Entwicklung eines neuartigen kryogenen 22-Pol Ionenfallenspektrometers (BerlinTrap) und spektroskopische Analyse von isolierten Flavin-ionenkomplexen

vorgelegt von
Dipl.-Phys.
Alan Günther
geb. in Prenzlau

von der Fakultät II - Mathematik und Naturwissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Naturwissenschaften
– Dr.rer.nat. –
genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dr. Mario Dähne

Gutachter: Prof. Dr. Otto Dopfer

Gutachter: Prof. Dr. Stephan Schlemmer

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 17. März 2017

Berlin 2017

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Alle Ausführungen, die anderen veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften wörtlich oder sinngemäß entnommen wurden, habe ich kenntlich gemacht.

Die Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Fassung noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegen.

_____ _____

Ort, Datum Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis 1

Einführende Worte 3

Teil I

Entwicklung des Tandemmassenspektrometers mit kryogener 22-Pol Falle (BerlinTrap) 8

1.Einleitung 9

2.Aufbau und Funktion der BerlinTrap Komponenten 13

2.1 Elektrospray-Ionisationsquelle mit Mini-Quadrupol 13

2.2 Hexapol-Falle und Reaktionszelle 24

2.3 Quadrupol-Massenspektrometer 26

2.4 Oktupol-Ionenleiter 35

2.5 Kryogene 22-Pol Ionenfalle 37

2.6 Reflektron-Flugzeitmassenspektrometer (ReTOFMS) 46

2.7 Zeitlicher Ablauf des BerlinTrap-Experiments 57

2.8 Transfer von der 22-Pol Falle zum ReTOFMS 59

2.9 Design der Radiofrequenzgeneratoren für MiniQP und 22-Pol 64

2.10 Vakuumerzeugung und Gasversorgung 72

2.11 Lasersysteme 75

2.12 Signalerzeugung und Datenerfassung 82

3. Die Leistungsfähigkeit der BerlinTrap-Apparatur 84

3.1 Ionentemperaturmessung mittels UVPD-Spektroskopie an H^+Tyrosin 84

3.2 Bildung von $He_nH_3O^+$ und He_nNa^+ Komplexen im 22-Pol 88

3.3 IRPD an H^+Benzaldehyd-Ar Komplexen 92

4. Zusammenfassung und Ausblick 95

Teil II

Spektroskopische Analyse von protonierten und metallierten Flavinen in der Gasphase 98

1. Einleitung 99

2. Experimentelle Methoden und theoretische Analyseverfahren 103

2.1 Infrarot-Photodissoziation (IRMPD, IRPD) 105

2.2 UV-VIS Photodissoziation 110

2.3 Das FT-ICRMS Experiment am FELIX 114

2.4 Quantenchemische Modellierung 117

3. Strukturanalyse protonierter Flavine in der Gasphase mittels IRMPD 121
3.1 Protoniertes Lumichrom 124
3.2 Protoniertes Lumiflavin 126
3.3 Protoniertes Riboflavin 129
3.4 Protoniertes Flavinmononukleotid 132
3.5 Einfluss der Protonierung auf die Struktur und Ladungsverteilung 136
3.6 Zusammenfassung 141
4. Strukturanalyse metallierter Flavine in der Gasphase mittels IRMPD 143
4.1 Alkalimetallionen-Lumichrom-Komplexe 144
4.2 Münzmetallionen-Lumichrom-Komplexe 153
4.3 Magnesium-Lumichrom-Komplexe 157
4.4 Alkalimetallionen-Lumiflavin-Komplexe 160
4.5 Münzmetallionen-Lumiflavin Komplexe 174
4.6 Zusammenfassung: 178
5. Elektronische Spektroskopie an kalten protonierten und metallierten Lumichrom 181
5.1 Elektronische Spektroskopie an protoniertem Lumichrom 183
5.2 Elektronische Spektroskopie an Alkalimetallion-Lumichrom Komplexen 186
5.3 Zusammenfassung 192

Teil III

Zusammenfassung und Ausblick 193
1.Zusammenfassung 194
2.Ausblick 198
3.Literaturverzeichnis 202

Eigene Publikationen 218
Danksagung 219
Anhang A I
Anhang B III
Anhang C XVI
Anhang D XXX

Abkürzungsverzeichnis

FEL Freie-Elektronen-Laser

FELIX Freie-Elektronen-Laser für Infrarot Experimente

FMN Flavinmononukleotid

FT-ICRMS Fouriertransformation-Ionenzyklotronresonanz-Massenspektrometer

H^+FMN protoniertes Flavinmononukleotid

H^+LC protoniertes Lumichrom

H^+LF protoniertes Lumiflavin

H^+RF protoniertes Riboflavin

HWB Halbwertsbreite

IRMPD Infrarot-Multiphotonendissoziation

IRPD Infrarot-Photodissoziation

LC Lumichrom

LF Lumiflavin

M^+FL Metallion-Flavinkomplex

M^+LC Metallionen-Lumichrom-Komplex

M^+LF Metallionen-Lumiflavin-Komplex

MCP Mikrokanalplattendetektor (Microchannel Plate)

MiniQP Miniatur Quadrupol

OPO optisch parametrischer Oszillator

PA Protonenaffinität

QPMS Quadrupol-Massenspektrometer

ReTOFMS Reflektron-Flugzeitmassenspektrometer

RF Riboflavin

TK Transferkapillare

TOFMS Flugzeitmassenspektrometer (Time of Flight Mass Spectrometer)

UVPD Photodissoziation durch ultraviolettes Licht

UV-VIS ultraviolett-sichtbar (visible)

Einführende Worte

Das tiefe Verständnis des Lebens, das wir heute haben, wäre nicht möglich ohne die Kenntnis der Funktionsweise der kleinsten Lebensbausteine. Viel Forschungsarbeit aus verschiedenen Zweigen der Wissenschaft, wie der Physikalischen Biochemie,[1] der Biophysik[2] sowie der Physikalischen Chemie von Biomolekülen[3] wurde bereits getätigt, um dem vollständigen Verständnis fundamentaler biologischer Prozesse, und somit dem des Lebens, immer näher zu kommen.

Diese Doktorarbeit reiht sich in diesen Grenzbereich zwischen Physik und Chemie sowie zum Teil auch der Biologie ein, indem hier die Strukturen und die daraus folgenden grundlegenden Zusammenhänge von biologisch besonders relevanten Flavinmolekülen untersucht werden. Diese in der Natur weitverbreiteten gelben (lat.: flavus) Farbstoffe sind dabei durch ihre vielseitigen Eigenschaften in unterschiedlichen biologischen Prozessen zu finden.

Allen Flavinen liegt der Grundbaustein d 7,8-Dimethyl-10-isoalloxazin, auch bekannt als iso-Lumichrom (iso-LC), zu Grunde (Abbildung 0.1). Der prominenteste Vertreter dieser Familie ist das Riboflavin (RF), besser bekannt als Vitamin B_2, welches u. a. als Vorstufe für Flavinmononukleotid (FMN) dient. FMN ist wiederum ein Cofaktor des u.a. in der Atmungskette wichtigen Enzyms NADH-Dehydrogenase.

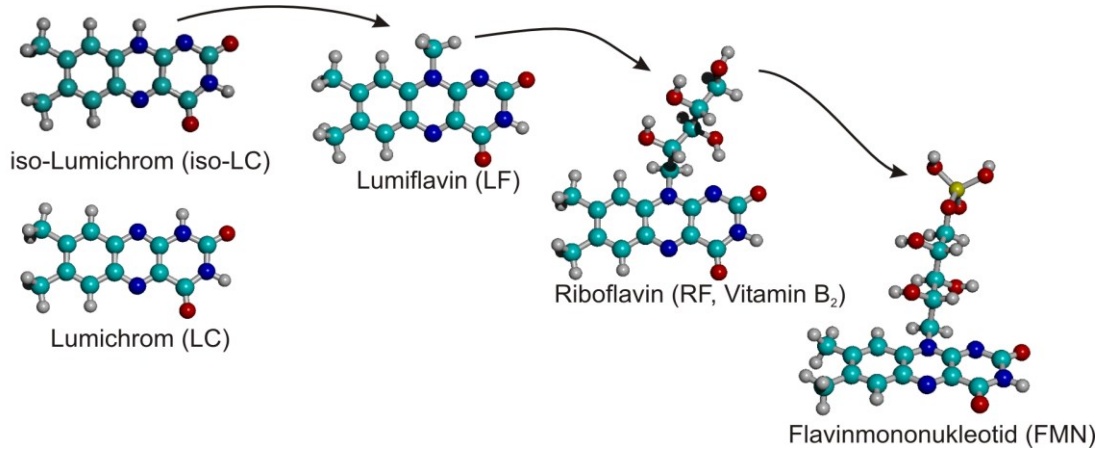

Abbildung 0.1. zeigt elementare Vertreter der Stoffklasse der Flavine. Diese Farbstoffe bestehen aus einem Chromophor, der Licht sowohl im UV als auch im visuellen Spektrum absorbiert und der funktionellen Gruppe, die von iso-Lumichrom (H) über Lumiflavin (Methylgruppe) und dem Riboflavin (Ribitylgruppe) zum Flavinmononukleotid (Ribitylphosphatgruppe) in ihrer Komplexität stetig zunimmt.

Lumiflavin (LF) wiederum ist ein Photofragmentationsprodukt von Riboflavin (Abbildung 0.1). Das vielfältige Auftreten der Flavine in der Natur lässt sich dadurch erklären, dass sie in drei unterschiedlichen Oxidationszuständen vorkommen, dem oxidierten (Flavochinone), dem einfach reduzierten (Flavosemichinone) und dem vollständig reduzierten Zustand (Flavohydrochinone). Zusätzlich kommen sie in der Natur in allen drei Ladungszuständen vor, nämlich in Form von protonierten-, neutralen- oder anionischen Flavinen.[4,5] Des Weiteren absorbieren sie Photonen in einem sehr breiten Bereich des optischen Spektrums bis weit hinein ins Ultraviolette. Dabei variieren die spektroskopischen Eigenschaften, wie etwa optische Resonanzen und Bandenmaxima, sehr sensitiv bei Veränderungen der Oxidationsstufen und Ladungszustände. Durch diese Eigenschaft wirken z. B. flavinhaltige Domänen in speziellen Lichtrezeptoren von Pflanzen und Algen (Phototropinen) als auch in Blaulichtrezeptoren einiger Pilze als lichtsammelnde Module.[6,7] Außerdem helfen Flavine als wichtige Bestandteile von Flavoproteinen z. B. bei der Reparatur von DNA,[8] dienen als Katalysatoren bei der Oxidation von Glukose in GOx-Enzymen und sind im Redoxzyklus der Atmungskette als Elektronendonatoren und -akzeptoren involviert.[9] Diese Beispiele demonstrieren die vielfältigen (photo)chemischen Eigenschaften und machen Flavine zu einer der am vielfältigsten auftretenden Stoffgruppen in der Natur mit überragender Wichtigkeit für viele biologische Prozesse und Phänomene. Dies erkannte bereits Paul Karrer, der für seine Arbeiten u. a. an Flavinen 1937 den Nobelpreis für Chemie erhielt.[10]

An Flavinen und deren Eigenschaften wird bereits intensive Forschungsarbeit geleistet. Hierbei kommen u. a. verschiedenste spektroskopische Methoden zum Einsatz, um die Zusammenhänge zwischen Struktur und Reaktivität zu untersuchen. Diese Messungen werden zumeist an sich in Lösung befindenden oder in Pellets gepressten Flavinen durchgeführt.[11–19] Im festen Zustand wechselwirken benachbarte Teilchen miteinander, was zu teilweise starker Beeinflussung der spektroskopischen Eigenschaften führt. Das Gleiche passiert in gelöster Form, wo das Lösungsmittel die Molekülstruktur und somit auch die optischen Eigenschaften beeinflusst. In der Gasphase treten solche störenden Effekte hingegen nicht auf. Elementare Merkmale von Flavinen, wie deren Grundzustandsstruktur, Stabilität, sowie energetische Potentialflächen können somit am besten in diesem Zustand analysiert werden. Hierdurch werden das Verhalten und die Struktur der reinen, isolierten Substanz zugänglich.

Ein mächtiges Werkzeug zur Untersuchung der Strukturen sowie der energetischen Eigenschaften von Molekülen in der Gasphase ist die Kombination aus Massenspektrometrie, Spektroskopie und quantenchemischen Rechnungen.[20,21] Liegen die

Moleküle zudem im ionischen Zustand vor, lassen sie sich sehr leicht fangen, manipulieren und untersuchen. Da jedoch selbst die maximal mögliche Ionendichte aufgrund der Coulomb-Abstoßung in der Regel nicht ausreicht, um direkte Absorptionsmessungen zu realisieren, bedient man sich indirekt messbarer Konsequenzen nach einer Photonenabsorption.[22] Die Photodissoziation erweist sich hier als eine sehr effiziente Art, selbst bei sehr geringen Ionenkonzentrationen spektroskopische Informationen zu erhalten, weswegen sie auch für diese Dissertation angewendet wird.[22,23]

Zur Erzeugung verschiedenster Flavinionenkomplexe bietet sich zudem die Elektrospray-Ionisation (ESI) an. In Kombination mit einem Massenspektrometer ist somit die Generierung und anschließende spektroskopische Untersuchung komplexer Aggregate fragiler Molekülionen, mit Bindungen mehrerer Liganden, sog. Cluster, möglich, weswegen für deren Erfindung auch der Nobelpreis verliehen wurde.[24] Auch der Einfluss eines Lösungsmittels lässt sich schrittweise beobachten, indem sukzessive Moleküle des Lösungsmittels an das zu untersuchende Ion angelagert werden.[25]

Die spektroskopische Untersuchung von biologischen Molekülen, vorrangig von Aminosäuren[26,27] sowie die aus ihnen gebildeten Peptide und Proteine,[28,29] DNA und deren Bestandteile[30–32] sowie von Kohlenhydraten[33,34] wird aktuell sehr intensiv betrieben und stellt deswegen ein sehr attraktives Forschungsfeld dar.[35–37] Dagegen werden spektroskopische Experimente an isolierten Flavinmolekülen, welche ebenfalls eine wichtige biologische Molekülklasse darstellen wegen der schwierigen Präparierung bisher kaum durchgeführt.[38–40]

Aus diesem Grund liegt das Hauptziel dieser Dissertation in der spektroskopischen Untersuchung von Flavinmolekülionen in der Gasphase und der anschließenden Interpretation der erhaltenen Spektren. Erste Messungen wurden an der Freie-Elektronen-Laser-Einrichtung FELIX in Nieuwegein in den Niederlanden durchgeführt. Hier wurden die ersten jemals gemessenen IR Absorptionsspektren von Flavinen in der Gasphase aufgenommen.

In dem Experiment werden die zu untersuchenden Flavine durch Elektrospray-Ionisation in die Gasphase überführt und in einem Fouriertransformation-Ionenzyklotronenresonanz-Massenspektrometer (FT-ICRMS) selektiert und gespeichert. Anschließend werden die gefangenen Ionen mittels sehr intensiver durchstimmbarer Infrarotstrahlung des Freie-Elektronen-Lasers (FEL) bestrahlt, was nach resonanter Absorption mehrerer Photonen zur Dissoziation der Molekülionen führt. Durch Detektion der Fragmentation, welche abhängig von der Laserwellenlänge ist, entsteht somit ein Photodissoziationsspektrum. Diese als Infrarot Multiphotonen-

Dissoziations-Spektroskopie (IRMPD) bezeichnete Technik besitzt den Vorteil, dass die generierten Spektren ohne zusätzliches Botenatom bzw. Molekül erzeugt werden können. Ein Nachteil dieses speziellen Experiments ist, dass die gewonnenen Spektren bei Raumtemperatur aufgenommen werden. Dies kann zu nicht ausreichend aufgelösten Spektrallinien führen, was die anschließende Interpretation erschwert. Um dies zu umgehen und um zudem mehr über die elektronische Struktur bzw. das Absorptionsverhalten im sichtbaren und im UV-Bereich zu lernen, bedarf es elektronischer Spektren kalter Moleküle. Da Flavine jedoch Feststoffe sind, ist eine Präparierung von kalten Flavinionen und deren Komplexen mittels Überschallexpansion sehr schwer bis gar nicht möglich. Aus diesem Grunde musste eine Alternative für das zu Beginn dieser Arbeit in der AG Dopfer vorhandene Quadrupol-Oktupol-Quadrupol-Tandemmassenspektrometer[21,41] gefunden werden. Dies führte zur Entwicklung einer neuen Apparatur, die es ermöglicht Flavinionen in die Gasphase zu überführen und diese so abzukühlen, dass hochaufgelöste Spektren gemessen werden können. Geplant wurde somit eine universelle Apparatur zur Spektroskopie von Molekülionen, insbesondere von Biomolekülen. Um dies zu realisieren, bot sich als Ionisationsmethode, wie schon bei den IRMPD Messungen zuvor, die Elektrospray-Ionisation an. Mit dieser ist es nämlich möglich, selbst große und fragile Feststoffmoleküle, die sich in geeigneten Flüssigkeiten auflösen lassen, geladen in die Gasphase zu überführen. Die so generierten Ionen können anschließend durch Puffergaskühlung in einer kryogenen Multipol-Ionenfalle heruntergekühlt werden. Somit stand der Plan zum Bau eines Spektrometers, indem eine ESI-Quelle mittels eines Quadrupol-Massenspektrometers (QPMS) an eine kryogene 22-Pol Ionenfalle gekoppelt wird. Die im 22-Pol gefangenen und gekühlten Molekülionen(-Komplexe) sollen durch resonante Absorption intensiver Laserbestrahlung dissoziieren. Ein nachgeschaltetes orthogonal zur Ionenflugrichtung ausgerichtetes Flugzeitmassenspektrometer (TOFMS engl. time-of-flight) soll hierbei alle entstandenen Fragmentionen, die bei einem Laserbeschuss entstehen, simultan und massenaufgelöst detektieren, was in Kombination mit einer 22-Pol Ionenfalle bisher einzigartig ist.

Die Planung, Entwicklung sowie der Aufbau dieser Apparatur liegt im Fokus dieser Dissertation, weswegen der Teil I. dieser Arbeit der Konstruktion und Charakterisierung dieses 4K-ESI-QPMS-22-Pol-ReTOFMS-Ionenfallen-Spektrometers, im Folgenden als BerlinTrap bezeichnet, gewidmet ist. In diesem Abschnitt wird zudem gezeigt, welche Messmethoden in Zukunft mit dieser Apparatur möglich sein werden und diese anhand von bereits ersten Charakterisierungsmessungen demonstriert.

Teil II (Kapitel.II.3-II.5) behandelt die im Rahmen dieser Arbeit entstandenen neuen Erkenntnisse bezüglich der untersuchten ionischen Flavin-Komplexe. Die durchgeführten Messungen hierzu wurden zum einen am FT-ICRMS Experiment der Freie-Elektronen-Laser Einrichtung FELIX in Nieuwegein durchgeführt, zum anderen mit der für diese Dissertation errichteten 22-Pol Fallen Apparatur. Um die hier gewonnenen Ergebnisse wissenschaftlich interpretieren zu können, wird in diesem Abschnitt sowohl auf die angewandten experimentellen Verfahren, als auch auf die darauffolgende Analyse mittels quantenchemischer Berechnungen vertieft eingegangen. Anschließend erfolgen die Interpretationen und Analysen der Messergebnisse sowie die sich hieraus ergebenden Schlussfolgerungen.
Eine Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse sowie ein Ausblick auf weiterführende Arbeiten erfolgt als Abschluss dieser Dissertation in Teil III.

Teil I
Entwicklung eines Tandemmassenspektrometers mit kryogener 22-Pol Falle (BerlinTrap)

1. Einleitung

Spektroskopische Untersuchungen von molekularen Ionen sind von zentraler Bedeutung für eine Vielzahl wissenschaftlicher Bereiche, wie der Tieftemperaturphysik, der Astrochemie, der physikalischen Chemie oder der Biochemie. Die hier entwickelten spektroskopischen Methoden angewendet auf Moleküle mit biologischer Relevanz haben sich als sehr wichtiges Werkzeug für das Verständnis fundamentaler (bio-)chemischer Wechselwirkungen herausgestellt.[37,42–52] Oft ist es notwendig, diese spektroskopischen Studien bei tiefen Temperaturen durchzuführen, um möglichst detaillierte Informationen über die geometrischen sowie die elektronischen Strukturen der untersuchten Ionen und deren Komplexe zu erhalten[45,52]. Für die Präparierung kalter Ionen ergeben sich mehrere Möglichkeiten, wie die Kühlung in kryogenen Fallen mit Hilfe eines Puffergases (meist He oder H_2)[44–47,53–62] oder der erst kürzlich entwickelten Technik des Fangens von Ionen in supraflüssigen Helium-Tropfen.[63–66] Aber auch die Generierung kalter geladener Teilchen in einer Überschallexpansion ins Vakuum stellt eine traditionelle Möglichkeit hierfür dar.[43,67–72]
Die zuletzt erwähnte Technik wird in der AG Dopfer bereits langjährig erfolgreich angewendet.[73–78] Ein Trägergas (z. B. He, Ne, Ar, Kr, N_2), wird dabei unter hohem Druck (3–40 bar) adiabatisch in das Vakuum expandiert, wobei sich das Gas stark abkühlt. Die zu untersuchenden Moleküle werden dabei, noch bevor es zur Expansion kommt, dem Trägergas aus einem Reservoir zum Teil durch Heizen zugeführt. Nach dem Übergang ins Vakuum erfolgt die Ionisation durch Elektronenbeschuss quer zur Flugrichtung des sich ausbildenden Molekularstrahles. Eine anschließende Massenselektion durch ein QPMS sorgt für die Präparierung des mittels Photodissoziation zu untersuchenden Molekülionenkomplexes (Kapitel II.2.1.) Die beschriebene experimentelle Methode kann für eine Vielzahl von Molekülgruppen angewendet werden. Sie findet jedoch ihre Grenzen bei sehr fragilen Molekülen, die bei Elektronenbeschuss zur massiven Fragmentierung neigen, sowie bei Feststoffen und Flüssigkeiten mit sehr niedrigem Dampfdruck. Die für diese Arbeit zu untersuchenden Flavinmoleküle besitzen diese Eigenschaften. Sie sind zum Teil thermisch fragil und verdampfen erst bei Temperaturen oberhalb 300 °C, wobei sie sich vorher zersetzen (RF beginnt z. B. zwischen 278 und 282°C an zu schmelzen, bei gleichzeitiger thermischer Dekomposition[79]). Um diese Schwierigkeiten zu umgehen, ist es möglich, Moleküle mittels Elektrospray zu ionisieren und in die Gasphase zu überführen.[24,80] Die Funktionsweise einer ESI-Quelle wird in Kapitel I.2.1 beschrieben. Dabei stellt sich das Elektrospray als eine besonders effektive Form der Ionisa-

tion dar, mit der es gelingt, selbst sehr fragile, große Molekülkomplexe bis hin zu einzelnen Viren[81] geladen ins Vakuum zu überführen. Hierbei ist es möglich Ionen mit einer energetischen Verteilung entsprechend der Raumtemperatur (300 K) zu erzeugen. Spektroskopie an solchen Ionen jedoch führt, durch die hieraus folgende vielfältige Besetzung von Rotations- und Vibrationsniveaus, zu ungenügend aufgelösten Spektren. Um die Ionen anschließend kühlen zu können, bietet sich die Technik der Puffergaskühlung in einer kryogenen Ionenfalle an. Hierbei agiert das Puffergas als thermisch leitendes Medium zwischen den kalten Fallenwänden und den gefangenen Ionen. Dadurch werden nicht nur die inneren Freiheitsgrade der Ionen reduziert, sondern auch deren mittlere kinetische Energie verringert. Gleichzeitig kann diese Methode dazu benutzt werden, eine hohe Zahl von Ionen in einer solchen Falle zu fangen, welche nur durch die Raumladungsgrenze ($\leq 10^7$ Ionen/cm^3)[22] limitiert ist.

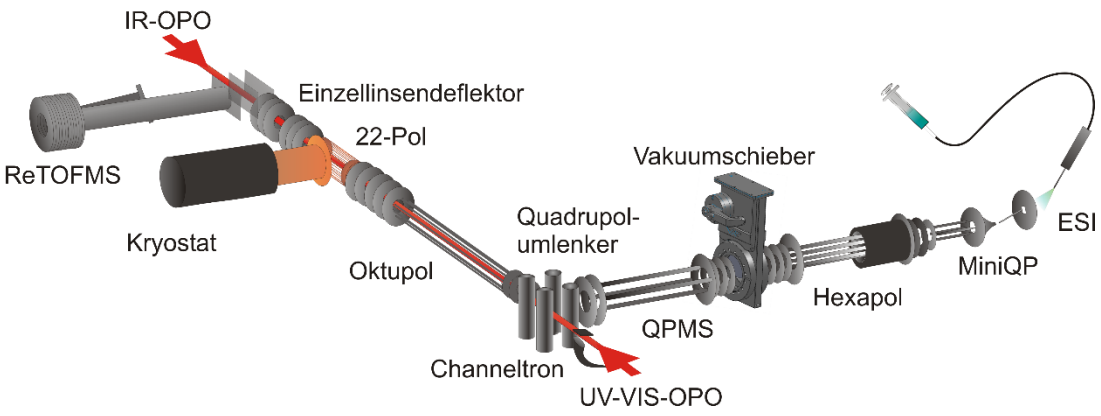

Abbildung I.1.1. Das BerlinTrap Experiment: Ionen werden in der ESI-Quelle erzeugt und in den MiniQP geleitet. Nachdem sie dort auf 300 K thermalisieren, werden sie durch eine/n Hexapol-Ionenleiter/Reaktionszelle geleitet. Im anschließenden QPMS wird das gewünschte Molekülion herausgefiltert und gelangt anschließend über den Oktupol Ionenleiter in die kryogene 22-Pol Falle, welche auf einen geschlossenen 4 K Kryostaten montiert ist. Hier werden die Ionen gefangen und mittels Puffergaskühlung heruntergekühlt. Die anschließende Laserbestrahlung durch den IR bzw. UV-VIS-OPO führt bei resonanter Photonenabsorption zu einer Fragmentierung der Ionen (-komplexe). Resultierende Fragmentationsprodukte werden im ReTOFMS detektiert. Mit Hilfe des Channeltrons können die im QPMS selektierten Massen detektiert werden, ohne den gesamten Aufbau bis zum ReTOFMS passieren zu müssen.

In der Praxis werden hauptsächlich zwei verschiedene Arten kryogener Fallen mit Puffergaskühlung verwendet, die mit unterschiedlichsten Ionenquellen kombiniert werden. Das sind zum einen lineare Multipolfallen[45–47,52,54,56,82–88] und Ringelektronenfallen,[89–91] zum anderen 3D-Paul Fallen.[44,45,53,84,92,93] Bevor Ionen in die Falle

geleitet und nachdem sie wieder extrahiert werden, bedarf es zur weiteren Analyse häufig einer Massenselektion, da die in der Falle gekühlten Ionen durch anschließende Reaktionen, wie photo- bzw. stoßinduzierte Fragmentation, verändert werden können. Aus diesem Grund werden vor allem lineare Fallen (mit 4, 6, 8 16 oder 22 Elektroden) häufig mit einem oder mehreren Massenspektrometern kombiniert.[45–47,52,54,56,82–88] Jedoch können, sofern ein QPMS für den Ionennachweis nach der Falle eingesetzt wird, nicht alle Reaktionsprodukte simultan in einem Messzyklus detektiert werden. Das Auffinden der Vielzahl von Fragmenten, die bei der Photodissoziation großer Biomoleküle in der Regel entstehen, wird somit zu einer sehr komplexen Aufgabe. Dies ist jedoch von bedeutendem Interesse, denn deren Verteilung kann Rückschlüsse über die Fragmentationswege einer Spezies bzw. einzelner Isomere geben[84,94]. Einige Forschungsgruppen lösen dieses Problem indem sie eine 3D-Paul-Falle,[44,45,53,84,92,93,95] eine Ringelektrodenfalle[89–91] oder auch eine planare Multipolfalle[96,97] an ein nachgeschaltetes Flugzeitmassenspektrometer koppeln. Hier werden typische Ionentemperaturen von 10-50 K erreicht. Auch die Kombination einer kryogenen Hexapolionenfalle (26 K) in Verbindung mit einem Fouriertransformations-Ionenzyklotronresonanz-Massenspektrometer (FT-ICRMS) wird zur Spektroskopie von Ionenkomplexen genutzt.[98] Für lineare Multipolfallen hingegen werden bisher Temperaturen von 10 K in einem 22-Pol[87], 10-20 K in einer Quadrupol-[99,100] und 4 K in einer Drahtvierpolfalle[46] erreicht.

Die Kopplung einer linearen Multipolfalle, insbesondere eines 22-Pols an ein orthogonal zur Ionenflugrichtung angeordnetes Reflektron-TOFMS (ReTOFMS) wird, soweit bekannt, erstmals für diese Dissertation entwickelt und erfolgreich angewendet. Diese Kombination erlaubt die simultane Detektion aller bei der Photodissoziation resultierenden Fragmentionen und zwar bei sehr tiefen Ionentemperaturen in der 22-Pol Falle und bei prinzipiell hoher Massenauflösung der Fragmentationskanäle im ReTOFMS. Aus diesem Grund wird diese neuartige Kombination als die bestmögliche für die spektroskopische Analyse von Molekülionen und deren Komplexe (hier speziell Flavinen) gewählt.

Die aus den Planungen entstandene BerlinTrap-Apparatur (Abbildung I.1.1) besteht aus einer Elektrosprayquelle, die zusammen mit einem kleinen Quadrupol (MiniQP) eine Einheit bildet. An Letzteren ist ein Hexapol-Ionenleiter gekoppelt. Dieser ist mit einer Metallhülle versehen, um ihn optional als Puffergas- und Reaktionszelle nutzen zu können. Ein nachfolgendes QPMS dient zur Massenselektion der gewünschten Molekülionen. Diese werden anschließend über einen Quadrupolumlenker entweder auf einen Channeltron-Detektor geleitet (hier erfolgt die Analyse der ESI Produkte) oder aber über einen Oktupol-Ionenleiter in Richtung 22-Pol Falle gelenkt, in

der sie gefangen und gekühlt werden. Nach dem Aufenthalt im 22-Pol werden die Ionen in Richtung eines orthogonalen ReTOFMS transportiert. Die Bestrahlung der Ionenwolke erfolgt idealerweise im Extraktionsbereich des ReTOFMS. Die hier entstehenden Fragmentationsprodukte werden abschließend am Vielkanalplattendetektor (MCP) des ReTOFMS massenaufgelöst detektiert. Die resultierende Apparatur ist so konfiguriert, dass sie in Kombination mit den zur Verfügung stehenden unterschiedlichen transportablen Lasersystemen (UV-VIS-, und IR-OPOs, Farbstofflaser) eine Vielzahl laserspektroskopischer Untersuchungen an verschiedensten Ionenkomplexen ermöglicht.

Teil I dieser Dissertation befasst sich mit der Planung, dem Aufbau und der Entwicklung einzelner Komponenten für die BerlinTrap-Apparatur. In Kapitel I.2 werden die einzelnen Komponenten detailliert vorgestellt, während in Kapitel I.3 Messergebnisse beschrieben werden, die die Leistungsfähigkeit der Apparatur demonstrieren. Die gewonnenen Ergebnisse werden in Kapitel II.4 zusammengefasst und ein Ausblick auf weiterführende Arbeiten gegeben.

2. Aufbau und Funktion der BerlinTrap Komponenten

Dieses Kapitel behandelt die Planung und den Aufbau der einzelnen Komponenten der errichteten BerlinTrap-Apparatur (Abbildung I.1.1.). Dabei werden die Besonderheiten der einzelnen Elemente und ihrer technischen Umsetzung beschrieben, sowie eine kurze theoretische Einführung ihrer Funktionsweisen gegeben. Des Weiteren werden Testmessungen dargestellt, welche die Funktions- und Leistungsfähigkeit der einzelnen Komponenten nachweisen. Die Reihenfolge folgt dabei dem Weg der Ionen durch die Apparatur, angefangen bei der ESI-Quelle mit MiniQP über den Hexapol, den QPMS mit Umlenker, den Oktupol, der 22-Pol Falle bis hin zum ReTOFMS. Anschließend wird die zeitliche Abfolge des Experimentes beschrieben. Diesem folgt ein Abschnitt, indem auf die Herstellung der Radiofrequenzgeneratoren einiger Multipolfallen (MiniQP und 22-Pol) eingegangen wird. Schließlich wird beschrieben, welche Strategien bei der Vakuumerzeugung sowie der Gasversorgung gewählt wurden. Abschließend werden die verwendeten Lasersysteme vorgestellt und es wird auf das gesamte Signalverarbeitungssystem inclusive der verwendeten Ionendetektoren eingegangen.

2.1 Elektrospray-Ionisationsquelle mit Mini-Quadrupol

Dieser Abschnitt befasst sich mit der in der BerlinTrap-Apparatur eingesetzten ESI-Quelle. Diese besitzt die Möglichkeit, große und fragile Moleküle zu ionisieren, die auf herkömmlichen Weg schwer bis gar nicht in die Gasphase zu überführen sind. Hierbei scheint der Größe der zu ionisierenden Spezies fast keine Grenze gesetzt zu sein. Masse-zu-Ladung-Verhältnisse (m/z) von 10^5 stellen keine Hürde dar.[101] Die Ausführung einer solchen Quelle kann in vielfältiger Weise umgesetzt werden, wobei das Grundprinzip jedoch immer erhalten bleibt (Abbildung I.2.1.).

Jede ESI-Quelle besteht aus einer spitzen Kapillare, an der gegenüber einer Gegenelektrode eine hohe elektrische Spannung im kV Bereich angelegt wird. In dieser Kapillare befindet sich eine Lösung mit der zu ionisierenden Analytspezies. Durch die hohe Spannung zwischen Sprühkapillare und Gegenelektrode und dem daraus resultierenden hohen elektrischen Feld E_s kommt es zu einer elektrophoretischen Trennung der sich in der Lösung befindenden Ladungsträger. Dies führt zu einer hohen Ladungskonzentration an der Kapillarenspitze. Die Ladungsträger

selbst sind in der Regel durch eigendissoziative Vorgänge bereits in der Lösung enthalten, können aber durch Zugabe dissoziationsfördernder Chemikalien wie Säuren, Basen, Salze und anderer Verbindungen vervielfacht werden.

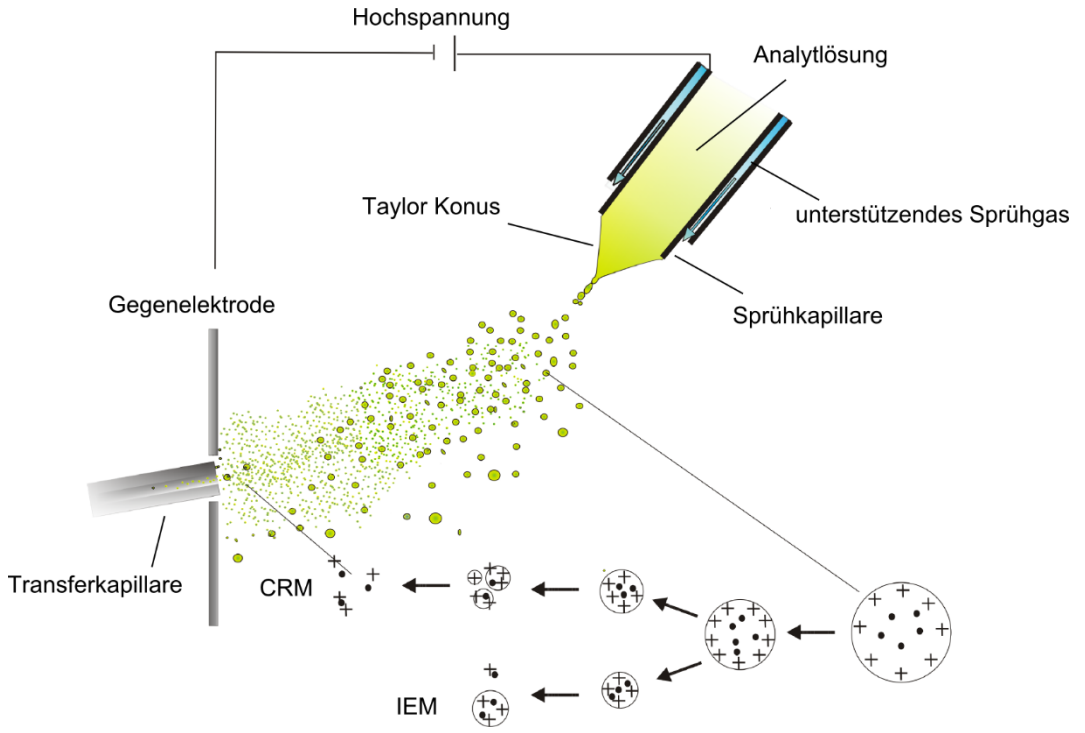

Abbildung I.2.1. Schema zur Beschreibung des ESI-Prozesses. Bei der Elektrosprayionisation werden mittels Hochspannung aus einer sich in einer Sprühkapillare befindlichen Analytlösung kleine hochgeladene Tröpfchen emittiert, die auf dem Weg zur Gegenelektrode durch Lösungsmittelverdampfung schrumpfen. Ab einer gewissen Ladungsdichte kommt es entweder zur Coulombexplosion (CRM Modell) oder zur Emission einzelner Ionen bzw. Cluster (IEM). Dieser Vorgang wiederholt sich mehrfach. Über die Transferkapillare werden die erzeugten (nackten) Ionen dann ins Vakuum überführt.

Durch die hohe Feldstärke an der Spitze der Sprühkapillare werden diese Ladungsträger von der Gegenelektrode angezogen, können die Lösung jedoch nicht auf direktem Weg verlassen. Durch die Oberflächenspannung im Gleichgewicht gehalten, bildet die hochgeladene Flüssigkeit aufgrund der elektrostatischen Anziehung einen sogenannten Taylorkonus (Abbildung I.2.1). An dessen Spitze wiederum erhöht sich die Ladungsträgerkonzentration so stark, bis die Anziehungskraft die Oberflächenspannung übersteigt und sich einzelne hochgeladene Tropfen ablösen. Auf dem Weg Richtung Gegenelektrode verdampft das Lösungsmittel und die Tropfen werden kleiner. Die Ladung bleibt jedoch erhalten, wodurch sich die Ladungsdichte stetig erhöht. Steigt diese über das Rayleigh-Limit,[102] kann die Oberflächenspannung die Ladungsträger nicht mehr im Tropfen halten. Dieser bricht in mehrere

Teile bis das Rayleigh-Limit wieder unterschritten wird. Dieser Vorgang wird Coulomb-Explosion genannt. Der Zusammenhang zwischen Oberflächenspannung und Ladung ergibt sich aus der Rayleigh-Gleichung:[102]

$$\mathrm{q} = 8\pi \sqrt{\epsilon_0 \gamma \, \mathrm{r}^3} \tag{I.2.1}$$

Hierbei sind *q* die Ladung des Tropfens, ϵ_0 die Permittivität des Vakuums, γ die Oberflächenspannung des Lösungsmittels und *r* der Tropfenradius. Durch die Größenverteilung der Tröpfchen nach der Coulomb-Explosion bilden sich kleine, hochgeladene Tröpfchen, die so genannten *offspring droplets* aus. Diese besitzen zwischen 2 und 5 % der Muttertröpfchengröße, jedoch bis zu 20 % der entsprechenden Ladung[103,80] wodurch diese hauptsächlich an der Ionenbildung beteiligt sind. Die zurückbleibenden großen Tropfen beinhalten einen Großteil an gepaarten Ladungen. Der aufgezeigte Prozess der Tröpfchenverkleinerung durch Coulomb-Explosion am Rayleigh-Limit ist vielfach experimentell bestätigt.[80,104–106] Er wiederholt sich mehrfach und führt zu sehr kleinen Tröpfchen, Clustern und schließlich zu einzelnen isolierten atomaren bzw. molekularen Gasphasenionen.

Die Bildung isolierter gasförmiger Ionen aus den Mikrotropfen mittels ESI wird derzeit von zwei Modellen beschrieben. Im Modell des geladenen Rückstandes (charge residue model, CRM)[107] wird davon ausgegangen, dass sich die Coulomb-Explosion so lange fortsetzt, bis in den Mikrotropfen nur noch ein Analytmolekülion übrigbleibt. Durch das Abdampfen des Lösungsmittels bleibt schließlich nur das Analytmolekülion übrig. Beim Ionenemissionsmodell (ion evaporation model, IEM)[108,109] hingegen ist es bei einer gewissen Tröpfchengröße möglich, das Analytmolekülion auf direktem Weg zu emittieren.[110] Die Wahl des jeweils passenden Models hängt dabei von der Größe des jeweiligen Analytions ab. Größere Ionen werden bevorzugt nach dem CRM gebildet, während kleine Moleküle eher nach dem IEM entstehen.[80] Nach Vollendung des ESI-Prozesses werden die erzeugten Ionen im Allgemeinen über eine kleine Apertur in Form einer Blende, einer Transferkapillare (TK) oder am Ende eines Ionentrichters (*ion funnel*) ins Vakuum überführt.

Die hier verwendete ESI-Quelle ist einer kommerziellen Massenspektrometrieanlage (1200 GC/MS und LC/MS/*Varian)*) entnommen (Abbildung I.2.2). Mit Hilfe von Adapterflanschen und der Konstruktion einer geeigneten Vakuumkammer kann sie an die Vakuumanlage der restlichen Apparatur montiert werden. Die Quelle besteht

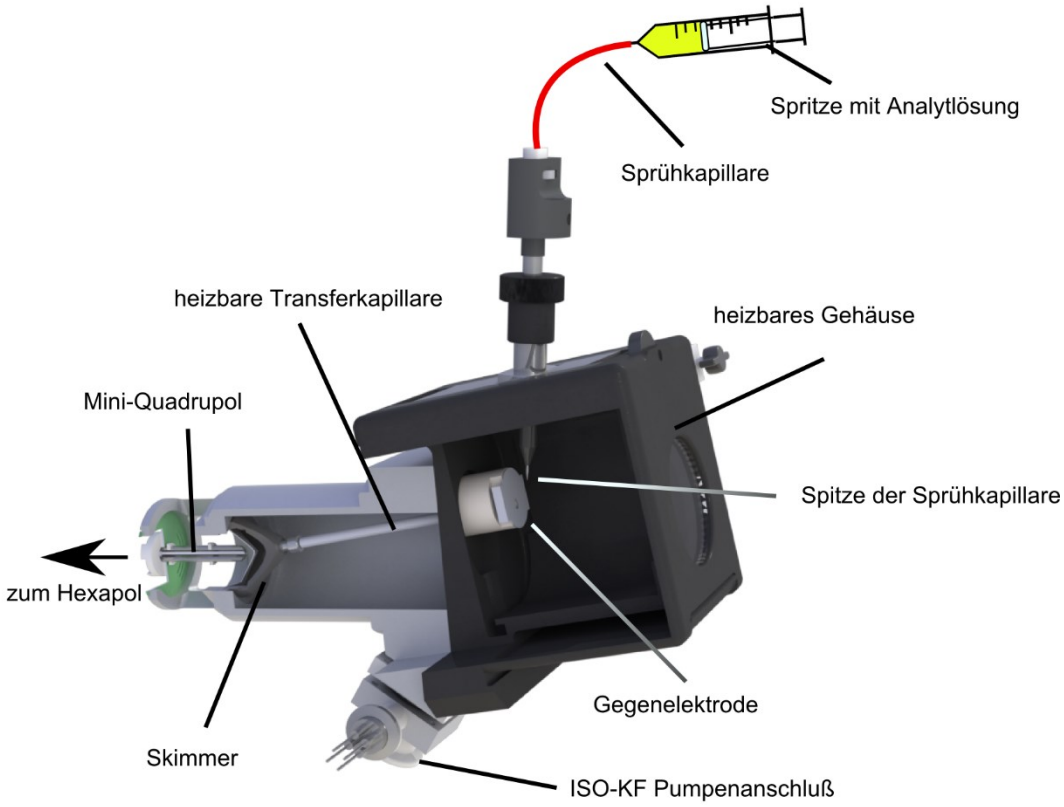

Abbildung I.2.2. Konstruktionszeichnung einer aus einer *Varian* 1200/1200L GC/MS und LC/MS Apparatur entnommenen Elektrosprayionisationsquelle. Über die Sprühkapillare wird mit Hilfe einer Spritze die Analytlösung eingebracht. Zwischen der Spitze der Sprühkapillare und der Gegenelektrode findet der Elektrospray-Prozess statt. Die erzeugten geladenen Ionen und Cluster werden über die Transferkapillare (TK) ins Vakuum überführt. Der Skimmer trennt einen Großteil der neutralen Partikel von den Ionen. Letztere werden im Mini-Quadrupol (MiniQP) aufgefangen, thermisch akkumuliert und anschließend weitergeleitet.

aus einer Sprühkapillare, die in einem Winkel bezüglich einer Gegenelektrode angeordnet ist. Solch eine gewinkelte Konstruktion bietet gegenüber der frontalen Anordnung den Vorteil, dass kein direkter Lösungsmittelstrahl in die Öffnung der nachfolgenden TK gelangt. Die Sprühkapillare selbst ist in einer zusätzlichen Kapillare eingebettet (Abbildung I.2.1) über die ein Zerstäubergas (N_2) mit üblichen Flussraten von 0,3 bis 1 l/min geleitet werden kann, um die Tröpfchenbildung zu unterstützen. Ein heizbares N_2-Trockengas (max. 300°C) welches das Verdampfen des Lösungsmittels in den Tröpfchen begünstigen soll, wird durch eine Öffnung aus der Gegenelektrode geleitet und strömt mit Flussraten von 4 bis 8 l/min entgegengesetzt der Tröpfchenflugrichtung. Die Gegenelektrode selbst bildet ein dünnes Blech mit einer etwa 5 mm großen Apertur. Durch diese können die Ionen in die sich dahinter befindende TK gelangen. Diese ist ein 15 cm langes Rohr, mit einem Innendurchmesser von 500 µm, welche in einem Winkel zur späteren Ionenstrahlachse

angeordnet ist. Die TK endet in einem Kunststoffhalter, der mit einer einstellbaren metallischen Aufnahmevorrichtung versehen ist. Mit dieser lässt sich der Abstand zwischen TK und dem nachfolgenden Skimmer regeln. Hierdurch ist es möglich, die Strömung des aus der TK tretenden Gases zu leiten und zu optimieren. Auch das Skimmerpotential ist nach einem Umbau veränderbar. Eine Spannungsänderung wiederum hat erheblichen Einfluss auf die Erzeugung bzw. Fragmentierung von Ionenkomplexen.
Die gewinkelte Anordnung von TK und Skimmer verhindert das direkte Eindringen des aus der Kapillare kommenden Molekularstrahls in den Hochvakuumbereich der nächsten Kammern und damit unnötigen Gasballast. Hinter dem Skimmer ist ein kleiner Quadrupol (MiniQP) montiert (Abbildung I.2.2. und I.2.3.a), dessen Polstäbe an die Form des Skimmers angepasst sind. In dieser kleinen linearen Quadrupolfalle werden die Ionen gefangen, akkumuliert und über Stöße mit dem Hintergrundgas auf T = 300 K thermalisiert, bevor sie in die nachfolgenden Bereiche transferiert werden. Die gesamte ESI-Quelle mit Skimmer und MiniQP ist als eine Einheit zu betrachten und kann komplett aus der BerlinTrap-Apparatur z. B für Wartungszwecke herausgenommen werden.

Resolvatation beim Übergang zwischen Transferkapillare und Skimmer

Wie oben erwähnt, stellt der Übergang zwischen TK und Skimmer einen wichtigen Bereich für die Erzeugung gewünschter Ionen, deren Fragmente sowie verschiedener Komplexe dar. Zum einen spielen hier Prozesse der Clusterbildung durch das Abkühlen des Gases bei der Überschallexpansion eine Rolle, zum anderen die Stoßfragmentation durch die Beschleunigung von Ionen in einem elektrischen Feld. Durch den ESI-Prozess gelangen zusätzlich zu den generierten Ionen auch Lösungsmitteltropfen, Cluster sowie die Trockenluft in die TK. Beim Eindringen wird das strömende Gas stark beschleunigt, bis es Schallgeschwindigkeit erreicht und somit Verblockung auftritt. Der kritische Druck, der durch die Verblockung entsteht und der innerhalb der Kapillare nicht unterschritten werden kann, ergibt sich bei turbulenter Strömung aus[111]

$$p^* = 1{,}92 \cdot \frac{1}{a \cdot d} \cdot \left(\frac{\bar{c}^6}{\eta}\right)^{\frac{1}{7}} \cdot \left(\frac{d^3 \cdot p_1^2}{2L}\right)^{\frac{4}{7}}, \qquad \text{(I.2.2)}$$

mit d dem TK-Durchmesser (500 µm), p_1 dem Druck vor der Leitung (1 bar), L der Rohrlänge (15 cm), a der Schallgeschwindigkeit, η der Viskosität und $\bar{c}$ der mittleren

thermischen Geschwindigkeit innerhalb des Gases. Bei Verwenden von Stickstoff und Aufheizen des Gehäuses auf 40°C ergibt sich für die verwendete ESI-Quelle ein Verblockungsdruck von p* = 370 mbar. Unter diesem Druck expandiert das Gas anschließend adiabatisch in das Vakuum, wodurch es stark abkühlt. Eine Überschallexpansion findet statt, wenn die Bedingung:

$$p^* \geq 2p_0, \tag{I.2.3}$$

erfüllt ist, wobei p_0 den Druck der Kammer darstellt, in die das Gas expandiert. In Abbildung I.2.3 b) ist die Struktur einer solchen Expansion dargestellt. In diesem Bereich hinter der TK kommt es durch Stöße innerhalb des Molekularstrahls zu einer Angleichung der Molekülgeschwindigkeiten. Gleichzeitig sinken die Temperaturen der inneren Freiheitsgrade. Nach kurzer Überschallexpansion verdichtet sich so viel Materie, dass es zur Ausbildung eines Machkegels kommt. Das Gas wird auf Unterschallgeschwindigkeit abgebremst und wieder aufgeheizt. Auch die gerichtete Bewegung des Molekularstrahls geht hier in eine diffuse ungerichtete Bewegung über. Die Distanz vom Ausgang der TK mit Durchmesser d zum Machkegel kann mittels

$$x_m = 0{,}67d\sqrt{\frac{p^*}{p_0}} \tag{I.2.4}$$

berechnet werden. Für die im Experiment verwendeten typischen Drücke von p_0 = 5 mbar ergibt sich ein Abstand von x_m = 3 mm. Durch die starke Abkühlung innerhalb dieses Bereiches kann es zu einer Wiederanlagerung von Lösungsmittel-, sowie Gasmolekülen aus der Umgebung an die Molekülionen kommen. Wird der Abstand des Skimmers von der TK also innerhalb dieses Bereiches gewählt, erhöht sich die Wahrscheinlichkeit Ionenkomplexe zu generieren. Liegt das Interesse bei einzelnen isolierten Ionen, ist der Skimmer-TK Abstand hingegen größer einzustellen.

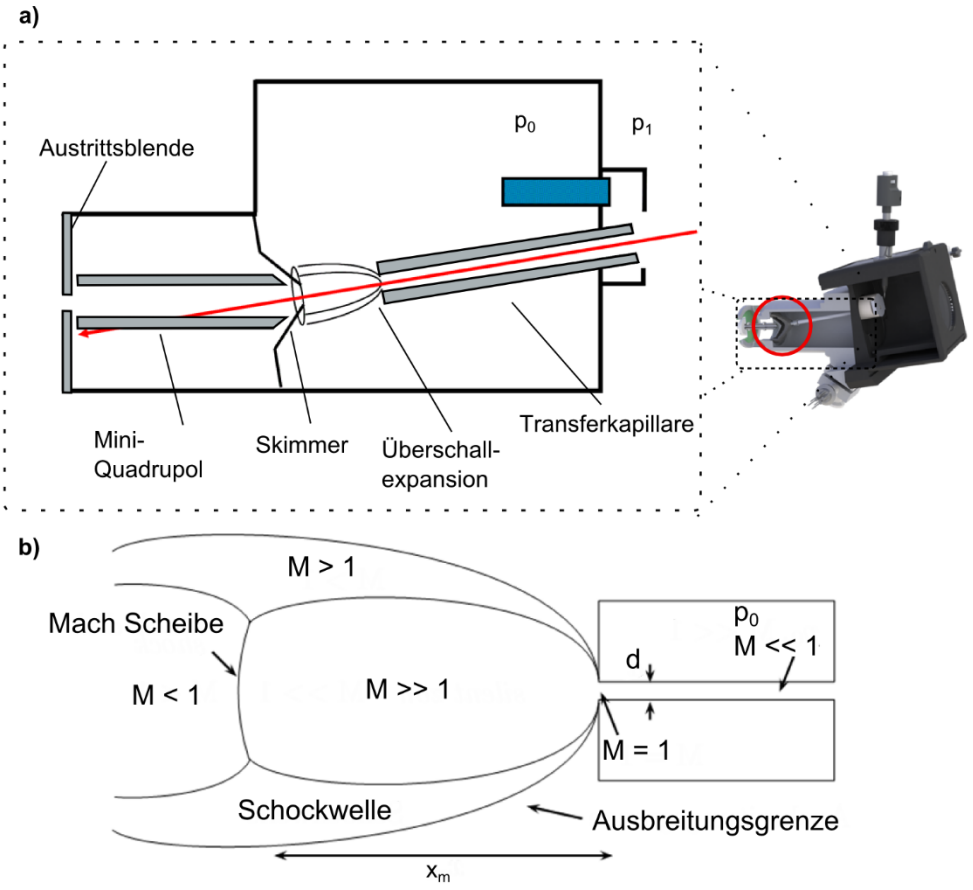

Abbildung I.2.3. a) Bereich der Überschallexpansion des Trägergases in der verwendeten ESI-Quelle. **b)** Vergrößerte Ansicht des Expansionsbereiches aus der Transferkapillare. Die Gasgeschwindigkeiten sind durch die Machzahl M gekennzeichnet. Innerhalb der Kapillare bewegt sich das Gas unter dem Verblockungsdruck p_0 mit Unterschallgeschwindigkeit. Beim Übergang ins Vakuum kommt es aufgrund des Druckgradienten $p_0 < p_1$ zur Überschallexpansion des Gases.(Bild adaptiert aus Referenz [112])

In der anfänglichen Version der Quelle war $p_0 \approx 0{,}1$ mbar, also mehr als eine Größenordnung kleiner als der aktuelle Wert von 5 mbar, bei gleichem Skimmerabstand. Die Ionen wurden dadurch soweit heruntergekühlt, dass die resultierenden Cluster Größen annahmen, die oberhalb des selektierbaren Messbereiches des QPMS (m/z < 1000) lagen.

Fragmentation beim Übergang zwischen Transferkapillare und Skimmer

Ein anderer Effekt, der beim Übergang von Molekülionen ins Vakuum beobachtet werden kann ist die Stoßfragmentation, die durch die Ionenbeschleunigung im elektrischen Feld zwischen TK und Skimmer hervorgerufen wird. Diese stoßinduzierte Dissoziation erfolgt durch das Erhöhen der Spannung zwischen TK und Skimmer. Ionen werden in diesem Feld beschleunigt und stoßen im Mittel nach ei-

ner freien Weglänge $\Delta S_{frei} \sim 1/p_0$ mit den Restgasteilchen.[111] Hierbei verlieren sie einen Teil der kinetischen Energie und werden wieder beschleunigt. Ist die mittlere freie Beschleunigungslänge ΔS_{frei} groß, kann genug kinetische Energie aus dem Feld gewonnen werden, um das Molekülion beim Restgasstoß zu dissoziieren. Die angelegten Potentiale, in Kombination mit dem Druck und dem Abstand des Skimmers zur TK, lassen also eine Steuerung der Fragmentierung und auch der Clusterbildung zu. Eine quantitative Beschreibung dieses Sachverhaltes kann jedoch nicht einfach durchgeführt werden, da die aus den Potentialen resultierenden Felder wegen der Formen des Skimmers und des Abschlusses der TK sehr komplex sind. Des Weiteren müssten die relativen Geschwindigkeiten des Gases in Bezug zum Skimmer bei der Expansion ins Vakuum mitberücksichtigt werden. Veranschaulicht wird die Stoßfragmentation von Molekülionen zwischen TK und Skimmer anhand von Messungen an protoniertem Dopamin in Abbildung I.2.4.

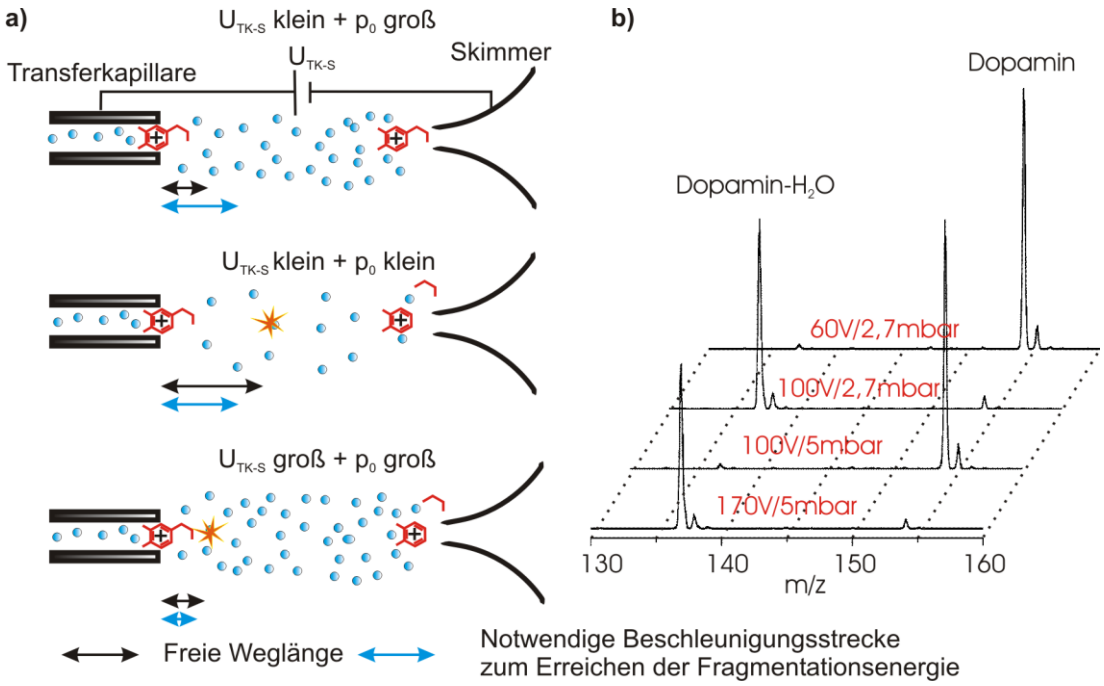

Abbildung I.2.4. a) Stoßinduzierter Dissoziationsvorgang beim Übergang von der Transferkapillare zum Skimmer. Die freie Weglänge, die ein Ion hier besitzt, bevor es im Mittel mit einem Gasmolekül zusammenstößt, muss so groß sein, dass aus der Beschleunigung innerhalb dieser Strecke so viel kinetische Energie gewonnen wird, dass diese beim Stoß zur Dissoziation des Ions ausreicht. **b)** Fragmentation von protoniertem Dopamin (m/z 154) bei unterschiedlichen Spannungen und Drücken. Im obersten Massenspektrum (U_{TK-S} = 60 V, p_0 = 2,7 mbar) reicht die Beschleunigung für eine Dissoziation nicht aus, bei Erhöhung der Spannung auf 100 V kommt es zur Fragmentbildung (m/z 136). Weiteres Erhöhen des Druckes auf 5 mbar führt wiederum zum Verschwinden des Fragmentsignals. Nochmaliges Erhöhen der Spannung auf 170 V ruft die Dissoziation wieder hervor.

Mini-Quadrupol (MiniQP)

Wie in Abbildung I.2.5 dargestellt gelangen die Ionen nach Passieren des Skimmers in einen MiniQP. Hier können sie gefangen werden, indem an die vier Quadrupolstäbe eine charakteristische Wechselspannung und zusätzlich eine für alle Pole einheitliche Gleichspannung (U_{Bias}) angelegt wird. Die theoretische Betrachtung von Multipolfallen und die Darstellung aller geometrischen Parameter der verwendeten Multipole erfolgt in Kapitel I.2.9. An den Enden des MiniQP werden Skimmerspannung (U_{Skim} = 10–20 V) und Endkappenspannung, (Falle geschlossen U_{endk} = 5–20 V, Falle offen $-U_{endk}$ = 10–25 V) auf höhere Werte verglichen zur konstanten Biasspannung (typisch 5 V) gelegt.

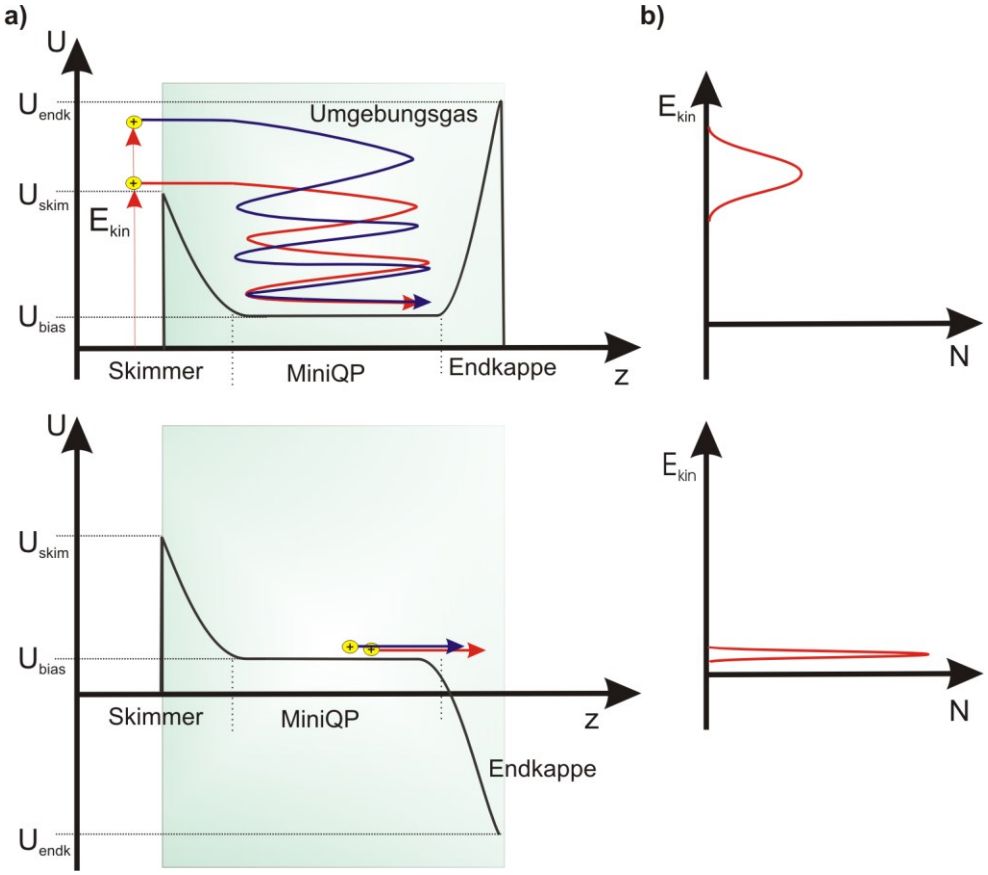

Abbildung I.2.5. Demonstration des Prinzips des Fangens und Thermalisierens von Ionen unterschiedlicher kinetischer Energien am Beispiel des MiniQP. **a)** Die Ionen passieren das Skimmerpotential (Eingang), verlieren durch Kollisionen mit dem Umgebungsgas (Stoßgas) Energie, können hierdurch das Endkappen- und Skimmerpotential nicht mehr überwinden und sind dadurch im MiniQP gefangen. Durch Herabsetzen der Endkappenspannung am Fallenausgang können die Ionen die Falle verlassen. **b)** Die Energieverteilung beim Einlass in die Falle (oben) und nach der Thermalisierung beim Fallenaustritt (unten).

Durch den hohen Druck in der MiniQP-Kammer von ~ $5 \cdot 10^{-3}$ mbar kommt es zu einer Vielzahl von Kollisionen (ca.120 s^{-1}) der Ionen mit dem Umgebungsgas, wodurch sich deren kinetische Energie verringert. Durch diesen Energieverlust können sie das konstante Eingangspotential des Skimmers nicht mehr passieren und sind somit im MiniQP gefangen. Durch weitere Stöße mit dem Umgebungsgas kommt es zur Thermalisierung auf Umgebungstemperatur. Zur Extraktion aus dem MiniQP wird abschließend ein attraktives Potential an die Endkappe angelegt, wodurch die Ionen in die nachfolgende Hexapolkammer gezogen werden. Um das Skimmerpotential vom Erdpotential zu entkoppeln und variabel zu gestalten, wurde eine Kaptonscheibe zwischen Skimmerfixierung und dem Skimmer selbst eingebaut. Um den Skimmer mit Spannung zu versorgen, wurde zudem ein Draht angeschweißt.

