abbildung 89) zeigt, dass auf diesem Wege keine direkte Identifizierung möglich ist. Die Mischung zeigt deutlich mehr Fragmentationen als beide Isomere individuell.

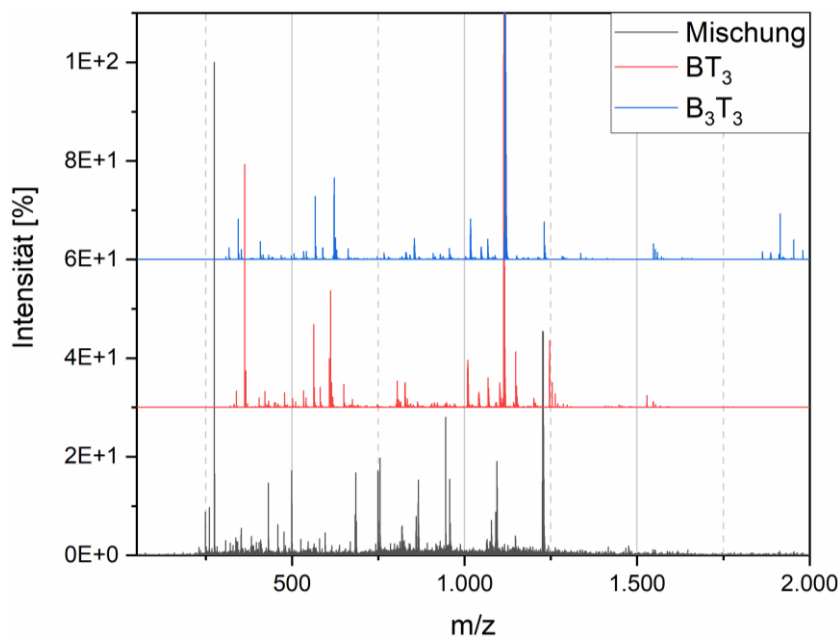


Abbildung 89: MS/MS Fragmentierungsmuster der Proben BT_3 , B_3T_3 und deren Mischung mit einer Aktivierungsenergie von 55 V.

Daher wird über die zusätzlichen MS/MS-Messungen von beiden Isomeren ein erneuter Vergleich mit der Mischung angestellt. Die Probe B_3T_3 zeigt mit einer Aktivierungsenergie von

50 V keine Fragmentierung, während die Probe BT_3 mit einer Aktivierungsenergie von 65 V vollständig fragmentiert bis zu einem Punkt, an dem keine Peaks mehr identifizierbar sind.

Bei Betrachtung diese Messungen (Abbildung 90) fällt auf, dass die Fragmentierung eher der Probe B_3T_3 ähnelt, als der alternierenden Probe. Der Verdacht liegt daher nahe, dass bevorzugt die Probe mit der blockartigen Struktur ionisiert wird, während das andere Isomer unterdrückt wird. Zusätzlich fällt auf, dass die Intensität der Spektren der Mischung deutlich geringer ist als die der individuell gemessenen Isomere.

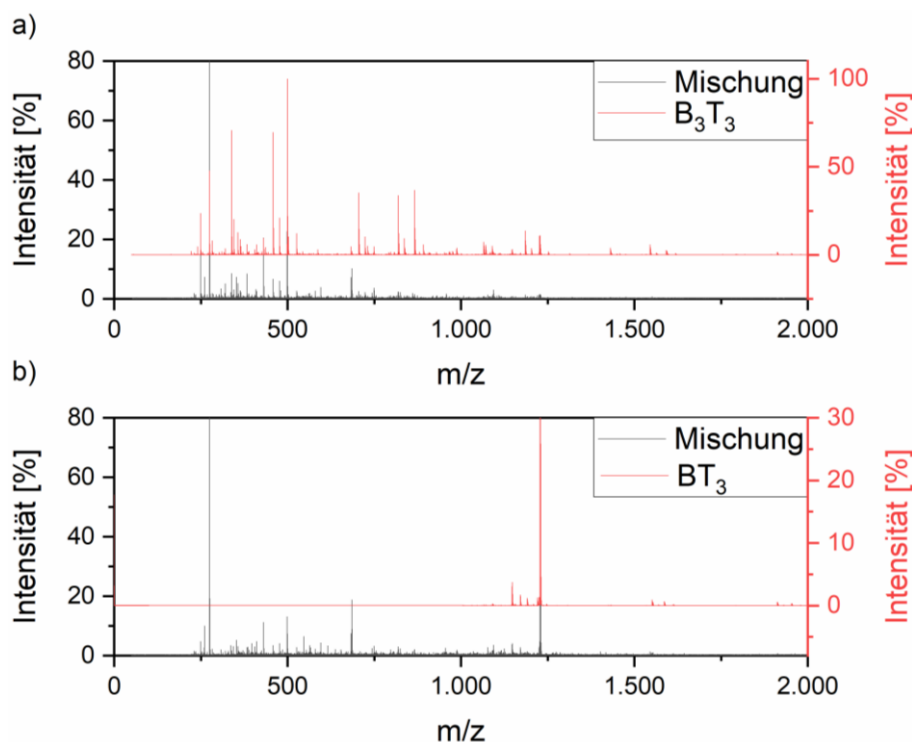


Abbildung 90: MS/MS Messungen der Probe B_3T_3 und der Mischung beider Hexamere mit einer Aktivierungsenergie von 65 V (a) und die Messung der Probe BT_3 sowie der Mischung der beiden Isomere mit einer Aktivierungsenergie von 50 V (b).

Als zweites Isomerenpaar wurden die Oktamere B_4T_4 und BT_4 mit der zyklischen IMS vermessen. Da diese Proben grundsätzlich eine höhere Driftgeschwindigkeit aufweisen, war es möglich die Anzahl der Durchgänge in dem vorgegeben maximalen Messfenster zu erhöhen. Daher konnten für die Oktamere Durchgangslängen von 1.080 cm, entsprechend 11 Durchgängen erreicht werden.

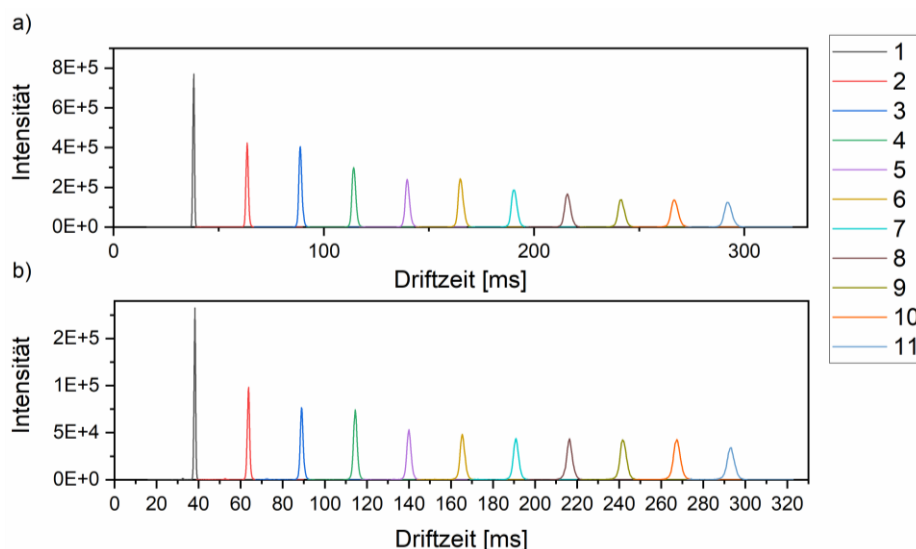


Abbildung 91: cIMS Messungen der Proben B_4T_4 (a) und BT_4 (b) mit unterschiedlichen vielen Durchgängen durch die IMS-Zelle.

Abbildung 92 zeigt ähnlich wie das Verhalten der Hexamere einen zunehmenden Unterschied mit zunehmender Passlänge. Beide Isomerenpaare beginnen mit einer Differenz um 0,05 ms und steigen auf einen Wert um 0,8 ms an im Falle der Hexamere. Während die Hexamere für diese Differenz nur 8 Durchgänge benötigen (~ 800 cm), erreichen die Oktamere diesen Wert erst nach 11 Durchgängen (~1.080 cm). Dies zeigt, dass der Unterschied zwischen den Strukturen der Isomeren mit steigender Kettenlänge deutlich abnimmt. Dies lässt sich entsprechend auch in der geringeren Steigung der Driftzeitunterschiede in Abhängigkeit von der Durchgangslänge für die Oktamere erkennen.

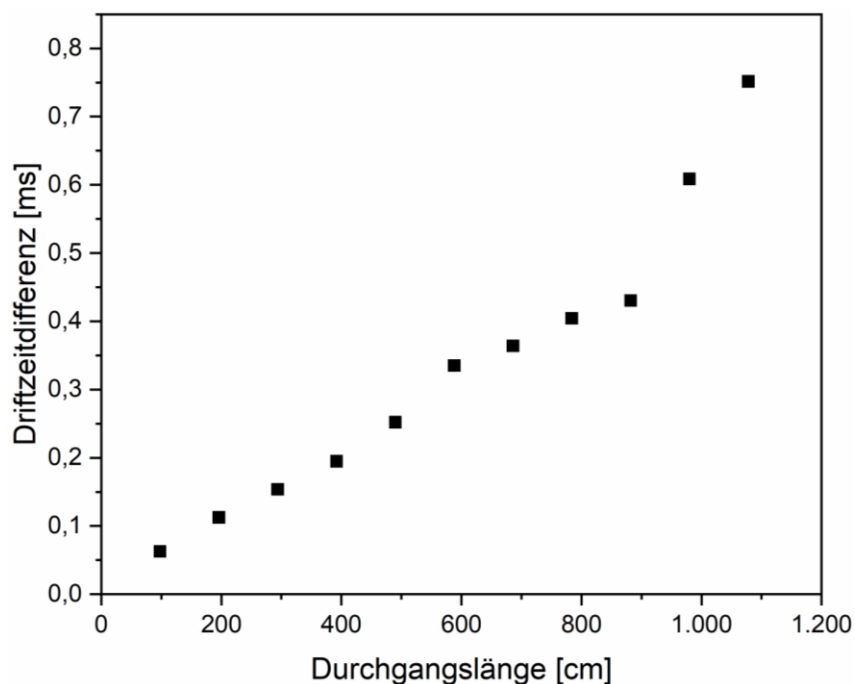


Abbildung 92: Driftzeitunterschiede der Oktamere B_4T_4 und BT_4 in Abhängigkeit von der Durchgangslänge.

Daher lässt sich auch nach einer Trennlänge von über einem Meter keine Trennung der Oktamere erkennen (Abbildung 93).

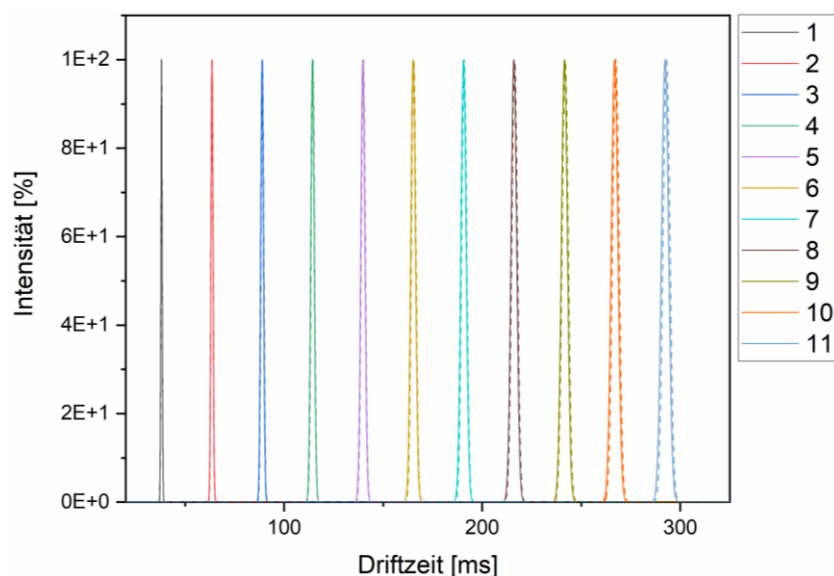


Abbildung 93: Driftzeitverteilung der Oktamere B_4T_4 (durchgezogene Linie) und BT_4 (gestrichelte Linie) im direkten Vergleich für unterschiedlich viele Durchgänge.

4.3. Abbauuntersuchungen mit der Kopplung

Um den Mehrwert der Kopplung zu testen, wird ein oNB-basiertes Polymer mit ESI-MS, MALDI-MS, APC und Kopplungsmessungen untersucht. Dazu werden unterschiedliche Stufen im Abbauprozess des Polymers analysiert. Die UV-Licht-labile Gruppe des Polymers sorgt für einen schnellen Abbau bei einer Bestrahlung der Probe. Die vorliegenden Proben sind 0, 30, 90, 150 und 240 Sekunden bestrahlt worden.

Der Abbau des Polymers ist deutlich an der Entwicklung des Chromatogramms zu erkennen. Die unbestrahlte Probe (Abbildung 94 schwarze Linie) zeigt vier Peakmaxima. Der Hauptpeak bei einer Elutionszeit von etwa 1,6 Minuten ist zugehörig zum Hauptpolymer. Zusätzlich sind zwei niedermolekulare Peaks (2,0 min und 2,1 min) und ein höhermolekularer Peak (1,3min) zu erkennen. Der höhermolekulare Peak ist basislinien-getrennt vom Hauptpeak und könnte eine Folge von Kettenkombinationen sein. Die beiden anderen Peaks könnten bereits das Ergebnis von Abbauprozessen sein oder verbleibendes Monomer darstellen. Es lässt sich beobachten, dass der hochmolekulare Peak mit längerer Bestrahlungszeit intensiver wird, dann wieder an Intensität abnimmt, bevor die Intensität wieder steigt. Dies spricht dafür, dass dieser Peak eine Folge des Abbaus des Polymers mit Kettenkombinationen ist. Gleichzeitig ist zu beobachten, dass der Hauptpeak ab 90 Sekunden Bestrahlung deutlich an Intensität verliert, während sich das Maximum zu höheren Elutionszeiten verschiebt. Die beiden niedermolekularen Peaks sind bereits nach 30 Sekunden Bestrahlung nicht mehr zu beobachten.

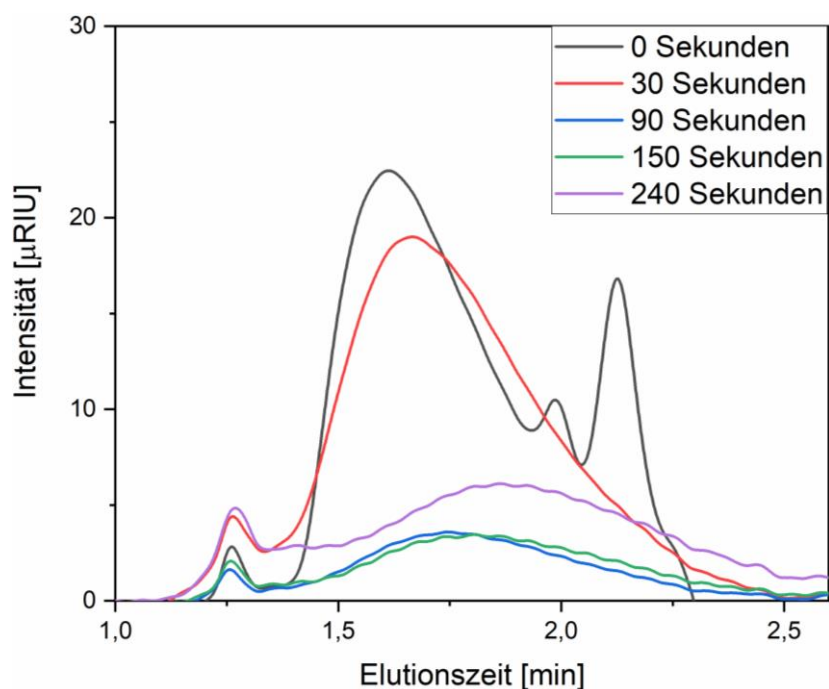
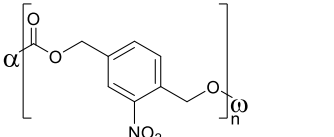
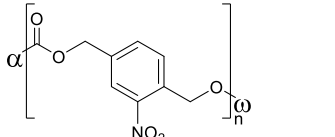
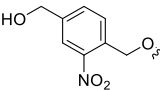
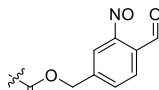

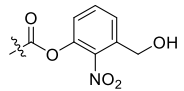

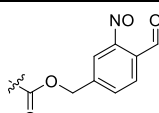

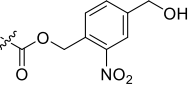

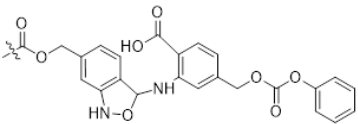
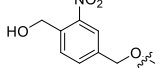
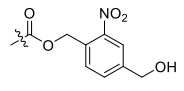
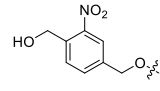
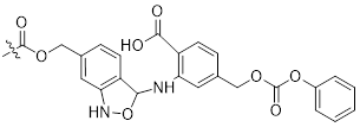
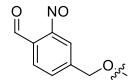
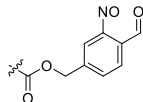


Abbildung 94: Chromatogramme der Proben des oNB basierenden Polymers.

Um den genauen Prozess des Abbaus zu untersuchen wurden zunächst MALDI-Spektren aller Proben aufgenommen, um die Proben vollständig untersuchen zu können, und alle auftretenden Endgruppenserien zu identifizieren.

Tabelle 23: Übersicht über die im Polymer vorhandenen Endgruppenserien.

Serie			Serie		
	α Endgruppe	ω Endgruppe		α Endgruppe	ω Endgruppe
P1	zyklisch		A1		
P2			A2		
P3			A3		
P4			A4		
			A5		

Dabei sind Endgruppenkombination, welche während der Polymerisation auftreten können, mit einer P-Serie angegeben, wohingegen Endgruppenkombinationen, welche nur beim Abbau erwartet werden in A-Serien aufgeführt werden.

Neben den gefundenen Endgruppenserien ist in den MALDI-Spektren (Abbildung 95) zu erkennen, dass die Spektren alle sehr schlechte Signal-Rausch-Verhältnisse aufweisen und aufgrund der hohen Zahl von Endgruppenserien aufwendig auszuwerten sind.

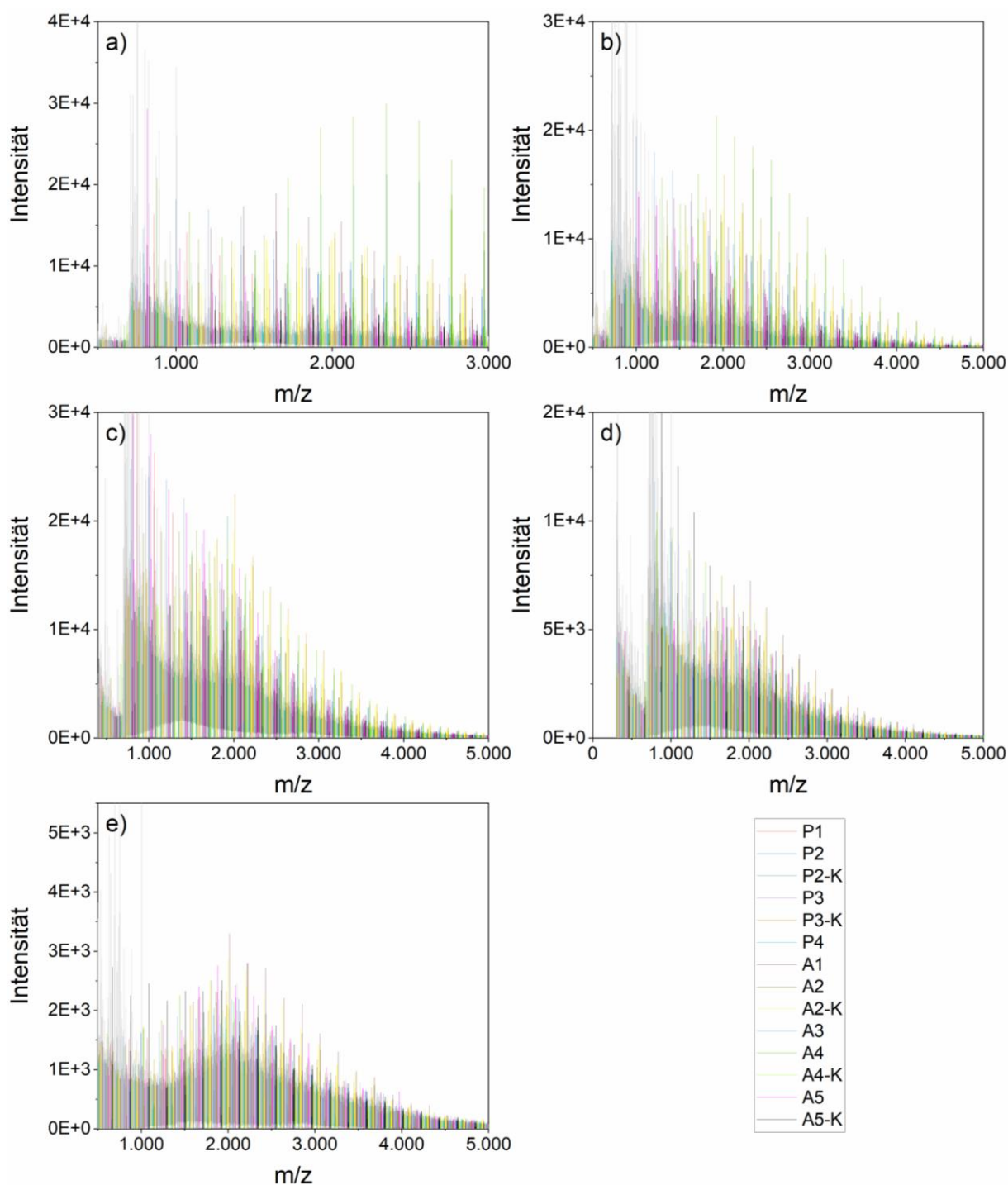


Abbildung 95: MALDI-MS-Spektren der Proben mit 0 Sekunden (a), 30 Sekunden (b), 90 Sekunden (c), 150 Sekunden (d) und 240 Sekunden (e) Bestrahlung. Die Endgruppenserien sind als Natriumaddukte zu beobachten. Legenden Einträge mit -K bedeuten Kaliumaddukte.

