

**Entwicklung und Charakterisierung eines Aufbaus zur  
Photodissoziationsspektroskopie in einem  
FT-ICR Massenspektrometer**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

**DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN**

**(Dr. rer. nat.)**

Fakultät für Chemie und Biowissenschaften

Karlsruher Institut für Technologie (KIT) – Universitätsbereich  
genehmigte

**DISSERTATION**

von

**Dipl.-Chem. Florian Schinle**

aus Schramberg

Dekan: Prof. Dr. Martin Bastmeyer

Referent: PD Dr. Oliver Hampe

Korreferent: Prof. Dr. Rolf Schuster

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Juli 2013



## **Abstract**

**Development and characterization of a setup for photoinduced dissociation spectroscopy in a FT-ICR mass spectrometer.** In the present thesis photodissociation spectroscopy in a FT-ICR mass spectrometer is used for structure determination of singly and multiple charged anions with biological relevance.

**Keywords:** photo dissociation, IRMPD, UV/Vis, ion trap, FT-ICR, gas phase, structure determination, Leucine-Enkephalin, Adenosine Triphosphate, Adenosine Diphosphate, Metalloporphyrin, superoxocomplex,

## **Kurzfassung**

**Entwicklung und Charakterisierung eines Aufbaus zur Photodissoziationsspektroskopie in einem FT-ICR Massenspektrometer.** Die vorliegende Arbeit widmet sich der Photodissoziationsspektroskopie in einem FT-ICR Massenspektrometer zur Bestimmung der strukturellen Eigenschaften einfach und mehrfach geladener Anionen von biologischem Interesse.

**Schlagwörter:** Photodissoziationsspektroskopie, IRMPD, UV/Vis, Ionenfalle, FT-ICR, Gasphase, Strukturbestimmung, Leucin-Enkephalin, Adenosin Triphosphat, Adenosin Diphosphat, Metalloporphyrin, Superoxokomplex,



*“I want to stand as close to the edge as I can without going over. Out on the edge you see all the kinds of things you can't see from the center.”*

*Kurt Vonnegut*



---

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abstract .....</b>	<b>i</b>
<b>Kurzfassung.....</b>	<b>i</b>
<b>Inhaltsverzeichnis.....</b>	<b>v</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>vii</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Komponenten zur Photodissoziationsspektroskopie in einer Penningfalle .....</b>	<b>5</b>
2.1 FT-ICR Massenspektrometer.....	6
2.2 Ionenquelle.....	28
2.3 Ionentrichter und der Akkumulationshexapol .....	39
2.4 Lasersysteme .....	55
2.5 Computer-Steuerung des Experiments .....	62
2.6 Modifizierung des optischen Aufbaus für die parallele Einkopplung des mIR- und UV/Vis-Lasersystems .....	67
<b>3 Infrarotspektroskopie in einer Penningfalle.....</b>	<b>71</b>
3.1 Theorie der Infrarot Multi-Photonen Dissoziationsspektroskopie .....	72
3.2 Strukturaufklärung des Leucin Enkephalin .....	77
3.3 Untersuchung einfach und mehrfach deprotonierter ATP und ADP Systeme und ihrer Isotopomere.....	103
<b>4 UV/Vis -Spektroskopie in einer Penningfalle .....</b>	<b>141</b>
4.1 Theorie der UV/Vis Photodissoziationsspektroskopie .....	143
4.2 Untersuchung an mehrfach geladenen Metalloporphyrinen.....	149
<b>5 Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>197</b>

---

<b>Anhang A: Programmierungen</b> .....	<b>201</b>
A.1 Simion 8.0 Geometriedaten des Hexapols .....	201
A.2 Skripte zur Strukturanalyse .....	203
A.3 tcl/tk code für die Messungen am modifizierten Hexapol .....	205
A.4 Spannungs-Pulsprogramm zur UV/IR Photodissoziation mit Sauerstoffeinpulsung .....	210
<b>Anhang B: IRMPD Spektroskopie des Leucin Enkephalin</b> .....	<b>218</b>
B.1 Vergleich der energetisch günstigsten Phenolatstruktur mit den experimentellen Daten der IRMPD Spektroskopie .....	218
<b>Anhang C: IRMPD Spektroskopie des ADPATP</b> .....	<b>219</b>
C.1 Berechnete Schwingungsfrequenzen der Strukturen $\alpha\beta 1$ , $\alpha\beta 2$ , $\alpha\gamma$ , und $\beta\gamma$ .....	219
C.2 Raumtemperaturspektrum des $[\text{ATP-2H}]^{2-}$ .....	221
<b>Anhang D: UV/Vis Spektroskopie</b> .....	<b>222</b>
D.1 Diskussion zur Leistungskurve des UV/Vis Lasersystems zwischen 410 nm und 430 nm.....	222
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>xi</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>xx</b>
<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>xxii</b>
<b>Lebenslauf – in der elektronischen Version nicht enthalten</b> .....	<b>xxxv</b>
<b>Publikationsliste</b> .....	<b>xxxvi</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>xxxvii</b>



## Abkürzungsverzeichnis

2D	zweidimensional
3D	dreidimensional
ADP	Adenosin 5'-Diphosphat
AMP	Adenosin 5'-Monophosphat
AM1	semi empirische Rechenmethode „ <i>Austin model</i> “
ATP	Adenosin 5'-Triphosphat
BBO	Beta-Bariumborat ( $\beta$ -BaB <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )
CID	Kollisionsinduzierte Dissoziation ( <i>collision induced dissociation</i> )
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DFTB	Dichtefunktional Methode mit „ <i>tight binding</i> “
DFTB3	erweitertes Dichtefunktional Modell mit „ <i>tight binding</i> “
DC	Gleichstrom ( <i>direct current</i> )
ESI	Elektrosprayionisation
eV	Elektronenvolt
FWHM	Halbwertsbreite ( <i>full width half maximum</i> )
FT-ICR	Fouriertransform Ionen-Zyklotron-Resonanz ( <i>Fourier transform ion cyclotron resonance</i> )
Gly	Glycin
GUI	graphische Benutzeroberfläche ( <i>graphical user interface</i> )
HOMO	höchstes besetztes Molekülorbital ( <i>highest occupied molecular orbital</i> )
HS	Hochspannung
hs	ungepaarter Spin ( <i>high spin</i> )
Hz	Hertz
IMS	Ionenmobilitätsspektrometrie ( <i>ion mobility spectrometry</i> )
IR	Infrarot
IRMPD	Infrarot Multiphotonen Dissoziation
ICR Zelle	Ionen-Zyklotron-Resonanz Zelle ( <i>ion cyclotron resonance</i> )

---

IT	Informationstechnologie
kHz	kiloHertz
KTA	Kalium Titanylarsenat (KTiOAsO <sub>4</sub> )
KTP	Kalium Titanylphosphat (KTiOPO <sub>4</sub> )
LCAO	lineare Kombination von Atomorbitalen ( <i>linear combination of atomic orbitals</i> )
Leu	Leucin
MALDI	Matrix unterstützte Laserdesorption/-ionisation ( <i>Matrix-assisted laser desorption/ionization</i> )
MCP	Mikrokanalplatte ( <i>mirco channel plate</i> )
MD	Moleküldynamik
LUMO	niedrigstes unbesetztes Molekülorbital ( <i>lowest unoccupied molecular orbital</i> )
ls	gepaarter Spin ( <i>low spin</i> )
mDa	milli-Dalton
MHz	mega-Hertz
mm	milli-Meter
m/q	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (ein Teilchen)
m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (allgemein)
MS	Massenspektrometrie
nESI	nano Elektrosprayionisation
OPO	optischer parametrischer Oszillator ( <i>optical parametric oscillator</i> )
OPA	optischer parametrischer Verstärker ( <i>optical parametric amplifier</i> )
PD	Photodissoziation
PES	Photoelektronen Spektroskopie
Phe	Phenylalanin
PE	Photoelektronen
PES	Photo-Elektronen Spektroskopie
PM3	semi empirische Rechenmethode " <i>parameterized model</i> "
ppb	Eins von einer Milliarde ( <i>parts per billion</i> )

---

RF	Radiofrequenz ( <i>radio frequency</i> )
RCB	Repulsive Coulomb Barriere ( <i>repulsive coulomb barrier</i> )
rms	Standardabweichung ( <i>root mean square</i> )
SAT	auf dem Ring sitzend ( <i>sit atop</i> )
SWIFT	gespeicherte funktionsumgekehrte Fouriertransformation ( <i>stored waveform inverse fourier transform</i> )
SHG	umwandlung eines Laserpulses in einen neuen mit doppelter Fequenz ( <i>second harmonic generation</i> )
TDDFT	zeitabhängige Dichtefunktionaltheorie ( <i>time-dependent</i> )
T	Tesla
tcl/tk	Skript Sprache ( <i>tool command language/Tk-Widget-Set</i> )
TTL	Transistor Transistor Logik
Tyr	Tyrosin
TOF / <i>tof</i>	Flugzeit ( <i>time-of-flight</i> )
UV	Ultraviolett
Vis	Wellenlängenbereich des sichtbaren Lichts ( <i>visible</i> )
YGGFL	Tyrosin-Glycin-Glycin-Phenylalanin-Leucin
ZPE	Nullpunkt-Energie ( <i>zero point energy</i> )



## 1 Einleitung

Die Photodissoziation von kleinen, mehratomigen Molekülen ist ein ideales Feld um Moleküldynamiken und physikalische Eigenschaften von angeregten Zuständen mit einer großen Präzision zu untersuchen. Die schier unbegrenzten Möglichkeiten zeigt die explosionsartig angestiegene Anzahl an neuen experimentellen Methoden und die zunehmende Komplexität der spektroskopisch zugänglichen Moleküle. So sind Aufbauten mit zwei oder drei synchronisierten Lasersystemen heute keine Seltenheit mehr, was im vorherigen Jahrhundert noch futuristisch anmutete. Neben der ständigen Weiterentwicklung der Photodissoziationsspektroskopie als experimentelle Methode stieg jedoch gleichzeitig auch der Bedarf an die theoretische Beschreibung der untersuchten Systeme, da die Qualität der experimentellen Daten eine Interpretation mit einfachen Modellen oftmals nicht mehr ermöglichten. Auch aus diesem Grund verschmelzen das Feld der theoretischen Chemie und der Spektroskopie immer weiter und Konferenzen wie die aktuelle Bunsentagung 2013 in Karlsruhe mit dem Titel „Theory meets Spectroscopy“<sup>1</sup> widmen sich diesen Anforderungen.

In diesem Wettlauf fordert nun andererseits die Theorie, durch die Genauigkeit der quantenmechanischen Modelle ausgelöst, eine immer größere Präzision der experimentellen Daten.<sup>2,3</sup> Daher ist es folgerichtig, dass die experimentellen Aufbauten immer vielseitiger werden müssen, um eine an jede Fragestellung angepasste Messmethode anwenden zu können. Eine Ausführung in der absoluten Isolation von Ultrahochvakuumsystemen ist hierfür immer öfter eine Grundvoraussetzung. Dadurch werden wieder präzisere Messungen möglich, deren Interpretation wiederum die theoretischen Modelle der heutigen Zeit an ihre Belastungsgrenze führen.<sup>4-6</sup>

Eine dieser in der Entwicklung stark voranschreitenden Methoden ist die Infrarot-Multiphotonen-Dissoziations-Spektroskopie, die es erlaubt, die Struktur und die intramolekularen Wechselwirkungen von geladenen, isolierten Systemen in der Gasphase zu messen und durch einen Vergleich mit theoretischen Schwingungsspektren aktuelle quantenchemische Methoden auf den Prüfstand stellt.<sup>7, 8</sup> Diese Technik verwendet die photoinduzierte Dissoziation von Molekülen um eine Veränderung im Masse-zu-Ladungs-Verhältnis zu detektieren und so geschickt die Nachweisgrenze, die eigentlich für die Infrarotspektroskopie durch das Lambert Beer'sche Gesetz definiert ist, auf den Zerfall weniger Ionen zu reduzieren. Seit den Anfängen dieser Technik durch die Kopplung einfacher CO<sub>2</sub> Laser mit Ionenfallen-Massenspektrometern dieser Zeit,<sup>9</sup> über Meilensteine hinweg, wie die Kombination eines hochauflösenden Massenspektrometers mit einem freien Elektronenlaser oder die Entwicklung durchstimmbarer Lasersysteme im mittleren infraroten Wellenlängenbereich<sup>10</sup>, hat sich

an der ursprünglichen Fragestellungen zur Struktur und zu den intramolekularen Kräften wenig geändert.

Eine andere Methode, die die Photodissoziation ausnutzt, ist die UV/Vis Spektroskopie, die in der Datenerhebung analog zur IRMPD Spektroskopie, eine Möglichkeit zur Beschreibung der Charakteristika elektronischer Übergänge und zur Untersuchung der Kinetik und Dynamik von Dissoziationsprozessen oder zur Struktur und zur inneren Energie eines Ions zulässt.<sup>11</sup>

Eine aktuelle Entwicklung der vergangenen Jahre ist es, die Apparaturen der Infrarotspektroskopie mit der UV/Vis-Spektroskopie zu verbinden und durch die Kombination der beiden Spektroskopiemethoden auch zusätzliche Synergieeffekte nutzen zu können.<sup>12</sup> So bietet diese Kombination, die auch als „zwei Farben Experiment“ bezeichnet wird, die Möglichkeit, einzelne Isomere hochauflösend zu spektroskopieren<sup>13</sup> oder komplexe, molekulardynamische Prozesse<sup>14</sup> nachzuvollziehen.

Ziel dieser Arbeit war die Kopplung eines durchstimmbaren Infrarot-Lasersystems mit einem FT-ICR Massenspektrometer zur vibronischen Photodissoziation und anschließende Implementierung eines UV/Vis Lasersystems zur elektronischen Photodissoziation. Neben dieser Zielsetzung war die experimentelle Weiterentwicklung des Massenspektrometers in Bezug auf diese Spektroskopiemethode eine weitere Aufgabe.

Hierfür wurde in einem ersten Schritt eine Infrarot Multiphotonen Dissoziationsspektroskopie aufgebaut. Durch die schwingungsspektroskopische Studie des deprotonierten Pentapeptids Leucin Enkephalin konnte die Leistungsfähigkeit dieser Methode zur Strukturaufklärung belegt werden. Eine weitere Studie zu zweifach deprotoniertem Adenosin-Triphosphat zeigt die Anwendung der Methode auf mehrfach geladene Anionen, sowie die Vorteile der Speicherung von Ionen in einer ICR-Zelle für Messungen mit isotope markierten Ionen. An dem einfach deprotonierten Adenosin-Diphosphat wurde die Entwicklung eines modifizierten Akkumulationshexapols ausgenutzt um das Produkt der ATP Hydrolyse (ADP) nach der Dissoziation zu untersuchen.

In einem zweiten Schritt wurde ein UV/Vis-OPO-Lasersystem zur elektronischen Photodissoziationsspektroskopie implementiert. Durch Messungen von modifizierten Metalloporphyrinen und der analog modifizierten, freien Porphyrinbase wurde exemplarisch eine Laser-Leistungsabhängigkeitsmessung durchgeführt. Anhand der aufgenommenen UV/Vis-Spektren wurde die Implementierung des zweiten Lasersystems demonstriert und anhand der optischen Ionenspektroskopie der Metalloporphyrine, die Abhängigkeit der Struktur vom Oxidationszustand und von der Spinnultiplizität des Zentralatoms untersucht.

Durch Abkühlen der ICR-Zelle auf  $-142^{\circ}\text{C}$  und Einleiten von Sauerstoff zu den gespeicherten Ionen, konnten in der Gasphase die Sauerstoffaddukte dieser Systeme erzeugt werden und zum ersten Mal isolierte Metalloporphyrin- $\text{O}_2$  Komplexe, *in situ* untersucht werden.

In einem abschließenden Schritt wurde ein optischer Aufbau entwickelt, der die Kombination der Messmethoden zu einer Zwei-Farben-Photodissoziationsapparatur erlaubt.

Die folgenden Kapitel dieser Dissertation widmen sich der Beschreibung dieser methodischen Aufbauten und Entwicklungen. Die Gliederung dieser hier chronologisch dargestellten Teilschritte ist in der Dissertation wie folgt umgesetzt.

Im Anschluss an die Einleitung wird in Kapitel 2 die Beschreibung aller für die Photodissoziation und die Massenspektrometrie relevanten Komponenten und experimentellen Entwicklungen aufgeführt. Zusätzlich werden die Softwareentwicklung und der optische Aufbau der einzelnen Spektroskopiemethoden und der Kombinationslösung beschrieben. Kapitel 3 behandelt die Photodissoziation durch die Infrarot-Multiphotonen-Dissoziations-Spektroskopie mit einer theoretischen Einführung in die Methode und der Beschreibung der in der Promotion untersuchten Systeme. In Kapitel 4 wird die elektronische Photodissoziation mittels des UV/Vis-OPO-Lasersystems beschrieben, sowie die Molekül-Ionenspektroskopie an Metalloporphyrinen und der freien Porphyrinbase vorgestellt und interpretiert.

In einem abschließenden Kapitel werden die Ergebnisse zusammengefasst und die Schritte zur Weiterentwicklung der aktuellen Apparatur zu einem Doppelresonanzexperiment mit synchronisierten Lasersystemen thematisiert.





## 2 Komponenten zur Photodissoziationspektroskopie in einer Penningfalle

Im Allgemeinen werden zur Ionen-Photodissoziationspektroskopie geladene Teilchen aus einer Cluster- oder Ionenquelle in einen Reaktionsbereich geleitet, der mit einem Lasersystem gekoppelt ist. Dieser Reaktionsbereich kann sowohl aus einem definierten Abschnitt in einem Flugrohr (=Ionenstrahl), als auch aus einer modifizierten Ionenfalle bestehen. Der Vorteil durch die Verwendung einer Ionenfalle als Reaktionsbereich ergibt sich aus der Möglichkeit mehrere unterschiedliche, geladene Moleküle zeitgleich und mit variierender Bestrahlungsdauer bestrahlen zu können. Zusätzlich ist es möglich, durch die Verwendung entsprechend ausgerüsteter Ionenfallen, die Ionen vor der Photodissoziation abzukühlen oder mit einer neutralen Molekülspezies in der Gasphase zur Reaktion zu bringen. Zur Detektion der entstehenden Fragmente und der Intensitätsabnahme des ursprünglich untersuchten Molekülions, wird der Reaktionsbereich bei dieser Spektroskopiemethode, mit einem Massenspektrometer kombiniert. Zur optimalen Nutzung der Vorteile einer Ionenfalle, wird vorzugsweise ein hochauflösendes Massenspektrometer verwendet, um Unterschiede von wenigen Millidalton (mDa) im Masse-zu-Ladungs-Verhältnis der Ionen nachweisen zu können. Dieser Ansatz wurde im experimentellen Aufbau zu dieser Arbeit durch den Einsatz einer Penningfalle erreicht. Die Besonderheit dieser Ionenfalle ist, dass sie als Hybrid aus Ionenfalle und hochauflösendem Massenspektrometer alle hier bereits genannten Vorteile in sich vereint. Die labor-technische Umsetzung wurde mit einem FT-ICR-Massenspektrometer und zwei durchstimmbaren Lasersystemen, einerseits im infraroten (IR) und andererseits ultraviolett- bis sichtbaren (UV/Vis) Bereich des Wellenlängenspektrums, verwirklicht.

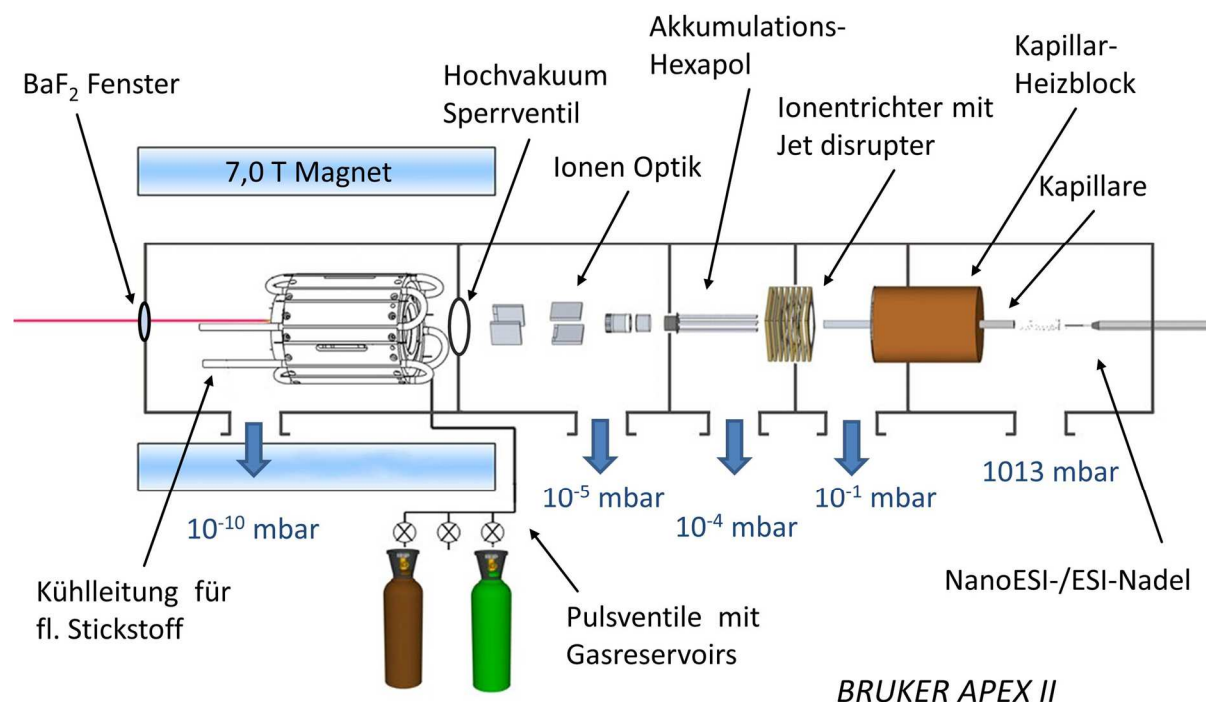
In diesem Kapitel soll das Grundprinzip des Massenspektrometers, unter Berücksichtigung der Modifikationen im Bereich des Akkumulationshexapols und der Ionenquelle, ausführlich beschrieben werden. Weiterführend werden die verwendeten Lasersysteme erläutert und die Umsetzung des optischen Aufbaus ausführlich diskutiert, der die Verbindung der einzelnen Komponenten zur Spektroskopie darstellt. Zur Verwendung der Apparaturen für Photodissoziationsmessungen wurde zusätzlich eine Steuerungssoftware programmiert, die alle beschriebenen Bauteile steuert und synchronisiert, sowie die Datenspeicherung und Auswertung übernimmt. Deren Funktionsweise soll hier ebenfalls kurz erläutert werden.

Eine allgemeine Beschreibung der FT-ICR Apparatur wurde bereits von M. Neumaier<sup>5</sup> und T. Karpuschkin<sup>15, 16</sup> vorgenommen. Eine Beschreibung des IR-Lasersystems findet sich auch in einer kürzlich erschienenen Publikation des Autors.<sup>17</sup>

## 2.1 FT-ICR Massenspektrometer

In dieser Arbeit wurde ein FT-ICR Massenspektrometer verwendet, dessen Herzstück aus einer ICR-Zelle zur Speicherung von geladenen Teilchen in der Gasphase besteht. Diese Zelle wird zu Ehren von F.M. Penning auch vereinfacht als Penningfalle bezeichnet, obwohl das aktuelle Design nicht mehr dem ursprünglichen Versuchsaufbau von F.M. Penning entspricht.<sup>18</sup>

Abbildung 1 zeigt schematisch das verwendete FT-ICR Massenspektrometer. Im vordersten Abschnitt des Geräts werden Ionen durch Elektrosprayionisation (ESI) generiert und kontinuierlich über eine Desolvatationskapillare in einen Ionentrichter geleitet. Im Ionentrichter wird mittels eines *jet disrupters* der neutrale Anteil des Ionenstrahls, der aus Raumluft und desolvatisiertem Lösungsmittel, durch einen abnehmenden Druckgradienten in diesem Bereich entsteht, abgetrennt. Hinter dem *jet disrupter* wird der Ionenstrahl in einen Akkumulationshexapol überführt und die Ionen dort gespeichert. Das Entleeren der Ionen aus dem Hexapol mittels einer Extraktionsspannung auf der Endplatte, erzeugt eine Ionenwolke, die in Richtung der Penningfalle transferiert wird. Durch den Einsatz von Ionenoptiken wird diese Ionenwolke fokussiert und in die ICR-Zelle eingeleitet.



**Abbildung 1:** Das verwendete FT-ICR Massenspektrometer mit Druckstufen. Die beschrifteten Bauteile zeigen die einzelnen Stufen der Desolvation der Ionen, vom Lösungsmittel bis in die Gasphase dar. Der Prozess wird ausführlich im kommenden Abschnitt erläutert

Optional kann hier zu den gespeicherten Ionen ein Reaktionsgas oder Stoßgas zugeleitet oder die Ionenwolke mit Laserpulsen bestrahlt werden. Durch den Einsatz der ICR-Zelle als Fourier-Transform-Massenspektrometer wird anschließend an die Laserbestrahlung ein hochauflösendes Frequenzspektrum des Falleninhalts aufgenommen. Für die Aufnahme eines Massenspektrums wird ein solcher Zyklus typischerweise zwischen zwei- und vier-mal wiederholt. Die erhaltenen Transientenspektren werden anschließend akkumuliert und in ein Massenspektrum transformiert. Im folgenden Abschnitt werden die einzelnen experimentellen Komponenten, die hierfür benötigt werden, im Detail diskutiert. Die verwendete Ionenquelle und die Hexapoleinheit wurden im Verlaufe der Promotion neu implementiert und werden daher in jeweils separaten Abschnitten ausführlich betrachtet.

Durch Abflanschen der Elektrosprayionisationsquelle mit Hexapoleinheit ist es möglich an das Massenspektrometer eine Laserverdampfungsquelle für Metallclusterexperimente zu adaptieren. Eine detaillierte Beschreibung der Laserverdampfungsquelle findet sich in einer Dissertation von M. Neumaier.<sup>15</sup>

### 2.1.1 Ultrahochvakuumssystem

Alle ICR-Experimente werden unter Ultrahochvakuum (UHV)- Bedingungen gemessen. Hierfür ist das FT-ICR-Massenspektrometer mit vier differenziellen Pumpstufen ausgestattet, die den Druck stufenweise bis auf  $5 \times 10^{-10}$  mbar in der ICR-Zelle absenken. Alle hier aufgeführten Werte beziehen sich auf den Messmodus, mit einem geöffnetem Sperrventil und laufender Elektrosprayquelle (siehe Abbildung 1).

Durch die erste Pumpstufe hinter der Desolvationskapillare wird der Druck von Atmosphäre auf  $2 \times 10^{-1}$  mbar reduziert. Hierfür wird eine Wälzkolbenpumpe (BOC Edwards, EH 250, 70l/s) als Vorpumpe, angeschlossen an eine zweistufige Drehschieberpumpe (BOC Edwards, E2M30, 18m<sup>3</sup>/h Pumpleistung), verwendet. Die zweite Pumpstufe ist in dem Übergang zwischen dem Ionentrichter und dem Akkumulationshexapol angebracht. Sie besteht aus einer Kombination aus einer Turbomolekularpumpe (BOC-Edwards EXT-255H, 250l/s,) mit einer zweistufigen Drehschieberpumpe (BOC-Edwards, RV-12, 14,2 m<sup>3</sup>/h). Der Druck im Hexapol und am Ausgang des Ionentrichters wird dadurch auf  $10^{-4}$  mbar gesenkt. Mit Hilfe eines Teflon-Mantels um die Hexapoleinheit wird diese Pumpstufe von dem Transferbereich abgetrennt. Der Transferbereich wird von einer weiteren Kombination aus Turbomolekularpumpe mit einer Drehschieberpumpe abgepumpt (Turbomolekularpumpe: Varian, V-550, 12 500 l/s, zweistufige Drehschieberpumpe: BOC-Edwards, RV-12, 14,2 m<sup>3</sup>/h). Dadurch sinkt der Druck im Bereich der Ionenoptiken auf  $10^{-5}$  mbar. Eine weitere Pumpstufe, bestehend aus zwei Turbomolekularpumpen (Pfeiffer, TPU 521, 500l/s und BOC-Edwards, EXT-70Hi, 70l/s), reduziert den Druck in der ICR-Zelle auf ca.  $5 \times 10^{-10}$  mbar. Diese beiden Turbomolekularpumpen werden von einer gemeinsamen zweistufigen Drehschieberpumpe (Oerlikon-Leybold, TRI-

VAC NT 25, 25 m<sup>3</sup>/h) unterstützt. Im UHV Bereich wird der Druck mittels einer Ionisationsmessröhre (Granville-Phillips, 360 STABIL-ION Gauge) bestimmt. Aufgrund des starken Magnetfeldes kommt es beim Auslesen dieser Messröhre zu Abweichungen vom realen Druck. Daher muss zur Korrektur des ausgelesenen Drucks ein Korrekturfaktor von 5,25 verwendet werden.<sup>15</sup> Dies wurde bei der Angabe des Drucks in der letzten Pumpstufe in ICR-Zelle berücksichtigt.

### 2.1.2 Beschreibung des Gasreservoirs und der Pulsventile

Eine zusätzliche Option des verwendeten FT-ICR Massenspektrometers stellt das Zupulsen eines Reaktionsgases dar. Aus zwei Gasreservoirs wird dazu Neutralgas über Pulsventile in die Ionenfalle gepulst, während die Ionen auf einer stabilen Trajektorie in der Penningfalle zirkulieren. Der Druck in der Falle kann auf bis zu 10<sup>-6</sup> mbar (ausgelesener Druck an der Ionisationsmessröhre) erhöht werden, wodurch die Stoßwahrscheinlichkeit der Ionen mit dem Neutralgas stark ansteigt. Dieser Effekt wird für Reaktionen mit dem zugeleiteten Gas, sowie für kollisionsinduzierte Dissoziationen (CID) Experimente verwendet. Zu diesem Zweck sind die Pulsventile der Edelstahlgasreservoirs mit dem Ultrahochvakuumbereich der ICR-Zelle verbunden und durch TTL-Pulse im  $\mu$ s Bereich steuerbar. Die Steuerung der Pulsventile erfolgt über die Messsoftware. Durch diese Methode kann der sich bildende Druck in der Falle, für die Dauer des Experiments konstant und reproduzierbar, einreguliert werden. Verwendet werden hierfür hochreine Gase mit einer Güte von typischerweise 5.0 oder besser.<sup>i</sup> Die Gasreservoirs werden vor dem Einsatz mit einer Pumpe (Pfeifer Vacuum, DUO 20M, 24 m<sup>3</sup>/h) evakuiert und können zusätzlich durch Heizbänder ausgeheizt werden. Durch Gasfilterkartuschen (SGT-B1024-B8, click on Sauerstoff, Feuchtigkeitsfilter, SGT Middelburg (NL)) wird das verwendete Gas beim Überführen in die Gasreservoirs zusätzlich gefiltert.

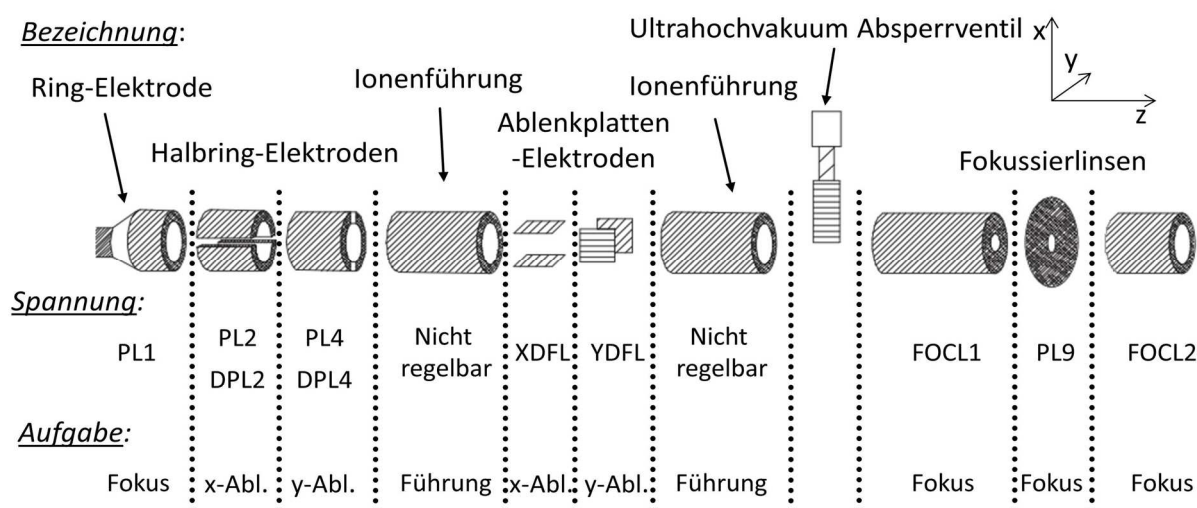
### 2.1.3 Hochspannungsoptik

Die Aufgabe der Ionenoptik ist es, die Ionenwolke einerseits räumlich zu fokussieren und andererseits zu gewährleisten, dass die Öffnung in der Speicherelektrode der Penningfalle verlustfrei durchquert wird. Allgemein wird in dieser Arbeit durchgehend die Achse entlang der Flugrichtung als z-Achse und die Achsen orthogonal zur Flugrichtung als x- und y-Achsen bezeichnet. Die Hochspannungs (HS)-Ionenoptik zum Ablenken des Ionenstrahls ist in Abbildung 2 dargestellt. Sie beinhaltet zwei gepaarten Elektroden aus jeweils zwei

---

<sup>i</sup> Die Bezeichnung 5.0 wird für die Reinheitsangabe von Gasen verwendet. Dabei bezeichnet die erste Ziffer die erste Nachkommastelle, die nicht „Neun“ ist, die zweite Ziffer die Zahl die anstelle der Neun steht. Hier wurde also eine Reinheit von 0,999990 also 99,9990% verwendet.

Elektrodenplattenpaaren für die x- und y-Ablenkung, mit den internen Spannungsbezeichnungen XDFL und YDFL. Zusätzlich sind für die Führung des Strahls zwei Halbringelektroden mit den dazugehörigen Spannungsversorgungen PL2(X) und PL4(Y) eingesetzt. Um eine Korrektur in die x- und die y-Richtung zu erzeugen kann zwischen den beiden Halbringelektroden eine Differenzspannung eingestellt werden, mit den Spannungsversorgungen DPL2 zwischen den beiden x-Halbringelektroden und DPL4 zwischen den beiden y-Halbringelektroden. Zum Fokussieren des Ionenstrahls werden vier Ringelektroden verwendet. Die erste ist direkt hinter der Hexapoleinheit eingebaut und kompensiert die Streuung der Ionen, die aus dem Hexapol extrahiert werden. Die interne Bezeichnung im Steuerprogramm für die Spannungsversorgung dieser Ringelektrode ist PL1. Zwischen den Elektroden der regelbaren Ionenoptik sind zur Strahlführung zwei zusätzliche Ringelektroden installiert, deren Spannung nicht manuell verändert wird.



**Abbildung 2:** Auflistung der einzelnen Komponenten der Ionenoptik mit Name, interner Bezeichnung der Spannungsversorgung und der Aufgabe im Transfer der Ionenwolke. Zusätzlich ist das Ultrahochvakuum Absperrventil eingezeichnet, das die letzte Pumpstufe von den vorherigen abtrennen kann.

Zur weiteren Fokussierung der Ionen sind nach dem Hochvakuumsperrventil zwei Ringelektroden mit den Bezeichnungen FOCL1 und FOCL2 und eine weiteren Ringelektrode (PL9) mit kurzer z-Ausdehnung zwischen diesen beiden Fokussierelektroden eingesetzt.<sup>ii</sup> Die Versorgung aller Komponenten der Hochspannungionenoptik wird durch eine „Transfer Optics Power Supply“ (TOPPS)-Einheit der Firma Bruker-Daltonics geregelt. Diese liefert je nach verwendetem Messmodus eine allgemeine Basisspannung von +2,8 kV oder -2,8 kV an

<sup>ii</sup> Diese Anordnung dreier ringförmiger Elektroden wird auch als Einzellinse bezeichnet

die einzelnen Elektroden. Dieses Potential lässt sich auf den einzelnen Elektroden über die Steuersoftware XMASS (Bruker Daltonics) variieren.

#### 2.1.4 ICR Zelle

Die Entwicklung der ICR-Zelle geht auf Arbeiten von F.M. Penning aus dem Jahr 1936 zurück. Er stellte fest, dass die geladenen Teilchen einer Lichtbogenentladung zwischen zwei koaxialen Elektroden, in einem Magnetfeld und unter geringem Druck, radial zur Flugrichtung abgelenkt werden. Außerdem realisierte er, dass die Auslenkung durch ein großes Magnetfeld reichen würde, um ein Auftreffen des Blitzes, also der negativ geladenen Elektronen, auf die zweite Kathode zu verhindern.<sup>19</sup>

Die ersten Experimente zur Speicherung von Ionen wurden dann von Wolfgang Paul in den 1950er Jahren durchgeführt, deren Resultat die Entwicklung der Paulfalle war. Im Gegensatz zur Penningfalle wird in der Paulfalle die Speicherung der geladenen Teilchen durch zwei angelegte RF-Spannungen verwirklicht. Zeitgleich entwickelte Hans Dehmelt eine Ionenfalle basierend auf den Ergebnissen von Penning zur Beschreibungen von abgelenkten Elektronen im Magnetfeld und schaffte es mit diesem Effekt 1959 in einer ersten Penningfalle ein Elektron für ca. 10 Sekunden zu speichern.<sup>20</sup>

In den 1970er Jahren gelang es Dehmelt und P. Toschek das Prinzip der Ionenspeicherung auf schwerere geladene Teilchen zu erweitern und ein einzelnes atomares Ion in einer RF-Falle zu spektroskopieren.<sup>21</sup> Somit wurde die *single-ion-spectroscopy* entwickelt. Für diese Arbeiten teilten sich Dehmelt und Paul im Jahr 1989 den Nobelpreis für Physik.

In derselben Zeit präsentierten Cooley und Tukey 1965 einen Algorithmus um aus den Fourier-transformierten Masse-zu-Ladungs-Verhältnissen ein Frequenzband zu erzeugen, dass in die Penningfalle eingestrahlt werden könnte.<sup>22</sup> Dadurch erlebte auch die Penningfalle ihren Durchbruch, da ein großer Vorteil dieses Fallentyps nicht in der Speicherung der geladenen Teilchen, sondern vor allem in der hochauflösenden Massenspektrometrie besteht. Durch Ringelektroden entlang der Fallenlängsachse, zeigten Comisarow und Marshall im Jahr 1974, dass dieses theoretische Konzept, auch in der Praxis angewendet werden kann und konnten so als Resultat dieser Anregung das erste FT-Massenspektrum in einer Penningfalle messen.<sup>23</sup> Die in einer Penningfalle bisher verwendeten hyperbolischen Ringelektroden, wurden im Anschluss an diese Publikation vielfältig variiert, um die Speicher- und Detektoreigenschaften der Ionenfalle stetig zu verbessern. Dies führte zu vielen Weiterentwicklungen des Ionenfallen-Typs, was hier beispielhaft durch spätere Arbeiten von Marshall *et al.* aufgezeigt werden soll.<sup>18, 24</sup>

Bei der in dieser Arbeit verwendeten Ionenfalle handelt es sich um eine modifizierte, zylindrische ICR-Zelle (Bruker-Daltonics, Billerica, MA, USA, Infinity<sup>TM</sup> cell), deren Design sich ebenfalls von der hyperbolischen Fallengeometrie der Penningfalle unterscheidet. Daher wird in der weiteren Abhandlung zur Beschreibung der Ionenfalle, der Begriff der Ionenzyklotron-

resonanz (ICR)-Zelle bevorzugt. Auf den Aufbau, die Speicherung, die Spektrometrie und die Modifikationen dieser ICR-Zelle wird im folgenden Abschnitt eingegangen. Zusätzlich sei auf weitere Publikationen in Bezug auf die hier verwendete Zelle verwiesen.<sup>25-27</sup>

### Theoretische Beschreibung der Ionenbewegung in einer ICR Zelle

Eine kurze Einführung soll zum Verständnis der Speicherung von geladenen Teilchen in einer ICR-Zelle dienen. Ein geladenes Teilchen mit der Masse  $m$  und der Ladung  $q$ , das sich mit der Geschwindigkeit  $\vec{v}$  in einem Magnetfeld  $\vec{B}$  bewegt, wird durch die Lorentzkraft auf eine Kreisbahn mit dem Radius  $r$  gezwungen. Für die Lorentzkraft  $F_L$  gilt

$$\vec{F}_L = q\vec{v} \times \vec{B} \quad (2.1)$$

Und für ein homogenes Magnetfeld in z-Richtung  $\vec{B} = B_z$  und  $v_{xy}$  als Geschwindigkeit orthogonal zu  $B_z$  in skalarer Schreibweise ergibt sich

$$F_L = qv_{xy}B_z. \quad (2.2)$$

Für die Kreisbewegung des geladenen Teilchens orthogonal zum Magnetfeld gilt

$$F_L = F_z \quad (2.3)$$

mit der Zentrifugalkraft  $F_z$  orthogonal zum Magnetfeld  $B_z$

$$F_z = \frac{mv_{xy}^2}{r}. \quad (2.4)$$

Ein Einsetzen der Gleichungen (2.2) und (2.4) in (2.3) und Auflösen nach dem Radius  $r$  der Kreisbahn des abgelenkten Teilchens im Magnetfeld führt zu

$$r_c = \frac{mv_{xy}}{qB_z} \quad (2.5)$$

Der Radius  $r$  entspricht dem Radius der Zyklotronbewegung und wird mit  $r_c$  bezeichnet. Durch Einsetzen der Winkelgeschwindigkeit  $\omega$

$$\omega = \frac{v_{xy}}{r_c} \quad (2.6)$$

vereinfacht sich die Gleichung (2.5) zu

$$m\omega = qB_z. \quad (2.7)$$

Hieraus resultieren die Zyklotronkreisfrequenz  $\omega_c$  und die Zyklotronfrequenz  $\nu_c$

$$\omega_c = \frac{qB_z}{m}, \quad (2.8)$$

$$\nu_c = \frac{\omega_c}{2\pi} = \frac{qB_z}{2\pi m}. \quad (2.9)$$

Die Zyklotronfrequenz beschreibt die Geschwindigkeit, mit der das geladene Teilchen auf dem Zyklotronradius im ungestörten Magnetfeld kreist. Zum Speichern der Ionen in allen drei Raumrichtungen ist jedoch zusätzlich ein elektrisches Potential in z-Richtung nötig. Dieses Potential wird durch zwei sogenannte Trappingelektroden und eine Ringelektrode erzeugt und beeinflusst zusätzlich die bisher beschriebene radiale Speicherung. Der Einfluss dieses angelegten Potentials wird im folgenden Abschnitt qualitativ skizziert und zur Weiterführung auf eine Publikation von Marshall *et al.* verwiesen, die sich mit der mathematischen Beschreibung ausgiebig beschäftigt.<sup>24</sup>



## Die Ionenbewegung in einer unendlich ausgedehnten Zelle

Das elektrische Potential in z-Richtung führt durch die Berücksichtigung eines Störterms zu einer modifizierten Beschreibung der Zyklotronbahn eines Ions im Magnetfeld. Zur vollständigen Beschreibung dieser Kreisbahn wird die Laplacegleichung für das elektrische Feld mit den Randbedingungen der ICR-Zelle aufgestellt.<sup>24</sup> Die Randbedingungen aus der Endlichkeit des elektrischen Feldes ergeben sich hierbei durch den gewählten Nullpunkt des Koordinatensystems im Zentrum der Ionenfalle und den daraus resultierenden Positionen für die Speicherelektroden bei der halben Falllänge  $d/2$ . Zusätzlich wird angenommen, dass die Bewegung der Ionen orthogonal zum Magnetfeld radial beschrieben werden kann. Durch Symmetrieeffekte in den resultierenden Feldkoordinaten kann nun ein elektrostatisches Potential im Inneren der Zelle berechnet werden, das die Laplacegleichung löst. Durch das Lösen der Bewegungsgleichungen und dem Ansatz eines quadrupolaren Potentials  $V_{trap}$  ausgehend von den beiden Trappingelektroden, ergibt sich für die z-Richtung eine harmonische Bewegung entlang des Magnetfeldes mit der Kreisfrequenz

$$\omega_t = \sqrt{\frac{2q\alpha V_{trap}}{mr_0^2}}, \quad (2.10)$$

die auch als „Trappingbewegung“ bezeichnet wird. Die in der Gleichung (2.10) verwendete Spannung auf den Trappingelektroden  $V_{trap}$  wird mit einer von der Fallengeometrie abhängigen Konstanten  $\alpha \approx 0.9$  korrigiert.<sup>18</sup> Zusätzlich muss der Radius  $r_0$  der Penningfalle berücksichtigt werden, der für die hier verwendete ICR-Zelle 30 mm beträgt.<sup>28</sup>

Die Differentialgleichungen, die sich aus dem Radialteil der Laplacegleichung ergeben, führen zu einem Störterm in der Beschreibung der Zyklotronbewegung. Die Gleichung (2.8) wird dadurch modifiziert zu

$$\omega_{\pm} = \frac{\omega_c}{2} \pm \sqrt{\frac{\omega_c^2}{4} - \frac{\omega_t^2}{2}} \quad (2.11)$$

und somit wird die Zyklotronbewegung in eine reduzierte Zyklotronbewegung mit Kreisfrequenz  $\omega_-$  und eine Magnetronbewegung  $\omega_+$  aufgespalten. Dies führt auch zu einer Aufspaltung der assoziierten Frequenzen in eine reduzierte Zyklotronfrequenz  $\nu_{rc}$  und eine Magnetronfrequenz  $\nu_m$ . Die zusammengefassten Gleichungen für die Bewegung der Teilchen sind im Folgenden aufgeführt

$$\text{Magnetronkreisfrequenz} \quad \omega_- = \frac{\omega_c}{2} - \sqrt{\frac{\omega_c^2}{4} - \frac{\omega_t^2}{2}} \quad (2.12)$$

$$\text{Reduzierte Zyklotronkreisfrequenz} \quad \omega_+ = \frac{\omega_c}{2} + \sqrt{\frac{\omega_c^2}{4} - \frac{\omega_t^2}{2}} \quad (2.13)$$

$$\text{Speicherfrequenz} \quad \nu_t = \sqrt{\frac{q\alpha V_{trap}}{2\pi^2 m r_0^2}} \quad (2.14)$$

$$\text{Reduzierte Zyklotronfrequenz} \quad \nu_{rc} = \frac{qB_z}{4\pi m} - \sqrt{\left(\frac{qB_z}{4\pi m}\right)^2 - \frac{\nu_t^2}{2}} \quad (2.15)$$

$$\text{Magnetronfrequenz} \quad \nu_m = \frac{qB_z}{4\pi m} + \sqrt{\left(\frac{qB_z}{4\pi m}\right)^2 - \frac{\nu_t^2}{2}} \quad (2.16)$$

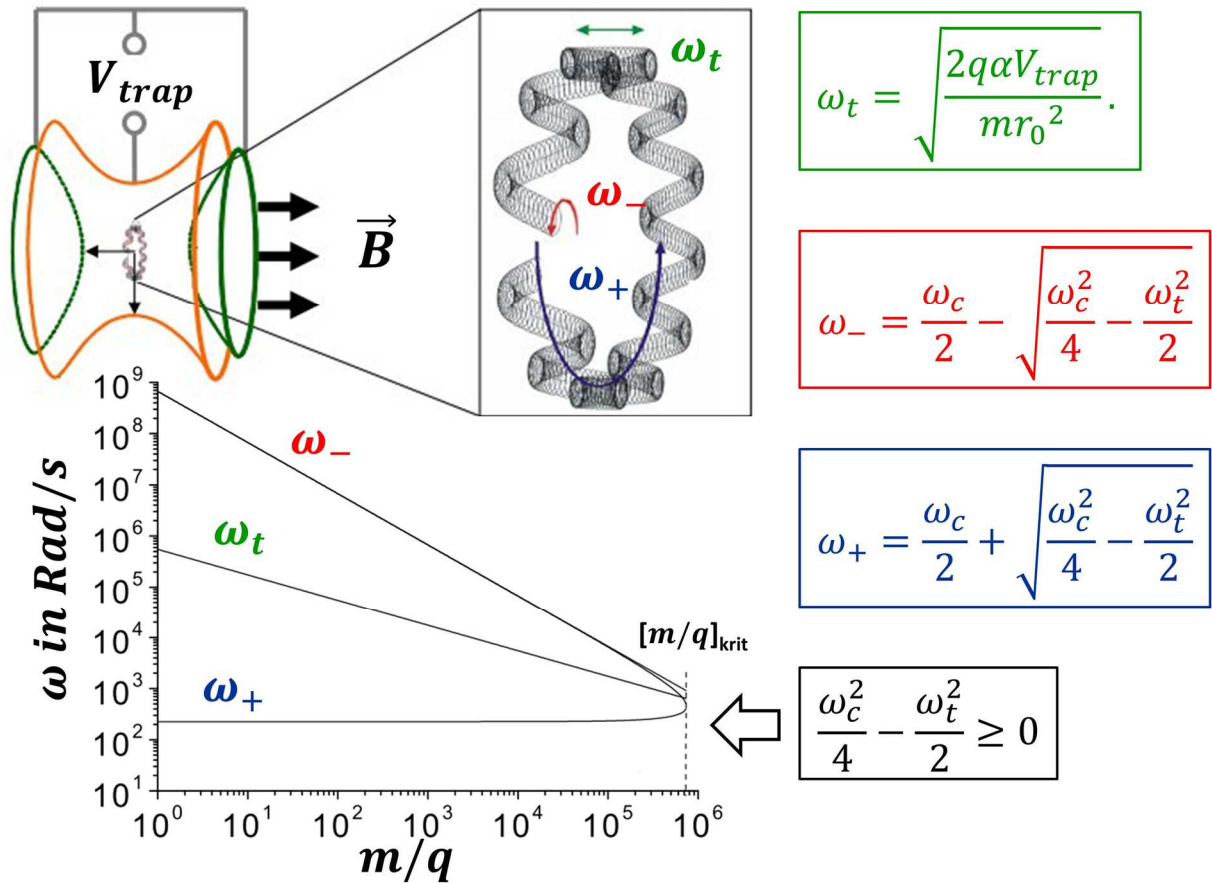
Für eine detaillierte Beschreibung der Herleitung sei auf eine Publikation von Kofel, Allemann und Kellerhals verwiesen.<sup>29</sup>

Zur stabilen Speicherung der Ionen ergibt sich aus den Gleichungen (2.12) und (2.13) noch eine weitere Randbedingung. Da die reduzierte Zyklotronbewegung und die Magnetronbewegung für eine stabile Trajektorie keinen imaginären Anteil besitzen dürfen, muss die Gleichung

$$\frac{\omega_c^2}{4} - \frac{\omega_t^2}{2} \geq 0 \quad (2.17)$$

erfüllt sein. Einsetzen der bisherigen Ergebnisse in diese Gleichung ergibt das Stabilitätskriterium zur Speicherung von Ionen mit

$$\frac{1}{2} \left(\frac{qB_z}{m}\right)^2 - \frac{1}{2} \left(\frac{q\alpha V_{trap}}{m r_0^2}\right) \geq 0 \quad (2.18)$$



**Abbildung 3:** (oben) Schematische Darstellung der drei Bewegungsmoden eines geladenen Teilchens in einer ICR-Zelle und den jeweiligen Gleichungen der Speicherbewegung (grün), der reduzierten Zyklotronbewegung (rot) und der Magnetronbewegung (blau). Die Abhängigkeit dieser Bewegungen von dem Masse- zu-Ladungsverhältnis  $m/q$  des Teilchens ist im unteren Bereich bis zur Stabilitätsgrenze  $[m/q]_{krit}$  für ein 7 T Magnet mit 2 V Speisepotentialspannung aufgetragen. Dieses Diagramm wurde einer Arbeit von Marshall *et al.* entnommen.<sup>30</sup>

Durch Auflösen der Gleichung ergibt sich somit ein oberes Limit für das Masse-zu-Ladungsverhältnis des gespeicherten Teilchens mit

$$\left(\frac{m}{q}\right)_{krit} = \left(\frac{B_z^2 r_0^2}{\alpha V_{trap}}\right). \quad (2.19)$$

Alle Teilchen mit  $\left(\frac{m}{q}\right) > \left(\frac{m}{q}\right)_{krit}$ , werden demzufolge nicht gespeichert, da sie das Kriterium nicht erfüllen und keine stabile Trajektorie einnehmen können. Für alle Masse-zu-Ladungsverhältnisse die kleiner als  $\left(\frac{m}{q}\right)_{krit}$  sind, folgt bei konstanten Fallenparametern  $\alpha, r_0$  und  $V_{trap}$  aus den Gleichungen (2.14), (2.15) und (2.16) in einem konstanten Magnetfeld eine

eindeutige Zyklotron- und Magnetronfrequenz. Durch diese Gleichungen kann bei bekanntem  $B_z$  jedem  $\left(\frac{m}{q}\right)$ -Wert eine exakte Frequenz zugeordnet werden. Diese Frequenzabhängigkeit ist zusammen mit einer schematischen Abbildung der Herleitung in Abbildung 3 aufgezeigt.

### Grundlage der FT-ICR Massenspektrometrie

Im Detail handelt es sich unter der Annahme eines konstanten, starken Magnetfeldes von 7 T für die Magnetronbewegung um eine Frequenz im Bereich von 100 - 1000 Hz mit einer geringen  $\left(\frac{m}{q}\right)$  Abhängigkeit.<sup>15</sup>

Die Speicherfrequenz  $\nu_t$  zeigt hingegen eine Abhängigkeit vom Masse-zu-Ladungsverhältnis, die proportional gegeben ist als

$$\nu_t \propto \sqrt{\frac{m}{q}} . \quad (2.20)$$

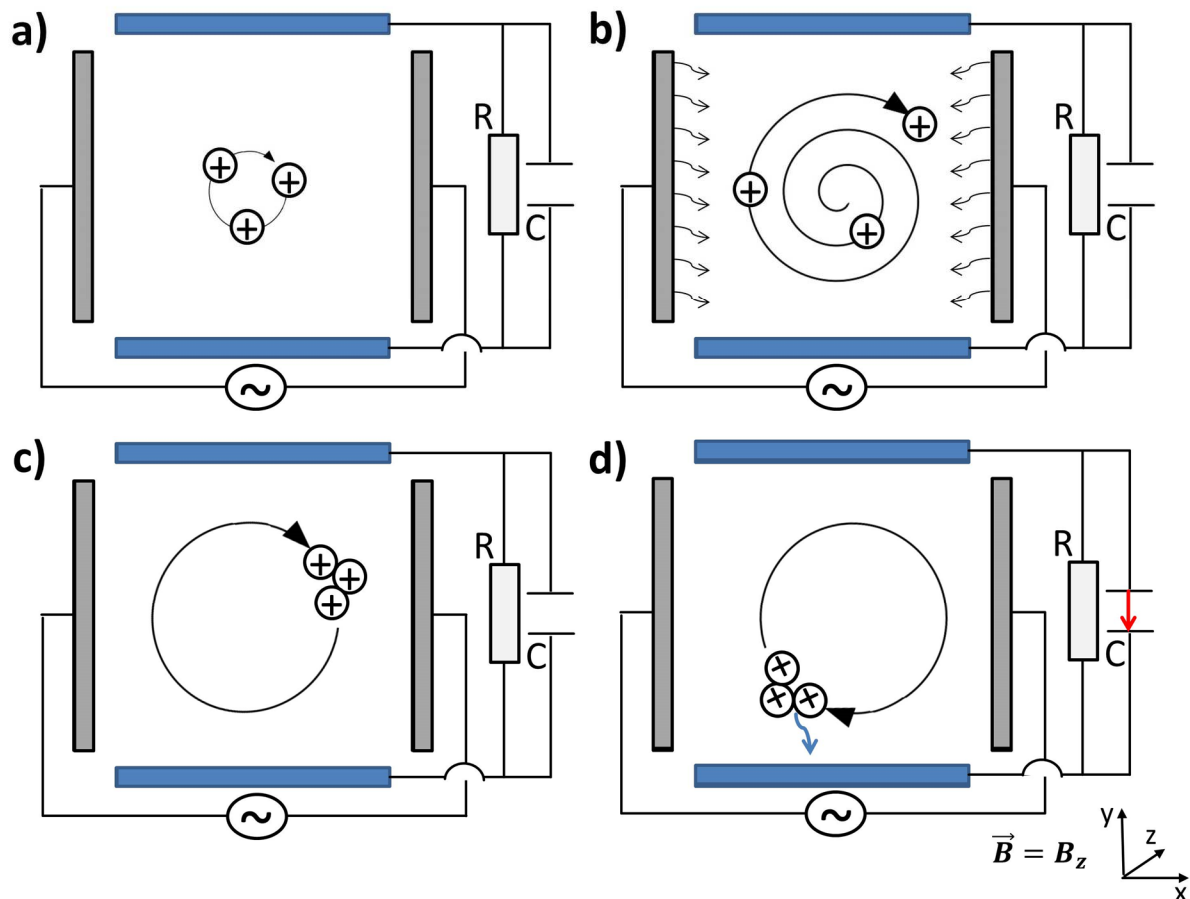
Diese Abhängigkeit wird in alternativen Konzepten zur hochauflösenden Massenspektrometrie, zum Beispiel in einer Orbitrap, verwendet.

Die stärkste Abhängigkeit vom Masse-zu-Ladungsverhältnis zeigt die reduzierte Zyklotronfrequenz mit der Proportionalität

$$\nu_{rc} \propto \frac{m}{q} . \quad (2.21)$$

Die Eigenfrequenzen dieser Bewegung liegen (für  $B_z = 7T$ ) im Bereich von einigen kHz bis hin zu mehreren MHz und wird in der ICR-Zelle für den Nachweis der geladenen Teilchen und somit die Bestimmung des Masse-zu-Ladungsverhältnisses verwendet.<sup>15</sup>

Die gespeicherten Ionen werden dafür mit einem dipolaren Anregungspuls über die beiden Sendelektroden bestrahlt (siehe Abbildung 4). Hierbei sind mehrere Formen von Anregungspulsen vorstellbar, da als Randbedingung ausschließlich eine linear polarisierte elektronische Anregung im Radiofrequenz (rf) Bereich benötigt wird. In der bei dieser Arbeit eingesetzten Apparatur wird zur Anregung ein Hochfrequenzpuls ("chirp") verwendet. Der Puls wird so generiert, dass er den gesamten Frequenzbereich der reduzierten Zyklotronfrequenz der Ionen abdeckt.



**Abbildung 4:** Skizze der ICR-Zelle im Querschnitt zur Darstellung der dipolaren Anregung. Die Anregungselektroden sind in grau, die Detektionselektroden in blau dargestellt. a) Die Ionen befinden sich vor der Anregung auf einer stabilen Trajektorie mit kleinem Zyklotronradius. b) Durch einen dipolaren, Fourier-transformierten Anregungspuls werden alle Teilchen in der Falle, auf einer Trajektorie mit größerem Radius, in Phase gebracht. c) Die Anregung wird abgeschaltet und das Ionenpaket bewegt sich stabil auf diesem größeren Zyklotronradius. d) Das nun kohärente Ionenpaket induziert in den Detektionselektroden Bildströme, welche kapazitiv ausgekoppelt und verstärkt werden können.

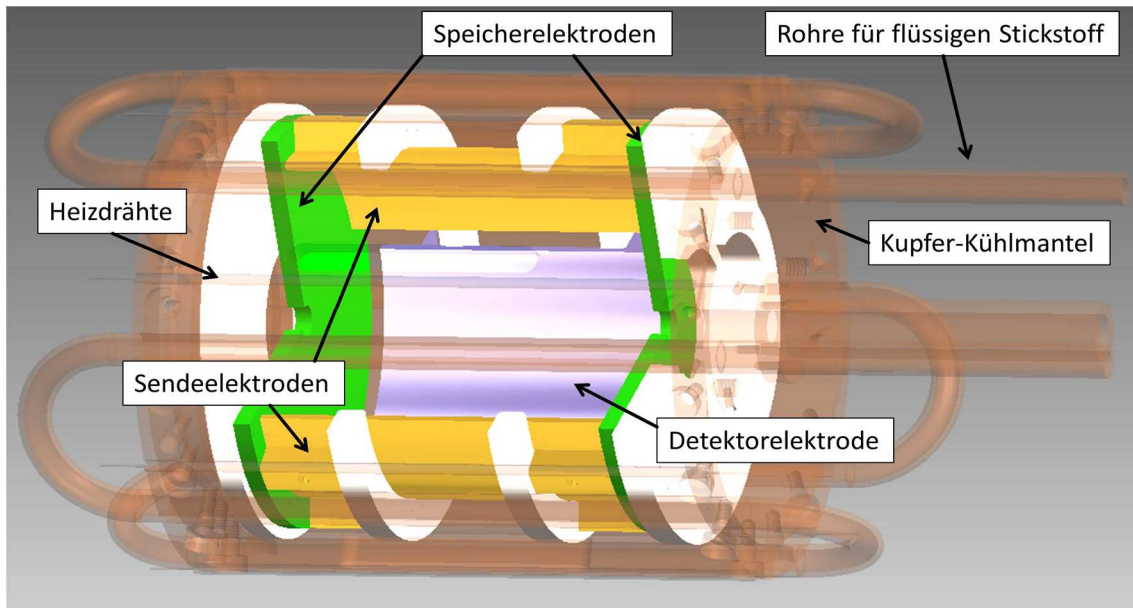
Für alle in der Falle vorhandenen Ionen, kommt es zur Resonanz und das Ionenpaket wird kohärent angeregt. Dieses kohärente Ionenpaket bewegt sich nun in Phase und induziert beim Passieren der Detektionselektroden einen Bildstrom, welcher kapazitiv ausgekoppelt und differentiell verstärkt werden kann (siehe Abbildung 4). Die Amplitude der vom Bildstrom induzierten Wechselspannung ist umgekehrt proportional zum Abstand der Ionen von den Detektionselektroden. Daher ist es vorteilhaft mit der Amplitude des Anregungspulses die radiale Dimensionen der ICR-Zelle vollständig zu nutzen. In der Arbeiten von Marshall *et al.* wird daher die Optimierung des Anregungspulses im Hinblick auf den resultierenden Magnetronradius der gespeicherten Ionen ausführlich diskutiert.<sup>30,31</sup>

Der Vorteil dieser Nachweismethode ist die Genauigkeit mit der die Zyklotronfrequenz bestimmt werden kann und die daraus resultierende hohe Präzision des Massenspektrometers. Für einen 14,5 T Magnet mit einer Kombination aus einer linearen Quadrupol-Ionenfalle zur Ionenakkumulation und einem FT-ICR Massenspektrometer können im Normalbetrieb weniger als 300 ppb in der Standardabweichung mit einer Genauigkeit in der Masse von über 200 000  $m/\Delta m_{50\%}$  (bei  $m/z$  400) mit einer Repetitionsrate von 1 Hz erreicht werden.<sup>32</sup> Die Auflösung des Massenspektrometers übersteigt hierbei die 1 000 000  $m/\Delta m$  (bei  $m/z$  400).

Jedoch werden diese Werte in Zukunft mit einer neuen Generation von FT-ICR Massenspektrometern, mit einem 21 T Magneten als Zentraleinheit, weit übertroffen werden.<sup>33</sup> Da die Auflösung linear proportional zur Stärke des Magnetfelds ist, sollten Werte besser als 300 ppb in der Standardabweichung mit einer Massengenauigkeit von über 300 000  $m/\Delta m_{50\%}$  (bei  $m/z$  400) mit einer Repetitionsrate von 1 Hz deutlich überschritten werden. Für die Auflösung ist in diesem Szenario ebenfalls eine deutliche Steigerung zu erwarten. Jedoch werden mit diesen neuen Magneten die Druckverbreiterung der Massenauflösung<sup>18</sup> und die off axiale Ionen-speicherung eine größere Rolle spielen, was wiederum neue Lösungen beim Design der ICR-Zellen und der präparativen Vorstufen verlangen wird, um die volle Leistungsfähigkeit dieser Messtechnik zu erzielen.<sup>34</sup> Neue Ansätze in diese Richtung wurden kürzlich von Nikolaev *et al.* vorgestellt<sup>35, 36</sup>

### **Aufbau der modifizierten FT- ICR-Zelle Infinity™**

Ein anderer Ansatz zur Optimierung des Designs der Ionenfalle in einem FT-ICR Massenspektrometer, liegt nicht in der Maximierung der Massenauflösung der resultierenden Massenspektren, sondern legt den Fokus auf die verbesserte Auflösung von den an den gespeicherten Ionen angewendeten, optischen Spektroskopiemethoden, deren Anforderungen ebenfalls vielfältig sind. Durch Modifizierungen der FT-ICR Zelle ist es möglich direkt auf die Temperaturverteilung<sup>37</sup> oder die räumliche Verteilung der Ionen, die in der Falle gespeichert werden, Einfluss zu nehmen.<sup>38</sup> In dieser Arbeit wurde eine ICR-Zelle basierend auf dem Infinity Design verwendet, die mit einer Temperatursteuerung ausgestattet ist. In Abbildung 5 ist diese modifizierte zylindrische ICR-Zelle (Infinity®, Bruker) dargestellt.<sup>39</sup> Die Hauptbestandteile der zylindrischen Falle sind zwei Speicherelektroden (grün,  $\varnothing=60$  mm, Abstand:63 mm), zwei Sendeelektroden (gelb, Länge: 63 mm) und zwei Detektionselektroden (blau, Länge: 54 mm), die sich jeweils paarweise gegenüber liegen. In weiß sind Halterungen aus Shapal-Keramik eingezeichnet, die die Infinity™ Zelle am Kupfermantel fixieren und thermisch koppeln. Shapal ist eine Aluminiumnitrid Keramik mit großer Biegestabilität bei sehr kleiner thermischer Ausdehnung und gutem Ausgasverhalten im Ultrahochvakuum bei hoher thermischer Leitfähigkeit.<sup>40</sup>



**Abbildung 5:** Technische Zeichnung der Infinity™ ICR-Zelle mit Kupfermantel. Der Kupfermantel mit Flüssigstickstoff-Zuleitung und Heizdrähten zur Temperaturkontrolle umschließen die Infinity Zelle. Die Speicherelektroden (grün), die Sendeelektroden (gelb) und die Detektorelektroden (blau) liegen sich paarweise gegenüber. Für die Übersichtlichkeit wurde in der Darstellung ein Viertel der Falle mit der zweiten Detektorelektrode ausgeschnitten.

Durch Einstellen einer Zieltemperatur auf dem Kupfermantel nimmt die Zelle über diese Wärmebrücke die Temperatur des Mantels an. Hierfür wird einerseits die hohe Wärmeleitfähigkeit ( $90\text{Wm}/^\circ\text{C}$ ) des Shapals und des Kupfers benötigt, um in kurzer Zeit eine homogene Falltemperatur über die gesamte Falle zu erreichen, andererseits ermöglicht ein niedriger Wärmeausdehnungskoeffizienten ( $4,4 \times 10^{-6}/^\circ\text{C}$ ), dass die Position der Elektroden zueinander und die Ausrichtung der elektrischen Feldlinien gegen das Magnetfeld nicht durch Temperaturveränderungen beeinflusst werden.

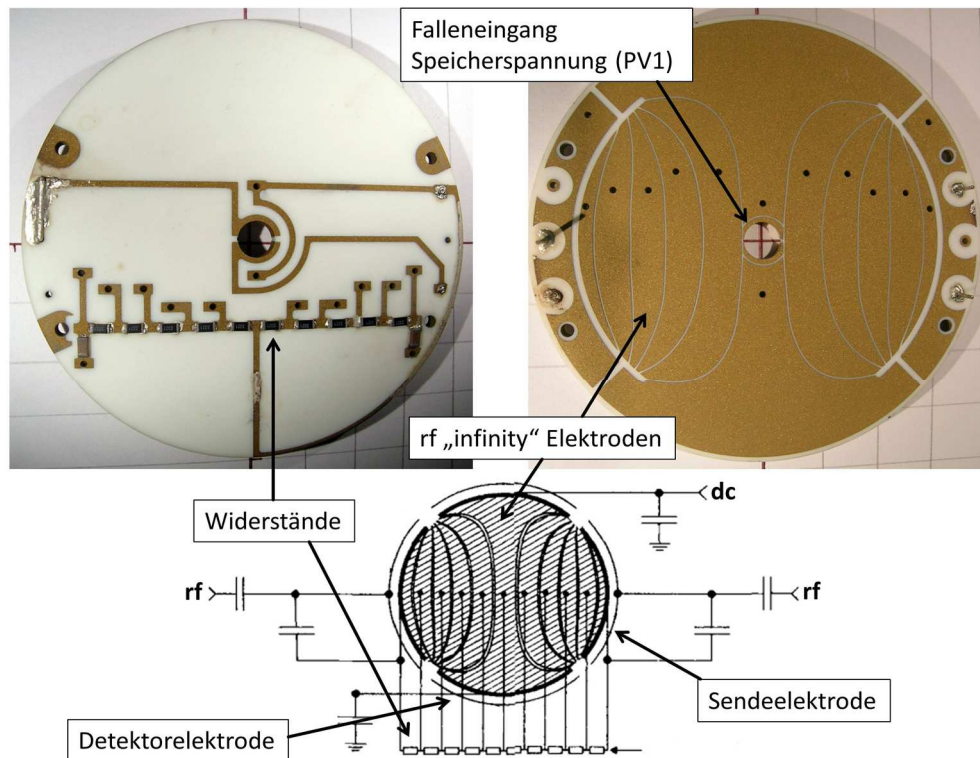
Für das Aufheizen des Kupferblocks werden Heizdrähte und für das Abkühlen flüssiger Stickstoff verwendet. Der Temperaturbereich, der stufenlos eingestellt werden kann, liegt zwischen 90 und 423 K. Basierend auf einer ersten Arbeit von Wren, Gilbert und Bowers wurde dieses Modell der temperierten Falle bis heute in leicht variierenden Konstruktionen von mehreren Arbeitsgruppen implementiert.<sup>41, 42</sup> Zusätzlich wurde auch in ähnlicher Weise ein Ansatz für Untersuchungen im Tiefsttemperaturbereich, zwischen 10 und 20 K, von Nieder-Schatteburg *et al.* umgesetzt. Hierbei wurde mit Cryotechnik, in Form eines Kühlfingers, eine direkte Fallenkühlung implementiert.<sup>43</sup> Dokumentationen zum Aufbau und zur Charakterisierung der hier verwendeten, modifizierten ICR-Zelle und zur Temperatursteuerung finden sich in vor kurzem erschienenen Publikationen dieser Gruppe.<sup>16, 25</sup> In der vorliegenden Arbeit wurden die Kühleigenschaften der ICR-Zelle verwendet, um den Einfluss auf die Auflösung der gemessenen Dissoziationsspektren zu untersuchen und um schwach gebundene Moleküle für die Spektroskopie zugänglich zu machen.

Die Bezeichnung „Infinity“ stammt aus dem abweichenden Design der Trappingelektroden verglichen mit dem hyperbolischen Modell. Unter Einsatz von Computersimulationen zur Berechnung der Ionentrajektorien in einer Penningfalle (e.g. SIMION) konnte gezeigt werden, dass es während der Anregung der Zyklotronfrequenz zu Intensitätsverlusten kommt. Dies konnte auf einen, in den Simulationen erkennbaren Verlust an Ionen aus der ICR-Zelle zurückgeführt werden. Durch eine Kopplung der reduzierten Zyklotronbewegung mit der axialen Bewegung, kommt es in der Penningfalle zu einer Auslenkung der Ionen in z-Richtung. Dadurch erhöht sich die Amplitude der Speicherschwingung, bis die Spannung an den Speicherelektroden eine zu geringe Repulsion entwickelt, um die Ionen in der Falle zu halten. Die Ionen treffen auf den Elektroden auf und werden ausgelöscht. Als Ursache dieser Anregung in z-Richtung konnte durch die Simulationen die Störterme höherer Ordnung des RF-Feldes in der Nähe der Speicherplatten bestimmt werden.<sup>29</sup> Nachdem dieser Effekt auch experimentell validiert wurde, wurde wiederum in theoretischen Arbeiten gezeigt, dass unendlich lange zylindrischen Zellen, in denen die Intensität der Störterme unterdrückt wird, dieses Problem nicht aufweisen. Mit diesem Ansatz wurden von Caravatti und Allemann die Feldlinien eines unendlichen RF-Felds in einer zylindrischen Falle modelliert.<sup>44</sup> Zur Umsetzung des Konzepts wurden von Caravatti und Allemann, aus den Simulationen die theoretischen Werte für die Feldlinien, mit Abstand der Speicherelektroden vom Zentrum aus gesehen, berechnet. Ihr Ziel war es, Speicherelektroden zu konstruieren, die die Verteilung der Feldlinien in der ICR-Zelle so manipulieren können, dass die Feldlinien der theoretisch unendlichen Falle möglichst gut in der Realität abgebildet werden.

Das nahezu unendliche dipolare Feld vermindert die Kopplung der axialen und radialen Bewegung und das Problem des Ionenverlustes wird somit umgangen. In der kommerziell erhältlichen Infinity ICR-Zelle wurde dieser Ansatz von Bruker Daltonics übernommen und als neuer Standard für deren FT-ICR Massenspektrometer verwendet.

Die praktische Umsetzung dieses Konzepts erfolgt hier durch eine Speicherelektrode aus Macor auf die eine spezifische, metallische Elektrodengeometrie aufgedampft wird. Diese Elektrodengeometrie passt das Dipolfeld in der Nähe der Elektroden an und generiert so eine für die Ionen unendlich wirkende Ionenfalle. In Abbildung 6 ist eine Fotografie der Fallenninnenseite und -rückseite aus dieser Macorplatte mit aufgedampfter Elektrodengeometrie zu sehen. Die Fallenninnenseite ist mit einer Anordnung von in Reihe geschaltener Elektroden versehen, an die unterschiedliche Spannungen angelegt werden. Der berechnete Gradient des RF-Potentials auf diesen Elektroden wird durch eine Widerstandskette zwischen den einzelnen Anschlüssen realisiert.





**Abbildung 6:** Aufbau der Speicherelektroden einer Infinity Zelle. Die Rückseite mit Kontakten (rechts) und Falleninnenseite (links) mit aufgedampfter Elektrodengeometrie wurden fotografiert. Zu Vergleichen ist die Falleninnenseite mit den theoretischen Ergebnissen einer simulierten zylindrischen Zelle mit unendlicher Ausdehnung (unten). Die Abbildung der simulierten Zelle wurde aus der Arbeit von Caravatti und Allemann entnommen.<sup>44</sup>

Zusätzlich zu dem geringeren axialen Ionenverlust hat die Infinity Zelle den Vorteil, dass das homogenere dipolare RF-Feld eine Anregung der Ionen auf einen größeren effektiven Zyklotronradius erlaubt und somit zu einer deutlichen Steigerung in der Signalintensität und der Auflösung im Massenspektrum führt. Der resultierende Zyklotronradius nach einer dipolaren Anregung in einer Infinity ICR-Zelle wird hierbei näherungsweise durch

$$r_c = \frac{\beta V_{p-p} T_{Excite}}{8 r_{xy} B_z} \quad (2.22)$$

beschrieben.<sup>45</sup> Als  $V_{p-p}$  wird die Peak zu Peak Spannung der dipolaren RF Anregung eingesetzt und für  $T_{Excite}$  die Zeitspanne, in der das dipolare Feld auf die Ionen wirkt. Unter Berücksichtigung des nicht ideal-unendlichen Feldes in der ICR-Zelle und des abgeschwächt wirkenden Potentials  $V_{p-p}$ , in Bezug auf die Ionen im Zentrum der Falle, muss hier ein Korrekturfaktor  $\beta$  eingeführt werden. Zusätzlich beeinflusst der Gesamtradius  $r_{xy}$  der Falle die reell wirkende Feldstärke.

## Massenselektion

Nachdem in dem vorhergehenden Abschnitt die Theorie zur Zyklotronanregung der Ionen im Hinblick auf die Detektion betrachtet wurde, soll nun dieses Modell zur Erläuterung der Aktivierung und Isolation einzelner Ionenmassen verwendet werden.

Die Gleichung (2.22) und (2.23) zeigt, dass eine Erhöhung des Potentials  $V_{p-p}$  den Zyklotronradius des Ions linear vergrößert. Das aktivierte Ion befindet sich in der Speicherung und hat verglichen zur Ausgangslage eine größere kinetische Energie. Die Energie  $E_c$  der angeregten Ionen mit dem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis  $m/q$  wird beschrieben als

$$E_c = \frac{q}{2m} \left[ \frac{\beta V_{p-p} T_{Excite}}{8r_{xy}} \right]^2. \quad (2.23)$$

Wird die Anregung hinreichend groß gewählt, kommt es zu einer Aufweitung des Zyklotronradiuses bis über die Fallengeometrie hinaus, was die betreffende Ionensorte aus der Falle entfernt.<sup>34</sup>

Wird dieses Prinzip auf alle Ionen in der ICR-Zelle zeitgleich angewendet und eine selektive Frequenz aus der Anregung ausgeschlossen, kommt es zur Isolation des dieser Frequenz äquivalenten Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses, das als einziges in der Ionenfalle verbleibt. Hierzu wird durch die Messsoftware ein Frequenzband mit großer Amplitude und einer Bandlücke generiert, das nach der Speicherung der Ionen durch die Ringelektroden in die Falle eingestrahlt wird.

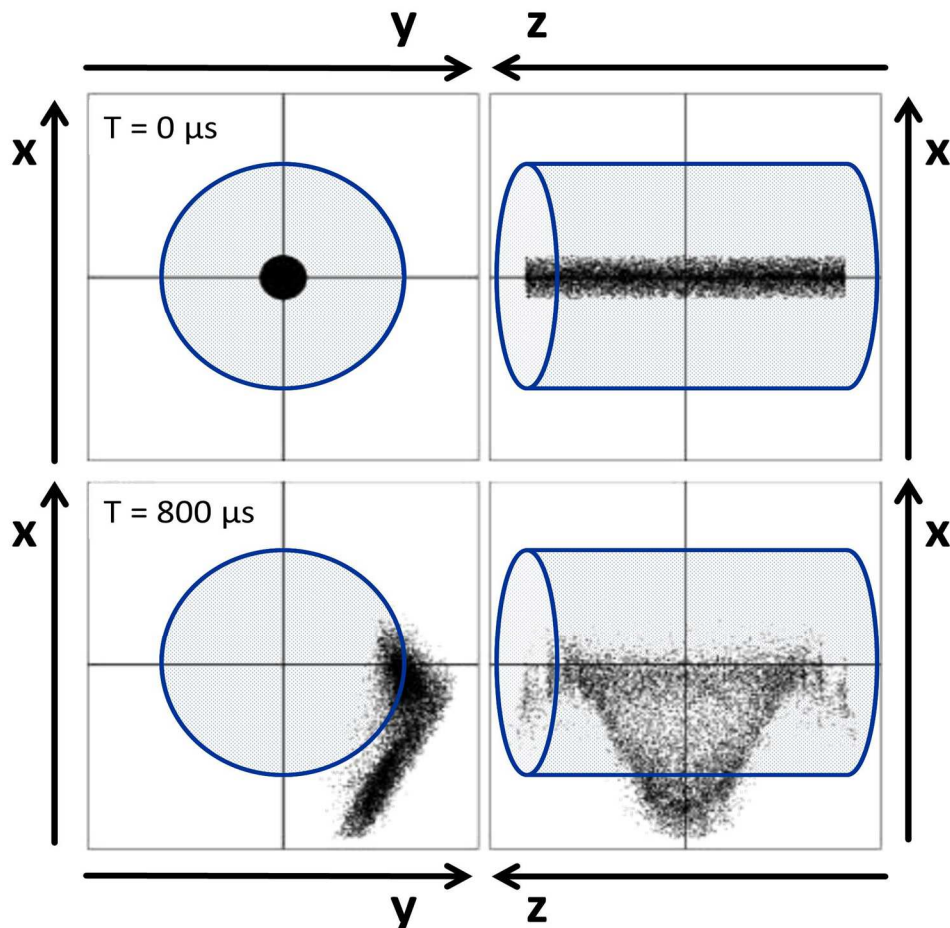
## Auswirkungen der Isolation auf die Ionenwolke und die Spektroskopie

Es wurde in den bisherigen Abschnitten deutlich, dass eine Anregung mit einer resonanten Frequenz den Zyklotronradius (und gegebenenfalls den Magnetronradius) eines gespeicherten Ions vergrößert und somit das Teilchen, vom dem Zentrum der Falle aus gesehen, auslenkt. Im Falle vieler gleichzeitig gespeicherter Ionen, ergibt sich aus der Akkumulation dieser Trajektorien die Ausdehnung der Ionenwolke während der Speicherzeit. Um eine Vorstellung dieser Ionenwolke zu erhalten wurden die Ionenbewegungen von Nikolaev *et al.* bei einer Anregung in einer Ionenfalle durch den Einsatz von Simion 8.0 simuliert.<sup>46</sup>

Neben der Ladungsrepulsion der einzelnen Ionen wurden bei den Berechnungen auch Stöße mit neutralem Restgas in der Falle mitberücksichtigt, um das Bild bestmöglich zu verfeinern. Details zur Rechenmethode und zur Lösung der verwendeten Poissongleichung werden in einer Publikation aus dem Jahr 2007 erläutert.

Zur Veranschaulichung wurde die Ionenposition aus dieser Arbeit zu Beginn der Simulation und nach 800  $\mu\text{s}$  in Abbildung 7 dargestellt. Abgebildet ist die Sicht orthogonal (x,y) und pa-

parallel ( $x,z$ ) zum angelegten B-Feld. Die Rechnungen wurden mit 50000 Ionen in einem Magnetfeld von 1 Tesla durchgeführt. Zu Beginn der Simulation (ab  $T = 0 \mu\text{s}$ ) wurden die Ionen durch Einstrahlung eines dipolaren Feldes (Spannungsamplitude:  $V_{p-p} = 20V$ ) für  $70 \mu\text{s}$  angeregt.

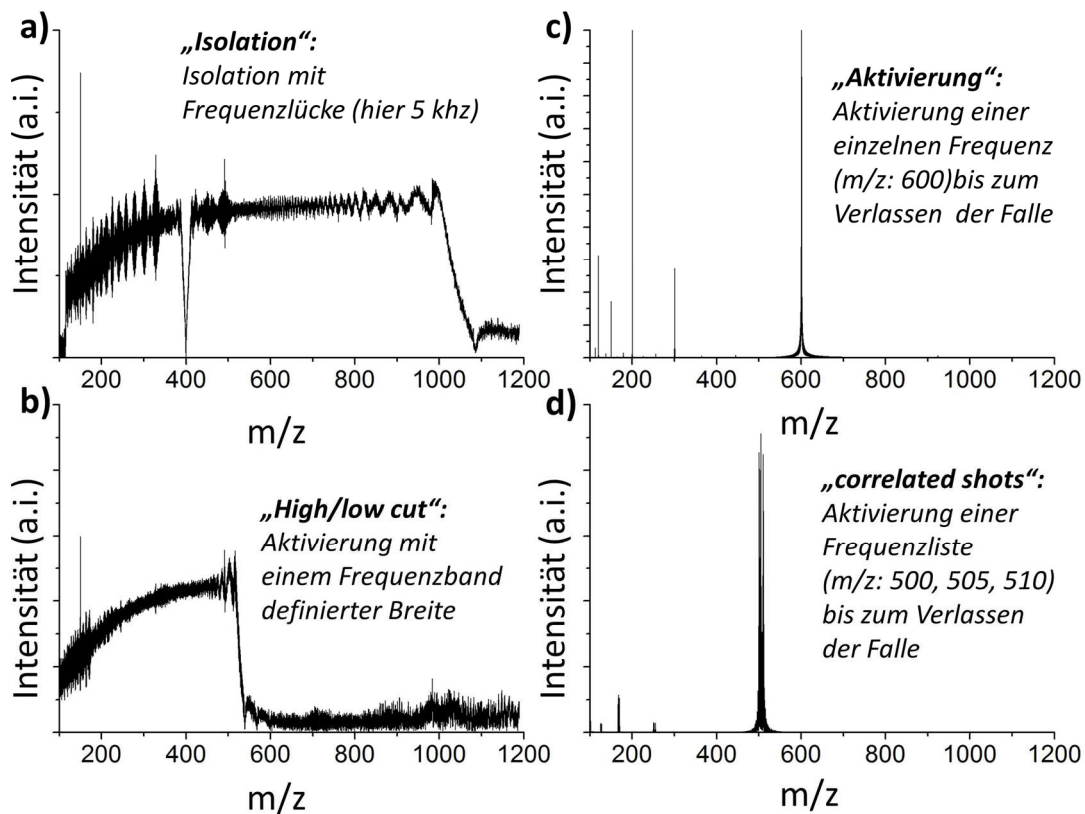


**Abbildung 7:** Entwicklung einer Ionenwolke mit 50000 Ionen nach Nikolaev *et al.*<sup>46</sup> Der obere Schnappschuss zum Zeitpunkt  $T = 0 \mu\text{s}$  zeigt die im Zentrum der Falle erzeugten Ionen. Der untere Schnappschuss wurde nach  $800 \mu\text{s}$  Simulationszeit, davon  $70 \mu\text{s}$  mit dipolarer Anregung und  $730 \mu\text{s}$  ohne dipolare Anregung gewählt. Der blaue Umriss verdeutlicht die unterschiedliche Aufenthaltswahrscheinlichkeit im Zentrum der Falle.

Nach dem Abschalten der dipolaren Anregung wurde die Entwicklung der Ionenwolke für die Dauer von  $8800 \mu\text{s}$  simuliert. Abbildung 7 zeigt die Form der Ionenwolke nach  $800 \mu\text{s}$ . Der blaue Umriss parallel zum Magnetfeld verdeutlicht, dass sich die Anregung negativ auf die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Ionen in der Nähe des Fallenzentrums auswirkt. Zu betonen ist, dass die angeregten Ionen in der Speicherung verbleiben und in einem anschließenden Detektionsprozess zur Signalintensität beitragen.

Für die Photodissoziationsspektroskopie ist dieser Effekt von großer Relevanz. Durch die Ausrichtung des Laserstrahls entlang der Zentralachse des Experiments erzeugt eine schwache Anregung der Ionen vor der Photodissoziation, einen Verlust im Signal zu Rauschen Verhältnis der Spektroskopie. Unter diesem Gesichtspunkt wird an dieser Stelle die Auswirkung einer im vorangegangenen Abschnitt beschriebenen Isolation auf die gespeicherten Ionen ausführlich diskutiert.

Im Verlauf dieser Arbeit wurden drei unterschiedliche Modelle zur Isolation getestet und der Messung entsprechend angewendet. Als (a) Standardmethode wurde die Isolation mit einer Breitbandanregung („Isolation“) verwendet, die durch eine Lücke im Frequenzband der Anregung ein ausgewähltes Masse-zu-Ladungsverhältnis isoliert. Als weitere (b) Methode wurde eine Variante der Isolation verwendet, bei der das Frequenzband der Anregung keine Lücke enthält, sondern oberhalb oder unterhalb der zu isolierenden  $m/z$ -Verhältnisse abgeschnitten wurde („high/low cut“).



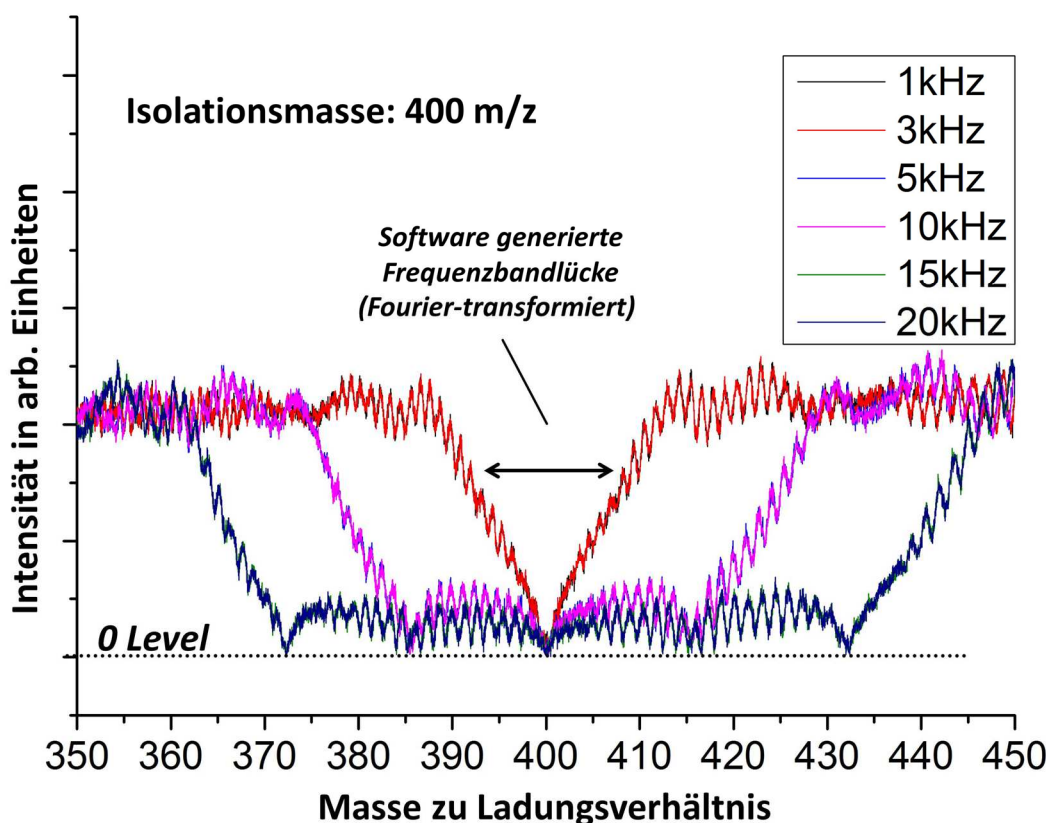
**Abbildung 8:** Messung der Frequenzbänder zu den verwendeten Isolationsmethoden. a) Die Isolation durch einen Breitbandpuls mit einer Frequenzlücke von 5 kHz zentriert auf 400  $m/z$ . b) Die Isolation durch einen Breitbandpuls mit einer cut-off-Frequenz. Hier exemplarisch ein cut off bei 500  $m/z$ . c) Aktivierung eines einzelnen  $m/z$ -Verhältnisses. Diese Methode entspricht einer Aktivierung mit einer Amplitude die den Zyklotronradius über die Dimension der Falle hinaus vergrößert. d) Dem Prinzip von der Aktivierung folgend werden mehrere Frequenzen in die ICR-Zelle eingestrahlt und die zugehörigen  $m/z$  aus der Falle entfernt.

In einem anderen Ansatz (c,d) werden einzelne Anregungsfrequenzen in die ICR-Zelle eingestrahlt und damit selektiv Ionensorten aus der Speicherung entfernt („correlated shots“).

Zur Darstellung der qualitativen Unterschiede der einzelnen Varianten ist in Abbildung 8 das in die ICR-Zelle eingestrahlte Frequenzband der drei Anregungsarten dargestellt.

Die Messung dieses Frequenzbandes erfolgte durch Starten der Messung der Bildstromladung „Detektion“ während der Anregung der verwendeten Isolationsmethode. Durch geschickte Wahl der Parameter kann die Wirkung dieser Anregung auf die Detektionselektroden in den Bereich eines Bildstroms reduziert werden, ohne dass das Frequenzband beeinflusst wird. In den Frequenzbändern aus Abbildung 8 wird deutlich, dass die Isolation (a) durch Artefakte und steil abfallende Flanken auch teilweise das zu isolierende Ion betrifft.<sup>67</sup>

Qualitativ bedeutet das für das Experiment, dass das Signal zu Rauschen der Spektroskopie zusätzlich zu den allgemeinen Parametern der Isolation von der Breite der Bandlücke und den daraus resultierenden Anregungsartefakten abhängt. Dies wird durch die Abbildung der Lücke im erzeugten Frequenzband zur Isolation in Abbildung 9 deutlich.



**Abbildung 9:** Anregungspuls der Isolation mit 6 unterschiedlichen Lücken „safty belts“ im Frequenzband. Aufgetragen sind die den Frequenzen entsprechenden  $m/z$ -Werte von 350-450  $m/z$ . Die Isolationsmasse wurde mit 400  $m/z$  gewählt und die Frequenzlücke zwischen 1 kHz und 20 kHz in der Steuerungssoftware variiert.

Als Grundsatz wurde ermittelt, dass die größtmögliche Frequenzlücke, die positivste Auswirkung auf die Spektroskopie hat. Im Gegensatz zu dieser Überlegung ist abzuschätzen, ab wann die Frequenzlücke zu groß wird und für die Spektroskopie störende Ionen in der Falle und somit in der Messung verbleiben. In Abbildung 9 wurde der Anregungspuls der Isolation (Abbildung 8 a)) mit 6 unterschiedlichen Einstellungen für die Bandlücken aufgetragen und im Bereich der Isolation vergrößert. In dieser Arbeit wurden Isolationspulse mit 5-10 kHz großer Bandlücke verwendet, die einen Kompromiss zwischen einer guten Massenselektion und einer Isolation von bis zu 20 Dalton, je nach Masse des *parent ion*, darstellt.

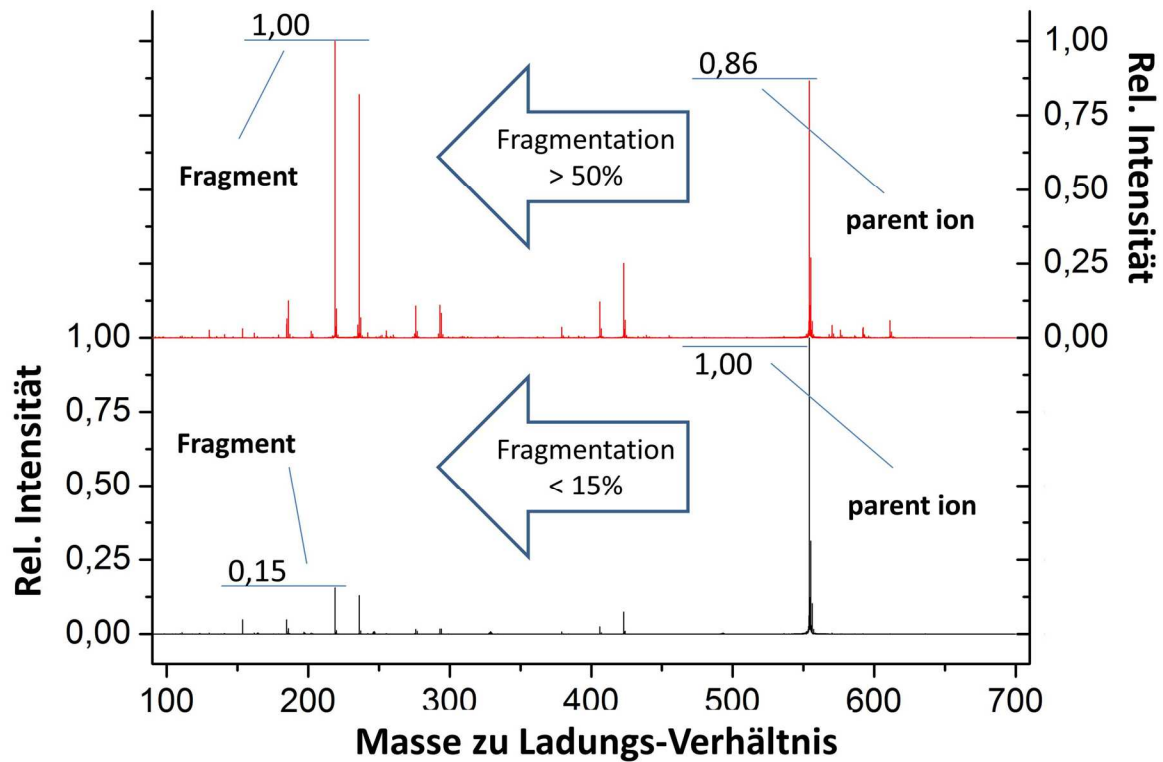
Die daraus resultierende messbare Anregung durch den Isolationspuls, ist in Abbildung 10 für das Leucin Enkephalin dargestellt. Die beiden aufgetragenen Spektren wurden aus zwei nacheinander ausgeführten Messungen mit identischen Einstellungen und Bedingungen entnommen. Beide Massenspektren wurden bei mit einer Photonenenergie von  $2946 \text{ cm}^{-1}$  aufgenommen. Im oberen Diagramm ist das Fragmentationsspektrum ohne vorgeschaltete Isolation zu sehen (rot), im unteren wurde vor der Photodissoziation eine Isolation mit einer 5 kHz Bandlücke, mit dem Zentrum bei 554 m/z durchgeführt (schwarz). Die Ionenintensität ist jeweils auf den höchsten Massenpeak im Spektrum normiert.

Hier wird deutlich, dass die relative Intensität der Fragmente durch die Isolation stark abnimmt, was durch den reduzierten Überlapp mit dem Anregungslaser erklärt werden kann. In beiden Spektren konnten die gleichen Fragmente identifiziert werden, die auch untereinander in vergleichbaren Intensitätsverhältnissen stehen.

Die Isolation beeinträchtigt somit den Anteil des fragmentierten *parent ion* Signals und damit direkt das Signal zu Rauschen-Verhältnis der Spektren. Jedoch sollte dieser Nachteil im Falle von *cross talk* akzeptiert werden, da das Signal zu Rauschen Verhältnis dieses Spektroskopieaufbaus allgemein im Bereich von 100-1000 zu 1 liegt, was eine Reduktion um eine Größenordnung für den Erhalt anderer Vorteile ermöglicht.

Eine Unterart der Isolation, der high/low cut, wurde verwendet, wenn mehr als *ein parent ion* zur gleichen Zeit untersucht werden sollte und aufgrund von *cross talk* auf eine Isolation nicht verzichtet werden konnte. Statt ein willkürliches Zentrum der Isolation zu generieren und die Frequenzlücke zu verbreitern, wird das Frequenzband künstlich abgeschnitten. Dadurch wird der Unterschied in der ungewollten Anregung für die beteiligten Ionen minimiert. Alternativ zu Verwendung eines Frequenzbandes kann eine Isolation durch „correlated shots“ verwendet werden. Die Messungen der eingestrahelten Frequenzen zeigen, dass diese Methode die geringste Anregung des *parent ion* aufweist und somit die sanfteste Isolation erlaubt. Jedoch werden durch Modulationsprobleme der verwendeten Messsoftware bei der Anwendung auf einen weiten Massenbereich zwischen den selektierten Frequenzen zusätzliche, intensive Artefakte erzeugt. Dies macht diese Methode für eine allgemeine Verwendung anfällig, jedoch ist sie die Methode der Wahl für die selektive Eliminierung einer einzelnen Masse aus der Messung.

Vergleich der laser-induzierten Fragmentation von einfach deprotoniertem Leucin Enkephalin



**Abbildung 10** Der messbare Effekt der Isolation auf den Überlapp der Ionenwolke mit dem Dissoziationslaserpuls ist für das Leucin Enkephalin dargestellt. Die beiden aufgetragenen Spektren wurden zwei nacheinander ausgeführten Messungen, mit identischen Einstellungen und Bedingungen, bei  $2946\text{ cm}^{-1}$  entnommen. In der oberen Kurve ist das Fragmentationsspektrum ohne vorgeschaltete Isolation zu sehen (rot), im unteren Spektrum wurde mit einer 5 kHz Frequenzlücke mit einem Zentrum bei 554 m/z isoliert (schwarz). Beide Massespektren wurden gegen die Ionemasse mit der höchsten Intensität normiert.

## 2.2 Ionenquelle

Historisch geht die Entwicklung der Elektrospray-Ionisation auf eine Arbeit von Chapman im Jahr 1937 zurück, in der eine Salzlösung mit unterschiedlicher Konzentration unter Einfluss eines angelegten elektrischen Potentials gesprüht und die Mobilität in einer Erikson Driftröhre untersucht wurde.<sup>47</sup> Auf dieser Arbeit basierend publizierte Dole *et al.* im Jahr 1968 Experimente mit Polymeren, die durch eine geladene Nadel gesprüht, einen Molekularstrahl mit einem konstanten  $m/z$  Verhältnis formten.<sup>48</sup> Die Entdeckung des analytischen Potentials der Elektrosprayionisation als Quelle für Gasphasen-Ionen erfolgte erst in den 1980er Jahren zeitgleich durch Yamashita und Fenn, sowie durch Aleksandrov<sup>iii</sup> *et al.*<sup>49, 50</sup> Den größten Vorteil dieser neuen Ionenquelle stellt die Möglichkeit dar, die Moleküle mit mehr als einer Ladung pro Teilchen in die Gasphase zu überführen. Besonders bei großen Molekülen ist die mehrfache Ladung der Teilchen von großem Interesse, um die experimentellen Grenzen des Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses im Massenspektrometer zu unterschreiten. Gleichzeitig kann die Quelle unter Atmosphärendruck stabil betrieben werden und sorgt durch einen geringen Energieübertrag auf das zu ladende Molekül für geringe Fragmentationsverluste bei der Ionisation. Daher hat sich die Elektrospray-Ionisationsquelle, parallel zur Matrix unterstützten Laser-desorptions/Ionisations(MALDI) Quelle, in den letzten 30 Jahren als eine Standardmethode zur sanften Überführung von geladenen Teilchen in die Gasphase etabliert. Eine (moderne) Weiterentwicklung dieser Ionenquelle stellt die NanoESI dar, die nach dem reduzierten Verbrauch der Probenlösung im Bereich von Nanoliter pro Minute, benannt wurde.<sup>51</sup> In diesem Kapitel wird die Ionenspray-Variante unter Einsatz von Stickstoff als Tröpfchen bildendes Hintergrundgas (kurz als ESI bezeichnet) erläutert. Anschließend wird die während dieser Arbeit entwickelte Nanoquelle (nESI) vorgestellt und die Herstellung der für die Nanoquelle benötigten Nadeln diskutiert.

### 2.2.1 Modelle zur Elektrospray Ionisation

Der Mechanismus der zur Bildung von desolvatisierten Ionen in der Gasphase führt, war und ist seit geraumer Zeit Thema vieler Kontroversen. Ein Überblick über die aktuelle Interpretation der unterschiedlichen Teilstufen zur Ionisation eines Teilchens wurde in mehreren Reviews unterschiedlicher Gruppen diskutiert.<sup>52-57</sup> An dieser Stelle soll der allgemeine Prozess beschrieben werden, ohne in die Diskussion um die kontroversen Unterpunkte einzugehen. Allgemein anerkannt ist, dass der Prozess in drei Teilbereiche unterteilt werden kann. Zu Anfang steht die Bildung eines kegelförmigen Tropfens an der Spitze der Spraynadel, dann das

---

<sup>iii</sup> Die Publikation von Aleksandrov *et al.* wurde im Jahr 2008 aus dem Russischen ins Englische übersetzt. Die angegebene Quelle führt zu dieser Übersetzung. Das Original wurde in *Doklady Akad. Nauk SSSR* 1984; **277**: 379–383 publiziert.



Eindampfen des abgelösten Tropfens während der Flugphase und abschließend die Formierung isolierter Ionen aus den reduzierten Tröpfchen. Als Auslöser der ersten Prozessstufe erfährt die Probelösung an der Nadelspitze ein starkes elektrisches Feld durch eine angelegte Hochspannung und einen Spannungsgradienten zur Kapillare. Abhängig vom angelegten Potential werden bei einer negativen Spannung Anionen, bei einer positiven Spannung Kationen an der Nadelspitze angesammelt. Die Lösung wird durch das anliegende Feld aus der Nadelspitze herausgezogen und bildet in Wechselwirkung mit der Oberflächenspannung und Kapillareffekten einen Kegel (Abbildung 11). Diese ladungsinduzierte Verformung des austretenden Tröpfchens an der Spitze der Nadel wird als "Taylor-Konus" bezeichnet.<sup>58</sup> In Abhängigkeit von der Stärke des angelegten Feldes wird dieser Kegel in die Länge gezogen und kleine geladene Tröpfchen von der Spitze des Kegels abgespalten. Das hierfür benötigte elektrische Feld  $E_{tc}$  an der Spitze der Nadel wird durch

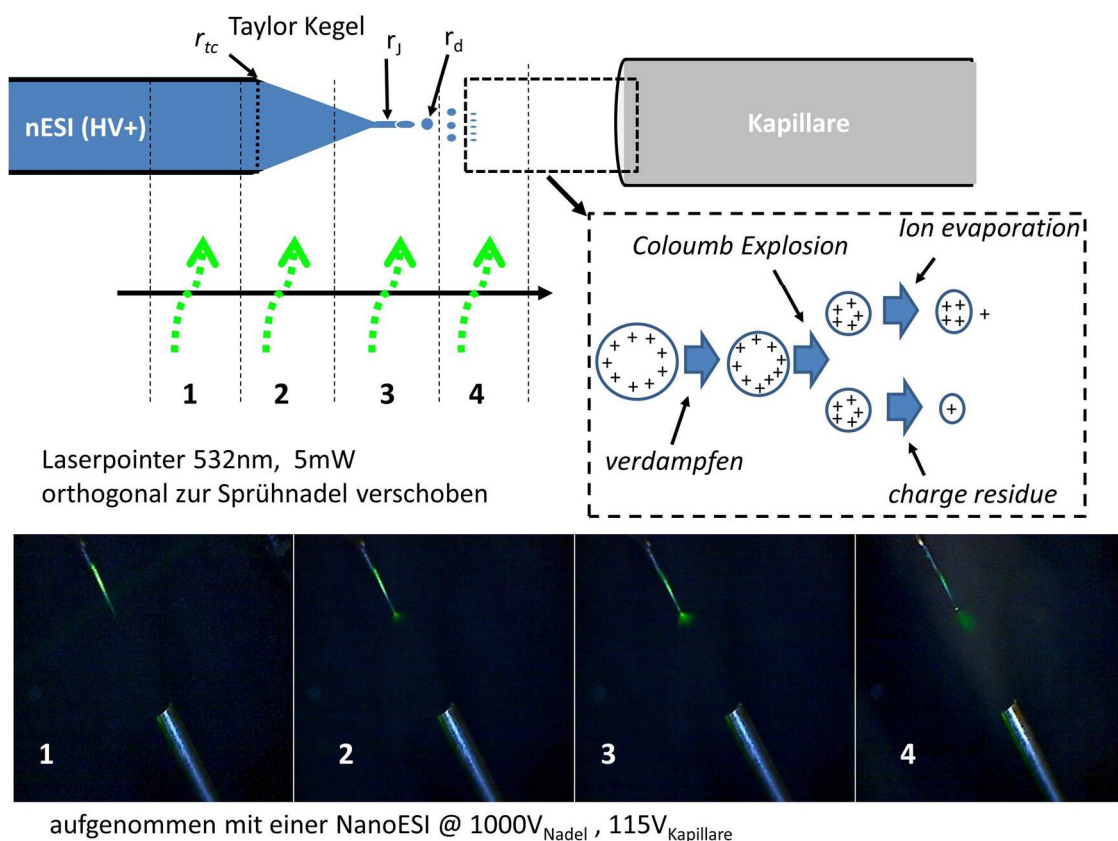
$$E_{tc} = \frac{2V_{tc}}{r_{tc} \ln\left(\frac{4d}{r_{tc}}\right)} \quad (2.24)$$

beschrieben, mit der an die Nadel angelegten Spannung  $V_{tc}$ , dem Tröpfchenradius an der Spitze des Taylor-Kegels  $r_{tc}$  und dem Abstand zwischen Nadel und Kapillare  $d$ .<sup>59</sup> Von der Spitze des Taylorkegels teilen sich nun einzelne Tropfen ab und bewegen sich entlang des Druck- und Feldgradienten in Richtung Kapillare. Der detaillierte Prozess im Übergang zur zweiten Phase wurde von Tang *et al.* untersucht und kann zusammengefasst als ungleiche Teilung oder Strahl-Tröpfchen Teilung beschrieben werden.<sup>55</sup> Der Radius der entstehenden Tröpfchen  $r_d$  wird bei einer ESI Quelle, neben der Feldstärke, noch durch die Flussrate des Lösungsmittels und die Parameter des Vernebelungsgases beeinflusst. Durch die thermische Energie der Umgebung verdampft das Lösungsmittel in der zweiten Phase auf dem Weg zur Kapillare und führt zur Reduktion des Radius des geladenen Tröpfchens.<sup>60</sup> Die maximale Anzahl an Ladungen, die in einem Tröpfchen gleichzeitig stabil gelöst vorliegen können, wird durch das „Rayleigh Limit“ definiert.<sup>61</sup> Es beschreibt die repulsiven Wechselwirkungen der gleichnamigen Ladungen gegen die der Oberflächenspannung des Tröpfchens.<sup>62</sup>

$$q_{Ry} \geq 8\pi \sqrt{\epsilon_0 \gamma r_d^3}. \quad (2.25)$$

$r_d$  ist hierbei der Radius des Tröpfchens,  $\epsilon_0$  ist die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels und  $\gamma$  ist die Oberflächenspannung. Diese Gleichung wird auch für die Tröpfchen-Teilung verwendet. Die Diskussion um die letzte Phase des Prozesses, die Bildung der isolierten Ionen in der Gasphase, wird von zwei Modellen dominiert, die hier kurz vorgestellt werden.