Nachdem die Ionen den MiniQP verlassen, passieren sie den nachfolgenden Hexapol und das QPMS (Abbildung I.1.1), bevor zum ersten Mal die Möglichkeit besteht sie mit einem Channeltron zu detektieren. Durch schrittweises Erhöhen der Feldachsenspannung (Bias) des Hexapols und gleichzeitiges Messen des transmittierten Ionensignals, lässt sich die kinetische Energie der im MiniQP gespeicherten Ionen bestimmen.

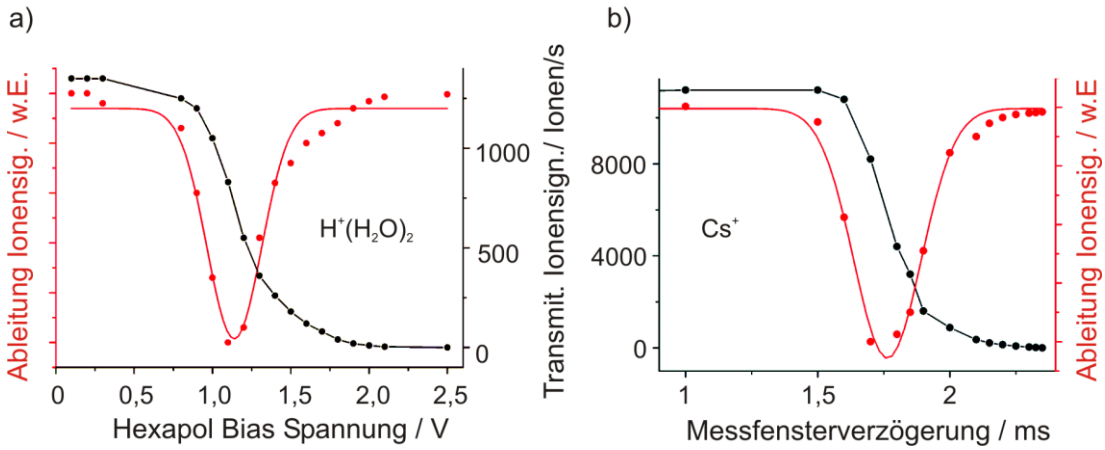

Abbildung I.2.6. Eigenschaften des Ionenpulses nach Extraktion aus dem MiniQP. **a)** Energieverteilung von $H^+(H_2O)_2$ bei der Transmission durch den Hexapol (Energiemittelwert (1,14 ± 0,01) eV, Halbwertsbreite (0,41 ± 0,02) eV, **b)** Flugzeitmessung zwischen der MiniQP Extraktion und der Detektion im Channeltron. Hierbei wurde die Verzögerung, in der das Messfenster von 50 ms offen war, schrittweise vergrößert (mittlere Flugzeit (1763 ± 5) µs, Ionenpulsbreite (300 ± 15) µs). Die Fehler ergeben sich aus den gefitteten Gaußkurven.

Die Ableitung des transmittierten Signals führt direkt zur Energieverteilung der Ionen (Abbildung I.2.6.a). Eine repräsentative Messung am $H^+(H_2O)_2$-Komplex ergibt eine

kinetische Energie bezüglich des Erdpotentials von E_{kin} = (1,14 ± 0,01) eV mit einer Halbwertsbreite der Energie von ΔE_{kin} = (0,41 ± 0,02) eV. Eine geringe Ionenenergieverteilung sorgt zum einen für eine verbesserte Fokussierung durch elektrostatische Linsen (verringerte chromatische Aberration), zum anderen für eine bessere Transmission durch den anschließenden Quadrupolumlenker. Außerdem wird hierdurch auch die Fangeffizienz im später folgenden 22-Pol erhöht.

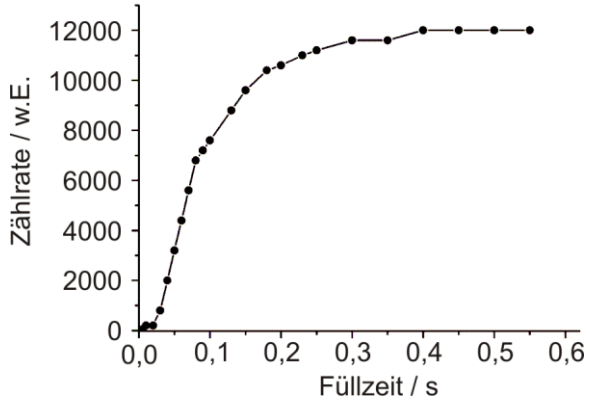

Abbildung I.2.7. Füllzeitmessung des MiniQP. Ionen gelangen kontinuierlich in den MiniQP. Die Füllzeit gibt an, wie lange die Austrittsblende dabei geschlossen bleibt. Nach dem Öffnen des MiniQP wird das Ionensignal anschließend am Channeltron detektiert. Die maximal speicherbare Ionenzahl wird nach 0,4 s erreicht.

Ein weiterer Aspekt ist die Flugzeit, welche die Ionen vom Ausgang des MiniQP benötigen, um den Channeltron-Detektor zu erreichen (Abbildung I.2.6.b). Hierzu wird das zeitliche Messfenster, welches synchron mit der Endkappenspannung des MiniQP gekoppelt ist, schrittweise verfahren (analog einem Schneidescan in der Laseroptik) und die gemessene Intensität aufgezeichnet. Repräsentativ für Cs^+ zeigt sich, dass die Ionen eine Flugzeit von deutlich mehr als 1 ms benötigen, um das Channeltron zu erreichen. Es wird außerdem deutlich, dass die Pulsbreite, trotz der MiniQP Öffnungszeit von 1,5 ms, nur circa 300 µs lang ist. Diese Werte dienen zur Abschätzung der für das Fangen der Ionen im 22-Pol nötigen zeitlichen Abläufe. Die Höhe der am Channeltron detektierbaren Ionenzählrate hängt davon ab, wie lange Ionen im MiniQP akkumuliert werden (Abbildung I.2.7). Nach einer Akkumulationszeit von etwa 0,4 s gelangt die Ionenzählrate (hier Cs^+) am Channeltron-detektor in die Sättigung. Nach nur 0,1 s kann immer noch 2/3 der maximalen Ionenzählrate am Channeltron detektiert werden. Somit verliert man bei einer Betriebsfrequenz der BerlinTrap von 10 Hz nur ungefähr 1/3 der maximal möglichen Ionenzählrate. Wegen des nichtlinearen Verhaltens dieses Anstieges ist es somit von Vorteil das

Ionensignal mehrmals hintereinander zu mitteln, als dieses durch die Füllzeit des MiniQPs zu maximieren.

2.2 Hexapol-Falle und Reaktionszelle

Nach der Extraktion aus dem MiniQP gelangen die geladenen Teilchen in einen nachfolgend montierten, selbstgebauten Ionenleiter, den Hexapol (Abbildung 2.7). Dieser ist zusätzlich mit einem Gehäuse umgeben, in das über ein gepulstes Ventil (Pulsed Valve Series 9/*Parker*) Puffergas eingeleitet werden kann. Primär dient der Hexapol zur Überbrückung einer differentiellen Pumpstufe, die den notwendigen Druck von $< 4 \cdot 10^{-5}$ mbar in der nachfolgenden QPMS-Kammer gewährleistet. Durch das umgebende Gehäuse ergibt sich zudem die Möglichkeit Ionen auch im Hexapol zu fangen. Hierdurch können bereits an dieser Stelle Kollisionsexperimente durchgeführt werden indem ein eingelassenes Puffergas mit den ESI generierten Ionen wechselwirkt. Durch einen zusätzlichen optischen Zugang entlang der Hexapolachse sind zudem lichtinduzierte Reaktionen realisierbar.[113] Die hier erzeugten Reaktionsprodukte sind mit dem nachfolgenden QPMS massenspektrometrisch analysierbar.

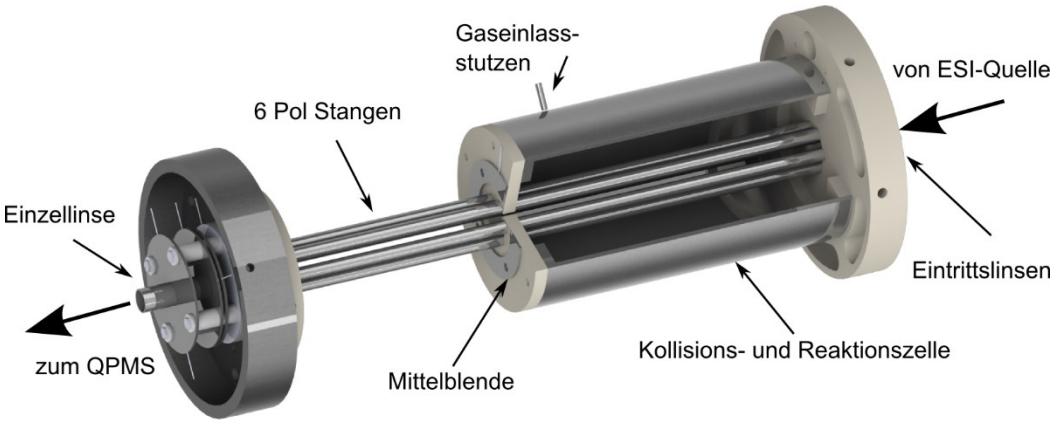

Abbildung I.2.8. Konstruktionszeichnung des Hexapol-Ionenleiters im Schnitt. Die halbe Länge des Hexapols ist mit einer Ummantelung versehen, in welche kurze Gaspulse eingelassen werden können. Die in den Hexapol über Eintrittslinsen eintretenden Ionen können mit diesem Gas kollidieren und somit gefangen werden. Durch geeignete Wahl des Reaktionsgases und des optischen Zuganges können (photo)chemische Reaktionen induziert und anschließend analysiert werden. Bisher dient der Hexapol als einfacher Ionenleiter zur Überbrückung einer differentiellen Pumpstufe.

Den Eingang des Hexapols bildet eine Endkappe, zusammen mit einer elektrostatischen Blende. Gemeinsam mit der Austrittsendkappe des MiniQP sorgen sie für eine Fokussierung des in den Hexapol eintretenden Ionenstrahls. Der Ausgang des Hexapols wiederum besteht aus einer Endkappe, die gepulst betrieben werden kann, gepaart mit einem Einzellinsenstapel. Letzterer führt mit dem Eingangslinsenstapel des darauffolgenden QPMS zur optimalen Strahlparameteranpassung. Gleichzeitig dient er zur Überbrückung der Freiflugstrecke durch den hinter dem Hexapol montierten Vakuumschieber (*VAT*), auf welchen in Kapitel I.2.10 eingegangen wird. Der Innendurchmesser des Hexapols wird mit r_0 = 5 mm so gewählt, dass er zwischen dem des MiniQP (r_0 = 1,6 mm) und dem des QPMS (r_0 = 8,4 mm) liegt. Dies erfordert nach Gleichung (I.2.40) einem Polstangendurchmesser von 5 mm was mehrere praktische Vorteile hat. Die Polstangen können mit hoher Genauigkeit gekauft und müssen nicht aufwändig selbst gefertigt werden. Durch die Dicke der Polstangen besitzt der Hexapol zudem eine sehr hohe Eigenstabilität, wodurch keine zusätzliche Verstärkung erforderlich ist. Außerdem resultieren eventuelle mechanische Spannungen beim Fixieren der Stangen nicht in einer signifikanten geometrischen Verformung. Durch den großen Wert von r_0 im Vergleich zu dem des MiniQP laufen die transmittierten Ionen sehr achsennah, wodurch ungünstige Felder an den Polstangen zudem nicht stark ins Gewicht fallen.
Die Erzeugung der notwendigen Wechselspannung für den Hexapol erfolgt durch einen speziell angefertigten Generator (RFG50-6MHz/*CGC Instruments)*.[114] Dieser liefert eine Frequenz von 6 MHz bei einer maximalen Ausgangsamplitude von 350 V.

Dimensionierung der Kollisions- und Reaktionszelle

Wie zu Beginn des Kapitels beschrieben, ist der Hexapol als Ionenleiter in einer differentiellen Pumpstufe eingeplant. Denn trotz des hohen Druckes in der Kammer der ESI-Quelle von $5 \cdot 10^{-3}$ mbar muss ein Druck von $< 4 \cdot 10^{-5}$ mbar in der QPMS Kammer gewährleistet sein um hier keine Spannungsüberschläge zu erzeugen. Die den Hexapol umgebene Puffergas und Reaktionszelle (Länge l = 238 mm, Polstangendurchmesser d = 5mm, r_0 = 5mm) ist dabei so dimensioniert, dass sie nur den ersten Teil des Hexapols einnimmt. Durch dieses verringerte Volumen ist es möglich, durch Gaspulse kurzzeitig hohe Drücke zu erzeugen, um so die Stoßwahrscheinlichkeit zu erhöhen. Gleichzeitig darf der Druck in der benachbarten QPMS-Kammer nicht über den empfohlenen Maximaldruck von $4 \cdot 10^{-5}$ mbar steigen.

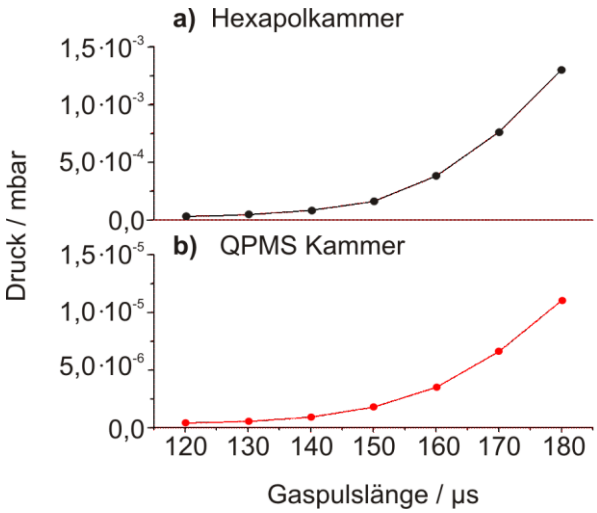

Abbildung I.2.9. Druckwerte bei unterschiedlichen Öffnungszeiten des Puffergasventils im Hexapol **a)** und im QPMS **b)**. Die Drücke entsprechen Mittelwerten (Wiederholfrequenz 10 Hz, Druck am Ventil 1,5 bar, N_2 Puffergas). **a)** Auch bei einem durchschnittlichen Hexapolkammerdruck von $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ mbar übersteigt der in **b)** dargestellte Druck der QPMS Kammer den zulässigen Höchstwert von $4 \cdot 10^{-5}$ mbar nicht.

Die Verbindung zwischen der Zelle und dem gepulsten Puffergasventil besteht aus einem Teflonschlauch mit einer Länge von 25 cm und einem Innendurchmesser von 3 mm. Die gesamte Hexapolkammer wird von einer Turbopumpe (TPH 240/*Pfeiffer Vacuum*) gepumpt, welche eine mittlere N_2 Saugleistung von 200 l/s aufweist. In Abbildung I.2.9 ist dargestellt, wie sich der Druck in der Quadrupolkammer verhält, wenn dieser in der Hexapolkammer stark ansteigt. Die dargestellten Drücke spiegeln jedoch nur Mittelwerte wieder, wobei die Spitzenwerte wohl höher liegen können. Die Grafik zeigt, dass auch bei hohen Drücken in der Hexapolkammer der erforderliche mittlere Druck von $< 4 \cdot 10^{-5}$ mbar in der Quadrupolkammer nicht überschritten wird. Ob und wie gut der Hexapol als Falle verwendet werden kann, werden zukünftige Experimente zeigen.

2.3 Quadrupol-Massenspektrometer

Wie oben beschrieben, entstehen beim ESI-Prozess, wie bei fast allen Ionisationsmethoden, oft geladene Teilchen mit verschiedener Massenzahl. Da es für das Experiment jedoch erforderlich ist, nur gezielt einen Ionentyp zu charakterisieren, ist es notwendig, diesen von anderen zu trennen. Um zumindest Ionen mit gleichem

Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) selektieren zu können, ist ein QPMS zwischen Ionenquelle und 22-Pol implementiert. Dieser besteht aus vier parallelen, quadratisch angeordneten, kreisförmigen Polstangen, zwischen denen eine Spannung

$$U_{ges} = \pm\frac{1}{2}(U + V \cdot \cos(\omega t)) \qquad (I.2.5)$$

angelegt ist. Die Gesamtspannung beinhaltet also einen Gleichspannungsanteil U und einen Wechselspannungsanteil $V \cdot \cos(\omega t)$ mit $\omega = 2\pi f$ der Kreisfrequenz der angelegten Spannung und der Zeit t. Da die Funktionsweise eines Quadrupolmassenspektrometers in der Literatur ausführlich behandelt wird[115–118] , erfolgt in dieser Arbeit hierzu nur eine kurze phänomenologische Beschreibung.

Ionen, die den Quadrupol passieren, erfahren erzwungene Schwingungen durch ein angelegtes Radiofrequenzfeld mit Amplitude V und Frequenz ω. Diese zwingen die Ionen auf stabile Bahnen entlang der QPMS Achse. Durch das gleichzeitige Anlegen einer zusätzlichen Gleichspannung U zwischen zwei benachbarten Polen werden diese stabilen Ionenbahnen jedoch gestört. Dies führt bei ausgewähltem U und V dazu, dass nur noch geladene Teilchen mit bestimmten m/z den Quadrupol passieren können (Abbildung I.2.10.). Trajektorien von Teilchen mit anderem m/z werden so beeinflusst, dass sie aus der QPMS Achse herausgelenkt werden und auf die Polstangen treffen. Im idealen QPMS besitzen die Pole ein hyperbolisches Profil. In der Praxis werden jedoch oft, der Einfachheit halber, runde Stäbe verwendet,

Um mit den runden Polstangen ein hyperbolisches Feld anzunähern, müssen die Stangendurchmesser in einem speziellen Verhältnis zum Abstand gegenüberliegender Stäbe angepasst werde. Die besten Werte erhält man, wenn der Polstangenradius dem 1,144-fachen des Feldradius r_0 entspricht.[119,120]

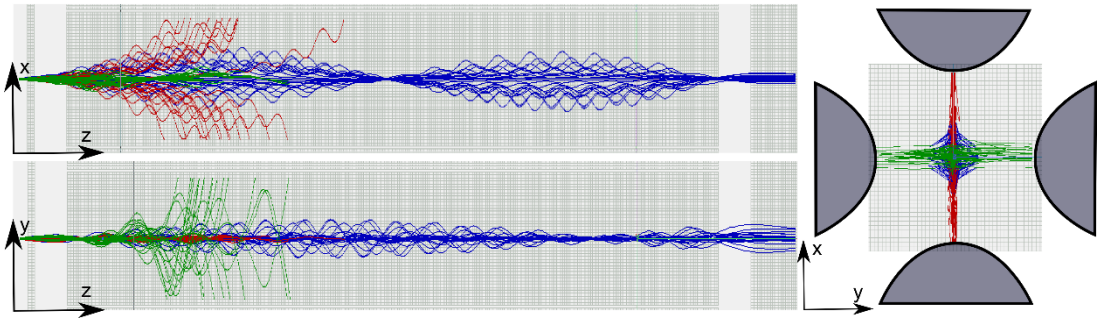

Abbildung I.2.10. veranschaulicht Ionentrajektorien mit unterschiedlichem m/z (grün < blau < rot) durch ein QPMS mit hyperbolischen Stäben. Nur Ionen mit korrektem m/z (blau) besitzen stabile Trajektorien, andere stoßen gegen die Polstangen.

Ionen verschiedener Massen werden entlang der z-Achse parallel zwischen den Stäben mit konstanter Geschwindigkeit eingeführt. Bei hyperbolischen Polstäben ergibt sich das Potential zu:

$$\phi(x, y, z, t) = (U + V\cos(\omega t)) \cdot \frac{x^2 - y^2}{r_0^2}. \tag{I.2.6}$$

Für Ionen mit der Masse m und Ladung e lassen sich somit folgende Bewegungsgleichungen aufstellen:

$$\ddot{x} + \frac{2e}{mr_0^2}(U + V\cos(\omega t)x) = 0, \tag{I.2.7}$$

$$\ddot{y} - \frac{2e}{mr_0^2}(U + V\cos(\omega t)\, y) = 0, \tag{I.2.8}$$

wobei die Bewegung entlang der z-Achse potentialfrei erfolgt, resultierend in $\ddot{z} = 0$. Die Substitution der Gleichungen (I.2.7) und (I.2.8) durch die dimensionslosen Parameter:

$$a = \frac{8 \cdot e \cdot U}{m \cdot r_0^2 \cdot \omega^2}, \qquad q = \frac{4 \cdot e \cdot V}{m \cdot r_0^2 \cdot \omega^2}, \quad \omega t = 2\xi, \tag{I.2.9}$$

resultiert in den Mathieuschen Differentialgleichungen:

$$\frac{d^2x}{d\xi^2} + (a + 2q\cos(2\xi)x) = 0, \tag{I.2.10}$$

$$\frac{d^2y}{d\xi^2} - (a + 2q\cos(2\xi)y) = 0 \tag{I.2.11}$$

In Abhängigkeit der Parameter a und q haben diese Gleichungen stabile und instabile Lösungen.[121] Eine stabile Ionentrajektorie entlang der z-Achse durch das Quadrupolfeld ist somit gegeben, wenn sowohl die x- als auch die y-Auslenkungen nicht zur Kollision mit den Polstangen führt, also die Schwingungsamplituden kleiner als r_0 sind. Trägt man für alle Parameter a und q die jeweiligen stabilen Lösungen für die x und y-Richtung auf, so ergeben sich Schnittbereiche, in denen die Ionentrajektorien beider Dimensionen stabil sind.

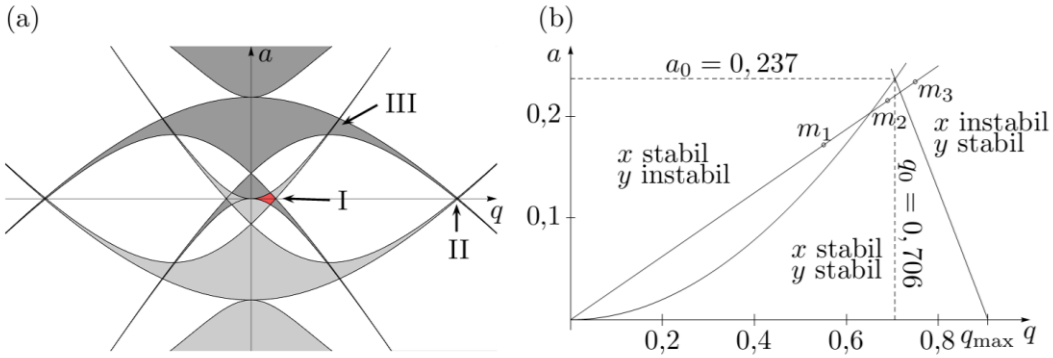

Abbildung I.2.11. a) Darstellung der stabilen Lösungen der Mathieuschen Differentialgleichungen im a-q Raum. Die dunkelgrauen Bereiche markieren stabile Ionentrajektorien in x-Richtung des Quadrupolfeldes, die hellgrauen die in y-Richtung. Der Überlapp in denen sowohl in x- als auch in y- Richtung stabile Trajektorien resultieren, werden Stabilitätsbereiche genannt und mit I, II und III markiert. Der mit rot gekennzeichnete Bereich ist in (b) vergrößert dargestellt. Exemplarisch ist auch eine Arbeitsgerade eingezeichnet, auf der die Massen $m_{1,2,3}$ liegen. Diese können durch Erhöhen von U und V (U/V = konst.) entlang der Arbeitsgeraden verschoben werden und durchlaufen somit seriell den Stabilitätsbereich. Zusammengefasst ergibt sich somit ein aufgelöstes Massenspektrum (mit freundlicher Genehmigung entnommen aus [112]).

Wie in Abbildung I.2.11 (a) dargestellt, gibt es mehrere solcher Schnittflächen stabiler Ionenbewegung. Üblicherweise arbeiten Quadrupolmassenspektrometer in dem in Abbildung I.2.11 rot dargestellten Bereich. Der in Abbildung I.2.11.b gezeigte klassische Operationsbereich mit den Achsen a und q kann durch Transformation in die Gleich- und Wechselspannungsamplituden U und V für ein m/z bei festem Radius r_0 und konstanter Kreisfrequenz $\omega = 2\pi f$ überführt werden. Dies hat vor allem für die praktische Anwendung Vorteile und führt zu einem intuitiven Verständnis der Eigenschaften eines QPMS. In Abbildung I.2.12.a ist eine derartig durchgeführte Transformation dargestellt. Zu sehen sind drei unterschiedliche Stabilitätsdiagramme für drei unterschiedliche Massen, mit $m_1 < m_2 < m_3$. Darunter sind die zu erwartenden resultierenden Massenspektren illustriert. Wird ein linearer Massenscan mit U/V = konstant durchgeführt, resultiert dies in unterschiedlicher Auflösung der erhaltenden Massenpeaks, mit geringerer Auflösung zu höheren Massen hin.

.

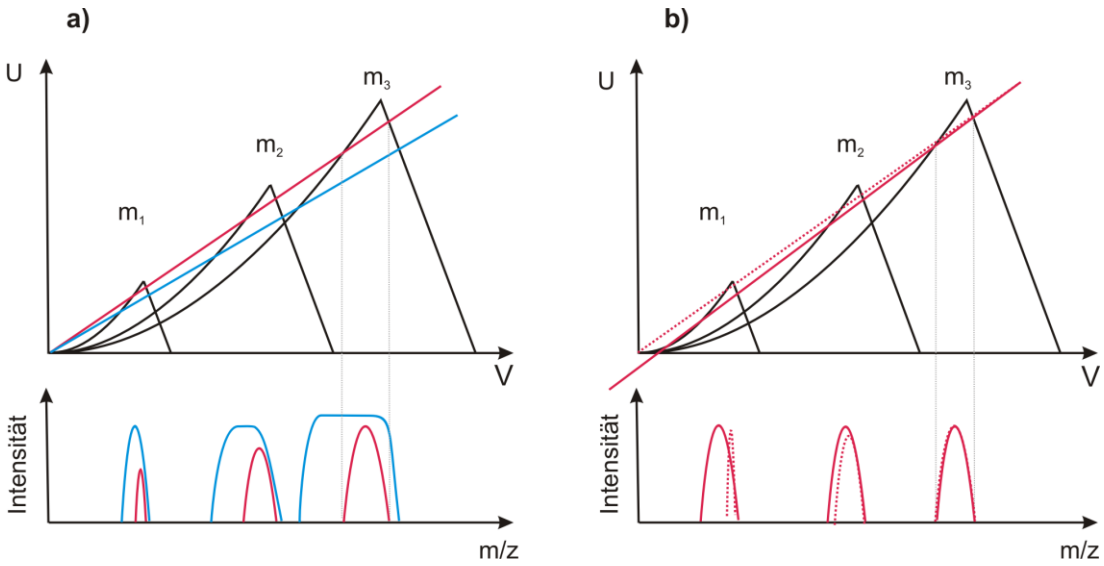

Abbildung I.2.12. Vergleich linearer Massenscans bei verschiedenen Einstellungen für ΔRes (Maß für die Steigung der Geraden, Bilder oben) und Δm (Maß für die U-Verschiebung der Geraden, Bilder oben). In den oberen Bildern sind Stabilitätsdiagramme für die Massen $m_{1,2,3}$ im U-V Raum dargestellt. Jeweils darunter befindet sich die aus den Scans ergebenden Intensitätsverteilungen in Relation zu m/z. In **a)** wird Δm konstant gehalten und nur ΔRes verändert (rote, blaue Linie). Es zeigt sich, dass die Auflösung zu höheren Massen immer geringer wird. In **b)** wird hingegen Δm angepasst, wodurch sich eine über den Massenbereich annähernd konstante Massenauflösung ergibt. Hier zeigt sich zudem, dass durch die Veränderung der Auflösung die Spitze des resultierenden Massenpeaks wandert, was die Lage der Maxima verändert.

Da das Stabilitätsdiagramm außerdem nicht symmetrisch ist, ist die vordere Flanke viel flacher als die hintere. Wird die Auflösung, also das U/V Verhältnis, reduziert, schneidet die Arbeitsgerade das Stabilitätsdiagramm viel früher, und durch die eben genannte Asymmetrie verschiebt sich der Mittelpunkt zwischen den beiden Schnittpunkten in Richtung leichterer Massen. Somit führen Veränderungen in der Auflösung des Massenspektrometers zwangsweise auch zu einer vorhersehbaren Veränderung der Lage der Massenmaxima. Um über einen weiten Messbereich trotzdem annähernd konstante Massenauflösung zu erreichen, nutzen Massenspektrometer der Firma *Extrel* einen einstellbaren Gleichspannungsoffset. Dieser lässt sich über das Steuernetzteil des QPMS variieren. Hiermit und mit dem einstellbaren Verhältnis zwischen U und V ist es somit möglich, eine annähernd konstante Massenauflösung über einen weiten Massenbereich während eines linearen Scans zu erhalten. Die Auflösung ergibt sich nach[122] zu

$$\left(\frac{\mathrm{m}}{\Delta \mathrm{m}}\right) = \frac{0{,}125}{(0{,}16784 - \gamma) + (\delta\,/\mathrm{V})}, \qquad \text{(I.2.12)}$$

wobei die Werte für γ proportional zur Gleichspannung U und die Werte für δ proportional zur Wechselspannung V sind. Am Steuergerät (*Extrel)* lassen sie sich mit Hilfe der ΔRes bzw. Δm Einstellfunktion verändern. Die passenden Werte für Δm und ΔRes müssen iterativ gefunden werden, um einen Massenscan mit annähernd konstanter Auflösung zu erhalten.[123] Die anschließende Veränderung der Auflösung sollte anschließend nur noch mit Hilfe der Δm Funktion durchgeführt werden (Abbildung I.2.12).

Alle bisherigen Ausführungen treffen zu, wenn der Einschuss der Ionen mittig auf der z-Achse, exakt parallel zu den Polstangen verläuft und die Strahlausdehnung sehr klein bezüglich r_0 ist. Außerdem müssen die Polstangen so lang bzw. die kinetische Energie so gering sein, dass Ionen, die nicht auf stabilen Bahnen laufen, also jene die ausgesondert werden sollen, lange genug im transversalen Feld verweilen um schließlich gegen die Stangen zu stoßen. Wie hoch dabei die longitudinale kinetische Ionenenergie sein darf, ergibt sich aus folgender Abschätzung:[122]

$$E_{ion} < \frac{f^2 l^2}{25}\left(\frac{\Delta m}{m}\right) m\,. \qquad \text{(I.2.13)}$$

Hierbei wird E_{ion} in Einheiten von Elektronenvolt (eV), die Länge l und der Radius r_0 in cm und die Multipolfrequenz f in MHz angegeben. Für das Modell 150 QC empfiehlt *Extrel* eine mittlere kinetische Energie bezüglich der Feldachsenspannung von 5–10 eV.[124] Im idealen QPMS werden Ionen nur auf der zentralen Mittenachse geleitet. Unter realen Umständen besitzt der Strahl jedoch eine transversale Ausdehnung. Außerdem werden nicht alle Ionen exakt axial, sondern in der Regel unter einem gewissen Akzeptanzwinkel in den Quadrupol geleitet. Die maximale Auslenkung, die ein Ion im Quadrupolfeld erfährt, hängt aber von dessen initialer Position und der transversalen Energie ab. Sie erhöht sich mit steigender Auflösung, was alle Ionen mit den Polstangen stoßen lässt, die nicht parallel entlang der z- Achse verlaufen. Dies resultiert in einer Transmission, die abhängig von der Auflösung des Quadrupols ist. Für Ionen die parallel zur Quadrupolachse (z-Achse) laufen gibt es eine maximale Apertur, in der sie, abhängig von der Auflösung, noch auf stabilen Bahnen laufen. Der Radius dieser Apertur beträgt:[122]

$$r_a \approx \frac{2}{3} m f^2 r_0^2 \left(\frac{\Delta m}{m}\right)^{\frac{1}{2}}. \qquad \text{(I.2.14)}$$

Ist der Abstand der Ionen zu den Polstangen beim Eintritt zu gering, können sie durch die Amplitude direkt gegen die Polstangen fliegen, obwohl sie ansonsten den Stabilitätsbedingungen unterliegen. Gleiches gilt für die maximale transversale Energie E_t (in eV), die ein Ion haben darf, welches auf der z-Achse des QPMS injiziert wird. Hierfür gilt:[122]

$$E_t \approx \frac{1}{2} m f^2 r_0^2 \left(\frac{\Delta m}{m}\right). \qquad (I.2.15)$$

Aus diesen Formeln ist ersichtlich, dass es erforderlich ist, den Ionenstrahl möglichst axial und mit geringer Ausdehnung in das QPMS zu injizieren. Dies ist auch gleichzeitig ein Maß für eine korrekte Justage des durch den QPMS transmittierten Ionenstrahls. Sinkt die Transmission sehr schnell mit steigender Auflösung, beginnend schon bei niedrigen Werten, ist das ein Hinweis, dass entweder der Ionenstrahldurchmesser und/oder die kinetische Energie bzw. der Eintrittswinkel zu groß sind.

Mechanischer Aufbau und Test des Quadrupol-Massenspektrometers

Das im Experiment benutze Massenspektrometer ist Bestandteil eines kompletten, von *Extrel* speziell für diese Apparatur zusammengestellten Systems (Abbildung I.2.13). Es besteht aus einem Triple-Quadrupol mit Pre- und Postfilter, einem Ionendeflektor, einem Channeltron sowie mehreren Ionenlinsen bzw. Einzellinsenstapeln. All dies ist an einem DN 150 CF Flansch montiert, der mit elektrischen und optischen Durchführungen versehen ist. Der Quadrupol selbst besteht aus 19 mm (3/4 Zoll) dicken Stäben, mit einer Gesamtlänge l von 211 mm, einem Innenradius r_0 = 8,4 mm und filtert, bei einer Frequenz von f = 880 kHz, einen Massenbereich von m/z 1-1000.
Die Ansteuerung des Quadrupols erfolgt mit der Kombination aus „Extrel 150-QC Quadrupol Power Supply“ und „Extrel QMS DC Power Supply“. Diese liefern die Radiofrequenz- und Gleichspannungen, die an den Polstangen anliegt. Der gewünschte Massentransmissionsbereich, die Auflösung ΔRes sowie Δm, die Feldachsenspannung (Bias) sowie die Möglichkeit, die Polarität der Gleichspannung zu verändern, lassen sich über Steuerspannungen von 0–10 V bzw. ±5 V an diesen Geräten regeln. Realisiert wird dies durch eine D/A-Wandlerkarte (NI PCI 6221/*National Instruments)*, die mit einem LabVIEW Steuerprogramm läuft. Die Steuerspannung von 10 V entspricht dabei einer transmittierten Masse von

m/z 1000. Die NI PCI-622*1*-Karte besitzt eine Spannungsauflösung von 16 Bit und kann bei einer maximalen Ausgabespannung von 10 V theoretisch einen minimalen Spannungshub von 0,15 mV erzielen. Dies setzt jedoch eine sehr gut abgeschirmte Leitung voraus, auf der sich keine Störsignale befinden. Ein Pufferkondensator sorgt hier zusätzlich für eine Signalstabilisierung.

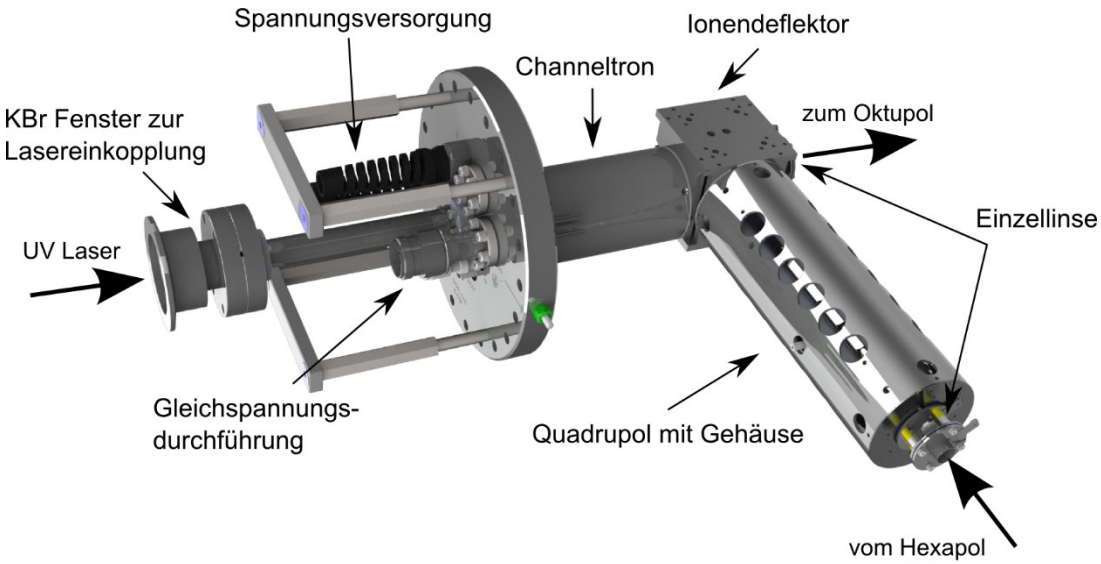

Abbildung I.2.13. Extrel 150 QC QPMS in Kombination mit einem Quadrupol-Ionendeflektor und einem Channeltron. Ionen gelangen durch die vordere Einzellinse vom Hexapol kommend in den Quadrupol, werden dort massenselektiert und gelangen über den Umlenker entweder zur direkten Detektion ins Channeltron oder werden über die hintere Einzellinse in Richtung 22-Pol geleitet.

Das als Ionendetektor implementierte Channeltron ist durch den Einbau einer zusätzlichen Konversionselektrode in der Lage, auch positive Ionen zu detektieren. Um von jeglichen Potentialbeschränkungen befreit zu sein, ist zusätzlich ein MTS-100 Vorverstärker/-Diskriminator der Firma *Advanced Research Instruments Corporation* installiert. Durch diesen ist es möglich, den Channeltronausgang selbst auf Hochspannung zu legen und gleichzeitig die Auswerteelektronik weiter zu nutzen. Der Verstärker/Diskriminator selbst gibt für jedes detektierte Ion einen TTL Puls heraus, welcher ohne Nachbearbeitung mit dem digitalen Zähler der PCI-6221-Karte gezählt werden kann.

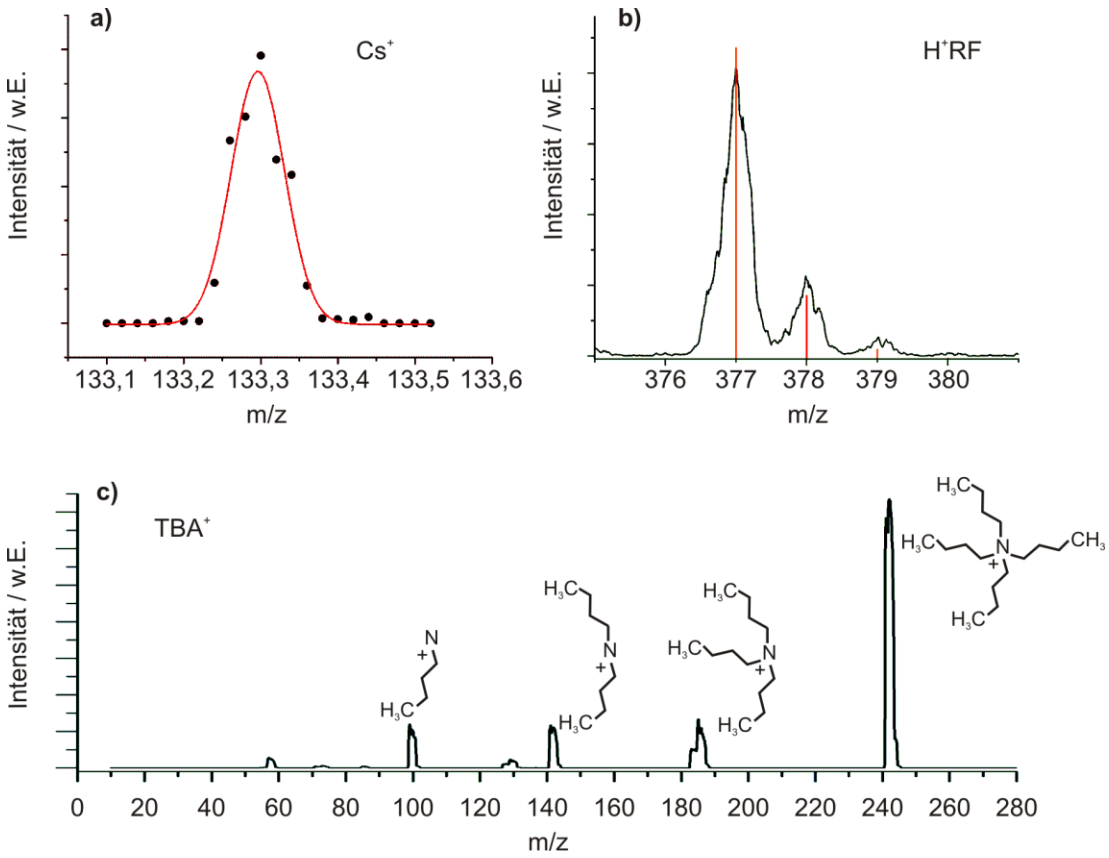

Abbildung I.2.14. a) Massenspektrum von Cs^+ mit der höchsten Auflösung, die in dieser Apparatur einstellbar ist (Δm = 5 V, ΔRes = 5 V). Die Halbwertsbreite des Massenpeaks beträgt 0,08 u, was bei einer Cs-Masse von 133 u zu einer Auflösung m/Δm = 1660 führt. **b)** Massenspektrum von protoniertem Riboflavin (m/z 377), welches in Teil II genauer analysiert wird. Das Isotopenmuster ist trotz des geringen Ionensignals deutlich zu erkennen. **c)** Massenspektrum von in Wasser gelöstem Tetrabutylammoniumbromid (m/z 242) und seinen Fragmenten über einen m/z Bereich von 10-280. Die Fragmente von TBA^+ besitzen alle den gleichen m/z Abstand, weswegen es zur Kalibration des Massenspektrometers innerhalb dieses Bereiches geeignet ist.

Die Herstellerspezifikationen des Quadrupols geben eine Maximalauflösung von m/Δm = 1800 an. In der Apparatur wurde mit Cs^+ eine maximale Auflösung von m/Δm = 1660 erzielt (Abbildung I.2.14). Dies belegt die gute Funktionalität des QPMS. Mit steigender Auflösung sinkt jedoch die transmittierte Intensität. Für die spektroskopische Analyse ist es hingegen ausreichend, wenn sich zwei Massen eindeutig voneinander trennen lassen, was zum Vergleich im Falle von Cs^+ einer Massenauflösung von m/Δm = 133 entspräche. Somit minimiert der Massenselektionsbetrieb die transmittierte Ionenintensität nur mäßig.

2.4 Oktupol-Ionenleiter

Der selbstgefertigte Oktupol-Ionenleiter (Abbildung I.2.15) befindet sich zwischen dem QPMS und der 22-Pol Falle. Er wurde für die Überbrückung einer differentiellen Pumpstufe entwickelt, die notwendig ist, um den erforderlichen Enddruck in der 22-Pol Kammer von 10^{-8} mbar zu realisieren. Er besitzt eine Länge l = 30 cm inclusive aller elektrostatischer Linsen, wobei die Polstangen allein 25 cm messen. Der Polstangendurchmesser beträgt 5 mm, woraus sich ein Innendurchmesser des Oktupols von r_0 = 1,5 cm ergibt. Die Spannungsversorgung der Pole erfolgt über zwei Ringkonstruktionen, die mit Hilfe von Schraubverbindungen mit den jeweils alternierenden Polstangen fest verbunden sind. Am Eingang befindet sich nur eine Endkappe. Die Eingangsfokussierung des Ionenstrahls in den Oktupol wird von einem Einzellinsenstapel übernommen, welcher bereits am Ionenumlenker befestigt ist. Am Ausgang des Oktupols befindet sich eine weitere Endkappe sowie ein Einzellinsenstapel für die nachfolgende Ionenstrahljustage. Die Mittenlinse ist dabei geteilt, um den Strahl nachträglich senkrecht zu seiner Ausbreitungsrichtung ablenken zu können. Dies ist notwendig, da sich die 22-Pol Position durch die thermische Ausdehnung des Kryostaten mit der Temperatur verändert. Die Wahl eines großen Polstangendurchmessers und die sich daraus ergebende robuste Konstruktion des gesamten Oktupols erfolgt aufgrund der sich hieraus ergebenden einfacheren technischen Realisierung. Bei kleinen Durchmessern kann es bei nicht ausreichender Genauigkeit in der Verarbeitung zu Verbiegungen der Polstangen kommen, was sich sehr negativ auf die Ionenleiteigenschaften auswirkt.

Der Oktupol selbst ist über eine Konstruktion aus PEEK elektrisch isolierend an einen an die Kammer passend gefertigten metallischen Halter montiert. Dessen Durchmesser wiederum ist auf der einen Seite passend zum Innendurchmesser (d = 100 mm) der Kammer konstruiert, in die der Halter eingelassen wird. Auf der anderen Seite ist dieser größer und liegt auf der übrigen freien Fläche auf. Hier kann der Halter mit Hilfe von vier Schrauben in die Senkbohrungen innerhalb des Flansches verschraubt werden.

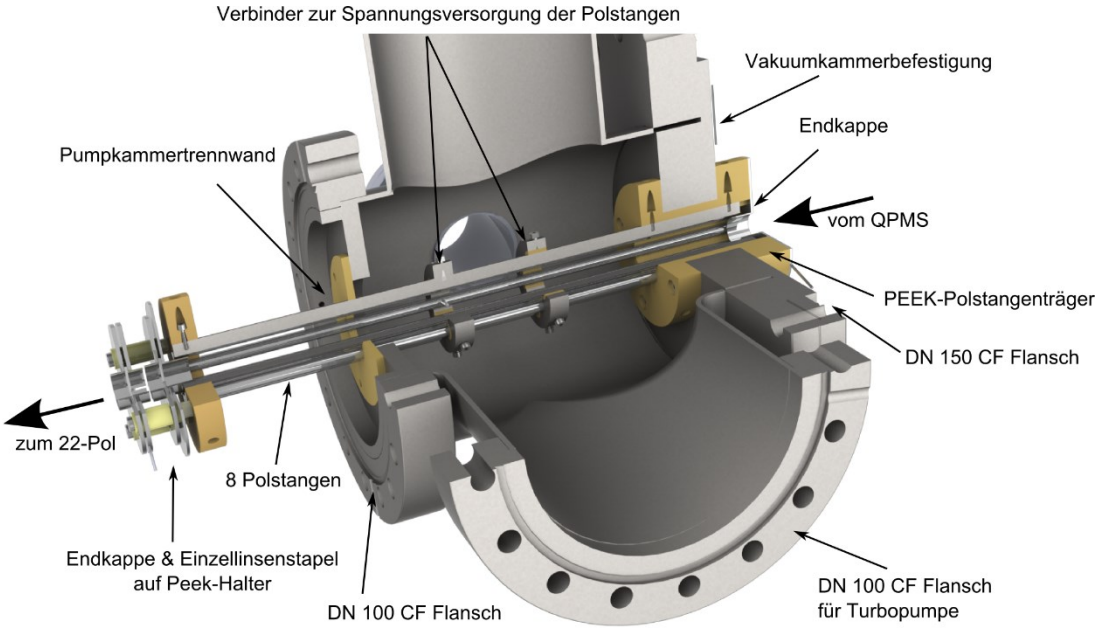

Abbildung I.2.15. Konstruktionszeichnung des Oktupol-Ionenleiters. Die aufnehmende Vakuumkammer besitzt rechtsseitig einen DN 150 CF Flansch, jedoch nur einen Innenrohrdurchmesser von 100 mm. Eine Vakuumkammerbefestigung, an welcher wiederum der Polstangenhalter aus PEEK montiert ist, wird rechtsseitig in die Kammer geschoben und mit der Innenseite des Flansches verschraubt. In den Polstangenhalter sind die acht Polstangen mittels Schrauben befestigt. Am anderen Ende des Oktupols ist ein PEEK-Halter montiert, an dem der Austrittslinsenstapel mit geteilter Mittellinse fixiert ist. Die Spannungsversorgung erfolgt über zwei angepasste Stahlklemmen. Eine Trennwand mit angepasster PEEK-Konstruktion dient als Pumpstufenapertur zwischen den Oktupol und 22-Pol Kammern.

Der Oktupol wird durch einen RF-Generator (RFG50–4MHz/*CGC Instruments*) betrieben. Dieser läuft bei einer Frequenz von 4 MHz mit dem Oktupol resonant und kann Spannungsamplituden von bis zu 300 V gegenüber Masse ausgeben. Für die Versorgung der Polstangen mit der Radiofrequenz wurden zwei spezielle Edelstahlhalter gebaut. Die Länge des Oktupols überragt die Kammer, in der er sich befindet und reicht mit dem Einzellinsenstapel an dessen Ende bis zum äußeren Kälteschild des 22-Pols. Eine am Ende der Oktupolkammer angebrachte Pumpkammertrennwand sorgt dafür, dass dieser Bereich als differentielle Pumpstufe genutzt werden kann.

2.5 Kryogene 22-Pol Ionenfalle

Die kryogene 22-Pol Falle ist das Herzstück der Apparatur (Abbildung I.2.16). Sie wurde von Dieter Gerlich als Dauerleihgabe zur Verfügung gestellt. Die Konstruktion ist so gestaltet, dass jeweils elf längenangepasste, kommerziell erhältliche Spritzenkanülen (d = 1 mm) kreisförmig mit äquidistantem Bogenmaß in einen Polstangenaufnehmer eingepresst sind. Dem gegenüber steht ein weiterer Polstangenaufnehmer in welchem die Stangen gegenüber ersteren um den halben Bogenmaßabstand zweier Pole verschoben angeordnet sind. Die sich aus der Anordnung der Polstangen ergebenden Werte für den Innendurchmesser sowie der Länge des 22-Pols ergeben sich zu $r_0 = 5$ mm bzw. $l = 36$ mm. Die Aufnehmer selbst dienen gleichzeitig als Außenwand eines inneren Kälteschildes und zur Kontaktierung mit der benötigten Wechselspannung. Mit Hilfe von Saphierplättchen gelingt es diese Halter, elektrisch isoliert jedoch thermisch leitend, auf eine Kupferplatte zu montieren. Letztere wiederum ist mit einem Messingheizblock von *Janis Research* verbunden, der speziell hierfür gefertigt wurde. Dieser Heizblock besteht aus zwei Bohrungen, in die zwei elektrische Heizkartuschen eingelassen sind, sowie einer Ausfräsung zum Positionieren einer Silizium-Temperaturmessdiode. Zusammen mit dem 22-Pol ist der Heizblock mit der Spitze eines Kaltkopfes (*Sumitomo*, Beschreibung weiter unten) verschraubt und dient hier der Temperaturregulierung. Dabei wird gegen die konstante Kühlleistung des Kaltkopfes geheizt.

Um Ionen im 22-Pol zu fangen und zu kühlen, bedarf es eines Puffergases als thermisch leitendes Medium zwischen den heißen Ionen und den kalten Wänden des Kälteschildes. Ein Kupfergehäuse als innerer Kälteschild ist um den 22-Pol montiert, um diesen Kühlvorgang besonders effizient zu gestalten. Auf diesem Gehäuse ist ein Einlassstutzen für das Puffergas eingebaut, welches mit Hilfe eines Teflonschlauches von einem Piezoventil in die Falle geführt wird. Das über das Ventil pulsweise eingelassene Gas kollidiert mit den Wänden des 22-Pols und kühlt schnell auf dessen Temperatur ab. Anschließende Stöße mit den in der Falle gefangenen Ionen führen wiederum zu deren Kühlung.

An den Polstangenhaltern sind jeweils noch die Endkappe der 22-Pol Falle und eine weitere elektrostatische Blende befestigt. In der ersten Version wurden sie durch dünne Saphirplättchen elektrisch voneinander isoliert. Aufgrund von auftretenden elektrischen Problemen wurden sie durch kleine Saphirkügelchen ersetzt, wie später noch erklärt wird. Die Endkappe dient zur Herstellung eines Fallenpotentials in Ionenstrahlrichtung, während sie zusätzlich, in Kombination mit einer weiteren

elektrostatischen Linse, eine Ionenstrahlfokussierung zur effizienten Fallenbefüllung erlaubt.

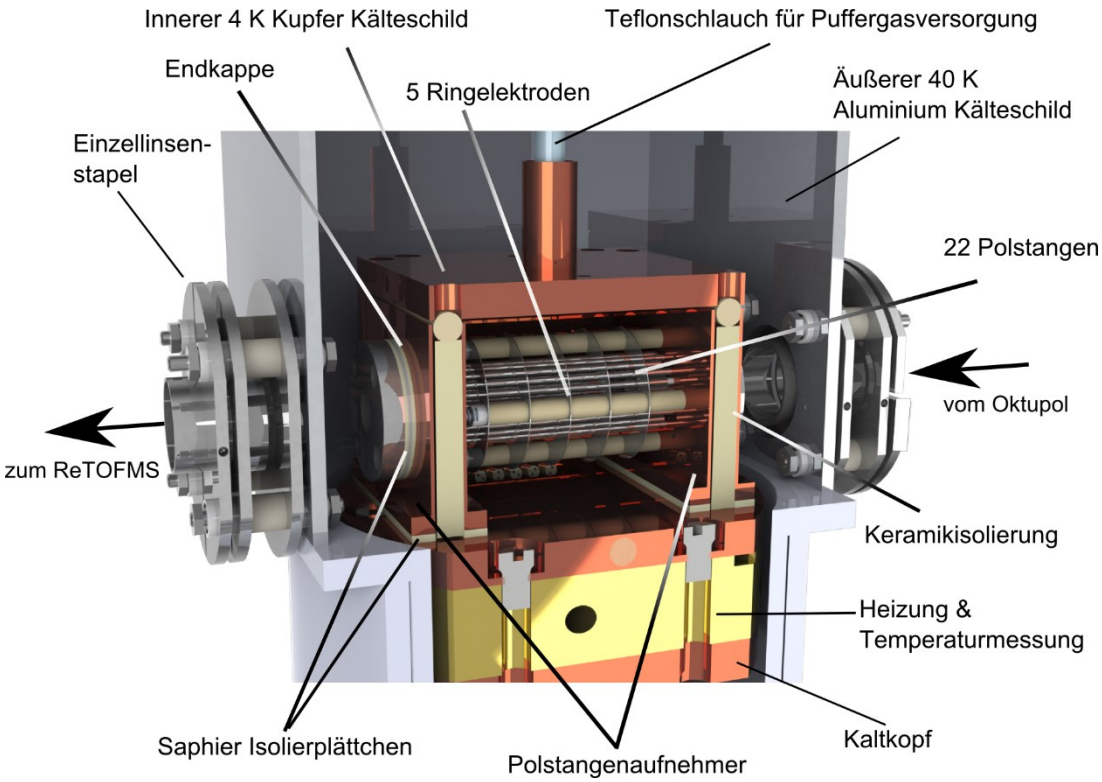

Abbildung I.2.16. Schnitt durch die 22-Pol Falle mit äußerem Kälteschild und montierten Einzellinsenstapeln. Die Falle ist in einen Heizblock geschraubt und auf dem Kaltkopf montiert. Der Puffergaseinlass erfolgt von oben durch einen Teflonschlauch. Die Polstangenhalter sind mittels Saphirplättchen elektrisch isoliert auf eine Kupfergrundplatte geschraubt. Die Saphirplättchen zur Isolierung der Endkappen von den Polstangenhaltern wurden (hier nicht gezeigt) durch Saphirkügelchen ersetzt. Durch die Ringelektroden ist es möglich, von außen in das 22-Pol Feld einzudringen, um die Ionen hier zu manipulieren. Für die später in dieser Arbeit folgenden Messungen wurden diese wegen technischer Probleme demontiert.

Um die 22 Pole der Falle sind fünf 100 µm dicke Ringelektroden äquidistant aufgereiht. Diese dienen der Beeinflussung des axialen Fallenpotentials. Ihre geringe Dicke ist notwendig, um eine hohe Feldstärke zu erzeugen, die durch die Polstangen in den 22-Pol Bereich etwas eindringt. Das Risiko von Spannungsdurchschlägen wird dadurch jedoch erhöht. Aus diesem Grunde werden sie in der aktuellsten Version des Experimentes, mit der auch die später folgenden Messdaten aufgenommen wurden, nicht mehr genutzt und entfernt.

Die 22-Pol Falle erreicht Endtemperaturen um 4 K. Da die Kühlleistung durch den Kryostaten jedoch begrenzt ist (1 W bei 4,2 K), müssen jegliche Wärmequellen eliminiert oder zumindest aufs Minimum reduziert werden.

Ein wichtiger Schritt ist hier das Anbringen eines äußeren Kälteschildes, ein Aluminiumgehäuse, das die gesamte Falle, bis auf die Zugänge für den Ionentransport, einschließt. Der Kälteschild ist auf der zweiten Kühlstufe des Kaltkopfes montiert und besitzt im Betrieb eine Temperatur von etwa 40 K. Somit wird verhindert, dass thermische Strahlung von außen den inneren Schild aufheizen kann. Außerdem werden hierdurch alle notwendigen elektrischen Zuleitungen vorgekühlt. An den jeweils gegenüberliegenden Seiten entlang der Ionenstrahlachse sind Einzellinsenstapel angebracht, die den Ionenstrahl im Durchmesser anpassen. Gleiches gilt für die Ausgangsseite.

Als Radiofrequenzgenerator zur Versorgung des 22-Pols wird, wie schon für den MiniQP, ein Eigenbau basierend auf einem *QRP-PA 2008* Bausatz benutzt (Kapitel I.2.9). Die Radiofrequenzspannung wird über einen Transformator auf die Polstangen gekoppelt. In einem früheren Entwicklungsstadium befanden sich die Sende- und Empfängerspulen zur 22-Pol Ansteuerung im Vakuum, kurz unterhalb des äußeren Kälteschildes. Dabei war die Empfängerspule direkt mit dem äußeren Kälteschild verbunden. Die Vorstellung war, dass durch die berührungslose Übertragung der Radiofrequenzspannung die thermische Last, die durch direkten Kontakt mit dem inneren Kälteschild entstehen würde, stark reduziert wird. Diese Konstruktion führte jedoch zu einer starken Rückkopplung des Radiofrequenzsignals auf alle leitenden Teile innerhalb der Kammer. Da die Empfangsspule am äußeren Kälteschild des 22-Pols befestigt war, lag auch hierdurch eine thermische Last auf den inneren Kälteschild wodurch sich durch diese Konstruktion kaum Vorteile ergeben. Die Probleme wurden gelöst, indem die Zuleitungen aus Kupfer vom Radiofrequenzgenerator zum äußeren Kälteschild durch dicke Edelstahldrähte ersetzt wurden. Diese haben einen sehr geringen Wärme-, jedoch einen hinnehmbaren elektrischen Leitwert. Thermisch geankert werden diese Drähte mit Hilfe von Keramiken am äußeren Kälteschild. Die elektrische Verbindung zwischen äußerem Kälteschild und den Polstangenhaltern bilden nun zwei 0,25 mm dünne Titandrähte. Diese besitzen wiederum einen besseren elektrischen Leitwert als Edelstahl, jedoch eine ähnliche thermische Leitfähigkeit. Hierdurch wird die elektrische Verlustleistung reduziert, was wiederum die thermische Last auf den 22-Pol minimiert. Der zur Kühlung der 22-Pol Falle genutzte zweistufige Kaltkopf (SRDK-408D2/*Sumitomo)* wird mit einer Kompressoreinheit (F-50H) betrieben wird. Mit der ersten Stufe sind Temperaturen bis zu 40 K erreichbar, bei einer Kühlleistung von 34 W, für eine Netzfre-

quenz von 50 Hz. Die zweite Stufe erreicht, nach Herstellerangaben, Minimaltemperaturen von < 3,5 K. Bei 4,2 K beträgt die nominelle Kühlleistung 1 W.
Um den 22-Pol auf diese Temperaturen zu kühlen, müssen mehrere Aspekte beachtet werden. Zunächst darf die Wärmelast nicht höher als die Kühlleistung an der Kaltkopfspitze sein. Ein anderer, weit kritischerer Punkt ist die Wärmeleitung einzelner 22-Pol Komponenten, die erforderlich ist, um die Wärme über den Kaltkopf effektiv abzutransportieren. Durch die Ansteuerdrähte sowie den zur Gasversorgung benötigten Teflonschlauch kommt es zu einer äußeren thermischen Last, die auf die 22-Pol Komponenten wirkt. Dies führt schließlich zu einem Temperaturgradienten zwischen der Bodenplatte und dem Deckel des 22-Pol Halters. Um diesen zu minimieren, müssen die sich berührenden Oberflächen einzelner Komponenten möglichst groß sein und in gutem thermischen Kontakt miteinander stehen. Hier ist es von Vorteil, Indiumfolie (hier mit einer Dicke von 0,25 mm) als Kontaktmittel zweier aufeinanderliegender Flächen zu benutzen, da diese sehr weich ist und sich der Oberfläche einfach anpasst. Mit einer thermischen Leitfähigkeit von 0,4 W/(cm K) bei 300 K, jedoch elektrisch isolierend, sind Saphirplättchen eine gute Wahl zum Verbinden der Polstangenhalter mit der Grundplatte bzw. der Ein- und Ausgangslinsen und an den Polenden.
Da die minimal erreichbaren Temperaturen sehr niedrig sind, werden für deren Messung Si-Dioden verwendet, die mit Hilfe eines speziellen Steuergeräts (Model 336*/Lakeshore*) ausgelesen werden. Die Diodenkabel müssen dabei an der ersten und zweiten Stufe des Kaltkopfes thermisch geankert werden um eine Verfälschung der Temperaturmessung zu verhindern. Eine Messdiode ist dabei direkt in den Messingheizkörper eingebaut und sitzt somit direkt über der zweiten Stufe des Kaltkopfes. Die Andere ist auf der oberen Seite des 22-Pol Gehäuses montiert. Somit kann die weiter oben beschriebene Differenztemperatur gemessen werden. Die gesamte Länge des Kaltkopfes zieht sich während des Abkühlens zusammen, wodurch sich auch der 22-Pol senkrecht aus der Ionenstrahlachse hinausbewegt. Um dies zu kompensieren, wurde der Kaltkopf auf einen DN 150 CF Wellbalg montiert. Die Ausrichtung des Balges erfolgt nur einmal bei tiefen Temperaturen und bleibt anschließend erhalten. Die räumliche Positionsänderung des 22-Pols bei unterschiedlichen Temperaturen lässt sich mit Hilfe angepasster Spannungswerte an den geteilten Mittenlinsen des Oktupolausgangs sowie des Ionendeflektors teilweise wieder kompensieren.

Endkappen

Die Endkappen des 22-Pols dienen dazu, mit Hilfe eines hier angelegten regelbaren Potentials, Ionen auch entlang der Polstangen zu fangen und wieder zu extrahieren. Dabei kann die Endkappe Richtung ReTOFMS mit Hilfe eines Pulsgenerators (PVX-4140/*DEI)* sehr schnell (≤ 25 ns) mit Spannungen von bis zu ±3,4 kV angesteuert werden. Typische Werte liegen jedoch zwischen 10 und -150 V. Diese sind notwenig, um die Länge des extrahierten Pulses für das Einkoppeln in das folgende ReTOFMS anzupassen (Kapitel I.2.8)
In der ursprünglichen Version wurden die Endkappenspannungen durch einen anderen Signalgenerator (DG1022/*Rigol*) mit nachgeschalteten Spannungsverstärkern (WMA02/*Falco Electronics)* geregelt. Zu diesem Zeitpunkt waren die Endkappen des 22-Pols durch Saphirplättchen thermisch leitend mit den 22-Pol Haltern verbunden. Durch die geringe Plättchendicke bilden die sich gegenüberliegenden Flächen von Endkappe und 22-Pol Halter eine gemessene elektrische Kapazität von ~ 40 pF. Dieser recht hohe Wert führte, zusammen mit dem hohen Ausgangswiderstand des Pulsverstärkers, zu einer unerwünschten Rückkopplung der 22-Pol Radiofrequenzspannung auf die Endkappen.