Da die Spektren in dieser Darstellung wenig aussagekräftig sind, wurde die Entwicklung der Serienintensität und der zahlenmittleren Molmasse in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer betrachtet (Abbildung 96). Diese wurden aus den gemittelten Serienintensitäten und Molmassen der MALDI-Spektren (Abbildung 95) gewonnen. Nach 240 Sekunden Bestrahlung ist die Intensität aller Serien sichtbar verringert. Zwischen den Proben ohne Bestrahlung und maximaler Bestrahlungsdauer schwankt die Intensität verschiedener Serien. Die Intensität der Serie P3 nimmt beispielsweise während der ersten beiden Bestrahlungszeiten zu, bevor die Intensität bei einer Bestrahlungszeit von 150 Sekunden abnimmt (Abbildung 96 a). Dies deutet darauf hin, dass die Endgruppen dieser Serie auch im Laufe des Abbauprozesses gebildet werden können. Mit steigender Bestrahlungszeit werden sie weiter zu einem anderen Abbauprodukt (Serien A1-A5 Tabelle 23) umgesetzt.

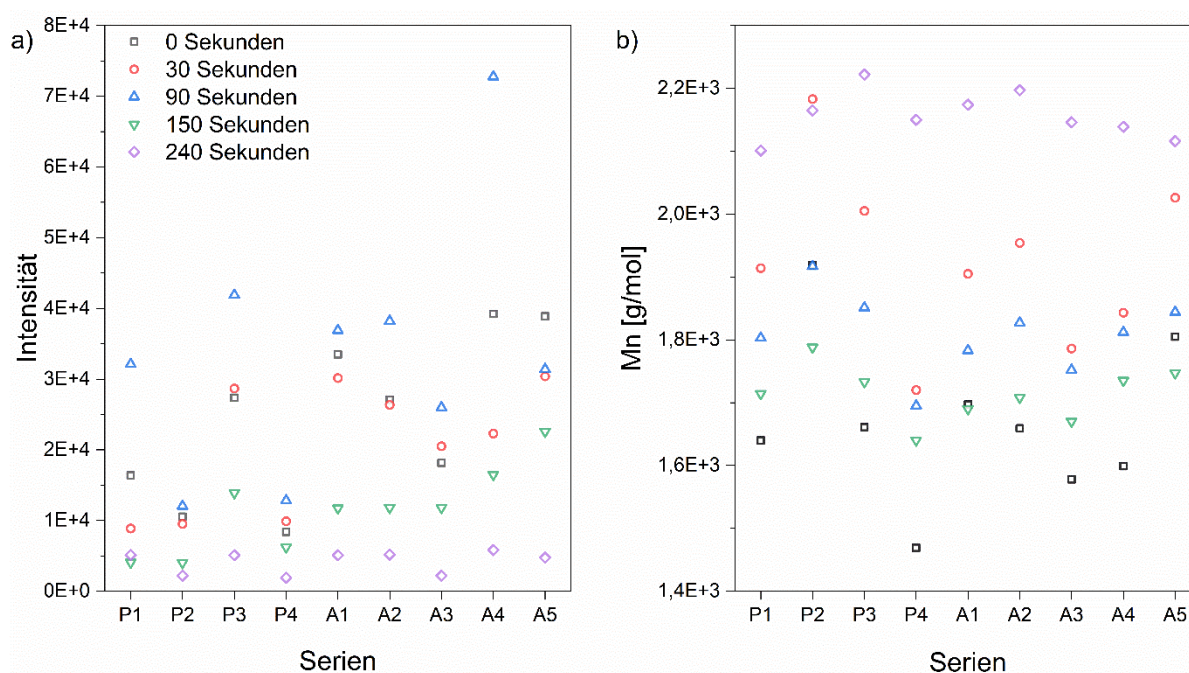


Abbildung 96: Entwicklung der Intensität (a) und der zahlenmittleren Molmasse der Endgruppenserien (b) in den MALDI-MS Spektren des Abbaus des oNB-Polymers.

Die Entwicklung der Molmasse mit zunehmender Bestrahlungszeit zeigt zu Beginn einen Anstieg für alle Endgruppenserien (Abbildung 96 b, rote Kreise) und bei weiterer Bestrahlung eine Abnahme der Werte (Abbildung 96 b, blaue und grüne Dreiecke). Dies könnte ein Hinweis auf eine Kettenkombination während der ersten Schritte des Abbauprozesses sein. Nach 240 Sekunden Bestrahlung scheint die Molmasse einen Höhepunkt zu erreichen. In Kombination mit den geringen Intensitäten dieser Probe kann dies durch die Schwierigkeit erklärt werden, echte Probenpeaks und Hintergrundpeaks zu trennen (Abbildung 95 e). Daher können diese Ergebnisse nicht diskutiert werden.

Zum Vergleich wurden auch mit der ESI-MS Massespektren aller Proben aufgenommen. Alle Serien der MALDI-Messungen konnten auch in diesen Messungen gefunden werden. Nur für die Proben ohne Bestrahlung und mit 30 Sekunden Bestrahlung konnten die Serien P1 und

P3 zusätzlich zu einer Einfachladung in einem zweifach geladenen Zustand nachgewiesen werden. Die Proben wurden mit Hilfe der IMS gemessen, sodass die Ladungszustände getrennt voneinander betrachtet werden konnten (s. Anhang Abbildung 109 bis Abbildung 113). In den ESI Messungen konnten ausschließlich Natriumaddukte nachgewiesen werden (s. Anhang Abbildung 114 und Abbildung 115).

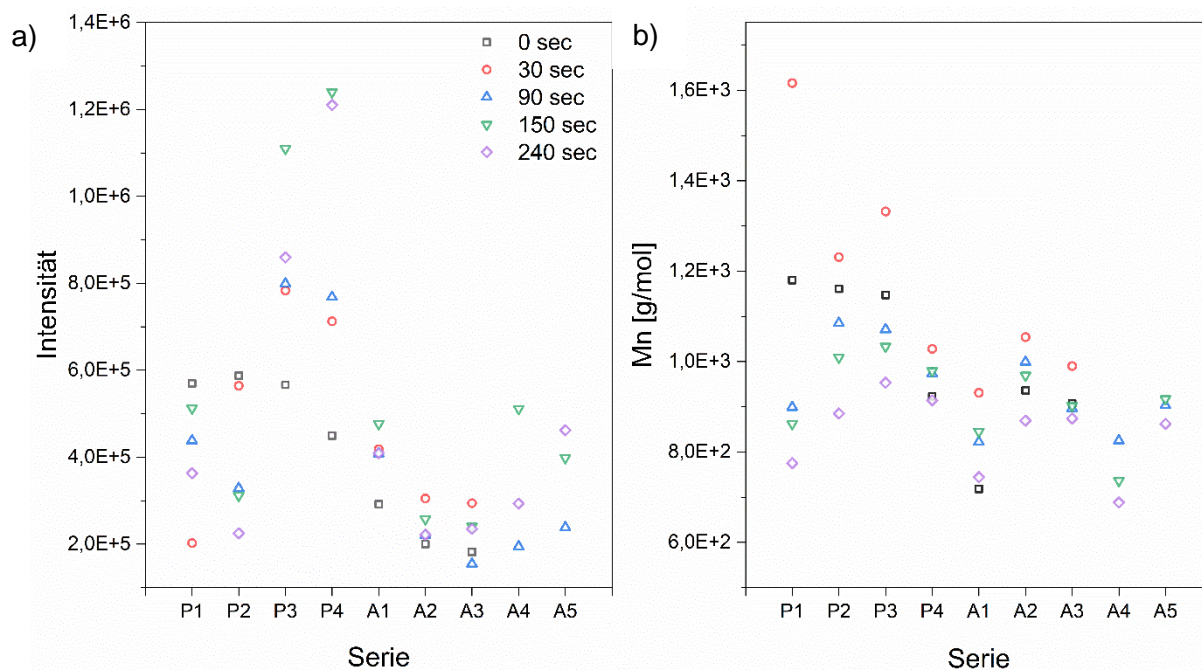


Abbildung 97: Entwicklung der Intensität (a) und der molaren Masse der Endgruppenserien (b) in den ESI-MS Spektren des Abbaus des oNB-Polymers.

Die Spektren zeigen im Vergleich zu den MALDI-Spektren bessere Signal-Rausch-Verhältnisse, sodass die Intensitäten der Messungen besser zu vergleichen sind. Es zeigt sich der erwartete Verlauf, dass die Abbauserien A1 bis A5 mit steigender Bestrahlungsdauer zunehmen (Abbildung 97 a), während die Polymeren P1 und P2 in der Intensität abnehmen. Die Polymeren P3 und P4 zeigen eine Zunahme der Intensität mit der Bestrahlungsdauer, was dafür spricht, dass diese Serien auch infolge des Abbauprozesses gebildet werden können. Die Molmasse der Serien nimmt mit maximaler Bestrahlungsdauer ab. Es zeigt sich zwischen der unbestrahlten Probe und der Probe mit maximaler Bestrahlungsdauer allerdings zunächst ein Anstieg der Molmasse, bevor der Abfall einsetzt. Dies könnte ein Hinweis auf die Kombination von Ketten während des Abbaus sein.

Innerhalb der APC-ESI-MS-Experimente werden Elutionszeit-aufgelöste Massenspektren gewonnen. Zusätzlich kann der Gesamtionenstrom (TIC) der Proben beobachtet werden (Abbildung 98). Theoretisch sollte der TIC dem Chromatogramm der APC-Messung ähneln (Abbildung 94). Im ersten Vergleich ist innerhalb dieser TICs auch der kleine Peak mit hoher Molmasse sichtbar. Die beiden Peaks mit niedrigerer Molmasse sind jedoch nicht zu erkennen. Die Entwicklung der Intensität zeigt eine Abnahme ähnlich dem APC-Chromatogramm, gefolgt von einer erneuten Zunahme mit den beiden höchsten Bestrahlungsdauern.

Die Proben zeigen breite Peaks zwischen 1 und 2,5 Minuten der Elutionszeit. Für die folgende Analyse wurde eine Trennung des TICs in fünf Abschnitte durchgeführt. Alle Abschnitte haben eine Breite von 0,3 Minuten, um einen gesamten Bereich von 1,5 Minuten für die Untersuchung zu ermöglichen.

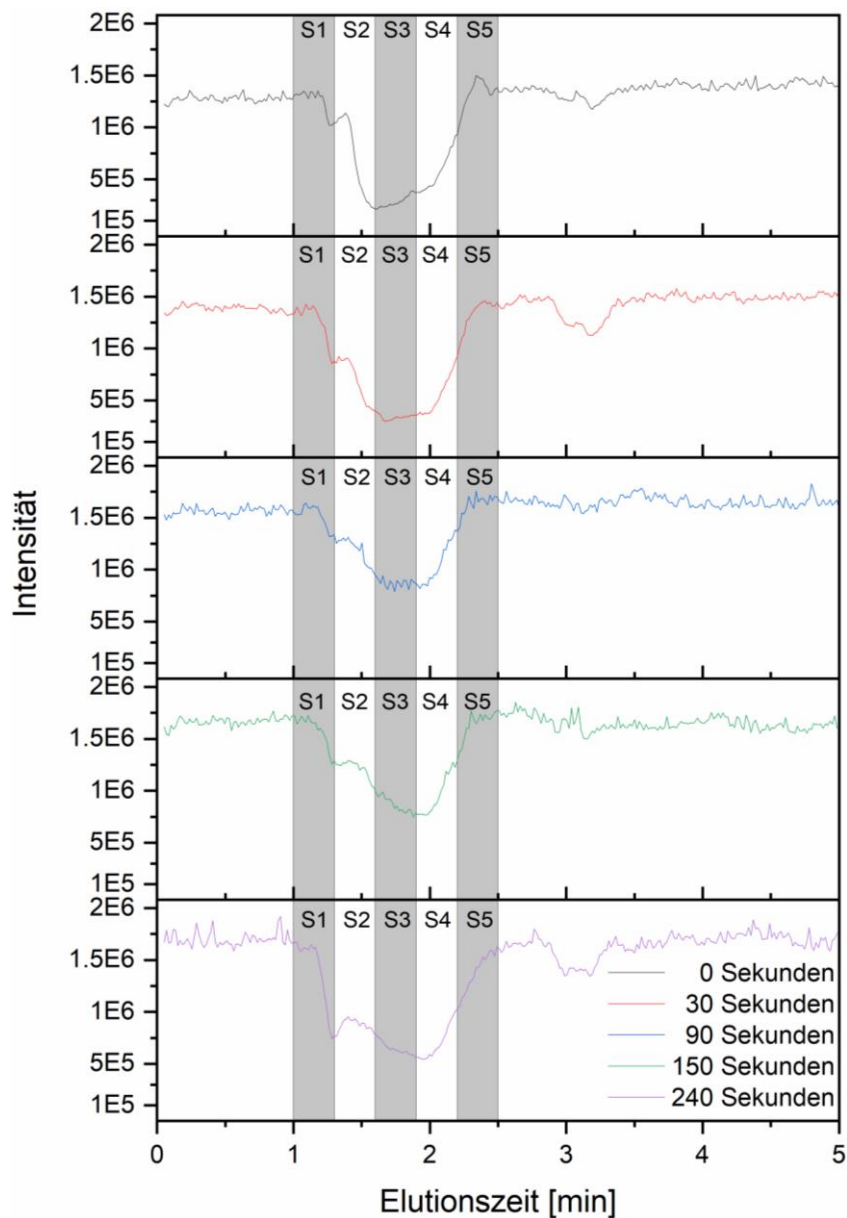


Abbildung 98: TICs des oNB-Polymers während der gekoppelten Messungen mit verschiedenen Bestrahlungsdauern und die Einteilung der TICs in fünf Abschnitte.

Alle beobachteten Endgruppenserien (Tabelle 23) sind in den Massespektren aller Abschnitte der Proben markiert. Die Probe ohne Bestrahlung zeigt innerhalb der ersten beiden Abschnitte keine Signale dieser Reihen (Abbildung 99).

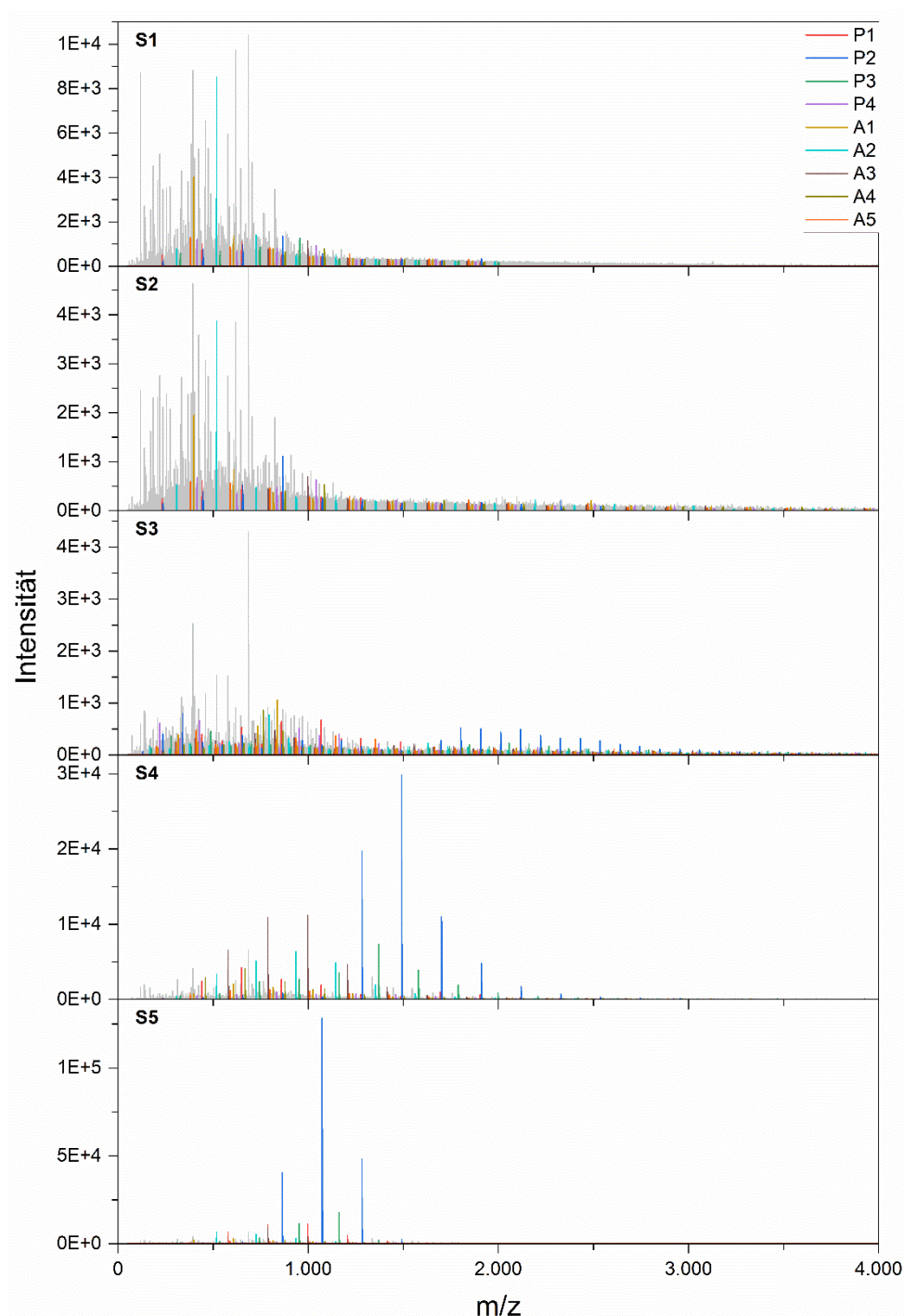


Abbildung 99: Massenspektren der fünf Abschnitte für das oNB-Polymer ohne Bestrahlung in der APC-ESI-MS Messung.

Abschnitt 3 zeigt die Reihen P2 in einem doppelt geladenen Zustand und die Reihen P1 und P3 mit niedrigeren Intensitäten in einem einfach geladenen Zustand. Alle Serien, welche in diesen Spektren gefunden werden konnten, stellen Natriumaddukte dar. Die Abschnitte 4 und 5 zeigen ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis. Alle beobachteten Signale in diesen Massenspektren weisen ausschließlich einfach geladene Zustände auf. Hauptsächlich können die Reihen P1 bis P4 beobachtet werden, während in Abschnitt 4 die abgebaute Reihe A4 mit guten Intensitäten sichtbar ist. Im Vergleich der Molmasse der nicht abgebauten Ketten und der Molmasse der Reihe A4 (Abbildung 99, Abschnitt S4) ist zu beobachten, dass der

dargestellte Molmassenbereich recht breit ist. Aufgrund der Vorabtrennung durch SEC wäre ein viel kleinerer Bereich zu erwarten. Die Molmassenverteilung von A4 in Abschnitt S4 ist mit der von P2 in S5 vergleichbar (Abbildung 99). An dieser Stelle sind zwei Erklärungen möglich. Einerseits könnte die Ionisierung der Polymerkette zu einem Abbau und damit zu der beobachteten Reihe A4 führen. Andererseits ist es denkbar, dass sich das hydrodynamische Volumen dieser Ketten aufgrund der sperrigen und durch den entwickelten Fünfring starren Endgruppe von A4 unterscheidet. Die zweite Möglichkeit könnte aufgrund des Verhaltens der Serie A3 (A3 zeigt den gleichen Massenbereich im Abschnitt S4 und ist in S5 nicht vertreten) naheliegender sein. Im Falle eines Abbaus während des Ionisationsprozesses wäre zu erwarten, dass diese Reihen in jedem Abschnitt mit intakten Polymerketten beobachtet werden. Die Intensität des doppelt geladenen Zustands ist zu gering, um innerhalb eines ungeteilten Massenspektrums beobachtet zu werden. Dies ist ein expliziter Vorteil der Messungen mit Kopplung.

Für einen besseren Überblick über den Verlauf des Abbaus wird die zahlenmittlere Molmasse der Endgruppenserien betrachtet (Abbildung 100). Nach 90 Sekunden Bestrahlung ist die Molmasse innerhalb des Abschnitts S3 deutlich verringert. Ab dieser Bestrahlungszeit können nur einfach geladene Zustände beobachtet werden. Die Intensität der Serien P2 und P3 nimmt ab, wobei die Serie P2 nach 150 Sekunden Bestrahlung gar nicht mehr beobachtet wird (s. Anhang Abbildung 116 bis Abbildung 119). Mit zunehmender Bestrahlungszeit finden sich P4 und die Abbauserien A1, A2 und A4 im Abschnitt S3. Da P4 am Anfang nicht gesehen wurde, scheint diese Endgruppenserie auch teilweise auf einen Kettenabbau zurückzuführen zu sein. In den Abschnitten S4 nimmt das Molgewicht innerhalb von 240 Sekunden nach Bestrahlung leicht ab, die Molmasse in Abschnitt S5 erreicht eine Grenze knapp unter 1 kDa. Alle anderen Abschnitte erreichen nach 240 Sekunden Bestrahlung eine ähnliche Grenze. Im Vergleich zu Abbildung 94 konnten die erhöhten Intensitäten des Peaks mit höheren Molmassen nach 30 Sekunden Bestrahlung durch die zunehmende Menge der Reihe P3 erklärt werden, die ebenfalls zusätzlich zu einem Abbau führt. Die zusätzlichen kleinen Peaks mit niedrigeren Molmassen des ursprünglichen Polymers (Abbildung 94, 0 Sekunden) können nicht durch die Abschnittsteilung des TIC erklärt werden. Es ist möglich, dass die bei der APC-Messung sichtbaren Spezies mit niedrigen Molmassen nicht mit ESI ionisiert werden können und daher in den resultierenden Massenspektren nicht beobachtet werden. Zusammenfassend zeigt sich die Kopplung als eine gute Methode zur Aufklärung des Abbauprozesses von Polymeren. Die gewonnenen Informationen zu der Entwicklung der Serien können zur Aufklärung des Abbaumechanismus genutzt werden, wobei Informationen gefunden werden können, die ohne die zeitliche Auftrennung des Elugramms nicht zugänglich sind.