Das erste der beiden Modelle wird allgemein als „Charge residue model“ bezeichnet. Hierbei verdampft thermische Energie aus der Umgebung das Lösungsmittel, was die Tröpfchengröße kontinuierlich verringert. Dadurch wird irgendwann das „Rayleigh Limit“ erreicht und es kommt zu Ionenemissionen durch Coulomb Explosionen und somit zur Reduktion der Ladung im Tröpfchen. Durch weiteres Verdampfen von Lösungsmittel wiederholt sich dieser Prozess anschließend mehrmals. Dies führt dazu, dass einzelne geladene Ionen mit Restlösungsmittel entstehen, wobei jedes dieser Nanotröpfchen aus wenigen Lösungsmittelmolekülen und einem einzelnen zentralen Ion gebildet wird.



**Abbildung 11** Abgebildet ist die Spitze einer NanoEsi Nadel mit einem Innendurchmesser von ca. 500 nm. Aufgrund des angelegten Feldes bildet sich ein Taylor-Kegel an der Nadelspitze. Hervorgehoben sind die weiteren Teilschritte bis zur Isolation des Ions. Zur Veranschaulichung des Taylorkegels und der abgespalteten Tröpfchen wurde ein Laserstrahl (532nm) orthogonal zur Nadelspitze verschoben und die jeweilige Reflexion der Lösungsmitteltropfen fotografiert. Der Abstand der Nadelspitze zur Kapillare wurde hier mit ca. 10 mm gewählt.

Durch Verdampfen der restlichen Lösungsmittelmoleküle bleibt das Ion am Ende in der Gasphase überführt zurück. Das Ablösen eines Ions von den umgebenden Lösungsmittelmolekülen wird wieder formal als „Coulomb Repulsion“ beschrieben. Für diesen als Entclustering bezeichneten Prozess gilt ebenfalls Gleichung (2.25). Der vorgeschlagene Mechanismus wird

unterstützt durch die Berechnung der Tropfengröße, die hierfür benötigt wird. So ist bei einer Konzentration von  $1\text{pMol}/\mu\text{L}$  eines Salzes bei vollständiger Dissoziation und einer Tröpfchengröße von 200 nm während des Sprayprozesses weniger als ein Ion pro Tröpfchen (im statistischen Mittel) vorhanden. Dies stellt die Coulomb-Explosion ab dieser Tröpfchengröße in Zweifel und favorisiert das „*charge residue model*“.<sup>63</sup>

Im Gegensatz dazu wurde basierend auf früheren Arbeiten von Iribarne und Thompson ein weiterer Mechanismus, das „*ion evaporation model*“, postuliert.<sup>64, 65</sup> Dieses Modell beschreibt die direkte Abspaltung von geladenen Teilchen aus den Lösungsmitteltröpfchen im Nanometer Maßstab. Durch Verdampfen des Lösungsmittels steigt die Feldstärke an der Oberfläche des Tröpfchens konstant an. Die Kräfte durch das elektrische Feld und die Abstoßung von anderen Ladungen im Tröpfchen drücken ein einzelnes, geladenes Ion aus der Tropfenoberfläche heraus und es kommt zur Abspaltung des Ions. Die Effektivität des Prozesses ist bestimmt durch die Größe des Lösungsmitteltröpfchens, sowie durch die chemischen Eigenschaften und die Energiebarriere zur Abspaltung des Ions.

Welcher dieser beiden vorgeschlagenen Prozesse maßgeblich zur Bildung von Ionen aus der Elektrosprayionisationsquelle verantwortlich ist, ist zum heutigen Zeitpunkt nicht abschließend geklärt und ist Bestandteil aktueller Diskussionen. Kinetische Überlegungen stützen die Theorie von Irvine und Thomson, Messungen von Kebarle *et al.* aber das *charge residue model*. Dem interessierten Leser sei das Buch von Richard B. Cole empfohlen, der dieser Kontroverse einen ausführlichen Abschnitt widmet.<sup>63</sup>

### 2.2.2 Elektrospray Ionisation (ESI)-Quelle

In dieser Arbeit wurde eine kommerzielle ESI-Quelle verwendet (Analytica of Branford, Perkin Elmer, Waltham (Ma)). Zur Vereinfachung werden im Folgenden alle Spannungen für das Sprühen eines Kations (im positiven Modus) beschrieben. Für den negativen Modus kann, falls nicht explizit anders beschrieben, ein inverses Potential angenommen werden. Die Probe wird in Lösungsmittel gelöst und mittels einer Analysenspritze (500  $\mu\text{L}$ , Model 1750 TLLX SYR, Instrument Syringe, Hamilton Company, Bonaduz (CH)) durch eine Edelstahl-nadel (i.d.= 0,50 mm, a.d.= 1/16", Länge = 200 mm), unter Einsatz von Stickstoff als Vernebelungsgas, gesprüht. Die Flussrate in diesen Experimenten beträgt zwischen 80-120  $\mu\text{l/h}$  und das Sprühpotential auf der Nadel zwischen ca. 2,5 – 4 kV. Die Spannungsversorgung durch eine Hochspannungsquelle (Analytika of Branford) ist stufenlos regelbar und wird auch für die Spannungsversorgung der Kapillare verwendet. Zur Kontrolle des Sprühvorgangs kann der Sprühstrom auf der Kapillare durch ein eingebautes Amperemeter überwacht werden, dass auch unerwünschte Überschläge, die vor allem oberhalb von 4 kV im negativen Modus entstehen können, detektiert. Diese Überschläge führen gegebenenfalls zu sichtbaren Entladungen zwischen der Nadelspitze und der Desolvatationskapillare.

Die Desolvationskapillare (i.d.= 0,50 mm, a.d.= 1/16", Länge = 200 mm) trennt die erste Pumpstufe vom Sprühbereich. Sie wird durch einen Kupferblock mit eingelassenen Heizelementen und Temperatursensor auf ungefähr 120° C geheizt. Die erhöhte Temperatur dieser Metallkapillare hilft zur vollständigen Desolvatisierung. Der Abstand der Nadelspitze zum Eingang der Metallkapillare beträgt etwa 10 - 30 mm und kann durch Stellschrauben zur Optimierung des Signals verändert werden. Zur Einstellung des Spannungsgradienten wird die Desolvationskapillare mit einem Potential von 80 – 120 V versehen. Aufgrund dieses experimentellen Aufbaus ist es möglich die Quelle vor der Desolvationskapillare, ohne Beeinflussung der Pumpstufen, zu wechseln. Unabhängig von der eingesetzten Quelle sind die Ionen am Ausgang der Desolvationskapillare weitgehend lösungsmittelfrei in die Gasphase überführt.

### 2.2.3 nanoElektrospray Ionisations (nESI)-Quelle

Seit der Entwicklung der Elektrosprayionisation von Fenn und Aleksandrov und der nachfolgenden Kommerzialisierung, wurden mit der MicroESI<sup>66</sup> und der NanoESI<sup>67</sup> in den vergangenen Jahren die wohl bedeutendsten Neuerungen im Bereich der Elektrospraymassenspektrometrie eingeführt. Das Ziel dieser Entwicklungen war es den Probenverbrauch gegenüber der bereits etablierten ESI Quelle zu reduzieren. Benannt wurden die beiden Quellen in den folgenden Jahren nach den jeweiligen Größenordnungen der Flussraten und gleichzeitig nach der Effizienz den Ionennachweis zu steigern. Dieses Ziel wurde im Ansatz durch die Entwicklung der MicroESI verbessert und später durch die Entwicklung der NanoESI auch erreicht.<sup>51, 66, 67</sup> Die Vorzüge dieser Elektrospray-Techniken mit geringen Flussraten sind (1) kleinere Tropfengrößen, was zu effizienteren Desolvationsprozessen führt, (2) geringere Gaslast im Desolvationsbereich, durch geringere Lösungsmittelmengen und somit eine geringere Stoßhäufigkeit im Quellbereich. Dies führt zu geringerer kollisions-induzierter Dissoziation und somit zur reduzierten Fragmentation bei der Ionisierung.

Es ergibt sich auch direkt, dass eine geringere Flussrate der NanoEsi-Quelle einen (3) geringeren Probenverbrauch gegenüber der ESI-Quelle darstellt, da für beide Quellen eine identische Messlösung verwendet wird. Dieser verringerte Probenverbrauch ist besonders für Massenanalysen an aufwendig und teuer zu produzierenden Substanzen relevant. Dies gilt zwar auch für die von Emmett & Caprioli entwickelte MicroESI, dennoch ist die Flussrate der NanoESI (und damit der Probenverbrauch) um mindestens eine Größenordnung geringer anzusetzen, was auf den kleineren Innendurchmesser der zum Sprühen eingesetzten Nadelspitze zurückzuführen ist. Bei einer MicroESI handelt es sich um eine Glaskapillare mit einem Innendurchmesser  $r_{tc}$  von ca. 50  $\mu\text{m}$ .<sup>66</sup> Bei einer NanoESI wird die Probe in hierfür präparierte Glasnadeln (nanotips, Proben-Nadeln) abgefüllt, die in der Regel einen Durchmesser von  $0,2 < r_{tc} < 5 \mu\text{m}$  besitzen. Die geringe Öffnung der Proben-Nadel führt in einem elektri-

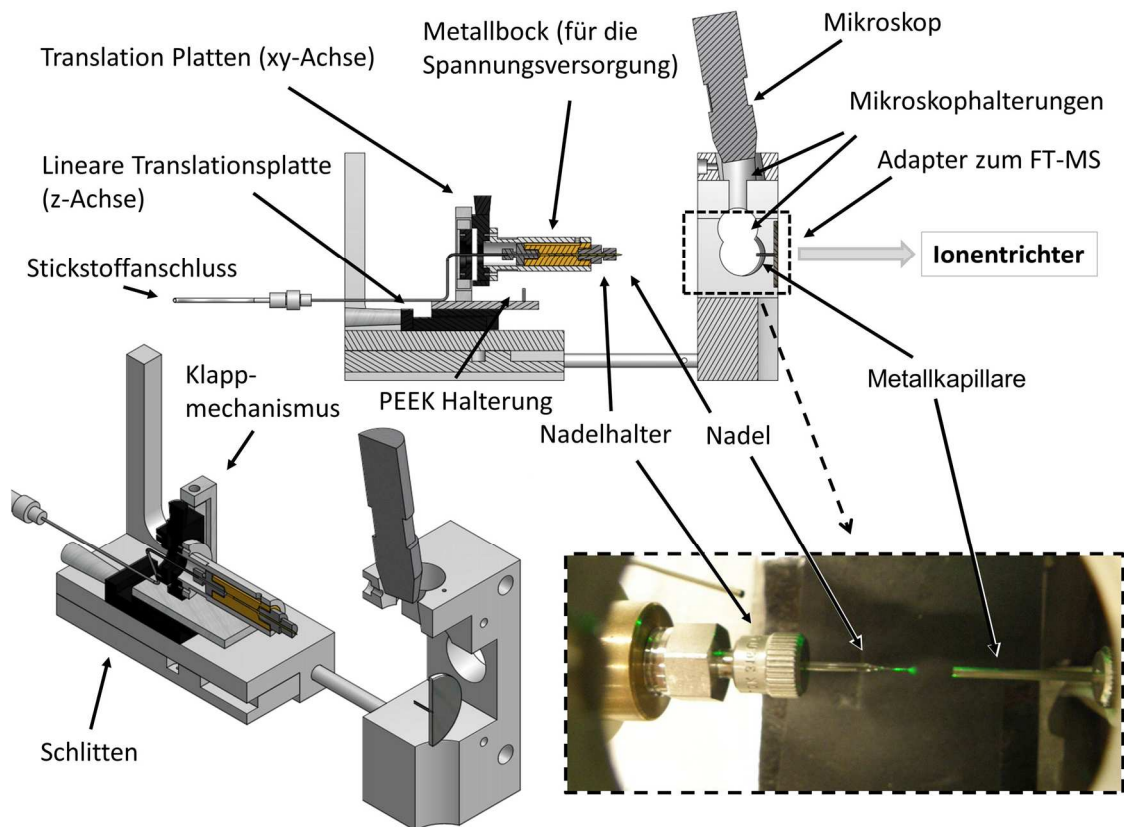
schen Feld zur Bildung eines deutlich kleineren Taylorkegels (siehe auch Gleichung (2.24)). Dadurch kann einerseits wegen der geringeren Tröpfchengrößen die Nadel näher an der Kapillare platziert und dadurch die Effizienz erhöht werden. Andererseits sind allgemein geringere Sprühspannungen nötig, um den Taylorkegel zu erzeugen. Dies macht die NanoESI weniger anfällig für unerwünschte, elektrochemische Prozesse an der Nadelspitze. Als weiterer Vorteil wurde gezeigt, dass durch den Einsatz von nESI-Quellen zum Teil der Salz-Effekt unterdrückt wird. Bei diesem Effekt werden durch Protonen-Metallaustausch oder durch Einlagerung erzeugte Salzcluster, statt dem zu untersuchenden Ion, im Massenspektrum nachgewiesen und die Intensität des eigentlichen Mutterions vermindert. Karas *et al.* erklären diesen Effekt in ihrer Publikation von 1999 ebenfalls mit der reduzierten Tröpfchengröße am Ende des Taylorkegels gegenüber dem Einsatz einer Elektrospray Quelle.<sup>68</sup>

### **Entwicklung der nESI-Quelle**

Um die hier aufgeführten Vorteile im Experiment anwenden zu können wurde im Verlauf der Arbeit eine nESI-Quelle entworfen und gebaut (Abbildung 12).

Kernstück der Nanoquelle ist der Nadelhalter. Hierfür wurde ein massiver Messingzylinder längs durchbohrt und mit zwei Innengewinden für UltraTorr Gasanschlüsse versehen (Swagelok, BEST Fluidsysteme GmbH, Brackel(Ger)). Die Verschraubungen (mit einem Innendurchmesser von 1/16 Zoll) dienen als Halterung für die Proben-Nadeln. An die zweite Verschraubung auf der Rückseite des Messingzylinders kann nach Bedarf eine Stickstoffzuleitung angeschlossen werden, um durch N<sub>2</sub>-Druck eine erhöhte Flussrate der Probenlösung zu erzeugen. Die Spannungsversorgung ist an der rückseitigen Gasverschraubung angeschlossen. Der Messingblock und die Edelstahlverschraubung können dadurch auf Potential gesetzt werden und kontaktieren über ein leitendes Polymer die Proben-Nadel. Aus Sicherheitsgründen wird dieser Block von einem nicht leitenden PEEK-Mantel umgeben. Mit dieser Halterung kann auch eine grobe Ausrichtung des Abstandes zwischen Nadel und Kapillare realisiert werden. Die Fixierung der Proben-Nadel wird durch eine Überwurfmutter und dem leitfähigen Polymer in Form eines O-Rings erreicht.

Die Nanoquelle kann auf einem Schlitten, der über zwei Stäbe mit einem Aluminiumadapter verbunden ist, längs der Strahlachse frei bewegt werden. Dieser Schlitten wird im Betrieb an dem Adapter fixiert und ermöglicht es, die Proben-Nadel reproduzierbar zur Kapillare zu positionieren. Die Vorteile dieser Schlittenkonstruktion sind zum einen der Einbau eines Interlockschalters, der die Hochspannungsversorgung bei herausgezogenem Schlitten unterbricht und die Sicherheit des Experimentators erhöht.



**Abbildung 12** Darstellung der NanoESI-Quelle. Die 2-dimensionalen und 3-dimensionalen Halbschnitte wurden mit dem Programm Inventor erzeugt, in dem die Baupläne der Quelle erstellt wurden. Unten rechts ist eine Fotografie der Nadelhalterung im Sprühbetrieb abgebildet. Die gesprühte Lösung wurde durch Reflexionen eines 5 mW Laserpointer (532nm) an den Lösungsmitteltröpfchen sichtbar gemacht.

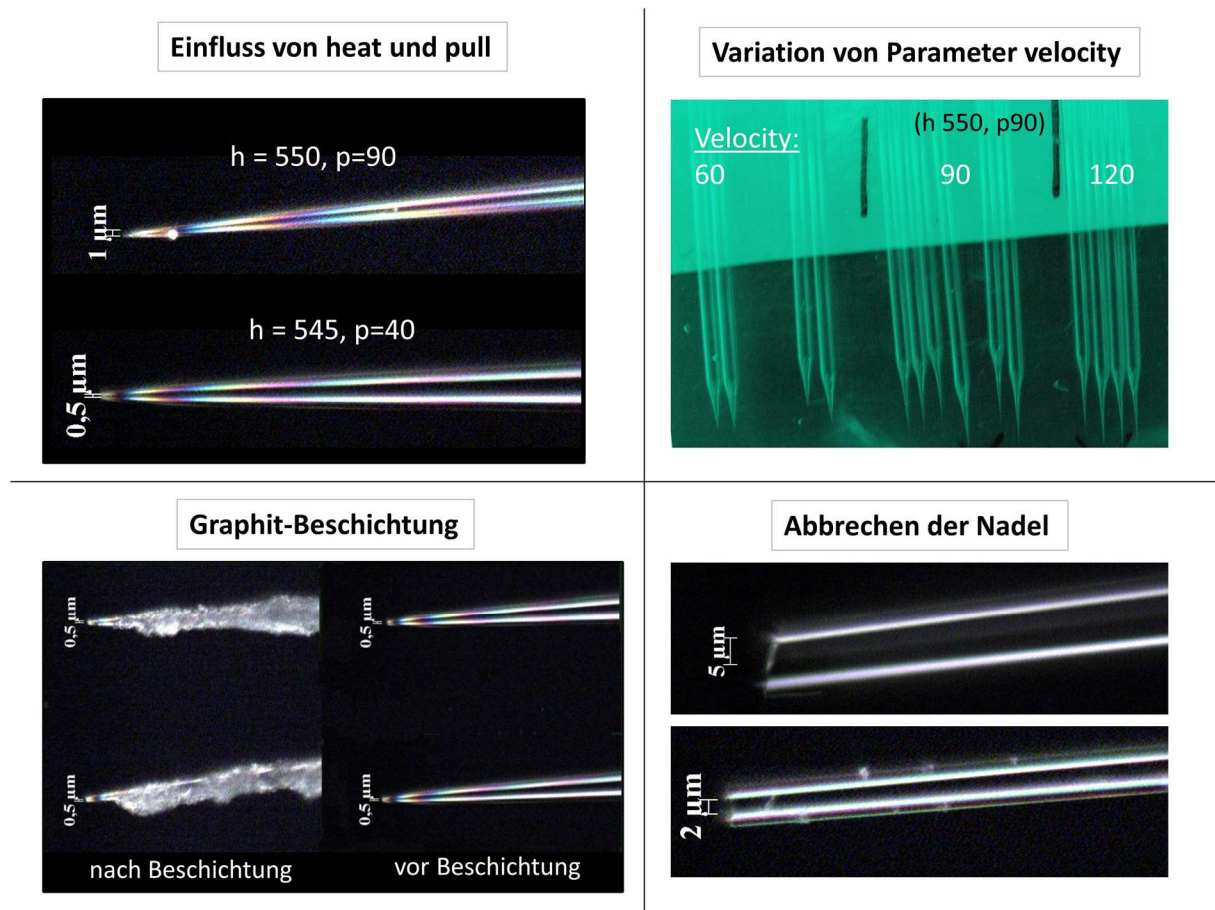
Zum anderen wird diese Konstruktion für einen problemlosen Tausch der Proben-Nadeln benötigt. Hierfür wurde die PEEK-Halterung auf einer schwenkbaren Platte montiert, um eine Rotation der Nadelhalterung aus der Sprühachse heraus zu ermöglichen. Fixiert wird die Drehhalterung in ihrer Endposition auf der Sprühachse durch einen in den Schlitten eingelassenen Magneten. Durch eine 2-dimensionale Verschiebeeinheit (Fa. OWIS, MKT 40B) für die Ausrichtung der Nadel und eine lineare Verschiebungseinheit (Artifex Optics, z-stage) für die Feineinstellung des Abstands zur Kapillare, kann die Probenadel präzise und reproduzierbar in Position gebracht werden. Zur Einstellung und Überprüfung der Endposition sind in dem Adapter zwei Halterungen für ein digitales Mikroskop (Artikel-Nr.52092 DigiMicro 2.0 Scale, dnt, Dietzenbach (D)) eingebaut und orthogonal zueinander ausgerichtet.

Die Spannungsversorgung konnte vollständig von der bereits vorhandenen Elektrospray(ESI)-Quelle übernommen werden. In die Verbindung zur Spannungsversorgungseinheit der Firma Analytica of Branford wurde dazu ein Adapterstecker eingebaut, so dass es möglich ist, innerhalb weniger Handgriffe die nESI- und ESI-Quelle zu tauschen.

## Optimierung der Proben-Nadeln für die Spektroskopie

Entscheidend für die problemlose Bedienung der NanoESI-Quelle ist die Qualität der verwendeten Proben-Nadeln. Hergestellt werden diese Nadeln mit einem Mikropipetten-Zieher (P-1000 Micropipette Puller, Fa. Sutter instruments, Novato, CA). Dadurch ist eine reproduzierbare Herstellung von Nadeln mit optimierten Parametern möglich. Durch Wahl dieser Parameter können dünn zulaufende Spitzen mit unterschiedlichen Innendurchmessern an der Öffnung und unterschiedlicher Länge erzeugt werden. Im Gegensatz zur Verwendung für die Massenspektrometrie ist bei der Kopplung der NanoESI mit einer Spektroskopiemethode die Langzeitstabilität und der geringe Probenverbrauch von Bedeutung, da bei diesen Langzeitmessungen die Zielsetzung eine möglichst hohe Signalstabilität über mehrere Stunden hinweg unter gleichbleibenden Bedingungen ist. Außerdem wurde als zusätzliches Ziel definiert, auf das manuelle Aufbrechen einer Nadel verzichten zu können, da dieser Bruch stets unkontrolliert wird und dem Experimentator keine Einschätzung zur Flussrate erlaubt (siehe auch Abbildung 13). In dieser Arbeit wurden die einzelnen Parameter „*heat*“, „*velocity*“ und „*pull*“ iterativ variiert und die Auswirkungen auf die Nadel dokumentiert. Zur Messungen des Innendurchmessers wurde ein Mikroskop verwendet und durch Messungen mit Metalloporphyrinen aus unterschiedlichen Lösungsmitteln die Eigenschaften als Elektrospray-Emitter beurteilt.

Als Ausgangsmaterial wurden „*Borosilicate thin wall*“ Kapillaren (Artikelnr. 640780, Harvard Apparatus, Holliston (Ma, USA)) mit einer Länge von 100 mm und einem Innendurchmesser von 0,94 mm verwendet. Der Außendurchmesser der Kapillare beträgt passend zur Halterung 1,2 mm. Zur Herstellung der Proben-Nadeln wird eine Kapillare in den Puller eingespannt und durch ein Filament in der Mitte erhitzt. An beiden Enden der Kapillare wird durch einen geführten Seilzug eine voreingestellte Zugkraft angelegt. An der erhitzten Stelle dehnt sich das Material aus bis es zum Bruch kommt, der zu zwei Proben-Nadeln mit nahezu identischer Spitze führt. Die wichtigsten Parameter für diese Zugkraft sind die Geschwindigkeit mit der der Seilzug zurückfährt (*velocity*) und die Kraft mit der er zurückgezogen wird (*pull*). Durch das Erhöhen des *velocity* Wertes wird die Spitze in die Länge gezogen und es werden längere, dünn zulaufende Spitzen erzeugt. Mit dem *pull* Wert hingegen wird der Zeitpunkt beeinflusst, an dem die erhitzte Kapillare in zwei Spitzen auseinander bricht. Über den Parameter *heat* wird die Temperatur des Filaments und somit die Temperatur der Bruchstelle eingestellt. Die anderen Parameter hängen direkt von diesem *heat* Wert ab, weshalb die Parameteroptimierung für jeden Puller separat vorgenommen werden muss.



**Abbildung 13** Aufnahmen von in dieser Arbeit erstellten Proben-Nadeln. Oben links ist der Einfluss der Parameter *heat* und *pull* zu sehen. Aufgrund ihrer Einstellung kann zwischen geschlossenen und geöffneten Nadelspitzen variiert werden. Oben rechts ist ohne Vergrößerung die Variation des *velocity* Wertes gezeigt. Durch das Falschfarbenbild ist die zunehmende Länge von links nach rechts zu erkennen. In der unteren linken Abbildung wurde eine Nadel vor und nach einem *coating* mit Graphit aufgenommen, um den Graphitmantel sichtbar zu machen. Die untere Rechte Aufnahme zeigt Nadeln nach einem manuellen Bruch, der den Innendurchmesser in der Regel deutlich vergrößert.

Nach der Produktion der Nadeln wurden diese mit dem Mikroskop (AxioTech, Carl Zeiss AG, Oberkochen (Ger)) in 50-facher Vergrößerung charakterisiert und fotografiert (siehe Abbildung 13). Untersucht wurden jeweils vier Nadeln pro Parametersatz mit der Zielsetzung, reproduzierbar geöffnete Nadeln mit einem Innendurchmesser von  $<500$  nm zu erzeugen.

Eine Betrachtung der einzelnen Parameter zeigt, dass durch die Erhöhung des Parameters *heat* die Nadeln von *open* zu *geschlossen* variiert werden können, wobei *geschlossen* eine zusammengeschmolzene Nadelspitze meint. Nach Einstellung der Temperatur oberhalb der Schmelztemperatur des Materials, kann bei offenen Nadeln durch den Parameter *pull* die Größe des Innendurchmessers beeinflusst werden. Die Länge der Nadelspitze wird am stärksten durch den Parameter *velocity* verändert. Eine lange Spitze erhöht den Innenwiderstand und reduziert die elektrische Leitfähigkeit und somit die Spannungsstabilität der Nadel, aber ver-



einfach gleichzeitig die Handhabung. Der Effekt, der einer Erhöhung des *velocity* Wertes von 30 auf 60 Einheiten mit konstanten Parametern für *pull* und *heat* erzeugt, ist im Falschfarbennbild in Abbildung 13 dargestellt. Der variierte *velocity* Wert ändert hier die Länge des Konus von 5 auf 15 mm. Dadurch wird die Nadel länger und die konische Abnahme des Innendurchmessers zur Öffnung hin wird geringer. Es ist zu betonen, dass die Parameter sich gegenseitig ebenfalls beeinflussen und dies nur als grobe Richtlinie für die Einstellung des Pulvers zu verstehen ist.

Zur Kontrolle der Elektrosprayeigenschaften stand neben der hier beschriebenen NanoESI eine kommerzielle Apparatur (Synapt G2-S, Waters MS Technology Centre Micromass, Manchester (UK)) mit einer mitgelieferten kommerziellen Nanoquelle der gleichen Firma zur Verfügung. Am FT-ICR konnten mit einer optimierten Nadel bei geringen Konzentrationen ( $10^{-5}$  mol/L) mit einer Proben-Nadel (H545/P90/V60) Sprühdauern von über 10 Stunden erreicht werden. Hierfür wurden leicht lösliche, stabile Biomoleküle in Wasser/Methanol Gemischen unterschiedlicher Zusammensetzung verwendet. Die Nadel wurde dabei einmalig mit ca. 4/5 ihres Gesamtvolumens befüllt, das sich aus Innendurchmesser  $d_K$  und Länge  $l_K$  ( $l_K \sim 50$  mm) der Kapillare ungefähr als

$$\frac{d_K^2}{4} \pi l_K = 34,6 \text{ mm}^3 \quad (2.26)$$

abschätzen lässt. Wird von einer Befüllung mit 30  $\mu\text{l}$  ausgegangen würde ein vollständiger Probenverbrauch über diese Zeitspanne einer Flussrate von 50 nL/min entsprechen. Die realen Flussraten liegen jedoch deutlich unterhalb dieses Wertes. Die längste gemessene Sprühdauer betrug 72 Stunden bei einem Verbrauch von ca. 10-15  $\mu\text{l}$ . Die resultierende Flussrate dieser Messung liegt demnach bei 3 bis 3,5 Nanolitern/min. Bei einer normalen Konzentration der Probe von  $1 \times 10^{-5}$  mol/l entspricht dies einer Analytmenge von  $3,4 \times 10^{-14}$  mol/min, also ca. 500 attomol pro Sekunde.

Diese für die optische Spektroskopie optimierten Nadeln benötigen jedoch, aufgrund ihrer Anfälligkeit auf elektrische Korrosion und Verunreinigungen durch Feststoffpartikel, im Umgang eine Einarbeitungszeit des Experimentators. Um dieses Problem zu umgehen wurden auch Proben-Nadeln für die reine Analytik optimiert, die zum Teil Messzeiten im Bereich von nur wenigen Minuten erfordert. Mit einem Parametersatz H540/P40/V50 können Nadeln mit einem Innendurchmesser  $> 1 \mu\text{m}$  erzeugt werden, die deutlich resistenter gegen diese Probleme sind und Spraydauern im Bereich von 30-120 Minuten aufweisen. Ein weiterer Grund für die Verwendung von Nadeln mit größerem Innendurchmesser ist, dass diese sich im Umgang mit stark konzentrierten Ausgangslösungen als resistenter gegen Blockierungen der Nadelspitze gezeigt haben. Im Beispiel der Metalloporphyrine ist eine Abhängigkeit der Metalle zur Oligomer-Bildung (also Bildung von Di- und Trimeren) von der Ausgangskonzentration der Probelösung zu beobachten. Daher wurde für diese Spektroskopie eine Nadel mit Innen-

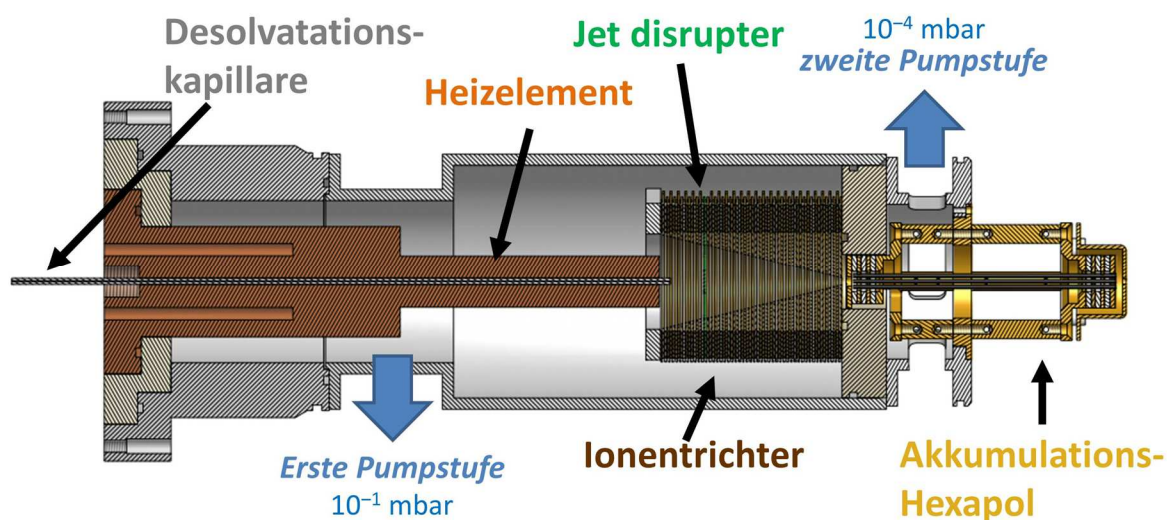
durchmesser von ca. 1  $\mu\text{m}$  verwendet, um eine konzentriertere Lösung bei Spannungen von ca. 2000 V verwenden zu können. Die höhere Spannung zur Ausbildung des Taylorkegels steht aufgrund des größeren Innendurchmessers im Einklang mit dem Ergebnis aus der Gleichung (2.24).

Für einen geeigneten Kompromiss wurde ein weiterer Parametersatz (H535/P90/V90) entwickelt mit einer Öffnung von ca. 0,5  $\mu\text{m}$ . Dieser Innendurchmesser kombiniert eine leichte Handhabung mit Sprühdauern im Bereich von 5-8 Stunden. Diese Nadeln wurden zusätzlich zu den beiden beschriebenen Quellen an einer kommerziellen NanoESI an einem MicroTOF-Q Massenspektrometer, (Bruker Daltonics), an einer nichtkommerziellen Nanoquelle, montiert an einer LTQ-Orbitrap (Thermo Scientific, San Jose (CA,USA)) und einer nichtkommerziellen Quelle, an einer Trapped Ion Laser Induced Fluorescence Apparatur, getestet und als Standard eingeführt. Es ist aber anzumerken, dass diese Werte stark von der Qualität des verwendeten Filaments abhängen und eine Optimierung mindestens nach jedem Filamentwechsel nötig ist.

Um den Einfluss einer leitfähigen Beschichtung der Proben-Nadeln zu untersuchen wurden die Nadeln, unter Aussparung der Nadelspitze und der Öffnung zur Befüllung, mit Graphit besprüht. Die Nadelspitzen wurden vor und nach dem Besprühen mikroskopiert und die Sprüheigenschaften am FT-ICR Massenspektrometer untersucht. Die Beschichtung ermöglichte es hier die Sprühspannung um 10-15% zu senken. Außerdem stellt sich bei Variation der Spannung schneller ein stabiles Signal ein. Die Nachteile in der Handhabung der Beschichtung und der Aufwand zur Herstellung überwogen die Vorteile, so dass die Nadeln für die in dieser Arbeit vorgestellten Messungen unbeschichtet verwendet wurden.

## 2.3 Ionentrichter und der Akkumulationshexapol

Die Desolvationskapillare stellt die Trennung der ersten Pumpstufe von dem Atmosphärendruck im Labor dar und löst unabhängig von der verwendeten Spray-Quelle die restlichen Lösungsmittelpartikel von den Ionen, die somit in die Gasphase überführt werden. Die Aufgabe der nachfolgenden Baugruppe ist es, die nun isolierten Ionen zu sammeln und in die ICR-Zelle zu transferieren. Zu diesem Zweck endet die Desolvationskapillare in einem Ionentrichter, indem die Ionen gesammelt und die Neutralteilchen abgetrennt werden. Gleichzeitig fokussiert der Ionentrichter die Ionen in einen Hexapol, der sie typischerweise 0,7 bis 2 Sekunden akkumuliert und dann als Ionenwolke zur ICR-Zelle überführt. Unter dem Gesichtspunkt, dass das FT-ICR Massenspektrometer in diesem Aufbau für Photodissoziationsspektroskopie verwendet werden soll, kommt diesen Aufgaben eine vergrößerte Aufmerksamkeit zu. Dies liegt an den großen Auswirkungen auf die Qualität der Spektroskopie durch die physikalischen Eigenschaften der Ionenwolke, worauf im folgenden Abschnitt ausführlich eingegangen wird.

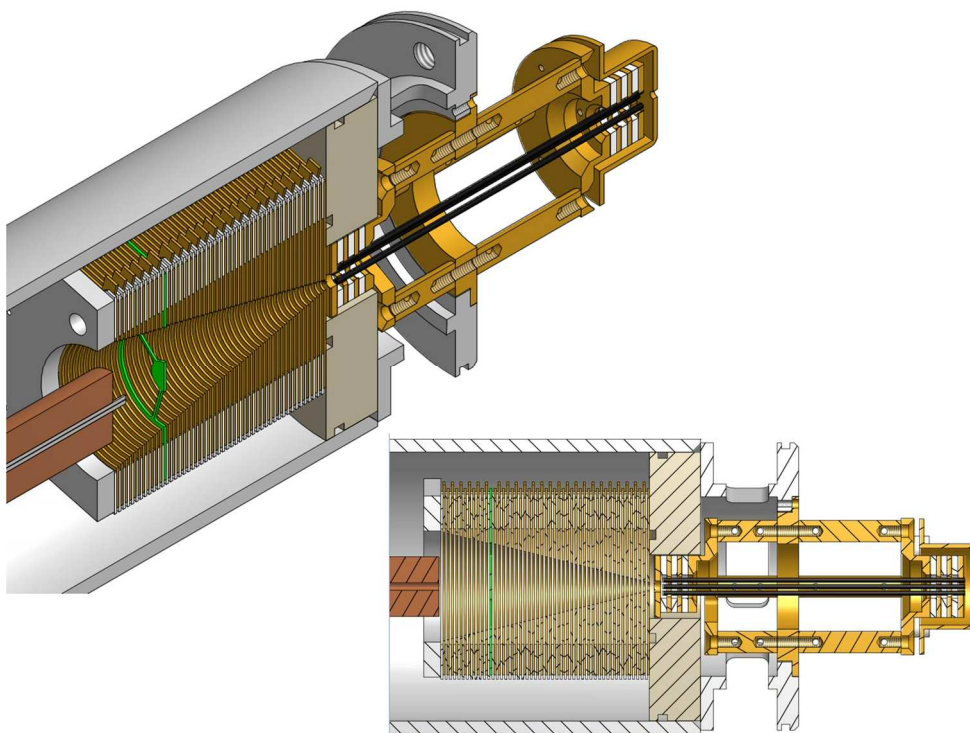


**Abbildung 14** Baugruppe nach der Ionenquelle. In der Desolvationskapillare werden Lösungsmittelmoleküle thermisch von den Ionen abgespalten und durch einen Ionentrichter in einen Akkumulationshexapol fokussiert. Zusätzlich zu dem anliegenden DC-Spannungsgradient im Bereich von 10 V ist ein Druckgradient angelegt. Dieser wurde durch die Positionierung der Pumpstufen erzeugt.

Als Ausgangslage wurde ein Ionentrichter verwendet,<sup>69</sup> der in einer Kooperation mit E. Nikolaev innerhalb der Arbeitsgruppe gebaut und der im Verlauf dieser Arbeit durch eine Modifikation mit einer Neutralstrahlunterbrechung ersetzt wurde. Der ursprünglich verwendete Hexapol wurde ebenfalls im Zuge dieser Arbeit durch eine modifizierte Variante ausgetauscht. Besonders der Einfluss des Akkumulationshexapols auf das Signal zu Rauschen Verhältnis der Spektroskopie und auf die Ausdehnung der Ionenwolke in der ICR-Zelle wird im folgenden Abschnitt thematisiert.

### 2.3.1 Ionentrichter

Die Desolvationskapillare endet im Ionentrichter und ragt je nach Justage ca. 1 bis 6 mm in diesen hinein. Der Aufbau des verwendeten Ionentrichters besteht aus 48 koaxialen Ringelektroden aus Messing mit jeweils 29 mm Länge, 40 mm Breite, 0,5 mm Stärke. Der Innendurchmesser der Ringelektroden nimmt linear von 25,4 mm an der ersten Elektrode in Richtung Quelle bis zu 1,93 mm an der letzten Elektrode in Richtung Hexapol ab. Die Innenradien der Ringelektroden bilden somit einen Trichter. Durch eine alternierend um  $180^\circ$  phasenverschobene RF Spannung wird an diesen Elektroden ein effektives Potential erzeugt, das in der Nähe der Trichterwand stark abstoßend wirkt und die Ionen in Richtung Zentrum des Ionentrichters ablenkt. Das Zentrum des Trichters ist hingegen in radialer Richtung annähernd feldfrei.<sup>70</sup> Die RF-Spannung wird durch einen RF-Verstärker generiert, mit einem angeschlossenen Wellenformgenerator (33220A, Agilent, Böblingen (D)), der eine sinusförmige Welle mit einer Frequenz von 715 kHz und einer Peak zu Peak Amplitude von 0,99 mV generiert. Zusätzlich werden die Ionen durch eine angelegte Gleichspannung entlang des Trichters in die Richtung des Akkumulationshexapols geführt.



**Abbildung 15** Dargestellt ist der Ionentrichter mit Übergang zum Akkumulationshexapol. Der Neutralstrahlunterbrecher (grün) ist zentral nach der Desolvationskapillare positioniert und auf ein für die Ionenpolarität abstoßendes DC-Potential gelegt. Die Ionen werden in Richtung Trichterrand abgelenkt und dort durch das RF-Feld und die Druck und Spannungsgradienten zum Hexapol hin fokussiert.

Die erste Version dieses Ionentrichters wurde in der Dissertation von M. Neumaier beschrieben.<sup>15</sup> Zur Reduktion des Drucks im Transferbereich und in der ICR-Zelle wurde eine zweite Version des Ionentrichters mit einem Neutralstrahlunterbrecher („*jet disrupter*“) gebaut und die erste Version ersetzt. Hierbei wird das Prinzip des im Zentrum annähernd feldfreien Ionentrichters ausgenutzt, indem eine Elektrode (hier: 6mm Außendurchmesser) auf der Zentralachse des Trichters angebracht wird (Abbildung 15). Diese Elektrode wird mit einem für die zu messende Ionensorte abstoßenden Potential versehen. Dadurch werden die geladenen Teilchen in Richtung Wand des Ionentrichters abgelenkt, während die Neutralteilchen auf die zusätzliche Elektrode auftreffen. Damit wird ein großer Teil dieser Neutralteilchen von der Pumpstufe am Ionentrichter abgepumpt, was durch einen geringeren Druck in den nachfolgenden Baugruppen angezeigt wird. Die geladenen Teilchen hingegen werden von den Ringelektroden, wie oben beschrieben, zurück Richtung Zentrum des Trichters abgelenkt und am Ausgang in den Akkumulationshexapol geleitet. Die DC Spannung für die Ringelektroden („*Funnel Entrance*“) kann ebenso wie die Spannung am Neutralstrahlunterbrecher durch XMASS separat variiert und somit für eine Vorselektion der experimentell bevorzugten Ionen verwendet werden. Zusätzlich kann die DC Spannung der letzten Ringelektrode vor dem Hexapol separat angepasst werden, um den elektrischen Gradienten im Ionentrichter und den Übergang in das RF-Feld des Hexapols zu optimieren. Diese Spannung wird ebenfalls der ESI-Spannungsversorgung entnommen und kann durch die Steuerungssoftware XMASS angepasst werden. Typische Spannungen für den negativen Messbetrieb zur Spektrometrie von Anionen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Da die Versorgung des Akkumulationshexapols ebenfalls über die ESI-Spannungsversorgung vorgenommen wird, sind die zugehörigen Werte dieser Baugruppe mit aufgeführt.

Tabelle 1: Typische eingestellte Spannungen im Messbetrieb im negativen Modus

<i>Baugruppe</i>	<i>Spannung</i>	<i>Benennung des Parameters in XMASS</i>
Spannung an der ESI-Nadel	-1300 V	ESI NEEDLE
Kapillare	-100 V	CAPILLARY
Eingangselektrode Ionentrichter	40 V	FUNNEL-ENTR
jet disrupter	40 V	JET DISR
Ausgangselektrode Ionentrichter	5 V	FUNNEL-EX
Drahtspannung (Hexapol)	10 V	HEXWIRES
Offsetspannung Hexapolstäbe	-0,5 V	HEXOFFSET

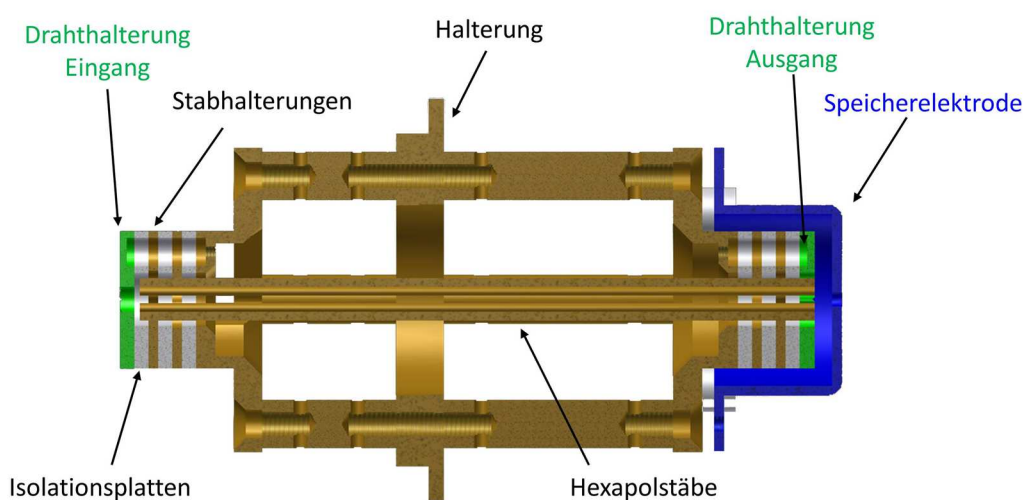
### 2.3.2 Akkumulationshexapol

Der Hexapol dient in dieser Apparatur als gepulste Ionenfalle, die eine Anzahl an Ionen vor der Überführung in das FT-ICR Massenspektrometer akkumuliert und als kompakte Ionenwolke extrahiert. Hierbei ist zu erwähnen, dass ein kontinuierlicher Ionenstrahl bei der Einleitung in die ICR Zelle durch die Trappingelektroden abgeschnitten werden würde, da eine kontinuierliche Befüllung dem Messprozess des FT-ICR Massenspektrometers widerspricht. Der Einsatz einer vorgeschalteten Ionenfalle, verglichen mit einer direkten Einleitung des kontinuierlichen Ionenstrahls, erhöht dadurch die Nachweisgrenze, die Detektionszeit pro Massenspektrum und die Repetitionsrate der Messung.

Es konnte von Marshall *et al.* und anderen Arbeitsgruppen gezeigt werden, dass eine ineffiziente Extraktion der Ionen aus der Vorfalle die Detektionszeit in der ICR Zelle und die Nachweisgrenze des Massenspektrometers unnötig einschränken.<sup>71-76</sup>

Durch einen Oktopol mit konisch auseinanderlaufenden Drähten und zugehörigen SIMION 7.0 Kalkulationen konnte gezeigt werden, dass ein axiales DC Potential in der linearen Speichereinheit die Effizienz der Ionen-Extraktion um eine Größenordnung verbessert. Zusätzlich verbessert sich durch dieses axiale Feld das experimentelle Signal zu Rauschen Verhältnis ebenfalls um einen Faktor 10 und mehr.<sup>77</sup>

Der Grund für diese Verbesserungsmöglichkeiten liegt im Design der linearen Multipol-Ionenfallen (Abbildung 16). Allgemein ist in axialer Richtung die Reichweite des DC Potentials der Speicherelektrode gering. Beim Anlegen einer Extraktionsspannung an die Speicherelektrode werden daher die Ionen nicht simultan extrahiert, sondern erst wenn sie durch ihre thermische Bewegung in den Bereich des Extraktionsfeldes am Ende der Multipolelektroden gelangen.



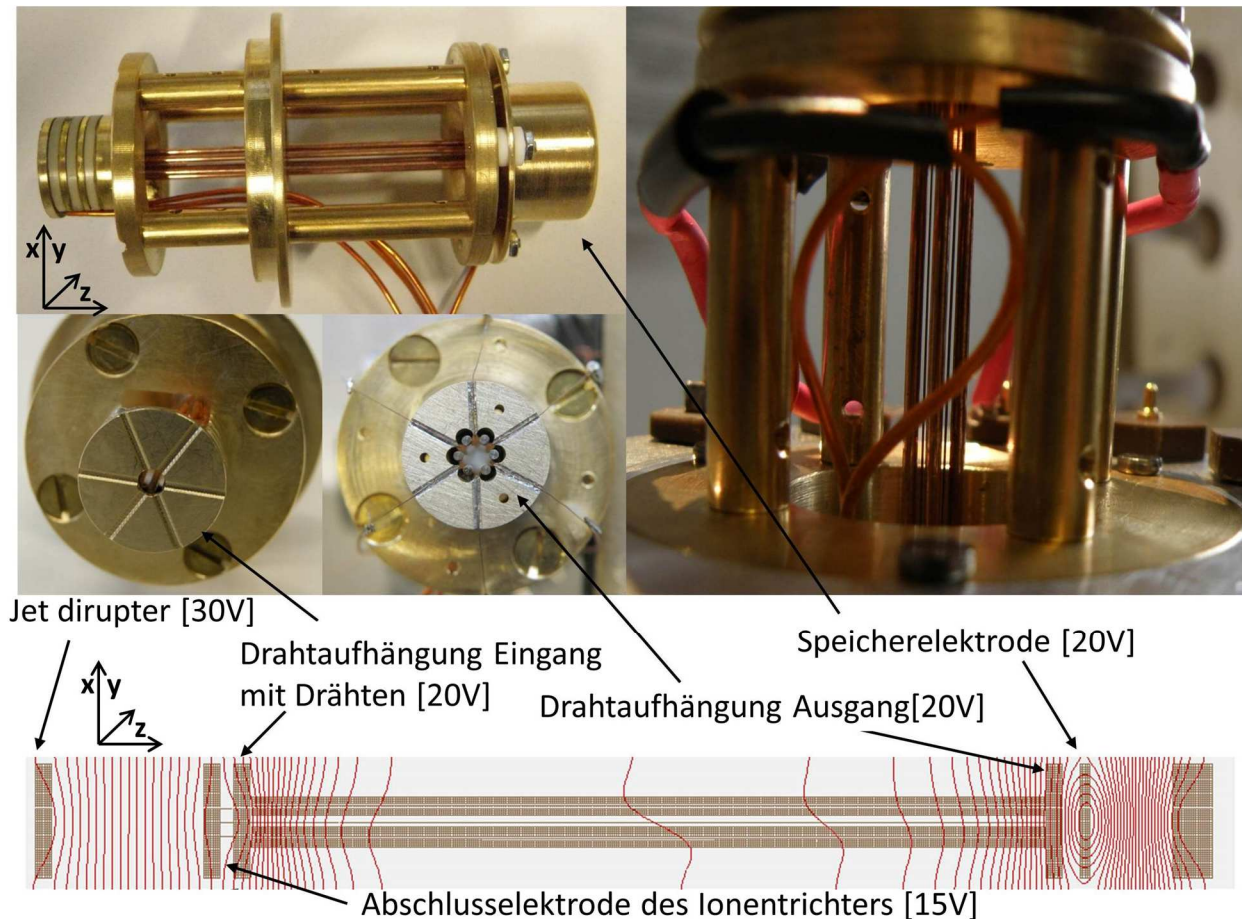
**Abbildung 16** Inventor Zeichnung des modifizierten Hexapols. Die wichtigsten Elektroden wurden farblich markiert und beschriftet.

In einem modifizierten Multipol erfahren die Ionen durch Anlegen eines zusätzlichen Spannungsgradienten eine Kraft, die sie während des Extraktionsschrittes in Richtung Fallende beschleunigt. Hierfür eingebaute, konisch auseinanderlaufende Drähte erzeugen diesen Spannungsgradienten durch ein angelegtes DC Potential (vgl. Abbildung 17). Segmentierte oder konisch verjüngende Multipolstäbe können einen ähnlicher Effekt erzielt.<sup>78-80</sup> Ein Vergleich der unterschiedlichen Geometrien durch Trajektorien-Simulationen von Marshall *et al.* zeigt, dass der Einsatz von Drähten den effektivsten Potentialgradienten zur Extraktion erzeugt.

## Simulationen

Um ein äquivalentes System in das existierende FT-ICR Massenspektrometer zu implementieren wurden Ionentrajektorien innerhalb des Hexapols, in seiner ursprünglichen Geometrie, mit Hilfe der Software SIMION 8.0 simuliert. Hierfür wurde ein 3-dimensionales Gitter (Gitterpunkte: x,y,z (1600,180,90)) mit einer Gitterbreite von 0,1 mm verwendet. Die Hauptachse (x-Achse) wurde parallel zu den Hexapolelektroden gewählt. Zusätzlich wurde eine planare Symmetrieebene (y,x) durch den Ursprung der z-Achse zur Reduktion der Simulationszeit festgesetzt. Das Programm berechnet somit das elektrische Feld für den halben Hexapol und über die Spiegelachse wird das elektrische Feld der anderen Hälfte identisch abgebildet. Simuliert wurde der Hexapol mit sechs Stabelektroden und zwei Speicherelektroden. Die Speicherelektroden wurden gemäß den geometrischen Daten des bisherigen Hexapols implementiert, wobei die Speicherelektrode am Eingang des Hexapols, entsprechend dem Experiment, der letzten Ringelektrode des Ionentrichters entspricht. Dieser Hexapol wurde nun mit zum Fallende hin konisch auseinanderlaufenden Drähten ausgestattet, die in der Simulation mit einer variablen Spannung versehen werden konnten. Die verwendete Geometrie der Elektroden ist in Anhang A.1 als Simion Import Datei aufgeführt. Durch die Wahl der Spiegelachse durch zwei Hexapolstäbe wurde die Symmetrie auch für spätere Simulationen mit zusätzlichen Drähten aufrechterhalten.

In ersten Simulationen konnten daraufhin die Ergebnisse von Marshall *et al.* für den in dieser Arbeit verwendeten Hexapol reproduzieren werden.<sup>77</sup> Anschließend wurde der Quellcode modifiziert um gegenüber der Publikation von Marshall *et al.* Kollisionen mit Neutralgas zu berücksichtigen und die Speicherung der Ionen vor der Extraktion zu simulieren. So wurde zur Simulation der Restgaskollisionen das „*hard sphere collision model*“ verwendet.<sup>81</sup> Als Stoßgas wurde reiner Stickstoff angenommen und der Druck im Hexapol homogen auf  $10^{-4}$  mbar (0.053 Pa) eingestellt, was dem gemessenen Druck des Experimentes im Betrieb entspricht. Die Temperatur wurde mit 300 K angenommen und der integrale Stoßquerschnitt eines Stickstoffmoleküls mit einem einfach geladenen Molekül ( $m/z = 500$ ) auf  $\sigma = 4,0 \times 10^{-18} \text{ m}^2$  abgeschätzt.



**Abbildung 17** Aufnahmen des modifizierten Hexapols mit Drähten. Zwei Aufnahmen (unten links und unten mitte) zeigen die Drahthalterungen. Für die Aufnahme des Hexapolausgangs (unten mitte) wurde die Speicherelektrode abgenommen. Ebenfalls abgebildet ist ein Querschnitt des simulierten Hexapols. Die angegebenen Spannungen gelten für die Phase der Speicherung und entsprechen typischen Werten aus dem Experiment. Zusätzlich sind die Isopotentiallinien des effektiven elektrischen Feldes ohne RF-Spannung eingezeichnet. Ein Gradient zum Fallende ist bereits während der Speicherung der Ionen deutlich zu erkennen.

Um eine realistische Verteilung der kinetischen Energie und des Aufenthaltsorts der Ionen im Hexapol sicherzustellen wurde eine zusätzliche Elektrode vor der Eingangselektrode eingefügt und der Druck vor dem Hexapol ebenfalls homogen mit  $1 \times 10^{-4}$  mbar simuliert. Die Position dieser Elektrode entspricht der des Neutralstrahlunterbrechers aus dem experimentellen Aufbau. Eine repulsive Spannung auf der Elektrode überführt die Ionen, die zwischen der letzten Ringelektrode des Ionentrichters und dem Neutralstrahlunterbrecher mit zufälliger  $x$  und  $y, z$  Position erzeugt wurden, in den Hexapol. Dort wurde jedes Ion für mindestens 2 ms gespeichert. Für die Trajektorien wurden die Position und die Geschwindigkeit sowie die wirkende Kraft auf jedes Ion in Schritten von  $0,1 \mu\text{s}$  simuliert und die resultierende Bewegungsschritte ausgeführt. Die Rechnungen wurden auf einem Notebook (ASUS, Intel core i5, 4GB RAM) durchgeführt. Für die statistischen Ergebnisse wurden 150 Ionen einzeln erzeugt und



die Trajektorien nacheinander berechnet. Für die Betrachtung der Ladungswchselwirkung wurden 250 Ionen zeitgleich simuliert.

### **Überlegungen zum Hexapoldesign**

Aufgrund der vielversprechenden Simulation in den Dimensionen des hier verwendeten Massenspektrometers wurde als Projekt der Bau eines neuen Hexapols mit Drähten begonnen. Eine Schwierigkeit stellt die Aufhängung der Drähte dar. Da die Drähte am Eingang des Hexapols für einen bestmöglichen Gradienten innerhalb des imaginären Radius liegen müssen auf dem sich die Stabelektroden befinden (4 mm), wurde als Drahthalterung eine Ringelektrode mit kleinerem Innenradius (2,6 mm) vor den Stäben gewählt. Auf der Ausgangsseite des Hexapols konnte durch den konischen Verlauf der Drähte die Aufhängung vor der Speicherelektrode platziert und trotz der Stabelektroden durch Ausfräsungen ein auseinanderlaufender Kegel erzielt werden. Das nächste Ziel war es die Auswirkungen der Drahthalterungen auf die Simulation zu ermitteln. Die Durchmesser der Stabelektroden wurden dem Experiment entsprechend mit 1 mm und die Durchmesser der Drähte mit 0,1 mm implementiert. Der konische Verlauf der Drähte erfolgt mit einem Winkel von  $1,69^\circ$ . Eine genauere Betrachtung der berechneten Trajektorien zeigt, dass die Aufhängungselektrode der Drähte am Eingang des Hexapols den Potentialgradienten des elektrischen Feldes für die Einleitung der Elektroden aus dem Iontrichter nicht stört. Dies gilt solange die Spannung an den Drähten geringer ist als die Spannung an der Abschlusselektrode des Iontrichters. In der Simulation wurden die Drähte zu Testzwecken bis zum Iontrichter verlängert, um eventuelle Ionenverluste zwischen der Drahthalterung und der Speicherplatte bei Spannungen unter 1 V zu untersuchen. Da aber kein statistischer Unterschied ermittelt werden konnte, wurde dieser technisch aufwendige Schritt in der Umsetzung nicht realisiert.

Als ein Ergebnis der Simulationen wurden in einer Logdatei die Position und die Geschwindigkeit der Ionen am Ende der Speicherung dokumentiert. Die Speicherung wurde beendet indem die Spannung auf der Elektrode am Fallende auf ein für die Ionen attraktives Potential umgeschaltet wurde. Dies stellte auch gleichzeitig den für die weitere Simulation wichtigen Zeitpunkt  $t_0$  dar. Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die Speicherzeit im Hexapol auszuschließen wurde diese in  $50 \mu\text{s}$  Schritten pro simuliertem Ion erhöht. Nach der Umkehrung der Speicherspannung zur Extraktionsspannung wurde die Anzahl an Zeitschritten bestimmt, bis das Teilchen die Speicherplatte passiert. Zusammen mit dem Zeitpunkt  $t_0$  ergab sich somit für jedes Teilchen eine Zeitdifferenz die als Extraktionszeit dokumentiert wurde. Dieser Prozess wurde an der ersten Ionenoptik wiederholt, um auch mögliche Divergenzeffekte der Wolke nach der Extraktion abschätzen zu können.

### Simulation der Speicherung mit angelegtem Potentialgradienten

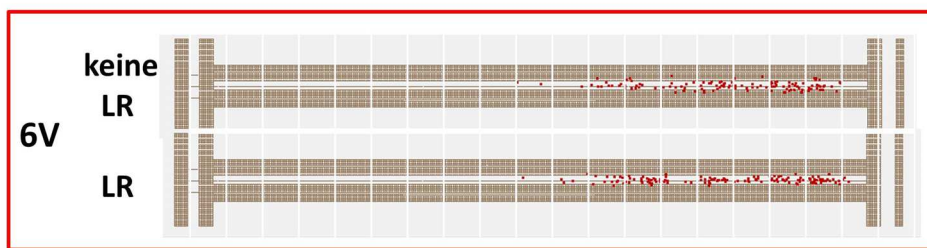
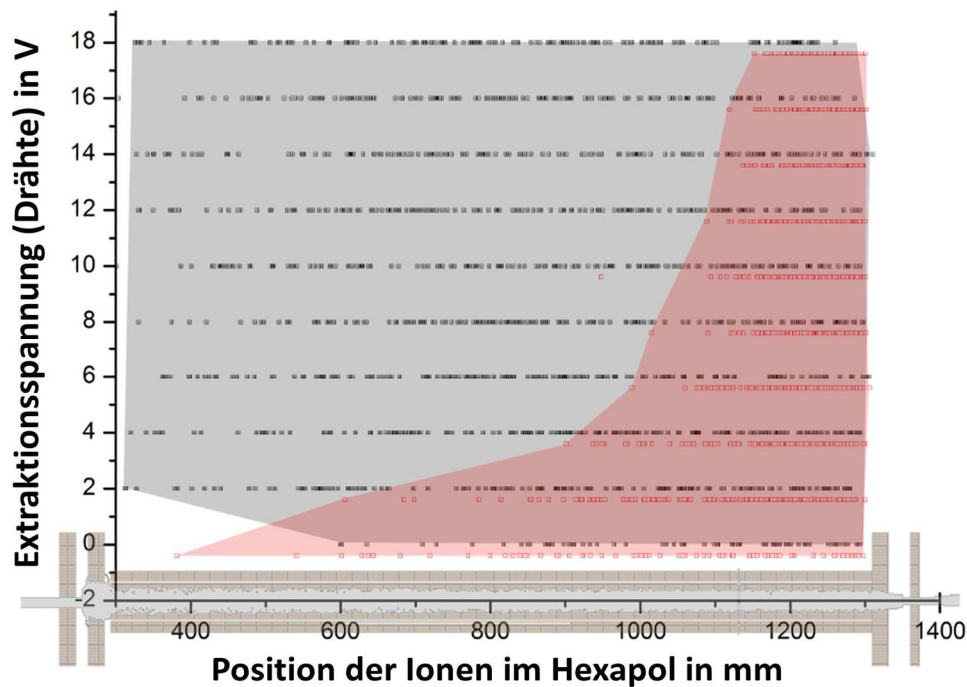
Mit den beschriebenen Einstellungen wurden nun zwei Simulationsrunden mit unterschiedlicher Spannung auf den Drähten durchgeführt. Hierbei wurde die Spannung auf den Drähten bei der Extraktion, also nach der Speicherung der Ionen im Hexapol, jeweils um 2V pro Simulationsschritt von 0V bis 18V erhöht. In der ersten Simulationsrunde wurden die Drähte während der Speicherung auf 0V belassen. In der zweiten Simulationsrunde wurde die später zur Extraktion verwendete Spannung während der Speicherung angelegt. Anschließend wurden die Ergebnisse verglichen.<sup>iv</sup> Ziel dieser Arbeit war es ausschließlich den Effekt dieser zusätzlichen Spannung während der Ionenspeicherung für einen realen Aufbau zu ermitteln. Für den Vergleich mit einem in axialer Richtung näherungsweise feldfreien Hexapol sei auf die bereits aufgeführten Publikationen verwiesen. Alle in den Simulationen verwendeten Spannungen sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Angelegte Spannungen für die Simulation der Ionentrajektorien von Kationen ( $m/z=500$ ) für einen im positiven Modus betriebenen Hexapol

<i>Elektrode</i>	<i>Simulation 1 Speicherung/Extraktion Potential in V</i>	<i>Simulation 2 Speicherung/Extraktion Potential in V</i>
Jet disrupter	20/20	20/20
Ionentrichter Ausgang	15/15	15/15
Drahtaufhängungen & Draht	0/variabel	wie Extraktion/variabel
Hexapolstäbe DC	1/1	1/1
Hexapolstäbe RF ( $V_{PP}$ )	600 (@ $1 \times 10^6$ Hz)	600 (@ $1 \times 10^6$ Hz)
Speicherelektrode	15/-40	15/-40
Ionenoptik	-50/-50	-50/-50

Das Ergebnis der Simulation ist in Abbildung 24 dargestellt. In der Graphik ist die Position der Ionen im Hexapol zum Zeitpunkt  $t_0$  gegen die angelegte Extraktionsspannung aufgetragen. In der ersten Simulation (schwarz) wurden die Ionen ohne Potential auf den Drähten und in der zweiten Simulation (rot) mit Potential auf den Drähten, äquivalent zum Extraktionspotential, gespeichert. Es ist deutlich zu erkennen, dass der Potentialgradient während der Speicherung die Ionen bereits in Richtung Ausgang des Hexapols schiebt. Dieses Ergebnis steht in Einklang mit den in Abbildung 17 schematisch dargestellten Isopotentiallinien und dem zugehörigen Spannungsgradienten den die Spannung auf den Drähten erzeugt und dem die Ionen zum Ausgang des Hexapols folgen.

<sup>iv</sup> Dies entspricht einem direkten Vergleich der von Marshall *et al.* publizierten Methode ohne angelegtes Feld während der Speicherung zu der hier geplanten Variante mit angelegtem Feld.

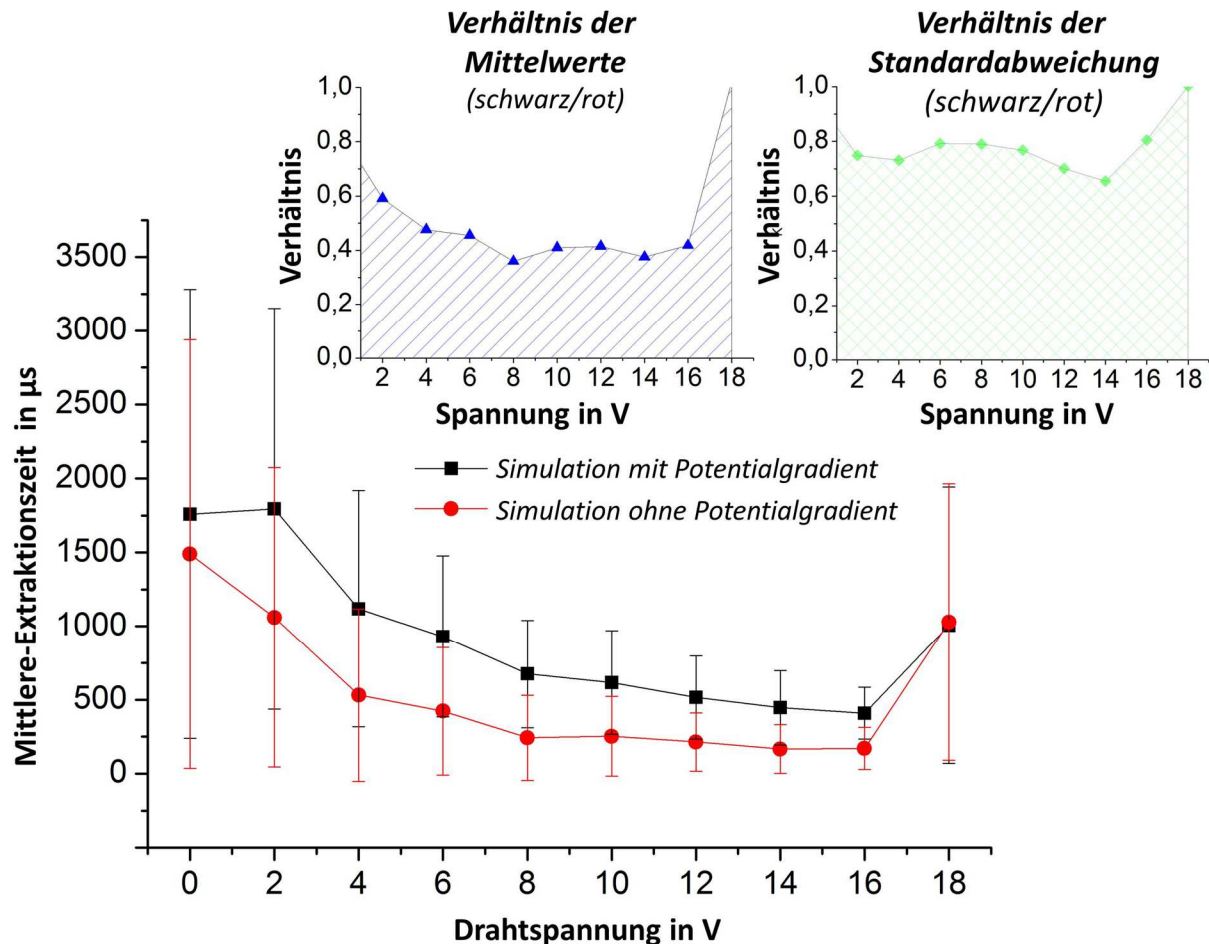


LR = Ladungsrepulsion

**Abbildung 18** 2-dimensionaler Plot der Ionenposition (Punkte) im Hexapole gegen die Extraktionsspannung zum Zeitpunkt der „Schaltung“ des Speicherpotentials auf das Extraktionspotential ( $t = t_0$ ). Der Graph zeigt den Vergleich der beiden Simulationsreihen für den Fall ohne Potentialgradient während der Speicherung (schwarz) und dem Fall mit Potentialgradient (rot). Die Simulation mit Potentialgradient für 6 V wurde mit 250 Ionen unter Berücksichtigung der Ladungsabstoßung im Hexapole untersucht und mit einer identischen Simulation ohne Ladungsabstoßung verglichen. (unten)

Da es sich hierbei um die statistische Aufenthaltswahrscheinlichkeit eines einzelnen Ions in der Falle handelt, wurde eine zweite Rechnung mit simultan erzeugten Ionen durchgeführt und die Ladungsrepulsion durch Coulomb-Wechselwirkungen implementiert. Der Vergleich für eine Drahtspannung von 6V ist hier beispielhaft in Abbildung 18 gezeigt. Für den Fall von 250 Ionen konnte jedoch noch kein Effekt beobachtet werden. Es ist aber anzunehmen, dass die intermolekulare Ladungsrepulsion der Teilchen in der Realität mit mehreren tausend Ionen eine gewichtige Rolle spielt und für die Auswertung von experimentellen Daten berücksichtigt werden muss. Für den Vergleich mit den Simulationen, die von Marshall *et al.*<sup>77</sup> ebenfalls ohne Ladungsrepulsion durchgeführt wurden, ist eine direkte Interpretation der Daten aber zulässig.

Eine weitere wichtige Größe bei dem Vergleich ist neben der Position der Ionen zum Startpunkt der Extraktion auch die Zeitspanne, die die Ionen bis zum Verlassen des Hexapols benötigen. In Abbildung 19 ist diese mittlere Extraktionszeit mit Standardabweichung für die Ionen bei unterschiedlichen Drahtspannungen aufgetragen. Zu beachten ist, dass die Bedingungen für die Extraktion der Ionen in beiden Simulationen identisch waren.



**Abbildung 19** Zur Auswertung der Extraktionszeiten der einzelnen Ionen wurden für die 150 Ereignisse der Mittelwert und die Standardabweichung bei der jeweiligen Spannung ermittelt. Der Mittelwert entspricht so der mittleren Extraktionszeit und die Standardabweichung der zugehörigen Breite der Ionenwolke. Zur Übersichtlichkeit wurde die Reduktion des Mittelwerts bezogen auf den Wert ohne Drahtspannung bei gleicher Extraktionsspannung in blau und simultan das Verhältnis der reduzierten Standardabweichung in grün aufgetragen. Es ist ein positiver Effekt für alle Spannungen  $V_{\text{Draht}} < V_{\text{Extraktion}}$  zu erkennen.

Der Unterschied in den Kurven ergibt sich aus den unterschiedlichen Startbedingungen der Ionenverteilung nach der Speicherung, die in Abbildung 18 aufgezeigt wurde. Als Effekt der Speicherung mit angelegtem Potential reduziert sich die mittlere Extraktionszeit (Abbildung 19, blaue Kurve) je nach Spannung auf 70 % bis 40 %. Im Schnitt werden dem-

nach die Ionen in diesem Aufbau doppelt so schnell extrahiert, wie im vergleichbaren Setup von Marshall *et al.*<sup>77</sup> Aufgrund der innerhalb der Standardabweichung identischen kinetischen Energie der Ionen beim Passieren der Elektrode stellt die Standardabweichung indirekt die relative Breite der Ionenwolke dar. Diese reduziert sich auf 95 % bis 65 % des Wertes ohne ein während der Speicherung angelegtes Potential (Abbildung 19, grüne Kurve).

Eine gesonderte Betrachtung ist bei diesen Simulationen für den letzten aufgezeigten Simulationenpunkt nötig. Kommt die Spannung der Drähte in den Bereich der Speicherspannung kommt es zu unerwünschten Einwirkungen auf die Speichereffizienz und Extraktion. So waren einerseits Ionenverluste durch zu hohe kinetische Energien und vorzeitiges Verlassen der Falle zu beobachten. Gleichzeitig kam es zu Abschirmungseffekten der Drahtaufhängung auf das Extraktionspotential, das die Ionen im Zentrum der Falle „einfro“ und auf der Zeitskala der Simulation zu unendlicher Speicherung führte.

### **Umsetzung des Hexapols mit konisch expandierenden Drähten**

Mit dem Hintergrund der Simulationen wurde ein neuer Hexapol in den identischen Maßen mit Molybdändrähten ( $\varnothing$  0,1 mm, Artikel-Nr. 009269, Chempur, Karlsruhe) als zusätzliche Drahtelektroden und gefräste Messingplatten als Drahthalterung gebaut. Da die bisher verwendete Spannungsversorgung weiter verwendet werden sollte, wurde die Kapazität des eingebauten Hexapols gemessen und nach Einbau des neuen Hexapols die Abweichung durch einen regelbaren Kondensator ausgeglichen. Die zusätzliche DC-Spannung für die Drähte wurde der ESI-Spannungsquelle entnommen und ist über das Messprogramm XMASS online regelbar (siehe Tabelle 1).

### **Experimentelle Evaluierung der Ergebnisse**

In ersten Messungen wurde die Leistungsfähigkeit des Hexapols indirekt über die Auflösung und Nachweisgrenze der Massenspektren überprüft, was die vorhergesagten Verbesserungen gegenüber dem ursprünglichen Akkumulationshexapol ergab. So verbesserte sich das Signal zu Rauschen Verhältnis um eine Größenordnung. Die Messungen wurden mit protoniertem Leucin Enkephalin ( $m/z = 556$ ) durchgeführt. Da der Hexapol jedoch nicht baugleich ohne Drähte vorlag und die Vergleichswerte mit dem Hexapol im alten Design gemessen wurden, kann kein Faktor bestimmt werden, der rein auf das verwendete Drahtpotential zurückzuführen ist. Insgesamt zu erwarten war eine Verbesserung in der Größenordnung der Resultate von Marshall *et al.*, was auch erreicht wurde.

Um eine direkte Messung zum Einfluss der Drähte auf die Extraktionszeit durchzuführen wurde der Mechanismus zur Ionenspeicherung in einer ICR-Zelle ausgenutzt. Allgemein wird durch einen TTL-Puls im Messprogramm die Spannung der Speicherelektrode am Hexapol von der Messsoftware auf Extraktion gestellt. Gleichzeitig wird das Speicherpotential der ICR-Zelle invertiert, sodass Ionen in die Falle eingeleitet werden können. Die Zeitdauer, nach der beide Spannungen wieder auf Speicherung geschaltet werden, wird durch die Länge eines anschließenden Zeitintervalls ( $D20$ ) bestimmt. Im Zuge dieser Arbeit wurde ein tcl/tk Code programmiert, der in XMASS ausführbar ist (siehe Anhang A.3). Durch diesen Code wurde die Pause systematisch in  $50 \mu\text{s}$  Schritten erhöht und zu jedem Zeitwert ein Massenspektrum aufgenommen. Die Extraktionsdauer, also die Zeit, in der die Ionen im Hexapol ein Extraktionsfeld sehen, wurde nicht variiert. Dies unterteilt die extrahierten Ionen in drei Gruppen. In der ersten Gruppe(I) sind die Ionen, die zu langsam aus dem Hexapol extrahiert wurden. Sie treffen auf eine bereits wieder geschlossene Falle und werden nicht detektiert. In der zweiten Gruppe(II) sind die Ionen, deren Extraktionszeit und kinetische Energie zusammenspielt, damit sie sich nach der Flugzeit in der ICR-Zelle befinden, wenn diese geschlossen wird. Der Detektionsmechanismus wird angeschaltet und diese Ionen bilden das in Abbildung 20 gemessene Intensitätssignal. In der dritten Gruppe(III) sind die Ionen die zu schnell aus dem Hexapol extrahiert wurden. Sie durchqueren die ICR-Zelle, werden an dem rückseitigen Speicherpotential reflektiert und verlassen die Falle wieder bevor diese geschlossen ist.

$$\begin{aligned} & (I) < D20 \\ \langle t_{extract}^{Hexapol} \rangle + \langle t_{tof} \rangle + \langle t_{delay}^{ICR} \rangle & (II) = D20 \\ & (III) > D20 \end{aligned} \quad (2.27)$$

Dadurch ist es möglich, die Größe der extrahierten Ionenpakete in Abhängigkeit von der Pulsdauer zu bestimmen und so den Einfluss des Potentialgradienten der Drähte auf die Extraktion zu untersuchen. In Abbildung 20 wird das Resultat der Messung in einer 3-dimensionalen Darstellung gezeigt. Die planare Ebene wird von der Dauer des Zeitintervalls ( $D20$ ) und der angelegten Spannung an die Drähte aufgespannt. Die Intensität (z-Achse) des Spektrums zeigt das Integral am Beispiel des Massepeaks von  $[\text{ATP-H}]^-$  beim Parameterpaar Zeitintervall/Drahtspannung.

Für kleine Werte der Drahtspannung und damit für ein flaches Potential wird eine breite Ionenwolke im ms Bereich beobachtet. Durch die konstante Pulslänge des Extraktionspulses ( $P2 = 250 \mu\text{s}$ ) stellt diese Verbreiterung der Ionenwolke das obere Limit der Messung dar. Für eine Spannung von 4V auf den Drähten ist eine Kompression der Wolke um ca. eine Größenordnung mit vergleichbarer Gesamtintensität zu sehen.

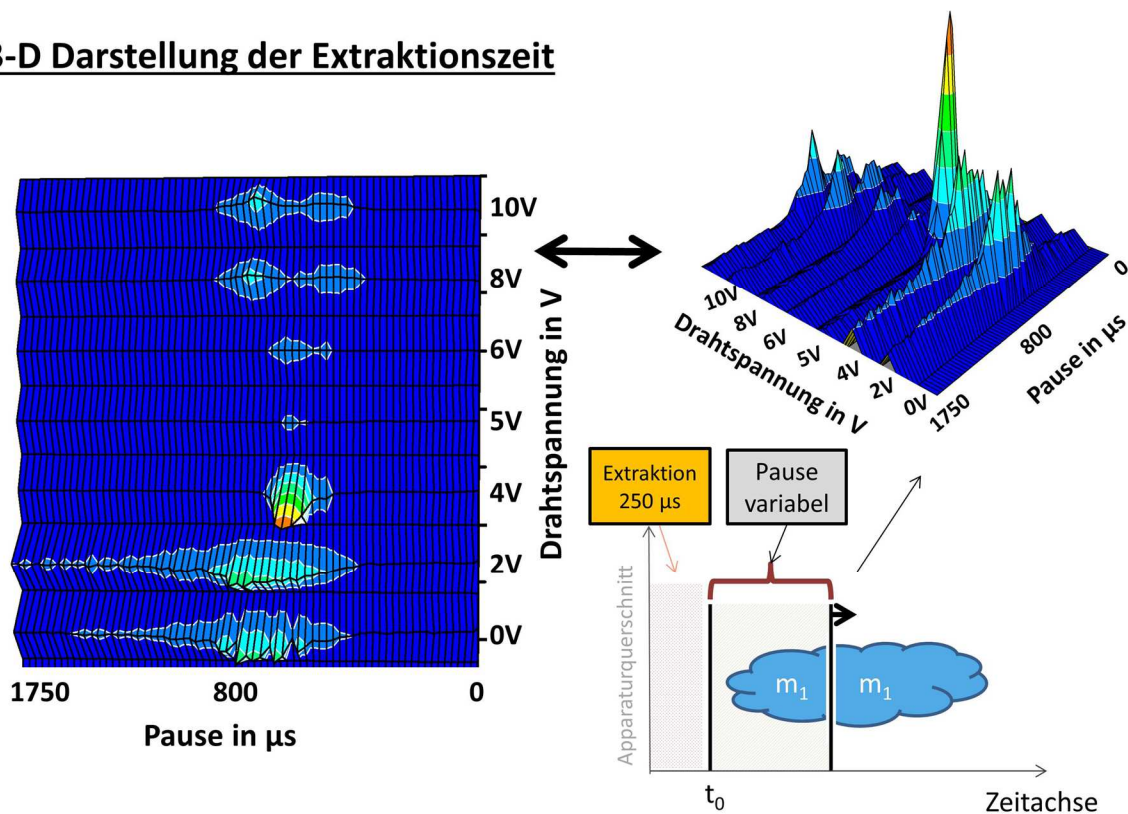
Für eine Interpretation der Daten mit höheren Drahtspannungen müssen die Randbedingungen der Messung betrachtet werden. Wie in den Simulationen festgestellt treten bei identischen Draht- und Speicherspannungen während der Speicherung zusätzliche negative Effekte, zum

Beispiel Ionenverluste, auf. Da die Speicherspannung in diesem Experiment auf 4V eingestellt war, ist eine unerwünschte Einwirkung der Drahtspannung auf die Extraktionseffizienz in dieser Messung ab einer Spannung von 4V zu erwarten. In Tabelle 3 sind die verwendeten Parameter dieser Messung aufgeführt. Ebenfalls zu erwarten sind Effekte der Drahtalterungen, die bei hohen Drahtspannungen verglichen zur Speicherspannung die Extraktionsspannung zum Fallenzentrum hin abschirmt.

**Tabelle 3:** angelegte Spannungen für die Messung in Abbildung 20

<i>Elektrode</i>	<i>Experimentelle Werte Speicherung/Extraktion Spannung in V</i>
Jet disrupter	20/20
Ionentrichter Ausgang	4/4
Drahtaufhängungen & Draht	variabel/variabel
Hexapolstäbe DC	1/0,35
Hexapolstäbe RF ( $V_{pp}$ )	600 (@ $5,4 \times 10^5$ Hz)
Speicherelektrode	4/-2

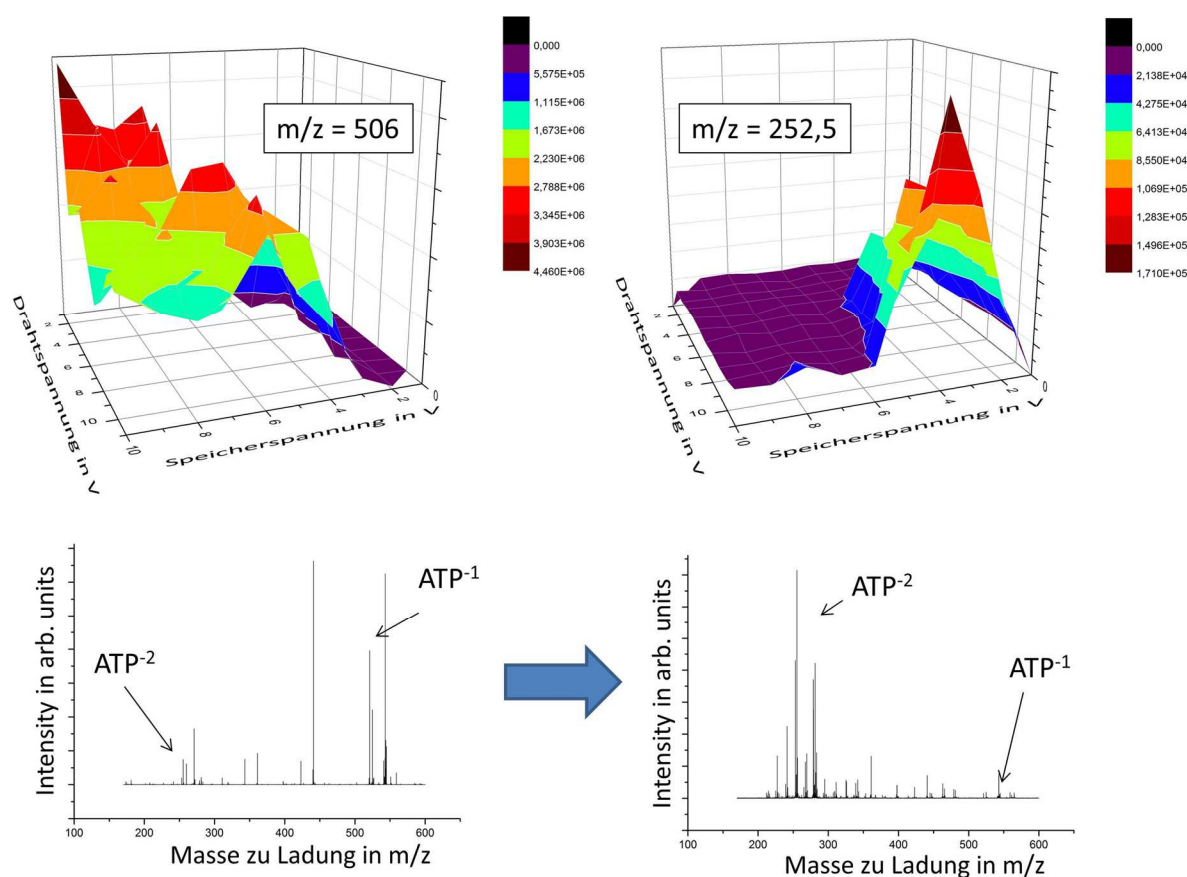
### 3-D Darstellung der Extraktionszeit



**Abbildung 20** Ankunftszeit der extrahierten einfach deprotonierten ATP-Ionen in der ICR-Zelle. Zusätzlich ist die Variation der Pulsdauern in diesem Messmodus erklärt.

## Massenselektion im Hexapol

Aus den Messdaten kann abgeleitet werden, dass durch die Drahtspannung zusätzlich die Speichereffektivität im Akkumulationshexapol beeinflusst wird. Zur Untersuchung dieses Effekts wurde Adenosin Triphosphat (ATP) in die Gasphase überführt, im Hexapol für eine Sekunde gespeichert und anschließend das zugehörige Massenspektrum in der FT-ICR Zelle aufgenommen. Der Extraktionspuls wurde auf 1000  $\mu\text{s}$  gestellt. Nach Optimierung der Parameter auf die Intensität des einfach deprotonierten  $[\text{ATP-H}]^-$  wurde die Drahtspannung und die Speicherspannung schrittweise zwischen 0 und 10 V in 1V Schritten variiert und ein Massenspektrum aus 8 Akkumulationen aufgenommen. Die Abbildung 21 zeigt die so entstandene Matrix für das  $[\text{ATP-H}]^{1-}$  sowie das zweifach deprotonierte  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$



**Abbildung 21** Matrix für die Ionenintensität des einfach deprotonierten  $[\text{ATP-H}]^{1-}$  und des zweifach deprotonierten  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$ . Es wird deutlich, dass sich die Ionenintensität bei unterschiedlichen Parameterpaaren aus Drahtspannung und Speicherspannung im Maximum befindet. Dieser Effekt kann ausgenutzt werden um die Ionen für Reaktionen in der ICR-Zelle „vorzuselektieren“.



Es ist deutlich, dass es einen Bereich der Matrix gibt, bei kleiner Speicherspannung und hoher Drahtspannung, bei der selektiv  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  Ionen in die ICR-Zelle überführt werden, während bei hoher Speicherspannung und tiefer Drahtspannung das  $[\text{ATP-H}]^{-}$  Signal dominant im Massenspektrum nachgewiesen wird (siehe Abbildung 21).<sup>v</sup>

Zwei Theorien um diese Abhängigkeit zu erklären sind, (1) eine Diskriminierung des Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses aufgrund von *Time of Flight*(TOF)-Effekten der unterschiedlichen  $m/z$ . Dabei wird angenommen, dass die durch die Extraktionsspannung beschleunigten Ionen unterschiedliche Flugzeiten bis zur ICR-Zelle benötigen. Demnach werden sie abhängig von der Extraktionszeit nach ihrem  $m/z$  Verhältnis aufgespalten. Durch geschickte Wahl der Parameter kann so eine Masse selektiv in der ICR-Zelle gemessen werden, indem der Falleneingang der die Funktion eines *mass gates* übernimmt.

Eine alternative These (2) basiert auf einer Vorselektion des Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses durch stabile und instabile Trajektorien im Akkumulationshexapol. Durch das Verhältnis von Speicherspannung zu Drahtspannung kann diese Stabilität beeinflusst und so eine Ionenart aus der Akkumulation entfernt werden. Für diese zweite These sprechen auch die Ergebnisse aus Abbildung 20, in der die absolute Ankunftszeit des *parent ion* kaum von der angelegten Drahtspannung abhängt. Ein weiteres Argument gegen die Flugzeitmassendiskriminierung ist, dass das Intensitätsmaximum der Teilchen mit dem geringeren  $m/z$  Verhältnis bei hohen Drahtspannungen gemessen wurde. Dieses Verhalten ist invers zu dem erwarteten Effekt, da diese Diskriminierung auf der Verknüpfung der Beschleunigung durch ein elektrisches Feld basiert und somit

$$v = \sqrt{2 \frac{z}{m} U} \quad (2.28)$$

mit der Beschleunigungsspannung  $U$  und der resultierenden Geschwindigkeit des Teilchens  $v$  gilt.

Eine abschließende Diskussion des Mechanismus, der zum Intensitätsverlust führt ist jedoch ohne die zeitgleiche Simulation mehrerer tausend Ionen im Akkumulationshexapol, mit unterschiedlichen  $m/z$  Verhältnissen, nicht möglich. Dennoch kann der im Experiment auftretende Effekt zur Verbesserung der Mutterionen-Intensität verwendet werden, was für die Spektroskopie von einem Molekül in unterschiedlichen Ladungszuständen eine große Rolle spielt.

---

<sup>v</sup> Die gemessenen Ionensysteme wurden so gewählt, dass keine Korrelation zwischen dem  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  und dem  $[\text{ATP-H}]^{-}$  besteht. Damit ist eine Beeinflussung dieser Daten durch kollisionsinduzierte Dissoziation aufgrund höherer Stoßenergien ausgeschlossen.

Zusätzlich ist aber auch eine größere Abhängigkeit der Speichereffizienz im Hexapol vom  $m/z$ -Verhältnis des Ions und der daraus resultierenden Wahl der Parameter für die Messung festzustellen. Insbesondere die Speicherspannung besitzt einen großen Einfluss auf die effektive Speicherung der Ionen im Hexapol und der verwendeten Extraktionspuls (P2) beeinflusst die Diskriminierung einzelner Massen über die Ankunftszeitverteilung. Diese Effekte waren zwar im bisher verwendeten Akkumulationshexapol ebenfalls vorhanden aber treten nun deutlich verstärkt auf.

So konnten zwar in bisherigen Untersuchungen mit dem modifizierten Hexapol für CsI-Cluster Massenbereiche von bis zu 5000  $m/z$  zeitgleich in der Ionenfalle gemessen werden und bilden in der Realität kaum experimentelle Einschränkungen, dennoch müssen diese neuen Effekte in analytischen Messungen beachtet werden.

## 2.4 Lasersysteme

Im Rahmen dieser Arbeit kamen zwei gepulste, durchstimmbare Lasersysteme zum Einsatz. Ein Infrarotlaser für den Bereich zwischen 2400 bis 4000  $\text{cm}^{-1}$  und ein UV/Vis Laser für den Bereich von 410 bis 680 nm. Beide Systeme basieren auf dem Prinzip der nichtlinearen Optik.

Die ersten Messungen zu nichtlinearen optischen Effekten wurden 1961 von Franken *et al.* durch Generieren der zweiten Harmonischen aus einem Pumplaser unter Einsatz eines Quarzkristalls als nichtlineares optisches Material durchgeführt.<sup>82</sup> Dies bildete die Grundlage zur Entwicklung des optischen parametrischen Oszillators (OPO) und des optischen parametrischen Verstärkers (OPA).<sup>83-85</sup>

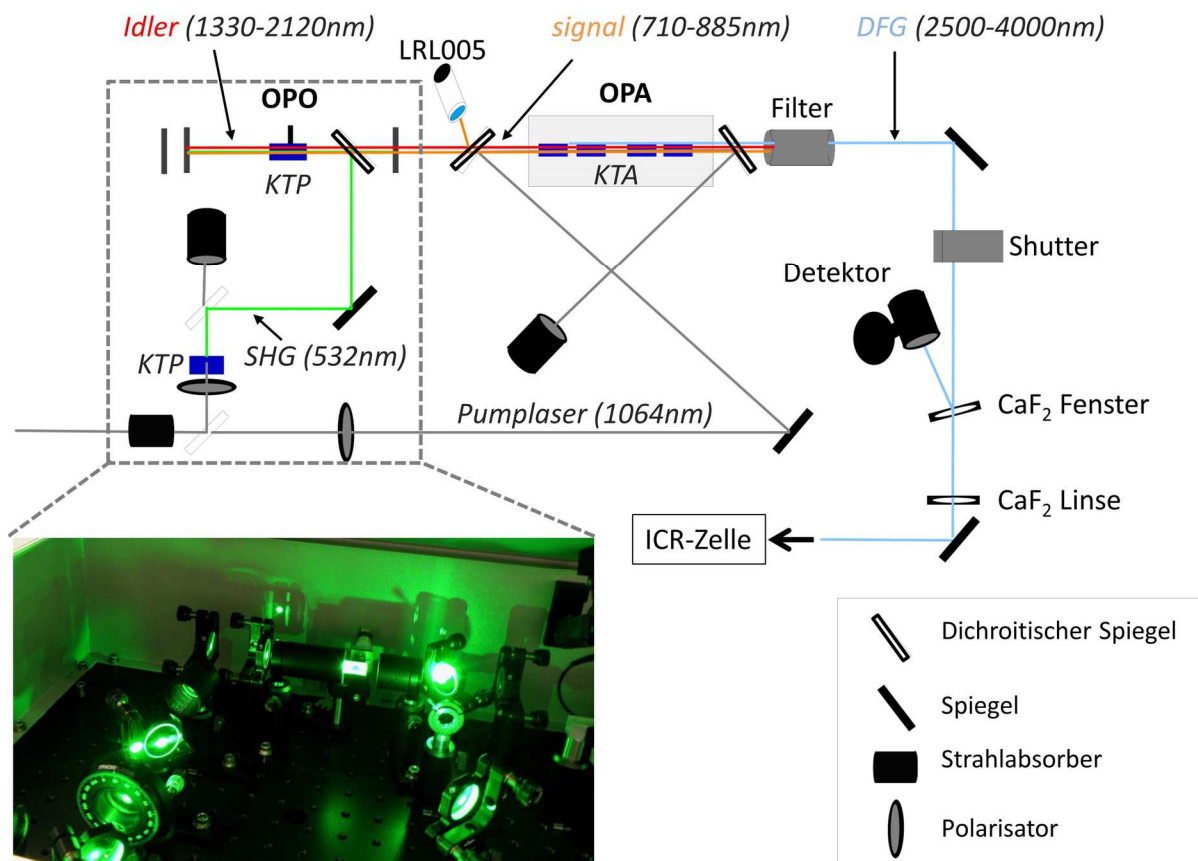
Für eine detaillierte Beschreibung der Theorie zur nichtlinearen Optik und der Funktionsweise der optisch parametrischen Oszillatoren und Verstärker sei auf das Kapitel 22 des Lehrbuchs „*Handbook of Optics Volume IV*“ verwiesen.<sup>86</sup>

In dieser Arbeit wurde zuerst ein Lasersystem (LaserVision, Bellevue, WA(USA)) im mittleren Infrarotbereich zur Infrarot Multiphotonen Dissoziations(IRMPD)-Spektroskopie in eine ICR-Zelle geleitet. In einer nächsten Stufe wurde ein UV/Vis OPO System (Panther EX OPO Plus, Continuum, Santa Clara, CA(USA)) zur Photodissoziationsspektroskopie in das Experiment eingebunden. Im folgenden Abschnitt werden die verwendeten Lasersysteme vorgestellt und die Einbindung in das Experiment erläutert.

### 2.4.1 mIR Lasersystem

Um einen Laserpuls im mittleren infraroten Bereich zu generieren wurde ein kommerzielles Lasersystem, bestehend aus einem optischen parametrischen Oszillator und einem optischen parametrischen Verstärker (OPO/OPA, LaserVision, Bellevue, WA, USA), mit einem Nd:YAG Laser (Powerlite Precision II 8020, Continuum, San Jose CA; USA) verwendet.<sup>10.</sup>

<sup>87</sup> Die Laserleistung der Fundamental des Nd:YAG Lasers ( $\lambda = 1064 \text{ nm}$ ) beträgt 10 W, bei einer Repetitionsrate von 20 Hz. Diese wird als Leistungsquelle (Pumplaser) für die nichtlinearen Optiken verwendet. Abbildung 22 zeigt den Aufbau dieser OPO/OPA Einheit. Zusätzlich ist der Strahlengang mit allen verwendeten optischen Bauteilen bis zur Einkopplung des Laserstrahls in die ICR-Zelle abgebildet. Der eingestrahle Pumplaser mit einer Frequenz  $\omega_P(1064\text{nm})$  wird durch einen Strahlteiler im Verhältnis 2:1 aufgeteilt. Der schwächere der beiden Strahlen wird in einem Kalium-Titanyl-Phosphat(KTP)-Kristall in seine zweite Harmonische (SHG) konvertiert. Die Frequenz entspricht der verdoppelten Fundamental-frequenz  $\omega_{SHG}(532\text{nm}) = 2\omega_P$ .



**Abbildung 22** Aufbau des IR-OPO Lasersystems in der Detailansicht. Die Fundamentale (grau) wird geteilt und teilweise zur zweiten Harmonischen (grün), konvertiert. Diese erzeugt in der OPO Stufe ein IR-Signal (orange) und einen IR-Idler (rot). Im OPA werden der Idler und der zweite Teil der Fundamentalen überlagert und es entsteht ein Laserpuls mit der Differenz der Frequenzen DFG (hellblau).

Aus einem SHG-Photon werden im optischen parametrischen Oszillator (OPO) ein Signal- und ein Idler-Photon erzeugt. Das nichtlineare Medium besteht aus einem Kalium-Titanyl-Phosphat Kristall, der mit vertikaler Drehachse auf einem Schrittmotor angebracht ist.<sup>88</sup> Die zugänglichen Wellenlängenbereiche für die erzeugten Wellen sind 710 nm bis 885 nm für das Signal-Photon und 1330 nm bis 2120 nm für das Idler-Photon. Die erzeugten Wellenlängen werden entsprechend dem Winkel der optischen Achse des Kristalls zum k-Vektor des eingestrahnten Laserpulses aufgeteilt. Für die Frequenzen der beteiligten Wellen gilt nach der Energieerhaltung

$$\omega_{SHG} = \omega_{Signal} + \omega_{Idler} \quad (2.29)$$

Durch dichroitische Spiegel werden die entstehenden Signal und Idlerwellen von dem SHG-Pumpimpuls abgetrennt und in den optischen parametrischen Verstärker überführt. Ebenfalls durch einen dichroitischen Spiegel wird die Fundamentale (1064 nm) in die OPA-Stufe eingekoppelt. Im optischen parametrischen Verstärker kommt es nun zu einer Differenzfrequenzgenerierung (DFG) durch den Idler mit der horizontal polarisierten Fundamentalen

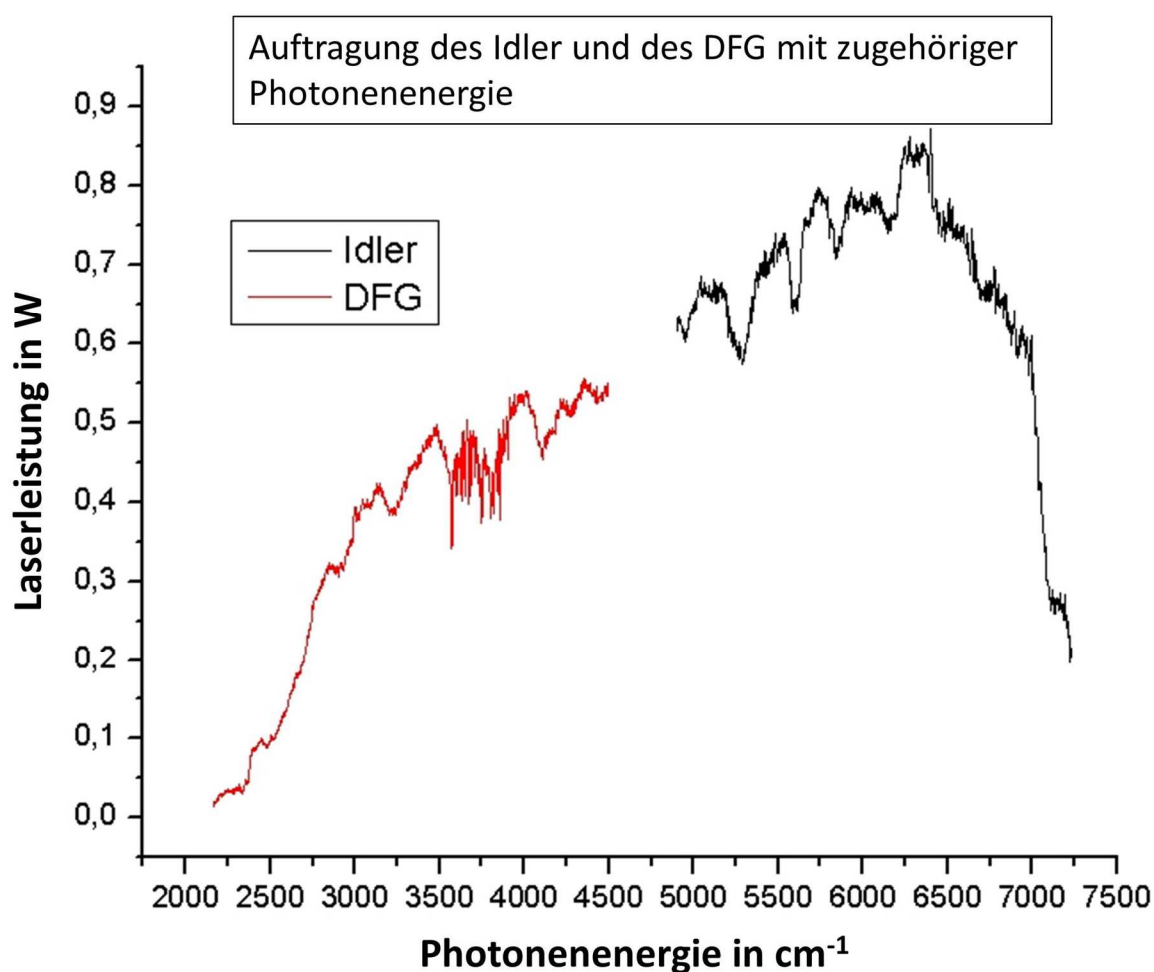
$$\omega_{DFG} = \omega_P - \omega_{Idler}. \quad (2.30)$$

Das verwendete nichtlineare Medium im OPA sind vier nacheinander positionierte Kalium-Titanyl-Arsenat(KTA) Kristalle. Diese sind auf horizontal drehbaren Schrittmotoren montiert. Sie werden durch eine Steuersoftware des Lasersystems, abhängig von der Frequenz des Idlers, auf den optimalen Winkel zur Konvertierung der beiden Strahlen eingestellt. Aufgrund der orthogonal zueinander stehenden Polarisation von Signal und Idler, ist die eingestrahlte Fundamentale parallel zum Signal polarisiert und ein nichtlinearer Prozess der beiden ist somit ausgeschlossen. Die Fundamentale wird nach dem OPA mit einem dichroitischen Spiegel aus dem Laserweg entfernt. Der Idler und der DFG können aufgrund ihrer orthogonalen Polarisation durch einen Polarisationsfilter aus Silicium getrennt werden und das Signal wird durch die Materialeigenschaften des eingebauten Silicium-Polarisationsfilters absorbiert. In dieser Arbeit wurde vorwiegend der DFG-Puls verwendet. Durch die Abhängigkeit der Idlerfrequenz vom KTP Kristallwinkel im OPO ist es möglich, die DFG-Welle im gesamten Wellenlängenbereich, ohne Einschränkung zu erzeugen. Die Pulslänge des DFG am Ende dieser nichtlinearen Prozesse beträgt  $\sim 7$  ns und die Bandbreite ca.  $\sim 4$   $\text{cm}^{-1}$ .<sup>89</sup> Die absolute Wellenlänge des DFG-Laserpulses kann über einen Reflex der Signalwelle und anschließende Umrechnung, durch ein kalibriertes wavemeter (LRL005, Atos GmbH), online bestimmt werden.

Der optische Aufbau, der in dieser Arbeit für die IRMPD-Spektroskopie verwendet wurde, beinhaltet zwei Silberspiegel (10D20ER.2, Newport Cooperation, Irvine CA), einen pyroelektrischen Pulsenergie Messkopf (LM-P209, Coherent Inc, Santa Clara CA) ein  $\text{CaF}_2$  Fenster (WG51050, Thorlabs Inc, Newton NJ) und eine Calciumfluorid( $\text{CaF}_2$ )-Linse mit einer Fokallänge von 750 mm (LA5956, Thorlabs Inc, Newton NJ). Gegenüber der detaillierten Beschreibung des Aufbaus aus einer vorhergehenden Diplomarbeit<sup>90</sup> wurde ein Lasershutter (SH-05, Thorlabs Inc, Newton NJ) mit Shutter Controller (SC-10, Thorlabs Inc, Newton NJ) eingebaut. Die größere Öffnung dieses Shutters erhöhte effektive Laserleistung in der ICR-Zelle um mehr als 10 %. Für Messungen über  $3500$   $\text{cm}^{-1}$  wurde der Laserweg durch Stickstoffspülung wasserfrei gehalten, um Resonanzen mit Streckschwingungen der Wassermoleküle und Wassercluster auf dem Weg zur Falle und daraus resultierende wellenlängenabhängige Leistungsabfälle vor dem Erreichen der ICR-Zelle zu vermeiden. Über den zweiten Silberspiegel wurde der Laserpuls durch ein weiteres  $\text{CaF}_2$  Fensters (MDC Vacuum Ltd., East

Sussex, UK), das in einen UHV Flansch montiert ist, in den Vakuumbereich der ICR-Zelle geführt und mit der Ionenwolke überlappend ausgerichtet.

Aufgrund seiner Wellenlänge zwischen 2500 nm bis 4000 nm kann die DFG-Welle zur Anregung von C–H, N–H und O–H Streckschwingungen eingesetzt werden. Dieser Bereich wird als mittlerer Infrarot (mIR) Bereich bezeichnet und standardmäßig in Wellenzahlen angegeben ( $2200\text{ cm}^{-1}$  bis  $4000\text{ cm}^{-1}$ ). Die Kalibrierung sowie der optische Aufbau ist in der Diplomarbeit des Autors beschrieben.<sup>90</sup> Eine typische Leistungskurve für diesen Messbereich ist in Abbildung 23 dargestellt.