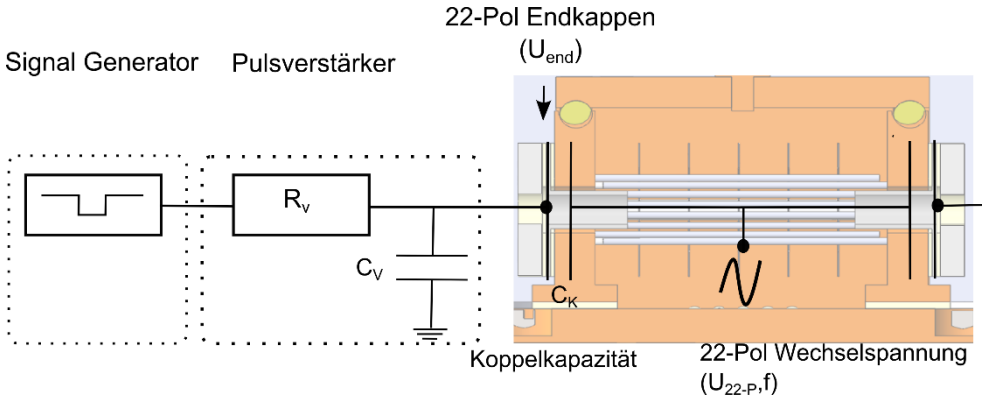

Abbildung I.2.17. Ersatzschaltplan zur Erklärung der Rückkopplung der Radiofrequenzspannung auf die Endkappen des 22-Pols. Über die durch den geringen Abstand zwischen Endkappe und 22-Pol Halter generierte Koppelkapazität C_K fließt ein Strom, wodurch eine Spannung am Ausgangswiderstand des Pulsverstärkers abfällt. Die Dämpfungskapazität C_V führt zu einer Dämpfung der Amplitude.

Solche Spannungswerte führen dazu, dass die gefangenen Ionen entlang der Achse Schwingungen durchführen. Dies führt zu vermehrten Stößen mit dem Puffergas, was die gefangenen Ionen aufheizt. Deswegen ist es notwendig, diese Amplituden zu reduzieren. Das Zustandekommen der Rückkoppelspannung ist mit Hilfe des in

Abbildung I.2.17 dargestellten Ersatzschaltbildes illustriert. Die Radiofrequenzspannung überträgt sich durch die Koppelkapazität auf die Endkappen. Der resultierende Strom fließt über den Ausgangswiderstand des Pulsverstärkers und wird gleichzeitig durch die Kabel/Dämpfungskapazitäten C_v gedämpft. Dabei kann vereinfacht angenommen werden, dass hier der Betrag des kapazitiven Blindwiderstandes $|X_V|$ des Koppelkondensators und das RC-Glied des Pulsverstärkers einen Spannungsteiler bilden. Der Gesamtimpedanzbetrag des Pulsverstärkers, bestehend aus Kabelkapazität und Ausgangswiderstand, ergibt sich zu

$$|Z_V| = \frac{R_V \cdot |X_V|}{R_V + |X_V|}. \tag{I.2.16}$$

Somit lässt sich die Gesamtspannung an der Endkappe des 22-Pols wie folgt abschätzen:

$$U_{end} = U_{22P} \cdot \frac{|Z_V|}{X_c + |Z_V|}. \tag{I.2.17}$$

Die Kabelkapazität der Endkappe zum Verstärker wurde mit C_v = 120 pF gemessen. Der Ausgangswiderstand des *Falco*-Verstärkers beträgt R_v = 50 kΩ. Die Resonanzfrequenz des 22-Pols entspricht f = 7 MHz mit einer maximal erreichbaren Spannungsamplitude von $U_{22\text{-}P}$ = 355 V (Kapitel I.2.9). Bei einer Koppelkapazität an der Endkappe resultiert somit eine hohe unerwünschte Spitzenspannung von U_{End} = 88 V. Eine übliche Lösung dieses Problems besteht im Hinzufügen einer sehr hohen Dämpfungskapazität C_v nahe der Endkappen. Jedoch würde dies bedeuteten, dass der Ionenextraktionspuls ebenfalls gedämpft würde, was den Ionentransport ins ReTOFMS und die dortige Detektion drastisch verschlechtern würde. Eine andere Lösung liegt in der Reduzierung der Koppelkapazität C_k. Dies kann zum einen durch eine Vergrößerung des Abstandes von Endkappe zum 22-Pol Halter realisiert werden, zum anderen durch den Austausch der Saphirplättchen durch jeweils drei Saphirkugeln. Letzteres resultiert in einer Verringerung von ϵ_r und somit der Koppelkapazität auf ~ 5 pF, was zu Ausschlägen der Endkappenspannungen um bis zu ±7,5 V führt.

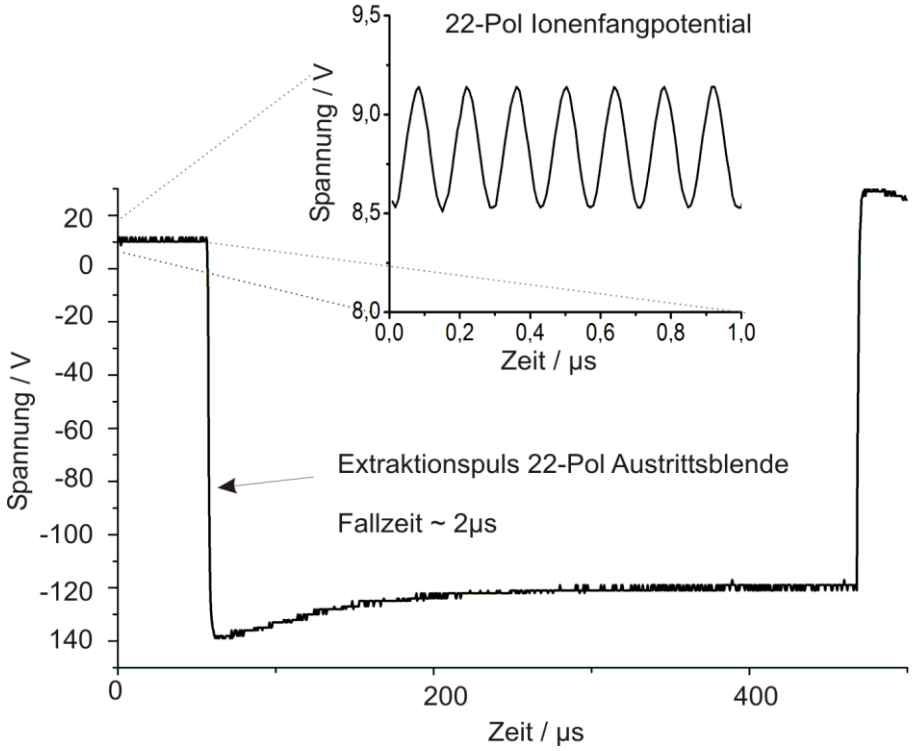

Abbildung I.2.18. Spannungspulsverlauf an der dem ReTOFMS zugewandten Endkappe des 22-Pols. Die durch die Kapazität auf die Endkappen tretende 22-Pol Radiofrequenzspannung erreicht, auch unter Hinzunahme einer Glättungskapazität von 10 nF, Werte um 0,6 V_{PP}. Die Fallzeit der Ionen extrahierenden Seite beträgt 2 µs.

Dieser immer noch beachtliche Wert wurde mit dem späteren Austausch des *Falco* Verstärkers durch den Pulsgenerator von *DEI* nochmals deutlich verringert. Dieser Pulsgenerator ermöglicht das zusätzliche Anbringen eines Dämpfungskondensators von C_v = 10 nF, wodurch die Amplituden nochmals um den Faktor 25 verringert werden konnten (±0,3V). Gleichzeitig reduziert sich die Fallzeit des extrahierenden Spannungspulses von 40 µs auf annähernd 2 µs (Abbildung I.2.18).

Gepulstes Piezoventil

Wie bereits in Kapitel I.2.1 erwähnt, wird zur Speicherung und Kühlung von Ionen in einer Multipolfalle ein Puffergas benötigt. Für den geregelten Einlass des Gases in die 22-Pol Falle wird ein von Dieter Gerlich entwickeltes Piezoventil verwendet (Abbildung I.2.19),[125,126] welches schnell und mit hoher Repetitionsrate schaltbar ist. Es kann benutzt werden, um einen statischen Gasvolumenstrom oder sehr kurze Molekularstrahlimpulse von bis zu 10 µs Länge zu erzeugen. Das Ventil sitzt im Vakuum oberhalb des 22-Pols und wird mittels Swagelok® VCR® Verbindungen mit

dem Puffergas im Vordruckbereich zwischen 1 und 2 bar versorgt. Das Gas wird anschließend durch einen kurzen Teflonschlauch sowie einer Eingangsführung in den 22-Pol geleitet. Teflon ist thermisch isolierend (0,24 W/(m K)), so dass kaum thermische Last auf den 22-Pol anfällt.

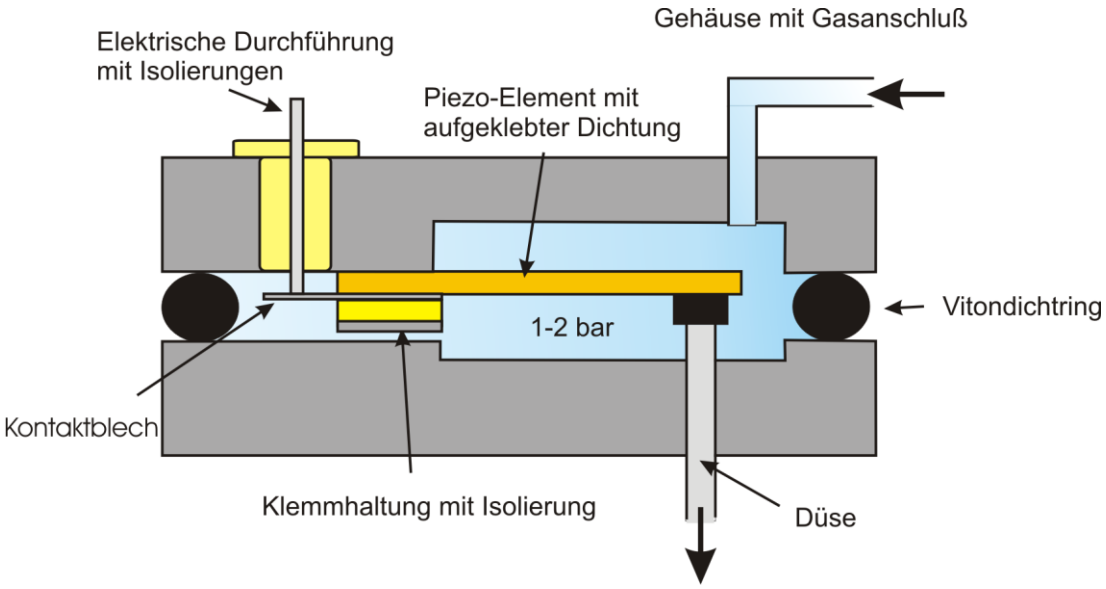

Abbildung I.2.19. Schema des von Gerlich entwickelten schnellen Piezoventils.[125] Der Gaseinlass erfolgt über einen Swagelok® VCR® Anschluss. Durch den hohen Umgebungsdruck wird die auf den Piezo aufgeklebte Dichtung auf die Düse gedrückt und verschließt diese. Beim Anlegen einer Spannung wird diese Dichtung angehoben und das Gas kann austreten.

Die Ansteuerung des Piezoventils erfolgt über einen Spannungsverstärker (PD200/*PiezoDrive*) der eine Maximalspannung von 200 V erzeugen kann. Die Pulse selbst werden über einen extern getriggerten Signalgenerator (DG1022/*Rigol*) mit maximaler Steuerpulshöhe von ±10 V erzeugt. Die typischen Steuerpulslängen liegen zwischen 500 µs und 5 ms.

Ionenspeicherung im 22-Pol

Aus dem Volumen des 22-Pols (r_0 = 5 mm und l = 36 mm) ergibt sich, bei homogener Ionenverteilung, und bei einem effektiven Fallenpotential von V_{eff} = 2 eV, unter Einbezug der Raumladungsabstoßung innerhalb der Falle nach [22]

$$N = \frac{4\pi\epsilon_0 R V_{eff}}{e^2}, \tag{I.2.18}$$

mit

$$R = \frac{6r_0^2}{e^2}, \tag{I.2.19}$$

eine maximal mögliche Ionenzahl von annähernd $3 \cdot 10^7$ Ionen. Hier sind ϵ_0 die Permittivität des Vakuums und e die Elementarladung. Um die Funktionalität des 22-Pols zu überprüfen, wird eine Testreihe durchgeführt, in der die Speicherzeit für Cs^+ Ionen im 22-Pol variiert wird. Hierzu werden unter immer gleichen Bedingungen erzeugte Cs^+ Ionenpulse in die 22-Pol Falle gelassen und gefangen. Nach einer variablen Speicherzeit werden sie aus der Falle extrahiert und das resultierende Ionensignal im ReTOFMS aufgenommen. Kommt es zu keiner merklichen Abnahme des Ionensignals bei langer Speicherzeit, ist die sehr gute Funktionalität des 22-Pols nachgewiesen. In Abbildung I.2.20 ist das gemessene Ionensignal über der Speicherzeit von bis zu 250 s aufgetragen[a]. Die Messung zeigt geringe Signalschwankungen, die jedoch den Instabilitäten der ESI-Quelle zuzuschreiben sind. Hierdurch werden Experimente möglich, bei denen z. B. sehr langsame Reaktionen gemessen werden können.

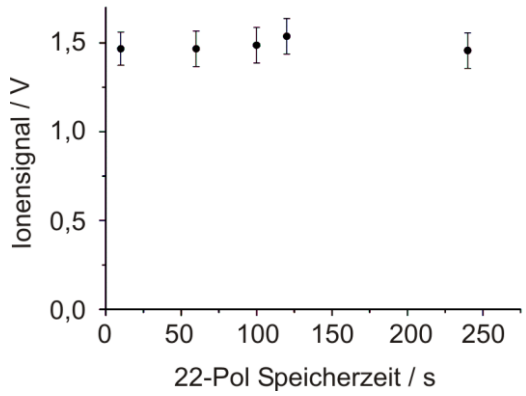

Abbildung I.2.20. Speicherzeit von Cs^+ Ionen im 22-Pol bei 5 K Fallentemperatur. Das Signal zeigt bis auf leichte Schwankungen keine merkliche Abnahme bis zu 250 s. Die Messung wurde dabei von langen Speicherzeiten zu kürzeren hin aufgenommen. Eine Signalabnahme wurde bis zu 15 Minuten nicht wahrgenommen (nicht gezeigt).

[a] Eine Speicherzeit bis zu 15min ohne Abnahme des Ionensignals konnte auch beobachtet werden, wurde jedoch nicht aufgezeichnet.

2.6 Reflektron-Flugzeitmassenspektrometer (ReTOFMS)

Als letztes Element der gesamten Apparatur wird ein vorhandenes, selbstgebautes Reflektron-Flugzeitmassenspektrometer (ReTOFMS) eingesetzt. Dieses ist mit Hilfe eines Einzellinsendeflektors mit der 22-Pol Falle verbunden und dient der massenselektiven Detektion der gespeicherten Ionen. Dies können Reaktionsprodukte, Fragmente, im 22-Pol gebildete Cluster aber auch isolierte Ionen sein. Bei Photofragmentationsexperimenten hat das ReTOFMS den Vorteil, im Vergleich zu einem QPMS, ein komplettes Massenspektrum in jedem Messzyklus aufzunehmen. Somit ist die gleichzeitige Detektion mehrerer Fragmentationskanäle pro Laserschuss möglich, was eine Vielzahl zusätzlicher wichtiger Informationen liefert. Das in diesem Experiment verwendete ortho-ReTOFMS wird dabei so eingesetzt, dass ein Ionenpuls, welcher die 22-Pol Falle entlang der Polachse verlässt (z-Richtung, Abbildung I.2.21) orthogonal zu dieser ins Flugrohr abgezogen wird.

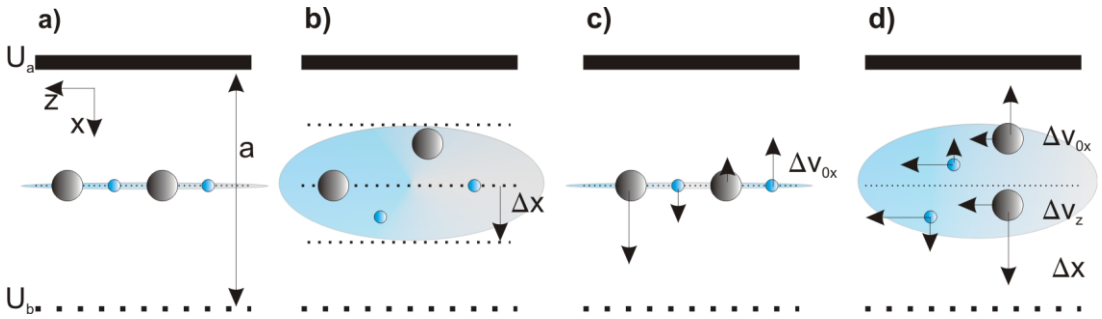

Abbildung I.2.21. Die unterschiedlichen Startbedingungen in einem (ortho-)TOFMS. **a)** (ideal) Alle Ionen liegen in einer Ebene zwischen den Beschleunigungsgittern, ohne thermische Energie in der Mitte des Beschleunigungsbereiches (a/2). Die Startenergien ergeben sich aus den Spannungen $U_a > U_b$. **b)** Die Ionen verteilen sich in einem kleinen Volumen ±Δx um den Abstand a/2 und erhalten somit durch das beschleunigende Feld verschiedene Startenergien. **c)** Ionen besitzen eine thermische Energieverteilung, die zu Geschwindigkeitskomponenten $Δv_{0x}$ entgegen oder in Beschleunigungsrichtung entlang der x-Koordinate führen, was wieder in verschiedenen Startenergien resultiert. **d)** Annähernd reale Startbedingungen in einem ortho-TOFMS. Zusätzlich zu den in b) und c) gezeigten Eigenschaften kommen noch Geschwindigkeitskomponenten entlang der z-Achse hinzu (Abbildung I.2.22.).

Das in dieser Dissertation verwendete Flugzeitmassenspektrometer basiert auf dem Prinzip, dass ein zwischen zwei Beschleunigungsgittern lokalisiertes Ionenpacket durch ein starkes elektrisches Feld beschleunigt und anschließend in eine feldfreie Driftstrecke übergeben wird. Letztere passieren alle Ionen mit (annähernd) gleicher kinetischer Energie jedoch mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten für Ionen mit

verschiedenem m/z. Wird anschließend die Flugzeit gemessen, kann m/z über die unterschiedliche Laufzeit bestimmt werden.
Die Massenauflösung einer solchen Konstruktion hängt dabei sehr stark von der Wahl der elektrischen Felder, der Orts- und Geschwindigkeitsverteilung der Ionen im Beschleunigungsbereich, sowie der Länge der Gesamtflugstrecke ab. Detailliert betrachtet, ergeben sich für das in dieser Arbeit verwendete ReTOFMS vier hauptsächliche Ursachen, die zu einer Verringerung der Auflösung führen.

1. Die Ionen befinden sich zum Startzeitpunkt in einem endlich ausgedehnten Bereich entlang der x-Koordinate. Die verschiedenen Startorte $a/2 \pm \Delta x$ [b] (Abbildung I.2.21) erfahren ein unterschiedliches Beschleunigungspotential. Dies führt zu unterschiedlichen potentiellen Startenergien U_{pot} und demzufolge zu unterschiedlichen Geschwindigkeiten im Driftbereich, selbst für Ionen mit identischem m/z. Teilchen mit geringerer U_{pot} erreichen den Driftbereich früher, fliegen jedoch langsamer und werden an einem bestimmten Ort, dem sogenannten Ortsfokus, von den schnelleren Teilchen überholt. Nach dieser räumlichen Fokussierung fließt der Ionenpuls wieder auseinander. Durch eine lange Driftstrecke wird dieser Effekt noch einmal verstärkt.

2. Die Ionen besitzen neben der Beschleunigungsenergie zusätzlich eine initiale kinetische (thermische) Energie, die sich in einer entsprechenden Geschwindigkeitsverteilung in Abzugsrichtung äußert. Teilchen, die sich zum Startzeitpunkt entgegengesetzt zum beschleunigenden E-Feld bewegen, werden zunächst abgebremst, um anschließend wieder entlang der Abzugsrichtung beschleunigt zu werden. Dies führt zu einer Umkehrzeit, bis die Teilchen wieder zum selben Ort gelangen, von dem aus sie gestartet sind. Ionen, die Geschwindigkeitskomponenten in Abzugsrichtung besitzen, werden demzufolge schneller abgezogen. Die dadurch entstehende Verteilung der kinetischen Energie $\pm U_i = \pm 1/2 m v_i^2$ resultiert in einem zusätzlichen Verschmieren des Ionenpulses.

3. Ein weiterer Grund ist die kinetische Energieverteilung in z-Richtung innerhalb des Beschleunigungsbereiches (Abbildung I.2.22). Hierdurch fächert die Flugbahn der Ionen im ReTOFMS Richtung Detektor hin auf, wodurch sich für die einzelnen Geschwindigkeitskomponenten verschiedene Winkel und somit verschiedene Wege ergeben. Dieser Fehler wird umso größer, je kleiner das Verhältnis der kinetischen

[b] Der Einfachheit halber wurde hier der Startort der Ionenbeschleunigung mittig zwischen beide Beschleunigungsgitter gelegt.

Energie in y-Richtung zu der in x-Richtung nach der ReTOFMS Beschleunigung ist. Zudem vergrößert er sich mit steigender MCP-Detektorfläche im ReTOFMS.

4. Schlussendlich wird die Auflösung eines TOFMS durch eine endliche Anstiegszeit des Ionendetektors limitiert, was die untere Grenze der Massenlinienbreite definiert.

Zusätzlich zu den vier genannten Hauptgründen können sich auch elektrische- und magnetische Störfelder auf die Qualität eines TOFMS Spektrums auswirken. Auch die endlichen Anstiegszeiten des Extraktionspulses beeinflussen die Auflösung eines TOFMS.

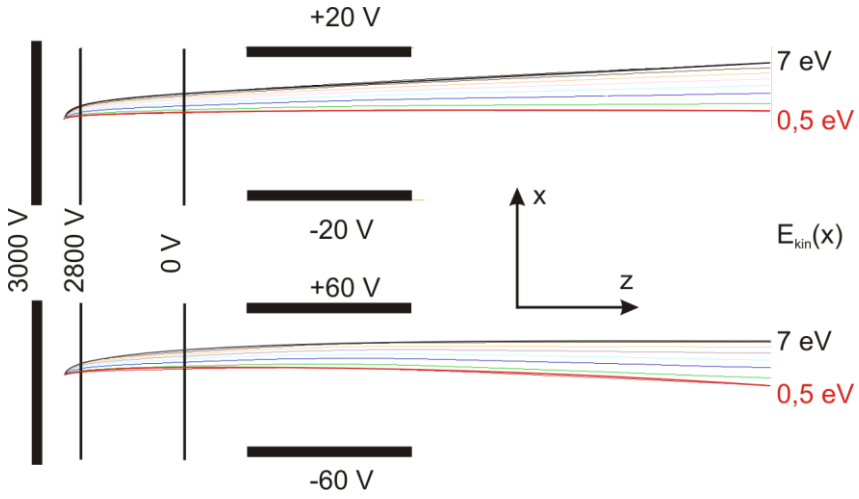

Abbildung I.2.22. Nachbearbeitete SIMION 8.1[127] Simulation (m/z 100) einer ReTOFMS-Ionenbeschleunigung aus einer Punktquelle heraus bei verschiedenen initialen kinetischen Ionenenergien in x-Richtung (0,5 eV rot, 7 eV schwarz). Der Vergleich zwischen oben und unten zeigt deutlich, dass mittels der Ablenkplatten und der Wahl der Spannung jeweils nur eine initiale Ionenenergie kompensiert werden kann.

Wiley-McLaren- und Reflektron-Flugzeitmassenspektrometer

Wie zuvor beschrieben ist die Auflösung eines TOFMS fundamental davon abhängig, aus welcher räumlichen Verteilung Ionen aus dem Extraktionsbereich beschleunigt werden und welche Energieverteilung diese besitzen. Je kleiner beide Werte sind, desto höher ist die Auflösung. Diese ist jedoch durch z. B. eine maximal erreichbare Raumladungsdichte sowie die thermische Teilchenbewegung limitiert. Um die durch die initiale räumliche Verteilung entstehende energetische Verteilung der Ionen zu kompensieren, wurden in der Geschichte der Flugzeitmassenspektrometrie bereits vielfältige Techniken entwickelt, wie z. B. das „*time-lag-focussing*“[128],

„*impulse field focussing*“[129] oder das „*rapid field reversal*“[130]. Auch hat man sich auf andere Weise diesem Problem gewidmet, indem die TOFMS-Analyse durch die „*momentum focussing*“ mittels magnetischer Sektoren erfolgt[131], aber auch mittels radialer elektrischer Felder, die zu spiralförmigen Ionentrajektorien führen[132]. In einem einfachen linearen TOFMS limitieren die Flugzeitunterschiede durch die initiale räumliche Ionenverteilung die Auflösung am stärksten. Durch flugzeitkorrigierende Methoden unter Einbezug des bereits erwähnten räumlichen Fokuspunktes kann dies jedoch kompensiert werden. In einem einstufigen linearen TOFMS, also mit nur einer Beschleunigungsstufe und anschließender Driftstrecke, ist die Position des Ortsfokus eine Konstante, die sich aus der Geometrie der Anordnung ergibt (Abbildung I.2.23 a).[133]

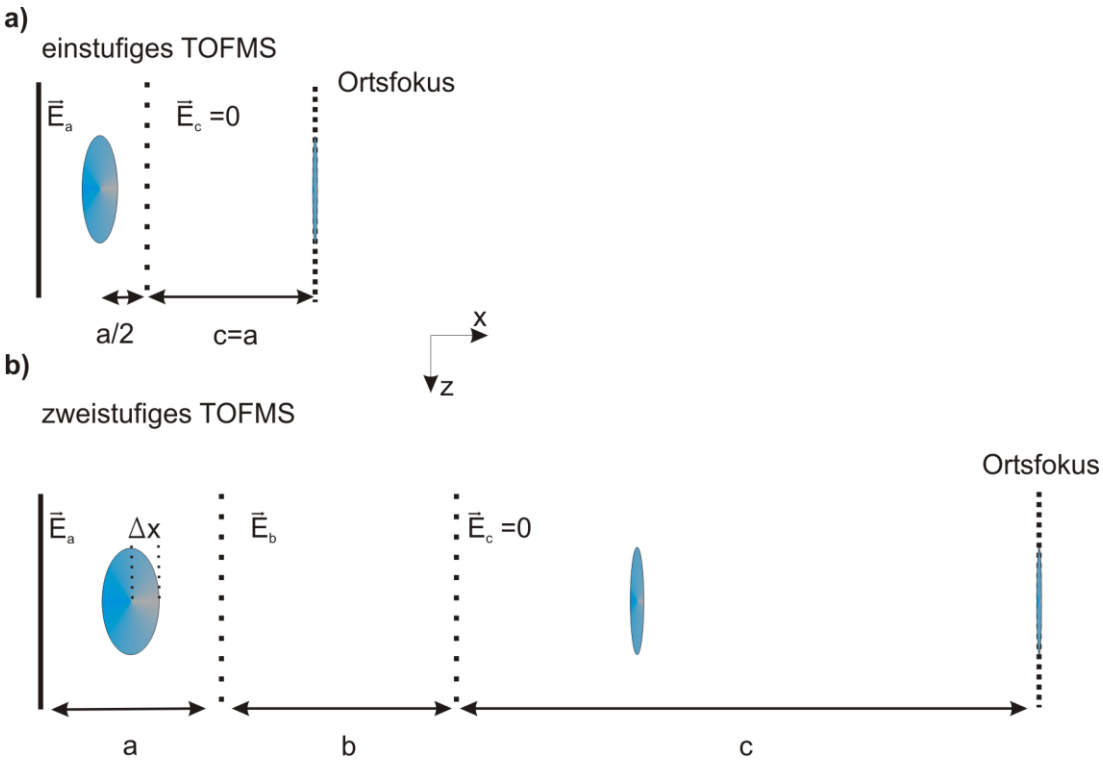

Abbildung I.2.23. a) Schematischer Aufbau eines einstufigen und **b)** zweistufigen, linearen Flugzeitmassenspektrometers. Der Ortsfokus (erster Ordnung) ist der Ort im Raum, an dem sich Ionen mit gleichem m/z, jedoch unterschiedlichen Startorten zur gleichen Zeit befinden. Dieser ist beim einstufigen TOFMS eine feste Größe (a), beim zweistufigen mittels der elektrischen Felder $\vec{E}_a$ und $\vec{E}_b$ variabel (b). Durch letztere Konfiguration lässt sich am Ortsfokus nur die räumliche Verteilung kompensieren, nicht jedoch die initiale Energie- bzw. Geschwindigkeitsverteilung der Ionen.

Liegt der Mittelpunkt der Ionenwolke mittig zwischen den beiden Beschleunigungsgittern, ergibt sich:

$$c = a. \tag{I.2.20}$$

Die hieraus resultierende Flugstrecke ist zumeist nicht ausreichend, um eine Massenseparierung mittels Flugzeit zu erreichen. Durch das Hinzufügen einer zweiten Beschleunigungsstufe wird dieser Fokuspunkt erster Ordnung durch Anpassen der jeweiligen elektrischen Felder variabel, wodurch viel größere Flugzeiten erreicht werden können. Diese durch Wiley und McLaren[128] gefundene Erweiterung führt bereits zu einer enormen Auflösungssteigerung eines linearen TOFMS. Die Gesamtflugzeit der Ionen innerhalb des TOFMS ergibt sich aus den Teilflugzeiten jedes einzelnen Bereiches:

$$t_{ges} = t_a + t_b + t_c\,. \tag{I.2.21}$$

Mit Hilfe des Energieansatzes:

$$U_{ges} = E_{kin,ges} = q \cdot \frac{a}{2} \cdot E_a + q \cdot b \cdot E_b\,, \tag{I.2.22}$$

ergeben sich die Flugzeiten der ersten beiden Teilbereiche durch Integration über die jeweiligen Längen der einzelnen TOFMS Beschleunigungsstufen sowie der feldfreien Driftstrecke.[128] Der Mittelpunkt der Ionenwolke befindet sich dabei mittig im ersten Beschleunigungsbereich. Für die Teilbereichsflugzeiten ergibt sich:[128]

$$t_a = \frac{\sqrt{2m}}{2qE_a} \cdot \sqrt{qa\frac{E_a}{2}}\ , \tag{I.2.23}$$

$$t_b = \frac{\sqrt{2m}}{qE_b}\left(\sqrt{U_{ges}} - \sqrt{qa\frac{E_a}{2}}\right)\ , \tag{I.2.24}$$

$$t_c = c\sqrt{\frac{m}{2 \cdot U_{ges}}}\ . \tag{I.2.25}$$

Der Flugzeitunterschied der Ionen $\Delta t = t(a/2 + x)$, der durch die initiale räumliche Verteilung der Ionen entlang der x-Achse verursacht wird, kann mit Hilfe einer Taylorentwicklung beschrieben werden:

$$\Delta t = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{1}{k!} \frac{\partial^k t(a/2)}{\partial x^k} \left(x - \frac{a}{2}\right)^k \quad . \tag{I.2.26}$$

Wird nur der erste Koeffizient $\frac{\partial t(a/2)}{\partial x} = 0$ gesetzt, so ergibt sich der Ortsfokus erster Ordnung. Sind zusätzlich $\frac{\partial^k t(a)}{\partial x^k} = 0,\ k = 1,2,3 \ldots$ so spricht man vom Ortsfokus k-ter Ordnung. Die sich hieraus ergebende Anzahl verschwindender Entwicklungskoeffizienten ist somit ein Maß für die Güte der Ortsfokussierung der Flugzeit. Für die Position des Ortsfokus erster Ordnung erhält man:[128]

$$c = a \cdot \frac{k_0^{\frac{2}{3}}}{3} \left(1 - \frac{1}{k_0 - \sqrt{k_0}} \cdot \frac{2b}{a}\right), \tag{I.2.27}$$

wobei folgende Substitution verwendet wird:

$$k_0 = \frac{(U_a + U_b)}{(U_a - U_b)}. \tag{I.2.28}$$

Das Ergebnis bedeutet, dass sich für jeden sinnvollen Plattenabstand eine Spannungseinstellung finden lässt, bei der die gewünschte Ortsfokussierung realisiert werden kann.

Für die Fokussierung zweiter Ordnung ergibt sich wieder eine von der Geometrie vorgegebene Fokuslänge. Dies kann für die zukünftige Verbesserung des verwendeten TOFMS in Betracht gezogen werden, wurde jedoch hier aus Gründen der Einfachheit nicht angewandt. Durch die Verwendung eines hier zweistufigen linearen TOFMS lassen sich die Flugzeitfehler, die durch die verschiedenen Startpositionen entstehen gut beheben. Die verschiedenen Flugzeiten, bedingt durch die initiale Energieverteilung, können auf diese Weise jedoch nicht von denen, bedingt durch die unterschiedlichen Startpositionen, entkoppelt werden. Eine Möglichkeit, dies dennoch zu realisieren, besteht in der Verwendung eines zweistufigen Reflektors hinter der Driftstrecke der linearen TOFMS-Stufe. Bei diesem von Mamyrin et al.[134] weiterentwickelten Reflektron-TOFMS wird ein Reflektor dabei so eingesetzt, dass er den Ortsfokus der ersten linearen TOF Stufe 1:1 auf einen (MCP-) Detektor abbildet. Dabei ist der Reflektor in der Lage, die im

Ortsfokus der ersten linearen Stufe immer noch zu beobachtende Flugzeitverschmierung zu kompensieren, welche durch die initiale kinetische Energieverteilung bedingt wird. Denn durch die Abbildung des Ortsfokus kann nicht mehr zwischen den beiden Ursachen der unterschiedlichen Ionenfluggeschwindigkeiten (Orts- und Energieverteilung) unterschieden werden. Ionen mit höherer kinetischer Energie dringen tiefer in den Reflektor ein als Ionen geringerer Energie. Jedoch alle Ionen erreichen zum gleichen Zeitpunkt im Reflektor den Stillstand (anders als bei der ersten Beschleunigungsstufe). Somit ergibt sich im Reflektor nur noch eine Orts-, jedoch keine Geschwindigkeitsverteilung mehr. Diese wiederum lässt sich, wie eben beim Wiley-McLaren TOFMS gezeigt, durch die zweistufige Beschleunigung kompensieren, was die Auflösung nochmals verbessert.

Experimentelle Umsetzung des Eigenbau ReTOFMS

Die technische Realisierung des ReTOFMS für diese Doktorarbeit erfolgt durch die Kombination eines bereits vorhandenen linearen TOFMS mit einem ebenfalls vorhandenen Reflektor (Abbildung I.2.24). Die Gesamtlänge der linearen Stufe von der ersten abstoßenden Platte bis zum ersten Gitter des Reflektors beträgt ca. 740 mm. Der Abstand der beiden Beschleunigungsgitter liegt bei a = 19 mm, der Abstand der zweiten Beschleunigungsplatte zum Eingang des Flugrohrs bei b = 35 mm. Das Flugrohr selbst besitzt dabei einen Innendurchmesser von 47 mm. Der Beschleunigungsbereich wird aus drei 5 mm dicken Platten gebildet, welche mit Aperturen von 37 mm Durchmessern versehen sind. Die letzte Platte ist dabei direkt mit dem Flugrohr verschweißt. Mit Hilfe von Klemmvorrichtungen werden die Aperturen der Platten mit feinen Metallgittern (LPI-70-MN17/*PRECISION EFORMING),* um ein möglichst homogenes elektrisches Feld zu erzeugen. Hierbei besitzen die Gitter eine maximale Transmission von 90 %. Die Beschleunigungsplatten selber werden isoliert durch Keramiken mit Hilfe von vier M3 Gewindestangen gehalten. Für deren Spannungsversorgung sind zusätzlich in kleine Gewindebohrungen eingelassene Gewindestangen vorhanden. Im Eingangsbereich des Flugrohrs stehen sich zwei 60 mm lange, an die Krümmung des Flugrohrs angepasste Ablenkplatten gegenüber, die mittels isolierter Verbindungen durch die Flugrohrwand mit Spannung versorgt werden können. Die Ablenkplatten dienen der Korrektur der Ionenflugrichtung. Das Flugrohr in Richtung des Reflektors selbst ist zweigeteilt. Die zweite Hälfte ist mit dem Deckel des ReTOFMS verschweißt, wie auch das kurze, jedoch im Durchmesser weitaus größere Flugrohr der

Reflexionsstufe. Die beiden Rohre der ersten Flugrohrsstufe sind durch einen an deren Außendurchmesser angepassten Metallzylinders miteinander verbunden.

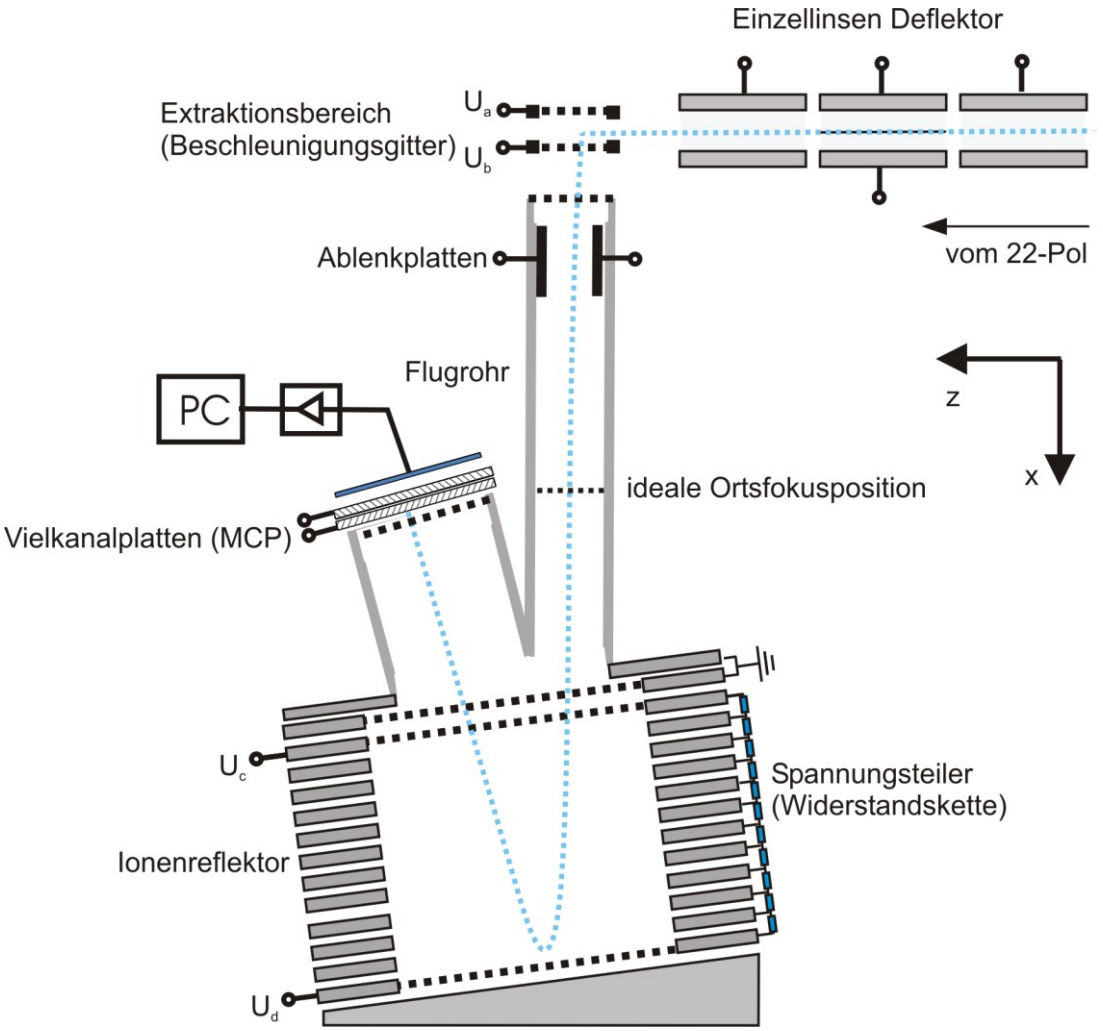

Abbildung I.2.24. Schema des Reflektron-Flugzeitmassenspektrometers (ReTOFMS). Ein Puls geladener Teilchen aus dem 22-Pol gelangt über den Einzellinsendeflektor in den Beschleunigungsbereich des ReTOFMS. Durch Anlegen einer gepulsten Hochspannung werden die Ionen senkrecht zur bisherigen Flugbahn abgelenkt. Im Flug separieren die Ionen nach m/z und treffen zu unterschiedlichen Zeiten am Detektor auf.

Der Reflektor selbst besteht aus einem Stapel von 13 Metallringen die jeweils einen Innendurchmesser von 148 mm, einen Außendurchmesser von 170 mm und eine Dicke von 10 mm besitzen. Diese Ringe werden mit Hilfe von sechs M3 Stangen zentriert, wobei Keramikscheiben für einen Ringabstand von 1 mm sorgen und zusätzlich die elektrische Isolierung gewährleisten. Die ersten beiden, sowie der letzte der Ringe sind so konstruiert, dass hier ein feines Metallgitter eingebaut werden kann. Das erste schirmt die Spannung des zweiten Gitters gegenüber beiden Flugrohren ab. Das letzte Netz wird anstelle einer Platte eingebaut um das

ReTOFMS optional auch in linearer Konfiguration nutzen zu können. Um einen elektrischen Kontakt zu ermöglichen, sind in die Ringe von außen Gewinde eingelassen, in welche M3 Schrauben gedreht wurden. Diese dienen als Ankerpunkt für die Kabel und Drähte. Die lineare Spannungsversorgung der elf Ringe zwischen dem zweiten und dem letzten Gitter erfolgt über eine Kette aus präzisen, hochohmigen (10 MΩ), hochvakuumtauglichen Widerständen (RH1-10M-J*/Token Electronics*) die hier als Spannungsteiler wirken. Hierbei werden zwei Ringe durch jeweils einen Widerstand miteinander verbunden. Das erste Gitter hingegen ist elektrisch direkt mit dem Flugrohr kontaktiert, welches auf Erdpotential liegt. Der gesamte Reflekor ist auf einem Flansch montiert, jedoch diesem gegenüber um 7,4° mit Hilfe von speziellen Haltern geneigt. Hierdurch erhält der Ionenspiegel gegenüber dem einfallenden Flugrohr einen Winkel, was die eintreffendenden Ionen nicht in sich selbst zurück reflektieren lässt sondern in das Flugrohr der Reflexionsstufe. Dieses ist wiederum um den gleichen Winkel zum Deckel geneigt, wodurch Eingangs- und Ausgangsrohr des Reflektors zusammen symmetrisch einen Winkel von 14,8° einschließen. Das Flugrohr der Reflexionsstufe hat eine Länge und einen Durchmesser von ca. 100 mm. Am Ende des Flugrohres ist wieder ein feines Metallnetz (90 % Transmission) befestigt, welches die Spannung des nachfolgenden MCP Detektors abschirmt. Dieser Ionendetektor in Chevron-Konfiguration der Firma *Tectra* in der „*large mount*“ Ausführung und Standard Anode misst 50 mm im Durchmesser. Er ist durch drei M3 Gewindestangen am Ende des Reflektorzweiges befestigt.

Spannungsversorgung und Datenerfassung des ReTOFMS

Nachdem zuvor die mechanischen Komponenten beschrieben wurden, wird nun die elektronische Ansteuerung der einzelnen ReTOFMS Komponenten erklärt. Im Anschluss des erfolgreichen Transfers der Ionen aus dem 22-Pol in den Beschleunigungsbereich des ReTOFMS wird an beiden Platten (U_a = 3,3 kV, U_b = 2,9 kV) ein Hochspannungspuls durch zwei Hochspannungspulser (GHTS-60/*Behlke)* mit Anstiegszeiten von annähernd 20 ns erzeugt. Die Benutzung zweier Pulser ist hierbei notwendig, um die für das Wiley-McLaren TOFMS notwendigen Spannungsdifferenzen in den einzelnen TOFMS Stufen zu erzeugen. Der gepulste Betrieb ist zudem erforderlich, um es den Ionen aus dem 22-Pol überhaupt erst zu ermöglichen den Beschleunigungsbereich zu erreichen. Die Spannungsversorgung der Pulser erfolgt dabei über zwei Ausgänge eines Hochspannungsnetzteiles (NHQ-216L/*ISEQ).* Die Hochspannung am hinteren Teil des Reflektors (U_d = 4,77 kV) wird

über ein Hochspannungsnetzteil (LNC 6000-5 pos*/Heinzinger)* geregelt. Für die Spannungsversorgung des vorderen Spiegels (U_C = 0,75 kV) musste ein Hochspannungsnetzteil mit geringem Innenwiderstand gewählt werden (MCN 14-2000*/fug*), denn dieser ist der letzte Teil der als Spannungsteiler eingesetzten Widerstandskette, wodurch die minimal einstellbare Spannung begrenzt wird.
Die Hochspannungsversorgung des Ionendetektors erfolgt über den zweiten Ausgang des *ISEG*-NHQ-205L Netzteils. Die hier erzeugte Spannung wird über einen Widerstandsteiler mit Pufferkondensatoren an die beiden MCP Platten verteilt. Die Anode ist mit einem kürzest möglichen (ca. 10 cm) UHV tauglichen Koaxialkabel mit einer BNC Vakuumdurchführung verbunden. Das vom Detektor kommende zeitaufgelöste Ionensignal wird hinter einem schnellen Vorverstärker (9305*/ORTEC)* durch eine schnelle Digitalisierungsmesskarte (U1070A-001*/Agilent*) am Messrechner detektiert. Da die Standardanode des Detektors (im wesentlichen ein Aluminiumblech) mit dem UHV-Koaxialkabel nicht impedanzangepasst ist, kommt es hierdurch zu Signalreflexionen, die sich störend auf die Signalqualität auswirken.

Eigenschaften des ReTOFMS

Nach Inbetriebnahme des ReTOFMS und der Optimierung der Spannungsparameter ergibt sich in Kombination mit dem 22-Pol eine bisher gemessene maximale Auflösung von $m/\Delta m = t/2\Delta t = 227 \pm 3$ (Abbildung 2.25). Dieser Wert ist für ein ReTOFMS recht gering, wobei die Gründe hierfür vielfältig sind. Die Hauptursache liegt im ungenügend kleinen Durchmesser der Ionenwolke im ReTOFMS-Beschleunigungsbereich (Kapitel I.2.7). Hierdurch kann der Ortsfokuspunkt erster Ordnung, trotz der zweistufigen Beschleunigung nicht ausreichend komprimiert werden. Des Weiteren tritt durch die Fokussierung, wegen der hieraus folgenden Winkelabweichung zur Ionenstrahlachse, eine zur thermischen Verteilung zusätzliche inhomogene Geschwindigkeitsverteilung auf. Diese wiederum kann durch den Reflektor nicht ausreichend ausgeglichen werden. Die unterschiedliche kinetische Energie in z-Richtung bedingt durch die Extraktion aus dem 22-Pol führt zudem zu einem Auffächern des Ionenbündels auf dem Weg zum Detektor (Abbildung I.2.22). Das führt zu $E_{kin}(z)$-abhängigen Flugzeiten, was wiederum die Auflösung mindert. Dies kann durch hohe Abzugsspannungen im Beschleunigungsbereich des TOFMS etwas verringert werden.

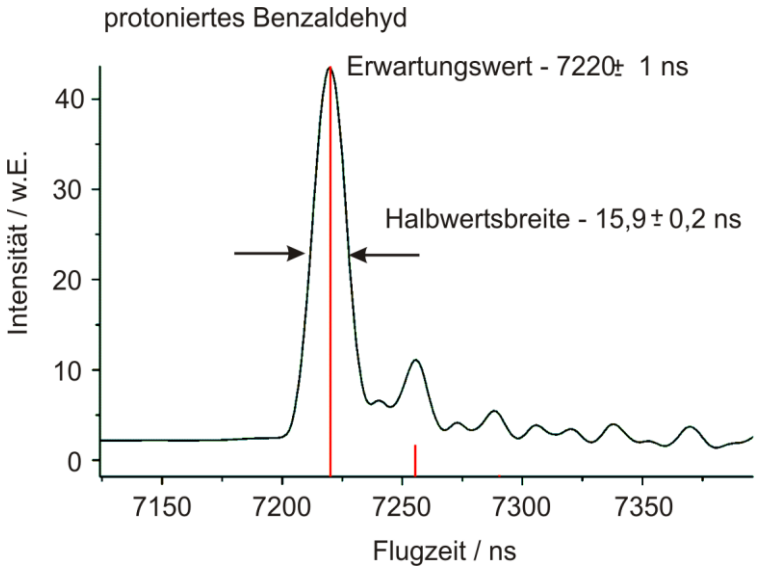

Abbildung 2.25. Flugzeitspektrum von protoniertem Benzaldehyd (m/z 107) im ReTOFMS. Die gemessenen Ionen wurden bei einer 22-Pol Temperatur von 10 K, 95 ms lang gekühlt und anschließend ins ReTOFMS extrahiert. Der zweite Peak im Spektrum (t = 7255 ns / m/z 108) ist Teil des Isotopenmusters von H^+BZH (rote Linie). Die anderen Erhebungen resultieren aus Überschwingern bei der Ionendetektion.

Auch ist eine sehr starke Abhängigkeit der ReTOFMS Auflösung mit der 22-Pol Temperatur zu beobachten (Abbildung I.2.26). Hier zeigt sich, dass die Auflösungsabnahme mit steigender Temperatur nicht monoton verläuft. So fällt die Auflösung zuerst von $m/\Delta m = 211$ sehr stark, dann zwischen 20 K und 40 K jedoch nur noch sehr schwach ab, um anschließend wieder stärker abzunehmen. Sie erhöht sich sogar zwischen 60 K und 80 K um auch dann wieder zu fallen. Eine Erhöhung der Auflösung mit fallender Temperatur ist wegen der hierdurch bedingten verringerten Ionengeschwindigkeitsverteilung zu erwarten. Jedoch ist dies keine Erklärung der beobachteten Schwankungen. Dies deutet darauf hin, dass bei der Abkühlung noch andere Effekte eine Rolle spielen. Eine mögliche Erklärung hierzu könnte z. B. die veränderliche Ionentrajektorie vom 22-Pol ins ReTOFMS bedingt durch das Zusammenziehen des Kaltkopfes liefern (Kapitel I.2.5.). Auch andere Effekte, welche die Ionenoptik durch die veränderliche Temperatur beeinflussen, können hier nicht ausgeschlossen werden. Die gemessene Auflösung und erzielten Signalintensitäten pro Messzyklus zeigen, dass die Funktionalität des ReTOFMS für die Anforderungen, die sich aus der Spektroskopie von Flavinmolekülen und anderer für die Zukunft relevanter Molekülionen ergeben, hinreichend gut ist.

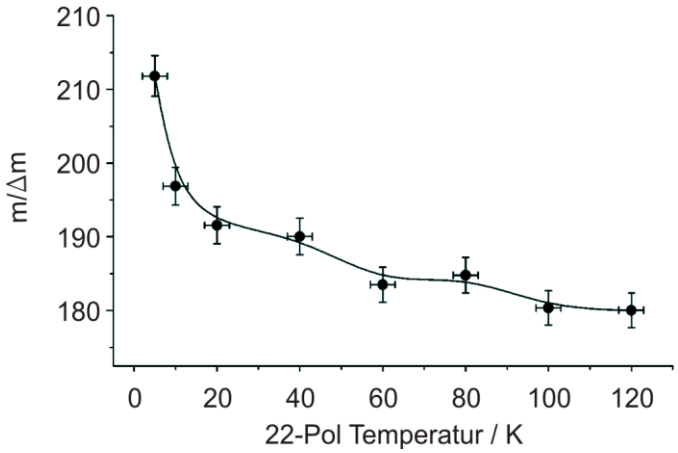

Abbildung I.2.26. Abnahme der Auflösung des ReTOFMS mit steigender Temperatur der 22-Pol Falle (aufgenommen mit protonierten Benzaldehyd) dargestellt durch eine „Spline-Interpolation" der Messpunkte. Die Abnahme lässt sich nur teilweise durch die hierdurch erhöhte kinetische Ionenenergie erklären. Die Fehler für die Temperatur wurden abgeschätzt, da nicht genau klar ist, wie schnell auch die Polstangen und die Endkappen abkühlen. Die Auflösungsfehler ergeben sich aus Unterschieden bei verschiedenen Gauß-fits und wurden hier größtmöglich abgeschätzt.

Die minimale Pulsbreite, die das MCP beim Auftreffen eines Ions erzeugt liegt zwischen 6 und 10 ns und somit unterhalb der für H^+BZH gemessenen minimalen Pulsbreite von 16 ns (Abbildung A.1). Durch die Größe des Detektors kommt es jedoch zu Unebenheiten der MCP Platten. Ionen die unter Idealbedingungen zur gleichen Zeit aufträfen und einen sehr großen Abstand zueinander besitzen, erreichen die unebene Detektoroberfläche zu verschiedenen Zeiten. Für kleine Massen kann der gewählte MCP Detektor somit in der Tat zum limitierenden Element für die ReTOFMS Auflösung werden.

2.7 Zeitlicher Ablauf des BerlinTrap-Experiments

In diesem Abschnitt wird der gesamte zeitliche Ablauf des bisher beschriebenen BerlinTrap-Experiments näher erläutert. Dieses läuft wegen der sequentiellen Abfolge des Fangens und Kühlens im 22-Pol, der Ionendetektion mittels ReTOFMS und schlussendlich wegen der Verwendung eines gepulsten Lasers im Pulsbetrieb. Die Abfolge der einzelnen Schaltvorgänge sind in Abbildung I.2.27 skizziert. Zum Zeitpunkt t = 0 wird der Triggerpuls für das Helium Puffergas im 22-Pol ausgelöst.

Mit einer Verzögerung von ca. 1,5 ms wird der MiniQP geöffnet, d.h. dessen Austrittsblende auf ein für die gefangenen Ionen attraktives Potential gesetzt. Die Ionen fliegen anschließend durch den Hexapol, werden am QPMS massenselektiert, passieren den Umlenker und den Oktupol und gelangen schließlich in die 22-Pol Falle. Durch die Trägheit des Puffergases welches sich mit Schallgeschwindigkeit vom Piezoventil zum 22-Pol ausbreitet (Verblockung) ist der Gasdruck maximal, wenn der Ionenpuls die Falle erreicht.

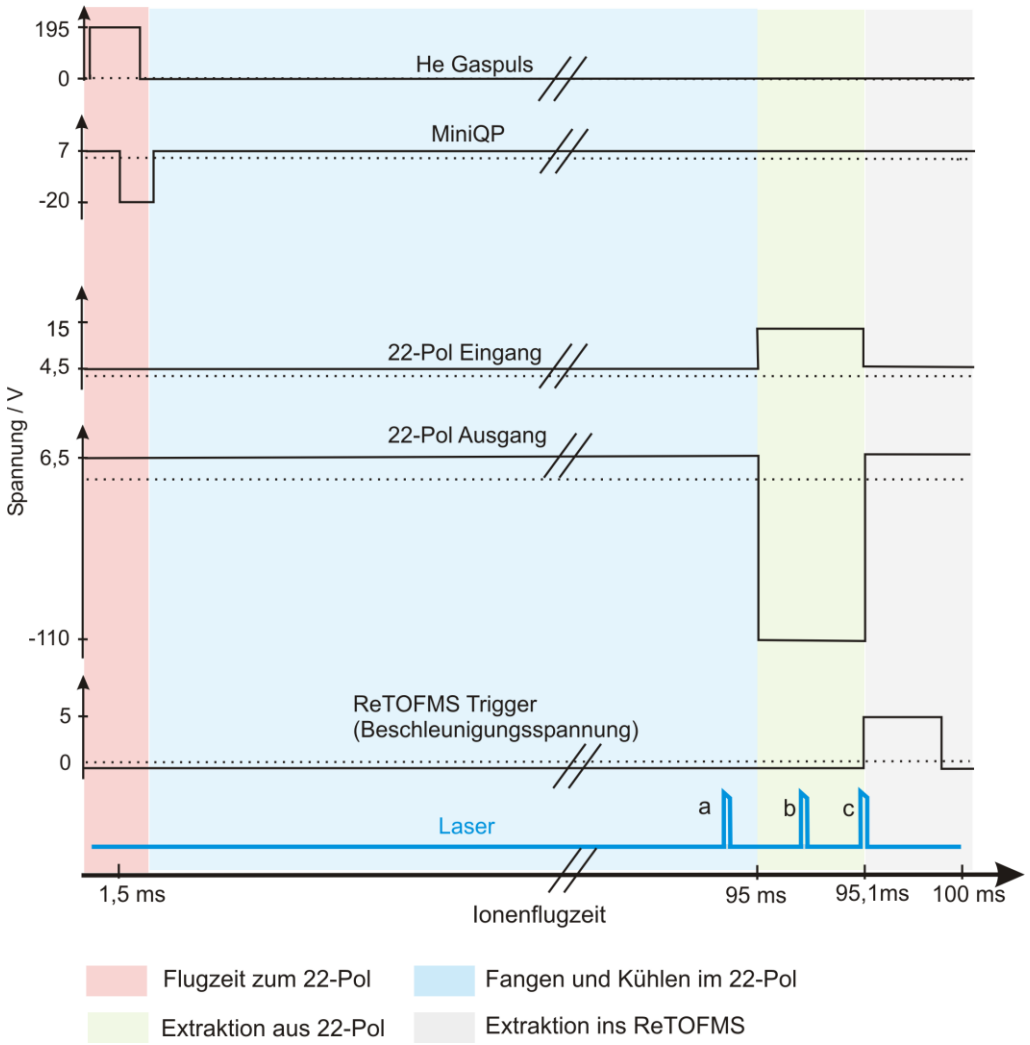

Abbildung I.2.27. Zeitlicher Ablauf eines Spektroskopieexperiments in der BerlinTrap-Apparatur. Zu Beginn wird der Trigger für das 22-Pol Puffergas gesetzt. Mit einer kurzen Verzögerung von ca. 1,5 ms wird der MiniQP geöffnet. Die durch das Experiment geleiteten Ionen treffen im 22-Pol beim maximalen Puffergasdruck ein und werden hier gefangen und gekühlt. Nach einer Zeit von ca. 90-95 ms wird die Falle durch Spannungspulse an den Endkappen in Richtung ReTOFMS geöffnet und die Ionen fliegen in Richtung des ReTOFMS Beschleunigungsbereichs. Der Laserbeschuss der Ionen kann entweder vor dieser Extraktion stattfinden (a) oder wenn sich die Ionen auf dem Weg zum Beschleunigungsbereich befinden (b) oder diesen bereits erreicht haben (c). Bei maximaler Ionendichte im Beschleunigungsbereich des ReTOFMS werden hier Hochspannungsbeschleunigungspulse gesetzt und die Ionen abschließend am MCP detektiert.

Die in den 22-Pol eintreffenden Ionen passieren hierbei dessen Eingangspotential, stoßen mit dem Puffergas, verlieren Energie und können somit das einfangende Potential nicht mehr überwinden (Abbildung I.2.5).Nach einer Speicherzeit von ca. 95 ms und der daraus resultierenden Kühlung der Ionen wird am 22-Pol-Ausgang ein starkes attraktives Potential (maximal -3500 V, üblich ca. -110 V) angelegt und gleichzeitig die Eingangsspannung von ca. 5 V auf etwa 15 V erhöht, wodurch die geladenen Teilchen in Richtung ReTOFMS beschleunigt werden.
Nach einer bestimmten, von der Ionenmasse abhängigen Flugzeit (Abbildung I.2.28) erreicht die Ionendichte im Beschleunigungsbereich des ReTOFMS ihr Maximum. An die beiden Beschleunigungsgitter werden nun gleichzeitig Hochspannungspulse (kV) angelegt, wobei die Spannungsdifferenz zwischen beiden Platten nur einige hundert Volt beträgt (Kapitel I.2.6).
Durch die hohe Gesamtpotentialdifferenz werden Ionen, die sich zu diesem Zeitpunkt zwischen diesen Gittern befinden, annähernd senkrecht zur bisherigen Trajektorie in Richtung Reflektor abgezogen. Die Ionendetektion erfolgt dann einige µs später am MCP-Detektor.

2.8 Transfer von der 22-Pol Falle zum ReTOFMS

Der Übergang zwischen dem 22-Pol und dem ReTOFMS stellt einen recht komplexen Bereich der gesamten Apparatur dar. Hier muss garantiert werden, dass Ionen, die aus dem 22-Pol extrahiert werden, möglichst effektiv den Beschleunigungsbereich zur selben Zeit, in einem möglichst geringen Strahlquerschnitt und mit kurzer Ionenpulslänge erreichen. Dies ist notwendig, um zum einen die Auflösung des ReTOFMS hinreichend zu gestalten und zum anderen die Ionensignalintensität am MCP zu maximieren (Kapitel I.2.6).

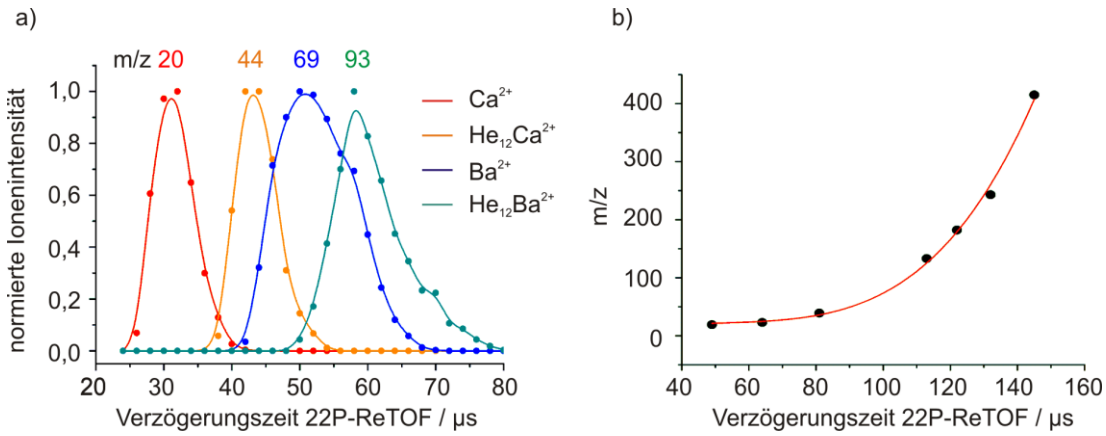

Abbildung I.2.28. a) Abhängigkeit der Signalintensität von der Zeitdifferenz zwischen 22-Pol Ionenextraktion und dem Beschleunigungspuls des ReTOFMS. **b)** Die Ionenflugzeit vom 22-Pol zum ReTOFMS-Extraktionsbereich hängt sehr stark von m/z ab. Die mit einem Polynom vierten Grades ($m/z = -24 + t\text{-}0{,}0257\ t^2 + 1{,}5 \cdot 10^{-6}\ t^{-4}$) gefitteten Messwerte spiegeln hier das komplexe Zeitverhalten wider, welches durch die Ionenlinsen und der Potentialwahl verursacht wird.