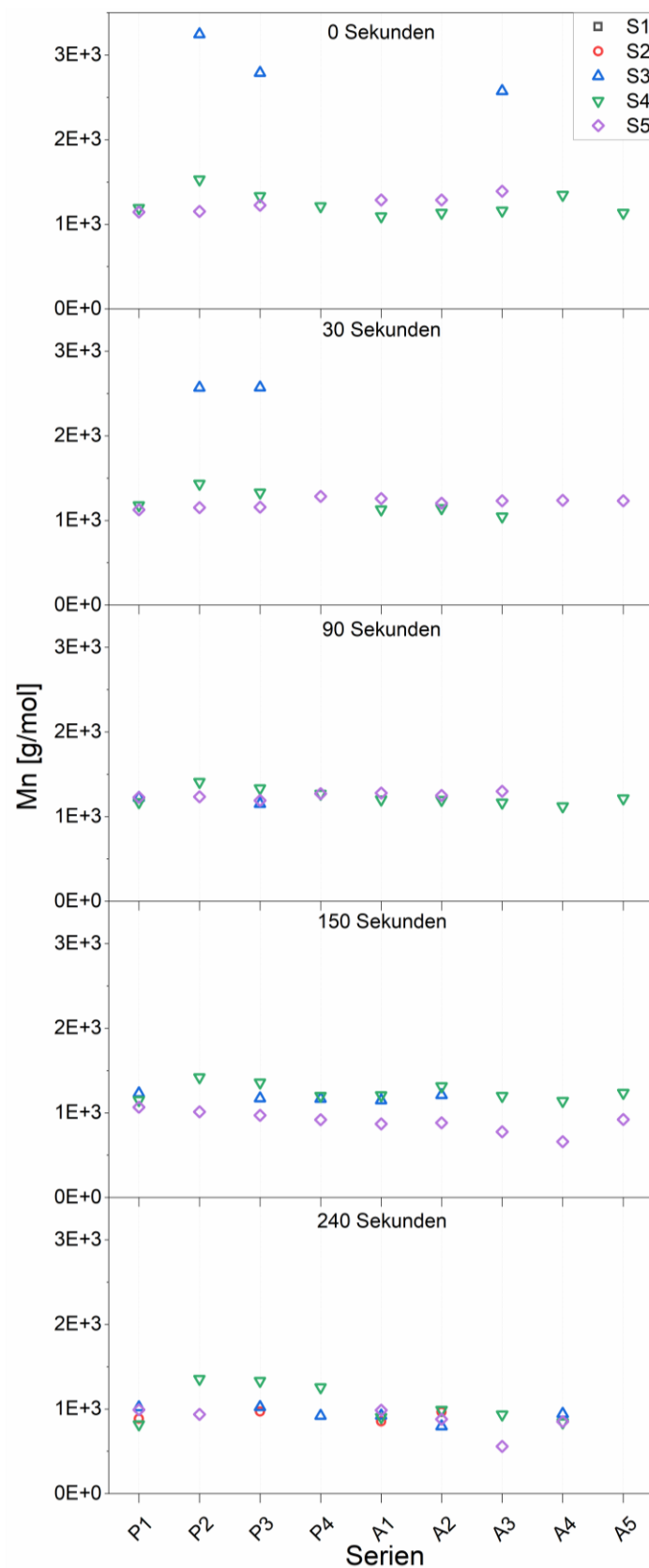


Abbildung 100: Zahlenmittlere Molmassen der Proben mit unterschiedlichen Bestrahlungszeiten für alle Endgruppenserien in allen Abschnitten.

Auch das Signal-Rausch-Verhältnis zeigt sich in der Messung mit dem gekoppelten System besser als in den reinen ESI-MS Spektren. Die ersten drei Abschnitte der Proben zeigen ähnliche Intensitäten für die Signale, welche nicht direkt der Probe zugeordnet werden können,

während die Abschnitte S4 und S5 deutlich auf Probensignale beschränkt sind. Die Kopplung ermöglicht es, Rückschlüsse darüber zu ziehen, ob die beobachteten Abbauprodukte aufgrund des Ionisierungsprozesses entstanden sind, oder durch die gezielte Bestrahlung.

4.4. IMS von PMMA, PEG und POEGMA im Vergleich

Dieses Kapitel beschäftigt sich ausschließlich mit ESI-IMS-Messungen von drei Polymerarten. Es werden die Polymere PMMA, PEG und das Copolymer POEGMA in ihrem Driftzeitverhalten für die zweifach geladenen Zustände verglichen. Dazu müssen zunächst alle Proben auf ihre Endgruppen untersucht werden.

Die Probe PEG2000 ist direkt vom Hersteller bezogen. Die Endgruppenverteilung dieser Probe ist sehr einheitlich. Das aufgenommene Driftzeitspektrum zeigt drei Ladungsseries, welche einzeln betrachtet werden können (Abbildung 101).

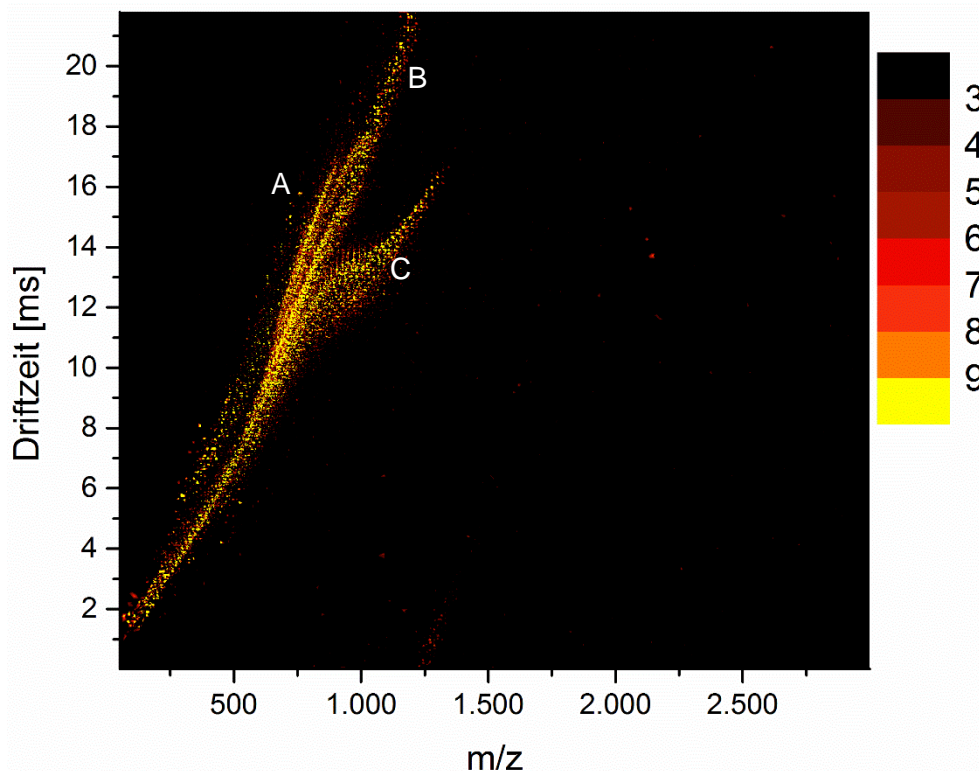


Abbildung 101: Driftzeitspektrum der Probe PEG2000 mit der Unterteilung in die Ladungsseries A, B und C.

In der Serie A ist ausschließlich Einfachladung zu beobachten, während die Serie B aus Dreifachladungen besteht. Die Serie C ist eine Mischung aus einfach und zweifach geladenen Serien.

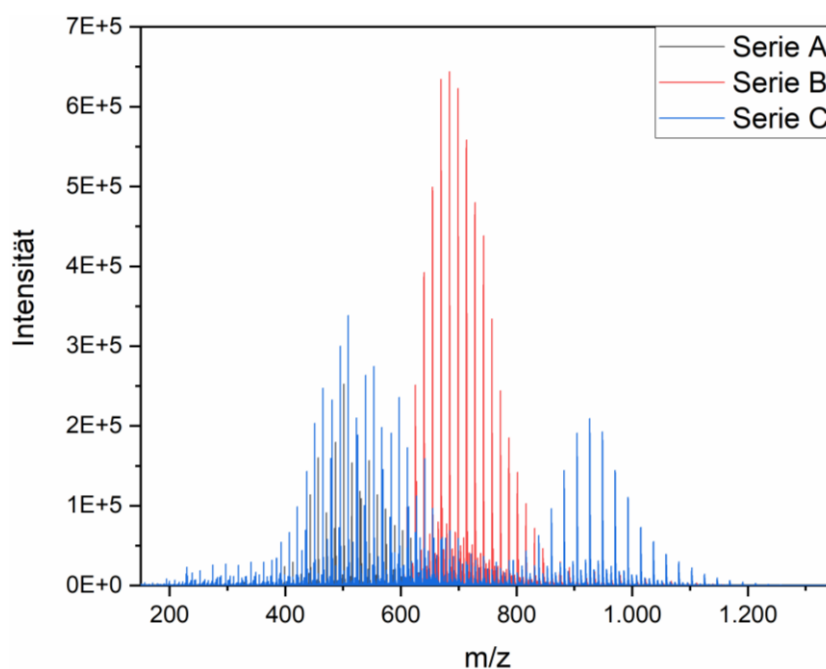


Abbildung 102: Massespektren der drei Ladungsseries des Driftzeitspektrums der Probe PEG2000.

Das Polymer ist als Monomethoxy-Poly(ethylenglykol) bezeichnet, und zeigt daher als Hauptendgruppenkombination eine Methoxy-Gruppe und ein Wasserstoffatom. Zusätzlich sind noch eine zweifach protonierte Kombination und verschiedene nicht zugeordnete Serien zu beobachten.

Tabelle 24: Endgruppenserien der Probe PEG2000 in den Massespektren.

Serie	α -Endgruppe	ω -Endgruppe	Addukt	Δm [ppm] ^a	Serienanteil ^b
S1	-OCH ₃	-H	Na	1,00	H
S2	-H	-H	Na	0,86	H
S3	16,0194 g/mol		Na	-	N
S4	38,1282 g/mol		Na	-	N

¹ $\Delta m = \frac{m_{\text{Spektrum}} - m_{\text{berechnet},b}}{m_{\text{berechnet}}}$; mit H \equiv Hauptserie und N \equiv Nebenserie

Die gleiche Auswertung erfolgt für die Probe PMMA2000. Diese Probe ist ein Polymerstandard mit einer engen Molmassenverteilung und zeigt im Driftzeitspektrum zwei Ladungsseries (Abbildung 103 a), welche eine klare Trennung aufweisen. Die Serie zeigt ausschließlich Einfachladungen, während die Serie B Zweifachladungen zeigt.

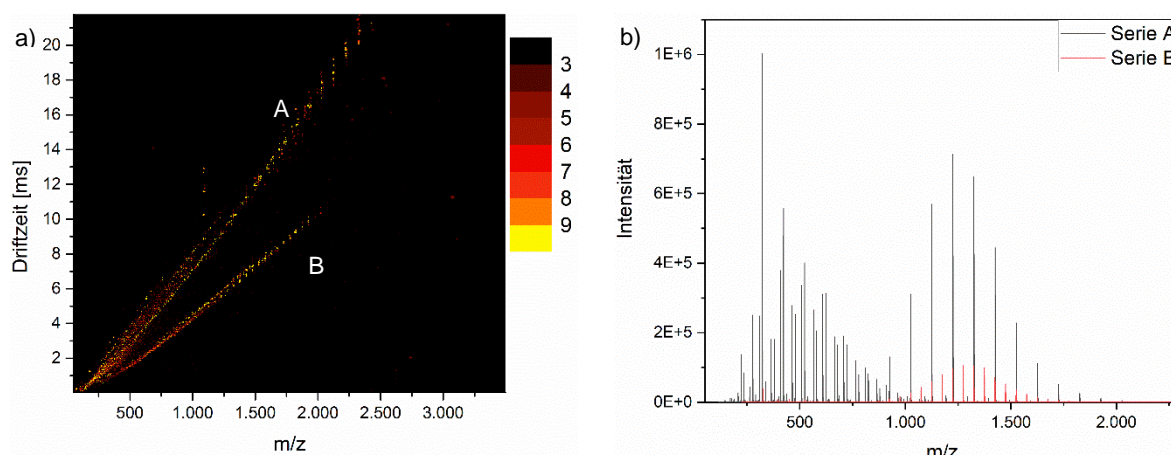
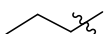
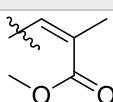
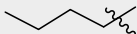
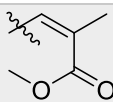


Abbildung 103: Driftzeitspektrum der Probe PMMA2000 mit Einteilung in die verschiedenen Ladungsserien (a) und Massespektren der Serien der Probe PMMA2000 (b).

Die Massespektren dieser Probe zeigen eine klare Hauptserie (Serie S1 in Tabelle 25), welche zwei protonierte Endgruppen aufweist. In dem Massespektrum der zweifachgeladenen Serie ist ausschließlich diese Endgruppenkombination vertreten. Innerhalb der einfachgeladenen Serien sind zusätzlich einige Serien ohne zugeordnete Endgruppen zu finden.

Tabelle 25: Endgruppenserien der Probe PMMA2000 in den Massespektren.

Serie	α -Endgruppe	ω -Endgruppe	Addukt	Δm [ppm] ^a	Serienanteil ^b
S1	-H	-H	Na	6,85	H
S2			Na	2,60	N
S3			Na	9,18	N
S4	86,0358 g/mol		Na	-	N

¹ $\Delta m = \frac{m_{\text{Spektrum}} - m_{\text{berechnet},b}}{m_{\text{berechnet}}}$, mit H \equiv Hauptserie und N \equiv Nebenserie

Die Kamm-Polymere zeigen deutlich mehr Endgruppenserien als die kommerziell erhältlichen Polymere. Das Polymer MP-P003 zeigt in dem Driftzeitspektrum drei deutlich voneinander getrennte Ladungsserien. Alle Serien enthalten dabei verschiedene Ladungszustände. Es sind Einfach- (Serie A) Zweifach- (Serie B) und Dreifachladungen (Serie C) nachzuweisen.

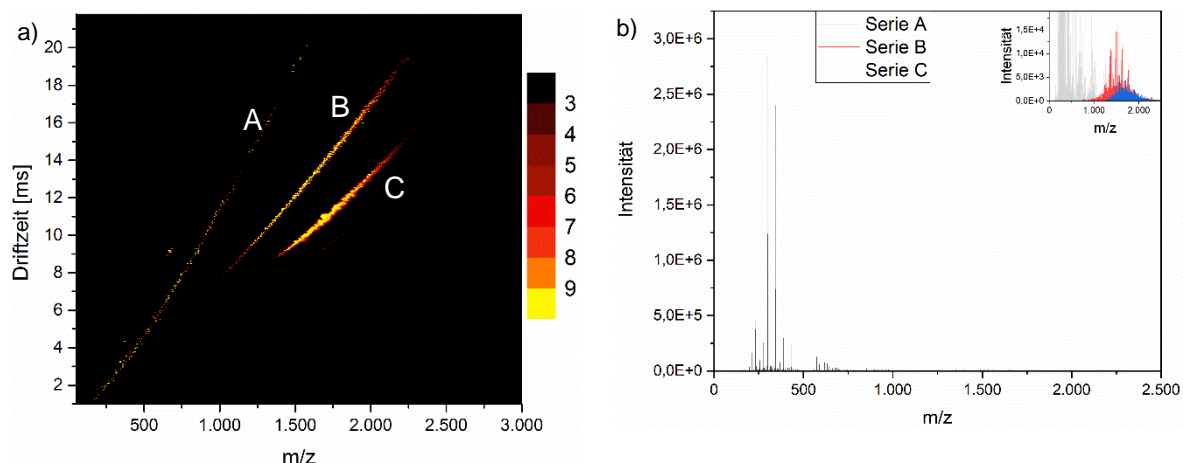


Abbildung 104: Driftzeitspektrum der Probe MP-P003 mit drei Ladungsserien (a) und Massenspektren der Ladungsserien (b).

Nur eine der gefundenen Endgruppenserien kann einer Kombination zugeordnet werden (Tabelle 26). Alle gefundenen Serien haben die gleiche Wiederholungseinheit mit 4 PEG-Einheiten in der Seitenkette.

Tabelle 26: Endgruppenserien der Probe MP-P003 in den Massenspektren.

Serie	x^a	α -Endgruppe	ω -Endgruppe	Addukt	Δm [ppm] ^b	Serienanteil ^c
S1	4			Na	12.6	N
S2	4			Na	-	H
S3	4			Na	-	H
S4	4			Na	-	H
S5	4			Na	-	H
S6	4			Na	-	H
S7	4			Na	-	N
S8	4			Na	-	H
S9	4			Na	-	H
S10	4			Na	-	N
S11	4			Na	-	N

^a Anzahl der PEG-Einheiten in der Wiederholungseinheit; ^b $\Delta m = \frac{m_{\text{Spektrum}} - m_{\text{berechnet}}}{m_{\text{berechnet}}}$; ^c mit H \equiv Hauptserie und N \equiv Nebenserie

Das zweite Kamm-Polymer MP-P004 zeigt ein ähnliches Verhalten. Auch hier sind im Driftzeitspektrum drei Ladungsserien zu erkennen, welche Polymererien enthalten.

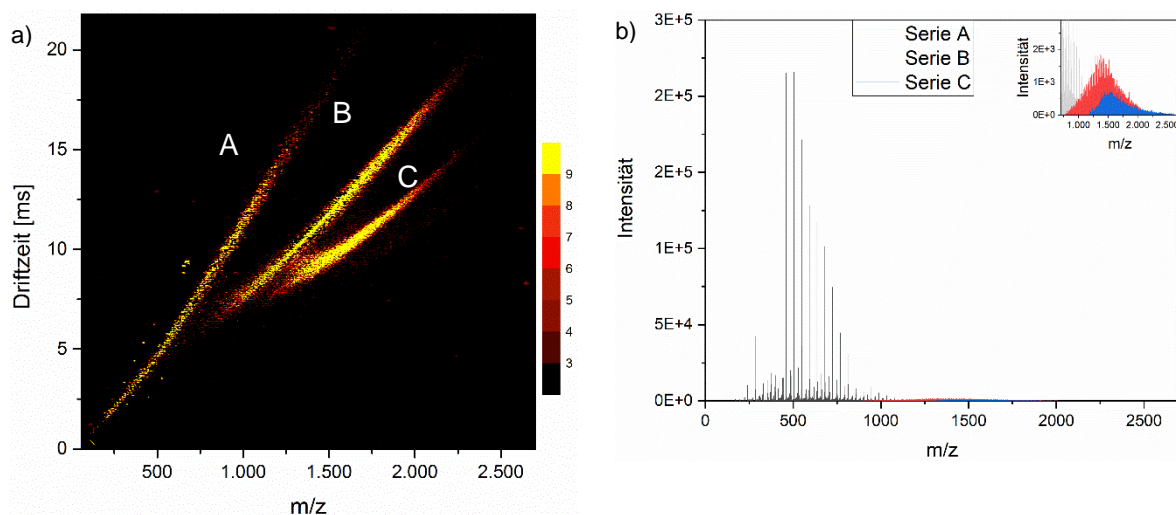
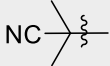
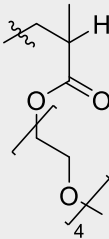


Abbildung 105: Driftzeitspektrum der Probe MP-P004 mit drei Ladungsserien (a) und Massespektren der Ladungsserien (b).

In der Serie A sind ausschließlich Einfachladungen der Molmassenverteilung des Monomers nachzuweisen, während die Serie C kein auswertbares Massenspektrum enthält. Daher sind nur in der Serie B Polymersignale der untersuchten Probe nachzuweisen. Diese liegen alle in einer Zweifachladung vor und zeigen eine breite Verteilung von Endgruppenkombinationen. Auch in dieser Probe sind viele Endgruppenserien ohne zugeordnete Endgruppenkombination zu beobachten (Tabelle 27). Für diese Probe kann zusätzlich zu den Serien mit 6 PEG-Einheiten in der Seitenkette auch eine Serie mit 7 PEG-Einheiten gefunden werden.

Tabelle 27: Endgruppenserien der Probe MP-P004 in den Massespektren.

Serie	x ^a	α-Endgruppe	ω-Endgruppe	Addukt	Δm [ppm] ^b	Serienanteil ^c
S1	4			Na	37,7	N
S2	6	66,0717 g/mol		Na	-	H
S3	6	106,1037 g/mol		Na	-	H
S4	6	151,1197 g/mol		Na	-	H
S5	6	195,1097 g/mol		Na	-	H
S6	6	219,1577 g/mol		Na	-	H
S7	6	238,1377 g/mol		Na	-	H
S8	6	45,0817 g/mol		Na	-	H
S9	6	20,0817 g/mol		Na	-	H
S10	6	1,0417 g/mol		Na	-	H
S11	6	325,2238		Na	-	H

S12	6	307,2138	Na	-	H
S13	6	285,1818	Na	-	H
S14	7	195,1097	Na	-	N

^a Anzahl der PEG-Einheiten in der Wiederholungseinheit; ^b $\Delta m = \frac{m_{\text{Spektrum}} - m_{\text{berechnet}}}{m_{\text{berechnet}}}$; ^c mit H \equiv Hauptserie und N \equiv Nebenserie

PEG Polymere zeigen in Driftzeitspektren interessantes Verhalten. Während für die einfachgeladenen Zustände ein linearer Verlauf zu beobachten ist, zeigen höhere Ladungszustände den Wechsel zwischen zwei linearen Verläufen. Der Übergang zwischen diesen ist durch einen Abschnitt gegeben, an welchem die Driftzeit trotz wachsender Kettenlänge keinen oder kaum Anstieg zeigt (Abbildung 106).

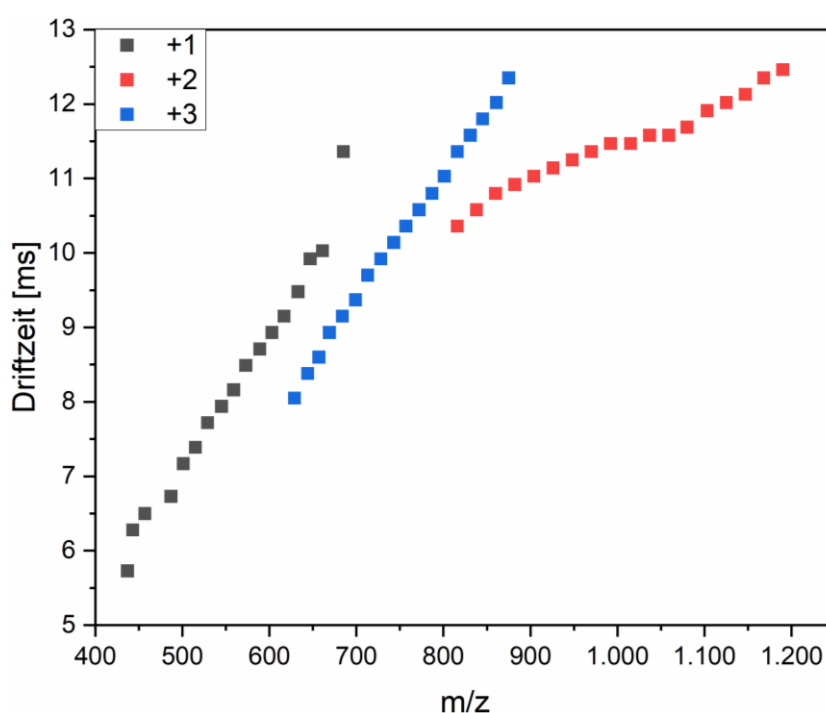


Abbildung 106: Verteilung der Masse und Ladung der Serie S1 der Probe PEG2000.