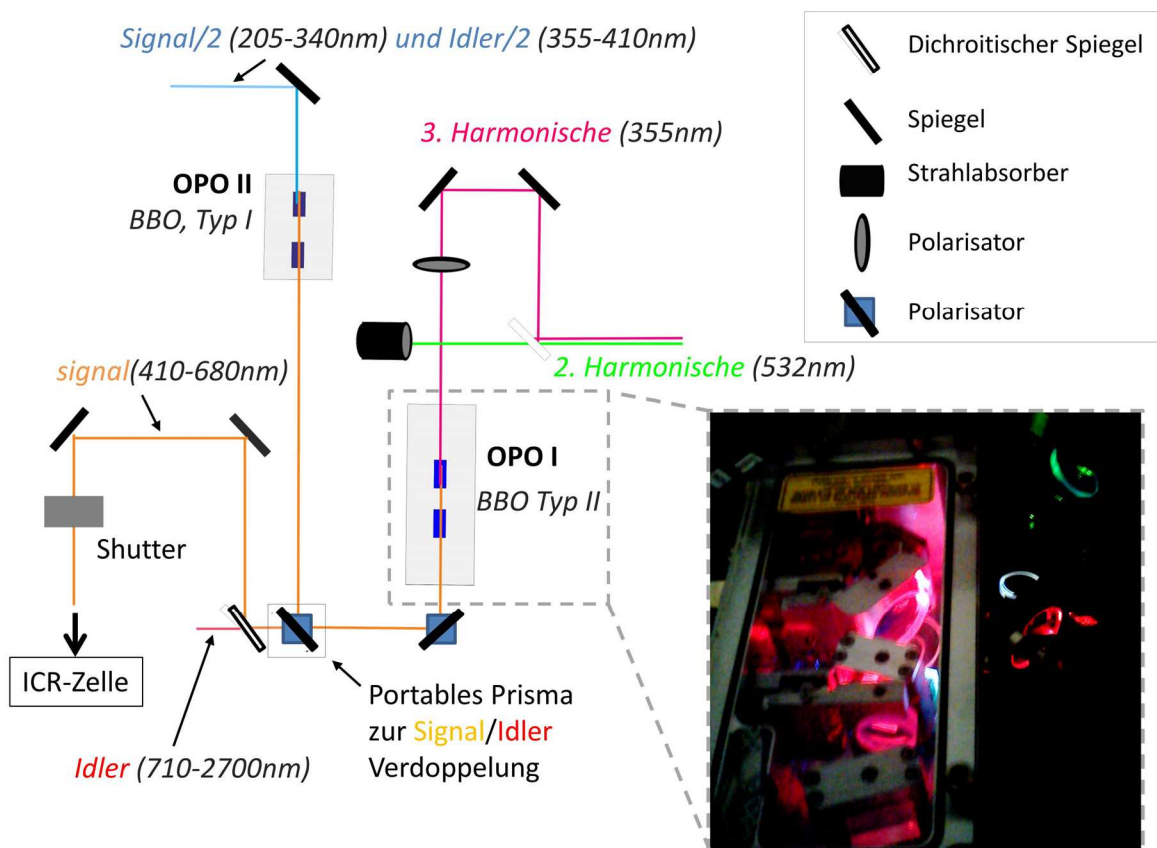
**Abbildung 23** Powerkurven des DFG-Laserpulses (rot) und des *Idler*-Laserpulses (schwarz), erzeugt aus dem in dieser Arbeit verwendeten OPO/OPA Lasersystems, gepumpt von der Fundamentalen und der 2. Harmonischen eines Nd:YAG Pumplasers. (entnommen aus Schinle 2009)<sup>90</sup>

## 2.4.2 UV/Vis Lasersystem

Zur Photodissoziation wurde des Weiteren ein Nd:YAG-Laser (Continuum Powerlite DLS 8000/20Hz, Continuum, Santa Clara, CA (USA)) als Pumplaser für einen breitbandigen optisch parametrischen Oszillator im UV/Vis Bereich in den Aufbau integriert. Für die Wellenlängengenerierung wird die horizontal polarisierte, dritte Harmonische des Nd:YAG-Lasers mit einer Wellenlänge von 355 nm verwendet und mit Hilfe der beiden auf Schrittmotoren positionierten OPO-Kristalle eine Pumpleistung vom 4 W eingestellt. Die Pulsbreite der dritten Harmonischen beträgt 5-7 ns.<sup>91</sup> Mit dem Pumplaser wird ein durchstimmbares OPO Lasersystem (Panther EX OPO, Continuum, Santa Clara, CA (USA)) betrieben. (siehe Abbildung 24). Der optische parametrische Oszillator konvertiert darin den Pumpuls durch zwei BBO Kristalle des Typs II in ein Signal- und einen Idlerpuls. Durch einen dichroitischen Spiegel werden die beiden Frequenzen voneinander getrennt und können an unterschiedlichen Ausgängen des Lasersystems zur Spektroskopie ausgekoppelt werden. In dieser Arbeit wurde zur Dissoziation der Ionen der Signal-Puls mit 420 nm bis 600 nm verwendet. Der Bereich zwischen 600 und 675 nm wurde aufgrund der geringen Konversionseffizienz der BBO Kristalle und dem resultierenden Leistungsabfall des Dissoziationslaserpulses in dieser Arbeit verzichtet. Die Spezifikationen für Signal und Idler sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Spezifikation des OPO Panther Lasersystems.<sup>92</sup>

<i>Spezifikation</i>	<i>für ein PL DLS 8000er Pumplaser</i>
Pulsbreite (ns)	3-7
Pulsenergie(mJ, @ 500 nm)	7-8
Strahlstabilität (μrad)	< ±100
Energie-Stabilität (% @ %pro Schuss)	< ±10 @ 10&20Hz
Divergenz (mrad, FWHM)	< 2 (both axes)
Strahldurchmesser (mm)	4-7
Polarisation (Signal)	> 99% vertikal
Polarisation (Idler)	> 99% horizontal
Elliptizität des Strahlprofils (%)	< 20



**Abbildung 24** Aufbau des UV/Vis Panther EX OPO Lasersystems in der Detailansicht. Die dritte Harmonische (violett) des Nd:YAG Pumplasers pumpt eine OPO Zelle mit BBO Kristallen des Typs II. Hieraus entsteht ein Signalpuls (orange) und ein Idlerpuls (rot) durch Einsetzen eines portablen Prismas kann mit Hilfe zweier BBO Typ I Kristalle eine Frequenzverdoppelung von Signal und Idler durchgeführt werden (hellblau). Die zweite Harmonische (grün) ist in kleinen Mengen im Pumpstrahl enthalten und wird am ersten dichroitischen Spiegel abgetrennt.

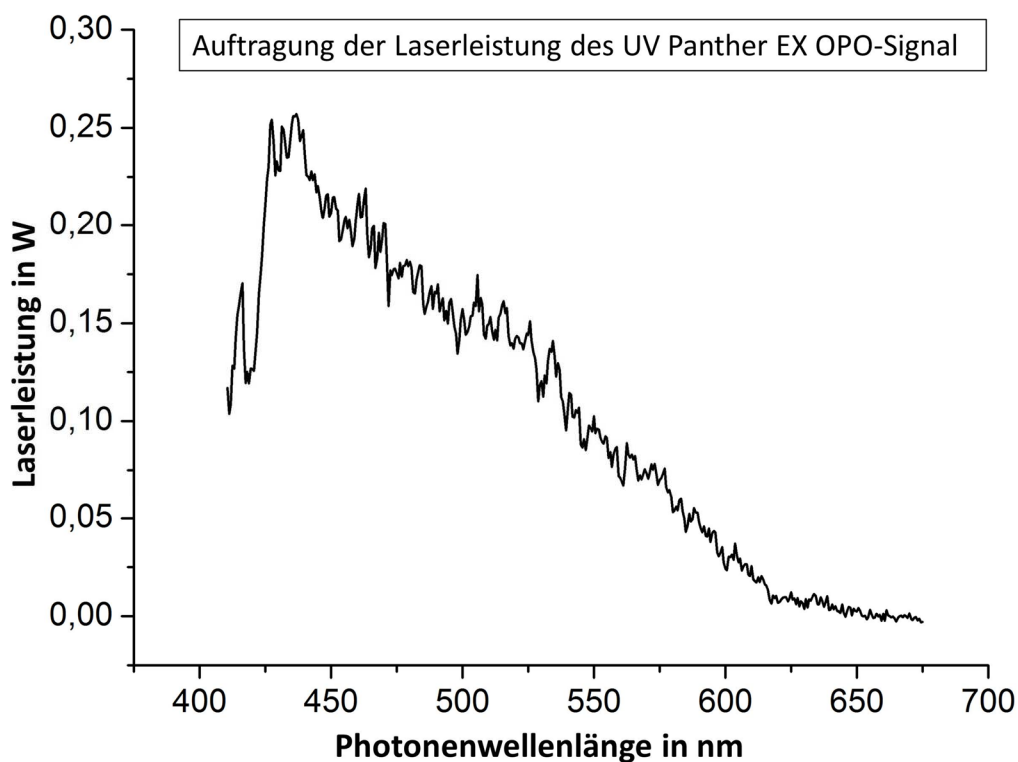
Durch Einsetzen eines portablen Prismas können Signal und Idler alternativ in eine weitere nichtlineare SHG-Optik geleitet werden, die durch *second harmonic generation* die Frequenz der beiden Laserpulse in den ultravioletten Bereich verdoppelt. Diese Option wurde im bisherigen Spektroskopieaufbau nicht berücksichtigt.

Für die UV/Vis Spektroskopie wurde der Laserpuls mit einem für den UV-Bereich dielektrisch beschichteten Spiegel (UV Spiegel, Artikel-Nr. G383079050, Qioptiqs, Paris (FRA))<sup>vi</sup> zur Falle geleitet. Vor dem Magneten wurde ein Aluminium beschichteter Spiegel (Artikel-Nr. PF10-03-F01, Thorlabs, Newton NJ(USA)) eingesetzt. Online Leistungsmessungen wurden mit einem pyroelektrischen Pulsenergie Messkopf (LM-P209, Coherent Inc, Santa

<sup>vi</sup> Die Spiegel, nach dem UV/Vis Laser, wurden von der Firma Unaxis hergestellt. Da diese Firma nicht mehr existiert werden in dieser Arbeit Produkte alternativer Anbieter mit vergleichbaren Eigenschaften angegeben.



Clara CA(USA)) anhand des Reflexes eines Quarzfensters aufgenommen. Für die Schuss-zu-Schuss-Referenz-Spektroskopie wurde ein Lasershutter (SH-05, Thorlabs Inc, Newton NJ (USA)) mit Shutter Controller (SC-10, Thorlabs Inc, Newton NJ(USA)) eingesetzt. Zur reproduzierbaren Reduktion der Laserleistung wurde vor den Shutter ein in einer Rotationshalterung eingebauter Polfilter verwendet. Zur Reduktion der  $MS^X$  Fragmente mit  $x > 1$  und somit zur Fragmentations-Signal-Maximierung wurde der Strahl mit zwei Irisblenden auf einen Durchmesser von 6 mm reduziert. Über ein  $BaF_2$  Fenster wurde der Strahl in die ICR-Zelle geführt und auf einen maximalen Überlapp mit der Ionenwolke ausgerichtet. Es wurde im Verlaufe der Promotion getestet, ob der Einsatz eines  $BaF_2$  Fensters Vorteile gegenüber einem  $CaF_2$  Fensters besitzt. Eine nach jeder Lasergangjustage durchgeführte Messung der Laserleistung auf der Fallenseite ergab jedoch keinen messbaren Unterschied. Eine Leistungskurve des UV/Vis-OPO-Lasersystems ist in Abbildung 25 aufgezeigt.



**Abbildung 25** Powerkurven des Signal-Laserpulses (rot) im UV/Vis Bereich. Der Puls wurde durch das Panther EX OPO Lasersystem erzeugt und hinter dem Lasershutter detektiert.

## 2.5 Computer-Steuerung des Experiments

Neben der experimentellen Umsetzung der Apparatur und der Theorie zum Aufbau einer neuen Messapparatur, liegt in heutiger Zeit ein Großteil der zu lösenden Probleme in der Einbindung der Informationstechnologie(IT). Vor allem in der Verknüpfung der unterschiedlichen Programmiersprachen, den verwendeten Schnittstellen und der fehlerfreien, zuverlässigen und synchronisierten Kommunikation der einzelnen Komponente ist dies bemerkbar. Auch im Labormaßstab ist es heutzutage wichtig geworden eine zentrale Benutzeroberfläche (GUI) zu schaffen, die alle Informationen zum Experiment aufnimmt, sammelt und verarbeitet.

Diese Anforderungen stellen den Experimentator vor neue Probleme, da entweder eine kommerziell erworbene und nicht auf den Aufbau zugeschnittene Oberfläche verwendet werden soll oder die zeitaufwendige Programmierung einer eigenen Oberfläche umgesetzt werden muss. Programme wie LABView haben diese Anforderungen als Markt entdeckt und versprechen durch Benutzerfreundlichkeit, intuitive Handhabung und Baustein-förmige Programmierung schnelle Abhilfe. Dennoch sollte vor dem Erstellen einer neuen Software abgeschätzt werden, ob die Vorteile eines solchen Baustein-Mess-Programms die Nachteile überwiegt. Es sollte hierbei nicht unterschätzt werden, dass die Anpassungsfähigkeit der Apparatur an aktuelle Messungen und moderne Probleme, von der Flexibilität des verwendeten Quellcodes abhängt. Zusätzlich werden hochspezielle Messapparaturen wie die LTQ-Orbitrap oder das Synapt G2-S nicht mit einem LABView Anschlussmodul ausgeliefert, was die Problematik zur Einbindung zurück in den Quellcode der jeweiligen Apparatur führt.

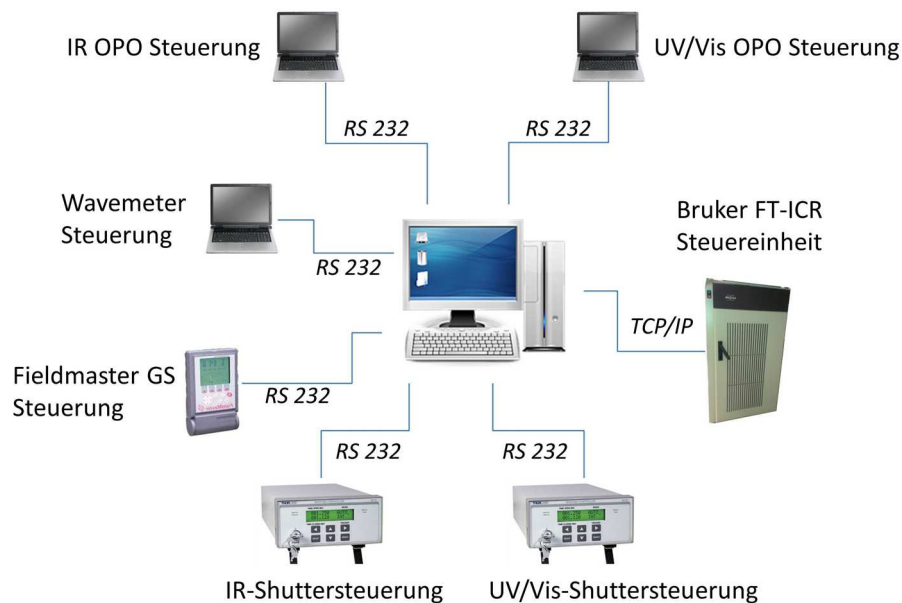
In der vorliegenden Arbeit stellte sich in der Ausgangslage durch die Einbindung der Messsoftware XMASS der FT-ICR Massenspektrometers ein ähnliches Problem. Aufgrund der einzigen vorgesehenen Schnittstelle mit tcl/tk als Programmiersprache, wurde es als schwieriger erachtet die Laborsoftware in dieser Sprache zu schreiben, als XMASS in eine neue Oberfläche einzubinden. Da dies vom Hersteller nicht vorgesehen war, konnte LABView hierfür nicht verwendet werden und die Messsoftware wurde in Visual Basic vollständig neu aufgesetzt.

Die erste Version der Software entstand während einer Diplomarbeit und wurde parallel zu dieser Arbeit weiterentwickelt.<sup>90</sup> Zusätzlich zu den Optionen dieser Version wurde in das aktuelle Programm die UV/Vis Spektroskopie implementiert, eine Shuttersteuerung eingebaut, ein Wellenlängenmessgerät mit Steuerung für online Messungen implementiert, drei neue Messmethoden mit jeweils zwei Unterkategorien implementiert, die automatisierte Variation der Parameter für Grundlagenmessungen eingebaut und eine automatisierte Auswertungssoftware programmiert. Eine Beschreibung dieser Software die einen Quellcode von mehr als 20000 Zeilen (die der elektronischen Version der Arbeit angehängt sind) umfasst würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Der Fokus dieses Abschnittes soll rein auf den für die Bedienung wichtigen Grundlagen gelegt sein. Im folgenden Abschnitt wird daher ein Überblick

über die Schnittstellen der verwendeten Geräte gegeben und die Bedeutung des „Spannungspulsprogramms“ für die Messung beschrieben.

### 2.5.1 Kommunikation zwischen den Komponenten

In Abbildung 26 ist die Verknüpfung der verwendeten Hardware-Komponenten an den Messrechner (Windows XP, intel core i5, 4GB RAM) dargestellt. Verwendet wurde ursprünglich das Visual Basic 2006 (Visual Studio 2006 Enterprise, Microsoft), das im Verlauf der Arbeit auf Visual Basic 2010 (Visual Studio 2010 Enterprise, Microsoft) konvertiert wurde. Die Komponenten, die über eine serielle Schnittstelle RS-232 mit dem Messrechner kommunizieren sind direkt an das Visual Basic Hauptprogramm angebunden. Durch einfache *string* Befehle kann das Hauptprogramm so mit der IR-OPO Steuerungssoftware, der UV/Vis-OPO Steuerungssoftware, der Wavemeter Steuerung, der Bruker FT-ICR Steuereinheit, der Fieldmaster GS Steuerung, sowie die beiden Lasershuttern und dem Fieldmaster GS kommunizieren. Die Kommunikation mit dem Wavemeter erfolgt über einen zusätzlichen Rechner, auf dem ein Visual Basic Code installiert ist, der die Steuerungsprogramm „lightview“ ausliest und die Werte an den Messrechner übermittelt.



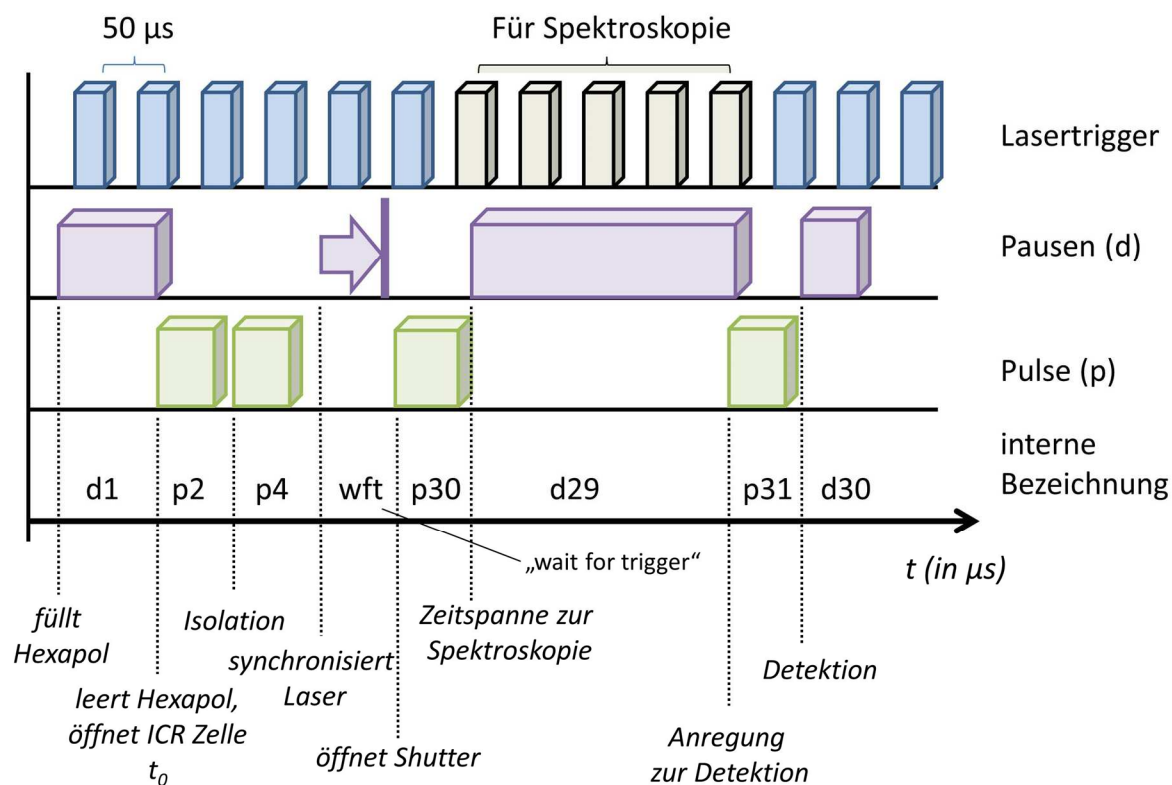
**Abbildung 26** Aufgezeigt sind alle mit dem Messrechner verbundenen Komponenten und der Kommunikationskanal der zum Datenaustausch verwendet wird

Die Kommunikation mit dem Massenspektrometer erfolgt über die Software des Herstellers (XMASS Version 7.0.2, Bruker Daltonics, Billerica Ma (USA)). Diese Software kommuniziert mit einer TTL-Pulssteuereinheit des Massenspektrometers, das die im Spannungspulsprogramm vorgegebene Pulsfolge für jede Messung erzeugt und an das Massenspektrometer sendet. Die Kommunikation der Messsoftware mit XMASS erfolgt über tcl/tk Skripte.

Die zeitliche Synchronisierung der Messung erfolgt über TTL Pulse die durch die beiden Nd:YAG Pumplaser an die TTL-Pulssteuereinheit gesendet werden (UV/Vis Laser [„Sync out“] und IR-OPO Lasersystem [„Sync out“] an XMASS [Aux 9]). Die Synchronisierung der Shutter wird über ausgehende TTL Pulse der TTL-Pulssteuereinheit sichergestellt.

## 2.5.2 Spannungs-Pulsprogramm

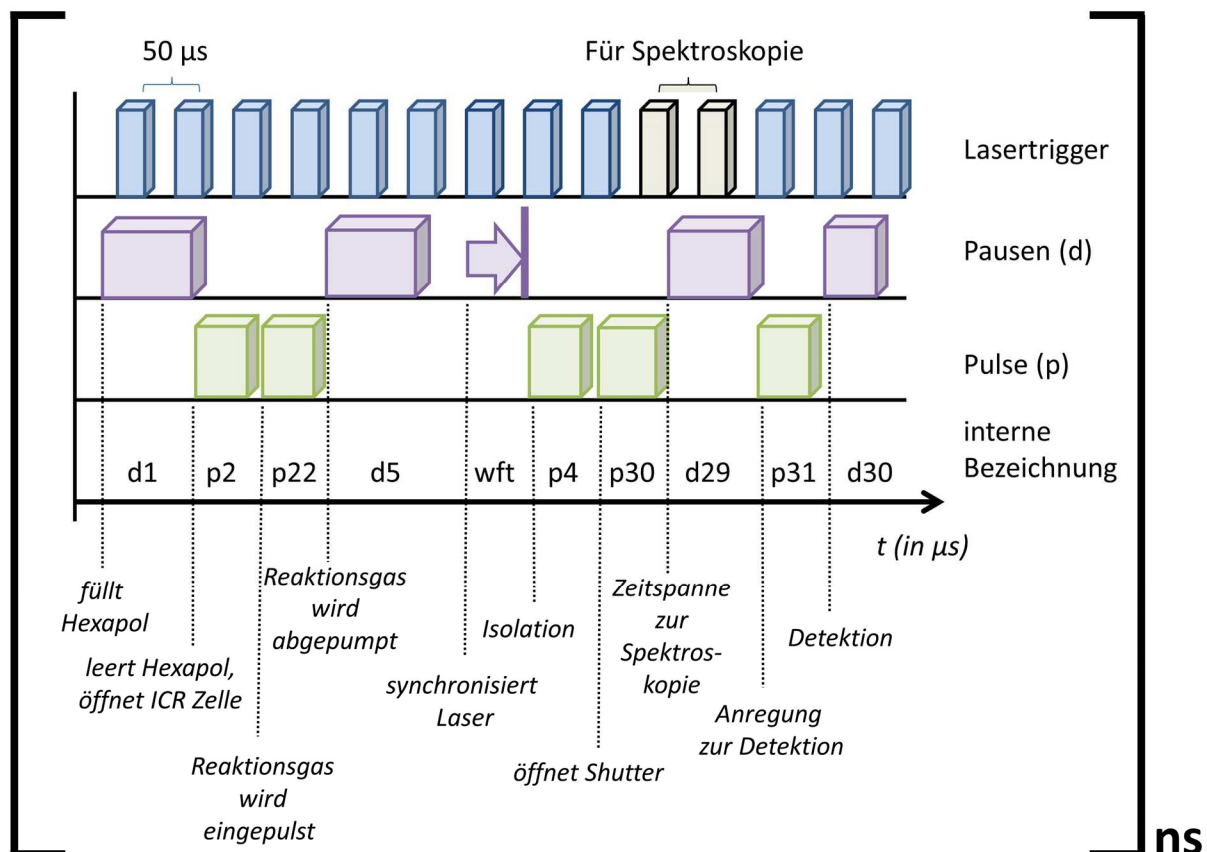
Die eigentliche Steuerung des Massenspektrometers erfolgt durch Spannungs-Pulsprogramme. Die Messung ist hierbei definiert durch eine vorher festgelegte Abfolge von TTL-Pulsen und Pausen, die an das Massenspektrometer gesendet werden. Durch XMASS wird definiert wie viele Durchläufe das Spannungs-Pulsprogramm erfährt und welche Parameter es für die Puls- und Pausenlängen verwendet. Ein einfaches Pulsprogramm zur Spektroskopie ist in Abbildung 27 dargestellt. Der Beginn eines Messzyklus stellt eine Pause zum Befüllen des Hexapols dar. Mit einem anschließenden Puls wird die Endkappenelektrode des Hexapols von einem Speicherpotential auf ein Potential zum Entleeren des Akkumulationspeichers geschaltet.



**Abbildung 27** Ein vereinfachtes Pulsprogramm zur photoinduzierten Dissoziationsspektroskopie. Durch eine Folge von Pulsen und Pausen wird das Massenspektrometer gesteuert. Durch Pulsprogrammierung kann dies zur Photodissoziationsspektroskopie genutzt und durch gezielte Pulsmanipulation des P30 auch Schuss-zu-Schuss Referenzen aufgenommen werden

Da das Entleeren der Ionen aus dem Hexapole in die Ionenoptik als ein Zeitpunkt Null ( $t_0$ ) angesehen werden kann, definiert dieser Puls den absoluten Start eines Messzyklus. Zu diesem Zeitpunkt  $t_0$  wird die ICR-Zelle geöffnet und nach ca. 700 bis 1100  $\mu\text{s}$  (P2) wieder geschlossen. Dies geschieht durch eine kurzzeitige Spannungsänderung auf der Speicherelektrode (PL1) der ICR Zelle. Die nun gespeicherten Ionen unterschiedlicher  $m/z$  können während der Speicherung angeregt oder „isoliert“ werden. Eine besondere Funktion stellt die „wait for trigger“ Option dar, die eine variable Pause des Pulsprogramms bedeutet, die bis zum nächsten eintreffenden TTL-Puls auf einem definierten Eingangskanal andauert. Durch diese Option wird die Synchronisation mit den Lasersystemen sichergestellt.

Durch einen TTL-Puls der FT-ICR Steuereinheit an die Shuttersteuerung kann der Lasershutter geöffnet und durch eine am Shuttercontroller eingestellten Dauer (*single shot mode*) die Anzahl der Pulse zur Spektroskopie festgelegt werden. Die Pause wird mit der Steuerungssoftware synchronisiert und durch ein delay in die Messung implementiert. Im Anschluss wird durch Anregung und Detektion ein Spektrum erstellt und gespeichert.



**Abbildung 28** ein vereinfachtes Pulsprogramm (siehe auch Abbildung 27). Der optimale Einsatz der ICR-Zelle wird durch Pulsprogrammierung vor der Photonenbestrahlung erreicht. Hier mit einem während der Speicherung zugepulsten Gas. Durch „ns“ ist die mehrfache Wiederholung des Programms für die Aufnahme eines Massenspektrums symbolisiert.

Bei Messungen mit einer Schuss-zu-Schuss-Referenz wird in jedem zweiten Spektrum der Puls zum Öffnen des Shutters entfernt und im Pulsprogramm durch eine Pause gleicher Länge ersetzt. Dadurch bleibt der Shutter geschlossen und es erfolgt keine photoinduzierte Dissoziation.

Diese Methode ermöglicht es, die Spannungs-Pulsprogramme in einem weiten Rahmen zu variieren ohne die Automatisierung der Messung negativ zu beeinflussen. Beispielhaft ist in Abbildung 28 das vereinfachte Spannungs-Pulsprogramm für die photoinduzierte Dissoziationsspektroskopie an Ionen unter Sauerstoffanlagerung dargestellt. Hier wurde vor der Isolation ein Reaktionsgas eingepulst und eine Pause zur anschließenden Wiedereinstellung des Drucks eingebaut. Durch einen weiteren Parameter zur Wiederholrate (ns) kann die Anzahl an Durchläufen dieses Spannungs-Pulsprogramm definiert werden. In jedem Durchlauf wird jeweils ein Spektrum aufgenommen, die dann zu einem Massenspektrum addiert werden. Die so erhaltenen Massenspektren werden nach der Messung im ASCII Format gespeichert und das Spannungs-Pulsprogramm neu gestartet. Das Spannungs-Pulsprogramm für die photoinduzierte Zwei-Farben-UV/Vis-IR Kombinationsspektroskopie mit Gaszupulung und den unterschiedlichen Isolationsmodi ist im Anhang A.4 aufgeführt.

### **2.5.3 Integrationssoftware**

Zur vereinfachten Auswertung der Spektren wurde eine Integrationssoftware erstellt. Diese erkennt anhand einer von der Messung automatisch hinzugefügten Datei den Messmodus und wertet entsprechend dieser Methode die Spektren aus. Hierfür muss vom Benutzer eine Datei mit den zu integrierenden Massen und den Integrationsgrenzen erstellt und in das Programm eingeladen werden. Nach Start des Programmes werden in jedem gespeicherten Spektrum die Massen innerhalb der angegebenen Grenzen integriert und als Tabelle mit der internen Spektrumsnummer gespeichert. Aus den Messungen der Wellenlänge, der Laserleistung und der Werte der online Wellenlängenmessung werden zu jeder Spektrumsnummer die Mittelwerte dieser drei Größen gebildet und den jeweiligen Nummern zugeordnet. Die so erstellte Matrix wird mit dem Datum der Messung, dem Messmodus und der Nummer der Messung versehen und in den Dateipfad der Messung gespeichert. Die Spektren in dieser Arbeit wurden durch ASCII Import dieser Dateien im Originsoftwarepaket (Origin 8.6G OriginLab Corporation, Northampton MA(USA)) ausgewertet.

## 2.6 Modifizierung des optischen Aufbaus für die parallele Einkopplung des mIR- und UV/Vis-Lasersystems

Ein Ansatz in der Weiterentwicklung der Photodissoziationsspektroskopie ist die parallele Einbindung mehrerer Lasersysteme. Dies führte zum Beispiel zu den Pionierarbeiten von Rizzo *et al.*, in denen gespeicherte Ionen mit zwei Lasern bestrahlt werden und durch eine Art IR-UV-Doppelresonanz-Spektroskopie die Nachweisgrenze im mittleren infraroten Wellenlängenbereich auf eine Ein-Photonendissoziation (IRPD) reduziert werden konnte.<sup>93, 94</sup>

In diesem Ansatz werden die Ionen in einer gekühlten linearen Multipolfalle gespeichert und durch Öffnungen in den beiden Trappingelektroden von jeder Seite jeweils ein Laser eingestrahlt. Die Überlagerung der Ionen mit dem Laserstrahl wird durch je einen vor und nach der linearen Falle angebrachten Ionenumlenker ermöglicht. Der Nachteil dieses Aufbaus ist, dass die Ionen nach der photoinduzierten Dissoziation in ein Massenspektrometer überführt werden müssen, was einerseits den Messzyklus negativ beeinträchtigt und andererseits zu Verlusten im Ionensignal führen kann.

In dem hier vorgestellten Ansatz, mit einer ICR-Zelle als Ionenfalle, wird dies durch die direkte Verwendung der Ionenfalle als FT-ICR Massenspektrometer umgangen. Jedoch muss, durch den Aufbau des Massenspektrometers bedingt, die Überlagerung beider Laserstrahlen von einer Seite aus erfolgen. Die Materialeigenschaften der kommerziell verfügbaren Kaltlichtspiegel<sup>vii</sup> verhindern hierbei eine Strahlvereinigung zur Umsetzung. Die Anforderungen an einen solchen Spiegel wären die vollständige Reflexion des infraroten Laserpulses zwischen 2500 nm und 4000 nm und eine gleichzeitige Transparenz für den Wellenlängenbereich von 410 nm bis 675 nm bei einer maximalen Zerstörschwelle der Spiegeloberfläche von ca. 50 mJ/cm<sup>2</sup>.

### Optischer Aufbau

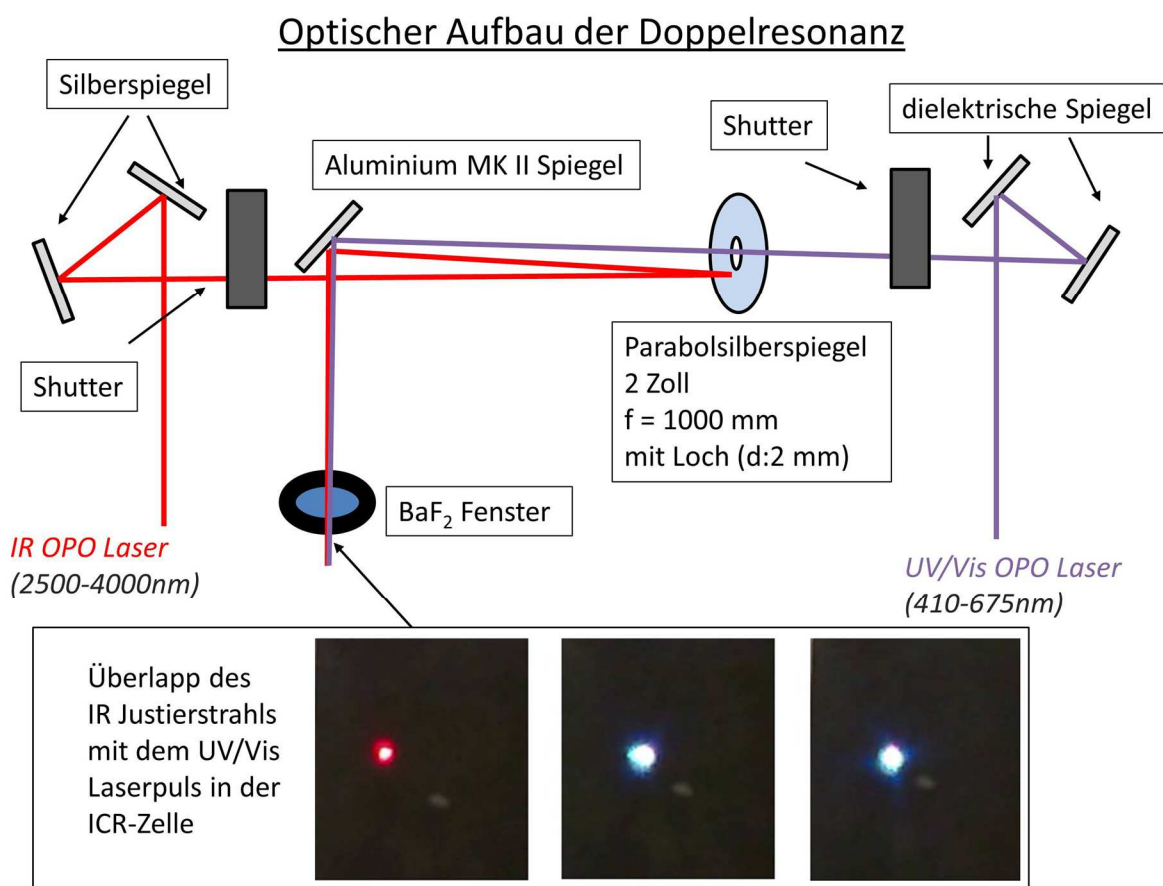
In dieser Arbeit wurde daher ein Parabolspiegel zur Vereinigung beider Lasersysteme verwendet. Mit Hilfe eines Keramikbohrers wurde ein parabolischer Laserspiegel (20DC2000ER.2, Newport Cooperation, Irvine CA) mit 1 m Brennweite und 2 Zoll Durchmesser durchbohrt. Als Schutz für die Spiegelfläche wurde ein Klebestreifen aufgetragen und mit die Übergänge mit einer Wachsschicht versiegelt. Da das Trägermaterial des Laserspiegels besondere Materialeigenschaften aufweist, die bei der Behandlung mit einem herkömmlichen Bohrer zu Rissen und Brüchen in der Spiegelfläche führen können, wurde das Loch mit einer Ultraschallbohrer gefertigt. Der nicht-rotierende Bohrkopf schwingt hierbei mit hoher Frequenz in seiner Halterung. Gegenüber ist der Parabolspiegel mit der geschützten Spiegel-

---

<sup>vii</sup> Kaltlichtspiegel transmittieren den IR Bereich >90% und reflektieren den UV Bereich >90%

seite nach unten auf einem Trägerblock aufgeklebt. Durch das Eigengewicht der Halterung wird der Spiegel gegen den Bohrer gedrückt, der sich langsam durch das Trägermaterial des Spiegels bohrt. Der Träger wurde so positioniert, dass ein Loch zentriert im parabolischen Spiegel mit einem Durchmesser von 2 mm entstand. Aufgrund dieser schonenden Methode ist es nun möglich modifizierte Spiegel zur Strahlvereinigung herzustellen.

Im optischen Aufbau wurde der durchbohrte Parabolspiegel im Abstand von ca. 3 Metern vom IR-OPO Lasersystem positioniert. Der Abstand zur Mitte der ICR-Zelle beträgt von dieser Position aus ca. 1 Meter. Durch den weiten Abstand wird der IR Laserpuls als beinahe paralleler einkommender Strahl zum Fokus des Parabolspiegels reflektiert und fokussiert. Der UV/Vis Laserpuls wird ohne Fokus durch das Loch des Parabolspiegels geleitet und auf den Fokuspunkt des Parabolspiegels ausgerichtet (siehe Abbildung 29).



**Abbildung 29** Schematische Darstellung des optischen Aufbaus zur Doppelresonanzspektroskopie in einem FT-ICR Massenspektrometer. An der Position der ICR-Zelle wurde der Auftreffpunkt des Justierstrahls (rot) des Infrarotlasers mit und ohne überlagernde UV/Vis Laserpulse fotografiert.



Zur Einstellung des Spiegels wurde eine Laserdiode mit 1 mW im roten Bereich im IR OPO Lasersystem platziert und durch zwei Irisblenden auf die Strahlenachse des IR OPO ausgerichtet. Nach der Optimierung dieses Justierstrahls wurde das UV/Vis-OPO Lasersystem auf diesen vordefinierten Strahlenweg ausgerichtet und im letzten Schritt der Überlapp der IR-OPO- und UV/Vis-OPO-Laserpulse überprüft. Die Überprüfung erfolgte durch einen Umlenkspiegel vor dem BaF<sub>2</sub> Fenster, mit dem das Strahlprofil in der ICR-Zelle außerhalb des Vakuums simuliert werden kann. Um die beiden Laserwege übereinander zu legen, wurden weitere Freiheitsgrade zur Strahlengangjustage benötigt und dafür der Aufbau um jeweils einen Silberspiegel und einen dielektrischen Spiegel hinter den OPO-Lasersystemen ergänzt. Der optische Aufbau zur parallelen Photodissoziationsspektroskopie ist in Abbildung 29 ebenso dargestellt, wie der Überlapp des Leitlasers mit dem UV/Vis OPO Laserpuls. Um den vollen Wellenlängenbereich, der durch die Lasersysteme zur Verfügung steht, nutzen zu können, wurde vor dem UHV Bereich ein Aluminium beschichteter Spiegel verwendet. Die Reflexion im Bereich des IR-OPO-Lasersystems wurde experimentell bestimmt und lag für den mittleren infraroten Wellenlängenbereich konstant über 90% Reflexion.

Als abschließende Messung wurde ein IR Spektrum des [ATP-2H]<sup>2-</sup> mit dem neu ausgerichteten IR-OPO-Lasersystem und ein Spektrum der vierfach negativ geladenen freien *meso*-tetrakis(4-sulfonatophenyl) Porphyrinbase (H<sub>2</sub>[Porph-4H]<sup>4-</sup>) mit dem UV/Vis OPO Lasersystem aufgenommen. So wurde gezeigt, dass die Photodissoziation in diesem Setup mit beiden Lasern ohne Qualitätsverlust möglich ist.

### **Modifikation der Steuerungssoftware**

Im nächsten Schritt wurden die Modifikationen der Messsoftware zur Messung eines Zwei-Farben-Dissoziationsspektrums vorgenommen. Einerseits wurde hierfür der Schuss-zu-Schuss-Messmodus mit fortlaufendem Lasersystem in die GUI der Infrarotlasersteuerung implementiert. Zusätzlich wurde die GUI des UV/Vis Lasers um einen analogen Messmodus ergänzt. Somit ist es nun möglich in der UV/Vis-Lasersteuerung, bei stehendem IR Laser, ein UV/Vis Photodissoziationsspektrum und in der Infrarotlasersteuerung, bei stehendem UV/Vis Laser, ein Infrarot Photodissoziationsspektrum aufzunehmen.

Zusätzlich wurde das Spannungs-Pulsprogramm angepasst und die Steuerung der beiden Lasershutter separiert. In einem abschließenden Test wurde eine Zwei-Farben-Messung an Coumarin, bei stehendem UV Laser und durchgestimmten IR Laser, in drei Messmoden (1) UV Laserbestrahlung vor der IR Laserbestrahlung, (2) IR Laserbestrahlung vor der UV Laserbestrahlung (3) Gleichzeitige Bestrahlung mit beiden Lasern, durchgeführt. Diese Experimente wurden ohne Synchronisation der beiden Lasersysteme durchgeführt und dienen dem Test der Messsoftware. Daher ist das abschließende Fazit positiv, da alle drei Messmodi automatisiert umgesetzt werden konnten, auch wenn keine Photodissoziations-Effekte durch mehrfache Resonanz des Coumarins beobachtet werden konnten.

Für eine Implementierung der Doppelresonanzspektroskopie muss in einem zukünftigen Schritt die Synchronisation der beiden Lasersysteme durch eine Blitzlampensynchronisation erfolgen und diese Synchronisation über ein „Wait for trigger“ Signal auf das XMASS ausgeweitet werden.

### 3 Infrarotspektroskopie in einer Penningfalle

Die erste Kombination eines CO<sub>2</sub> Lasers mit einer Penningfalle wurde bereits Ende 1978 von Beauchamp *et al.* vorgestellt.<sup>95</sup> Damit wurden erstmals die Konzepte der Ionenspeicherung und der Photodissoziationsspektroskopie mit der hochauflösenden Massenspektrometrie direkt verbunden. Die Möglichkeiten die sich daraus ergaben wurden jedoch zu Beginn durch den kleinen Wellenlängenbereich der zur Anregung verwendeten, durchstimmbaren CO<sub>2</sub> Lasersysteme eingeschränkt. Besonders die Spektroskopie der C–H, N–H und O–H Streck-schwingung, die wichtige Informationen über die Struktur des Moleküls beinhaltet, war aufgrund der geringen Leistung im Wellenlängenbereich zwischen 2 – 4 µm lange experimentell nur schwer zugänglich. Diese Schwingungen wurden zu Beginn daher vor allem in Kombination mit einem inerten Gas (*“Messenger”*) gemessen. Durch Abkühlen des *parent ion* und Zuleiten eines Inertgases wurde ein kaltes Addukt gebildet, das durch Absorption bereits eines IR-Photons wieder in das Mutterion und das Inertgasmolekül dissoziierte. Die Dissoziation konnte über das dabei veränderte Masse-zu-Ladungs-Verhältnis nachgewiesen werden.<sup>96</sup>

Die direkte Infrarot-Multiphotonen-Dissoziations-(IRMPD) Spektroskopie des *parent ion*, die durch die Absorption von mehreren Photonen bis zur Überschreitung der Dissoziationsenergie ausgelöst wird, wurde dann durch die Entwicklung der leistungsstarken Freien Elektronen Laser Anfang dieses Jahrtausends populär.<sup>8</sup>

Als aktuelle Entwicklung ist mit der heutigen Generation von durchstimmbaren, nichtlinearen Lasersystemen mit einer deutlich höheren Leistung im infraroten Wellenlängenbereich, auch wieder ein verstärktes Aufkommen der Technik im Labormaßstab zu beobachten.<sup>97</sup> Durch die Kombination eines solchen OPO/OPA Lasersystem mit einer ICR Zelle für die Dissoziations-spektroskopie, kann ein geladenes Teilchen über längere Zeit mit einer Wellenlänge definierter Energie bestrahlt und somit der Leistungsnachteil gegenüber dem freien Elektronenlaser reduziert werden. Durch eine anschließende Massenanalyse wird im Falle der Dissoziation somit die Anregungsfrequenzen ermittelt.

In dieser Arbeit wurde ein solcher Ansatz verfolgt. Der verwendete experimentelle Aufbau wurde im Abschnitt 2.1.4 und im Abschnitt 2.4.1 beschrieben. Die Steuerung des Experiments wurde im Abschnitt 2.5 vorgestellt.

Im folgenden Abschnitt wird die Theorie der IRMPD Spektroskopie diskutiert und die Ergebnisse dieser Arbeit mit einem solchen IRMPD System, am Beispiel des Leucin Enkephalins, des Adenosin-Triphosphats und des Adenosin-Diphosphats, mit unterschiedlichen Schwerpunkten beschrieben.

### 3.1 Theorie der Infrarot Multi-Photonen Dissoziationsspektroskopie

Anhand der zeitabhängigen Störungstheorie<sup>98</sup> lässt sich zeigen, dass ein System mit zwei Zuständen, durch elektromagnetische Strahlung vom energetisch niedrigeren Zustand  $|\Psi_1\rangle$  in den angeregten Zustand  $|\Psi_2\rangle$  überführt werden kann. Die Übergangswahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit, kann durch die Formel für den Absorptionsquerschnitt

$$\sigma(\omega) = \frac{\pi}{\hbar\epsilon_0 c} \omega_{21} \delta(\omega_{21} - \omega) |M_{21}|^2 \quad (3.1)$$

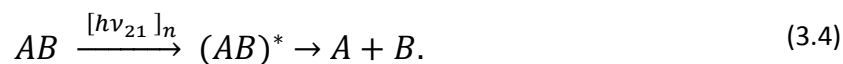
$$|M_{21}| = \langle \Psi_2 | e \mu_{21} | \Psi_1 \rangle \quad (3.2)$$

mit dem Übergangsdipol-Operator  $\mu_{21}$  und dem Operator des elektrischen Feldvektors  $e$  dargestellt werden. Entspricht die Energie des eingestrahnten Photons  $\omega$  der Schwingungsanregungsenergie des Systems, was aufgrund der Deltafunktion  $\delta(\omega_{21} - \omega)$  zur Absorption zwingend erforderlich ist, stellt Gleichung (3.1) die Absorptionswahrscheinlichkeit des Photons durch Anregung dieser Schwingung dar. Da in der Realität die Effekte der Linienverbreiterung durch Rotationsbanden, durch die endliche Lebensdauer der angeregten Zustände und durch die endliche Linienbreite des Lasers, nicht vernachlässigt werden können, wird diese Absorptionswahrscheinlichkeit jedoch besser durch die Oszillatorstärke  $f$  beschrieben<sup>11</sup>

$$f = \frac{4\epsilon_0 mc}{he^2} \int_{\omega_{min}}^{\omega_{max}} \sigma(\omega) d\omega. \quad (3.3)$$

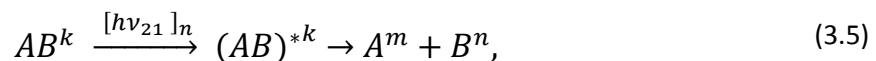
Hierbei ersetzt das Energieintervall  $[\omega_{min}, \omega_{max}]$  die Deltafunktion und begrenzt den Bereich, in dem eine Schwingungsanregung durch das Photon möglich ist. Die Gleichungen (3.1) und (3.3) sind nicht in der Energie des Photons eingeschränkt und allgemein gültig. Auf die Besonderheiten der elektronischen Absorption soll jedoch in einem späteren Abschnitt dieser Arbeit eingegangen und an dieser Stelle von einer Absorption eines Photons zur Schwingungsanregung ausgegangen werden.

Eine Photodissoziation ist im Allgemeinen ein Prozess, bei dem ein Bindungsmotiv durch die Absorption des eingestrahnten Photons aufgebrochen wird. Die Photodissoziation kann daher formal beschrieben werden als



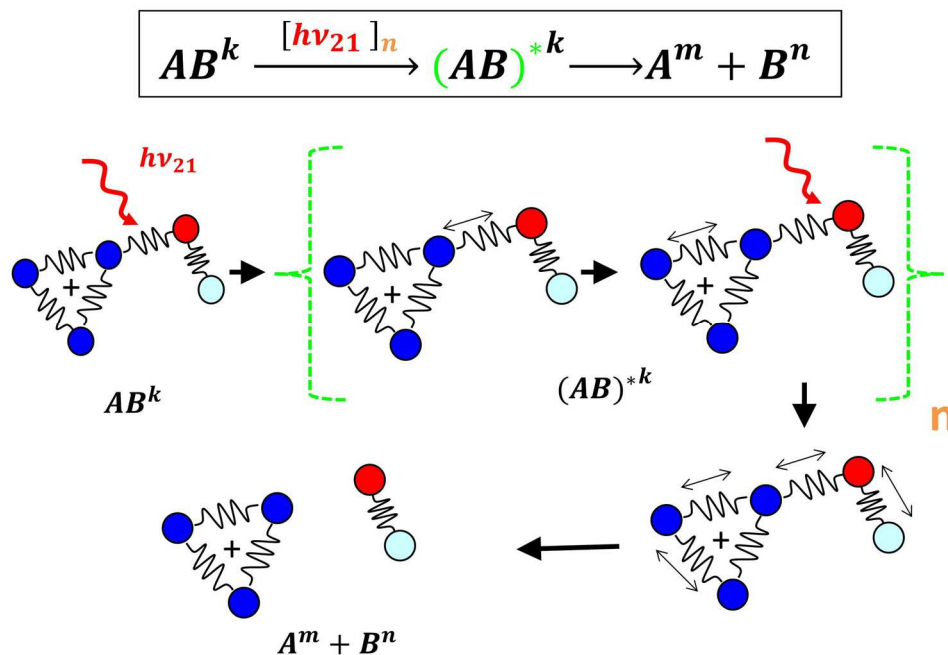
Das Bindungsmotiv wird hier als  $AB$  und der Zustand nach der Absorption des Photons als angeregter Zustand  $(AB)^*$  bezeichnet.  $[h\nu]_n$  steht für die Energie des absorbierten Photons mit der Frequenz  $\nu_{21}$ . Durch den Index  $n$ , für die Anzahl der absorbierten Photonen, ist angedeutet, dass dieser Prozess nicht auf ein Photon limitiert ist. Begrenzungen für die Frequenz des Photons liegen hier ebenfalls nicht vor, solange das Absorptionskriterium erfüllt wird (Gleichung (3.2)). Im ersten Schritt der Photodissoziation absorbiert die Molekülschwingung  $AB$  ein oder mehrere Photonen und wird so in einen energetisch angeregten Zustand überführt. Die Abgabe dieser Energie erfolgt in dem hier betrachteten Fall durch einen Bindungsbruch und führt zur Dissoziation der ehemaligen Bindungspartner. In einer Lösung mit ausreichender Konzentration des zu untersuchenden Systems, kann mit der Abnahme der Photonenintensität der Anregungswellenlänge, nach dem Prinzip von Lambert Beer, die Resonanzwellenlänge bestimmt werden. Daraus lassen sich je nach Energiebereich verschiedene physikalischen Eigenschaften für das gemessene System bestimmen.

Bei der Photodissoziationsspektroskopie von isolierten Ionen in der Gasphase ist, aufgrund der geringen Teilchendichte, die Intensitätsabnahme durch die Absorption des eingestrahlt Lichts nur mit sehr großem experimentellem Aufwand messbar. Bei der Dissoziationsspektroskopie wird daher der Effekt ausgenutzt, dass die untersuchten Teilchen beim Bindungsbruch das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis ändern



wobei die Gesamtladung  $k = m + n$  erhalten bleibt. Bei  $A$  und  $B$  kann es sich dabei sowohl um (1) zwei geladene Fragmente des *parent ion*, aber auch um ein (2) geladenes Fragment  $A$  und ein Neutralteil  $B$  handeln. Für den Fall, dass bei der Dissoziation (3)  $B$  einem einzelnen Elektron entspricht, spricht man von Photodetachment. Wird einer dieser Prozesse durch die Absorption von Photonen im Infrarotbereich ausgelöst, spricht man von einer Infrarot Multiphotonen Dissoziation (IRMPD).

Der Prozess, der zur IRMPD führt, kann in mehrere Phasen unterteilt werden. Im ersten Schritt wird bei der Frequenz des Schwingungsübergangs ein Photon absorbiert und das Molekül in den angeregten Zustand dieser Schwingungsmode überführt. Diese Energie wird mittels schnell ablaufender Energieumlagerungen, zum Beispiel durch *intramolecular vibrational redistribution* (IVR) Prozesse, auf die Schwingungsfreiheitsgrade im Molekül verteilt.<sup>99</sup> Die innere Energie des Moleküls wird erhöht und die Schwingung kann ein weiteres Photon, das das Resonanzkriterium erfüllt, aufnehmen. Gleichzeitig erhöht sich die Energie-Zustandsdichte des Moleküls.<sup>100</sup> Dieser Schritt wird mehrmals wiederholt, bis die innere Energie des Moleküls die Dissoziationsbarriere übersteigt und das Molekül dissoziiert.



**Abbildung 30** Schema des Infrarot-Multiphotonen-Dissoziations(IRMPD)-Mechanismus. Ein absorbiertes Photon im IR Bereich bringt ein Molekül vom Schwingungsgrundzustand (1) in einen angeregten Schwingungszustand (2) mit der Energie  $hv_{21}$ . Die zugefügte Energie geht durch *intramolecular vibrational redistribution* in andere Schwingungs- und Rotationsfreiheitsgrade des Moleküls über. Dadurch erhöht sich die innere Energie und ermöglicht gleichzeitig die Absorption eines weiteren Photons. Dieser Schritt kann mehrere Male wiederholt werden bis die innere Energie höher ist als die Dissoziationsenergie.

Der IVR Prozess verhindert hierbei durch Relaxation der Schwingung in den Grundzustand, dass das Molekül, durch den „Leitereffekt“ beim Anregen in immer höhere Schwingungsniveaus, die Resonanzbedingung zur Absorption der eingestrahlten Wellenlänge aufgrund der Anharmonizität nicht mehr erfüllt. Zusätzlich wird dieser Effekt durch die höhere Zustandsdichte bei erhöhter innerer Energie abgeschwächt.<sup>7</sup> Ab einem Energieniveau deutlich unterhalb der Dissoziationsenergie geht die Zustandsdichte in ein Quasi-Kontinuum über („bottleneck“), an dem die Absorption aller eingestrahlten Wellenlängen auftritt.<sup>7</sup> Dies wird bei der zusätzlichen Bestrahlung durch einen CO<sub>2</sub> Laser ausgenutzt, der Moleküle aus dem Quasi-Kontinuum außerhalb der Resonanz zur Dissoziation anregt.<sup>101, 102</sup> Für eine detaillierte Beschreibung dieses Prozesses sei auf die Arbeiten von Meijer *et al.* und Oomens *et al.* verwiesen.<sup>103, 104 177</sup>

Die Wahrscheinlichkeit zur Dissoziation hängt im Gegensatz zum Lambert Beer'schen Gesetz zur die Beschreibung der Dissoziationsrate in Lösungen, zusätzlich zur Intensität des eingestrahlten Lichts und der Oszillatorstärke, von der Menge der benötigten Photonen zum Erreichen des Quasi-Kontinuums und der Wahrscheinlichkeit zur Mehrfachabsorption pro Schuss ab. Daher führt ein direkter Vergleich der berechneten Oszillatorstärke für Absorptionsspek-

tren mit der Fragmentintensität der Dissoziationsmessungen in der Gasphase zu unterschiedlichen Intensitäten in den berechneten und experimentellen Ergebnissen. Als Beispiele wurde einerseits der Einfluss der Symmetrie des Systems auf die IVR von Quack *et al.* für kleine Moleküle gemessen und diskutiert.<sup>105</sup> Andererseits führten Meijer und Polfer aufgrund vorhergehender Messungen an, das große Moleküle effizientere Möglichkeiten besitzen, die Energie in den Schwingungsfreiheitsgraden zu speichern.<sup>103, 106</sup> Die Betrachtung des Prozesses zeigt die Motivation zur Kombination der IRMPD Spektroskopie mit einer Ionenfalle, da hier durch Mehrfachbestrahlung des gleichen Moleküls die zugehörige Fragmentationswahrscheinlichkeit deutlich erhöht werden kann. Jedoch muss die Wahrscheinlichkeit zur Fragmentation mit dem statistischen Überlapp des Laserstrahls mit dem gespeicherten Ionenpaket korrigiert werden. Die Absorptionswahrscheinlichkeit  $W_{qk}$  eines Moleküls von  $q$  Photonen bis zur Überwindung des „bottlenecks“(bn) wird daher besser mit der Formel

$$W_{bn} = \frac{[P_L(\nu) \sigma(i)]^n \varrho(E) mt}{q} \quad (3.6)$$

beschrieben, mit der Laserleistung des OPO Lasersystems abhängig von der Frequenz des Photons  $P_L(\nu)$ , der Oszillatorstärke abhängig von der entsprechenden Schwingung  $\sigma(i)$  und dem Überlapp der Ionenwolke mit dem Laserpuls  $\varrho(E)$ . Als Näherung wird der Überlapp als konstant während der Speicherzeit  $t$  und die Photonendichte, in Abhängigkeit von der Energie des Photons, als ortsunabhängig konstant angenommen. Die Anzahl der Photonen die im Mittel pro Laserpuls absorbiert werden, wird als  $n$ , die Anzahl der Laserpulse pro Sekunde als  $m$  eingeführt. Die Speicherzeit wird als  $t$  bezeichnet. Die System-abhängige Anzahl an Photonen die benötigt werden bis das System den „bottleneck“ überwunden hat, ist durch  $q$  berücksichtigt.

Nach der Überwindung des „bottleneck“ befindet sich das Molekül im Quasi-kontinuum. Näherungsweise kann die Veränderung der Absorptionswahrscheinlichkeit dann durch Anpassung des Parameters  $n$  dargestellt werden. Der neu verwendete Parameter  $k$  hängt von der Anzahl der Moleküle im Quasi-Kontinuum ab und steht somit indirekt für die Bestrahlungszeit. Daraus ergibt sich für die Dissoziationswahrscheinlichkeit  $W_{dis}$  aus der Absorptionswahrscheinlichkeit eines Photons im Quasi-Kontinuum, geteilt durch die Anzahl an Photonen  $p$  die bis zum Überschreiten des Dissoziationslimits benötigt werden.

$$W_{dis} = \frac{[P_L(\nu) \sigma(i)]^{k(t)} \varrho(E) mt}{p} \quad (3.7)$$

Zusätzlich muss neben der Aufnahme der Energie auf einer Zeitskala des Experiments im Sekundenbereich auch die Möglichkeiten der Energieabgabe betrachtet werden. Diese steht in Konkurrenz zur Dissoziation.

Hierfür sind vor allem die stimulierte Emission, die spontane Emission, die Kollisionen mit Hintergrundgas und BIRD Prozesse verantwortlich. Zusammengefasst ergibt sich damit die Emissionswahrscheinlichkeit  $W_{em}$ .

In diesem Experiment kann die stimulierte Emission ebenso vernachlässigt werden,<sup>8</sup> wie die Emission durch Kollision, was von Dunbar und McMahon gezeigt wurde.<sup>107</sup> Somit ergibt sich die statistische Dissoziationsrate einer großen Anzahl an Molekülen durch die Wahrscheinlichkeit der Überwindung des *bottleneck* multipliziert mit der Wahrscheinlichkeit zur Dissoziation, jeweils korrigiert durch die Wahrscheinlichkeiten zur Emission der bisher aufgenommenen Energie.

$$I_{Dis} = I_{PI}(W_{dis} - W_{em})(W_{bn} - W_{em}) \quad (3.8)$$

Zusätzlich muss das Photodissoziationsspektrum noch mit der Wahrscheinlichkeit, dass das entstehende Fragment gefangen und gespeichert wird, multipliziert werden. Dieser Faktor kann zwar näherungsweise als Konstant für die Fragmentationskanäle angesehen werden, ist jedoch abhängig von weiteren Parametern wie der Dissoziationsenergie des Systems und dem Zyklotron und Magnetronradius der Teilchen während der Dissoziation.

Zusätzlich wurde der äußerst wichtige Effekt der überlagernden Absorptionsbanden bisher nicht betrachtet, der Gleichung (3.6) erweitert zu

$$W_{bn} = \frac{\sum_i [P_L(\nu) \sigma(i)]^n \varrho(E) mt}{q} \quad (3.9)$$

Aufgrund dieser Vielzahl an Abhängigkeiten wurde in den IRMPD Spektren dieser Arbeit auf eine Korrektur mit der Photonenzahl pro Laserpuls verzichtet, da der Einfluss der unbekannt Parameter nicht dadurch abgebildet wird. Allgemein sind jedoch mit den Gleichungen (3.6) bis (3.8) Tendenzen in der Dissoziationswahrscheinlichkeit unterschiedlicher Moleküle und Intensitätsschwankungen in den Fragmentspektren erklärbar.

Doch auch wenn es diese komplexe Abhängigkeit erschwert die Intensität der entstehenden Fragmentspektren mit der theoretischen Oszillatorstärke der quantenmechanischen Rechnungen zu vergleichen, ist dennoch eine Reproduzierbarkeit der Bandenintensitäten gegeben und die Intensitäten einzelner Banden unterschiedlicher Isomere aus einer Messung direkt vergleichbar. Dies wird auch bei dem Vergleich der Spektroskopie von isotopenmarkierten Adenison Di- und Tri-Phosphat in den kommenden Abschnitten sehr deutlich.



## 3.2 Strukturaufklärung des Leucin Enkephalin

Der häufigste Anwendungsbereich für die IRMPD Spektroskopie im mid-infraroten Bereich ergibt sich aus der Eigenschaft C–H, N–H und O–H Streckschwingungen mit hoher Energieauflösung detektieren zu können. Bei großen Biomolekülen, mit einer Vielzahl an möglichen 3-dimensionalen Isomeren, sind mehrere dieser Wasserstoffatome in intramolekulare Wasserstoffbrücken involviert. Die Wasserstoffbrücken führen hierbei zum Energiegewinn einer Struktur und stellen damit ein wichtiges Bindungsmotiv dar. Die Bestimmung der durch diese Wasserstoffbrücken gebildeten 3D-Isomerstrukturen ist durch die geringen Energieunterschiede der einzelnen Strukturen, gegenüber dem Fehler bei der theoretischen Bestimmung, jedoch nicht ohne experimentelle Daten möglich. Da die Wechselwirkungen mit einem weiteren Heteroatom, meist Sauerstoff, zu einer starken Rotverschiebung der zugehörigen Streckschwingungen führen, leitet sich daraus ein großer zusätzlicher Informationsgehalt, alternativ zum Vergleich der Grundzustandsenergien, ab. Die Rotverschiebung reagiert hierbei sehr sensitiv auf den resultierenden Abstand in der Struktur.

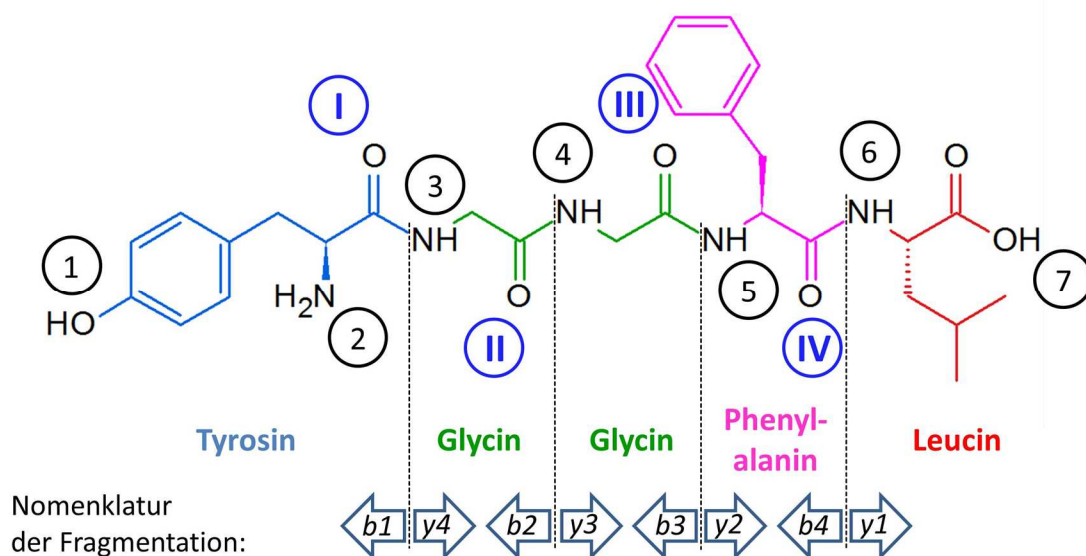
Durch die gestiegenen Anforderungen das Verhalten von Biomolekülen mit medizinischer Relevanz zu verstehen, um die Wirkung nachvollziehen zu können, sind diese experimentellen Daten von großem Interesse. Ziel ist es hierbei nicht nur die vorliegende Struktur aufzulösen, sondern auch Mechanismen nachzuvollziehen, die zur Erklärung biologischer Effekte herangezogen werden können.

Durch den Einsatz der OPO Lasersysteme im Labormaßstab, ist nicht nur dieser Wellenlängenbereich einfach zugänglich geworden, sondern die standardmäßige Anwendung fördert auch die Weiterentwicklung der Technik im Laboralltag. Dies kann wiederum zu Synergieeffekten mit den Aufbauten an den Freien Elektronen Lasern führen. Als Beispiel hierfür seien die Entwicklungen im Bereich der ICR-Zellen angesprochen, die im Abschnitt 2.1.4 thematisiert wurden.

Im Folgenden soll die Leistungsfähigkeit des in dieser Arbeit entwickelten Aufbaus anhand des Opioids Leucin Enkephalin im deprotonierten Zustand aufgezeigt werden. Von Oomens *et al.* wurde gezeigt, dass das deprotonierte Tyrosin-Anion, das sowohl eine Phenol- als auch eine Carboxylgruppe enthält, in der Gasphase immer an der Carboxylgruppe deprotoniert wird.<sup>108</sup> Der Effekt ist in den Schwingungsspektren eindeutig zu sehen, steht jedoch im Kontrast zu einer Publikation von Karr *et al.*, in der die Deprotonierungsseite von dem verwendeten Lösungsmittel im Quellbereich abhängig gemacht wird.<sup>109</sup> Die Basis für dieses Ergebnis stellen CID Spektren mit H/D Austausch dar. Eine vergleichbare Messung mit Ionen Mobilitäts Spektrometrie (IMS) wurde von Schröder *et al.* an deprotonierter *p*-hydroxy-Benzoesäure durchgeführt und eine Abhängigkeit der Deprotonierungsposition von dem im Sprayprozess verwendeten Lösungsmittel gezeigt.<sup>110</sup>

Eine Frage in dieser Kontroverse ist jedoch, ob es sich bei den Ergebnissen nicht allgemein um Sonderfälle handelt, da sowohl das deprotonierte Tyrosin, aber auch die *p*-hydroxy-Benzoessäure aufgrund der eingeschränkten Molekülgröße keine intramolekulare Wechselwirkung zur Stabilisierung ausbilden kann, was jedoch in einer beliebigen Peptidkette unwahrscheinlich wäre. Die hierbei fehlenden Wasserstoffbrücken erschweren intramolekulare Umlagerungsprozesse. Der gemessene Lösungsmittelleffekt könnte daher auch aufgrund einer hohen Energiebarriere zwischen den Strukturen beobachtet werden. Dass die Deprotonierung der Ausgangssubstanz in der jeweiligen Lösung, neben weiteren physikalischen Eigenschaften, hauptsächlich von der Natur des Lösungsmittels abhängt ist wiederum unumstritten.

In dem folgenden Abschnitt wird anhand des deprotonierten Leucin Enkephalins Anions daher die Frage nach der Deprotonierungsposition im Falle vorliegender intramolekularer Wechselwirkungen untersucht. Das Leucin Enkephalin ist ein Pentapeptid YGGFL (Tyrosin-Glycin-Glycin-Alanin-Leucin) mit einer Phenolgruppe am Tyrosin und einer Carboxylgruppe am Leucin. Im nachfolgenden Abschnitt wird gezeigt, wie sich die Deprotonierung in diesem Fall verhält und die Diskussion der Gasphasen Deprotonierung von Phenol und Carboxylsystemen bewertet.



**Abbildung 31** Strukturformel des Leucin Enkephalins. Farblich gekennzeichnet sind die 5 Aminosäurebausteine (YGGFL). Die Hauptfragmente der negativ geladenen Peptidketten sind vom b- und y-Typ nach der Nomenklatur von Roepstorff und Fohlman durch Pfeile gekennzeichnet, wobei die Richtung des Pfeils das „geladene“ Fragment angibt.<sup>111</sup> Zusätzlich wurden die möglichen Wasserstoffe für intramolekulare Wasserstoffbrücken in arabischen Zahlen und die Ketongruppen in römischen Zahlen nummeriert. Auf eine Positionierung der Ladung durch Deprotonierung von Position 1 oder 7 wurde an dieser Stelle abgesehen.

In der Folge dieser Studie wurde zusätzlich untersucht, welches Potential die Kombination der Ergebnisse aus Ionen Mobilitäts Spektrometrie (IMS) und IRMPD für die Strukturaufklärung besitzt. Mit dieser Kombination wird als Ergebnis in diesem Kapitel die vollständige 3D-Strukturaufklärung des deprotonierten Leucin Enkephalin diskutiert.

In einem weiteren Abschnitt wird eine Tiefsttemperatur-IR-Messung im Molekularstrahl bei ca. 20 K mit der *Messenger* Methode diskutiert, die in einer Kooperation mit Johnson *et al.* durchgeführt wurde.

## Probenvorbereitung

Alle Experimente am Karlsruhe Institut für Technologie (KIT) wurden unter Einsatz einer ESI-Quelle aus kommerziell erstandenem Leucin Enkephalin Acetathydrat (Artikel-Nr. L9133, Sigma Aldrich), gelöst in Wasser mit einer Konzentration von  $10^{-5}$  mol/l, durchgeführt. Zur Verbesserung der Signalstabilität wurden 5 vol% einer 5 molaren Ammoniumacetat Lösung (Artikel-Nr. 09691, Sigma-Aldrich) zugesetzt.

Für die Tiefsttemperaturmessungen in Kooperation mit Johnson *et al.* an der Yale University wurde eine Konzentration des Leucin Enkephalin Acetathydrats von  $10^{-4}$  mol/l in einer Methanol/Wasser Lösung, im Verhältnis 4/1, gesprüht. Verwendet wurde eine MikroESI, die mehrfach in Publikationen dieser Arbeitsgruppe beschrieben wurde.<sup>112, 113</sup>

## Kollisionsinduzierte Dissoziations-Massenspektrometrie

Der Ansatz der IRMPD Spektroskopie ist es die Struktur des deprotonierten Peptids aufzulösen, um eventuelle Korrelationen zwischen der 3D-Struktur und den sich bildenden Fragmenten zu erkennen.<sup>114</sup> Für das Leucin Enkephalin im positiven Modus, mit einem zusätzlichen Proton an der Amino-Gruppe, wurden bereits mehrere Publikationen, die sich mit der durch Wasserstoffbrücken induzierten 3D-Struktur und den resultierenden physikalischen Eigenschaften beschäftigen, veröffentlicht.<sup>115-117</sup> Für das deprotonierte Molekül im negativen Modus wurden bisher zwei Dissoziationsmassenspektren durch *fast atom bombardment* (FAB) aus den 1980er Jahren und ein Vermerk in einem 2011 erschienenen Review publiziert.<sup>118-120</sup>

Um einen Vergleich der publizierten *fast atom bombardment* Spektren mit CID Messungen durchführen zu können, wurde ein hochauflösendes Massenspektrometer mit vorgeschaltener Ionenfalle verwendet, eine LTQ-Orbitrap XL ETD (ThermoFisher Scientific, San Jose, CA, USA). Das deprotonierte *parent ion* wurde mit einer Masse von 554,26 m/z in der Ionenfalle des Gerätes mit einer Selektion von 3,0 amu isoliert. Durch schrittweise Erhöhung der resonanten RF-Anregung in der Ionenfalle, wurde die Kollisionsenergie mit dem aus dem Sprühprozess in der Falle vorhandenen Restgas erhöht. Die Intensität der sich bildenden Fragmente wurde, zusammen mit der kinetischen Energie, in internen Einheiten des Massenspektrome-

ters gemessen und mit der Software XCalibur (vs. 2.1, Thermo Fisher Scientific) ausgewertet. Exemplarisch ist das so erhaltene Massenspektrum in Abbildung 32 dargestellt.

Zusätzlich wurden die gemessenen Fragmentmassen mit theoretisch berechneten Isotopenmustern verglichen und so den Signalen eindeutige Stöchiometrien zugeordnet. Anhand dieser Stöchiometrien konnten Bruchstellen bestimmt und die entstandenen Fragmente kategorisiert werden. Die Zuordnung dieser Fragmente ist in Tabelle 5 aufgelistet.

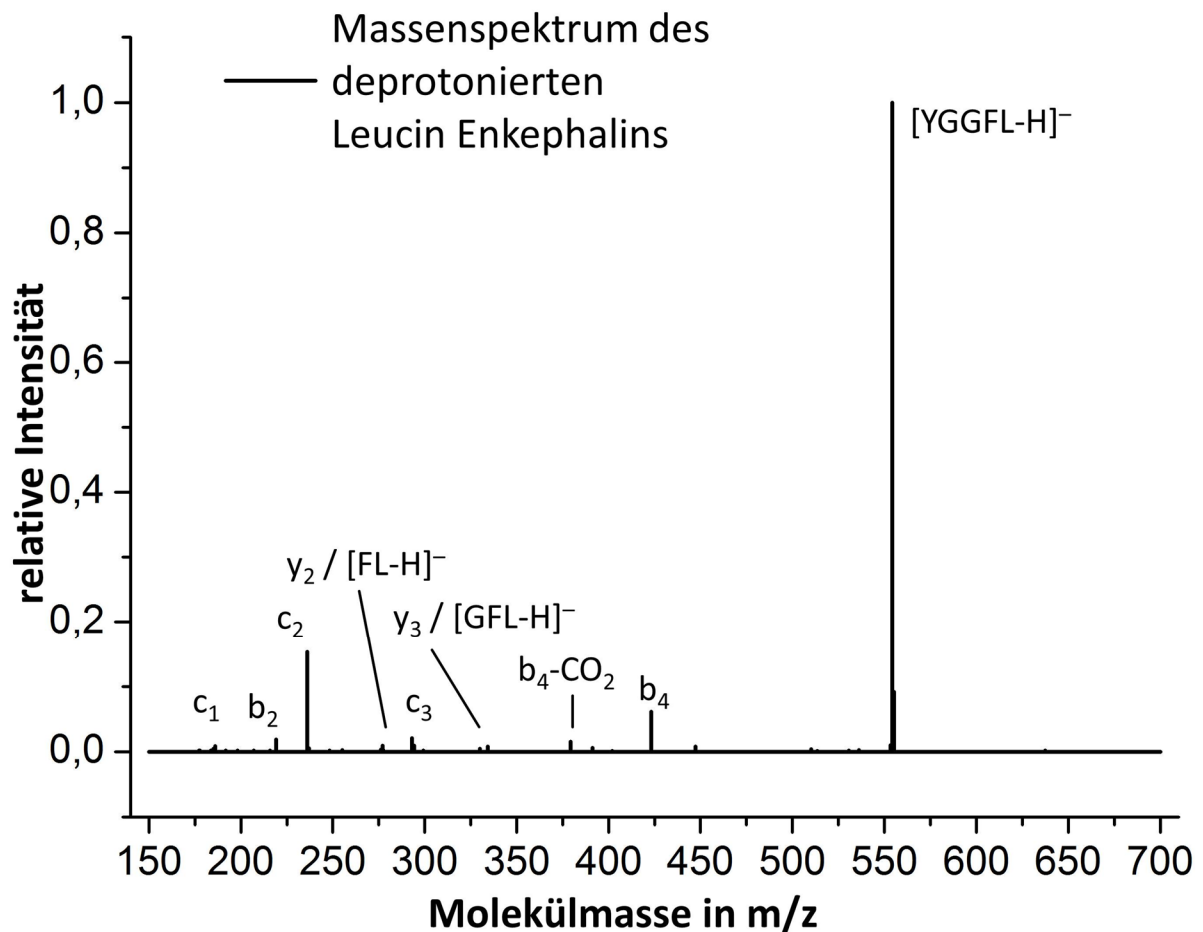
Die Fragmentation wird dominiert von b- und c-Fragmenten mit einigen y-Fragmenten in kleineren Intensitäten. Dies ist vergleichbar mit den Ergebnissen der FAB-Messungen.<sup>118-120</sup> Allgemein zeigen Untersuchungen von deprotonierten Peptiden durch kollisionsinduzierte-Dissoziations(CID)-Spektroskopie eine bevorzugte Bildung von b- und y-Fragmente und abhängig von den Seitengruppen auch von zusätzlichen c-Fragmenten.<sup>89</sup> Die Benennung erfolgt hier nach der Nomenklatur von Roepstorff und Fohlman, die auch in Abbildung 31 dargestellt ist.<sup>111</sup>

Tabelle 5: Experimentelle und berechnete m/z Werte des monoisotopen einfach deprotonierten Leucin Enkephalins [YGGFL-H]<sup>-</sup> und den zugehörigen Fragmenten

<i>Exp. m/z</i>	<i>Stöchiometrie</i>	<i>Nomenklatur</i>	<i>Berechn. Masse</i>	<i>Abweichung</i>
179.081	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	c <sub>1</sub>	179.0826	-0.0016
219.076	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	b <sub>2</sub>	219.0764	-0.0004
236.102	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> N <sub>3</sub>	c <sub>2</sub>	236.1029	-0.0009
276.097	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> N <sub>3</sub>	b <sub>3</sub>	276.0990	-0.0022
277.153	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	y <sub>2</sub> / [FL-H] <sup>-</sup>	277.1558	-0.0028
293.123	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub>	c <sub>3</sub>	293.1255	-0.0025
294.107	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub> N <sub>3</sub>	-	294.1095	-0.0025
334.174	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub> N <sub>3</sub>	y <sub>3</sub> / [GFL-H] <sup>-</sup>	334.1772	-0.0022
379.174	C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> O <sub>3</sub> N <sub>4</sub>	b <sub>4</sub> -CO <sub>2</sub>	379.1766	-0.0026
391.195	C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub>	y <sub>4</sub> / [GGFL-H] <sup>-</sup>	391.1987	-0.0037
406.136	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> N <sub>3</sub>	b <sub>4</sub> -NH <sub>3</sub>	406.1397	-0.0033
423.163	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub>	b <sub>4</sub>	423.1662	-0.0032
510.269	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	a <sub>5</sub>	510.2722	-0.0032
554.257	C <sub>28</sub> H <sub>36</sub> O <sub>7</sub> N <sub>5</sub>	[YGGFL-H] <sup>-</sup>	554.2609	-0.0031

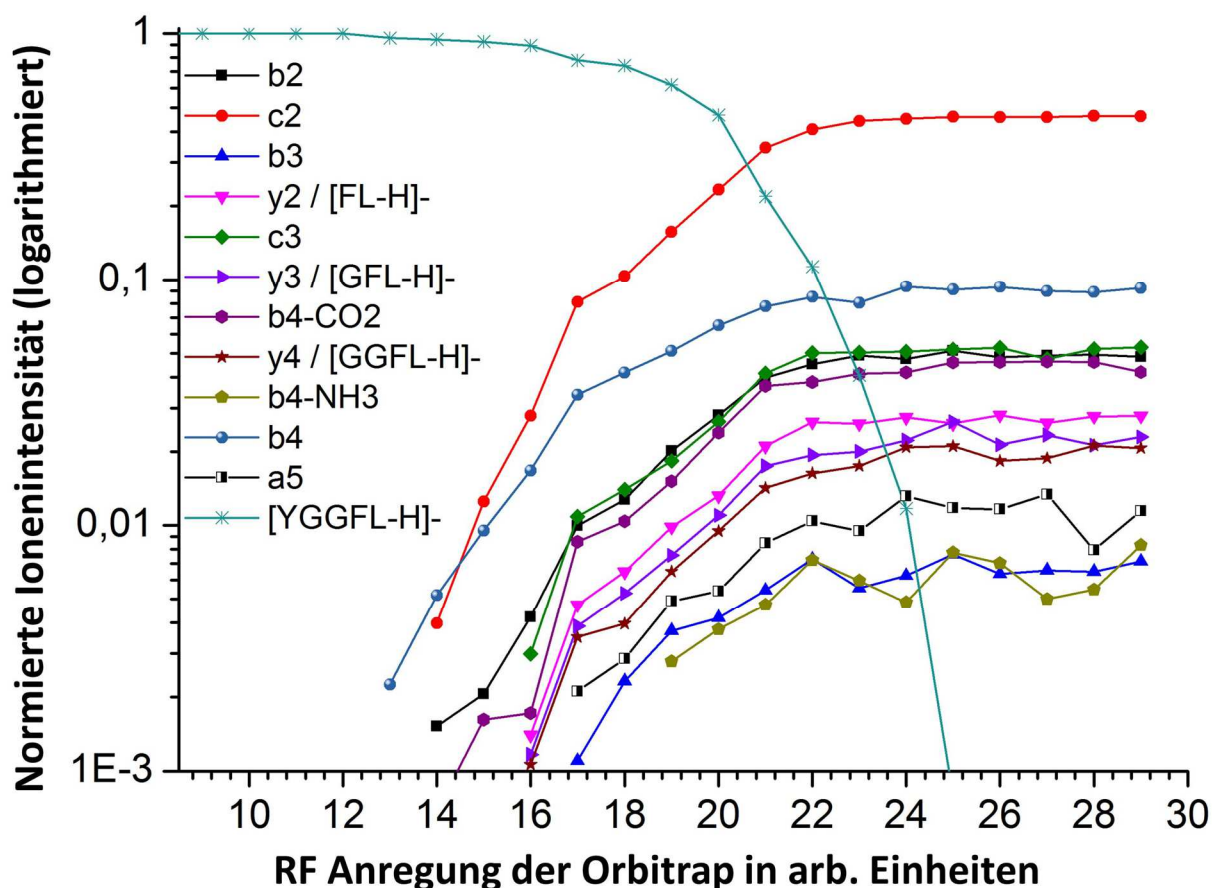
Ein direktes Ergebnis aus der CID Massenspektrometrie ist die überwiegende Präsenz von b und c Fragmenten, bei denen die Ladung nach dem Bindungsbruch auf der N-Seite des Moleküls verbleibt. Die Ausnahme im Massenspektrum bildet das deprotonierte Tyrosin, das als y Fragment die Ladung am C-Terminus behält. Die Position der Ladung aller übrigen Fragmente ist bei Annahme des Relaxierens in den energetisch günstigsten Zustand und eines intramolekular beweglichen Protons auf der Phenolatgruppe anzusiedeln, da diese Gruppe in Abwesenheit der Carboxylgruppe an den Fragmenten eindeutig die größte Basizität in der Gasphasen aufweist.<sup>121</sup>

Eine Auftragung der Fragmentintensitäten gegen die Kollisionsenergie, in Form der RF-Anregungsenergie in der Ionenfalle der Orbitrap, ist in Abbildung 33 dargestellt. Fragmente mit einer veränderten Anordnung der Aminosäuren konnten nicht detektiert werden. Daher können Ringschlüsse in den Fragmenten weitgehend ausgeschlossen werden.



**Abbildung 32** Massenspektrum des einfach deprotonierten Leucin Enkephalins bei einer Anregung von 18% (nach internen Einheiten des LTQ Orbitrap Massenspektrometers). Die Fragmente wurden nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis den Stöchiometrien aus Tabelle 5 zugeordnet und die Intensitäten mit dem *parent ion* Signal normiert.

Entscheidend für die *action* Spektroskopie des Mutterions in der IRMPD Spektroskopie ist die eindeutige Zuordnung der primären Fragmente. Allgemein zeigt der Vergleich der IRMPD Massenspektren mit den CID Massenspektren einen Zerfall in die gleichen Fragmentkanäle. Die größten Fragmentintensitäten können eindeutig den Fragmente  $b_4$  ( $m/z$  423) und  $c_2$  ( $m/z$  236) zugeordnet werden. Diese beiden Fragmente wurden daher zur IRMPD Spektroskopie ausgewertet. Die Spektren beider Kanäle führten zum identischen Ergebnis.



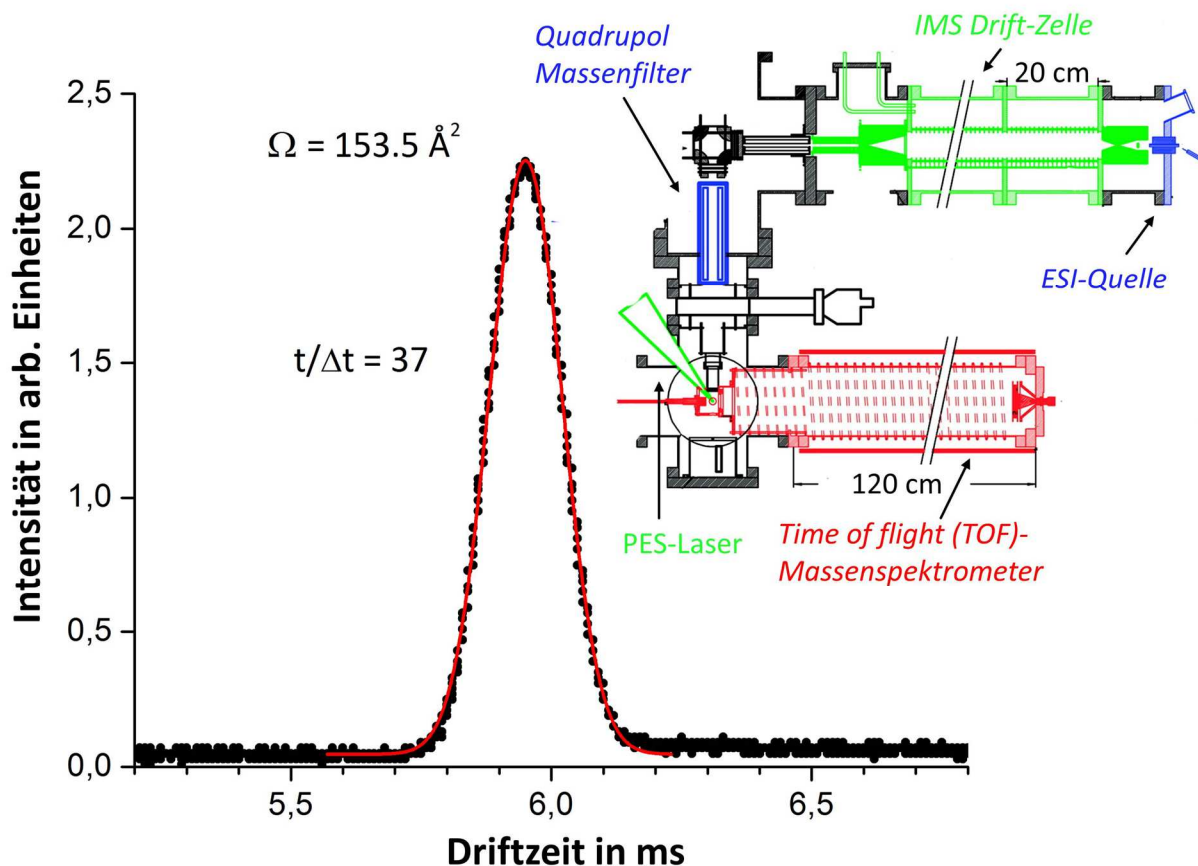
**Abbildung 33** Auftragung der Signalintensitäten aus den CID Spektren des deprotonierten Leucin Enkephalins. Die Fragmentintensitäten sind gegen die RF Anregung in der LTQ Ionenfalle der Orbitrap aufgetragen. Dies entspricht indirekt der kinetischen Energie die dem *parent ion* zugeführt wurde.

### Ionen Mobilitäts Spektrometrie (IMS)

Ein Ansatz dieser Arbeit war es, die Synergieeffekte der IRMPD Spektroskopie mit der in dieser Gruppe verfügbaren IMS Spektroskopie zu erarbeiten. Bei dieser Methode der Gasphasen Spektrometrie werden die Ionen definiert in eine Driftröhre geleitet und dort durch Stöße mit Neutralgasmolekülen/-atomen abhängig von ihrem Stoßquerschnitt abgebremst. Aus der

Ankunftszeitverteilung dieser Teilchen am Ende der Driftröhre lässt sich durch Vergleichsmessungen auf den Kollisionsquerschnitt der Ionen schließen.<sup>122, 123</sup>

In dieser Arbeit wurden für das einfach deprotonierte Leucin Enkephalin bei Raumtemperatur Ionen-Mobilitätsmessungen an einem PES/IMS Setup durchgeführt, dessen detaillierte Beschreibung mehrfach publiziert wurde.<sup>124, 125</sup> Das Resultat der Messung ist in Abbildung 34 dargestellt.



**Abbildung 34** Ergebnis der Ionenmobilitätsmessung für das deprotonierte Leucin Enkephalin Anion. Aufgetragen ist die Ankunftszeitverteilung gegen die Signalintensität des massenselektierten *parent ion*. Für den Kollisionsquerschnitt konnte mit dieser Methode ein Wert von  $153,5 \text{ \AA}^2$  bestimmt werden. Gemessen wurden das Ionenmobilitäts-Spektrum in einer IMS/PES Kombinationssetup (rechts) mit Helium als Stoßgas. Die Apparatur wurde in einer Publikation von Kappes *et al.* kürzlich vorgestellt. Die schematische Darstellung ist aus dieser Publikation entnommen.<sup>125</sup>

Aus dieser Messung wurde die Ankunftszeit in einen absoluten Kollisionsquerschnitt umgerechnet. So kann für das massenselektierte, einfach deprotonierte Leucin Enkephalin ein Kollisionsquerschnitt von  $153,5 \text{ \AA}^2$  bestimmt werden. Zusätzlich kann aus der Peakform und Peakbreite der Ankunftszeitverteilung ein Rückschluss auf in der Gasphase vorhandene Iso-

mere geschlossen werden. Aufgrund der Daten kann somit ausgeschlossen werden, dass weitere stabile Isomere mit einer um mehr als 2 % von  $153,5 \text{ \AA}^2$  abweichenden Kollisionsquerschnitt in der Messung vorhanden sind. Eine Ausnahme stellen Ionen dar, die aufgrund einer schnellen Konversion zwischen zwei Strukturen nicht durch die IMS aufgelöst werden können. Dies macht sich in einem gemittelten, gemessenen Kollisionsquerschnitt der beiden Strukturen bemerkbar.

### Berechnete Strukturen und der Vergleich mit IMS

Die theoretische Strukturanalyse wurde in mehreren Stufen durchgeführt. Im Folgenden soll die Struktur mit deprotonierter Phenolgruppe am Tyrosin als Phenolat und die Struktur mit deprotonierter Carboxylgruppe am Leucin als Carboxylat-Struktur bezeichnet werden. In ersten Rechnungen wurde mit Hyperchem 6.0 (Hypercube Inc., Gainsville (FL)) aus einer planaren Startstruktur durch mehrmaliges Aufheizen auf 500 K und anschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur 500 Isomerstrukturen erzeugt. Als Methode wurde ein molekulardynamischer Ansatz mit dem Kraftfeld Amber 92 verwendet. Die einzelnen Strukturen wurden zuerst in das jeweilige energetische Minimum relaxiert und anschließend alle Minima mit einem semi-empirischen Austin Method1 (AM1) Ansatz nachoptimiert.<sup>126</sup> Diese Rechnungen wurden mit der Carboxylat-, der Phenolat- und einer zwitterionischen Struktur ausgeführt. Die zwitterionische Struktur wurde durch Deprotonierung sowohl an der Carboxylat- und der Phenolatgruppe und einer zusätzlich protonierten Aminogruppe generiert. Da die niedrigste gefundene Gesamtenergie dieser Zwitter-Strukturen mehr als 1 eV über den vergleichbaren Carboxylat- und Phenolat-Energien lag, wurde ihre Existenz für weitere Rechnungen verworfen.

Für das Phenolat und Carboxylat wurden wie oben beschrieben jeweils 500 Strukturen mit dem verbesserten Kraftfeld Amber 97 erstellt und die Geometrie auf semi-empirischem PM6 Niveau<sup>127</sup> in dem Programmpaket MOPAC2009 (Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs (CO)) optimiert.<sup>128</sup> Aus diesen PM6 Strukturen wurden die niedrigsten Energien und der Kollisionsquerschnitt berechnet.<sup>129</sup>

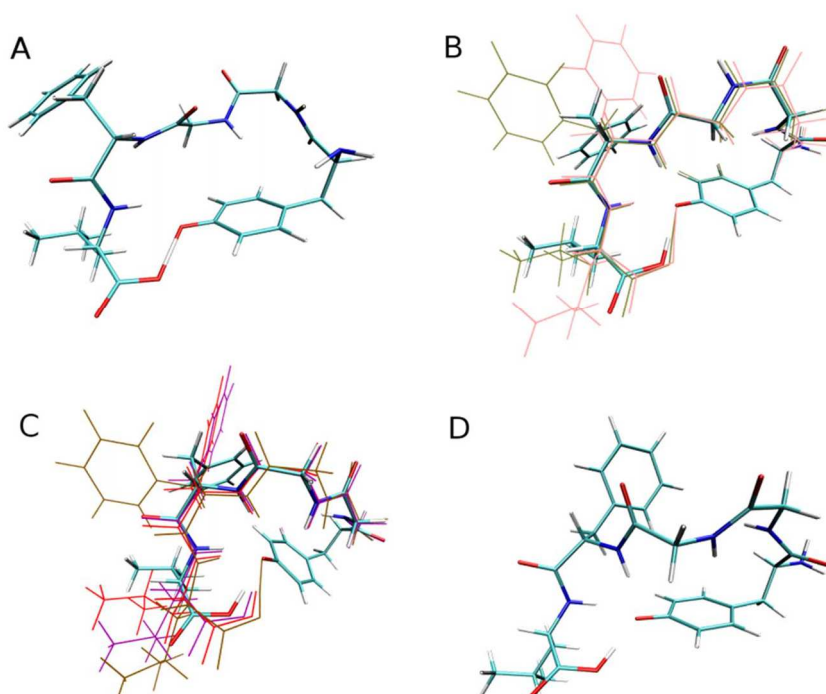
In einem neuen Ansatz zur Strukturanalyse wurden an dieser Stelle zwei Wege parallel beschritten. Einerseits wurden, in einem klassischen Ansatz, die jeweils 50 energetisch günstigsten Strukturen aus den Energietabellen extrahiert und identische Strukturen aussortiert. Zur Vereinfachung der Darstellung wurden die Strukturen zusätzlich zu ihrer laufenden Nummer einer „Familie“ zugeordnet. Dabei führten die gleichen Partneratome aller intramolekularen Wasserstoffbrücken zur Zuordnung zu einem Buchstaben (Familie) während sich die fortlaufende Nummer auf unterschiedliche Isomere dieser Familie bezieht (siehe Abbildung 38). Die so verbliebenen 33 Strukturen für das Carboxylat und 22 Strukturen für das Phenolat wurden in einer Kooperation mit Jacob *et al.* durch quantenmechanische Methoden untersucht.



Hierfür wurde das Programmpaket Turbomole (Version 6.2)<sup>130</sup> mit Dichtefunktionaltheorie verwendet. Als Austauschintegral und Basissatz wurde eine Kombination von BP86/def2-TZVP genutzt.<sup>131-133</sup> Mit Hilfe der Geometrieoptimierung in dieser quantenmechanischen Methode wurden die Kandidaten, die zu identischen Grundzustandsstrukturen führten aussortiert und für alle anderen die jeweiligen Energien und Schwingungsspektren zwischen  $1200\text{ cm}^{-1}$  und  $1800\text{ cm}^{-1}$  sowie zwischen  $2400\text{ cm}^{-1}$  und  $4000\text{ cm}^{-1}$  berechnet. Für die Berechnung der Struktur mit der niedrigsten Gesamtenergie wurde zusätzlich eine empirische Dispersionskorrektur angewendet.<sup>134, 135</sup>

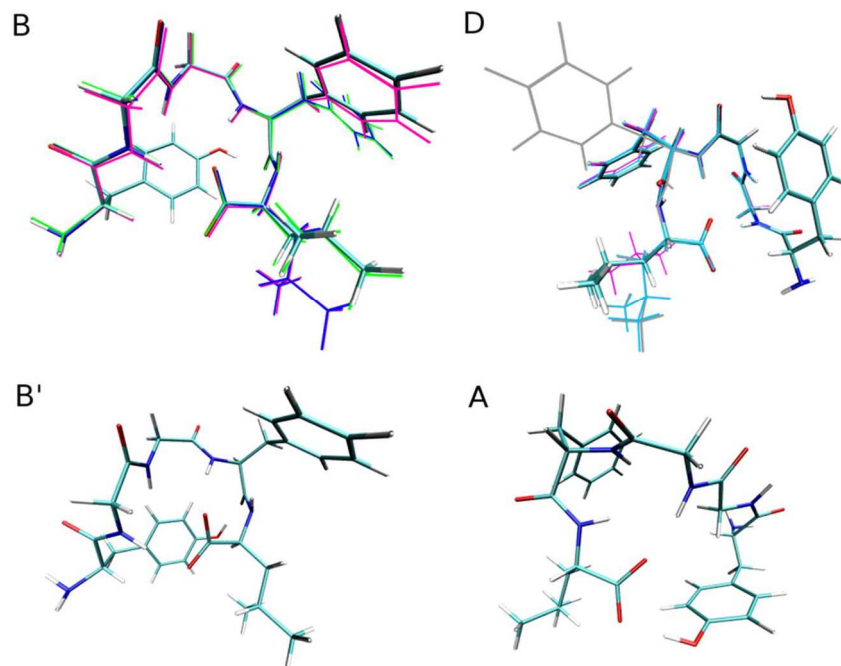
In Tabelle 6 ist das Ergebnis dieser dispersionskorrigierten Rechnungen für die Phenolatstrukturen aufgelistet. Als Struktur mit der niedrigsten Gesamtenergie wurde das C1 mit, und das A Isomer ohne Dispersionskorrektur ermittelt. Es ist zu erwähnen, dass sich die intramolekulare Wasserstoffbrücke beider Strukturen zwischen dem Phenolat und der Carboxyl-OH Gruppe befindet. Die Zuordnungen Aufgrund der intramolekularen Wasserstoffbrücken der Phenolatisomere in 4 Familien ist in Abbildung 35 und die Zuordnung der Carboxylatisomere in Abbildung 36 dargestellt.

## Phenolat



**Abbildung 35** Abbildung der Familien der Phenolatstrukturen. Die unterschiedlichen Isomere einer Familie wurden übereinander abgebildet.

## Carboxylat



**Abbildung 36** Abbildung der Familien der Carboxylatstrukturen.

Tabelle 6: Energien der Phenolatstrukturen sortiert nach der Energie der dispersionskorrigierten Rechnungen (BP86+D).

Nomenklatur	Int. Nummer	Minimale Energien $\Delta E$ in eV		
		Geometrie	BP86	BP86
		Energie	BP86	BP86+D
C1	415		0.0000	0.0000
A	107		-0.2311	0.0217
E1	254		0.0080	0.0681
C2	114		-0.0309	0.0952
B1	216		-0.0476	0.1039
E2	185		0.0127	0.1092
C3	310		-0.0013	0.1487
E3	463		-0.0312	0.1534
B2	204		-0.0743	0.1855
E4	477		0.0277	0.1954
F1	215		0.0339	0.2168
B3	223		-0.0412	0.2224
F2	218		0.0701	0.2240
C4	47		0.0046	0.2319
D	184		0.0049	0.2873
G	132		0.2914	0.3171

Die Tabelle 6 und die Tabelle 7 sind nach den Energien der dispersionskorrigierten DFT Rechnungen mit vorangegangener BP86/def2-TZVP Geometrieoptimierung sortiert. Die C1 Phenolatstruktur wurde hier als Nullpunkt gewählt und die Energieunterschiede aller anderen Strukturen relativ zu dieser Struktur in Elektronenvolt angegeben. Tabelle 7 ergänzt die Liste der Dispersion korrigierten Energien um die Carboxylatstrukturen. Zur besseren Vergleichbarkeit sind die Carboxylate ebenfalls relativ zu dem Nullpunkt der C1 Phenolatstruktur dargestellt.

Tabelle 7: Energien der Carboxylatstrukturen sortiert nach der Energie der dispersionskorrigierten Rechnungen (BP86+D).

Nomenklatur	Int. Nummer	Minimumsenergien $\Delta E$ in eV		
		Geometrie	BP86	BP86
		Energie	BP86	BP86+D
B1	176		-0,2172	-0,2706
B2	476		-0,2474	-0,2308
D1	66		-0,2268	-0,2169
B3	440		-0,2812	-0,206
B4	415		-0,303	-0,1857
D2	474		-0,1485	0,1812
D3	453		-0,1911	0,1776
D4	194		-0,2357	0,1606
G-cis	183		-0,1434	0,1271
C1-cis	381		-0,2978	0,0448
B'	409		-0,1094	0,0316
J'-cis	432		-0,0363	0,0235
A	278		-0,3322	0,0028
C2-cis	366		-0,2642	0,0086
P	468		-0,0058	0,0098
K-cis	95		-0,048	0,0206
F-2cis	282		-0,1061	0,0252
F-cis	257		-0,2071	0,0567
E	412		-0,2301	0,0689
H	145		-0,1329	0,1692
M	97		-0,0321	0,2437
J-cis	454		-0,0517	0,2637
C'-cis	390		-0,0531	0,2695
F'-2cis	383		-0,0021	0,3454
Q-cis	149		0,0747	0,3456
O	315		-0,0084	0,3648
L	467		-0,0425	0,4722

Eine erste Unterscheidung der Carboxylate erfolgt in trans- und cis-Isomere, wobei für ein cis-Isomer mindestens eine der Amidgruppen in cis Konfiguration vorliegen muss. Diese Strukturen wurden jedoch durch die erhöhte Energie und die experimentellen Randbedingungen<sup>viii</sup> für die spektrale Auswertung nicht weiter betrachtet. Die Familienunterscheidung der Carboxylate ist ungleich schwieriger als die der Phenolate. Die für die Phenolate typischen pseudo-zyklischen Strukturen, mit Wechselwirkung der Phenol-OH und der Carboxylatgruppe, spielen in den optimierten Carboxylatstrukturen eine energetisch untergeordnete Rolle<sup>ix</sup>, befinden sich aber energetisch durchaus im Bereich der Phenolatstrukturen. Dafür sind hier vor allem zwei weitere Familien energetisch günstiger und somit von großer Bedeutung. Auf der einen Seite die B-Familie mit den absolut tiefsten Energiewerten und auf der anderen Seite die D Familie, deren energetisch günstigste Struktur eine Abweichung in der Energie relativ zur global günstigsten B Struktur unterhalb des Fehlers der Rechenmethode besitzt. Beide Familien haben eine Wechselwirkung der Carboxylatgruppe mit der Amino-Gruppe gemein, mit Abständen zwischen 174 pm und 180 pm für die Sauerstoff-Wasserstoff-Bindung der Carboxylatgruppe. Jedoch unterscheiden sie sich im *backbone* durch die Wechselwirkung der Phenolatgruppe am Tyrosin. Diese bildet in der B-Familie eine Wasserstoffbrückenbindung mit dem Sauerstoffatom der Phenylalanin-Gruppe, in der D-Familie hingegen mit dem Sauerstoffatom der weiter entfernten Glycingruppe. Die Unterscheidung dieser beiden Strukturen anhand von quantenmechanischen Rechnungen erweist sich als äußerst schwierig.

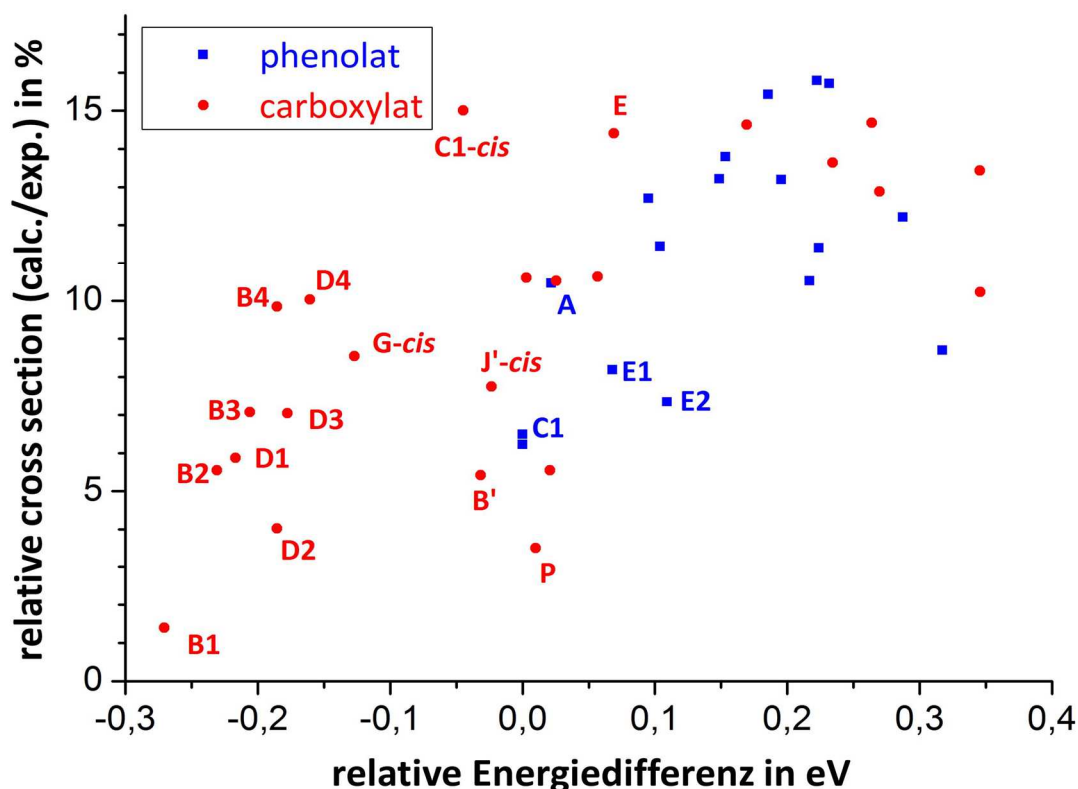
In einem neuen Ansatz wurden daher die Daten aus den Ionenmobilitätsexperimenten verwendet um die Strukturvorschläge aus den semi-empirischen Rechnungen weiter zu filtern. Hierzu wurde ein Fehler im Kollisionsquerschnitt abgeschätzt, der dann als cut off Parameter verwendet wurde. Strukturen die außerhalb dieser Schranke liegen, wurden verworfen. Der Wert für diese Schranke ergibt sich aus den maximalen Fehlern der Berechnung des Kollisionsquerschnitts,<sup>136, 137</sup> dem experimentellen Fehler und der Abweichung der PM6 Struktur von der energetisch günstigsten Geometrie. Diese Fehler wurden summiert und mit max. 5% Abweichung des theoretischen Kollisionsquerschnitts von dem experimentell bestimmten Wert abgeschätzt. Der Vergleich des experimentellen Kollisionsquerschnitts mit den 500 Strukturen der Phenolat- und Carboxylatstrukturen zeigt, dass die theoretischen Kollisionsquerschnitte vieler energetisch günstiger Strukturen stark von dem experimentell bestimmten Wert abweichen. So führt eine Filterung der Ergebnisse zu einer Reduktion der quantenmechanisch zu berechnenden Strukturen von 50 auf 22 und somit zu einem Ersparnis von ca. 50 % der Rechenzeit. Damit diese Vorgehensweise möglich wird, muss sichergestellt

---

<sup>viii</sup> In den in dieser Arbeit verwendeten experimentellen Aufbauten ist eine Energieaufnahme der Ionen bis zu einer möglichen cis-trans-Isomerisierung nicht zu erwarten.