Nach der Ionenextraktion aus dem 22-Pol besteht die größte Schwierigkeit darin, möglichst viele Ionen gleichzeitig in einem flachen Volumen in den Beschleunigungsbereich des ReTOFMS zu bekommen. Dies ist jedoch nicht ohne weiteres möglich, da sich die Extraktion aus dem 22-Pol bereits so verhält wie die Beschleunigung in einem Flugzeitmassenspektrometer. Ionen, die initial näher an der anziehenden Elektrode sind, erhalten weniger kinetische Energie als jene mit größerem Abstand. Dieses Auseinanderlaufen der Pulsbreite kann, ähnlich wie in einem Wiley-McLaren TOFMS, zum Teil kompensiert werden. Jedoch führt diese Pulsbreitenkompensation wiederum zu einer erhöhten Massenseparierung in der Flugzeit bereits auf dem Weg zum ReTOFMS. Außerdem kommt es durch die Beschleunigung im elektrischen Feld, wie bei einem TOFMS zu einer Massenseparierung. Leichte Ionen erreichen bei gleicher kinetischer Energie den ReTOFMS Beschleunigungsbereich eher als schwere (Abbildung I.2.28.b). In Abbildung I.2.28.a. ist diese Abhängigkeit der Signalintensität über der Verzögerung zwischen 22-Pol Extraktion und ReTOFMS Beschleunigung für vier verschiedene Massen dargestellt. Zu sehen sind hier die Spektren von Ca^{2+} (m/z 20), dem $He_{12}Ca^{2+}$-Komplex (m/z 44), Ba^{2+} (m/z 69) und dem $He_{12}Ba^{2+}$ Komplex (m/z 93). Alle dargestellten Spektren sind jeweils auf deren Maximalwert normiert. Der Massenseparierungseffekt wird in dieser Grafik dargestellt, wobei sich eine Auflösung $m/\Delta m = t/2\Delta t$ zwischen 1,9 und 3,2 ergibt. Auffällig ist, dass die Spektren der He-Komplexe um fast 1/3 höher aufgelöst sind, als die der isolierten Ionen. Eine mögliche Erklärung ist, dass die He-

Komplexe im Durchschnitt translatorisch kälter sind als die isolierten Ionen und somit deren initiale translatorische Energieverteilung schmaler. Auch können sich die Komplexe dadurch in einem kleineren Volumen innerhalb des ReTOFMS aufhalten, bevor sie aus diesem extrahiert werden. All dies kann schließlich zu einer verbesserten Auflösung führen. Abbildung I.2.28. zeigt auch, dass nur ein Teil der gesamten zur Verfügung stehenden Ionenanzahl auch im ReTOFMS detektiert werden kann. Da die Ionenpulsbreite mit steigender Masse zunimmt, sinkt hierdurch auch die effektiv nutzbare Ionenintensität. Um abzuschätzen wie groß diese im Allgemeinen ist muss zunächst abgeschätzt werden, wie viele Ionen sich gleichzeitig im ReTOFMS Beschleunigungsbereich befinden. Dies kann, wie gleich zu sehen, aus der mittleren kinetischen Ionenenergie und der Länge des Beschleunigungsbereiches bestimmt werden. Die maximale kinetische Energie erhalten Ionen, die sich zu Beginn der Extraktion nahe der 22-Pol Eingangslinse befinden, die minimale Energie jene die sich nahe der 22-Pol Ausgangslinse aufhalten. Zwar werden die Ionen durch das attraktive Feld der 22-Pol Austrittslinse bei der Extraktion zusätzlich stark beschleunigt, jedoch werden sie, bei Ankunft am ReTOFMS um den Beitrag der hier anliegenden Biasspannung $U_{TOF\text{-}Bias}$ wieder abgebremst. Die maximale (minimale) kinetische Energie $E_{kin-max}$ $(E_{kin-min})$ mit welcher der Ionenpuls schließlich mit konstanter Geschwindigkeit durch den ReTOFMS Beschleunigungsbereich fliegt ergibt sich wie folgt:

$$E_{kin-min} = \Delta U_1 = U_{22P-Bias} - U_{TOF-Bias}\,, \tag{I.2.29}$$

$$E_{kin-max} = \Delta U_2 = U_{22P-F} - U_{TOF-Bias}\,, \tag{I.2.30}$$

wobei U_{22P-F} die Spannung der 22-Pol Eintrittsblende und der $U_{22P-Bias}$ die 22-Pol Biasspannung ist. Aus der Flugstrecke s = 37 mm die sich aus der Länge der ReTOFMS-Beschleunigungsplatten ergibt, kann somit die mittlere Verweildauer einzelner Ionen des Pulses innerhalb dieses Bereiches berechnet werden:

$$t_{max,min} = \frac{s}{\sqrt{\frac{2\Delta U_{1,2}}{m}}}. \tag{I.2.31}$$

Für eine Ionenmasse m = 20 u, sowie $U_{22P\text{-}F}$ = 15 V und $U_{TOF\text{-}Bias}$ = -1 V, ergibt sich eine minimale Verweildauer von t_{min} = 2,9 µs. Die maximale Verweildauer errechnet sich mit $U_{22P\text{-}Bias}$ = 3,8 V zu t_{max} = 5 µs. Mit der größeren Ionenmasse m = 93 u wiederum lassen sich mit den zuvor verwendeten Spannungen folgende Werte berech-

nen: t_{min} = 6,5µs und t_{max} = 11,1 µs. Die berechneten Ergebnisse für t_{min} und t_{max} bilden die Größe der jeweiligen zeitlichen Messfenster für die in Abbildung I.2.28 a dargestellten Ionenpulse, welche Halbwertsbreiten zwischen 7,2 µs (m/z 20) und 9,2 µs (m/z 93) besitzen. Abhängig von der Ionenmasse kann somit pro Beschleunigungszyklus im 22-Pol mehr als die Hälfte aller Ionen, die das ReTOFMS erreichen, detektiert werden.

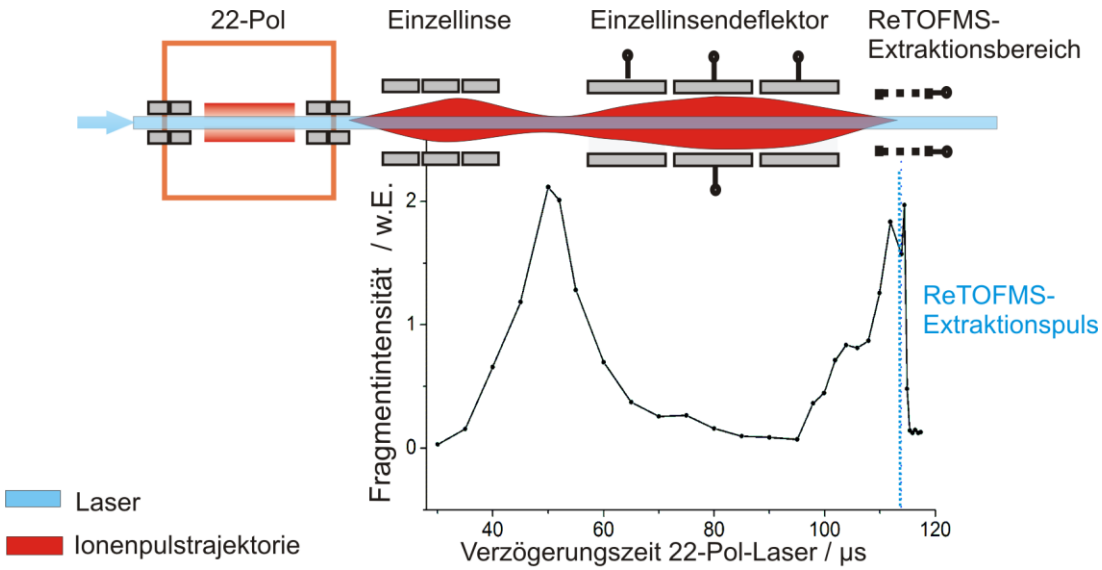

Abbildung I.2.29. Veranschaulichung des Überlapps des Laserstrahls mit dem Ionenpuls zwischen 22-Pol und ReTOFMS Beschleunigungsbereich. Die Ionentrajektorie erfährt mittels der Einzellinsen mehrmalige Fokussierung, in welcher die Ionendichte steigt. Wird der Laserpuls zeitlich dann gesendet, wenn diese am größten ist, kommt es zu einer erhöhten Fragmentationsintensität. Die dargestellte Messung wurde an protoniertem Lumichrom (m/z 243) bei einer 22-Pol Temperatur von 25 K und einer Wellenzahl von 19962 cm^{-1} durchgeführt. Das Fragmentsignal entspricht hier m/z 198.

Für die spektroskopische Untersuchung der im 22-Pol gekühlten Ionen und Komplexe müssen diese mit einem gepulsten Laserstrahl hoher Intensität bestrahlt werden. Dieser Laserbeschuss kann in der BerlinTrap variabel zu unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgen. Geschieht dies, wenn sich die Ionenwolke noch im 22-Pol befindet, kann es sein, dass wegen des Massenseparationseffekts durch die Flugzeit vom 22-Pol zum TOFMS nicht alle Fragmente gleichzeitig mit dem Mutterion detektiert werden können. Dies ist wiederum uneingeschränkt möglich, falls der Laserbeschuss erfolgt, wenn der Ionenpuls bereits den ReTOFMS Beschleunigungsbereich erreicht hat. Der Fragmentnachweis bei Bestrahlung von Ionen im 22-Pol ist so gering, dass hier eine praktikable Durchführung bisher nicht gegeben ist. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass die Endkappen mit den 22-Pol-Elektroden

derart wechselwirken, dass es hierdurch zu einer Ausbildung von Potentialmulden kommt.[135,136] Diese führen zu einer ringförmigen Ionenverteilung innerhalb der Falle, welche in Endkappennähe maximal ist. Hierdurch ist die Ionendichte in der Mitte dieses Ringes am geringsten, wo die Photonendichte des durch die Falle laufenden Laserstrahls am höchsten ist, was die geringe Fragmentationswahrscheinlichkeit bewirkt. Durch den Durchlauf verschiedener Einzellinsen wird der Ionenpuls jedoch auf dem Weg vom 22-Pol zum ReTOFMS mehrmals fokussiert. Hierdurch ergeben sich an diesen Stellen zu gewissen Zeiten hohe räumliche Ionendichten. Wird der Laserpuls zu diesen Zeitpunkten gefeuert, erhöht sich die Fragmentationswahrscheinlichkeit deutlich (Abbildung I.2.29).

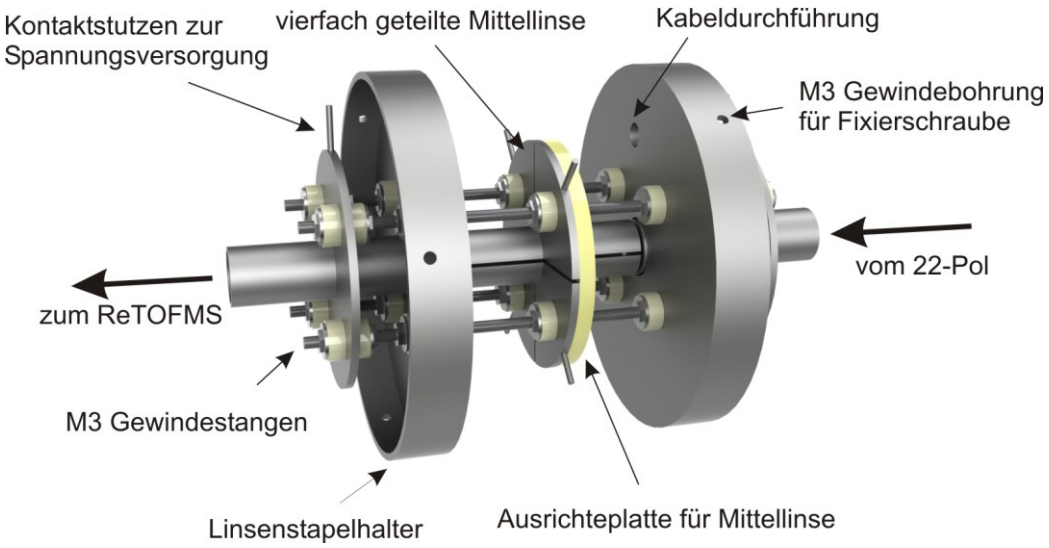

Abbildung I.2.30. Konstruktionszeichnung des Einzellinsendeflektors für den optimierten Ionentransport aus dem 22-Pol in den ReTOFMS-Beschleunigungsbereich. Die geteilte Mittellinse dient dabei nicht nur zur Fokussierung auf die z-Achse, sondern auch zur Ablenkung des Ionenstrahls in x/y Richtung. Die Abstände der einzelnen Linsen zueinander liegen bei annähernd 1 mm, die Gesamtlänge der Konstruktion beträgt 158 mm. Die Linsenöffnungen selbst haben einen Durchmesser von 13 mm. Die gesamte Konstruktion ist so konzipiert, dass sie in ein Vakuumrohr DN 100 eingebaut und mittels Fixierschrauben befestigt werden kann.

Die eben erwähnten Enzellinsenstapel zwischen 22-Pol und ReTOFMS sind ein Dreilinsenstapel am äußeren Kälteschild des 22-Pols und ein zusätzlicher großer Einzellinsendeflektor. Mit Hilfe dieser Kombination ist es möglich, die aus dem 22-Pol stammenden Ionen effizient in den Beschleunigungsbereich des ReTOFMS zu fokussieren. Um den Strahlfokus in alle drei Raumrichtungen anpassen zu können, ist die Mittenlinse des Deflektors in vier gleich große Segmente aufgespalten, die einzeln elektronisch ansteuerbar sind. Durch diese Konstruktion wird es zudem auf einfache Art möglich, die durch das Abkühlen des Kaltkopfes bedingte Positi-

onsänderung des 22-Pols senkrecht zur Ionenstrahlrichtung teilweise zu kompensieren.
Ein weiteres Problem der Kopplung der 22-Pol Falle und des ortho-ReTOFMS ist, dass die Ionen den ReTOFMS-Beschleunigungsbereich mit möglichst geringer Geschwindigkeit durchlaufen müssen, um die maximal erreichbare Ionenmenge durch den Hochspannungspuls zum MCP Detektor hin zu beschleunigen. Bei geringer kinetischer Energie erhöhen sich jedoch Linsenfehler bei der Ionenfokussierung in das ReTOFMS. Außerdem zeigt sich, dass die Ionenextraktion aus dem 22-Pol bei hohen Potentialdifferenzen erfolgen muss, um die abschirmende Wirkung der Polstangen zu kompensieren. In diesem Aufbau entsteht hierdurch ein Widerspruch. Denn zum einen werden hohe Ionengeschwindigkeiten gefordert, um eine optimierte Trajektorie in den ReTOFMS-Extraktionsbereich zu gewährleisten, gleichzeitig jedoch sind geringe Ionengeschwindigkeiten innerhalb des Beschleunigungsbereiches notwendig, um eine große Ionendichte und somit ein hohes Signal am Detektor zu erzielen. Eine geschickte Variation aller hier eingebundenen Potentiale führt somit zu einem Kompromiss zwischen beiden Bedingungen. Um diesen Anpassungsvorgang zu optimieren, soll in Zukunft ein genetischer Algorithmus, wie er bereits in Referenz [137] Verwendung findet, implementiert werden.

2.9 Design der Radiofrequenzgeneratoren für MiniQP und 22-Pol

Zur Realisierung der Apparatur gehört u.a. die Konstruktion des Hexa- und des Oktupols, sowie die Radiofrequenzansteuerungen des MiniQP und des 22-Pols. In diesem Kapitel sollen die theoretischen Grundlagen skizziert werden, die für das Design solcher Multipole sowie deren Ansteuerelektronik von Nöten sind.
Für die Dimensionierung der benötigten Wechselspannung zum Betreiben eines Multipols hinsichtlich Frequenz und Amplitude werden Berechnungen basierend auf der adiabatischen Approximation eines effektiven Potentials durchgeführt. Da die Herleitung der folgenden Gleichungen ausführlich in der Arbeit von Dieter Gerlich beschrieben ist,[138] wird sich für die grobe Skizze an diese Studie gehalten und hier besonders auf den Abschnitt II.D.2 „Save Operating Conditions“ verwiesen.

Bei Abwesenheit eines statischen elektrischen Feldes, kann die maximale transversale Energie eines Teilchens in einem linearen Multipol in der adiabatischen Approximation des effektiven Potentials wie folgt berechnet werden:

$$E_m = \frac{1}{8}\frac{(qV_0)^2}{\epsilon}\,\hat{r}_m^{n-2} + \frac{J^2}{2mr_m^2}\ , \tag{I.2.32}$$

mit der Teilchenladung q, der notwendigen Wechselspannungsamplitude V_0, der charakteristischen Energie ϵ und dem maximalen Umkehrradius r_m bzw. dem reduzierten maximalen Umkehrradius $\hat{r}_m = r_m/r_0$, der Masse m, dem Drehimpuls J, der Polstangenanzahl n. Hierbei bildet der erste Term die effektive potentielle Energie und der zweite die Zentrifugalenergie. Da letztere mit r^{-2} abnimmt, ist deren Anteil am Umkehrradius sehr klein. Zudem starten die Ionenbewegungen sehr nahe an der Achse der Falle, was zu einem sehr kleinen Drehimpuls J führt. Dies erlaubt es, den zweiten Summanden zu vernachlässigen. Der durch Gerlich numerisch erhaltene Adiabazitätsparameter kann in folgender Form dargestellt werden:

$$\eta = \frac{n-1}{n}\frac{qV_0}{\epsilon}\hat{r}^{n-2}\ . \tag{I.2.33}$$

Er enthält die charakteristische Energie:

$$\epsilon = \frac{1}{n^2}m\omega^2 r_0^2\ , \tag{I.2.34}$$

welche der kinetischen Energie eines Ions entspricht, das in Phase mit einer gegebenen Kreisfrequenz $\omega = 2\pi f$ auf dem Radius r_0 rotiert. Durch die Gleichungen (I.2.32) und (I.2.33) kann die kleinste notwendige Amplitude V_0 und die minimale charakteristische Energie ϵ_{min} eines geführten Ions durch die drei Größen $\hat{r}_m$, E_m und η_m berechnet werden:

$$qV_0 = 8\,\frac{n-1}{n}\frac{E_m}{\eta_m \hat{r}_m^n}\ , \tag{I.2.35}$$

und

$$\epsilon_{min} = 8\frac{(n-1)^2}{(n\,\eta_m \hat{r}_m)^2}E_m\ . \tag{I.2.36}$$

Durch Variation von η_m in verschiedenen Simulationen und nach experimenteller Bestätigung ergibt sich eine garantierte Adiabatizität wenn $\eta_m < 0{,}3$ gewählt wird.

Für numerische Berechnungen ist es zudem nützlich die Einheiten cm, MHz und V, die Masseneinheit u und die Ladung e sowie die Energieeinheit eV zu benutzen. Hierdurch lässt sich Gleichung (I.2.36) umschreiben zu:

$$\epsilon_{\min} = 1{,}036\frac{1}{n^2}m\omega^2 r_0^2 \quad [\mathrm{eV, u, cm, MHz}]. \tag{I.2.37}$$

Um auch sichere Konditionen für das Fangen zweier verschiedener Massen $m_1 < m_2$ zu erhalten, muss η_m noch durch:

$$\eta_m' = \left(\frac{m_1}{m_2}\right)^{\left(\frac{n/2}{n-2}-2\right)} \eta_m \tag{I.2.38}$$

in Gleichung (I.2.35) und (I.2.36) ersetzt und in (I.2.37) die größere Masse verwendet werden. Stabile Ionenbewegungen, die nicht gegen die Stangen führen, können erhalten werden, wenn $\hat{r}_m$ kleiner als 1 gewählt wird. Gerlich empfiehlt für sichere Trajektorien $\hat{r}_m < 0{,}8$ wobei wieder gilt:

$$\eta_m(\hat{r}_m = 0{,}8) < 0{,}3. \tag{I.2.39}$$

Der Polstangendurchmesser ergibt sich durch die Beziehung:

$$d_p = \frac{2r_0}{n-1}. \tag{I.2.40}$$

Dieser Formelsatz liefert nun alle Parameter, um die benötigte Frequenz und Amplitude zu erhalten, die für das Leiten bzw. Fangen des gewünschten Massenbereichs in den Multipolen von Nöten ist. Er wurde in ein LabVIEW Programm namens „Multipol-Berechnungen“ integriert und für die Planung des Hexa- und Oktupols sowie für die Ermittlung der benötigten RF-Spannungen des 22-Pols sowie des MiniQP benutzt. Tabelle I.2-1. fasst alle benötigten Parameter der Multipole zusammen, die in dieser Arbeit selbst gebaut wurden, bzw. für dessen Betrieb ein Radiofrequenzgenerator benötigt wurde.

Tabelle I.2-1. Berechnete Parameter für die verwendeten Multipole. Hierbei sind d_p der Polstangendurchmesser, r_0 der Innenradius des Multipols, f_{min} die minimal benötigte Frequenz der Polstangen, V_0 die benötigte Amplitude der Polstangenspannungen, E_t die maximale transversale kinetische Energie bezüglich der Ionenstrahlachse und m_1/m_2 die jeweils gleichzeitig transmittierbare minimale und maximale Ionenmasse (bei Ladungszahl z = 1 u).

	MiniQP	**Hexapol**	**Oktupol**	**22-Pol**
d_p in mm	3,2	5	5	1
r_0 in mm	1,6	5	7,5	5
f_{min} in MHz	8,54	6	3,89	7
V_0 in Volt	145	350	316	355
E_t in eV	0,11	0,3	0,3	0,1
m_1/m_2	20/1000	12/3417	10/1519	10/1000

Ansteuerung der Multipole

Um die diversen in dieser Arbeit benutzten Multipole mit der Radiofrequenzspannung zu versorgen, wurden kommerzielle Geräte vom Typ RFG 50[114] (*CGC Instruments)* erworben und Eigenentwicklungen benutzt. RFG 50 sind Frequenzgeneratoren mit Ausgabefrequenzen zwischen 0,5 und 10 MHz und Ausgangsamplituden von bis zu 500 V. Dabei bilden Generator und Multipol einen Schwingkreis mit inhärenter Resonanzfrequenz, wodurch jeder Generator speziell an die einzelnen Multipole angepasst werden muss.[114] Der in dieser Arbeit verwendete Hexapol sowie der Oktupol werden mit so einem Gerät betrieben.

Da die Beschaffung eines RFG-50 kostspielig ist, wurden für diese Arbeit erfolgreich Alternativen für den MiniQP und den 22-Pol entwickelt. Die hier entstandenen Radiofrequenzgeneratoren bestehen im Kern aus einem 10 W Breitbandverstärker (QRP-PA 2008*/QRP Project),* der als Bausatz erhältlich ist. Dieser wurde bereits in anderen Experimenten zur Spannungsversorgung einer 22-Pol Falle eingesetzt.[139] Der notwendige Oszillator für die Frequenzerzeugung wird durch einen Funktionsgenerator (DG1022*/Rigol*) gestellt. Das hierdurch erzeugte Sinussignal passiert den Verstärker und wird anschließend mit Hilfe eines Transformators spannungstransformiert. Dabei bilden die Empfangsspule und die Kapazität einen resonanten Parallelschwingkreis**.** In diesem wirken, zusätzlich zu den Blindwiderständen der Spule und des Kondensators, noch die jeweiligen Ohm'schen Widerstandsbeiträge R_L und R_C. Die Kapazität C des Multipols ist weitestgehend fest bzw. gegeben, sodass diese mit der Induktivität L der Spule bei Vernachlässigung von R_C die Resonanzfrequenz:

$$f_{res} = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{1}{LC} - \left(\frac{R_L}{L}\right)^2}, \tag{I.2.41}$$

bilden. Das Prinzip ist in Abbildung I.2.31 dargestellt. Die Blindwiderstände der Spule und des Kondensators heben sich im Resonanzfall auf, und es wirken nur noch die Ohm'sche Widerstände der Spule, die zusätzlich eine Dämpfung der Resonanzfrequenz hervorrufen. Durch geeignete Wahl der Spulenparameter wird somit die Resonanzfrequenz des Schwingkreises auf die gewünschte Frequenz eingestellt. Demzufolge definieren die gegebene Kapazität des Multipols sowie die Spuleninduktivität mitsamt dem Widerstand eine erste Zwangsbedingung, die erfüllt werden muss.

Gleichzeitig soll der resonante Transformator so konzipiert sein, dass die Amplitudenspannung der Sendespule V_{Send} durch die Empfängerspule möglichst hoch transformiert wird. Dies erfolgt durch das Verhältnis der Wicklungszahlen N der beiden Spulen, wobei folgende zweite Zwangsbedingung erfüllt sein muss:

$$\frac{N_{Send}}{N_{Empf}} = \frac{V_{Send}}{V_{Empf}} \tag{I.2.42}$$

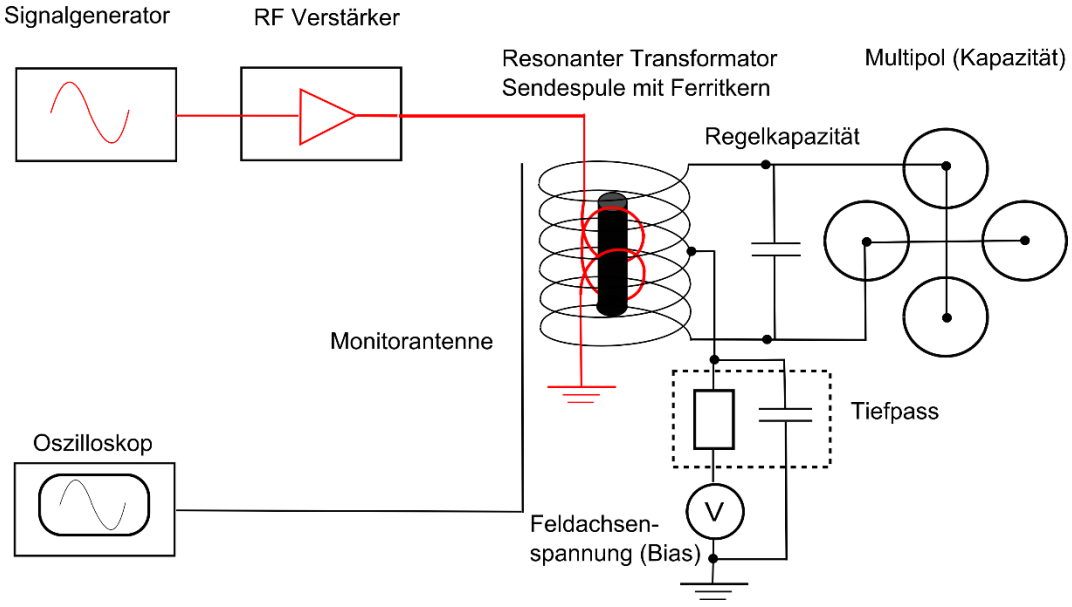

Abbildung I.2.31. Schaltbild der selbstgebauten Radiofrequenzansteuerung eines Multipols. Das vom Signalgenerator gelieferte Signal wird leistungsverstärkt und anschließend in der Spannung hochtransformiert. Über einen Tiefpassfilter wird die Feldachsenspannung auf die Stäbe gegeben und über eine Monitorantenne die entsprechende Amplitude im Schwingkreis überwacht. Mit Hilfe der Regelkapazität lässt sich die Resonanzfrequenz des Systems anpassen. Diese wurde jedoch nur für die MiniQP-Ansteuerung benötigt.

Um möglichst wenige Verluste durch Signalreflexion zu erhalten, sollte die Impedanz der Sendespule an die Ausgangsimpedanz des Verstärkers angepasst werden, was die dritte Zwangsbedingung ergibt:

$$Z_{Verst} = Z_{Send} \,. \tag{I.2.43}$$

Diese verursacht jedoch Probleme bei der Dimensionierung der langen zylindrischen Luftspulen des Transformators, deren Induktivität sich wie folgt berechnen lässt:

$$L = \frac{N^2 \mu_0 \mu_r A}{l} \,. \tag{I.2.44}$$

Hierbei ist N die Anzahl der Spulenwicklungen, A die Spulenfläche, l die Spulenlänge und μ_0 sowie μ_r die absolute sowie die relative magnetische Permeabilität des Spuleninneren. Die Multipolkapazitäten liegen in der Regel im Bereich von einigen 10 bis über 100 pF. Bei Resonanzfrequenzen von einigen wenigen MHz ergeben sich somit benötigte Induktivitäten im µH Bereich. Die Ausgangsimpedanz des QRP-PA Verstärkers liegt jedoch bei rund 50 Ω, was bei Vernachlässigung des Spulenwiderstandes und der Kapazität bei einer Frequenz von z. B. 3 MHz nach $|X_L| = \omega L$ zu einer Spuleninduktivität von 2 µH führt. Somit liegen die Induktivitäten der Sendespule in der Größenordnung der Empfängerspule. Durch die benötigte stark unterschiedliche Wicklungszahl, müsste die Empfängerspule einen sehr viel kleineren Durchmesser besitzen oder sehr viel länger werden als die Sendespule. Die Induktivität steigt quadratisch mit der Wicklungszahl und dem Spulendurchmesser, jedoch nur linear mit 1/l. Bei einer Spannungstransformation um den Faktor 10 würde sich die Spule somit um den Faktor 100 verlängern, was bautechnisch schwer zu realisieren ist.

Die zweite Option, die Empfängerspule im Durchmesser und der Länge viel kleiner zu machen als die des Senders, reduziert jedoch den magnetischen Fluss durch die Empfängerspule enorm, was in einer geringen Leistungsübertragung resultiert. Da beide Optionen nicht zu den hohen Spannungsamplituden am Multipol führen, wurde ein anderes Konzept entwickelt. Die Lösung besteht darin, für die Sendespule einen gekürzten Ferritstab mit hoher Permeabilität μ_r zu verwenden. Hier reichen ein bis zwei Windungen für die Sendespule aus, um die gewünschte Anpassung an den Verstärker zu gewährleisten. Wird nun die kleine Sendespule mit dem Ferritkern in die größere Empfängerspule hineingeschoben, ändert sich deren Induktivität und somit die resultierende Resonanzfrequenz nur geringfügig. Ein Nachbearbeiten

der Spule oder ein Hinzufügen von Ausgleichskapazitäten kann somit zur Feineinstellung der Resonanzfrequenz verwendet werden. Die Resonanzfrequenz kann dabei mit Hilfe einer Antenne in der Nähe der Spule und eines Oszilloskops störungsfrei ermittelt werden.

Der für die Transformatoren verwendete Ferritkern (TYP-1-ROD150-/BR/R33VI/ *Amidon)* besitzt eine magnetische Permeabilität μ_r = (850 ± 170). Dieser im Durchmesser 8 mm dicke Stab wurde für den Transformator auf ca. 5 cm gekürzt. Der Empfangsspulendurchmesser des MiniQP beträgt ca. 40 mm, die Spulenlänge ca. 10 mm mit einer Wicklungszahl von N = 20. Hieraus resultiert eine Empfangsspuleninduktivität von L = 6 µH. Zusammen mit der MiniQP Kapazität von 20 pF und einer zusätzlichen zu den Polstangen parallel angebrachten Kapazität von 30 pF ergibt sich hieraus eine berechnete Resonanzfrequenz von 9,2 MHz. Nach Einfügen der Sendespule mit Ferritstab in die Empfangsspule lässt sich für den MiniQP eine Resonanzfrequenz von 8,9 MHz messen (Tabelle I.2-2*).*

Tabelle I.2-2. Dimensionierung und resultierende Messgrößen der für den MiniQP und den 22-Pol gebauten Resonanztransformatoren.

	MiniQP	**22-Pol**
Länge Ferritkern l	3 cm	3 cm
Sendespulenwicklungszahl N_{Send}	2	2
Empfängerspulenwicklungszahl N_{Empf}	20	19,5
Kapazität Pol zu Pol $C_{Pol-Pol}$	20 pF	60 pF
Kapazität Pol zu Erde $C_{Pol-Masse}$	21/20 pF	109/111 pF
Resonanzfrequenz (gemessen) f_{res}	8,9 MHz	7,01 MHz
Amplitudenspannung (gemessen)V_{0-max}	250 V	350 V

Wie in Abbildung I.2.32. und Tabelle I.2-2. zu erkennen, erreichen die Spitzenwerte für den MiniQP und für den 22-Pol die für die jeweiligen Massenbereiche notwendigen Spannungsamplituden (Tabelle I.2-1.). Es muss jedoch bedacht werden, dass bei der bisherigen Berechnung die Kapazitäten der benutzten Kabel nicht mitberücksichtigt werden. Mit der Kabellänge ist zusätzlich ein nachträgliches Regeln der Resonanzfrequenz möglich. Hierdurch verändern sich jedoch die maximal möglichen Amplituden, wobei in der Regel gilt, je kürzer das Kabel, desto höher die erreichbare Resonanzfrequenz.

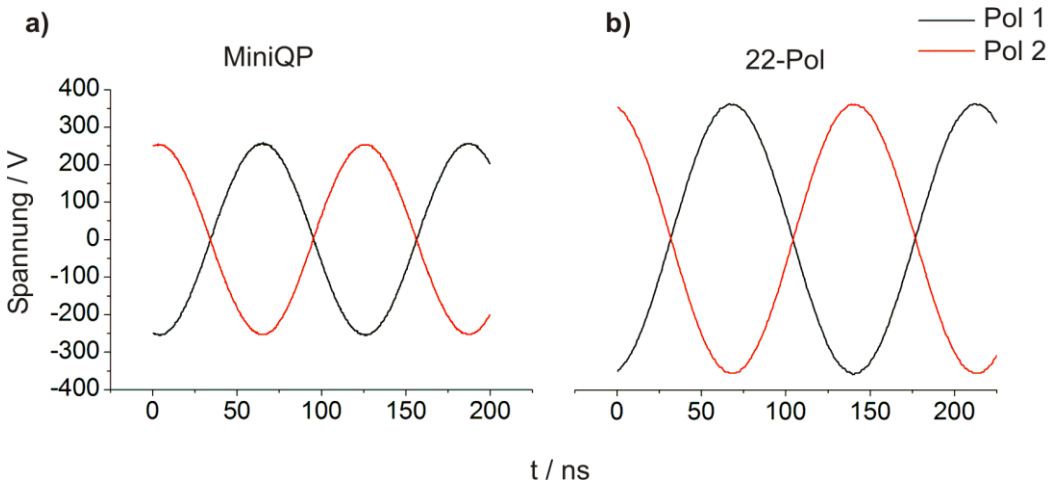

Abbildung I.2.32. Maximale Radiofrequenzspannung des MiniQP **a)** und des 22-Pols **b)** gemessen zwischen den Polen und dem Feldachsenpotential (Bias). Die Messung wurde mittels kapazitätsbelasteter Messspitzen durchgeführt und zeigt nicht die Resonanzfrequenz im Betrieb, sondern etwas gedämpft.

Die RF Generatoren für den 22-Pol und MiniQP haben den Vorteil, dass sie überaus günstig selbst hergestellt werden können und durch entsprechende Spulenwicklung an die jeweiligen Bedürfnisse der Multipole anpassbar sind. Die Realisierung der Kombination aus Ferritsende- und Luftempfängerspule ist jedoch recht komplex und nicht exakt berechenbar. Die genaue Anpassung an die gewünschten Parameter wie die Resonanzfrequenz muss somit durch Anpassen der Spulenwicklungen bzw. dem Hinzu- bzw. Wegnehmen von zum Multipol hinzugefügten Kapazitäten realisiert werden. Des Weiteren muss darauf geachtet werden, dass die Abwärme, die im Ferritkern entsteht, ausreichend abgeführt wird.

2.10 Vakuumerzeugung und Gasversorgung

In Abbildung I.2.33 sind schematisch alle Komponenten illustriert, die zur Vakuumerzeugung und -messung benötigt werden. Zusätzlich sind die Gasversorgungen für die ESI-Quelle als auch die Puffergasversorgung für die 22-Pol Falle dargestellt.

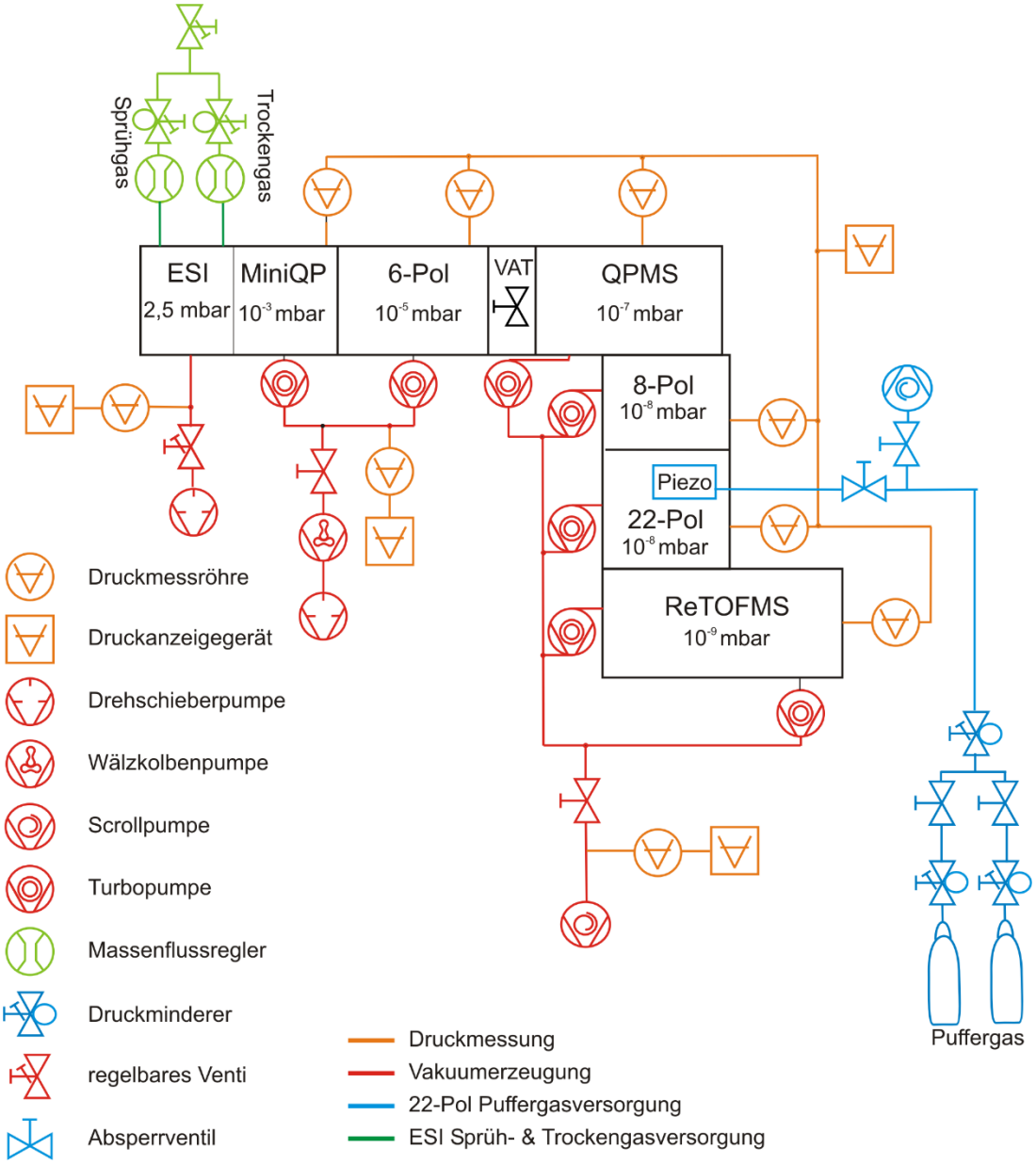

Abbildung I.2.33. Schema der für das 22-Pol Experiment benötigten Komponenten zur Vakuumerzeugung und -messung, der Gasversorgungen der ESI-Quelle und des 22-Pol Puffergases.

Um den 22-Pol bis auf kryogene Temperaturen kühlen zu können, müssen Ultrahochvakuumbedingungen mit Drücken um 10^{-8} mbar oder darunter vorliegen. Hierdurch wird das Ausfrieren von Hintergrundgas auf den Poloberflächen minimiert und somit die durchgängige Fallenfunktionalität gewährleistet. Die Ionenerzeugung mittels Elektrospray führt jedoch zu einer hohen Gaslast in der ersten Vakuumkammer. Um trotzdem Ultrahochvakuumbedingungen innerhalb der 22-Pol Umgebung zu verwirklichen, sind alle Multipolkammern mittels kleiner Aperturen ($d_{max} \leq 1$ cm) voneinander getrennt. Das dadurch mögliche differentielle Pumpen wird vorrangig von Turbopumpen von *Pfeiffer* übernommen. Aus diesem Grund wird die MiniQP Kammer durch eine TMU 261P mit einer N_2 Saugleistung von 210 l/s gepumpt. An der Hexapolkammer ist wiederum eine TPH 240 (240 l/s) montiert. Die Kammern für das QPMS, des Oktupols sowie des ReTOFMS werden von einer TPU 240 (230 l/s) und die 22 Pol Kammer, wegen der hohen anfallenden Puffergaslast, von einer HiPace 700 (685 l/s) gepumpt.

Hinter der Hexapolkammer ist ein Vakuumschieber (Reihe 17/*VAT Vakuumventile)* implementiert, der es ermöglicht den Teil von der ESI-Quelle bis zum Hexapol vom Rest der Apparatur vakuumtechnisch zu separieren. Hierdurch ist es möglich Wartungsarbeiten an der ESI-Quelle durchzuführen, ohne den anderen Teil der Apparatur zu belüften. Alle Turbopumpen hinter dem Ventil werden von einer Scrollpumpe (xds35i/*Edwards,* 35 m^3/h) vorgepumpt. Der nötige Vorvakuumdruck für die beiden Turbopumpen vor dem Vakuumschieber wird durch eine Kombination aus einer RUVAC WA251 Wälzkolbenpumpe (253 m^3/h) und einer TRIVAC D65B Drehschieberpumpe (65 m^3/h) von *Leybold* erzeugt. Die erste Kammer, die Vakuumbedingungen unterliegt, beinhaltet den Übergang von der Transferkapillare zum Skimmer und wird durch eine *Pfeiffer* Duo 20M Drehschieberpumpe (24 m^3/h) gepumpt. Hier ist der Druck durch ein regelbares Ventil von 2,4 bis 7 mbar einstellbar. Die Druckmessung in den Kammern mit typischen Drücken kleiner 10^{-4} mbar erfolgt durch Kaltkathodenmessröhren (IKR 260/270*/Oerlikon Balzers*) während für die Kammern mit Grob- und Feinvakuumbedingungen Vollbereichsdruckmessröhren (PKR 251/*Oerlikon Balzers)* benutzt werden. Das Auslesen der Druckmessköpfe der Vakuumkammern wird von einem *Pfeiffer* Maxi Gauge TPG 256 A Controller übernommen, wobei die Messwerte anschließend auf einen Messrechner transferiert werden. Das Auslesen der ESI-Kammerdruckmessröhre erfolgt über ein *Oerlikon Balzers TPG 251a* Auslesegerät.

Tabelle I.2-3. Typische Werte für die Kammerdrücke (in mbar) der BerlinTrap im Betrieb mit Verwendung des 22-Pol Puffergases (p_{on}) und ohne Puffergas (p_{off}).

Vakuumkammer	p_{off}	p_{on}
ESI	2,2	2,2
MiniQP	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$
6-Pol	$5 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$
QPMS	$2 \cdot 10^{-7}$	$4 \cdot 10^{-7}$
8-Pol	$2 \cdot 10^{-8}$	$8 \cdot 10^{-7}$
22-Pol	$2 \cdot 10^{-8}$	$5 \cdot 10^{-6}$
ReTOFMS	$7 \cdot 10^{-9}$	$7 \cdot 10^{-7}$

Die ESI-Quelle wird über die Hausstickstoffversorgung mit dem benötigten Sprüh- und Trockengas versorgt. Die Gasmenge wird hierbei über zwei Massenflussregler *(*GFC 17*/ Analyt)* reguliert, wobei hier typische Werte für den Trockengasfluss zwischen 5 und 9 l/min und für das Sprühgas zwischen 0,3 und 0,8 l/min liegen. Die Puffergasversorgung für die 22-Pol Falle erfolgt über ein selbstgebautes *Swagelok*-system, an dem zwei Gasflaschen angebracht werden können, die jeweils durch ein Ventil voneinander getrennt sind. Diese Leitung wiederum kann von einer Scroll-pumpe evakuiert werden.

2.11 Lasersysteme

Eine Intention der in dieser Arbeit aufgebauten Apparatur besteht darin, Molekülionen zu fangen und zu kühlen, um anschließend deren Eigenschaften mit Hilfe spektroskopischer Methoden zu analysieren. Dazu stehen unterschiedliche Lasertypen zur Verfügung, die verschiedene Spektralbereiche mit unterschiedlicher Auflösung abdecken. Diese wiederum geben Zugriff auf die verschiedenen Gruppen optisch anregbarer Übergänge. So dienen Photonen im ultravioletten bis sichtbaren Bereich (UV-VIS) vorrangig zur Anregung elektronischer Molekülübergänge. Der Infrarotbereich (IR) hingegen wird zur Analyse von Vibrationsanregungen verwendet.
Aufgrund der geringen Teilchendichte beim Fangen von Ionen, limitiert durch die Raumladungsgrenze (~10^7 Ionen/cm^3),[22] ist es nicht möglich, direkte Absorptionsmessungen durchzuführen. Denn die hierzu benötigte Intensitätsempfindlichkeit des Messsystems ist nicht erreichbar. Aus diesem Grund wird auf die Photodissoziationsspektroskopie (Kapitel II.2.1 und II.2.2) zurückgegriffen. Nach resonanter Photonenabsorption kommt es hier zu einer Fragmentation des Molekül- bzw. Clusterions, die effizient massenspektrometrisch nachgewiesen werden kann. Hierzu bedarf es jedoch Laser hoher Leistung, um bei der geringen Ionenanzahl möglichst viele davon zu dissoziieren. Lichtquellen, die hier zur Verfügung stehen, sind optisch parametrische Oszillatoren (OPO) und Farbstofflaser, die mit gütegeschalteten Nd:YAG Lasern gepumpt werden. Von ersteren besitzt die Arbeitsgruppe sowohl IR als auch UV-VIS OPOs. Im Folgenden soll nun die Funktionsweise dieser Laser und deren Ansteuerung näher erläutert werden.

Optisch Parametrische Oszillatoren

Das Einstrahlen zweier Lichtwellen verschiedener Frequenzen (ω_1, ω_2) in einen anisotropen Kristall führt zur Ausbildung nichtlinearer Polarisationsanteile, die mit der Summen- bzw. Differenzfrequenz $\omega_1 \pm \omega_2$ schwingen. Diese impliziert wiederum das Abstrahlen von Wellen mit diesen Frequenzen. Die Differenzfrequenzbildung kann zur optisch parametrischen Verstärkung genutzt werden, indem ein Kristall mit einer intensiven Pumpwelle ω_p belichtet wird und gleichzeitig eine Signalwelle ω_s geringerer Frequenz vorliegt. Die resultierende Hilfswelle ergibt sich dann zu[140]

$$\omega_\mathrm{i} = \omega_\mathrm{P} - \omega_\mathrm{s} \quad , \tag{I.2.45}$$

und wird Idlerwelle genannt. Um diesen Prozess effizient zu gestalten, müssen die Brechzahlen, mit denen die Wellen durch den Kristall laufen angepasst werden:

$$n_i \omega_i = n_p \omega_P - n_s \omega_s \quad . \tag{I.2.46}$$

Diese Phasenanpassung kann auf unterschiedliche Arten erfolgen, welche man anhand der Polarisierung der drei Wellen, Pumpe, Signal und Idler, unterscheidet. Sie hängt vom Typ des jeweiligen nichtlinearen Kristalls ab. Bei der technischen Umsetzung des oben beschriebenen OPO Prozesses wird die Signalwelle aus dem stets vorhandenem Rauschen des elektromagnetischen Feldes erzeugt. Befindet sich der OPO Kristall zusätzlich in einem Resonator, verstärkt sich die eingangs erzeugte Signalwelle aufgrund der Phasenanpassung nach Gleichung (I.2.46) nach und nach. Zusätzlich entsteht hierbei die Idlerwelle. Es kommt zu einem Leistungstransfer aus der Pumpwelle in die Idler- und Signalwelle. Ist die Reflektivität der Resonatorspiegel sowohl für die Signal- als auch für die Idlerwelle hoch, wachsen somit beide Wellen im Resonator an und man spricht von einem doppelt resonanten OPO, wie er auch für diese Arbeit verwendet wird.

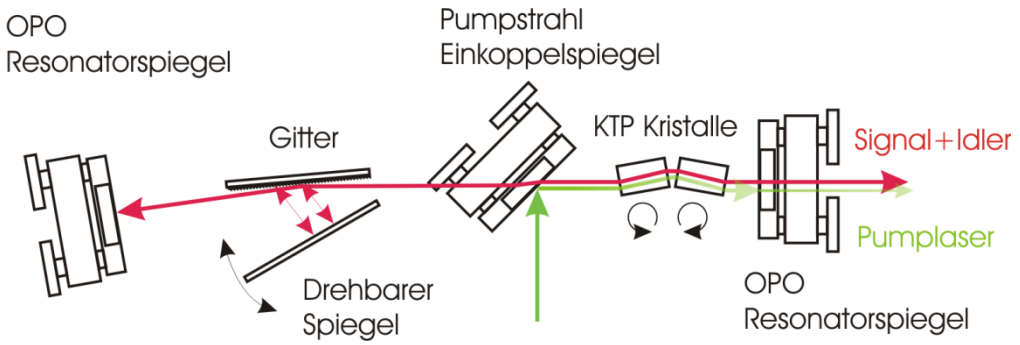

Abbildung I.2.34. Resonator eines IR-OPOs der Firma *LaserVision*. Eine Reduzierung der Frequenzbreite in einem OPO kann durch das Einbringen eines optischen Gitters in den Resonator erreicht werden. Die zwei gegenläufig rotierenden identischen Kristalle dienen dazu, den Strahl immer auf der Achse zu halten.

Die Frequenzbreite der durch den OPO Prozess emittierten Strahlung ist in erster Näherung nur von der Phasenanpassung des Lichtes im Kristall abhängig. Sie kann weiter verringert werden, indem wie in Abbildung I.2.34 dargestellt, ein optisches Gitter in den Strahlengang eingebaut wird. Dieses wird vom Signal nur streifend getroffen, so dass nur ein Teil davon ausgekoppelt wird. Ein drehbar gelagerter Spiegel ist wiederum so positioniert, dass die durch das Gitter ausgewählten Moden

wieder in sich zurückreflektiert werden. Diese Moden treten nun in Konkurrenz zu den anderen, die nicht am Gitter gestreut wurden. Durch die Rückkopplung dominieren diese Moden zu Beginn, wodurch in diese, im Vergleich zu anderen Moden, ein größerer Leistungstransfer aus dem Pumpfeld erfolgt. Durch diese Bevorzugung gewinnen die rückgekoppelten Moden immer weiter an Intensität und liegen am Ende alleine vor, was zu einer deutlichen Verringerung der Frequenzbreite führt.

IR-OPO Laser von LaserVision

Der von *LaserVision* entwickelte hochauflösende IR-OPO (S/N 8563) wird von einem Nd:YAG Laser (Surelite SLIII Ex/*Continuum*) gepumpt. Der gesamte Laser besteht aus einer OPO-Stufe und einer optisch parametrischen Verstärkerstufe (OPA) und liefert (nicht durchgehend) einstellbare Wellenlängen im Bereich von 710 nm–16 µm mit Pulsenergien von 12 bis 0,05 mJ (Tabelle I.2-4). Der OPO funktioniert dabei wie folgend beschrieben (Abbildung I.2.35). Das Pumplicht des Nd:YAG Lasers (λ = 1064 nm), wird an einem Strahlteiler aufgeteilt. Ein Teil wird frequenzverdoppelt (λ = 532 nm), der andere verbleibt bei 1064 nm. Der frequenzverdoppelte Anteil wird über zwei Umlenkspiegel geleitet und gelangt in zwei zueinander entgegengesetzt rotierende KTP Kristalle. Hier findet der OPO-Prozess statt, wobei eine Signal- und Idlerwelle erzeugt werden. Die Phasenanpassung im KTP ist vom Typ II was dazu führt, dass die Polarisation des Signals senkrecht zum Pumpstrahl und zum Idler steht.
Der andere Teil des Nd:YAG erzeugten Laserlichtes dient wiederum als Pumpwelle für die OPA Stufe. In dieser wird der im OPO zuvor erzeugte Idler als Signalwelle, für eine erneute parametrische Verstärkung, nach Gleichung (I.2.45) verwendet. Hier wird der Wellenlängenbereich 2,2–5 µm erreicht. Um die Wellenlänge noch weiter, auf bis zu 16 µm zu erhöhen, erfolgt eine Differenzfrequenzmischung der beiden in der OPA Stufe erzeugten Wellen in einem $AgGaSe_2$-Kristall. Die sich ergebenden Leistungen sind hier jedoch im Vergleich zur Pumpleistung deutlich geringer und liegen im zweistelligen µJ Bereich.

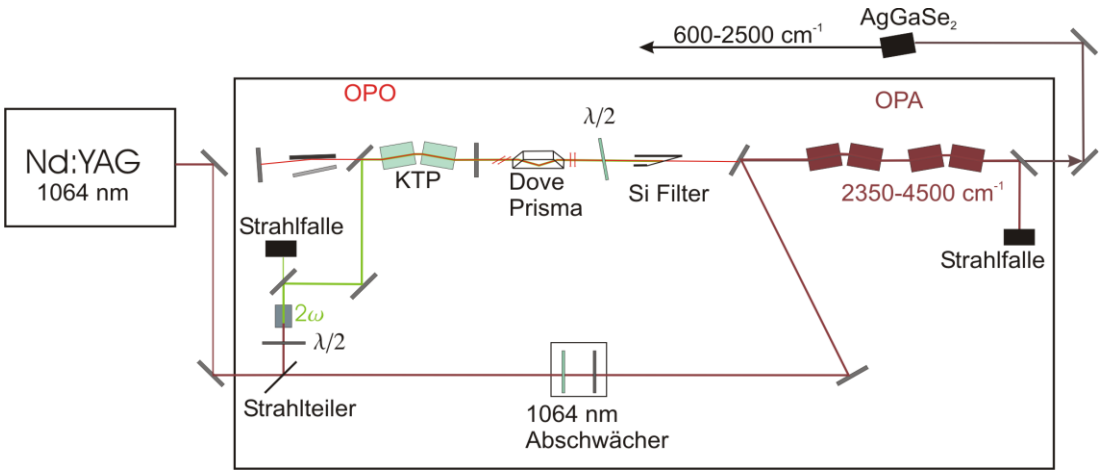

Abbildung I.2.35. Schema des Aufbaus des Nd:YAG gepumpten IR-OPO Lasers von *LaserVision*.

Um den OPO effizient zu betreiben, sind zu den benötigten Spiegeln und Kristallen noch zusätzliche Optiken eingebaut. Hinter der OPO-Stufe ist ein Dove-Prisma, eine $\lambda/2$-Platte aus MgF_2 und ein Silizium-Filter positioniert. Aufgrund der Typ II Phasenanpassung im KTP Kristall gibt es einen großen Akzeptanzwinkel in der Ebene des ordentlichen Strahls und nur einen kleinen in Richtung des außerordentlichen Strahls, was bei dieser Art der Phasenanpassung immer zu einem elliptischen Strahlprofil führt. Würde der Strahl aus dem OPO direkt in die OPA Stufe kommen und die Akzeptanzen der Kristalle hier gleich sein, käme es zu einem deutlichen Ansteigen nur einer Achse des elliptischen Profils. Hierdurch wäre der Strahl in einer Ebene sehr divergent. Durch das Dove Prisma wird der OPO Strahl gedreht und dieser Effekt dadurch minimiert. Da der Idler aus der OPO-Stufe zum Signalstrahl in der OPA Stufe wird, diese jedoch in Typ II Kristallen senkrecht zueinanderstehen, muss dessen Polarisation zusätzlich gedreht werden. Dies übernimmt hier die $\lambda/2$-Platte aus MgF_2. Ein Siliziumfilter, der im Brewsterwinkel zum Idler angeordnet ist, kann bei Bedarf den Signalstrahl und den Pumpanteil aus der OPO-Stufe herausfiltern. Der OPO läuft bei 10 Hz und wird mit benötigten Pulsenergien von 550-600 mJ (1064 nm) gepumpt.

Tabelle I.2-4. Herstellerspezifikationen des IR-OPO der Firma *LaserVision*.

	Spezifikation	Wert
Einstellbereich	nahes IR (Signal)	710-880 nm
	mittelnahes IR (Idler)	2,218-1,35 µm
	mittleres IR (Idler)	2,218-5 µm
	fernes IR (optional)	4,7-16 µm
Pulsenergien	1,5-3,5 µm	~12 mJ
	3,7 µm	~7 mJ
	4 µm	~3,5 mJ
	4,5 µm	~1,5 mJ
	5-8 µm	~0,3 mJ
	10 µm	~0,1 mJ
Linienbreite	ungeseeded	~1,7 cm^{-1}
	geseeded	~0,15 cm^{-1}

UV-VIS-OPO von *Continuum*

Der im vorherigen Kapitel beschriebene IR-OPO liefert Strahlung, die für die Bestimmung der Schwingungsstrukturen der zu untersuchenden Moleküle notwendig ist. Um auch den Bereich abzudecken, in dem elektronische Molekülübergänge in der BerlinTrap-Apparatur analysiert werden können, benötigt man eine intensive Laserlichtquelle, die im Visuellen (VIS) und im UV emittiert. Hierfür steht in der Arbeitsgruppe ein Panther EX OPO System von *Continuum* zur Verfügung, welcher den gesamten Wellenlängenbereich von 215–1150 nm abdeckt und hierbei Pulsenergien von einigen wenigen bis zu 85 mJ erzeugt. Als Pumplaser für den OPO dient hier ein gütegeschalteter, frequenzverdreifachter Powerlite 9010 Nd:YAG-Laser (λ = 355 nm). Der Pumplaser wird in eine Kavität eingekoppelt, in der sich ein Bariumborat (BBO) Kristall befindet. Hier findet nach Gleichung (I.2.45) und (I.2.46) eine Umwandlung des Pumpstrahls in einen Signal- und einen Idlerstrahl statt, welche beide in der Kavität verstärkt werden. Hinter dem BBO Kristall befindet sich ein Kompensatorkristall, um den Winkel und Positionsversatz beim Passieren des BBO zu kompensieren. In dieser Anordnung besteht weiter die Möglichkeit, entweder den Signal- oder den Idlerstrahl direkt auszukoppeln, oder einen von beiden jeweils noch einmal in der Frequenz zu verdoppeln. Dies erfolgt in der Verdopplerstufe, die wiederum aus speziell angefertigten BBO Kristallen besteht. Diese sind, wie der OPO und der Kompensatorkristall, hintereinander angeordnet und rotieren in entgegengesetzte Richtungen, um einen Strahlversatz

zu kompensieren. Der erste dieser beiden Kristalle sorgt für die Verdopplung der Wellenlängenbereiche von 520–840 nm, der zweite für 430–520 nm. Ein nachgeschaltetes Pellin-Broca-Prisma separiert das verdoppelte Licht von den übrig gebliebenen Signal- und Idlerstrahlen. Der Laser läuft typischerweise bei einer Frequenz von 10 Hz.

Tabelle I.2-5. Herstellerspezifikationen des EX-OPO der Firma *Continuum*.

Wellenlänge nm	Linienbreite /seeded cm^{-1}	Linienbreite/ungeseeded cm^{-1}	Pulsenergien
220-330	~ 2–2,5	~ 4–4,9	~ 14
330-415	~ 3	~ 4,9–5,8	~ 2–4
415-450	~ 2	~ 4–4,5	~ 80–90
450-500	~ 2	4,5–4,9	~ 90–70
550-600	~ 2,5	~ 4,5–5	~ 60–50
650	~ 3	~ 5,5	~ 30
700	~ 2	~ 5,8	~ 1
800	~ 3	~ 5,5	~ 30
1000	~ 2,5	~ 4,5	~ 25
2000	~ 2	~ 4,5	~ 10
2300	~ 2	~ 4,5	~ 7

Laseransteuerung

Der zeitliche Ablauf beider beschriebener OPO Laser wird durch den Pumplaserpuls bestimmt. Hierbei wird ein Nd:YAG Stab durch eine Blitzlampenentladung gepumpt und mittels einer Pockelszelle gütegeschaltet. Um die Laserpulse mit dem Experiment zu synchronisieren, werden sie extern getriggert. Mit Hilfe eines geeigneten Signalgenerators (Model 575*/Berkeley Nucleonics)* kann sowohl die Blitzlampenentladungszeit als auch der Güteschalter der Pockelszelle kontrolliert werden. Hierdurch wird die Synchronisation beider OPO Laser gewährleistet, wodurch es in Zukunft prinzipiell möglich ist IR-UV Doppelresonanz Experimente durchzuführen. Die Ansteuerung der Laser zum Durchführen eines Wellenlängenscans ist in beiden Systemen unterschiedlich. Um eine möglichst hohe Auflösung zu erhalten, wird der IR-OPO mittels Gleichspannungsmotoren bei konstanter, sehr geringer Geschwindigkeit (typischerweise zwischen 0,02–0,08 cm^{-1}/s betrieben. Die Winkeländerung pro Zeiteinheit ist damit weit unterhalb der Auflösung des Lasers, wodurch viele Messwerte mit annähernd derselben Laserwellenlänge erhalten werden. Dies ist bei den geringen Signalintensitäten, bedingt durch die geringe Ionenanzahl bei der Detektion im ReTOFMS, auch notwendig. Bei der Ansteuerung des UV-VIS-OPO kann

die Geschwindigkeit der Motoren nicht so weit reduziert werden, um eine angemessene Mittelung zu erzielen. Hier werden die gewünschten Wellenlängenschritte direkt angefahren, was eine gewisse Zeit benötigt (bis zu 15 s). Dann wird das Ionensignal gemittelt und ein nächster Wellenlängenschritt erfolgt. Hierbei muss jedoch der Verlust mehrerer nicht für die Messung nutzbarer Laserpulse in Kauf genommen werden. Die Ansteuerung beider Laser erfolgt über ein jeweils hierfür geschriebenes LabVIEW Programm.

UV-VIS-IR Fenster

Um die Apparatur in einem möglichst weiten Wellenlängenbereich zu nutzen und auch Mehrphotonenexperimente mit unterschiedlichsten Wellenlängenkombinationen durchführen zu können, wurden spezielle Fenster aus Kaliumbromid (KBr) ausgewählt. Diese haben eine Transmission im Bereich zwischen 500 und 25000 cm^{-1} von annähernd 90 %. Sie fällt zu den Wellenlängenrandbereichen recht stark und liegt bei 50000 cm^{-1} und bei 330 cm^{-1} noch bei rund 10 %. Da KBr hygroskopisch ist, muss darauf geachtet werden, dass das Fenster möglichst nicht mit feuchter Umgebungsluft in Berührung kommt. Hierzu wurde im Zuge dieser Arbeit ein Fensterhalter entwickelt, der dies ermöglicht. Dieser ist so konstruiert, dass das KBr Fenster mit Hilfe einer Anpressplatte auf einen Vitonring gedrückt wird, der sich zwischen dieser Scheibe und der Vakuumkammer befindet. Hierdurch sind Enddrücke von $< 10^{-8}$ mbar erreichbar. Zur Verbindung des Fensterhalters mit der Vakuumkammer ist ein DN 40 CF Flansch implementiert. Auf der anderen Seite des Halters ist wiederum ein DN 50 KF Endstück eingearbeitet. Dieses dient als Verbindungsmöglichkeit diverser KF Teile, wie z. B. das in Abbildung I.2.36 dargestellte KF Reduzierkreuz. An diesem kann ein Trockengasanschluss angebracht werden, um einen Kontakt von Wasserdampf mit dem KBr Fenster zu vermeiden und gleichzeitig einen optischen Zugang zu schaffen.

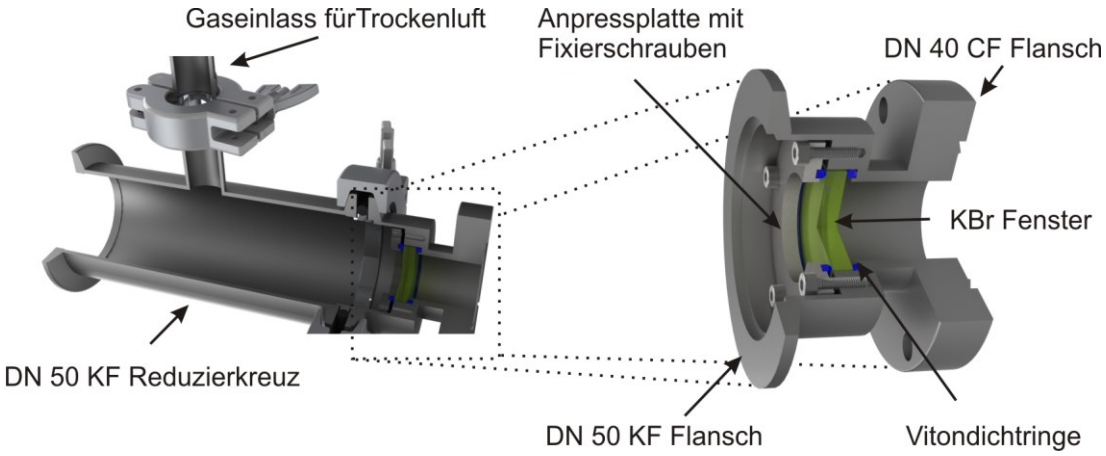

Abbildung I.2.36. Vakuumhalter für ein hygroskopisches KBr Fenster welches mittels einer Anpressplatte und eines Vitondichtrings auf einen anderen Dichtring gepresst wird. Vakuumseitig ist ein CF DN 40 Flansch verarbeitet, atmosphärenseitig ein KF 50 Flansch, der hier mit einer Trockenluftspülvorrichtung verbunden ist.