Es ist bereits aus der Literatur bekannt, dass die höheren Ladungszustände für Polymere wie PEG oder Poly(ethoxyphosphat) solche Wendepunkte durchlaufen. Der Übergang ohne Anstieg der Driftzeit bleibt dabei solange erhalten, bis die Entwicklungslinie eines anderen Ladungszustandes erreicht wird. Ultimativ enden alle Ladungszustände in der Entwicklungslinie des kleinsten vorkommenden Ladungszustandes, wenn diese Betrachtung mit den CCS-Werten anstatt der Driftzeiten durchgeführt wird. Dieser Ladungszustand repräsentiert die kompakteste Polymerionenstruktur. Die höheren Ladungszustände lassen sich als „Perlen an einer Kette“ beschreiben.^[197]

Für PMMA kann diese Beobachtung nicht festgestellt werden. Alle Ladungszustände der Serie S1 zeigen einen linearen Verlauf. Der zweifach geladene Zustand zeigt nur bei einem m/z Verhältnis von etwa 1.500 eine leichte Abnahme der Steigung. Dies kann entweder ein sehr

schwach erkennbarer Wendepunkt sein oder aber ein Fehler in der Zuordnung der Driftzeiten. Bei Betrachtung der Steigung vor und nach dem „Wendepunkt“ und des generellen Verlaufs dieser Entwicklungslinie ist ein Fehler in der Driftzeit wahrscheinlicher.

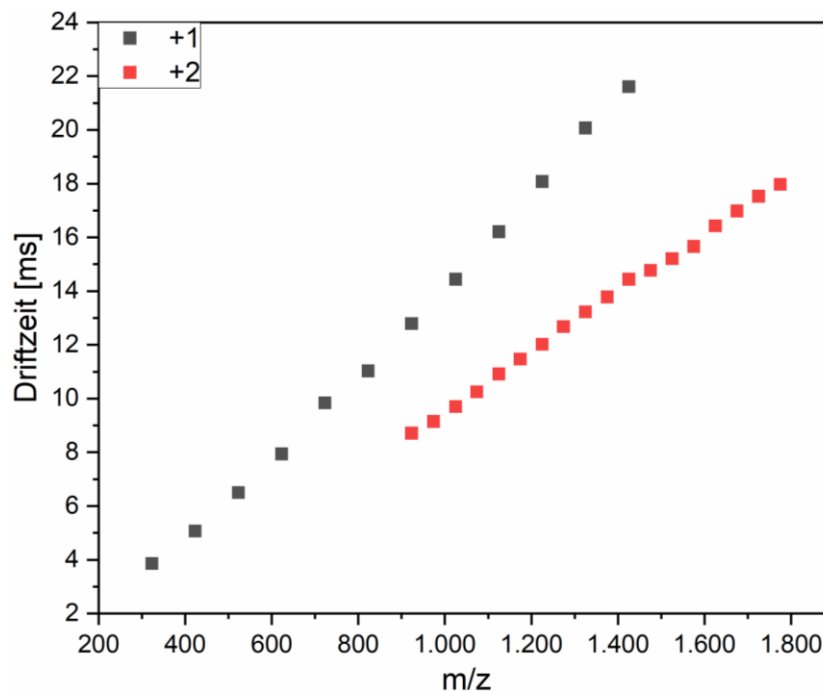


Abbildung 107: Verteilung der Masse und Ladung der Serie S1 der Probe PMMA2000.

Es soll im Folgenden untersucht werden, ob die Anwesenheit der PEG-Einheiten in der Seitenkette der Polymere MP-P003 und MP-P004 dazu führen können, dass die Wendepunkte der PEG Probe auch mit dem PMMA-Rückgrat beobachtet werden können. Es werden dazu drei Serien mit unterschiedlichen Kettenlängen des PEGs in der Seitenkette betrachtet. Für den Vergleich des Driftzeitverhaltens wird von jeder Probe im zweifachgeladenen Zustand eine Endgruppenserie über den gesamten Massenbereich beobachtet. Für die Probe PEG2000 und PMMA2000 werden dazu die jeweiligen Serien S1 genutzt, während für die Probe MP-P003 die Serie S4 und für MP-P004 die Serien S6 und S14 genutzt werden.

Die Probe PEG2000 zeigt in dem untersuchten Massenbereich nur für den zweifachgeladenen Zustand einen Wendepunkt. Im Vergleich lässt sich für die übrigen Proben über einen deutlich größeren Massenbereich eine Zweifachladung beobachten, dies liegt darin begründet, dass mit PEG grundsätzlich sehr hohe Ladungszustände beobachtet werden können, sodass für längere Ketten auch höhere Ladungszustände wahrscheinlicher werden. Die Kamm-Polymere weisen sehr hohe Massen der Wiederholungseinheiten auf, sodass in dem beobachteten Bereich nur wenige Signale nachzuweisen sind (6-9 Signale pro Polymerserie). In diesem Bereich kann auch für keines der Kamm-Polymere ein klarer Wendepunkt ausgemacht werden (Abbildung 108). Dies kann mehrere Ursachen haben. Zum einen ist es möglich, dass die Anzahl der PEG Einheiten in den Seitenketten nicht ausreicht, um einen Wechsel zwischen mehreren Strukturen und damit einen Wendepunkt zu zeigen. Eine andere Möglichkeit ist,

dass der Übergang erst bei höheren Kettenlängen auftritt, wie dies zum Beispiel auch für die Dreifachladung der PEG Probe (Abbildung 106) erwartet wird.

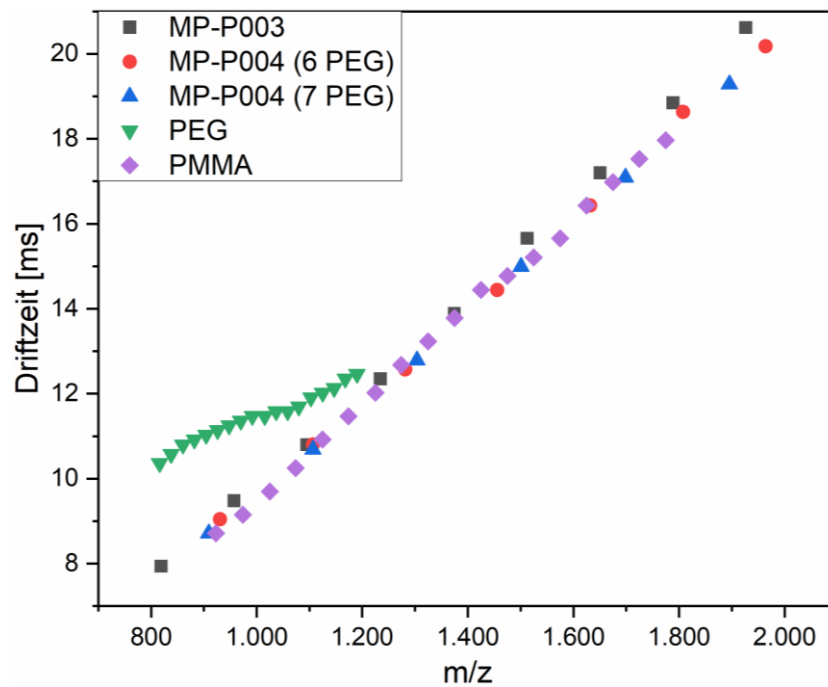


Abbildung 108: Verteilung der Masse und Ladung der Serien der Proben PEG2000, PMMA2000, MP-P003 und MP-P004.

Es ist daher nicht möglich aufgrund dieser Untersuchung auszuschließen, dass in den Kamm-Polymeren derartige Wendepunkte auftreten. Um bessere Aussagen treffen zu können, wäre es notwendig diese Messungen mit einer größeren Variation von Seitenkettenlängen und Molmassen durchzuführen.

5. Zusammenfassung

Der Großteil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Kopplung eines UHPLC-Systems mit einem ESI-Massenspektrometer unter Einsatz der IMS als zusätzlichem Trennschritt. Diese Kopplung wurde zunächst etabliert, und anschließend für die verschiedenen Einsatzgebiete optimiert und angewendet. Die Arbeit lässt sich daher in vier Teilbereiche einteilen, welche im Folgenden einzeln betrachtet werden.

Im ersten Abschnitt wurde der Aufbau der Kopplung bis hin zur Bestimmung des Versatzes der beiden Detektoren (RI und MS) realisiert. Zur Offset-Bestimmung konnte erfolgreich das Stern-RAFT-Reagenz eingesetzt werden, für welches die Ionisierungs- und Flussbedingungen optimiert werden konnten, sodass das SEP einen monomodalen Peak mit leichter Schulterbildung gezeigt hat, welcher sich gut mit dem Peak der APC in Übereinstimmung bringen lässt. Den größten Einfluss zeigte dabei die Desolvations-Temperatur, welche für diese Bestimmungen deutlich erhöht wurde. Für unterschiedliche Analyten muss dieser Parameter, aufgrund der Gefahr von Fragmentierung allerdings möglichst geringgehalten werden. Verschiedene Splittertypen wurden getestet, wobei der T-Splitter mit Anpassung auf UHPLC-Systeme die besten Ergebnisse in Bezug auf den SEP-Verlauf gezeigt hat. Die Einstellung des Flussverhältnisses erfolgte mit Hilfe von PEEK SIL Kapillaren über deren Länge und Innendurchmesser. Um die Verschmutzung des Massenspektrometers möglichst gering zu halten, fiel nach Betrachtung aller Ergebnisse die Wahl auf die PEEK SIL Kapillare mit einer Länge von 50 cm und einem Innendurchmesser von 50 μm . Die Flussteilung erfolgt damit mit einem Verhältnis von 10,5:1 (RI-Detektor:ESI-Quelle).

Als nächstes sollten die sequenzdefinierten Oligomere mit der Kopplung getrennt und identifiziert werden. Dazu wurden zunächst theoretische Modelle der Hexamere BT_3 und B_3T_3 mit Hilfe der DFT berechnet. Die Modelle wurden mit vier unterschiedlichen Addukten und zwei Ladungszuständen berechnet, um die bestmöglichen Bedingungen für die Trennung in der IMS zu erreichen. Die Modelle wurden anschließend genutzt, um mit dem Programm *mobcal* CCS-Werte der Strukturen zu bestimmen. Diese Berechnungen haben gezeigt, dass die Unterschiede zwischen den Isomeren bei etwa 50 \AA^2 liegen und sich zwischen den Ladungszuständen kaum Unterschiede in dieser Differenz zeigen. Die größten Unterschiede sind in der Zweifachladung mit Natriumaddukt zu erkennen.

Zur Maximierung der experimentell erreichbaren Driftzeitdifferenzen, und damit der Trennbarkeit, wurden die verschiedenen Addukte mit unterschiedlichen Wellengeschwindigkeiten des elektrischen Feldes in der IMS-Zelle untersucht. Das bereits quantenchemisch berechnete Hexamer-Paar wurde für diese Experimente gemeinsam mit den Tetrameren und Oktameren der zugehörigen Monomerkombination genutzt. Es ließ sich beobachten, dass die Addukte einen Einfluss auf die Größe des statistischen Fehlers zeigen.

Für die Hexamere konnte ein maximaler Unterschied der CCS-Werte von etwa 2 \AA^2 erreicht werden. Alle Kettenlängen zeigten für Natriumiodid die besten Ergebnisse. In Abhängigkeit von der Wellengeschwindigkeit konnte unterschiedliches Verhalten für die verschiedenen Kettenlängen festgestellt werden. Während die Driftzeitdifferenzen der Tetramere und Hexamere eine Zunahme mit steigender Wellengeschwindigkeit zeigte, ließ sich für die Oktamere eine abnehmende Differenz beobachten. Die Übertragung dieser Untersuchungen auf andere Monomersysteme bestätigte das zunehmende Verhalten der Tetramere und Hexamere. Abweichend vom ersten System konnte für alle anderen Systeme beobachtet werden, dass kürzere Ketten zu größeren Driftzeitdifferenzen führen. Die Untersuchung von Stereoisomer-reinen Proben lässt zudem vermuten, dass die Driftzeitdifferenzen eine Abhängigkeit von der Ausrichtung des Stereozentrums aufweisen. Insgesamt sind alle erreichten Driftzeitunterschiede mit Werten deutlich unter 1 ms sehr gering. Die Nutzung der zyklischen IMS konnte allerdings einen Strukturunterschied bestätigen, und auch zeigen, dass eine gleichzeitige Ionisierung der Isomere zumindest im Fall der Hexamere BT_3 und B_3T_3 nicht möglich ist. In der APC-Trennung dieser Oligomere konnten gute Trennungsergebnisse der Proben unterschiedlicher Kettenlängen mit dem optimierten System erreicht werden. Die Optimierung wurde hinsichtlich der Temperatur, Flussgeschwindigkeit und Säulenlänge bzw. Porengröße der Säulen durchgeführt. Die Übertragung der optimierten Bedingungen auf die Kopplung zeigte gute Ergebnisse mit einer möglichen Identifizierung der Oligomere in einer Mischung anhand ihres Massenpeaks und der CCS.

Ein weiterer Teil dieser Arbeit war die Untersuchung des Abbaus eines lichtsensitiven oNB-basierenden Polymers. Es konnte festgestellt werden, dass die Bestrahlung der Probe mit UV-Licht zum Abbau der Polymerkette unter Ausbildung verschiedener Zwischenprodukte führt. Der Abbau der Kette erfolgt dabei nicht strikt linear. Die Untersuchungen zeigten einen zwischenzeitigen Anstieg der Molmassen einzelner Endgruppenserien. Dies legt eine Kombination einzelner Ketten nahe. Die gefundenen Endgruppenserien in den Kopplungsmessungen konnten über ESI-MS und MALDI-MS Experimente bestätigt werden, wobei die Kopplungsmessung Vorteile bezüglich des Signal-Rausch-Verhältnisses und Aufklärung über die Herkunft der einzelnen Endgruppenserien leistet.

Als letzter Bereich dieser Arbeit sollte das IMS Verhalten von drei Polymertypen verglichen werden. Die Homopolymere PEG und PMMA legten dabei die Extremwerte fest. Das Kamm-Polymer POEGMA wurde als strukturelle Kombination dieser beiden Homopolymere untersucht. Die Synthese der Kamm-Polymere war in zwei Fällen erfolgreich. Die Massenuntersuchung der Kamm-Polymere zeigte eine Reihe von unbekannten Endgruppenserien, wobei in beiden Fällen hauptsächlich Serien mit einer konkreten Anzahl von PEG-Einheiten in der Seitenkette gefunden werden konnten. Der Vergleich der zweifachgeladenen Zustände der beiden Homopolymere und der Kamm-Polymere mit drei

unterschiedlich langen PEG-Seitenketten zeigte nicht den erhofften Übergang vom IMS-Verhalten des PMMA-Homopolymers zu dem des PEG-Homopolymers. Aufgrund der sehr kurzen Seitenketten kann ein solcher Übergang anhand der getätigten Untersuchungen nicht ausgeschlossen werden.

6. Ausblick

Der Fokus dieser Arbeit lag auf der Kopplung aus APC und MS. Die Separation und Identifizierung der sequenzdefinierten Oligomere zeigen sich als vielversprechendes Einsatzgebiet dieser Kopplung. Die sehr kurzen Messzeiten und die simple Auswertung zeigen deutliche Vorteile gegenüber den herkömmlichen Methoden. Es zeigt sich dabei auch das Potential für die Trennung von Stereoisomeren. Dennoch ist an dieser Stelle noch viel Optimierung vor allem im Bereich der IMS notwendig. Die sehr kleinen Driftzeitunterschiede müssen noch deutlich verbessert werden, um diese Methode erfolgreich einzusetzen. Dazu gibt es verschiedene Möglichkeiten. Zum einen kann die IMS-Zelle in ihrer Geometrie auf eine bessere Auflösung angepasst werden. Hier konnte bereits mit der cIMS gezeigt werden, dass eine längere Driftzelle die Trennung der Isomere deutlich verbessert. Auch eine Änderung des Driftgases kann eine Verbesserung der Trennung bewirken. Hierbei können die bereits erfolgreich eingesetzten quantenchemischen Berechnungen noch weiter genutzt werden. Mit Hilfe von weiterentwickelten Programmen zur Berechnung von CCS-Werten aus theoretischen Daten, wie zum Beispiel *Ion Mobility Spectrometry Suite* (IMoS)^[201], ist die Simulation des Einflusses verschiedener Driftgase möglich. Dieses Programm erlaubt eine detaillierte Einstellung der IMS-Bedingungen in den Berechnungen. Hinsichtlich der unerwarteten Entwicklungen der Driftzeiten der Oktamere BT_4 und B_4T_4 wäre auch die Untersuchung weiterer Oktamere und noch längerer Ketten interessant. Um einen tatsächlichen Einsatz dieser Methode in der Dekodierung zu ermöglichen ist eine weitere Ausweitung der Monomersysteme notwendig, sowie komplexere Sequenzfolgen. Die Untersuchung der Stereoisomere MP-3 und MP-5 zeigte interessante Ergebnisse, welche auf eine mögliche Trennung von Stereoisomeren mit den gleichen Sequenzen hinweist. Dieser Bereich zeigt noch großes Potential zu Erforschung der Unterschiede in der Struktur von Stereoisomere in der Gasphase und dem Einfluss der Stereozentren auf den Trennvorgang der IMS. Die Messungen der Mischungen der Strukturisomere zeigte, dass der Ionisationsprozess innerhalb von Mischungen eine wichtige Rolle spielt. An dieser Stelle wären die weitere Untersuchung und ein tieferes Verständnis dieser Prozesse wichtig, sodass bessere Bedingungen gefunden werden können, um sicherzustellen, dass alle Bestandteile eine Mischung ionisiert und detektiert werden können.

Der Abbauprozess von UV-spaltbaren Polymeren lässt sich mit der Kopplung gut verfolgen, eine Änderung der Säulen in der APC Trennung kann die Auflösung der Ergebnisse dabei noch weiter verbessern, sodass auch eine Aufklärung des Abbaumechanismus mit diesem System möglich wäre. Die Kopplung erweist sich dabei als leistungsfähige Methodik zur Verbesserung der Auflösung der erhaltenen Spektren und als gutes Hilfsmittel zur erleichterten Interpretation.

Der Exkurs in den Vergleich des IMS-Verhaltens verschiedener Polymere birgt noch weiteres Potential zur Untersuchung. Da die untersuchten Kamm-Polymere mit 4 bis 7 PEG-Einheiten sehr kurze Seitenketten aufweisen, ist es hier sinnvoll, um abschließende Aussagen über das Verhalten treffen zu können, längere Seitenketten zu untersuchen. Zusätzlich kann auch eine theoretische Modellierung der Polymere mit unterschiedlichen Kettenlängen interessante Einblicke in die Gründe für die Faltungsprozesse geben.

7. Anhang

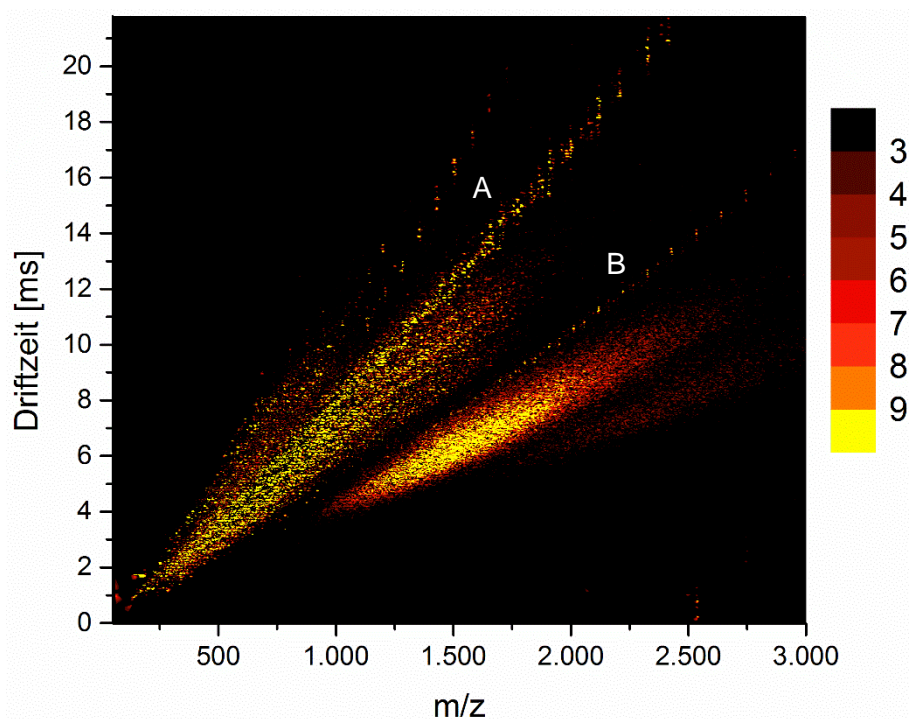


Abbildung 109: IMS-Spektrum der oNB-Probe ohne Bestrahlung mit der einfachgeladenen Serie (A) und der zweifachgeladenen Serie (B).