<sup>ix</sup> Der Energieunterschied der energetisch günstigsten zyklischen Carboxylatstruktur zur energetisch günstigsten Carboxylatstruktur liegt im Bereich von 0,2 eV

sein, dass sich die Kollisionsquerschnitte der semi-empirisch optimierten Strukturen nicht signifikant durch das Nachoptimieren mit höheren Methoden verändern. Daher wurde für die geometrioptimierten DFT Strukturen erneut der Kollisionsquerschnitt berechnet und mit den Werten der PM6 Optimierung verglichen. Der Vergleich ergab, dass die PM6 Strukturen alle relevanten Isomere aufzeigte und die Schranke im Vergleich zu den DFT Querschnitten eher unterschätzt als überschätzt wurde. So erreichten drei der DFT BP86/def2-TZVP optimierten Carboxylat-Strukturen das für die Sortierung eingeführte 5% Kriterium und für die Phenolatstrukturen eliminiert dieser Vergleich im vorliegenden Fall alle Strukturvorschläge aus der Auswertung des Experiments. In Abbildung 37 ist der relative Kollisionsquerschnitt gegen die relative Energie aufgetragen und die mit der zugehörigen Nomenklatur versehen. Es zeigt sich deutlich, dass innerhalb des gesetzten Rahmens die B1 und D2 Struktur besonders beachtet werden muss.



**Abbildung 37** Darstellung des relativen Kollisionsquerschnitts der berechneten Kandidat-Strukturen verglichen mit dem experimentell ermittelten Werten. Diese Werte wurden gegen die zugehörige Energie, aus den DFT Rechnungen (BP86/ def2TVZP und Dispersionskorrektur) aufgetragen, die relativ zur C1 Struktur des Phenolats angegeben ist. Die wichtigsten Strukturen wurden nach Familienzugehörigkeit und Isomeren Nummer beschriftet.

Die bei der quantenmechanischen Betrachtung verwendeten Dichtefunktionalrechnungen eignen sich hervorragend, um neben vielen anderen physikalischen Eigenschaften, die Grundzustandsenergien und Schwingungsfrequenzen großer Moleküle zu berechnen, für die *ab initio* Rechnungen keine Option mehr darstellen. Die berechneten Frequenzen neigen jedoch dazu die Frequenz der zugehörigen Normalschwingung zu überschätzen. Dies kann auf die Vereinfachung der Elektronenwechselwirkungstherme, das Vereinfachen des Basissets oder auf Anharmonizitätseffekte zurückgeführt werden.<sup>138</sup> Da die Abweichung der experimentellen Werte von den berechneten Frequenzen in erster Näherung systematisch ist, werden die Frequenzen des theoretischen Spektrums mit einem Multiplikator (Skalierungsfaktor) korrigiert, um diesen Fehler auszugleichen. Der Skalierungsfaktor hängt von der verwendeten Methode und dem Basissatz ab, weshalb es wichtig ist, den für die Methode verifizierten Multiplikator zu verwenden. Der für das Leucin Enkephalin verwendete Skalierungsfaktor von 0,988 stammt aus einer systematischen Untersuchung von Wilson *et al.* in der die theoretischen und experimentellen Resultate für 41 organische Moleküle verglichen wurden.<sup>139</sup> Durch den vorgeschlagenen Skalierungsfaktor liegen in dieser Publikation die Frequenzen der Schwingungen aller Testmoleküle zu 90% in einem Fehler von 3% Abweichung verglichen mit dem Experiment. Der Mittelwert der Standardabweichung liegt für die BP86 Rechnungen in dieser Arbeit mit unterschiedlichen Basissets zwischen 0,987 und 0,989.

### Infrarot Multiphotonen Dissoziationsspektroskopie

Die Infrarot-Multiphotonen-Dissoziations-Spektroskopie an deprotoniertem Leucin Enkephalin wurde mit dem im experimentellen Teil beschriebenen Aufbau durchgeführt. Als Messvariante wurde eine schrittweise ablaufende Messung mit nachfolgender Schuss-zu-Schuss-Referenz gewählt. Hierbei wird der IR-OPO beim Scan durch den Spektralbereich alle  $2\text{ cm}^{-1}$  angehalten und ein Signal-Spektrum aus vier Akkumulationen mit Lasereinstrahlung, sowie ein Referenzspektrum aus vier Akkumulationen ohne Lasereinstrahlung aufgenommen. Die Lasereinstrahlung entspricht der Shutteröffnungszeit multipliziert mit der Repetitionsrate des Lasers. In diesen Experimenten betrug die Shutteröffnungszeit 2 Sekunden, was einer Bestrahlung durch 40 Laserpulse entspricht. Zur Isolation des Mutterions wurde in allen Spektren ein „Isolations“-Frequenzpuls mit Bandlücke verwendet, um den *cross talk* von Fragmenten mit geringerem  $m/z$  als das Mutterion und von Acetat- und Salzclustern<sup>x</sup> mit höherem  $m/z$  als das Mutterion auszuschließen. Für die Auswertung der Spektren wurde das *parent ion* Signal und die Fragmentpeaks mit 423  $m/z$ , 406  $m/z$ , 236  $m/z$  und 219  $m/z$  (siehe Tabelle 6) jeweils im Signal und im Referenzspektrum, bei jeder gemessenen Wellenzahl, integriert. Für die Intensität des IRMPD-Spektrums  $I_{IRMPD}^{act}$ , in der sogenannten *action*-Auswertung, wurden die einzelnen Fragmentintegrale der Referenzmessung  $I_{fj}^{ref}$  von denen der Signalmessung

$I_{fj}^{sig}$  abgezogen und die Summe der Differenzen gebildet. Das Ergebnis wurde mit der Intensität des Mutterions  $I_{pi}^{ref}$  aus der Referenzmessung normiert

$$I_{IRMPD}^{act} = \frac{\sum_j I_{fj}^{sig} - I_{fj}^{ref}}{I_{pi}^{ref}} \quad (3.10)$$

und gegen die zugehörige Wellenzahl aufgetragen. Auf eine Korrektur gegen die wellenlängenabhängige Laserleistung wurde aus den in Abschnitt 3.1 aufgeführten Gründen verzichtet.

In Abbildung 38 ist das IRMPD-Spektrum des deprotonierten Leucin Enkephalins abgebildet.

Eine Auftragung des *depletion* Spektrums  $I_{IRMPD}^{depl}$ , also der Intensitätsabnahme des Mutterions gegen die Energie des Photons, enthält komplementäre Informationen zur *action* Spektroskopie, jedoch sind die Banden durch das schlechtere Signal-zu-Rauschen-Verhältnis häufig nicht aufgelöst (siehe Gleichung (3.11)).

$$I_{IRMPD}^{depl} = \frac{I_{pi}^{sig}}{I_{pi}^{ref}} \quad (3.11)$$

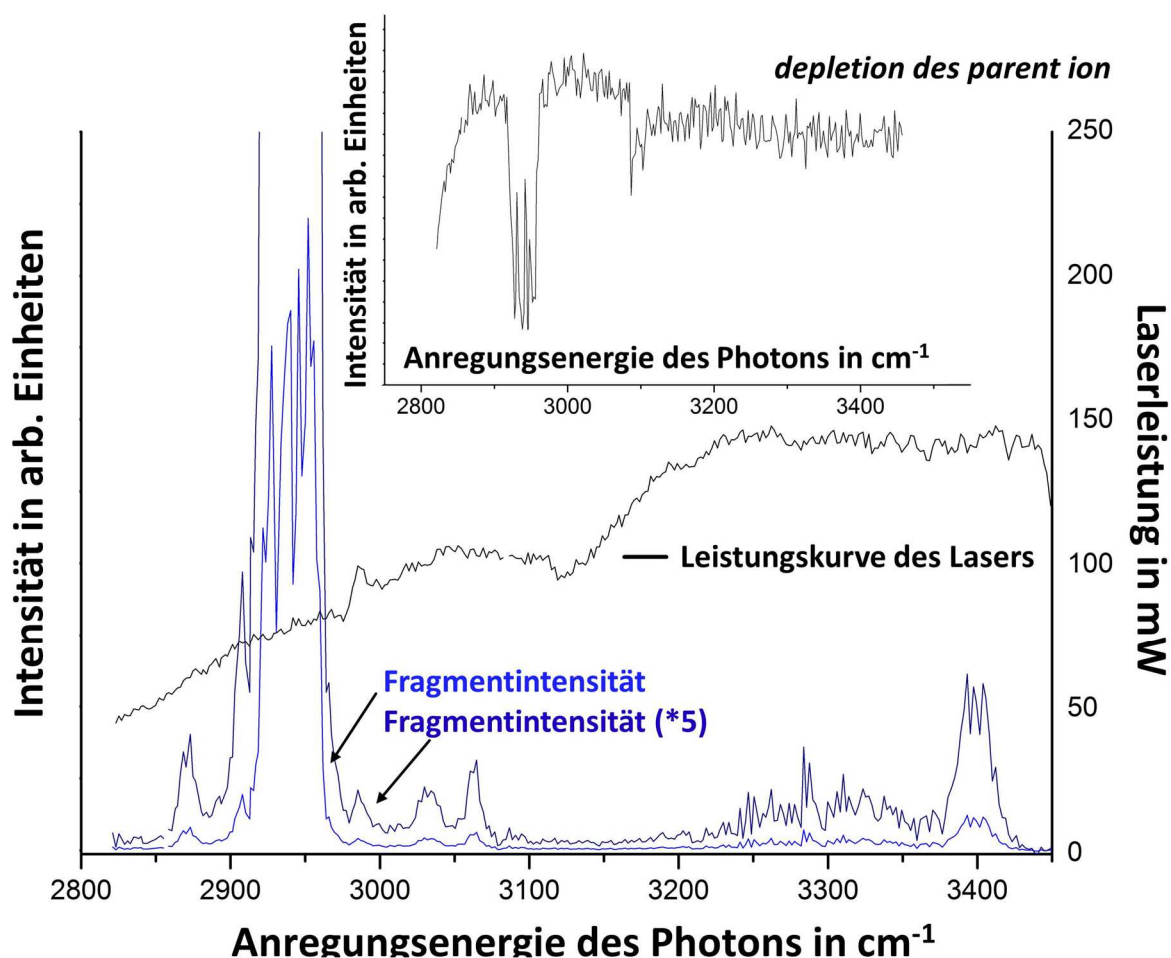
Aufgrund des höheren Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses der Spektroskopie im *action* Spektrum können mit dieser Methode auch Banden mit geringer Intensität detektiert werden. Der gewählte Wellenlängenbereich zur Aufnahme des IRMPD-Spektrums wurde zwischen  $2800 \text{ cm}^{-1}$  und  $3500 \text{ cm}^{-1}$  gewählt, da unterhalb von  $2800 \text{ cm}^{-1}$  die Laserleistung zu gering ist um eine eindeutige Aussage über die Existenz von Banden treffen zu können und in weiteren Spektren des Leucin Enkephalins keine Bande über  $3450 \text{ cm}^{-1}$  bestimmt werden konnte.

Die Fragestellung ist nun, ob durch die Rotverschiebung der C–H, N–H und O–H Streck-schwingungen im IRMPD Spektrum eine Zuordnung der Ionen zu einer Strukturfamilie möglich ist. Zur Beantwortung dieser Frage kann zuerst die Abwesenheit aller Banden über  $3500 \text{ cm}^{-1}$  betrachtet werden. Die Konsequenz aus dieser Abwesenheit ist, dass keine ungestörte O–H-Streckschwingung in dem Ion vorliegen kann und alle in Frage kommenden Strukturen, weder am Carboxyl ( $\sim 3570 \text{ cm}^{-1}$ )<sup>140</sup> noch am Phenolat ( $\sim 3640 \text{ cm}^{-1}$ )<sup>141</sup> eine freie O–H Bindung besitzen. Unabhängig von der Position des Protons an der Phenolat oder Carboxylatgruppe, in denen mindestens eine O–H Bindung präsent sein muss, besitzt die Hydroxylgruppe der Zielstruktur somit eine Rotverschiebung von mindestens  $150 \text{ cm}^{-1}$  und muss in die Bildung einer Wasserstoffbrücke involviert sein. Die Banden bei  $3400 \text{ cm}^{-1}$  lassen ebenso auf ungestörte, also „freie“ N–H Streckschwingungen ohne Rotverschiebung schließen, wie

---

<sup>x</sup> Das Leucin Enkephalin wurde als Natriumssalz gelöst und mit Ammoniumacetat als Puffer gesprüht.

die Banden bei  $3040\text{ cm}^{-1}$  und  $3080\text{ cm}^{-1}$  auf freie C-H Streckschwingungen von zwei aromatischen Ringsystemen hindeuten.



**Abbildung 38** IRMPD Spektrum des deprotonierten Leucin Enkephalin in *action* (groß) und in *depletion* (klein) aufgetragen. Zusätzlich abgebildet ist die online gemessene Laserleistung des IR-OPO-Lasersystems. Das *action* Spektrum (hellblau) zeigt mehrere charakteristische Banden die für eine detailliertere Betrachtung, durch ein hohes Signal zu Rauschen Verhältnis, auch vergrößert dargestellt werden können (dunkelblau).

Die intensivste Bande liegt bei  $2950\text{ cm}^{-1}$ , was auf eine Wechselwirkung der beteiligten X–H Gruppe ( $X = \text{C}, \text{N}, \text{O}$ ) mit der negativen Ladung und damit auf eine erhöhte Oszillatorstärke schließen lässt. Ein Vergleich dieser experimentellen Bande mit den Spektren der energetisch tiefsten Phenolatstrukturen (siehe Anhang B.1) schließt eine Übereinstimmung durch eine Wasserstoffbrücke der Phenolate aus und bestätigt die Aussage der Kollisionsquerschnittsmessungen, dass die Deprotonierung an der Carboxylatseite auftreten muss. Für die weitere Diskussion der Carboxylatstrukturen werden die möglichen Partner der intramolekularen Wasserstoffbrücken, also die N–H Gruppen und eine O–H Gruppe (Donoren) und Keton-



gruppen (Akzeptoren) gemäß der Nummerierung in Abbildung 31 mit der arabischen Zahl  $i$  und der römischen Zahl  $j$ , als  $N-H^i$  und  $O^j$  bezeichnet.

### Tieftemperaturmessungen in der ICR Zelle

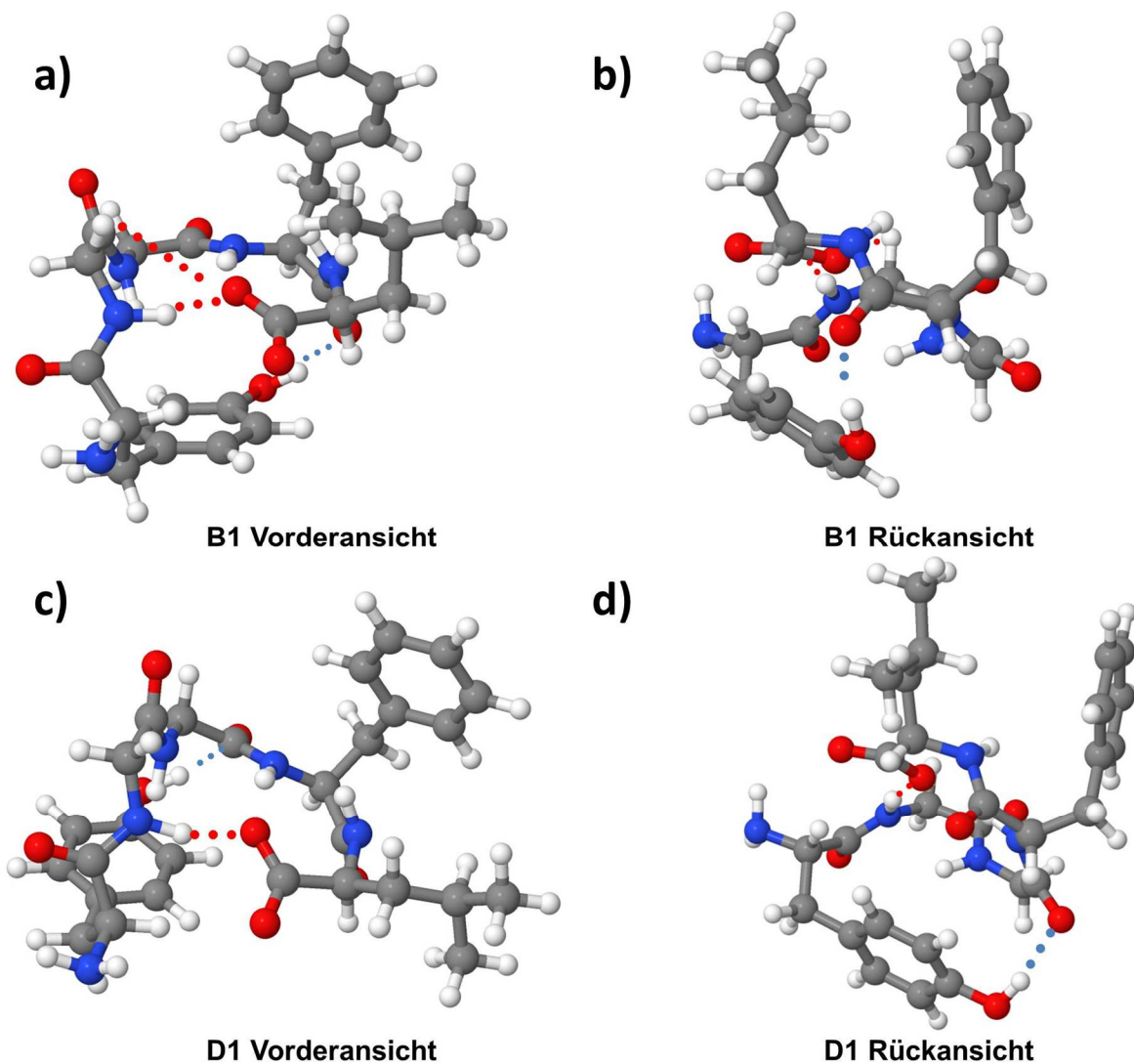
Eine weitergehende Fragestellung dieser Arbeit war es, ob die 3-dimensionale Struktur des Carboxylat-Leucin-Enkephalins in der Gasphase aufgelöst werden kann, und somit die Carboxyl-deprotonierten Kandidaten bis auf eine finale Struktur ausgeschlossen werden können.

In einem ersten Schritt soll zwischen den einzelnen Carboxylatstrukturen unterschieden werden, wofür das B1 (repräsentativ für die B Familie) mit dem D1 (für die D Familie) verglichen wird. Charakteristisch für diese beiden Familien ist die intramolekulare Wechselwirkung der Phenol-OH Gruppe mit einerseits dem  $O^{III}$  (B) und andererseits dem  $O^{IV}$  (D) aus der Peptidkette. Die Wechselwirkung zu den Sauerstoffatomen erzeugt eine Ringspannung, die zu einer unterschiedlichen Positionierung der Carboxylgruppe gegenüber der  $N-H^3$  Streck-schwingung führt. Dies ist in Abbildung 39 für beide Strukturen dargestellt.

In beiden Strukturfamilien handelt es sich bei der intensivsten Bande im Schwingungsspektrum, nach den quantenmechanischen Rechnungen, um die Wechselwirkung der Carboxylgruppe mit der  $N-H^3$  Streckschwingung, die dadurch um mehr als  $400\text{ cm}^{-1}$  in den roten Bereich verschoben wurde. Für die Unterscheidung der beiden Familien ist die vermeintliche Schulter bei  $2930\text{ cm}^{-1}$  von großer Bedeutung. Der Vergleich mit den theoretischen Spektren aus den quantenmechanischen Rechnungen zeigt, dass eine zweite, intensive Bande an dieser Stelle signifikant für Strukturen der B-Familie ist, während die Mitglieder der D-Familie eine einzelne intensive Bande ohne Schulter aufweisen (siehe Abbildung 38 und Abbildung 40).

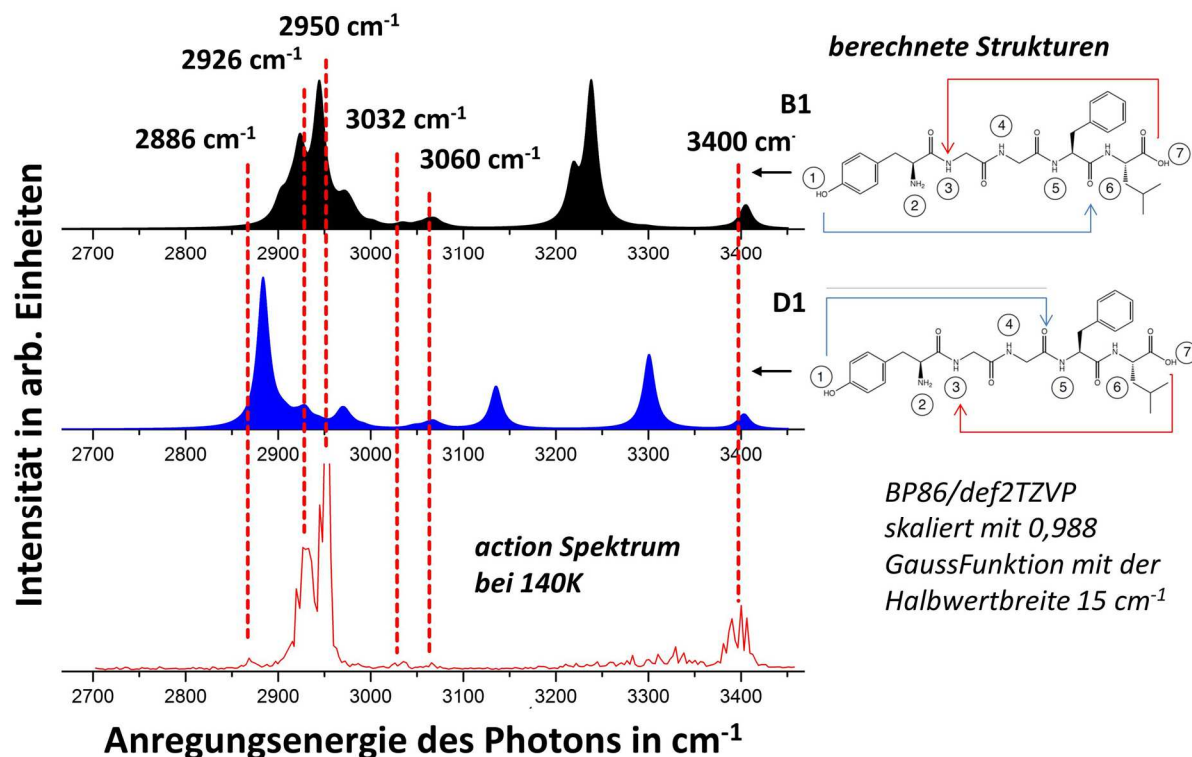
Der Effekt der promovierten zweiten Schwingung ist auf eine Interaktion der negativ geladenen Carboxylgruppe mit der der  $N-H^3$  Gruppe direkt benachbarten C-H Gruppe zurückzuführen. Durch die Wechselwirkung dieser beiden Wasserstoffe mit der Carboxylgruppe wird die Absorptionswellenlänge der C-H Streckschwingung nahe an die Absorptionswellenlänge der  $N-H^3$  Streckschwingung herangeschoben und „leht“ sich Intensität durch die Kopplung der beiden Schwingungen über das Sauerstoffatom.<sup>142</sup>

Allgemein kommt es bei der IRMPD Spektroskopie bei Raumtemperatur zu einer Verbreiterung der Banden die auf die Anharmonizität der Schwingungen zurückzuführen ist.



**Abbildung 39** 3-dimensionale Vorder- und Rückansicht der berechneten Strukturen B1 und D1. In der Vorderansicht der B1 Struktur (a) ist die Wechselwirkung der N–H<sup>3</sup> sowie der benachbarten C–H Gruppe (rot) mit der ladungstragenden Carboxylatgruppe eingezeichnet. In der Rückansicht (b) ist die charakteristische Wasserstoffbrücke des Phenol-OH zum O<sup>III</sup> Atom markiert (blau). Die Darstellung der D1 Struktur zeigt in der Vorderansicht (c) die Wechselwirkung der N–H<sup>3</sup> Gruppe mit dem ladungstragenden Carboxylat, sowie in der Rückansicht (d) die charakteristische Wasserstoffbrücke des Phenol-OH zu dem O<sup>IV</sup> Atom (blau).

Die Besetzungswahrscheinlichkeit der Schwingungen in der zugehörigen inneren Energie verschiebt sich hin zu energetisch angeregten Zuständen, was die Absorptionsfrequenz des ersten Photons beeinflusst und somit die Bandbreite erhöht und die Auflösung der Spektroskopie reduziert.<sup>143</sup>



**Abbildung 40** Vergleich des IRMPD Spektums der Tieftemperaturmessung mit den theoretischen Strukturen der D1 und B1 Struktur. Die Schwingungsspektren wurden mit 0,988 skaliert und die banden durch eine Gauß-Funktion mit der Halbwertbreite von 15 cm<sup>-1</sup> dargestellt. Das Spektrum der B1 Struktur (schwarz) zeigt die intensive C–H Streckschwingung, die auch im Experiment zu beobachten ist. In der D1 Struktur ist diese Bande nur in geringer Intensität vorhanden.

Um die Auflösung des Experiments zu verbessern und die Schulter bei ca. 2930 cm<sup>-1</sup> als zweite intensive Bande nachweisen zu können, wurde die Messung bei tiefen Temperaturen wiederholt. Für diese Tieftemperaturmessungen wurde die Abkühlung durch *black body irradiation* ausgehend vom Kupfermantel der Ionenfalle ausgenutzt, der mit flüssigem Stickstoff definiert gekühlt wurde. Dafür wurde die Temperatur des Mantels vor der Messung auf 140 K abgekühlt und während der Messung mit  $\pm 5$  K auf dieser Temperatur gehalten. Dies führte zu einer Auflösung der Banden in einen Hauptpeak bei 2950 cm<sup>-1</sup> und eine Schulter bei 2926 cm<sup>-1</sup>, die mehrfach reproduziert werden konnte. In Abbildung 40 ist das ein solches Tieftemperaturspektrum mit dem Vergleich zu den quantenmechanischen Rechnungen für die B1 und die D1 Struktur abgebildet.

Der Vergleich der theoretisch berechneten, skalierten Schwingungsspektren mit dem experimentellen Tieftemperaturspektrum (Abbildung 40) zeigt, dass die aufgelöste Bande bei 2950 cm<sup>-1</sup> und 2926 cm<sup>-1</sup> der theoretisch vorhergesagten gekoppelten N–H und C–H Streck-schwingung entspricht. Neben dieser relativen Position dieser beiden Banden zueinander, ist aber auch die absolute Lage von Bedeutung. Nach der eindeutigen Zuordnung der Banden zu

einer Schwingung des Moleküls kann aufgrund der Rotverschiebung der Abstand der Bindungspartner durch einen Vergleich mit den theoretischen Spektren eingegrenzt werden.<sup>xi</sup> Eine Veränderung dieser Bindungslänge von ca. 1 pm verschiebt die Bande im Schwingungsspektrum des deprotonierten Leucin Enkephalins um ca.  $10\text{ cm}^{-1}$  bis  $15\text{ cm}^{-1}$ , was ungefähr der Auflösung dieser Spektroskopie unter der Betrachtung aller Fehler, einschließlich der Skalierung, entspricht. In Tabelle 8 sind die Abstände der beiden charakteristischen Wasserstoffbrücken für die einzelnen Strukturen der energetisch günstigsten Carboxylatstrukturen aufgelistet.

Tabelle 8: Abstände zwischen den Bindungspartnern der zwei, für das Leucin-Enkephalin charakteristischen Wasserstoffbrücken für die energetisch günstigsten Carboxylstrukturen.

Struktur	Bindung (COO—	Abstand in pm	Bindung (PheOH-	Abstand in pm
A	—H-O-Phe	161	-	-
B1	—H <sup>3</sup> -N	177	O <sup>6</sup>	182
B2	—H <sup>3</sup> -N	178	O <sup>6</sup>	182
B3	—H <sup>3</sup> -N	180	O <sup>6</sup>	183
B4	—H <sup>3</sup> -N	180	O <sup>6</sup>	183
B'	—H <sup>3</sup> -N	185	O <sup>6</sup>	173
D1	—H <sup>3</sup> -N	174	O <sup>5</sup>	190
D2	—H <sup>3</sup> -N	174	O <sup>5</sup>	189
D3	—H <sup>3</sup> -N	175	O <sup>5</sup>	189
D4	—H <sup>3</sup> -N	177	O <sup>5</sup>	190
P	—H <sup>3</sup> -N	172	O <sup>6</sup>	183

Daraus lässt sich ableiten, dass die Strukturen B1, B2 und D4 einen für die Absorptionsenergie der Bande charakteristischen Abstand besitzen. Ein weiteres Argument gegen die Interpretation des Spektrums durch ein Mitglied der D-Familie ist die Bande im Bereich von  $3150\text{ cm}^{-1}$ , die der starken Wechselwirkung der Carboxylgruppe mit der N-H<sup>5</sup> Streckschwingung zugeordnet werden kann und charakteristisch für diesen Strukturtyp ist. Die Abwesenheit dieser eigentlich intensiven Bande im experimentellen Spektrum deutet somit auf den Ausschluss dieser Strukturfamilie hin. Damit kann dem Spektrum eindeutig ein Isomer aus der B-Familie zugeordnet werden. Dies wird ebenfalls von den Ergebnissen der Ionenmobilitätsmessung unterstützt, die für den Vergleich des experimentellen Wertes für den Kollisionsquerschnitt mit der Struktur D4 eine Abweichung von  $>10\%$  ermittelt hatte. Das B2 Isomer besitzt ebenfalls einen stark abweichenden Kollisionsquerschnitt.

<sup>xi</sup> Dies ist für Mitglieder einer Familie möglich, mit Einschränkungen auch bei gleichen Bindungspartnern Familien-übergreifend, wie es hier die Rechnungen zu der B und D Familie andeuten.

Die Zuordnung der Messdaten zur Struktur B1 ist somit durch Ionenmobilität, dispersionskorrigierte Energieuntersuchungen und IRMPD Spektroskopie unabhängig voneinander erfolgt. Somit kann dem Leucin Enkephalin diese Struktur als 3-dimensionale Gasphasenstruktur zugeordnet werden.

Bisher aus der Betrachtung herausgenommen wurde die zweite charakteristische Bande, die der Phenolat-OH Streckschwingung zugeordnet werden kann. Im Spektrum zeigt sich an der durch die Theorie vorhergesagten Position zwischen  $3200\text{ cm}^{-1}$  und  $3400\text{ cm}^{-1}$  ein breiter Absorptionsbereich über  $200\text{ cm}^{-1}$  hinweg. Um diese Bande weiter interpretieren zu können wird an dieser Stelle der Ansatz von Gilli *et al.* verwendet, der das Potential einer Wasserstoffbrücke durch den Abstand der beiden beteiligten Heteroatom qualitativ abschätzt.<sup>144</sup> Dieser Abstand beträgt für den Fall der B1 Struktur 278 nm (im Fall der D1 Struktur 285 pm), was nach Gilli *et al.* generell als eine mittelstarke O–HO Brücke klassifiziert wird.<sup>144</sup> In diesem Typ der Wasserstoffbrücken muss eine Überschneidung der Hyperpotentialflächen berücksichtigt werden, die zwei Potentialminima zur Folge haben kann. Eine Energiebarriere zwischen diesen Minima würde hier im Bereich der Nullpunktsschwingung des Systems liegen. Es ist somit zu erwarten, dass die Potentialfläche dieser OHO Wasserstoffbrücke äußerst flach und asymmetrisch verläuft.

Unabhängig von Komplexität der verwendeten Rechenmethode zeigt beispielhaft eine Messung von Asmis *et al.* an  $\text{H}_5\text{O}_2^+$ <sup>145</sup> und die folgende Kontroverse auf, wie schwer es ist solche spezielle Wechselwirkungen vorherzusagen und die Rechnungen für die Interpretation der Bande im IRMPD Spektrum zu verwenden.<sup>146, 147</sup>

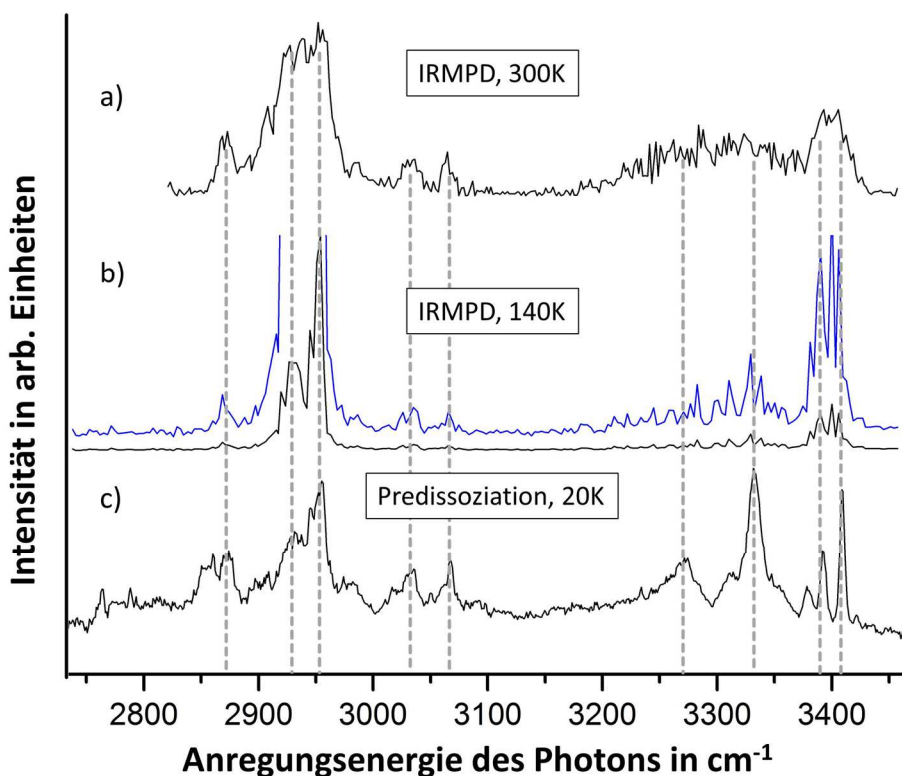
In dem hier vorliegenden Fall ist zusätzlich noch zu beachten, dass durch das dritte anwesende Sauerstoffatom und die als energetisch gering eingeschätzte Barriere zwischen den B und D Strukturen eine 2-dimensionale Betrachtung des Schwingungspotentials erforderlich wäre. Dennoch überrascht die Breite der Absorption, die am einfachsten durch eine Mobilität des Protons und somit einen fluiden Strukturübergang zwischen B und D Struktur bei der Anregung des Moleküls erklärt werden kann. Eine Aufklärung dieses Phänomens ist durch eine weitere Abkühlung des Systems zu erwarten. Im Falle, dass ein mobiles Proton die Peakbreite beeinflusst, würde die Reduktion der thermischen Energie des Systems die Schwingung in einem lokalen Minimum einfrieren und könnte so als schmalere Bande nachgewiesen werden.

### **Prädissoziationsspektroskopie im Molekularstrahl**

Um diese Messung durchführen zu können wurde eine Kooperation mit der Gruppe um Prof. M. Johnson (Universität Yale) gestartet. Die Apparatur, die für die Messung zur Verfügung stand ist eine Kombination aus einer MicroESI Quelle und einer Paulfalle. Diese Paulfalle ist mit einem Gasventil und einem Helium-Cryostataten versehen und kann auf 10 K abgekühlt werden. Bei dieser Temperatur ist es möglich Edelgasatome und schwach bindende zweiato-

mige Moleküle (hier:  $D_2^{148}$ ) als sogenannte Messenger an das gespeicherte Mutterion anzulagern. Die entstandenen Ionen werden nun aus der Paulfalle in ein *Time of flight*(TOF-) Massenspektrometer geleitet und durch einen Massenfilter andere Ionen abgetrennt. Ein orthogonal ausgerichteter Laserpuls, aus einem IR-OPO Lasersystem, löst den schwach gebundenen „Messenger“ im Falle der Resonanz ab. Eine Auftragung der *parent ion* Intensität gegen die Wellenlänge des Laserpulses ergibt das Infrarot-Spektrum. Diese Art der Messung wird als Schwingungsprädissoziations-Spektroskopie bezeichnet.<sup>11</sup> Details zur der Methode und zum experimentellen Aufbau sind in vor kurzem publizierten Arbeiten der Johnson-Gruppe im Detail aufgeführt.<sup>148-150</sup>

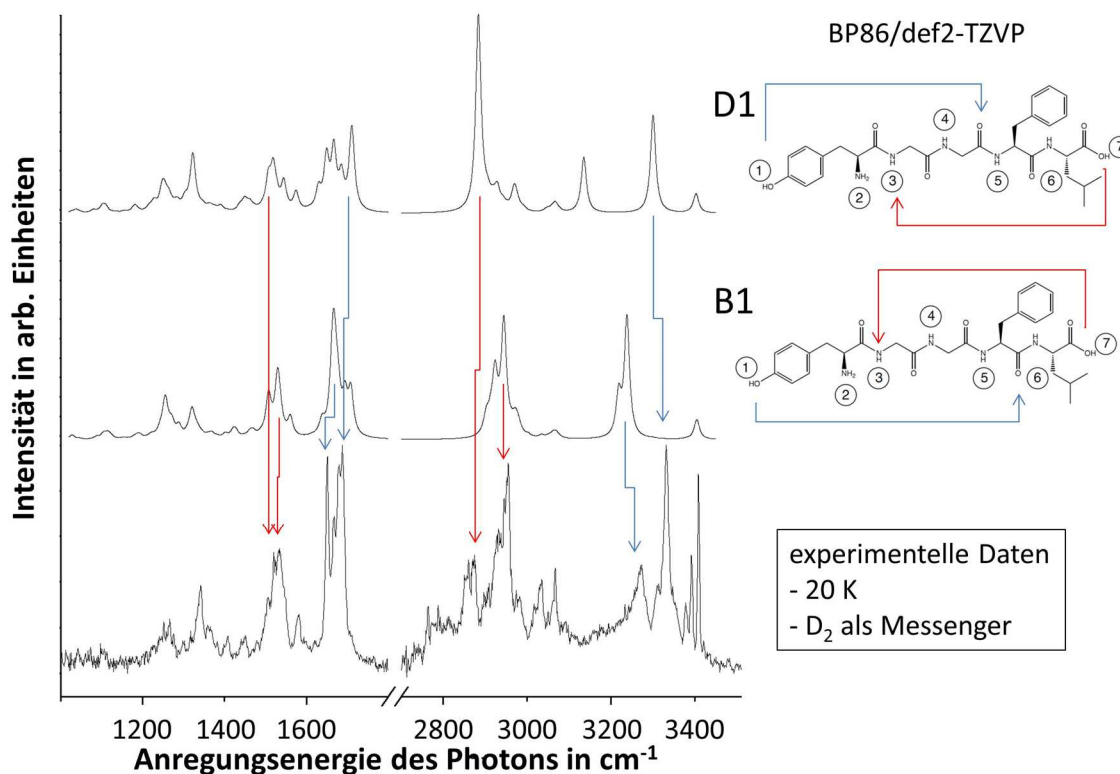
Im Unterschied zur bisher betrachteten IRMPD Methodik, kann so ein Spektrum durch Absorption eines einzelnen Photons aufgenommen und gegen die Laserleistung normiert werden. In Abbildung 41 ist das normierte IR Prädissoziationsspektrum bei 20 K sowie die IRMPD Spektren bei 140 K und bei Raumtemperatur aufgetragen.



**Abbildung 41** IR Spektren des deprotonierten Leucin Enkephalins bei drei Temperaturen. Die Spektren bei Raumtemperatur (a) und bei 140 K (b) wurden mit IRMPD Spektroskopie am Karlsruhe Institut für Technologie, die Tieftemperaturmessung (c) wurde mit Prädissoziationsspektroskopie an der Yale University in Kooperation mit Johnson *et al.* gemessen. Die eingezeichneten Linien zeigen, dass die gemessenen Banden in allen Spektren übereinander liegen. Unterschiedliches Verhalten weisen einzig die Banden bei  $3260\text{ cm}^{-1}$  und  $3340\text{ cm}^{-1}$  deren Entsprechung bei Raumtemperatur ein breiter Absorptionsbereich ist.

Der Vergleich der bereits interpretierten Peaks, zeigt, dass es keine Änderung für das untersuchte Isomer ergab. Die intensivste Bande bei  $2950\text{ cm}^{-1}$  konnte ebenso reproduziert werden wie die freien N–H Schwingungen bei  $3400\text{ cm}^{-1}$  und die Banden der aromatischen Systeme bei  $3030\text{ cm}^{-1}$  und  $3070\text{ cm}^{-1}$ . Zu erwähnen ist einerseits die bessere Auflösung der Prädissoziationsspektroskopie im Bereich der freien N–H Banden, die eine Zuordnung der einzelnen N–H Streckschwingungsbanden erlaubt. Zusätzlich zu den Banden aus dem IRMPD Spektrum ist eine weitere Bande durch die D-D Streckschwingung des Deuterium-Messengers im Bereich von  $2850\text{ cm}^{-1}$  bis  $2950\text{ cm}^{-1}$  zu erwarten<sup>151, 152</sup>, die durch die Anlagerung an die geladene Carboxylgruppe schwach IR aktiv wird.

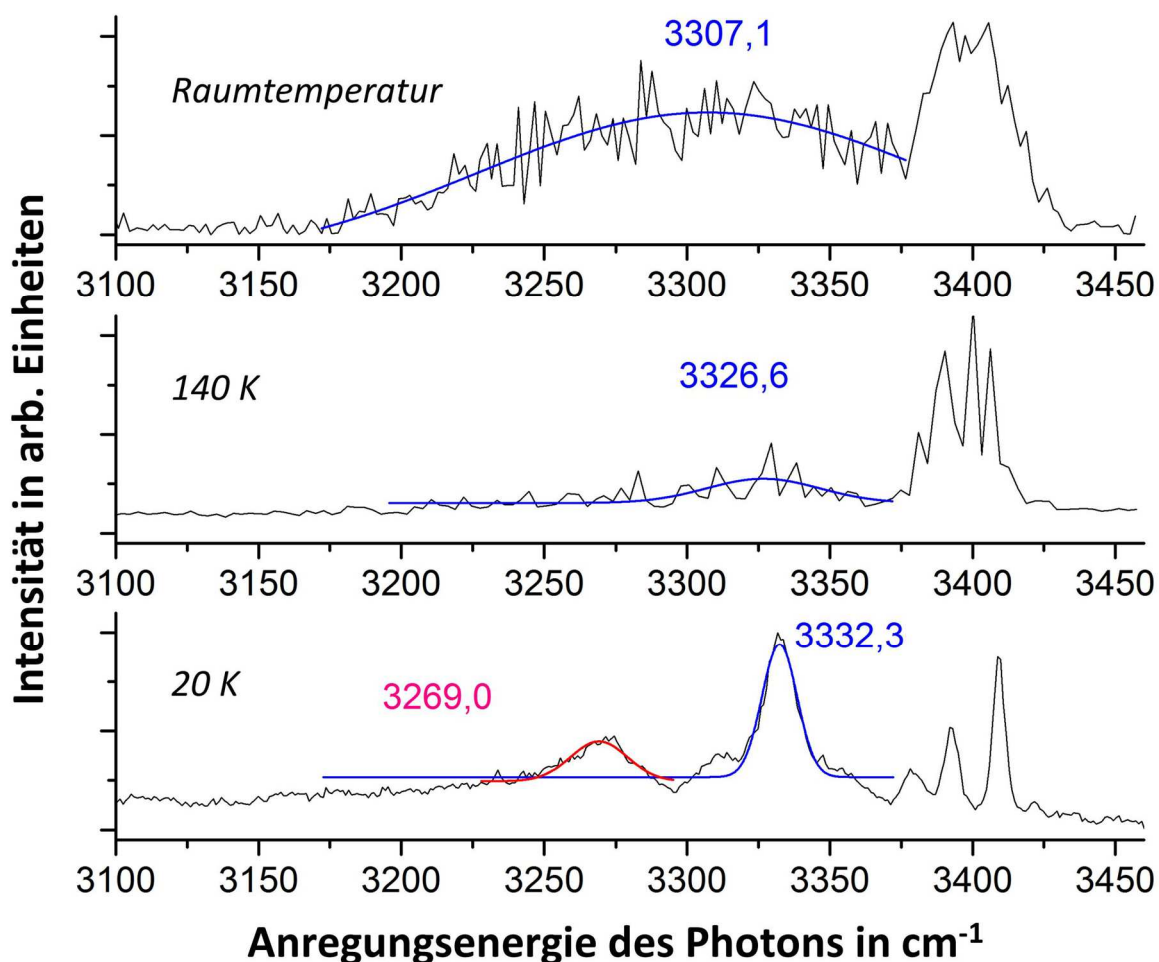
Zur vollständigen Charakterisierung der Probe wurde die spektroskopische Untersuchung auf den Bereich von  $1200\text{ cm}^{-1}$  bis  $1800\text{ cm}^{-1}$  ausgeweitet. Ein Vergleich mit theoretischen Spektren zweier Vertreter der B und D Familie, zeigt, dass beide Strukturen das Spektrum sehr gut interpretieren. Der Unterschied der durch die Wechselwirkung zweier unterschiedlicher Ketone mit der O-H Gruppe erzeugt wird, führt demnach nicht zu einer spektralen Verschiebung die zur Unterscheidung der beteiligten Familien geeignet wäre.



**Abbildung 42** IR Prädissociationsspektrum (bei 20 K) aus Abbildung 41 mit Vergleich zu den berechneten Strukturen D1 und B1 als Vertreter der jeweiligen Strukturfamilien. Zusätzlich wurde ein Spektrum des Mutterions zwischen  $1200\text{ cm}^{-1}$  und  $1600\text{ cm}^{-1}$  abgebildet, dessen Absorptionen von beiden Strukturen vollständig erklärt werden können.

Ein deutlicher Unterschied ist jedoch im Bereich von  $3200\text{ cm}^{-1}$  bis  $3400\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen. Die in der IRMPD Spektroskopie beobachtete breite Bande unterteilt sich in mindestens zwei Banden bei  $3260\text{ cm}^{-1}$  und bei  $3340\text{ cm}^{-1}$ . Anhand der berechneten Strukturen kann die Bande bei  $3340\text{ cm}^{-1}$  mit der Phenol-OH Streckschwingung, wechselwirkend mit dem  $\text{O}^5$  Sauerstoffatom (D1 Struktur), erklärt werden. (siehe Abbildung 42). Die Bande bei  $3260\text{ cm}^{-1}$  kann sowohl mit der  $\text{N-H}^5$  Streckschwingung als auch mit einer Phenol-OH Bande, wechselwirkend mit dem  $\text{O}^6$  Sauerstoffatom (B1 Struktur), interpretiert werden.

Interessant ist aber vor allem der Vergleich mit der IRMPD Spektroskopie. Im Gegensatz zur hier gezeigten Ein-Photonen-Tiefsttemperatur-Messung ist im IRMPD Spektrum eine Bande zu erkennen, deren Position und Breite abhängig von der Temperatur des Systems zu sein scheint (siehe Abbildung 43).



**Abbildung 43** Vergleich der IRMPD Spektren im Bereich von  $3100\text{ cm}^{-1}$  bis  $3450\text{ cm}^{-1}$  für drei unterschiedliche Temperaturen. Zur besseren Interpretation wurden die Maxima jeweils mit Gaussfunktionen angefitet.



Eine weitere Schwierigkeit stellt die Zuordnung der zweiten Bande bei  $3269\text{ cm}^{-1}$  dar. Eine mögliche Interpretation ist die Zuordnung zur N–H<sup>5</sup> Streckschwingung. Dies ist aufgrund der Position anzunehmen. Eine weitere Erklärung wäre, aufgrund der Position, die Zuordnung zur Phenol-OH Streckschwingung. Dies würde aber aufgrund der bisherigen Zuordnungen bedeuten, dass ein zweites Isomer im Spektrum vorhanden ist und dadurch ein zweites lokales Minimum für diese Schwingung existiert. Zur Untersuchung dieser Möglichkeit muss die Potentialfläche, die durch die O<sup>5</sup> und O<sup>6</sup> Sauerstoffatome und der Phenol-O-H Gruppe aufgespannt wird systematisch auf Minima untersucht und die Barriere zur Umwandlung der daraus resultierenden Isomerstrukturen errechnet werden. In diesem Fall würde das Prädissoziationsspektrum das „Einfrieren“ der Isomere zeigen, die bei hohen Temperaturen durch eine fluide Umwandlung in keiner der anderen, verwendeten Methoden unterschieden werden können.

Der Vergleich der drei Infrarot-Spektren zeigt, dass sich die Position des Protons auf der Hyperpotentialfläche temperaturabhängig verändert, was aus der unterschiedlichen Rotverschiebung der zugeordneten Bande abgeleitet werden kann. Dieses Verhalten ist mit beiden diskutierten Interpretationen, mit einer fluiden B1 Struktur oder einer großen räumlichen Unschärfe der O–H Streckschwingung der Phenolgruppe innerhalb der Hyperpotentialfläche der Wasserstoffbrückenbindung, in Einklang.

Diese Mobilität ist besonders für die Betrachtung der Fragmentation des Pentapeptids interessant. Bachorz *et al.* zeigen in theoretischen Berechnungen die Verknüpfung einer Protonenwanderung in neutralen und deprotonierten Essigsäuredimeren, mit der Anlagerung eines zusätzlichen Elektrons und postulieren, dass eine Ladungsverschiebung im Anion eine intramolekulare Protonenwanderung auslöst.<sup>153</sup> Diese Berechnungen wurden experimentell von Johnson *et al.* für radikalische Anionen bestätigt.<sup>154</sup> Eine Protonenwanderung würde in dem hier untersuchten System zur Abspaltung der Leucingruppe führen. Unter Bildung eines Amidats, wurde ein solcher Mechanismus von Oomens *et al.* für die Interpretation des Tri-Alaninpeptid (Ala-Ala-Ala) experimentell nachgewiesen.<sup>155</sup>

Der Einfluss des mobilen Protons auf den Fragmentationspfad in einem solchen System kann zukünftig durch den Einsatz von Doppelresonanz-Spektroskopie untersucht werden, ähnlich der von Majier und Oomens untersuchten Protonenwanderung in dem neutralen geschützten Pentapeptid EAFAR.<sup>156</sup>

## Zusammenfassung

Eine Kombination mehrerer massenspektrometrischer und IR-spektroskopischer Methoden sowie *ab initio* Rechnungen wurde verwendet, um die 3-dimensionale Gasphasen-Struktur des deprotonierten Leucin-Enkephalins, als Beispiel für längere negativ geladene Peptidketten, aufzulösen. In diesem Zusammenhang wurden erstmals CID, IMS, IRMPD und IRPD Messungen an diesem System durchgeführt und in Kombination ausgewertet. Die Kombination der Ergebnisse zeigt beispielhaft, welche Synergieeffekte diese Art der parallelen Untersuchung eines Moleküls mit mehreren Gasphase-Apparaturen ermöglicht.

Durch die vorgestellten Methoden konnte erstmals gezeigt werden, dass die Deprotonierung des Pentapeptids, mit intramolekularen Wasserstoffbrücken zur Stabilisierung, in der Gasphase an der Carboxylgruppe erfolgt. Zusätzlich konnten die Zuordnung der, für die Sekundärstruktur verantwortlichen, intramolekularen Wasserstoffbrücken durch die Kombination IRMPD und IMS Daten auf eine Struktur der B Familie zurückgeführt und die energetisch günstigste 3-dimensionale Struktur des B1 Isomers mit der Hilfe von quantenmechanischen Rechnungen identifiziert werden. Abschließend konnte mit einer Tieftemperatur Messung bei 20 K, die anharmonische Phenol-OH Schwingung im Spektrum aufgelöst und zugeordnet werden. Zusätzlich wurde durch das IRPD Spektrum im Bereich von  $1200\text{cm}^{-1}$  bis  $1600\text{cm}^{-1}$  die Interpretation des IRMPD Spektrums verifiziert.

Ein Vergleich aller aufgenommenen Spektren stützt die Interpretation eines temperaturabhängigen, mobilen Wasserstoffatoms für die gemessene Phenol-OH Gruppe der Carboxylatstruktur. Die Betrachtung der CID Spektren zeigt, dass während der Anregung, sowohl durch Photonen oder Kollisionen, eine Phenolatstruktur entsteht. Ausgehend von einer Carboxylatstruktur in der Gasphase muss zur Erklärung dieser Fragmentprodukte eine Protonenwanderung von der Phenol-OH Gruppe auf den *backbone* oder zur Carboxylatgruppe stattfinden. Ob Aufgrund des flachen Potentialverlaufs oder über einen angeregten Zustand, eine Wanderung des Protons auf eine wechselwirkende Ketongruppe erfolgt und eine Dissoziation auslöst, bildet eine interessante Fragestellung für weiterführende Messungen. Diese Messungen könnten durch  $^{13}\text{C}$  Markierung oder durch Doppelresonanzexperimente verwirklicht werden.

Diese Studie zeigt jedoch eindrucksvoll, dass die Infrarot Multiphotonen Spektroskopie, vor allem in Kombination mit der Ionen Mobilitäts Spektroskopie, ein mächtiges Werkzeug für die Untersuchung von Biomolekülen mit mehreren unterschiedlichen Konformeren darstellt.

### 3.3 Untersuchung einfach und mehrfach deprotonierter ATP und ADP Systeme und ihrer Isotopomere

Die Technik der Isotopenmarkierung mit stabilen Isotopen ist in der nuklearmagnetischen Resonanz(NMR-) Spektroskopie und in der Massenspektrometrie ein lange bekanntes Werkzeug, um an zusätzliche Informationen über ein System zu gelangen.<sup>157</sup> Speziell der Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium und die daraus resultierende Verschiebung der assoziierten Observablen ist ein häufig genutzter Trick. Hierbei werden die veränderten physikalischen Eigenschaften durch das zusätzliche Neutron ausgenutzt um Verschiebungen im Resonanzspektrum oder im Massenspektrum nachzuweisen und diese Verschiebung der Isotopenmarkierung zuzuordnen. Im Gegensatz dazu detektiert die Infrarotspektroskopie die Änderung der reduzierten Masse und die daraus folgende Verschiebung der Schwingungsfrequenz. Der Austausch eines oder mehrerer Wasserstoffatome durch Deuterium erfolgt bei dieser Spektroskopietechnik meistens nach der Überführung in die Gasphase, *in situ*.<sup>158-161</sup> Beispielhaft für mehrere Messungen dieser Art nutzten Oomens *et al.* diesen Effekt für Untersuchungen der McLafferty Umlagerung aus.<sup>162</sup>

In einer Messung von Johnson *et al.* wurde der Effekt genutzt, um die zugehörige Schwingungsfrequenz der Streckschwingung im mittleren infraroten Wellenlängenbereich, durch selektiven Austausch eines  $^{12}\text{C}$  Atoms mit einem  $^{13}\text{C}$  Atom einer einzelnen C–H Gruppe, selektiv um ca.  $10\text{ cm}^{-1}$  zu verschieben und diese Bande dadurch, ohne Einsatz von quantenmechanischen Rechnungen, direkt dieser Schwingung zuordnen zu können.<sup>148</sup> Ein analoger Effekt wird auch für eine, durch Stickstoff-Isotopenmarkierung verschobene,  $^{15}\text{N}$ -H Streckschwingung gemessen.

In dem hier gewählten Ansatz wurde die Besonderheit des Messbereichs der Infrarotspektroskopie in Kombination mit der FT-ICR-Zelle als hochauflösendes Massenspektrometer ausgenutzt. Durch Messung des zu untersuchenden Moleküls, ohne Isotopenmarkierung, mit  $^{15}\text{N}$  Markierung und mit  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  Markierung, zeigt ein Vergleich der drei IRMPD Spektren direkt, welche Banden jeweils O–H, C–H oder N–H Streckschwingungen zugeordnet werden können. Diese Methodik nutzt die Vorteile des verwendeten experimentellen Setups optimal aus, da aufgrund der simultanen Massendetektion, über die reduzierte Zyklotronfrequenz, alle Moleküle zeitgleich in der Falle spektroskopiert werden können. Dadurch kann eine Zuordnung auch bei überlagernden Banden bis zur Auflösung des Experiments durchgeführt werden, ohne den Vergleich mit quantenmechanischen Rechnung zu nutzen. Ausgenommen sind Moleküle deren Intensität sich im Massenspektrum, durch Fragmentationen in ein Molekül mit dem gleichen Masse-zu-Ladungs-Verhältnis oder durch Fragmentation in ein parallel vorliegendes *parent ion* Signal, überlagern. Diese Überlagerung zweier Masse-zu-Ladungs-Signale wird als *cross talk* bezeichnet.

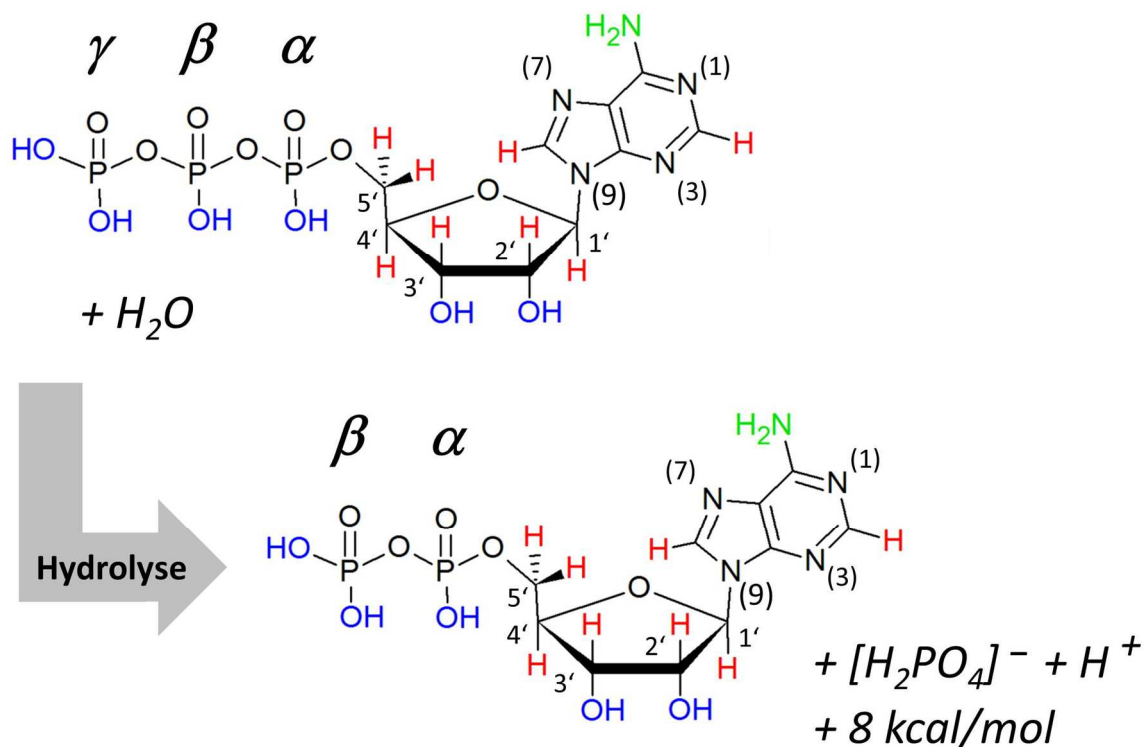
Da in dem hier beschriebenen Fall die Isotopenmarkierung in den Fragmenten erhalten bleibt und die Auflösung der Massenspektren eine Unterscheidung von  $<0,1$  amu zulässt, ist diese Anforderung für die parallele *action* Spektroskopie der drei Substanzen erfüllt. Im folgenden Abschnitt wird die Untersuchung von Adenosin Triphosphat- und Adenosin Diphosphat-Anionen mit dieser Technik beschrieben. Alle Spektren, die zur Auswertung der Isotopenverschiebung verglichen werden, wurden demnach zeitgleich unter identischen Sprühbedingungen und Anregungsbedingungen, sowie identischer Laserleistung aufgenommen. Daher sind die Werte für alle Parameter der Gleichung (3.7) näherungsweise identisch und die Intensitäten sind, nach Normierung gegen das *parent ion*, direkt miteinander vergleichbar. Auf die Details der Methode wird direkt in den jeweiligen Unterteilungen des folgenden Abschnitts eingegangen.

### Adenosin 5'-Triphosphat und Adenosin 5'-Diphosphat

In einer ersten Studie wurde das zweifach deprotonierte Adenosin 5'-Triphosphat ( $[\text{ATP}-2\text{H}]^{2-}$ ) Dianion mit dem im experimentellen Teil beschriebenen IRMPD Aufbau untersucht. Adenosin 5'-Triphosphat(ATP) spielt in der Speicherung und Umwandlung von Energie in allen lebenden Zellen eine tragende Rolle.<sup>163, 164</sup> Das Grundgerüst des ATP besteht aus einem Adenosin, das aus einem über das C1 Atom mit einer Ribose verbundenen Adeninring gebildet wird. Die Phosphorylierung dieses Nukleosids zu ATP findet an der 5'OH Gruppe der Ribose statt. Die Phosphatgruppen werden, ausgehend von dieser 5'OH Gruppe als Alpha ( $\alpha$ ), Beta ( $\beta$ ), und Gamma ( $\gamma$ ) Phosphat bezeichnet. In Abbildung 44 ist die Struktur des ATP mit der Bezeichnung der Phosphatgruppen abgebildet.

Die biologisch wichtige Speicherung der Energie erfolgt durch die Bildung von ATP, bei der Adenosin 5'-diphosphate (ADP), Phosphat und Wasser katalytisch zu ATP umgewandelt wird. Durch die formale Abspaltung von  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  und die Wiedergewinnung des ADP können ca. 8 kcal/mol dieser gespeicherten Energie wieder freigesetzt werden.<sup>165, 166</sup>

Diese Hydrolyse ist aufgrund ihrer biologischen Relevanz eine häufig untersuchte Reaktion. Ein Schwerpunkt bildet hier die theoretische Betrachtung der physikalischen Eigenschaften von einfach und doppelt deprotoniertem ATP oder ADP und analoger Phosphoestern, sowie die Beschreibung der katalytischen Wirkung von, in biologischen Systemen oft präsenten, Kationen auf diesen Prozess.<sup>167-171</sup>

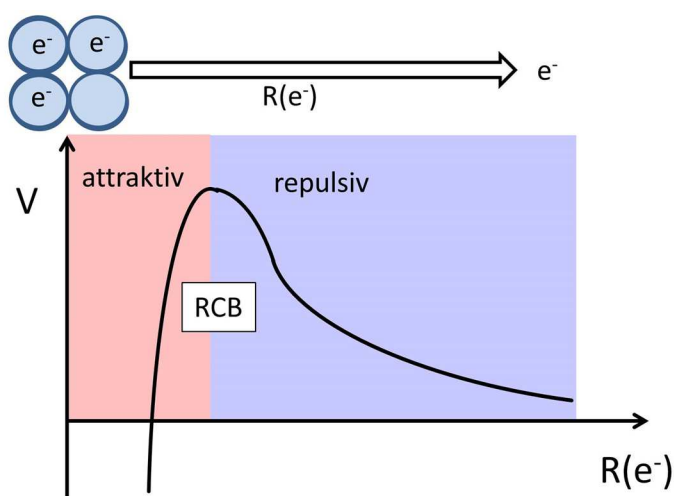


**Abbildung 44** Strukturen des neutralen ATP und ADP Moleküls als Produkt und Edukt der Hydrolyse. Die Grundbausteine bestehen aus einem Adeninring mit einer Ribose-Einheit und drei (beziehungsweise zwei) Phosphatgruppen für das ATP (ADP). Die Wasserstoffatome sind in Abhängigkeit des assoziierten Heteroatoms blau (Sauerstoff), grün (Stickstoff) oder rot (Kohlenstoff) hervorgehoben. Die Phosphatgruppen und die Stickstoffatome des Adeninrings sind ebenso wie die Ringatome der Ribosegruppe nach gängiger Nomenklatur benannt.<sup>172</sup>

Zur Unterstützung der in diesen Arbeiten durchgeführten Interpretationen, existiert ein Bedarf an experimentellen Daten zur Struktur dieser Systeme in einer kontrollierten Umgebung. So wurde mit einer Kombination aus quantenmechanischen Berechnungen und Massenspektrometrie die Struktur des  $[\text{H}_3\text{P}_2\text{O}_7]^-$ , mittels CID-Messungen in der Gasphase, als lineare Anordnung der Phosphatgruppen identifiziert.<sup>173</sup> In weiteren Arbeiten wurde die CID-Massenspektrometrie zur Aufklärung von den Fragmentationspfaden der einfach und mehrfach deprotonierten ADP- und ATP-Anionen, sowie zur Beschreibung der Bildung von ATP aus AMP-Trimeren durch Kollisionsaktivierung genutzt.<sup>174, 175</sup> Ebenfalls in der Gasphase wurde von Blades *et al.* der Energiegewinn durch die Wasseranlagerung an das doppelt deprotonierte ADP ( $[\text{ADP}-2\text{H}]^{2-}$ ), und des einfach deprotonierte AMP ( $[\text{AMP}-\text{H}]^-$ ) Anion untersucht.<sup>176</sup> Zusätzlich wurde die Struktur der Dianionen durch  $^1\text{H}$  und  $^{31}\text{P}$  NMR Spektren mit und ohne Einwirkungen eines  $\text{Mg}^{2+}$  Kations auf die Struktur untersucht und diskutiert.<sup>172</sup>

Von zusätzlichem Interesse bei den Dianionen dieser Moleküle ist, dass aufgrund der zwei überschüssigen Elektronen eine repulsive Coulomb Barriere (RCB), sowohl für die Fragmentation als auch für den Elektronenverlust, existieren muss.<sup>177-179</sup>

Als repulsive Coulomb-Barriere wird die Dissoziationsbarriere in einem solchen System bezeichnet. Durch diese erfährt das photodissoziierte Elektron, das von einem mehrfach geladenen Anion abgelöst wird, nach der kurzreichweitigen attraktiven Wechselwirkung, eine langreichweitige repulsive Coulombabstoßung durch die negative Ladungen des zurückbleibenden Moleküls. (siehe Abbildung 45)<sup>180, 181</sup>



**Abbildung 45** Veranschaulichung der repulsiven Coulomb Barriere. Bei der Abspaltung eines zuvor attraktiv gebundenen Elektrons erfährt dieses, nach der Überwindung der Coulombbarriere, eine langreichweitige Abstoßung.

Durch CID Messungen von Burke *et al.* wurde diese Barriere für  $[\text{ADP-2H}]^{2-}$  und  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  abgeschätzt.<sup>174, 182</sup> Da kein messbares Produkt des Elektronenverlusts entstand, wurde angenommen, dass die repulsive Coulombbarriere (RCB) für die Fragmentation der beiden Dianionen niedriger sein muss als die korrespondierende Barriere für den Elektronenverlust. Eine Charakterisierung der Coulombbarriere für den Elektronenverlust der von der Struktur verwandten, zweifach deprotonierten Phosphatverbindungen  $[\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7]^{2-}$  und  $[\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_{10}]^{2-}$  wurde von Wang *et al.* mit Hilfe der Photoelektronen-Spektroskopie (PES) vorgenommen. Unter der Annahme, dass die Deprotonierung an den Phosphatgruppen stattfindet, kann mit diesen Ergebnissen auch die RCB für  $[\text{ADP-2H}]^{2-}$  und  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  abgeschätzt werden.<sup>183, 184</sup> In einer kürzlich publizierten Arbeit von Schinle *et al.* wurde die elektronische repulsive Coulombbarriere mittels PES für das  $[\text{ADP-2H}]^{2-}$  und  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  bestimmt, die im Falle des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  direkt von der Position der Deprotonierungen abhängt.<sup>17</sup> Hierfür war die Lokalisierung der Ladungen mittels IRMPD Spektroskopie von großer Bedeutung.

### 3.3.1 Infrarot Multiphotonen Dissoziationsspektroskopie des $[\text{ATP-2H}]^{2-}$

Ein wichtiger Schritt für die Interpretation der elektronischen Spektren ist daher die Strukturauflösung durch die IRMPD Spektroskopie. Mit der korrekten Positionierung der Elektronen im System ist es möglich, durch zeitabhängige Dichtefunktionaltheorie, Übergangszustände zu simulieren und die HOMO-LUMO Energiedifferenz mit den experimentellen Daten der Photoelektronen-Spektroskopie (PES) zu vergleichen.

Im folgenden Abschnitt wird die Lokalisierung der Elektronen durch die IRMPD mit dem Ansatz der vollständigen Isotopenmarkierung, unterstützt von Dichtefunktional-Theorie(DFT) Rechnungen, beschrieben. Zusätzlich erlaubt diese Messmethode die Strukturauflösung und die Zuordnung der intramolekularen Wechselwirkungen sowie die Identifikation mehrerer Isomere in der Gasphase, wie im vorangegangenen Abschnitt 3.2 beschrieben.

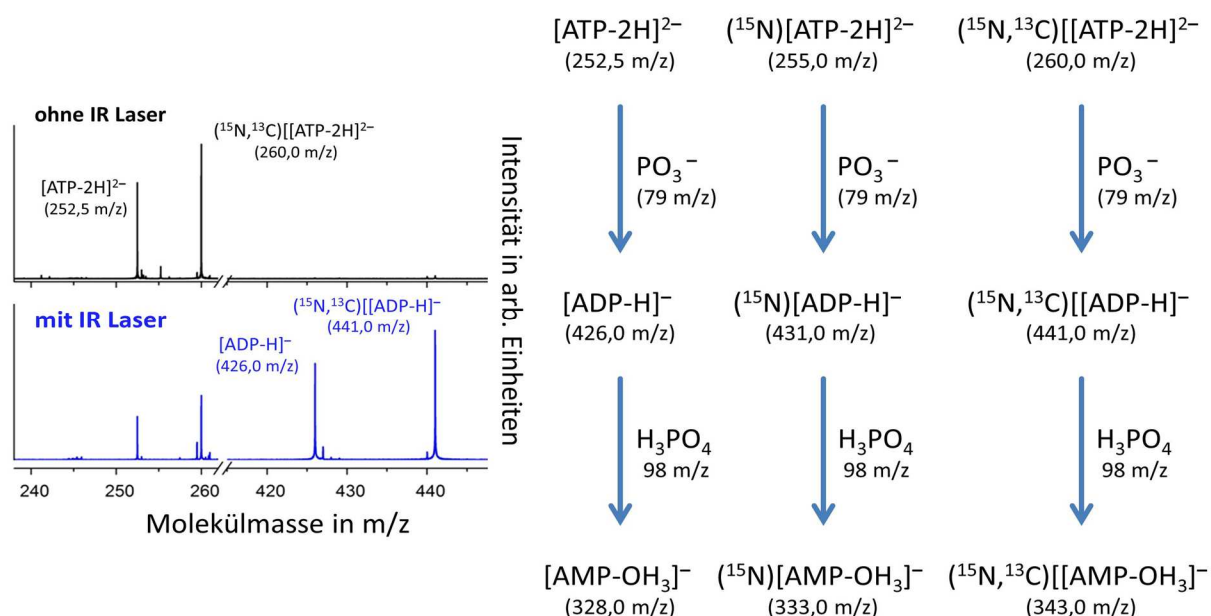
#### Probenvorbereitung

Adenosin 5'-Triphosphate (ATP) wurde als Dinatriumsalz (# A2383, Sigma Aldrich) in Wasser gelöst und eine Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l eingestellt. Das vollständig isotopenmarkierte ( $^{15}\text{N}$ -)Adenosin 5'-Triphosphat (# 707783, Sigma Aldrich) und das ebenfalls vollständig isotopenmarkierte ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ -)Adenosin 5'-Triphosphat (# 645702, Sigma Aldrich) wurde jeweils als Dinatriumsalz (10 mg in 100 mM  $\text{H}_2\text{O}$ , mit 5 mM Tris buffer) kommerziell erworben. Die Isotopenreinheit beträgt 98 % für die  $^{15}\text{N}$  und die  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  Probe, was auch in den hochauflösenden Massenspektren bestätigt werden konnte. Aus diesen Proben wurden jeweils Lösungen mit  $10^{-4}$  mol/l hergestellt. Für die Messungen wurde aus den drei präparierten Lösungen eine gemeinsame Probe mit einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l, durch Mischen von jeweils einem Teil jeder Lösung mit einem Lösungsmittel aus Methanol–Wasser–Acetonitril (20/10/1 v/v/v), eingestellt. Diese Lösung wurde mit der im experimentellen Teil beschriebenen NanoEsi in die Gasphase überführt und spektroskopiert.

#### IRMPD Spektroskopie und experimentelle Daten

Als Sprühnadel für die NanoEsi wurden unbeschichtete Borosilikat-Nadeln mit einem Innendurchmesser an der Spitze von ca.  $0,5 \mu\text{m}$  verwendet. Die angelegte Spannung betrug zwischen  $-800 \text{ V}$  und  $-1300 \text{ V}$ . Der Abstand der Nadel zur Kapillare betrug ca. 5 mm. Durch Variation der Parameter im Akkumulationshexapod wurde das doppelt deprotonierte  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  als *parent ion* vorselektiert. Für die Isolation in der Falle wurde eine *high cut* Isolation mit einem Isolationspuls von 280 m/z bis 1000 m/z verwendet. Diese Methode der Isolation wird bei der simultanen Messung mehrerer *parent ion* bevorzugt, um die Ionendichte der einzelnen m/z nicht unterschiedlich zu beeinflussen. Dadurch bleibt die Vergleichbarkeit der Intensitäten der Isotopomere, nach der Normierung der jeweiligen Fragmentintensität mit der Addition der Fragmentintensität zur Restintensität des Mutterions, erhalten.

Die Laserleistung betrug über den Spektralbereich von  $2600\text{ cm}^{-1}$  bis  $4000\text{ cm}^{-1}$  zwischen 5–15 mJ per Puls. Für die Messungen wurde der IR Laser mit einer konstanten Geschwindigkeit von  $0,1\text{ cm}^{-1}/\text{s}$  durch den Spektralbereich bewegt und die Position der Kristallschrittmotoren mit einer Repetitionsrate von 2 Hz ausgelesen und gespeichert. Die Position während der Messung wurde mit der jeweiligen Spektralnummer und der zugehörigen Laserleistung, sowie der Wellenlängenmessung des wavemeters, gespeichert. Die Messungen wurden ohne Schuss-zu-Schuss-Referenz aufgenommen, was die Auflösung der Spektren bei konstanter Messzeit um einen Faktor 2 verbessert. Das gespeicherte Spektrum wurde aus vier akkumulierten Massenspektren mit Lasereinstrahlung aufgenommen, wobei die Anzahl der Laserpulse pro Messung auf 20 eingestellt wurde. Die Auswertung der Spektren erfolgte analog zu der Beschreibung aus Abschnitt 3.2. Zur Verbesserung der Auflösung der IRMPD Spektren wurde die Messung in einer auf 140 K abgekühlten ICR-Zelle durchgeführt.

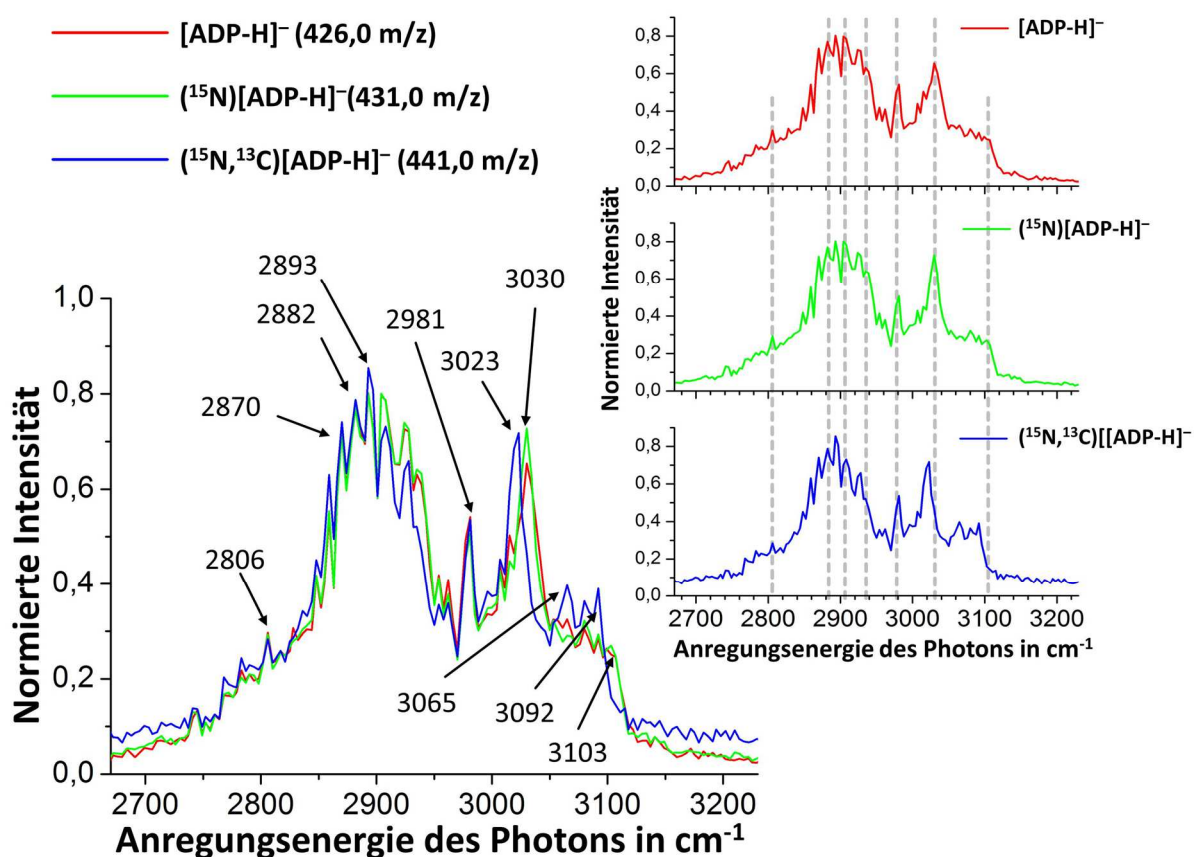


**Abbildung 46** Massenspektren des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  zusammen mit  $(^{15}\text{N},^{13}\text{C})[\text{ATP-2H}]^{2-}$  mit und ohne Lasereinstrahlung. Die photoinduzierte Dissoziation führt zur Abspaltung jeweils einer  $\text{PO}_3^{-}$  Einheit ohne Beeinflussung der Isotopenmarkierung. Eine MS/MS Fragmentierung des entstehenden  $[\text{ADP-H}]^{-}$  führt durch Abspaltung eines neutralen  $\text{H}_3\text{PO}_4$  zu  $[\text{AMP-OH}_3]^{-}$ .

Die Fragmentierung des Mutterions folgt dem in Abbildung 46 aufgezeigten Schema. Durch Photodissoziation wird von dem doppelt deprotonierten *parent ion*  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  ein  $\text{PO}_3^{-}$  abgespalten und das einfach geladene  $[\text{ADP-H}]^{-}$  entsteht. Eine photoinduzierte Dissoziation des  $[\text{ADP-H}]^{-}$  führt zum Verlust eines neutralen  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Dieses Verhalten ist in Übereinstimmung mit den CID-Untersuchungen von Burke *et al.*<sup>174</sup> Aus der konstanten Masse des dissoziierten  $\text{PO}_3^{-}$  ergibt sich, dass die Massendifferenz zwischen den Fragmenten der einzelnen isotopen-



markierten Systeme ebenfalls konstant und somit eine Messung aller Isotope zeitgleich möglich ist. Dies ist ein erheblicher Vorteil dieser Methode gegenüber Molekularstrahl-Experimenten, die diese Parallelisierung der Messung, welche die Messzeit um einen Faktor drei reduziert, nicht zulassen. Noch gewichtiger ist aber, dass sich beim Vergleich der Daten auch das Signal-zu-Rauschen-Verhältnis gegenüber einer nacheinander ausgeführten Messung um ca. eine Größenordnung verbessert. Dies liegt daran, dass der Überlapp mit dem Laserstrahl, die Schwankungen in der Laserleistung und der *parent ion* Intensität nicht von der Masse abhängen und sich beim Vergleich der Daten gegeneinander aufheben. Dadurch ist es möglich die Verschiebungen der Absorptionsbanden mit einer Auflösung von  $4\text{ cm}^{-1}$ , was der Bandbreite des Anregungspulses entspricht, zu messen. Abbildung 47 zeigt das Ergebnis der parallelen Messung mehrerer isotopenmarkierter ATP Dianionen.



**Abbildung 47** Rechte Seite: *action* Spektren des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (rot),  $^{15}\text{N}[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (grün) sowie des  $^{15}\text{N},^{13}\text{C}[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (blau). Linke Seite: Überlagerte Darstellung der Spektren. Die Abweichungen des roten, grünen und blauen Spektrums erlauben eine Zuordnung der Banden zu den C–H, N–H und O–H Streckschwingungen.

Dort abgebildet ist das IRMPD Spektrum des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (rot), durch Auftragung des *action* Signals von  $[\text{ATP-H}]^-$  gegen die Wellenzahl der eingestrahlten Photonen. Mit einem identischen Vorgehen ist das IRMPD Spektren des  $(^{15}\text{N})[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (grün) sowie das IRMPD Spektren des  $(^{15}\text{N}, ^{13}\text{C})[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (blau) dargestellt. Alle Intensitäten wurden mit der addierten Intensität des nicht dissoziierten *parent ion* und dem zugehörigen Fragment normiert (siehe Gleichung (3.10)). In der hier gezeigten Auftragung (Abbildung 47) ist der Bereich von  $2700\text{ cm}^{-1}$  bis  $3200\text{ cm}^{-1}$  hervorgehoben. Dieser Teil des Spektrums beinhaltet eine Überlagerung intensiver Banden der C–H und O–H Streckschwingungen. Die große Vereinfachung der Interpretation dieser Spektren resultiert aus der Isotopenmarkierung. Aufgrund der vollständigen Austausch aller im Molekül vorhandene Stickstoffatome (grünes Spektrum) und dem vollständigen Austausch aller Stickstoff- und aller Kohlenstoffatome (blaues Spektrum) kann jede Bande in eine der drei Kategorien eingeteilt werden. (1) Die Bande zeigt eine Verschiebung im grünen und im blauen Spektrum. Also muss sie folgerichtig einer N–H Streck-schwingung entsprechen. (2) Die Bande zeigt eine Verschiebung allein im blauen Spektrum. Daraus folgt eine Zuordnung zu einer C–H Streck-schwingung. (3) Zeigt die Bande in allen drei Spektren keine Verschiebung kann sie direkt einer O–H Steckschwingung zugeordnet werden. Die strenge Gültigkeit für die Zuordnung der Banden zu einer O–H Steckschwingung setzt jedoch voraus, das, wie in diesem Fall, Störungen durch Kombinationsmoden oder Overtöne von geringer Intensität sind und vernachlässigt werden können. Wie im Verlauf des Abschnitts, bei der Diskussion der theoretischen Spektren deutlich wird, sind die N–H Streck-schwingungen der  $\text{NH}_2$ -Gruppe am Adeninring in allen Strukturen oberhalb von  $3350\text{ cm}^{-1}$  zu erwarten, da eine intramolekulare Wechselwirkung mit einer ladungstragenden Phosphatgruppe sich in semi-empirischen Rechnungen als für das Molekül energetisch ungünstig erwiesen hat. Daher gibt die Übereinstimmung des grünen Spektrums mit dem roten Spektrum in Abbildung 47 Auskunft über das Signal-zu-Raschen-Verhältnis und somit über die Bandenauflösung einer solchen Parallelmessung.

Mit dieser Methode konnten für diesen Bereich des Spektrums drei charakteristische Anregungsenergien bestimmt werden. Zwei zu O–H Streck-schwingungen zugeordnete Banden bei  $2882\text{ cm}^{-1}$  und bei  $2981\text{ cm}^{-1}$  sowie eine der C–H Streck-schwingung zugeordnete Bande bei  $3030\text{ cm}^{-1}$ . Zusätzlich sind Überlagerungen von C–H Streck-schwingungen zu erkennen und eine weitere O–H Streck-schwingungen bei  $3092\text{ cm}^{-1}$  zu vermuten.

### Theoretische Methodik

Für den Vergleich mit den experimentellen Daten wurden Schwingungsspektren des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  mit der Dichtefunktionaltheorie(DFT) ausgehend von Strukturen aus zeitabhängigen Dichtefunktionaltheorie(TDDFT)-Rechnungen, die von Burke *et al.* durchgeführt wurden, berechnet.<sup>174, 182</sup>

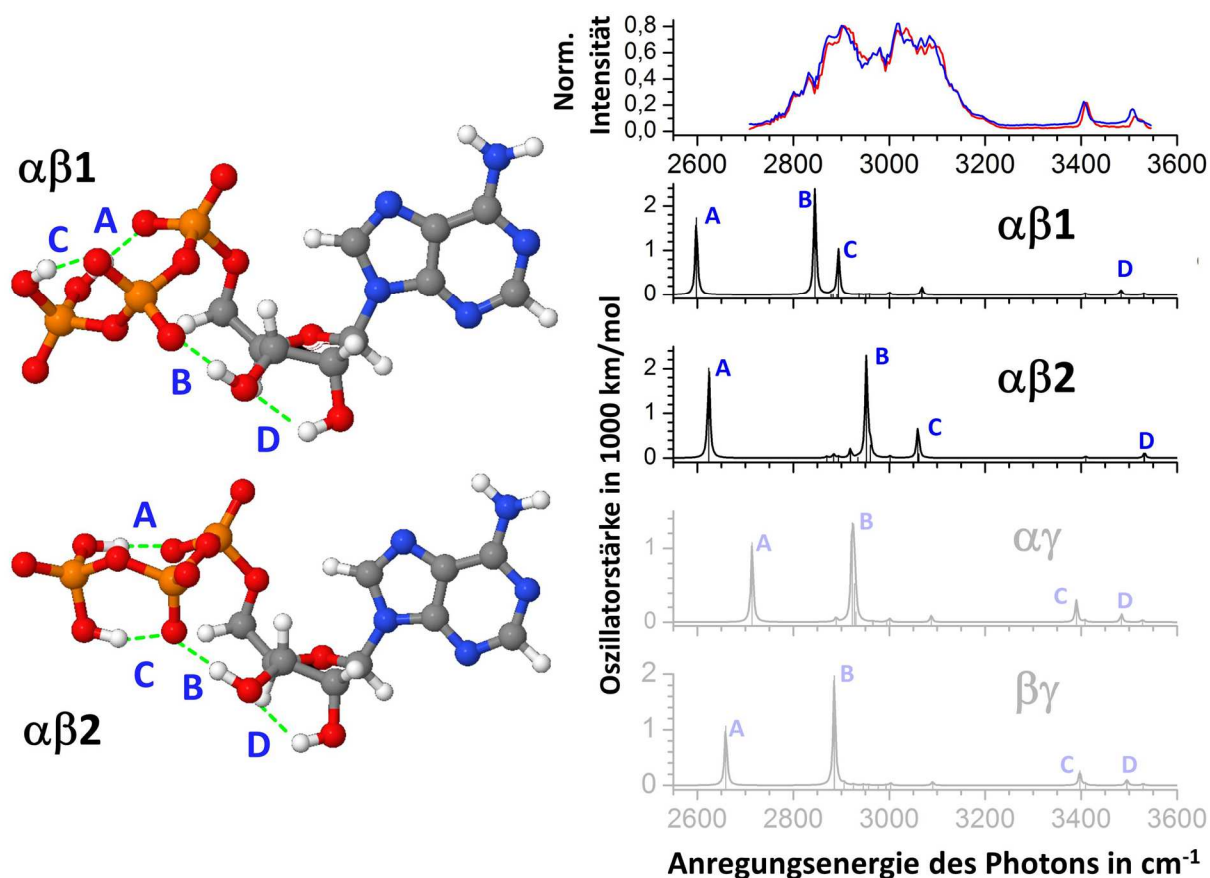
Hierfür wurde zur Identifizierung der relevanten Isomere, die Molekülstruktur durch Heizen auf 500 K und Relaxieren mit anschließender Geometrieoptimierung mit der semiempirischen AM1 Methode berechnet. Die energetisch günstigsten Strukturen wurden mit dem B3LYP-Hybridfunktional unter Verwendung des TZVPP Basissatzes optimiert.<sup>185</sup> Zusätzlich wurde eine empirische Korrektur der Dispersionswechselwirkung vorgenommen, um den Einfluss der Wasserstoffbrücken zu berücksichtigen.<sup>135</sup> Die Kraftkonstanten für die Schwingungsmoden wurden im Programmpaket Turbomole (Version 6.2)<sup>130</sup> mit dem "aoforce" Modul analytisch berechnet. Zur Korrektur der anharmonischen Faktoren (siehe Abschnitt 3.2) wurde ein Skalierungsfaktor von 0,956 für die Frequenzen verwendet. Dieser Faktor steht in guter Übereinstimmung mit den Literaturwerten für den Skalierungsfaktor mit dieser Kombination aus Funktional und Basissatz (B3LYP/def2-TZVPP).<sup>8, 186, 187</sup>

Die simulierten Strukturen können abhängig von ihrer Deprotonierung in drei Klassen eingeteilt werden. Als energetisch günstigste Vertreter dieser Klassen konnten zwei Strukturen für das  $\alpha\beta$  deprotonierte  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  und jeweils eine  $\alpha\gamma$  und  $\beta\gamma$  Struktur identifiziert werden. Zur Auswertung wurden die 14 Frequenzen mit den jeweiligen IR-Intensitäten den zugrunde liegenden X–H (X=C, N, O) Schwingungen zugeordnet. Das Ergebnis wurde tabellarisch zusammengefasst (Anhang C.1: Tabelle 34 bis 33). Die graphische Auftragung erfolgt in Abbildung 48 für die beiden  $\alpha\beta$  deprotonierten Strukturen und in Abbildung 49 für die  $\alpha\gamma$  und  $\beta\gamma$  deprotonierte Struktur.

### Vergleich der Theorie mit dem Experiment

Zusätzlich ist in Abbildung 48 und Abbildung 49 das experimentelle IRMPD Spektrum des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (rot) und des ( $^{15}\text{N}, ^{13}\text{C}$ )  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (blau) aufgetragen. Gegenüber dem Spektrum aus Abbildung 47 wurde die Messung bei Raumtemperatur aufgenommen und die Anzahl der Laserpulse auf 40 erhöht. Dies reduziert zwar die Auflösung der überlagernden Banden zwischen  $2700\text{ cm}^{-1}$  und  $3300\text{ cm}^{-1}$ , bringt aber die Banden mit geringer Oszillatorstärke oberhalb von  $3400\text{ cm}^{-1}$  besser zum Vorschein.

Auf den ersten Blick löst keine der vier Strukturen eindeutig das experimentelle Spektrum auf, weshalb zur Strukturanalyse zuerst die Charakteristik der bedeutendsten Banden im Einzelnen diskutiert wird. Aus den theoretischen Spektren ist ersichtlich, dass je nach Deprotonierungs-Klasse vier unterschiedlich starke Wasserstoffbrücken durch die OH Gruppen der Phosphateinheiten und der Ribose-Gruppe auftreten (A, B, C, D in Abbildung 48 und Abbildung 49). Besonders charakteristisch scheinen hierbei die O–H Schwingungen zwischen den Sauerstoffatomen zweier benachbarter Phosphatgruppen zu sein. Unabhängig von der Verteilung der zwei Deprotonierungen auf die drei  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  Phosphatgruppen können diese Streckschwingungen in den theoretischen Spektren nochmals unterteilt werden.

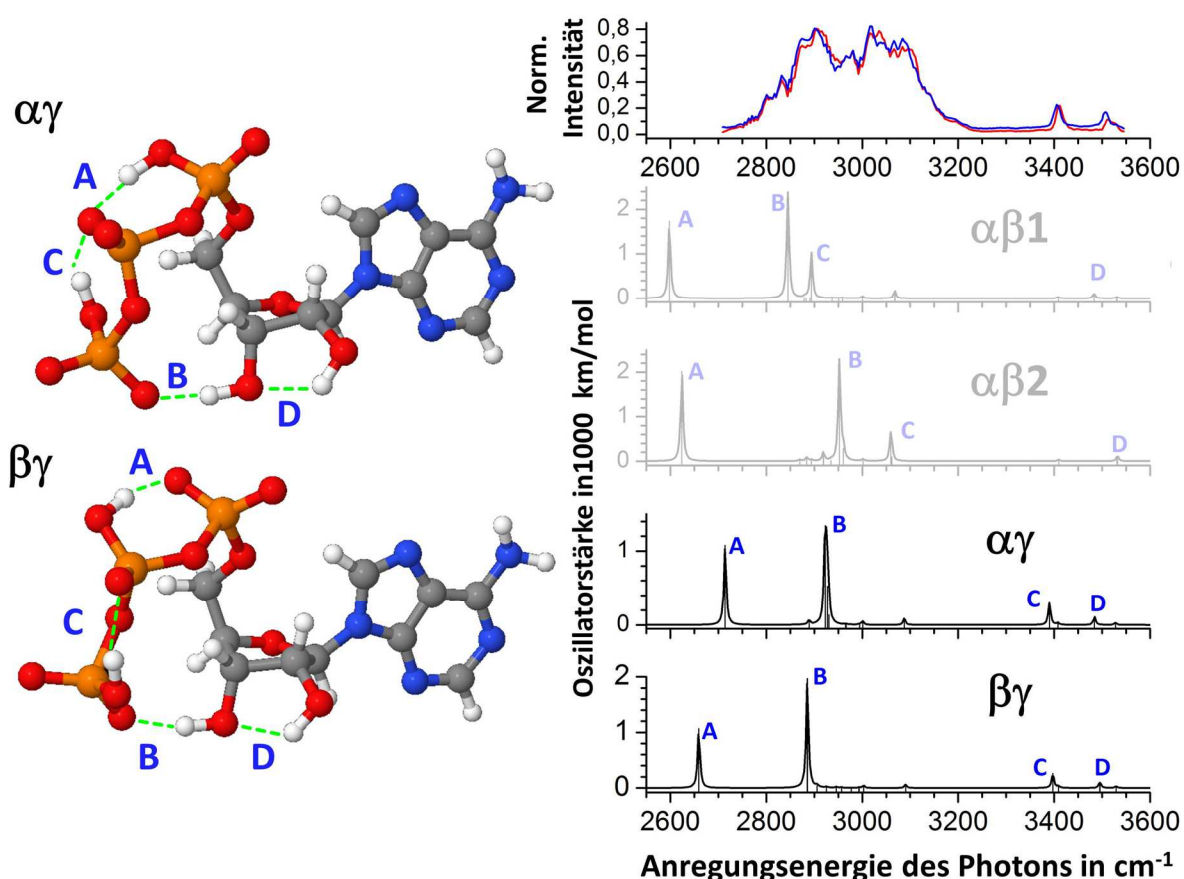


**Abbildung 48** Darstellung des „3-dimensionalen“ Aufbaus der beiden  $\alpha\beta$  deprotonierten Strukturvorläufer mit Benennung der wichtigsten Wasserstoffbrücken und den zugehörigen berechneten Spektren des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$

Jede vorliegende Struktur besitzt eine Phosphat-OH Wasserstoffbrücke (A) zu einem stark Protonen affinen, partiell negativ geladenen Sauerstoffatom an einer benachbarten deprotonierten Phosphateinheit. Diese starke Wasserstoffbrücke erzeugt in den Rechnungen eine Rotverschiebung von mehreren hundert Wellenzahlen, bis unterhalb des messbaren Spektralbereichs. Für die IRMPD Spektroskopie ist dieser durch die unter  $2750 \text{ cm}^{-1}$  stark abfallenden Laserleistung limitiert. Zusätzlich findet sich in jeder Struktur jeweils eine Phosphat-OH Streckschwingung (C) mit einem schwächer partiell geladenen Sauerstoffatom einer benachbarten Phosphatgruppe, deren Rotverschiebung weniger stark, aber sehr charakteristisch für die jeweilige Struktur ist.

Eine weitere charakteristische Bande ist die Wasserstoffbrücke ausgehend von der am  $3'\text{C}$  Atom des Riboserings hängenden Hydroxylgruppe (B). Die Wechselwirkung erfolgt entweder mit einem Sauerstoffatom des  $\beta$  oder des  $\gamma$  Phosphats und ist die intensivste Bande im Spektrum. Dieses Sauerstoffatom ist in allen Isomeren ladungstragend, was sich in der starken Rotverschiebung der Bande deutlich bemerkbar macht.

Die Rotverschiebung der Ribose-OH Schwingung (B) um mehr als  $400\text{ cm}^{-1}$  wirkt sich auch auf das involvierte Sauerstoffatom am 3'C Atom des Ribosering aus. Durch diese partielle Ladung des Sauerstoffs kommt es zu einer schwachen Wasserstoffbrücke mit der benachbarten Hydroxylgruppe am 2'C Atom des Ribosering, wodurch diese Bande (D) um ebenfalls um wenige Wellenzahlen rotverschoben wird.



**Abbildung 49** Darstellung des „3-dimensionalen Aufbaus“ der  $\alpha\gamma$  und der  $\beta\gamma$  deprotonierten Strukturvorschläge mit Benennung der wichtigsten Wasserstoffbrücken ergänzend zu der Darstellung in Abbildung 48

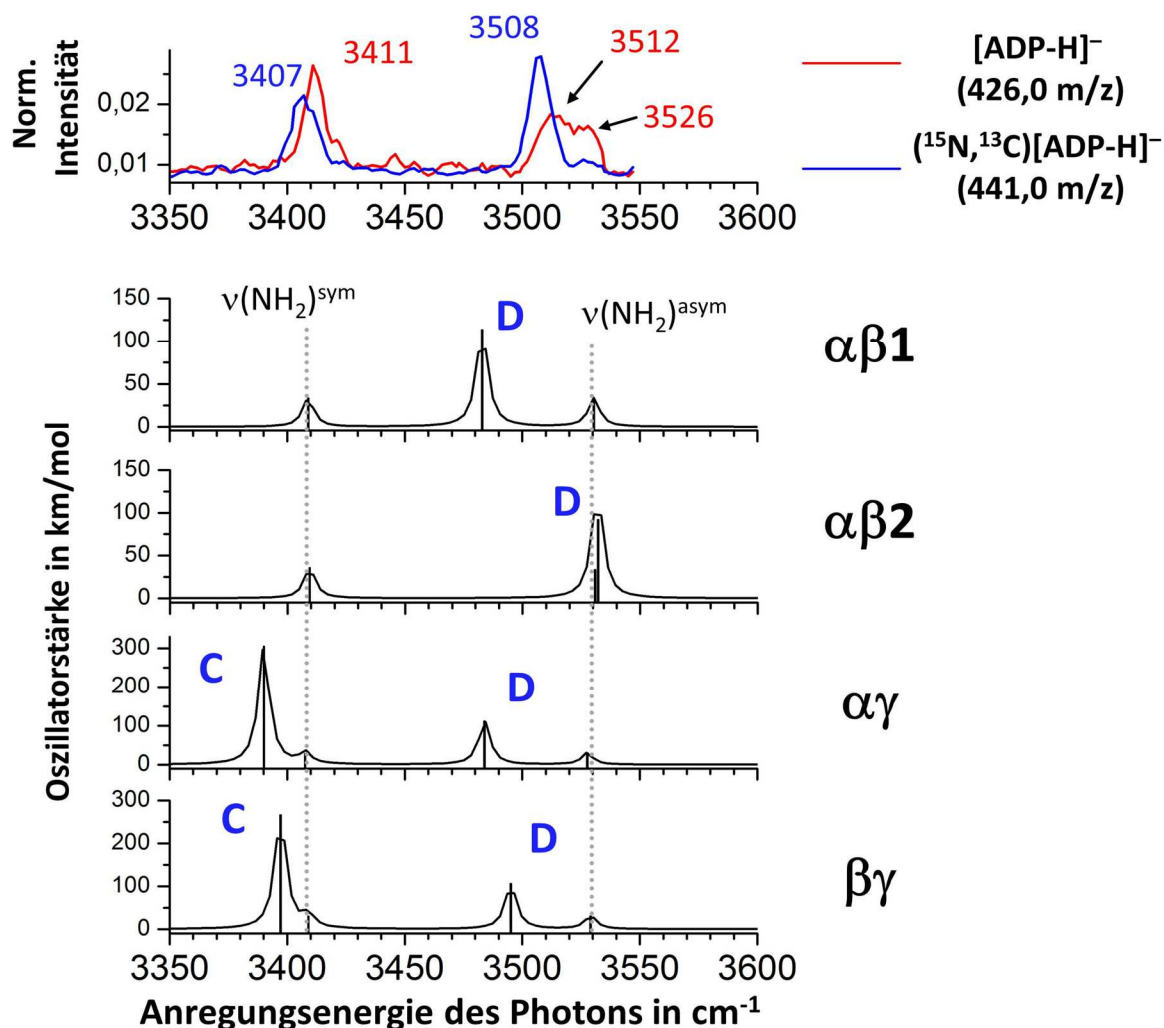
Die eindeutigste Unterscheidungsmöglichkeit zur Interpretation der vier simulierten Schwingungsspektren zeigt die Hydroxylstreckschwingung C. In den beiden  $\alpha\beta$  Strukturen wird die Schwingung unterhalb von  $3100\text{ cm}^{-1}$  vorhergesagt, für die  $\alpha\gamma$  und  $\beta\gamma$  Struktur bei  $3390\text{ cm}^{-1}$  und  $3397\text{ cm}^{-1}$ . Dieser signifikante Unterschied kann auf die Elektronendichte des Partners in der jeweiligen Phosphateinheit zurückgeführt werden. Nur bei den  $\alpha\beta$  Strukturen ist die Elektronendichte am Sauerstoffatom des wechselwirkenden  $\gamma$  Phosphat geringer, was diese Gruppe zu einem guten Wasserstoffbrücken-Donor macht und eine starke Rotverschiebung der zugehörigen Bande erzeugt. Aus demselben Grund bildet die Hydroxylgruppe an den ne-

gativ geladenen Phosphatgruppen, wie bei den  $\alpha\gamma$  und  $\beta\gamma$  Tautomeren, schwache Wasserstoffbrücken mit geringer Rotverschiebung gegenüber der freien O–H Streckschwingung.

Weitere Informationen bringt ein Vergleich des experimentellen Spektrums mit der Theorie oberhalb von  $3350\text{ cm}^{-1}$ . In diesem Bereich des Spektrums konnten drei weitere Banden experimentell, sowohl im Tieftemperatur-Spektrum als auch im Spektrum bei Raumtemperatur, bestimmt und reproduziert werden. Ein Vergleich der Theorie mit dem Tieftemperatur-Spektrum ist in Abbildung 50 dargestellt. Das Raumtemperatur-Spektrum ist in Anhang C.2 abgebildet. Beide Spektren zeigen übereinstimmende Banden bei  $3411\text{ cm}^{-1}$ ,  $3512\text{ cm}^{-1}$  und  $3526\text{ cm}^{-1}$  für das zweifach deprotonierte ATP ohne Isotopenmarkierung, sowie  $3407\text{ cm}^{-1}$ ,  $3508\text{ cm}^{-1}$  und  $3526\text{ cm}^{-1}$  für die Isotopomere. Die Rotverschiebung um  $4\text{ cm}^{-1}$  beziehungsweise  $5\text{ cm}^{-1}$  der beiden Banden bei  $3411\text{ cm}^{-1}$  und  $3512\text{ cm}^{-1}$  erlaubt eine direkte Zuordnung zu der symmetrischen und asymmetrischen  $\text{NH}_2$  Streckschwingung. Diese Rotverschiebung ist vergleichbar mit dem experimentellen Wert, der in einer Arbeit von Nowak *et al.* an einem matrixisoliertem Adenin gemessen wurde. In dieser Publikation wurde für die Berechnung des  $^{15}\text{N}$ -Schwingungsspektrums aus der  $^{14}\text{N}$ -Grundstruktur, mit dem gleichen Basissatz die reduzierte Masse ausgetauscht und so eine Rotverschiebung von jeweils  $8,5\text{ cm}^{-1}$  für die N–H Streckschwingungen vorhergesagt.<sup>188</sup>

Diese Zuordnung zu den zwei quasi-freien  $\text{NH}_2$  Schwingungen bestätigt sowohl die Qualität des hier verwendeten Skalierungsfaktors und zeigt, dass in den Strukturen eine Wechselwirkung über Wasserstoffbrücken der  $\text{NH}_2$ -Streckschwingungen ausgeschlossen werden kann. Da keine nicht-„quasi-freien“ N–H Schwingungen im Spektrum identifiziert werden konnten, spricht dies gegen eine Deprotonierung einer C–H Gruppe am Adeninring, die die Elektronendichte des Stickstoffs beeinflussen und zu einer Verschiebung der assoziierten Banden führen würde.

Wichtiger jedoch ist die Folgerung aus der Abwesenheit der theoretisch intensiveren C-Bande innerhalb des experimentellen Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses, sowohl in der Tieftemperatur als auch im Raumtemperaturspektrum. Das Fehlen dieser Bande, die charakteristisch für die  $\alpha\gamma$  und  $\beta\gamma$  Isomere ist, lässt sich auf die Abwesenheit dieser Isomere schließen. Durch den Vergleich der Breite und der Intensität dieser Absorption mit der gleichen Bande im rotverschobenen  $^{15}\text{N}$ -Spektrum, ist auch eine Überlagerung dieser charakteristischen C-Bande mit der symmetrischen N–H Streckschwingung ausgeschlossen. Der Fall einer Überlagerung würde durch eine veränderte Bandbreite oder eine Schulter mit einer deutlichen Intensitätsabnahme identifiziert werden, da es sich bei der C-Bande um eine O–H Streck-schwingung handelt, die im isotopenmarkierten Spektrum ohne Verschiebung auftritt.



**Abbildung 50** Tieftemperaturspektrum des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (rot). Es sind drei charakteristische Banden bei  $3411\text{ cm}^{-1}$ ,  $3512\text{ cm}^{-1}$  und  $3526\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen. Die Zuordnung der Banden  $3411\text{ cm}^{-1}$  und  $3512\text{ cm}^{-1}$  zu der symmetrischen und asymmetrischen N-H Streckschwingung wird durch die Rotverschiebung der Isotopenmarkierung im  $(^{15}\text{N}, ^{13}\text{C})[\text{ATP-2H}]^{2-}$  Spektrum (blau) deutlich.

Zusammengefasst leiten diese Argumente zu einer äußerst starken Tendenz zu den  $\alpha\beta$  deprotonierten Strukturen, was durch die Banden bei  $3526\text{ cm}^{-1}$  nochmals verstärkt wird. Signifikant für diese Banden ist der Unterschied in der Intensität im nichtmarkierten gegenüber dem  $^{15}\text{N}$  markierten Spektrum. Dadurch, dass diese Banden nicht verschoben werden, ist der Effekt der „geliehenen“ Oszillatorstärke von der N-H Schwingung im  $^{15}\text{N}$  Spektrum nicht mehr vorhanden und die Banden verlieren an Intensität. Daher ist eine Zuordnung zu einer O-H Schwingung und zur D-Banden der 2'OH Gruppe an der Ribose zwingend. Die geringe Rotverschiebung um ca.  $100\text{ cm}^{-1}$  gegenüber einer „freien“ O-H Schwingung, die bei ca.  $3640\text{ cm}^{-1}$  zu erwarten wäre, zeigt die schwache Wechselwirkung mit dem benachbarten Sauerstoff an der 3'C Position, was durch die Position der D-Banden in den Rechnungen der  $\alpha\beta 2$  Struktur sehr gut wiedergegeben wird.