Bei Nichtverwenden des optischen Zugangs wird die gesamte Konstruktion blind geflanscht und kann sogar abgepumpt werden, um das Fenster zu schonen. Durch die gesamte Konstruktion ist es außerdem sehr einfach, bei Bedarf andere Fenster einzubauen, die einen anderen optischen Bereich transmittieren.

2.12 Signalerzeugung und Datenerfassung

Zur Realisierung der BerlinTrap gehören auch Geräte zur Erzeugung und Synchronisierung der (gepulsten) Gleichspannungen, die an den elektrostatischen Linsen anliegen und Instrumente zur analogen bzw. digitalen Datenerfassung. Der Vollständigkeit halber sollen diese in diesem Abschnitt vorgestellt und deren Auswahl begründet werden.

In der Apparatur befinden sich mehr als 50 Elemente die jeweils eine gesonderte Gleichspannungsversorgung benötigen. Einen Großteil der Ansteuerung wird von zwei Spannungsverstärkern (TD1400/*Spectrum Solutions)* mit jeweils 20 Kanälen bereitgestellt, die stufenlos regelbare Spannungen von bis zu $\pm$400 V ausgeben können. Sie werden über drei D/A-Wandlerkarten (PIO-DA16/*ICPDAS)* geregelt, welche wiederum Steuerspannungen von $\pm$10 V mit 14 Bit ($\equiv$ 1 mV) Auflösung herausgeben können. Die kleinste einstellbare Spannungsdifferenz hinter dem Verstärker beträgt somit 40 mV. Die Spannungen sind über ein selbsterstelltes LabVIEW Programm kontrollierbar.

Einige elektrostatische Linsen, wie die MiniQP- und 22-Pol-Endkappe, müssen zudem gepulst betrieben werden können. In einer früheren Version der Apparatur wurden zur Pulserzeugung fünf Signalgeneratoren (DG1022/*Rigol*) verwendet. Diese können Rechteckpulse mit Längen von 500 ns bis 2000 s herausgeben, und besitzen bei 10 Hz und einer Pulshöhe von 20 V eine Anstiegszeit von nur 20 ns. Um auch Pulsspannungen ober- bzw. unterhalb von $\pm$10 V zu generieren, sind zusätzlich Spannungsverstärker (WMA-02/*Falco Systems)* zwischengeschaltet, welche die Ausgangsspannungen auf $\pm$175 V verstärken können. Die Anstiegszeiten liegen hier jedoch, je nach zu treibender Kapazität, bei bis zu 40 µs. Da die zeitliche Abfolge zwischen der Ionenextraktion aus dem 22-Pol, dem Laserpuls und dem Beschleunigungspuls des ReTOFMS sehr präzise aufeinander folgen muss (bei Bestrahlung direkt im Beschleunigungsbereich des ReTOFMS muss eine zeitliche Genauigkeit im 10ns Bereich gewährleistet werden), wurde hierfür nach anderen Möglichkeiten gesucht. Aus diesem Grund erfolgt die Extraktion aus dem 22-Pol durch einen Pulsgenerator (LPUX-4140/*DEI)* welcher Pulsspannungen von bis zu $\pm$3,5 kV, mit Anstiegszeiten von $\leq$ 25 ns erzeugen kann. Die Pulserzeugung im ReTOFMS wird hingegen durch zwei Hochspannungspulser (GHTS 60/*Behlke)* gewährleistet. Die zeitliche Synchronisation dieser beiden Pulser mit dem Laser (Güteschalter und Blitzlampe separat) übernimmt ein Delaygenerator *(*Model 575/*Berkeley Nucleonics),* der acht einzeln ansteuerbaren Ausgangskanäle mit einer zeitlichen Auflösung von 250 ps besitzt. Der Delaygenerator als zentraler Taktgeber des Experimentes dient auch zur Synchronisation der für die MiniQP Austritts- und 22-Pol Eintrittsblende verwendeten Signalgeneratoren.

Das Ionensignal am Channeltron wird durch einen speziellen Verstärker mit integriertem Diskriminator (MTS-100*/Advanced Research Instruments Corporation)* in 5 V TTL Signale umgewandelt und mit einer AD/DA Messkarte (NI PCI 6221*/National Instruments*) gezählt. Diese Karte stellt auch die 0-10 V für die Massenansteuerung des QPMS und die ±5 V Steuerspannung für dessen Bias mit einer Auflösung von 16 Bit bereit. Das Ionensignal am MCP-Detektor des ReTOFMS hingegen wird nach Passieren eines Vorverstärkers (9305*/ORTEC)* in einer schnellen Digitalisierungskarte (U1070A-001/*Agilent)* mit einer Zeitauflösung im ns-Bereich ausgelesen.

Die Ansteuerungen der Laser sowie das Auslesen und Aufbereiten aller Messdaten und die Steuerung der meisten Spannungsquellen erfolgt über mehrere selbst geschriebene LabVIEW Programme.

3 Die Leistungsfähigkeit der BerlinTrap-Apparatur

Der Hauptzweck der in dieser Arbeit behandelten Apparatur liegt in der Photodissoziationsspektroskopie kryogener Molekülionen, die in der 22-Pol Falle gefangen sind. Mit der Kopplung eines orthogonalen ReTOFMS an die Falle besteht die Möglichkeit, alle Fragmentionen die nach der Laserabsorption entstehen in einem Messschritt zu detektieren. In diesem Kapitel werden Messungen vorgestellt, die die Leistungsfähigkeit der BerlinTrap-Apparatur demonstrieren. Dabei wird zu Beginn durch Messungen mittels UV-Photodissoziation (UVPD) an protoniertem Tyrosin gezeigt, welche minimalen Vibrationstemperaturen erreichbar sind. Anschließend wird die Bildung von $He_nH_3O^+$ und He_nNa^+ Komplexen demonstriert und diskutiert. Am Ende des Kapitels wird zudem gezeigt, dass auch die Aufnahme von IRPD Spektren mit der BerlinTrap möglich ist, was am Beispiel vom protonierten Benzaldehyd-Ar Komplex belegt wird.

3.1 Ionentemperaturmessung mittels UVPD-Spektroskopie an H^+Tyrosin

In der 22-Pol Falle werden nicht nur die translatorischen Freiheitsgrade durch das Puffergas gekühlt, sondern auch die internen. Dabei stößt in der Regel ein leichtes Puffergas (vorrangig He) mit schweren Molekülionen. Die dabei resultierende Temperatur, welche die inneren Freiheitsgrade determiniert, wird Kollisionstemperatur T_{col} genannt und ergibt sich aus folgender Bedingung: [141]

$$T_{col} = \frac{m_1 T_2 + m_2 T_1}{m_1 + m_2} \quad . \tag{I.3.1}$$

Hierbei bezeichnet T_1 die translatorische Temperatur des Puffergases, T_2. die des zu kühlenden Molekülions und m_1 bzw. m_2 die entsprechenden Massen. Die Gleichung zeigt, dass es möglich ist, die inneren Freiheitsgrade effizient zu kühlen, auch wenn die Molekülionen translatorisch heiß sind. Es zeigt sich auch, dass die Kühlung umso effizienter erfolgt, je kleiner die Masse des Puffergases ist. Die resultierende interne Temperatur der Molekülionen innerhalb der 22-Pol Falle kann mit Hilfe spektroskopischer Methoden recht genau bestimmt werden. Hier stehen unter-

schiedliche Möglichkeiten zur Verfügung, die jedoch alle darauf ausgelegt sind, besetzte Zustände zu determinieren, um daraus rückwirkend die Temperatur der inneren Freiheitsgrade abzuleiten. Eine für unsere Anwendung einfache Methode besteht in der Auswertung der elektronischen Spektren der protonierten Aminosäure L-Tyrosin (H^+Tyr), die bereits von anderen Forschungsgruppen als Benchmark für diesen Zweck genutzt wurde.[52,83,142]

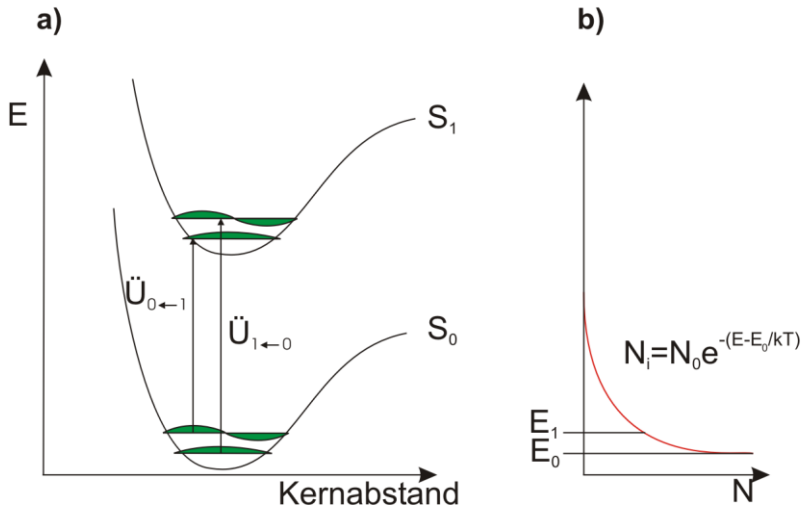

Abbildung I.3.1. Veranschaulichung des Prinzips der spektralen Temperaturbestimmung. Die Besetzung der Schwingungszustände im elektronischen Grundzustand im thermodynamischen Gleichgewicht entspricht einer Boltzmann-Verteilung und hängt somit von der Temperatur ab b). So kann aus dem Intensitätsverhältnis der Übergänge $Ü_{0\leftarrow1}$ und $Ü_{1\leftarrow0}$ auf das Besetzungsverhältnis zwischen dem Grundzustand und ersten angeregten Schwingungszustand geschlossen werden (a). Dies ist jedoch nur möglich, wenn die Franck-Condon Faktoren dieser Übergänge annähernd gleich sind.

Um H^+Tyr auch in der BerlinTrap-Apparatur zu untersuchen, wird zu dessen Erzeugung 1,5 mg Tyrosin (Carl Roth, Reinheit >99 %) in 13 ml Methanol, 7 ml Wasser und 1 ml Ethansäure gelöst und anschließend in der ESI-Quelle mit einer Rate von 4 ml/h gesprüht. Die durch UVPD von H^+Tyr detektierten Hauptfragmente nach Anregung des $S_1\leftarrow S_0$ Überganges sind Ionen mit m/z 108 und 136. Die beiden Spektren der verschiedenen Fragmentationskanäle unterscheiden sich hier signifikant (Abbildung A.2 im Anhang), da das Fragmentationsverhältnis vom jeweiligen Konformer abhängt. Dies demonstriert noch einmal den Vorteil der simultanen Analyse mittels ReTOFMS. Das UVPD-Spektrum von H^+Tyr, welches zur weiteren Untersuchung der erreichten Vibrationstemperatur in der 22-Pol Falle genutzt wird, ist in Abbildung I.3.2 dargestellt.

Die nun folgende Auswertung kann für H^+Tyr angewendet werden, da sich die Normalmoden des S_0 Grundzustandes denen des angeregten S_1 Zustandes ähneln. Dadurch sind die Franck-Condon Faktoren der Übergänge $\ddot{U}_{0\leftarrow1}$ und $\ddot{U}_{1\leftarrow0}$ (Abbildung I.3.1) annähernd gleich und die (relative) Übergangswahrscheinlichkeit hängt somit nur noch von der jeweiligen Besetzungszahl N ab.[52] Diese wiederum spiegeln sich in den Linienintensitäten des gemessenen Spektrums wider. Über den Zusammenhang

$$T = -\frac{\Delta E}{k_B \cdot \ln\left(\frac{I_{\ddot{U}_{1\leftarrow0}}}{I_{\ddot{U}_{0\leftarrow1}}}\right)}, \qquad \text{(I.3.2)}$$

lässt sich somit die resultierende (vibratorische) Temperatur des vermessenen Moleküls ermitteln. Hierbei ist ΔE die Energiedifferenz zwischen dem Grundzustand und dem ersten vibratorisch angeregten Zustand $I_{\ddot{U}_{0\leftarrow1}}$ bzw. $I_{\ddot{U}_{1\leftarrow0}}$ die gemessenen Intensitäten der jeweiligen Absorptionslinien und k_B die Boltzmann-Konstante.

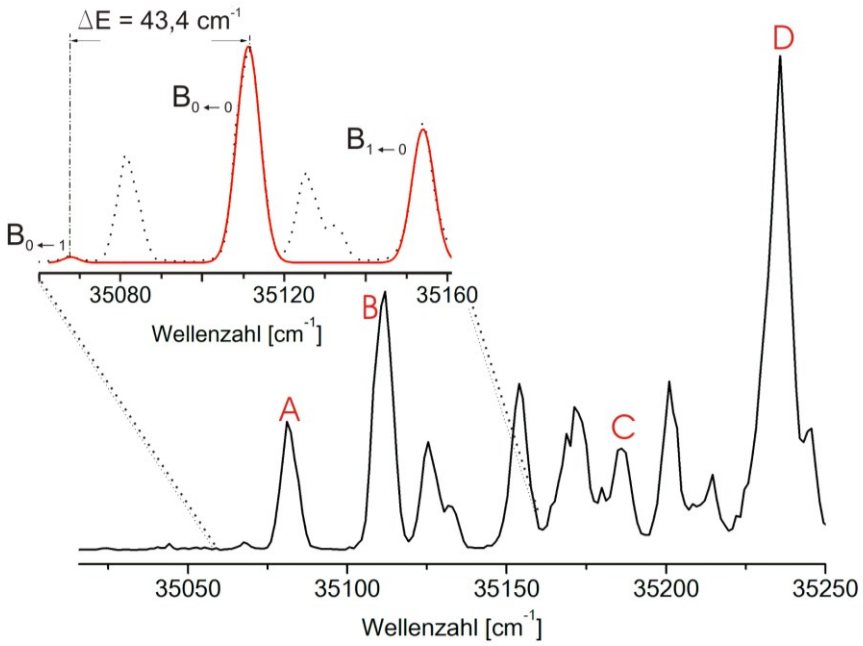

Abbildung I.3.2. UVPD Spektrum von H^+Tyrosin bei einer 22-Pol Temperatur von 5 K. Die Bandenursprünge der vier in der Messung identifizierten Isomere werden mit A, B, C und D markiert. Im eingefügten Ausschnitt des Spektrums sind die Gaußfits der für die T-Bestimmung notwendigen Linien, sowie der Energieabstand der ersten „heißen" Bande zum Bandenursprung dargestellt. Die Bezeichnung der Übergänge mit $B_{0\leftarrow1}$, $B_{1\leftarrow0}$ und $B_{0\leftarrow0}$ resultiert aus dem für die Temperaturanalyse verwendeten Isomer B. Die UVPD erfolgt dabei 50 µs nach der 22-Pol Extraktion, auf den Weg der Ionen zum ReTOFMS.

Um aus dem gemessenen Spektrum die genaue Linienzuordnung zu erhalten, und um eventuell auftretende Konformere zu unterscheiden, werden Franck-Condon Simulationen verwendet, welche für den Fall von H^+Tyrosin bereits zur Verfügung standen.[52,94] Die Energiedifferenz ΔE ergibt sich aus dem spektralen Abstand der Übergänge $\ddot{U}_{0\leftarrow1}$ und $\ddot{U}_{0\leftarrow0}$ des gewonnenen UVPD Spektrums von H^+Tyr (Abbildung I.3.2). Die UVPD erfolgt dabei auf dem Weg der Ionen vom 22-Pol zum ReTOFMS, 50 µs nach der Extraktion aus der Falle, nachdem sie zuvor bei einer Fallentemperatur von 5 k gekühlt wurden.

Durch Franck-Condon Simulationen können vier Isomere identifiziert werden, deren Bandenursprünge jeweils mit A, B, C und D markiert sind. Für die Temperaturbestimmung wird hier, anders als in Referenz [52] das Konformer B genutzt, weswegen auch die Übergänge entsprechend bezeichnet werden. Der Grund hierfür liegt in der besseren Ausprägung der heißen Bande ($\ddot{U}_{0\leftarrow1}$), die für Konformer A keine zufriedenstellend verwertbaren Ergebnisse lieferte. Aus der Messung ergibt sich ein Bandenabstand zwischen $B_{0\leftarrow1}$ und $B_{0\leftarrow0}$ (B steht für die Übergänge des Konformers B) von ΔE = 43,4 cm^{-1}. Anstelle der Peak Maxima wurde die Fläche unter den gefitteten Kurven verwendet und ins Verhältnis gestellt. Die sich nach Gleichung (I.3.2) ergebende Temperatur beträgt (18±2) K.

Für eine Fallen- und somit angenommene He Temperatur von 5 K folgt aus Gleichung (I.3.1), dass die translatorische Temperatur von H^+Tyr bei ca. 610 K liegt, was einer mittleren kinetischen Energie von ~ 53 meV entspricht. Um die vibratorische Temperatur noch auf anderem Wege zu verifizieren, wurden CC2/aug-cc-pVDZ Rechnungen sowohl für den Grund-(S_0) als auch für den angeregten Zustand (S_1) durchgeführt, und anschließend Franck-Condon-Simulationen mit PGOPHER[143] vorgenommen. Auch hier ergibt sich eine, zur Fallentemperatur abweichende, effektive Vibrationstemperatur von (17,2±2,3) K.

Über die Ursache dieser hohen Temperatur kann bisher nur spekuliert werden. Ein möglicher Grund kann in der Radiofrequenzaufheizung bedingt durch die ungewollte Übertragung der Fallen RF-Spannung auf die 22-Pol Endkappen liegen. Dadurch werden die Ionen entlang der z-Achse in Schwingung versetzt und stoßen wiederum mit dem Puffergas. Dieses Problem wurde bereits durch elektronische Modifikationen (Kapitel I.2.5) stark reduziert, jedoch deren Auswirkung auf die Temperatur noch nicht gemessen.

Eine andere Möglichkeit kann darin bestehen, dass die Ionen bei der Extraktion aus dem 22-Pol mit dem restlichen Puffergas kollidieren und sich dadurch wieder aufheizen. Herausfinden ließe sich dies, indem die Intensität des Puffergaspulses

und/oder die Wiederholrate des gesamten Experimentes herabgesetzt wird. Durch letztere Maßnahme entsteht ein geringerer mittlerer Druck in der 22-Pol Kammer, was die Stoßwahrscheinlichkeit reduziert. Im Rahmen dieser Arbeit konnten diese Maßnahmen aus organisatorischen Gründen nicht mehr durchgeführt werden.

3.2 Bildung von $He_nH_3O^+$ und He_nNa^+ Komplexen im 22-Pol

Bei ausreichender Kühlung der inneren und äußeren Freiheitsgrade kann es dazu kommen, dass neutrale Umgebungsteilchen schwache Bindungen mit den gefangenen Ionen eingehen und sogenannte Cluster bilden. Diese entstehen vorrangig mittels Dreikörperstößen vom Typ:

$$A^+ + 2B \xrightarrow{\text{Stoß}} B \cdot A^+ + B \tag{I.3.3}$$

Die Wahrscheinlichkeit für solch einen Vorgang erhöht sich mit steigender Teilchendichte, also bei steigenden Drücken. Die Bindungsenergien sind in der Regel viel geringer als die chemischen Bindungen im Molekülion und resultieren bei Molekülion-Edelgasclustern vorrangig auf Van-der-Waals Bindungen (~5–50 meV). Letztere sind typischerweise so gering, dass sie nur einen kleinen Einfluss auf die Vibrationen sowie die elektronischen Eigenschaften der mit dem Botenatom versehenen Molekülionen ausüben. Da solche Bindungen mit IR Photonen aufgebrochen werden können, ist es somit möglich durch IRPD Spektroskopie einen tieferen Einblick in die Molekülionenstruktur zu erhalten (Kapitel II.2.1).

Die Herstellung solcher Van-der-Waals Komplexe, vor allem mit Helium, ist nur unter speziellen Umständen realisierbar. Da eine der Expertisen der Forschungsgruppe Dopfer, in der diese Dissertation entstand, die IRPD-Spektroskopie ist, ist die Erzeugung und Vermessung solcher Komplexe von großem Interesse. Als ersten Test dieser Methode in der BerlinTrap werden deswegen He-Komplexe mit monoatomaren Ionen (He_nNa^+) und leichten Molekülionen ($He_nH_3O^+$) direkt in der 22-Pol Falle erzeugt. Hierzu wird ein intensiver He-Puls von 4,5 ms Länge in den 22-Pol gelassen, 1,5 ms bevor die Ionen aus dem MiniQP treten. Dies hat zur Folge, dass die Ionen den 22-Pol bei maximalem He-Druck erreichen. Dadurch wird nicht nur die Fangeffizienz maximiert, sondern auch die Wahrscheinlichkeit der benötigten Dreikörperstöße. Nach einer Speicherzeit von ca. 95 ms bei einer Fallentemperatur

von 5 K werden die Ionen aus der 22-Pol Falle ins ReTOFMS transferiert und hier detektiert.

Bedingt durch ihre verschiedenen Massen erreichen die Ionen den Beschleunigungsbereich des ReTOFMS jedoch zu unterschiedlichen Zeiten (Kapitel I.2.6). Die gleichzeitige Detektion aller Komplexe mit den relativen Intensitäten ist somit nicht möglich. Um dies zu kompensieren wird ein Scan der Verzögerungszeit zwischen 22-Pol Extraktion und ReTOFMS Beschleunigungspuls durchgeführt und an jedem Zeitpunkt (alle 2 µs) ein Massenspektrum aufgenommen. Die resultierenden gemittelten Massenspektren finden sich in Abbildung I.3.3 und Abbildung I.3.4, Massenspektren für ausgewählte Verzögerungszeiten sind zusätzlich in Abbildung A.3 im Anhang zu finden.

$He_nH_3O^+$ Cluster

Im halblogarithmisch aufgetragenen $He_nH_3O^+$ Spektrum in Abbildung I.3.3 lassen sich Komplexe mit bis zu n = 5 identifizieren. Auffällig ist der leichte Intensitätsanstieg bei n = 3 und der anschließende starke Abfall bei n = 4 und 5. Diese Ergebnisse sind Vergleichbar mit denen von Asvany et al.,[82] welche in einem ähnlichen Experiment in einer 22-Pol Falle gewonnen wurden.

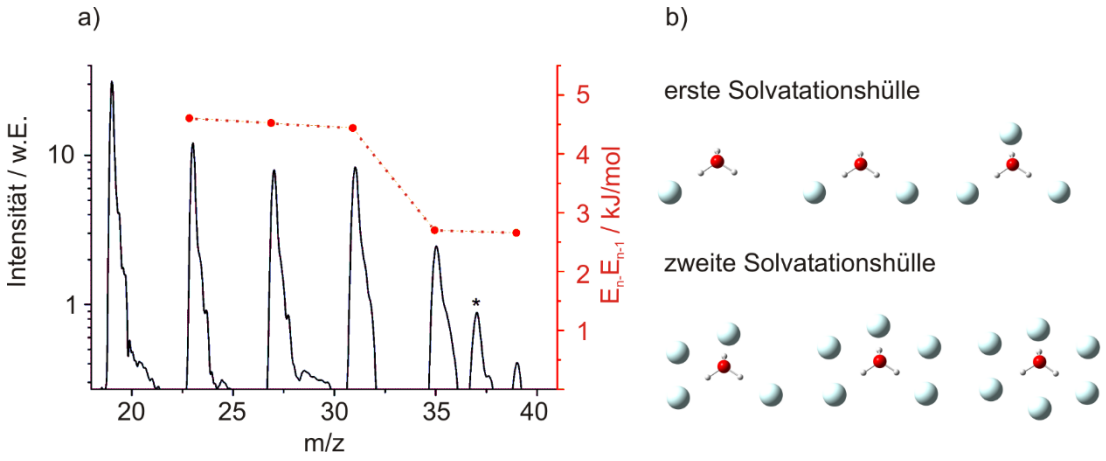

Abbildung I.3.3. a) Über verschiedene ReTOFMS Beschleunigungszeitpunkte nach 22-Pol Extraktion aufsummiertes Massenspektrum der $He_nH_3O^+$ Komplexe mit n = 1–5. Es zeigt sich, dass die Intensität von n = 1–3 annähernd konstant bleibt, um ab n = 4 stark abzufallen. **b)** Die roten Punkte, die durch die gestrichelte Linie verbunden sind, sowie die zugehörige rote lineare zweite Y-Achse stellen die Vergrößerung der totalen Bindungsenergien für $He_nH_3O^+$ Komplexe für jedes hinzugefügte He-Atom dar (CCSD/aug-cc-pVTZ). Nach Bildung der ersten Solvatisierungshülle durch das Andocken der He-Atome an die drei Protonen, öffnet sich eine weitere Hülle, jedoch mit weit geringeren Bindungsenergien der zusätzlich andockenden He-Atome, was durch den Knick in der Kurve deutlich wird.

Der annähernd konstante Verlauf und der anschließend starke Intensitätsabfall ab n = 4 kann dadurch erklärt werden, dass bis n = 3 die He-Atome Bindungen mit jeweils einem der drei Protonen des H_3O^+ eingehen. Hier bleiben die Bindungsenergien relativ konstant, während das vierte und fünfte He-Atom zusammen eine zweite Solvatationshülle bilden, mit starkem Einbruch in der Bindungsenergie. Als Nachweis dieser Hypothese werden die globalen Energieminima mittels quantenchemischer Rechnungen (CCSD/aug-cc-pVTZ) ermittelt und anschließend Einzelpunkt Energieberechnungen auf dem CCSD(T)/aug-cc-pVTZ Niveau durchgeführt.[144] Die sich ergebenden Strukturen und totalen Bindungsenergien dieser Komplexe sind in Abbildung I.3.3 und in Tabelle I.3-1 dargestellt. Diese Ergebnisse offenbaren, dass die ersten drei He-Atome annähernd linear an den drei Protonen des H_3O^+ Ions binden und sich hierbei symmetrisch um die C_3 Achse verteilen. Die Bindungsenergie der ersten Solvatationshülle (n = 1–3) ist annähernd doppelt so hoch wie die der zweiten Hülle (n = 4–6), welche auch drei He-Atome aufnehmen kann. Im n = 6 Komplex formen die sechs He-Atome einen annähernd planaren Ring um die C_3 Symmetrieachse des H_3O^+.

Tabelle I.3-1. Errechnete Bindungsenergien (E_n in kJ/mol) der jeweiligen $He_nH_3O^+$ Komplexe sowie die Bindungsenergiedifferenzen E_n-E_{n-1} zum nächst kleineren Komplex (CCSD/aug-cc-pVTZ).

	E_n	E_n-E_{n-1}
$He_1H_3O^+$	4,60	
$He_2H_3O^+$	9,13	4,53
$He_3H_3O^+$	13,57	4,44
$He_4H_3O^+$	16,27	2,70
$He_5H_3O^+$	18,92	2,65
$He_6H_3O^+$	21,47	2,55

Die annähernd gleichen Intensitäten der gemessenen n = 1–3 Komplexe deuten auf ähnliche Bindungsenergien in der ersten Solvatationshülle hin, während der starke Abfall ab n = 4 auf die hier geringere Bindung in der zweiten Hülle zurückzuführen ist. Durch die zusätzlich limitierte Menge von He durch die begrenzte He-Pulslänge nimmt die Wahrscheinlichkeit, Komplexe mit noch größerem n zu erzeugen, sehr stark ab.

He_nNa^+ Cluster

Bei der Bildung von He_nNa^+ lassen sich im linearen Spektrum in Abbildung I.3.4 Komplexe mit bis zu n = 6 identifizieren. Im Gegensatz zu H_3O^+ fällt die Signalinten-

sität zwischen n = 1 und n = 3 zuerst stark ab und steigt dann bis n = 6 wieder sehr stark an. Bei diesem größten Komplex ist die ermittelte Intensität fast doppelt so hoch wie für n = 2. Der in der Abbildung identifizierbare Peak bei m/z 51 kann, nachdem die Temperatur erhöht wird und alle anderen außer diesem Peak verschwinden, als N_2Na^+ Komplex identifiziert werden.

Eine Intensitätsabnahme deutet in der Regel auf eine Abnahme der Bindungsenergien hin, die sich in einer verringerten Bindungswahrscheinlichkeit äußert. Demzufolge müsste die Bindungsenergie von n = 3 zu n = 6 wieder ansteigen. Um dies zu überprüfen, werden, wie schon bei den $He_nH_3O^+$-Komplexen quantenchemische Rechnungen auf dem Niveau von CCSD/aug-cc-pVTZ durchgeführt, um die Minima der Potentialoberflächen der jeweiligen Komplexe zu finden. Anschließend werden die Einzelpunktenergien wieder durch Berechnungen auf dem CCSD(T)/aug-cc-pVTZ Niveau ermittelt. Die jeweiligen Strukturen und Energien finden sich in Abbildung I.3.4 und Tabelle I.3-2.

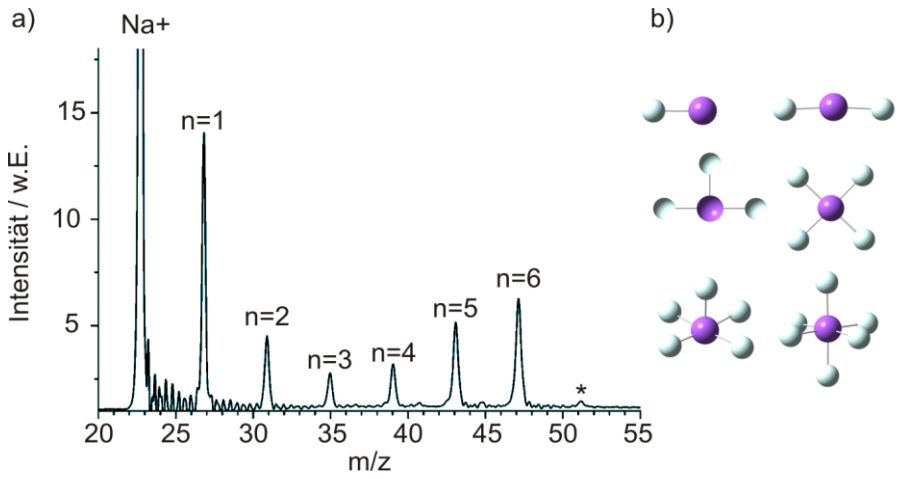

Abbildung I.3.4. a) Über verschiedene ReTOFMS Beschleunigungszeitpunkte nach 22-Pol Extraktion aufsummiertes Massenspektrum der He_nNa^+ Komplexe mit n = 1–6. Es zeigt sich, dass die Intensität von n = 1–3 abnimmt und dann wieder bis n = 6 zunimmt. **b)** Strukturen der mittels CCSD/aug-cc-pVTZ berechneten globalen Energieminima der He_nNa^+ Komplexe mit n = 1–6. Bei dem mit einem * versehenen Peak handelt es sich um N_2Na^+.

Es zeigt sich, dass die Bindungsenergien, im Widerspruch zu den Messungen, nicht mit steigendem n ab n = 3 zunehmen. Sie sinkt den Rechnungen zufolge sogar kontinuierlich mit steigendem n. Andererseits ist der Energieeintrag, der für jedes zusätzlich hinzugefügte He-Atom entsteht bis zu n = 6 annähernd konstant. Dies würde jedoch, wie schon beim $He_nH_3O^+$ eine konstante, bzw. leicht abnehmende Intensität für größer werdendes n bedeuten. Eine Erklärung weshalb die maximal beobachtete He Anzahl bei n = 6 liegt könnte darin liegen, dass die He-Atome sich ent-

lang der p-Orbitalstruktur des Na^+ ausrichten und dadurch zusätzlich stabilisiert werden. Die stabilisierende Wirkung setzt jedoch erst ab n > 3 ein, wofür es bisher keine Erklärung gibt.

Tabelle I.3-2. Errechnete Bindungsenergien (E_n in kJ/mol) der jeweiligen He_nNa^+ Komplexe sowie die Bindungsenergiedifferenzen E_n-E_{n-1} zum nächst kleineren Komplex (CCSD(T)/aug-cc-pVTZ).

	E_e	E_n-E_{n-1}
He_1Na^+	3,14	
He_2Na^+	6,29	3,15
He_3Na^+	9,44	3,15
He_4Na^+	12,60	3,26
He_5Na^+	15,78	3,18
He_6Na^+	18,94	3,16

Die Bildung der He Komplexe, die mit der BerlinTrap-Apparatur erzeugt und analysiert wurden zeigen, welche weiteren Möglichkeiten der Nutzung der BerlinTrap sich neben der Spektroskopie noch ergeben. Da diese Komplexe nur zur Demonstration des Möglichen in dieser Apparatur dienen, wird hier auf eine vertiefte Auswertung verzichtet.

3.3 IRPD an H^+Benzaldehyd-Ar Komplexen

In Kapitel I.3.1 wird die UVPD-Spektroskopie an kalten H^+Tyrosin und in Kapitel I.3.2 die Bildung von Edelgaskomplexen in der 22-Pol Falle demonstriert. In Kapitel II.2.1 wird darauf eingegangen, wie es trotz der geringen IR Photonenenergie gelingt, Photodissoziationsspektren von Molekülionen und deren Komplexe zu erzeugen. Hier bedient man sich der Anlagerung eines Botenatoms, welches nur geringen Einfluss auf die Struktur und die Vibrationseigenschaften des ungestörten Ions ausübt. Da diese Technik vor allem mit der Verwendung von Edelgasatomen einen besseren Zugang zur Vibrationsstruktur liefert als zum Beispiel die IRMPD Methode (Kapitel II.2.1.), ist die Anwendung dieser Technik für die Molekülstrukturanlyse sehr interessant.

Um die prinzipielle Funktionsweise der IR Photodissoziation (IRPD) auch in der BerlinTrap-Apparatur zu zeigen, wird der Komplex aus protonierten Benzaldehyd mit Ar (H^+BZH-Ar) ausgewählt. Dieser wird bereits in einer früheren Studie mit Hilfe von

Elektronenstoßionisation in einem Molekularstrahl erzeugt und vermessen.[145] In der BerlinTrap werden die Komplexe hingegen durch Anlagerung von Ar an H^+BZH im 22-Pol bei 50 K Fallentemperatur erzeugt. Tiefere Temperaturen sind nur schwer möglich, da sonst das Ar an den Fallenwänden und Polstangen ausfriert. Für die erste Messreihe wird als Puffergas reines Ar verwendet, für eine weitere eine Mischung aus 2 % Ar und 98 % He.[c] Die Gaspulslänge liegt zwischen 0,8 und 2 ms bei einem Vordruck von 1,5 bar. Wie schon in Abbildung I.2.29 gezeigt ist der Überlapp des Ionenstrahls mit dem Laser abhängig von der Verzögerung zwischen 22-Pol Extraktion und dem Beschleunigungspuls des ReTOFMS. Dieser optimale Bestrahlzeitpunkt muss zu Beginn gefunden werden, weswegen das bereits vorhandene IRPD Spektrum von H^+BZH[145] von Vorteil ist. In Abbildung I.3.5 sind die Spektren der in der BerlinTrap-Apparatur mittels verschiedener Puffergasverhältnisse erzeugten H^+BZH-Ar Komplexe im Vergleich mit dem bekannten dargestellt.[145]

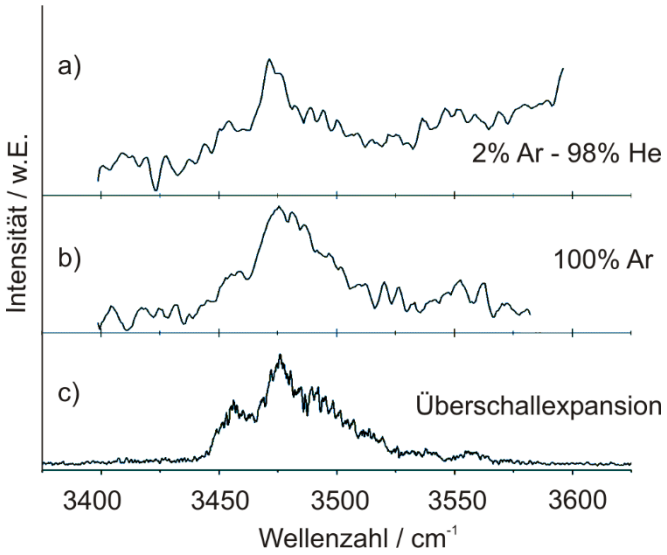

Abbildung I.3.5. a) und **b)** IRPD-Spektren von H^+BZA-Ar Komplexen vermessen in der BerlinTrap im Vergleich mit einer Referenzmessung entnommen aus [145] (c). Für Spektrum a) wurde eine Mischung aus 2 % Ar und 98 % He als Puffergas verwendet, für das Spektrum b) reines Ar.

In allen drei Spektren ist der Hauptpeak bei ca. 3475 cm^{-1} eindeutig identifizierbar. Auch das Auftauchen einer Bande bei ca. 3455 cm^{-1} kann in allen Spektren nachgewiesen werden, auch wenn das Signal-Rausch-Verhältnis im Vergleich zum Referenzspektrum deutlich schlechter ausfällt. Obwohl die Signalabnahme bei Laserbeschuss im Maximum der Absorption mehr als 25 % beträgt, ist die verwendete Technik weitaus anfälliger auf Variationen des unfragmentierten Clustersignals

[c] Air Liquide Mixtur Ar(N50) (1,991±0,040) Vol % He(N50) Rest-Reinheit 99,999 %-Rest,

(Muttersignal) als die in[145] verwendete Methode. Da dies jedoch die ersten Messungen mit dieser Technik an der BerlinTrap-Apparatur sind, ist nach weiterer Optimierung eine deutliche Zunahme des Signal–Rausch-Verhältnisses in der Zukunft zu erwarten.

Bei näherer Betrachtung beider durch die BerlinTrap-Apparatur gewonnenen Spektren ist der dominante Peak bei 3475 cm^{-1} bei dem Puffergasgemisch aus 2 % Ar und 98 % He schmaler, als bei 100 % Ar. Erklärt werden kann dies durch die in Gleichung (I.3.1) beschriebene Kollisionstemperatur T_{col}, die sich aus den Stößen eines zu kühlenden Teilchens mit m_1 und T_1 mit dem Puffergases (m_2, T_2) ergibt. Die resultierende T_{col} wird bei konstanter Puffergastemperatur umso kleiner, je geringer die Masse des Puffergases ist. Da die Masse von Ar gegenüber He um den Faktor zehn größer ist, ergibt sich, bei Konstanthalten aller anderen Parameter, eine deutlich erhöhte T_{col}. Dies führt wiederum zu einer Verbreiterung der Peaks des mit reinem Ar gepufferten Spektrums gegenüber dem Ar-He Gemisch.

Die Ergebnisse zeigen, dass in der BerlinTrap auch die Technik des IRPD angewendet werden kann. Hierdurch ist es wiederum möglich, direkt die Vibrationsstrukturen in höherer spektraler Auflösung zu analysieren, als z. B. mit der in Kapitel II.2.1 beschriebenen IRMPD Methode.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel des ersten Teils dieser Dissertation liegt darin, eine Apparatur zu entwickeln, mit der es möglich wird, Molekülionen zu erzeugen, zu fangen, auf kryogene Temperaturen abzukühlen und anschließend mittels verschiedener photodissoziationsspektroskopischer Verfahren zu untersuchen. Die dabei erzeugten ionischen Fragmente werden mit Hilfe eines orthogonalen ReTOFMS detektiert.

Die Erzeugung der Ionen erfolgt in einer ESI-Quelle. Anschließend werden sie im nachgeschalteten MiniQP gefangen, akkumuliert und thermalisiert, bevor sie zur 22-Pol Falle weitergeleitet werden. Diese Abfolge hat gegenüber dem kontinuierlichen Fangen im 22-Pol mehrere Vorteile. Zum einen wird so verhindert, dass dem kalten Ionenbad kontinuierlich heiße Ionen zugeführt werden, welche die Durchschnittstemperatur erhöhen. Zum anderen wird das Fangen und Kühlen der Ionen zeitlich separiert, wodurch beide Prozesse parallel ablaufen können. Somit werden jene Ionen gekühlt, welche im vorherigen Zyklus im MiniQP akkumuliert wurden, was die effektive Ionenausbeute erhöht. Die dem MiniQP nachfolgende Hexapolfalle dient zurzeit nur als Ionenleiter zum Passieren einer differentiellen Pumpstufe. Sie soll in Zukunft als Reaktionszelle genutzt werden, um gaschemische Reaktionen zu erzeugen, die anschließend untersucht werden können. Ein optischer Zugang steht hier bereit um auch photochemische Reaktionen triggern zu können. Das nachgeschaltete QPMS selektiert die zu untersuchenden Ionen aus der Vielzahl vorher entstandener Ionen. Dies geschieht mit einer Auflösung von bis zu $m/\Delta m = 1660$. Mit dem an das QPMS montierten Quadrupol-Umlenker wird der Ionenstrahl um 90° abgelenkt und über einen zusätzlichen Oktupol-Ionenleiter in die 22-Pol Falle geleitet. Durch den Umlenker wird der optische Zugang sowohl zum 22-Pol als auch zum Hexapol ermöglicht. Alternativ können bereits an dieser Stelle die erzeugten Ionen mittels eines Channeltrons detektiert werden. Der Detektor dient außerdem dazu das Ionensignal der ESI-Quelle zu optimieren.

Beim Eintreten der zu untersuchenden Ionen in die bis auf 5 K kühlbare 22-Pol Falle stoßen sie mit einem zuvor eingelassenen Puffergas und kühlen ab. Messungen an H^+Tyrosin zeigen, dass die erreichbare minimale Ionentemperatur oberhalb der Fallentemperatur, bei ca. 18 K liegt. Mögliche Gründe für diese relativ hohen Temperaturen sind vielfältig. Eine wahrscheinliche Ursache liegt im nachträglichen Aufheizen der Ionen durch Stöße mit dem Hintergrundgas während der starken Beschleunigung aus dem 22-Pol in Richtung ReTOFMS. Eine andere Ursache kann im zusätz-

lichen Radiofrequenzheizen liegen, welches durch die auf die Endkappen leckende Radiofrequenzspannung des 22-Pols verursacht wird. Hierdurch werden die Ionen entlang der 22-Pol Achse in Schwingung versetzt, wodurch sie nach Stößen mit dem Puffergas aufgeheizt werden.

Nachdem die Ionen die Minimaltemperatur erreicht haben, werden sie mit einem gepulsten OPO Laserstrahl variabler Wellenlänge bestrahlt. Resonante Absorption von Photonen ausreichender Energie führt zur Fragmentation des Ions bzw. Komplexes. Dieses Ereignis kann in einer Veränderung im Massensignal des abschließenden ReTOFMS detektiert werden. Der Laserbeschuss kann hierbei zu unterschiedlichen Zeiten erfolgen. Es hat sich herausgestellt, dass die Laserbestrahlung während des Aufenthalts der Ionen im 22-Pol bisher zu keinem nachweisbaren Fragmentationssignal führt. Nach der Extraktion aus dem 22-Pol werden die Ionen durch zwei Einzellinsenstapel fokussiert. Findet die Laserbestrahlung statt, während sich die Ionen innerhalb eines hierdurch verursachten Fokusbereiches befinden, kommt es zu einer deutlichen Erhöhung der Fragmentationseffizienz. Dies liegt an dem hier besseren Überlapp zwischen Laser und Ionenwolke. Der optimale Zeitpunkt für den Laserbeschuss ist jedoch, wenn sich die Ionenwolke bereits im Extraktionsbereich des ReTOFMS befindet. Nur hier kann eine gleichzeitige quantitative Detektion von Mutter- und Fragmentionen gewährleistet werden, was den großen Vorteil des ReTOFMS für diese Anwendung ausmacht.

Durch den gelungenen Nachweis der Bildung von H_2O-, N_2-, Ar- und sogar He-Komplexen mit den in der Falle gefangenen Ionen wird zusätzlich der Zugang zur IRPD geebnet, welche für den H^+BZH-Ar Komplex explizit durchgeführt wurde. Durch die schwachen Bindungsenergien solcher Komplexe können diese bereits bei der Absorption von IR Photonen fragmentieren und sind somit in der Apparatur der Spektroskopie zugänglich. Aber auch die Erzeugung immer größerer He-M^+ Komplexe an sich stellt eine vollkommen neue Methode dar, die Entstehung von Solvationshüllen im Detail zu untersuchen.

Da die BerlinTrap-Apparatur weiterentwickelt werden kann, soll hier auch ein kurzer Ausblick gegeben werden, welche Erweiterungen bzw. Verbesserungen in Zukunft möglich sind. Ein erster Schritt, der bereits in Planung steht, ist der Austausch des 22-Pols durch einen Drahtvierpol. Dieser hat den Vorteil, dass die gefangenen Ionen in der Mitte des Multipols entlang der Strahlenachse gebündelt werden, was einen vielfach besseren Überlapp mit dem Laserstrahl gewährleistet.[46]

Eine weitere Optimierung der Apparatur besteht in der Kombination des IR und des UV Lasers zur Durchführung von IR-UV Doppelresonanzspektroskopie. Hierdurch wird es möglich, isomerselektive IR- und UV Spektroskopie zu betreiben,[52] die zu-

dem ungestört von Botenatomen ist. Auch hierfür stehen alle nötigen Komponenten bereits zur Verfügung.

Eine weitere bereits geplante Erweiterung ist der Austausch der jetzigen ESI- durch eine Nanospray-Quelle in Kombination mit einem Ionentrichter.[87,146,147] Hierdurch wird eine höhere Ionengenerierungseffizienz erwartet, die wiederum zu einem höheren Messsignal führt, wodurch sich auch schwer sprühbare Stoffe analysieren lassen.

Zu guter Letzt ist es für eine bessere Massenauflösung notwendig, die Eigenschaften des ReTOFMS an die erforderlichen Bedingungen anzupassen bzw. zu optimieren. Dies kann durch den Austausch der Beschleunigungsplatten durch dünne, großflächige ebene Platten geschehen. Zusätzlich ist das Einbringen von Abschirmplatten beim TOF-Eingang und die Verlängerung des Reflektorzweiges sinnvoll.

Die in diesem Abschnitt beschriebene kryogene BerlinTrap-Apparatur wird dazu genutzt, VISPD Spektren von protonierten und metallierten Lumichrom (H^+LC bzw. M^+LC) aufzunehmen. Diese Spektren liefern den letzten Teil der Teil II behandelten Analyse der Strukturen sowie der elektronischen Eigenschaften von Flavinionen-Komplexen in der Gasphase.

Teil II

Spektroskopische Analyse von protonierten und metallierten Flavinen in der Gasphase

1 Einleitung

Als das auch als Vitamin B_2 bekannte Riboflavin 1920 aus der Milch isoliert und 1932 von Paul Karrer synthetisiert wurde, ahnte noch niemand, dass hier der erste Vertreter einer wichtigen und vielfältigen Stoffgruppe gefunden wurde.[10] Nach dieser Entdeckung wurden weitere Stoffe mit ähnlichen Eigenschaften gefunden. Man entdeckte die Flavine, eine Gruppe gelber Farbstoffe, die durch ihre Eigenschaften von größter biologischer Bedeutung sind, wie sich später noch zeigen wird. Über die Jahre hinweg wurden die Flavine immer intensiver untersucht, wobei auch deren Verbreitung in der Biologie zu Tage kam.[4,5]

Den Grundstock aller Flavine bildet, wie zu Beginn dieser Arbeit bereits erwähnt, der 7, 8-dimethyl-substituierte Isoalloxazin-Chromophor, welcher aus einer Benzen- (I), einer Pyrazin- (II) und einer Pyrimidindion- (III) Einheit besteht (Abbildung II.1.1). Die Mitglieder dieser Familie unterscheiden sich hinsichtlich unterschiedlicher funktioneller Gruppen an der Bindungsstelle N10. Die bekanntesten Vertreter werden im Folgenden kurz beschrieben. Mit nur einem Wasserstoffatom an der N10 Bindungsstelle bildet das Isoalloxazin (iso-Lumichrom) das einfachste Flavin. Beim etwa 50 kJ/mol stabileren Isomer Lumichrom hingegen ist dieser Substituent von der N10 zur N1 Position hin verschoben.

Lumiflavin besitzt als N10-Substituent eine Methylgruppe und tritt als Photofragment des Riboflavins (Vitamin B_2, Lactoflavin), dem bekanntesten Vertreter der Flavine, in Erscheinung. Bei Letzteren bildet ein Ribitylrest die funktionelle Gruppe an der Bindungsstelle N10. Riboflavin dient als Präkursor für die Koenzyme Flavinmononukleotid (FMN) und Flavinadenindinukleotid (FAD), welche als Kofaktoren verschiedenster Flavoproteine, wie z. B. der NADH Dehydrogenase[148] bekannt sind. Diese Enzyme katalysieren Redoxreaktionen, wobei sie als Protonendonatoren und –akzeptoren auftreten können. Diese Eigenschaft führt zu vielfältiger (bio-) chemischer Aktivität und basiert unter anderem auf den drei möglichen Oxidationsstufen aller Flavine; dem oxidierten Zustand (Flavoquinone), dem einfach reduzierten bzw. radikalischen Zustand (Flavosemiquinonen) und dem völlig reduzierten Zustand (Flavohydroquinone)[4,5] (Abbildung II.1.2).

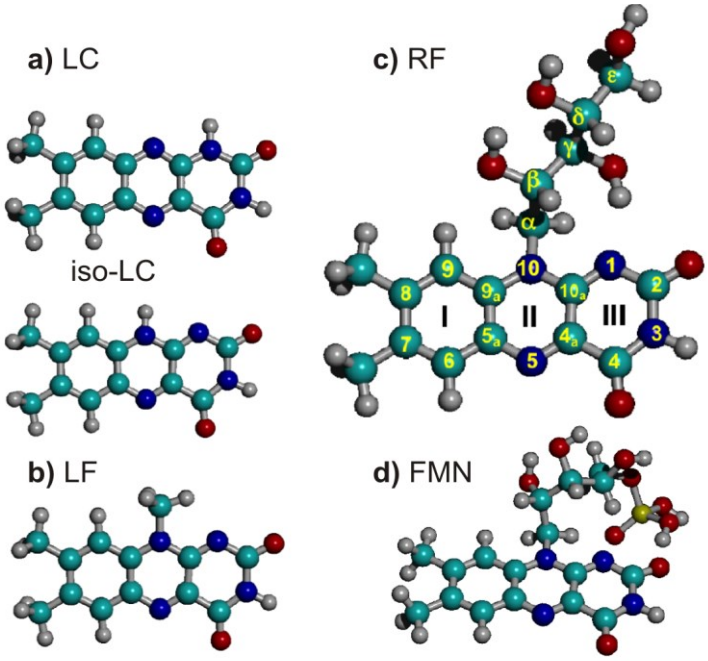

Abbildung II.1.1. Die Strukturen aller in dieser Arbeit betrachteten Flavine im neutralen Zustand. Alle bestehen aus dem 7,8-Dimethylisoalloxazin-Chromophor und unterscheiden sich durch den Substituenten an der Stelle N10: **a)** R = H in (iso)-Lumichrom (iso-)LC; bei LC sitzt H an der N1-Position, **b)** R = CH_3 in Lumiflavin (LF), **c)** R = Ribityl in Riboflavin (RF) und **d)** R = Ribophosphat in Flavinmononukleotid (FMN). LC taucht in den zwei unterschiedlichen Isomeren LC und iso-LC auf. Die Nummerierung des aromatischen Ringes erfolgt nach den IUPAC Regeln. Die griechischen Buchstaben in der Ribitylkette des RF dienen der Unterscheidung verschiedener Konformere.

Im oxidierten Zustand ist die aromatische Ringstruktur der Flavine in der Regel (annähernd) planar[149–152] und biegt sich um die N5-N10 Achse im reduzierten Zustand.[153–155] Quantenchemische Rechnungen führen zur Vermutung, dass die Ursache dieser Biegung nicht durch sterische Hinderung verursacht wird, sondern schlicht elektronisch bevorzugt ist. Dadurch reguliert der Bindungswinkel die Dichte der delokalisierten Elektronen im Ringsystem[154] und somit die Redoxeigenschaften der Flavine. Die Redoxchemie ist in erster Näherung beschränkt auf den Chromophor, jedoch ergeben sich Reaktionen, die stark vom jeweiligen Substituenten R abhängen, welcher einen großen Einfluss auf die elektronische Struktur der Flavine zeigt.

Extensive spektroskopische Studien zur Untersuchung der Dynamik sowie der vibronischen und elektronischen Eigenschaften wurden durchgeführt, um die Zusammenhänge zwischen Struktur und Reaktivität der Flavine und der Flavoproteine zu verstehen. Bei den durchgeführten Messungen an gelösten sowie in festen Pellets gepressten Flavinen handelt es sich um NMR-Spektroskopie,[156] EPR-

Spektroskopie,[157] optisch dynamische Diskriminierung,[158] UV Absorption und Fluoreszenzspektroskopie,[11,159,160] Stark-Effekt-Spektroskopie[13], ultraschnelle IR Spektroskopie,[14–16] Raman-Spektroskopie[17,18] und Ferninfrarotspektroskopie.[19] Auch Umgebungseinflüsse, basierend auf Solvatation (Solvatochroismus),[161] dem pH-Wert, der Polarität des Lösungsmittels sowie der Puffer- und Ionenkonzentrationen, wirken sich auf die geometrischen, vibratorischen und elektronischen Strukturen und demzufolge auf die Reaktivität der Flavine aus. Dies führt zu Verschiebungen elektronisch angeregter Zustände und deren Lebenszeiten, sowie zur Stabilisierung unterschiedlicher Redox- und Protonierungsstellen.[4] Der Redoxzustand der Flavine kann durch Veränderung des Lösungsmittels (protisch oder aprotisch) oder durch Bindung an speziellen Proteinbindungsstellen verändert werden. Zudem erscheinen Flavine, abhängig vom pH-Wert des Lösungsmittels, im anionischen (deprotonierten) im neutralen oder kationischen Zustand,[5,162] (siehe Abbildung II.1.2).

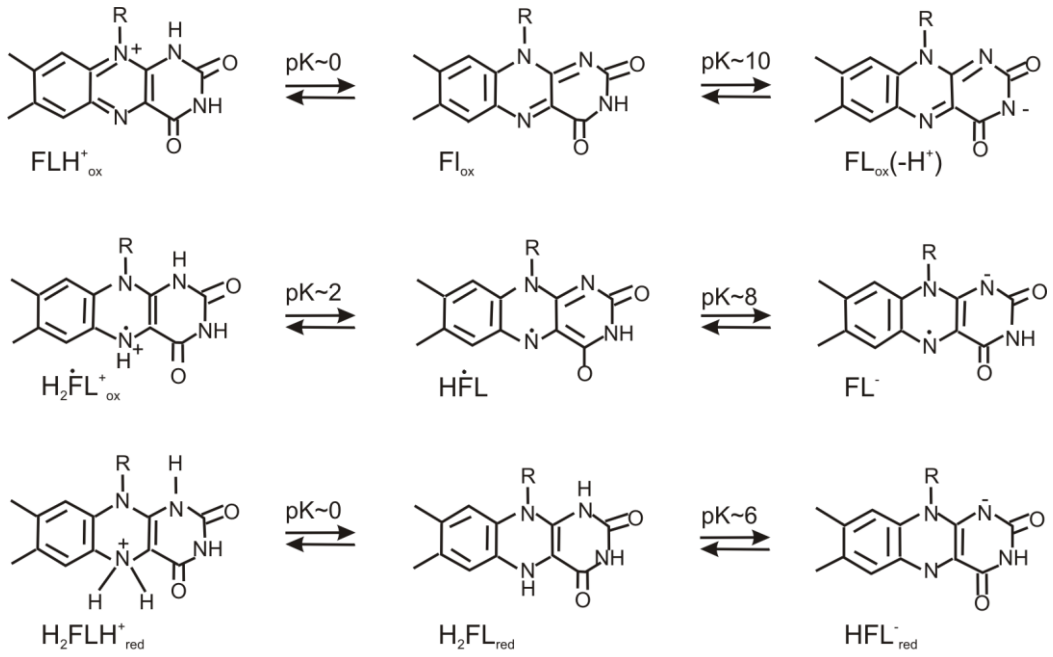

Abbildung II.1.2. Darstellung der Redox und Säure-Base Gleichgewichte von Flavinen als Funktion des pK Wertes. Auf der linken Seite sind jeweils die Kationen zu finden, in der Mitte die neutralen Flavine und rechts die korrespondierenden Anionen. In der oberen Reihe sind die vollständig oxidierten Flavine, in der Mitte die teilweise reduzierten Flavin-Semiquinone und in der untersten Reihe die vollständig reduzierten Flavin-Hydrochinone dargestellt. (Darstellung adaptiert aus Referenz [5])

Biochemische Vorgänge finden vorwiegend im gelösten Zustand statt, weshalb Studien zur Charakterisierung von Flavinen mehrheitlich an in Flüssigkeit gelösten Molekülen durchgeführt wurden. Die beträchtlichen Einflüsse vom Lösungsmittel und

von Gegenionen, sowie die statistische Verteilung verschiedenster Redox- und Säure-Base Zustände, können durch solche Studien jedoch nicht entkoppelt untersucht werden. Spektroskopische Analysen von isolierten Molekülen und ihrer Aggregate werden daher benötigt, um Informationen über die strukturellen, elektronischen und chemischen Eigenschaften der reinen, optisch wirksamen Substanz zu erhalten. Dies kann durch Experimente an Molekülen in der Gasphase realisiert werden. Sind diese zusätzlich ionisiert, sind sie zudem sehr leicht und effizient manipulierbar. Durch das Verwenden von ESI-Quellen ist es zudem möglich, Ionen aus der Flüssigphase direkt in die Gasphase zu überführen. Durch geschickte Auswahl des Lösungsmittels und angepasster ESI-Parameter lassen sich somit auch die gewünschten Oxidationsstufen erzeugen und gezielt spektroskopisch untersuchen (Abbildung III.2.2).

Da die Gasphasenpräparation von Flavinen, vor allem in den unterschiedlichen Oxidationsstufen schwierig ist, gibt es bisher nur wenige Studien über durchgeführte Experimente hierzu.[39,40,163–167] Die einzigen vor der Bearbeitung dieser Dissertation verfügbaren Studien hierzu umfassen photo- und stoßinduzierte Fragmentierung von protoniertem FMN,[164] ein Fluoreszenzspektrum von LF in superflüssigen He-Tropfen,[38] Photodissoziation von Flavinen durch Femtosekunden-Laserpulse[40] sowie die Bestimmung der Protonenaffinität von LF durch Massenspektrometrie.[39] Insbesondere zu geladenen Flavinmolekülen, dem Thema dieser Dissertation, sind bisher keine spektroskopischen Daten bekannt. Den Kern von Teil II dieser Dissertation bildet daher die erstmalige spektroskopische Untersuchung von Flavinmolekülionen in der Gasphase. Hierzu werden zu Beginn dieses Projekts umfassende IR spektroskopische Messungen an H^+LC, H^+LF, H^+RF, und H^+FMN sowie M^+LC, M^+LF und M^+RF (M= Alkali-, Erdalkali- und Münzmetalle) mit Hilfe der Infrarot-Multiphotonen-Dissoziation-Spektroskopie (IRMPD) durchgeführt. Diese Experimente finden an der Freie-Elektronen-Laser-Einrichtung FELIX (*Free Electron Laser for Infrared eXperiments*) am dortigen FT-ICRMS-Experiment statt. Um aus den gemessenen Spektren verwertbare Informationen zu erhalten, werden quantenchemische Berechnungen vorgenommen. Die verwendete Kombination aus IRMPD Spektroskopie und quantenchemischen Berechnungen wurde bereits häufig an protonierten und metallierten aromatischen, biologisch relevanten Molekülen angewendet, um hier die geometrischen und energetischen Eigenschaften zu untersuchen.[161,163,168–172]

In Kapitel II.2 werden die theoretischen Grundlagen sowie die experimentellen Methoden aufgezeigt, die zur Gewinnung und der anschließenden Interpretation von IRMPD Spektren erforderlich sind. Auf die Funktionsweise eines Freie-Elektronen-

Lasers wird dabei ebenso eingegangen wie auf das verwendete FT-ICRMS. Außerdem werden die Vor- und Nachteile der IRMPD Spektroskopie erläutert, und es wird diskutiert, worauf bei der Analyse der gewonnenen Spektren geachtet werden muss. Ein kurzer Überblick, welche quantenchemischen Methoden zur Analyse der Spektren durchgeführt werden, wird in Kapitel II.2.4 gegeben. Die eben genannten Vorbetrachtungen sind notwendig, um die Strukturanalysen von protonierten und metallierten Flavinen durchführen zu können.
In Kapitel II.3. erfolgen detaillierte Strukturanalysen von H^+LC, H^+LF, H^+R- und H^+FM, die sich aus den experimentellen IRMPD Spektren in Kombination mit quantenchemischen Rechnungen ergeben. Diese Studien werden in Kapitel II.4. auf $M^{q+}LC_n$ und M^+LF Komplexe mit M = Alkali-, Erdalkali- und Münzmetallen erweitert (q/n = 1,2).
In Kapitel II.5 werden die ersten elektronischen Spektren von kryogenen H^+LC und M^+LC (M = Li–Cs) Komplexen, die mit der in Teil I vorgestellten kryogenen Berlin-Trap-Apparatur gemessen wurden, dargestellt und mit Hilfe quantenchemischer Rechnungen interpretiert. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse erfolgt nach jedem einzelnen Kapitel.

2 Experimentelle Methoden und theoretische Analyseverfahren

Einzelne isolierte Moleküle bzw. Komplexe und deren Ionen sind so klein, dass deren Strukturen und Eigenschaften durch direkte Beobachtung zwar nicht unmöglich, jedoch schwer zu erhalten sind.[173] Indirekte Verfahren, wie die IR Spektroskopie bieten sich als Alternativen an um hierdurch Strukturinformationen von Molekülen zu erhalten.
Für gewöhnlich werden IR Spektren von Molekülen durch direkte Absorption der Strahlung, z. B. bei der Cavity-Ring-Down Spektroskopie[174,175] gemessen. Die Grundlage hierzu ist das Lambert-Beersche Gesetz:

$$I(\nu) = I_0(\nu)e^{\sigma(\nu)cl}, \qquad \text{(II.2.1)}$$

welches die Änderung der Lichtintensität $I(\nu)$ in Abhängigkeit der eingestrahlten Intensität $I_0(\nu)$ beim Durchdringen einer gewissen Probendicke l mit Absorptions-

querschnitt $\sigma(\nu)$ beschreibt, die zudem in der Konzentration c des Absorbers vorliegt. Diese Messtechnik benötigt jedoch eine relativ hohe Teilchendichte um praktikabel zu bleiben. Sie erreicht mit der Cavity-Ring-Down Spektroskopie die heutige messbare Grenze von ~ 10^9 Molekülen/cm^3.[174,175] Die maximale Dichte von Molekülionen wird jedoch durch die Raumladungsabstoßung auf $\leq 10^7$ Ionen /cm^3 begrenzt.[22,138] Eine Intensitätsänderung durch Absorption zu messen wird hierdurch deutlich erschwert. Um dieses Problem zu umgehen, bedient man sich Methoden bei denen die Photonenabsorption eines Molekülions eine massenspektrometrisch messbare Konsequenz, wie z. B. die Fragmentation eines Moleküls, umgewandelt wird. Die Intensität des Lichtes aus Gleichung (II.2.1) kann in diesem Fall durch die Teilchendichte ersetzt werden, deren Größe vor (n_1) und nach (n_2) der Interaktion mit Laserlicht detektiert wird:[22]

$$n_2(\nu) = n_1 e^{-\sigma(\nu)F(\nu)}, \tag{II.2.2}$$

$$n_2(\nu) = n_1\left(1 - e^{-\sigma(\nu)F(\nu)}\right). \tag{II.2.3}$$

Hierbei ist F(υ) der Fluss der Photonen pro cm^2. Anstelle einer hohen Teilchendichte benötigt man für diese Technik eine hohe Anzahl an Photonen und demzufolge intensive Laserquellen. Durch die Detektion eines Fragmentsignals, das abhängig von der Laserwellenlänge hervorgerufen wird, kann somit ein Photodissoziationsspektrum gewonnen werden. Dabei ist sofort zu sehen, dass die absorbierte Photonenenergie dazu führen muss, dass sich das Molekülion anschließend energetisch oberhalb der Dissoziationsschwelle befinden muss. Die Bindungsenergien von Molekülionen sind üblicherweise $\gtrsim$1 eV[22] und liegen somit im Bereich von UV und VIS Photonenenergien. Um auch IR Spektren gewinnen zu können, werden entweder mehrere IR Photonen genutzt (IRMPD) oder ein schwach gebundenes Botenatom bzw.-Molekül an das zu fragmentierende Molekülion angelagert, welches bereits nach Einzelphotonenabsorption dissoziieren kann (IRPD). Diese beiden Techniken werden in Kapitel II.2.1 erläutert. Anschließend wird in Kapitel II.2.2 detailliert auf den Mechanismus der UV-VIS Dissoziationsspektroskopie eingegangen.