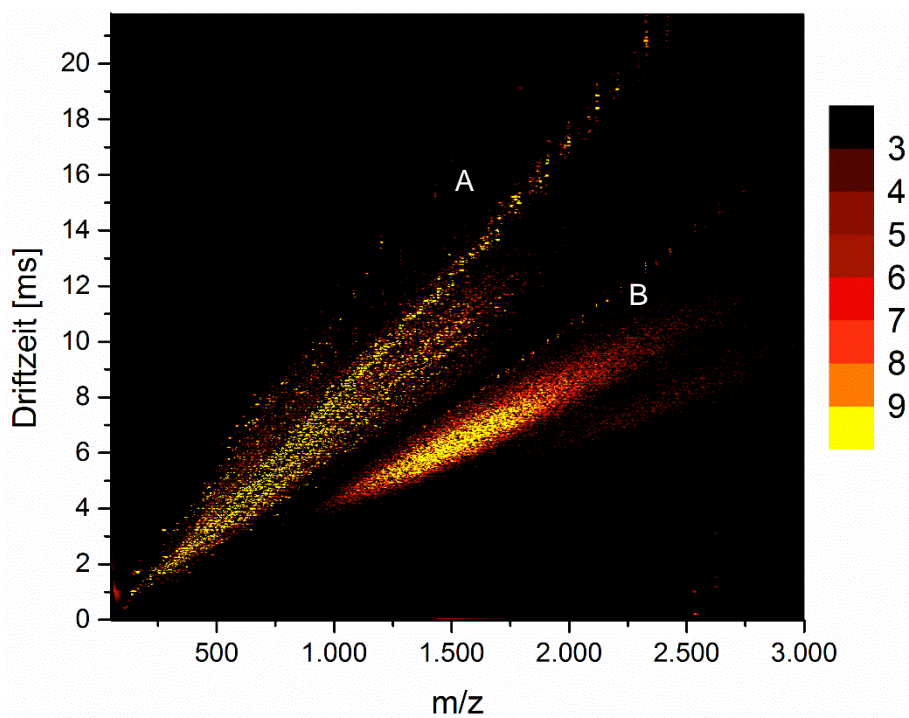


Abbildung 110: IMS-Spektrum der oNB-Probe mit 30 Sekunden Bestrahlung mit der einfachgeladenen Serie (A) und der zweifachgeladenen Serie (B).

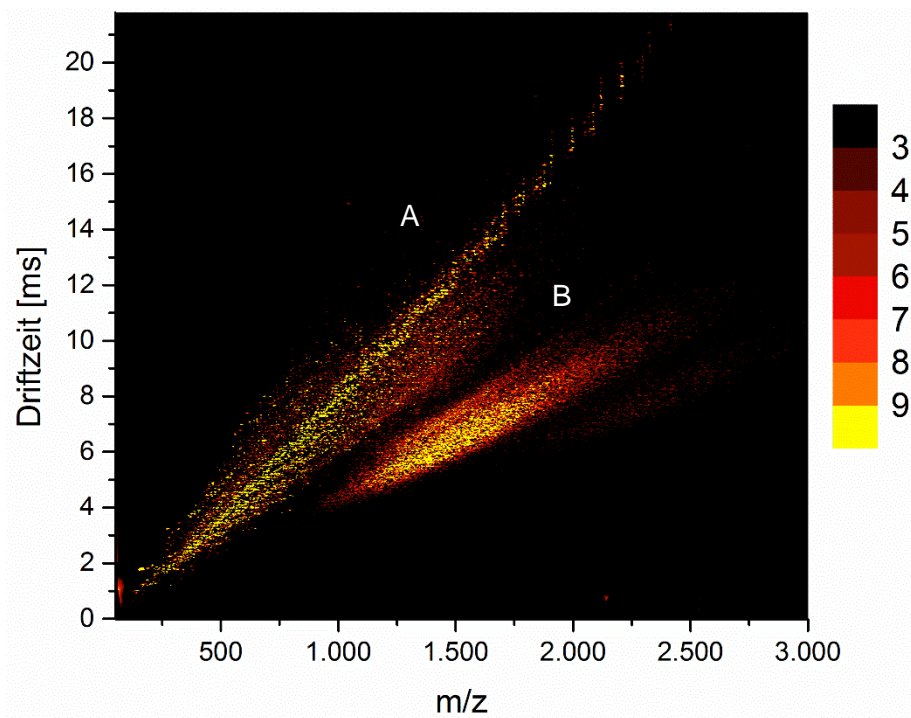


Abbildung 111: IMS-Spektrum der oNB-Probe mit 90 Sekunden Bestrahlung mit der einfachgeladenen Serie (A) und der zweifachgeladenen Serie (B).

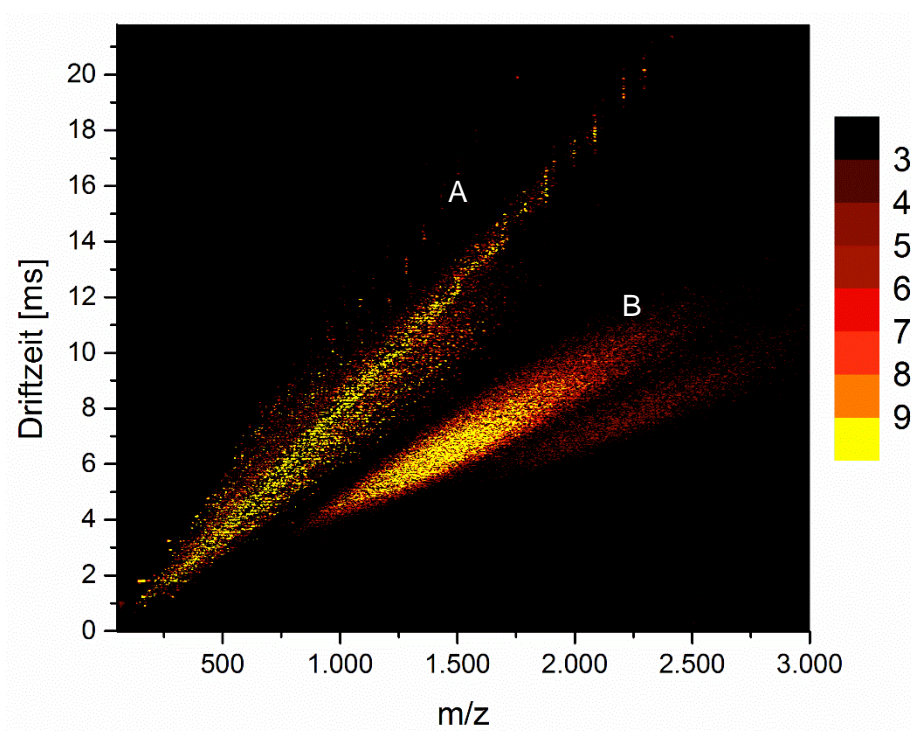


Abbildung 112: IMS-Spektrum der oNB-Probe mit 150 Sekunden Bestrahlung mit der einfachgeladenen Serie (A) und der zweifachgeladenen Serie (B).

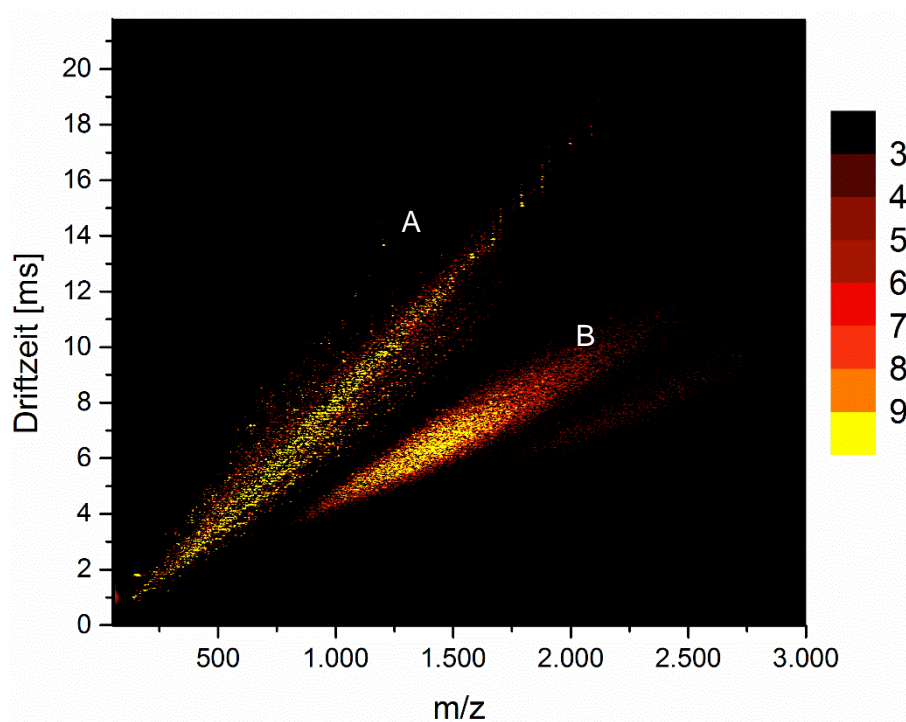


Abbildung 113: IMS-Spektrum der oNB-Probe mit 240 Sekunden Bestrahlung mit der einfachgeladenen Serie (A) und der zweifachgeladenen Serie (B).

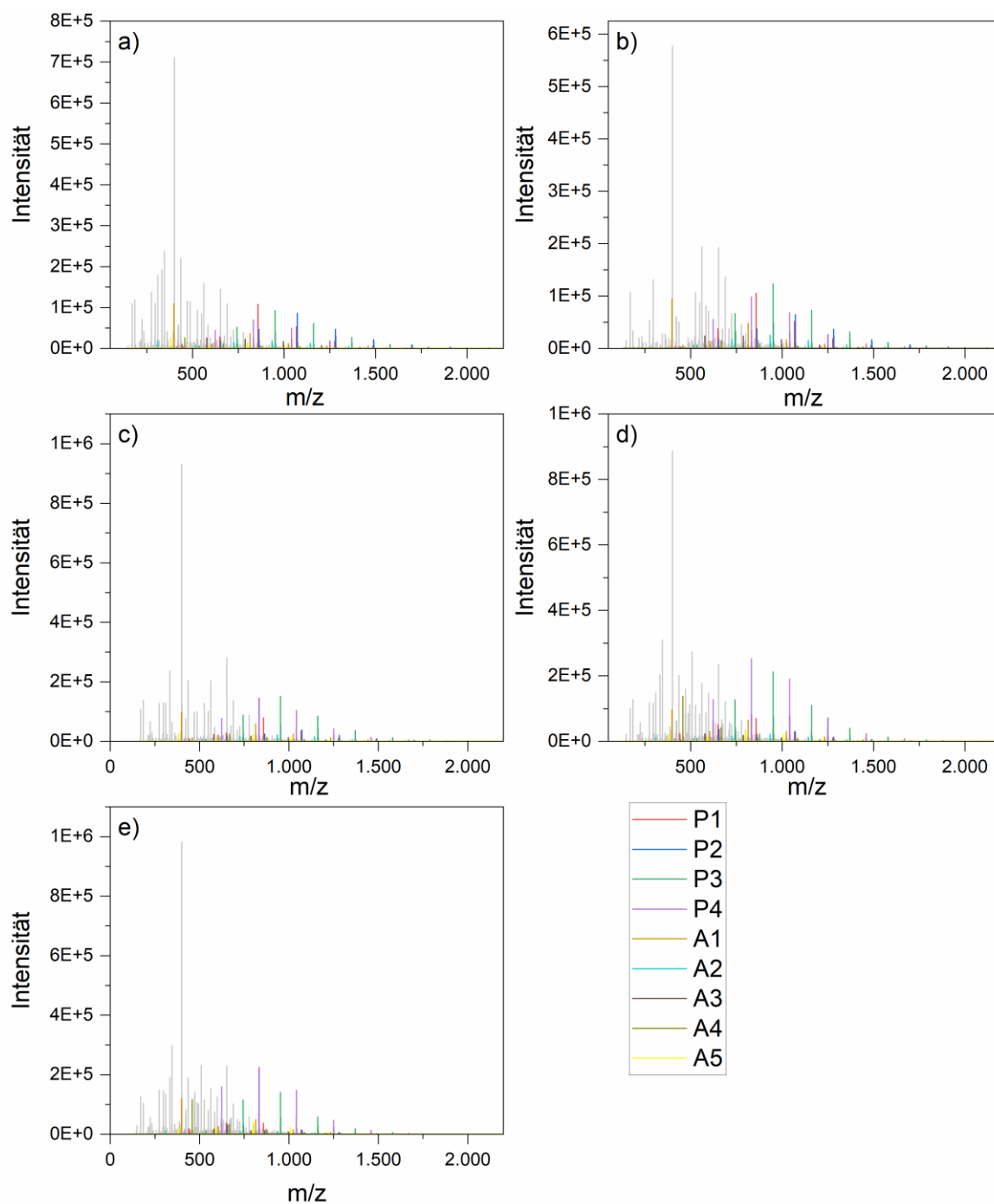


Abbildung 114: Massespektren der Einfachladung der ESI Messungen der oNB-Probe ohne Bestrahlung (a), mit 30 Sekunden (b), 90 Sekunden (c), 150 Sekunden (d) und 240 Sekunden (e) Bestrahlung.

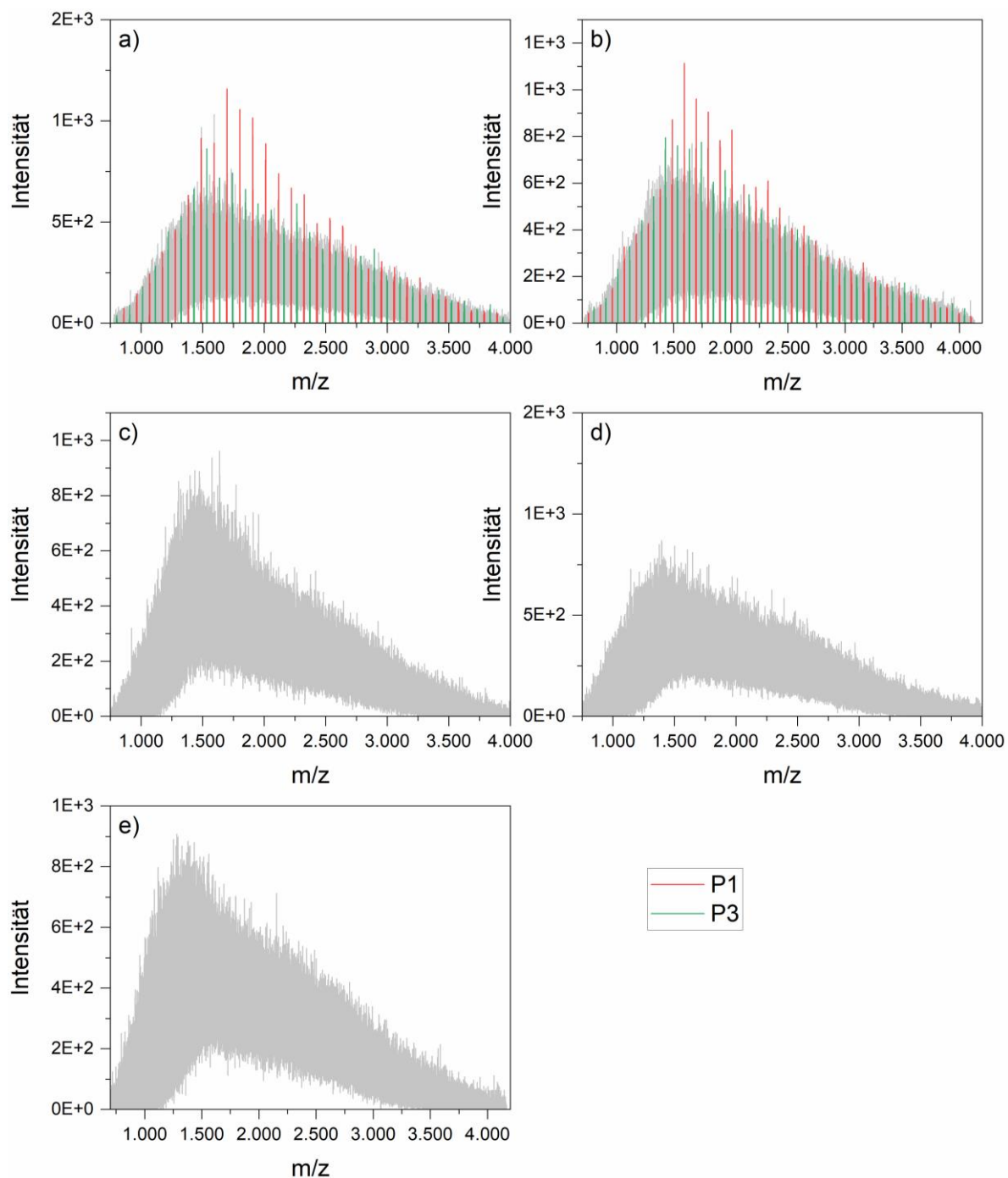


Abbildung 115: Massespektren der Zweifachladung der ESI Messungen der oNB-Probe ohne Bestrahlung (a), mit 30 Sekunden (b), 90 Sekunden (c), 150 Sekunden (d) und 240 Sekunden (e) Bestrahlung.

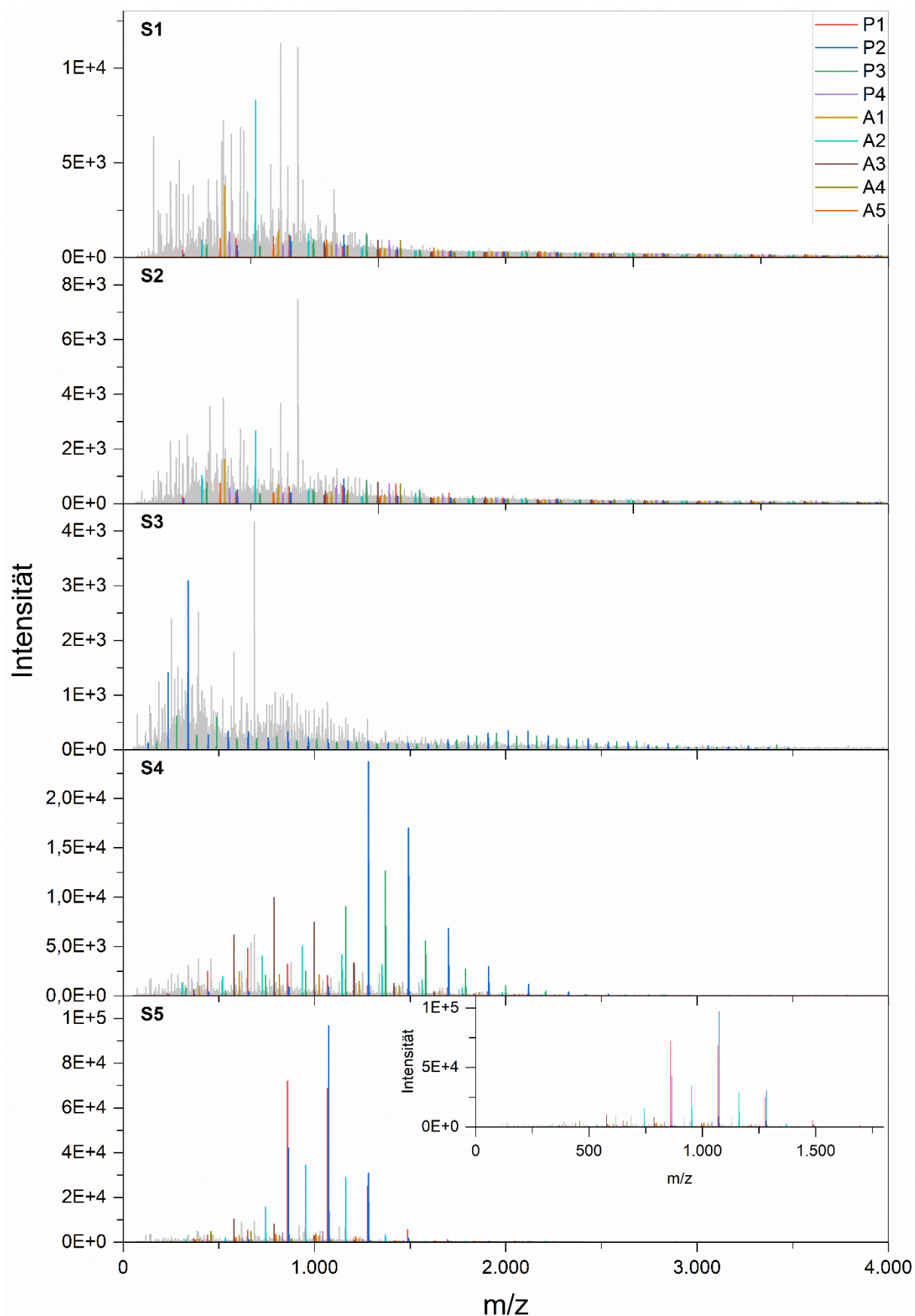


Abbildung 116: Massespektren der fünf Abschnitte des oNB-Polymers mit 30 Sekundenbestrahlung in der APC-ESI-MS Messung.

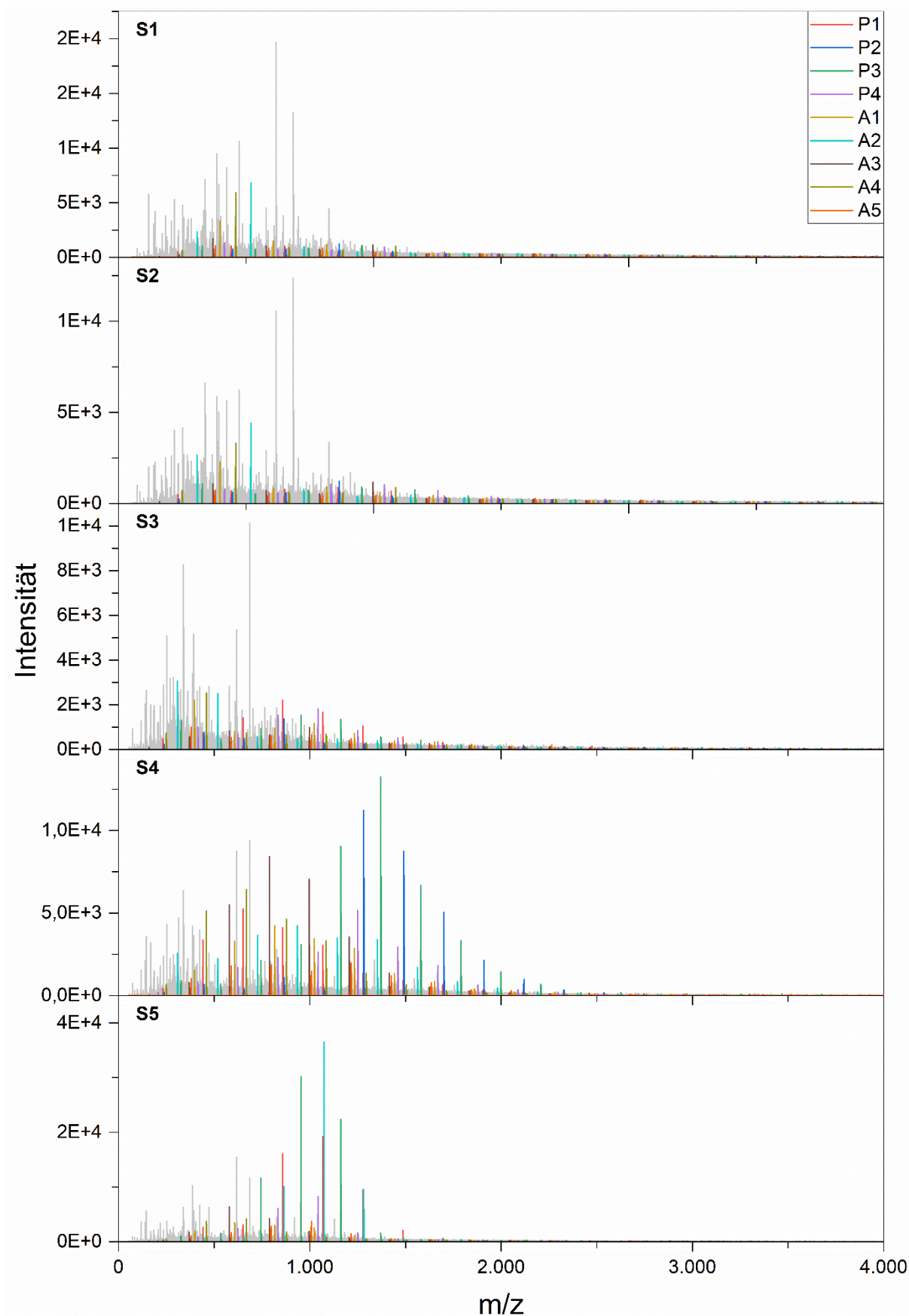


Abbildung 117: Massespektren der fünf Abschnitte des oNB-Polymers mit 90 Sekundenbestrahlung in der APC-ESI-MS Messung.