Ein Blick auf das Spektrum unterhalb von  $3200\text{ cm}^{-1}$  veranschaulicht, dass eine direkte Zuordnung zur  $\alpha\beta 2$  Struktur zur Interpretation des Spektrums nicht ausreicht. Der Messbereich zeigt mindestens vier intensive, überlappende Banden mit mehreren überlagernden Banden geringerer Intensität. Da die intensive O–H Streckschwingung A unterhalb des gemessenen Messbereichs erwartet wird, übertrifft die Anzahl an intensiven Streckschwingungen für diesen Bereich, die Anzahl aus den berechneten Spektren eines einzelnen Isomers. Im Falle der  $\alpha\gamma$  und  $\beta\gamma$  Strukturen ist hier eine intensive Bande und für die  $\alpha\beta$  Strukturen zwei Intensive Banden, jeweils von O–H Streckschwingungen herrührend, zu erwarten. Das deutet darauf hin, dass das Spektrum entweder durch Kombinationsbanden und Obertöne oder durch Tautomerie beeinflusst wird.

### Diskussion des zweifach deprotonierten $[\text{ATP-2H}]^{2-}$

Die Interpretation des Spektrums kann allgemein mit der Aussage zusammengefasst werden, dass eine Zusammensetzung aus  $\alpha\beta$  Tautomerem alle dominanten Banden in Position und Intensität erklärt.

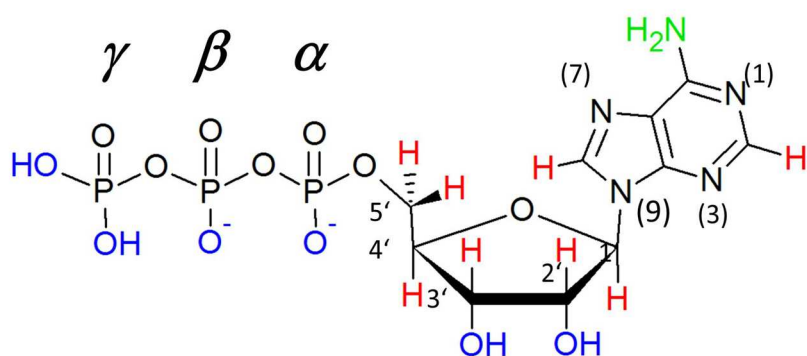


Abbildung 51 Strukturformel des zweifach deprotonierten  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$

Die Berechnungen und weitere Informationen aus dem Spektrum lassen auf die Abwesenheit alternativer Deprotonierungspositionen schließen, was kleine Mengen an  $\alpha\gamma$  und  $\beta\gamma$  Isomeren im Spektrum nicht absolut ausschließt. Diese Ergebnisse sind konsistent mit dem Vergleich der Grundzustandsenergien aller Isomere der dispersionskorrigierten DFT Rechnungen, die im direkten Vergleich das  $\alpha\beta 1$  Isomer favorisieren und bisher noch nicht in die Argumentation mit eingebracht wurden. Jedoch ist eine eindeutige Festlegung auf eine Struktur dieser  $\alpha\beta$  Familie nicht möglich, nicht zuletzt weil das experimentelle Spektrum auf die Anwesenheit von mehr als einem Isomer hindeutet.

Interessant ist, dass das bevorzugte Tautomer, entgegen der chemischen Intuition, an benachbarten Phosphatgruppen deprotoniert ist und nicht durch eine  $\alpha\gamma$  Deprotonierung einen maximalen Abstand zwischen den beiden Ladungen anstrebt. Diese Tendenz wird anscheinend



durch den Energiegewinn aus den Wasserstoffbrückenbindungen mit geringerer „Pseudoringspannung“ überkompensiert, was auch mit den von Burke *et al.* publizierten Rechnungen übereinstimmt.<sup>174, 182</sup> Als Pseudoringspannung wird hierbei die Spannung im Molekül bezeichnet, die durch die intramolekulare „Ringbildung“ mit Wasserstoffbrücken als Teilstücke des Rings, auftritt.

Unabhängig von der Eindeutigkeit des Spektrums konnte in diesem Abschnitt gezeigt werden wie effizient der Einsatz von Isotopenmarkierung in dem verwendeten, experimentellen Aufbau ist. Die hier eingesetzte, parallele Messung ist nach Wissen des Autors zum ersten Mal in dieser Form durchgeführt worden und zeigt eindrucksvoll, wie der Informationsgehalt eines Spektrums bei gleichbleibender Messzeit um ein vielfaches erhöht werden kann.

Außerdem zeigt die Interpretation des Spektrums, dass die vollständige Isotopenmarkierung, in diesem Messbereich weit mehr Informationen beinhaltet als eine einfache Isotopenmarkierung bei gleichbleibendem Aufwand.

### 3.3.2 Infrarot Multiphotonen Dissoziationsspektroskopie des [ADP-H]<sup>-</sup>

Bisher wurde festgestellt, dass das zweifach negativ geladene Adenosin 5'-Triphosphat durch photoinduzierte und kollisionsinduzierte Dissoziation effizient in [ADP-H]<sup>-</sup> überführt werden kann. Diese Erkenntnis führt zu der Überlegung, inwieweit dieser Dissoziationsprozess für die Aufklärung des Hydrolyseprozesses des ATP in Lösung von Bedeutung ist. Zwar findet dieser Prozess in einer Solvathülle statt, in der Gegenionen für die Stabilisierungen der Ladungen eine große Rolle spielen. Dennoch kann aus der Struktur des ATP Feststoffs mit Dinatrium als Gegenion und der Abhängigkeit der ATPase-Prozesse<sup>xiii</sup> von den Konzentrationen der Gegenionen Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> und Mg<sup>2+</sup> abgeleitet werden<sup>189</sup>, dass das Verständnis der mehrfach deprotonierten ATP Struktur ein weiteres Puzzleteil zur Interpretation der wohl wichtigsten chemischen Reaktion für die Menschheit darstellt.<sup>189</sup> Diese im vorangegangenen Abschnitt thematisierte Fragestellung wirft jedoch direkt weitere Fragen zur Struktur des Natrium und Kaliumsalzclusters des mehrfach deprotonierten ATP Struktur und natürlich nach dem Produkt der Hydrolysereaktion auf, dem negativ geladenen ADP.

Hauptsächlich dienen diese Untersuchungen als Grundlage für theoretische Berechnungen mit diesen Ausgangsdaten, in denen der Einfluss von Solvathüllen und die intermolekularen Reaktionen vom Edukt zum Produkt simuliert werden. Durch die experimentellen Daten zu den Strukturen des Produkts und des Edukts wird die Interpretationsfähigkeit dieser Simulationen erhöht.

Um der Fragestellung nach dem Hydrolyseprozess weitere Informationen hinzuzufügen, wurde daher die Studie auf die Strukturanalyse und auf die intramolekularen Wechselwirkungen des [ADP-H]<sup>-</sup> ausgeweitet. Hierfür wurde ausgenutzt, dass Hydrolyse-Prozesse vor oder während des Sprühvorgangs aus der ATP-Probe das [ADP-H]<sup>-</sup> erzeugen. Zum einen dient dieses Vorgehen der bestmöglichen Untersuchung der Hydrolyse, zum anderen überbrückt sie die fehlenden Möglichkeiten isotopenmarkiertes (<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N)NaADP kommerziell zu erwerben. Im folgenden Abschnitt soll das Produkt des ATP Zerfalls der isotopenmarkierten Proben (<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N)Na<sub>2</sub>ATP und (<sup>15</sup>N)Na<sub>2</sub>ATP untersucht werden. Hierfür werden die isotopenmarkierten ATP Proben mit einer nicht markierten ADP Probe gemischt und die erhaltenen IR-Spektren verglichen.

Ein weiteres Ziel in diesem Abschnitt ist es durch den Einsatz von DFTB3 Rechnungen von Elstner *et al.* eine direkte Verknüpfung zu einer Rechenmethode zu schaffen, die weiterführende Rechnungen an großen biologischen Systemen, wie die ATP Hydrolyse in einer Solvathülle oder die ATPase erlaubt. Gleichzeitig ist es ein Ziel mit dieser Methode eine Filterung der Isomeren zu erreichen, die eine Interpretation der Spektren mit geringstmöglichem Ein-

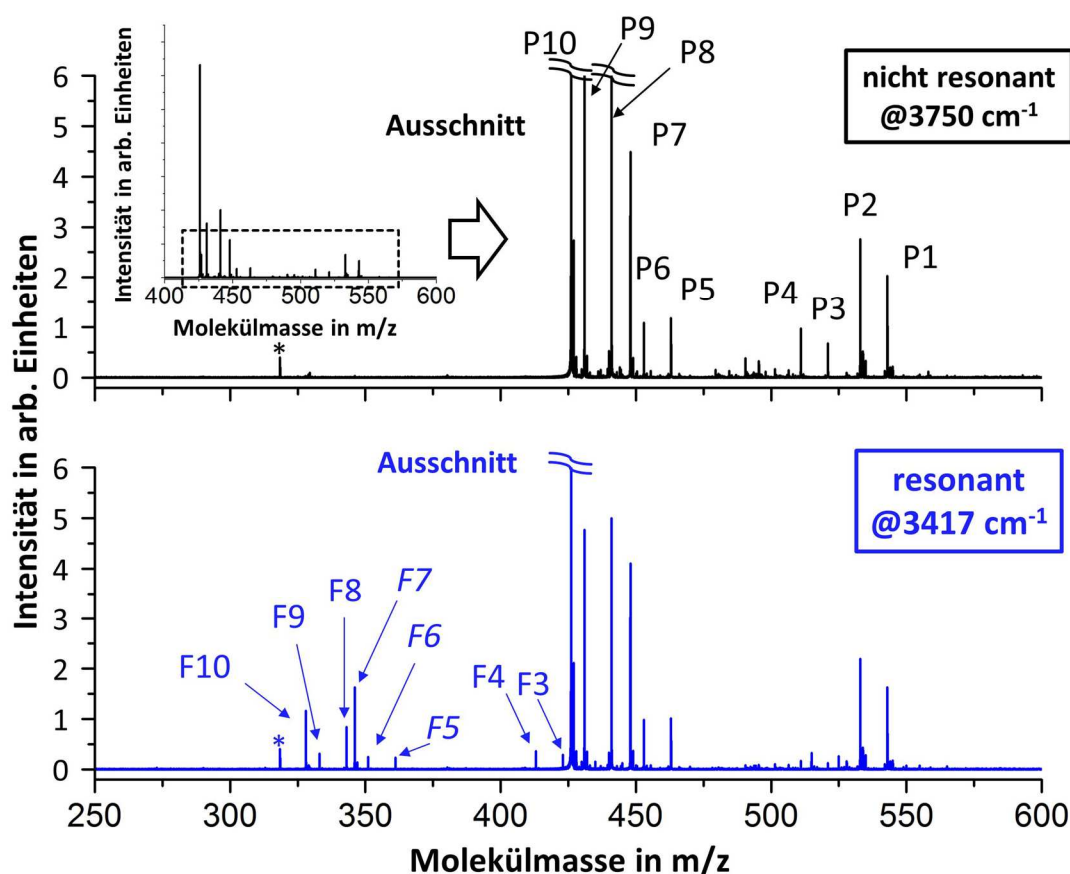
---

<sup>xiii</sup> Der Transport von Substanzen durch die Zellmembran mit Hilfe eines Transportenzym, bewerkstelligt durch die Umwandlung von ATP zu ADP

satz von „teuren“ DFT oder *ab initio* Methoden ermöglicht. Damit soll gezeigt werden, dass die rasche Entwicklung der aktuellen Rechenmethoden neue Synergieeffekte mit dem in dieser Arbeit vorgestellten, experimentellen Aufbau erlaubt und für beide Seiten ein großes Potential birgt.

### Probenvorbereitung und Massenspektrometrie des deprotonierten ADP

Für diese Studie wurde aus den beiden isotonenmarkierten ATP-Proben, durch verdünnen mit doppelt destilliertem Wasser, eine gemeinsame Urlösung mit ca.  $10^{-3}$  mol/l hergestellt. Parallel wurde aus dem kommerziell erworbenen Natriumsalz des Adenosin Diphosphat (A2754, Sigma Aldrich) und doppelt destilliertem Wasser eine zweite Urlösung mit ca.  $10^{-3}$  mol/l hergestellt. Vor dem Sprühen wurden Teile der beiden Proben miteinander vermischt, wobei der Teiler sich aus den Intensitäten im Massenspektrum zusammensetzte, um eine ähnliche Intensität von  $[\text{ADP-H}]^-$ ,  $(^{15}\text{N})[\text{ADP-H}]^-$  und  $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})[\text{ADP-H}]^-$  zu erhalten.



**Abbildung 52** Vollständiges Fragment-Massenspektrum der ADP-Lösung bei einer Anregung von  $3750\text{ cm}^{-1}$  und  $3417\text{ cm}^{-1}$ . Während  $3750\text{ cm}^{-1}$  oberhalb aller Resonanzen für alle Strukturen liegt, ist aufgrund der quasi-freien  $\text{NH}_2$  Gruppe eine Resonanz aller Systeme bei  $3417\text{ cm}^{-1}$  zu messen.

Dieser Teiler betrug typischerweise ca. (1:2:2). Diese Probe wurde mit Methanol/Wasser (2/1) auf eine Konzentration von ca.  $10^{-5}$  mol/l verdünnt. Die weitere Probenvorbereitung und Sprühbedingungen entsprechen der Beschreibung im vorangegangenen Abschnitt für das  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$ . Aus dem mit dieser Lösung gemessenen Massenspektrum wurden, mit einer *low cut* Isolation von 70 m/ bis 380 m/z, vor der Photodissoziation alle mehrfach deprotonierten ATP und ADP Signale und die im Sprühvorgang entstandenen Fragmente entfernt. Neben den einfach deprotonierten  $[\text{ADP-H}]^-$  und den ( $^{13}\text{C}$ )- und ( $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ )- $[\text{ATP-H}]^-$  Signalen ist die Anwesenheit der jeweiligen Natriumaddukte der zweifach deprotonierten Moleküle  $\text{Na}[\text{ADP-2H}]^{2-}$  und  $\text{Na}[\text{ATP-2H}]^{2-}$  zu beobachten. Mit der Photonenenergie, die der Anregung der symmetrischen N-H Streckschwingung bei  $3417\text{ cm}^{-1}$  entspricht, ist es möglich ein Massenspektrum mit der zeitgleichen Fragmentation aller Mutterionen aufzunehmen. Dieses Massenspektrum ist in Abbildung 52 zusammen mit einem Massenspektrum bei  $3750\text{ cm}^{-1}$ , also oberhalb aller für diese Moleküle möglichen Resonanzen, abgebildet. Die experimentellen und zugehörigen berechneten Massen der Signale und ihre Nomenklatur sind in Tabelle 9 dargestellt.

### Kollisionsinduzierte Dissoziation und Ionenmobilität

Für die Berechnung der theoretischen Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse und die Zuordnung zur stöchiometrischen Strukturformel, wurde ein kommerzielles Massenspektrometer (Synapt G2-S, Waters MS Technology Centre Micromass, Manchester UK) mit einer kommerziellen NanoEsi-Quelle verwendet. Die Probenlösung wurde gemäß der in diesem Abschnitt aufgeführten Beschreibung gesprüht. Die Massenkalisierung des Gerätes wurde mit einer Natriumformiat-Lösung durchgeführt und eine Massengenauigkeit für den Bereich von 200 m/z bis 700 m/z von  $< 0,3$  ppm erreicht.

Die theoretischen Massen wurden ohne Isotopenmarkierung mit dem Softwarepaket MassLynx (Waters MS Technology Centre Micromass, Manchester UK) simuliert. Für die isotopenmarkierten Moleküle wurden die Werte durch die Anzahl und die Differenz in der Masse des  $^{15}\text{N}$  Stickstoff verglichen mit dem  $^{14}\text{N}$  Stickstoff berechnet. Identisch wurde mit der Isotopenmarkierung des Kohlenstoffs vorgegangen. Die Massendifferenzen wurde hierbei vom National Institute of Standards and Technologies übernommen.<sup>190</sup>

Durch Massenselektion und kollisionsinduzierte Dissoziation im Speicherbereich des Massenspektrometers konnte die direkte Zuordnung der Fragmente (F) zu den jeweiligen *parent ion* (P) vorgenommen werden, die in Tabelle 9 durch den Index des jeweiligen Fragments und *parent ions* gekennzeichnet wurde. Die durchgeführten CID-Messungen am  $\text{Na}[\text{ADP-2H}]^-$  und den isotopenmarkierten Äquivalenten zeigten auch bei hohen Dissoziationsenergien ausschließlich eine Abspaltung von  $\text{H}_2\text{O}$ .

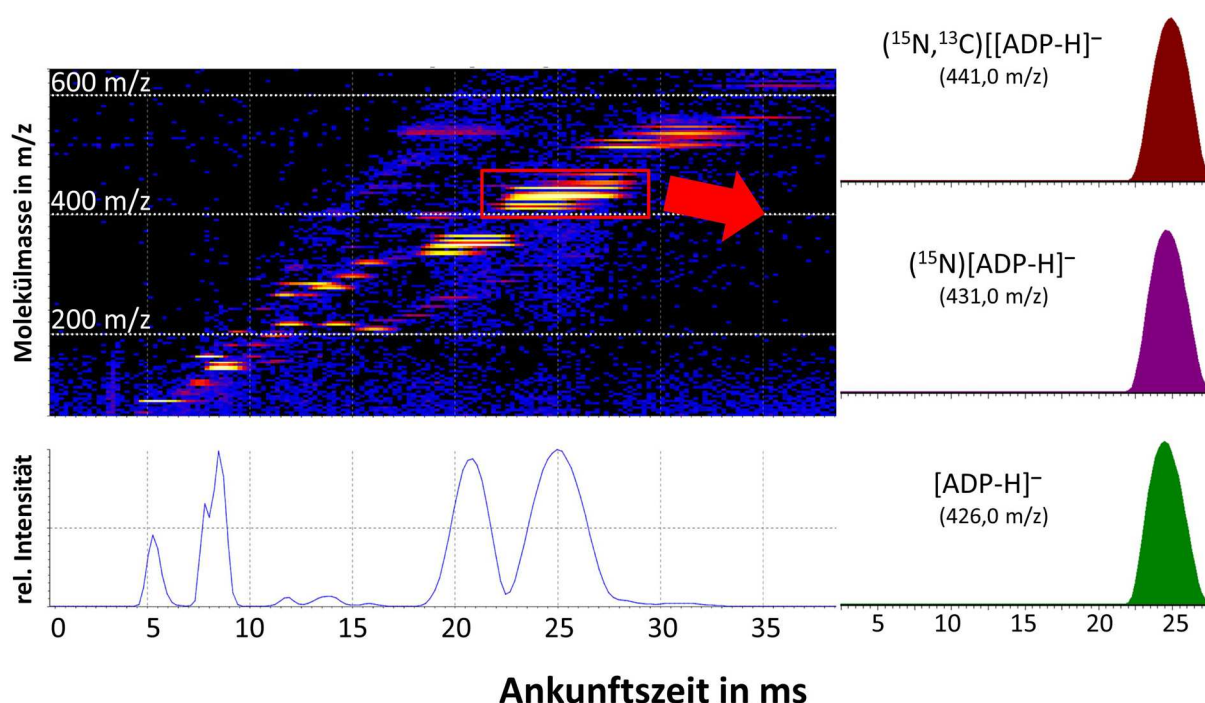
Tabelle 9: Experimentelle und berechnete  $m/z$  Verhältnisse der Signale im Massenspektrum der Probelösung, bestehend aus den Natriumsalzlösungen von ADP, ( $^{15}\text{N}$ )-ATP und ( $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ )-ATP gesprüht aus Wasser/Methanol (1/2) im negativen Messmodus.

<i>Exp. <math>m/z</math></i>	<i>Nomenklatur</i>	<i>Bezeichnung</i>	<i>Berechn. Masse</i>	<i>Abweichung</i>
542,986	$^{13}\text{C}^{15}\text{N} [\text{ATP-2H+Na}]^-$	P1	542,987	0,001
532,954	$^{15}\text{N} [\text{ATP-2H+Na}]^-$	P2	532,955	0,001
521,017	$^{13}\text{C}^{15}\text{N} [\text{ATP-H}]^-$	P3	521,005	0,012
510,983	$^{15}\text{N} [\text{ATP-H}]^-$	P4	510,973	0,010
463,028	$^{13}\text{C}^{15}\text{N} [\text{ADP-2H+Na}]^-$	P5	463,022	0,011
452,999	$^{15}\text{N} [\text{ADP-2H+Na}]^-$	P6	452,989	0,010
448,0167	$[\text{ADP-2H+Na}]^-$	P7	448,004	0,012
441,049	$^{13}\text{C}^{15}\text{N} [\text{ADP-H}]^-$	P8	441,040	0,009
431,013	$^{15}\text{N} [\text{ADP-H}]^-$	P9	431,008	0,005
426,027	$[\text{ATP-H}]^-$	P10	426,022	0,005
423,041	$^{13}\text{C}^{15}\text{N} [\text{ADP- H}_3\text{O}]^-$	F3	423,029	0,011
413,004	$^{15}\text{N} [\text{ADP- H}_3\text{O}]^-$	F4	412,997	0,007
361,080	$^{13}\text{C}^{15}\text{N} [\text{AMP-H}]^-$	F5	361,073	0,007
351,046	$^{15}\text{N} [\text{AMP-H}]^-$	F6	351,040	0,006
346,063	$[\text{AMP-H}]^-$	F7	346,055	0,008
343,073	$^{13}\text{C}^{15}\text{N} [\text{AMP- H}_3\text{O}]^-$	F8	343,062	0,009
333,039	$^{15}\text{N} [\text{AMP- H}_3\text{O}]^-$	F9	333,029	0,010
328,052	$[\text{AMP- H}_3\text{O}]^-$	F10	328,044	0,008

Zusätzlich konnten keine weiteren Fragmente mit der Massendifferenz der Isotopenmarkierungen im Spektrum gemessen werden. Besondere Aufmerksamkeit wurde hier auf einen möglichen Verlust von  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  gelegt, der jedoch nicht nachgewiesen werden konnte. Damit kann ein *cross talk* durch Dissoziation in einen gemeinsamen Fragmentkanal der Natriumaddukte  $\text{Na}[\text{ADP-2H}]^-$  mit den  $[\text{ADP-H}]^-$  Intensitäten ausgeschlossen werden. Daher muss das  $\text{Na}[\text{ADP-2H}]^-$  vor der IRMPD Spektroskopie nicht aus dem Massenspektrum entfernt werden. Aufgrund der vergleichsweise hohen Dissoziationsenergie und der geringen Intensität des  $\text{Na}[\text{ATP-2H}]^-$  Signals, konnte eine Zuordnung des Fragmentationskanals dieses Ions in den CID Messungen nicht gemessen werden. Die Auswertung der im folgenden beschriebenen IRMPD Spektren zeigt, dass eine Fragmentation über einen  $\text{H}_3\text{PO}_4$  Verlust zu dem Fragment  $\text{Na}[\text{ADP-H-H}_3\text{O}]^-$  erfolgt, wenn auch in geringer Intensität. Die zeitgleiche Spektroskopie mit den anderen aufgeführten Mutterionen wird somit auch von diesem Ion nicht beeinträchtigt.

Dies ist auch in Einklang mit den Überlegungen von Burke *et al.* zu den Fragmentationsmechanismen der einfach deprotonierten ADP- und ATP-Anionen, die in einer Arbeit von 2005 am Beispiel des  $[\text{H}_4\text{P}_3\text{O}_{10}]^-$  vorgeschlagen wurden. Eine Frage wirft jedoch die Entstehung des AMP in der IRMPD Spektroskopie auf (F5, F6 und F7), dessen Zuordnung zu einem *parent ion* nicht abschließend geklärt werden konnte. Als mögliche *parent ion* kommen hierfür das  $\text{Na}[\text{ADP}-2\text{H}]^-$  mit  $\text{NaPO}_3^-$  Verlust (P5, P6, P7) oder das  $[\text{ADP}-\text{H}]^-$  durch neutralen  $\text{HPO}_3^-$  Verlust (P8, P9, P10) in Frage. Es konnte zwar eine Korrelation der Intensitäten des  $[\text{AMP}-\text{H}]^-$  Signals und des  $\text{Na}[\text{ADP}-2\text{H}]^-$  Signals festgestellt werden, aber dieser indirekte Beweis ist nicht ausreichend um eine Zuordnung zu diesem Mutterion vorzunehmen.

Um zu zeigen, dass die Bildung des ADP durch Zerfall der isotoptenmarkierten ATP-Proben keinen Einfluss auf die Gasphasenstruktur hat, wurde eine zusätzliche Option des Synapt G2-S Massenspektrometers verwendet. Durch den Einsatz der *travelling wave* Technologie kann in diesem Setup eine Ionen Mobilitäts(IM-) Spektrometrie zugeschaltet werden. Diese wurde verwendet um einerseits die relativen Querschnitte des  $[\text{ADP}-\text{H}]^-$ , verglichen mit dem  $(^{15}\text{N})[\text{ADP}-\text{H}]^-$  und dem  $(^{13}\text{C},^{15}\text{N})[\text{ADP}-\text{H}]^-$ , zu bestimmen und andererseits mögliche Isomere mit stark abweichendem Kollisionsquerschnitt im  $[\text{ADP}-\text{H}]^-$  Mutterion zu identifizieren. In Abbildung 52 ist das Ergebnis der IM-Spektrometrie dargestellt. Es wird deutlich, dass diese Spektrometriemethode in der Gasphase nicht zwischen der ADP Probe und den isotopomeren aus der isotoptenmarkierten ATP Probe nach der Elektrosprayionisierung unterscheiden kann.



**Abbildung 53** Ionenmobilitäts-Spektrometrie des  $[\text{ADP}-\text{H}]^-$ ,  $(^{15}\text{N})[\text{ADP}-\text{H}]^-$  und  $(^{13}\text{C},^{15}\text{N})[\text{ADP}-\text{H}]^-$ . Abgebildet ist die Matrix der Ankunftszeit und der Molekülmasse gegen die Signalintensität am Detektor. Die Ankunftszeit aller Massen ist unter der Matrix dargestellt, sowie die Ankunftszeitverteilung der ADP-Isotopomere.

Die geringe Verschiebung im Maximum der Ankunftszeit ist durch die höheren Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse der markierten Proben zu erklären. Zusätzlich konnten dem Spektrum keine Hinweise auf ein Isomer mit abweichendem Kollisionsquerschnitt entnommen werden.

Daraus lässt sich schließen, dass alle drei Moleküle eine analoge Gasphasenstruktur haben.

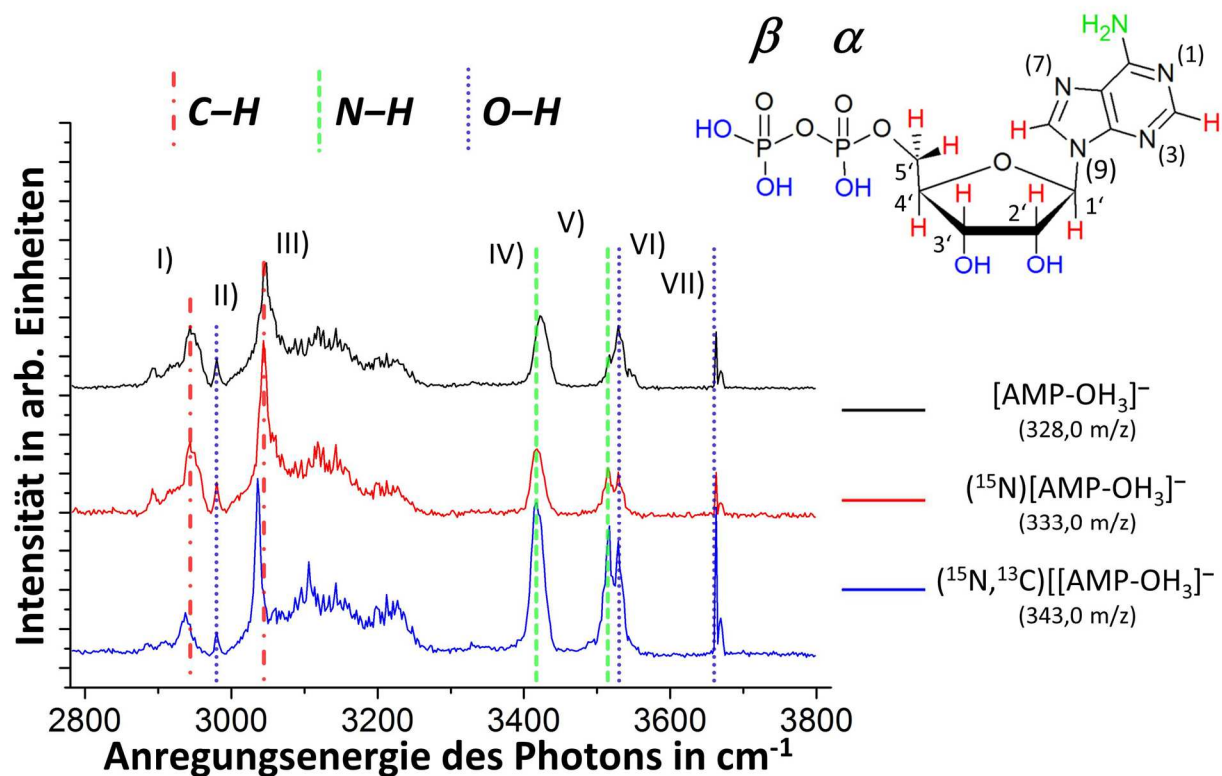
Auch wenn nicht abschließend beantwortet werden kann, ob das isotoopenmarkierte ADP aus Hydrolyse-Prozessen in der Lösung oder durch Zerfall von zweifach deprotoniertem ATP während des Sprühvorgangs entstanden ist, so zeigt die Messung doch, dass die isotoopenmarkierten Spektren mit dem ADP Spektrum aus der Referenzprobe überein stimmen. Aufgrund der Komplexität des Experiments und der geringen Dissoziationsenergie des zweifach deprotonierten  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  war es jedoch weder möglich, eine Fragmentation im Sprühprozess, noch eine Hydrolyse in der Lösung völlig auszuschließen. Es ist anzunehmen, dass eine Mischung aus beiden Prozessen zu der Bildung der isotoopenmarkierten ( $^{15}\text{N}$ )  $[\text{ADP-H}]^-$  und ( $^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}$ )  $[\text{ADP-H}]^-$  Spezies führt.

### IRMPD Spektroskopie

Für die IRMPD Spektroskopie wurde die Probe, mit dem in dieser Arbeit beschriebenen experimentellen Aufbau, durch Einsatz der NanoEsi-Quelle in die Gasphase überführt. Hierfür wurden unbeschichtete Borosilikatnadeln mit einem Innendurchmesser von ca.  $0,5\ \mu\text{m}$  an der Spitze verwendet. Die angelegte Spannung betrug zwischen  $-800\ \text{V}$  und  $-1300\ \text{V}$  und der Abstand der Nadel zur Kapillare betrug zwischen 10 und 15 mm. Der Hexapole wurde auf die Intensität des einfach deprotonierten ADP optimiert. Die Einstellungen für das IR-OPO Lasersystem, die Messmethode und die Auswertung der Spektren wurden wie in Abschnitt 3.3.1 für die Spektroskopie des ATP beschrieben, ausgeführt.

Die Fragmentierung des Mutterions folgt dem Dissoziationsschema aus Abbildung 46. Aus dem einfach deprotonierten *parent ion*  $[\text{ADP-H}]^-$  wird durch Photodissoziation ein neutrales  $\text{H}_3\text{PO}_4$  abgespalten und das einfach geladene  $[\text{AMP-OH}_3]^-$  entsteht. Ein analoges Fragmentationsverhalten wurde für die isotoopenmarkierten  $[\text{ADP-H}]^-$  gemessen. Dieses Verhalten ist in Übereinstimmung mit den ausgeführten CID Untersuchung. In Abbildung 54 sind die IRMPD Spektren der drei Anionen in *action* aufgetragen. Insgesamt können in allen drei einfach deprotonierten ADP-Spektren charakteristische Banden identifiziert werden, die sich durch die Rotverschiebungen bei der entsprechenden Isotoopenmarkierung unterscheiden. Die Zuordnung der sechs charakteristischen Banden ist in Tabelle 10 aufgelistet.

Für die Beschreibung der einzelnen Banden wird die bereits bei der Interpretation des ATP Spektrums verwendete Nomenklatur verwendet, die auch in der Darstellung des Moleküls in Abbildung 54 eingefügt ist.



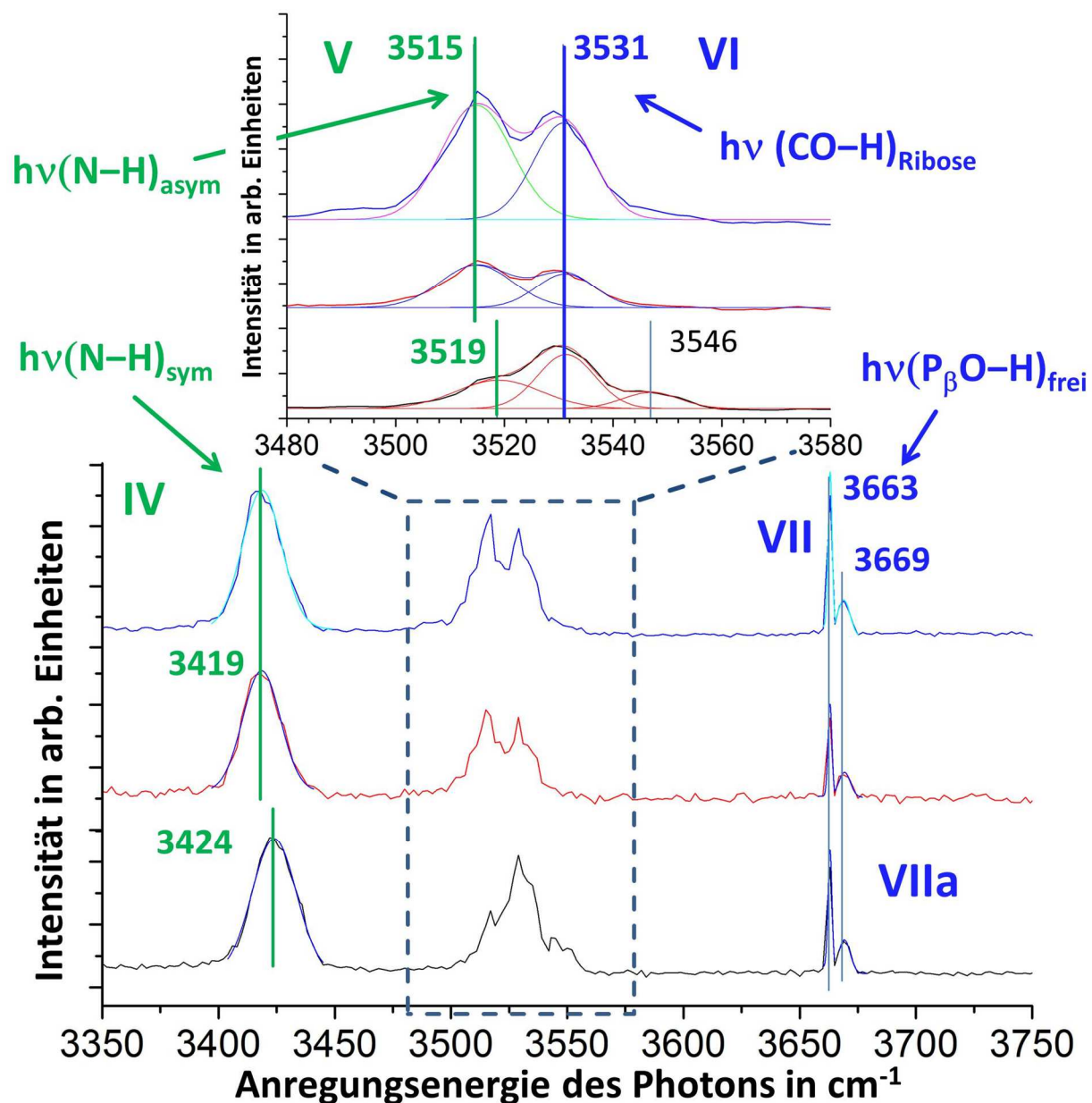
**Abbildung 54** Spektrum von ADP in *action*. Zum einen das IRMPD Spektrum des  $[\text{AMP-OH}_3]^-$  (schwarz), das  $(^{15}\text{N})[\text{AMP-OH}_3]^-$  (rot) und das  $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})[\text{AMP-OH}_3]^-$  (blau). Die Intensitäten wurden normiert und den charakteristischen Banden römische Ziffern zugeordnet.

Tabelle 10: Vergleich der IRMPD Spektren des einfach deprotonierten ADP

Zuordnung	Frequenz $\text{ADP}^-$	Frequenz $(^{15}\text{N})\text{ADP}^-$	Frequenz $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})\text{ADP}^-$	Schwingung
I	$2944\text{ cm}^{-1}$	$2944\text{ cm}^{-1}$	$2937\text{ cm}^{-1}$	C–H
II	$2980\text{ cm}^{-1}$	$2980\text{ cm}^{-1}$	$2980\text{ cm}^{-1}$	O–H
III	$3045\text{ cm}^{-1}$	$3045\text{ cm}^{-1}$	$3036\text{ cm}^{-1}$	C–H
IV	$3424\text{ cm}^{-1}$	$3419\text{ cm}^{-1}$	$3419\text{ cm}^{-1}$	N–H
V	$3519\text{ cm}^{-1}$	$3515\text{ cm}^{-1}$	$3515\text{ cm}^{-1}$	N–H
VI	$3531\text{ cm}^{-1}$	$3531\text{ cm}^{-1}$	$3531\text{ cm}^{-1}$	O–H
VII	$3663\text{ cm}^{-1}$	$3663\text{ cm}^{-1}$	$3663\text{ cm}^{-1}$	O–H
VIIa	$3669\text{ cm}^{-1}$	$3669\text{ cm}^{-1}$	$3669\text{ cm}^{-1}$	O–H



Als Schlussfolgerung aus den IRMPD Spektren ist die Existenz eines zweiten Isomers mit geringerer Intensität wahrscheinlich. Dies zeigt sich in der Aufspaltung der freien O–H Bande bei  $3663\text{ cm}^{-1}$  und  $3669\text{ cm}^{-1}$ . Ein weiterer Hinweis liefert die fehlende Auflösung der asymmetrischen N–H Streckschwingung bei zwischen  $3500\text{ cm}^{-1}$  und  $3550\text{ cm}^{-1}$  aufgrund der Überlagerung mit mindestens zwei O–H Banden. Dies ist im IRMPD Spektrum oberhalb von  $3350\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen (siehe Abbildung 55).



**Abbildung 55.** Zwischen  $3350\text{ cm}^{-1}$  und  $3750\text{ cm}^{-1}$  vergrößertes IRMPD Spektren von  $[\text{ADP-H}]^-$  und den isotonenmarkierten Äquivalenten ausgewertet in *action* durch  $[\text{AMP-OH}_3]^-$  (schwarz),  $(^{15}\text{N})[\text{AMP-OH}_3]^-$  (rot) und  $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})[\text{AMP-OH}_3]^-$  (blau) (siehe auch Abbildung 54).

Das Strukturmuster aus dieser Bande besteht aus der Überlagerung der asymmetrischen N–H Streckschwingung mit einer O–H Streckschwingung. Die O–H Streckschwingung konnte hier eindeutig der Wechselwirkung der beiden Ribose-Hydroxylgruppen zugewiesen werden. Dennoch kann diese Schwingung in unterschiedlichen Isomeren sowohl durch die 3'-OH Gruppe als auch der 2'-OH Gruppe interpretiert werden. Aufgrund der Rotverschiebungen der Banden IV und V aus Tabelle 10 kann eine direkte Zuordnung zu der symmetrischen und asymmetrischen N-H Streckschwingung vorgenommen werden. Die nahezu identische Bandenposition im Vergleich zu dem Spektrum des zweifach deprotonierten ATP Dianions lässt eine Interpretation im Sinne einer freien NH<sub>2</sub> Gruppe am Adeninring zu. Für die zu erwartende 3-dimensionale Struktur kann somit eine intramolekulare Wechselwirkung der NH<sub>2</sub> Gruppe ausgeschlossen werden. Weitere Übereinstimmungen der Spektren für das [ADP-H]<sup>-</sup> und das [ATP-2H]<sup>2-</sup> sind auch im Bereich der in Wasserstoffbrücken involvierten Streckschwingungen zu finden. So ist die charakteristische O–H Bande bei 2980 cm<sup>-1</sup>, die der Phosphat-Hydroxyl-Phosphat Wechselwirkung zugeschrieben wurde, ebenso in dem einfach deprotonierten ADP-Spektrum präsent, wie die intensive C-H Streckschwingung bei 3045 cm<sup>-1</sup>, die gegenüber den ATP Spektren um 8 cm<sup>-1</sup> rotverschoben ist und bei der Interpretation der C<sub>5ring</sub>-H Streckschwingung zugeordnet wurde.

### Semi-empirische Rechnungen zur Strukturbestimmung

Wie auch dieser Abschnitt zeigt liegt eine Herausforderung der IRMPD Schwingungsspektroskopie darin, dass eine Interpretation ohne die Unterstützung von quantenmechanischen Rechnungen schwer möglich ist. Dies hat sich oberflächlich gesehen zwar seit der Renaissance dieser Methode in den 1990er Jahren nicht verändert, dennoch ist es aktuell möglich, den Anteil an quantenmechanischen Rechnungen signifikant zu reduzieren und mit sehr geringem Qualitätsverlusten durch semi-empirische Rechnungen zu ersetzen. Die Vorteile dieses Ansatzes sind vielschichtig, gehen aber zum Großteil auf die geringeren Kosten<sup>xiii</sup> der semi-empirischen gegenüber den quantenmechanischen Rechnungen zurück. Aktuelle Programmpakete bieten mit diesem Ansatz viel Potential zur Automatisierung, sowohl für molekular dynamische als auch für semi-empirische Rechnungen, was für die Isomerensuche in großen Molekülen unersetzlich ist.<sup>191</sup> Durch die Entwicklungen von Hyperchem 7.5 (Hypercube Inc., Gainsville (FL)) und MOPAC 2012 (open mopac - James Stewart, Colorado Springs, (CO)) standen dem Arbeitskreis seit Beginn 2012 weitere mächtige Werkzeuge zur Verfügung, die die Qualität dieser Rechnungen weiter erhöhten.<sup>192</sup> In diesem Abschnitt soll anhand der einfach deprotonierten ADP Strukturen das Vorgehen zur Strukturanalyse unter Einsatz dieser Programme detailliert aufgezeigt werden. Zusätzlich wird in einem weiteren Zwischenschritt

---

<sup>xiii</sup> Die Rechenzeit, die abhängig vom verwendeten Rechner und der Leistung der Prozessor ist, wird allgemein als „Kosten“ bezeichnet.

die auf dem Dichtefunktional basierende „Tight binding“ (DFTB3-)Rechenmethode diskutiert. Hierbei handelt es sich um eine schnelle und effiziente Hybrid-Methode, basierend auf der Expansion zweiter Ordnung der Energie in der Dichtefunktionaltheorie (DFT), nach der Energieberechnung von Kohn-Sham. Die Methode wird am Karlsruhe Institut für Technologie, im Arbeitskreis Elstner weiterentwickelt und wurde in den vergangenen Jahren kontinuierlich verbessert.<sup>193-195</sup> Ziel dieser Untersuchungen ist es einerseits die benötigten quantenmechanischen Rechnungen für die Interpretation der [ADP-H]<sup>-</sup> Molekül zu verringern und durch ein *Benchmark* mit den experimentellen Daten zur Verbesserung dieser Rechenmethode beizutragen. Hierfür wird ein Vergleich der aktuellen Leistungsfähigkeit dieser Methode gegenüber den DFT Rechnungen diskutiert.

Allgemein wurde in einem ersten Schritt mögliche Grundmotive<sup>xiv</sup> der Strukturen identifiziert und für jeden Kandidaten durch eine Heiz- und Abkühl-Prozedur Strukturkandidaten erzeugt. Anschließend wurde in den semi-empirischen Rechnungen jeweils ein Rechenschritt mit einer Auswertung der Energien und einer Filterung der Strukturen kombiniert. Die Ebenen, die zur Strukturanalyse durchlaufen wurden, waren (i) molekular dynamische Simulationen, (ii) semi-empirische Simulationen und (iii) DFTB3 Rechnungen. Die Ebenen werden im nachfolgenden einzeln erläutert und die verwendeten Skripte zur Automatisierung in Anhang A.2 aufgeführt. Die so ermittelten 20 wichtigsten Isomere wurden anschließend einer Geometrieoptimierung mit der DFT Methode im verwendeten Basissatz BP86/def2-TZVPP unterzogen und die erhaltenen Spektren mit dem Experiment verglichen.

### AMBER Kraftfeld Rechnungen

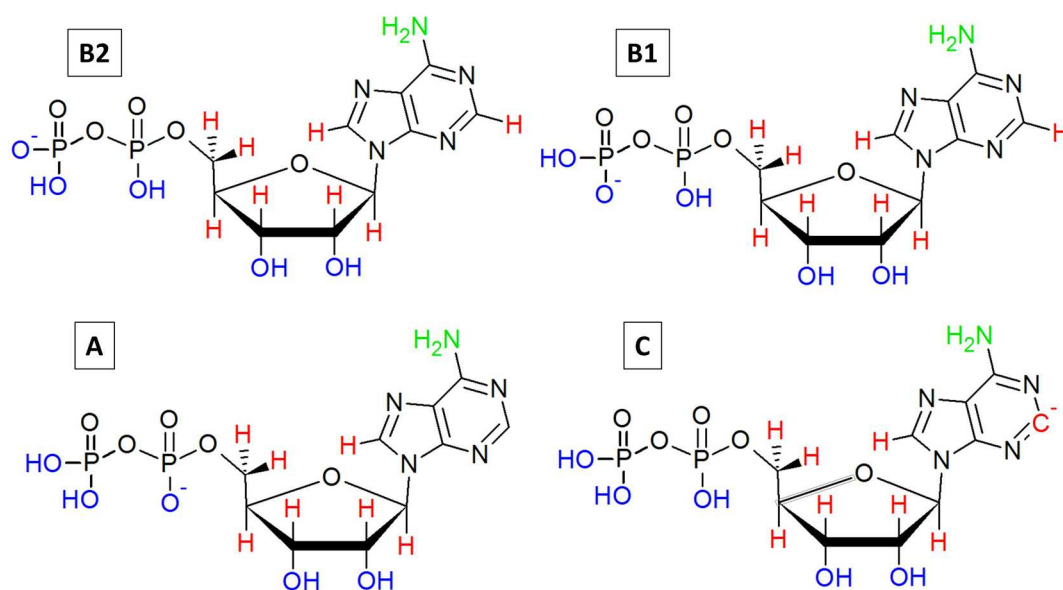
AMBER ist ein Akronym für „*Assisted Model Building with Energy*“ und steht für ein Kraftfeld, das für molekulardynamische Berechnungen optimiert wurde. Mit diesen Simulationen können in kürzester Zeit komplexe Mechanismen, wie das Aufheizen oder Abkühlen eines Moleküls über mehrere Pikosekunden hinweg berechnet werden. Eine detaillierte Beschreibung zur Entwicklung von AMBER wurde unter anderem von Walker *et al.* veröffentlicht.<sup>196, 197</sup>

Als Ausgangslage der AMBER Rechnungen wurden vier Startstrukturen für das einfach deprotonierte ADP erzeugt. Die Deprotonierung erfolgte hierfür an der Hydroxylgruppe des  $\alpha$  Phosphat (A), an jeweils einer der beiden Hydroxylgruppen des  $\beta$  Phosphat (B1 und B2) und am C2 Atom des Adeninrings (C). Die jeweiligen Strukturen sind in Abbildung 56 dargestellt. Die Strukturen B1 und B2 sollten stereochemisch ununterscheidbar sein, da es sich hierbei um Konformere handelt.

---

<sup>xiv</sup> Die Unterscheidung der Grundmotive basiert hier zum größten Teil auf unterschiedlichen Deprotonierungspositionen und werden im weiterführenden Text ausführlich erläutert.

Um aber ein Verfälschen des Ergebnisses durch eine hohe Energiebarriere zur Umlagerung aufgrund der intramolekularen Wasserstoffbrücken zu vermeiden, wurden die Strukturen zu Beginn der Rechnungen wie Isomere behandelt. Die Startstrukturen wurden in das AMBER Kraftfeld implementiert, und automatisch parametrisiert. Für jede dieser Strukturen wurde das [ADP-H]<sup>-</sup> für 10 ps auf 500 K erhitzt und anschließend für 10 ps abgekühlt. Die Geometrie der erhaltenen Struktur wurde optimiert und die Minimumsstruktur mit einer laufenden Nummer gespeichert. Dadurch wurden 500 Strukturen für jede dieser möglichen Startstrukturen generiert. Alle Rechnungen wurden auf einem Notebook (ASUS, Intel core i5, 4GB RAM) durchgeführt.



**Abbildung 56** Die vier Startstrukturen für die molekulardynamischen Simulationen des [ADP-H]<sup>-</sup> mit unterschiedlicher Lokalisierung der negativen Ladung.

### Semi-empirische Optimierung

Im nächsten Schritt wurde die semi-empirische Methode „*Parametrized Model number 3(PM3)*“<sup>190, 191</sup> auf die erhaltenen 500 Strukturen der molekulardynamischen Rechnungen angewendet. Die Ladung des Moleküls wurde einfach negativ und die Spinnmultiplizität auf Singlett gesetzt. Eine anschließende Geometrieoptimierung führte zu 500 optimierten Strukturen.<sup>198, 199</sup> Für diese Strukturen wurde nun die Energie durch eine *single point* Rechnung bestimmt und auf dem Ergebnis basierend aufsteigend sortiert. Die Auswertung erfolgte mit einer für diesen Zweck programmierten Software, die nach dieser Energie von günstig nach ungünstig sortierte, interne Nummern verteilt.

Die jeweils günstigsten Strukturen aus der A, B1, B2 und C Gruppe liegen innerhalb einer Gesamtenergie­differenz von ca. 0,02 eV. Im Gegensatz dazu zeigte die energetisch günstigste Struktur der C-Gruppe eine um eine Größenordnung höhere Energiedifferenz von 0,2 eV.

Die Deprotonierungen am C<sub>2</sub> Atom (und testweise am C<sub>8</sub> Atom) des Adeninrings konnten nur in ein Minimum übergehen, wenn das Proton einer Hydroxylgruppe am β Phosphat auf den Adeninring „übersprang“. Daher wurde die C-Gruppe für die Auswertung der Spektren verworfen und die Strukturen mit einer Protonenwanderung auf das β Phosphat als neue Isomere in die B1 Familie eingegliedert. Durch den geringen Energieunterschied der ersten 50 Strukturen mit ca. 0,15 eV entsteht an dieser Stelle ein teures Optimierungsproblem, da nun 150 Strukturkandidaten mit DFT/BP86 TZVPP berechnet werden müssten. Zur Umgehung dieser Problematik wurde für diese 150 Strukturen versucht mit der DFTB3 Methode eine weitere Reduktion der Kandidaten zu erreichen.

### DFTB3

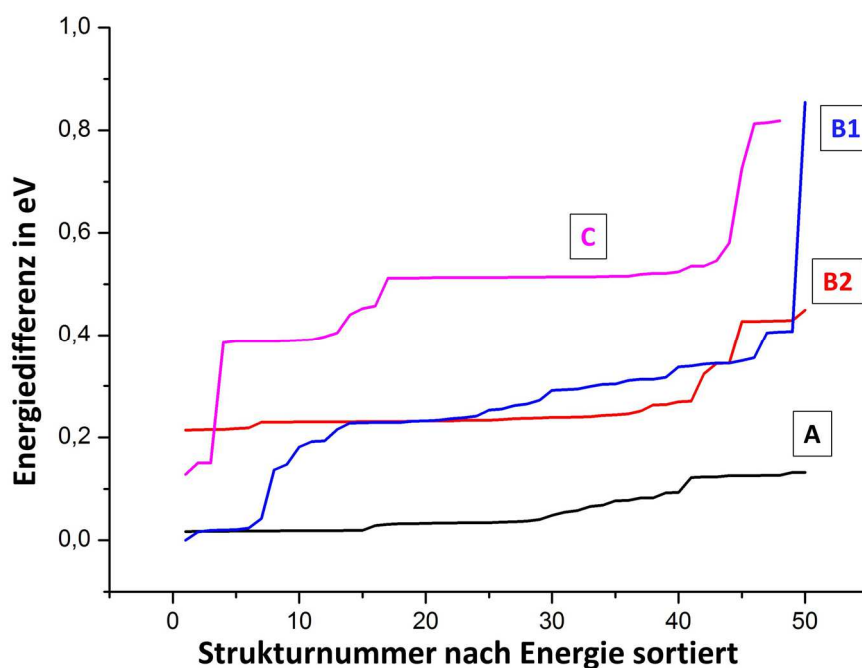
Dichtefunktional Tight Binding (DFTB) ist eine Rechenmethode die sich von der DFT Berechnung ableitet. Als Problem der ursprünglichen DFTB Methode konnte bereits früh die Beschreibung des Ladungstransfers zwischen den simulierten Atomen ausgemacht werden. Verbesserungen dieser Beschreibung führten zur Entwicklung der DFTB2 Methode mit einer Erweiterung der Taylorreihe für die Energieberechnung um einen Störterm (2. Ordnung), die zu einer deutlichen Verbesserung der Beschreibung von Geometrie und Schwingungsspektren der Testmoleküle führten<sup>200-202 203</sup>

Für eine weitere deutliche Verbesserung sorgte die Implementierung der 3. Ordnung der Taylorreihe durch Elstner *et al.* im Jahr 2011<sup>204</sup> und die Entwicklung eines hierfür optimierten Parametersets (3OB) für organische Moleküle im folgenden Jahr 2012.<sup>194</sup> Durch diese Verbesserungen ist es möglich eine Genauigkeit in den Rechnungen zu erreichen, die im Bereich von DFT Kalkulationen mit kleinem Basissatz liegen. Es ist aber anzumerken, dass eine DFT Rechnung mit einem großen Basissatz, zum Beispiel dem B3LYP, genauere Ergebnisse liefert, aber die Zeit für die Berechnung einer Struktur von DFTB3/3OB zu B3LYP um einen Faktor 250 ansteigt.<sup>194</sup>

Für die 50 energetisch günstigsten PM3 Strukturen der B1-, der B2-, der A- und der C-Familien wurde eine Geometrieoptimierung mit der DFTB3/3OB Methode vorgenommen und die Gesamtenergie der optimierten Strukturen berechnet. Zusätzlich wurde für das ADP die Parametrisierung für Phosphor verwendet, die in einer aktuell eingereichten Publikation von Elstner *et al.* vorgestellt wurde. Das Ergebnis der Energieoptimierung ist in Abbildung 57 aufgetragen. Hierfür wurden die Energien der B1- B2- A- und C- Strukturen des [ADP-H]<sup>-</sup> mit DFTB3/3OB berechnet und die Energiedifferenz mit der Gesamtenergie verglichen. Als zusätzliche Information wurde für alle Strukturen mit DFTB3/3OB ein Schwingungsspektrum simuliert.<sup>205, 206</sup> Als Ergebnis der Berechnungen wurde die Deprotonierung am β-Phosphat als günstigste Struktur bestimmt.

Dies steht jedoch im Widerspruch zu den Ergebnissen von Burke *et al.*, die eine am  $\alpha$ -Phosphat deprotonierte  $[\text{ADP-H}]^-$  Struktur (hier A-Familie) als Resultat einer quantenmechanischen Geometrieoptimierung und anschließendem Energievergleich mit B3LYP/6-31+G\* und Dispersionskorrektur postulieren.<sup>174</sup> Eine Energiedifferenz zu den Strukturen der B-Familie ist in dieser Publikation nicht vermerkt.

Für einen Vergleich dieser Methode mit DFT Rechnungen wurden die Geometrie der 10 energetisch günstigsten Strukturen der A- und B-Familie, davon drei aus der ursprünglichen C-Familie, mit DFT Rechnungen mit BP86/def2-TZVPP optimiert.



**Abbildung 57** DFTB3/3OB Energien der 50 energetisch günstigsten Strukturen der B1-, B2-, A- und C-Familien des  $[\text{ADP-H}]^-$  nach der Geometrieoptimierung. Die Energiedifferenz wurde in Elektronenvolt (eV) aufgetragen.

### DFT Rechnungen

In einem weiteren Schritt wurde eine Geometrieoptimierung der Strukturen mit der Dichtefunktionaltheorie im Programmpaket Turbomole (Version 6.2)<sup>130</sup> durchgeführt. Als Methode wurde die Kombination von BP86/def2-TZVPP verwendet.<sup>207, 208</sup> In Tabelle 11 ist das Ergebnis einer anschließenden *single point* Berechnung der geometrieoptimierten Strukturen aufgeführt. Die Schwingungsspektren zwischen  $2700\text{ cm}^{-1}$  und  $4000\text{ cm}^{-1}$  wurden mit dem *aoforce* Modul in Turbomole berechnet.<sup>209, 210</sup> Der Skalierungsfaktor für die Schwingungsfrequenzen wurde aus der Publikation von Wilson *et al.* übernommen, in der für die verwendete Methode ein Wert von 0,98 empfohlen wird.<sup>139</sup>

Da alle weiteren Deprotonierungsstellen durch die semi-empirischen Rechnungen ausgeschlossen wurden, soll zur Interpretation auf die von Burke *et al.* verwendete Bezeichnung mit  $\alpha$  für  $\alpha$ -Phosphat deprotonierte Strukturen (hier A-Familie) und  $\beta$  für  $\beta$ -Phosphat deprotonierte Strukturen (hier B1-Familie) zurückgegriffen werden. Die unterschiedlichen Isomere einer Deprotonierung werden mit einer laufenden Nummer unterschieden.

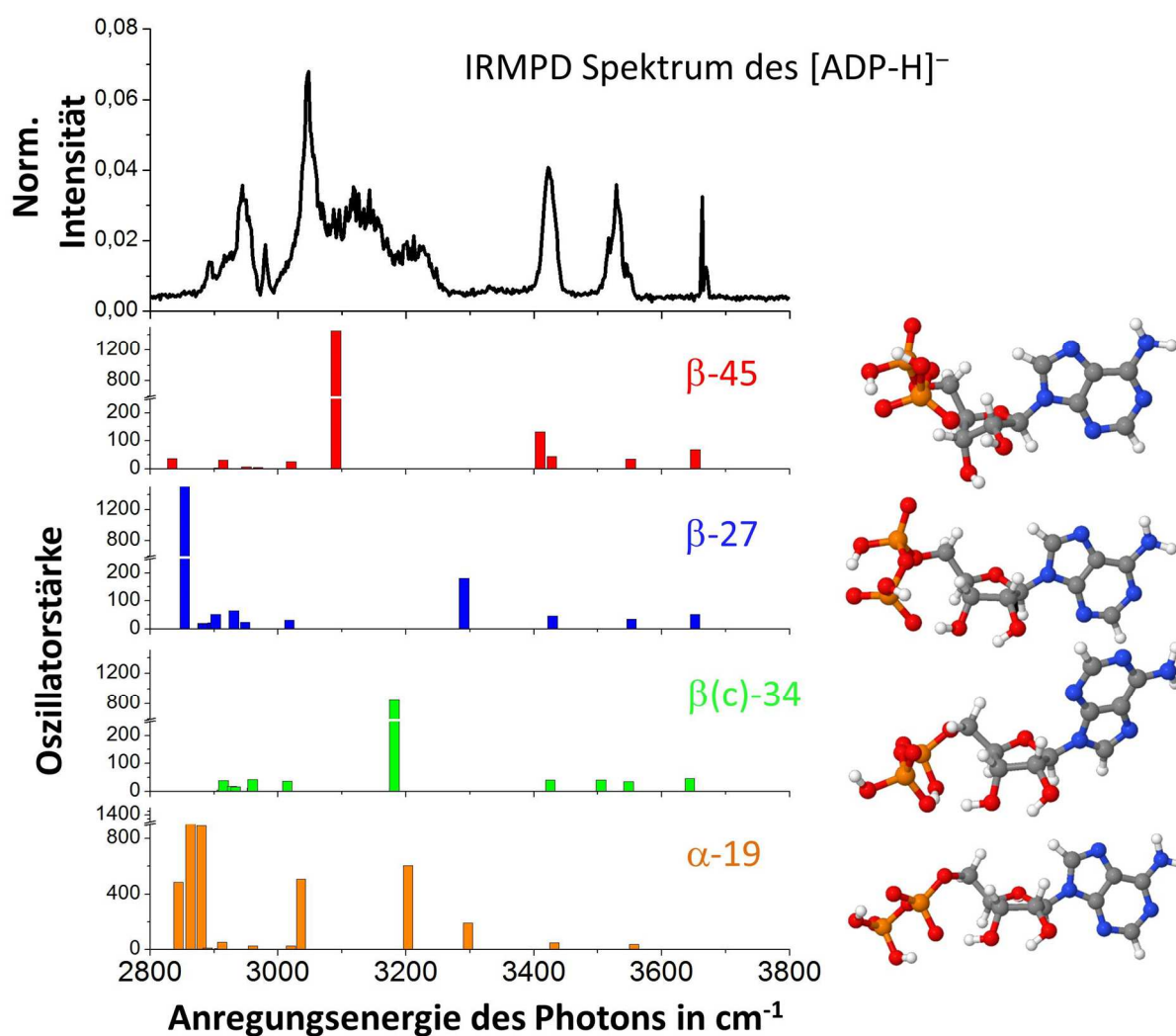
Als energetisch günstigste Struktur aller berechneten Isomere wurde wie bereits im DFTB3/3OB auch in den DFT Rechnungen die  $\beta$  Struktur (B1-Familie) für das  $[\text{ADP-H}]^-$  ermittelt. Zur Auswertung der IRMPD Spektren wurden die 15 Frequenzen der X-H (X=C, N, O) Schwingungsmoden dieser Strukturen berechnet.

Tabelle 11: Energien der DFT berechneten Strukturen für  $[\text{ADP-H}]^-$  sortiert nach der Gesamtenergie (BP86/def2-TZVPP). Die Strukturen mit einer Adeninring Deprotonierung aus Startstruktur sind mit einem (c) markiert.

Deprotonierung	Int. Nummer	Minimumsenergien $\Delta E$ in eV
$\beta$	27	0
$\beta$	16	0,00263
$\beta$	36	0,00296
$\beta$	13	0,00305
$\beta$	22	0,00328
$\beta$	10	0,00332
$\beta$	19	0,01837
$\beta$ (c)	41	0,06839
$\alpha$	19	0,09947
$\alpha$	20	0,10128
$\alpha$	38	0,10132
$\alpha$	16	0,10154
$\alpha$	17	0,10261
$\alpha$	18	0,10293
$\alpha$	35	0,10366
$\alpha$	39	0,10366
$\alpha$	29	0,10633
$\alpha$	31	0,10875
$\beta$	45	0,25583
$\beta$ (c)	38	0,31228
$\beta$ (c)	34	0,31407

### Vergleich der theoretischen und experimentellen Daten

Ein Vergleich der berechneten Schwingungen mit dem den experimentellen Daten zeigt Abbildung 58. Neben dem skalierten Schwingungsspektrum der energetisch günstigsten Struktur  $\beta$ -27 sind zwei weitere Isomere mit  $\beta$  Deprotonierung ( $\beta$ -45 und  $\beta$ (c)-34) abgebildet. Die weiteren Strukturen der  $\beta$  Familie führten zu Anordnungen, die mit der  $\beta$ -27 Struktur beinahe identisch waren und ähnliche Charakteristika in den Schwingungsspektren zeigten. Zusätzlich ist auch das Schwingungsspektrum des energetisch günstigsten  $\alpha$  Vertreters abgebildet. Die verbindende Eigenschaft der DFTB3/3OB Strukturen für die A Familie ergibt, dass alle Strukturen eine doppelte Wasserstoffbrücke der beiden  $\beta$ -Phosphat Hydroxylgruppen zu Sauerstoffatomen der  $\alpha$ -Phosphatgruppe aufweisen und keine freie O–H Streckschwingung besitzen. Daher ist die Deprotonierung der  $\alpha$ -Phosphatgruppe nicht geeignet um das Spektrum mit einem dominanten Isomer zu interpretieren.



**Abbildung 58** Vergleich des experimentellen Spektrums des  $[\text{ADP-H}]^-$  mit berechneten Spektren aus den DFT Rechnungen mit BP86/ def2-TZVPP



Die wichtigste Auffälligkeit beim Vergleich der experimentellen Daten mit der Theorie ist daher die Schwingung bei  $3663\text{ cm}^{-1}$ . Diese Bande kann aufgrund ihrer Position im Experiment eindeutig einer quasi-freien O–H Streckschwingung der Hydroxylgruppe am Phosphat zugeordnet werden. Da diese in keiner  $\alpha$  deprotonierten Struktur gefunden werden kann, ist die Bande ein eindeutiger Indikator für die bevorzugte  $\beta$ -Phosphat Deprotonierung

Dies ist ebenfalls im Einklang mit den Ergebnissen von Burke *et al.*, dessen mit B3/LYP und Dispersionskorrektur berechnete energetisch günstigste 3D-Struktur,<sup>174</sup> zwar von der in dieser Arbeit gefunden Minimumsstruktur für die  $\alpha$  Deprotonierung abweicht, aber aufgrund der zweifachen Wasserstoffbrücke der Hydroxylgruppen am  $\beta$  Phosphat nicht zur Interpretation des Spektrums geeignet ist. Das Experiment zeigt somit, dass die Gasphasenstruktur von der energetisch günstigsten Struktur mit der teuersten Rechenmethode abweicht und erlaubt es aufgrund der charakteristischen doppelten Wasserstoffbrücke die  $\alpha$  deprotonierten Strukturen aus der Diskussion auszuschließen. Dies wird auch durch eine für die  $\alpha$  Strukturen berechnete, intensive Bande bei  $3300\text{ cm}^{-1}$  bekräftigt, die der Wechselwirkung der Hydroxylgruppe am 3'C-Atom des Riboserings mit einem Sauerstoffatom des  $\alpha$  Phosphats entspricht und im experimentellen Spektrum nicht nachgewiesen werden konnte.

Auch wenn die Eingrenzung der Zielstruktur durch die Bestimmung der Deprotonierung sehr hilfreich ist, existiert eine große Vielfalt an  $\beta$  deprotonierten Strukturen. Die energetisch günstigsten Vertreter der drei bisher identifizierten Isomer-Familien, die sich durch die Partner der intramolekularen Wasserstoffbrücken unterscheiden sind in Abbildung 59 aufgeführt.

Jede vorliegende Struktur besitzt eine Phosphat-OH Wasserstoffbrücke (A) zu einem stark protonenaffinen, partiell negativ geladenen Sauerstoff einer benachbarten deprotonierten Phosphateinheit. Zusätzlich werden zwei weitere charakteristische Banden durch eine Wasserstoffbrücken der Hydroxylgruppe am 3'C Atom (B) und am 2'C Atom (C) des Riboserings gebildet. Hierbei wechselwirkt eine der beiden Hydroxylgruppen mit dem partiell geladenen Sauerstoff am  $\alpha$  Phosphor und die benachbarte Hydroxylgruppe bildet eine schwache Wasserstoffbrücke mit dem nun ebenfalls partiell geladenen Sauerstoff am benachbarten C Atom des Riboserings. Während in den meisten Strukturen eine Wasserstoffbrücke zwischen der Hydroxylgruppe am 3'C Atom (B) und der Phosphateinheit gebildet wird, zeigt die  $\beta$ -45 eine Anordnung mit einer Wasserstoffbrücke (C) (der Hydroxylgruppe am 2'C Atom) mit der Phosphateinheit. Der Energieunterschied dieser beiden Strukturen beträgt in den DFT Rechnungen  $0,3\text{ eV}$  ohne Dispersionskorrektur. Der Unterschied der  $\beta$ (c)-34 Struktur gegenüber der energetisch günstigsten  $\beta$ -27 Struktur ist die intramolekularen Wasserstoffbrücken der Hydroxylgruppe am  $\alpha$  Phosphor zu erkennen, die ähnlich der  $\alpha\beta$ 1 und  $\alpha\beta$ 2 Isomere in den ATP Strukturen (siehe Abschnitt 3.3.1) mit den unterschiedlichen Sauerstoffatomen am  $\alpha$  Phosphor wechselwirkt.

Es ist allgemein zu beachten, dass die Wasserstoffbrückenbildung zwischen den Phosphatgruppen, die in allen Strukturen vorhanden sind, eine große Rotverschiebung besitzen und eine korrekte Energieberechnung durch quantenmechanische Rechnungen erschweren. Daher wurde der große Energieunterschied von 0,25 eV und 0,3 eV der  $\beta$ -45 und der  $\beta(c)$ -34 Struktur im Vergleich zur  $\beta$ -27 nicht für die Interpretation herangezogen. Ein Vergleich der berechneten Schwingungsmoden dieser drei Strukturen ist in Tabelle 12 dargestellt.

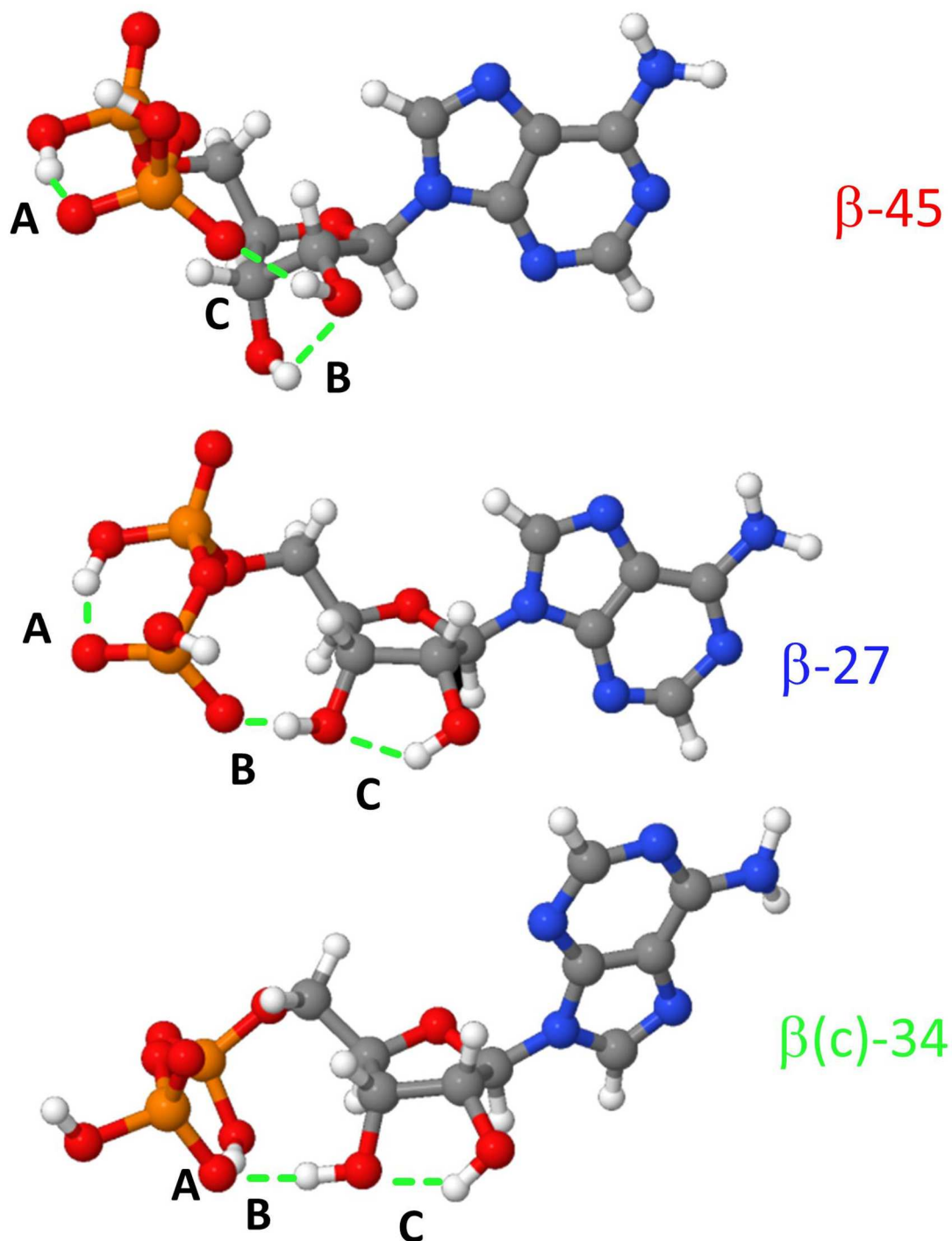


Abbildung 59 Vertreter der drei Isomerfamilien mit  $\beta$  Deprotonierung.

Die Zuordnung zu den zu zugehörigen X–H (X = N, C, O) Schwingungen wurde anhand der Ergebnisse der DFT Rechnungen mit dem Programmpaket Molden vorgenommen, wobei eine der C–H Streckschwingungen aufgrund einer um eine Größenordnung geringere Intensität nicht berücksichtigt wurde.

Tabelle 12: Auflistung der Schwingungsfrequenzen (*scaling factor*: 0,98) für die Struktur  $\beta$ -45,  $\beta$ -27 und  $\beta$ -34, Deprotonierung und die jeweilige Zuordnung der Moden.

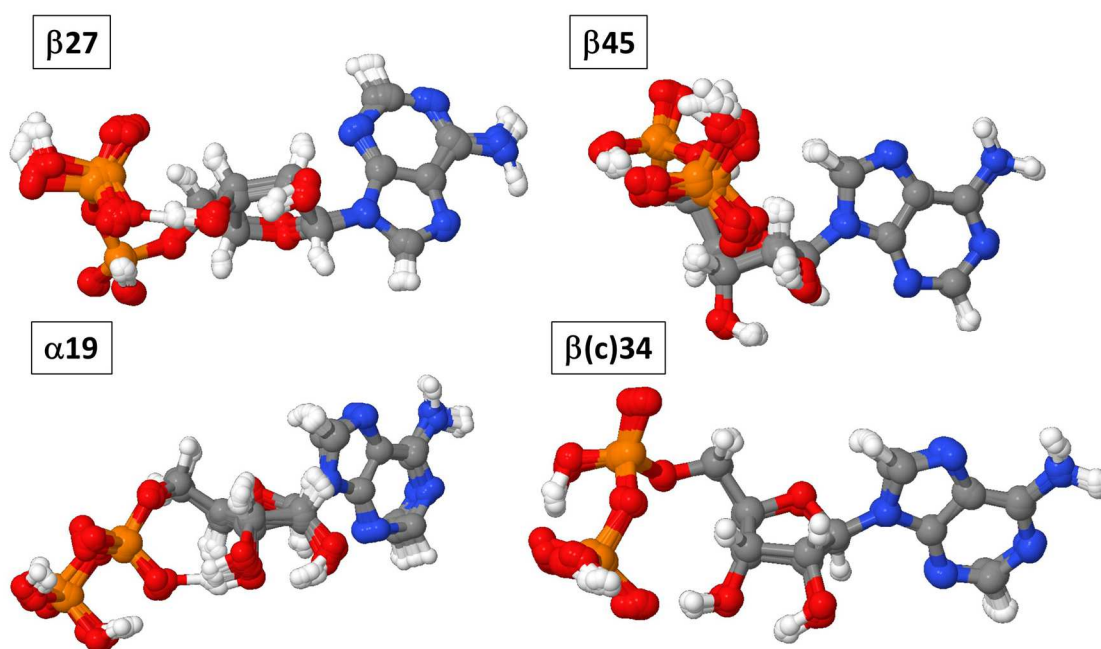
Schwingungs- mode	$\beta$ -45		$\beta$ -27		$\beta(c)$ -34	
	Frequenz in $\text{cm}^{-1}$ (Intensität km/mol)		Frequenz in $\text{cm}^{-1}$ (Intensität km/mol)		Frequenz in $\text{cm}^{-1}$ (Intensität km/mol)	
$\text{P}_{\alpha}\text{OH}$	2227,6	(1302)	2329,4	(1257)	2692,7	(908)
$\text{C}_{6\text{ring}}\text{H}$	2911,5	(5)	2854,1	(2324)	2834,5	(36)
$\text{symC}_5\text{H}_2$	2914,6	(38)	2881,5	(19)	2900,3	(1)
$\text{asC}_5\text{H}_2$	2928,2	(17)	2882,8	(15)	2906,8	(3)
$\text{C}_1\text{H}$	2933,9	(16)	2897,4	(21)	2914,1	(31)
$\text{C}_2\text{H}$	2959,5	(12)	2902,2	(52)	2950,3	(7)
$\text{C}_3\text{H}$	2960,3	(43)	2931,0	(64)	2968,7	(6)
$\text{C}_4\text{H}$	-	-	-	-	-	-
$\text{C}_{5\text{ring}}\text{H}$	3014,5	(36)	3017,7	(31)	3020,4	(25)
$\text{C}_3\text{OH}$	3505,1	(40)	2948,	(24)	3090,4	(1454)
$\text{C}_2\text{OH}$	3181,8	(847)	3290,7	(180)	3409,8	(132)
$\text{symNH}_2$	3425,8	(41)	3429,2	(45)	3428,2	(44)
$\text{asNH}_2$	3548,2	(34)	3552,7	(35)	3551,4	(34)
$\text{P}_{\beta}\text{OH}$	3643,5	(46)	3651,8	(51)	3652,3	(68)

Die Positionen der symmetrischen und asymmetrischen  $\text{NH}_2$  Streckschwingungen, sowie der freien O–H Streckschwingung der  $\beta$ -Phosphat-Hydroxylgruppe sind in allen drei Spektren annähernd identisch. Aufgrund dieser Schwingungen ist auch eine Abschätzung der Qualität des verwendeten Skalierungsfaktors möglich, der die Banden mit einem Fehler von ca.  $10 \text{ cm}^{-1}$  bis  $15 \text{ cm}^{-1}$  beschreibt.

Eine Beschreibung des experimentellen Spektrums durch eine einzelne Struktur ist, wie im Falle das  $[\text{ATP-H}]^-$ , auch hier nicht direkt möglich. Aufgrund der IRMPD Spektren besteht eine Tendenz zu der  $\beta(c)$ -34 Struktur, die aber mit einer Energiedifferenz von 0,31 eV zur  $\beta$ -27 Struktur die energetisch ungünstigste, berechnete DFT Struktur ist. Für eine abschließende Zuordnung des Spektrums zu einem Isomer sollte daher eine ausführliche DFT Optimierung mit einem großen Basissatz und Dispersionskorrektur verwendet werden. Außerdem wurde die Isomerensuche bereits zu Beginn des Abschnitts als problematisch identifiziert.

Bemerkenswert ist, dass sowohl die Minimumsenergie als auch die Schwingungsspektren der DFTB3/3OB Rechnungen die Vorhersage der  $\beta$  Phosphatstruktur erzielten, was durch die DFT Rechnungen belegt wurde. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Geometrieoptimie-

rung dieser Methode bereits nahe an der DFT Struktur im Minimum liegt und somit die Realität sehr gut beschreibt. Dies ist in Abbildung 60 durch den Verlauf der Geometrieoptimierung mit DFT/BP86 gezeigt. Mit der Endstruktur der DFTB3/3OB Optimierung beginnend wurden Positionsdaten des Isomers in verschiedenen Iterationen der Geometrieoptimierung mit BP86/def2-TZVPP gespeichert und übereinander abgebildet.



**Abbildung 60** Verlauf der DFT Geometrieoptimierung mit BP86/def2-TZVPP.

Deutlich wird, dass die Geometrien die aus der DFTB3/3OB Rechnung erhalten wurden, sich nur sehr geringfügig verändern und die Familienzugehörigkeit in allen untersuchten Fällen beibehalten wurde.

Daher wäre es sinnvoll aufgrund der Qualität der DFTB-Rechnungen eine veränderte Strategie zu erwägen. Hierzu könnte das Resultat die DFTB3 Strukturoptimierung in Bezug auf Energie, Kollisionsquerschnitt und Schwingungsspektrum untersucht und durch einen Automatismus, innerhalb definierter Randkriterien, mögliche Strukturkandidaten vorselektiert werden. Aufgrund der geringen Kosten dieser Methode wären auch Optimierungen und Sortierungen von mehreren hundert Strukturen dieser Größe problemlos möglich. Ein solches Vorgehen hätte in diesem Fall die 20 Strukturen der DFT Optimierung auf 8 Strukturen reduziert und würde den direkten Einsatz von teuren Methoden wie Beispielsweise MP2 zur *single point* Energiebestimmung erlauben. Dies könnte dann die Menge an DFT Geometrieoptimierungen nach einer Selektion über diese *single point* Energie weiter reduzieren, mit der Einschränkung, dass für alle unterschiedlichen Strukturfamilien ein Vertreter optimiert werden muss.

### Diskussion des einfach deprotonierten [ADP-H]<sup>-</sup>

Die theoretischen und experimentellen Ergebnisse führen zu der Aussage, dass eine  $\beta$ -Phosphat deprotonierte Struktur (Abbildung 61) als dominantes Isomer in der Gasphase vorliegt.

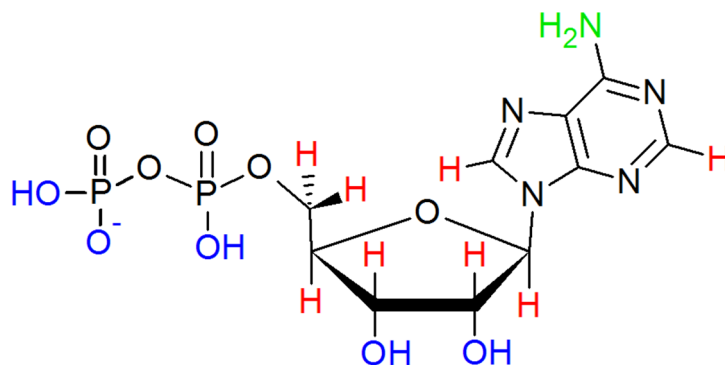


Abbildung 61 Strukturformel des einfach deprotonierten [ADP-H]<sup>-</sup>

Alle charakteristischen Banden können durch die simulierten Schwingungsspektren dieser Deprotonierung interpretiert werden. Neben der Identifizierung der Bande bei  $3663\text{ cm}^{-1}$  als freie Hydroxyl-Streckschwingung der  $\beta$  Deprotonierung, lässt die Abwesenheit einer Bande im Bereich von  $3300\text{ cm}^{-1}$  und unterhalb von  $2900\text{ cm}^{-1}$  auch auf eine Abwesenheit der  $\alpha$  Deprotonierung als nicht-dominantes Isomer schließen. Eine eindeutige Festlegung auf eine Sekundärstruktur dieser  $\beta$ -Familie ist aber ohne eine tiefergehende theoretische Betrachtung nicht möglich, vor allem in Anbetracht, dass die von Burke *et al.* gefundene  $\alpha$ -Struktur aus aufwendigeren B3LYP Rechnungen sich als energetisch tiefer eingestuft erwiesen haben.<sup>174</sup> Interessant ist, dass entgegen der chemischen Intuition, die eine Deprotonierung in  $\alpha$  Position, stabilisiert durch zwei Wasserstoffbrücken der  $\beta$ -Phosphat-Hydroxylgruppen, vermuten lässt, sich die Stabilisierung der Ladung durch die intramolekulare Wasserstoffbrücke mit der  $\alpha$ -Phosphat-Hydroxylgruppe durchsetzt. Der Energiegewinn aus dieser Wasserstoffbrückenbindung mit geringerer „Pseudoringsspannung“ wird überkompensiert und gleicht somit anscheinend den Energiegewinn aus zwei Wasserstoffbrückenbindungen mit „Pseudoringsspannung“ aus. Diese Brückenbindungen wiederum sind äußerst wichtig für die Zerfallsprozesse vieler anionischer Biomoleküle, in denen die intramolekularen Wechselwirkungen die Dissoziationsprodukte zu beeinflussen scheinen.<sup>211-213</sup> Dementsprechend wichtig ist es, den theoretischen Modellen experimentelle Daten als Bezugspunkt an die Hand zu geben, die zu einer Verfeinerung der berechneten Strukturen führen und damit die Berechnung der intramolekularen Wasserstoffbrücken verbessert.

Die eingesetzte DFTB3/3OB Methode birgt mit ihrer rapiden Entwicklung und signifikanten Verbesserungen in kurzer Zeit, ein großes Potential, günstige Strukturoptimierungen zu standardisieren. Eine Automatisierung der Strukturaufklärung, wie sie in diesem Abschnitt beschrieben wurde, würde den Kosten/Nutzen Quotienten der Strukturanalyse als Standardtool erheblich erhöhen und gleichzeitig eine Berechnung auf einfachen Bürocomputern erlauben.

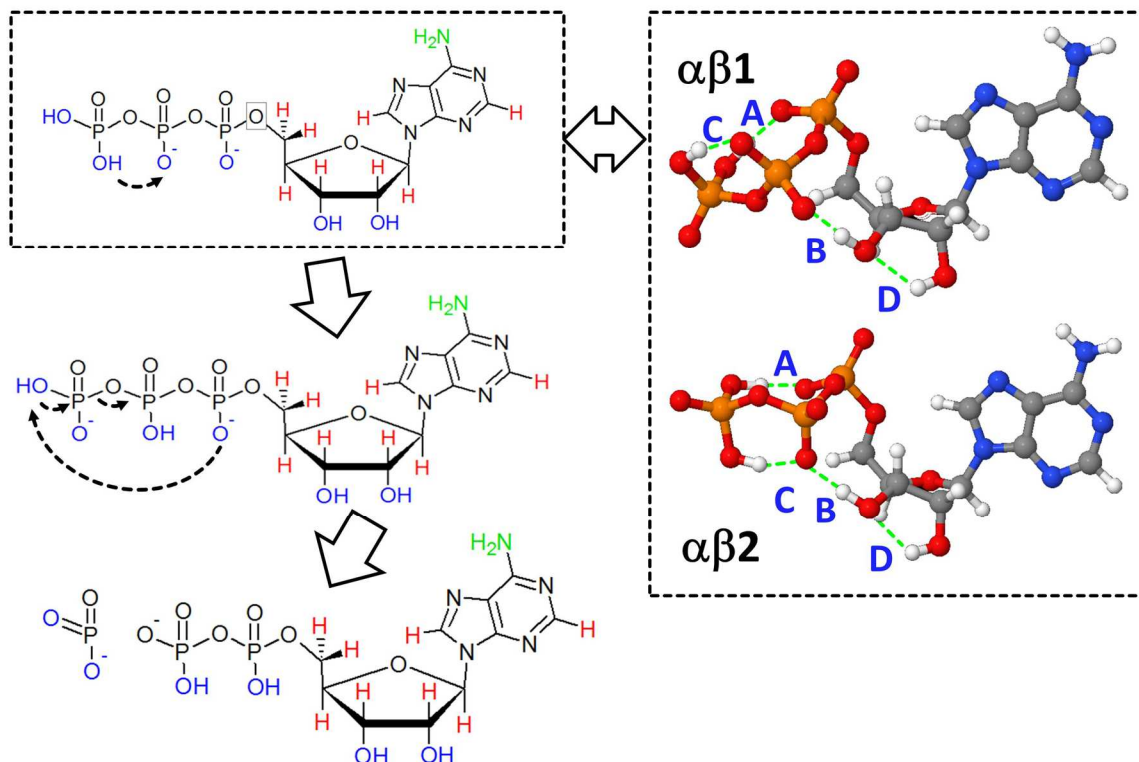
### 3.3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse zum ATP und ADP

Im vorangegangenen Abschnitt wurde gezeigt, wie effektiv die Isotopenmarkierung zur Strukturaufklärung ist und welche Vorteile sich in Kombination mit einer Penningfalle für die Laserspektroskopie ergeben. Mit den isotopenmarkierten Messungen konnte die Position der Ladungen für das zweifach deprotonierte ATP und das einfach deprotonierte ADP in der Gasphase lokalisiert werden. Erwähnenswert ist, dass in beiden Fällen die Positionierung der Ladung von einer, der natürlichen chemischen Intuition folgenden, Deprotonierung abweicht. Zusätzlich wurde die Leistungsfähigkeit der DFTB3/3OB Methode zur Strukturberechnung exemplarisch am Beispiel des ADP erörtert und das Ergebnis mit der quantenmechanischen DFT-Rechenmethode, im Basissatz BP86/def2-TZVPP, verglichen.

In den vorgegangenen Abschnitten konnte außerdem gezeigt werden, dass sowohl beim  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  als auch beim  $[\text{ADP-H}]^-$  die Struktur von den intramolekularen Wasserstoffbrücken dominiert wird. Ein Vergleich der IRMPD Spektren der beiden Moleküle zeigt zusätzlich noch charakteristische Banden, deren Position direkt übereinstimmen. So ist in beiden Spektren eine eindeutige OH-Bande zu erkennen (bei  $2981\text{ cm}^{-1}$ ), die der Mode aus der Wasserstoffbrücke des ladungstragenden Sauerstoffatoms am  $\alpha$  Phosphor mit einer Hydroxylgruppe einer naheliegenden Phosphateinheit zugeordnet werden konnte. Beide Spektren zeigen zusätzlich eine ähnliche Wechselwirkung zwischen den Hydroxylgruppen am Ribosering. Auch in den Rechnungen zu beiden Molekülen ist die Konkurrenz der  $\alpha\beta 2$  und  $\alpha\beta 1$  Isomer-Familien im ATP, respektive der b-27 und der b(c)-34 Isomer-Familien im ADP zu erkennen. Diese Konkurrenz bezieht sich auf Wechselwirkung der  $3'\text{C}$  Hydroxylgruppe mit dem ladungstragenden, deprotonierten Sauerstoffatom oder mit dem nicht ladungstragenden Sauerstoffatom am  $\beta$ -Phosphat. Während einerseits die Wechselwirkung mit der Ladung attraktiver erscheint, wird andererseits eine Pseudoringsspannung erzeugt, die in der Energiebilanz mit diesem Energiegewinn verglichen werden muss.

Auch wenn für beide Moleküle eine Zuordnung des Spektrums zu einer eindeutigen 3-D Struktur nicht möglich war, beinhaltet die Übereinstimmung der beiden eindeutig zugeordneten O–H Banden in den jeweiligen IR-Spektren einen großen Informationsgehalt. Aus diesen Informationen ergibt sich, dass die Wasserstoffbrücken zwischen dem Ribosering und dem  $\beta$  Phosphat in beiden Fällen einen identischen Abstand besitzen. So ist anzunehmen, dass diese Wasserstoffbrücken während der Dissoziation nicht aufgelöst und neu gebildet werden müssen, was eine mögliche Energiebarriere zur Dissoziation von zweifach deprotoniertem ATP zu einfach deprotoniertem ADP reduziert. So ist als Dissoziationsmechanismus eine einfacher Austausch der Ladung mit einem Wasserstoffatom zwischen  $\alpha$  und  $\gamma$  Phosphor und eine anschließende Dissoziation nach dem Muster, das von Burke *et al.* für das  $[\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_{10}]^{2-}$  durch Protonenwanderung vorgeschlagen wurde, vorstellbar.<sup>174</sup> Ein möglicher Mechanismus ist in Abbildung 62 abgebildet. Die eingezeichnete Protonenwanderung folgt

den Wasserstoffbrücken zwischen den Phosphatgruppen, die durch die IRMPD Spektroskopie zugeordnet wurden.



**Abbildung 62** Möglicher Fragmentationsmechanismus nach den Ergebnissen von Burke *et al.*<sup>174</sup> für das  $[\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_{10}]^{2-}$

Eine direkte Übersetzung der Erkenntnisse für die Hydrolyse von ATP zu ADP in Lösung ist aus den Daten der Gasphase zwar nicht möglich, aber aufgrund der Stabilität der Natrium-ADP und der Dinatrium-ATP Salze ist anzunehmen, dass diese untersuchten Ladungszustände auch in Lösung vorliegen. Daher dienen diese Ergebnisse als Grundlage für weiterführende Rechnungen unter Einbindung einer Solvathülle, die einen Einblick in einen der wichtigsten biologischen Prozesse bieten können. Ein weiterer wichtiger Schritt in diesem Zusammenhang ist die Untersuchung des  $\text{Na}[\text{ATP}-2\text{H}]^-$ , die in auf dieser Arbeit aufbauenden Studien erfolgen soll.



## 4 UV/Vis -Spektroskopie in einer Penningfalle

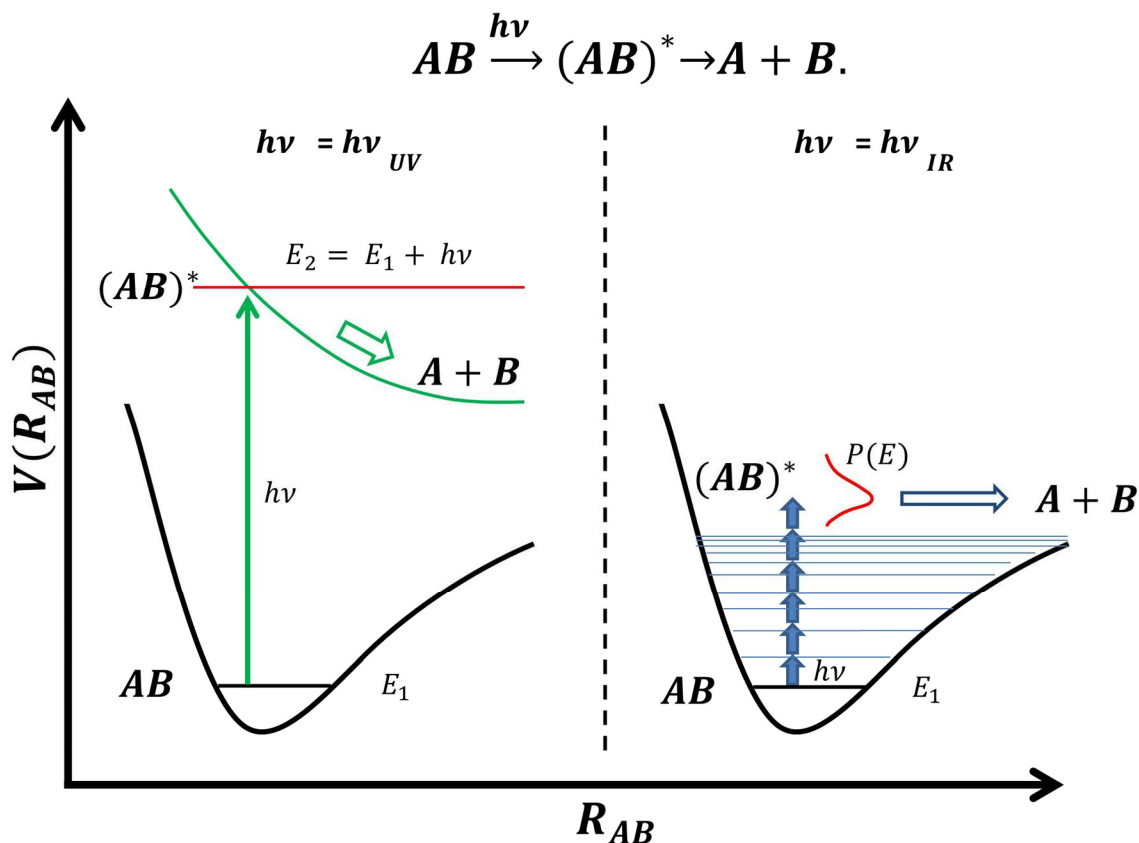
Das erste Photodissoziations(PD) Experiment an gespeicherten Molekülen war die Untersuchung des  $\text{H}_2^+$  Ions in einer Quadrupol-Ionenfalle von Dehmelt *et al.* 1962.<sup>214</sup> Der Übergang zu Photodissoziationsexperimenten an kleineren Molekülen, mit zwei bis drei Atomen, erfolgte dann rasch durch die Spektroskopie in einer Penningfalle, die mit ihrer Kombination aus Ionenspeicher und Massenspektrometer hierfür bestens geeignet schien.<sup>215, 216</sup> Die erste Photodissoziationsspektroskopie in einer solchen Falle wurde dann von Dunbar *et al.* im Jahr 1971 durchgeführt.<sup>9</sup> Seit dieser Zeit wurden zwar viele Weiterentwicklungen an dem Massenspektrometer und der verwendeten Photonen-Quelle vorgenommen, jedoch an dem Prinzip der Spektroskopie nichts verändert. Eine dieser modernen Photonenquellen wurde in Abschnitt 2.4.2 beschrieben, die durchstimmbare, intensive Photonenpakete mit einer definierten Wellenlänge im ultravioletten und sichtbaren Bereich erzeugt. Aufgrund der De Broglie Relation<sup>217</sup> und der resultierenden Gleichung  $E = h\nu$  ist ersichtlich, dass Photonen mit einer solchen Wellenlänge eine größere Energie besitzen als Photonen aus dem mittleren Infrarotbereich. So liegt die Energie eines Photons des verwendeten Lasersystems im UV/Vis Bereich zwischen 1,5 eV und 3,0 eV, wodurch nicht nur Schwingungen angeregt werden können, sondern auch die elektronischen Zustände Resonanzen aufzeigen (Siehe Abbildung 63).

Die Motivation zur Anwendung der UV/Vis Photodissoziationsspektroskopie kann im Allgemeinen in fünf Bereiche unterteilt werden. (1) Die optische Ionenspektroskopie, (2) Kinetische Untersuchungen von Dissoziationsprozessen, (3) die Dynamik eines Dissoziationsprozesses, (4) die Bestimmung von thermochemischen Größen aus der Dissoziation und (5) die Bestimmung der Struktur oder der inneren Energie eines Ions.<sup>11</sup> Unabhängig von der Fragestellung bleibt jedoch der experimentelle Aufbau identisch.

In dieser Arbeit wurde ein Aufbau zur elektronischen Photodissoziation nach dem Prinzip von Dunbar *et al.*<sup>9</sup> mit dem heutigen Stand der Technik realisiert und in die bestehende Apparatur zur IRMPD Spektroskopie integriert.

In dem folgenden Abschnitt wird eine kurze theoretische Einführung in die UV/Vis Spektroskopie zur elektronischen Photodissoziation gegeben.

Im Anschluss wird anhand der Fragestellung nach der Struktur, der inneren Energie und der Energiebarriere zur Dissoziation von Porphyrinsystemen und Metalloporphyrinsystemen die Anwendung dieses Aufbaus in der Praxis vorgestellt.



**Abbildung 63** Vergleich der elektronischen Photodissoziation mit einer Photonenenergie im UV/Vis Bereich mit der Photodissoziation durch IRMPD nach Schinke.<sup>11</sup> Die Nomenklatur der Zustände erfolgt nach der in Abschnitt 3.1 eingeführten Gleichung (3.4).

Hierzu wird diese Technik zur Charakterisierung der Dissoziation und zur spektroskopischen Bestimmung der Strukturveränderung bei Metalloporphyrinen, durch das eingeführte Metallzentrum, verwendet und die Ergebnisse aus der Gasphase mit kürzlich publizierten Arbeiten zu dieser Thematik in wässriger Lösung verglichen.<sup>218</sup>

Zusätzlich wird gezeigt, dass durch Anlagerung von Sauerstoff an das Metallzentrum dieses katalytisch wichtige Intermediat *in situ* untersucht werden kann. Durch diese Messungen kann auf die Spinmultiplizität und den Oxidationszustand des Metallzentrums, die Ladung des Sauerstoffs und die Verzerrung der Struktur aus einer planaren Anordnung heraus geschlossen werden. Diese Ergebnisse sind äußerst hilfreich, um beispielsweise die Reaktivität der Metalloporphyrine als Katalysator besser nachvollziehen zu können.

## 4.1 Theorie der UV/Vis Photodissoziationsspektroskopie

Eine Besonderheit der Photodissoziationsspektroskopie ist, dass eine Vielzahl unterschiedlicher Prozesse mit einem identischen theoretischen Ansatz beschrieben werden können. Während die IRMPD Spektroskopie aufgrund der unvermeidbaren Mittelung über mehrere Quantenzustände spezielle Modelle zur Beschreibung benötigt<sup>11</sup>, kann die UV/Vis Spektroskopie wegen der vergleichsweise gut definierten angeregten Zustände mit einigen Näherungen beinahe klassisch beschrieben werden. So gilt für die Absorptionswahrscheinlichkeit eines Photons, mit einer Anpassung der Wellenfunktion an die Randbedingungen und Einbeziehung der Born-Oppenheimer-Näherung, die in den Gleichungen (3.1) und (3.2) bereits eingeführte Beziehung

$$\begin{aligned} \sigma(\omega) &= \frac{\pi}{\hbar\epsilon_0 c} \omega_{k_1 l_1 k_2 l_2} \delta(\omega_{k_1 l_1 k_2 l_2} - \omega) \\ &\times \left| \langle \Psi_{k_2 l_2}^{nu}(\mathbf{Q}) | e \mu_{k_2 k_1}(\mathbf{Q}) | \Psi_{k_1 l_1}^{nu}(\mathbf{Q}) \rangle \right|^2. \end{aligned} \quad (4.1)$$

Dabei sind  $\Psi_{k_1 l_1}^{nu}(\mathbf{Q})$  und  $\Psi_{k_2 l_2}^{nu}(\mathbf{Q})$  die Kernwellenfunktionen des Anfangs- (1) bzw. Endzustands (2).  $\mathbf{Q}$  sind die Kernkoordinaten und  $e$  ist der Operator des elektrischen Feldvektors. Die Energie die zur Anregung des Übergangs vom Anfangs- in den Endzustand benötigt wird, wird durch  $\omega_{k_1 l_1 k_2 l_2}$  beschrieben. Das reduzierte Planck'sche Wirkungsquantum wird als  $\hbar$ , die Dielektrizitätskonstante als  $\epsilon_0$  und die Lichtgeschwindigkeit als  $c$  eingeführt.

Die Quantenzahl  $k$  beschreibt den elektronischen Zustand des Systems, während die Quantenzahl  $l$  die vibronischen und rotatorischen Zustände vereint. Die Funktion für das in Gleichung (4.1) eingesetzte Übergangsdipolmoment wird um die elektronische Komponente erweitert zu

$$\mu_{k_2 k_1}(\mathbf{Q}) = \langle \Xi_{k_2}^{el}(\mathbf{Q}, \mathbf{q}) | \hat{d} | \Xi_{k_1}^{el}(\mathbf{Q}, \mathbf{q}) \rangle \quad (4.2)$$

und über alle Elektronenkoordinaten  $(\mathbf{q})$  integriert. Die elektronischen Wellenfunktionen sind mit  $\Xi_{k_2}^{el}$  und  $\Xi_{k_1}^{el}$  und der elektronische Dipoloperator mit  $\hat{d}$  beschrieben. Um wie hier angenommen, das elektromagnetische Feld klassisch, aber das molekulare System quantenmechanisch beschreiben zu dürfen, muss jedoch vorausgesetzt werden, dass die Wellenlänge des Photons ( $\omega$ ) deutlich größer ist als die Dimension des beschriebenen Systems.

Für die erlaubten elektronischen Dipolübergänge lassen sich die Auswahlregeln aus der Bedingung ableiten, dass Gleichung (4.2) für einen Übergang einen von Null verschiedenen Wert annehmen muss. Dies ist der Fall, wenn das Produkt der irreduziblen Darstellungen der

elektronischen Wellenfunktionen,  $\Gamma_1$  und  $\Gamma_2$  mit der irreduziblen Darstellung des Dipoloperators  $\Gamma_\mu$  die totalsymmetrische Darstellung  $A_{1g}$  enthält.<sup>219</sup>

$$\Gamma_2 \times \Gamma_\mu \times \Gamma_1 \supset A_{1g} \quad (4.3)$$

Ist der Übergang erlaubt, kann die Absorption eines Photons über einen dissoziativen, elektronisch angeregten Zustand (siehe Abbildung 63 links) zur Dissoziation des betrachteten Moleküls führen.

Die relative Intensität an nicht dissoziierten Teilchen  $I$  kann in diesem Fall als Abhängigkeit vom Photonenfluss  $\phi$  und der Bestrahlungsdauer  $t$  als

$$\frac{dI}{dt} = -I(t)\sigma(\omega)\phi t \quad (4.4)$$

dargestellt werden. Dies setzt jedoch voraus, dass alle Moleküle nach der Absorption eines Photons dissoziieren und alternative Energieverlustkanäle, wie die Fluoreszenz oder die stoßinduzierte Relaxation vernachlässigt werden können. In diesem Fall ergibt sich aus (4.4) nach Integration über  $t$  unter der Annahme eines isotrop verteilten Übergangsdipolmoments das Lambert Beer'sche Gesetz

$$\frac{I}{I_0} = \exp(-\sigma\phi). \quad (4.5)$$

Da für  $I_0$  die Anfangskonzentration an Teilchen eingesetzt wird und nicht alle Ionen durch jeden Laserpuls erfasst werden, muss ein Korrekturfaktor  $\alpha$  für den Überlapp in die Gleichung eingeführt werden. Eingefügt in das Lambert Beer'sche Gesetz (4.5) ergibt dies für einen Ein-Photonen-Prozess die Korrektur

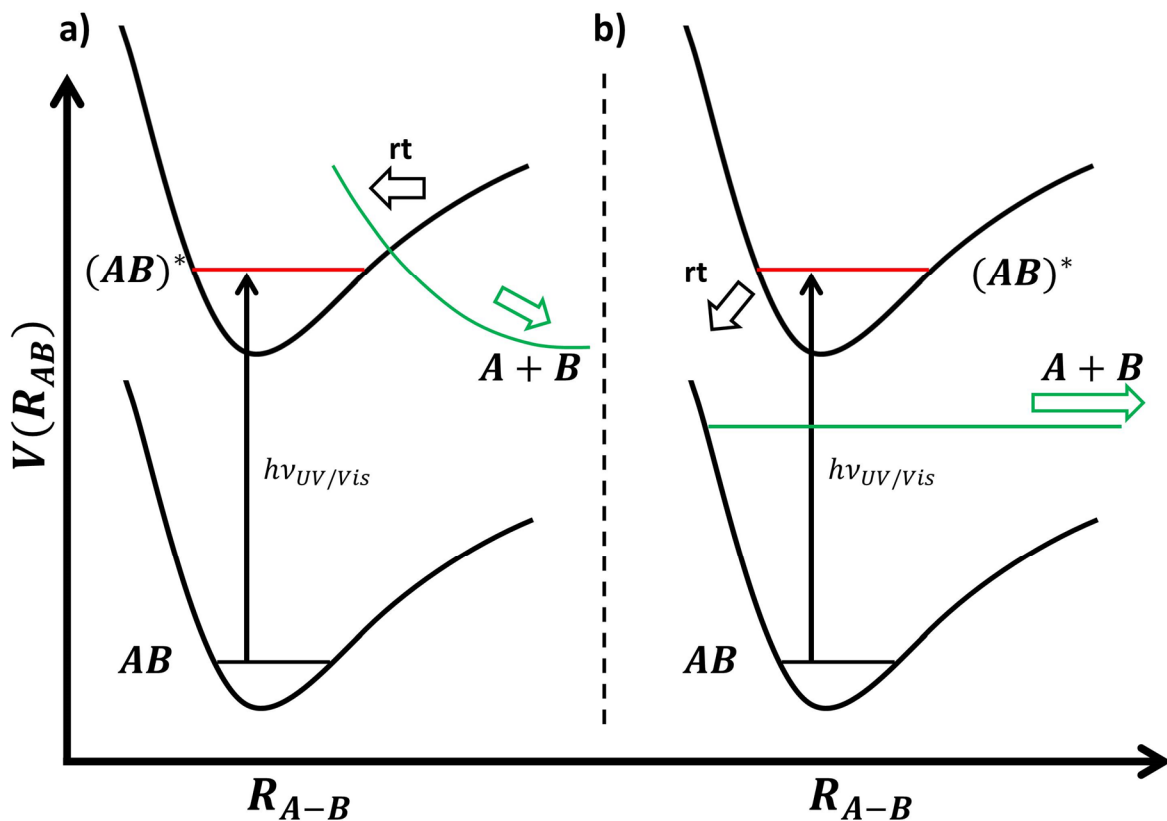
$$\frac{I}{I_0} = 1 - \alpha + \alpha \exp(-\sigma\phi). \quad (4.6)$$

Wenn die Energie des absorbierten Photons nicht ausreicht, um die Dissoziationsbarriere zu überwinden, kann durch Mehrfachabsorption die Dissoziationsschwelle dennoch überschritten werden. Im Falle, dass die Absorption von zwei Photonen benötigt wird, hat dies auch Einfluss auf die vorgenommene Korrektur des Lambert Beer'schen Gesetzes. Für diesen Zwei-Photonen-Prozess wird die Gleichung entsprechend korrigiert zu<sup>219, 220</sup>

$$\frac{I}{I_0} = 1 - \alpha + \alpha(1 + \sigma\phi t) \exp(-\sigma\phi), \quad (4.7)$$

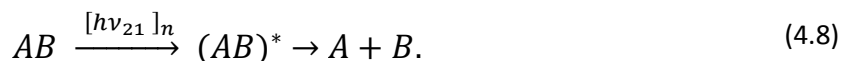
deren Herleitung in anderen Arbeit detailliert thematisiert wird.<sup>220, 221</sup>

Die in Abbildung 63 dargestellte Dissoziation, nach elektronischer Anregung durch ein Photon im UV/Vis Wellenlängenbereich, folgt dem einfachen Mechanismus, dass eine direkte Dissoziation nach dem photoinduzierten Übergang aus dem Grundzustand in einen repulsiven Zustand  $AB^*$  erfolgt.