Die in den Kapiteln II.3 und II.4 ausgewerteten IRMPD Spektren von Flavinionen werden am FT-ICR-Experiment der FELIX-Einrichtung durchgeführt, weswegen eine Beschreibung dieses Experimentes in Kapitel II.2.3 nachfolgt. Abschließend werden die quantenchemischen Methoden erläutert, die zur Analyse und Interpretation der experimentell gewonnenen Spektren herangezogen werden (Kapitel II.2.4).

2.1 Infrarot-Photodissoziation (IRMPD, IRPD)

Die Infrarotspektroskopie ist ein mächtiges Werkzeug, um die Struktur von gebundenen Molekülen und Komplexen zu ermitteln. So liefert jedes IR Absorptionsspektrum einen für die jeweilige Molekülstruktur typischen, einzigartigen Fingerabdruck. Dies rührt daher, dass die IR Photonen bei ihrer Absorption Molekülschwingungen anregen, die mit den Kraftkonstanten der chemischen Bindungen korreliert sind. Wie zu Beginn dieses Kapitels erwähnt, führt die geringe Dichte an speicherbaren Ionen dazu, auf wirkungsspektroskopische Maßnahmen, wie der Photodissoziation, ausweichen zu müssen. Zwei Möglichkeiten, IR Spektren auf diese Weise zu erhalten werden im Folgenden beschrieben.

IR Multiphotonen Dissoziation (IRMPD)

Um die zur Dissoziation des zu untersuchenden Moleküls nötige Energie aufzubringen, wird im Fall der IRMPD Spektroskopie eine Vielzahl (n) von IR Photonen resonant absorbiert. Dies erfolgt nach dem Schema:

$$AB \xrightarrow[1]{h\nu_{IR}} (AB)^{*} \xrightarrow[2]{h\nu_{IR}} (AB)^{**} \ldots \xrightarrow[n]{h\nu_{IR}} A + B. \qquad (I.2.4)$$

Der Prozess ist dabei sehr komplex und geht über die kohärente Absorption mehrerer monochromatischer Photonen hinaus. Denn dieses resonante *Leiterklettern* der Zustände wird durch den *anharmonischen Flaschenhals* in der Regel sehr früh limitiert (mitunter bereits nach der Absorption nur eines Photons).
Die Einteilung des IRMPD Prozesses erfolgt, wie in Abbildung II.2.1 illustriert, in drei Stufen: a) resonante Absorption, b) Absorption in einem Quasikontinuum und c) Absorption oberhalb der Dissoziationsgrenze mit anschließender Dissoziation.[176]
In der ersten Region werden Photonen zwischen diskreten Rotations-Vibrationsniveaus resonant absorbiert. Die Vibrationsquantenzahl steigt also bei jeder Absorption in der Regel um den Wert eins. Die durch die Anharmonizität verursachte Verschiebung (Rotverschiebung) in den Energieabständen kann zunächst durch die Laserlinienbreite kompensiert werden. Dies erfolgt bis zum so genannten *anharmonischen Flaschenhals,* in dem keine Photonen mehr resonant absorbiert werden können, da die Niveauabstände mit steigender Quantenzahl immer kleiner werden und somit aus der Resonanz laufen.[22] Doch mit jedem absorbierten Photon steigt die interne Energie E_i und mit ihr die Vibrationszustandsdichte $\rho(E_i)$ an. Diese

wächst grob mit E_i^{N-1} und damit umso schneller, je mehr Vibrationsfreiheitsgrade N das Molekül besitzt.[58,177] Zusätzlich kommt es zu einer Kopplung der Vibrationsmoden, wodurch Energie intramolekular verteilt werden kann was in Abbildung II.2.1. durch die gestrichelten Pfeile angedeutet wird.

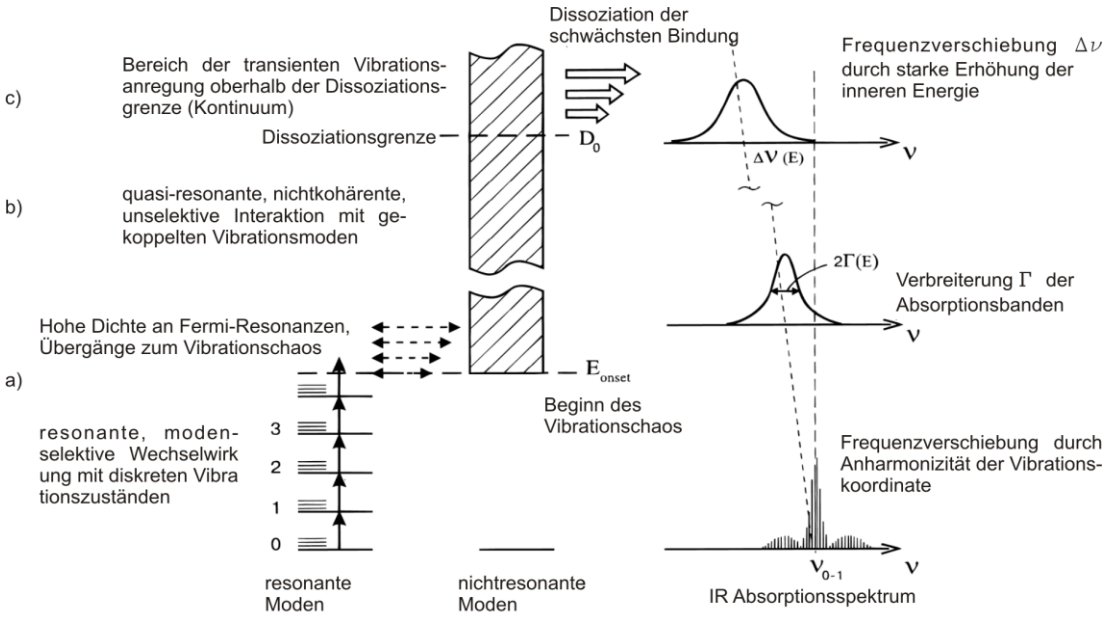

Abbildung II.2.1. Prinzipskizze für den IRMPD Prozess. Zu Beginn werden die Photonen resonant absorbiert (a). Durch die Aufnahme der Energie steigt die Zustandsdichte mit jedem absorbierten Photon weiter an, so dass es irgendwann zu quasi-resonanten Übergängen in einem Quasikontinuum bedingt durch die gekoppelten Vibrationsmoden kommt (b). Die Absorption erfolgt hinein bis ins Kontinuum oberhalb der Dissoziationsschwelle. Die schwächste Bindung bricht (c). Dabei verschiebt sich die Frequenz resonant absorbierter Photonen durch das Aufheizen immer weiter ins Rote (rechte Seite). (Reprinted (adapted) with permission from Reference [176] Copyright (2016) American Chemical Society.)

Diese durch die Anharmonizitäten verursachte Kopplung zwischen den absorbierenden und den nichtabsorbierenden Vibrationsübergängen wird intramolekulare Vibrationsenergieumverteitlung (eng. intramolecular vibrational redistribution, IVR) genannt.[178] Durch diesen Prozess wird die Energie der absorbierenden Vibrationsübergänge sehr schnell auf andere Vibrationszustände verteilt. Dadurch steht der ursprünglich angeregte Übergang für eine erneute Absorption zur Verfügung. Typische, durch IVR induzierte Lebensdauern IR angeregter Zustände in Molekülen liegen bei 10^{-11}–10^{-12} s.[58,179] Die Umverteilung der Energie verläuft dabei umso effizienter, je mehr Zustände durch den Photonenenergieeintrag besetzt werden können und je größer die Kopplung dieser Zustände untereinander ist. Durch die Erhöhung der inneren Energie und den hiermit einhergehenden Anstieg der Zustands-

dichte können Photonen weiterhin quasi-resonant absorbiert werden, wobei deren Energie anschließend effizient über ein Quasikontinuum von unbesetzten Vibrationszuständen (*bath modes*) verteilt wird (Abbildung II.2.1.b.).[180] Gleichzeitig kommt es durch die Erhöhung der inneren Energie zu einer Rotverschiebung der resonant absorbierenden Übergänge (Abbildung II.2.1.rechts).[177] Die Absorptionslinien selbst sind wegen der kurzen Lebensdauern der angeregten Vibrationszustände aufgrund von IVR zudem verbreitert.Das Aufheizen der Moleküle durch resonante Absorption erfolgt weiter, bis die Zustandsdichte so stark angewachsen ist, dass es zu unresonanter Absorption in ein Zustandskontinuum oberhalb der Dissoziationsschwelle kommt (c). Durch diese Übergänge können alle IR Photonen jeglicher Wellenlänge absorbiert werden.

Die überschüssige Energie kann in Form von Strahlung oder durch die Abgabe von Partikeln wie Elektronen (Ionisation), oder Atomen bzw. Molekülen (Dissoziation) erfolgen. Bei kationischen Molekülionen ist die Dissoziation favorisiert, da die hierzu benötigten Energien meist niedriger sind als die zur weiteren Ionisation notwendigen.[22]

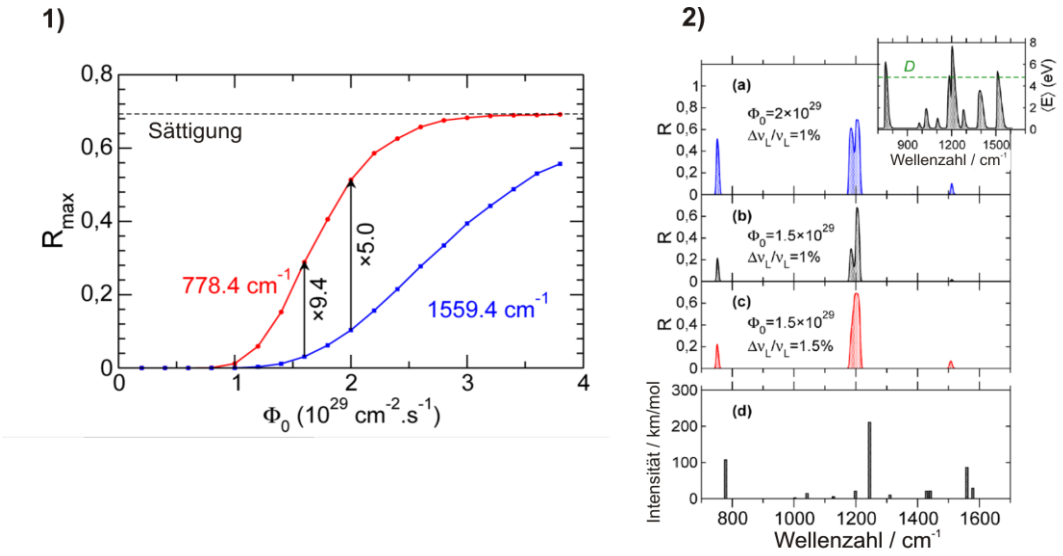

Abbildung II.2.2. 1) Simulierte IRMPD Effizienz R_{max} als Funktion des Laserflusses Φ_0 für zwei harmonische Vibrationsbanden bei 778,4 cm^{-1} und 1559,4 cm^{-1} von kationischem Naphthalin ($C_{10}H_8^+$). Abhängig von Φ_0 variiert das Verhältnis von R_{max} zwischen beiden Moden **2) (a-c)** Berechnete IRMPD Spektren von $C_{10}H_8^+$ für verschiedene FEL-Parameter. Das in **(a)** eingefügte Bild stellt die mittlere innere Energie von nicht dissoziierten Kationen nach der Absorption des FEL-Pulses als Funktion der Wellenzahl dar. Die grüne Linie zeigt die Dissoziationsschwelle. Feld **(d)** zeigt die harmonischen Absorptionslinien mit unskalierten Frequenzen (B3LYP/6-31+G*). Der Laserphotonenfluss Φ_0 ist in $m^{-2} \cdot s^{-1}$ angegeben. (Reprinted (adapted) with permission from J.Phys. Chem. A 2013,117, 3945-3959.[181] Copyright (2016) American Chemical Society.)

Zusammenfassend kann somit gesagt werden, dass es bei hoher IR Strahlenintensität, durch die resonante Absorption mehrerer IR Photonen zur Fragmentation eines Molekülionenkomplexes kommt. Das Verfahren der Laserwellenlänge bei gleichzeitiger Detektion des Mutterionen- und Fragmentsignals ermöglicht somit die Aufnahme eines IRMPD Spektrums. Es hat sich jedoch gezeigt, dass bei diesem Prozess im Vergleich zu anderen Methoden (IRPD/*Messenger*-Technik) einige Absorptionslinien in ihren Intensitäten geringer ausfallen oder gar nicht auftauchen. Diese Moden werden als IRMPD transparent bezeichnet.[182] Die Ursachen hierfür liegen u.a. in der Veränderung der resonant absorbierenden Übergänge oder der Übergangsdipolmomente während des Aufheizens durch Photonenabsorption. Beides wird verursacht durch Konformationsänderung der Moleküle während der Absorption[22]. Ein anderer Effekt liegt in der unterschiedlich starken Kopplung einzelner Moden. Hierdurch kommt es zum einen zu verschieden schnellen IVR Prozessen zum anderen ergibt sich eine stärkere Rotverschiebung. Durch das verschieden schnelle IVR benötigen einige Moden, bei gleicher Laserpulsfolge, mehr Zyklen, bis ausreichend viele Photonen bis zur Dissoziation absorbiert werden, als bei anderen Übergängen. Dies äußert sich in geringerer Intensität oder gar dem völligen Fehlen mancher Linien (Abbildung II.2.1 2)). Aber auch ein schnelles herauslaufen aus der resonanten Absorption durch das Aufheizen führt zu den gleichen Ergebnissen. Die hieraus abgeleitete IRMPD Effizienz R_{max} ist somit sehr stark abhängig von Photonenfluss der bereitgestellten Laserlichtquelle, wie in Abbildung II.2.2 1) dargestellt ist.[181] Ein weiterer Nachteil der IRMPD Methode ergibt sich aus der recht starken spektralen Rotverschiebung, die wiederum molekülabhängig ist und sich gegenüber der linearen IR Absorption um Werte von bis zu 20 cm-1 verschieben kann (Abbildung II.2.1 rechts).[177,181]

Infrarot Photodissoziation (IRPD/Messenger Technik)

Eine andere Möglichkeit, Fragmentation durch die Absorption von IR Photonen zu erhalten, ist die Dissoziationsschwelle unterhalb der IR Photonenenergie zu setzen. Dies ist möglich durch die Anlagerung eines schwach gebundenen Botenatoms- oder Moleküls (Messenger) an das zu untersuchende Molekül. Die Dissoziation erfolgt dann vereinfacht nach folgendem Schema:

$$\mathrm{AB \cdot M} \xrightarrow{\mathrm{h\nu_{IR}}} \mathrm{(AB)^* \cdot M} \longrightarrow \mathrm{AB + M.} \qquad \text{(II.2.5)}$$

Durch Absorption wird, wie auch am Anfang des Prozesses der IRMPD, eine Vibrationsmode resonant angeregt. Die hierdurch erhöhte innere Energie liegt allerdings nach der Absorption bereits oberhalb der zur Dissoziation des Komplexes benötigten Energie. Durch IVR wird diese Energie auch auf die Botenatomkoordinate übertragen, was schließlich in der Ablösung des angelagerten Atoms resultiert.[183]

Durch die im Vergleich zur IRMPD geringeren inneren Energien und der dadurch geringeren Anzahl von besetzbaren Zuständen, die für IVR notwendig sind, kann auch die Energieumverteilung innerhalb des Komplexes hier langsamer ablaufen. Dies wiederum kann die Lebensdauerverbreiterung drastisch reduzieren und somit zu schmaleren spektralen Linien im Vergleich zur IRMPD führen. Die Kopplungsstärke der Zustände innerhalb des Komplexes kann jedoch bei Anregung verschiedener Vibrationsmoden unterschiedlich sein, was sich wiederum in unterschiedlichen Linienbreiten innerhalb eines Spektrums äußern kann. Eine anschauliche Beschreibung der Photodissoziation von Van-der-Waals Molekülen ist in Referenz [183] zu finden und soll hier nicht weiter vertieft werden.

Als Botenpartikel werden bevorzugt Edelgasatome aber auch andere Gase wie H_2 genutzt. Die Bindung solcher Botenpartikel erfolgt dabei über ladungsinduzierte Dipolwechselwirkung und sollte möglichst schwach sein. Denn je geringer die Wechselwirkung mit den zu untersuchenden Molekülen ist, desto geringer ist auch deren Einfluss auf die geometrischen und elektronischen Strukturen. Auch andere Stoffe wie N_2 oder H_2O werden als Liganden für die IRPD Spektroskopie benutzt. Hier steht jedoch oft vorrangig die Wechselwirkung dieser Moleküle mit den Molekülionen im Fokus des Interesses.

Die Beschreibung der IRPD Methode in dieser Arbeit erfolgt, um die gemessenen Spektren in Kapitel I.3.3 besser zu verstehen. In Zukunft sollen zudem IRPD Messungen von Flavinionenkomplexen mit der BerlinTrap-Apparatur durchgeführt werden um diese mit den bereits getätigten IRMPD Messungen zu vergleichen.

2.2 UV-VIS Photodissoziation

Wie schon bei der IR Spektroskopie beschrieben, kann es nach der Absorption eines Photons bei Überschreiten der Dissoziationsschwelle zur Fragmentation des bestrahlten Molekülions kommen. Im Falle von IR Strahlung liegt die Photonenenergie häufig weit unterhalb der Bindungsenergie des Molekülions. Die Photonenenergien im visuellen (VIS) und vor allem im UV Bereich sind wiederum ausreichend, um auch kovalente Bindungen aufzubrechen. Durch die Absorption eines Photons dieses Spektralbereiches werden vorrangig Schwingungs- bzw. Rotationszustände höherer elektronischer Zustände angeregt. Eine anschließende Dissoziation des absorbierenden Molekülions, die massenspektrometrisch detektiert werden kann, ist auf zwei Arten möglich. Man unterscheidet zwischen der direkten und der indirekten Photodissoziation. Die folgende Beschreibung dieser beiden Möglichkeiten orientiert sich an Referenz,[184] welche zum vertieften Verständnis der Photodissoziationsprozesse als weiterführende Literatur empfohlen wird.

Direkte Photodissoziation

Bei der direkten Photodissoziation wird nach der Absorption direkt ein dissoziativer Zustand erreicht. Der Absorptionsquerschnitt σ(E) ist dabei, wie in Abbildung II.2.3 dargestellt, durch den Überlapp der Wellenfunktion des gebundenen Zustands Ψ_0 mit dem ersten Maximum einer Wellenfunktion $\Psi_1(\mathrm{E})$ des dissoziativen Zustandskontinuums bei R > R_t (klassischer Umkehrpunkt) gegeben. Dieses Kontinuum ist in Abbildung II.2.3. a. repräsentativ durch drei Wellenfunktionen dargestellt. Bei niedrigen Energien ist der Überlapp noch sehr klein und somit σ(E) vernachlässigbar. In der Mitte ist der Überlapp maximal, wodurch auch die Absorption maximal wird. Zu hohen Energien hin nimmt der Absorptionsquerschnitt wieder ab, da sich nun auch negative Teile der Kontinuumswellenfunktion mit den positiven Teilen der gebundenen Wellenfunktion überlappen. Diese überlagern sich destruktiv.

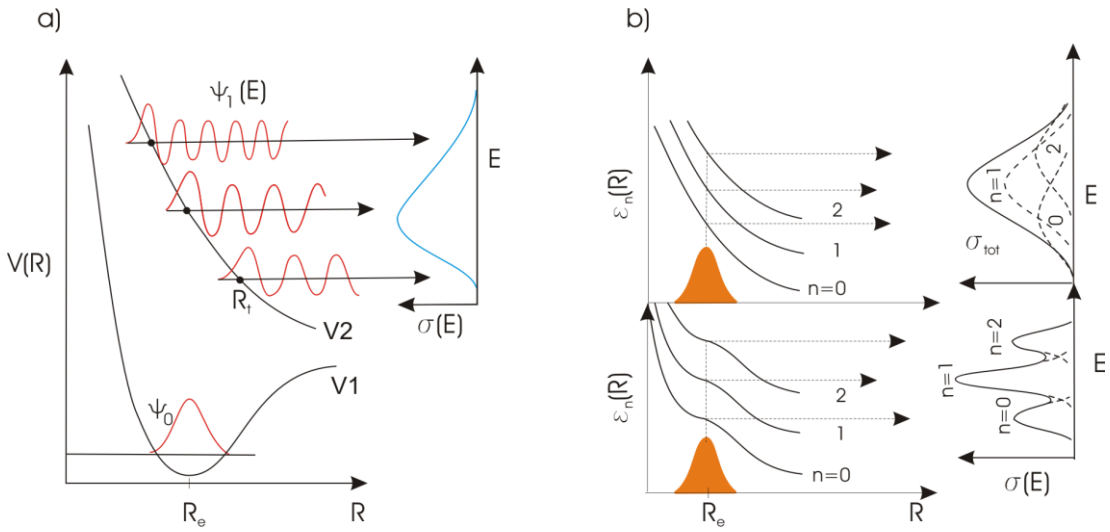

Abbildung II.2.3. Illustration direkter Photodissoziation **a)** Überlapp der gebundenen Wellenfunktion Ψ_0 mit Wellenfunktionen $\Psi_1(E)$ des Zustandskontinuums im angeregten Zustand (V_2) als Funktion der Energie. R_t ist der klassische Umkehrpunkt eines gebundenen Zustandes des angeregten Potentials. Zusätzlich ist das resultierende Absorptionsspektrum dargestellt **b)** Wenn die Halbwertsbreiten der partiellen adiabatischen Vibrationspotentialkurven (gestrichelte Linien) bei elektronischer Anregung größer sind als die Abstände zwischen ihnen, kommt es zu einem Verschmieren des Gesamtspektrums $\sigma(tot)$ (oben). Diffuse Vibrationsauflösung wird erst erreicht, wenn die Potentialkurven im Bereich der Franck-Condon Region verhältnismäßig flach verlaufen (unten). (Grafik adaptiert aus [184]).

Je stärker der Abfall des repulsiven Zustandes ist, desto breiter sind die resultierenden Spektren bei direkter Photodissoziation. Dies trifft auch zu, wenn mehrere adiabatische Vibrationszustände angeregt werden können. Die Überlagerung der einzelnen Übergänge liefert ein breites strukturloses Dissoziationsspektrum (Abbildung II.2.3 b). Verlaufen die Kurven jedoch flacher, lassen sich auch hier die einzelnen Teilquerschnitte der Absorption basierend auf den verschiedenen Vibrationszuständen unterscheiden.

Indirekte Photodissoziation

Bei der indirekten Photodissoziation wird nach Photonenabsorption eines Molekülions zunächst ein angeregter quasi-gebundener Zustand präpariert. Die anschließende Energiekonversion in eine andere Reaktionskoordinate führt zur Besetzung eines dissoziativen Zustandes, der schließlich zur Fragmentation des Ions führt. Dies kann auf verschiedene Weise geschehen. Abbildung II.2.4 a) veranschaulicht dabei den Prozess der im Allgemeinen abläuft.

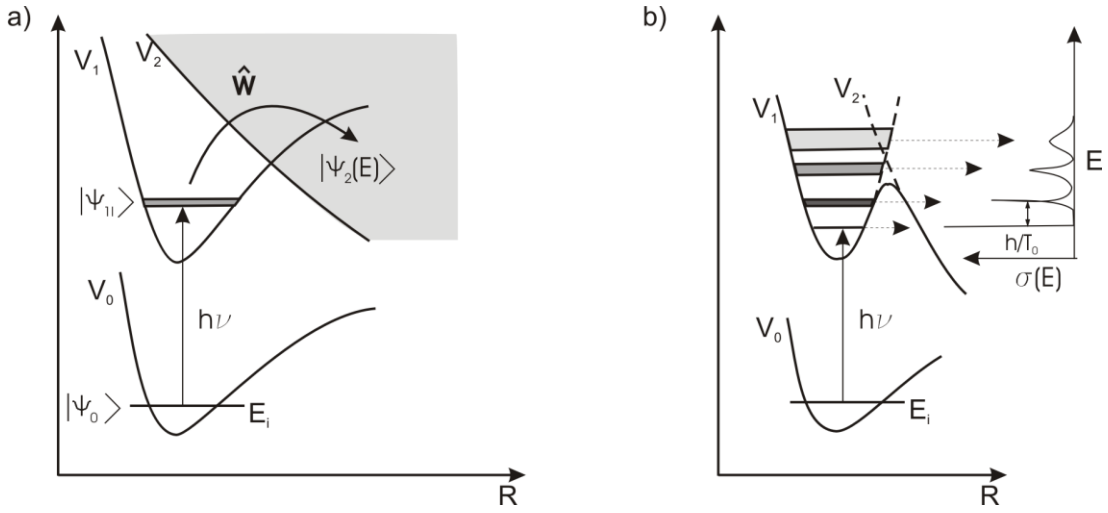

Abbildung II.2.4. Veranschaulichung der indirekten Photodissoziation. **a)** V_1 und V_2 stellen zwei diabatische Potentialkurven eines Molekülions dar. Der angeregte Zustand $|\Psi_{1l}>$ koppelt über $\widehat{W}$ mit einem Zustand des Kontinuums $|\Psi_2(E)>$, was in der Fragmentation resultiert. **b)** Illustration der unterschiedlichen Grade der Kopplung zwischen dem gebundenen und dem repulsiven Zustand. Die durchgezogene Linie repräsentiert den unteren Teil zweier adiabatischer Potentiale, während die gestrichelten Linien diabatische Potentiale darstellen. Je höher die „quasi-gebundenen" Zustände in diesem Fall energetisch liegen, desto stärker sind sie mit dem dissoziativen Teil gekoppelt. Die hierdurch reduzierte Lebensdauer resultiert in der Verbreiterung der Absorptionslinien $\sigma(E)$. (Grafiken adaptiert aus[184]).

Hier repräsentieren V_1 und V_2 zwei diabatische Potentialkurven (bzw. Potentialflächen) eines angeregten elektronischen Zustandes, denen es erlaubt ist, sich zu kreuzen (d.h. eine Wechselwirkung zwischen beiden Kurven kann stattfinden). Der über ein absorbiertes Photon angeregte, quasi-gebundene Zustand $|\Psi_{1l}>$ ist über eine Kopplung $\widehat{W}$ mit dem Zustandskontinuum $|\Psi_2(E)>$ verbunden (Das l in $|\Psi_{1l}>$ weist hier auf die Anwesenheit verschiedener Rotationszustände hin). Erst diese Kopplung ermöglicht die Fragmentation des Ions, wobei deren Stärke die Lebensdauer von $|\Psi_{1l}>$ beeinflusst und somit auch die gemessenen Absorptionslinienbreiten.

Dieser Zusammenhang wird in Abbildung II.2.4 b) anhand eines eindimensionalen Systems (z. B. zweiatomiges Molekül) veranschaulicht. Die gestrichelten Linien bilden hier zwei adiabatische Potentiale, welche zusammen den resultierenden Potentialtopf (durchgezogene Linie) formen. Im unteren Teil dieses Topfes ist die Kopplung zwischen dem quasi gebundenen und den repulsiven Zustand gering, was über die lange Lebensdauer zu sehr schmalen Absorptionslinien $\sigma(E)$ führt. Mit steigender Energie wächst die Kopplung zwischen den Zuständen, was in immer breiteren Linien resultiert.

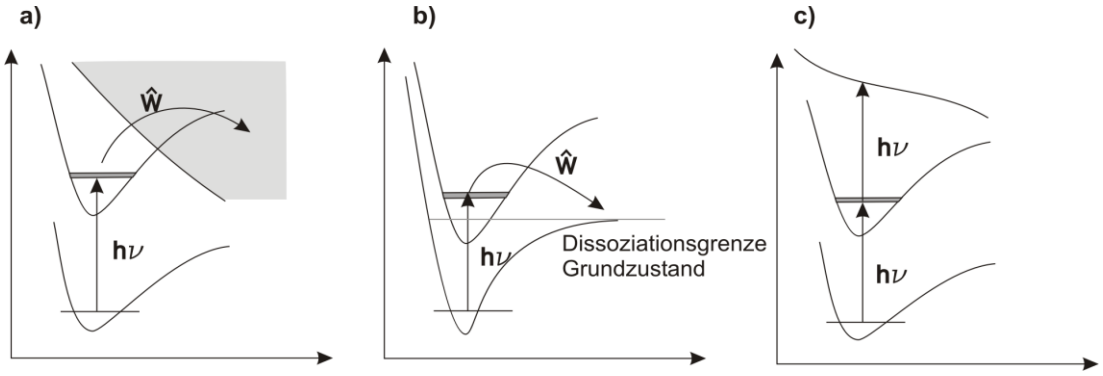

Abbildung II.2.5. Darstellung verschiedener Dissoziationskanäle **a)** Aus dem Grundzustand wird ein „quasi-gebundener" angeregter elektronischer Zustand präpariert. Über die Kopplung $\widehat{W}$ erfolgt die Energiekonversion in einen dissoziativen Zustand. Dieser kann sich im selben oder höheren elektronischen Zustand befinden. **b)** Die Anregung erfolgt wie zuvor. Die Kopplung findet jedoch mit dem Dissoziationskontinuum des Grundzustandes statt. **c)** Nach Photonenabsorption wird ein angeregter Zustand resonant präpariert. Bei genügender Laserintensität kann es zu einer erneuten Absorption eines Photons gleicher Wellenlänge kommen mit dem ein sich darüber befindlicher dissoziativer Zustand angeregt wird.

Nach diesen phänomenologischen Grundlagen werden nun die verschiedenen Dissoziationskanäle aufgezeigt, die zum Erhalt eines UVPD oder VISPD Spektrums führen. In Abbildung II.2.5. a ist der Fall dargestellt, der weiter oben beschrieben wurde. Ein Molekülion wird in einen quasi gebundenen Zustand angeregt und koppelt mit einem repulsiven Zustand einer anderen Reaktionskoordinate des gleichen oder aber höheren elektronischen Zustandes. Die Dissoziation kann jedoch auch durch Kopplung eines angeregten, gebundenen elektronischen Zustandes in das Zustandskontinuum, oberhalb des Dissoziationslimits des elektronischen Grundzustandes, oder eines anderen tiefer liegenden Zustandes erfolgen (Abbildung II.2.5. b). Auch die resonante Absorption eines Photons in einen angeregten gebundenen Zustand und anschließende direkte Dissoziation durch Absorption eines weiteren Photons gleicher Wellenlänge ist möglich (Abbildung II.2.5. c).

Je größer ein Molekülion ist, desto wahrscheinlicher ist auch, dass es zu einer Mischung von verschiedenen Reaktionskanäle kommt. Diese können sich in der Bildung verschiedener Fragmente äußern. Das heißt, mit Hilfe der gleichzeitigen Detektion aller Fragmente bei der Photodissoziation lassen sich detaillierte Rückschlüsse auf unterschiedlich wahrscheinliche interne Energiekonversionen ziehen.

Die in Kapitel I.3.1 durchgeführten UVPD Messungen an H^+Tyrosin sowie die später in Kapitel II.5 gezeigten VISPD Messungen an kalten ionischen LC Komplexen zeigen scharfe diskrete Linien, was auf indirekte Dissoziation mit schwacher Kopplung schließen lässt.

2.3 Das FT-ICRMS Experiment am FELIX

Wie bereits erläutert, ist die IRMPD eine Möglichkeit, absorptionsäquivalente Spektren isolierter Molekülionen zu erhalten. Diese nur bei sehr hohen Laserphotonendichten und spezieller Pulsabfolge einsetzbare Technik führt dazu, dass bei initial resonanter Absorption anschließend mehrere IR Photonen sukzessiv vom Molekül ion aufgenommen werden, bis dieses fragmentiert (Kapitel II.2.1). Diese speziellen Anforderungen bietet der **F**reie-**E**lektronen-**L**aser für **I**nfrarot E**X**perimente (FELIX) am FOM Institut in Nieuwegein (Niederlande).[185]

Bei dem hier verwendeten experimentellen Aufbau (Abbildung II.2.6) werden die zu untersuchenden Molekülionen in einer ESI-Quelle (z-Spray/*Waters*) generiert und für vier Sekunden in einer Oktupol-Ionenfalle akkumuliert und thermalisiert. Anschließend werden sie über einen Quadrupolumlenker und einen Oktupol-Ionenleiter in eine FT-ICR Falle überführt.[186] In dieser speziellen Penning-Falle[187] werden sie durch ein starkes Magnetfeld (4,7 Tesla[188]) mittels der Lorentzkraft auf Kreisbahnen gezwungen und anschließend resonant mit der Zyklotronresonanzfrequenz auf höhere und somit besser detektierbare Bahnradien angeregt. Die entstehende inkohärente Zyklotronbewegung wird somit durch Anlegen eines gleichsam mit der ICR Frequenz der Ionen rotierenden, elektrischen Feldes, kohärent und kann hierdurch mittels Bildladungsnachweis detektiert werden[187]. Wegen der m/z Abhängigkeit der Zyklotronresonanzfrequenz der Ionen

$$\omega_c = \frac{q}{m} B, \tag{II.2.6}$$

mit der Ladung q, der Ionenmasse m und dem Magnetfeld B, lässt sich über eine anschließende Fourier-Analyse des gemessenen Bildladungssignals U(t) ein Massenspektrum nach dem Schema

$$U(t) \overset{FT}{\rightarrow} U(\omega) \rightarrow U(m/z), \tag{II.2.7}$$

generieren. Da es für die Spektroskopie möglichst vorteilhaft ist, wenn sich in der Probe nur Ionen mit gleichem m/z befinden, müssen alle anderen zunächst aussortiert werden. Dies erfolgt durch nochmaliges resonantes Anregen aller unerwünschten Ionen mit Hilfe eines speziell geformten Spannungspulses.[187]

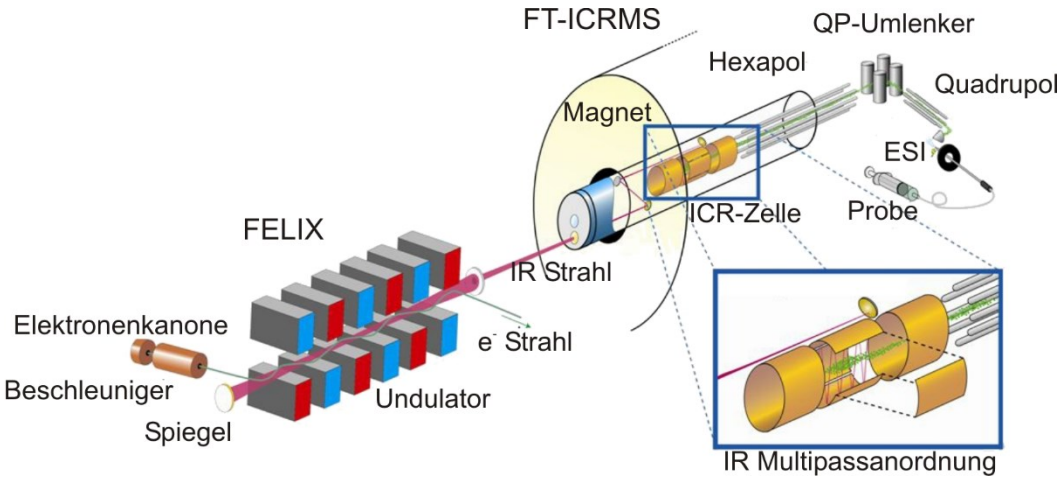

Abbildung II.2.6. FT-ICR-Experiment an der FELIX Einrichtung des FOM Institutes in Nieuwegein. Die Ionen werden in einer ESI-Quelle generiert und über Ionenleiter in die FT-ICR-Zelle transportiert. Die hier massenselektierten Ionen werden anschließend mit der intensiven IR Strahlung des freien Elektronenlasers bestrahlt und die Fragmente abschließend detektiert. (Grafik adaptiert aus Referenz [189]) .

Die in der ICR-Zelle gefangenen Ionen werden 2 s mit 20 Makropulsen des FEL bei einer Pulsfrequenz von 10 Hz bestrahlt. Hierbei besteht ein bis zu 20 µs dauernder Makropuls aus vielen (~10000) Mikropulsen von 3–6 ps Länge in Mikropulsabständen von ungefähr 1 ns.[185]

Die Laserstrahlung wird dadurch erzeugt, dass einzelne kleinen Elektronenpakete (jedes Paket führt zu einem IR Mikropuls) aus einer Elektronenkanone heraus beschleunigt werden und anschließend in den Undulator gelangen. Dieser besteht aus alternierend angeordneten Paaren starker Permanentmagnete. Die Elektronen werden beim Passieren des Undulators aufgrund der Lorentzkraft auf sinusförmige Bahnen gelenkt. Beim Durchlauf jedes Scheitelpunktes der Trajektorie senden die Elektronen IR Strahlung kegelförmig entlang der Undulatorachse aus. Der emittierte IR Lichtpuls wechselwirkt dabei mit den Elektronen der vorlaufenden Elektronenpakete die sich simultan im Undulator befinden. Die Licht-Elektronen Wechselwirkung wird dabei durch einen Resonator, in dem das Licht hin und her läuft, zusätzlich verstärkt. Durch die Interaktion kommt es zu einer Selbstausrichtung der Elektronenpakete, was wiederum zur Abstrahlung kohärenter IR Strahlung führt. Die Wellenlänge des FEL lässt sich durch die Veränderung der Undulatorstärke einstellen, indem der Abstand der sich gegenüberliegenden Magnete verändert wird. Größere Wellenlängenänderungen erfordern zusätzlich eine Veränderung der Energie des Elektronenstrahls.

Nachdem die IR Strahlung das FT-ICRMS durch ein ZnSe Fenster[188] passiert, erfolgt die Bestrahlung der Ionen durch eine zur Erhöhung der Absorptionswahrscheinlichkeit eingerichteten Multipassanordnung (Abbildung II.2.6). Nach der Absorption und der resultierenden Dissoziation wird wieder ein Massenspektrum der resultierenden Ionen aufgenommen. Um ein möglichst eindeutiges Absorptionsspektrum zu erhalten, wird die resultierende IRMPD Ausbeute abschließend wie folgt bestimmt:

$$I_{IRMPD} = \frac{\sum I_f}{I_M + \sum I_f}, \tag{II.2.8}$$

wobei I_f die Intensitäten der einzelnen geladenen Fragmente und I_M die des Mutterions darstellen.[d] Die Laserstrahlung besitzt eine spektrale Bandbreite von 0,2 bis 5 % für den gesamten von FELIX lieferbaren Spektralbereich von 3600–66 cm^{-1}. Da die Messung der IR Strahlung in Wellenlängen erfolgt, variiert hierdurch die Schrittweite in Wellenzahlen zwischen 3 und 9 cm^{-1} im (für das FT-ICRMS nutzbaren) Spektralbereich zwischen 500 und 2000 cm^{-1}.

In dieser Arbeit werden folgende Flavinionen untersucht: H^+FL (FL = LC, LF, RF und FMN), M^+LC (M = Li, Na, K, Cs, Rb, Ag), $Mg^{2+}LC_2$ und M^+LF (M = Li, Na, K, Cs, Cu, Ag). Für die Präparierung dieser ionischen Flavinverbindungen durch die ESI-Quelle müssen zuvor spezielle Lösungen angesetzt werden. Für das Erstellen geeigneter Mixturen werden LC, LF, RF sowie das $FMN^-Na^+2H_2O$ Salz mit Reinheiten von jeweils 99, 97, 95 und 97 % von Sigma Aldrich ohne weitere Aufbereitung verwendet. Zur Erzeugung der protonierten Flavine werden diese mit einer Konzentration von 0,2–2 mmol/l in einer Lösung aus Methanol, Wasser und Methansäure (Mischungsverhältnis 78:20:2; für FMN^-Na^+ 78:18:4) mit einer Rate von 10 µl/min in der ESI-Quelle gesprüht. Zur Erzeugung von metallierten Flavinen wird eine Mixtur aus LC bzw. LF mit Konzentrationen von 0,2 mM/l in Methanol gefertigt. Metallchlorid- bzw. Nitratsalzen werden in Wasser in Konzentrationen von 1–6 mM/l gelöst. Anschließend werden beide Lösungen, je nach Metall in verschiedenen Verhältnissen miteinander vermischt. Die resultierende Lösung wird anschließend in der ESI-Quelle mit einer Rate von 10 µl/min gesprüht. Für Ag^+ und Mg^{2+} wird Acetonitril anstelle von Wasser als Lösungsmittel eingesetzt. Das Mischungsverhältnis der beiden Lösungen beträgt typischerweise acht Teile Methanol und ein Teil Wasser bzw. Acetonitril.

[d] Ist das m/z des Fragmentes zu klein um im ICR noch detektiert zu werden, kann das IRMPD Spektrum allein aus I_M bestimmt werden (z.B. bei $Li^+LC \xrightarrow{IRMPD} Li^+$)

2.4 Quantenchemische Modellierung

Die experimentell gemessenen Spektren alleine lassen nur wenige Rückschlüsse auf die Eigenschaften eines Molekülions zu. Erst die Kombination mit quantenchemischen Rechnungen führt zu einem tieferen Verständnis der Strukturen der vermessenen Moleküle. Dabei wird so vorgegangen, dass mögliche Strukturisomere eines Ions bzw. Komplexes mittels quantenchemischer Rechenmethoden ermittelt werden. Die sich aus den Berechnungen ableitenden linearen Spektren werden anschließend mit den experimentellen verglichen. Bei genügender Übereinstimmung wird davon ausgegangen, dass die gesuchte Struktur identifiziert ist.
Die Strukturberechnung welche die Gesamtheit aller atomaren Kopplungen, einschließlich der Elektronen beschreibt, ist quantenmechanisch auf verschiedenste Weise möglich. Hierbei konkurriert jedoch der Rechenaufwand mit der resultierenden Exaktheit der Ergebnisse. Methoden die auf der Dichtefunktionaltheorie (DFT) basieren, liefern mit vertretbarem Aufwand häufig recht gute Übereinstimmung mit experimentellen Resultaten,[190,191,192] weswegen diese in der vorliegenden Arbeit Verwendung finden.
Die Grundlage der DFT lieferten Hohenberg und Kohn 1964 in einer viel beachteten Publikation.[193] Hier wurde gezeigt, dass die ortsabhängige Elektronendichte im Grundzustand ρ_0 die Eigenschaften eines Vielelektronensystems eindeutig festlegt. Dadurch ist es möglich, die komplizierten, von 4N Variablen abhängigen Wellenfunktionen (3N Raumkoordinaten, N Spin Variablen) durch die weit weniger komplexe ortsabhängige Elektronendichte zu ersetzen, was die benötigte Computer Rechenkapazität deutlich minimiert. Die Elektron-Kernwechselwirkung in Abhängigkeit von ρ_0 ist eine systemabhängige Größe. Die kinetische Energie $E_{kin}(\rho_0)$ und die Elektron-Elektron-Wechselwirkung $E_{ee}(\rho_0)$ sind jedoch universell gültig in dem Sinne, dass sie weder abhängig von der Elektronzahl sind, noch von den Kernkoordinaten oder dessen Ladung. Hierdurch lassen sich $E_{kin}(\rho_0)$ und $E_{ee}(\rho_0)$ durch ein universelles Funktional ausdrücken. Dieses ist jedoch unbekannt, weswegen Wege gesucht werden, dieses Funktional immer weiter anzunähern. Eine detaillierte Einführung in das Feld der DFT Methoden ist u.a. in Referenz[194] zu finden und soll hier nicht weiter vertieft werden.

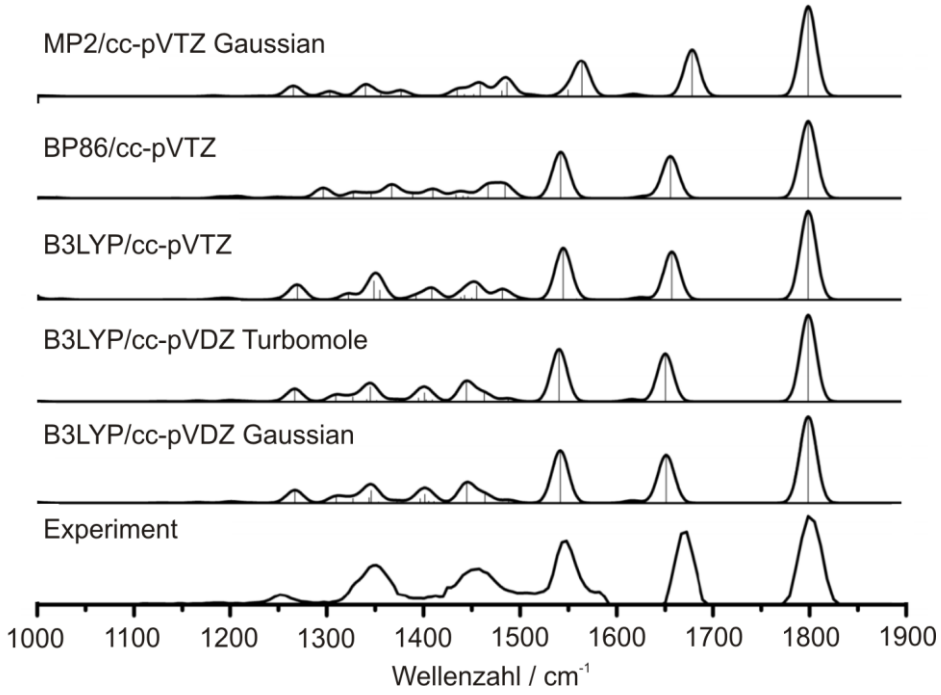

Abbildung II.2.7. Mit verschiedenen quantenchemischen Methoden berechnete IR Spektren von H^+LC@N5 im Vergleich mit dem experimentellen IRMPD Spektrum. Die berechneten Spektren sind allesamt auf dem Peak um 1800 cm^{-1} skaliert, um die jeweiligen Peakverschiebungen zueinander darzustellen. Die schnellste Methode stellt dabei das BP86/cc-pVDZ dar, das Gegenteil hierzu ist die Möller Plesset Störungstheorie MP2/cc-pVDZ. Der Basisatz cc-pVTZ liefert mit allen Methoden genauere Ergebnisse als cc-pVDZ, bedarf jedoch wiederum höherer Rechenleistung. Selbst die Wahl verschiedener Progamme (Gaussian09[144]/Turbomole[195]), bei ansonsten gleicher Methode und gleichem Basissatz, führt zu sehr leicht veränderten Spektren.

Für die Strukturanalyse von H^+FL und M^{q+}FL in dieser Arbeit werden solche DFT Berechnungen mit Hilfe der kommerziell erhältlichen quantenchemischen Programmpakete Gaussian03[196] und Gaussian09[144] durchgeführt. Dabei wird die verwendete Rechenmethode allgemein in der Form Funktional/Basissatz angegeben. Die Berechnungen liefern neben der Geometrie Werte für die nullpunktskorrigierte Bindungsenergie E und für die Gibbs (freie) Energie G bei 300 K. Ist durch eine Rechnung eine energetisch favorisierte Struktur identifiziert, werden im folgenden relative Energien hierzu in der Form ΔE bzw. ΔG gegeben. Dabei wird jeweils das energetisch niedrigste Isomer mit $\Delta G = 0$ kJ/mol definiert. Nach Erhalt der Strukturen erfolgt eine Berechnung der Vibrationen, was schließlich zu den gewünschten linearen IR Spektren führt, die zum Vergleich zwischen Theorie und Experiment genutzt werden. Um die Vielzahl der möglichen Isomere von H^+FL zu reduzieren, wird darauf verzichtet, an Kohlenstoff protonierte Flavine zu berechnen, da die erwarteten Energien ΔG sehr hoch liegen[145,192] und somit deren Existenz im Experi-

ment unwahrscheinlich ist. Diese Vermutung wird durch eine Vergleichsrechnung für H^+LF@C9 bestätigt (ΔG = 163 kJ/mol).

Die zu untersuchenden Systeme werden, wenn nicht anders erwähnt, auf dem B3LYP/cc-pVDZ Niveau berechnet. Diese ökonomische Methode liefert Ergebnisse, die nahe an denen mit größerem Basissatz liegen. Auch sind diese vergleichbar mit Resultaten, die mit den aufwändigeren MP2 Rechnungen (Möller-Plesset) erzielt werden (Abbildung II.2.7).

Um die berechneten linearen IR Absorptionsspektren besser mit den experimentellen IRMPD Spektren vergleichen zu können, werden die aus den Rechnungen erhaltenen Strichspektren in einigen Fällen mit einer Gauß-Funktion mit einer Halbwertsbreite von 20 cm^{-1} gefaltet. Relativistische Effekte für die schwereren Metallkationen (K–Cs, Cu–Au) bei den M^+FL-Komplexen (Kapitel II.4) werden durch die *Effective Core Potential* (*ECP*) Erweiterung des verwendeten *Stuttgart VDZ* Basissatzes berücksichtigt. Die berechneten harmonischen Vibrationsfrequenzen werden anschließend mit einem Skalierungsfaktor versehen, um ebenfalls die Vergleichbarkeit mit dem Experiment zu verbessern. Dies geschieht daher, weil die linearen IR Spektren ohne anharmonische Korrektur berechnet werden. Hierdurch werden die spektralen Positionen der Vibrationsmoden in der Regel überbewertet. Für H^+FL wird ein Faktor von 0,965 verwendet, für M^+FL (M = Li, Na, Mg) werden die errechneten Spektren mit 0,964 multipliziert und für schwerere Metalle (M = K-Cs und Cu-Au) ergibt 0,973 den besten Wert. Ladungsverteilungen werden mit Hilfe der *Natural Bonding Orbital* (NBO) Methode bestimmt.

Bei H^+RF und H^+FMN erhöht sich die Anzahl der möglichen Konformationen aufgrund der flexiblen Seitenketten drastisch, weswegen hier zu deren Suche eine andere Strategie verwendet wird. Um die energetisch favorisierten Protonierungsstellen von RF und FMN zu identifizieren, werden mögliche prototropische Isomere bei ansonsten stabiler Restgeometrie mit Hilfe der Ressourcen schonenden Hartree-Fock-Methode mit dem 6-311G Basissatz durchgeführt. An den energetisch am tiefsten liegenden Isomeren wird anschließend eine systematische Suche nach den potentiell stabilsten Konformeren durchgeführt, indem einzelne Bindungen der Seitenkette dabei stückweise rotiert werden. Die Energieoptimierung erfolgt hier für alle erhaltenen Konformere mit Hilfe der Kraftfelder *Merck Molecular Force Field 94* (MMFF94) und *Universal Force Field* (UFF), welche in der Avogadro Software[197] implementiert sind. Alle hier identifizierten Isomere, die energetisch innerhalb von 30 kJ/mol liegen, werden dann durch B3LYP/cc-pVDZ optimiert. Abschließend werden die harmonischen Vibrationsfrequenzen berechnet.

Beim Vergleich der berechneten mit den experimentell ermittelten Spektren sollte berücksichtigt werden, dass IRMPD auf der Absorption mehrerer Photonen und anschließender Dissoziation beruht. Dies kann, wie in Kapitel 2.1 beschrieben, zu Rotverschiebungen und Intensitätsvariationen im Vergleich zu einem, sowohl gemessenen als auch berechneten, linearen Einzelphotonabsorptionsspektrum führen.[177,181]

In Kapitel II.5 werden elektronische Spektren von H^+LC und M^+LC analysiert. Hierzu werden DFT Rechnungen auf dem PBE0/cc-pVDZ Niveau für den Grundzustand und für den elektronisch angeregten Zustand durchgeführt. Diese Methode, einschließlich des verwendeten Funktionals, stellt sich als bessere Wahl zur Berechnung des elektronisch angeregten Zustandes für H^+LC und M^+LC heraus, als für die Grundzustandsberechnung verwendete B3LYP Funktional. Anschließend werden harmonische Franck-Condon Simulationen mit PGOPHER[143] vorgenommen, um die Überlappintegrale der einzelnen Vibrationsübergänge, und somit die Vibrationsstruktur in den elektronischen Spektren zu bestimmen. Diese werden dann mit den experimentellen Spektren verglichen werden.

3 Strukturanalyse protonierter Flavine in der Gasphase mittels IRMPD

Die bereits in Referenz [163] veröffentlichte Analyse der am FT-ICRMS Experiment an der FELIX Einrichtung aufgenommenen IRMPD Spektren protonierter Flavine, erfolgt in den nun folgenden Kapiteln. Bereits die Auflistung dieser Spektren in Abbildung II.3.1 lässt für alle H^+FL, trotz der ähnlichen Grundstrukturen, unterschiedliche Protonierungsstellen vermuten. Vor allem die spektralen Unterschiede aller H^+FL in der C=O Streckregion zwischen 1700 und 1820 cm^{-1} lassen diesen Schluss zu. Um die Vermutung zu verifizieren werden DFT Rechnungen für eine Vielzahl möglicher Isomere durchgeführt und die resultierenden linearen IR Spektren anschließend mit den experimentell erhaltenen verglichen.

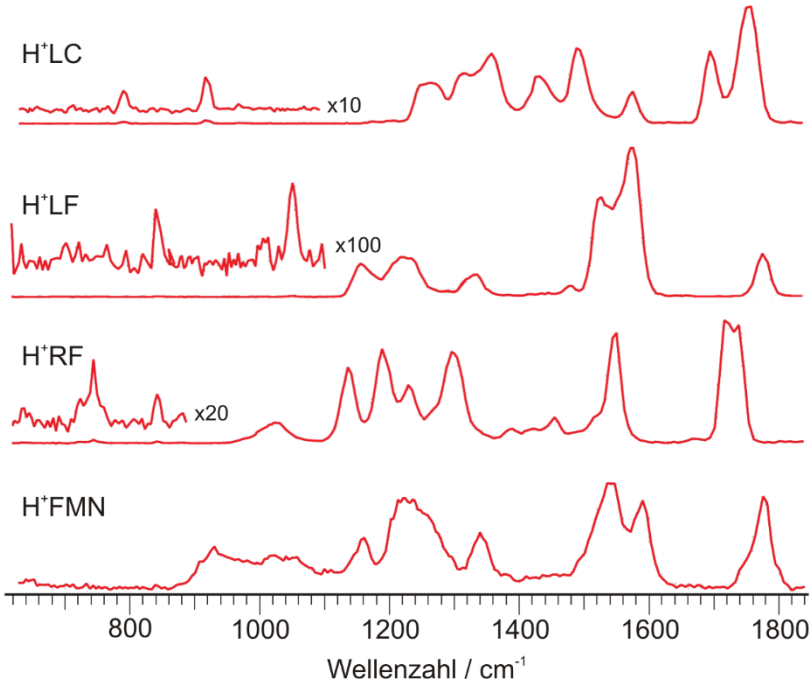

Abbildung II.3.1. IRMPD Spektren von H^+FL (FL = LC, LF, RF FMN) aufgenommen im Fingerabdruckbereich zwischen 710 und 1820 cm^{-1}. Die unterschiedliche Ausprägung der Peaks zwischen 1700 und 1820 cm^{-1} deuten darauf hin, dass für verschiedene Flavine unterschiedliche Protonierungsstellen energetisch bevorzugt werden.

Der Einfluss der Protonierung auf die Beschaffenheit der Flavine lässt sich nachfolgend durch die aus den DFT Rechnungen resultierenden Energien, Strukturen und den dazugehörenden harmonischen Vibrationsfrequenzen ableiten. Hierzu werden Berechnungen sowohl für neutrale als auch für protonierte Flavine durchgeführt.

Nomenklatur zur Klassifizierung von H^+FL

Um die Vielzahl der gefundenen Isomere auch zu ordnen, wird hierfür eine eigene Nomenklatur entwickelt. Neutrale Flavine werden mit FL bezeichnet und die korrespondierende protonierte Form als H^+FL, mit FL = LC (Lumichrom), LF (Lumiflavin), RF (Riboflavin) und FMN (Flavin Mononukleotid). Ein spezifisches Isomer wird durch die Form $H^+FL@XY$ gekennzeichnet, wobei das X dem protonierten Element (Atom) innerhalb des Flavins entspricht (O oder N) und Y dessen Positionierungsnummer (Abbildung II.1.1c.). Gegensätzlich zum N Atom kann ein Proton an einem O Atom, bedingt durch dessen zwei freie Elektronenpaare, an zwei Positionen anheften. Ein + oder – am Ende der Nomenklatur definiert somit die Bindungsrichtung in Bezug zum N3–Atom. Zeigt die Bindung in Richtung N3 wird sie mit OY- bezeichnet, zeigt sie davon weg mit OY+.
Da bei den Flavinen prinzipiell die Möglichkeit der Lactam-Lactim Tautomerisierung besteht, muss dies auch in der Notation berücksichtigt werden. Das Lactim Tautomer ist durch die Migration des Protons der N3 Stelle zu einer der C=O Gruppen charakterisiert. Hierdurch können sich bei der Protonierung des Flavins zwei Funktionale O-H Gruppen bilden (O2-H und O4-H), die jeweils unterschiedlich ausgerichtet sein können. Die Einführung eines zusätzlichen richtungsweisenden + bzw. - in der Form $H^+FL@OHxx$ mit (x = + oder -) löst dieses Problem. Hier steht das erste „+/-“ für die Ausrichtung der O2-H und das zweite für die der O4-H. Die Richtungsangabe erfolgt hier wieder in Bezug auf das N3 Atom nach dem gleichen Prinzip wie oben.
Bei der Suche nach möglichen stabilen Protonierungsstellen wird ausgehend vom neutralen Flavin so vorgegangen, dass bei fester gegebener Struktur des Flavins mögliche Positionen manuell gesetzt werden. Anschließend wird eine Strukturoptimierung durchgeführt.
Das Vorhandensein von am Chromophor gebundenen Methylgruppen kann zu verschiedenen, energetisch niedrig liegenden Konformeren führen, die durch eine Rotationsbarriere voneinander getrennt sind. Hierdurch erhöht sich nochmals die Anzahl möglicher Isomere. Um dieser Vermutung nachzugehen, wird die C8-CH_3 Gruppe schrittweise um 120° gegenüber der C7 Methylgruppe gedreht und dabei jeweils die Energie berechnet. Da sich die beiden Methylgruppen an C8 und C7 gegenseitig beeinflussen, existiert nur ein stabiles Konformer, und zwar jenes, bei dem sich jeweils zwei Protonen der Methylgruppen in annähernd gleichem Abstand gegenüberstehen. Dieser Zustand wiederholt sich aufgrund der Symmetrie bei Rotation um jeweils 120°, mit einer Potentialbarriere von 56 kJ/mol. Die für alle H^+FL

stabilste Ausrichtung der C7 und C8 Methylgruppe ist äquivalent zu denen der neutralen FL (Abbildung II.1.1).

Eine weitere Möglichkeit, durch Rotation von Methylgruppen die Vielfalt der Isomere zu erhöhen ist bei LF zusätzlich an der Position N10 gegeben. Die gleiche Vorgehensweise wie zuvor liefert eine Barriere von 60 kJ/mol bei der Rotation. Die berechneten stabilsten Isomere sind in Abbildung II.3.4 dargestellt. Da keine weiteren Rotamere für das LF zu finden sind, werden diese bei der Suche der Protonierungsstellen nicht berücksichtigt.

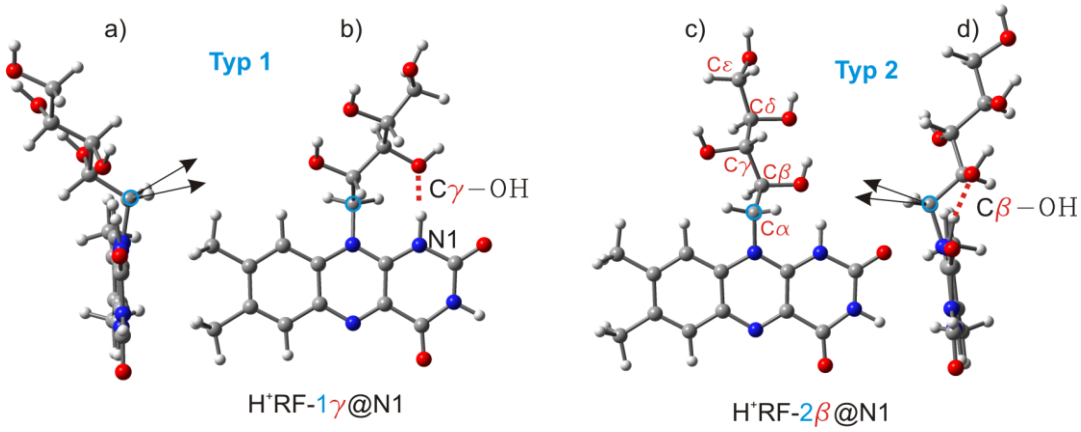

Abbildung II.3.2. Veranschaulichung der durch die Seitenkette bedingten komplexen Nomenklatur von RF und FMN am Beispiel von H^+RF-1γ@N1 und H^+RF-2β@N1. Erfolgt die Ausrichtung der Seitenkette, wie hier demonstriert, nach links und die der H-Atome des Cα Atoms nach rechts (a), so handelt es sich um ein Konformer vom Typ 1 (blau), ist das Gegenteil der Fall, vom Typ 2 (c und d). Der griechische Buchstabe des Kohlenstoffatoms der Seitenkette, dessen O-Atom eine zusätzliche Bindung mit dem H^+ eingeht, findet sich ebenfalls in der Nomenklatur wieder (rot). Die Bindung selbst ist dabei durch die gepunktete rote Linie markiert (b und d).

Bei den größeren Flavinen RF und FMN steigt die Anzahl stabiler, energetisch niedriger Rotamere bedingt durch die Rotation einzelner Bindungen innerhalb der Ribityl- bzw. Ribophosphatketten drastisch an. Ein erster Schritt zu deren Klassifizierung erfolgt über die Orientierung der direkt mit dem Chromophor verbundene Methylengruppe (CαH$_2$) der Ribitylkette. Diese bildet intramolekulare H-Bindungen zum Pyrimidinring, aber auch innerhalb der Seitenkette aus. Abhängig von dessen Orientierung lassen sich zwei verschiedene Konformere identifizieren. Beim Typ 1 liegen die beiden H-Atome oberhalb der Ebene des Ringsystems, wie in Abbildung II.3.2 dargestellt, während sich der Ribitylrest darunter befindet. Beim Typ 2 Konformer verhält es sich umgekehrt. In beiden Konformeren kann der Rest der Ribityl- bzw. Ribophosphatkette jedoch verschiedene Orientierungen annehmen. Diese

werden durch einzelne oder vielfache H-Bindungen innerhalb der Kette, oder mit dem Chromophor mittels Cβ–OH, Cγ–OH, Cδ–OH, Cε–OH, P=O und P–O Gruppen stabilisiert. Die Bildung einer H-Bindung zwischen einer OH-Gruppe der Seitenkette und dem Pyrimidinring fließt in die verwendete Nomenklatur mit Hilfe des griechischen Buchstabens der bindenden Ribitylgruppe ein. Ist hingegen eine P–OH bzw. P=OH Gruppe in der H-Bindung involviert, wird hierfür ein P bzw. PO verwendet.
Um die Isomere zu identifizieren, die in den experimentellen auf die Laserleistung normierten, nicht linearen IRMPD Spektren auftauchen, wird ein Vergleich dieser mit den berechneten linearen IR Spektren vorgenommen. Die hierbei auftretenden Probleme sind bereits ausführlich in Kapitel II.2.1 beschrieben.

3.1 Protoniertes Lumichrom

Der erste hier untersuchte Vertreter der Flavinfamilie ist das protonierte Lumichrom (H^+LC), das bei einer Masse von m/z 243 durch IRMPD in drei Fragmentionen mit m/z 200, 198 und 172 zerfällt. Diese Massen entsprechen dabei formal dem Verlust von OCNH, CO+NH_3 bzw. HCN+H_2O. die spektrale Abnahme (engl. *depletion spectrum)* des H^+LC stimmt mit den Spektren aller auftauchenden Fragmentionen gut überein. Dies lässt darauf schließen, dass nach IR Laserbeschuss parallel mehrere Fragmentationskanäle geöffnet werden und die kleineren Fragmente nicht sequentiell aus den größeren entstehen (Abbildung B.1 im Anhang). Das resultierende IRMPD Spektrum (Abbildung II.3.3 a.)) zeigt intensive IR Banden bei 1810 (A), 1745 (B), 1520 (D) und 1320 cm^{-1} (F) und weniger Intensive bei 1610 (C), 1450 (E) 1320 (G) und 1260 cm^{-1} (H). Zwei sehr schwache Signale lassen sich noch bei 880 (J) und 740 cm^{-1} (K) beobachten.
Für eine eindeutige Zuordnung werden alle möglichen prototropischen H^+LC Isomere berechnet, wobei mit den grundlegendsten Bindungsstellen am Ringsystem des Isoalloxazins begonnen wird. Bis zu einer Energie von 72 kJ/mol, oberhalb des stabilsten Isomers, werden inklusive der Lactim-Tautomere, sieben verschiedene Isomere gefunden (Abbildung II.3.3 rechts). Die Bindungsstelle des Protons an der N5-Position (H^+LC@N5) stellt sich hierbei als besonders bevorzugt heraus. Energetisch um 21,2 kJ/mol höher liegt H^+LC@O4+ gefolgt vom H^+LC@N10 (29,9 kJ/mol).