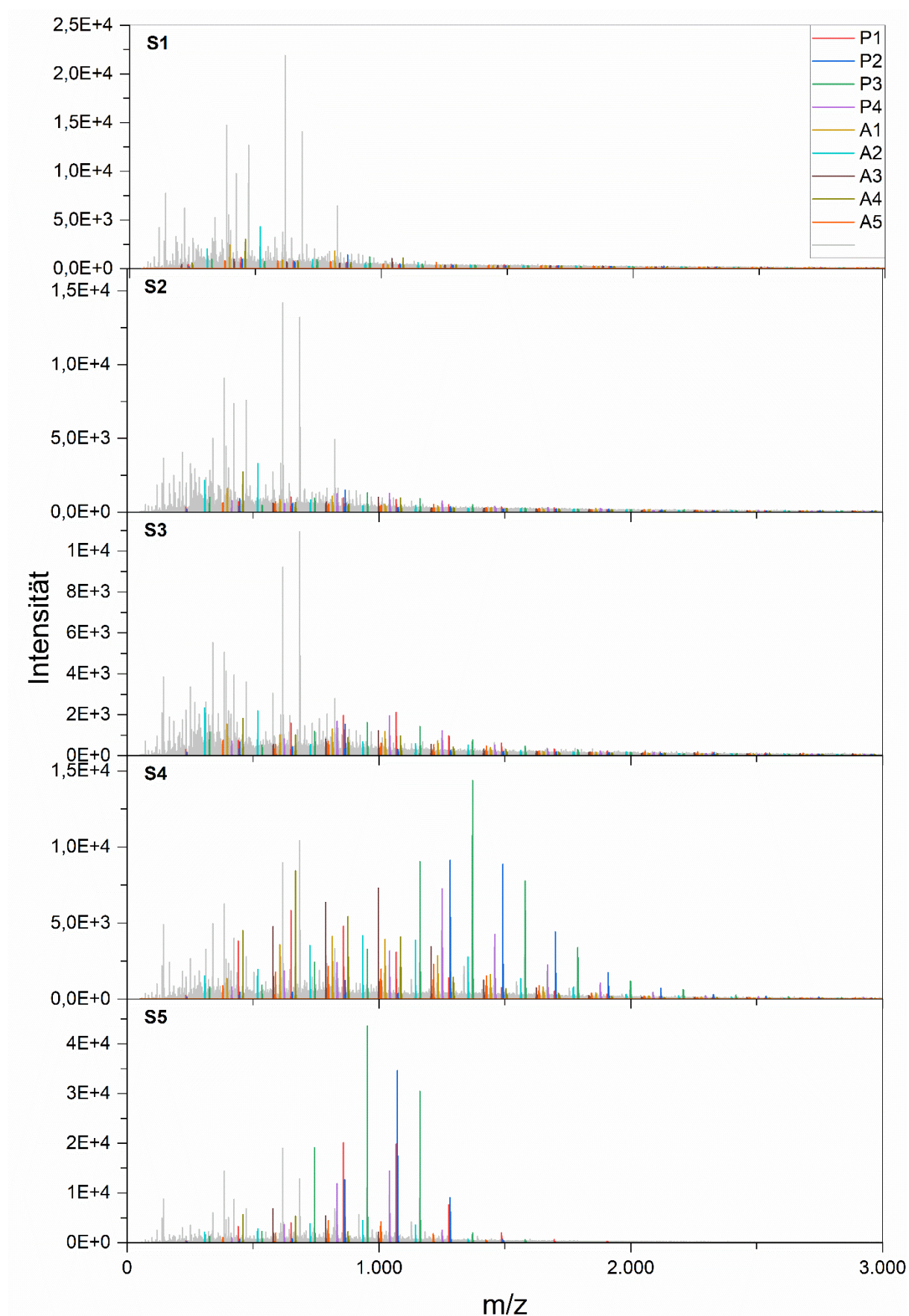


Abbildung 118: Massespektren der fünf Abschnitte des oNB-Polymers mit 150 Sekundenbestrahlung in der APC-ESI-MS Messung.

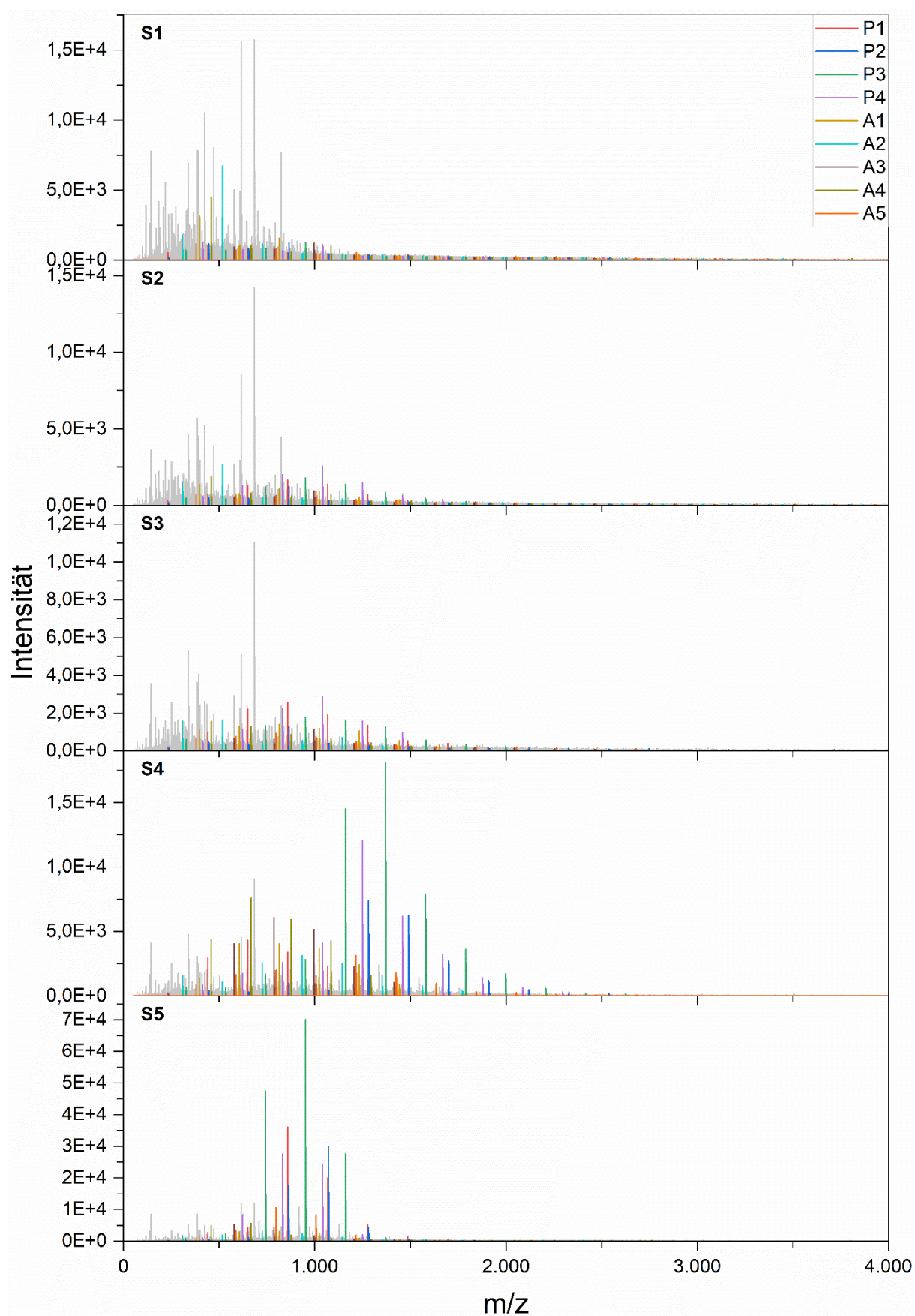


Abbildung 119: Massespektren der fünf Abschnitte des oNB-Polymers mit 240 Sekundenbestrahlung in der APC-ESI-MS Messung.

8. Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril
AIBN	Azobisisobutyronitril
AMS	Beschleuniger-Massenspektrometrie
APC	Advanced Polymer Chromatography™
APCI	Atmosphärendruck-Chemische-Ionisation
APPI	Atmosphärendruck-Photoionisation
ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization
CCS	Kollisionsquerschnitt (<i>engl.</i> collision cross section)
CEM	Elektronenvervielfacherröhre. (<i>engl.</i> Channel electron multiplier)
CI	Chemische Ionisation
CID	stoßinduzierte Dissoziation (<i>engl.</i> collision-induced dissociation)
cIMS	zyklische TW-IMS
CPDB	2-Cyano-2-propyl-dithiobenzoat
CRM	Modell des geladenen Rückstands (<i>engl.</i> charged residue model)
CsI	Caesiumiodid
DBP	Dibenzoylperoxid
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DMA	Differentialmobilitätsanalysator
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DT-IMS	Driftröhren-IMS (<i>engl.</i> Drift tube IMS)
ECD	Elektroneneinfangdissoziation (<i>engl.</i> electron-capture dissociation)
EHB Packung	Ethylen verbrückten Hybrid-Packung
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
ESI-MS	Elektrospray-Massenspektrometrie
FAB	Fast Atom Bombardment
FAIMS	Hochfeld-Ionenmobilitätsseparation mit asymmetrischer Wellenform (<i>engl.</i> High field asymmetric waveform IMS)
FD	Felddesorption
FI	Feldionisation
GC	Gaschromatographie
GD	Glimmentladung
GLC	Gas-Flüssig-Chromatographie (<i>engl.</i> gas-liquid-chromatography)
GPC	Gelpermeationschromatographie

GSC	Gas-Fest-Chromatographie (<i>engl.</i> gas-solid-chromatography)
HF	Hartree-Fock-Theorie
HFS	Hartree-Fock-Slater-Näherung
HK	Hohenberg-Kohn-Theoremen
HPLC	Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie (<i>engl.</i> high performance liquid chromatography)
ICP	Induktiv gekuppeltes Plasma
IEM	Modell der Ionenverdampfung (<i>engl.</i> ion evaporation model)
IMS	Ionenmobilitätsseparation
IMSⁿ	Mehrfach IMS
IR	Infrarot
KI	Kaliumiodid
LC	Flüssigchromatographie (<i>engl.</i> liquid chromatography)
LCPA	lokale Kollisionswahrscheinlichkeitsnäherung
LDI	Laserdesorption/Ionisation
LiI	Lithiumiodid
LSIMS	Liquid Secondary Ion-MS
m/z	Masse-zu-Ladung
MALDI	Matrix-unterstützte Laserdesorption/Ionisation (<i>engl.</i> matrix-assisted laser desorption / ionization)
MALDI-MS	Matrix-unterstützte Laserdesorption/Ionisation-Massenspektrometrie
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
NaI	Natriumiodid
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie (<i>engl.</i> nuclear magnetic resonance spectroscopy)
NMRP	Nitroxide-mediated Radical Polymerization
OEGMA	Oligoethylenglykolmethacrylat
oNB	o-Nitrobenzyl-derivate
PA	Projektionsnäherung
PEEK	Poly(etheretherketon)
PEEK SIL	Poly(etheretherketon) beschichtetes Silika
PEG	Poly(ethylenglykol)
PMMA	Poly(methylmethacrylat)
POEGMA	Poly(oligoethylenglykolmethacrylat)
PRE	<i>Persistent Radical Effect</i>

PSA	der projizierten Überlagerungsnäherung
RAFT	Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerisation
RAFT	<i>Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization</i>
RF	Radiofrequenz
RI	Brechungsindex (<i>engl.</i> refractive index)
SEC	Größenausschlusschromatographie (<i>engl.</i> size exclusion chromatography)
SEM	Sekundärelektronenvervielfacher (<i>engl.</i> Secondary electron multiplier)
SEP	Einzelelutionsprofil (<i>engl.</i> single elution profile)
SID	Ionisation durch Stöße mit der Oberfläche von Festkörpern (<i>engl.</i> surface-induced dissociation)
SIMS	Sekundärionen-Massenspektrometrie
SS	Funkenionisation
TF	Thomas-Fermi-Theorie
THF	Tetrahydrofuran
TI	Thermische Ionisation
TIC	Totalionenstrom (<i>engl.</i> total ion current)
TM	Trajektorienmethode
ToF	Flugzeitanalysator (<i>engl.</i> : time-of-flight)
TW-IMS	die Wanderwellen IMS (<i>engl.</i> traveling wave IMS)
UHPLC	Ultrahochleistungs-Flüssigchromatographie (<i>engl.</i> ultra-high-performance liquid chromatography)
XIC	Extrahiertes Ionenchromatogramm (<i>engl.</i> extracted ion chromatogram)

9. Formelverzeichnis

$$E_{el} = qU = ezU = E_{kin} = \frac{1}{2} m_i v^2 \quad (1)$$

mit E_{el} : elektrische Energie
 q : Ladung des Ions
 U : Potential
 e : Elementarladung
 z : Anzahl der Elementarladungen des Ions
 E_{kin} : kinetische Energie
 m_i : Masse des Ions i
 v : Geschwindigkeit des Ions

$$v = \sqrt{\frac{2ezU}{m_i}} \quad (2)$$

mit v : Geschwindigkeit des Ions
 U : Potential
 e : Elementarladung
 m_i : Masse des Ions i

$$t = \frac{s}{v} \quad (3)$$

mit t : benötigte Zeit
 v : Geschwindigkeit des Ions
 s : zurückgelegte Strecke

$$\frac{m_i}{z} = \frac{2eUt^2}{s^2} \quad (4)$$

mit m_i : Masse des Ions i
 z : Anzahl der Elementarladungen des Ions
 U : Potential
 e : Elementarladung
 t : benötigte Zeit
 s : zurückgelegte Strecke

$$v = KE \quad (5)$$

mit v : Geschwindigkeit des Ions
 K : Mobilität des Ions [cm^2/Vs]
 E : elektrisches Feld [V/cm]

$$t_D = L/KE \quad (6)$$

mit t_D : Driftzeit des Ions [s]
 K : Mobilität des Ions [cm^2/Vs]
 L : Länge der Driftröhre [cm]
 E : elektrisches Feld [V/cm]

$$K = \frac{3}{16} \sqrt{\frac{2\pi}{\mu k_B T}} \frac{ze}{N\Omega} \quad (7)$$

mit K : Mobilität des Ions [cm^2/Vs]
 $\mu = \frac{mM}{m+M}$: reduzierte Masse des Ionen (Masse m) – Gas (Masse M) – Paares [u]
 k_B : Boltzmann – Konstante [$1,38065 \cdot 10^{-23} \text{ C}$]
 T : Temperatur des Gases [K]
 z : Anzahl der Elementarladungen [$-$]
 e : Elementarladung [$1,602 \cdot 10^{-19} \text{ C}$]
 N : Zahlendichte des Driftgases [m^{-3}]
 Ω : Kollisionsquerschnitt [\AA^2]

$$c = v_{\max}/s = KE_{\max}/s \quad (8)$$

mit c : Verhältnis der max. Geschwindigkeiten und der Strecke
 s : Länge der elektrischen Welle [m/s]
 K : Mobilität des Ions [cm^2/Vs]
 v_{\max} : maximale Geschwindigkeit des Ions [m/s]
 E_{\max} : max. elektrisches Feld [V/cm]

$$t_D = Ls/(KE)^2 \quad (9)$$

mit t_D : Driftzeit des Ions [s]
 L : Länge der Driftröhre [cm]
 s : Länge der elektrischen Welle [m/s]
 K : Mobilität des Ions [cm^2/Vs]
 E : elektrisches Feld [V/cm]

$$R \sim \sqrt{\frac{LEq}{T}} \quad (10)$$

mit R : Auflösungsvermögen
 L : Länge der Driftröhre [cm]
 E : elektrisches Feld [V/cm]
 q : Ladung des Ions
 T : Temperatur des Gases [K]

$$A_M \rightleftharpoons A_S$$

$$K_C = \frac{(a_A)_S}{(a_A)_M} \quad (11)$$

mit A_x : Anteil von Analytkomponente A in Phase x
 M : mobile Phase
 S : stationäre Phase
 K_C : Verteilungskonstante
 $(a_y)_x$: Aktivität der Analytkomponente y in Phase x

$$K_C = \frac{(c_A)_S}{(c_A)_M} \quad (12)$$

mit K_C : Verteilungskonstante
 $(c_y)_x$: Konzentration der Analytkomponente y in Phase x
 M : mobile Phase
 S : stationäre Phase

$$t_R = t_S + t_M \quad (13)$$

mit t_R : Retentionszeit [s]
 t_S : Aufenthaltsdauer in stationärer Phase [s]
 t_M : Aufenthaltsdauer in mobiler Phase \equiv Totzeit [s]

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad (14a)$$

$$\bar{u} = \frac{L}{t_M} \quad (14b)$$

mit \bar{v} : mittlere lineare Geschwindigkeit des Analyten [cm/s]
 \bar{u} : mittlere lineare Geschwindigkeit der Moleküle der mobilen Phase [cm/s]
 L : Länge der Säule [cm]
 t_R : Retentionszeit [s]
 t_M : Aufenthaltsdauer in mobiler Phase \equiv Totzeit [s]

$$k_x = \frac{K_x \cdot V_S}{V_M} = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (15)$$

mit k_x : Retentionsfaktor des Analyten x
 K_x : Verteilungskonstante des Analyten x
 V_S : Volumen der stationären Phase
 V_M : Volumen der mobilen Phase
 t_R : Retentionszeit [s]
 t_M : Aufenthaltsdauer in mobiler Phase \equiv Totzeit [s]

$$N = \frac{L}{H} \quad (16a)$$

$$H = \frac{\sigma^2}{L} \quad (16b)$$

mit N : Bodenzahl \equiv Anzahl an theoretischen Böden
 H : Bodenhöhe [cm]
 L : Länge der Säule [cm]
 σ^2 : Varianz der Messung [cm²]

$$\sigma = \frac{L \cdot w}{4 \cdot t_R} \quad (17)$$

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2 \quad (17a)$$

$$H = \frac{L \cdot w^2}{16 \cdot t_R^2} \quad (17b)$$

mit N : Bodenzahl \equiv Anzahl an theoretischen Böden
 H : Bodenhöhe [cm]
 L : Länge der Säule [cm]
 σ^2 : Varianz der Messung [cm²]
 t_R : Retentionszeit [s]
 w : Basispeakbreite [s]