**Abbildung 64** Schematische Darstellung indirekter Photodissoziationsprozesse. a) Bei der elektronischen Prädissociation geht das Molekül strahlungslos (*radiationless transition*,  $rt$ ), von einem bindenden in einen repulsiven, elektronisch angeregten Zustand über. b) Beim unimolekularen Zerfall erfolgt der strahlungslose Übergang ( $rt$ ) in einen angeregten Schwingungszustand des elektronischen Grundzustands, der eine innere Energie oberhalb der Dissoziationsenergie besitzt.<sup>11</sup>

Für die Dissoziationen gilt die in Abschnitt 3.3.1 eingeführte Beziehung mit gleicher Nomenklatur und angepasster Energie  $h\nu_{21}$



Erfolgt die Anregung aber in einen gebundenen Zustand, kann das Intermediat mehrere Schwingungsperioden überdauern und die Photodissoziation folgt einem indirekten Prozess.<sup>11</sup> Dies kann sowohl durch elektronische Prädissoziation oder durch innere Konversion in den schwingungsangeregten, elektronischen Grundzustand erfolgen. Nicht zuletzt ist dies von der Potentialfläche des angeregten Zustands eines Moleküls abhängig.

Kreuzt die Potentialfläche eines gebundenen, elektronisch angeregten Zustands eine andere, die repulsiv ist, so kann ein strahlungsloser Übergang erfolgen, der zur Dissoziation des Moleküls führt. Durch diesen strahlungslosen Übergang kann die Lebensdauer des Intermediats  $(AB)^*$  auf mehrere Schwingungsperioden verlängert werden. Der Dissoziationsprozess wird als elektronische Prädissoziation bezeichnet (Abbildung 64 a)). Ein weiterer indirekter Dissoziationsprozess ist der statistische unimolekulare Zerfall (Abbildung 64 b)).

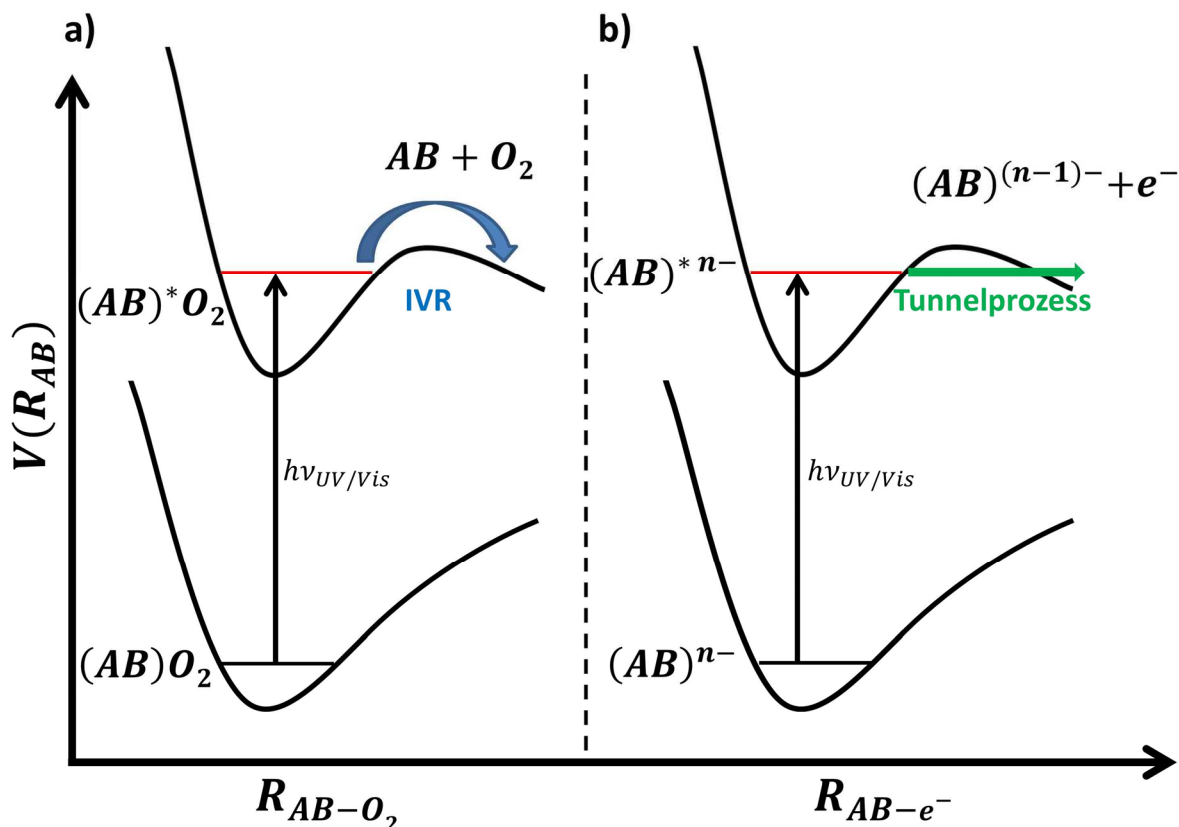
Nach der Anregung in einen bindenden elektronischen Zustand, erfolgt ein strahlungsloser Übergang in den schwingungsangeregten, elektronischen Grundzustand. Liegt die Energie des Moleküls nun oberhalb der Dissoziationsenergie, erfolgt eine Dissoziation aus diesem Zustand heraus. Die Wahrscheinlichkeit für die Dissoziation kann zum Beispiel mit dem Rice, Ramsperger, Kassel und Marcus (RRKM)-Modell abgeschätzt werden,<sup>222-225</sup> auf das an dieser Stelle nicht weiter eingegangen wird.

Aus einem metastabilen, elektronisch angeregten Zustand kann neben der Dissoziation aus einem repulsiven, elektronisch angeregten Zustand (Abbildung 65 a)), durch vorherige Anlagerung eines schwach gebundenen Atoms oder Moleküls, eine Dissoziation erfolgen ohne die Dissoziationsbarriere des Mutterions zu überwinden. Hierfür wird ein inerte Messenger (in der Regel Edelgas) verwendet, der die elektronischen Eigenschaften des Mutterions nicht beeinflusst. In diesem Fall führt die Absorption eines Photons zu einer Anregung in einen sogenannten „resonanten“ Zustand<sup>11</sup> innerhalb des metastabilen Bereichs, aus dem durch Energieumlagerung der Messenger wieder abgespalten wird. Diese Technik, die im Normalfall in der UV/Vis Spektroskopie nicht eingesetzt wird, kann jedoch auch mit stärker bindenden Molekülen wie dem O<sub>2</sub> oder dem H<sub>2</sub>O durchgeführt werden, wenn die Veränderung der elektronischen Eigenschaften des gebildeten Mutterions Teil der Fragestellung dieser Messung ist.

Die Dissoziation des Messengers erfolgt hierbei entweder über eine elektronische Dissoziation, wie in Abbildung 64 dargestellt, oder durch eine Schwingungsprädissoziation. (siehe Abbildung 65 a)). Hierbei wird durch eine intramolekulare vibronische Energieumver-

teilung (*intramolecular vibrational redistribution*, IVR) die Energie aus der photoinduzierten Anregung in die Bindung des Mutterions zum Messenger überführt und löst diese.

Die Energiebarriere für diesen Bindungsbruch ist in der Regel energetisch deutlich geringer als die Fragmentationsenergie für das Mutterion.



**Abbildung 65** Schematische Darstellung alternativer Photodissoziationsprozesse aus metastabilen elektronisch angeregten Zuständen. a) Bei der Prädissociation eines schwach gebundenen Moleküls geht die Energie des elektronisch angeregten Zustands in die Schwingungsmode und führt zur Dissoziation. b) Beim Tunnelprozess, wird die Eigenschaft ausgenutzt, dass ein Elektron eine endliche Barrierenbreite und -höhe mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit durchdringen kann. Die Wahrscheinlichkeit wird durch die elektronische Anregung in einen metastabilen Zustand erhöht.<sup>11</sup>

Im Spezialfall von mehrfach negativ geladenen Mutterionen muss ein weiterer Dissoziationsprozess betrachtet werden. Aufgrund der sogenannten repulsiven Coulomb-Barriere (RCB) in einem Multianion, bilden die mehrfach geladenen Ionen in der Gasphase einen metastabilen Komplex. Die repulsive Coulombbarriere wird durch die große Reichweite der Coulombrepulsion und die kurze Reichweite der Bindungsenergie des Elektrons im System gebildet und ist universell in allen mehrfach geladenen Anionen (MCA) in der Gasphase vorhanden<sup>226-228</sup> (siehe auch Abschnitt 3.3.1). Wie bei den bisher beschriebenen Fragmentationsprozessen, kann die Photodissoziation eines einzelnen Elektrons („Photodetachment“) aus dem Multiani-

on heraus, durch die Überwindung dieser Coulombbarriere, erfolgen. Dies kann durch Anregungen in eine Energie oberhalb der Barriere, aber auch durch Tunnelprozesse geschehen.<sup>229</sup> (Abbildung 65 b)). Der Beleg für die Existenz dieser Tunnelprozesse wurde in einer Untersuchung der Kinetik dieses Elektronenverlusts in dem verwendeten FT-ICR Massenspektrometer von Hampe *et al.* an vierfach negativ geladenen Metallophthalocyaninen [MPc(SO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sup>4-</sup><sup>xv</sup> diskutiert und mit Rechnungen unterlegt.<sup>230</sup>

Da es sich bei den in dieser Arbeit im UV/Vis Bereich betrachteten Molekülen ausschließlich um Multianionen handelt, die aufgrund ihrer Zusammensetzung als Metalloporphyrine ([MPorph(SO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sup>4-</sup> mit M = Fe, Mn) große Ähnlichkeit mit den publizierten Metallophthalocyaninen besitzt, ist die Untersuchung der Photodetachmentreaktion als alternativer Dissoziationskanal durch Ansätze aus dieser Publikation eine weitere Ausrichtung dieser Arbeit.<sup>229</sup>

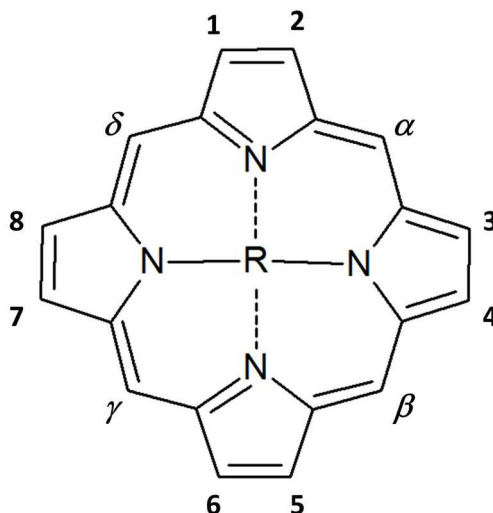
---

<sup>xv</sup> Die Studie wurde mit einer Anregung durch Schwarzkörperstrahlung, ohne Photonenanregung, bei Raumtemperatur mit M = Cu, Ni durchgeführt. Pc kürzt das Phthalocyaninsystem ab.



## 4.2 Untersuchung an mehrfach geladenen Metalloporphyrinen

Porphyrine sind chemische Ringsysteme, die aus vier miteinander verbundenen Pyrrol-Ringen (Tetrapyrrol) bestehen. Die Synthese erfolgt aus einer Umsetzung von Pyrrol (IUPAC Azol) mit einem Aldehyd.<sup>231</sup> Die entstehenden Methinbrücken bilden mit den Pyrrolringen ein makrozyklisches, aromatisches System, das einen organischen Farbstoff kennzeichnet. Die so gebildete Grundstruktur ist in Abbildung 66 dargestellt und wird allgemein als Porphyrin bezeichnet.

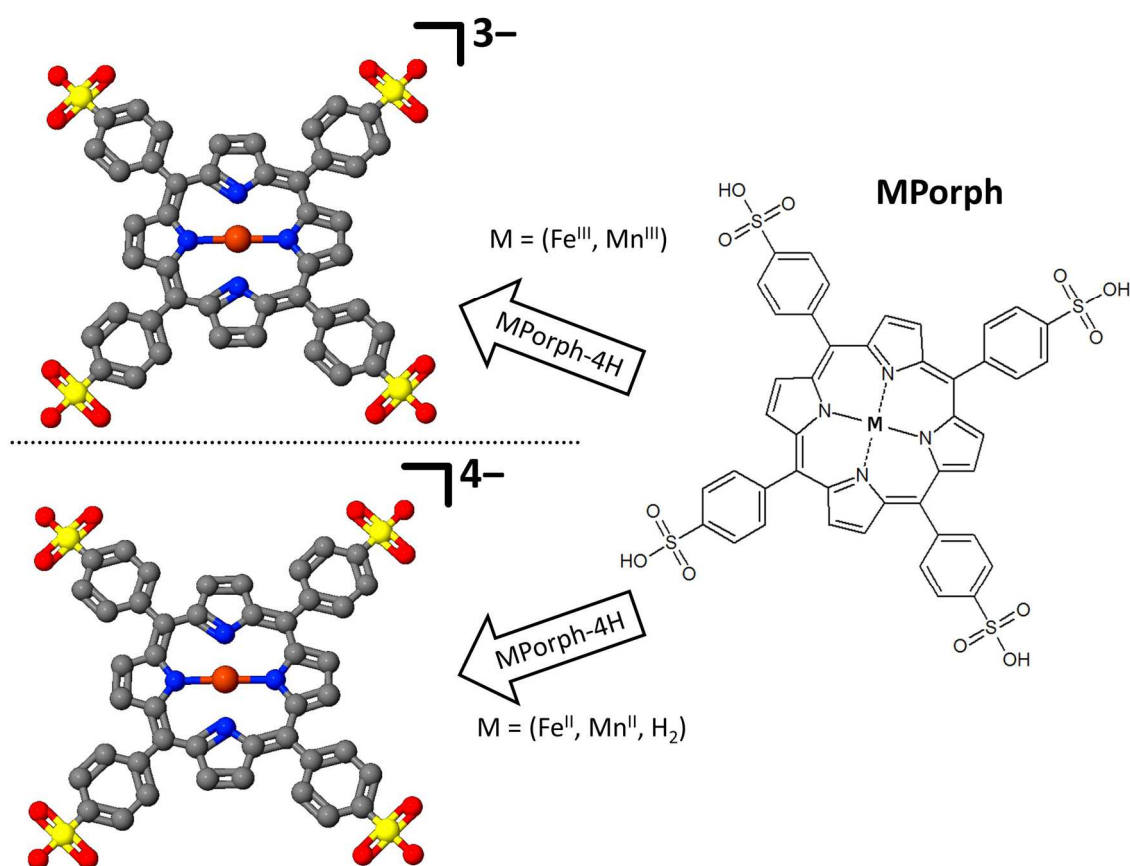


**Abbildung 66** Grundstruktur des Porphyrin-Ringsystems. Zur Substitution können einerseits die Wasserstoffe an den vier 5-Ringsystemen ausgetauscht (Position 1-8) oder funktionelle Gruppen in *meso* Position ( $\alpha$ - $\delta$ ) eingeführt werden. Im Zentrum des makrozyklischen Rings sind in der so genannten freien Porphyrinbase zwei der vier Stickstoffatome an Wasserstoffatomen gebunden. Im Falle einer Komplexierung werden die zentralen Wasserstoffatome gegen zweifach- oder dreifach-positiv geladene Metallatome ausgetauscht.

Synthetische Veränderungen sind durch die Substitution der Wasserstoffatome, entweder an den Fünfringen im aromatischen System oder in *meso* Position an den überbrückenden Kohlenstoffatomen, möglich. Im Zentrum sind in der freien Porphyrinbase zwei der vier Stickstoffatome mit Wasserstoffatomen gesättigt. Durch die Einlagerung eines Metallatoms im Zentrum des Moleküls, im Austausch für diese Wasserstoffatome<sup>232</sup>, entsteht hieraus das Metalloporphyrin. Diese besitzen sowohl im Einsatz als Katalysatoren,<sup>233</sup> in der Solarzellenforschung,<sup>234</sup> in der nichtlinearen Optik<sup>235, 236</sup> und in der Medizin<sup>237</sup> eine große Bedeutung. Aber auch in der Natur sind Metalloporphyrine für viele elementare Prozesse unverzichtbar.<sup>238, 239</sup> So bildet sich die Hämoglobingruppe innerhalb des Proteins aus vier Häm-Einheiten, die jeweils aus einem komplexgebundenem zentralen Eisenatom in einem Porphyrinsystem besteht, an das in der Atmungskette Sauerstoff oder CO<sub>2</sub> angelagert werden

kann.<sup>240</sup> Für eine detaillierte Darstellung der Synthesen, der Anwendungsmöglichkeiten und der Zwischenschritte sei auf weitere Fachliteratur zu diesem Thema verwiesen.<sup>241, 242</sup>

Das zentrale Eisenatom in dem System wird durch die vier Stickstoffatome stabilisiert und kann in oxidierter Form ( $\text{Fe}^{\text{III}}$ ) und in reduzierter Form ( $\text{Fe}^{\text{II}}$ ) vorliegen. Die Oxidationsstufe kann sich jedoch auch innerhalb eines stabilen Komplexes verändern. Diese Möglichkeit den Oxidationszustand im Molekül zu ändern wird als Grundlage für viele der besonderen Eigenschaften des Eisenporphyrins, wie die Sauerstoff-Bindung oder als Partner für Redoxvorgängen, gesehen<sup>243, 244</sup>. Ähnliche Eigenschaften werden auch dem  $\text{Mn}^{\text{III}}$ Porphyrin und dem  $\text{Mn}^{\text{II}}$ Porphyrin zugeschrieben.<sup>245</sup> Zur Untersuchung dieser komplexen Elektronen-Transfer-Systeme wurde bereits 1959 die Bedeutung von Modellsystemen erkannt und in den Vordergrund gestellt.<sup>246, 247</sup> Ein hierfür synthetisiertes System<sup>213,248</sup> ist das *meso*-tetrakis(4-sulfonatophenyl) Metalloporphyrin mit einer Zentraleinheit M ( $\text{M} = \text{Fe}, \text{Mn}, \text{H}_2$ ), das in dieser Arbeit vereinfacht als  $\text{M}[\text{Porph}]$  abgekürzt werden soll (Abbildung 67).



**Abbildung 67** Mesomere Grenzstrukturen des untersuchten *meso*-tetrakis(4-sulfonatophenyl) Metalloporphyrin. Die Gesamtladung der vierfach deprotonierten Spezies wird durch die Oxidationsstufe des Zentralatoms dominiert.

Dieses Molekül vereint die Eigenschaft der hohen „natürlichen“ Photoabsorption<sup>249</sup> mit der Löslichkeit in Wasser und der einfacheren Überführung in die Gasphase, vergleichbar mit den Phtalocyanin Tetrasulfonat Systemen.<sup>230</sup> Bei der Überführung in die Gasphase mittels Elektrosprayionisation wird das Molekül durch die vier Sulfonatophenylgruppen in *meso* Position, je nach Oxidationszustand der Zentraleinheit, als dreifach oder vierfach negativ geladene Spezies in die Gasphase überführt.

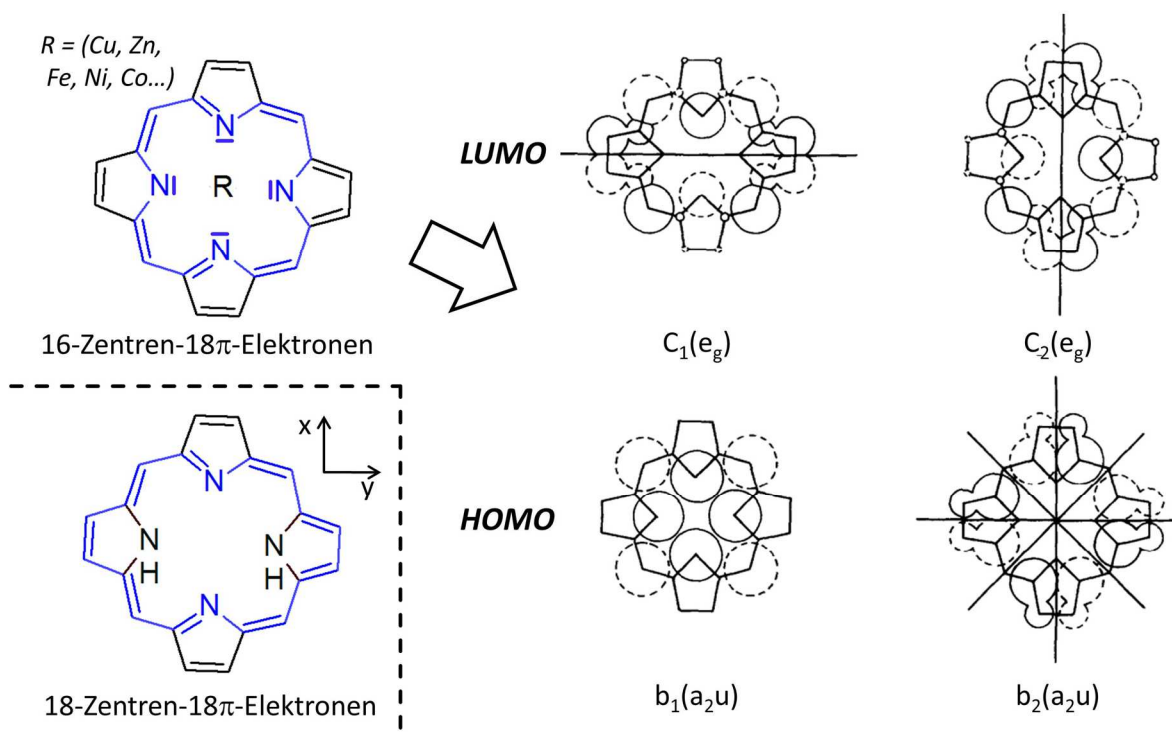
Die Fragestellungen in der vorliegenden Arbeit zur Untersuchung dieser Ionen in der Gasphase waren:

- 1) Die Untersuchung des Einflusses eines zentralen Metallatoms und dessen Oxidationsstufe auf die optischen Eigenschaften der isolierten Porphyrinsysteme im Vergleich zur freien Porphyrinbase.
- 2) Die Untersuchung der Auswirkung eines axial an das zentrale Metallatom gebundenen Sauerstoffmoleküls auf die optischen Eigenschaften des Metalloporphyrins und auf den Oxidationszustand und die Spinmultiplizität des Metallatoms.

### Optische Eigenschaften der Porphyrine

Die optischen Eigenschaften der Porphyrine wurden durch Absorptionsspektroskopie zuerst 1883 von Jacques-Louis Soret<sup>250</sup> untersucht, der im Spektrum drei Banden identifizierte, mit der intensivsten Bande bei ca. 400 nm. Diese für alle Porphyrinsysteme charakteristische Bande wird nach ihrem Entdecker heute als Soret-Bande bezeichnet.

Gouterman *et al.* zeigte an der freien Porphyrinbase mit vier Phenylgruppen an den *meso* Positionen, dass das UV/Vis-Spektrum von vier Banden im Bereich von 500 nm bis 660 nm und eben dieser sehr intensiven Soret Bande bei 400 nm gebildet wird.<sup>251</sup> Diesen Banden werden die Bezeichnung B,  $Q_x$  und  $Q_y$  zugeordnet, wobei die B Bande der Soretbande im UV-Bereich (bei 400 nm) entspricht und die Q Banden typischerweise im Bereich über 500 nm angesiedelt sind. Die zusätzlichen zwei Banden resultieren aus eventuellen Schwingungsanregungen des Grundzustands, die die Q Banden in  $Q_{x(0-0)}$ ,  $Q_{x(0-1)}$  und  $Q_{y(0-0)}$ ,  $Q_{y(0-1)}$  unterteilen. Eine weitere Entdeckung von Gouterman war es, dass bei den Metalloporphyrinen die Anzahl der Q Banden symmetriebedingt von vier auf zwei reduziert wird. Zusätzlich variiert abhängig vom komplexierten Metallatom die Intensität der Q Banden im Vergleich zur B Bande, sowie die Position der Banden.<sup>251</sup> Mit Hilfe von Rechnungen zur MO-Theorie von Platt *et al.*<sup>252</sup> mit  $D_{4h}$ -symmetrischen Metalloporphyrinen<sup>253</sup> und dem Hückel-Molekülorbital Ansatz<sup>254</sup> für aromatische Systeme, konnte Gouterman ein HOMO-LUMO-Orbital-Modell entwickeln, das qualitativ die Aufspaltung und die Intensitätsverteilung der Q- und B-Banden, sowie die Verschiebung der Absorptionsbande erklärte. Hierfür verwendete er zur Beschreibung des aromatischen Charakters ein zyklisch konjugiertes 16-Zentren-18 $\pi$ -Elektronen System. (Abbildung 68)



**Abbildung 68** Gouterman-Modell zur Beschreibung der Absorptionsspektren der Metalloporphyrin-Systeme. Die Abbildung zum Vier-Orbital-Ansatz, resultierend aus einem 16-Zentren-18-Elektronen System und wurde aus der Publikation von Gouterman (1961) entnommen.<sup>251</sup> Für die Beschreibung der freien Porphyrinbase wurde ein 18-Zentren-18-Elektronenmodell postuliert, das die Symmetrie in x- und y-Richtung aufhebt.

Für die Beschreibung der freien Porphyrinbase wurde ein alternatives System vorgestellt, das aus 18-Zentren und 18-Elektronen besteht und der im Spektrum beobachteten Aufhebung der Symmetrie gerecht wird.<sup>250</sup> Es soll aber auf eine aktuelle Publikation verwiesen werden, die mit modernen Rechenmethoden wiederum ein 16-Zentren-18-Elektronen System zur Beschreibung der freien Porphyrinbase postuliert.<sup>251</sup>

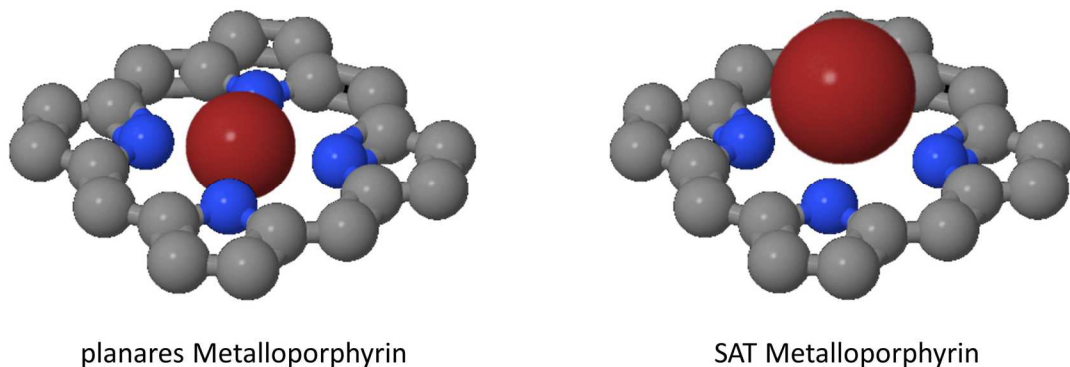
Unabhängig von dem Modell konnte die Absorption, die zur Soret-Bande führt, dem Übergang von  $b_1 \rightarrow c_1$  und  $b_1 \rightarrow c_2$  zugeordnet werden. Die Absorptionen im sichtbaren Bereich des Spektrums (Q-Banden) stammen von den Übergängen  $b_2 \rightarrow c_1$  und  $b_2 \rightarrow c_2$ .<sup>255</sup> Die deutlichen Unterschiede in der Intensität der B- und der Q-Banden werden im Gouterman-Modell durch symmetrieerlaubte und symmetrieverbotene Übergänge erklärt.<sup>251 256</sup>

Der Einfluss des zentralen Metallatoms auf das Spektrum basiert nach diesem Modell auf einer  $\pi$ - $\pi$  Wechselwirkung mit dem  $b_1$  Zustand des Porphyrinrings.<sup>257</sup> Es ist zu erwarten, dass die Gasphasenspektren bis auf eine Verschiebung der Absorptionen durch den Lösungsmittel-effekt ein ähnliches Absorptionsverhalten mit den diskutierten, charakteristischen Banden aufweisen.

## Struktur und Symmetrie der Porphyrine

Die Struktur der freien Porphyrinbase ist dominiert durch das von Gouterman beschriebene 18-Zentren-18-Elektronenmodell, das die Symmetrie von  $D_{4h}$  auf  $D_{2h}$  reduziert.<sup>251</sup> Die dafür postulierte Anordnung der zentralen Wasserstoffatome in trans Anordnung wurde 1995 durch quantenmechanische Rechnungen von Ghosh *et al.* als energetisch günstigste Variante bestätigt.<sup>258</sup> Diese Rechnungen wurden von Ma *et al.* auf die vierfach deprotonierte, freie meso-tetrakis(p-sulfonatophenyl) Porphyrinbase ausgeweitet und gezeigt, dass aufgrund der beiden trans Wasserstoffatome im Molekülzentrum ebenfalls eine  $D_{2h}$  Symmetrie vorliegt.<sup>259</sup>

Durch Austausch dieser Wasserstoffatome ergibt sich die Struktur der Metalloporphyrine, wobei die meisten natürlichen Metalloporphyrine sich in einem so genannten Standard-Typ anordnen. Das Metallatom sitzt dabei im Zentrum des Porphyrinrings und bildet mit den Pyrrolringen eine planare Ebene mit  $D_{4h}$  Symmetrie. Der Ionenradius der Metallatome, die diese planare Struktur einnehmen, liegt im Bereich von 55–90 pm, was hauptsächlich durch den Abstand der Stickstoffatome untereinander definiert wird.<sup>250,260, 261</sup> Wenn der Ionenradius des Metalls zu groß ist um zwischen den Stickstoffatomen planar koordiniert zu werden, wird es außerhalb der planaren Fläche gebunden. Der Wert hierfür wurde von Horvath und Valicsek aufgrund von experimentellen Daten mit  $>80$  pm abgeschätzt und zur besseren Beschreibung dieses Effekts der Begriff „sitting-atop“ (SAT) eingeführt.<sup>262</sup> (siehe Abbildung 69)



**Abbildung 69** schematische Darstellung eines Metalloporphyrins mit planarer und SAT Anordnung des zentralen Metallatoms

Verglichen mit den “in-plane” Metalloporphyrinen reduziert das SAT Metallatom die Symmetrie des Moleküls, was die katalytischen und photochemischen Eigenschaften ändert, aber auch die Bildung von Sandwich Komplexen aus Bi und Tri-Metalloporphyrinen fördert.<sup>263 264</sup>

Bei allen in dieser Arbeit gemessenen Systemen und gezeigten Spektren handelt es sich um die freie *meso*-tetrakis(4-sulfonatophenyl) Porphyrinbase oder um Metallo-,*meso*-tetrakis(4-sulfonato-phenyl) Porphyrine (siehe Abbildung 67). Zur Vereinfachung für den Leser werden diese modifizierten Porphyrinsysteme als „Porphyrine“ abgekürzt.

Die Metalloporphyrine wurden in zwei unterschiedlichen Oxidationszuständen in der Gasphase überführt und durch UV/Vis Spektroskopie untersucht. Die Ionenradien der komplexierten Metallatome wurden in einer Publikation von Horvath und Valicsek mit 92 pm für das  $\text{Fe}^{3+}$  (hs) und mit 65pm für das  $\text{Fe}^{2+}$  (ls) angegeben.<sup>265</sup> Um die Vergleichbarkeit des angegebenen Schwellenwerts aus der gleichen Publikation zum Übergang von einer planaren zu einer SAT Struktur zu erhalten, wurden in dieser Arbeit die Werte für das Eisen und das Mangan aus der Kristallographie verwendet, da die Originalquelle der Publikation nicht nachvollzogen werden konnte. Die Werte für die Ionenradien der in dieser Arbeit untersuchten Metallionen entsprechen daher den Werten von Shannon *et al.* von 1973 für 6-fach koordinierte Metallatome und sind in Tabelle 13 aufgeführt.<sup>260</sup>

Tabelle 13: Ionenradien der Eisen und Manganatome in pm in Abhängigkeit von dem Ladungszustand und der Spinnultiplizität<sup>260</sup>

<i>Metall</i>	<i>Ladung</i>	<i>High spin Ionenradius in pm</i>	<i>Low spin Ionenradius in pm</i>
Fe	2+	92	75
Fe	3+	78,5	69
Mn	2+	97	81
Mn	3+	78,5	72

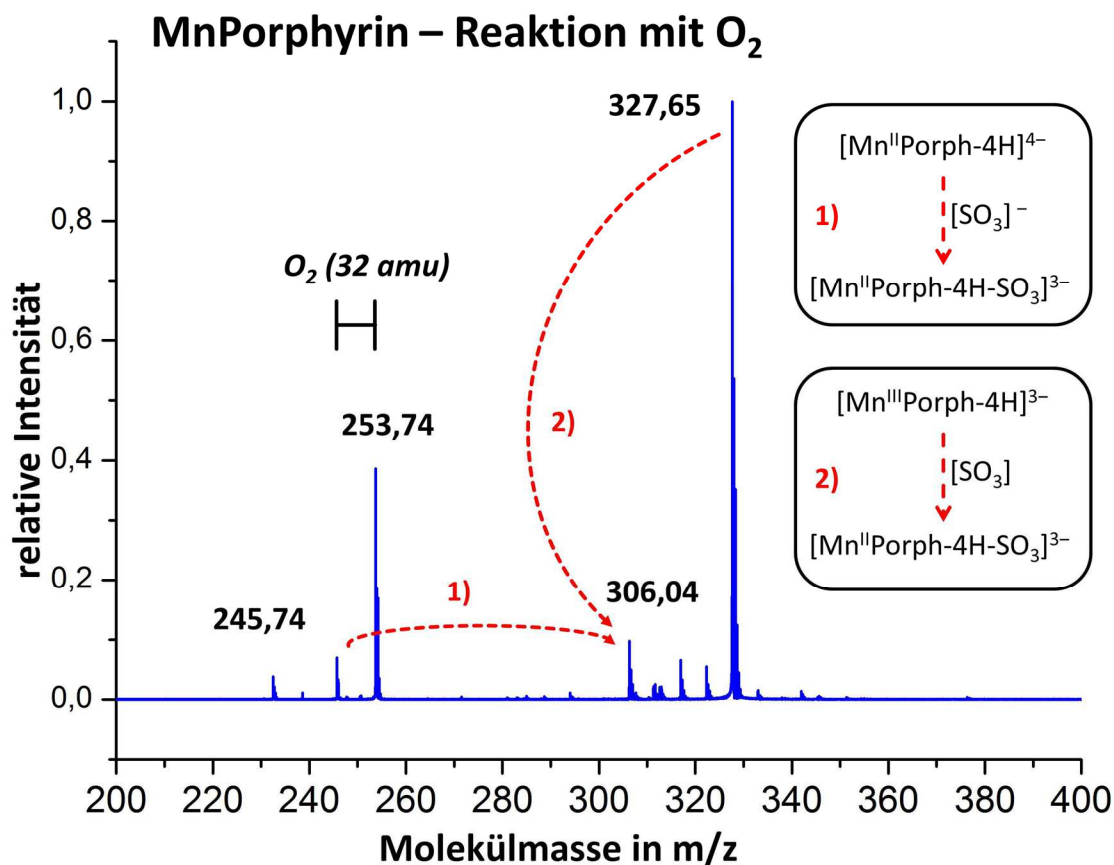
In einer Studie von Boyd *et al.* wurde die Abhängigkeit des Ionenradius vom Spinzustand für das Eisenatom im Metalloporphyrinsystem simuliert.<sup>266</sup> In dieser Arbeit wurde das Aufbrechen der planaren Symmetrie für die Eisen-Porphyrine mit einem Liganden, hin zu einer SAT Struktur (für das  $\text{Fe}^{2+}$ ), durch quantenchemische Rechnungen gezeigt. Darauf basierend wurde von Hovrath *et al.* eine Abhängigkeit zur Bildung einer SAT Struktur durch das  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Metalloporphyrin von dessen high spin Zustand postuliert. Durch *ab initio* Rechnungen wurde für das  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -Metalloporphyrin eine planare Struktur sowohl für den high spin als auch für den low spin Zustand des Eisens berechnet und experimentell bestätigt.<sup>262</sup> Dies ist im Einklang mit der Erkenntnis dass Ionenradius des  $\text{Fe}^{3+}$  Ion, sowohl im high-spin Zustand mit 78,5 pm als auch im low spin Zustand mit 69 pm, klein genug ist,<sup>266</sup> um zwischen den Stickstoffatomen eine planare Struktur zu bilden.<sup>262</sup> Somit wird zu Beginn angenommen, dass in den hier vorgestellten Messungen das  $\text{Fe}^{\text{II}}$ Porph als SAT-Struktur und das  $\text{Fe}^{\text{III}}$ Porph als planare Struktur vorlag.

## Überführung der Porphyrin Systeme in die Gasphase

Für die Metallo-Porphyrinverbindungen wurden die kommerziellen Substanzen Fe<sup>III</sup>-*meso*-tetra(4-sulfonatophenyl)porphinchlorid (FeT1239, Frontier Scientific Inc. Logan, UT(USA)) und Mn<sup>III</sup>-*meso*-tetra(4-sulfonatophenyl)-porphinchlorid (MnT1239, Frontier Scientific Inc. Logan, UT(USA)) verwendet. Für die freie Porphyrinbase wurde das ebenfalls kommerziell erworbene Natriumsalz der *meso*-tetra(4-sulfonatophenyl)-21H,23H-Porphinsäure (Artikel-Nr. 389404, Sigma Aldrich) verwendet. Die erworbenen Substanzen wurden jeweils vor der Messung in deionisiertem Wasser gelöst und eine Konzentration von 10<sup>-5</sup> mol/Liter eingestellt. Alle Messungen wurden mit der in dieser Arbeit beschriebenen NanoESI durchgeführt, mit Borosilikatnadeln als Probenreservoir (siehe Abschnitt 2.2.3).

In Abbildung 70 ist ein FT-ICR-Massenspektrum eines Metalloporphyrins im Anionenmodus (hier M = Mn) abgebildet. Das Spektrum wird dominiert von dem dreifach negativ geladenen, vierfach deprotonierten M<sup>III</sup>[Porph-4H]<sup>3-</sup> Signal (327,65 m/z). Ein weiteres intensives Signal bildet das vierfach negativ geladene, vierfach deprotonierte M<sup>II</sup>[Porph-4H]<sup>4-</sup> (245,74 m/z). Durch Zupulsen von Sauerstoff (2s, 10<sup>-6</sup> mbar) kann ein Großteil des M<sup>II</sup>[Porph-4H]<sup>4-</sup> in M<sup>II</sup>[Porph-4H]<sup>4-</sup> + O<sub>2</sub> überführt und gespeichert werden (siehe Abbildung 70). Die jeweiligen Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse für die Metalloporphyrine und die freie Porphyrinbase sind in Tabelle 14 aufgelistet. In den Massenspektren der freien Porphyrinbase wurde aufgrund des fehlenden Metallatoms im Zentrum das vierfach negativ geladene, vierfach deprotonierte M<sup>II</sup>[Porph-4H]<sup>4-</sup> als dominantes Mutterion identifiziert, welches nicht mit Sauerstoff reagiert.<sup>16</sup> Dies ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass das Sauerstoffmolekül bei der Anlagerung an das Metalloporphyrin an das zentrale Metallatom und nicht an die ladungstragenden Sulfonatgruppen gebunden wird. Eine detaillierte Diskussion mit zugehörigen Messungen wird in der Dissertation von T. Karpuschkin geführt.<sup>16</sup>

Bei erhöhten Konzentrationen (1×10<sup>-3</sup> mol/l) der Messlösung findet zusätzlich die Bildung von Di- und Trimeren statt, deren Untersuchung eine Weiterführung dieser Arbeit darstellen soll.



**Abbildung 70** Massenspektrum des Metalloporphyrins mit den dominanten Intensitäten des  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  und  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  nach der Reaktion mit Sauerstoff. Durch Anlagerung von  $\text{O}_2$  an das Mutterion wurde  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}] + \text{O}_2^{4-}$  gebildet. Für das  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  konnte keine Sauerstoffanlagerung beobachtet werden.

Tabelle 14: Auflistung der in dieser Arbeit untersuchten Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse der Metalloporphyrinsysteme im negativen Gasphasenspektrum mit zugehöriger Strukturformel

<i>MnPorph</i>	<i>Ladung</i>	<i>Strukturformel</i>	<i>Berechn. Masse/Ladung</i>	<i>exp. Masse/Ladung</i>
$\text{Fe}^{\text{II}}\text{Porph}$	4–	$\text{Fe}[\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}_4]$	245,99	245,98
$\text{Fe}^{\text{III}}\text{Porph}$	3–	$\text{Fe}[\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}_4]$	327,99	327,98
$\text{O}_2\text{-Fe}^{\text{II}}\text{Porph}$	4–	$\text{Fe}[\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}_4]\text{O}_2$	253,99	353,98
$\text{Mn}^{\text{II}}\text{Porph}$	4–	$\text{Mn}[\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}_4]$	245,74	245,74
$\text{Mn}^{\text{III}}\text{Porph}$	3–	$\text{Mn}[\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}_4]$	327,65	327,65
$\text{O}_2\text{-Mn}^{\text{II}}\text{Porph}$	4–	$\text{Mn}[\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}_4]\text{O}_2$	253,75	253,74
$\text{H}_2\text{-Porph}$	4–	$\text{H}_2[\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}_4]$	232,51	232,50



#### 4.2.1 Leistungsabhängige Photodissoziation von $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$ und $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$

Im Folgenden wird die leistungsabhängige Photodissoziation des vierfach deprotonierten  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  im Vergleich zum vierfach deprotonierten  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$  bei 426 nm bestimmt. Ziel der Messung ist es, Informationen über den Photodissoziationsprozess zu erhalten und durch Anpassen der entsprechenden Absorptionsgesetze an die experimentellen Daten, Rückschlüsse auf die Anzahl der zur Dissoziation benötigten Photonen ziehen zu können, um damit die Dissoziationsbarrieren abzuschätzen.

Hierfür wird die Dissoziationsrate mit der Wahrscheinlichkeit für die Absorption von  $n$  Photonen verglichen. Die Absorptionswahrscheinlichkeit  $P(n)$  von  $n$  Photonen kann unter Berücksichtigung der Photonendichte  $F$  und des Absorptionsquerschnitts  $\sigma$  für eine Bestrahlung mit einem Laserpuls als eine Poisson-Verteilung ausgedrückt werden.<sup>267</sup>

$$P_n(F) = \frac{1}{n!} (\sigma F)^n \exp(-\sigma F). \quad (4.9)$$

Unter Berücksichtigung des Überlapps  $\alpha$  folgt daraus für die Absorption von  $k$  Photonen analog zum Lambert Beer'schen Gesetz (Gleichung (4.5))<sup>229</sup>

$$\frac{I}{I_0} = 1 - \alpha + \alpha \sum_{n=1}^{k-1} P_n(F). \quad (4.10)$$

Für diese Messungen wurde durch den Einsatz einer Iris, der Laserstrahl auf 5mm Durchmesser eingegrenzt, was eine Querschnittsfläche von ca. 20 mm<sup>2</sup> ergab. Für die Abschätzung der Homogenität des Strahlquerschnitts wurde der Laserpuls mit einem Umlenkspiegel auf eine zweite Iris zentriert. Die Position der zweiten Iris war so gewählt, dass das Auftreffen des Strahls auf die Ionenwolke in der ICR-Zelle nachgeahmt werden konnte. Durch verkleinern dieser Iris um jeweils 1 mm im Durchmesser wurde die Laserleistung im Verhältnis zum Querschnitt simuliert und hinter dieser zweiten Iris gemessen. Die Werte sind in Tabelle 15 angegeben. Aus dem Verhältnis der Energiedifferenz zur Flächendifferenz dieser Daten wurde der Laserstrahl als näherungsweise homogen angenommen. Die Photonendichte wurde aus der Anzahl der Photonen  $N$  bestimmt, die in Abhängigkeit von ihrer Wellenlänge  $\lambda$  aus der gemessenen Laserenergie  $E_{\text{Laser}}$  mit den Planck'schen Wirkungsquantum  $h$  und der Lichtgeschwindigkeit  $c$  berechnet wurde.

$$E_{\text{Laser}} = \frac{N hc}{\lambda} \quad (4.11)$$

Tabelle 15: Homogenität des Laserstrahls

<i>Durchmesser der Irisöffnung in mm</i>	<i>Querschnitt in mm<sup>2</sup></i>	<i>Laserpuls Energie in mJ</i>	<i>Zunahme des Querschnitts in mm<sup>2</sup></i>	<i>Zunahme der Energie in mJ</i>	<i>Energiedifferenz /Flächendifferenz in mJ/mm<sup>2</sup></i>
5	19,63	1,3	7,07	0,5	0,070
4	12,56	0,8	5,5	0,35	0,063
3	7,06	0,45	3,92	0,2	0,051
2	3,14	0,25	2,35	0,15	0,063
1	0,78	0,1	0,78	0,1	0,12

Dieses Vorgehen ist in Übereinstimmung mit vergleichbaren Messungen mit der dritten Harmonischen des Nd:YAG Lasers in diesem Massenspektrometer von Hampe *et al.* an Dianionen.<sup>267</sup>

### Experimentelle Durchführung und Diskussion der Messdaten

Für das Experiment wurden die Ionen in der ICR Zelle gespeichert und der optische Aufbau aus Abschnitt 2.4.2 verwendet. Der UV/Vis-OPO Laser wurde auf eine Absorption der Soretbande bei 426 nm eingestellt. Mit Hilfe eines Polfilters wurde in diesem Aufbau die Laserleistung reproduzierbar variiert. Die Einstellung des Polfilters erfolgte über eine Winkelskala an der Rotatorplatte der Aufhängung. Die Öffnungszeit des elektromechanischen Shutters wurde auf 50 ms eingestellt, was nach Synchronisation mit dem XMASS Messprogramm genau einem Laserschuss entsprach. Für die Messung der Laserleistung wurde zu jeder Einstellung des Polfilters, mit Hilfe eines Umlenkspiegels und einer weiteren Iris, die Photonendichte in der Falle simuliert und mit einem pyroelektrischen Messkopf die Energie der einzelnen Pulse gemessen. Für eine Messung wurde 10-mal pro Einstellung ein Messwert aufgenommen und daraus der Mittelwert und die Standardabweichung der Energie der Laserpulse bestimmt.

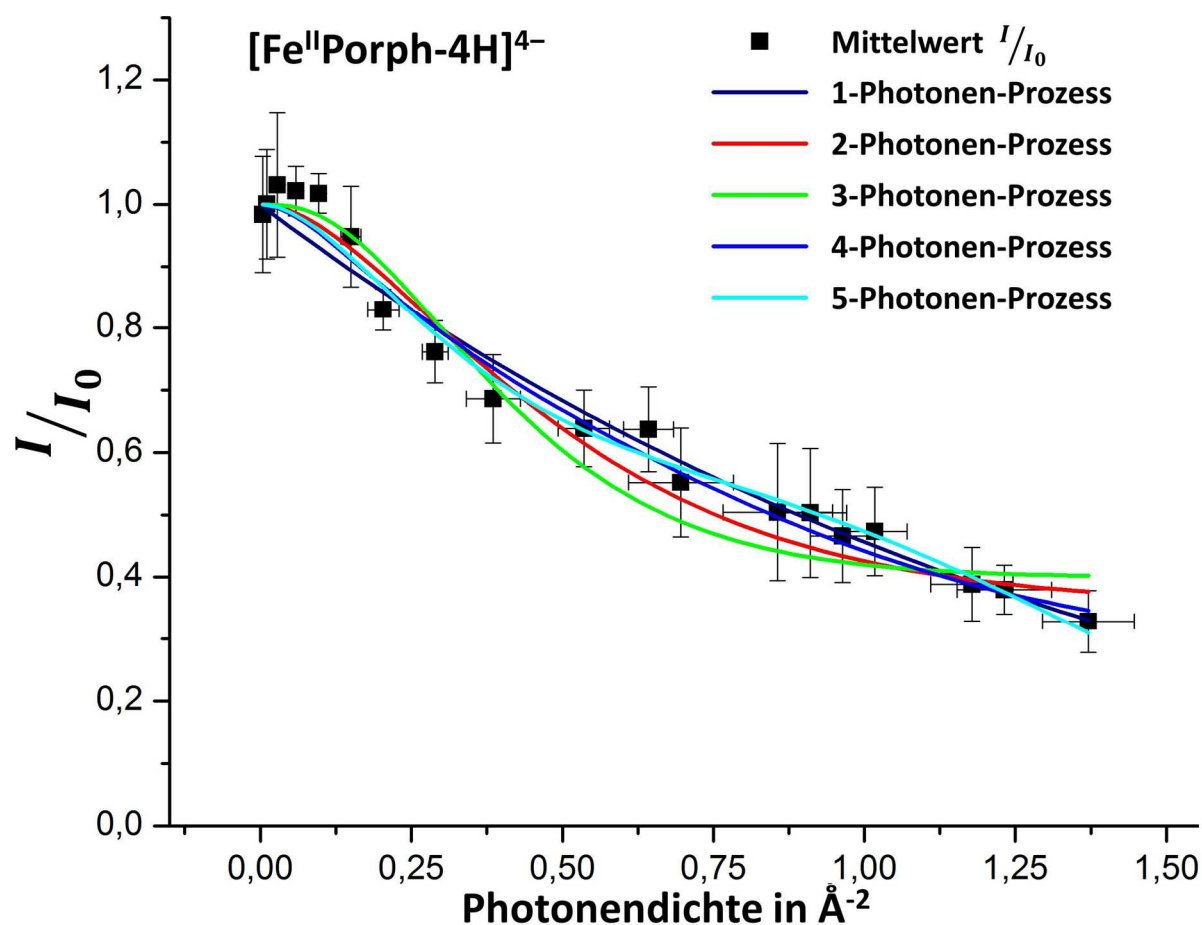
Für die leistungsabhängigen Dissoziations-Messungen wurde der Umlenkspiegel entfernt und der laserinduzierte Zerfall der gespeicherten Ionen massenspektrometrisch bestimmt. Für jeden Messpunkt wurden mindestens 10 Massenspektren aufgenommen, die jeweils aus acht einzelnen Massenspektren mit Lasereinstrahlung akkumuliert wurden. Aus diesen 10 Massenspektren wurde die Intensität des Mutterions durch Integration ermittelt und aus den Integralsummen der Mittelwert sowie die Standardabweichung berechnet. Analog wurden die Integrale der Intensität des Mutterions ohne Lasereinstrahlung bestimmt. Aus diesen Daten wurde der normierte Anteil an dissoziierten Ionen  $I/I_0$  gebildet.

Für das Anpassen der mathematischen Funktionen an die experimentellen Daten wurde die benutzerdefinierte Fit-Funktion des Origin Softwarepaket (Origin 7G SR4, OriginLab Corporation, Northhampton MA(USA)) verwendet und die Gleichungen für die Absorption für Ein- bis Fünf-Photonenprozesse, nach Gleichung (4.10) simuliert. Der Absorptionsquerschnitt  $\sigma$  wurde als konstant für alle sequentiellen Absorptionsprozesse innerhalb eines Laserpulses angenommen.<sup>268</sup>

Die resultierenden Daten für das  $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{Porph-4H}]^{4-}$  sind in Abbildung 71 gegen die Photonendichte pro  $\text{\AA}^2$  aufgetragen. Die Photonendichte ergibt sich aus der gemessenen, homogenen Laserenergie und dem Laserquerschnitt von  $20 \text{ mm}^2$ . Die Parameter für den Überlapp, den Absorptionsquerschnitt und das kleinste Fehlerquadrate der Fit-Funktionen sind für den Prozess in Tabelle 16 aufgelistet.

Identisch wurde für das  $[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{4-}$  vorgegangen. Die Daten sind in Abbildung 72 aufgetragen und die Parameter der einzelnen Fit-Funktionen sind in

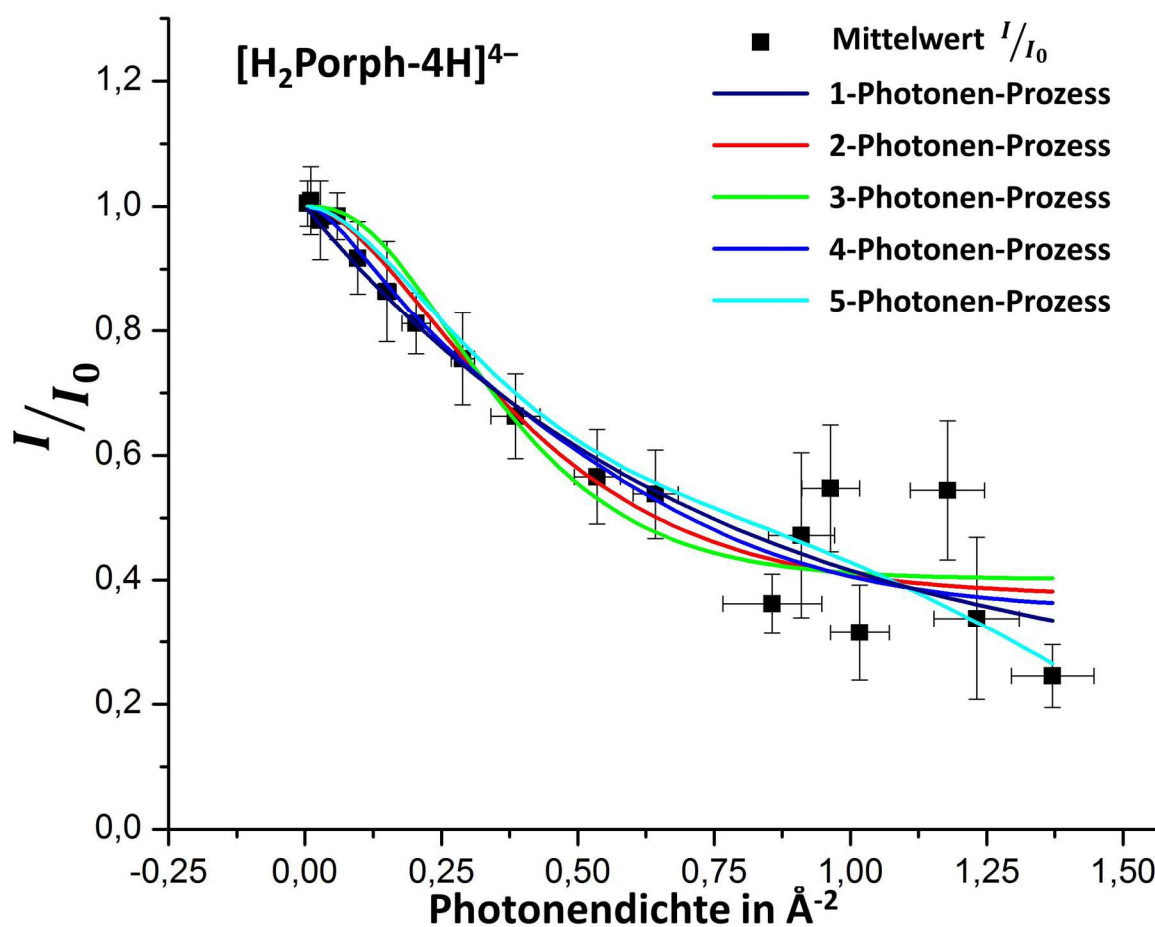
Tabelle 17 aufgelistet.



**Abbildung 71** normierter Anteil nicht dissoziierter Ionen  $I/I_0$  des  $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{Porph-4H}]^{4-}$  und die verwendeten Fit-Funktionen nach der Gleichung (4.10).

Tabelle 16: Vergleich der Parameter aus den angepassten Fit-Funktionen für das  $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{Porph-4H}]^{4-}$ 

Anzahl der Photonen	Überlapp Parameter $\alpha$	Absorptionsquerschnitt $\sigma$ in $\text{\AA}^2$	Mittleres Fehlerquadrat des Fit $\chi^2$
1	$1,11 \pm 0,31$	$0,66 \pm 0,27$	0,797
2	$0,64 \pm 0,03$	$3,74 \pm 0,42$	0,670
3	$0,60 \pm 0,02$	$6,79 \pm 0,59$	0,990
4	$0,72 \pm 0,07$	$4,53 \pm 0,8$	0,508
5	$1,26 \pm 0,23$	$3,09 \pm 0,64$	0,424



**Abbildung 72** normierter Anteil nicht dissoziierter Ionen  $I/I_0$  des  $[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{4-}$  und die verwendeten Fit-Funktionen nach der Gleichung (4.10).

Tabelle 17: Vergleich der Parameter aus den angepassten Fit-Funktionen für das  $[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{4-}$ 

<i>Anzahl der Photonen</i>	<i>Überlapp Parameter <math>\alpha</math></i>	<i>Absorptionsquerschnitt <math>\sigma</math> in <math>\text{\AA}^2</math></i>	<i>Mittleres Fehlerquadrat des Fit <math>\chi^2</math></i>
1	$0,79 \pm 0,12$	$1,36 \pm 0,40$	0,0047
2	$0,62 \pm 0,03$	$4,62 \pm 0,66$	0,0052
3	$0,60 \pm 0,03$	$7,76 \pm 0,98$	0,00624
4	$0,65 \pm 0,05$	$6,40 \pm 1,08$	0,0049
5	$1,43 \pm 0,27$	$2,88 \pm 0,7$	0,0052

Die Auswertung der Messdaten zeigt, dass für das  $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{Porph-4H}]^{4-}$  die Absorption von mehreren Photonen mit der Wellenlänge 426 nm (2,91 eV) zur Dissoziation nötig ist. Hierbei wird der Zwei-Photonen-Prozess als wahrscheinlichster Dissoziationsprozess angenommen. Zwar sind die  $\chi^2$  Werte der Fit-Funktionen für den Vier- und Fünf-Photonenprozess geringer, aber durch die großen Fehler der Messpunkte bei hohen Laserleistungen kann dies zu einer Bevorzugung dieser Mehr-Photonenprozesse aufgrund der besseren Anpassungsmöglichkeiten führen.

Einen wichtigen Faktor stellt daher der Überlapp-Parameter dar. Der Überlapp des Laserpulses mit der Ionenwolke kann aufgrund des abklingenden Kurvenverlaufs im Bereich von >70% angesiedelt werden. Dies spiegelt sich im Parameter für den Überlapp wieder, der für die Prozesse einen Wert zwischen 0,6 und 0,8 annehmen sollte.

Dies ist auch konsistent mit der  $[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{4-}$  Messung. Hier ist eine eindeutige Zuordnung zu einem Ein-Photonenprozess möglich, was auf einen Wert von 79 % ( $\pm 12$  %) für die mittlere Überlappung des Laserpulses mit der Ionenwolke schließen lässt. Die ermittelten Absorptionsquerschnitte  $\sigma$  können als mittlere Absorptionsquerschnitte der jeweiligen n-Photonen-Absorptionsprozesse aufgefasst werden. Abhängig vom Dissoziationsmechanismus kann durch die Anzahl der absorbierten Photonen daraus die Dissoziationsbarriere abgeschätzt werden. Für Mehr-Photonenprozesse, wie bei dem  $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{Porph-4H}]^{4-}$ , ist diese Abschätzung jedoch nicht ohne weiteres möglich. Dennoch weist das Plateau mit  $I/I_0 > 0,95$  für kleine Photonendichten darauf hin, dass eine direkte Dissoziation mit einem Ein-Photonenprozess keine Rolle spielt. Dies wurde auch in vergleichbaren Messungen für Phtalocyaninsysteme festgestellt.

Für das  $[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{4-}$  kann die Dissoziationsbarriere durch die Zuordnung zu einem Ein-Photonenprozess mit 2,91 eV als obere Grenze abgeschätzt werden. Aufgrund dieser Zuord-

nung ist es naheliegend auch die entstehenden Fragmentintensitäten in Abhängigkeit von der Laserleistung bei 426 nm zu untersuchen, um die Fragmentkanäle einzeln charakterisieren zu können. Die Hauptfragmente die zur Untersuchung verwendet wurden, konnten übereinstimmend mit vorangegangenen Arbeiten<sup>16</sup>, durch den Vergleich mit den berechneten Masse-zu-Ladungs-Verhältnissen den jeweiligen Verlustkanälen zugeordnet werden, die in Tabelle 18 aufgeführt sind.

Tabelle 18: Hauptfragmente der vierfach deprotonierten freien Porphyrinbase

<i>Freie Porphyrinbase</i>	<i>Verlustkanal</i>	<i>Berechn. Masse/Ladung</i>	<i>exp. Masse/Ladung</i>
H <sub>2</sub> [Porph-4H] <sup>4-</sup>		232,51	232,50
	H <sub>2</sub> [Porph-4H-SO <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	283,36	283,35
	H <sub>2</sub> [Porph-4H-SO <sub>2</sub> ] <sup>3-</sup>	288,69	288,69
	H <sub>2</sub> [Porph-4H] <sup>3-</sup>	310,01	310,01

Zur Auswertung der leistungsabhängigen Dissoziationsmessungen in *action* wird der normierte Anteil der dissoziierten Fragmente mit Fit-Funktionen für Ein- und Mehr-Photonenprozesse verglichen.<sup>267</sup>

$$\frac{N(n)}{N(0)} = 1 - \alpha + c \alpha \sum_{n=1}^{k-1} \frac{1}{n!} (\sigma F)^n \exp(\sigma F). \quad (4.12)$$

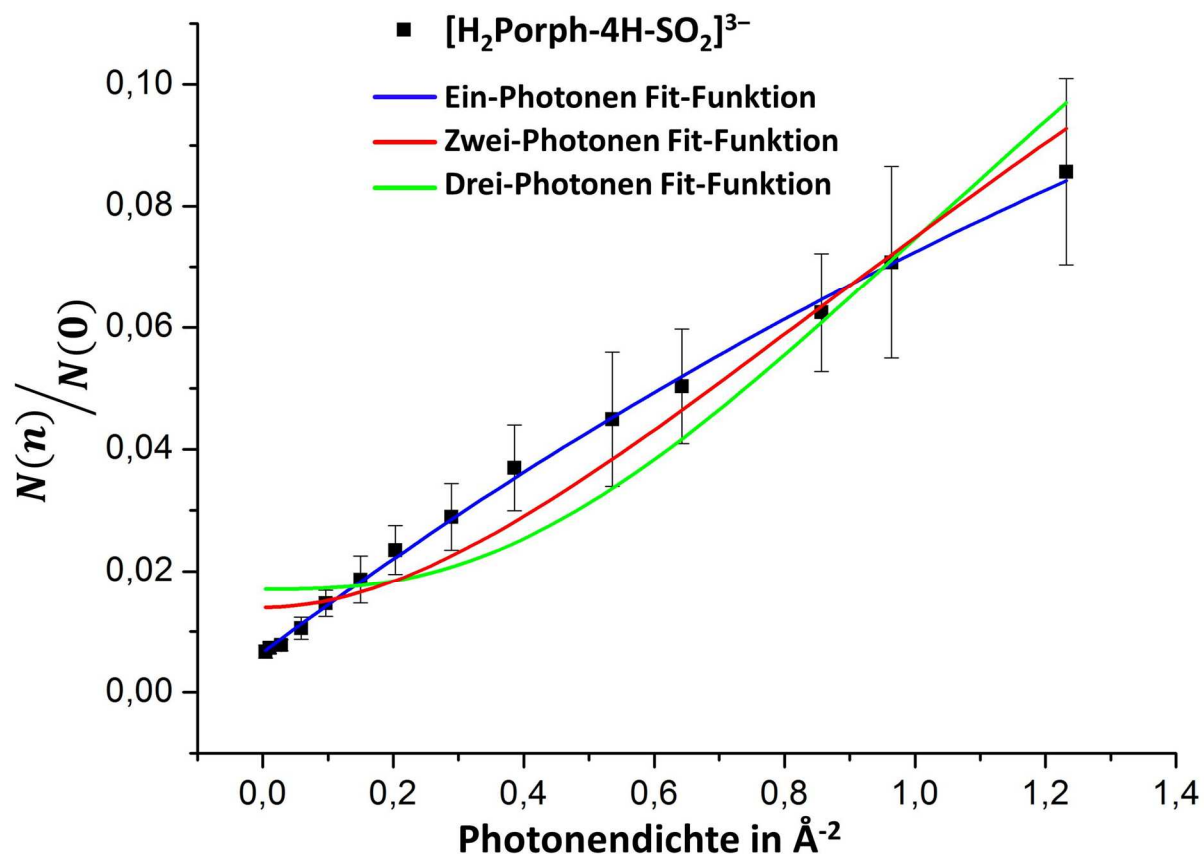
Dieses Konzept basiert auf einer Modifikation der Gleichung (4.9). Hierbei ist  $N(n)$  die Intensität des entstehenden Fragments nach der Absorption von  $n$  Photonen und  $N(0)$  ist die addierte Intensität der nicht dissoziierten Ionen mit allen entstehenden Fragmenten.

$$\frac{N(n)}{N(0)} = \frac{I(f_i)}{I(\text{parent}) + \sum_j I(f_j)} \quad (4.13)$$

Zusätzlich muss noch der Parameter  $c$  eingeführt werden, der den Faktor für den Zerfall in diesen Verlustkanal und die Speicherwahrscheinlichkeit in der ICR-Zelle repräsentiert.

Diese Beschreibung der relativen Zerfallsintensitäten  $\frac{N(n)}{N(0)}$ , in Abhängigkeit von den Variablen für den Überlapp und den Absorptionsquerschnitt sowie von der Anzahl der absorbierten Photonen  $n$ , erlaubt die Zuordnung der experimentellen Daten, analog zu dem Vorgehen für die Auswertung in *depletion*, zu einem Ein- oder Mehr-Photonenprozess. Durch die Optimierung der Fit-Funktion für  $n$  Photonen (mit  $n = 1, 2, 3, 4, \dots$ ) und dem Vergleich der Werte für

die Variablen, sowie dem Wert für das mittlere Fehlerquadrat, wird hierbei die „Qualität“ einer Fit-Funktion abgeschätzt. Dies wurde anhand des primären Verlustkanals (dem  $\text{SO}_2^-$  Verlust) durchgeführt und in Abbildung 73 dargestellt. Für den direkten Vergleich der Funktionen wurde der Überlapp als fester Wert von 0,8 verwendet.

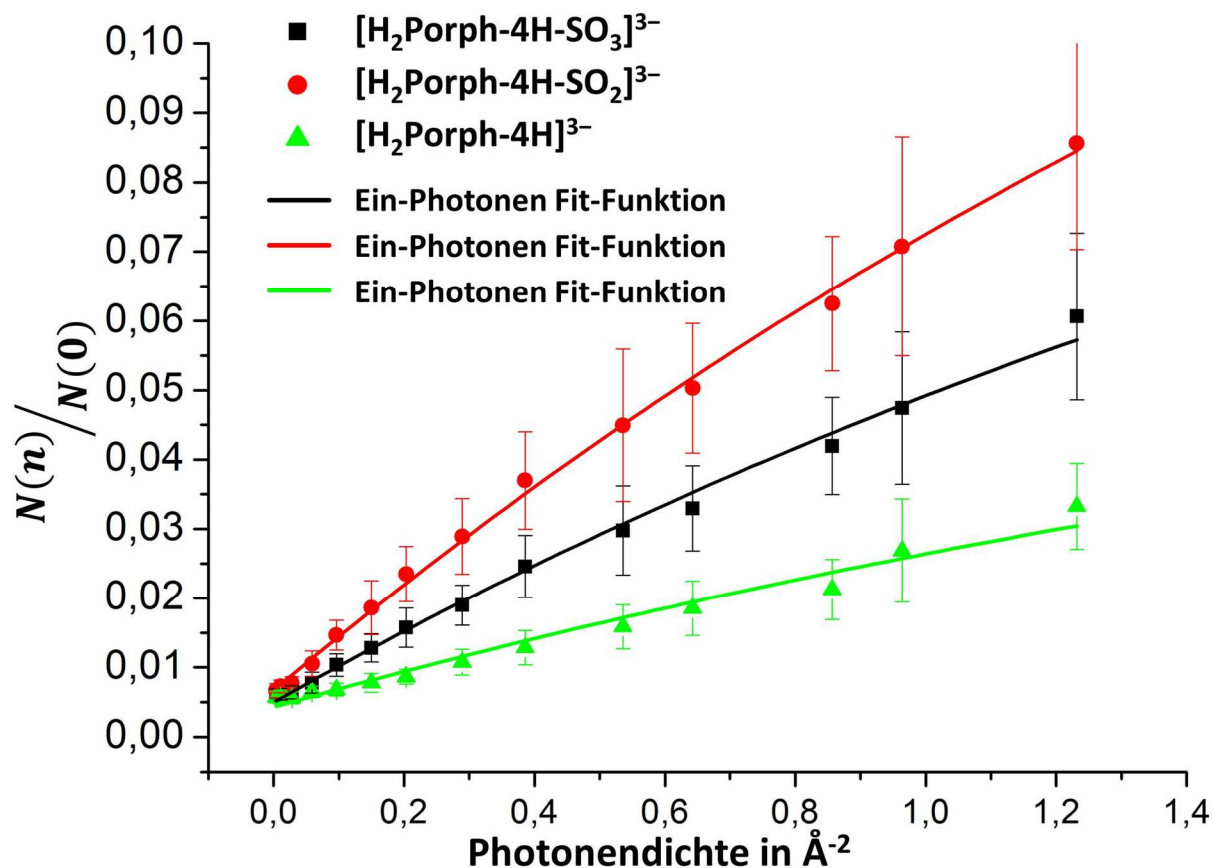


**Abbildung 73** Abhängigkeit der Fragmentation und des Elektronenverlusts von der Photonendichte. Die Fit-Funktionen wurden für einen Ein-Photonenprozess durchgeführt und mit den Fitfunktionen von Mehr-Photonenprozessen verglichen. Die Linien wurden durch eine Poisson Verteilung nach Gleichung (4.12) an die einzelnen Datensätze angepasst.

Tabelle 19: Parameter der angepassten Fit-Funktionen für Ein- und Mehr-Photonenprozesse an die experimentellen Daten des  $[\text{H}_2\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$

Anzahl der Photonen	Überlapp Parameter $\alpha$	Absorptionsquerschnitt $\sigma$ in $\text{\AA}^2$	Korrekturfaktor $c$	Mittleres Fehlerquadrat $\chi^2$
1	0,8	0,41	0,241	$1,5 \times 10^{-6}$
2	0,8	1,17	0,232	$3 \times 10^{-5}$
3	0,8	1,97	0,23	$8 \times 10^{-5}$

Die resultierenden Fitfunktionen zeigen die geringste Abweichung und die beste Übereinstimmung für die Auswertung durch einen Ein-Photonenprozess. Ausgehend von einem Ein-Photonenprozess wurde die Optimierung der Fit-Funktion ohne Einschränkung der Variablen durchgeführt und die Auswertung auf die Intensitäten des  $\text{SO}_3^-$  Verlusts und des Elektronendetachments ausgeweitet. Die Fit-Funktionen sind in Abbildung 74 dargestellt und die Ergebnisse in Tabelle 20 zusammengefasst.



**Abbildung 74** Die Grafik zeigt die jeweils besten Fit Funktionen für einen Ein-Photonenprozess für die unterschiedlichen Fragmente des  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4+}$ .



Tabelle 20: Parameter der angepassten Fit-Funktionen für einen Ein-Photonenprozess an die experimentellen Daten der Fragmente  $[\text{H}_2\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$ ,  $[\text{H}_2\text{Porph-4H-SO}_3]^{3-}$  und  $[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{3-}$

<i>Fragment zur Auswertung</i>	<i>Parameter c</i>	<i>Überlapp Parameter <math>\alpha</math></i>	<i>Absorptionsquerschnitt <math>\sigma</math> in <math>\text{\AA}^2</math></i>	<i>Mittleres Fehlerquadrat <math>\chi^2</math></i>
$\text{H}_2[\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$	$0,27 \pm 0,05$	$0,78 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,08$	$1,5 \times 10^{-6}$
$\text{H}_2[\text{Porph-4H-SO}_3]^{3-}$	$0,16 \pm 0,004$	$0,85 \pm 0,003$	0,38	$2 \times 10^{-6}$
$\text{H}_2 [\text{Porph-4H}]^{3-}$	$0,07 \pm 0,003$	$0,92 \pm 0,003$	0,38	$2 \times 10^{-6}$

Die iterative Anpassung der Fitfunktion an die experimentellen Daten aus den Fragmentintensitäten von  $[\text{H}_2\text{Porph-4H-SO}_3]^{3-}$  und  $[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{3-}$  führte in kein Minimum. Daher wurde der Wert für den Absorptionsquerschnitt aus den Daten des  $[\text{H}_2\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$  übernommen und als Konstante eingeführt. Die erhaltenen Fitfunktionen sind ebenfalls in Abbildung 74 dargestellt und die Ergebnisse in Tabelle 20 aufgelistet.

### Diskussion der Ergebnisse

Die Fit-Funktionen an die experimentellen Daten zeigen für die freie Porphyrinbase, sowohl in *action* als auch in *depletion* ausgewertet, eindeutig einen Ein-Photonenprozess. Ein Vergleich der zugehörigen Fit-Funktionen, ohne Einschränkung an die verwendeten Parameter, zeigt eine gute Übereinstimmung für den mittleren Überlapp des Laserstrahls mit der Ionenwolke von 78% (siehe Tabelle 21).

Tabelle 21: Parameter der angepassten uneingeschränkten Fit-Funktionen des Ein-Photonenprozesses an die experimentellen Daten in *action* und *depletion*

<i>Messmodus</i>	<i>Mutterion zur Auswertung</i>	<i>Parameter c</i>	<i>Überlapp Parameter <math>\alpha</math></i>	<i>Absorptionsquerschnitt <math>\sigma</math> in <math>\text{\AA}^2</math></i>
<i>depletion</i>	$[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{4-}$	1	$0,79 \pm 0,12$	$1,36 \pm 0,40$
<i>action</i>	$[\text{H}_2\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$	$0,27 \pm 0,05$	$0,78 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,08$

Für die Betrachtung des Absorptionsquerschnitts ist zu beachten, dass es sich bei dem Verlust von  $\text{SO}_2^-$  wahrscheinlich nicht um einen einzelnen Schritt handelt. Eher ist zu erwarten, dass ein neutraler  $\text{SO}_2$  Verlust mit anschließendem Elektronenverlust erfolgt. Unabhängig vom Ablauf dieser Fragmentation kann hier nur die Summe der Prozesse betrachtet werden. Ein Vergleich mit Ergebnissen der Photoelektronenspektroskopie (PES) würde an dieser Stelle

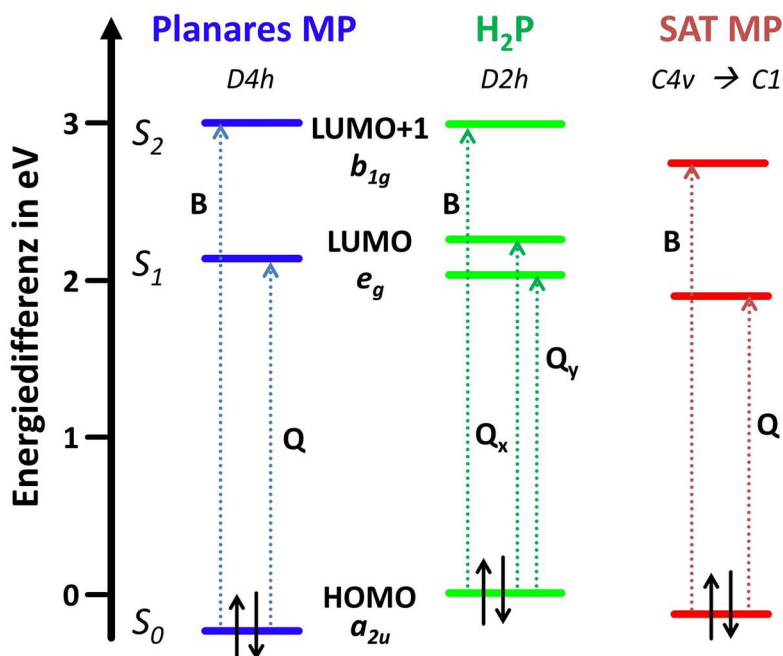
Aufschluss über die elektronische Coulombbarriere geben und zur besseren Interpretation der Daten beitragen. Für ein der freien Porphyrinbase ähnliches System, dem mehrfach geladenen Phtalocyanin-Tetrasulfonat, wurde eine elektronische Coulombbarriere von 2,8 eV gemessen. Da die Photonenenergie, die für die hier gezeigten Messungen verwendet wurde, bei 2,91 eV liegt, würde eine RCB von 2,8 eV für das  $[\text{H}_2\text{Porph-4H}]^{4-}$  Molekül das Auftreten des Elektrendetachments auch ohne die Interpretation durch Tunnelprozesse erklären.<sup>230, 269</sup>

Für das Eisenporphyrin weisen die Daten, wie aufgezeigt, auf einen Zwei-Photonenprozess zur Dissoziation hin. Dies lässt sich durch eine im Vergleich zur freien Porphyrinbase höhere Dissoziationsbarriere erklären. Da gleichzeitig auch kein Elektronenverlust gemessen werden konnte, ist dies ein Hinweis, dass auch die elektronische Coulombbarriere für das Metalloporphyrin höher ausfällt, als in der freien Porphyrinbase.

#### 4.2.2 UV/Vis Spektroskopie an H<sub>2</sub>-, Mangan und Eisenporphyrinen

Publikationen von Horvath *et al.* aus den vergangenen Jahren zeigen die physikalische Bedeutung des Zentralatoms in den Metalloporphyrinen und der resultierenden Struktur für die katalytischen Eigenschaften in Lösungen. Doch gerade die Kernaussagen dieser Arbeiten zu den Spinzuständen der Zentralatome und der Schlussfolgerungen auf eine planare oder eine auf-sitzende (SAT-) Anordnung wird durch die undefinierte Selektion der Metalloporphyrine in Lösung nicht zweifelsfrei beantwortet.

In dieser Arbeit wurde die Spektroskopie in der Gasphase, im Hinblick auf die Oxidationsstufe, an wohldefinierten Systemen und ohne den Einfluss zusätzlicher Liganden des Lösungsmittels oder Gegenionen, die die optische Eigenschaften dieser Komplexe verändern könnten, durchgeführt. Dafür wurde neben dem 5,10,15,20-Tetraphenyl-Porphyrin als freie Porphyrinbase auch die entsprechende Metalloporphyrine mit Fe<sup>III</sup> und Fe<sup>II</sup> als Zentralatom untersucht. Zusätzlich wurde die Studie auf die Mn<sup>III</sup> und Mn<sup>II</sup> Metalloporphyrine ausgeweitet, die aufgrund der, bezüglich des Eisens, ähnlichen Ionenradien im high spin und low spin Zustand vergleichbare spektroskopische Ergebnisse erwarten lassen. Die von Horvath *et al.* berechneten Auswirkungen der Struktur auf das UV/Vis Absorptionsspektrum ist in Abbildung 75 dargestellt.



**Abbildung 75** vereinfachte Darstellung der elektronischen Übergänge in der freien Porphyrinbase und den Metalloporphyrinsystemen, nach den Rechnungen von Horvath, Valicsek und Lendvay.<sup>262</sup> Die Rechnungen basieren auf dem 4 Molekülorbital-Ansatz von Gouterman.<sup>251</sup>

### Experimentelle Ausführung

Die Dissoziation der freien Porphyrinbase und der Metalloporphyrinsysteme zeigen abhängig von der Oxidationsstufe des Zentralatoms ein unterschiedliches Fragmentationsverhalten. Als primäre Dissoziationskanäle wurden für die vierfach deprotonierten  $M^{II}$  Porphyrine und für die freie Porphyrinbase der  $SO_2^-$  Verlust ermittelt. Für die vierfach deprotonierten  $M^{III}$  Metalloporphyrine wurden die neutrale  $SO_2$ - und  $SO_3$ -Abspaltungen als primäre Fragmentationskanäle identifiziert. (Tabelle 22)

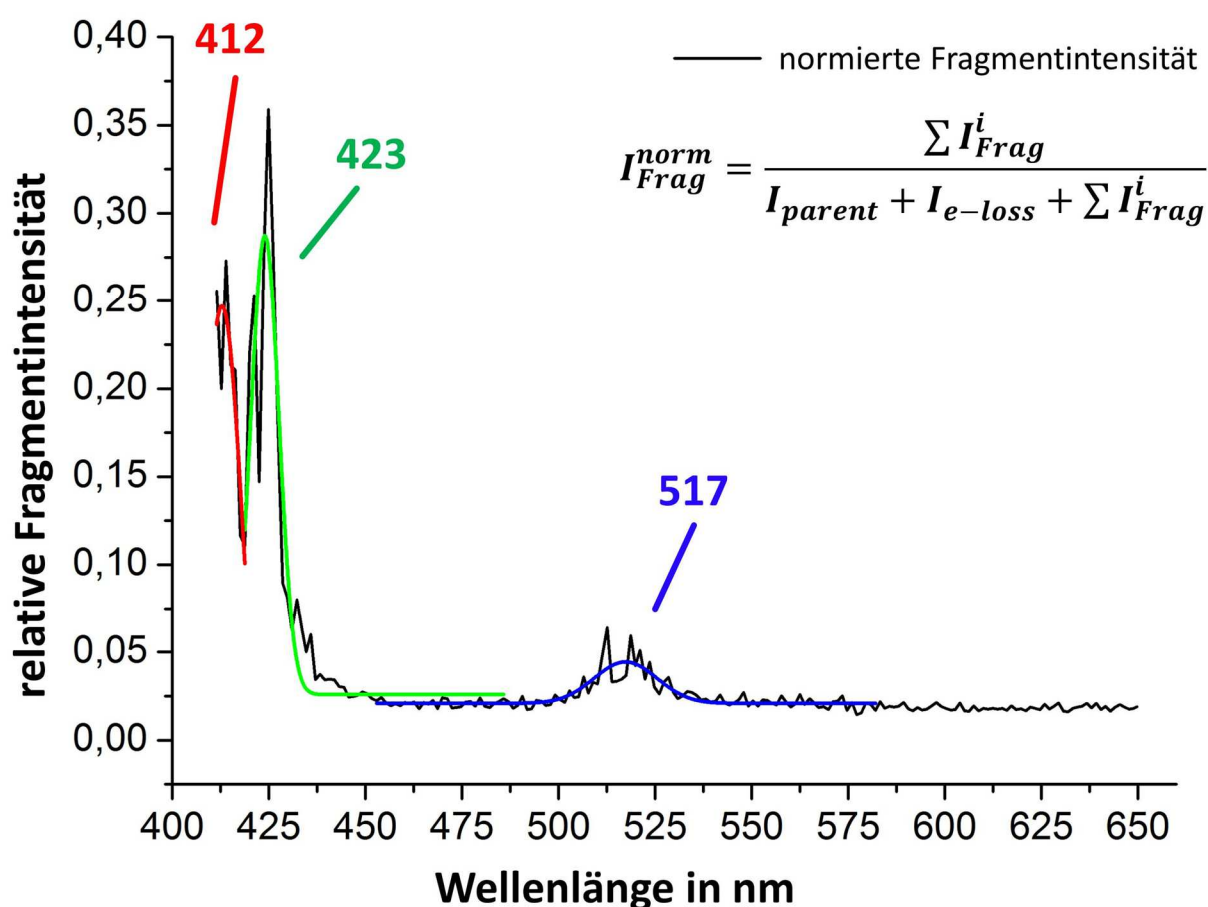
Tabelle 22: Zuordnung der Fragmentationskanäle für die freie Porphyrinbase und die Metalloporphyrine aufgrund von monoisotopischen Simulationen.

<i>MnPorph</i>	<i>Verlustkanal</i>	<i>Strukturformel</i>	<i>Berechn. Masse/Ladung</i>	<i>exp. Masse/Ladung</i>
H <sub>2</sub> -Porph(4-)		H <sub>2</sub> [C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>4</sub> ] <sup>4-</sup>	232,51	232,50
	- SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> [C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>9</sub> S <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	283,36	283,35
	- SO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> [C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>10</sub> S <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	288,69	288,69
	- e <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> [C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>4</sub> ] <sup>3-</sup>	310,01	310,01
Fe <sup>II</sup> Porph(4-)		Fe[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>4</sub> ] <sup>4-</sup>	245,99	245,98
	- SO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Fe[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>9</sub> S <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	306,67	306,66
Fe <sup>III</sup> Porph(3-)		Fe[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>4</sub> ] <sup>3-</sup>	327,99	327,98
	- SO <sub>2</sub>	Fe[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>10</sub> S <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	306,67	306,66
	- SO <sub>3</sub>	Fe[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>9</sub> S <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	301,66	301,65
Mn <sup>II</sup> Porph(4-)		Mn[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>4</sub> ] <sup>4-</sup>	245,74	245,74
	- SO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Mn[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>10</sub> S <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	306,35	306,35
Mn <sup>III</sup> Porph(3-)		Mn[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub> S <sub>4</sub> ] <sup>3-</sup>	327,65	327,65
	- SO <sub>3</sub>	Mn[C <sub>44</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>9</sub> S <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	301,35	301,35
	- SO <sub>2</sub>	Mn[C <sub>44</sub> H <sub>23</sub> N <sub>4</sub> O <sub>10</sub> S <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup>	306,35	306,34

Alle in dieser Arbeit angefertigten Spektren wurden mit dem experimentellen Aufbau gemessen, der in Abschnitt 2.4.2 vorgestellt wurde. Für die Photodissoziationsspektroskopie der H<sub>2</sub>-, Mangan und Eisenporphyrine, wurden die gesprühten Molekülonen in der ICR-Zelle gespeichert und mit einem Isolationspuls das definierte Masse-zu-Ladungs-Verhältnis selektiert. Mit der gezielten Steuerung der Shutteröffnungszeit wurden die Experimente mit drei Laserpulsen (entspricht einer Shutteröffnungszeit von 150 ms) aufgenommen und mit einem Polfilter die maximale Fragmentintensität, mittels Optimierung der Laserleistung bei 426 nm, eingestellt.

### Photodissoziationsspektrum des $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$

Vor der Diskussion der Metalloporphyrine, wird an dieser Stelle zuerst die UV/Vis Spektroskopie der freien Porphyrinbase betrachtet. Abbildung 76 zeigt das *action* Spektrum des  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$  im Wellenlängenbereich von 410 nm bis 650 nm, mit den zugehörigen Absorptionsmaxima aus der Tabelle 23. Die Bande bei 410 nm bis 430 nm wurde dem  $S_0 \rightarrow S_2$  Übergang der Soretbande und die Bande zwischen 500 und 530 nm der dem  $S_0 \rightarrow S_1$  Übergang, der als Q Bande bezeichnet wird, zugeordnet. Der Intensitätsunterschied der beiden Motive ist in Übereinstimmung mit den Symmetrieeffekten, die im Gouterman-Model aufgezeigt werden.<sup>251</sup>



**Abbildung 76** UV/Vis Photofragment-Spektrum der freien Porphyrinbase  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$ . Zur Auswertung wurden die Fragmentintensitäten des Verlusts von  $\text{SO}_2^-$ ,  $\text{SO}_3^-$  und die Intensität des Elektronenverlustkanals addiert und mit der Intensität des nicht dissoziierten Mutterions normiert. Die Maxima wurden mittels Gaußfunktion ausgewertet und die Parameter in Tabelle 23 aufgelistet.

Tabelle 23: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des *action* Spektrums aus Abbildung 76 für das  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4+}$

<i>Farbe</i>	<i>Bande (Übergang)</i>	<i>Absorptionsmax. nm</i>	<i>FWHM nm</i>
rot <sup>xvi</sup>	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	412	13,3
grün	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	423	8,2
blau	Q-Bande $S_0 \rightarrow S_1$	517	19,2

Die Maxima der Fragmentintensität bei den Werten von 412 nm und 423 nm können der Soretbande des  $S_0 \rightarrow S_2$  Übergangs zugeordnet werden. Die Aufspaltung dieser Bande in zwei Maxima wird im Zusammenhang zur stark variierenden Laserleistung in diesem Bereich in Anhang D.1 thematisiert.

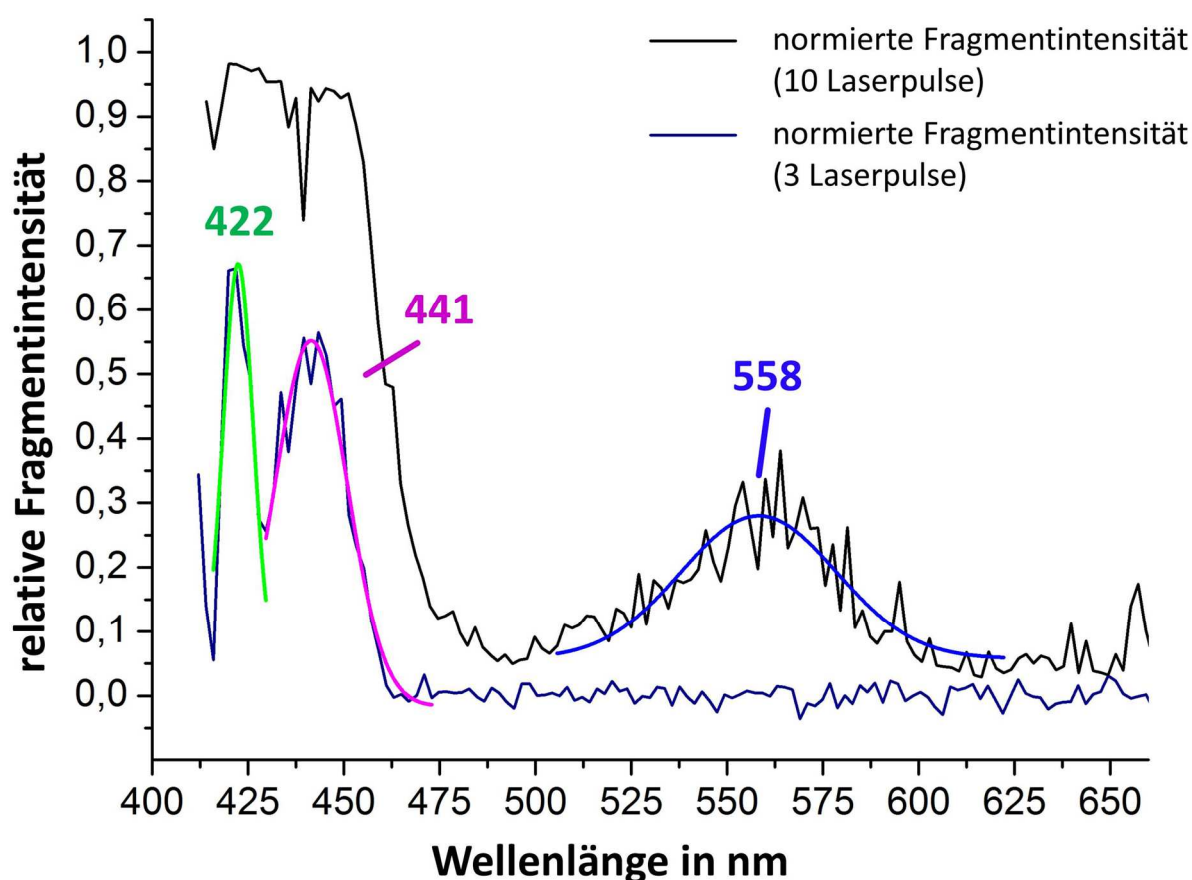
Das dritte Maximum bei 517 nm wird durch die Absorption des  $S_0 \rightarrow S_1$  Übergangs der Q-Bande gebildet. Ein Vergleich mit Absorptionsspektren von verdampften Tetraphenylporphyrinen von Edwards und Gouterman, lässt sowohl aufgrund der Absorptionswellenlänge und der Intensität der Banden bei 517 nm auf eine Zuordnung zu der  $Q_y$  Bande schließen. Die  $Q_x$  Bande wurde in diesen Vergleichsspektren mit kleiner Intensität bei ca. 600 nm gemessen.<sup>270</sup> Diese Bande konnte im vorliegenden Spektrum nicht nachgewiesen werden, was aufgrund der stark abnehmenden Laserleistung und durch das verringerte Signal-zu-Rauschen-Verhältnis erklärt werden kann. Ein Vergleich mit Absorptionsspektren der Substanz in wässriger Lösung (Soretbande:413 nm; Q-Bande 516 nm) zeigt, dass für dieses System keine signifikanten Verschiebungen der Banden aufgrund eines Lösungsmittelleffekts beobachtet werden.<sup>262</sup>

### Photodissoziationsspektrum der $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4+}$

In Abbildung 77 ist das Spektrum des vierfach deprotonierten Eisenporphyrins mit der Oxidationsstufe  $\text{Fe}^{\text{II}}$  abgebildet. Wie in Abschnitt 4.2.1 gezeigt wurde handelt es sich bei der Photodissoziation dieses Mutterions um einen Mehr-Photonenprozess. Um die Intensitätsunterschiede zwischen Soret- und Q-Bande experimentell zu bewältigen, wurde die Messung mit

<sup>xvi</sup> ggf. ein Artefakt aufgrund von starken Variationen der Laserleistung für  $\lambda < 420$  nm

einer unterschiedlicher Anzahl an Laserpulsen durchgeführt, um einerseits eine aufgelöste Soretbande und andererseits eine Q-Bande oberhalb des Signal zu Rauschen Verhältnisses darstellen zu können. Die Aufspaltung des spektralen Motivs, das der Soretbande zugeordnet werden kann, zeigt zwei Banden bei 422 nm und 441 nm. Im Gegensatz zu der Aufspaltung beim  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$  kann die Form der Soretbande an dieser Stelle klar bei unterschiedlichen Laserleistungen reproduziert werden (Abbildung 77).



**Abbildung 77** UV/Vis Spektrum des vierfach deprotonierten  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$ . Zur Auswertung wurde die Summe der Fragmentintensitäten mit der Intensität des Mutterions normiert. Zur Bestimmung der aufgelösten Soretbande und der Q-Bande wurden zwei Spektren mit unterschiedlicher Laserleistung aufgenommen. Die Parameter und Maxima der Fit-Funktionen sind in Tabelle 24 aufgeführt.

Der  $S_0 \rightarrow S_1$  Übergang der Q Bande wurde bei 558 nm bestimmt (siehe Tabelle 24). Dies liegt ebenfalls in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus wässriger Lösung.<sup>262</sup> Ein Vergleich mit der Literatur<sup>271</sup> legt für diese Bande den Übergang aus dem vibronisch angeregten, elektronischen Grundzustand  $S_{0,1}$  in den elektronisch angeregten, vibronischen Grundzustand  $S_{1,0}$ , der im Folgenden für alle Metalloporphyrine als Übergang  $S_0 \rightarrow S_1$  der Q Bande ( $Q_{1-0}$ ) bezeichnet werden soll. Der Übergang  $S_0 \rightarrow S_2$  hingegen findet vom elektronischen und vibronischen Grundzustand  $S_{0,0}$  in den elektronisch angeregten vibronischen Grundzustand  $S_{0,1}$  statt und wird im Folgenden als B Bande ( $B_{0-0}$ ) bezeichnet.

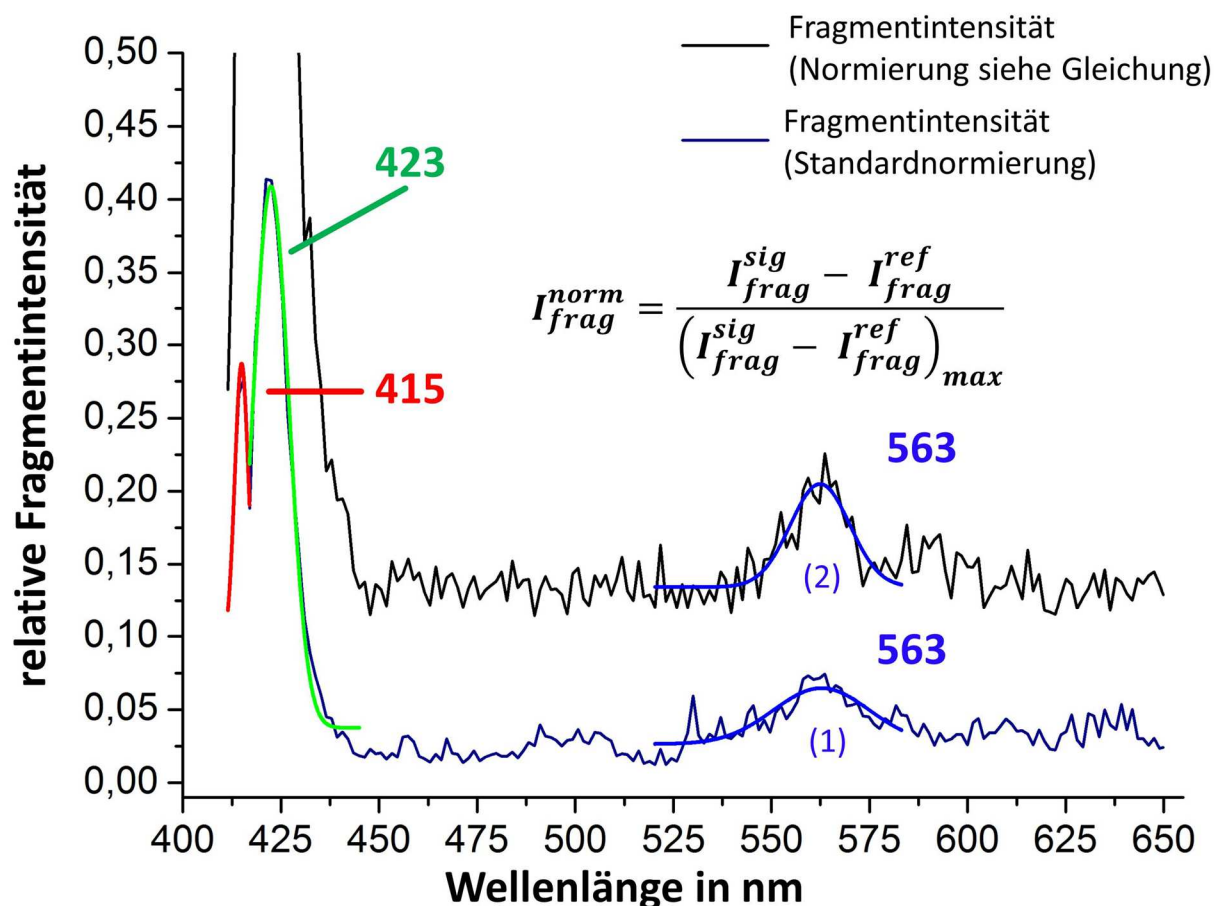
Tabelle 24: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des *action* Photodissoziationsspektrums aus Abbildung 77 für das  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$

<i>Farbe</i>	<i>Bande (Übergang)</i>	<i>Absorptionsmax. nm</i>	<i>FWHM nm</i>
grün	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	422	8,8
pink	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	442	25,4
blau	Q-bande $S_0 \rightarrow S_1$	558	47,8

### Photodissoziationsspektrum der $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$

Ein weiteres Metalloporphyrin das aufgrund seiner ähnlichen chemischen Eigenschaften bezüglich der Spinnultiplizität der Oxidationszustände<sup>240</sup> und des Ionenradius für high spin und low spin Komplexe (siehe Tabelle 13) ein ähnliches Verhalten bezüglich der UV/Vis Spektroskopie<sup>270</sup> und somit bezüglich der Bildung von SAT und planaren Strukturen erwarten lässt, ist das Manganporphyrin (Mangan *meso*-tetrakis(4-sulfonatophenyl)-Porphyrin). In Abbildung 78 ist das Spektrum des vierfach deprotonierten Manganporphyrins mit der Oxidationsstufe  $\text{Mn}^{\text{II}}$  abgebildet. Die Maxima der gemessenen Banden des *action* Spektrums sind in Tabelle 25 aufgeführt. Es konnten zwei Absorptionsmaxima im Bereich der Soretbande, zwischen 415 nm und 423 nm, und eine Q-Bande im sichtbaren Bereich des Spektrums mit einer Bandenposition bei 563 nm, gemessen werden.





**Abbildung 78** UV/Vis Spektrum des vierfach deprotonierten  $Mn^{II}[Porph-4H]^+$ . Zur Auswertung wurden die Fragmentintensitäten von einem  $SO_2^-$  Verlust mit der Intensität des *parent ion* normiert. Alternativ wurde das Spektrum gegen die Schuss zu Schuss Referenz des Fragmentkanals normiert, das bei Intensitätsschwankungen des Mutterions ein besseres Signal-zu-Rauschen-Verhältnis birgt. Die Lage der Bande ist durch die Art der Normierung nicht beeinträchtigt.

Tabelle 25: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des *action* Spektrums aus Abbildung 78 für das  $Mn^{II}[Porph-4H]^+$

<i>Farbe</i>	<i>Bande (Übergang)</i>	<i>Absorptionsmax. nm</i>	<i>FWHM nm</i>
rot <sup>xvii</sup>	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	414	1,5
grün	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	423	12,6
blau (1)	Q-bande $S_0 \rightarrow S_1$	563	28,8
blau (2)	Q-bande $S_0 \rightarrow S_1$	563	14,3

<sup>xvii</sup> ggf. Artefakt aufgrund von starken Variationen der Laserleistung für  $\lambda < 420$  nm

Die Aufspaltung der Soretbande mit dem Übergang von  $S_0 \rightarrow S_2$  kann ähnlich wie die freie Porphyrinbase durch die Schwankungen der Laserleistung beeinflusst werden. Der  $S_0 \rightarrow S_1$  Übergang der Q Bande ist hingegen zu 562 nm verschoben

Die Position der Soretbanden und der Q Banden befinden sich jedoch in guter Übereinstimmung mit den Absorptionsspektren aus dem verdampften Mutterion.<sup>270</sup>

### Photodissoziationsspektrum der $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$

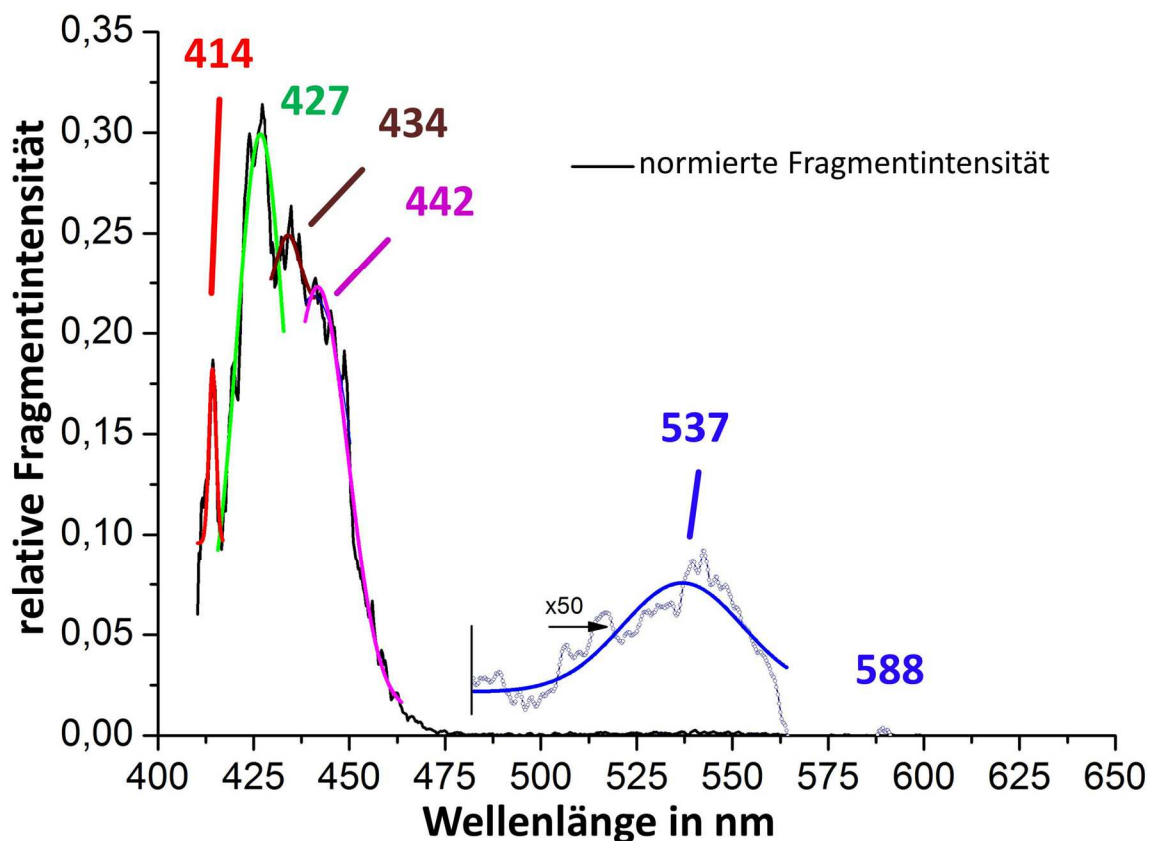
Der Argumentation der vergangenen Publikationen von Hovrath *et al.* folgend können diese UV/Vis Spektren als SAT Strukturen zugeordnet werden.<sup>262</sup> Während das high spin  $\text{Fe}^{\text{II}}$  Ion demnach klar eine SAT ergeben muss, liegt der low spin Zustand des  $\text{Fe}^{\text{II}}$  Ions rein auf die Größe bezogen an der Grenze der planaren Komplexierungsmöglichkeiten des Porphyrinsystems.<sup>272</sup> Als nach dieser Argumentation planares System, unabhängig vom Spinzustand, wurde in den Arbeiten von Horvath *et al.* das vierfach deprotonierte  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$ , das in low spin Konfiguration vorliegen soll, deklariert. Um diese Aussage validieren zu können wurde als Vergleich die spektroskopische Untersuchung auf das  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  und das  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  ausgeweitet.<sup>xviii</sup>

Die Messungen zu den  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  wurden identisch zu denen des  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porphyrin-4H}]^{3-}$  durchgeführt. Die primären Fragmente der Messung bilden sich durch den Verlust von neutralen  $\text{SO}_3$  und  $\text{SO}_2$  Molekülen unter Erhaltung der Gesamtladung von 3- für das System. Im UV/Vis Spektrum wurde die Summe dieser Fragmente  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$  und  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$  aufaddiert und gegen die Summe der Fragmente und des Mutterions normiert. Der Verlust eines Elektrons zu  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porphyrin-4H}]^{2-}$  konnte nicht detektiert werden.

Das Spektrum ist in Abbildung 79 abgebildet und die Banden durch Fit mit Gauß Funktionen ausgewertet. Die Absorptionsmaxima sind in Tabelle 26 aufgelistet.