Um die H^+LC Isomere aus dem Experiment zu identifizieren, werden für alle gefundenen Isomere die berechneten linearen IR Spektren mit dem experimentellen IRMPD Spektrum verglichen (Abbildung II.3.). Das berechnete Spektrum des energetisch niedrigsten Isomers $H^+LC@N5$ spiegelt alle drei im experimentellen Spektrum auftretenden Vibrationsbanden in Position und deren relativer IR Intensität wider. Beim Spektrum des energetisch nächstgelegenen $H^+LC@O4+$ Isomers werden nur noch die Banden D, F, G und K des IRMPD Spektrums gut wiedergegeben. Banden A und E sind ins Blaue verschoben und B fehlt völlig. Auch treten hier einige Banden auf, vor allem im Bereich zwischen 600 und 800 cm^{-1}, die experimentell nicht beobachtet werden.

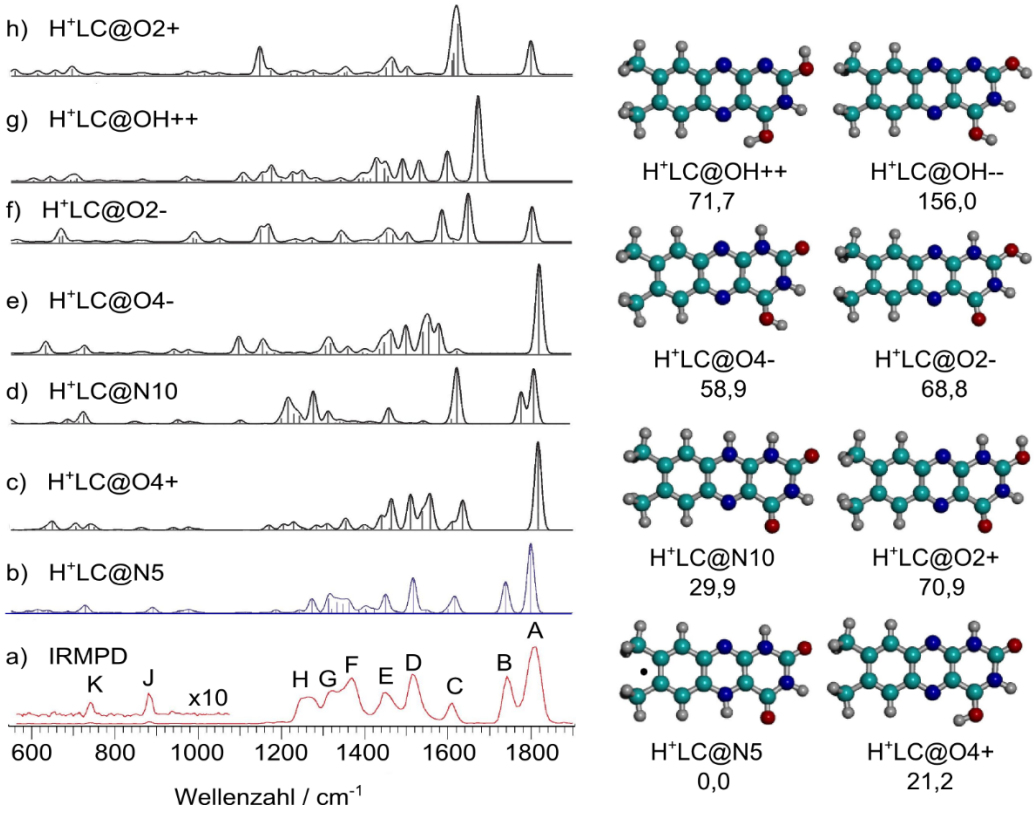

Abbildung II.3.3. links). IRMPD Spektrum von H^+LC (a) verglichen mit berechneten linearen IR Spektren für die sieben stabilsten Isomere (B3LYP/cc-pVDZ). Die linearen IR Spektren sind dabei energetisch von b nach h geordnet, wobei $H^+LC@N5$ (b) das stabilste Isomer ist. **rechts)** Die H^+LC Strukturen, und deren im Vergleich zum stabilsten Isomer angegebenen relativen Gibbs-Energien. Die berechneten Strichspektren sind mit einem Skalierungsfaktor von 0,965 skaliert und mit einer Gaußfunktion mit Halbwertbreite von 20 cm^{-1} gefaltet.

Auch das Spektrum des energetisch nächst höheren Isomers $H^+LC@N10$ stimmt nur noch sehr wenig mit dem IRMPD Spektrum überein. Der gleiche Trend setzt sich mit steigender Energie fort. Die überaus gute Übereinstimmung des IR Spekt-

rums des stabilsten H^+LC@N5 Isomers mit dem IRMPD Spektrum ist daher ein zusätzlicher Indikator, dass das gemessene Spektrum hauptsächlich von H^+LC@N5 stammt.

Durch die DFT-Rechnungen ist eine genaue Analyse der Vibrationen möglich. So ergeben diese, dass die Bande A der C2=O Streckschwingung ($\nu_{C2=O}$) zuzuordnen ist und B entsprechend $\nu_{C4=O}$ widerspiegelt. Beide Schwingungen sind relativ stark entkoppelt und zeigen außerdem verschiedene IR Intensitäten, wobei diese bei der C2=O Schwingung annähernd doppelt so stark ausfällt wie die der C4=O Bindung. Die Größe der Aufspaltung dieser beiden Schwingungen im experimentellen Spektrum beträgt $\Delta\nu_{C=O,exp}$ = 65 cm^{-1} und im berechneten Spektrum $\Delta\nu_{C=O,DFT}$ = 61 cm^{-1} Vergleicht man diese Aufspaltung mit dem des H^+LC@N10 Isomers ($\Delta\nu_{C=O,DFT}$ = 30 cm^{-1}) erkennt man einen großen Einfluss der Protonierungsstelle auf die Verschiebung der C4=O Streckfrequenzen $\Delta\nu_{C4=O}$. Eine detaillierte Zuordnung aller beobachteten Vibrationsmoden findet sich in Tabelle B-1 im Anhang.

3.2 Protoniertes Lumiflavin

Der zweite und etwas komplexere Vertreter der Flavinfamilie, der hier im protonierten Zustand vermessen wird, ist H^+LF mit m/z 257. Durch IRMPD entstehen fünf nachweisbare Fragmentionen mit m/z 214, 186, 171, 159 und 149. Das Fragment mit m/z 214 zeigt dabei selbst Intensitätsabnahmen in gewissen Bereichen (z. B. bei 1580 oder 1220 cm^{-1}), die wiederum durch IRMPD entstehen (Abbildung B.2 im Anhang). Das Mutterion dissoziiert in ein großes Fragmention, welches noch im gleichen Messzyklus durch zusätzliche vielfache IR Photonenabsorptionen weiter fragmentiert. Der Fragmentkanal m/z 214 entspricht formal dem Verlust von OCNH (oder CO+CH_3). Alle weiteren Fragmente resultieren aus einer nachfolgenden Ringfragmentierung und der sich daraus ergebenden Abspaltung von CO (m/z 186), OCNH/CO+CH_3 (m/z 172), CO+HCN (m/z 159) und CO+CH_3CN (m/z 145).

Das resultierende IRMPD Spektrum von H^+LF unterscheidet sich von dem des H^+LC in vielerlei Hinsicht (Abbildung II.3.4. a). Die intensivsten Banden sind hier bei 1580 (C) und 1540 cm^{-1} (D) zu finden, weniger starke lassen sich bei 1790 (B), 1490, 1340, 1230 und 1160 cm^{-1} (E–H) ausmachen und schwache Übergänge finden sich bei 1060 (J) bzw. 840 cm^{-1} (K).

Unter Einbezug der Eigenschaften von H^+LC aus der in Kapitel II.3.1 vorangegangenen Analyse können für H^+LF acht verschiedene Isomere bis zu einer Energie

von 63 kJ/mol identifiziert werden (Abbildung II.3.4.). Dabei verändert sich im Vergleich zum H^+LC die energetische Reihenfolge der Isomere bedingt durch die Methylgruppe an der N10 Position. Wie bereits in vorausgegangen Studien beschrieben, wird auch hier H^+LF@O2+ als das in der Gasphase stabilste Isomer identifiziert.[155]

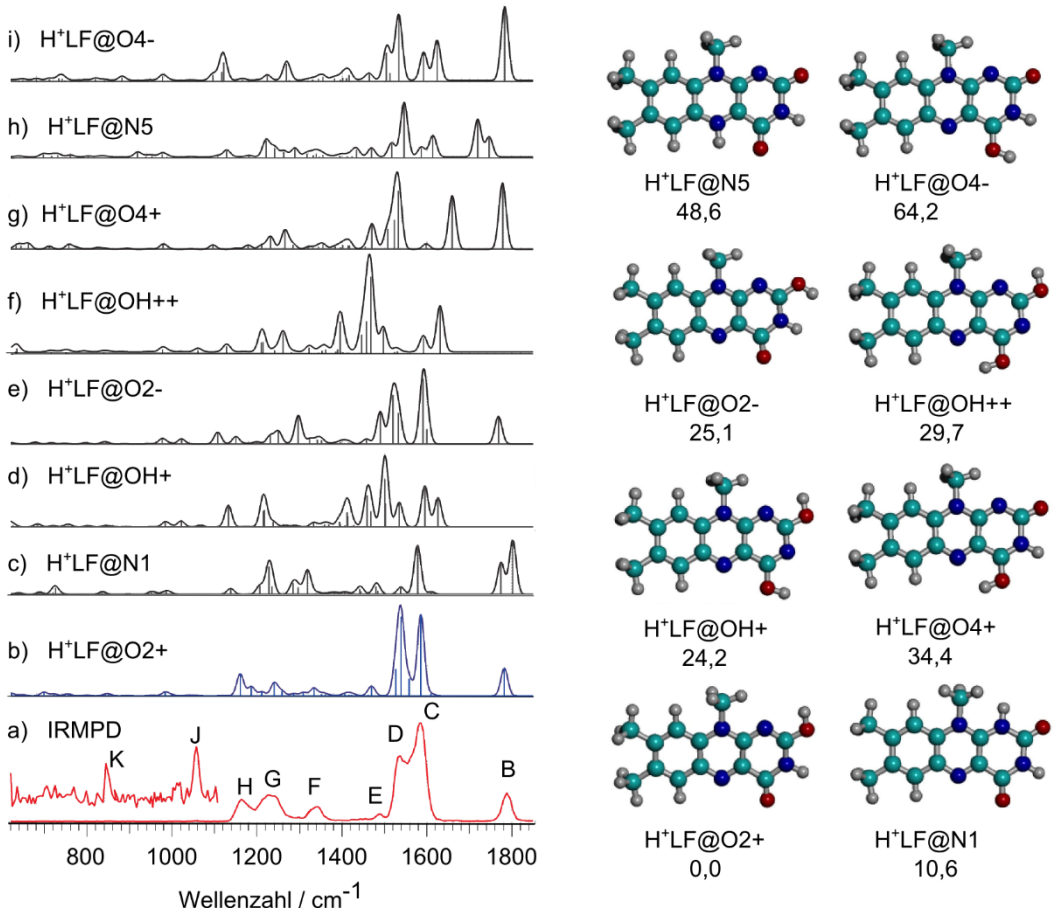

Abbildung II.3.4. **links)** IRMPD Spektrum von H^+LF a) verglichen mit den berechneten linearen IR Spektren (B3LYP/cc-pVDZ) für die acht gefundenen stabilsten Isomere. Die linearen IR Spektren sind dabei energetisch von b) bis i) geordnet, wobei H^+LF@O2+(b) das stabilste Isomer ist. **rechts)** Die H^+LF Strukturen und deren, im Vergleich zum stabilsten Isomer angegeben, relativen Gibbs-Energien in kJ/mol. Die theoretisch ermittelten Strichspektren werden mit einem Skalierungsfaktor von 0,965 skaliert und mit einer Gaußfunktion mit Halbwertbreite von 20 cm^{-1} gefaltet.

Das H^+LF@N1 Isomer folgt diesem energetisch mit ΔG = 10,6 kJ/mol. Bei noch höheren Energien (> 20 kJ/mol) werden in aufsteigender Reihenfolge das Lactim-Tautomer H^+LF@OH+, das zweite O2- protonierte Tautomer H^+LF@O2-, ein weiteres Lactim-Tautomer H^+LF@OH++ und H^+LF@O4+ gefunden. Im Vergleich zu H^+LC ist hier das N5 protonierte Isomer mit ΔG = 48,6 kJ/mol relativ instabil.

Der Vergleich der linearen IR Spektren für die verschiedenen H^+LF Isomere mit dem IRMPD Spektrum (Abbildung II.3.4.) zeigt klar, dass nur das energetisch niedrigste Isomer experimentell verifiziert werden kann, denn alle im Experiment beobachteten Vibrationsbanden werden durch die Berechnungen nur für dieses Isomer reproduziert. Der stärkste Hinweis für das alleinige Vorhandensein von H^+LF@O2+ im Experiment ist das Auftreten nur einer der ursprünglichen zwei C=O Streckschwingungen ($\nu_{C=O}$). Dessen geringe Intensität legt die Vermutung nahe, dass es sich hierbei um die $\nu_{C4=O}$ handelt (Bande B). Die von der C2=O Schwingung erwartete Bande im Spektrum wird durch das Anlagern des Protons so stark rotverschoben, dass sie in dem aufgenommenen Spektralbereich nicht mehr beobachtet werden kann. Gleichzeitig führt die Protonierung zu einer deutlichen Erhöhung der IRMPD Intensität der Banden C und D. Diese repräsentieren Ringschwingungen, hautsächlich die N1-C2 bzw. N1-C10a Streckschwingungen, welche mit der Biegeschwingung der C2=O-H Bindung gekoppelt sind. Es fällt auch auf, dass im Experiment das Verhältnis der Bandenintensitäten C und D gegensätzlich zu dem der Rechnung ist. Alle diese Charakteristiken sprechen dafür, dass nur das O2+ Tautomer im Experiment nachgewiesen wird.

Dieser Befund verwundert, da in einer früheren experimentellen Studie in saurer Lösung die Protonierung von LF an der N1 Stelle identifiziert wurde.[162] Auch die Kristallstrukturanalyse von 10-Methylisoalloxazin-Hydrobromid-Dihydrat weist auf die Bindung eines Protons an N1 hin.[198] Diese experimentellen Daten werden unterstützt durch „self-consistent reaction field“ Berechnungen nach dem Onsager Modell,[e] welches von Meyer *et al.* vorgeschlagen wurde.[155] Um den Effekt von Wasser auf die Stabilität des O2+ bzw. N1-protonierten Tautomers nachzuahmen, verwendeten die Autoren ein polares Medium mit einer Permittivität von ϵ = 80. Unter diesen Umständen wurde die N1-Protonierung erheblich stabiler als die Protonierung an der O2+Position, was darauf hindeutet, dass die bevorzugte Protonierung in wässriger Lösung von der O2+ zur N1-Position wechselt.

Bevor die Ionen protoniert in der Gasphase vorliegen, werden die Flavine in einer leicht sauren Mixtur aus Wasser, Methanol und Methansäure gelöst. Durch ESI werden die gewünschten Komplexe generiert und schließlich ins Vakuum überführt (Kapitel II.2.3). Durch die nun fehlenden Lösungsmittelmoleküle, welche das H^+LF@N1 Isomer in der Lösung stabilisieren könnte, kann es durch den ESI Prozess zu einer Umlagerung des Protons innerhalb des Komplexes, hin zum

[e] mit Hilfe dieser Methode wird die Interaktion eines Moleküls mit einem polarisierbaren Lösungsmittel modelliert.

H^+LF@O2+ kommen. Dies kann wiederum als Erklärung hergenommen werden, warum nur das energetisch niedrigste Isomer gefunden werden kann.
Eine Zuordnung der Banden des IRMPD Spektrums zu den Schwingungen des energetisch favorisierten H^+LF@O2+ Isomers findet sich in Tabelle B-2 im Anhang.

3.3 Protoniertes Riboflavin

Das protonierte Riboflavin H^+RF mit m/z 377 ist mit seiner flexiblen Seitenkette weitaus komplexer, als die bisher untersuchten Ionen H^+LC und H^+LF. Durch IRMPD werden Fragmente mit m/z 243, 198 und 172 beobachtet. Das intensivste Fragmentsignal (30 % des Gesamtsignals) entspricht hierbei H^+LC (m/z 243) was durch die Abspaltung von C5H10O4, also der Ribitylgruppe abzüglich eines H-Atoms entsteht. Die beiden anderen Fragmentationskanäle fallen verhältnismäßig schwach aus und auch deren IRMPD Spektren unterscheiden sich von dem des Hauptfragmentes. Die beiden Fragmente m/z 198 und 172 sind zudem IRMPD Produkte von H^+LC (Kapitel II.3.1). Dies wiederum legt die Vermutung nahe, dass sie in diesem Fall durch sequentielle Fragmentation von H^+RF in H^+LC und anschließender weiterer Fragmentation entstehen und kein direktes Produkt der Fragmentation von H^+RF sind. Untermauert wird diese Vermutung dadurch, dass die Bande (I) bei 1050 cm^{-1} im IRMPD Spektrum nur auf das Tochtersignal des Fragmentes m/z 243 zurückzuführen ist (Abbildung B.3 und B.4. im Anhang). Diese Bande wird mit Hilfe von Berechnungen als Kombinationsschwingung der Seitenkette (Cβ–Cγ-Streck, Cγ–OH-Biegeschwingung) identifiziert, welche bei H^+LC nicht auftaucht. Das IRMPD Spektrum von H^+RF zeigt die intensivsten Übergänge bei 1795 (A), 1770 (B) und bei 1600 cm^{-1} (C). Weitere starke Peaks sind bei 1330, 1260, 1220 und 1160 cm^{-1} (E-H) auszumachen. Schwache Banden treten zusätzlich bei 1500 (D), 1050 (I), 850 (J) und 750 cm^{-1} (K) auf (Abbildung II.3.5.).
Auf der Suche nach der Identifikation der im Experiment beobachteten Strukturen wird auf die Erfahrungen aus der Analyse von H^+LF zurückgegriffen. Initial werden daher Berechnungen für H^+RF Isomere mit Protonierung an O2 und N1 durchgeführt, wobei zusätzlich verschiedene energetisch niedrige Ribityl-Konformationen mitberücksichtigt werden (Abbildung II.3.5.) Für N1-Protonierung werden vier Konformere vom Typ 1 und drei vom Typ 2 gefunden (Kapitel II.3 Notation). Diese besitzen Energien unterhalb ΔG = 32 kJ/mol. Die verschiedenen Kettenformationen

ermöglichen die Ausbildung von H-Bindungen (Wasserstoffbrücken) verschiedener Ribityl–OH Gruppen mit dem N1 Proton.

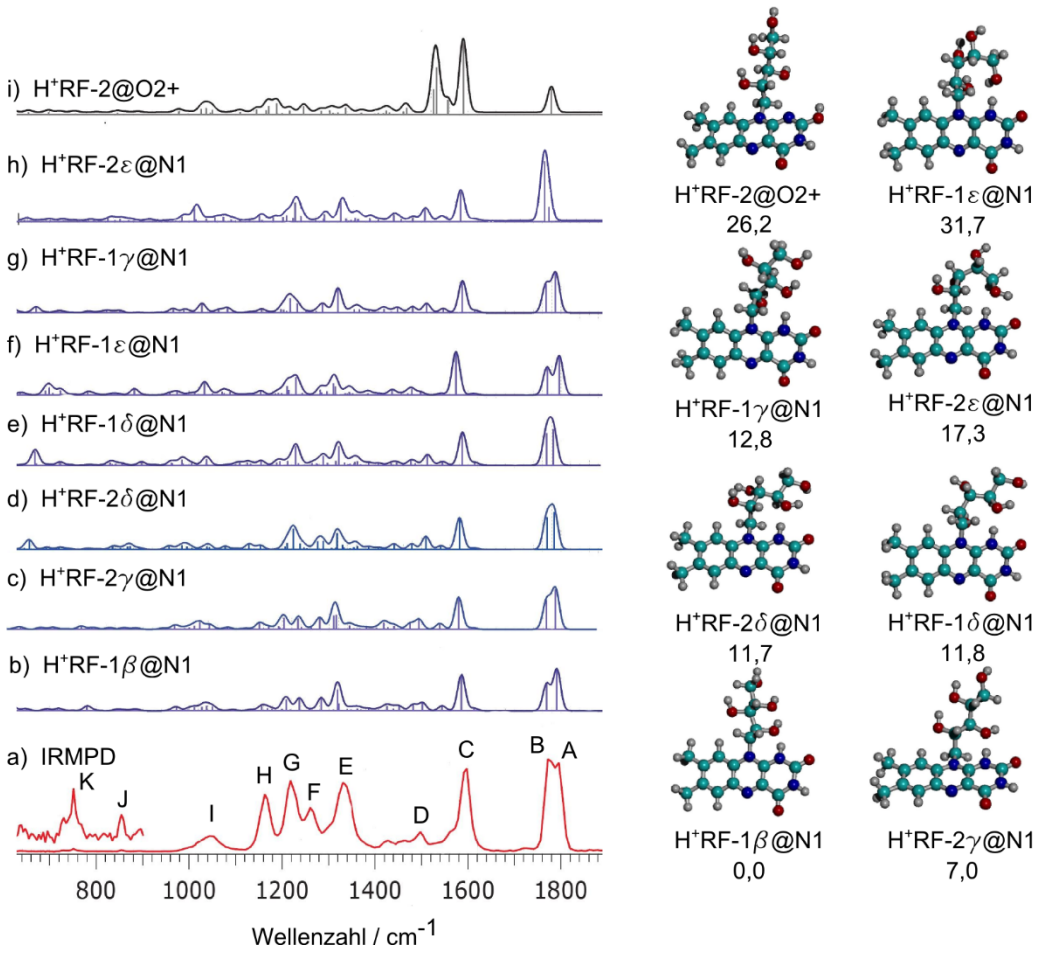

Abbildung II.3.5. links) IRMPD Spektrum von H⁺RF (a) verglichen mit berechneten linearen IR Spektren von acht rechnerisch gefundenen stabilen Isomeren (b-i). Die linearen IR Spektren sind dabei energetisch von b nach i geordnet, wobei H⁺RF-1β@N1 das stabilste Isomer ist (b). **rechts)** Die H⁺RF Strukturen und deren, im Vergleich zum stabilsten Isomer angegebenen, relativen Gibbs-Energien in kJ/mol. Die theoretisch ermittelten Strichspektren sind mit einem Skalierungsfaktor von 0,965 skaliert und mit einer Gaußfunktion mit Halbwertbreite von 20 cm^{-1} gefaltet.

Das energetisch stabilste Isomer ist H⁺RF-1β@N1. Die intramolekulare Wasserstoffbrücke erfolgt hier zwischen N1-H und dem Sauerstoff der Cβ–O(H) Gruppe. Durch Drehung der gesamten Seitenkette um die N10-Cα-Achse um 180° gelangt man zum energetisch um 7,0 kJ/mol nächst höher gelegenen Isomer H⁺RF-2γ@N1. Die stabilisierende Wasserstoffbrücke wird hier jedoch zwischen N1-H und Cγ–O(H) gebildet. Das hierzu korrespondierende Isomer vom Typ 1 H⁺RF-1γ@N1 liegt energetisch um 5,8 kJ/mol höher. Die beiden nächsten in der Energiereihenfolge gefundenen Konformere H⁺RF-1δ@N1 und H⁺RF-2δ@N1 sind N1 protonierte

Isomere vom Typ 1 und 2. Zwischen diesen beiden Konformationen liegt ein Energieunterschied von nur 0,1 kJ/mol. Beim fünften gefundenen Konformer H^+RF-2ϵ@N1 vom Typ 2 bindet, wie durch die Notation bereits dargelegt, N1-H über eine Wasserstoffbrücke mit dem Sauerstoff von Cε−O(H). Das energetisch niedrigste Isomer H^+RF-2@O2+ mit O2 als Protonierungsstelle besitzt eine Energie von ΔG = 25,1 kJ/mol und bildet keine H-Brücke mit dem Chromophor aus. Obwohl einzelne N1 protonierte Konformere energetisch sehr nahe beieinanderliegen, werden sie durch recht starke interne Rotationsbarrieren voneinander getrennt. Diese Barrieren haben ihren Ursprung im Aufbrechen bestehender Wasserstoffbrücken und liegen energetisch in der Größenordnung von 100 kJ/mol. Die berechnete Barriere zwischen H^+RF-1β@N1 und H^+RF-2δ@N1 von 103 kJ/mol untermauert diese Aussage. Durch diese großen Barrieren ist eine intramolekulare Umwandlung dieser Isomere bei Raumtemperatur nicht möglich. In der Lösung kann die Solvatisierung jedoch zu einer möglichen Absenkung der relativen Energien sowie der Isomerisierungsbarrieren führen, was intramolekulare Umwandlungen wahrscheinlicher macht.

Wie auch schon bei H^+LC und H^+LF, werden die berechneten IR Spektren für H^+RF mit den hierfür experimentell erworbenen IRMPD Spektren verglichen (Abbildung II.3.5). Alle hier aufgezeigten N1 protonierten Isomere liefern sehr ähnliche Spektren, jedoch unterscheiden sich diese deutlich vom O2+ protonierten Isomer. Im Allgemeinen stimmen alle Spektren der berechneten N1 Isomere mit dem gemessenen IRMPD Spektrum überein. In letzterem sind deutlich zwei als C=O Streckschwingungen identifizierte Banden (A und B) mit annähernd gleicher Intensität auszumachen. Durch die Erfahrungen mit H^+LC und H^+LF kann hierdurch der Nachweis des O2+ Isomers im Experiment nicht erbracht werden, da sonst nur eine der beiden Banden auftreten würde. Die Auflösung des experimentellen Spektrums lässt leider keine genaue Aussage über den Abstand der beiden C=O Streckschwingungen und anderer Linien zu. Dies wäre für eine eindeutige Zuordnung der verschiedenen N1-Konformere notwendig, die sich nur leicht in den Intensitäten und Bandenabständen voneinander unterscheiden. Die Isomere, deren berechnete lineare IR Spektren am besten mit dem IRMPD Spektrum übereinstimmen, sind die beiden energetisch niedrigsten H^+RF-1β@N1 und H^+RF-2γ@N1. Andere Konformationen befinden sich unterhalb der Auflösungsgrenze. Auch wenn die thermische Energie bei Raumtemperatur nicht ausreichend ist, um die Isomere ineinander zu überführen, so kann doch der ESI-Prozess zur Erklärung auch höherenergetischer Konformere herangezogen werden. Denn in der ESI-Quelle liegen die Ionen zunächst gelöst und unter dem Einfluss extremer elektrischer Felder und hoher La-

dungsdichten vor, was zum Absenken gewisser Energien und Barrieren führen könnte. Liegen die Ionen während dieser Bedingungen in einer energetisch höheren Konformation vor, so können die hohen Barrieren eine nachträgliche Umwandlung in ein energetisch günstigeres Konformer während des ESI-Prozesses unwahrscheinlicher machen. Eine Liste aller Bandenpositionen des IRMPD Spektrums von H^+RF und deren Schwingungszuordnung zu H^+RF-1β@N1 lässt sich in Tabelle B-4 finden.

3.4 Protoniertes Flavinmononukleotid

Die nächst höhere und auch letzte Stufe in der Komplexität der hier untersuchten protonierten Flavine bildet das H^+FMN mit m/z 457. Durch IRMPD erfolgt eine komplexe Fragmentation der Seitenkette, wohingegen die Dissoziation des Chromophors nicht beobachtet wird. Die Hauptfragmente m/z 421, 359 und 341 entsprechen dem formalen Verlust von zwei H_2O Molekülen, H_3PO_4 (Phosphorsäure) und H_2O+H_3PO_4. Der Verlust von H_2O und H_3PO_4 wurde bereits in einer anderen Studie durch kollisionsinduzierte Dissoziation nachgewiesen, wohingegen die Fragmentierung in H^+LC hier nur bei einer Anregungswellenlänge von 435 nm durch VISPD auftauchte.[164] Dies lässt die Vermutung zu, dass die Dissoziationsdynamiken im elektronischen Grundzustand nach dem Energieeintrag durch Kollision ähnlich verläuft wie bei der IRMPD.

Das in Abbildung II.3.6.a dargestellte IRMPD Spektrum zeigt intensive Banden mit Maxima bei 1780 (A/B), 1590 (C), 1540 (D), 1260 (F) und 1220 cm^{-1} (G) und etwas weniger intensive Strukturen bei 1340 (E), 1160 (I), 1020 (J) und 930 cm^{-1} (K). Wie auch schon zuvor führen die Ergebnisse aus den weniger komplexen Flavinstrukturen zur Vorauswahl gewisser Bindungsstellen. In diesem Fall werden die Möglichkeiten auf die Protonierungsstellen N1 und O2 beschränkt. Denn durch die zusätzliche Phosphatgruppe erhöht sich die Anzahl möglicher energetisch niedriger Konformere erheblich. Tatsächlich können für diese beiden Protonierungsstellen bereits 12 verschiedene Konformere bis zu einer Energie von $\Delta G = 25$ kJ/mol gefunden werden. Fünf davon bilden Isomere mit Protonierung an N1 und sieben an O2 wobei nur drei vom Konformer Typ 1 sind (Kapitel II.3 Notation).

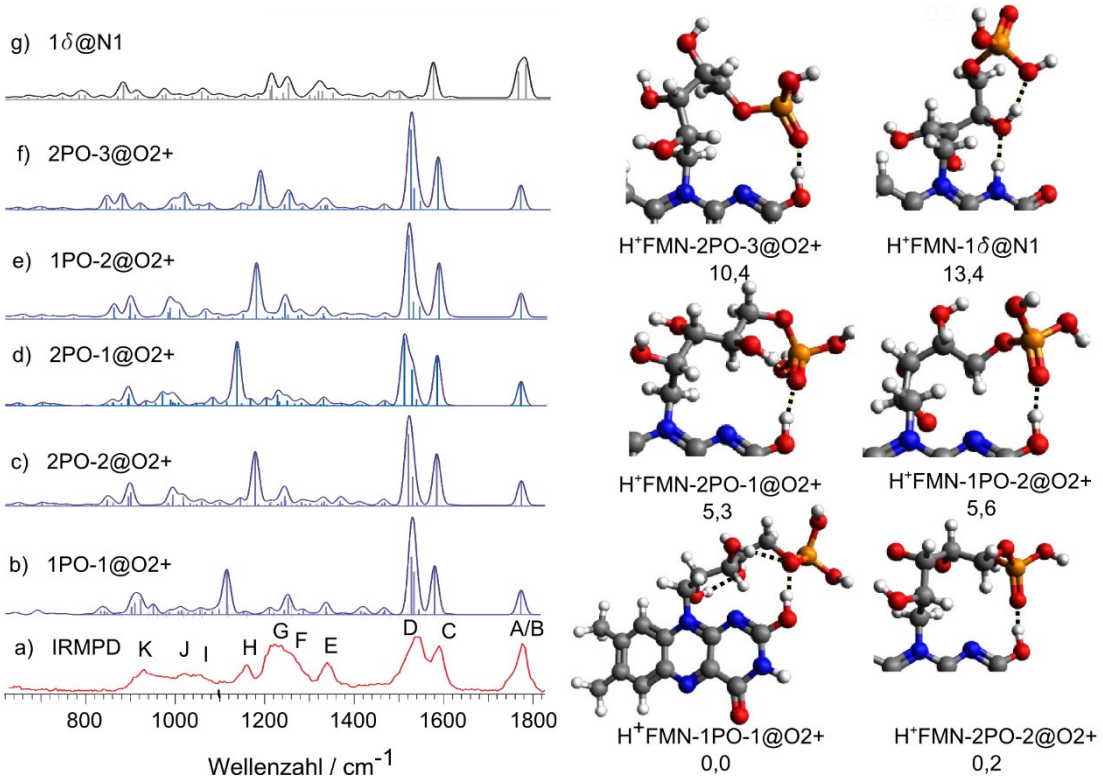

Abbildung II.3.6. links) zeigt das gemessene IRMPD Spektrum von H^+FMN (a) verglichen mit den berechneten linearen IR Spektren für sechs gefundene stabile Isomere (b-g). Die theoretischen Spektren sind dabei energetisch von b nach g geordnet, wobei H^+FMN 1PO-1@O2+ das stabilste Isomer ist (b). Die errechneten Strichspektren werden mit einem Skalierungsfaktor von 0,965 skaliert und mit einer Gaußfunktion mit Halbwertsbreite von 20 cm^{-1} gefaltet. **rechts.)** Die H^+FMN Strukturen und der relativen Gibbs-Energien sind in kJ/mol.

Das hier gefundene Isomer mit der niedrigsten Energie ist das an der O2 Stelle protonierte H^+FMN-1PO-1@O2+, welches durch drei Wasserstoffbrücken stabilisiert wird. Die P=O Gruppe der Seitenkette bindet hier als H-Akzeptor simultan an die O2-H und Cγ−OH Gruppen. Gleichzeitig wird eine dritte H-Brücke durch die OH-Gruppen von Cβ und Cδ geformt. Auch die nächsten vier energetisch höheren H^+FMN Isomere sind O2+ protoniert, bei denen zusätzliche H-Bindungen zwischen dem Sauerstoff der Phosphatgruppe und dem O2-H-Proton gebildet werden (P=O···H). Das energetisch nächstgelegene Isomer ist das H^+FMN-2PO-2@O2+ vom Typ 2. Hier liegt die P=O Gruppe in der molekularen Ebene der aromatischen Ringe und interagiert mit dem Proton des O2-Atoms, wodurch die Kette und somit die gesamte Struktur stabilisiert wird. Diese Anordnung liegt nur 0,2 kJ/mol oberhalb des stabilsten Isomers. Da sich solch eine geringe Energiedifferenz innerhalb der Fehlergrenzen der Berechnungen befindet,[199] ist eine genaue Bestimmung der energetische Reihenfolge nicht mit Sicherheit durchführbar.

Bei einer relativen Energie von 5,2 kJ/mol liegt das H^+FMN-2PO-1@O2+ Isomer. Die geringere Bindungsenergie könnte in diesem Fall durch das Fehlen der CβOH···OCγ, sowie weiterer stabilisierender H-Bindungen innerhalb der Seitenkette erklärt werden, die bei Typ 2 Konformeren nicht so stark ausgeprägt sind. Energetisch unwesentlich höher (0,3 kJ/mol) findet sich das 1PO-2@O2+ Isomer. Vermutlich liegt die leicht höhere Energie an der fehlenden CδOH···PO Wasserstoffbrücke im Vergleich zur zuvor genannten Struktur. Das energetisch nächst höhere gefundene Isomer ist 2PO-3@O2+ mit einer Energie von ΔG = 10,4 kJ/mol. Hier richtet sich der Sauerstoff des Cε-O-P-Abschnittes in Richtung des Chromophors aus. Die Energiedifferenz zum energetisch nächst tieferen Konformerpaar ist hier 5 kJ/mol, was in etwa dem gleichen Wert entspricht, der auch zwischen den beiden energetisch niedrigsten und den beiden nächst höheren Isomeren vorkommt.

Das stabilste N1-protonierte Isomer ist 1δ@N1. Es liegt mit 13,4 kJ/mol oberhalb der stabilsten H^+FMN-Struktur. In dieser Anordnung interagiert die OH-Gruppe am Cδ mit dem N1 Proton mit zusätzlich stabilisierender H-Bindung zu einer P-OH Gruppe. Das zweitstabilste Isomer mit N1-Protonierung ist 2δ@N1 mit einer Energie von ΔG = 18,6 kJ/mol. Dieses ist durch eine CδO(H)···HN1 und eine C2=O···H-O-P Bindung charakterisiert. Alle gefundenen Isomere sind in Abbildung B.5 und die dazugehörigen H-Bindungslängen der einzelnen Konformere in Tabelle B-5 im Anhang dargestellt.

In Abbildung II.3.6. wird der Vergleich der aus den Rechnungen stammenden linearen IR Spektren mit dem experimentell gewonnenen IRMPD Spektrum durchgeführt. Der Übersicht halber erfolgt dieser nur mit den fünf stabilsten O2+ und dem stabilsten N1-Isomer. Eine gute Übereinstimmung der gerechneten Spektren mit dem IRMPD Spektrum ergibt sich für alle fünf O2+ Isomere im Bereich zwischen 1500 und 1850 cm^{-1}, mit Ausnahme der eindeutig sichtbaren Schulter bei 1750 cm^{-1} (A/B). Bei O2+ Isomeren fehlt, den Berechnungen zu folge, die C2=O Schwingung komplett, während die C4=O Schwingung an deren Stelle (1770 cm^{-1}) erscheint. Die zu beobachtende Schulter deutet darauf hin, dass nicht nur Isomere mit O2+Protonierung vermessen werden, sondern auch Beiträge möglicher anderer Isomere. Um weiter ins Detail zu gehen, werden die Spektren der fünf stabilsten Isomere genauer mit dem IRMPD Spektrum verglichen. Dieses stimmt akzeptabel mit dem des stabilsten gefundenen Isomers 1-PO-1@O2+ überein, bis auf eine Abweichung von -40 cm^{-1} zwischen dem berechneten und dem an der Stelle bei 1160 cm^{-1} (H) gemessenen Peak. Diese Bande entspricht der P=O Streckschwingung, welche empfindlich auf Strukturänderungen und H-Bindungen reagiert. Hierdurch kann diese als Marker für gewisse Konformationen der Seitenketten genutzt

werden. Beim energetisch ähnlichen Isomer 2-PO-2@O2+ schiebt diese P=O Streckschwingung auf 1175 cm^{-1}, wodurch sie gegenüber der entsprechenden IRMPD Bande H um 15 cm^{-1} blau verschoben ist. Die tieffrequenten Bereiche sind leicht rotverschoben, die Hauptbanden jedoch in guter Übereinstimmung mit dem IRMPD Spektrum. Bei den energetisch höher liegenden Isomeren setzt sich dieser Trend fort. Die Positionen der dominanten Peaks zwischen 1500 und 1850 cm^{-1} bleiben für alle Isomere innerhalb von 15 cm^{-1} erhalten. Nur die Position der P=O Schwingungen verschieben sich von 1140 cm^{-1} zum Blauen hin, beginnend vom 2PO-1@O2+ Isomer. Die breite Bande G im gemessenen Spektrum könnte somit als eine Überlagerung aller dieser Isomere gedeutet werden. Die Auflösung des IRMPD Spektrums lässt aber keine genauere Aussage zu.

Das stabilste gefundene N1-protonierte Isomer besitzt ein vollkommen anderes IR Spektrum als die O2+ protonierten Isomere. Jedoch gibt es auch hier recht gute Übereinstimmungen im Bereich der C2=O bzw. C4=O Streckschwingungen (A/B) um 1750 cm^{-1} sowie im Bereich zwischen 1200 und 1300 cm^{-1} (G). Der isolierte Übergang bei 1580 cm^{-1} korrespondiert mit Bande C, ist diesem gegenüber jedoch leicht rot verschoben. Auch andere Peaks lassen sich auf diese Weise zuordnen, wobei dies jedoch keineswegs eindeutig ist. Aus diesem Grund kann angenommen werden, dass FMN mit hoher Wahrscheinlichkeit an O2+ protoniert. Durch die geringe Auflösung des gemessenen IRMPD Spektrums und die mögliche Vielzahl energetisch tiefliegender Isomere, ist es hier jedoch nicht möglich, dem gemessenen Spektrum eindeutig ein oder mehrere O2+ Isomere zuzuordnen. Nimmt man zusätzlich die Eigenschaften der IRMPD Spektroskopie zu Grunde (IRMPD inaktive Banden, Rotverschiebung der Spektren etc. (Kapitel II.2.1)) und gleichzeitig die durch den ESI-Prozess aus der Flüssigphase heraus erzeugte Ionisierung, ist es möglich, dass alle hier berechneten Isomere einen Beitrag zum resultierenden IRMPD Spektrum leisten können. Die Strukturen aller berechneten H^+FMN-Isomere mit den entsprechenden relativen Gibbs-Energien sind in Abbildung B.5 im Anhang zu finden. Bindungslängen der Wasserstoffbrücken dieser Isomere finden sich in Tabelle B-5 und die Bandenzuordnung der IRMPD Spektren in Tabelle B-4.

3.5 Einfluss der Protonierung auf die Struktur und Ladungsverteilung

Dieser Abschnitt befasst sich mit dem Einfluss der Protonierung auf die Eigenschaften der beiden C=O Gruppen der Flavine. Denn wie bereits in den Auswertungen zuvor beschrieben, kann eine Protonierung zu starken spektralen Verschiebungen der C=O und anderer Vibrationsbanden führen. Die Analyse erfolgt in diesem Abschnitt ausschließlich anhand theoretisch ermittelter Werte. In Tabelle II.3-1 sind alle berechneten Werte für die C=O Bindungslängen $R_{C2=O}$ und $R_{C4=O}$ und der entsprechenden C=O Streckfrequenzen $\nu_{C2=O}$ und $\nu_{C4=O}$ der neutralen Flavine sowie der zugehörigen stabilsten protonierten Isomere zu finden. Weil die stabilsten gefundenen neutralen RF und FMN Konformere vom Typ 2 sind, werden auch nur die hierzu korrespondierenden Isomere H^+RF-2γ@N1 bzw. H^+FMN-2PO-2@O2+ sowie H^+FMN2δ@N1 berücksichtigt. Der Vergleich der IR Spektren der neutralen mit den zugehörigen protonierten Flavinen findet sich in Abbildung B.6 im Anhang.

Das Hinzufügen eines Protons an die N5 Position von LC führt zu einer Verlängerung der benachbarten C4a-N5 und zu einer Kontraktion der C4-C4a-Bindung um jeweils nur rund 1,5 pm. Dies resultiert in einer sehr schwachen Streckung der C4=O-Bindung, die sich wiederum in einer schwachen Rotverschiebung von $\Delta\nu_{C4=O}$ = -9 cm^{-1} zeigt. Durch diese Verzerrungen innerhalb des Flavinmoleküls wird auch die N3-C2 Bindungsstärke reduziert, was wiederum die C2=O Bindungslänge um ca. 1,2 pm verkürzt. Diese Abnahme wiederum hat eine Verstärkung der Bindung zur Folge, die sich in einer Blauverschiebung von $\Delta\nu_{C4=O}$ = 33 cm^{-1} der protonierten gegenüber der neutralen Form zeigt. Durch die Protonierung bleibt die Flavinstruktur planar.

Die Planarität ist auch bei der Protonierung von LF an den Stellen O2+ und N1 weiterhin gegeben. Die Anlagerung eines Protons an O2+ führt zu einer drastischen Verlängerung dieser C2=O Bindung um mehr als 10 pm. Dadurch verliert diese, durch Formung einer Einfachbindung der Form C-OH, den Charakter einer C=O Gruppe, wodurch die C2=O Streckschwingung im gemessenen IRMPD Spektrum des H^+LF@O2+ Isomers nicht mehr auftaucht (Abbildung II.3.4.). Durch die Anlagerung an die N1-Stelle kommt es auch zu einer starken Blauverschiebung von $\Delta\nu_{C2=O}$ = 71 cm^{-1}, bedingt durch die Schwächung der N1-C2-Bindung. Dies führt wiederum zu einer Verkürzung um $\Delta R_{C2=O}$ = 1,3 pm. Die C4=O-Bindung wird hier nur leicht gestört ($\Delta R_{C4=O}$ = 1,3 pm), verschiebt in Bezug auf das neutrale Flavin jedoch immer noch um $\Delta\nu_{C4=O}$ = 32 cm^{-1} ins Blaue.

Tabelle II.3-1. Einfluss der Protonierung auf die Eigenschaften der C=O Bindungen im Vergleich zum jeweils neutralen Flavin. Aufgezeigt sind die Abstände $R_{C2=O}$ und $R_{C4=O}$ und deren entsprechende Streckfrequenzen $\nu_{C2=O}$ und $\nu_{C4=O}$. Diese Frequenzen sind mit einem Skalierungsfaktor von 0,965 versehen. Zusätzlich werden die Protonenaffinitäten (PA) der berechneten Isomere angegeben.

	$R_{C2=O}$ pm	$\nu_{C2=O}$ cm^{-1}	$R_{C4=O}$ pm	$\nu_{C4=O}$ cm^{-1}	PA kJ/mol
LC	121,4	1766	121,2	1748	
H^+LC@N5	120,2	1799	121,6	1739	935
LF	121,6	1731	121,5	1743	
H^+LF@O2+	131,9		120,3	1782	974
H^+LF@N1	120,3	1802	120,4	1775	961
RF-1β	121,6	1730	121,6	1739	
H^+RF-1β@N1	120,5	1791	120,5	1770	1007
RF-2 γ	121,7	1726	121,5	1743	
H^+RF-2γ@N1	120,7	1789	120,5	1770	997
FMN-2P	123,5	1663	121,5	1748	
H^+FMN:					
2PO-2@O2+	130,0		120,5	1774	1011
2δ@N1	122,5	1730	120,4	1778	994

Auch beim RF bleibt die näherungsweise planare Beschaffenheit des Isoalloxazin-Chromophors im neutralen RF-2γ Isomer nach Protonierung an N1 bestehen. Dies führt zur Ausbildung des RF-2γ@N1 Isomers. Wie schon bei LF zu beobachten, führt dies zu einer Reduzierung beider C=O-Bindungslängen um 1,1 pm, wodurch es zu ausgeprägten Blauverschiebungen dieser Übergänge im Vergleich zum neutralen RF kommt (Anhang Abbildung B.6). Diese Verschiebungen sind jedoch nicht so stark ausgeprägt wie im Falle von LF, was nur an der Ribitylkette liegen kann. Dieser Einfluss wird hauptsächlich durch die zusätzliche H-Bindung des N1 Protons mit dem Sauerstoff der Cα-O(H) hervorgerufen, welche die Wirkung der N1-H Bindung im Vergleich zum LF teilweise aufhebt. Dass diese H-Bindung auch einen Einfluss auf die C=O Streckschwingungen hat, zeigt sich beim Vergleich von H^+RF-1β@N1 mit H^+RF-2γ@N1. Nur durch Drehung der Seitenkette und einer dadurch anderen Ausrichtung der weiter oben besprochenen H-Bindung kommt es zu einer (sehr) kleinen Verschiebung der Frequenzen von $\Delta\nu_{C2=O}$ = 2 cm^{-1} und $\Delta\nu_{C4=O}$ = 1 cm^{-1}.

Beim FMN ist der Chromophor auch planar nach Protonierung an der O2+ Stelle. Im Gegensatz zu allen anderen bisher betrachteten Flavinen hat das neutrale FMN-2P Isomer zwei verschieden lange C=O Bindungen. Die C2=O Bindungslänge

ist hier ungewöhnlich lang (123,5 pm) im Vergleich zu LC, LF und RF-2γ, bei denen diese Länge nur leicht zwischen 121,4 und 121,7 pm variiert. Hervorgerufen wird diese Längenverschiebung durch das Vorhandensein einer zusätzlichen H-Bindung der Phosphatgruppe mit C2=O. Durch die O2+ Protonierung ändert sich die C2=O Bindungslänge stark (um 6 pm), was wie bei LF@O2+ zu einem Verschwinden der hier zugehörigen Bande im Spektrum führt. Die Längenänderung selbst ist jedoch nicht ganz so stark ausgeprägt wie beim Lumiflavin. Die O2+ Protonierung führt auch zu einer Blauverschiebung von $\Delta\nu_{C4=O}$ = 26 cm^{-1}

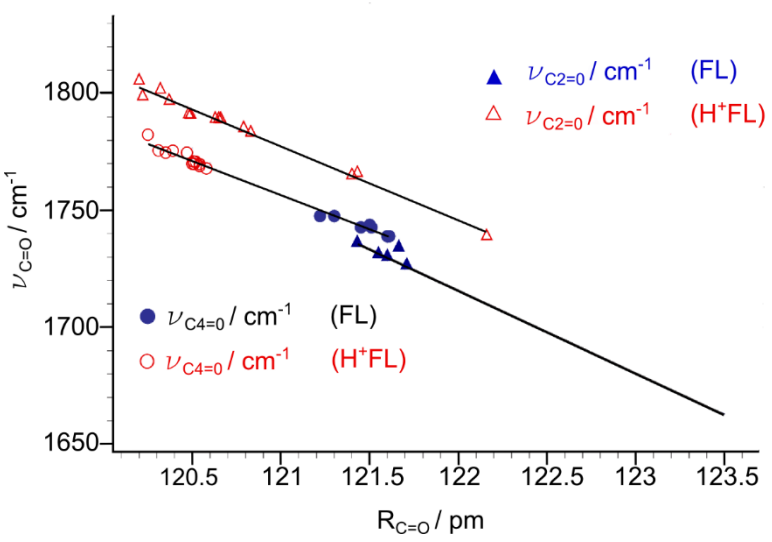

Abbildung II.3.7. Zusammenhang zwischen den C=O Streckfrequenzen $\nu_{C2=O}$ (Dreieck), $\nu_{C4=O}$ (Kreis) und den C=O Bindungslängen $R_{C2=O}$ und $R_{C4=O}$ für sechs neutrale (gefüllt) und 13 protonierte Isomere von LC, LF, RF und FMN (ungefüllt), wobei verschiedene Konformere mitenthalten sind. Für das neutrale LC verschiebt sich $\nu_{C2=O}$ hin zu Werten, die für N1-protonierte Flavine typisch sind. Die Werte für die stabilsten und N1-protonierte Isomere sind in Tabelle II.3-1 aufgelistet. Die Kurve $\nu_{C=O}(R_{C=O})$ ist das Resultat des Fits: $\nu_{C2=O}(R_{C=O}) = ((-36 \pm 2)R_{C2=O} + (5641 \pm 272))cm^{-1}$ für neutrale, $\nu_{C2=O}(R_{C2=O}) = ((-32 \pm 2)R_{C=O} + (6081 \pm 127))cm^{-1}$ ergibt sich für die H$^+$FL und $\nu_{C4=O}(R_{C4=O}) = ((-30 \pm 1)R_{C=O} + (5338 \pm 120))cm^{-1}$ für FL und H$^+$FL.

Durch Protonierung an N1 kommt es zu einer starken Blauverschiebung der C2=O Schwingung um $\Delta\nu_{C2=O}$ = 67 cm^{-1}, was einer Bindungslängenreduktion von ca. 1 pm entspricht. Die C4=O Bindung verkürzt sich durch diese Protonierung um 1,1 pm was sich in der Frequenzerhöhung von $\Delta\nu_{C4=O}$ = 30 cm^{-1} bemerkbar macht.
Um eine Korrelation zwischen den einzelnen C=O Bindungslängen und den zugehörigen Vibrationsfrequenzen zu ziehen, sind alle berechneten Werte für $\nu_{C=O}$ als Funktion der Bindungslängen $R_{C=O}$ in Abbildung II.3.7 dargestellt. Dies geschieht

hier sowohl für die neutralen Flavine als auch für die stabilsten experimentell beobachteten H^+FL und zusätzlich für alle N1-protonierten Isomere $H^+FL@N1$ (Tabelle II.3-1). Weil die Protonierung bei LF sowie bei FMN-2P an der O2+ Stelle bevorzugt ist, sind für die entsprechenden C2=O Vibrationen keine Werte verfügbar. Alle zueinander gehörenden Daten werden anschließend linear in der Form $\nu_{C=O}(R_{C=O}) = b_{c=O}R_{c=O} + a_{c=O}$ gefittet. Hierbei spiegelt der Anstieg $b_{c=O}$ die Frequenzverschiebung in cm^{-1} pro 1 pm Bindungslänge wieder.

Betrachtet man Abbildung II.3.7 genauer, stellt man fest, dass alle Werte für die C4=O Streckschwingungen (Kreise), sowohl für die neutralen Flavine (FL) als auch für die protonierten Flavine (H^+FL), auf einer Geraden liegen. Die Steigung dieser Kurve lässt sich aus dem Fit ermitteln und beträgt in diesem Fall $b_{C4=O}$ = (30±2) cm^{-1} pm^{-1}. Für die C2=O Schwingungen beobachtet man ein anderes Verhalten und zwar die Separierung beider Kurven welche H^+FL und FL beschreiben. Die Trennung führt auch zu einer unterschiedlichen Steigung der beiden Kurven mit (36±2) cm^{-1} pm^{-1} bzw. (–32±2) cm^{-1} pm^{-1}.

Für eine gegebene Bindungslänge $R_{C=O}$ beobachtet man bei den FL eine Aufspaltung zwischen den C2=O und C4=O Streckfrequenzen $\Delta\nu_{s,th}$ in der Größenordnung von 10 cm^{-1}, die sich bei H^+FL auf ca. 25 cm^{-1} erhöht. Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Anstiege $b_{C4=O}$ bzw. Verschiebungen $a_{C4=O}$ der Kurven für FL im Vergleich zu H^+FL ist, dass beide C=O Streckmoden nicht vollständig lokalisiert sind, sondern mit anderen Atomen des Ringes wechselwirken. Hierdurch bewirkt die Protonierung an der N1-Position nicht nur eine isolierte Stauchung/Streckung der C=O Bindung, sondern beeinflusst zusätzlich die gekoppelte Schwingung. In neutralen Flavinen koppeln die C2=O und die C4=O Schwingungen mit den Deformationsmoden der N3-H Verbindung. Durch die N1-Protonierung verändert sich diese Kopplung nicht merklich für die C4=O Schwingung, wodurch hier der lineare Zusammenhang für FL und H^+FL erhalten bleibt. Nach N1 Protonierung koppelt die C2=O Mode jedoch neben der N3-H- auch an die N1-H Deformationsmoden. Dies verursacht sowohl die große C2=O Blauverschiebung als auch den Sprung der Geraden $\nu_{C=O}(R_{C=O})$ zwischen FL und H^+FL.

Eine weitere Eigenschaft, die sich aus der Analyse der Protonierung ergibt und die gleichzeitig eine fundamentale chemische Eigenschaft eines Moleküls darstellt, ist die Protonenaffinität (PA). Mit deren Hilfe wird es möglich, Säure-Base-Reaktionen zu bewerten. Die PA kann durch die errechnete Energiedifferenz des protonierten und neutralen Isomers bestimmt werden. Für die Auswertung ist nur von Belang, wie sich die PA mit der Flavingröße ändert. Aus diesem Grunde reicht es, die Diffe-

renzen der durch die Nullpunktsenergie korrigierten Gesamtenergien bei 0 K zu nehmen. Dabei wurden die Translationsenergie des freien Protons sowie die Temperaturabhängigkeit der Enthalpie der korrespondierenden Moleküle und Ionen nicht berücksichtigt.

Die berechneten PA Werte sind in Tabelle II.3-1 gelistet. Wie zu erwarten, hängt die PA nicht nur vom ausgehenden neutralen Isomer ab, sondern auch von der finalen Protonierungsstelle. Für die jeweils energetisch niedrigsten Isomere steigt die PA eigenen Berechnungen zufolge mit der Molekülgröße in der Reihenfolge LC < LF < RF < FMN mit PA = 935, 974, 1007und 1011 kJ/mol. In früheren theoretischen Studien, in denen LF als Modellsystem für Flavine eingesetzt wurde, konnte die Protonenaffinität von LF bereits ermittelt werden.[39] Die hier gemachten Ergebnisse hängen dabei stark von der Wahl der Methode und des Basissatzes ab. So errechneten Meyer et al.[155,155] mit HF/6-31G* für das H^+LF@O2+ Isomer PA = 989 kJ/mol und mit Hilfe des etwas höheren Basissatzes 6-31G** eine PA = 1008 kJ/mol. Erst mit MP2/6-31G* Kalkulationen konnte ein ähnlicher Wert von PA = 971,5 kJ/mol für das O2+ Isomer bestimmt werden, wie unsererseits ermittelt. Kürzlich wurde die PA für LF experimentell untersucht und mit B3LYP/6-31G* berechnet.[39] Der sich hier ergebende experimentelle Wert von $PA_{(LF\text{-}Mess)}$ = (951,0±8,4) kJ/mol stimmt mit dem berechneten Wert von $PA_{(LF\text{-}Kalk)}$ = 946,8 kJ/mol besser überein als mit unserem Wert von 973 kJ/mol. Letzterer ist aufgrund der größeren Stabilisierung des O2+ Tautomers im Vergleich zum N1 Tautomer signifikant höher und kann dadurch nicht mit dem von Zhang et al.[39] ermittelten Wert verglichen werden. Die höchsten Protonierungsenergien besitzen RF und FMN, welche sich sehr ähneln. Durch die Protonierung scheint FMN in der Gasphase zur Tautomerisation zu neigen, weswegen RF als einziges die N1 Protonierung im isolierten Zustand behält.

NBO Berechnungen zeigen, dass die PA ansteigt, wenn die Höhe der partiellen Ladung, die sich um das Proton lokalisiert, ebenfalls ansteigt, wobei sich der Rest der Protonladung über die Seitenkette und dem Chromophor verteilt. Was zu diesem Zusammenhang führt ist jedoch nicht offensichtlich. Die errechneten Unterschiede in der Ladungsverteilung nach der Protonierung von Flavinmolekülen offenbaren folgende Zusammenhänge: Mit größer werdendem Substituenten R erhöht sich die Ladungsdichte um die Protonierungsstelle nur leicht, gleichzeitig wächst diese um R sehr stark an und vermindert sich im gleichen Maße auf dem Chromophor (Abbildung B.7.).

3.6 Zusammenfassung

In Kapitel II.3 erfolgte die Analyse von IRMPD Spektren von H^+FL mit FL = LC, LF, RF und FMN in der Gasphase. Die Ionen werden mittels ESI-Quelle generiert, in einer FT-ICR Falle gefangen und mit der IR Strahlung des Freie-Elektronen-Lasers FELIX im Fingerabdruckbereich (600 - 1850 cm^{-1}) bestrahlt. Durch den Vergleich der hier gewonnenen IRMPD mit quantenchemisch berechneten linearen IR Spektren für verschiedenste H^+FL Isomere kann die bevorzugte Protonierungsstelle identifiziert werden. Gleichzeitig liefern diese Berechnungen auch die entsprechenden Geometrien, sowie die Bindungsenergien und Vibrationsstrukturen jedes individuellen Flavins. Für LC und LF werden auf diese Weise Isomere mit Protonierungsstellen an N1, N3, N5, O2 und O4 inklusive aller Tautomere systematisch untersucht. Durch das, aufgrund der Seitenketten, rapide Ansteigen der Tautomerisierungsmöglichkeiten werden für RF und FMN nur eine begrenzte Anzahl von O2+ und N1-Isomeren berücksichtigt. Die entscheidenden Ergebnisse dieser Analyse sind zum einen, dass alle gemessenen Flavine unterschiedliche Protonierungsstellen in der Gasphase bevorzugen, zum anderen das in allen Fällen die energetisch niedrigsten berechneten Isomere in den IRMPD Spektren identifiziert werden können.
Das energetisch stabilste Isomer für LC ist H^+LC@N5 und für LF das H^+LF@O2+. Die hierzu entsprechenden IR Spektren stimmen gut mit den gemessenen IRMPD Spektren überein. Auch die hier ermittelte Frequenzaufspaltung $\nu_{C2=O} - \nu_{C4=O}$ bzw. das Intensitätsverhältnis der beiden C=O Streckschwingungen werden durch die Rechnungen gut reproduziert. Die beim H^+LF@O2+ beobachtete Abwesenheit der C2=O Mode, die Intensität der C4=O Mode sowie die starke Erhöhung der Ring-Streck-Schwingungen gegenüber H^+LC kann klar im Experiment beobachtet werden. Für H^+RF werden zwei N1-protonierte Konformere mit annähernd gleicher Energie als stabilste Strukturen gefunden, für die auch die berechneten Spektren gut mit dem Experiment übereinstimmen. Die Form und die Intensitäten der nicht aufgelösten C=O Streckregion lassen den Schluss zu, dass es sich bei dem gemessenen H^+RF Signal um N1-protonierte Isomere handelt. Doch eine exakte Strukturangabe, die auch die Seitenkettenanordnung berücksichtigt, ist aufgrund der limitierten spektralen Auflösung hier nicht möglich. Für H^+FMN ist die O2+Protonierungsstelle favorisiert. Die sich hieraus ergebenden Konformere liegen jedoch energetisch sehr nahe dem N1-Isomer. Beide Strukturen werden jeweils durch die Seitenkette mittels intermolekularer H-Bindungen mit der Phosphatgruppe stabilisiert.

Im Fall von H^+FMN ist die Übereinstimmung des IRMPD Spektrums mit dem berechneten IR Spektren nicht mehr ausreichend, um eine eindeutige Identifizierung der Protonierungsstellen durchzuführen. Jedoch deutet die Peakform der C=O Bande sowie die hohe Intensität der Ringmoden darauf hin, dass zwei Protonierungsisomere (O2+ und N1), in verschiedenen Konformationen vermessen werden.

Durch die theoretische Analyse an neutralen und protonierten Flavinen lässt sich schließen, dass die beiden C=O Schwingungen bzw. deren Frequenzverschiebungen sehr sensitiv auf elektronische Veränderungen im Chromophor sowie der intramolekularen H-Bindungen reagieren. Dabei können mit Hilfe der C=O Frequenzen auch Rückschlüsse über die Protonierungsstelle im Flavin getroffen werden. Im neutralen Zustand sind diese Streckfrequenzen üblicherweise im Bereich zwischen 1720 und 1750 cm^{-1} zu finden, wobei hier die C2=O Schwingung bei niedrigeren Frequenzen als die der C4=O Bindung erscheint. Im N1-protonierten Zustand schiebt dieser Bereich jedoch auf 1760 – 1810 cm^{-1}, wobei hier die C2=O Schwingung bei höheren Frequenzen erscheint.

Bei der N5-Protonierung, wie sie bei H^+LC zum stabilsten Isomer führt, verändern sich die C=O Frequenzen im Vergleich zu denen des neutralen LC nur wenig, wohingegen eine Protonierung an O2+ im Allgemeinen eine Verschiebung der C4=O Bande um ca. 40 cm^{-1} verursacht. Die C2=O Bande verschwindet und ist im letzten Fall nicht mehr in der Messung zu identifizieren.

Um die Auflösung der experimentellen Spektren zu steigern, sollen in Zukunft IRPD Spektren mit der Messenger Methode (Kapitel II.2.1) in der BerlinTrap aufgenommen werden. Durch die hier zur Verfügung stehenden Laser ist auch die Ausweitung des Spektralbereiches in die X-H Streckschwingungsbereich zwischen 2000 und 4000 cm^{-1} möglich, was zusätzliche Informationen liefern kann. Da die Flavine Farbstoffe sind, ist auch die Vermessung der elektronischen Struktur mit Hilfe von UV-VISPD von großem Interesse. Erste VISPD Spektren von H^+LC konnten bereits erfolgreich in der BerlinTrap aufgenommen werden und sind in Kapitel II.5.1 beschrieben.

4 Strukturanalyse metallierter Flavine in der Gasphase mittels IRMPD

In Kapitel II.3 wird die Protonierung der Flavine LC, LF, RF und FMN in der Gasphase nach der Generierung durch eine ESI Quelle behandelt. Mit derselben Methodik werden in diesem Kapitel die Folgen der Metallierung von LC und LF analysiert, denn die vielfältigen Eigenschaften von Flavinen zeigen sich auch bei deren Wechselwirkung mit Metallionen. So besitzen Flavine z. B. die Fähigkeit Fe(II) zu photooxidieren bzw. Photoreduktionsreaktionen des Fe(III) zu katalysieren.[200] Diese Eigenschaften zeigen sich auch in der Biologie, wo einige Bakterien in der Lage sind Redoxreaktionen von z. B. unlöslichen Eisen(III)oxidsalzen an verschiedenen Elektroden zu katalysieren, wobei hier vorrangig RF eine entscheidende Rolle spielt.[201] Die Interaktion von (Alkali)-Metallionen mit Flavinen, die zusammen sogenannte Flavoquinonchelate bilden, kann hier als Benchmark dienen, um die hier ablaufenden Prozesse auf molekularer Ebene verständlicher zu machen.