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{w_{1/2}} \right)^2 \quad (18)$$

mit N : Bodenzahl \equiv Anzahl an theoretischen Böden
 t_R : Retentionszeit [s]
 $w_{1/2}$: Halbwertsbreite des Peaks [s]

$$R_s = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{w_A + w_B} \quad (19)$$

mit $(t_R)_x$: Retentionszeit der Komponente x [s]
 w_x : Basispeakbreite der Komponente x [s]
 R_s : chromatographische Auflösung

$$V_R = t_R \cdot F \quad (20a)$$

$$V_M = t_M \cdot F \quad (20b)$$

mit V_R : Retentionvolumen [ml]
 V_M : Totvolumen [ml]
 F : Volumenstrom [ml/s]
 t_R : Retentionszeit [s]
 t_M : Aufenthaltsdauer in mobiler Phase \equiv Totzeit [s]

$$V_E = V_0 + K \cdot V_p \quad (21)$$

mit V_E : Elutionsvolumen [ml]
 V_0 : Zwischenkornvolumen \equiv Totvolumen [ml]
 V_p : Porenvolumen [ml]
 K : zugänglicher Anteil des Porenvolumens \equiv Verteilungskoeffizient

$$\lg(M) = a - b \cdot V_E \quad (22)$$

mit M : Molmasse [g/mol]
 a, b : Regressionsparameter
 V_E : Elutionsvolumen [ml]

$$n_l \propto n_0 + (n_p - n_0)c \quad (23)$$

mit n_l : Brechungsindex der Lösung
 n_0 : Brechungsindex des reinen Lösungsmittels
 n_p : Brechungsindex des reinen Analyten
 c : Analytkonzentration [g/L]

$$A = \lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (24)$$

mit A : Absorbanz
 I_0 : Intensität des einfallenden Lichts
 I : Intensität des transmittierten Lichts
 ε : molarer Extinktionskoeffizient [dm³/(mol · cm)]
 c : Konzentration der absorbierenden Substanz [mol/dm³]
 d : Schichtdicke [dm]

$$\overline{M}_n = \frac{1}{N} \sum_i N_i \cdot M_i \quad (25)$$

mit \overline{M}_n : zahlenmittlere Molmasse [g/mol]
 N_i : Zahl der Moleküle mit Molmasse M_i
 M_i : Molmasse der Moleküle i [g/mol]
 N : Gesamtzahl der Moleküle

$$\overline{M}_w = \frac{1}{m} \sum_i m_i \cdot M_i = \frac{\sum_i N_i \cdot M_i^2}{\sum_i N_i \cdot M_i} \quad (26)$$

mit \overline{M}_w : gewichtsmittlere Molmasse [g/mol]
 m_i : Masse der Moleküle mit Molmasse M_i [g]
 M_i : Molmasse der Moleküle i [g/mol]
 m : Gesamtmasse der Moleküle [g]
 N_i : Zahl der Moleküle mit Molmasse M_i

$$\overline{M}_\eta = \left(\frac{\sum_i N_i \cdot M_i^{\alpha+1}}{\sum_i N_i \cdot M_i} \right)^{1/\alpha} \quad (35)$$

mit \overline{M}_η : viskositätsewichtete mittlere Molmasse [g/mol]
 N_i : Zahl der Moleküle mit Molmasse M_i
 M_i : Molmasse der Moleküle i [g/mol]
 α : Exponent der Kuhn – Mark – Houwink – Sakurada – Gleichung

$$\overline{M}_z = \frac{\sum_i N_i \cdot M_i^3}{\sum_i N_i \cdot M_i^2} \quad (28)$$

mit \overline{M}_z : Z – gewichtete mittlere Molmasse [g/mol]
 N_i : Zahl der Moleküle mit Molmasse M_i
 M_i : Molmasse der Moleküle i [g/mol]

$$\mathfrak{D} = \frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n} \geq 1 \quad (29)$$

mit \mathfrak{D} : Polydispersität
 \overline{M}_w : gewichtsmittlere Molmasse [g/mol]
 \overline{M}_n : zahlenmittlere Molmasse [g/mol]

$$E[\rho] = E_{kin} + E_{p,EK} + E_{p,EE} + E_{Aus}[\rho] \quad (30)$$

mit $E[\rho]$: Energie des Moleküls
 ρ : Einteilchendichte
 E_{kin} : kinetische Energie
 $E_{p,EK}$: potentielle Energie der Elektron – Kern – Anziehung
 $E_{p,EE}$: potentielle Energie der Elektron – Elektron – Abstoßung
 $E_{Aus}[\rho]$: Austausch – Korrelations – Energie

$$\frac{\partial E[\rho]}{\partial \rho(r)} = \mu \quad (31)$$

mit $E[\rho]$: Energie des Moleküls
 ρ : Einteilchendichte
 μ : Lagrange Parameter
 r : Ort

$$\frac{\partial T_0[\rho]}{\partial \rho(r)} + v_{eff}(r) = \mu \quad (32)$$

mit T_0 : kinetische Energie ohne Wechselwirkungen
 ρ : Einteilchendichte
 v_{eff} : lokales, effektives Potential
 μ : Lagrange Parameter
 r : Ort

$$v_{eff}(r) = v_{ext}(r) + \int \frac{\rho(r')d^3r'}{|r-r'|} + v_{xc}[\rho(r)] \quad (33)$$

mit T_0 : kinetische Energie ohne Wechselwirkungen
 v_{eff} : lokales, effektives Potential
 r : Ort
 v_{ext} : externes Potential
 v_{xc} : Austauschkorrelationspotential

$$\left\{ \frac{-\Delta}{2} + v_{eff}(r) \right\} \Psi_i(r) = \left\{ \frac{-\Delta}{2} + v_{ext}(r) + \int \frac{\rho(r')d^3r'}{|r-r'|} + v_{xc}[\rho(r)] \right\} \Psi_i(r) \quad (34)$$

mit Δ : Laplace – Operator
 Ψ_i : Eigenfunktion der Orbitale
 v_{eff} : lokales, effektives Potential
 r : Ort
 v_{ext} : externes Potential
 v_{xc} : Austauschkorrelationspotential
 ρ : Einteilchendichte

10. Literaturverzeichnis

- [1] a) K. Hatada, T. Kitayama, *NMR Spectroscopy of Polymers*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2004**; b) J. L. Koenig, *Spectroscopy of Polymers*, Elsevier, New York, **1999**.
- [2] a) H. G. Barth, *Modern Methods of Polymer Characterization*, Wiley, New York, **1991**; b) D. Held, P. Kilz, *Macromol. Symp.* **2005**, 231, 145–165.
- [3] E. Uliyanchenko, S. van der Wal, P. J. Schoenmakers, *Polym. Chem.* **2012**, 3, 2313.
- [4] M. Otto, *Analytische Chemie*, **2019**.
- [5] A. M. Striegel, *Modern size-exclusion liquid chromatography. Practice of gel permeation and gel filtration chromatography*, Wiley, Hoboken, NJ, **2009**.
- [6] E. S.P. Bouvier, S. M. Koza, *TrAC - Trend. Anal. Chem.* **2014**, 63, 85–94.
- [7] C. Barner-Kowollik (Ed.) *Mass spectrometry in polymer chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2012**.
- [8] M. Atakay, F. Aksakal, U. Bozkaya, B. Salih, C. Wesdemiotis, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2020**, 31, 441–449.
- [9] N. E. Alexander, J. P. Swanson, A. Joy, C. Wesdemiotis, *Int. J. Mass Spectrom.* **2018**, 429, 151–157.
- [10] Q. Duez, H. Metwally, S. Hoyas, V. Lemaury, J. Cornil, J. de Winter, L. Konermann, P. Gerbault, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, 22, 4193–4204.
- [11] J. P. Williams, M. Grabenauer, R. J. Holland, C. J. Carpenter, M. R. Wormald, K. Giles, D. J. Harvey, R. H. Bateman, J. H. Scrivens, M. T. Bowers, *Int. J. Mass Spectrom.* **2010**, 298, 119–127.
- [12] J.-A. Amalian, T. T. Trinh, J.-F. Lutz, L. Charles, *Anal. Chem.* **2016**, 88, 3715–3722.
- [13] L. Charles, C. Laure, J.-F. Lutz, R. K. Roy, *Macromolecules* **2015**, 48, 4319–4328.
- [14] L. Charles, C. Laure, J.-F. Lutz, R. K. Roy, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2016**, 30, 22–28.
- [15] U. S. Gunay, B. E. Petit, D. Karamessini, A. Al Ouahabi, J.-A. Amalian, C. Chendo, M. Bouquay, D. Gigmes, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chem* **2016**, 1, 114–126.
- [16] H. Kienitz, F. Aulinger (Eds.) *Massenspektrometrie*, Weinheim/Bergstraße : Verl. Chemie, **1968**.
- [17] J. H. Gross (Ed.) *Massenspektrometrie. Ein Lehrbuch*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2013**.
- [18] D. L. Andrews (Ed.) *Encyclopedia of applied spectroscopy*, Wiley-VCH, Weinheim, **2009**.
- [19] T. D. Märk, *Int. J. Mass Spectrom.* **1982**, 45, 125–145.
- [20] T. D. Märk in *Gaseous ion chemistry and mass spectrometry* (Ed.: J. H. Futrell), **1986**.
- [21] R. de Wall, *Z. Naturforsch. Pt. A* **1977**, 32A, 968–971.

- [22] K. Habfast in *Massenspektrometrie* (Eds.: H. Kienitz, F. Aulinger), Verlag Chemie, Weinheim, **1968**.
- [23] F. J. Vastola, A. J. Pirone, *Advan. Mass Spectrom.* **1968**, 4, 107.
- [24] N. C. Fenner, N. R. Daly, *Rev. Sci. Instrum.* **1966**, 37, 1068–1070.
- [25] M. A. Posthumus, P. G. Kistemaker, H. L. Meuzelaar, M. C. ten Noever de Brauw, *Anal. Chem.* **1978**, 50, 985–991.
- [26] C. L. Wilkins, D. A. Weil, C. L. Yang, C. F. Ijames, *Anal. Chem.* **1985**, 57, 520–524.
- [27] H. J. Räder, T.-T.-T. Nguyen, K. Müllen, *Macromolecules* **2014**, 47, 1240–1248.
- [28] F. Hillenkamp, J. Peter-Katalinić, *MALDI MS. A practical guide to instrumentation, methods and applications*, Wiley - VCH, Weinheim, **2007**.
- [29] a) M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, F. Hillenkamp, *Int. J. Mass Spectrom.* **1987**, 78, 53–68; b) M. Karas, A. Ingendoh, U. Bahr, F. Hillenkamp, *Biol. Mass Spectrom.* **1989**, 18, 841–843; c) M. Karas, D. Bachmann, F. Hillenkamp, *Anal. Chem.* **1985**, 57, 2935–2939.
- [30] a) R. J. Cotter, *Time-of-Flight Mass Spectrometry: Instrumentation and Applications in Biological Research. Time-of-Flight Mass Spectrometry: Instrumentation and Applications in Biological Research*, **1997**; b) W.-D. Lehmann, *Massenspektrometrie in der Biochemie*, Spektrum Akad. Verl., Heidelberg, **1996**; c) A. Wieser, L. Schneider, J. Jung, S. Schubert, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, 93, 965–974.
- [31] a) J. Drzeżdżon, D. Jacewicz, A. Sielicka, L. Chmurzyński, *TrAC - Trend. Anal. Chem.* **2019**, 115, 121–128; b) G. Montaudo, F. Samperi, M. S. Montaudo, *Prog. Polym. Sci.* **2006**, 31, 277–357; c) R. Murgasova, D. M. Hercules, *Int. J. Mass Spectrom.* **2003**, 226, 151–162.
- [32] a) K. Dreisewerd, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 395–426; b) W. C. Chang, L. C. Huang, Y.-S. Wang, W.-P. Peng, H. C. Chang, N. Y. Hsu, W. B. Yang, C. H. Chen, *Anal. Chim. Acta.* **2007**, 582, 1–9; c) I.-C. Lu, C. Lee, Y.-T. Lee, C.-K. Ni, *Annu Rev Anal Chem* **2015**, 8, 21–39; d) K. M. Kirmess, R. Knochenmuss, G. J. Blanchard, G. R. Kinsel, *J. Mass Spectrom.* **2016**, 51, 79–85.
- [33] a) G. Westmacott, W. Ens, F. Hillenkamp, K. Dreisewerd, M. Schürenberg, *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, 221, 67–81; b) C. Menzel, K. Dreisewerd, S. Berkenkamp, F. Hillenkamp, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2002**, 13, 975–984; c) M. Karas, U. Bahr, I. Fournier, M. Glückmann, A. Pfenninger, *Int. J. Mass Spectrom.* **2003**, 226, 239–248.
- [34] M. Karas, M. Glckmann, J. Schfer, *J. Mass Spectrom.* **2000**, 35, 1–12.
- [35] a) P.-C. Liao, J. Allison, *J. Mass Spectrom.* **1995**, 30, 408–423; b) B. H. Wang, K. Dreisewerd, U. Bahr, M. Karas, F. Hillenkamp, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1993**, 4, 393–398.

- [36] C. D. Calvano, A. Monopoli, T. R. Cataldi, F. Palmisano, *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, *410*, 4015–4038.
- [37] a) F. Hillenkamp, M. Karas, R. C. Beavis, B. T. Chait, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1193A–1203A; b) M. Karas, U. Bahr, U. Gießmann, *Mass Spectrom. Rev.* **1991**, *10*, 335–357.
- [38] a) R. E. Ardrey, *Liquid chromatography - mass spectrometry. An introduction*, Wiley, Chichester, **2006**; b) D. T. Rossi, M. W. Sinz (Eds.) *Mass spectrometry in drug discovery*, Dekker, New York, **2002**; c) C. A. Schalley, *Modern Mass Spectrometry*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2003**.
- [39] K. Busch, *Spectrosc.* **2012**, *27*, 20–22,24,26.
- [40] a) M. a. H. Amad, N. B. Cech, G. S. Jackson, C. G. Enke, *J. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 784–789; b) S. Cristoni, L. R. Bernardi, *Mass Spectrom. Rev.* **2003**, *22*, 369–406; c) C. A. Schalley, *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *194*, 11–39.
- [41] A. J. Heck, R. H. van den Heuvel, *Mass Spectrom. Rev.* **2004**, *23*, 368–389.
- [42] a) G. I. Taylor, *Proc. R. Soc. Lond. A* **1964**, *280*, 383–397; b) J. Zeleny, *Phys. Rev.* **1917**, *10*, 1–6.
- [43] a) I. Marginean, P. Nemes, L. Parvin, A. Vertes, *Appl. Phys. Lett.* **2006**, *89*, 64104; b) P. Nemes, I. Marginean, A. Vertes, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 3105–3116; c) M. S. Wilm, M. Mann, *Int. J. Mass Spectrom.* **1994**, *136*, 167–180.
- [44] Rayleigh, *London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci.* **1882**, *14*, 184–186.
- [45] J. La Fernández de Mora, *Annu. Rev. Fluid Mech.* **2007**, *39*, 217–243.
- [46] P. Kebarle, U. H. Verkerk, *Mass Spectrom. Rev.* **2009**, *28*, 898–917.
- [47] M. Dole, L. L. Mack, R. L. Hines, R. C. Mobley, L. D. Ferguson, M. B. Alice, *J. Chem. Phys.* **1968**, *49*, 2240–2249.
- [48] B. E. Winger, K. J. Light-Wahl, R. R. Ogorzalek Loo, H. R. Udseth, R. D. Smith, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1993**, *4*, 536–545.
- [49] a) J. V. Iribarne, *J. Chem. Phys.* **1976**, *64*, 2287; b) B. A. Thomson, J. V. Iribarne, *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4451–4463.
- [50] J. N. Smith, R. C. Flagan, J. L. Beauchamp, *J Phys Chem A* **2002**, *106*, 9957–9967.
- [51] A. J. Dempster, *Phys. Rev.* **1918**, *11*, 316–325.
- [52] D. J. Douglas, *Mass Spectrom. Rev.* **2009**, *28*, 937–960.
- [53] B. A. Mamyrin, *Int. J. Mass Spectrom.* **1994**, *131*, 1–19.
- [54] R. J. Cotter, *Instrum. Sci. Technol.* **1998**, *26*, 433–434.
- [55] M. Guilhaus, *Biol. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 1519–1532.
- [56] D. Ioanoviciu, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 985–997.
- [57] a) M. Vestal, K. Hayden, *Int. J. Mass Spectrom.* **2007**, *268*, 83–92; b) M. L. Vestal, *Biol. Mass Spectrom.* **2009**, *44*, 303–317.

- [58] D. W. Koppenaal, C. J. Barinaga, M. B. Denton, R. P. Sperline, G. M. Hieftje, G. D. Schilling, F. J. Andrade, J. H. Barnes, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 418A-427A.
- [59] C. T. Pillinger, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1998**, 12, 749.
- [60] K. L. Busch, *Spectrosc.* **2000**, 15, 28–33.
- [61] a) A. J. Boerboom, *Org. Mass Spectrom.* **1991**, 26, 929–935; b) E. Kurz, *Am. Lab.* **1979**, 11, 67-70,72-4,76-8,81-2; c) J. Ladislav Wiza **1979**.
- [62] H. H. Hill, W. F. Siems, R. H. St. Louis, D. G. McMinn, *Anal. Chem.* **1990**, 62, 1201A-1209A.
- [63] G. A. Harris, S. Graf, R. Knochenmuss, F. M. Fernández, *Analyst* **2012**, 137, 3039–3044.
- [64] A.-C. Hauschild, T. Schneider, J. Pauling, K. Rupp, M. Jang, J. I. Baumbach, J. Baumbach, *Metabolites* **2012**, 2, 733–755.
- [65] E. A. Mason, E. W. McDaniel, *NASA STI/Recon Technical Report A* **1988**, 89, 15174.
- [66] G. A. Eiceman, Z. Karpas, H. H. Hill Jr, *Ion mobility spectrometry*, CRC press, **2013**.
- [67] a) A. B. Kanu, P. Dwivedi, M. Tam, L. Matz, H. H. Hill Jr, *J. Mass Spectrom.* **2008**, 43, 1–22; b) R. Mukhopadhyay, *Anal. Chem.* **2008**, 80, 7918–7920.
- [68] V. Gabelica, E. Marklund, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2018**, 42, 51–59.
- [69] a) H. Borsdorf, G. A. Eiceman, *Appl. Spectrosc. Rev.* **2006**, 41, 323–375; b) I. A. Buryakov, E. V. Krylov, E. G. Nazarov, U.K. Rasulev, *Int. J. Mass Spectrom.* **1993**, 128, 143–148.
- [70] P. Intra, N. Tippayawong, *Maejo Int. J. Sci. Technol.* **2007**, 1, 120–136.
- [71] a) D. R. Hernandez, J. D. Debord, M. E. Ridgeway, D. A. Kaplan, M. A. Park, F. Fernandez-Lima, *Analyst* **2014**, 139, 1913–1921; b) J. Neves, *Int. J. Ion Mobil. Spec.* **2003**, 6, 1–3.
- [72] a) E. Sacristan, A. A. Solis, *EEE Trans. Instrum. Meas.* **1998**, 47, 769–775; b) P. Mochalski, J. Rudnicka, A. Agapiou, M. Statheropoulos, A. Amann, B. Buszewski, *J. Breath Res.* **2013**, 7, 26002.
- [73] G. Vidal-de-Miguel, M. Macía, P. Pinacho, J. Blanco, *Anal. Chem.* **2012**, 84, 8475–8479.
- [74] S. J. Valentine, R. T. Kurulugama, B. C. Bohrer, S. I. Merenbloom, R. A. Sowell, Y. Mechref, D. E. Clemmer, *Int. J. Mass Spectrom.* **2009**, 283, 149–160.
- [75] a) K. Giles, S. D. Pringle, K. R. Worthington, D. Little, J. L. Wildgoose, R. H. Bateman, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2004**, 18, 2401–2414; b) K. Giles, J. L. Wildgoose, D. J. Langridge, I. Campuzano, *Int. J. Mass Spectrom.* **2010**, 298, 10–16.
- [76] A. A. Shvartsburg, R. D. Smith, *Anal. Chem.* **2008**, 80, 9689–9699.
- [77] K. A. Morrison, B. H. Clowers, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2018**, 42, 119–129.

- [78] G. R. Hilton, K. Thalassinou, M. Grabenauer, N. Sanghera, S. E. Slade, T. Wyttenbach, P. J. Robinson, T. J. Pinheiro, M. T. Bowers, J. H. Scrivens, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2010**, *21*, 845–854.
- [79] B. T. Ruotolo, J. L. Benesch, A. M. Sandercock, S.-J. Hyung, C. V. Robinson, *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 1139–1152.
- [80] K. Takebayashi, K. Hirose, Y. Izumi, T. Bamba, E. Fukusaki, *J. Biosci. Bioeng.* **2013**, *115*, 332–338.
- [81] J. P. Williams, T. Bugarcic, A. Habtemariam, K. Giles, I. Campuzano, P. M. Rodger, P. J. Sadler, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2009**, *20*, 1119–1122.
- [82] G. Paglia, G. Astarita, *Methods Mol. Biol.* **2019**, *1978*, 39–53.
- [83] J.-A. Amalian, G. Cavallo, A. Al Ouahabi, J.-F. Lutz, L. Charles, *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 7266–7272.
- [84] J. T. Moseley, I. R. Gatland, D. W. Martin, E. W. McDaniel, *Phys. Rev.* **1969**, *178*, 234–239.
- [85] a) P. R. Kemper, N. F. Dupuis, M. T. Bowers, *Int. J. Mass Spectrom.* **2009**, *287*, 46–57; b) S. L. Koeniger, S. I. Merenbloom, D. E. Clemmer, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 7017–7021.
- [86] a) A. T. Kirk, M. Allers, P. Cochems, J. Langejuergen, S. Zimmermann, *Analyst* **2013**, *138*, 5200–5207; b) P. Dugourd, R. R. Hudgins, D. E. Clemmer, M. F. Jarrold, *Rev. Sci. Instrum.* **1997**, *68*, 1122–1129.
- [87] a) J. C. May, D. H. Russell, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2011**, *22*, 1134–1145; b) J. Ujma, K. Giles, M. Morris, P. E. Barran, *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 9469–9478.
- [88] S. I. Merenbloom, R. S. Glaskin, Z. B. Henson, D. E. Clemmer, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 1482–1487.
- [89] K. Giles, J. Ujma, J. Wildgoose, S. Pringle, K. Richardson, D. Langridge, M. Green, *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 8564–8573.
- [90] R. H. Bateman, K. Giles, S. D. Pringle, J. L. Wildgoose, *Closed loop ion guide with pseudo-potential well*, **2016**, Google Patents.
- [91] K. Giles, J. P. Williams, I. Campuzano, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 1559–1566.
- [92] E. Mack, *J. Am. Chem. Soc.* **1925**, *47*, 2468–2482.
- [93] C. Larriba, C. J. Hogan, *J. Comput. Phys.* **2013**, *251*, 344–363.
- [94] M. F. Mesleh, J. M. Hunter, A. A. Shvartsburg, G. C. Schatz, M. F. Jarrold, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 16082–16086.
- [95] C. Bleiholder, N. F. Dupuis, T. Wyttenbach, M. T. Bowers, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 172–177.
- [96] C. Bleiholder, T. Wyttenbach, M. T. Bowers, *Int. J. Mass Spectrom.* **2011**, *308*, 1–10.

- [97] V. D'Atri, M. Porrini, F. Rosu, V. Gabelica, *Biol. Mass Spectrom.* **2015**, *50*, 711–726.
- [98] E. G. Marklund, M. T. Degiacomi, C. V. Robinson, A. J. Baldwin, J. L. Benesch, *Structure* **2015**, *23*, 791–799.
- [99] C. Bleiholder, *Analyst* **2015**, *140*, 6804–6813.
- [100] a) I. Campuzano, M. F. Bush, C. V. Robinson, C. Beaumont, K. Richardson, H. Kim, H. I. Kim, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 1026–1033; b) H. I. Kim, H. Kim, E. S. Pang, E. K. Ryu, L. W. Beegle, J. A. Loo, W. A. Goddard, I. Kanik, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 8289–8297; c) K. Takaya, T. Kaneko, H. Tanuma, T. Nishide, H. Sugiyama, N. Nakano, H. Nagashima, Y. Seto, *Int. J. Ion Mobil. Spec.* **2016**, *19*, 227–232.
- [101] H. Kim, H. I. Kim, P. V. Johnson, L. W. Beegle, J. L. Beauchamp, W. A. Goddard, I. Kanik, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 1928–1936.
- [102] A. A. Shvartsburg, M. F. Jarrold, *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *261*, 86–91.
- [103] M. N. Young, C. Bleiholder, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2017**, *28*, 619–627.
- [104] a) Alexandre A Shvartsburg, Bei Liu, Martin F. Jarrold, Kai-Ming Ho, A. A. Shvartsburg, B. Liu, M. F. Jarrold, K.-M. Ho, *J. Chem. Phys.* **2000**, *112*, 4517–4526; b) Y. Alexeev, D. G. Fedorov, A. A. Shvartsburg, *J Phys Chem A* **2014**, *118*, 6763–6772.
- [105] E. G. Marklund, *Int. J. Mass Spectrom.* **2015**, *386*, 54–55.
- [106] B. Paizs, *Int. J. Mass Spectrom.* **2015**, *378*, 360–363.
- [107] A. Politis, A. Y. Park, Z. Hall, B. T. Ruotolo, C. V. Robinson, *J. Mol. Biol.* **2013**, *425*, 4790–4801.
- [108] M. T. Degiacomi, J. L. Benesch, *Analyst* **2016**, *141*, 70–75.
- [109] M. S. Tswett, *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **1906**, 316–323.
- [110] D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Instrumentelle Analytik. Grundlagen - Geräte - Anwendungen*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, **2013**.
- [111] A. J. Martin, R. L. Synge, *Biochem. J.* **1941**, *35*, 1358–1368.
- [112] F. L. Dorman, J. J. Whiting, J. W. Cochran, J. Gardea-Torresdey, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 4775–4785.
- [113] C.-S. Wu, *Handbook of size exclusion chromatography and related techniques*, Marcel Dekker, New York, **2004**.
- [114] G. Vancoillie, M. Vergaelen, R. Hoogenboom, *J. Chromatogr. A* **2016**, *1478*, 43–49.
- [115] Waters Corporation, *ACQUITY Advanced Polymer Chromatography (APC) Application Notebook*, Milford, USA, **2015**.
- [116] M. Summers, J. Shia, K. J. Fountain, *Solvent Flexibility for Size-Based Polymer Analysis Using the Advanced Polymer Chromatography*, Milford, USA, **2013**.
- [117] M. Summers, M. O'Leary, *High Speed, High Resolution Analysis of Low Molecular Weight Polymers Using the Advanced Polymer Chromatography (APC) System*, Milford, USA, **2013**.