---

<sup>xviii</sup> Die Zuordnung zu planaren und SAT Strukturen basiert in diesen Arbeiten hauptsächlich auf der Blauverschiebung der Q-Banden. Auch wenn diese Messung in Gasphase reproduziert werden konnten, ist aus Sicht des Autors die direkte Korrelation dieser Größen erst durch den Nachweis mit quantenmechanischen Rechnungen eindeutig.



**Abbildung 79** UV/Vis Spektrum des vierfach deprotonierten  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$ . Zur Auswertung wurden die Summe der Fragmentintensitäten des neutralen  $\text{SO}_2$  und  $\text{SO}_3$  Verlust mit der Intensität des Mutterions normiert.

Tabelle 26: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des *action* Spektrums aus Abbildung 78 für das  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$

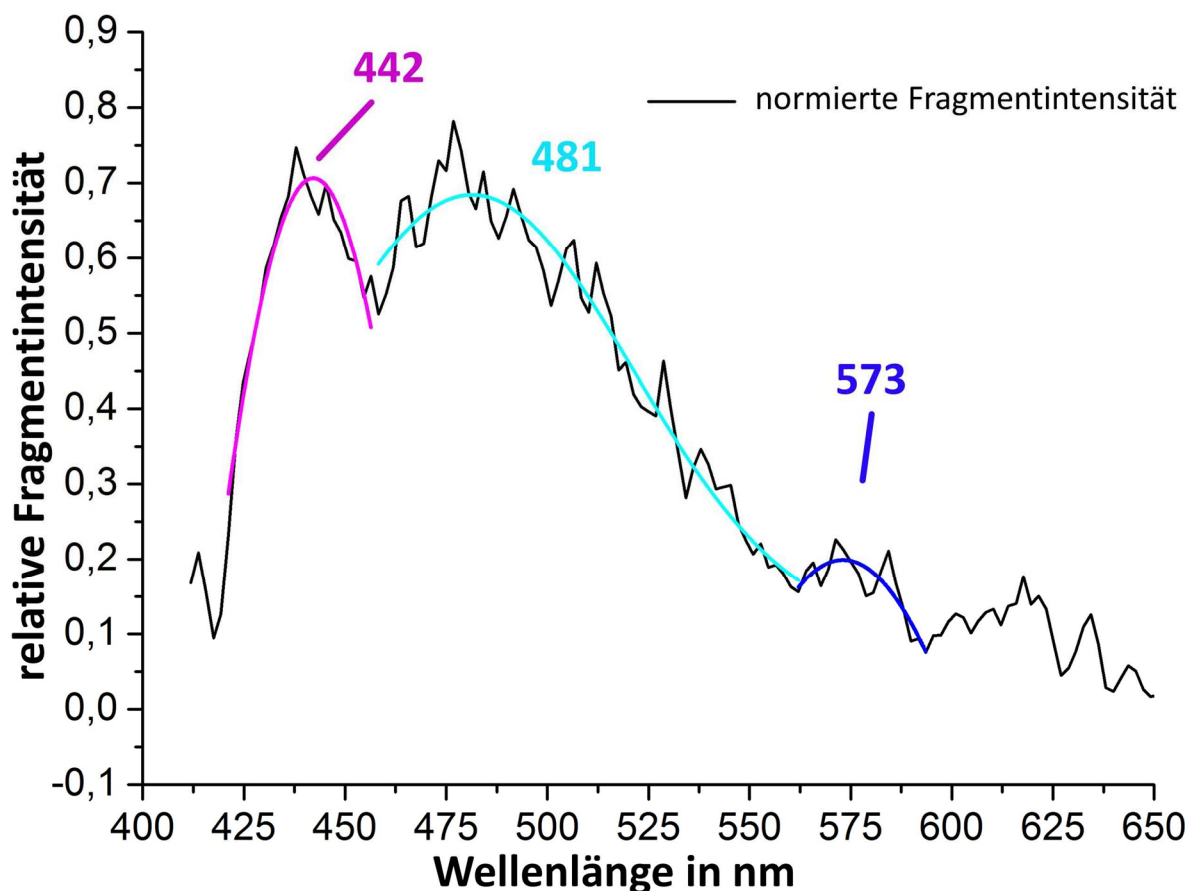
<i>Farbe</i>	<i>Bande (Übergang)</i>	<i>Absorptionsmax. nm</i>	<i>FWHM nm</i>
rot <sup>xix</sup>	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	414	2,2
grün	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	427	11,5
braun	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	434	17,7
violett	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	442	25,4
blau	Q-bande $S_0 \rightarrow S_1$	537	52,2
blau	Q-bande $S_0 \rightarrow S_1$	588	9,6

<sup>xix</sup> ggf. Artefakt aufgrund von starken Variationen der Laserleistung für  $\lambda < 420$  nm

Das Spektrum des  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  besitzt im UV Bereich eine breite, intensive Absorption zwischen 420 nm und 450 nm. Eine partielle Aufspaltung der breiten Absorption führt zu drei Banden bei 424 nm, 434 nm und 441 nm. Da die Abstände dieser Maxima gering sind, kommt es zu Überlappungseffekten, die den Fehler in der Fit-Funktion erhöhen. Im Bereich über 500 nm ist eine Bande von geringer Intensität bei 537 nm und eine Bande bei 588 nm, kurz oberhalb des Signal-zu-Rauschen-Verhältnis der Messung, sichtbar. Da die Banden mit solch geringen Intensitäten experimentell schwer zugänglich sind, ist die Reproduktion dieser Q-Banden im Gegensatz zu der Messung der intensiven Soretbande noch Teil der aktuellen Aufgabenstellung, was bei der Interpretation berücksichtigt wurde.

#### Photodissoziationsspektrum der $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$

Für das  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  konnten ebenfalls der neutrale  $\text{SO}_2$  und  $\text{SO}_3$  Verlust als Fragmentationskanäle identifiziert werden. Das Spektrum des  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  ist in Abbildung 80 dargestellt und die Auswertung der Fit-Funktionen in Tabelle 27 aufgelistet.



**Abbildung 80** UV/Vis Spektrum des vierfach deprotonierten  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$ . Die Auswertung wurde analog zum  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  durchgeführt.

Tabelle 27: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des *action* Spektrums aus Abbildung 78 für das  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$

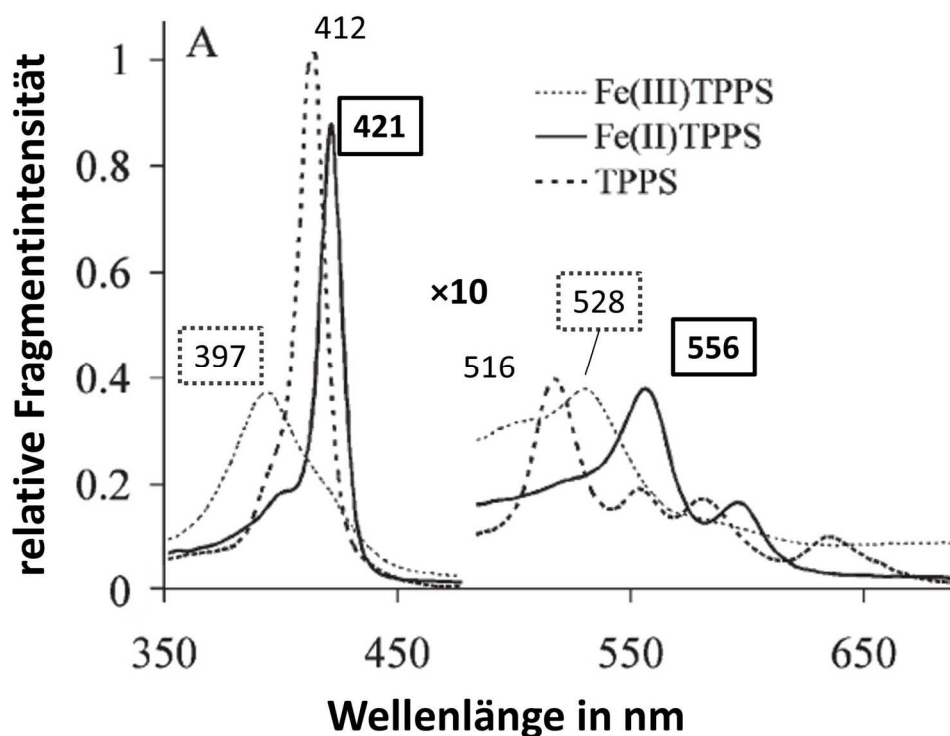
<i>Farbe</i>	<i>Bande (Übergang)</i>	<i>Absorptionsmax. nm</i>	<i>FWHM nm</i>
violett	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	441	92,4
cyan	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	481	73,0
blau	Q-bande $S_0 \rightarrow S_1$	573	36,2

Ähnlich zum des  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  ist die Absorption der Q Bande im  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  von geringer Intensität und wird zusätzlich durch die Überlagerung mit der breiten Soretbande verdeckt. Daher wird auf die Interpretation dieser Bande bei der Diskussion verzichtet.

### Diskussion der Ergebnisse und Vergleich mit Literatur

In Abbildung 81 sind die Absorptionsspektren für das Eisenporphyrin mit unterschiedliche Oxidationsstufen in wässriger Lösung aus der bereits erwähnten Publikation von Huszank und Horvath<sup>273</sup> abgebildet. In Tabelle 28 werden die experimentellen Daten aus der Gasphase, die in dieser Arbeit gemessen wurden, mit den Werten aus Lösung direkt verglichen. Vergleicht man die UV/Vis Photodissoziationsspektren des  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und des  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$  mit den Literaturwerten der Absorptionsspektroskopie in Lösung, ist eine überraschend große Übereinstimmung zu erkennen.

Eine besondere Beachtung gilt der Q-Bande der  $\text{M}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  Systeme, die die größten Verschiebungen als Funktion der Oxidationszustände aufweist und in sehr guter Übereinstimmung mit den Werten der Absorptionsspektroskopie aus wässriger Lösung steht. Für das  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  beträgt diese Blauverschiebung ca. 40 nm, was von Horvath *et al.* als charakteristisch für eine SAT Struktur postuliert wurde. Dieses Merkmal wurde von Horvath *et al.* durch Vergleiche mit UV/Vis Spektren aus wässriger Lösung von Porphyrinen mit großen Metallatomen als Bindungspartner identifiziert.<sup>262</sup> Dieser Argumentation folgend könnte somit dem Eisen(II) Komplex in der Gasphase eine SAT Struktur zugeordnet werden.<sup>274</sup> Jedoch sollten vor einer abschließenden Zuordnung die Gasphasenspektren der Pd-,Hg-,Tb- und Mg-Porphyrine gemessen werden, um den relativen Vergleich der Blauverschiebung in der Q-Bande dieser Systeme herstellen zu können.



**Abbildung 81** Absorptionsspektren des  $\text{H}_2[\text{TPPS}]$ , des  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{TPPS}]$  und des  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{TPPS}]$  gemessen in wässriger Lösung, entnommen aus der Publikation von Huszank und Horvath.<sup>273</sup>

Tabelle 28: Vergleich der Absorptionsmaxima der Eisenporphyrine und der freien Porphyrinbase mit Literaturwerten erhalten aus wässriger Lösung.<sup>262, 273, 274</sup>

<i>M-Porphyrin</i>	Soretbande Experiment nm	Soretbande Literatur nm	Q-Bande Experiment nm	Q-Bande Literatur nm
$\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$	412 / 423	413	517	516
$\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$	422/441	421	558	556
$\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$	414/427/434/442	(397)	(537/588)	528

Diese Blauverschiebung ist auch in dem  $\text{Mn}(\text{II})$ Komplex,  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  zu beobachten (siehe Tabelle 29). Dies deutet darauf hin, dass es sich bei dem Mangan in der Oxidationsstufe +II, unter Berücksichtigung der bereits beschriebenen Einschränkungen, ebenfalls um einen SAT Komplex handelt.

Allgemein kann aus dem Vergleich von Mangan- und Eisenspektren geschlossen werden, dass die Elektronen am Zentralatom nur geringfügig die optischen Eigenschaften des Systems beeinflussen, die hauptsächlich von den aromatischen  $\pi$  Elektronen des Porphyrinringsystems bestimmt werden. Diese beeinflusst die energetische Aufspaltung der HOMO und LUMO Orbitale und verändert die Anregungsenergie für den Übergang  $S_0 \rightarrow S_1$ , was sich in der deutlichen Verschiebung der Q-Bande bemerkbar macht.

Tabelle 29: Vergleich der Absorptionsmaxima der Manganporphyrine mit Literaturwerten erhalten aus wässriger Lösung<sup>275</sup>.

<i>M-Porphyrin</i>	Soretbande Experiment nm	Soretbande Literatur nm	Q-Bande Experiment nm	Q-Bande Literatur <sup>218</sup> nm
Mn <sup>II</sup> [Porph-4H] <sup>4-</sup>	415/423	421	558	595
Mn <sup>III</sup> [Porph-4H] <sup>3-</sup>	442/481	467	(573)	596

Eine Interpretation der Soretbande ist durch den definierten Messbereich des hier beschriebenen Experiments schwer durchzuführen. So zeigen die Spektren von Horvath *et al.* zwar eine Rotverschiebung der Bande für das Fe<sup>III</sup>[*meso*-tetrakis(4-sulfonatophenyl) Porphyrin]<sup>xx</sup> - Absorptionsspektrum zu 397 nm, die aber in diesem Experiment aufgrund der technischen Beschränkung des UV/Vis Lasersystems nicht gemessen werden kann.

Aber auch wenn eine zweite intensive Bande unterhalb des Messbereichs des UV/Vis Lasersystems angenommen wird, zeigt das Lösungsmittelspektrum des Fe<sup>III</sup>TPPS nicht die charakteristische, breite Bande im Bereich von 430 nm, die im Gasphasenspektrum des Fe<sup>III</sup>[Porph-4H]<sup>3-</sup> deutlich erkennbar ist. Somit weichen die Gasphasenspektren des Fe<sup>III</sup>[Porph-4H]<sup>3-</sup>, im Gegensatz zu den Fe<sup>II</sup>[Porph-4H]<sup>3-</sup> Spektren, von den Ergebnissen aus wässriger Lösung ab. Als mögliche Erklärung hierfür kann der Einfluss der Komplexbildung des Zentralatoms durch Lösungsmittelmoleküle, in diesem Fall H<sub>2</sub>O, herangezogen werden. Ein Hinweis darauf liefert die Messung eines intensiven Signals im Massenspektrum, das dem Fe<sup>III</sup>[Porph-4H]<sup>3-</sup> × H<sub>2</sub>O Addukt zugeordnet werden konnte, aber vor der Spektroskopie durch Isolation aus der ICR-Zelle entfernt wurde.

Obwohl die Soretbanden für das Fe<sup>II</sup>[Porph-4H]<sup>4-</sup> und H<sub>2</sub>[Porph-4H]<sup>4-</sup> gut mit den Spektren in wässriger Lösung übereinstimmen und quantenmechanische Rechnungen, insbesondere zu den Eisenporphyrinen, ausführlich durchgeführt und diskutiert wurden,<sup>2, 276</sup> ist eine Interpretation der Breite und Aufspaltung dieser Bande aufgrund der Literaturwerte nicht möglich. Eine

<sup>xx</sup> (Fe<sup>III</sup>TPPS)

Möglichkeit die Interpretation dieser Systeme zu verbessern wäre die Ausweitung der Studie auf große Metalloporphyrine, wie das *meso*-tetrakis(4-sulfonatophenyl) Palladiumporphyrin als SAT-System und das *meso*-tetrakis(4-sulfonatophenyl) Kupferporphyrin als low spin System, um anhand dieser Beispiele den jeweiligen Strukturen charakteristische Banden in der Gasphase zuordnen zu können. Zusätzlich ist die Ausweitung der Studien auf andere Gasphasenmethoden sinnvoll, um eventuell durch den Kollisionsquerschnitt aus der Ionen Mobilitäts Spektrometrie SAT Strukturen in der Gasphase zweifelsfrei zuordnen zu können oder durch Fluoreszenzspektroskopie an den gespeicherten Ionen, Auskünfte über die Spinnultiplizität der Zentralatome zu erhalten.

Der Vergleich der Absorptionsmaxima aller UV/Vis Spektren ist in Tabelle 30 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 30: Aufgelistete Absorptionsmaxima der vierfach deprotonierten Metallo<sup>II</sup>-Porphyrine, der vierfach deprotonierten Metallo<sup>III</sup>-Porphyrine und der vierfach deprotonierten freien Porphyrinbase mit Zuordnung zum jeweiligen elektronischen Übergang

<i>M-Porphyrin</i>	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$ nm	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$ nm	Q-Bande $S_0 \rightarrow S_1$ nm
$H_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$	(412) /423	-	517
$Fe^{II}[\text{Porph-4H}]^{4-}$	422	441	558
$Fe^{III}[\text{Porph-4H}]^{3-}$	(414)/427	434/442	537/588
$Mn^{II}[\text{Porph-4H}]^{4-}$	(415)/423	-	563
$Mn^{III}[\text{Porph-4H}]^{3-}$		442/481	(530)/580



### 4.2.3 UV/Vis Spektroskopie der Sauerstoffanlagerung an Eisen und Manganporphyrinen

Im vorangegangenen Abschnitt wurde gezeigt, dass die UV/Vis Spektren der Metalloporphyrine viele Informationen in Bezug auf den Spinzustand und die Struktur des Systems beinhalten können. Daher gilt diese Methode auch als zurzeit informativste Spektroskopiemethode für die Chemie der Metalloporphyrine.<sup>218</sup> Wegen der zentralen Rolle dieser Systeme in der Photosynthese und dem Sauerstofftransport ist die Interpretation der damit untersuchten Photochemie seit geraumer Zeit von großem Interesse für die Biochemie.<sup>244, 277, 278</sup>

Die meist in Lösung vorgenommenen Studien wurden dementsprechend auch auf die Intermediate dieser biologisch relevanten Reaktionen ausgeweitet und die Addukte von Sauerstoff, Kohlenmonoxid und Stickstoffoxiden an Porphyrinsysteme, mit unterschiedlichen Metallzentren, untersucht.<sup>245, 279</sup> Die Schwierigkeit dieser Messungen ist jedoch ein, aus einer Lösung in einem Reaktionsgleichgewicht entnommenes Ergebnis im Hinblick auf einen Teilaspekt dieses Gleichgewichts auszuwerten. Um die Interpretation der Messungen zu verbessern und definierte Bedingungen zu nutzen, wurden die Studien zu diesen Reaktionen daher auch auf die Gasphase ausgeweitet.<sup>280</sup>

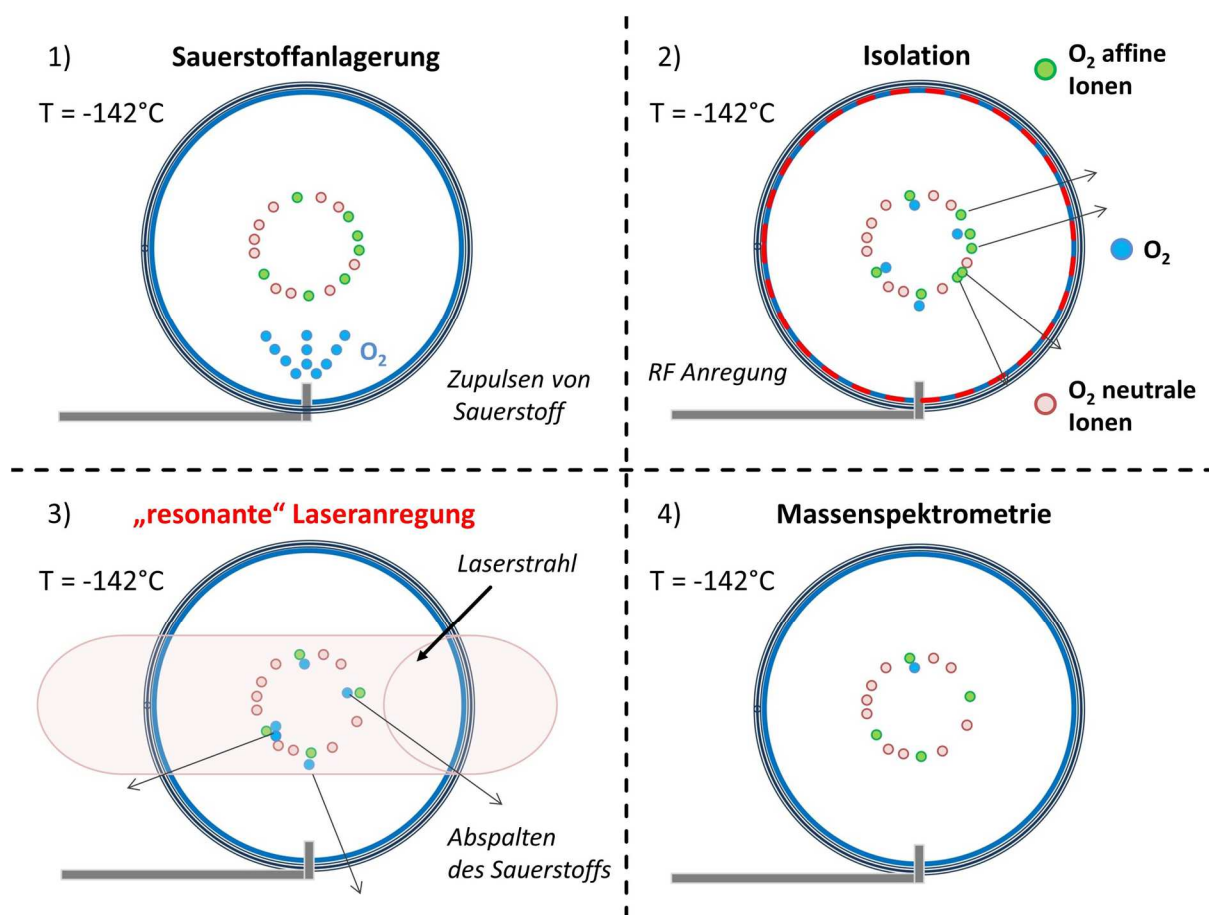
Besondere Aufmerksamkeit wurde hier der Wechselwirkung des Eisenporphyrins mit unterschiedlichen Gasen, als Modellsystem für die Wechselwirkung der Häm-Gruppe, gewidmet. So wurde von Ridge *et al.* die Reaktivität unterschiedlicher Eisenporphyrine mit NO gemessen<sup>281</sup> und von Crestoni *et al.* die Beeinflussung des Reaktionsverhaltens durch unterschiedliche Addukte untersucht.<sup>282</sup> Eine ausführliche theoretische Betrachtung dieser Reaktivitäten wurde von Rovira *et al.* vorgenommen.<sup>2, 283</sup>

In einer Studie aus diesem Arbeitskreis wurde an einem FT-ICR Massenspektrometer Sauerstoff an das vierfach negativ geladene Metalloporphyrin ( $M = \text{Fe}^{\text{II}}, \text{Mn}^{\text{II}}$ ) angelagert und für mehrere Sekunden stabil in einer gekühlten ICR-Zelle gespeichert.<sup>16</sup>

In der hier vorliegenden Arbeit wurde nun versucht diese Speicherung zu nutzen, um das Produkt  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  zu isolieren und photoinduziert zu dissoziieren. Die Zielsetzung war es, den Einfluss des Sauerstoffmoleküls auf die Struktur des Porphyrins und direkt auf das zentrale Metallatom definiert in der Gasphase, *in situ*, zu messen. Im folgenden Abschnitt wird das detaillierte Vorgehen bei diesem Experiment zur UV/Vis Spektroskopie beschrieben und die Auswirkung auf den Oxidationszustand und die Spinmultiplizität des gebundenen Metalloporphyrins diskutiert.

### Experimentelle Ausführung

Ausgehend von den Ergebnissen der vorgegangenen Abschnitte wurden die Metalloporphyrine in die Gasphase überführt und in der ICR-Zelle gespeichert. Die Messungen wurden mit der im Abschnitt 2.1.4 beschriebenen ICR-Zelle mit Kupfermantel zur Temperaturregulierung durchgeführt. Dies ist in diesem Fall von besonderer Bedeutung, da die Anlagerung des Sauerstoffs nur bei tiefen Temperaturen erfolgt.<sup>16</sup> Der Kupfermantel der ICR-Zelle wurde daher für die Messung mit flüssigem Stickstoff auf  $-142^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$  abgekühlt und während der Messung konstant auf dieser Temperatur gehalten. Der Sauerstoff für die Anlagerung wurde in einem Gasreservoir bei einem Druck von  $10^{-1}$  mbar gespeichert und zur Messung über ein regulierbares Pulsventil in die Falle gepulst. Für ein Massenspektrum wurden die Ionen in der Nanoelektrosprayquelle erzeugt, im Akkumulationshexapol gesammelt und zur ICR-Falle weitergeleitet. Dort wurden sie gefangen und auf eine stabile Kreisbahn gelenkt. Der vollständige Messzyklus zur Aufnahme eines Messpunktes kann in vier Schritte aufgeteilt werden, die kurz ausgeführt werden sollen und in Abbildung 82 graphisch dargestellt sind.



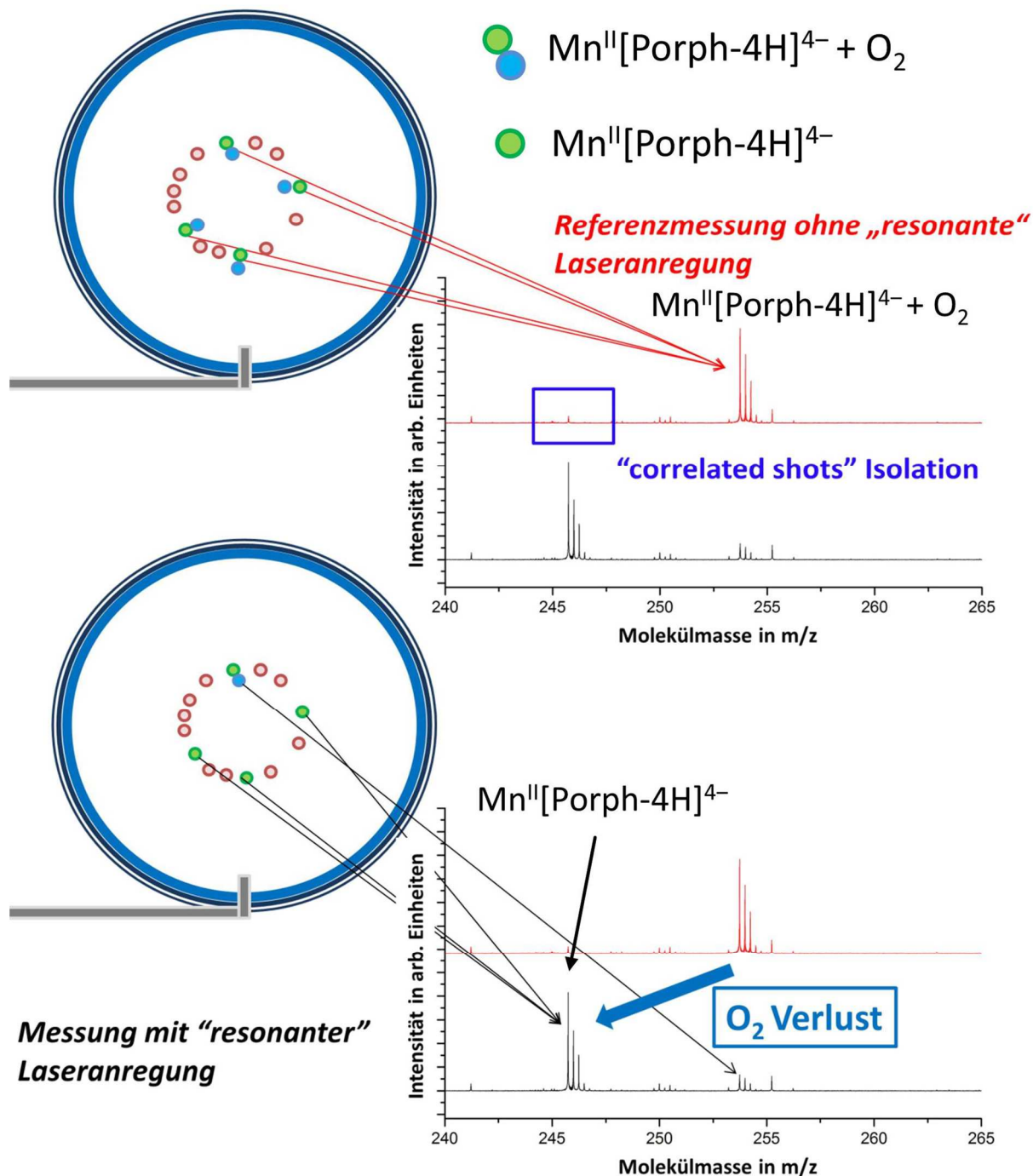
**Abbildung 82** Messzyklus zur UV/Vis Spektroskopie. Nach der Anlagerung von Sauerstoff (1) wird in einem Isolationsschritt (2) das gespeicherte Mutterion ohne Sauerstoffaddukt aus der Falle entfernt. Anschließend werden für eine Messung mit Laserleistung die verbleibenden Ionen bestrahlt (3) und ein Massenspektrum (4) von den in der Falle verbliebenen Ionen aufgenommen.

Im ersten Schritt (1) wurden die Ionen für eine Sekunde stabil in der Falle bei einem Druck von ca.  $5 \times 10^{-10}$  mbar gespeichert, um durch Schwarzkörperstrahlungs-Prozesse eine Abkühlung zu erreichen. Nach dieser Zeitdauer wurde Sauerstoff zugepulst und der Druck in der Falle für 2 Sekunden auf ca.  $1 \times 10^{-6}$  mbar erhöht. Nach der einsetzenden Anlagerung des Sauerstoffs wurde dem Pumpsystem 5 Sekunden Zeit gegeben um den Druck auf unter  $1 \times 10^{-9}$  mbar abzusenken. Dies ist wichtig um im folgenden Isolationsschritt (2) nicht durch Stoßanregung des Porphyrins durch Rest-Sauerstoffmoleküle in der Zelle, das Sauerstoffaddukt kollisionsinduziert zu dissoziieren. Zur sanften Isolation wurde ein Frequenzpuls des korrespondierenden Masse-zu-Ladungs-Verhältnis des Porphyrins ohne Sauerstoffanlagerung verwendet und somit dieses Ion selektiv aus der Speicherung entfernt. Anschließend (3) wurde der Lasershutter geöffnet und zwei Laserpulse zur Anregung in die Falle eingeleitet. Kommt es zu einer Wechselwirkung der Photonen mit dem Porphyrin-Sauerstoffaddukt, wird das Sauerstoffmolekül photoinduziert dissoziiert und das Signal mit dem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis des Porphyrins entsteht (siehe auch Abbildung 83 am Beispiel des Manganporphyrin). Durch die Aufnahme eines Massenspektrums (4) nach der Lasereinstrahlung kann diese Signalzunahme (*action*) ebenso wie die Signalabnahme (*depletion*) des Sauerstoffaddukts direkt detektiert werden.

Für einen Messpunkt wurde dieser Zyklus 2-fach durchlaufen und die beiden Massenspektren aufaddiert. In Abbildung 83 ist jeweils ein Massenspektrum mit und ohne eine „resonante“ Lasereinstrahlung für die Anlagerung von Sauerstoff an das  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  abgebildet. Zum einen wird in dieser Abbildung das Prinzip der Spektroskopie noch einmal verdeutlicht. In dem roten Spektrum ist das Mutterion durch Sauerstoffanlagerung und anschließende Isolation in das Sauerstoffaddukt überführt worden. Im schwarzen Spektrum wurde durch Photoneinstrahlung das Sauerstoffmolekül als Neutrales abgetrennt und das ursprüngliche Mutterion erhalten.

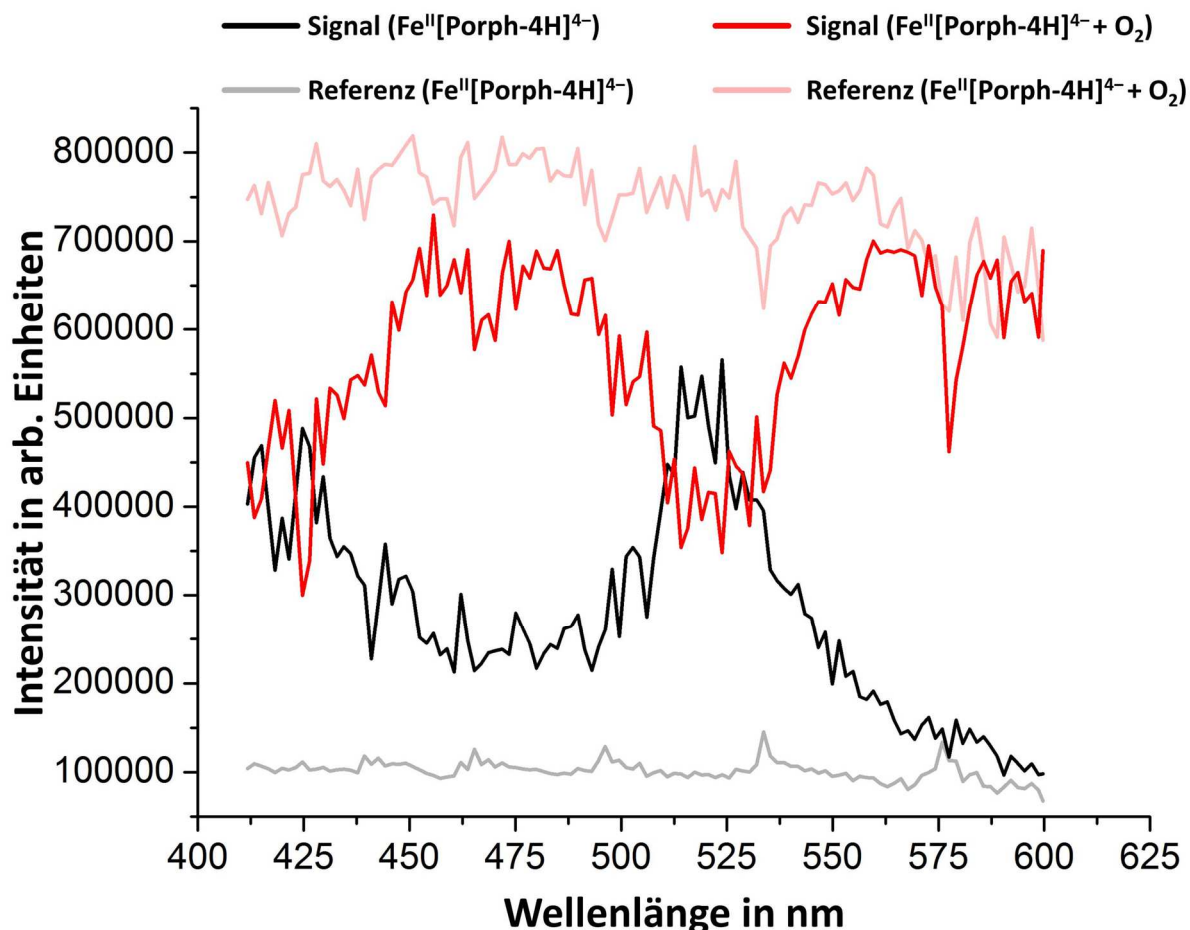
Zum anderen zeigt Abbildung 83, dass eine effektive Isolation durch selektive Anregung des ursprünglichen Mutterions experimentell umsetzbar ist.

Um ausschließen zu können, dass die Bildung des Mutterions nicht oder nur unvollständig stattfand, wurde im Anschluss an jede Messung der Zyklus 2-fach ohne Öffnen des Lasershutters durchlaufen. Dadurch konnte jedem Massenspektrum mit Lasereinstrahlung eine Schuss-zu-Schuss Referenz zugeordnet werden, die die konstante Bildung des Sauerstoffaddukts während der Messzeit sicherstellt. Die Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse der untersuchten Teilchen sind in Tabelle 22 aufgeführt.



**Abbildung 83** Abgebildet sind zwei Massenspektren (oben) für die Anlagerung von Sauerstoff an das Mutterion mit (schwarz) und ohne (rot) eine „resonante“ Lasereinstrahlung. Durch Sauerstoffanlagerung wird das ursprüngliche Mutterion in ein  $\text{O}_2$ -Addukt überführt und anschließend isoliert. Im schwarzen Spektrum (unten) wurde durch Photoneneinstrahlung das Sauerstoffmolekül neutral abgetrennt und das entstehende, ursprüngliche Mutterion gespeichert und detektiert. Als Beispiel sind hier zwei Massenspektren des Mangan-Porphyrinsystems mit und ohne Lasereinstrahlung, bei einer Anregungswellenlänge des UV/Vis Lasers im Bereich der Soretbande, abgebildet.

Mit der Hilfe des Polfilters war es möglich, durch Reduktion der Photonendichte pro Laserpuls, die Weiterfragmentierung durch Dissoziation des Mutterions weitgehend zu unterdrücken. Daher ist es möglich das Spektrum des  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  sowohl in *depletion* durch Laser induzierte Reduktion der Signalintensität, aber auch in *action* durch Detektion der Zunahme des ursprünglichen Mutterion-Signals parallel zu messen (siehe Abbildung 84).



**Abbildung 84** Darstellung des *action* Photodissoziations-Spektrums (schwarz) und des *depletion* Spektrums (rot) des Eisenporphyrin mit Sauerstoffanlagerung aufgetragen gegen die Wellenlänge des Photons zur Anregung. Schattiert ist die jeweilige Schuss-zu-Schuss Referenz aufgetragen.

Dafür wurden die Intensitäten  $I_{MP}^{sig}$  (Metalloporphyrin ohne Sauerstoffaddukt) und  $I_{MPO}^{sig}$  (Metalloporphyrin mit Sauerstoffaddukt) nach der Photodissoziation und aus den Spektren ohne Lasereinstrahlung die Referenzintensitäten  $I_{MP}^{ref}$  und  $I_{MPO}^{ref}$  bestimmt. Durch die Aufnahme der Referenzspektren war es möglich, das *action* und das *depletion* Spektrum separat voneinander auszuwerten und die erhaltenen Spektren zu addieren (Gleichung (4.14)).

Dadurch wurde ein verbessertes Signal-zu-Rauschen-Verhältnis für das Photodissoziationspektrum erhalten. Dieses Vorgehen wird durch die Annahmen ermöglicht, dass jede Dissozi-

ation des Porphyrins mit Sauerstoffaddukt in ein Porphyrin ohne Sauerstoffaddukt zerfällt und die Gesamtsumme der Intensitäten des jeweiligen Mutterions und der Fragmente für die *action* und *depletion* Messung konstant und für beide identisch ist.

$$I^{signal} = (I_{MP}^{ref} - I_{MP}^{sig}) + (I_{MPO}^{sig} - I_{MPO}^{ref}) \quad (4.14)$$

Zur Überprüfung der Annahme wurde als Referenz die Differenz der Intensitätsabnahme des Sauerstoffaddukts und der Zunahme der Signalintensität des ursprünglichen Mutterions gebildet, die sich im Idealfall gegenseitig aufhebt.

$$I^{ref} = (I_{MP}^{ref} - I_{MP}^{sig}) - (I_{MPO}^{sig} - I_{MPO}^{ref}) \quad (4.15)$$

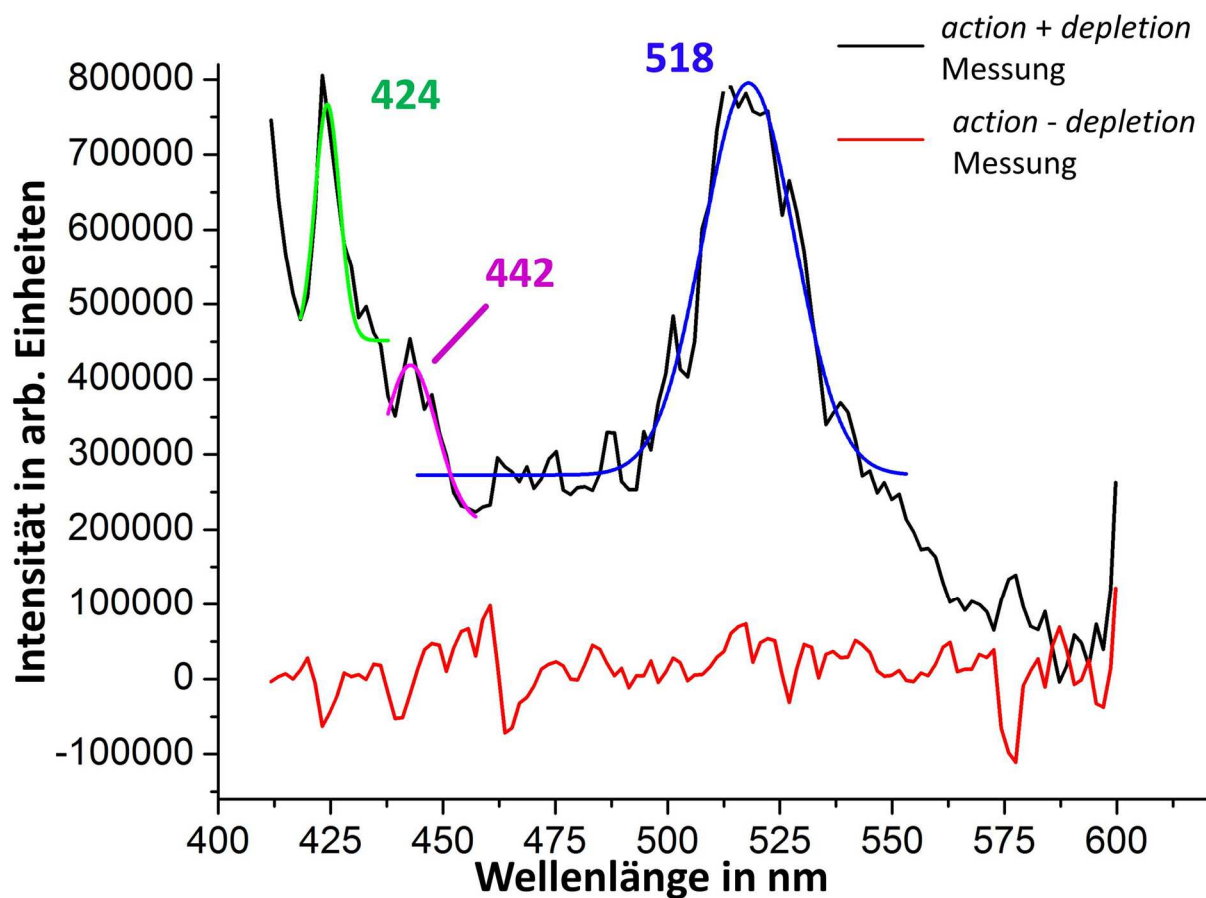
Daher lässt sich aus dieser Differenz zeigen, welcher Anteil an Sauerstoffaddukt nach der Photodissoziation nicht gespeichert werden konnte oder durch Fragmentation aus der Korrelation der beiden Ionen entfernt wurde.

### Photodissoziationsspektrum der $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$

In Abbildung 85 sind die Auswertungen nach Gleichung (4.14) und (4.15) für das Eisenporphyrin,  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$ , abgebildet. Das Spektrum zeigt eine aufgespaltene Soretbande für den Übergang  $S_0 \rightarrow S_2$  sowie eine intensive Q-Bande für den Übergang  $S_0 \rightarrow S_1$ . Die Maxima und die Zuordnung sind in Tabelle 31 aufgeführt.

Die Auftragung des Differenz-Signals zeigt, dass für dieses System, innerhalb des Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses, die Ionen vollständig im „Gleichgewicht“ des Eisenporphyrins, mit und ohne Sauerstoffaddukt, gehalten werden konnten und somit bei der Photodissoziation aus fast allen Sauerstoffaddukten wieder das ursprüngliche Mutterion entstand. Daraus lässt sich auf eine vollständig reversible Anlagerung des Sauerstoffmoleküls schließen und eine Fragmentation in spektrometrisch „dunkle“ Fragmentkanäle kann ausgeschlossen werden.

Zusätzlich unterstreicht dieses Ergebnis die Reversibilität der Anlagerung, was im Vorfeld nicht als allgemein gültig angenommen werden konnte.



**Abbildung 85** UV/Vis Spektrum von  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4+} + \text{O}_2$  ausgewertet nach den Gleichungen (4.14) (schwarz) und (4.15) (rot). Drei Banden wurden durch Fit-Funktionen mit einem Gauß-Fit versehen und die Maxima in Tabelle 31 aufgeführt.

Tabelle 31: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des *action* Spektrums aus Abbildung 78 für das  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4+} + \text{O}_2$

<i>Farbe</i>	<i>Bande (Übergang)</i>	<i>Absorptionsmax. nm</i>	<i>FWHM nm</i>
grün	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	424	6,5
violett	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	442	13,8
blau	Q-bande $S_0 \rightarrow S_1$	518	24,5

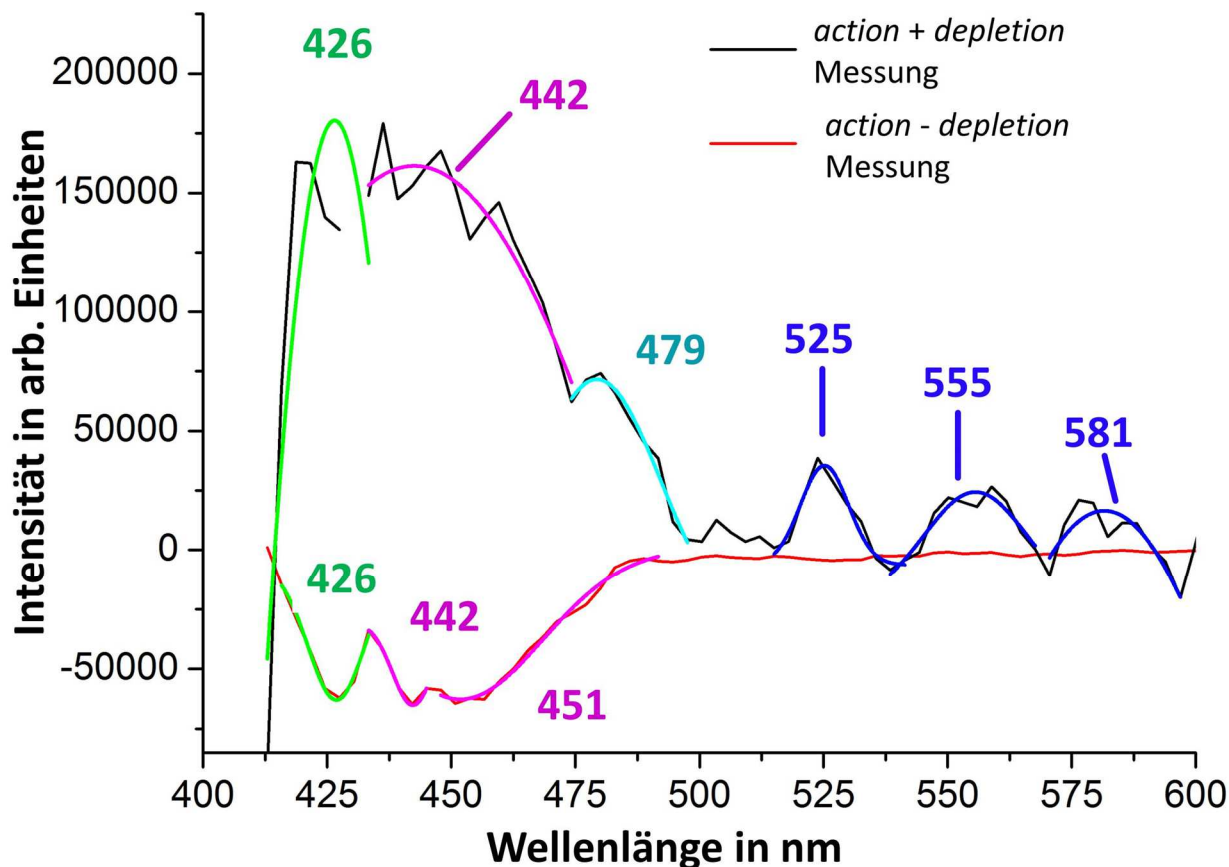
### Photodissoziationsspektrum der $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$

In einer analogen Messung wurde das UV/Vis Spektrum für das Manganporphyrin,  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$ , aufgenommen. Das akkumulierte *action* und *depletion* Spektrum ist in Abbildung 86 dargestellt. Es zeigt sich eine deutliche Verbreiterung der Soretabsorption ( $S_0 \rightarrow S_2$  Übergang) mit der Unterteilung in mindestens drei überlappende Banden. Zusätzlich konnten sehr schwache Absorptionen im Bereich der Q Bande ( $S_0 \rightarrow S_1$  Übergang) oberhalb von 500 nm detektiert werden. Es ist anzumerken, dass diese Banden nur in den *depletion* Spektren detektiert werden konnten. Bei der Reproduktion der Messung mit geringfügig erhöhter Laserleistung, konnten diese Banden zwar auch in *action* nachgewiesen werden, jedoch war die Bandbreite der Absorptionen deutlich erhöht und die Bestimmung der Maxima mit vergleichsweise größeren Fehlern behaftet als in der abgebildeten Messung. Allgemein ist zu bemerken, dass die Intensitätsunterschiede der Soret und der Q Bande anders als beim  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$ , beim  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  vergleichbar sind mit den in Abschnitt 4.2.2 gemessenen  $\text{M}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  Systemen.

Außerdem ist in dem abgebildeten Spektrum des  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  erkennbar, dass die stark absorbierende Soretbande auch im Differenzspektrum abgebildet wird. Dies bedeutet, dass nicht alle Produkte der photoinduzierten Dissoziation des Sauerstoffaddukts auf dem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis des ursprünglichen Mutterions  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  detektiert werden konnten. Dies kann auf einen Verlust der Fragmente aus der Speicherung oder auf eine Dissoziation in einen anderen Fragmentkanal, zum Beispiel auf einen Verlust von  $\text{O}_2^-$  hindeuten.

Eine weiterführende Untersuchung dieses Verlusts wurde in dieser Arbeit nicht vorgenommen, da es keinen direkten Einfluss auf die Interpretation des UV/Vis Spektrums des  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  besitzt. Die Absorptionsmaxima des Sauerstoffaddukts aus dem ausgewerteten UV/Vis Spektrum sind in Tabelle 32 aufgeführt.





**Abbildung 86** UV/Vis Spektrums von  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4+} + \text{O}_2$  ausgewertet nach den Gleichungen (4.14) und (4.15). Sechs Banden wurden durch Gauß-Funktionen angepasst und die Maxima in Tabelle 32 aufgeführt.<sup>xxi</sup>

Tabelle 32: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des *action* Spektrums aus Abbildung 78 für das  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4+} + \text{O}_2$

<i>Farbe</i>	<i>Bande (Übergang)</i>	<i>Absorptionsmax. nm</i>	<i>FWHM nm</i>
grün	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	424	42,6
violett	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	442	146,8
cyan	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$	479	30,4
blau	Q-bande $S_0 \rightarrow S_1$	525/555/581	12,3/46,0/68,5

<sup>xxi</sup> Durch einen kurzzeitigen Signaleinbruch des Sauerstoffaddukts wurde das Spektrum bei 428 nm stark verfälscht und der entsprechende Messpunkt aus der Auswertung entfernt.

## Diskussion der Ergebnisse

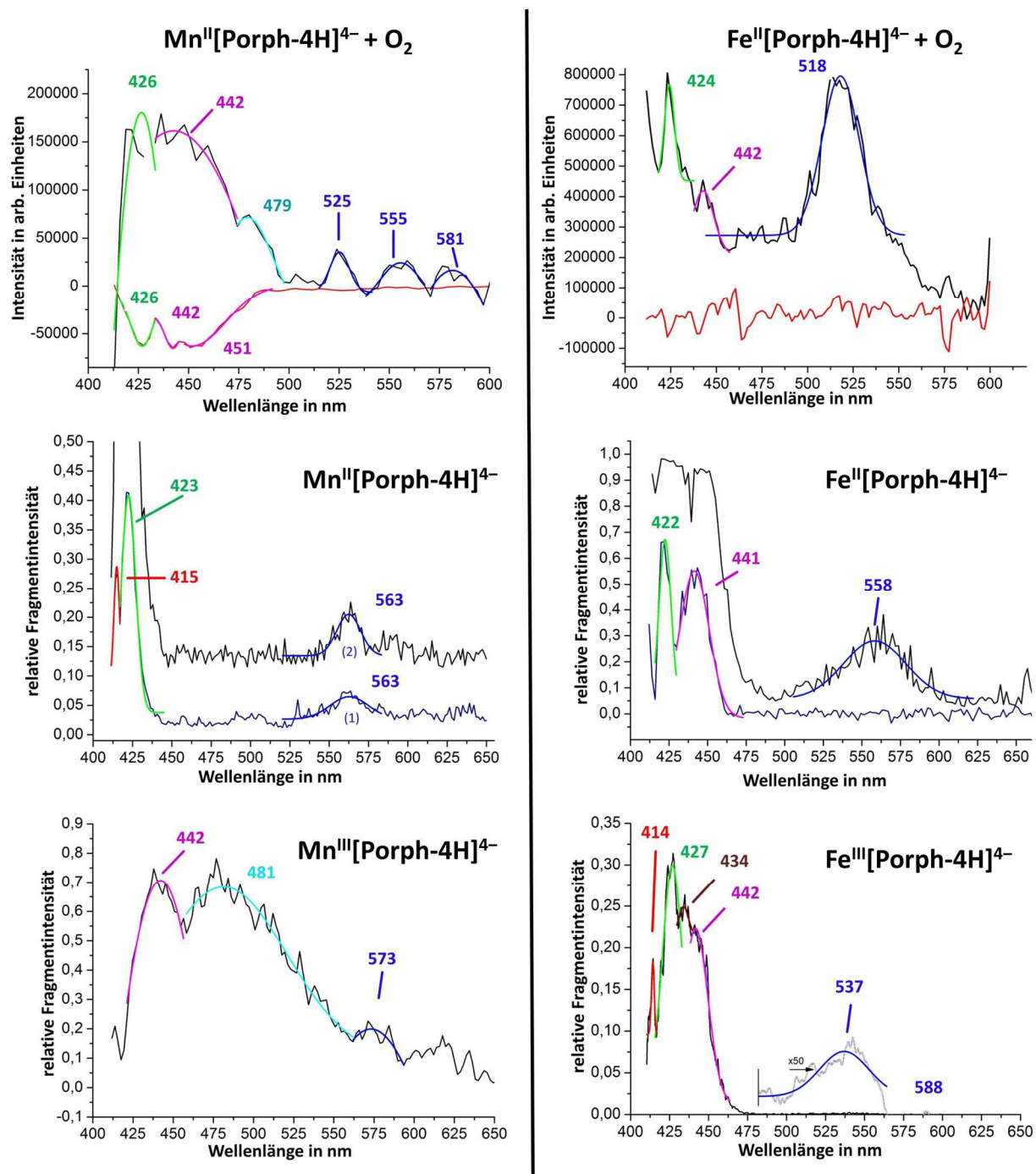
Als erste Erkenntnis aus den Spektren ist zu sehen, dass große Veränderungen in den Absorptionsbanden der  $M^{II}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und der  $M^{II}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  Spektren vorhanden sind (mit  $M = \text{Mn}$  und  $\text{Fe}$ ). Dies ist einerseits dahingehend überraschend, dass häufig bei der Diskussion verwandter Porphyrinsysteme von einem kleinen Effekt des zentralen Metallatoms auf das aromatische System ausgegangen wird, das wiederum für die Charakteristika des UV/Vis-Spektrum verantwortlich gemacht wird.<sup>218</sup> Daher sollte eine Sauerstoffanlagerung an das Metall im Porphyrinzentrum geringe Auswirkungen auf das Spektrum besitzen, wenn es die Struktur des Porphyrins nicht beeinflusst.

Andererseits war zu beobachten, dass die Koordination des Sauerstoffatoms bei den experimentell zugänglichen Temperaturen ausschließlich dem Metallzentrum mit dem Oxidationszustand +II vorbehalten war. Es wurde mit quantenmechanischen Rechnungen<sup>2</sup> gezeigt, dass für das  $\text{Fe}^{II}$  Porphyrin ein low spin Zustand mit einer Triplett Spinmultiplizität vorliegen sollte, was jedoch durch eine veränderte Aufspaltung der d Orbitale durch die Interaktion mit einem weiteren Liganden beeinflusst werden könnte. Dennoch scheint unwahrscheinlich, dass der Spinzustand für die selektive Anlagerung an diesen Oxidationszustand verantwortlich ist.

Eine Schlussfolgerung die beide Beobachtungen vereint ist, dass durch die Anlagerung des Sauerstoffatoms die Oxidationszahl des Zentralatoms verändert wird. Dies würde zu einer Veränderung der Geometrie des Porphyrinsystems führen und erklären, warum die Anlagerung von Sauerstoffmolekülen selektiv an die  $M^{II}$ -Porphyrinkomplexe erfolgt, da die Änderung des Oxidationszustands die treibende Kraft hinter der Anlagerung darstellen könnte. Diese These wird durch den direkten Vergleich der Anregungsbanden der Sauerstoffporphyrinsysteme mit den Ergebnissen aus Abschnitt 4.2.2 unterstützt, die numerisch in Tabelle 33 und graphisch in Abbildung 87 vorgenommen wurden.

Direkt auffällig ist, dass in beiden Spektren der Sauerstoffaddukte keine Verschiebung der intensivsten Q Bande festgestellt werden konnte, die als charakteristisch für die SAT Struktur der Metalloporphyrine im Oxidationszustand +II beschrieben wurde.

Eine Schlussfolgerung aus der Blauverschiebung der Q Bande im Spektrum des Eisenporphyrins mit Sauerstoffaddukt wäre nach Horvath *et al.*<sup>218</sup>, dass das Eisenatom sich aus der SAT Struktur weiter in die planare Ringebene verschiebt. Dies weicht jedoch stark von den theoretischen Ergebnissen von Rovira *et al.* ab, die eine auch intuitiv nachvollziehbare Bewegung aus der Ringebene heraus beschreiben.<sup>2</sup>



**Abbildung 87** UV/Vis Spektren der in dieser Arbeit gemessenen Metalloporphyrinsysteme. Auf der linken Seite sind die Spektren des  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$ , des  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und des  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  (von oben nach unten), auf der rechten Seite die Spektren des  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$ , des  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und des  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$  (von oben nach unten) abgebildet. Der direkte Vergleich zeigt eine Ähnlichkeit der  $\text{M}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  Spektren zu den  $\text{M}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$ . Besonders die deutliche Verschiebung der Q Bande im Eisenporphyrin und die breite charakteristische Struktur der Soretbande im Manganporphyrin belegen diese Ähnlichkeit.

Tabelle 33: Absorptionsmaximatabelle (siehe Tabelle 30) ergänzt durch die vierfach deprotonierten Metallo<sup>II</sup>-Porphyrine mit Sauerstoffaddukt.

<i>M-Porphyrin</i>	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$ nm	Soretbande $S_0 \rightarrow S_2$ nm	Q-Bande $S_0 \rightarrow S_1$ nm
$H_2[Porph-4H]^{4-}$	(412) /423	-	517
$Fe^{II}[Porph-4H]^{4-}$	422	441	558
$Fe^{III}[Porph-4H]^{3-}$	(414)/427	434/442	537/588
$Fe^{II}[Porph-4H]^{4-}+O_2$	424	442	518
$Mn^{II}[Porph-4H]^{4-}$	(415)/423	-	563
$Mn^{III}[Porph-4H]^{3-}$	überlagert	442/481	überlagert/580
$Mn^{II}[Porph-4H]^{4-}+O_2$	424	442/479	525/555/581

Diese Interpretation könnte durch einen verringerten Ionenradius, durch die Oxidation des Zentralatoms von  $Fe^{II} \rightarrow Fe^{III}$  unabhängig von den Spinzuständen erklärt werden. Hierfür spricht auch, dass die UV/Vis Spektren der Sauerstoffaddukte besonders im Bereich der Soretbande eine große Ähnlichkeit zu den  $M^{III}[Porph-4H]^{3-}$  Spektren aufzeigen. Dies ist besonders in der Absorption der Soretbande bei 481 nm/479 nm der Manganporphyrine zu beobachten.

Diese Schlussfolgerung steht auch mit der bisherigen Interpretation der Dissoziationsspektren im Einklang, wobei der Hauptaugenmerk, ohne weiterführende quantenmechanische Rechnungen, auf die Oxidationsstufe und die Ladungsverteilung des Zentralatoms gelegt werden sollte und nicht auf die planare oder SAT Anordnung gegenüber der Ringebene des Porphyrins.

Aufgrund der Tatsache, dass die Anlagerung des Sauerstoffs jedoch reversibel ist, muss die veränderte Oxidationsstufe des Zentralatoms in dieser Interpretation eine Veränderung der Oxidationsstufe eines Bindungspartners bewirken, damit das System bei der Abspaltung des neutralen Sauerstoffmoleküls wieder zu dem Ausgangszustand zurückkehren kann. Da der vierfach negativ geladenen Porphyrinring als unwahrscheinlicher Partner für diese Reduktion eingestuft werden kann, setzt diese Interpretation die Bildung eines Superoxokomplexes voraus (siehe Abbildung 88).

Eine solche Wechselwirkung mit Bildung eines formalen  $O_2^-$  als Bindungspartner wurde bereits in einer theoretischen Arbeit von Fink *et al.*<sup>284</sup> für die Sauerstoffanlagerung an einen bis[trifluoroacetylacetonato-cobalt(II) Komplex durch Quantenmechanische Rechnungen belegt. Für ein modifiziertes Porphyrinsystem konnte Ghiladi *et al.* die Bildung eines solchen Superoxokomplex in Lösung durch eine Kombination aus UV/Vis und NMR Spektroskopie nachweisen.<sup>285</sup> In der Umgekehrten Form zur Reduktion eines  $Fe^{III}$  Porphyrins zu einem  $Fe^{II}$  Porphyrin wurde dieser Effekt von Ford *et al.* für die Reaktion des Eisenporphyrins mit NO publiziert.<sup>279</sup>

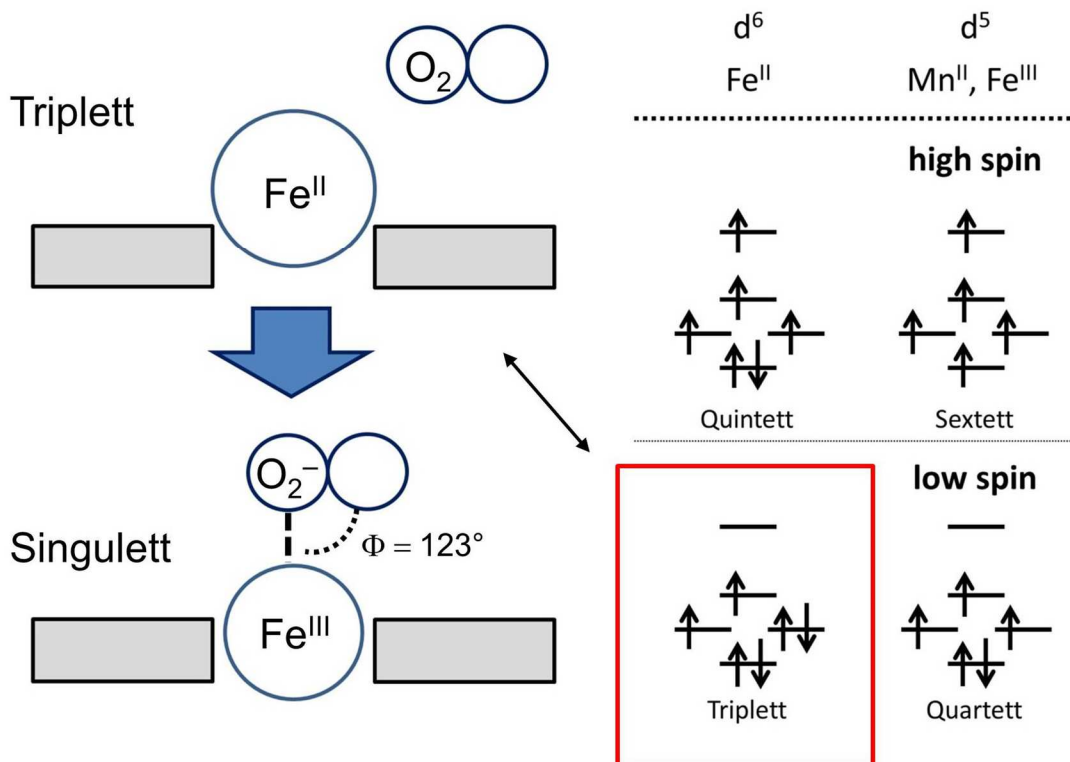
Ausführliche Arbeiten von Rovira *et al.* konnten diesen Superoxokomplex auch durch quantenmechanische Rechnungen für das Eisenporphyrin belegen. Der Superoxokomplex wird dabei von einer anti-ferromagnetischen Kopplung eines der d Elektronen des Eisenatoms und eines der  $\pi^*$  Elektronen des Sauerstoffmoleküls charakterisiert.<sup>283</sup> Als entstehende Struktur wurde eine nicht lineare, leicht gebogene  $Fe^{III}-O-O^-$  Anordnung vorgeschlagen. Die energetisch günstigste Spinmultiplizität des Komplexes ohne Sauerstoffanlagerung wurde als Triplett, die Spinmultiplizität des Komplexes mit Sauerstoffanlagerung als Singulett, berechnet.

Zusätzlich wurde der Superoxokomplex von Rovira *et al.* für die Bindung eines Sauerstoffmoleküls an ein Modell für eine Hem-Gruppe quantenmechanisch als günstigste Struktur identifiziert.<sup>283</sup>

Ebenfalls für diese Theorie spricht der Vergleich der Mangan Spektren des Sauerstoffaddukts mit Literaturwerten für unterschiedliche  $Mn^{III}$  Porphyrinkomplexe, die die Bande bei 470 nm als charakteristisch für Systeme in der Oxidationsstufe +III anführen.<sup>275, 286</sup>

Zur Verdeutlichung dieser Interpretation lässt sich der Oxidationszustand und die Spinmultiplizität durch Einsatz der Ligandenfeldtheorie diskutieren. Vereinfacht werden dafür die gemessenen Porphyrinsysteme in einer planaren Symmetrie angeordnet. Mit einer Aufspaltung der Orbitale in unterschiedliche Energieniveaus für das  $d_{x^2-y^2}$ , das  $d_{xy}$ , die entarteten  $d_{xz}$  und  $d_{yz}$  und das  $d_{z^2}$ . In Abbildung 88 ist diese Aufspaltung mit der Besetzung für die  $d^6$ ,  $d^5$  und  $d^4$  Elektronenkonfiguration des  $Fe^{II}$  und  $Fe^{III}$  dargestellt und soll anhand des Eisenporphyrins diskutiert werden.

Ein formaler Übergang eines ungepaarten Elektron aus dem low spin Komplex des  $Fe^{II}$  Porphyrins auf das Sauerstoffmolekül würde das metallische Zentralatom in einen  $Fe^{III}$  low spin Zustand oxidieren und einen Singulett Zustand bilden, der mit den Rechnungen von Rovira *et al* übereinstimmt.



**Abbildung 88** Darstellung der Bildung eines Superoxokomplexes für das Eisenporphyrin durch einen Elektronenübergang mit gleichzeitiger Oxidation des Zentralatoms. Dies ist durch Abgabe des Elektrons an den Sauerstoff und anschließender Bildung eines Singulett-Systems möglich, wie es von Rovira et al. postuliert wurde.<sup>2</sup> Die Reversibilität dieses Prozesses wird dadurch nicht beeinträchtigt.

Die Verschiebung der Q-Bande dieser Spektren ist in diesem Fall durch die veränderte Ladung auf dem Zentralatom oder durch eine Symmetrieveränderung des Porphyrinsystems interpretierbar.

Durch einen photoinduzierten Übergang des Elektrons vom Sauerstoffmolekül zurück in das Eisenporphyrin unter Bildung eines M<sup>II</sup> low spin Komplexes mit zwei ungepaarten Elektronen (Triplet) und Abspaltung des Sauerstoffs wäre die Reversibilität dieses Prozesses nicht beeinträchtigt.

Auch wenn die UV/Vis-Spektren starke Hinweise auf die Interpretation der experimentellen Daten mit einem solchen Superoxokomplex liefern, so muss dennoch durch ausführliche quantenmechanische Rechnungen belegt werden, dass dieser Übergang des Elektrons auf das Sauerstoffatom für dieses System, auch unter Berücksichtigung der *meso*-Substituenten, energetisch günstig ist. Diese Rechnungen wurden von Fink *et al.* für die in dieser Arbeit untersuchten Moleküle begonnen und sollen zur Überprüfung dieser Interpretation herangezogen werden.

#### 4.2.4 Zusammenfassung der UV/Vis Spektroskopie an Porphyrinsystemen

Als Abschluss dieses Kapitels sollen hier die analytischen Ergebnisse, die in dieser Arbeit neu aufgebauten Messmethode zur UV/Vis Spektroskopie von gespeicherten Metalloporphyrinen zusammengefasst werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die Programmierung der benötigten Messsoftware und die Ansteuerung aller Komponenten abgeschlossen sind und automatisierte Messungen mit dem UV/Vis Lasersystem durchgeführt werden können.

Durch die Implementierung eines Polfilters in den Aufbau ist es möglich, Messungen zur Leistungsabhängigkeit durchzuführen. Anhand des Metalloporphyrins  $\text{Fe}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und der freien Porphyrinbase  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$  wurde der Ablauf dieser Messungen vorgestellt und anhand der Messdaten, die Einteilung in einen Ein- und einen Mehr-Photonenprozess bei einer Anregungsenergie von 2,91 eV vorgenommen, wobei gezeigt wurde, dass die freie Porphyrinbase in einem Ein-Photonenprozess dissoziiert.

Durch die Anwendung einer einfachen Poisson Verteilung wurde dies auch anhand der Fragmentintensitäten und anhand des Elektronenverlustkanals der freien Propyhrinbase gezeigt. Im Gegensatz dazu erhöht der Austausch der beiden zentralen Wasserstoffe durch ein Eisenatom die Dissoziationsbarriere und ein Mehr-Photonen-Dissoziationprozess ist die Folge.

Hochauflösende Massenspektren zeigen, dass es möglich ist, die unterschiedlichen Oxidationszustände der Eisen- und Manganporphyrine in der Gasphase zu isolieren und einzeln spektroskopisch zu untersuchen. Durch Messungen über den gesamten Spektralbereich wurden UV/Vis Spektren des  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$ ,  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$ , sowie als Referenz, das UV/Vis Spektrum der freien Porphyrinbase aufgenommen.

Die Spektren zeigen eine Verschiebung der Anregungsenergie für die Metalloporphyrinsysteme, die den Messungen in Lösung weitestgehend entsprechen.<sup>262, 275</sup> Diese Verschiebungen der Q-Bande und der Soret-Bande im UV/Vis Spektrum konnten durch geometrischen Veränderungen der Strukturen in der Gasphase interpretiert werden und helfen damit auch in der Gasphase einer Einordnung der Metalloporphyrine, nach Barnes und Dorough, in SAT und planare Strukturen.<sup>287</sup> Der Vergleich der UV/Vis Spektren der unterschiedlichen Metalloporphyrine mit der freien Porphyrinbase verifiziert die Ergebnisse von Horvath *et al.* die mit diesen Spektren die Position und Intensität der Banden durch planare, beziehungsweise SAT Anordnungen des Porphyrinsystems und nicht durch elektronischen Struktur des zentralen Metallatoms interpretierten.<sup>218</sup>

In einem weiteren Abschnitt wurde die Anlagerung von Sauerstoffmolekülen an die  $M^{II}$ -Porphyrinsysteme angewandt. Es wurde gezeigt, dass die  $O_2$  Anlagerung an das Mutterion das UV/Vis Spektrum stark verändert. Im Rückschluss zeigt dies, dass die Anlagerung einen großen Einfluss auf die geometrische Struktur und/oder den Spinzustand der Porphyrinsysteme besitzt.

Es konnte durch Bildung eines Superoxokomplexes eine Theorie entwickelt werden, die die Interpretation dieser UV/Vis Spektren ermöglicht. Diese Theorie unter formaler Bildung von negativ geladenen Sauerstoffaddukten  $O_2^-$  konnte mit Literaturbeispielen und Vergleichen zu den  $Mn^{III}$ Porphyrinmessungen unterstützt werden. Durch Einbindung von quantenmechanischen Rechnungen kann nun in einem nächsten Schritt in der Gasphase eine der biologisch und katalytisch wichtigsten Anlagerungsprozesse nachvollzogen werden.

Anhand dieser Messungen wurde gezeigt, dass nun neben der IRMPD Spektroskopie dem Arbeitskreis eine weitere, mächtige Spektroskopiemethode zur Verfügung steht, deren Ergebnisse weitere Synergieeffekte mit anderen vorhandenen Spektroskopiemethoden wie der IMS oder der PES, aber auch mit der IRMPD Spektroskopie ermöglichen.



## 5 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Promotion wurde ein Experiment zur Photodissoziation aufgebaut, das zwei Lasersysteme im mittleren infraroten und im UV/Vis-Spektralbereich, mit einem hochauflösenden Massenspektrometer vereint. Dieser Aufbau stellt das erste durchstimmbare Zwei-Farben Photodissoziationsexperiment in einer FT-ICR Ionenfalle dar.

Als erster Teilschritt zu diesem Aufbau wurde die Kombination des FT-ICR Massenspektrometers mit einem Lasersystem im Infrarotbereich konzipiert und realisiert. Zur Charakterisierung des Aufbaus wurde die Infrarot-Multiphotonen-Dissoziations(IRMPD-) Spektroskopie verwendet.

Diese Spektroskopie wurde verwendet, um detaillierte Strukturinformationen von einfach und mehrfach deprotonierten Molekülionen zur Untersuchung des Einflusses der intramolekularen Wasserstoffbrücken durchzuführen. Dadurch konnte gezeigt werden, dass zum Beispiel die Deprotonierung des Pentapeptids Leucin Enkephalin in der Gasphase an der Carboxylgruppe stattfindet und die Ladung mit intramolekularen Wasserstoffbrücken stabilisiert wird. Durch die Kombination der IRMPD-Messungen mit der kollisionsinduzierten Dissoziations (CID-)Spektrometrie und der Ionenmobilitäts-Spektrometrie (IMS), konnten die Sekundärstruktur, sowie mit *ab initio* Rechnungen, die vollständige „3-dimensionale“ Gasphasen-Struktur aufgelöst werden. Zusätzlich konnte eine intramolekulare Protonenwanderung in dem negativ geladenen Pentapeptid beobachtet und durch einen erstmals vorgenommenen Vergleich der Temperaturabhängigkeit von Infrarotspektren zwischen 20 K und 300 K Rückschlüsse auf die stark anharmonische Potentialfläche des Protons gezogen werden.

In einer weiteren IRMPD-Studie konnte die Lokalisierung der mehrfachen Deprotonierung von  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  durchgeführt werden und die Stabilisierung dieser Positionen durch intramolekulare Wasserstoffbrücken erklärt werden. Hierfür wurden isopenmarkierte Messungen verwendet und daran die Vorteile der Photodissoziation in einer FT-ICR Zelle gegenüber einer Molekularstrahlapparatur aufgezeigt.

Schließlich wurde  $[\text{ADP-H}]^-$ , das Hydrolyse-Produkt von  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  untersucht. Ein Vergleich der IRMPD Spektren des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  mit dem  $[\text{ADP-H}]^-$  zeigt charakteristische Banden die auf eine strukturelle Verwandtschaft schließen lässt. Die Strukturanalyse wurde durch molekulardynamische und semi-empirische Rechnungen unterstützt und deren Automatisierung und Entwicklung exemplarisch am Beispiel des ADP beschrieben.

Als zweiter Teilschritt wurde die Einbindung eines durchstimmbaren UV/Vis-Lasersystems in das bestehende Experiment konzipiert und realisiert. Zur Charakterisierung des Aufbaus wurde die UV/Vis Photodissoziationsspektroskopie verwendet.

Anhand des Metalloporphyrins  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und der freien Porphyrinbase  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$  wurde eine Messung zur Laser-Leistungsabhängigkeit und die Einteilung der Spezies in Ein- oder Mehr-Photonenprozesse vorgenommen. Es wurde gezeigt, dass das  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  bei einer Anregungsenergie von 2,91 eV durch einen Zwei-Photonenprozess und das  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$  durch einen Ein-Photonenprozess dissoziiert.

Durch die hochauflösenden, massenspektrometrischen Eigenschaften der ICR-Zelle konnten UV/Vis Spektren der Metalloporphyrine für unterschiedliche Metalle und Oxidationsstufen ( $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$ ,  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{3-}$ ), sowie für das  $\text{H}_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$  als Vergleichssystem aufgenommen werden. Die Spektren zeigen eine Verschiebung der Q Bande und der Soretbande im UV/Vis Spektrum der Metalloporphyrine gegenüber der freien Porphyrinbase, was durch eine geometrische Veränderung der Strukturen durch die Anordnung des Zentralatoms erklärt werden konnte. Anhand dieser Daten war eine Einordnung der Metalloporphyrine in verzerrte und planare Strukturen möglich.

Durch die Temperaturkontrolle der modifizierten ICR-Zelle, konnten die UV/Vis Spektroskopie auf die Sauerstoffanlagerung an das  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und an das  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  ausgedehnt werden. Dadurch konnten erste experimentelle Hinweise zur Bildung eines Superoxo-komplexes unter Oxidation des Metallzentrums und Reduktion des Sauerstoffs ( $\text{M}^{\text{III}}-\text{O}-\text{O}^-$ ) an den isolierten  $\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  und  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-} + \text{O}_2$  Systemen nachgewiesen werden, was auch durch quantenmechanische Rechnungen unterstützt wird.

Zusätzlich zu der Einkopplung der Lasersysteme wurde das verwendete Massenspektrometer im Hinblick auf die Anforderungen der Messmethode weiterentwickelt. Hierfür wurde erfolgreich eine Nano-Elektrosprayionisations-Quelle konzipiert und realisiert, um den Probenverbrauch um mehrere Größenordnungen zu reduzieren und gleichzeitig die Sprühdauer und somit die Messzeit und direkt das Signal-zu-Rauschen-Verhältnis der Spektroskopie zu verbessern.

In einem weiteren methodischen Projekt wurde der Akkumulationshexapol des Massenspektrometers mit konisch expandierenden Drähten ausgestattet. Durch Simulationen von Ionentrajektorien mit SIMION 8.0 konnte ein um einen Faktor  $>10$  verbessertes Signal-zu-Rauschen-Verhältnis gegenüber einem Akkumulationshexapol mit dem ursprünglichen Design belegt werden. Durch eine veränderte Spannungsschaltung übertrifft dieses Resultat die von Marshall *et al.*<sup>77</sup> publizierten Verbesserungen. Durch experimentelle Daten konnte dieser Effekt auch in dem hier vorgestellten Aufbau nachgewiesen werden.

Alle beschriebenen Veränderungen und Weiterentwicklungen wurden am laufenden Experiment vorgenommen, mit dem Ziel die aktuellen Möglichkeiten nicht einzuschränken. Diesem Ansatz folgend wurde für die Umsetzung des Zwei-Farben Experiments ein neuartiger Strahlengang entwickelt, der es erlaubt die IRMPD-Spektroskopie, die UV/Vis-Spektroskopie oder die Kombination beider Systeme ohne Veränderung des Strahlengangs durchzuführen. Um dies zu erreichen wurde ein parabolischer Spiegel durchbohrt und zur Überlagerung der Strah-

längänge verwendet. Zusätzlich wurde eine Steuerungssoftware programmiert, die alle Experimente koordiniert und alle Komponenten des Aufbaus kontrolliert und die Messungen mit einer einzelnen Spektroskopiemethode sowie einer Kombination daraus erlaubt.

Basierend auf den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen kann in zukünftigen Experimenten die IRMPD Spektroskopie verwendet werden, um die Untersuchung der Adenosin Diphosphat und Triphosphat Systeme systematisch unter Verwendung unterschiedlicher Gegenionen zu erweitern. Diese Studien würden das Verständnis der intramolekularen Kräfte zur Strukturstabilisierung dieser Systeme erhöhen und Rückschlüsse auf den Prozess der Hydrolyse ermöglichen, die als Energieversorgung für den Menschen eine der wichtigsten chemischen Reaktionen darstellt.

Dies gilt auch für mögliche Untersuchungen der Anlagerung von CO und CO<sub>2</sub> an Eisenporphyrine, die aufgrund ihres Modellcharakters für das Hämoglobin zum Verständnis der Bindungsprozesse in der Atmungskette liefern können. Zusätzlich besitzt die UV/Vis Spektroskopie der Metalloporphyrine durch die Vielzahl an Katalysatoren mit Mangan- und Eisenporphyrin als zentrale Einheit und die Rolle der Manganporphyrins in der Photovoltaik auch kommerzielle Bedeutung, die weitere Untersuchungen an speziell modifizierten Systemen interessant erscheinen lassen.

Dennoch liegt das methodische Hauptaugenmerk für kommende Projekte auf der Synchronisation der Lasersysteme, die es erlaubt, viele neuartige Experimente in diesem Spektroskopieaufbau zu verwirklichen. Durch die Verbindung der Nd:YAG Pump Laser und die externe Steuerung der Synchronisation der Oszillator- und Verstärkerstufen über TTL Pulse ist es möglich, die Zeitspanne zwischen zwei Laserpulsen, die in der ICR-Zelle auf die Ionen treffen, zu kontrollieren und im Nanosekunden-Bereich zu variieren. Dadurch kann der aktuelle Aufbau in ein Doppelresonanzexperiment überführt werden und erlaubt isomerenselektive Infrarotspektroskopie-Messungen oder die UV/Vis-Spektroskopie von angeregten Zuständen.

Da für diese Messungen auch im Infrarotbereich die Absorption von wenigen Photonen zur Spektroskopie ausreichend ist, kann mit Hilfe einer weiteren Einheit zur nichtlinearen optischen Frequenzumwandlung, der Spektralbereich auf 1200 cm<sup>-1</sup> bis 1800 cm<sup>-1</sup> ausgeweitet werden. Dadurch können auch Messungen mit diesem Aufbau durchgeführt werden, für die ansonsten ein Freier Elektronen Laser benötigt würde. Diese Modifikationen wurden bei der Konzeptionierung des experimentellen Aufbaus berücksichtigt und durch den Einsatz eines durchbohrten Parabolspiegels wurde die Problematik der Fokussierung ohne Linse und der Überlagerung aller Laserpulse in der ICR-Zelle elegant gelöst. Durch die Positionierung eines weiteren Parabolspiegels zwischen dem Akkumulationshexapol und der Ionenoptik ist auch ein Aufbau mit einer Harriot-Multipasszelle möglich. Alle hier angegebenen möglichen Modifikationen des Experiments wurden bei der Programmierung berücksichtigt und zur einfachen Umsetzung in die aktuelle Steuerungssoftware eingebunden.



## Anhang A: Programmierungen

### A.1 Simion 8.0 Geometriedaten des Hexapols

```
pa_define(1600, 180, 90, planar, z)
```

```
locate(1335, 90, 0, 15) {
```

```
  e(1) { locate(0,0,0, 1, 90, 30) { fill { within { cylinder(1.75, 0, 0, 0.5, 0.5, 70) } } } }
```

```
  e(1) { locate(0,0,0, 1, 90, 150) { fill { within { cylinder(1.75, 0, 0, 0.5, 0.5, 70) } } } }
```

```
  e(1) { locate(0,0,0, 1, 90, 270) { fill { within { cylinder(1.75, 0, 0, 0.5, 0.5, 70) } } } }
```

```
}
```

```
locate(1335, 90, 0, 15)
```

```
{ e(2) { locate(0,0,0, 1, 90, 90) { fill { within { cylinder(1.75, 0, 0, .5, 0.5, 70) } } }
```

```
  e(2) { locate(0,0,0, 1, 90, 210) { fill { within { cylinder(1.75, 0, 0, 0.5, 0.5, 70) } } } }
```

```
  e(2) { locate(0,0,0, 1, 90, 330) { fill { within { cylinder(1.75, 0, 0, 0.5, 0.5, 70) } } } }
```

```
}
```

```
locate(1335, 90, 0, 15) {
```

```
  e(3) { locate(0,0,0, 1, 90, 30, 0.53) { fill { within { cylinder(0, -2.05, 0, .05, 0.05, 2) } } } }
```

```
  e(3) { locate(0,0,0, 1, 90, 90, 0.53) { fill { within { cylinder(0, -2.05, 0, 0.05, 0.05, 72) } } } }
```

```
  e(3) { locate(0,0,0, 1, 90, 150, 0.53) { fill { within { cylinder(0, -2.05, 0, 0.05, 0.05, 72) } } } }
```

```
  e(3) { locate(0,0,0, 1, 90, 210, 0.53) { fill { within { cylinder(0, -2.05, 0, 0.05, 0.05, 72) } } } }
```

```
  e(3) { locate(0,0,0, 1, 90, 270, 0.53) { fill { within { cylinder(0, -2.05, 0, 0.05, 0.05, 72) } } } }
```

```
  e(3) { locate(0,0,0, 1, 90, 330, 0.53) { fill { within { cylinder(0, -2.05, 0, 0.05, 0.05, 72) } } } }
```

```
}
```

```
locate(1378.5, 90, 0, 15) {
```

```
  e(4) { locate(0,0,0, 1, -90, 0, 0)
```

```
  { fill { within { cylinder(0, 0, 0, 5, 5, 1) } } notin { cylinder(0, 0, 0, 75, 75, 1) } } }
```

```
}
```

```
locate(1335, 90, 0, 15) {
```

```
  e(3) { locate(0,0,0, 1, -90, 0, 0)
```

```
  { fill { within { cylinder(0, 0, 0, 5, 5, 1.5) }
```

```
notin { cylinder(0, , 0, 2, 2, 1.5) }notin { cylinder(1.73, 1, 0, 0.9, 0.9, 1.5) }
notin { cylinder(1.73, -1, 0, 0.9, 0.9, 1.5) }notin { cylinder(0, 2, 0, 0.9, 0.9, 1.5) }
notin { cylinder(0, -2, 0, 0.9, 0.9, 1.5) } } }
}
locate(277.5, 90, 0, 15) {
e(3) { locate(0,0,0, 1, -90, 0, 0) {
fill { within { cylinder(0, 0, 0, 5, 5, 1.5) } notin { cylinder(0, 0, 0, 1.3, 1.3, 2.5) } } }}
}
locate(238.5, 90, 0, 15) {
e(5) { locate(0,0,0, 1, -90, 0, 0) {
fill { within { cylinder(0, 0, 0, 5, 5, 1.5) } notin { cylinder(0, 0, 0, 1.3, 1.3, 1.5) } } }}
}
locate(020, 90, 0, 15) {
e(6) { locate(0,0,0, 1, -90, 0, 0) { fill { within { cylinder(0, 0, 0, 5, 5, 1.5) } } }}
}
locate(1500, 90, 0,15) {
e(7) { locate(0,0,0, 1, -90, 0, 0) {
fill { within { cylinder(0, 0, 0, 5, 5, 3.5) } notin { cylinder(0, 0, 0, 2.3, 2.3, 3.5) } } }}
}
```

## A.2 Skripte zur Strukturanalyse

### A.2.1 Heiz-und Abkühlskript für Hyperchem 7.5

```
file-format = hin
open-file 1.hin
calculation-method molecular-mechanics
molecular-mechanics-method amber
mechanics-dielectric constant,constant,constant,constant
dynamics-heat-time = 0
dynamics-starting-temp = 0
dynamics-run-time = 10
dynamics-simulation-temp = 500
dynamics-cool-time = 10
dynamics-final-temp = 50
dynamics-temp-step = 100
dynamics-time-step = 0.001
dynamics-collection-period 100
screen-refresh-period 10
dynamics-restart = no
do-molecular-dynamics
do-optimization
write-file 2.hin
```

```
open-file 2.hin
do-molecular-dynamics
do-optimization
write-file 3.hin
(.....)
```

### A.2.2 Semi empirische Berechnung mit der PM3.Methode in Hyperchem 7.5

```
file-format = hin
mouse-mode rotating
open-file 1.hin
quantum-total-charge = -1
multiplicity = 1
uhf = false
calculation-method = SemiEmpirical
semi-empirical-method = pm3
screen-refresh-period 100
do-qm-graph no
do-qm-isosurface no
do-optimization
do-vibrational-analysis
export-ir yes
export-property-file 1-pm3.ext
write-file 1-pm3.hin
```

```
open-file 2.hin
quantum-total-charge = -1
multiplicity = 1
uhf = false
do-optimization
do-vibrational-analysis
export-ir yes
export-property-file 2-pm3.ext
write-file 2-pm3.hin
(...)
```

### **A.2.3 Energieberechnung und Formatierung der Struktur in Hyperchem 7.5**

```
mouse-mode rotating
calculation-method semi-empirical
semi-empirical-method pm3
screen-refresh-period 100
start-logging energy.log no
file-format = hin
open-file 1-pm3.hin
do-single-point
file-format = mol
write-file 1-pm3.mol
file-format = hin
open-file 2-pm3.hin
(...)
```



### A.3 tcl/tk code für die Messungen am modifizierten Hexapol

```

#-----Teil der von vb geändert werden kann-----
global par
global para
# aktuelle Wiederholung
set par(ns) 2
set par(value) "cyl"
# aktuelle Auflösung
set par(td) "512k"
# aktuelle Wellenzahl
set par(wavenum) 3040
#set Homeverzeichnis
set xmh $env(XMASSHOME)
# expfilepath
set binpath "$xmh/prog/CurInst/exp/Apex_II_2"
# Messverzeichnis
set par(path) "/e=/FTMS_Daten/flo/2012-4-22/cloud0"
# Dummyverzeichnis
set par(dummy) "/e=/Daten/Flo"
set par(name) "Esi_neg"
set par(realmode) 2
set par(mode) 2
set par(ende) 0
set par(sr) 0
set par(srs) 0
set par(d29a) 3
set par(d29b) 0
set par(lowmass) 100.000000
set par(highmass) 800.000000
#-----Parameter für die Messung-----
global para
# Umbenennung für reibungslose Vb Kommunikation, da über string kriterium ausgelesen wird
set para(path) "$par(path)"
# Dummyverzeichnis
set para(dummy) $par(dummy)
set para(wavenum) $par(wavenum)
set para(name) $par(name)
set para(index) "/ref"
set para(index2) "/sig"

```

---

```
set para(name2) "$par(name)$para(index)"
set para(name3) "$par(name)$para(index2)"
set para(path2) "$par(path)$para(index)"
set para(path1) "$par(path)$para(index2)"
puts "sig"
puts "sigpath"
set para(asc) ".asc"
puts "old"
set para(lowborder) "$par(lowmass)"
set para(highborder) "$par(highmass)"
puts "masses"
set para(wxy) 1
set para(raw) 1
set para(number) 1
set para(delay) 0.0000
set para(deltadelay) 0.00002
set para(delayname) 0
set para(deltadelayname) 20
set par(raus) 0
set para(refdelay) 0.0008
set para(asc) ".asc"
global filespec
puts "....."
puts "Para ok"
puts $para(path1)
puts $para(path2)
set $para(number) 0
#----- Einstellungen der Parameter am XMASS-----
puts "hinter mode"
#----- Pulse anpassen -----
puts "newvalue"
tcl_cip p2 500
set para(gesdelay) [expr $para(delay)+$para(deltadelay)]
set para(delayname) [expr $para(delayname)+$para(deltadelayname)]
tcl_cip d20 $para(gesdelay)
puts $para(gesdelay)
puts $para(delayname)
#----- Messparameter ändern -----
tcl_cip acqu
set tdsiz [expr 1024 * [string trim $par(td) ?k?]]
```

---

```

tcl_setpar TD $tdsize
tcl_setpar SI $tdsize
tcl_setpar NS $par(ns)
tcl_cip startoft
    #tcl_cip tkdir \"$xmh/prog/CurInst\"
set listdata [tcl_getfilespec]
set file(path) [lindex $listdata 0]
set file(name) [lindex $listdata 1]
set file(expno) [lindex $listdata 2]
set file(procno) [lindex $listdata 3]
#----- Messung wird gestartet-----
set filespec \"$file(path)/$file(name)/$file(expno)/pdata/$file(procno)\"
tcl_cip zg
tcl_addacqcheck \"$filespec\" \"VSL_Measure_End2\"
#----- Speichern -----
proc VSL_Measure_End2 {
    puts \"in Schlaufe2\"
    global para
    global par
    global file

    set file(expno) $para(wavenum)
set file(procno) 1
    set file(name) $para(name)
    set file(path) $para(path)
    set file(expno2) \"$para(delayname)$para(asc)\"
    puts \"hinter speicher2\"
#ascii sig
puts \"$para(path)\",\"$file(expno2)\",\"3\", \"0\"\"
    tcl_cip expandx \"$para(lowborder)\",\"$para(highborder)\"
tcl_cip wxy \"$para(path1)\",\"$file(expno2)\",\"3\", \"0\"
    puts $para(refdelay)
puts \"d21=0.00001\"
#tcl_cip d20 $para(refdelay)
tcl_cip d20 0.0005
puts \"vor messung2\"
set listdata [tcl_getfilespec]
set file(path) [lindex $listdata 0]
set file(name) [lindex $listdata 1]
set file(expno) [lindex $listdata 2]

```

```
set file(procno) [lindex $listdata 3]
set filespec "$file(path)/$file(name)/$file(expno)/pdata/$file(procno)"
tcl_cip zg
tcl_addacquecheck "$filespec" "VSL_Measure"
}
proc VSL_Measure { } {
    puts "in Schlaufe"
    global para
    global par
    global file

    set file(expno) $para(wavenum)
    set file(procno) 1
    set file(name) $para(name)
    set file(path) $para(path)
    set file(expno2) "$para(delayname)$para(asc)"
    puts "hinter speicher"
    puts $file(expno2)
    set file(expno3) "$para(path)\",\"$file(expno2)\",\"3\", \"0"
    puts $file(expno3)
    tcl_cip expandx \"$para(lowborder)\",\"$para(highborder)\"
    tcl_cip wxy \"$para(path2)\",\"$file(expno2)\",\"3\", \"0"
    #----- para delay für cloud wird eingestellt-----
    set para(number) [expr $para(number)+1]
    puts $para(number)
    set para(gesdelay) [expr $para(delay)+$para(deltadelay)*$para(number)]
    set para(delayname) [expr $para(delayname) +$para(deltadelayname)]
    puts $para(gesdelay)
    puts "d21=0.00005"
    puts $para(number)
    tcl_cip d20 $para(gesdelay)
    puts "deltadelayschlaufe2000"
    puts $para(number)

    puts "vor wechsel"
    set listdata [tcl_getfilespec]
    set file(path) [lindex $listdata 0]
    set file(name) [lindex $listdata 1]
    set file(expno) [lindex $listdata 2]
    set file(procno) [lindex $listdata 3]
```

---

```
set filespec "$file(path)/$file(name)/$file(expno)/pdata/$file(procno)"
tcl_cip zg
tcl_addacqcheck "$filespec" "newValue2"
}}
proc newValue2 {} {
  global par
  global para
  #-----#restart kopiert von oben
  tcl_cip p2 500
  set para(gesdelay) [expr $para(delay)+$para(deltadelay)]
  set para(delayname) [expr $para(delayname)+$para(deltadelayname)]
  tcl_cip d20 $para(gesdelay)
  puts $para(gesdelay)
  puts $para(delayname)
  #----- Messparameter ändern -----
  set listdata [tcl_getfilespec]
  set file(path) [lindex $listdata 0]
  set file(name) [lindex $listdata 1]
  set file(expno) [lindex $listdata 2]
  set file(procno) [lindex $listdata 3]
  #----- Messung wird gestartet-----
  set filespec "$file(path)/$file(name)/$file(expno)/pdata/$file(procno)"
  #zurück in die schlaufen
  tcl_cip zg
  tcl_addacqcheck "$filespec" "VSL_Measure_End2"
}
#----- Programmende -----
```

## A.4 Spannungs-Pulsprogramm zur UV/IR Photodissoziation mit Sauerstoffeinpulsung

```

;#XS_label "ESI MS/MS/delay Experiment"
;#XS_dataset "none"
;;; AvanceFTMS version

;Initialisation_Block
;#ES_block "Initialization"
;#ES_bitmap "init.bmp"
;#ES_eventtype initialization
;#ES_parameter d31
    d31 setnmr8^7 ; bit 7 control word 8 low = RF + mod out
; d31 setnmr8|5 ; digitize excitation set bit 5 high
    d31 setnmr8^5 ; digitize icr signal set bit 5 low

;#ES_conditional_pp DM bb d31 setnmr8|6 ; bit 6 set = unmixed signal to ADC
;#ES_conditional_pp DM hires d31 setnmr8^6 ; bit 6 low = mixed signal to ADC
;#ES_conditional_pp RGAIN high d31 setnmr8^4 ; bit 4 low = Receiver gain high
;#ES_conditional_pp RGAIN low d31 setnmr8|4 ; bit 4 hi = Receiver gain low

1 ze

10 d0 ; pumping delay
    d31 reset:f1 reset:f2 ; reset the phase on both channels

;Wait_For_Trigger_Block
;#ES_block "Wait for Trigger on Trig0" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter
    trigne1 ;wait for trigger on TCU (Trig0)

;Wait_For_Trigger_Block
;#ES_block "Wait for Trigger on Trig0" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"

```

---

```

;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter
    trignel ;wait for trigger on TCU (Trig0)

;TTL_Temperature_controller_block
;#ES_block "Temper_control Switch OFF" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter d8
    10u setnmr0|34 ; sets TTL "high" on channel 34 (AUX 9)
    d8 ; reaction delay

;TTL_Temperature_controller_block
;#ES_block "Temper_control Switch ON" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter d8
    10u setnmr0^34 ; sets TTL "low" on channel 34 (AUX 9)
    d8 ; reaction delay

;Source_Quench_Block
;#ES_block "Empty ESI Source"
;#ES_bitmap "ESIquench1.bmp"
;#ES_eventtype ionization
;#ES_parameter p29
    p29:c28 ; Quench the hexapole ion guide

;Quench_Block
;#ES_block "Empty Cell"
;#ES_bitmap "quench.bmp"
;#ES_eventtype quench
;#ES_parameter p1 d1
    p1:c26 ; Quench Pulse RCP 26
    d1 ; Delay (accumulation time in hexapole)

;Pulsed Valve_Block
;#ES_block "Lower trap potential" optional on
;#ES_bitmap "lower_trap.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter
```

---

```
10u setnmr0|4          ; lower dynamic trap voltage
                        ; uses manual settings
                        ; triggered through AUX3 = RCP4
```

```
;Transfer
;#ES_block "Transfer" optional on
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter p2 d20
    p2:c28              ; Transfer
    d20                 ; time of flight
```

```
;Pulsed Valve_Block
;#ES_block "Raise trap potential" optional on
;#ES_bitmap "raise_trap.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter
    10u setnmr0^4      ; raise dynamic trap voltage
```

```
=====
;    STAGE 1 OF EXPERIMENT
```

```
;MS/MS Selection_Block B
;#ES_block "Isolation" optional off
;#ES_bitmap "msms_sel_a.bmp"
;#ES_eventtype corr_sweep
;#ES_parameter p4 pl4
    d31 pl4:f1         ; set attn. for tx board 1 for ejection sweep
    20 (p4 ph1 fq1):f1 ; correlated ejection sweep
    lo to 20 times 10  ; use loop counter L[0]
;#ES_flag_comment ;#FC_ fq1:f1 corr_sweep 0
```

```
;Reaction Delay_Block
;#ES_block "Reaction Delay" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_delay
;#ES_parameter d5
    d5                 ; reaction delay
```



```
;Pulsed Valve_Block
;#ES_block "Pulsed Valve 1" optional off
;#ES_bitmap "p_valve.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter p22
    p22:c29      ; Pulsed Valve 1 on RCP 30
;Pulsed Valve_Block
;#ES_block "Pulsed Valve 2" optional off
;#ES_bitmap "p_valve.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter p27
    p27:c30      ; Pulsed Valve 2 on RCP 30

;Reaction Delay_Block
;#ES_block "Reaction Delay" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_delay
;#ES_parameter d5
    d5           ; reaction delay

;=====
;    STAGE 2 OF EXPERIMENT

;Wait_For_Trigger_Block
;#ES_block "Wait for Trigger on Trig0" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter
    trigne1     ;wait for trigger on TCU (Trig0)

;Parent Ion Activation_Block
;#ES_block "Ion Activation" optional off
;#ES_bitmap "activate.bmp"
;#ES_eventtype ion_activation
;#ES_parameter p8 d31 pl8
    d31 pl8:f1   ; set atten. on tx board 1
    (p8 ph1 fq1):f1 ; activation shot on the parent ion
;#ES_flag_comment ;#FC_fq1:f1 parent_ion_activation 0

;Reaction Delay_Block
```

```

;#ES_block "Reaction Delay" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_delay
;#ES_parameter d6
    d6          ; reaction delay

;MS/MS Selection_Block B
;#ES_block "Isolation" optional off
;#ES_bitmap "msms_sel_a.bmp"
;#ES_eventtype corr_sweep
;#ES_parameter p4 pl4
    d31 pl4:f1    ; set attn. for tx board 1 for ejection sweep
20 (p4 ph1 fq1):f1    ; correlated ejection sweep
    lo to 20 times l0    ; use loop counter L[0]
;#ES_flag_comment ;#FC_fq1:f1 corr_sweep 0

;Reaction Delay_Block
;#ES_block "Reaction Delay" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_delay
;#ES_parameter d5
    d5          ; reaction delay

;Wait_For_Trigger_Block
;#ES_block "Wait for Trigger on Trig0" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter
    trigne1    ;wait for trigger on TCU (Trig0)

;Clean-UP Shots_Block
;#ES_block "Correlated Shots MS1" optional off
;#ES_bitmap "cl_shots.bmp"
;#ES_eventtype corr_shot
;#ES_parameter p7 pl7
    d31 pl7:f1    ; set atten. on tx board 1
30 (p7 ph2 fq1):f1    ; high resolution clean-up shots
    lo to 30 times l3    ; use loop counter L[3]
;#ES_flag_comment ;#FC_fq1:f1 corr_shot 0
```

---

```
;Photofragmentation_Block
;#ES_block "uv pulsed laser" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter p28 d27
    p28:c33    ; opening trigger for Newport shutter (AUX 8)
    d27        ; time for shutter to be open
    d28        ; time to equalize spec and refspect
```

```
;Photofragmentation_Block
;#ES_block "ir pulsed laser" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter p30 d29
    p30:c32    ; opening trigger for Newport shutter (AUX 7)
    d29        ; time for shutter to be open
    d28        ; time to equalize spec and refspect
```

```
;Photofragmentation_Block
;#ES_block "uv pulsed laser" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter p28 d27
    p28:c33    ; opening trigger for Newport shutter (AUX 8)
    d27        ; time for shutter to be open
    d28        ; time to equalize spec and refspect
```

```
;Photofragmentation_Block
;#ES_block "uv/ir pulsed laser" optional off
;#ES_bitmap "photo_diss.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter p30 d29
    p30:c32    ; opening trigger for Newport shutter (AUX 7)
    p28:c33    ; opening trigger for Newport shutter (AUX 8)
    d29        ; time for shutter to be open
    d28        ; time to equalize spec and refspect
```

```
;Parent Ion Activation_Block
;#ES_block "Ion Activation" optional off
```

```
;#ES_bitmap "activate.bmp"
;#ES_eventtype ion_activation
;#ES_parameter p8 d31 pl8
    d31 pl8:f1      ; set atten. on tx board 1
    (p8 ph1 fq1):f1 ; activation shot on the parent ion
;#ES_flag_comment ;#FC_fq1:f1 parent_ion_activation 0
```

```
;Pulsed Valve_Block
;#ES_block "Pulsed Valve 1" optional off
;#ES_bitmap "p_valve.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter p22
    p22:c29      ; Pulsed Valve 1 on RCP 30
```

```
;Reaction Delay_Block
;#ES_block "Reaction Delay" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_delay
;#ES_parameter d6
    d6          ; reaction delay
```

```
;TTL_Temperature_controller_block
;#ES_block "Temper_control Switch OFF" optional off
;#ES_bitmap "react_del4.bmp"
;#ES_eventtype user_pulse
;#ES_parameter d8
    10u setnmr0|34 ; sets TTL "high" on channel 34 (AUX 9)
    d8            ; reaction delay
```

```
=====
;   EXCITATION AND DETECTION
=====
```

```
;Excitation Block
;#ES_block "Excitation"
;#ES_bitmap "excite.bmp"
;#ES_eventtype excitation_sweep
;#ES_parameter p3 pl3 p0 pl0 p31
```

---

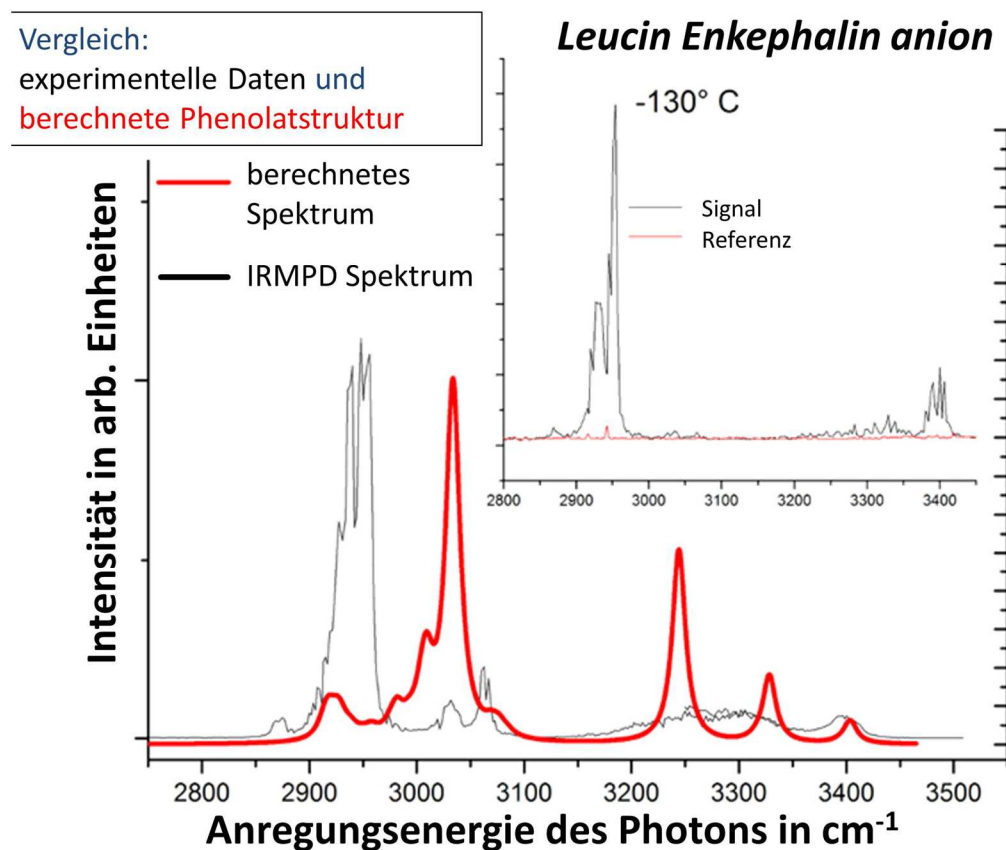
```

; put 1.00 MHz frequency out, then reset it
    d31 pl0:f1      ; pumping delay
    (p0 ph31 fq1):f1 ; load dummy frequency into FCU
    d31 reset:f1    ; reset the phase on both channels
    d31 pl3:f1      ; set atten. on tx board 1 for the detection
    ;#ES_conditional_pp EM shot (p3 ph2 fq1):f1 ; detection excitation shot
;#ES_conditional_pp EM shot ;#FC_ fq1:f1 excitation_shot
;#ES_conditional_pp EM sweep 40 (p3 ph2 fq1):f1 ; detection excitation sweep
;#ES_conditional_pp EM sweep lo to 40 times l31
;#ES_conditional_pp EM sweep ;#FC_ fq1:f1 excitation_sweep
;Detection_Block
;#ES_block "Detection"
;#ES_bitmap "detect.bmp"
;#ES_eventtype detection
;#ES_parameter d30
;#ES_conditional_pp DM hires d30 fq1:f1 ; receiver dead time and set mixer frequency for hr
;#ES_conditional_pp DM hires ;#FC_ fq1:f1 detection_mixer_freq
;#ES_conditional_pp DM bb d30 ; receiver dead time
    go = 10 ph2 ; scan loop
;Stop_Block
;#ES_block "Exit"
;#ES_bitmap "exit.bmp"
    wr #0 ; write data to disk
; lo to 1 times l20 ; save L[20] experiments in L[20] files
    exit ; end
    ph1= 0 0 2 2 ; PAPS Exitation Phase 0 0 180 180
        ; PAPS variable =AP
    ph2= 2 2 0 0 ; PAPS Exitation Phase 180 180 0 0
    ph31= 0 0 2 2 ; Phase program for 1 MHz synchronization freq.

```

## Anhang B: IRMPD Spektroskopie des Leucin Enkephalin

### B.1 Vergleich der energetisch günstigsten Phenolatstruktur mit den experimentellen Daten der IRMPD Spektroskopie



**Abbildung 89** IRMPD Spektrum des deprotonierten Leucin Enkephalin in *action* (groß aufgetragen). Die rote Kurve zeigt das skalierte, berechnete Spektrum der energetisch günstigsten Phenolatstruktur.

## Anhang C: IRMPD Spektroskopie des ADPATP

### C.1 Berechnete Schwingungsfrequenzen der Strukturen $\alpha\beta_1$ , $\alpha\beta_2$ , $\alpha\gamma$ , und $\beta\gamma$

Tabelle 34: Ergebniss der quantenmechanischen Rechnungen (B3LYP/TZVPP) für das zweifach deprotonierte  $[\text{ATP}-2\text{H}]^{2-}$ . Die Schwingungsfrequenzen für die zwei energetisch günstigsten Strukturen mit der Deprotonierung  $\alpha\beta_1/\alpha\beta_2$  sind aufgeführt und den jeweiligen Wasserstoffen zugeordnet. Alle Frequenzen wurden mit dem *scaling factor* 0,956 korrigiert

<i>Schwingungsmode</i>	<i>Frequenz in <math>\text{cm}^{-1}</math> (<math>\alpha\beta_1/\alpha\beta_2</math>)</i>	<i>Intensität in <math>\text{km/mol}</math> (<math>\alpha\beta_1/\alpha\beta_2</math>)</i>
$\text{P}_\gamma\text{-OH}^2$	2598/2624	1741/2019
$\text{C}_3\text{OH}$	2845/2952	2379/2270
$\text{symC}_5\text{H}_2$	2879/2870	20/37
$\text{asC}_5\text{H}_2$	2951/2960	10/287
$\text{C}_1\text{H}$	2937/2935	12/18
$\text{C}_2\text{H}$	2883/2894	22/30
$\text{C}_3\text{H}$	2959/2919	12/198
$\text{C}_4\text{H}$	2891/2884	14/90
$\text{P}\gamma\text{OH}^3$	2894/3059	1024/605
$\text{C}_{6\text{ring}}\text{H}$	3000/3001	49/44
$\text{C}_{5\text{ring}}\text{H}$	3086/3062	181/100
$\text{symNH}_2$	3409/3409	34/36
$\text{asNH}_2$	3530/3531	34/34
$\text{C}_2\text{OH}$	3483/3532	114/92

Tabelle 35: Auflistung der Schwingungsfrequenzen (*scaling factor*: 0,956) für die energetisch günstigsten Struktur mit der Deprotonierung  $\alpha\gamma$  und die jeweilige Zuordnung der Moden

<i>Schwingungsmode</i>	<i>Frequenz in <math>\text{cm}^{-1}</math></i>	<i>Intensität in <math>\text{km/mol}</math></i>
$\text{P}_\beta\text{-OH}^2$	2714	1081
$\text{C}_3\text{OH}$	2923	1344
$\text{symC}_5\text{H}_2$	2889	60
$\text{asC}_5\text{H}_2$	2965	2
$\text{C}_1\text{H}$	2927	530
$\text{C}_2\text{H}$	2966	8
$\text{C}_3\text{H}$	2994	7
$\text{C}_4\text{H}$	2930	140
$\text{P}\gamma\text{OH}^3$	3390	306

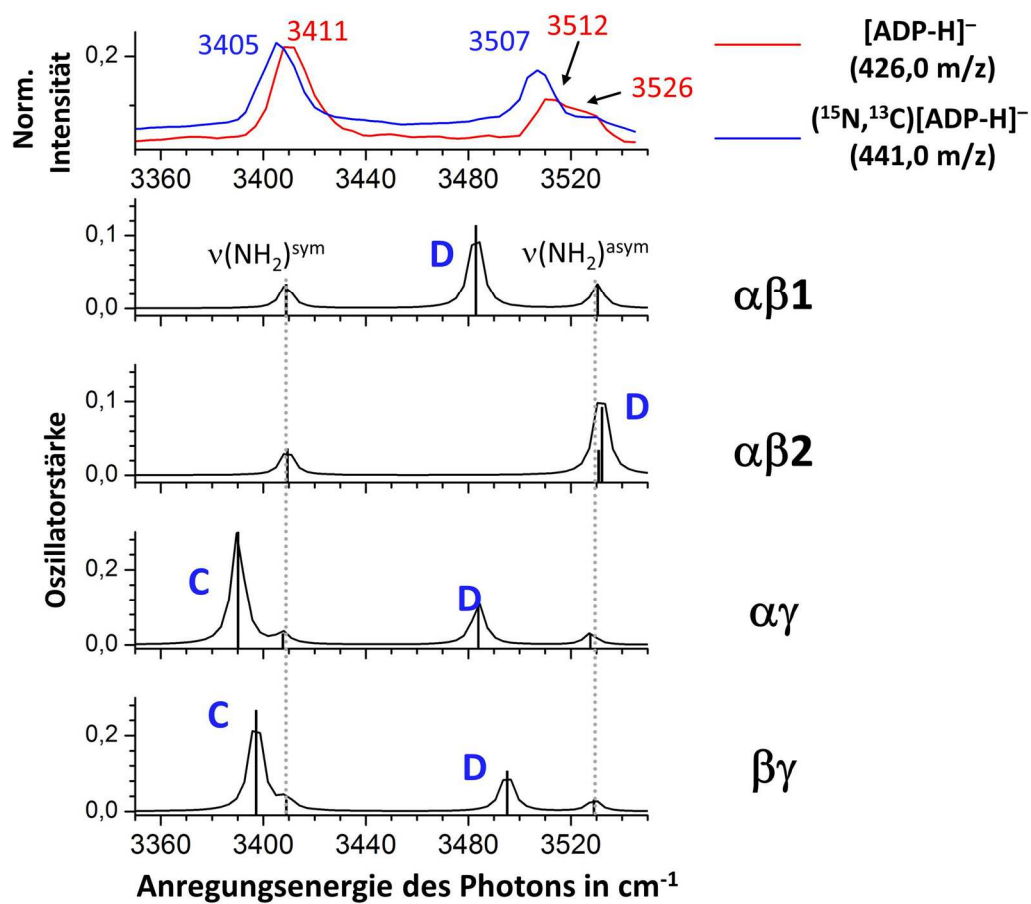
C <sub>6ring</sub> H	3001	48
C <sub>5ring</sub> H	3087	94
symNH <sub>2</sub>	3407	29
asNH <sub>2</sub>	3527	30
C <sub>2</sub> OH	3483	112

Tabelle 36: Auflistung der Schwingungsfrequenzen (*scaling factor*: 0,956) für die energetisch günstigsten Struktur mit der Deprotonierung  $\beta\gamma$  und die jeweilige Zuordnung der Moden

<i>Schwingungsmode</i>	<i>Frequenz in cm<sup>-1</sup></i>	<i>Intensität in km/mol</i>
P <sub><math>\alpha</math></sub> -OH <sup>2</sup>	2659	1070
C <sub>3</sub> OH	2885	1971
symC <sub>5</sub> H <sub>2</sub>	2905	43
asC <sub>5</sub> H <sub>2</sub>	2993	12
C <sub>1</sub> H	2925	19
C <sub>2</sub> H	2957	12
C <sub>3</sub> H	2977	2
C <sub>4</sub> H	2945	21
P <sub><math>\gamma</math></sub> OH <sup>3</sup>	3397	266
C <sub>6ring</sub> H	3003	46
C <sub>5ring</sub> H	3090	66
symNH <sub>2</sub>	3409	31
asNH <sub>2</sub>	3529	31
C <sub>2</sub> OH	3495	107



## C.2 Raumtemperaturspektrum des $[\text{ATP-2H}]^{2-}$

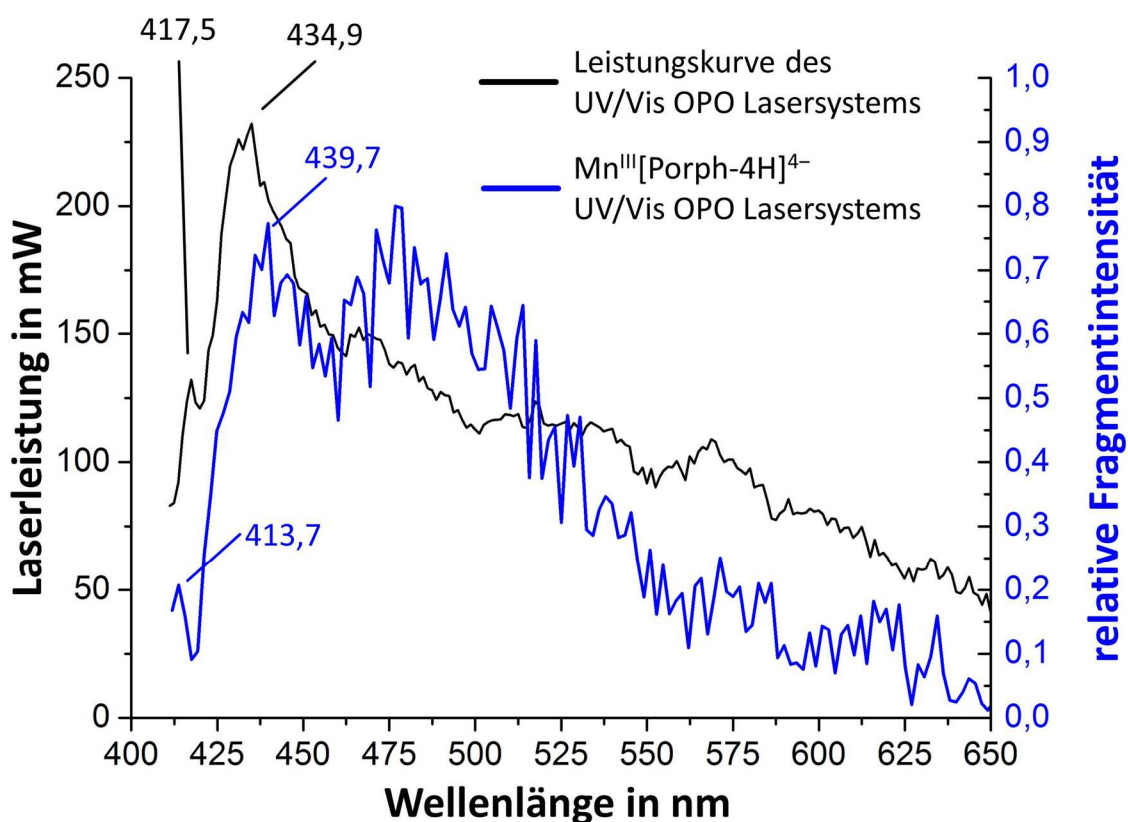


**Abbildung 90** IRMPD Spektrum des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  bei Raumtemperatur. Ein Vergleich mit dem Tieftemperaturspektrum zeigt identische Banden und Verschiebungen für die isotopenmarkierte Spezies.

## Anhang D: UV/Vis Spektroskopie

### D.1 Diskussion zur Leistungskurve des UV/Vis Lasersystems zwischen 410 nm und 430 nm

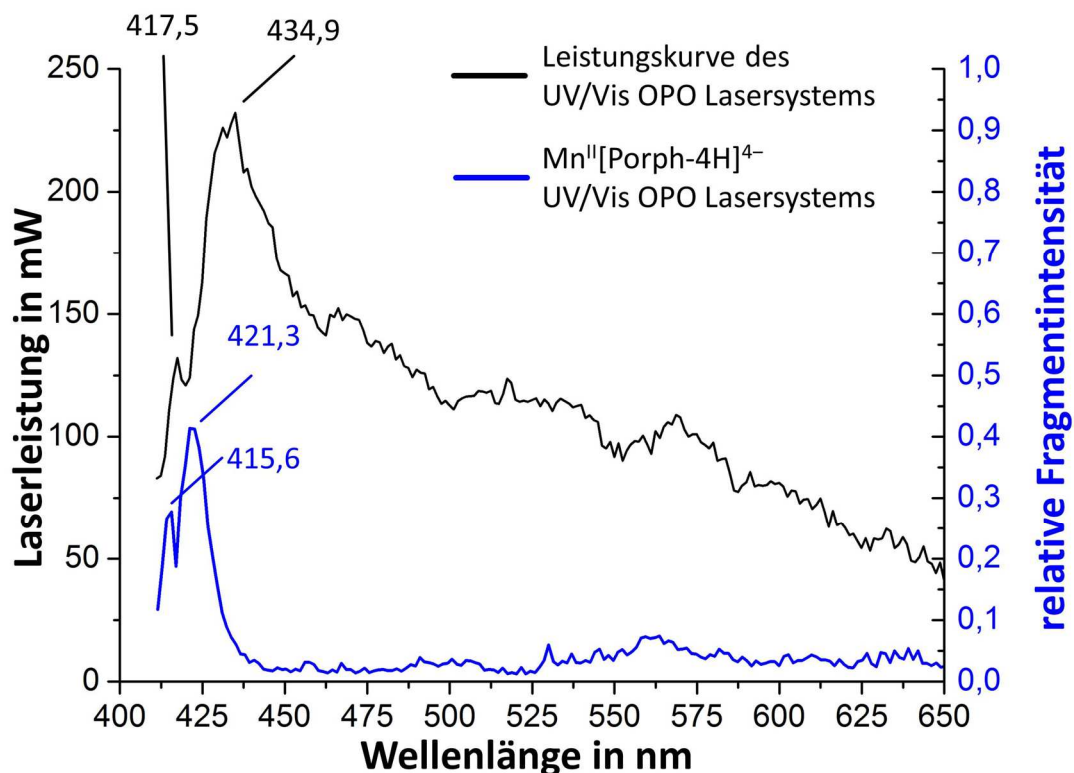
Wie in Abschnitt 4.2.2 erwähnt wurde, variiert die Leistungskurve des UV/Vis OPO Lasersystems aufgrund der Materialeigenschaften der für die nicht lineare Optik verwendeten BBO Kristalle, im Bereich zwischen 410 nm und 430 nm, stark. Da die Absorption der Soretbande, die für die Charakterisierung der Porphyrine von großer Bedeutung ist direkt in diesem Bereich liegt, wird der Einfluss der Laserleistung auf das Spektrum an dieser Stelle diskutiert. Hierfür wurde die Laserleistung hinter dem elektronisch gesteuerten Shutter mit einem Leistungsmessgerät (LV-30V, Coherent Inc, Santa Clara CA) aufgenommen und anschließend die UV/Vis Spektren des  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  und  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  mit dieser Leistung aufgenommen. Die Spektren sind in Abbildung 91 und Abbildung 92 dargestellt.



**Abbildung 91** UV/Vis Spektrum des  $\text{Mn}^{\text{III}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  (blau) mit der zugehörigen Laserleistung des UV/Vis-OPO-Lasersystems (schwarz)

Der direkte Vergleich der Leistungskurve mit dem Manganspektrum zeigt dass das Maximum der Kurve verschoben ist und dass die Maxima der Laserkurve keine Intensitätseinbrüche durch Mehrfachfragmentation erzeugt. Dennoch sollte eine Beeinflussung der Intensität bei der Absorption von 430 nm berücksichtigt werden.

Ein Vergleich der  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  Messung mit der Leistungskurve zeigt, dass die Bande bei 421,7 nm versetzt zu der Flanke in der Leistungsmessung abfällt, dennoch wurde die Auflösung der Bande bei 415,6 nm aufgrund der großen Leistungsdifferenz und der Unsicherheit in der Intensität nicht für die Interpretation der Spektren in dieser Arbeit verwendet.



**Abbildung 92** UV/Vis Spektrum des  $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{Porph-4H}]^{4-}$  (blau) mit der zugehörigen ALserleistung des UV/Vis-OPO-Lasersystems (schwarz)

Ein Ansatz um diese Problematik abzumildern wäre die Implementierung einer Motorsteuerung des eingebauten Polfilters, dadurch könnte abhängig von der aktuellen Wellenlänge die Varianz der Laserleistung abgeschwächt und die Leistungskurve gestaucht werden.



## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Das verwendete FT-ICR Massenspektrometer mit Druckstufen. Die beschrifteten Bauteile zeigen die einzelnen Stufen der Desolvatation der Ionen, vom Lösungsmittel bis in die Gasphase dar. Der Prozess wird ausführlich im kommenden Abschnitt erläutert ..... 6
- Abbildung 2:** Auflistung der einzelnen Komponenten der Ionenoptik mit Name, interner Bezeichnung der Spannungsversorgung und der Aufgabe im Transfer der Ionenwolke. Zusätzlich ist das Ultrahochvakuum Absperrventil eingezeichnet, das die letzte Pumpstufe von den vorherigen abtrennen kann. .... 9
- Abbildung 3:** (oben) Schematische Darstellung der drei Bewegungsmoden eines geladenen Teilchens in einer ICR-Zelle und den jeweiligen Gleichungen der Speicherbewegung (grün), der reduzierten Zyklotronbewegung (rot) und der Magnetronbewegung (blau). Die Abhängigkeit dieser Bewegungen von dem Masse- zu Ladungsverhältnis  $m/q$  des Teilchens ist im unteren Bereich bis zur Stabilitätsgrenze  $[m/q]_{\text{krit}}$  für ein 7 T Magnet mit 2 V Speicherspannung aufgetragen. Dieses Diagramm wurde einer Arbeit von Marshall et al. entnommen.<sup>30</sup> ..... 15
- Abbildung 4:** Skizze der ICR-Zelle im Querschnitt zur Darstellung der dipolaren Anregung. Die Anregungselektroden sind in grau, die Detektionselektroden in blau dargestellt. a) Die Ionen befinden sich vor der Anregung auf einer stabilen Trajektorie mit kleinem Zyklotronradius. b) Durch einen dipolaren, Fourier-transformierten Anregungspuls werden alle Teilchen in der Falle, auf einer Trajektorie mit größerem Radius, in Phase gebracht. c) Die Anregung wird abgeschaltet und das Ionenpaket bewegt sich stabil auf diesem größeren Zyklotronradius. d) Das nun kohärente Ionenpaket induziert in den Detektionselektroden Bildströme, welche kapazitiv ausgekoppelt und verstärkt werden können..... 17
- Abbildung 5:** Technische Zeichnung der Infinity<sup>TM</sup> ICR-Zelle mit Kupfermantel. Der Kupfermantel mit Flüssigstickstoff-Zuleitung und Heizdrähten zur Temperaturkontrolle umschließen die Infinity Zelle. Die Speicherelektroden (grün), die Sendeelektroden (gelb) und die Detektorelektroden (blau) liegen sich paarweise gegenüber. Für die Übersichtlichkeit wurde in der Darstellung ein Viertel der Falle mit der zweiten Detektorelektrode ausgeschnitten..... 19
- Abbildung 6:** Aufbau der Speicherelektroden einer Infinity Zelle. Die Rückseite mit Kontakten (rechts) und Falleninnenseite (links) mit aufgedampfter Elektrodengeometrie wurden fotografiert. Zu Vergleichen ist die Falleninnenseite mit den theoretischen Ergebnissen einer simulierten zylindrischen Zelle mit unendlicher Ausdehnung (unten). Die Abbildung der simulierten Zelle wurde aus der Arbeit von Caravatti und Allemann entnommen.<sup>44</sup> ..... 21
- Abbildung 7:** Entwicklung einer Ionenwolke mit 50000 Ionen nach Nikolaev et al.<sup>46</sup> Der obere Schnappschuss zum Zeitpunkt  $T = 0 \mu\text{s}$  zeigt die im Zentrum der Falle erzeugen Ionen. Der untere Schnappschuss wurde nach 800  $\mu\text{s}$  Simulationszeit, davon 70 $\mu\text{s}$  mit dipolarer Anregung und 730  $\mu\text{s}$  ohne dipolare Anregung gewählt. Der blaue Umriss verdeutlicht die unterschiedliche Aufenthaltswahrscheinlichkeit im Zentrum der Falle..... 23
- Abbildung 8:** Messung der Frequenzbänder zu den verwendeten Isolationsmethoden. a) Die Isolation durch einen Breitbandpuls mit einer Frequenzlücke von 5 kHz zentriert auf 400 m/z. b) Die Isolation durch einen Breitbandpuls mit einer cut-off- Frequenz. Hier exemplarisch ein cut off bei 500 m/z. c) Aktivierung eines einzelnen m/z-Verhältnisses. Diese Methode entspricht einer Aktivierung mit einer Amplitude die den Zyklotronradius über die Dimension der Falle hinaus vergrößert. d) Dem Prinzip von der Aktivierung folgend werden mehrere Frequenzen in die ICR-Zelle eingestrahlt und die zugehörigen m/z aus der Falle entfernt. .... 24

- Abbildung 9:** Anregungspuls der Isolation mit 6 unterschiedlichen Lücken „safty belts“ im Frequenzband. Aufgetragen sind die den Frequenzen entsprechenden  $m/z$ -Werte von 350-450  $m/z$ . Die Isolationsmasse wurde mit 400  $m/z$  gewählt und die Frequenzlücke zwischen 1 kHz und 20 kHz in der Steuerungssoftware variiert. .... 25
- Abbildung 10** Der messbare Effekt der Isolation auf den Überlapp der Ionenwolke mit dem Dissoziationslaserpuls ist für das Leucin Enkephalin dargestellt. Die beiden aufgetragenen Spektren wurden zwei nacheinander ausgeführten Messungen, mit identischen Einstellungen und Bedingungen, bei  $2946\text{ cm}^{-1}$  entnommen. In der oberen Kurve ist das Fragmentationsspektrum ohne vorgeschaltete Isolation zu sehen (rot), im unteren Spektrum wurde mit einer 5 kHz Frequenzlücke mit einem Zentrum bei 554  $m/z$  isoliert (schwarz). Beide Massespektren wurden gegen die Ionemasse mit der höchsten Intensität normiert. .... 27
- Abbildung 11** Abgebildet ist die Spitze einer NanoEsi Nadel mit einem Innendurchmesser von ca. 500 nm. Aufgrund des angelegten Feldes bildet sich ein Taylor-Kegel an der Nadelspitze. Hervorgehoben sind die weiteren Teilschritte bis zur Isolation des Ions. Zur Veranschaulichung des Taylorkegels und der abgespalteten Tröpfchen wurde ein Laserstrahl (532nm) orthogonal zur Nadelspitze verschoben und die jeweilige Reflexion der Lösungsmitteltröpfchen fotografiert. Der Abstand der Nadelspitze zur Kapillare wurde hier mit ca. 10 mm gewählt. .... 30
- Abbildung 12** Darstellung der NanoESI-Quelle. Die 2-dimensionalen und 3-dimensionalen Halbschnitte wurden mit dem Programm Inventor erzeugt, in dem die Baupläne der Quelle erstellt wurden. Unten rechts ist eine Fotografie der Nadelhalterung im Sprühbetrieb abgebildet. Die gesprühte Lösung wurde durch Reflexionen eines 5 mW Laserpointer (532nm) an den Lösungsmitteltröpfchen sichtbar gemacht. .... 34
- Abbildung 13** Aufnahmen von in dieser Arbeit erstellten Proben-Nadeln. Oben links ist der Einfluss der Parameter heat und pull zu sehen. Aufgrund ihrer Einstellung kann zwischen geschlossenen und geöffneten Nadelspitzen variiert werden. Oben rechts ist ohne Vergrößerung die Variation des velocity Wertes gezeigt. Durch das Falschfarbenbild ist die zunehmende Länge von links nach rechts zu erkennen. In der unteren linken Abbildung wurde eine Nadel vor und nach einem coating mit Graphit aufgenommen, um den Graphitmantel sichtbar zu machen. Die untere Rechte Aufnahme zeigt Nadeln nach einem manuellen Bruch, der den Innendurchmesser in der Regel deutlich vergrößert. .... 36
- Abbildung 14** Baugruppe nach der Ionenquelle. In der Desolvatationskapillare werden Lösungsmittelmoleküle thermisch von den Ionen abgespalten und durch einen Ionentrichter in einen Akkumulationshexapol fokussiert. Zusätzlich zu dem anliegenden DC-Spannungsgradient im Bereich von 10 V ist ein Druckgradient angelegt. Dieser wurde durch die Positionierung der Pumpstufen erzeugt. .... 39
- Abbildung 15** Dargestellt ist der Ionentrichter mit Übergang zum Akkumulationshexapol. Der Neutralstrahlunterbrecher (grün) ist zentral nach der Desolvatationskapillare positioniert und auf ein für die Ionenpolarität abstoßendes DC-Potential gelegt. Die Ionen werden in Richtung Trichterrand abgelenkt und dort durch das RF-Feld und die Druck und Spannungsgradienten zum Hexapol hin fokussiert. .... 40
- Abbildung 16** Inventor Zeichnung des modifizierten Hexapols. Die wichtigsten Elektroden wurden farblich markiert und beschriftet. .... 42
- Abbildung 17** Aufnahmen des modifizierten Hexapols mit Drähten. Zwei Aufnahmen (unten links und unten mitte) zeigen die Drahthalterungen. Für die Aufnahme des Hexapolausgangs (unten mitte) wurde die Speicherelektrode abgenommen. Ebenfalls abgebildet ist ein Querschnitt des simulierten Hexapols. Die angegebenen Spannungen gelten für die Phase der Speicherung und entsprechen typischen Werten aus dem Experiment. Zusätzlich sind die Isopotentiallinien des effektiven elektrischen Feldes ohne RF-Spannung eingezeichnet. Ein Gradient zum Fallenende ist bereits während der Speicherung der Ionen deutlich zu erkennen. .... 44
- Abbildung 18** 2-dimensionaler Plot der Ionenposition (Punkte) im Hexapol gegen die Extraktionsspannung zum Zeitpunkt der „Schaltung“ des Speicherpotentials auf das Extraktionspotential ( $t = t_0$ ). Der Graph zeigt den

Vergleich der beiden Simulationsreihen für den Fall ohne Potentialgradient während der Speicherung (schwarz) und dem Fall mit Potentialgradient (rot). Die Simulation mit Potentialgradient für 6 V wurde mit 250 Ionen unter Berücksichtigung der Ladungsabstoßung im Hexapol untersucht und mit einer identischen Simulation ohne Ladungsabstoßung verglichen. (unten).....	47
<b>Abbildung 19</b> Zur Auswertung der Extraktionszeiten der einzelnen Ionen wurden für die 150 Ereignisse der Mittelwert und die Standardabweichung bei der jeweiligen Spannung ermittelt. Der Mittelwert entspricht so der mittleren Extraktionszeit und die Standardabweichung der zugehörigen Breite der Ionenwolke. Zur Übersichtlichkeit wurde die Reduktion des Mittelwerts bezogen auf den Wert ohne Drahtspannung bei gleicher Extraktionsspannung in blau und simultan das Verhältnis der reduzierten Standardabweichung in grün aufgetragen. Es ist ein positiver Effekt für alle Spannungen $V_{\text{Draht}} < V_{\text{Extraktion}}$ zu erkennen. ....	48
<b>Abbildung 20</b> Ankunftszeit der extrahierten einfach deprotonierten ATP-Ionen in der ICR-Zelle. Zusätzlich ist die Variation der Pulsdauern in diesem Messmodus erklärt. ....	51
<b>Abbildung 21</b> Matrix für die Ionenintensität des einfach deprotonierten $[\text{ATP-H}]^{1-}$ und des zweifach deprotonierte $[\text{ATP-2H}]^{2-}$ . Es wird deutlich, dass sich die Ionenintensität bei unterschiedlichen Parameterpaaren aus Drahtspannung und Speicherspannung im Maximum befindet. Dieser Effekt kann ausgenutzt werden um die Ionen für Reaktionen in der ICR-Zelle „vorzuselektieren“. ....	52
<b>Abbildung 22</b> Aufbau des IR-OPO Lasersystems in der Detailansicht. Die Fundamentale (grau) wird geteilt und teilweise zur zweiten Harmonischen (grün), konvertiert. Diese erzeugt in der OPO Stufe ein IR-Signal (orange) und einen IR-Idler (rot). Im OPA werden der Idler und der zweite Teil der Fundamentalen überlagert und es entsteht ein Laserpuls mit der Differenz der Frequenzen DFG (hellblau). ....	56
<b>Abbildung 23</b> Powerkurven des DFG-Laserpulses (rot) und des Idler-Laserpulses (schwarz), erzeugt aus dem in dieser Arbeit verwendeten OPO/OPA Lasersystems, gepumpt von der Fundamentalen und der 2. Harmonischen eines Nd:YAG Pumplasers. (entnommen aus Schinle 2009) <sup>90</sup> .....	58
<b>Abbildung 24</b> Aufbau des UV/Vis Panther EX OPO Lasersystems in der Detailansicht. Die dritte Harmonische (violett) des Nd:YAG Pumplasers pumpt eine OPO Zelle mit BBO Kristallen des Typs II. Hieraus entsteht ein Signalpuls (orange) und ein Idlerpuls (rot) durch Einsetzen eines portablen Prismas kann mit Hilfe zweier BBO Typ I Kristalle eine Frequenzverdoppelung von Signal und Idler durchgeführt werden (hellblau). Die zweite Harmonische (grün) ist in kleinen Mengen im Pumpstrahl enthalten und wird am ersten dichroitischen Spiegel abgetrennt.....	60
<b>Abbildung 25</b> Powerkurven des Signal-Laserpulses (rot) im UV/Vis Bereich. Der Puls wurde durch das Panther EX OPO Lasersystem erzeugt und hinter dem Lasershutter detektiert.....	61
<b>Abbildung 26</b> Aufgezeigt sind alle mit dem Messrechner verbundenen Komponenten und der Kommunikationskanal der zum Datenaustausch verwendet wird.....	63
<b>Abbildung 27</b> Ein vereinfachtes Pulsprogramm zur photoinduzierten Dissoziationsspektroskopie. Durch eine Folge von Pulsen und Pausen wird das Massenspektrometer gesteuert. Durch Pulsprogrammierung kann dies zur Photodissoziationsspektroskopie genutzt und durch gezielte Pulsmanipulation des P30 auch Schuss-zu-Schuss Referenzen aufgenommen werden.....	64
<b>Abbildung 28</b> ein vereinfachtes Pulsprogramm (siehe auch Abbildung 27). Der optimale Einsatz der ICR-Zelle wird durch Pulsprogrammierung vor der Photonenbestrahlung erreicht. Hier mit einem während der Speicherung zugepulsten Gas. Durch „ns“ ist die mehrfache Wiederholung des Programms für die Aufnahme eines Massenspektrums symbolisiert.....	65
<b>Abbildung 29</b> Schematische Darstellung des optischen Aufbaus zur Doppelresonanzspektroskopie in einem FT-ICR Massenspektrometer. An der Position der ICR-Zelle wurde der Auftreffpunkt des Justierstrahls (rot) des Infrarotlasers mit und ohne überlagernde UV/Vis Laserpulse fotografiert. ....	68

- Abbildung 30** Schema des Infrarot-Multiphotonen-Dissoziations(IRMPD)-Mechanismus. Ein absorbiertes Photon im IR Bereich bringt ein Molekül vom Schwingungsgrundzustand (1) in einen angeregten Schwingungszustand (2) mit der Energie  $h\nu$ . Die zugefügte Energie geht durch intramolekulare vibrational redistribution in andere Schwingungs- und Rotationsfreiheitsgrade des Moleküls über. Dadurch erhöht sich die innere Energie und ermöglicht gleichzeitig die Absorption eines weiteren Photons. Dieser Schritt kann mehrere Male wiederholt werden bis die innere Energie höher ist als die Dissoziationsenergie..... 74
- Abbildung 31** Strukturformel des Leucin Enkephalins. Farblich gekennzeichnet sind die 5 Aminosäurebausteine (YGGFL). Die Hauptfragmente der negativ geladenen Peptidketten sind vom b- und y-Typ nach der Nomenklatur von Roepstorff und Fohlman durch Pfeile gekennzeichnet, wobei die Richtung des Pfeils das „geladene“ Fragment angibt.<sup>111</sup> Zusätzlich wurden die möglichen Wasserstoffe für intramolekulare Wasserstoffbrücken in arabischen Zahlen und die Ketongruppen in römischen Zahlen nummeriert. Auf eine Positionierung der Ladung durch Deprotonierung von Position 1 oder 7 wurde an dieser Stelle abgesehen..... 78
- Abbildung 32** Massenspektrum des einfach deprotonierten Leucin Enkephalins bei einer Anregung von 18% (nach internen Einheiten des LTQ Orbitrap Massenspektrometers). Die Fragmente wurden nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis den Stöchiometrien aus Tabelle 5 zugeordnet und die Intensitäten mit dem parent ion Signal normiert. .... 81
- Abbildung 33** Auftragung der Signalintensitäten aus den CID Spektren des deprotonierten Leucin Enkephalins. Die Fragmentintensitäten sind gegen die RF Anregung in der LTQ Ionenfalle der Orbitrap aufgetragen. Dies entspricht indirekt der kinetischen Energie die dem parent ion zugeführt wurde. .... 82
- Abbildung 34** Ergebnis der Ionenmobilitätsmessung für das deprotonierte Leucin Enkephalin Anion. Aufgetragen ist die Ankunftszeitverteilung gegen die Signalintensität des massenselektierten parent ion. Für den Kollisionsquerschnitt konnte mit dieser Methode ein Wert von  $153,5 \text{ \AA}^2$  bestimmt werden. Gemessen wurden das Ionenmobilitäts-Spektrum in einer IMS/PES Kombinationssetup (rechts) mit Helium als Stoßgas Die Apparatur wurde in einer Publikation von Kappes et al. kürzlich vorgestellt. Die schematische Darstellung ist aus dieser Publikation entnommen.<sup>125</sup> ..... 83
- Abbildung 35** Abbildung der Familien der Phenolatstrukturen. Die unterschiedlichen Isomere einer Familie wurden übereinander abgebildet. .... 85
- Abbildung 36** Abbildung der Familien der Carboxylatstrukturen. .... 86
- Abbildung 37** Darstellung des relativen Kollisionsquerschnitts der berechneten Kandidat-Strukturen verglichen mit dem experimentell ermittelten Werten. Diese Werte wurden gegen die zugehörige Energie, aus den DFT Rechnungen (BP86/ def2TVZP und Dispersionskorrektur) aufgetragen, die relativ zur C1 Struktur des Phenolats angegeben ist. Die wichtigsten Strukturen wurden nach Familienzugehörigkeit und Isomeren Nummer beschriftet. .... 89
- Abbildung 38** IRMPD Spektrum des deprotonierten Leucin Enkephalin in action (groß) und in depletion (klein) aufgetragen. Zusätzlich abgebildet ist die online gemessene Laserleistung des IR-OPO-Lasersystems. Das action Spektrum (hellblau) zeigt mehrere charakteristische Banden die für eine detailliertere Betrachtung, durch ein hohes Signal zu Rauschen Verhältnis, auch vergrößert dargestellt werden können (dunkelblau)..... 92
- Abbildung 39** 3-dimensionale Vorder- und Rückansicht der berechneten Strukturen B1 und D1. In der Vorderansicht der B1 Struktur (a) ist die Wechselwirkung der  $N-H^{\delta}$  sowie der benachbarten  $C-H$  Gruppe (rot) mit der ladungstragenden Carboxylatgruppe eingezeichnet. In der Rückansicht (b) ist die charakteristische Wasserstoffbrücke des Phenol-OH zum  $O^{III}$  Atom markiert (blau). Die Darstellung der D1 Struktur zeigt in der Vorderansicht (c) die Wechselwirkung der  $N-H^{\delta}$  Gruppe mit dem ladungstragenden Carboxylat, sowie in der Rückansicht (d) die charakteristische Wasserstoffbrücke des Phenol-OH zu dem  $O^{IV}$  Atom (blau)..... 94



- Abbildung 40** Vergleich des IRMPD Spektrums der Tieftemperaturmessung mit den theoretischen Strukturen der D1 und B1 Struktur. Die Schwingungsspektren wurden mit 0,988 skaliert und die Banden durch eine Gauß-Funktion mit der Halbwertbreite von  $15\text{ cm}^{-1}$  dargestellt. Das Spektrum der B1 Struktur (schwarz) zeigt die intensive C–H Streckschwingung, die auch im Experiment zu beobachten ist. In der D1 Struktur ist diese Bande nur in geringer Intensität vorhanden. .... 95
- Abbildung 41** IR Spektren des deprotonierten Leucin Enkephalins bei drei Temperaturen. Die Spektren bei Raumtemperatur (a) und bei 140 K (b) wurden mit IRMPD Spektroskopie am Karlsruhe Institut für Technologie, die Tieftemperaturmessung (c) wurde mit Prädissoziationsspektroskopie an der Yale University in Kooperation mit Johnson et al. gemessen. Die eingezeichneten Linien zeigen, dass die gemessenen Banden in allen Spektren übereinander liegen. Unterschiedliches Verhalten weisen einzig die Banden bei  $3260\text{ cm}^{-1}$  und  $3340\text{ cm}^{-1}$  deren Entsprechung bei Raumtemperatur ein breiter Absorptionsbereich ist. .... 98
- Abbildung 42** IR Prädissoziationsspektrum (bei 20 K) aus Abbildung 41 mit Vergleich zu den berechneten Strukturen D1 und B1 als Vertreter der jeweiligen Strukturfamilien. Zusätzlich wurde ein Spektrum des Mutterions zwischen  $1200\text{ cm}^{-1}$  und  $1600\text{ cm}^{-1}$  abgebildet, dessen Absorptionen von beiden Strukturen vollständig erklärt werden können. .... 99
- Abbildung 43** Vergleich der IRMPD Spektren im Bereich von  $3100\text{ cm}^{-1}$  bis  $3450\text{ cm}^{-1}$  für drei unterschiedliche Temperaturen. Zur besseren Interpretation wurden die Maxima jeweils mit Gaussfunktionen angefitet. .... 100
- Abbildung 44** Strukturen des neutralen ATP und ADP Moleküls als Produkt und Edukt der Hydrolyse. Die Grundbausteine bestehen aus einem Adeninring mit einer Ribose-Einheit und drei (beziehungsweise zwei) Phosphatgruppen für das ATP (ADP). Die Wasserstoffatome sind in Abhängigkeit des assoziierten Heteroatoms blau (Sauerstoff), grün (Stickstoff) oder rot (Kohlenstoff) hervorgehoben. Die Phosphatgruppen und die Stickstoffatome des Adeninrings sind ebenso wie die Ringatome der Ribosegruppe nach gängiger Nomenklatur benannt.<sup>172</sup> .... 105
- Abbildung 45** Veranschaulichung der repulsiven Coulomb Barriere. Bei der Abspaltung eines zuvor attraktiv gebundenen Elektrons erfährt dieses, nach der Überwindung der Coulombbarriere, eine langreichweitige Abstoßung. .... 106
- Abbildung 46** Massenspektren des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  zusammen mit  $(^{15}\text{N},^{13}\text{C})[\text{ATP-2H}]^{2-}$  mit und ohne Lasereinstrahlung. Die photoinduzierte Dissoziation führt zur Abspaltung jeweils einer  $\text{PO}_3^-$  Einheit ohne Beeinflussung der Isotopenmarkierung. Eine MS/MS Fragmentierung des entstehenden  $[\text{ADP-H}]^-$  führt durch Abspaltung eines neutralen  $\text{H}_3\text{PO}_4$  zu  $[\text{AMP-OH}_3]^-$ . .... 108
- Abbildung 47** Rechte Seite: action Spektren des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (rot),  $(^{15}\text{N})[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (grün) sowie des  $(^{15}\text{N},^{13}\text{C})[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (blau). Linke Seite: Überlagerte Darstellung der Spektren. Die Abweichungen des roten, grünen und blauen Spektrums erlauben eine Zuordnung der Banden zu den C–H, N–H und O–H Streckschwingungen. .... 109
- Abbildung 48** Darstellung des „3-dimensionalen“ Aufbaus der beiden  $\alpha\beta$  deprotonierten Strukturvorschläge mit Benennung der wichtigsten Wasserstoffbrücken und den zugehörigen berechneten Spektren des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$ . 112
- Abbildung 49** Darstellung des „3-dimensionalen Aufbaus“ der  $\alpha\gamma$  und der  $\beta\gamma$  deprotonierten Strukturvorschläge mit Benennung der wichtigsten Wasserstoffbrücken ergänzend zu der Darstellung in Abbildung 48. .... 113
- Abbildung 50** Tieftemperaturspektrum des  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$  (rot). Es sind drei charakteristische Banden bei  $3411\text{ cm}^{-1}$ ,  $3512\text{ cm}^{-1}$  und  $3526\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen. Die Zuordnung der Bande  $3411\text{ cm}^{-1}$  und  $3512\text{ cm}^{-1}$  zu der symmetrischen und asymmetrischen N-H Streckschwingung wird durch die Rotverschiebung der Isotopenmarkierung im  $(^{15}\text{N},^{13}\text{C})[\text{ATP-2H}]^{2-}$  Spektrum (blau) deutlich. .... 115
- Abbildung 51** Strukturformel des zweifach deprotonierten  $[\text{ATP-2H}]^{2-}$ . .... 116

<b>Abbildung 52</b> Vollständiges Fragment-Massenspektrum der ADP-Lösung bei einer Anregung von $3750\text{ cm}^{-1}$ und $3417\text{ cm}^{-1}$ . Während $3750\text{ cm}^{-1}$ oberhalb aller Resonanzen für alle Strukturen liegt, ist aufgrund der quasi-freien $\text{NH}_2$ Gruppe eine Resonanz aller Systeme bei $3417\text{ cm}^{-1}$ zu messen. ....	119
<b>Abbildung 53</b> Ionenmobilitäts-Spektrometrie des $[\text{ADP-H}]^-$ , $(^{15}\text{N})[\text{ADP-H}]^-$ und $(^{13}\text{C},^{15}\text{N})[\text{ADP-H}]^-$ . Abgebildet ist die Matrix der Ankunftszeit und der Molekülmasse gegen die Signalintensität am Detektor. Die Ankunftszeit aller Massen ist unter der Matrix dargestellt, sowie die Ankunftszeitverteilung der ADP-Isotopomere. ....	122
<b>Abbildung 54</b> Spektrum von ADP in action. Zum einen das IRMPD Spektrum des $[\text{AMP-OH}_3]^-$ (schwarz), das $(^{15}\text{N})[\text{AMP-OH}_3]^-$ (rot) und das $(^{13}\text{C},^{15}\text{N})[\text{AMP-OH}_3]^-$ (blau). Die Intensitäten wurden normiert und den charakteristischen Banden römische Ziffern zugeordnet. ....	124
<b>Abbildung 55.</b> Zwischen $3350\text{ cm}^{-1}$ und $3750\text{ cm}^{-1}$ vergrößertes IRMPD Spektren von $[\text{ADP-H}]^-$ und den isotopenmarkierten Äquivalenten ausgewertet in action durch $[\text{AMP-OH}_3]^-$ (schwarz), $(^{15}\text{N})[\text{AMP-OH}_3]^-$ (rot) und $(^{13}\text{C},^{15}\text{N})[\text{AMP-OH}_3]^-$ (blau) (siehe auch Abbildung 54). ....	125
<b>Abbildung 56</b> Die vier Startstrukturen für die molekulardynamischen Simulationen des $[\text{ADP-H}]^-$ mit unterschiedlicher Lokalisierung der negativen Ladung. ....	128
<b>Abbildung 57</b> DFTB3/3OB Energien der 50 energetisch günstigsten Strukturen der B1-, B2-, A- und C-Familien des $[\text{ADP-H}]^-$ nach der Geometrieoptimierung. Die Energiedifferenz wurde in Elektronenvolt (eV) aufgetragen. ....	130
<b>Abbildung 58</b> Vergleich des experimentellen Spektrums des $[\text{ADP-H}]^-$ mit berechneten Spektren aus den DFT Rechnungen mit BP86/def2-TZVPP. ....	132
<b>Abbildung 59</b> Vertreter der drei Isomerfamilien mit $\beta$ Deprotonierung. ....	134
<b>Abbildung 60</b> Verlauf der DFT Geometrieoptimierung mit BP86/def2-TZVPP. ....	136
<b>Abbildung 61</b> Strukturformel des einfach deprotonierten $[\text{ADP-H}]^-$ . ....	137
<b>Abbildung 62</b> Möglicher Fragmentationsmechanismus nach den Ergebnissen von Burke et al. <sup>174</sup> für das $[\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_{10}]^{2-}$ . ....	140
<b>Abbildung 63</b> Vergleich der elektronischen Photodissoziation mit einer Photonenenergie im UV/Vis Bereich mit der Photodissoziation durch IRMPD nach Schinke. <sup>11</sup> Die Nomenklatur der Zustände erfolgt nach der in Abschnitt 3.1 eingeführten Gleichung (3.4). ....	142
<b>Abbildung 64</b> Schematische Darstellung indirekter Photodissoziationsprozesse. a) Bei der elektro-nischen Prädissoziation geht das Molekül strahlungslos (radiationless transition, rt), von einem bindenden in einen repulsiven, elektronisch angeregten Zustand über. b) Beim unimolekularen Zerfall erfolgt der strahlungslose Übergang (rt) in einen angeregten Schwingungszustand des elektronischen Grundzustands, der eine innere Energie oberhalb der Dissoziationsenergie besitzt. <sup>11</sup> ....	145
<b>Abbildung 65</b> Schematische Darstellung alternativer Photodissoziationsprozesse aus metastabilen elektronisch angeregten Zuständen. a) Bei der Prädissoziation eines schwach gebunden Moleküls geht die Energie des elektronisch angeregten Zustands in die Schwingungsmode und führt zur Dissoziation. b) Beim Tunnelprozess, wird die Eigenschaft ausgenutzt, dass ein Elektron eine endliche Barrierenbreite und -höhe mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit durchdringen kann. Die Wahrscheinlichkeit wird durch die elektronische Anregung in einen metastabilen Zustand erhöht. <sup>11</sup> ....	147
<b>Abbildung 66</b> Grundstruktur des Porphyrin-Ringsystems. Zur Substitution können einerseits die Wasserstoffe an den vier 5-Ringsystemen ausgetauscht (Position 1-8) oder funktionelle Gruppen in meso Position ( $\alpha$ - $\delta$ ) eingeführt werden. Im Zentrum des makrozyklischen Rings sind in der so genannten freien Porphyrinbase zwei der vier Stickstoffatome an Wasserstoffatomen gebunden. Im Falle einer Komplexbildung werden die zentralen Wasserstoffatome gegen zweifach- oder dreifach-positiv geladene Metallatome ausgetauscht. ....	149

<b>Abbildung 67</b> Mesomere Grenzstrukturen des untersuchten meso-tetrakis(4-sulfonatophenyl) Metalloporphyrin. Die Gesamtladung der vierfach deprotonierten Spezies wird durch die Oxidationsstufe des Zentralatoms dominiert. ....	150
<b>Abbildung 68</b> Gouterman-Modell zur Beschreibung der Absorptionsspektren der Metalloporphyrin-Systeme. Die Abbildung zum Vier-Orbital-Ansatz, resultierend aus einem 16-Zentren-18-Elektronen System und wurde aus der Publikation von Gouterman (1961) entnommen. <sup>251</sup> Für die Beschreibung der freien Porphyrinbase wurde ein 18-Zentren-18-Elektronenmodell postuliert, das die Symmetrie in x- und y-Richtung aufhebt. ....	152
<b>Abbildung 69</b> schematische Darstellung eines Metalloporphyrins mit planarer und SAT Anordnung des zentralen Metallatoms.....	153
<b>Abbildung 70</b> Massenspektrum des Metalloporphyrins mit den dominanten Intensitäten des $Mn^{III}[Proph-4H]^{3-}$ und $Mn^{II}[Proph-4H]^{4-}$ nach der Reaktion mit Sauerstoff. Durch Anlagerung von $O_2$ an das Mutterion wurde $Mn^{II}[Proph-4H] + O_2^{4-}$ gebildet. Für das $Mn^{III}[Proph-4H]^{3-}$ konnte keine Sauerstoffanlagerung beobachtet werden. ....	156
<b>Abbildung 71</b> normierter Anteil nicht dissoziierter Ionen $II_0$ des $[Fe^{II}Porph-4H]^{4-}$ und die verwendeten Fit-Funktionen nach der Gleichung (4.10). ....	159
<b>Abbildung 72</b> normierter Anteil nicht dissoziierter Ionen $II_0$ des $[H_2Porph-4H]^{4-}$ und die verwendeten Fit-Funktionen nach der Gleichung (4.10). ....	160
<b>Abbildung 73</b> Abhängigkeit der Fragmentation und des Elektronenverlusts von der Photonendichte. Die Fit-Funktionen wurden für einen Ein-Photonenprozess durchgeführt und mit den Fitfunktionen von Mehr-Photonenprozessen verglichen. Die Linien wurden durch eine Poisson Verteilung nach Gleichung (4.12) an die einzelnen Datensätze angepasst. ....	163
<b>Abbildung 74</b> Die Grafik zeigt die jeweils besten Fit Funktionen für einen Ein-Photonenprozess für die unterschiedlichen Fragmente des $H_2[Porph-4H]^{4-}$ . ....	164
<b>Abbildung 75</b> vereinfachte Darstellung der elektronischen Übergänge in der freien Porphyrinbase und den Metalloporphyrinsystemen, nach den Rechnungen von Horvath, Valicsek und Lendvay. <sup>262</sup> Die Rechnungen basieren auf dem 4 Molekülorbital-Ansatz von Gouterman. <sup>251</sup> ....	167
<b>Abbildung 76</b> UV/Vis Photofragment-Spektrum der freien Porphyrinbase $H_2[Porph-4H]^{4-}$ . Zur Auswertung wurden die Fragmentintensitäten des Verlusts von $SO_2^-$ , $SO_3^-$ und die Intensität des Elektronenverlustkanals addiert und mit der Intensität des nicht dissoziierten Mutterions normiert. Die Maxima wurden mittels Gaußfunktion ausgewertet und die Parameter in Tabelle 23 aufgelistet.....	169
<b>Abbildung 77</b> UV/Vis Spektrum des vierfach deprotonierten $Fe^{II}[Porph-4H]^{4-}$ . Zur Auswertung wurde die Summe der Fragmentintensitäten mit der Intensität des Mutterions normiert. Zur Bestimmung der aufgelösten Soretbande und der Q-Bande wurden zwei Spektren mit unterschiedlicher Laserleistung aufgenommen. Die Parameter und Maxima der Fit-Funktionen sind in Tabelle 24 aufgeführt.....	171
<b>Abbildung 78</b> UV/Vis Spektrum des vierfach deprotonierten $Mn^{II}[Porph-4H]^{4-}$ . Zur Auswertung wurden die Fragmentintensitäten von einem $SO_2^-$ Verlust mit der Intensität des parent ion normiert. Alternativ wurde das Spektrum gegen die Schuss zu Schuss Referenz des Fragmentkanals normiert, das bei Intensitätsschwankungen des Mutterions ein besseres Signal-zu-Rauschen-Verhältnis birgt. Die Lage der Bande ist durch die Art der Normierung nicht beeinträchtigt. ....	173
<b>Abbildung 79</b> UV/Vis Spektrum des vierfach deprotonierten $Fe^{III}[Porph-4H]^{3-}$ . Zur Auswertung wurden die Summe der Fragmentintensitäten des neutralen $SO_2$ und $SO_3$ Verlust mit der Intensität des Mutterions normiert. ....	175
<b>Abbildung 80</b> UV/Vis Spektrum des vierfach deprotonierten $Mn^{III}[Porph-4H]^{3-}$ . Die Auswertung wurde analog zum $Fe^{III}[Porph-4H]^{3-}$ durchgeführt.....	176

<b>Abbildung 81</b> Absorptionsspektren des $H_2[TPPS]$ , des $Fe^{II}[TPPS]$ und des $Fe^{III}[TPPS]$ gemessen in wässriger Lösung, entnommen aus der Publikation von Huszank und Horvath. <sup>273</sup> .....	178
<b>Abbildung 82</b> Messzyklus zur UV/Vis Spektroskopie. Nach der Anlagerung von Sauerstoff (1) wird in einem Isolationsschritt (2) das gespeicherte Mutterion ohne Sauerstoffaddukt aus der Falle entfernt. Anschließend werden für eine Messung mit Laserleistung die verbleibenden Ionen bestrahlt (3) und ein Massenspektrum (4) von den in der Falle verbliebenen Ionen aufgenommen.....	182
<b>Abbildung 83</b> Abgebildet sind zwei Massenspektren (oben) für die Anlagerung von Sauerstoff an das Mutterion mit (schwarz) und ohne (rot) eine „resonante“ Lasereinstrahlung. Durch Sauerstoffanlagerung wird das ursprüngliche Mutterion in ein $O_2$ -Addukt überführt und anschließend isoliert. Im schwarzen Spektrum (unten) wurde durch Photoneneinstrahlung das Sauerstoffmolekül neutral abgetrennt und das entstehende, ursprüngliche Mutterion gespeichert und detektiert. Als Beispiel sind hier zwei Massenspektren des Mangan-Porphyrinsystems mit und ohne Lasereinstrahlung, bei einer Anregungswellenlänge des UV/Vis Lasers im Bereich der Soretbande, abgebildet.....	184
<b>Abbildung 84</b> Darstellung des action Photodissoziations-Spektrums (schwarz) und des depletion Spektrums (rot) des Eisenporphyrin mit Sauerstoffanlagerung aufgetragen gegen die Wellenlänge des Photons zur Anregung. Schattiert ist die jeweilige Schuss-zu-Schuss Referenz aufgetragen. ....	185
<b>Abbildung 85</b> UV/Vis Spektrum von $Fe^{II}[Porph-4H]^{4-} + O_2$ ausgewertet nach den Gleichungen (4.14) (schwarz) und (4.15) (rot). Drei Banden wurden durch Fit-Funktionen mit einem Gauß-Fit versehen und die Maxima in Tabelle 31 aufgeführt.....	187
<b>Abbildung 86</b> UV/Vis Spektrums von $Mn^{II}[Porph-4H]^{4-} + O_2$ ausgewertet nach den Gleichungen (4.14) und (4.15). Sechs Banden wurden durch Gauß-Funktionen angepasst und die Maxima in Tabelle 32 aufgeführt. ....	189
<b>Abbildung 87</b> UV/Vis Spektren der in dieser Arbeit gemessenen Metalloporphyrinsysteme. Auf der linken Seite sind die Spektren des $Mn^{II}[Porph-4H]^{4-} + O_2$ , des $Mn^{II}[Porph-4H]^{4-}$ und des $Mn^{III}[Porph-4H]^{3-}$ (von oben nach unten), auf der rechten Seite die Spektren des $Fe^{II}[Porph-4H]^{4-} + O_2$ , des $Fe^{II}[Porph-4H]^{4-}$ und des $Fe^{III}[Porph-4H]^{3-}$ (von oben nach unten) abgebildet. Der direkte Vergleich zeigt eine Ähnlichkeit der $M^{II}[Porph-4H]^{4-} + O_2$ Spektren zu den $M^{III}[Porph-4H]^{3-}$ . Besonders die deutliche Verschiebung der Q Bande im Eisenporphyrin und die breite charakteristische Struktur der Soretbande im Manganporphyrin belegen diese Ähnlichkeit. ....	191
<b>Abbildung 88</b> Darstellung der Bildung eines Superoxokomplexes für das Eisenporphyrin durch einen Elektronenübergang mit gleichzeitiger Oxidation des Zentralatoms. Dies ist durch Abgabe des Elektrons an den Sauerstoff und anschließender Bildung eines Singulett-Systems möglich, wie es von Rovira et al. postuliert wurde. <sup>2</sup> Die Reversibilität dieses Prozesses wird dadurch nicht beeinträchtigt.....	194
<b>Abbildung 89</b> IRMPD Spektrum des deprotonierten Leucin Enkephalin in action (groß aufgetragen). Die rote Kurve zeigt das skalierte, berechnete Spektrum der energetisch günstigsten Phenolatstruktur. ....	218
<b>Abbildung 90</b> IRMPD Spektrum des $[ATP-2H]^{2-}$ bei Raumtemperatur. Ein Vergleich mit dem Tieftemperaturspektrum zeigt identische Banden und Verschiebungen für die isotopenmarkierte Spezies.....	221
<b>Abbildung 91</b> UV/Vis Spektrum des $Mn^{III}[Porph-4H]^{4-}$ (blau) mit der zugehörigen Laserleistung des UV/Vis-OPO-Lasersystems (schwarz).....	222
<b>Abbildung 92</b> UV/Vis Spektrum des $Mn^{II}[Porph-4H]^{4-}$ (blau) mit der zugehörigen ALserleistung des UV/Vis-OPO-Lasersystems (schwarz) .....	223



## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Typische eingestellte Spannungen im Messbetrieb im negativen Modus .....	41
Tabelle 2: Angelegte Spannungen für die Simulation der Ionentrajektorien von Kationen ( $m/z = 500$ ) für einen im positiven Modus betriebenen Hexapol.....	46
Tabelle 3: angelegte Spannungen für die Messung in Abbildung 20 .....	51
Tabelle 4: Spezifikation des OPO Panther Lasersystems. <sup>92</sup> .....	59
Tabelle 5: Experimentelle und berechnete $m/z$ Werte des monoisotopen einfach deprotonierten Leucin Enkephalins $[YGGFL-H]^-$ und den zugehörigen Fragmenten.....	80
Tabelle 6: Energien der Phenolatstrukturen sortiert nach der Energie der dispersionskorrigierten Rechnungen (BP86+D). .....	86
Tabelle 7: Energien der Carboxylatstrukturen sortiert nach der Energie der dispersionskorrigierten Rechnungen (BP86+D). .....	87
Tabelle 8: Abstände zwischen den Bindungspartnern der zwei, für das Leucin-Enkephalin charakteristischen Wasserstoffbrücken für die energetisch günstigsten Carboxylstrukturen.....	96
Tabelle 9: Experimentelle und berechnete $m/z$ Verhältnisse der Signale im Massenspektrum der Probelösung, bestehend aus den Natriumsalzlösungen von ADP, ( $^{15}N$ )-ATP und ( $^{13}C^{15}N$ )-ATP gesprüht aus Wasser/Methanol (1/2) im negativen Messmodus. ....	121
Tabelle 10: Vergleich der IRMPD Spektren des einfach deprotonierten ADP.....	124
Tabelle 11: Energien der DFT berechneten Strukturen für $[ADP-H]^-$ sortiert nach der Gesamtenergie (BP86/def2-TZVPP). Die Strukturen mit einer Adeninring Deprotonierung aus Startstruktur sind mit einem (c) markiert....	131
Tabelle 12: Auflistung der Schwingungsfrequenzen (scaling factor: 0,98) für die Struktur $\beta-45$ , $\beta-27$ und $\beta-34$ , Deprotonierung und die jeweilige Zuordnung der Moden.....	135
Tabelle 13: Ionenradien der Eisen und Manganatome in pm in Abhängigkeit von dem Ladungszustand und der Spinmultiplizität <sup>260</sup> .....	154
Tabelle 14: Auflistung der in dieser Arbeit untersuchten Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse der Metalloporphyrinsysteme im negativen Gasphasenspektrum mit zugehöriger Strukturformel.....	156
Tabelle 15: Homogenität des Laserstrahls .....	158
Tabelle 16: Vergleich der Parameter aus den angepassten Fit-Funktionen für das $[Fe^II\text{Porph-4H}]^{4-}$ .....	160
Tabelle 17: Vergleich der Parameter aus den angepassten Fit-Funktionen für das $[H_2\text{Porph-4H}]^{4-}$ .....	161
Tabelle 18: Hauptfragmente der vierfach deprotonierten freien Porphyrinbase.....	162
Tabelle 19: Parameter der angepassten Fit-Funktionen für Ein- und Mehr-Photonenprozesse an die experimentellen Daten des $[H_2\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$ .....	163
Tabelle 20: Parameter der angepassten Fit-Funktionen für einen Ein-Photonenprozess an die experimentellen Daten der Fragmente $[H_2\text{Porph-4H-SO}_2]^{3-}$ , $[H_2\text{Porph-4H-SO}_3]^{3-}$ und $[H_2\text{Porph-4H}]^{3-}$ .....	165
Tabelle 21: Parameter der angepassten uneingeschränkten Fit-Funktionen des Ein-Photonenprozesses an die experimentellen Daten in action und depletion.....	165
Tabelle 22: Zuordnung der Fragmentationskanäle für die freie Porphyrinbase und die Metalloporphyrine aufgrund von monoisotopischen Simulationen. ....	168
Tabelle 23: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des action Spektrums aus Abbildung 76 für das $H_2[\text{Porph-4H}]^{4-}$ .....	170
Tabelle 24: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des action Photodissoziationsspektrums aus Abbildung 77 für das $Fe^II[\text{Porph-4H}]^{4-}$ .....	172

Tabelle 25: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des action Spektrums aus Abbildung 78 für das $Mn^{II}[Porph-4H]^{4-}$ .....	173
Tabelle 26: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des action Spektrums aus Abbildung 78 für das $Fe^{III}[Porph-4H]^{3-}$ .....	175
Tabelle 27: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des action Spektrums aus Abbildung 78 für das $Mn^{III}[Porph-4H]^{3-}$ .....	177
Tabelle 28: Vergleich der Absorptionsmaxima der Eisenporphyrine und der freien Porphyrinbase mit Literaturwerten erhalten aus wässriger Lösung. <sup>262, 273, 274</sup> .....	178
Tabelle 29: Vergleich der Absorptionsmaxima der Manganporphyrine mit Literaturwerten erhalten aus wässriger Lösung <sup>275</sup> .....	179
Tabelle 30: Aufgelistete Absorptionsmaxima der vierfach deprotonierten Metallo <sup>II</sup> -Porphyrine, der vierfach deprotonierten Metallo <sup>III</sup> -Porphyrine und der vierfach deprotonierten freien Porphyrinbase mit Zuordnung zum jeweiligen elektronischen Übergang.....	180
Tabelle 31: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des action Spektrums aus Abbildung 78 für das $Fe^{II}[Porph-4H]^{4-} + O_2$ .....	187
Tabelle 32: Vergleich der Parameter aus den Fit-Funktionen für die Banden des action Spektrums aus Abbildung 78 für das $Mn^{II}[Porph-4H]^{4-} + O_2$ .....	189
Tabelle 33: Absorptionsmaximatabelle (siehe Tabelle 30) ergänzt durch die vierfach deprotonierten Metallo <sup>II</sup> -Porphyrine mit Sauerstoffaddukt.....	192
Tabelle 34: Ergebniss der quantenmechanischen Rechnungen (B3LYP/TZVPP ) für das zweifach deprotonierte $[ATP-2H]^{2-}$ . Die Schwingungsfrequenzen für die zwei energetisch günstigsten Strukturen mit der Deprotonierung $\alpha\beta_1/\alpha\beta_2$ sind aufgeführt und den jeweiligen Wasserstoffen zugeordnet. Alle Frequenzen wurden mit dem scaling factor 0,956 korrigiert.....	219
Tabelle 35: Auflistung der Schwingungsfrequenzen (scaling factor: 0,956) für die energetisch günstigsten Struktur mit der Deprotonierung $\alpha\gamma$ und die jeweilige Zuordnung der Moden.....	219
Tabelle 36: Auflistung der Schwingungsfrequenzen (scaling factor: 0,956) für die energetisch günstigsten Struktur mit der Deprotonierung $\beta\gamma$ und die jeweilige Zuordnung der Moden.....	220

## Literaturverzeichnis

1. C. Puzzarini, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2013, **15**, 6595-6607.
2. C. Rovira, K. Kunc, J. Hutter, P. Ballone and M. Parrinello, *J Phys Chem A*, 1997, **101**, 8914-8925.
3. M. Thomas, M. Brehm, R. Fligg, P. Vohringer and B. Kirchner, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2013, **15**, 6608-6622.
4. D. T. Moore, J. Oomens, L. van der Meer, G. von Helden, G. Meijer, J. Valle, A. G. Marshall and J. R. Eyler, *ChemPhysChem*, 2004, **5**, 740-743.
5. H. Schneider, K. M. Vogelhuber, F. Schinle, J. F. Stanton and J. M. Weber, *J Phys Chem A*, 2008, **112**, 7498-7506.
6. O. V. Boyarkin, M. A. Koshelev, O. Aseev, P. Maksyutenko, T. R. Rizzo, N. F. Zobov, L. Lodi, J. Tennyson and O. L. Polyansky, *Chemical Physics Letters*, 2013, **568-569**, 14-20.
7. J. R. Eyler, *Mass Spectrometry Reviews*, 2009, **28**, 448-467.
8. N. C. Polfer, *Chemical Society Reviews*, 2011, **40**, 2211-2221.
9. R. C. Dunbar, *Journal of the American Chemical Society*, 1971, **93**, 4354-4358.
10. W. Bosenberg, D. Guyer, D. D. Lowenthal and S. E. Moody, *Laser Focus World*, 1992, **28**, 165-170.
11. R. Schinke, *Photodissociation dynamics : spectroscopy and fragmentation of small polyatomic molecules*, Cambridge University Press, Cambridge England ; New York, 1993.
12. A. Svendsen, U. J. Lorenz, O. V. Boyarkin and T. R. Rizzo, *Review of Scientific Instruments*, 2010, **81**, 073107.
13. N. S. Nagornova, T. R. Rizzo and O. V. Boyarkin, *Angewandte Chemie International Edition*, 2013, **52**, 6002-6005.
14. M. Weiler, K. Bartl and M. Gerhards, *J. Chem. Phys.*, 2012, **136**.
15. Neumaier, M., Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 2007.
16. Karpuschkin T., Dissertation, Karlsruhe Institut für Technologie, 2013.
17. F. Schinle, P. E. Crider, M. Vonderach, P. Weis, O. Hampe and M. M. Kappes, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2013, **15**, 6640-6650.
18. A. G. Marshall, C. L. Hendrickson and G. S. Jackson, *Mass Spectrometry Reviews*, 1998, **17**, 1-35.
19. F. M. Penning, *Physica*, 1936, **3**, 873-894.
20. H. G. Dehmelt, Nobelprize.org.
21. H. Dehmelt and P. Toschek, *B Am Phys Soc*, 1975, **20**, 61-61.
22. J. W. Cooley and J. W. Tukey, *Math Comput*, 1965, **19**, 297-&.



23. M. B. Comisarow and A. G. Marshall, *Chemical Physics Letters*, 1974, **25**, 282-283.
24. S. Guan and A. G. Marshall, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1995, **146–147**, 261-296.
25. O. Hampe, T. Karpuschkin, M. Vonderach, P. Weis, Y. Yu, L. Gan, W. Klopper and M. M. Kappes, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2011, **13**, 9818-9823.
26. M. N. Blom, O. Hampe, S. Gilb, P. Weis and M. M. Kappes, *The Journal of Chemical Physics*, 2001, **115**, 3690-3697.
27. J. Hartig, M. N. Blom, O. Hampe and M. M. Kappes, *International Journal of Mass Spectrometry*, 2003, **229**, 93-98.
28. M. Neumaier, O. Hampe and M. M. Kappes, *The Journal of Chemical Physics*, 2005, **123**, 074318.
29. P. Kofel, M. Allemann, H. Kellerhals and K. P. Wanczek, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1986, **74**, 1-12.
30. S. Guan and A. G. Marshall, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1996, **157–158**, 5-37.
31. P. B. Grosshans and A. G. Marshall, *Analytical Chemistry*, 1991, **63**, 2057-2061.
32. T. M. Schaub, C. L. Hendrickson, S. Horning, J. P. Quinn, M. W. Senko and A. G. Marshall, *Analytical Chemistry*, 2008, **80**, 3985-3990.
33. A. G. Marshall, C. L. Hendrickson, M. R. Emmett, R. P. Rodgers, G. T. Blakney and C. L. Nilsson, *Eur J Mass Spectrom (Chichester, Eng)*, 2007, **13**, 57-59.
34. L. Schweikhard and A. G. Marshall, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 1993, **4**, 433-452.
35. Y. Kostyukevich, G. Vladimirov and E. Nikolaev, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2012, **23**, 2198-2207.
36. Y. Qi, M. Witt, R. Jertz, G. Baykut, M. P. Barrow, E. N. Nikolaev and P. B. O'Connor, *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2012, **26**, 2021-2026.
37. X. Guo, M. Duursma, A. Al-Khalili, L. A. McDonnell and R. M. A. Heeren, *International Journal of Mass Spectrometry*, 2004, **231**, 37-45.
38. N. K. Kaiser, A. M. McKenna, J. J. Savory, C. L. Hendrickson and A. G. Marshall, *Analytical Chemistry*, 2013, **85**, 265-272.
39. *United States Pat.*, 7368711 2006.
40. P. ceramics, *Shapal Hi-M Soft™*, <http://www.precision-ceramics.co.uk/shapal.htm>, Accessed 0416, 2013.
41. A. G. Wren, P. Gilbert and M. T. Bowers, *Review of Scientific Instruments*, 1978, **49**, 531-536.
42. R. L. Wong, K. Paech and E. R. Williams, *International Journal of Mass Spectrometry*, 2004, **232**, 59-66.
43. H. Kampschulte, Dissertation, Technischen Universität Kaiserslautern, 2011.
44. P. Caravatti and M. Allemann, *Organic Mass Spectrometry*, 1991, **26**, 514-518.
45. H. L. Sievers, H.-F. Grützmacher and P. Caravatti, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1996, **157–158**, 233-247.

46. E. N. Nikolaev, R. M. A. Heeren, A. M. Popov, A. V. Pozdnev and K. S. Chingin, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, **21**, 3527-3546.
47. S. Chapman, *Physical Review*, 1937, **52**, 184-190.
48. M. Dole, L. L. Mack, R. L. Hines, R. C. Mobley, L. D. Ferguson and M. B. Alice, *The Journal of Chemical Physics*, 1968, **49**, 2240-2249.
49. M. Yamashita and J. B. Fenn, *The Journal of Physical Chemistry*, 1984, **88**, 4451-4459.
50. M. L. Alexandrov, L. N. Gall, N. V. Krasnov, V. I. Nikolaev, V. A. Pavlenko and V. A. Shkurov, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, **22**, 267-270.
51. M. S. Wilm and M. Mann, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1994, **136**, 167-180.
52. R. D. Smith, J. A. Loo, R. R. O. Loo, M. Busman and H. R. Udseth, *Mass Spectrometry Reviews*, 1991, **10**, 359-451.
53. J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong and C. M. Whitehouse, *Mass Spectrometry Reviews*, 1990, **9**, 37-70.
54. R. D. Smith, J. A. Loo, C. G. Edmonds, C. J. Barinaga and H. R. Udseth, *Analytical Chemistry*, 1990, **62**, 882-899.
55. P. Kebarle and L. Tang, *Analytical Chemistry*, 1993, **65**, 972A-986A.
56. S. J. Gaskell, *Journal of Mass Spectrometry*, 1997, **32**, 677-688.
57. S. A. McLuckey and G. Vaidyanathan, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1997, **162**, 1-16.
58. G. Taylor, *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 1964, **280**, 383-397.
59. L. B. Loeb, A. F. Kip, G. G. Hudson and W. H. Bennett, *Physical Review*, 1941, **60**, 714-722.
60. A. Gomez and K. Tang, *Physics of Fluids*, 1994, **6**, 404-414.
61. Rayleigh, *Philosophical Magazine Series 5*, 1882, **14**, 184-186.
62. D. Duft, T. Achtzehn, R. Muller, B. A. Huber and T. Leisner, *Nature*, 2003, **421**, 128-128.
63. R. B. Cole, *Electrospray ionization mass spectrometry : fundamentals, instrumentation, and applications*, Wiley, New York, 1997.
64. J. V. Iribarne and B. A. Thomson, *The Journal of Chemical Physics*, 1976, **64**, 2287-2294.
65. B. A. Thomson and J. V. Iribarne, *The Journal of Chemical Physics*, 1979, **71**, 4451-4463.
66. M. Emmett and R. Caprioli, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 1994, **5**, 605-613.
67. M. Wilm and M. Mann, *Analytical Chemistry*, 1996, **68**, 1-8.
68. R. Juraschek, T. Dülcks and M. Karas, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 1999, **10**, 300-308.

69. K. Tang, A. V. Tolmachev, E. Nikolaev, R. Zhang, M. E. Belov, H. R. Udseth and R. D. Smith, *Analytical Chemistry*, 2002, **74**, 5431-5437.
70. S. A. Shaffer, K. Tang, G. A. Anderson, D. C. Prior, H. R. Udseth and R. D. Smith, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1997, **11**, 1813-1817.
71. M. W. Senko, C. L. Hendrickson, L. Paša-Tolić, J. A. Marto, F. M. White, S. Guan and A. G. Marshall, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1996, **10**, 1824-1828.
72. M. Senko, C. Hendrickson, M. Emmett, S. H. Shi and A. Marshall, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 1997, **8**, 970-976.
73. K. Sannes-Lowery, R. H. Griffey, G. H. Kruppa, J. P. Speir and S. A. Hofstadler, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1998, **12**, 1957-1961.
74. M. T. Rodgers, S. Campbell, E. M. Marzluff and J. L. Beauchamp, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1994, **137**, 121-149.
75. R. D. Voyksner and H. Lee, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1999, **13**, 1427-1437.
76. M. E. Belov, E. N. Nikolaev, G. A. Anderson, H. R. Udseth, T. P. Conrads, T. D. Veenstra, C. D. Masselon, M. V. Gorshkov and R. D. Smith, *Analytical Chemistry*, 2000, **73**, 253-261.
77. B. E. Wilcox, C. L. Hendrickson and A. G. Marshall, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2002, **13**, 1304-1312.
78. G. Javahery and B. Thomson, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 1997, **8**, 697-702.
79. A. V. Tolmachev, H. R. Udseth and R. D. Smith, *Analytical Chemistry*, 2000, **72**, 970-978.
80. D. Gerlich, in *Advances in Chemical Physics*, John Wiley & Sons, Inc., 2007, pp. 1-176.
81. Simion, *collision model hs1*, [http://simion.com/info/collision\\_model\\_hs1.html](http://simion.com/info/collision_model_hs1.html).
82. P. A. Franken, G. Weinreich, C. W. Peters and A. E. Hill, *Physical Review Letters*, 1961, **7**, 118-&.
83. W. R. Bosenberg and D. R. Guyer, *Appl Phys Lett*, 1992, **61**, 387-389.
84. J. Giordmai and R. C. Miller, *Physical Review Letters*, 1965, **14**, 973-&.
85. J. A. Giordmaine and R. C. Miller, *Physical Review Letters*, 1965, **14**, 973-976.
86. M. Bass, *Handbook of Optics Volume IV: Fiber Optics and Nonlinear Optics*, 2nd edn., McGraw-Hill, New York, 2001.
87. W. R. Bosenberg and D. R. Guyer, *J Opt Soc Am B*, 1993, **10**, 1716-1722.
88. C. I. Miyake, F. Braun and D. L. Guyer, *Osa Proc*, 1992, **13**, 350-352.
89. D. Guyer, *Laser Vision - OPO/OPA Systems*, <http://www.deanguyer.com/index.html>, Accessed 070513, 2013.
90. F. Schinle, Diplomarbeit, Universität Karlsruhe (TH), 2009.
91. Continuum, <http://www.continuumlasers.com>, Santa Clara Cl.
92. Continuum, <http://www.continuumlasers.com>, Santa Clara p. 3.

93. J. A. Stearns, S. Mercier, C. Seaiby, M. Guidi, O. V. Boyarkin and T. R. Rizzo, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, **129**, 11814-11820.
94. T. R. Rizzo, J. A. Stearns and O. V. Boyarkin, *International Reviews in Physical Chemistry*, 2009, **28**, 481-515.
95. R. L. Woodin, D. S. Bomse and J. L. Beauchamp, *Journal of the American Chemical Society*, 1978, **100**, 3248-3250.
96. L. I. Yeh, M. Okumura, J. D. Myers, J. M. Price and Y. T. Lee, *The Journal of Chemical Physics*, 1989, **91**, 7319-7330.
97. N. C. Polfer and J. Oomens, *Mass Spectrometry Reviews*, 2009, **28**, 468-494.
98. D. A. McQuarrie and J. D. Simon, *Physical chemistry : a molecular approach*, University Science Books, Sausalito, Calif., 1997.
99. E. R. Grant, P. A. Schulz, A. S. Sudbo, Y. R. Shen and Y. T. Lee, *Physical Review Letters*, 1978, **40**, 115-118.
100. D. W. Lupo and M. Quack, *Chemical Reviews*, 1987, **87**, 181-216.
101. L. I. Yeh, J. M. Price and Y. T. Lee, *Journal of the American Chemical Society*, 1989, **111**, 5597-5604.
102. D. M. Peiris, M. A. Cheeseman, R. Ramanathan and J. R. Eyler, *The Journal of Physical Chemistry*, 1993, **97**, 7839-7843.
103. J. Oomens, G. Meijer and G. von Helden, *J Phys Chem A*, 2001, **105**, 8302-8309.
104. J. Oomens, A. J. A. van Rooij, G. Meijer and G. von Helden, *Astrophys J*, 2000, **542**, 404-410.
105. A. Beil, D. Luckhaus, M. Quack and J. Stohner, *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, 1997, **101**, 311-328.
106. N. C. Polfer, *Chemical Society Reviews*, 2011.
107. R. C. Dunbar and T. B. McMahon, *Science*, 1998, **279**, 194-197.
108. J. Oomens, J. D. Steill and B. Redlich, *Journal of the American Chemical Society*, 2009, **131**, 4310-4319.
109. Z. Tian and S. R. Kass, *Journal of the American Chemical Society*, 2008, **130**, 10842-10843.
110. D. Schröder, M. Buděšínský and J. Roithová, *Journal of the American Chemical Society*, 2012, **134**, 15897-15905.
111. P. Roepstorff and J. Fohlman, *Biological Mass Spectrometry*, 1984, **11**, 601-601.
112. M. Z. Kamrath, E. Garand, P. A. Jordan, C. M. Leavitt, A. B. Wolk, M. J. Van Stipdonk, S. J. Miller and M. A. Johnson, *Journal of the American Chemical Society*, 2011, **133**, 6440-6448.
113. M. Z. Kamrath, R. A. Relph, T. L. Guasco, C. M. Leavitt and M. A. Johnson, *International Journal of Mass Spectrometry*, 2011, **300**, 91-98.
114. J. Grzetic and J. Oomens, *International Journal of Mass Spectrometry*, 2012, **316**, 216-226.
115. N. C. Polfer, J. Oomens, S. Suhai and B. Paizs, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, **129**, 5887-5897.

- 
116. T. Wassermann, O. Boyarkin, B. Paizs and T. Rizzo, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2012, **23**, 1029-1045.
  117. X. Chen, J. D. Steill, J. Oomens and N. C. Polfer, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2010, **21**, 1313-1321.
  118. J. Sztáray, A. Memboeuf, L. Drahos and K. Vékey, *Mass Spectrometry Reviews*, 2011, **30**, 298-320.
  119. M. Barber, R. S. Bordoli, G. V. Garner, D. B. Gordon, R. D. Sedgwick, L. W. Tetler and A. N. Tyler, *Biochem J*, 1981, **197**, 401-404.
  120. I. Katakuse and D. M. Desiderio, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1983, **54**, 1-15.
  121. E. P. L. Hunter and S. G. Lias, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 1998, **27**, 413-656.
  122. D. E. Clemmer, R. R. Hudgins and M. F. Jarrold, *Journal of the American Chemical Society*, 1995, **117**, 10141-10142.
  123. C. S. Hoaglund, S. J. Valentine, C. R. Sporleder, J. P. Reilly and D. E. Clemmer, *Analytical Chemistry*, 1998, **70**, 2236-2242.
  124. V. M., Dissertation Karlsruhe Institut für Technologie (KIT), 2012.
  125. M. Vonderach, O. T. Ehrler, P. Weis and M. M. Kappes, *Analytical Chemistry*, 2011, **83**, 1108-1115.
  126. M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy and J. J. P. Stewart, *Journal of the American Chemical Society*, 1985, **107**, 3902-3909.
  127. J. P. Stewart, *J Mol Model*, 2007, **13**, 1173-1213.
  128. J. J. P. Stewart, *MOPAC : a semiempirical molecular orbital program*, ESCOM, Leiden, 1990.
  129. T. Wyttenbach, G. vonHelden, J. J. Batka, D. Carlat and M. T. Bowers, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 1997, **8**, 275-282.
  130. R. Ahlrichs, *Turbomole*, <http://www.turbomole.com>.
  131. F. Weigend, M. Häser, H. Patzelt and R. Ahlrichs, *Chemical Physics Letters*, 1998, **294**, 143-152.
  132. A. D. Becke, *Physical Review A*, 1988, **38**, 3098-3100.
  133. J. P. Perdew, *Physical Review B*, 1986, **33**, 8822-8824.
  134. S. Grimme, *Journal of Computational Chemistry*, 2004, **25**, 1463-1473.
  135. S. Grimme, *Journal of Computational Chemistry*, 2006, **27**, 1787-1799.
  136. M. F. Mesleh, J. M. Hunter, A. A. Shvartsburg, G. C. Schatz and M. F. Jarrold, *J Phys Chem A*, 1997, **101**, 968-968.
  137. A. A. Shvartsburg and M. F. Jarrold, *Chemical Physics Letters*, 1996, **261**, 86-91.
  138. W. J. Hehre, *Ab initio molecular orbital theory*, Wiley, New York, 1986.
  139. M. L. Laury, S. E. Boesch, I. Haken, P. Sinha, R. A. Wheeler and A. K. Wilson, *Journal of Computational Chemistry*, 2011, **32**, 2339-2347.
  140. A. Kamariotis, O. V. Boyarkin, S. R. Mercier, R. D. Beck, M. F. Bush, E. R. Williams and T. R. Rizzo, *Journal of the American Chemical Society*, 2006, **128**, 905-916.

- 
141. C. Wellers, A. Borodin, S. Vasilyev, D. Offenbergl and S. Schiller, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2011, **13**, 18799-18809.
  142. M. Scotoni, A. Boschetti, N. Oberhofer and D. Bassi, *The Journal of Chemical Physics*, 1991, **94**, 971-977.
  143. N. S. Nagornova, M. Guglielmi, M. Doemer, I. Tavernelli, U. Rothlisberger, T. R. Rizzo and O. V. Boyarkin, *Angewandte Chemie International Edition*, 2011, **50**, 5383-5386.
  144. P. Gilli, V. Bertolasi, V. Ferretti and G. Gilli, *Journal of the American Chemical Society*, 1994, **116**, 909-915.
  145. K. R. Asmis, N. L. Pivonka, G. Santambrogio, M. Brummer, C. Kaposta, D. M. Neumark and L. Woste, *Science*, 2003, **299**, 1375-1377.
  146. E. F. Valeev and H. F. S. III, *The Journal of Chemical Physics*, 1998, **108**, 7197-7201.
  147. G. M. Chaban, J. O. Jung and R. B. Gerber, *J Phys Chem A*, 2000, **104**, 2772-2779.
  148. E. Garand, M. Z. Kamrath, P. A. Jordan, A. B. Wolk, C. M. Leavitt, A. B. McCoy, S. J. Miller and M. A. Johnson, *Science*, 2012, **335**, 694-698.
  149. C. Leavitt, A. Wolk, M. Kamrath, E. Garand, M. Stipdonk and M. Johnson, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2011, **22**, 1941-1952.
  150. M. T. Scerba, C. M. Leavitt, M. E. Diener, A. F. DeBlase, T. L. Guasco, M. A. Siegler, N. Bair, M. A. Johnson and T. Lectka, *J Org Chem*, 2011, **76**, 7975-7984.
  151. S. P. Reddy and C. W. Cho, *Can J Phys*, 1965, **43**, 793-&.
  152. M. Abu-Kharma, H. Y. Omari, N. Shawaqfeh and C. Stamp, *J Mol Spectrosc*, 2010, **259**, 111-115.
  153. R. A. Bachorz, M. Haranczyk, I. Dabkowska, J. Rak and M. Gutowski, *The Journal of Chemical Physics*, 2005, **122**, 204304.
  154. H. K. Gerardi, A. F. DeBlase, C. M. Leavitt, X. Su, K. D. Jordan, A. B. McCoy and M. A. Johnson, *The Journal of Chemical Physics*, 2012, **136**, 134318.
  155. J. Oomens and J. Steill, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2010, **21**, 698-706.
  156. A. M. Rijs, G. Ohanessian, J. Oomens, G. Meijer, G. von Helden and I. Compagnon, *Angewandte Chemie International Edition*, 2010, **49**, 2332-2335.
  157. A. E. Bennett, R. G. Griffin, J. H. Ok and S. Vega, *The Journal of Chemical Physics*, 1992, **96**, 8624-8627.
  158. K. Bulleigh, A. Howard, T. Do, Q. Wu, V. Anbalagan and M. V. Stipdonk, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2006, **20**, 227-232.
  159. J. Buijs, C. Hagman, K. Håkansson, J. Richter, P. Håkansson and S. Oscarsson, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2001, **12**, 410-419.
  160. J. A. A. Demmers, D. T. S. Rijkers, J. Haverkamp, J. A. Killian and A. J. R. Heck, *Journal of the American Chemical Society*, 2002, **124**, 11191-11198.
  161. T. J. D. Jørgensen, H. Gårdsvoll, M. Ploug and P. Roepstorff, *Journal of the American Chemical Society*, 2005, **127**, 2785-2793.
  162. M. J. Van Stipdonk, D. R. Kerstetter, C. M. Leavitt, G. S. Groenewold, J. Steill and J. Oomens, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2008, **10**, 3209-3221.

- 
163. D. C. Rees and J. B. Howard, *Journal of Molecular Biology*, 1999, **293**, 343-350.
  164. F. Westheimer, *Science*, 1987, **235**, 1173-1178.
  165. C. Bergman, Y. Kashiwaya and R. L. Veech, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2010, **114**, 16137-16146.
  166. R. W. Guynn and R. L. Veech, *Journal of Biological Chemistry*, 1973, **248**, 6966-6972.
  167. A. A. Arabi and C. r. F. Matta, *The Journal of Physical Chemistry A*, 2009, **113**, 3360-3368.
  168. B. Ma, C. Meredith and H. F. Schaefer, *The Journal of Physical Chemistry*, 1994, **98**, 8216-8223.
  169. B. Ma, C. Meredith and H. F. Schaefer, *The Journal of Physical Chemistry*, 1995, **99**, 3815-3822.
  170. F. Pepi, V. Barone, P. Cimino and A. Ricci, *Chemistry – A European Journal*, 2007, **13**, 2096-2108.
  171. H. Saint-Martin, L. E. Ruiz-Vicent, A. Ramírez-Solís and I. Ortega-Blake, *Journal of the American Chemical Society*, 1996, **118**, 12167-12173.
  172. J. Zhou and G. Lu, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011, **78**, 1305-1309.
  173. A. Ricci, F. Pepi, M. D. Stefano and M. Rosi, *Chemistry – A European Journal*, 2004, **10**, 840-850.
  174. R. M. Burke, J. K. Pearce, W. E. Boxford, A. Bruckmann and C. E. H. Dessent, *The Journal of Physical Chemistry A*, 2005, **109**, 9775-9785.
  175. R. R. Julian and J. L. Beauchamp, *International Journal of Mass Spectrometry*, 2003, **227**, 147-159.
  176. A. T. Blades, Y. Ho and P. Kebarle, *The Journal of Physical Chemistry*, 1996, **100**, 2443-2446.
  177. X.-B. Wang and L.-S. Wang, *Annual Review of Physical Chemistry*, 2009, **60**, 105-126.
  178. X.-B. Wang, C.-F. Ding and L.-S. Wang, *Physical Review Letters*, 1998, **81**, 3351-3354.
  179. W. E. Boxford and C. E. H. Dessent, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2006, **8**, 5151-5165.
  180. A. Dreuw and L. S. Cederbaum, *Physical Review A*, 2001, **63**.
  181. A. Dreuw and L. S. Cederbaum, *Chemical Reviews*, 2002, **102**, 181-200.
  182. R. M. Burke and C. E. H. Dessent, *The Journal of Physical Chemistry A*, 2009, **113**, 2683-2692.
  183. X.-B. Wang and L.-S. Wang, *Chemical Physics Letters*, 1999, **313**, 179-183.
  184. X.-B. Wang, E. R. Vorpagel, X. Yang and L.-S. Wang, *The Journal of Physical Chemistry A*, 2001, **105**, 10468-10474.
  185. C. Lee, W. Yang and R. G. Parr, *Physical Review B*, 1988, **37**, 785-789.

186. C. G. Atkins, K. Rajabi, E. A. L. Gillis and T. D. Fridgen, *The Journal of Physical Chemistry A*, 2008, **112**, 10220-10225.
187. D. Scuderi, K. Le Barbu-Debus and A. Zehnacker, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2011, **13**, 17916-17929.
188. M. J. Nowak, L. Lapinski, J. S. Kwiatkowski and J. Leszczyński, *The Journal of Physical Chemistry*, 1996, **100**, 3527-3534.
189. J. C. Skou, *Journal of the American Society of Nephrology*, 1998, **9**, 2170-2177.
190. B. N. T. P.J. Mohr, and D.B. Newell *The 2010 CODATA Recommended Values of the Fundamental Physical Constants* <http://physics.nist.gov/constants>, Accessed 22/07, 2011.
191. J. Norberg and L. Nilsson, *Quarterly Reviews of Biophysics*, 2003, **36**, 257-306.
192. J. Zheng, Y. Zhao and D. G. Truhlar, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2009, **5**, 808-821.
193. M. Gaus, Q. Cui and M. Elstner, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2011, **7**, 931-948.
194. M. Gaus, A. Goetz and M. Elstner, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, **9**, 338-354.
195. K. Welke, H. C. Watanabe, T. Wolter, M. Gaus and M. Elstner, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2013, **15**, 6651-6659.
196. R. Salomon-Ferrer, D. A. Case and R. C. Walker, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2013, **3**, 198-210.
197. D. Case, T. Cheatham, T. Darden, H. Gohlke, R. Luo, K. Merz, A. Onufriev, C. Simmerling, B. Wang and R. Woods, *J. Comput. Chem.*, 2005, **26**, 1668-1688.
198. J. J. P. Stewart, *Journal of Computational Chemistry*, 1989, **10**, 209-220.
199. J. J. P. Stewart, *Journal of Computational Chemistry*, 1989, **10**, 221-264.
200. M. Elstner, D. Porezag, G. Jungnickel, J. Elsner, M. Haugk, T. Frauenheim, S. Suhai and G. Seifert, *Physical Review B*, 1998, **58**, 7260-7268.
201. T. A. Niehaus, M. Elstner, T. Frauenheim and S. Suhai, *J Mol Struc-Theochem*, 2001, **541**, 185-194.
202. T. Kruger, M. Elstner, P. Schiffels and T. Frauenheim, *J. Chem. Phys.*, 2005, **122**.
203. T. Risthaus and S. Grimme, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2013, **9**, 1580-1591.
204. M. Gaus, Q. A. Cui and M. Elstner, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2011, **7**, 931-948.
205. S. Kaminski, M. Gaus and M. Elstner, *J Phys Chem A*, 2012, **116**, 11927-11937.
206. S. Kaminski, M. Gaus, P. Phatak, D. von Stetten, M. Elstner and M. A. Mroginiski, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2010, **6**, 1240-1255.
207. K. Eichkorn, O. Treutler, H. Ohm, M. Haser and R. Ahlrichs, *Chemical Physics Letters*, 1995, **240**, 283-289.
208. K. Eichkorn, F. Weigend, O. Treutler and R. Ahlrichs, *Theor Chem Acc*, 1997, **97**, 119-124.



- 
209. P. Deglmann, F. Furche and R. Ahlrichs, *Chemical Physics Letters*, 2002, **362**, 511-518.
210. P. Deglmann, K. May, F. Furche and R. Ahlrichs, *Chemical Physics Letters*, 2004, **384**, 103-107.
211. M. T. Rodgers, S. Campbell, E. M. Marzluff and J. L. Beauchamp, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1994, **137**, 121-149.
212. R. Bruni, G. Gianfranceschi and G. Koch, *Journal of Peptide Science*, 2005, **11**, 225-234.
213. S. A. McLuckey and S. Habibi-Goudarzi, *Journal of the American Chemical Society*, 1993, **115**, 12085-12095.
214. H. G. Dehmelt and K. B. Jefferts, *Physical Review*, 1962, **125**, 1318-1322.
215. R. C. Dunbar, *International Journal of Mass Spectrometry*, 2000, **200**, 571-589.
216. W. J. van der Hart, *Mass Spectrometry Reviews*, 1989, **8**, 237-268.
217. L. d. Broglie, *Licht und Materie, Ergebnisse der neuen Physik*, H. Goverts, Hamburg,, 1939.
218. Z. Valicsek and O. Horvath, *Microchem J*, 2013, **107**, 47-62.
219. J. Friedrich, Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 2001.
220. C. Walther, S. Becker, G. Dietrich, H. J. Kluge, M. Lindinger, K. Lutzenkirchen, L. Schweikhard and J. Ziegler, *Z Phys D Atom Mol Cl*, 1996, **38**, 51-58.
221. A. N. Glöß, Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 2007.
222. R. A. Marcus and O. K. Rice, *J Phys Colloid Chem*, 1951, **55**, 894-908.
223. D. M. Wardlaw and R. A. Marcus, *Chemical Physics Letters*, 1984, **110**, 230-234.
224. S. K. Gray, S. A. Rice and M. J. Davis, *The Journal of Physical Chemistry*, 1986, **90**, 3470-3482.
225. F.-s. Huang, Case Western Reserve University, 1991.
226. M. K. Scheller, R. N. Compton and L. S. Cederbaum, *Science*, 1995, **270**, 1160-1166.
227. A. I. Boldyrev, M. Gutowski and J. Simons, *Accounts of Chemical Research*, 1996, **29**, 497-502.
228. C. Yannouleas and U. Landman, *Chemical Physics Letters*, 1993, **210**, 437-442.
229. M. Kordel, D. Schooss, S. Gilb, M. N. Blom, O. Hampe and M. M. Kappes, *J Phys Chem A*, 2004, **108**, 4830-4837.
230. K. Arnold, T. S. Balaban, M. N. Blom, O. T. Ehrler, S. Gilb, O. Hampe, J. E. van Lier, J. M. Weber and M. M. Kappes, *J Phys Chem A*, 2003, **107**, 794-803.
231. P. Rothmund, *Journal of the American Chemical Society*, 1936, **58**, 625-627.
232. Y. Teklu and C. B. Storm, *Journal of the American Chemical Society*, 1972, **94**, 1745-1746.
233. B. Meunier, *Chemical Reviews*, 1992, **92**, 1411-1456.
234. A. Yella, H.-W. Lee, H. N. Tsao, C. Yi, A. K. Chandiran, M. K. Nazeeruddin, E. W.-G. Diao, C.-Y. Yeh, S. M. Zakeeruddin and M. Grätzel, *Science*, 2011, **334**, 629-634.

- 
235. W. J. Su, T. M. Cooper, N. S. Tang, D. Krein, H. Jiang, D. Brandelik, P. Fleitz, M. C. Brant and D. G. McLean, *Materials for Optical Limiting II*, 1997, **479**, 313-318.
236. N. S. Tang, W. J. Su, D. M. Krein, D. G. McLean, M. C. Brant, P. A. Fleitz, D. M. Brandelik, R. L. Sutherland and T. M. Cooper, *Materials for Optical Limiting II*, 1997, **479**, 47-52.
237. R. Bonnett, *Chemical Society Reviews*, 1995, **24**, 19-33.
238. J. E. Falk and K. M. Smith, *Porphyrins and metalloporphyrins : a new edition based on the original volume by J. E. Falk*, Elsevier Scientific Pub. Co., Amsterdam ; New York, 1975.
239. J. E. Falk, *Porphyrins and metalloporphyrins; their general, physical and coordination chemistry, and laboratory methods*, Elsevier Pub. Co., Amsterdam, New York,, 1964.
240. C. R. Janiak, Erwin, *Riedel, moderne anorganische Chemie*, 4. Aufl. edn., De Gruyter, Berlin ; Boston, 2012.
241. K. M. Kadish, K. M. Smith and R. Guilard, *The porphyrin handbook*, Academic Press, San Diego, 2000.
242. L. R. Milgrom, *The colours of life : an introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds*, Oxford University Press, Oxford ; New York, 1997.
243. C. K. Mathews, K. E. Van Holde and K. G. Ahern, *Biochemistry*, 3rd edn., Benjamin Cummings, San Francisco, Calif., 2000.
244. G. Knör, *Chembiochem*, 2001, **2**, 593-596.
245. G. G. Martirosyan, A. S. Azizyan, T. S. Kurtikyan and P. C. Ford, *Chem Commun (Camb)*, 2004, **0**, 1488-1489.
246. L. Pekkarinen and H. Linschitz, *Journal of the American Chemical Society*, 1960, **82**, 2407-2411.
247. G. R. Geier and J. S. Lindsey, *J Chem Soc Perk T 2*, 2001, 677-686.
248. G. R. Geier, B. J. Littler and J. S. Lindsey, *J Chem Soc Perk T 2*, 2001, 712-718.
249. A. R. Battersby, C. J. R. Fookes, G. W. J. Matcham and E. McDonald, *Nature*, 1980, **285**, 17-21.
250. J. L. Soret, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1883, **97**, 1269-1270.
251. M. Gouterman, *J Mol Spectrosc*, 1961, **6**, 138-&.
252. H. C. Longuethiggins, C. W. Rector and J. R. Platt, *J. Chem. Phys.*, 1950, **18**, 1174-1181.
253. A. Wolberg, *J Mol Struct*, 1974, **21**, 61-66.
254. E. I. Vonnagyfelsobuki, *Journal of Chemical Education*, 1989, **66**, 821-824.
255. M. Meotner and A. D. Adler, *Journal of the American Chemical Society*, 1975, **97**, 5107-5111.
256. M. Nappa and J. S. Valentine, *Journal of the American Chemical Society*, 1978, **100**, 5075-5080.
257. M. Meotner and A. D. Adler, *Journal of the American Chemical Society*, 1972, **94**, 4763-&.

- 
258. A. Ghosh and J. Almlöf, *The Journal of Physical Chemistry*, 1995, **99**, 1073-1075.
259. S. Y. Ma, *Chemical Physics Letters*, 2000, **332**, 603-610.
260. R. Shannon, *Acta Crystallographica Section A*, 1976, **32**, 751-767.
261. M. Tabata and M. Tanaka, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 1985, **0**, 42-43.
262. O. Horvath, R. Huszank, Z. Valicsek and G. Lendvay, *Coordin Chem Rev*, 2006, **250**, 1792-1803.
263. M. F. Hudson and K. M. Smith, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 1973, **0**, 515-516.
264. N. Motreff, S. Le Gac, M. Luhmer, E. Furet, J.-F. Halet, T. Roisnel and B. Boitrel, *Angewandte Chemie International Edition*, 2011, **50**, 1560-1564.
265. N. N. Greenwood and A. Earnshaw, *Chemistry of the elements*, 1st edn., Pergamon Press, Oxford ; New York, 1984.
266. J. M. Ugalde, B. Dunietz, A. Dreuw, M. Head-Gordon and R. J. Boyd, *J Phys Chem A*, 2004, **108**, 4653-4657.
267. B. Concina, M. Neumaier, O. Hampe and M. M. Kappes, *J. Chem. Phys.*, 2008, **128**.
268. C. Bréchnignac, P. Cahuzac, N. Kebaïli, J. Leygnier and A. Sarfati, *Physical Review Letters*, 1992, **68**, 3916-3919.
269. X. B. Wang, K. Ferris and L. S. Wang, *J Phys Chem A*, 2000, **104**, 25-33.
270. L. Edwards, D. H. Dolphin, Gouterma.M and A. D. Adler, *J Mol Spectrosc*, 1971, **38**, 16-&.
271. D. Dolphin, *The Porphyrins*, Academic Press, New York, 1978.
272. Z. Valicsek, G. Eller and O. Horvath, *Dalton T*, 2012, **41**, 13120-13131.
273. R. Huszank and O. Horvath, *Chem Commun (Camb)*, 2005, **0**, 224-226.
274. O. Horvath, Z. Valicsek and A. Vogler, *Inorg Chem Commun*, 2004, **7**, 854-857.
275. O. Horváth, Z. Valicsek, G. Harrach, G. Lendvay and M. A. Fodor, *Coordin Chem Rev*, 2012, **256**, 1531-1545.
276. B. Delley, *Physica B: Condensed Matter*, 1991, **172**, 185-193.
277. D. R. McMillin and K. M. McNett, *Chemical Reviews*, 1998, **98**, 1201-1220.
278. P. D. Beer, D. P. Cormode and J. J. Davis, *Chem Commun (Camb)*, 2004, **0**, 414-415.
279. M. D. Lim, I. M. Lorkovic and P. C. Ford, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2005, **99**, 151-165.
280. G. J. VanBerkel, S. A. McLuckey and G. L. Glish, *Analytical Chemistry*, 1991, **63**, 1098-1109.
281. O. N. Chen, S. Groh, A. Liechty and D. P. Ridge, *Journal of the American Chemical Society*, 1999, **121**, 11910-11911.
282. F. Angelelli, B. Chiavarino, M. E. Crestoni and S. Fornarini, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2005, **16**, 589-598.
283. C. Rovira, K. Kunc, J. Hutter, P. Ballone and M. Parrinello, *Int J Quantum Chem*, 1998, **69**, 31-35.

284. A. Kubas, J. Hartung and K. Fink, *Dalton T*, 2011, **40**, 11289-11295.
285. R. A. Ghiladi, R. M. Kretzer, I. Guzei, A. L. Rheingold, Y. M. Neuhold, K. R. Hatwell, A. D. Zuberbuhler and K. D. Karlin, *Inorg Chem*, 2001, **40**, 5754-5767.
286. K. Kalyanasundaram and M. Neumannspallart, *J Phys Chem-Us*, 1982, **86**, 5163-5169.
287. J. W. Barnes and G. D. Dorough, *Journal of the American Chemical Society*, 1950, **72**, 4045-4050.

## **Lebenslauf**

**– in der elektronischen Version nicht enthalten**

## Publikationsliste

- F. Schinle, P. E. Crider, M. Vonderach, P. Weis, O. Hampe and M. M. Kappes, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2013.
- Y. X. Xiang, N. V. Izarova, F. Schinle, O. Hampe, B. Keita and U. Kortz, *Chem Commun (Camb)*, 2012, 48, 9849-9851.
- N. V. Izarova, N. Vankova, A. Banerjee, G. B. Jameson, T. Heine, F. Schinle, O. Hampe and U. Kortz, *Angew Chem Int Edit*, 2010, 49, 7807-7811.
- H. Schneider, K. M. Vogelhuber, F. Schinle, J. F. Stanton and J. M. Weber, *J Phys Chem A*, 2008, 112, 7498-7506.
- H. Schneider, K. M. Vogelhuber, F. Schinle and J. M. Weber, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129, 13022-13026.

## Danksagung

Kreative und Innovative Aufgabenstellungen mit nicht immer offensichtlichen Lösungen reizten mich in meinem bisherigen Leben und motivierten mich immer eine Lösung dieser zum Teil kniffligen Probleme zu finden. Meinem Doktorvater und Referenten *PD Dr. Oliver Hampe* möchte ich aus diesem Grund an erster Stelle ganz besonders für die interessante Themenstellung danken, die mir ermöglichte mehrere experimentelle Aufbauten nach dem aktuell modernsten Stand der Forschung umzusetzen und selber Pionierarbeit in einigen Bereichen leisten zu können. Seine stete Diskussionsbereitschaft und seine Analysen halfen mir dabei einen klareren Blick auf wesentliche Dinge zu erhalten. Gleichzeitig danke ich ihm sehr für die mir dabei fortwährend zugestandenen Freiheiten.

Sehr herzlich bedanke ich mich bei *Prof. Dr. Manfred M. Kappes* für seine große Hilfsbereitschaft und freundschaftliche Zusammenarbeit, sowie die Finanzierung dieser Arbeit. Unsere richtungsweisenden Gesprächsrunden vermittelten mir ein tieferes Verständnis der Dinge und stellten eine überaus wertvolle Hilfe dar.

Bei *Prof. Dr. Rolf Schuster* bedanke ich mich für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Ebenso geht ein ganz besonderer Dank an *Prof. Dr. Mathias J. Weber* und *Dr. Holger Schneider* für die anhaltende große Hilfsbereitschaft und ihre Einführung und Einarbeitung in die wissenschaftliche Materie der IRMPD Spektroskopie. Zahlreiche Kniffe und Ratschläge von ihnen machten diese Arbeit erst möglich.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei der KSOP und beim KHYS die meine Kooperationen und internationalen Tagungen möglich gemacht haben

Bedanken möchte ich mich auch bei *Prof. Dr. Mark Johnson* und *Arron Wolk* die mich bei meiner Kooperation mit der Yale University so wohlwollend in ihrem Labor aufgenommen haben und für viele schöne Erinnerungen an diese Zeit auch neben der Forschung verantwortlich sind.

Mein Dank gilt gleichermaßen *Dr. Christoph Jacob*, *Dr. Paul Crider* und *Maximilian Kubilus* die mich mit DFT-Ergebnissen sehr unterstützten und die Interpretation der Infrarot-Spektren erst ermöglichten

Außerdem bedanken möchte ich mich herzlich bei den vielen Menschen die mir bei technischen Problemen und mit apparativen Konstruktionen am FT-ICR zur Seite standen. Insbesondere *Lars Walter* half mit Detailwissen und seinem praktischem Geschick die immer wieder neu auftauchenden Tücken zu meistern. Ohne seine Hilfe wären Projekte wie der modifizierte Akkumulationshexapol nur sehr schwer umsetzbar gewesen. Außerdem bedanke ich mich bei *Sven Helfrich*, der diese Aufgabe im Laufe meiner Promotion übernahm und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand. Weiter bedanke ich mich bei *Klaus Stree* und *Holger Halberstadt*, die auch für die kniffligsten Elektronikprobleme immer wieder eine Lösung fanden, sowie *Michael Schlenker* für die Anfertigung zahlreicher feinmechanischer Werkstücke.

Besonders möchte ich mich bei *Dieter Waltz*, *Peter Buchenberger* und *Peter Fischer* für die Anfertigung der durchbohrten Spiegel, ihre Ratschläge bei diesem Projekt und ihre Geduld bedanken.

Weiterhin bedanke ich mich bei der ganzen Arbeitsgruppe des Campus Nord und Süd für die nette und freundschaftliche Arbeitsatmosphäre. Besonders bei den Diskussionen mit *Dr. Thomas Rapps*, *Dr. Jean-Francois Greisch* und *Dr. Ninette Stützl* verging die Arbeitszeit leicht schnell und auch spätere Stunden und Wochenenden bleiben mir durch die Gesellschaft in schöner Erinnerung.

Ich bedanke ich außerdem herzlich bei den vielen Leuten die mir halfen dieser Arbeit einen Feinschliff zu verpassen.

Immer geholfen hat mir auch während der Zeit, in der ich mich auf die Doktorarbeit konzentrierte, dass ich bei *meinen Freunden* ein offenes Ohr fand sowie Ablenkung und Spaß haben konnte. Besonders mein langjähriger Freund und Mitbewohner *Daniel Manger* sei hier hervorgehoben.

*Ekaterina Novikova* half mir auch in stressbehafteten Phasen motiviert zu bleiben und war mit viel Verständnis und einem Lächeln immer für mich da.

Weiterhin bedanke ich mich bei meiner *gesamten Familie* für den emotionalen Rückhalt und bei *meinen Eltern* für die finanzielle Unterstützung die mein Studium erst ermöglichte.