- [118] a) K. L. Busch, G. L. Glish, S. A. MacLuckey, *Mass spectrometry, mass spectrometry. Techniques and applications of tandem mass spectrometry*, VCH Publ, New York, **1988**; b) F. W. McLafferty (Ed.) *A Wiley-Interscience Publication*, Wiley, New York, **1983**.
- [119] J. V. Johnson, R. A. Yost, P. E. Kelley, D. C. Bradford, *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 2162–2172.
- [120] a) K. Levsen, H. Schwarz, *Angew. Chem.* **1976**, *88*, 589–599; b) F. W. McLafferty, P. F. Bente, R. Kornfeld, S.-C. Tsai, I. Howe, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 2120–2129.
- [121] J. L. Holmes, *Biol. Mass Spectrom.* **1985**, *20*, 169–183.
- [122] M.A. Mabud, M. J. Dekrey, R. Graham Cooks, *Int. J. Mass Spectrom.* **1985**, *67*, 285–294.
- [123] R. G. Cooks, S. H. Hoke, K. L. Morand, S. A. Lammert, *Int. J. Mass Spectrom.* **1992**, *118-119*, 1–36.
- [124] a) M. E. Bier, J. W. Amy, R. G. Cooks, J.E.P. Syka, P. Ceja, G. Stafford, *Int. J. Mass Spectrom.* **1987**, *77*, 31–47; b) V. H. Wysocki, J.-M. Ding, J. L. Jones, J. H. Callahan, F. L. King, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1992**, *3*, 27–32.
- [125] A. R. Dongré, Á. Somogyi, V. H. Wysocki, *Biol. Mass Spectrom.* **1996**, *31*, 339–350.
- [126] R. A. Zubarev, N. L. Kelleher, F. W. McLafferty, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3265–3266.
- [127] B. Cerda, D. Horn, K. Breuker, B. Carpenter, F. McLafferty, *Eur. J. Mass Spectrom.* **1999**, *5*, 335.
- [128] a) J. Axelsson, M. Palmblad, K. Håkansson, P. Håkansson, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1999**, *13*, 474–477; b) K. Håkansson, M. R. Emmett, C. L. Hendrickson, A. G. Marshall, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 3605–3610.
- [129] a) T. Fouquet, S. Humbel, L. Charles, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2011**, *22*, 649–658; b) M. Girod, R. Antoine, J. Lemoine, P. Dugourd, L. Charles, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 3259–3266; c) Yalcin, Gabryelski, Li, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 3847–3852.
- [130] a) G. Adamus, W. Sikorska, M. Kowalczyk, I. Noda, M. M. Satkowski, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2003**, *17*, 2260–2266; b) M. Girod, T. N. Phan, L. Charles, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2008**, *19*, 1163–1175; c) A. M. Yol, J. Janoski, R. P. Quirk, C. Wesdemiotis, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 9576–9582.
- [131] a) E. Rivera-Tirado, C. Wesdemiotis, *J. Mass Spectrom.* **2011**, *46*, 876–883; b) A. Adhiya, C. Wesdemiotis, *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, *214*, 75–88; c) A. M. Yol, C. Wesdemiotis, *React. Funct. Polym.* **2014**, *80*, 95–108.
- [132] H. Lam, R. Aebersold, *Methods Mol. Biol.* **2010**, *604*, 95–103.
- [133] S. Böcker, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2017**, *36*, 1–6.

- [134] P. W. Atkins, J. de Paula, M. Bär, *Physikalische Chemie*, Wiley-VCH Verl., Weinheim, **2013**.
- [135] B. Tieke, *Makromolekulare Chemie. Eine Einführung*, Wiley-VCH, Weinheim, **2014**.
- [136] K. Matyjaszewski, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **1996**, 1, 769–776.
- [137] a) G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Aust. J. Chem.* **2005**, 58, 379; b) J. Griffiths, *Anal. Chem.* **2008**, 80, 5678–5683; c) C. Boyer, M. H. Stenzel, T. P. Davis, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2011**, 49, 551–595; d) D. J. Siegwart, J. K. Oh, K. Matyjaszewski, *Prog. Polym. Sci.* **2012**, 37, 18–37.
- [138] H.-G. Elias, *Makromoleküle*, Wiley-VCH, Weinheim, **2009**.
- [139] M. D. Lechner, K. Gehrke, E. H. Nordmeier, *Makromolekulare Chemie. Ein Lehrbuch für Chemiker, Physiker, Materialwissenschaftler und Verfahrenstechniker*, Springer Spektrum, Berlin, **2014**.
- [140] a) H. Fischer, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3581–3610; b) A. Goto, T. Fukuda, *Prog. Polym. Sci.* **2004**, 29, 329–385; c) W. Tang, N. V. Tsarevsky, K. Matyjaszewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1598–1604.
- [141] a) T. G. Ribelli, F. Lorandi, M. Fantin, K. Matyjaszewski, *Macromol. Rapid. Commun.* **2019**, 40, e1800616; b) D. Gigmes (Ed.) *RSC polymer chemistry series*, No. 19, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2016**.
- [142] W. A. Braunecker, K. Matyjaszewski, *Prog. Polym. Sci.* **2007**, 32, 93–146.
- [143] G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 1133–1142.
- [144] G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Polymer* **2008**, 49, 1079–1131.
- [145] a) J.-F. Lutz, *Sequence-Controlled Polymers*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2018**; b) N. Badi, J.-F. Lutz, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 3383–3390; c) J. de Neve, J. J. Haven, L. Maes, T. Junkers, *Polym. Chem.* **2018**, 9, 4692–4705.
- [146] S. Martens, J. O. Holloway, F. E. Du Prez, *Macromol. Rapid. Commun.* **2017**, 38.
- [147] S. C. Solleder, R. V. Schneider, K. S. Wetzels, A. C. Boukis, M. A. Meier, *Macromol. Rapid. Commun.* **2017**, 38.
- [148] M. A. Meier, C. Barner-Kowollik, *Adv. Mater.* **2019**, 31, e1806027.
- [149] J.-F. Lutz, M. Ouchi, D. R. Liu, M. Sawamoto, *Science* **2013**, 341, 1238149.
- [150] a) D. Ponader, F. Wojcik, F. Beceren-Braun, J. Darnedde, L. Hartmann, *Biomacromolecules* **2012**, 13, 1845–1852; b) F. Shamout, L. Fischer, N. L. Snyder, L. Hartmann, *Macromol. Rapid. Commun.* **2019**, e1900473.
- [151] A. Al Ouahabi, M. Kotera, L. Charles, J.-F. Lutz, *ACS Macro Lett.* **2015**, 4, 1077–1080.
- [152] A. S. Knight, E. Y. Zhou, M. B. Francis, R. N. Zuckermann, *Adv. Mater.* **2015**, 27, 5665–5691.

- [153] Vasulinga T. Ravikumar, Tadeusz K. Wyrzykiewicz, Douglas L. Cole, *Tetrahedron* **1994**, 50, 9255–9266.
- [154] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149–2154.
- [155] R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. Kent, W. H. Moos, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10646–10647.
- [156] a) P. Espeel, L. L. Carrette, K. Bury, S. Capenberghs, J. C. Martins, F. E. Du Prez, A. Madder, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2013**, 52, 13261–13264; b) P. Espeel, F. E. Du Prez, *Eur. Poly. J.* **2015**, 62, 247–272.
- [157] S. Martens, J. van den Begin, A. Madder, F. E. Du Prez, P. Espeel, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 14182–14185.
- [158] J. O. Holloway, S. Aksakal, F. E. Du Prez, C. R. Becer, *Macromol. Rapid. Commun.* **2017**, 38.
- [159] J. O. Holloway, C. Mertens, F. E. Du Prez, N. Badi, *Macromol. Rapid. Commun.* **2019**, 40, e1800685.
- [160] J.-F. Lutz, *Macromol. Rapid. Commun.* **2017**, 38.
- [161] a) F. S. Bates, *Science* **1991**, 251, 898–905; b) Z. Li, E. Kesselman, Y. Talmon, M. A. Hillmyer, T. P. Lodge, *Science* **2004**, 306, 98–101.
- [162] M. A. Washington, D. J. Swiner, K. R. Bell, M. V. Fedorchak, S. R. Little, T. Y. Meyer, *Biomaterials* **2017**, 117, 66–76.
- [163] J. Steinkoenig, R. Aksakal, F. Du Prez, *Eur. Poly. J.* **2019**, 120, 109260.
- [164] a) S. Martens, A. Landuyt, P. Espeel, B. Devreese, P. Dawyndt, F. Du Prez, *Nat. Commun.* **2018**, 9, 4451; b) A. C. Boukis, M. A.R. Meier, *Eur. Poly. J.* **2018**, 104, 32–38.
- [165] a) J. Hofmann, H. S. Hahm, P. H. Seeberger, K. Pagel, *Nature* **2015**, 526, 241–244; b) J. N. Hoskins, S. Trimpin, S. M. Grayson, *Macromolecules* **2011**, 44, 6915–6918; c) M. D. Plasencia, D. Isailovic, S. I. Merenbloom, Y. Mechref, M. V. Novotny, D. E. Clemmer, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2008**, 19, 1706–1715; d) M. Zhu, B. Bendiak, B. Clowers, H. H. Hill, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, 394, 1853–1867.
- [166] a) D. K. Schneiderman, M. A. Hillmyer, *Macromolecules* **2017**, 50, 3733–3749; b) J. Zhou, M. Wu, Q. Peng, F. Jiang, H. Pan, B. Wang, S. Liu, Z. Wang, *Polym. Chem.* **2018**, 9, 2880–2886.
- [167] a) J. Sun, K. I. Aly, D. Kuckling, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2017**, 55, 2104–2114; b) J. Sun, K. I. Aly, D. Kuckling, *RSC Adv.* **2017**, 7, 12550–12560.
- [168] a) X. Hu, Y. Zhang, Z. Xie, X. Jing, A. Bellotti, Z. Gu, *Biomacromolecules* **2017**, 18, 649–673; b) D.-E. Liu, Q. Chen, Y.-B. Long, J. Ma, H. Gao, *Polym. Chem.* **2018**, 9, 228–235.
- [169] J. Sun, S. Fransen, X. Yu, D. Kuckling, *Polym. Chem.* **2018**, 9, 3287–3296.

- [170] a) W. L. Brooks, G. Vancoillie, C. P. Kabb, R. Hoogenboom, B. S. Sumerlin, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2017**, *55*, 2309–2317; b) Z. Zhang, N. Hadjichristidis, *ACS Macro Lett.* **2018**, *7*, 886–891.
- [171] a) C. T. Greco, V. G. Muir, T. H. Epps, M. O. Sullivan, *Acta Biomater* **2017**, *50*, 407–416; b) Z. Cao, Q. Bian, Y. Chen, F. Liang, G. Wang, *ACS Macro Lett.* **2017**, *6*, 1124–1128; c) J. Sun, W. Birnbaum, J. Anderski, M.-T. Picker, D. Mulac, K. Langer, D. Kuckling, *Biomacromolecules* **2018**, *19*, 4677–4690; d) J. Sun, T. Rust, D. Kuckling, *Macromol. Rapid. Commun.* **2019**, *40*, e1900348.
- [172] a) Z. Wang, H. Xia, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 2581–2585; b) H. Lea-Banks, M. A. O'Reilly, K. Hynynen, *J. Control. Release* **2019**, *293*, 144–154.
- [173] a) J. Wang, W. Zhang, Y. Qian, B. Deng, W. Tian, *Macromol. Mater. Eng.* **2016**, *301*, 1132–1141; b) M. Kwak, I. Jung, Y. G. Kang, D.-K. Lee, S. Park, *Nanoscale* **2018**, *10*, 18690–18695; c) T. Wang, R. Wang, Z. Chen, Q. Zhong, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 43455–43463.
- [174] I. Rosenbaum, R. Avinery, A. J. Harnoy, G. Slor, E. Tirosh, U. Hananel, R. Beck, R. J. Amir, *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 3457–3468.
- [175] a) F.-Y. Qiu, M. Zhang, F.-S. Du, Z.-C. Li, *Macromolecules* **2017**, *50*, 23–34; b) L. Zhao, C. Liu, Z. Qiao, Y. Yao, J. Luo, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 17888–17897.
- [176] a) M. Wei, Y. Gao, X. Li, M. J. Serpe, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 127–143; b) M. P. Ferreira, V. Talman, G. Torrieri et al., *Adv. Funct. Mater.* **2018**, *28*, 1705134; c) A. Michalski, M. Brzezinski, G. Lapienis, T. Biela, *Prog. Polym. Sci.* **2019**, *89*, 159–212.
- [177] a) T. Ramasamy, H. B. Ruttala, B. Gupta, B. K. Poudel, H.-G. Choi, C. S. Yong, J. O. Kim, *J. Control. Release* **2017**, *258*, 226–253; b) M. Karimi, A. Ghasemi, P. Sahandi Zangabad et al., *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 1457–1501; c) J. Anderski, L. Mahlert, J. Sun, W. Birnbaum, D. Mulac, S. Schreiber, F. Herrmann, D. Kuckling, K. Langer, *Int J Pharm* **2019**, *557*, 182–191.
- [178] J. Sun, D. Jung, T. Schoppa, J. Anderski, M.-T. Picker, Y. Ren, D. Mulac, N. Stein, K. Langer, D. Kuckling, *ACS Appl. Bio Mater.* **2019**, *2*, 3038–3051.
- [179] J. Sun, J. Anderski, M.-T. Picker, K. Langer, D. Kuckling, *Macromol. Chem. Phys.* **2019**, *220*, 1800539.
- [180] a) C. Benoit, S. Talitha, F. David, S. Michel, S.-J. Anna, A.-V. Rachel, W. Patrice, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 4512–4519; b) A.-K. Müller, D. Jung, J. Sun, D. Kuckling, *Polym. Chem.* **2020**, *11*, 721–733.
- [181] a) P. Weis, S. Wu, *Macromol. Rapid. Commun.* **2018**, *39*; b) D. Hu, Y. Li, Y. Niu, L. Li, J. He, X. Liu, X. Xia, Y. Lu, Y. Xiong, W. Xu, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 47929–47936; c) D. Wang, M. Wagner, A. K. Saydjari, J. Mueller, S. Winzen, H.-J. Butt, S. Wu, *Chemistry* **2017**, *23*, 2628–2634.

- [182] D. M. Henn, C. M. Lau, C. Y. Li, B. Zhao, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 2702–2712.
- [183] a) C. de Gracia Lux, A. Almutairi, *ACS Macro Lett.* **2013**, *2*, 432–435; b) C. de Gracia Lux, C. L. McFearin, S. Joshi-Barr, J. Sankaranarayanan, N. Fomina, A. Almutairi, *ACS Macro Lett.* **2012**, *1*, 922–926; c) J. Olejniczak, M. Chan, A. Almutairi, *Macromolecules* **2015**, *48*, 3166–3172.
- [184] a) R. G. Parr, R. G. Weitao, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*, Oxford University Press, New York, **1995**; b) R. M. Dreizler, E. K. Gross, *Density Functional Theory. An Approach to the Quantum Many-Body Problem*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **1990**.
- [185] M. Grodzicki in *Lexikon der Physik* (Eds.: U. Kilian, C. Weber), Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Neckar, **2003**.
- [186] J. P. Dahl, J. Avery (Eds.) *Local Density Approximations in Quantum Chemistry and Solid State Physics*, Springer US, Boston, MA, s.l., **1984**.
- [187] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev.* **1964**, *136*, B864-B871.
- [188] W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev.* **1965**, *140*, A1133-A1138.
- [189] T. D. Kühne, M. Krack, F. R. Mohamed, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *98*, 66401.
- [190] T. D. Kühne, M. Iannuzzi, M. Del Ben et al., *J. Chem. Phys.* **2020**, *152*, 194103.
- [191] W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, *J. Mol. Graph.* **1996**, *14*, 33–38.
- [192] K. Vanommeslaeghe, E. Hatcher, C. Acharya et al., *J. Comput. Chem.* **2010**, *31*, 671–690.
- [193] K. Vanommeslaeghe, E. P. Raman, A. D. Mackerell, *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*, 3155–3168.
- [194] W. Yu, X. He, K. Vanommeslaeghe, A. D. MacKerell, *J. Comput. Chem.* **2012**, *33*, 2451–2468.
- [195] D. Beglov, B. Roux, *J. Chem. Phys.* **1994**, *100*, 9050–9063.
- [196] F. D. Jochum, L. zur Borg, P. J. Roth, P. Theato, *Macromolecules* **2009**, *42*, 7854–7862.
- [197] J. R. Haler, D. Morsa, P. Lecomte, C. Jérôme, J. Far, E. de Pauw, *Methods* **2018**, *144*, 125–133.
- [198] D. Morsa, T. Defize, D. Dehareng, C. Jérôme, E. de Pauw, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 9693–9700.
- [199] U. Müller, *Anorganische Strukturchemie*, Vieweg + Teubner, Wiesbaden, **2009**.
- [200] M. F. Bush, I. D. Campuzano, C. V. Robinson, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 7124–7130.
- [201] "IMoSPEdia | Larriba's Research Lab", can be found under <http://www.imospedia.com/>, **2020**.

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die auf ihre eigene Art und Weise zu dieser Arbeit beigetragen haben.

An erster Stelle möchte ich daher Herr Prof. Dr. Dirk Kuckling meinen Dank aussprechen. Er hat mir nicht nur die Möglichkeit gegeben diese interessante Forschungsthematik zu bearbeiten, sondern mir auch in der gesamten Zeit meiner Promotion in fachlichen Fragen zur Seite gestanden.

Ebenso gilt mein Dank den aktuellen, und ehemaligen Mitgliedern der organischen Chemie der Universität, insbesondere den Mitgliedern des Arbeitskreises Kuckling. Die Unterstützung, welche ich durch diese Personen erhalten habe, waren vielfältig und ziemlich unterschiedlich. Ich danke daher stellvertretend für alle anderen Dr. Jingjiang Sun, Dr. Xiaoqian Yu und Tarik Rust für die bereitwillige Verfügungstellung von Proben oder sogar ihrer Anfertigung für meine Forschungszwecke. Besonders Annette Lefarth und Dr. Artjom Herberg möchte ich für die persönliche und fachliche Hilfe und Freundschaft danken.

Ebenso möchte ich mich bei Prof. Dr. Filip DuPrez und seinen Mitarbeitern Hatice Turgut und Chiel Mertens bedanken, die mit der Synthese und Beratung zu den sequenzdefinierten Oligomeren einen wesentlichen Beitrag zu dieser Arbeit geleistet haben. Genauso gilt an dieser Stelle mein Dank den Mitarbeitern der Firma Waters, welche mich nicht nur in Fragen zu den Geräten, sondern auch mit Ratschlägen und Materialien immer weitergeholfen haben. Besonders erwähnen möchte ich dabei Dr. Eleanor Riches, welche mich bei den Messungen an der zyklischen IMS unterstützt hat und mir während dieser Zeit einige typisch englischen Speisen und Getränke nähergebracht hat.

Der größte Dank außerhalb der fachlichen Unterstützung gilt natürlich meinen Freunden und meiner Familie. An erster Stelle möchte ich dabei meinen Ehemann, Patrik Berg, nennen. Er hat mich durch meine gesamte Studienzeit begleitet und dabei, vor allem in den letzten Monaten, mit großer Geduld meine Fragen und Wünsche beantwortet hat. Danke das du an meiner Seite bist. Auch meine Eltern und meine Schwestern haben mich immer unterstützt und so gut es ging geholfen. Ich danke ihnen, genauso wie der Familie meines Mannes für die Unterstützung und den Optimismus in schwierigeren Zeiten.

Ein wichtiger Dank gilt meinen Freunden aus dem Studium: Meinem Büronachbarn Carsten, welcher mich durch angeregte Gespräche immer in meinen Denkprozessen unterstützt hat und Yannik, welcher mich ebenso das ganze Studium begleitet hat und mir dabei nicht nur fachlich zur Seite stand. Meinen Freundinnen Sandra, Yvonne und Lisa danke ich dafür, dass sie trotz vollkommender Unwissenheit über mein Thema und der Chemie im Ganzen nicht aufgehört haben mir ihr Ohr zu leihen und sich über alles zu freuen was sie verstanden haben.

12. Eidesstaatliche Erklärung

Hiermit versichere ich, Marie-Theres Berg, die vorliegende Arbeit selbstständig, ohne Hilfe Dritter und nur mit den angegebenen Quellen und Hilfsmitteln angefertigt zu haben. Alle Stellen, die aus anderen Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht worden. Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner Prüfungsbehörde vorgelegt.

Marie-Theres Berg (*geb. Picker*)

Paderborn, den
Ort, Datum

13. Anerkennung der Promotionsordnung

Hiermit erkenne ich, Marie-Theres Berg, die Promotionsordnung der Fakultät für Naturwissenschaften der Universität Paderborn, welche am 12. November 2012 von der Universität erlassen wurde und durch die Satzung vom 30. Juni 2016 zuletzt geändert wurde, an. Bisher wurde weder an der Universität Paderborn noch an einer anderen Hochschule im In- oder Ausland ein Promotionsversuch unternommen.

Marie-Theres Berg (*geb. Picker*)

Paderborn, den

Ort, Datum