Die Komplexbildung mit Metallionen führt zu Veränderungen der elektronischen und Redoxeigenschaften der Flavine, was zu Verschiebungen in deren Absorptionsspektren führt. Optische Anregungen erfolgen bei den Flavinen hauptsächlich über $\pi \rightarrow \pi^*$ bzw. $n \rightarrow \pi^*$ Übergänge.[5] Im Allgemeinen binden Metallionen vorrangig am aromatischen Chromophor über π-*stacking* und an den nukleophilen N oder O Zentren via σ-Bindungen. Demzufolge verändern sie die elektronische Struktur der π^* und der n-Orbitale, was wiederum drastische Änderungen in der Photochemie des Flavinchromophors nach sich zieht. Wie bei der Protonierung, wurden fast alle bisherigen Studien zu metallierten Flavinen an gelösten Molekülen durchgeführt.[200,202–206] Auch hier spielen die Einflüsse des Lösungsmittels sowie der Gegenionen eine signifikante Rolle, die bisher nicht vollständig verstanden sind. Deshalb sind spektroskopische Untersuchungen an isolierten Flavinmolekülen und ihrer Aggregate notwendig, um die strukturellen, elektronischen und chemischen Eigenschaften der optisch wirksamen Spezies zu erhalten. Gleichzeitig können hierdurch die jeweils individuellen Effekte von Solvatisierung und Metallierung voneinander entkoppelt bewertet werden.

In den nun folgenden Kapiteln wird die Metallierung von LC und LF mit verschiedenen Alkalimetallionen (Li^+, Na^+, K^+, Rb^+ und Cs^+) sowie ausgewählter Münzmetallionen (Cu^+, Ag^+, Au^+) und deren Einflüsse auf die Komplexstruktur studiert. Im Falle des LC wird zusätzlich die Bildung des $Mg^{2+}LC_2$ Komplexes untersucht. Wie schon

bei den H^+FL werden hierzu IRMPD Spektren mit quantenchemische Rechnungen verglichen. Hier zeigt sich abermals, dass auch in diesem Fall die C=O Streckschwingungen als Indikator der Metallionenposition am FL dienen, wobei die hier gezeigten Ergebnisse bereits veröffentlicht sind.[165,166]

Die in den Kapiteln II.4.1 und II.4.2 durchgeführten Untersuchungen von $M^{q+}LC_n$ (q/n = 1, 2) werden durch die Analyse von M^+LF Komplexen in den Kapiteln II.4.4 und II.4.5 erweitert. Hierdurch kann der Einfluss der zusätzlichen Methylgruppe an der N10-Bindungsstelle sowie des fehlenden H-Atoms an der N1-Stelle auf die bevorzugte Position der Metallierung nachvollzogen werden. Die in diesem Kapitel gewonnenen Informationen fließen bei der später folgenden Auswertung der elektronischen Struktur von M^+LC (M = Li–Cs) in Kapitel II.5 mit ein.

4.1 Alkalimetallionen-Lumichrom-Komplexe

In diesem Abschnitt wird auf die Komplexierung von LC mit Alkalimetallionen (Li^+–Cs^+) eingegangen und deren Auswirkung auf dessen Eigenschaften analysiert. Die hierzu experimentell erzeugten, mit der Laserleistung (Abbildung C.1) normierten IRMPD Spektren sind in Abbildung II.4.2 dargestellt, zuzüglich derer von H^+LC dem nachfolgend behandelten Ag^+LC und $Mg^{2+}LC_2$.

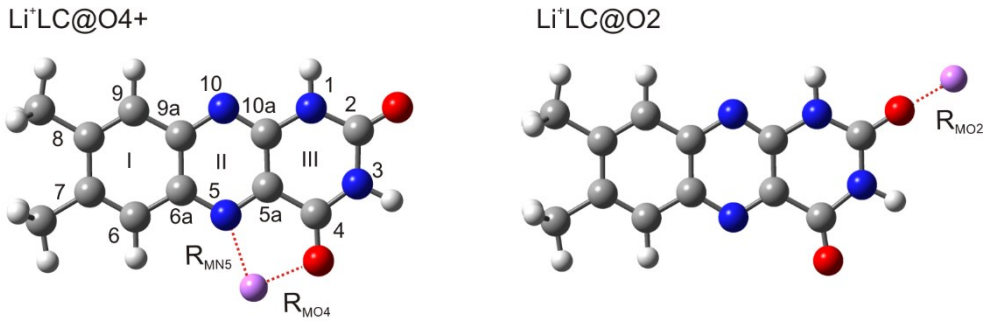

Abbildung II.4.1. Strukturen der planaren O4+ (links) und O2 Isomere (rechts) von M^+LC dargestellt für M = Li. Die einzelnen Atome sowie die einzelnen Ringe sind nach dem IUPAC-Standard nummeriert.

Bei allen hier aufgelisteten $M^{q+}LC_n$ Spektren sind drei dominante Banden (A-C) zwischen 1500 und 1900 cm^{-1} sowie eine bis drei schwache Erhebungen unterhalb von 1500 cm^{-1} zu beobachten. Die drei dominanten Peaks sind als C=O Streckbanden (A und B) sowie als kombinierte C-C/C-N Ringstreckschwingung (C) identifiziert. Die Verschiebung dieser Banden bzw. deren Intensitätsänderungen bei Variation des

bindenden Metallions macht die Identifizierung der entsprechenden Bindungspositionen möglich, wie bereits für H^+FL in Kapitel II.3 beschrieben. Die genauen Bandenpositionen sind in Tabelle II.4-1 gelistet. Die bei ca. 1799 cm^{-1} für Li^+LC und Na^+LC mit nur einem Maximum lokalisierte Bande A spaltet für größere Ionen (K^+–Cs^+) in einen Doppelpeak auf. Banden B und C können für Li^+LC bei 1670 bzw. 1547 cm^{-1} beobachtet werden. Sie verschieben sich jedoch mit steigender Größe der Alkalimetallionen ins Blaue.

Tabelle II.4-1. Positionen der Bandenmaxima (A–C), die in den IRMPD Spektren von $M^{q+}LC_n$ beobachtet werden können. Die Zuordnungen der Schwingungen- und Isomere sind ebenfalls mit angegeben.

	Bandenposition cm^{-1}	Zuordnung (Isomer)
Li^+LC	1799 (A)	$\nu_{C2=O}$(O4+ Isomer) / $\nu_{C4=O}$(O2 Isomer)
	1670 (B)	$\nu_{C4=O}$(O4+ Isomer) / $\nu_{C2=O}$(O2 Isomer)
	1547 (C)	ν_{CN}(O4+/O2+ Isomer)
Na^+LC	1799 (A)	$\nu_{C2=O}$(O4+ Isomer) / $\nu_{C4=O}$(O2 Isomer)
	1688 (B)	$\nu_{C4=O}$(O4+ Isomer) / $\nu_{C2=O}$(O2 Isomer)
	1554 (C)	ν_{CN}(O4+/O2+ Isomer)
K^+LC	1808 (A)	$\nu_{C2=O}$(O4+ Isomer)
	1789 (A)	$\nu_{C4=O}$(O2 Isomer)
	1698 (B)	$\nu_{C4=O}$(O4+ Isomer) / $\nu_{C2=O}$(O2 Isomer)
	1561 (C)	ν_{CN}(O4+ /O2 Isomer)
Rb^+LC	1804 (A)	$\nu_{C2=O}$(O4+ Isomer)
	1784 (A)	$\nu_{C4=O}$(O2 Isomer)
	1700 (B)	$\nu_{C4=O}$(O4+ Isomer) / $\nu_{C2=O}$(O2 Isomer)
	1562 (C)	ν_{CN}(O4+ /O2 Isomer)
Cs^+LC	1808 (A)	$\nu_{C2=O}$(O4+ Isomer)
	1789 (A)	$\nu_{C4=O}$(O2 Isomer)
	1700 (B)	$\nu_{C4=O}$(O4+ Isomer) / $\nu_{C2=O}$(O2 Isomer)
	1565 (C)	ν_{CN}(O4+/O2 Isomer)
Ag^+LC	1799 (A)	$\nu_{C2=O}$(O4+ Isomer)
	1665 (B)	$\nu_{C4=O}$(O4+ Isomer)
	1548 (c)	ν_{CN}(O4+ Isomer)
$Mg^{2+}LC_2$	1822 (A)	$\nu_{C2=O}$(O4+ Isomer)
	1636 (B)	$\nu_{C4=O}$(O4+ Isomer)
	1538 (C)	ν_{CN}(O4+ Isomer)

Um die im Experiment vorherrschenden Bindungsstellen zu identifizieren, wird mittels DFT Rechnungen eine systematische Suche nach prinzipiell möglichen Bindungspositionen durchgeführt. Für Li^+LC ergeben sich hieraus fünf verschiedene Isomere. Bei dreien geht das Li^+ jeweils eine σ-Bindung mit den Atomen O4, O2 und N10 ein. Bei den anderen bindet Li^+ über π-Bindungen oberhalb des Benzen- (I) bzw. Pyrimidinrings (III) an LC. Die errechneten freien Bindungsenergien reichen dabei von 272 (O4+) über 204 (O2) und 133 (N10) zu 108 (I) und 75 kJ/mol (III) (Abbildung C.3 im Anhang). Da zwischen dem stabilsten und dem drittstabilsten Isomer bereits 139 kJ/mol liegen, werden im Folgenden nur die beiden Isomere O4+ und O2 betrachtet (Abbildung II.4.1.), denn nur deren berechnete Spektren stimmen mit den experimentellen überein (Abbildung C.3). Die Banden A und B, die der freien und der gebundenen C=O Streckschwingungen zugewiesen werden können, weisen durch ihre große Aufspaltung ebenfalls darauf hin, dass das Metallion an eine dieser C=O Gruppen bindet. Dies ist wiederum ein klarer spektroskopischer Hinweis auf die Beobachtung des O4+ und/oder O2 Isomers im Experiment.

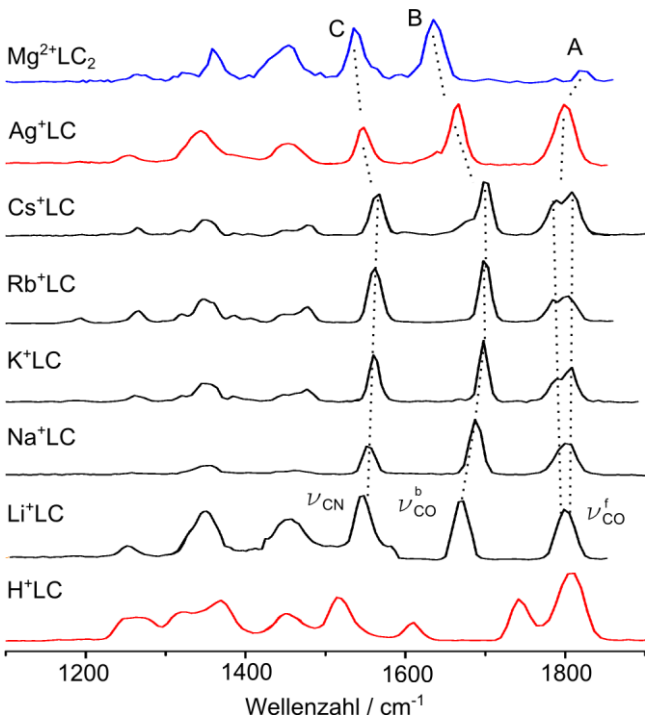

Abbildung II.4.2. IRMPD Spektren von $M^{q+}LC_n$ im Fingerabdruckbereich (1100–1900 cm^{-1}) im Vergleich mit dem Spektrum von H^+LC. Die Übergänge, die der freien (f) und gebundenen (b) C=O Streckmoden (A, B) und der intensiven C–N/C–C-Steckmoden der Ringe (C) sind durch gestrichelte Linien miteinander verbunden (Tabelle II.4-1). Die geringe Intensität von Bande A im $Mg^{2+}LC_2$ Spektrum kann durch eine reduzierte Laserintensität in diesem Bereich erklärt werden.

Die für die O4+ und O2 Isomere errechneten Bindungs- bzw. Gibbs-Energien sind in Tabelle II.4-2 aufgelistet. In Abbildung II.4.3 wiederum werden die IRMPD Spektren jedes M^+LC mit M = Li–Cs mit den theoretisch ermittelten linearen IR Strichspektren der O2 (blau) und O4+ Isomere (rot) gegenübergestellt. Zum weiteren Vergleich sind zusätzlich die Spektren von H^+LC und neutralem LC mit abgebildet. Die errechneten Frequenzen von LC, H^+LC, Li^+LC und Na^+LC sind mit einem Faktor von 0,964 skaliert, was die Bande A im IRMPD Spektrum von Li^+LC an die C2=O Streckfrequenz ($\nu_{C2=O}$) des O4+ Isomers anpasst. Für die restlichen Alkalimetall-LC-Komplexe wird ein Skalierungsfaktor von 0,973 gewählt, um $\nu_{C2=O}$ an das höherfrequente Maximum der Bande A anzupassen. Die Wahl zweier Skalierungsfaktoren ergibt sich aus den für die leichten und schweren Alkalimetallen genutzten unterschiedlichen Rechenmethoden. Bei Letzteren werden für die Berechnung *Effective Core Potentials* genutzt (Kapitel II.2.4)

Alle relevanten Strukturangaben wie Bindungslängen, Winkel, sowie Energien und Schwingungsfrequenzen der O4+ und O2 Isomere sind in den Tabelle II.4-2 Tabelle II.4-4 zusammengefasst und in Abbildung C.5 Abbildung C.7 (Anhang) als Funktion des inversen Ionenradius visualisiert.

Tabelle II.4-2. Bindungsenergien und (freie) Gibbs-Energien von $M^{q+}LC_n$@O4+ und $M^{q+}LC_n$@O2(+), [a] sowie deren Differenzen, berechnet mittels B3LYP/cc-pVDZ

	E (O4+) kJ/mol	Δ $E_{O4+-O2(+)}$ kJ/mol	G(O4+) kJ/mol	Δ $G_{O4+-O2(+)}$ kJ/mol
H^+LC	914,2	48,6	913,8	47,7
Li^+LC	304,0	71,5	272,3	67,9
Na^+LC	223,6	55,6	191,7	51,7
K^+LC	117,4	40,0	147,3	37,1
Rb^+LC	156,6	36,4	126,8	33,7
Cs^+Lc	140,3	31,5	111,4	29,1
Ag^+LC	294,2	92,9	260,5	86,1
$Mg2^+LC$	838,1	177,3	803,4	171,6
$Mg^{2+}LC_2$	1334,4	267,1	1250,9	256,2

[a] bei M^+LC mit M = Li–Cs bindet M in einer linearen Konfiguration entlang der C=O Bindungsachse, weswegen hier die Angabe eines + für die Bindungsrichtung nicht sinnvoll ist.

Beim für alle Alkaliionen stabilsten M^+LC@O4+ Isomer formen Metallion und LC ein Chelat mit Hilfe einer zur O4 Position zusätzlichen Bindung zum freien Elektronenpaar des N5 Atoms (Abbildung II.4.1, Tabelle II.4-2). Dabei nehmen die Bindungsenergien zwischen Metall und LC mit größer werdendem Ionenradius ab (304–140 kJ/mol von Li–Cs). Dies führt wiederum zu einer Zunahme der Bindungslänge

des Metalls zu O4 und N5 (R_{MO4} = 187–281 pm, R_{MN5} = 219–330 pm), was wiederum den Chelatwinkel α_{N5MO4} spitzer werden lässt (89–54°). Die Asymmetrie des Chelatdreieckes N5-M-O4 mit kürzeren Bindungslängen zum O4 Atom nimmt wiederum mit steigendem Ionenradius zu. Hieraus kann nochmals abgeleitet werden, dass M^+ stärker an O4 bindet als an N5.

Tabelle II.4-3. Bindungslängen und Winkel sowie C=O Streckfrequenzen von $M^{q+}LC_n$@O4 und $M^{q+}LC_n$@O2(+), berechnet mittels B3LYP/cc-pVDZ. Zusätzlich sind die Ionenradien von M^{q+} aufgelistet.

	R_M [a] pm	R_{MO4} pm	R_{MN5} pm	$R_{C2=O}$ pm	$R_{C4=O}$ pm	α_{N5MO4} °	α_{O4C4} °	$\nu_{C4=O}$ cm^{-1}	$\nu_{C2=O}$ cm^{-1}
LC	-	-		121,4	121,2			1746	1799
H^+LC@N5	37	234,4	102,9	120,2	121,6	102,2	82,8	1737	1797
H^+LC@O4+	37	98,8	218,8	120,0	130,1	113,5	107,0	1633	1814
Li^+LC@O4+	76	186,8	206,4	120,3	124,7	88,5	109,5	1651	1799
Na^+LC@O4+	102	220,1	243,7	120,5	123,9	74,3	116,0	1665	1795
K^+LC@O4+	138	251,9	287,2	120,6	123,7	62,6	123,8	1678	1808
Rb^+LC@O4+	152	265,1	304,8	120,6	123,5	58,9	126,4	1684	1807
Cs^+LC@O4+	167	281,4	329,7	120,7	123,5	54,4	130,3	1683	1806
Ag^+LC@O4+	115	232,2	230,4	120,4	124,1	75,3	110,9	1650	1798
$Mg2^+$LC@O4+	72	192,0	205,8	119,4	128,4	87,9	109,1	1609	1830
$Mg^{2+}LC_2$@O4+	72	199,1	216,4	119,8	126,4	82,1	113,0	1629	1815
								1622	1814

	R_M [a] pm	R_{MO2} pm	$R_{C2=O}$ pm	$R_{C4=O}$ pm	α_{N3C2O2} °	α_{O2C2} °	$\nu_{C4=O}$ cm^{-1}	$\nu_{C2=O}$ cm^{-1}
H^+LC@O2+	37	97,3	131,5	119,7	124,0	113,6	1800	1647
Li^+LC@O2	76	172,8	126,4	120,3	121,5	177,8	1777	1649
Na^+LC@O2	102	208,7	125,5	120,5	121,8	177,9	1771	1660
K^+LC@O2	138	242,8	125,1	120,6	122,0	177,6	1784	1670
Rb^+LC@O2	152	256,6	124,8	120,6	122,0	177,4	1783	1677
Cs^+LC@O2	167	274,9	124,7	120,6	122,1	177,4	1782	1674
Ag^+LC@O2+	115	212,0	126,6	120,3	119,1	141,0	1794	1642
Mg^{2+}LC@O2	72	182,4	128,9	119,5	121,7	163,2	1804	1585
$Mg^{2+}LC_2$@O2	72	182,4	129,6	119,8	120,9	175,3	1795	1627
							1795	1597

[a] Ref.[207]. Die Werte entsprechen effectiven Ionenradien für die Koordinationszahl KZ = 6. Für H^+ wurde der kovalente Radius aus dem halben Gleichgewichtsabstand von H_2 (72 pm) verwendet.

Die Wechselwirkung der Alkaliionen mit LC beim O4+ Isomer erfolgt hauptsächlich elektrostatisch über die Anziehung zwischen der positiven Ladung des Metallions sowie den Dipol und höheren Multipolmomenten des LC und deren Polarisierbarkeit, was zu Induktionskräften führt.

Durch die hohe Ionisierungsenergie des LC (IE = 7,99 eV berechnet) im Vergleich zu den Alkalimetallen (IE = 5,39–3,89 eV für Li–Cs)[208] bleibt der Großteil der Ladung auf dem Ion erhalten und nur ein kleiner Teil wird auf das LC übertragen (Δq_m = 127–87 me von Li–Cs) (Tabelle II.4-4, Abbildung C.5). Der Ladungstransfer vom Metallion zu O4 ist dabei erwartungsgemäß höher als zu N5.

Tabelle II.4-4. NBO Ladungsverteilung von $M^{q+}LC_n$@O4+ und $M^{q+}LC_n$@O2, berechnet mittels B3LYP/cc-pVDZ[a].

	q_m e	Δq_{O4} e	Δq_{N5} e	Δq_{O2} e
H^+LC@O4+	0,522	-0,486	-0,367	-0,632
Li^+LC@O4+	0,873	-0,156	-0,160	0,063
Na^+LC@O4+	0,912	-0,140	-0,132	0,054
K^+LC@O4+	0,915	-0,141	-0,106	0,049
Rb^+LC@O4+	0,923	-0,135	-0,097	0,047
Cs^+LC@O4+	0,913	-0,136	-0,083	0,045
Ag^+LC@O4+	0,798	-0,102	-0,149	0,061
Mg^{2+}LC@O4+	1,707	-0,257	-0,305	0,122
$Mg^{2+}LC_2$@O4+	1,496	-0,187	-0,200	0,092

	q_m e	Δq_{O2} e	Δq_{N5} e	Δq_{O4} e
H^+LC@O2+	0,532	-0,541	-0,436	-0,606
Li^+LC@O2	0,932	-0,269	0,016	0,048
Na^+LC@O2	0,956	-0,227	0,015	0,039
K^+LC@O2	0,955	-0,208	0,014	0,036
Rb^+LC@O2	0,957	-0,195	0,013	0,034
Cs^+LC@O2	0,956	-0,187	0,013	0,032
Ag^+LC@O2+	0,863	-0,191	0,018	0,054
Mg^{2+}LC@O2	1,440	-0,337	0,048	0,099
$Mg^{2+}LC_2$@O2	1,699	-0,340	0,024	0,073

[a] Δq sind die Ladungsänderungen in Bezug zum neutralen LC. Alle anderen atomaren Ladungen werden nur wenig beeinflusst.

Die bedeutendste geometrische Veränderung durch Metallierung von LC ist der starke Einfluss auf die C=O Bindungslängen, was sich in einer auffälligen Frequenzverschiebung dieser IR aktiven Mode bemerkbar macht. Die Bande ν_{CO4} schiebt dabei beim O4+ Isomer umso weiter ins Rote, je stärker das Ion die C4=O Verbindung streckt ($\Delta R_{C4=O}$ = 2,3–3,5 pm, $-\Delta\nu_{C4=O}$ = 63–95 cm^{-1}). Dabei werden auch die C2=O Bindungen durch Konjugation über den Pyrimidinring leicht gestaucht, was sich wiederum in einer kleinen Frequenzverschiebung ins Blaue bemerkbar macht ($\Delta R_{C2=O}$ = 0,8–1,1 pm, $-\Delta\nu_{C=2O}$ = 0–7 cm^{-1}).

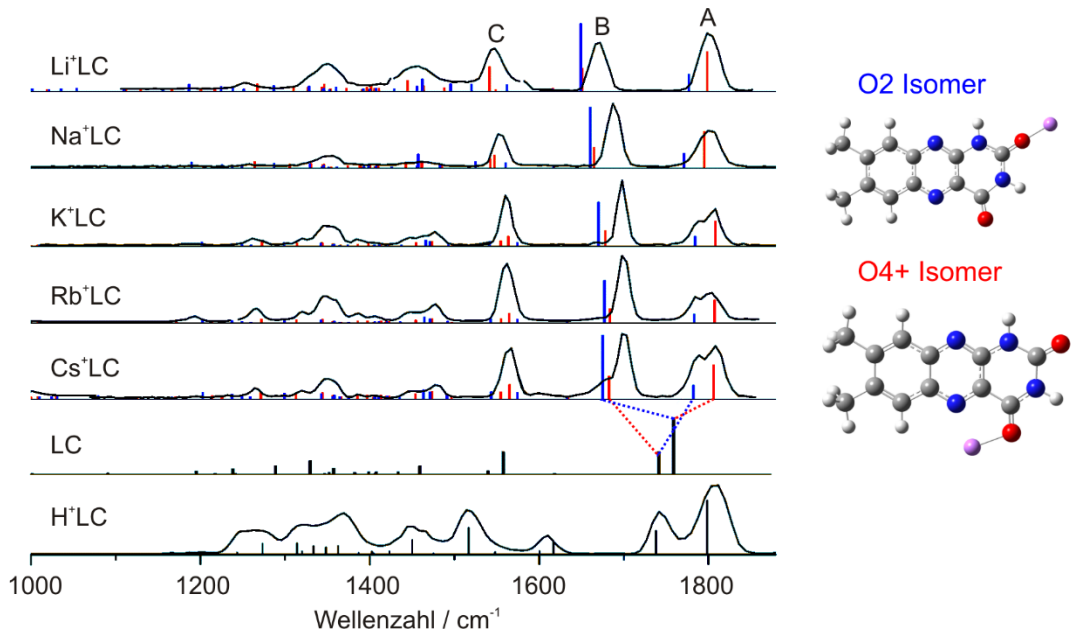

Abbildung II.4.3. zeigt die gemessenen IRMPD Spektren (schwarze Kurven) von M^+LC mit M = Li–Cs im Vergleich zu den berechneten linearen IR Strichspektren für die O4 (rot) und O2 Isomere (blau). Diese werden auf dem B3LYP/cc-pVDZ Niveau berechnet. Zum Vergleich ist zusätzlich das IRMPD Spektrum von H^+LC zusammen mit dem Strichspektrum des stabilsten N5 Isomers, sowie das des neutralen LC dargestellt. Die Spektren von H^+LC und M^+LC mit M = Li und Na sind mit 0,964 skaliert, alle anderen mit 0,973.

Bindet das Alkalimetall an der O2-Position des LCs, wird das zum O4+ Isomer energetisch nächst höhere Isomer geformt. Dieses bildet eine planare Konfiguration, wobei die Ausrichtung des Metalls annähernd kollinear (~180°) mit der C2=O Verbindungsachse verläuft. Die Energiedifferenz zur stabileren O4 Konfiguration beträgt 72 kJ/mol für Li^+ und fällt bis zum Cs^+ auf 32 kJ/mol ab. Die M^+-O2 Bindungslängen (R_{MO2} = 173–275 pm) sind hier jedoch kürzer als die der M^+-O4 Bindung in den O4 Isomeren (R_{MO2} = 187–281 pm). Wegen der geringeren Bindungsenergie fällt der Ladungstransfer von M^+ nach C2=O des O2 Isomers geringer aus als beim Gegenstück des O4 Isomers (Δq_{O2} = 87–127 me, Δq_{O4} = 44–68 me für Cs–Li). Der durch die M^+-LC Bindung resultierende Einfluss auf die C2=O Streckschwingung wiederum ist enorm und zeigt sich, wie schon bei den O4 Isomeren, in starken Frequenzverschiebungen, die sogar größer als bei den O4 Isomeren sind ($\Delta R_{C2=O}$ = 3,3–4,9 pm, $-\Delta\nu_{C2=O}$ = 125–150 cm^{-1}). Mittels Konjugation durch den Pyrimidinring kommt es auch hier zur zusätzlichen Stauchung der C4=O Bindung um ΔR_{CO2}=0,6–0,9 pm, was sich wieder in einer kleinen Frequenzveränderung äußert ($\Delta\nu_{C4=O}$ = 31–36 cm^{-1}). Diese Verschiebungen durch Metallierung werden durch den in Abbildung II.4.3. dargestellten Vergleich des berechneten neutralen LC Spektrums mit den M^+LC Spektren gut visualisiert. Das Binden eines Alkaliions an

eine der beiden um 1800 cm^{-1} lokalisierten C=O Streckschwingungen reduziert substantiell deren Schwingungsfrequenz. Die jeweils andere C=O Streckschwingungsfrequenz verschiebt sich durch Konjugation leicht ins Blaue. Da sich dieses Verhalten eindeutig in den gemessenen Spektren widerspiegelt, kann eine Beteiligung von π-gebundenen Isomeren im Experiment, neben der Energetik, auch in dieser Hinsicht praktisch ausgeschlossen werden. Die immer größer werdende Aufspaltung der Bande A mit steigender Alkalimasse zeigt auch, dass sowohl O2 als auch O4+ Isomere Anteile am Spektrum besitzen.

Der Vergleich der berechneten mit den IRMPD Spektren ergibt schließlich die genaue Zuordnung der Banden A und B, die den beiden C=O Streckschwingungen entsprechen (Abbildung II.4.3). Bande A ist dabei zum einen der freien C=O Streckschwingung $\nu^{f}_{C=O}$, des O4+ Isomers (also $\nu_{C2=O}$) zugeordnet, zum anderen der $\nu_{C4=O}$ Schwingung im O2 Isomer. Dementsprechend wird Bande B der gebundenen C=O Streckschwingung $\nu^{b}_{C=O}$ zugeordnet, also $\nu_{C4=O}$ im Falle des O4+ Isomers und $\nu_{C2=O}$ im Falle des O2 Isomers. Die Aufspaltungen der Banden A und B sind in den berechneten Spektren etwas größer als im Experiment.

Die berechneten Spektren jedes M^{+}LC Isomers mit Metallierung an den C=O Stellen weisen im Bereich um 1800 cm^{-1} jeweils nur eine Schwingung auf. Die Aufspaltung dieser Bande für Alkaliionen K^{+}–Cs^{+} bedeutet somit, dass hier beide Isomere experimentell nachweisbar sind. Für Li^{+}LC und Na^{+}LC ist die Aufspaltung nicht zu beobachten, weswegen hier nicht klar ist, ob beide Isomere einen Anteil am Spektrum haben. Auch ist der Energieunterschied zwischen den beiden stabilsten Isomeren für diese Metalle ungleich höher, weswegen die Population des weniger stabilen Isomers stark abnehmen könnte. Jedoch kann eine höhere Bindungsenergie dazu führen, dass die spektrale Verbreiterung durch den IRMPD Prozess ansteigt und spektrale Komponenten eines anderen Isomers hier einfach überdecken (Kapitel II.2.1). Eine hochauflösende Messmethode würde hier für Aufklärung sorgen.

Auf den ersten Blick verwundert das offensichtliche Auftreten der beiden Isomere O2 und O4, denn aufgrund der berechneten freien Bindungsenergieunterschiede von 29 kJ/mol für Cs^{+}LC bis 68 kJ/mol für Li^{+}LC ist eine solche Population bei Raumtemperatur nicht (unbedingt) zu erwarten. Entweder repräsentiert dieses Isomerverhältnis das in der Lösung befindliche und wird durch den ESI-Prozess für die anschließende Messung mehr oder minder konserviert, oder aber es entsteht beim Ionenübergang von der Atmosphäre ins Vakuum durch die hierbei auftretenden Restgaskollisionen. Auch die Möglichkeit, dass der ESI-Prozess selbst zu diesem Verhältnis beiträgt, kann nicht ausgeschlossen werden. Auch wenn in den Spektren

für K^+LC bis Cs^+LC die Aufspaltung ziemlich deutlich zu beobachten ist, kann über das Populationsverhältnis beider Isomere wegen der Nichtlinearität des IRMPD Prozesses nur eine vage Aussage getroffen werden. In Abbildung II.4.4 wurden die gerechneten Spektren beider O-gebundenen Isomere in ihren Verhältnissen so lange variiert, bis die Aufspaltung der Bande um 1800 cm^{-1} optisch mit den experimentellen gut übereinstimmt. Bei dieser Anpassung werden jedoch sowohl die Intensitäten der Bande B über- und die der Bande C (bis auf Cs^+LC) unterbewertet. Zudem ergibt sich, dass die weniger stabilen O2 Isomere doppelt so häufig vorkommen wie die stabilsten O4+ Isomere, was energetisch schwierig zu erklären ist. Spektren an kalten M^+LC Ionen könnten hier zur Aufklärung beitragen.

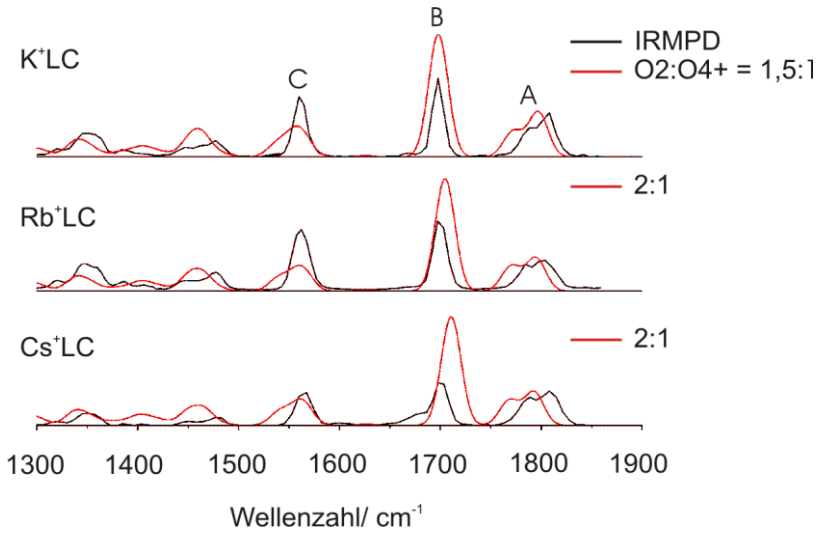

Abbildung II.4.4. Versuch, das Populationsverhältnis zwischen den O2 und O4+ Isomeren grafisch zu ermitteln. Die berechneten spektralen Verhältnisse der O2 und O4+ Isomere von M^+LC mit M = K–Cs werden dabei so lange variiert, bis die Form der Bande um 1800 cm^{-1} (Peak A) dem experimentell ermittelten entspricht. Durch dieses Verfahren würde das energetisch höhere O2 Isomer häufiger vorkommen als das stabilste O4+ Isomer. Die Intensitäten der anderen Banden werden durch diese Methode allerdings weniger gut wiedergegeben.

Der Vollständigkeit halber werden auch Metallionen-Komplexe des energetisch um ΔE = 53,5 kJ/mol niedrigeren LC Tautomers, dem so genannten iso-LC, in die Auswertung mit einbezogen. Bei diesem Tautomer bewegt sich das Proton von der N1 zur N10-Position. Trotz der hohen Energiedifferenz kann es in der Lösung zur Population dieser Isomere kommen, z. B. durch Lösungsmittel unterstütze Stabilisierungseffekte. Durchgeführte Testrechnungen ergeben für Li^+ iso-LC Komplexe mit 269 und 262 kJ/mol energetisch vergleichbar stabile O4+ und O2 Isomere wie für Li^+LC (272 und 204 kJ/mol). Die resultierenden Spektren sehen denen von Li^+LC

als auch den gemessenen IRMPD Spektren nicht ähnlich (Abbildung C.4). Aus diesem Grund kann ein Beitrag von Li^+ iso-LC zu den im Experiment gemessenen Peaks ausgeschlossen werden. Das ist auch für alle anderen Alkaliion-LC-Komplexe der Fall.

Auch der Vergleich mit dem im letzten Kapitel beschriebenen H^+LC (Kapitel II.3.1) soll hier aufgeführt werden. Dieses bindet vorrangig an der N5-Position und bildet hier, aufgrund der geringen Größe des Protons keine Chelatkonfiguration mit dem Sauerstoff der C4=O Bindung aus. Das energetisch nächst höhere O4+ Isomer ist zu letzterem um ca. 20 kJ/mol weniger stabil, hat jedoch eine zu den M^+LC@O4+ Isomeren ähnliche Struktur, obwohl die Protonenbindung weitaus stabiler ist (914 kJ/mol). Da im IRMPD Spektrum von H^+LC nur das N5 Isomer identifiziert wird, sieht dieses wegen der fehlenden gebundenen C=O Streckschwingungen den M^+LC Spektren wenig ähnlich. Trotzdem lassen sich die für H^+LC@O4+ vorhergesagten Parameter für die Strukturen, Vibrationen und Energien als Funktion des inversen Ionenradius erhalten, wenn man die entsprechenden Werte für M^+LC@O4+ extrapoliert (Abbildung C.5–C.7 im Anhang).

4.2 Münzmetallionen-Lumichrom-Komplexe

Die Analyse der M^+LC wird in diesem Kapitel auf Ag^+ ausgeweitet, denn geschlossenschalige Münzmetallionen besitzen eine Elektronenkonfiguration ($d^{10}s^0$) die derer der Alkaliionen sehr ähnlich sind (p^6s^0). Während letztere jedoch ihre Bindungen hauptsächlich durch elektrostatische bzw. Polarisationskräfte eingehen, kommt es bei Münzmetallen zu einer zusätzlichen orbitalen Wechselwirkung, die sich aus einer sd-Hybridisierung ($d^{10-x}s^x$) ergibt. Dies wiederum führt zu einem verstärkten kovalenten Anteil an den M^+LC Bindungen.

Beobachtet und ausgewertet wurden solche Orbitalwechselwirkungen bereits mehrfach bei der Bindung von Ag^+ an Phenol, Pyridin und polyzyklischen aromatischen Hydrokarbonaten mit Hilfe von IR(M)PD Spektroskopie und quantenchemischen Berechnungen.[57,209,210] Die hier gemachten Erfahrungen fließen in die weitere Analyse mit ein und helfen, die erzielten Ergebnisse besser zu verstehen.

Die sich für LC errechnete Ionisationsenergie von 7,99 eV ist etwas höher als die des Ag (IE = 7,58 eV[208]), weswegen der Hauptteil der Ladung auf dem Metall bleibt. Wegen der sehr ähnlichen Ionisationsenergien scheint es jedoch möglich, dass durch Ladungstransferwechselwirkung mit dem π-HOMO des LC auch π-Komplexe

von Ag^+LC stabilisiert werden können. Aus diesem Grunde werden für die theoretische Betrachtung mögliche π-Isomere mitberücksichtigt. Aus Berechnungen ergibt sich, dass das planare Ag^+LC@O4+, mit einer Chelatierung zu N5 und O4 das energetisch stabilste Isomer mit G = 260 kJ/mol ist. Interessanterweise lässt sich noch ein zweites O4 gebundenes Isomer finden, bei dem die O4-Ag^+ Bindungsrichtung vom N5 weg gerichtet ist. (O4- Isomer)

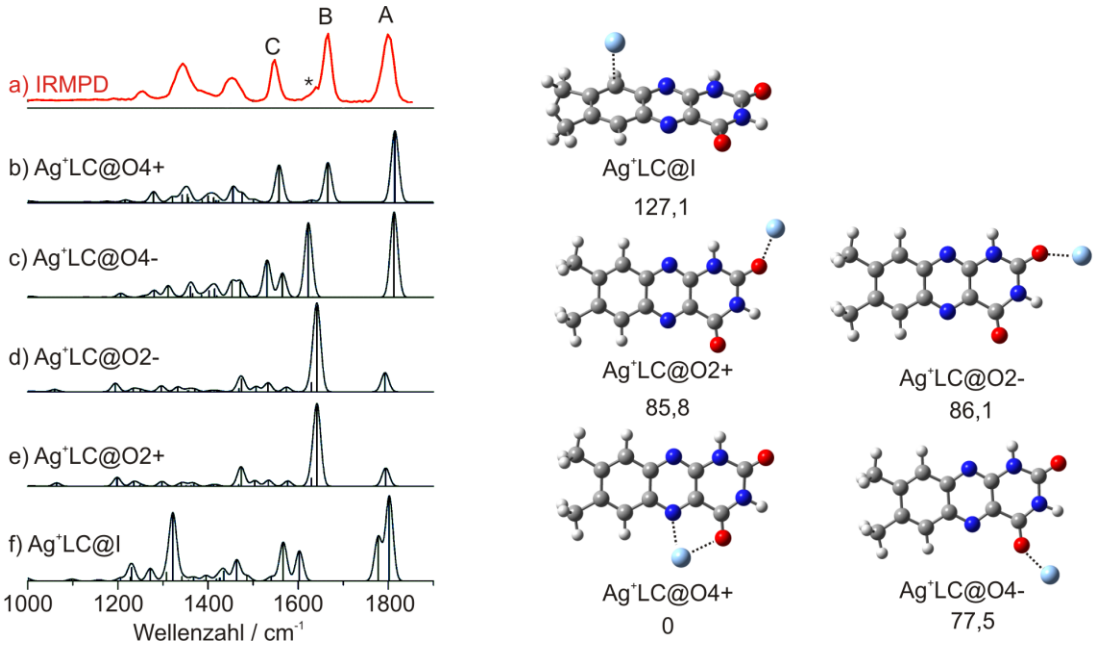

Abbildung II.4.5. IRMPD Spektrum von Ag^+LC (a) im Vergleich zu den mit B3LYP/cc-pVDZ berechneten IR Spektren von Ag^+LC@O4+ (b), Ag^+LC@O4- (c), Ag^+LC@O2- (d), Ag^+LC@O2+ (e), und Ag^+LC@I (f). Die Strukturen und relativen Gibbs-Energien (in kJ/mol) sind auf der rechten Seite zu finden. Die berechneten Strichspektren werden mit 0,973 skaliert und mit einer Gaußfunktion mit einer Halbwertsbreite von 20 cm^{-1} gefaltet.

Dieses als Ag^+LC@O4- bezeichnete Isomer ist jedoch wegen der fehlenden zusätzlichen N5 Bindung um ΔG = 77,5 kJ/mol weniger stabil. Solch ein Bindungsverhalten weg von der N5 Stelle wird für die Alkaliionen nicht beobachtet. Auch scheinen Ag^+ Ionen allgemein, wie auch schon die Protonen, gewinkelte Bindungen zu C=O Gruppen in LC zu bevorzugen. Gleiches gilt für die zwei gefundenen O2 Isomere Ag^+LC@O2+ und Ag^+LC@O2-, bei denen Ag^+ in einer gewinkelten Konfiguration bezüglich C=O steht. Alkaliionen hingegen bilden in den O2 Konfigurationen der M^+LC lineare Anordnungen wegen der fehlenden zusätzlichen Bindung eines der beiden benachbarten N Atome. Die durch Ag^+ bevorzugte gewinkelte Konfiguration kann als ein erster Hinweis für den zusätzlichen Anteil kovalenter Bindungen angesehen werden.

Die drei σ-gebundenen Komplexe O4-, O2+ und O2- haben näherungsweise dieselbe Bindungsenergie (174–183 kJ/mol). Die bereits angesprochene Suche nach einem π-gebundenen Komplex ergibt ein stabiles Minimum, in dem das Ag^+ Ion an die C9 Stelle des Benzen-Ringes bindet (Ag^+LC@I).

Das IRMPD-Spektrum und alle berechneten IR Spektren, sowie die hierzu gehörenden Strukturen werden in Abbildung II.4.5 dargestellt und verglichen. Die hierzu ermittelten relevanten Daten wiederum werden in den Tabelle II.4-2 Tabelle II.4-4 in Kapitel II.4.1 gegenübergestellt. Während sich die O4± Isomere aufgrund der zusätzlichen N5 Bindung von O4+ spektral voneinander unterscheiden, sehen die Spektren der O2± Isomere annähernd gleich aus. Wegen der fehlenden Metallbindung an einer der C=O Gruppen sieht das Ag^+LC@I Spektrum, wie schon im Fall der Alkalimetalle, dem experimentellen Spektrum wenig ähnlich.

Der direkte Vergleich der berechneten IR Spektren mit den experimentellen IRMPD Spektrum zeigt für Ag^+LC@O4+ die beste Übereinstimmung, vor allem für die Banden A–C. Andere Isomere haben, wenn überhaupt, nur einen kleinen Anteil an der experimentell untersuchten Population. Die Schulter auf der roten Seite der Bande B, die mit einem Sternchen markiert ist, kann auf die Anwesenheit der Isomere O4- und/oder O2± hindeuten, was wegen der hohen Energiedifferenz jedoch unwahrscheinlich ist.

Ein anderer interessanter Aspekt ist, dass sich die beiden Spektren für Li^+LC und Ag^+LC annähernd gleichen. Sowohl die experimentellen IRMPD als auch die berechneten IR Spektren für die O4+ Isomere stimmen annähernd überein wie in Abbildung II.4.6 zu sehen ist. Solche Gemeinsamkeiten zwischen Ag^+ und Li^+ Komplexen wurden bereits früher bei bioorganischen Molekülen wie Arginin und Tryptophan beobachtet.[26,211] In der Tat sind die berechneten Bindungsenergien für die O4 Isomere auch sehr ähnlich, (272 und 262 kJ/mol für Li^+LC und Ag^+LC), weswegen der Einfluss auf die C=O Streckschwingung und demzufolge auf die Spektren ähnlich sind. Auch wenn diese Gleichnisse auf den ersten Blick erstaunlich wirkt, so scheint sie doch wegen der gleichen Bindungsenergien von Ag^+ und Li^+ zu LC zufälliger Natur zu sein. Ein Beleg hierfür liegt in den unterschiedlichen Bindungsabständen der beiden Metalle zum LC. Wegen des viel größeren Ionenradius des Ag^+ im Vergleich zum Li^+ (115 und 76 pm) sind auch die entsprechenden Bindungsabstände zwischen M^+-O4 und M^+-N5 bei Ag^+LC@O4+ größer als bei Li^+LC@O4 (R_{MO4} = 232 und 187 pm und R_{MN5} = 230 und 206 pm).

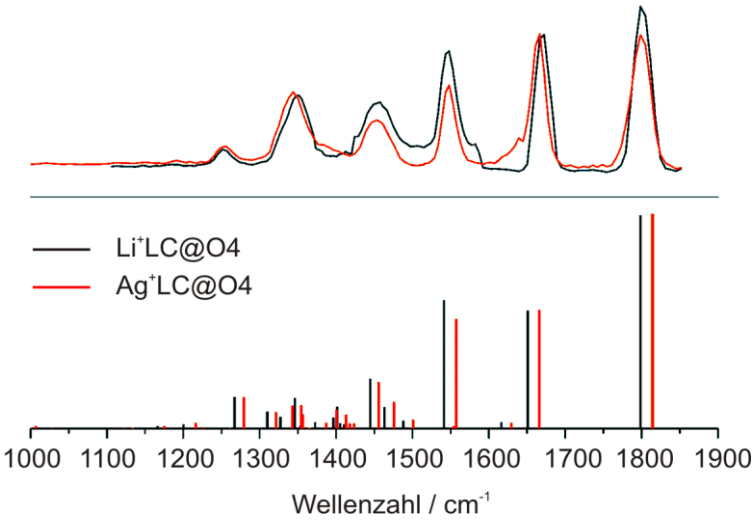

Abbildung II.4.6. Sowohl die gemessenen IRMPD Spektren von Ag^+LC und Li^+LC (oben) als auch die berechneten IR Strichspektren von Ag^+LC@O4+ sowie Li^+LC@O4 sehen sich sehr ähnlich, obwohl die Bindungsmechanismen zum LC verschieden sind.

Dies lässt, wie eingangs erwähnt, auf ein stark unterschiedliches Bindungsverhalten schließen. Während die Bindung von Li^+ sowie aller anderen Alkaliionen an LC hauptsächlich durch elektrostatische sowie Polarisationskräfte erfolgt, gibt es bei der Bindung von Ag^+LC noch einen kovalenten Beitrag. Ein näherer Blick in die M^+-O4 und M^+-N5 Abstände von M^+LC Komplexen als Funktion des inversen Ionenradius $1/R_M$ (Abbildung C.7) zeigt, dass Ag^+ eine teilweise verstärkte Affinität zum N5 Atom besitzt, wohingegen die O4 Abstände normal verlaufen. Offensichtlich bildet das Ag^+ eine verstärkte Anziehung zum freien Elektronenpaar des N5 aus. Über solche verstärkten Bindungen des Ag^+ mit N im Vergleich zu O wurde erst kürzlich berichtet.[212,213]

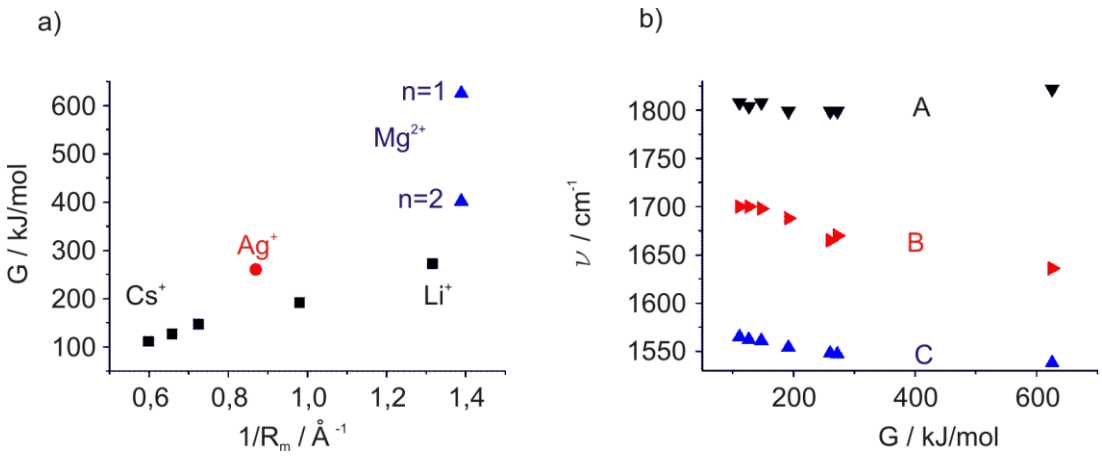

Abbildung II.4.7.a) Darstellung der Gibbs-Energie der O4+ Isomere von M^+LC (M = Li–Cs) (schwarze Quadrate), Ag^+LC (roter Kreis) und $Mg^{2+}LC_n$ (blaue Dreiecke) für n = 1 und 2 als Funktion des inversen Ionenradius der Metallionen. **b)** Positionen der Banden A–C der IRMPD Spektren für $M^{q+}LC_n$ als Funktion der Gibbs-Energie der O4+ Isomere.

In Abbildung II.4.7.a) sind die Gibbs-Energien der O4+ Isomere für entsprechende M^+LC als Funktion des inversen Ionenradius von M^+ aufgetragen. Für die Alkalimetalle ergibt sich eine monotone, annähernd lineare Abhängigkeit wie sie für die hauptsächlich auf Coulomb-Anziehung basierende Wechselwirkung zu erwarten ist. Von diesem linearen Trend weicht Ag^+LC hingegen wegen der zusätzlichen kovalenten Wechselwirkung ab. Andererseits zeigen die Positionen der Banden A–C in den IRMPD-Spektren von M^+LC (M = Li–Cs) und Ag^+LC eine monotone Abhängigkeit als Funktion der Gibbs-Energie. Dies deutet darauf hin, dass die Verschiebungen der Vibrationsfrequenzen sensitive Indikatoren für die Bindungsstärke der Alkaliionen und Ag^+ sind (Abbildung II.4.7.b).

4.3 Magnesium-Lumichrom-Komplexe

Um auch den Einfluss der Ladung auf das $M^{q+}LC$ Bindungsverhalten zu verstehen, sollten die Untersuchungen an $M^{2+}LC$ Dimeren mit M = Mg, Cu und Ba weitergeführt werden. Die Präparierung dieser Komplexe durch die ESI-Quelle misslang jedoch. Stattdessen zeigte sich im Fall des Mg im Massenspektrum die Erzeugung des Trimers $Mg^{2+}LC_2$, welches mittels IRMPD und quantenchemischer Rechnungen charakterisiert wird (Abbildung II.4.8).

Im Gegensatz zu den bisher betrachteten M^+LC Komplexen, deren Hauptfragment nach IRMPD (bis auf Li^+LC) das Metallion selbst ist, trifft dies für $Mg^{2+}LC_2$ nicht zu.

Der Hauptfragmentationskanal beinhaltet eine Ladungstrennung, die zu $MgOH^+LC$ und $LC\text{-}OH^+$ Fragmentionen führt. Das experimentelle IRMPD-Spektrum sieht dabei den anderen gemessenen M^+LC Spektren ähnlich (Abbildung II.4.2.). Der Hauptunterschied ist die größere Aufspaltung der beiden C=O Streckschwingungen (A und B) die aus der stärkeren Interaktion der zweifachen Ladung herrührt. Diese Aufspaltung deutet wieder auf eine Bindung des Mg^{2+} an eine der C=O Gruppen des LC hin, weswegen hier auf eine intensive Suche nach π-Komplexen verzichtet wird.

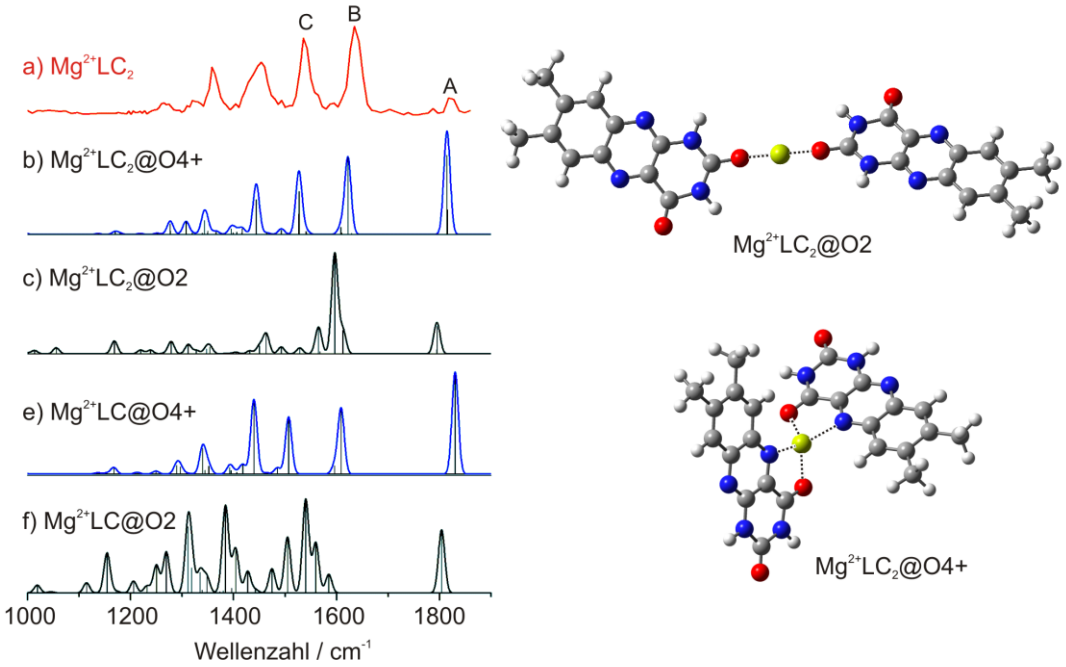

Abbildung II.4.8. links) IRMPD-Spektrum von $Mg^{2+}LC_2$ (rot/a) im Vergleich zu den linearen Strichspektren von $Mg^{2+}LC_n@O4+$ (blau/b,e) und $Mg^{2+}LC_n@O2$, mit n = 1 und 2.(schwarz/c,f). Die Berechnungen werden mittels B3LYP/cc-pVDZ durchgeführt. Die Strichspektren sind mit einem Faktor von 0,964 skaliert und mit einer Gaußfunktion mit einer Halbwertbreite von 20 cm^{-1} gefaltet. Die Intensität der Bande A im IRMPD-Spektrum ist durch die geringe Laserleistung in diesem Bereich reduziert (Abbildung C.1 im Anhang). **rechts)** Strukturen der berechneten $Mg^{2+}LC_2@O4+$ (oben) und $Mg^{2+}LC_2@O2$.

Da der Rechenaufwand für die Suche eines stabilen Trimers sehr aufwändig ist, wird zu Beginn, auf Basis der bisherigen M^+LC Ergebnisse eine Isomerensuche zunächst für die $Mg^{2+}LC$ Dimere begonnen. Wie schon bei den einfach geladenen Komplexen ist das gefundene $Mg^{2+}LC@O4+$ Isomer energetisch viel stabiler als $Mg^{2+}LC@O2$ (G = 803 und 632 kJ/mol). Dieselben Effekte und Trends, die bereits für die Alkaliion-LC Komplexe in Kapitel II.4.1 beschrieben werden, gelten auch für die $Mg^{2+}LC@O2/O4+$ Isomere, jedoch verstärkt durch die doppelte Ladung (Tabelle II.4-2 Tabelle II.4-4, Abbildung II.4.7 und Abbildung C.5 bis C7 im Anhang). Dementsprechend ist auch der Ladungstransfer vom Mg^{2+} Ion zum LC viel größer als bei

M^+LC (Δq_M = 293 und 560 me für O4+ und O2 Isomere), auch wenn es hier keinen direkten Zusammenhang zwischen der Bindungsenergie und dem Ladungstransfer zwischen beiden $Mg^{2+}LC$ Isomeren gibt. Dies kann durch verschiedene Hybridisierungsschemen, bedingt durch lineare bzw. chelater Bindung des Mg^{2+} an LC herrühren. Durch den zu Li^+ (R_M = 76 pm) ähnlichen Ionenradius von Mg^{2+} (R_M = 72 pm) sind auch die entsprechenden M-N und M-O Bindungsabstände sowie deren Bindungswinkel für beide Isomere O2 und O4 ähnlich. Die doppelte Ladung in $Mg^{2+}LC$ führt zu einer wesentlich stärkeren Interaktion als in Li^+LC (G = 803 und 272 kJ/mol) und einem entsprechend starken Einfluss auf die C=O Bindungseigenschaften, was größere Bindungslängen und stärkere Frequenzverschiebungen nach sich zieht.

Auf der Basis der berechneten $Mg^{2+}LC$ Dimere werden Berechnungen für die gesuchten $Mg^{2+}LC_2$ Trimere vorgenommen, in der das Mg^{2+} an beiden LC jeweils an der gleichen Stelle bindet, und zwar entweder jeweils an der C2=O oder an der C4=O Gruppe. Die gefundenen Isomere sind somit nach dem gleichen Schema wie die M^+LC Isomere mit $Mg^{2+}LC_2$@O4+ bzw. $Mg^{2+}LC_2$@O2 bezeichnet. Im stabileren $Mg^{2+}LC_2$@O4+ Isomer geht das Mg^{2+} mit den jeweiligen O2 bzw. N5-Atomen der beiden LC Moleküle eine vierfache Bindung ein. Dabei schließen die beiden planaren LC Einheiten einen Winkel von 69° ein. Die totale Gibbs-Energie dieses Komplexes beträgt G = 1251 kJ/mol, was eine Gibbs-Energie pro LC-Ligand von 625,5 kJ/mol ergibt. Das ist viel kleiner ist als jene des $Mg^{2+}LC$@O4+ Dimers (G = 803 kJ/mol). Solche nicht kooperativen Effekte sind üblich bei sequentieller Solvatation geladener Ionen[214] und ergeben sich aus einer erhöhten Delokalisierung der Ladung sowie nicht kooperativer Induktionskräfte. Der Ladungstransfer vom Mg^{2+} zum LC beträgt im Fall des $Mg^{2+}LC$ Dimers Δq = 293 me und für das $Mg^{2+}LC_2$ Trimer Δq = 504 me. Dies führt beim Trimer zu längeren Mg^{2+}-LC Bindungsabständen und zu geringeren Effekten auf die C=O Streckschwingungsverschiebungen im Vergleich zum Dimer. Trotz alledem sehen sich die Spektren des $Mg^{2+}LC$@O4+ Dimers und des entsprechenden Trimers sehr ähnlich (Abbildung II.4.8). Besonders das Nichtauftauchen intensiver Banden nach der Komplexierung mit einem zweiten LC zeugt davon, dass die Kopplung zwischen den beiden LC Liganden recht schwach ist. Die Tatsache, dass sich die IR Spektren des $Mg^{2+}LC$@O4+ Dimers sowie des $Mg^{2+}LC_2$@O4+ Trimers sehr ähneln, lässt den Schluss zu, dass die beiden LC Einheiten sehr schwach gekoppelt sind.

Im weniger stabilen $Mg^{2+}LC$@O2 Isomer bindet das Mg^{2+} nur an die jeweiligen O2 Atome der beiden LC Liganden, wobei die beiden C=O Bindungen kollinear verlaufen. Die beiden planaren LC Einheiten schließen wiederum einen Winkel von 40°

ein. Die sich ergebende Bindungsenergie des Mg^{2+} pro LC ist mit 497 kJ/mol wieder wesentlich geringer als die des Mg^{2+}LC@O2 Dimers (G = 632 kJ/mol). Auch führt die geringere Bindungsenergie pro Ligand im $Mg^{2+}LC_2$@O2 Trimer wieder zu verlängerten Metall-Ligand-Bindungen und demzufolge zu schwächeren Wechselwirkungen mit den C=O Gruppen.

Die beiden IR Spektren der vorhergesagten Isomere $Mg^{2+}LC_2$@O4+ und $Mg^{2+}LC_2$@O2 sind recht verschieden und nur das des $Mg^{2+}LC_2$@O4+ Trimers stimmt recht gut mit dem experimentell gemessenen IRMPD-Spektrum überein (Abbildung II.4.8.). Der Hauptunterschied zu den berechneten Spektren ist die geringe Intensität der Bande A im gemessenen Spektrum. Diese kann auf die geringe Laserintensität in diesem Frequenzbereich zurückgeführt werden (Abbildung C.1 im Anhang). Da der IRMPD Prozess nichtlinear ist, kann auch eine Normierung auf die Laserintensität im Bereich der IRMPD Schwelle nicht die reellen Intensitäten der spektralen Peaks vollständig wiedergeben (Kapitel II.2.1). Ein eventueller Beitrag des $Mg^{2+}LC_2$@O2 ist in dem IRMPD-Spektrum nicht nachweisbar.

Der Vergleich der M^+LC mit den $Mg^{2+}LC_2$ Spektren zeigt deutlich den Einfluss der Metallladung auf die spektralen Eigenschaften des LC (Abbildung II.4.2 und Abbildung II.4.7). Während Li^+ und Mg^{2+} annähernd den gleichen Ionenradius haben, werden die spektralen Verschiebungen durch die doppelte Ladung weitaus größer.

4.4 Alkalimetallionen-Lumiflavin-Komplexe

In diesen Abschnitt werden die M^+LC Studien durch die Analyse von M^+LF Komplexen erweitert. Hierdurch soll der Einfluss der zusätzlichen Methylgruppe am N10 Atom und das fehlende H Atom an N1 auf die bevorzugte Bindungsposition bei Metallierung untersucht werden. Die Ergebnisse dieser Studie sind bereits in Referenz [166] publiziert. Die Untersuchung der Metallierung von LF erfolgt in diesem Kapitel durch Alkalimetallionen (Li^+–Cs^+) bevor die Analyse auf Münzmetalle (Cu-Au) in Kapitel II.4.5 ausgeweitet wird.

Die IRMPD-Spektren aller vermessenen M^+LF Komplexe werden in Abbildung II.4.9 mit denen des H^+LF Komplexes aus Kapitel II.3.2 verglichen. Auffallend ist bei allen gemessen Spektren ein dominantes Doublet im Bereich zwischen 1520–1580 cm^{-1} (C1 und C2).

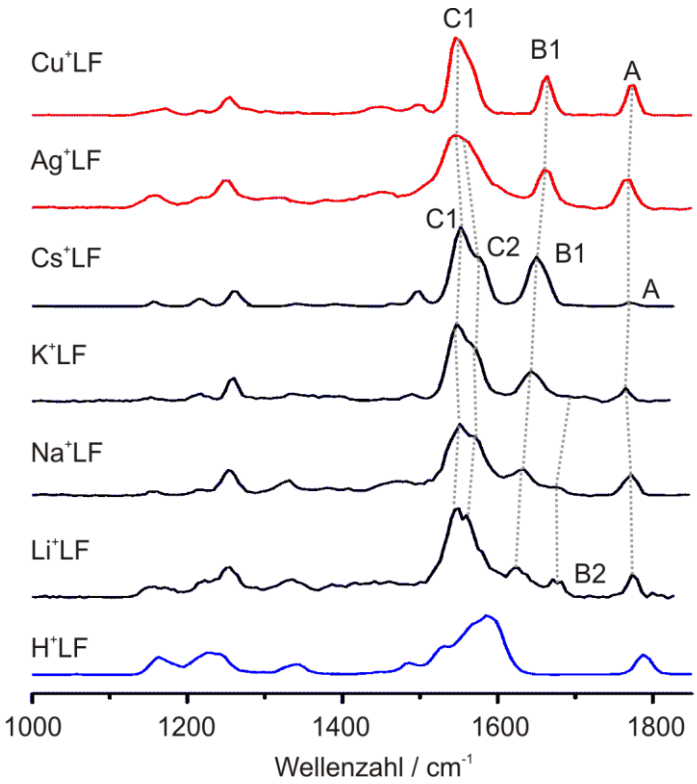

Abbildung II.4.9. Gemessene IRMPD Spektren für M^+LF mit Alkalimetallen M = Li–Cs (schwarz) und Münzmetallen M = Cu, Ag (rot) im Vergleich zu H^+LC (blau). Die Peak Positionen der Banden A–C sowie deren Zuordnungen sind in Tabelle II.4-5 gelistet.

Dieses wird mit Hilfe der DFT Rechnungen als gekoppelte C-C/C-N Streckschwingung identifiziert und mit ν_{CN} und $\nu_{CN}{}'$ bezeichnet. Das Doublet ist für Na^+, K^+ und Cs^+ deutlich als solches erkennbar, wohingegen es für Li^+, Cu^+ und Ag^+ nicht aufgelöst ist. Die spektrale Aufspaltung zwischen C1 und C2 (22–25 cm^{-1}) hängt dabei nur wenig von M^+ ab.

Die drei weiteren Peaks zwischen 1600–1800 cm^{-1}, die im Spektrum als A, B1 und B2 markiert werden, sind die beiden C=O Streckmoden $\nu_{C2=O}$ und $\nu_{C4=O}$. In der Varianz dieser fünf Peaks (A, B1/2, C1/2) liegen die Indikatoren für die verschiedenen im Experiment auftauchenden Isomere, mit deren Hilfe die einzelnen Bindungsstellen der Metallionen unterschieden werden können (Abbildung II.4.10).

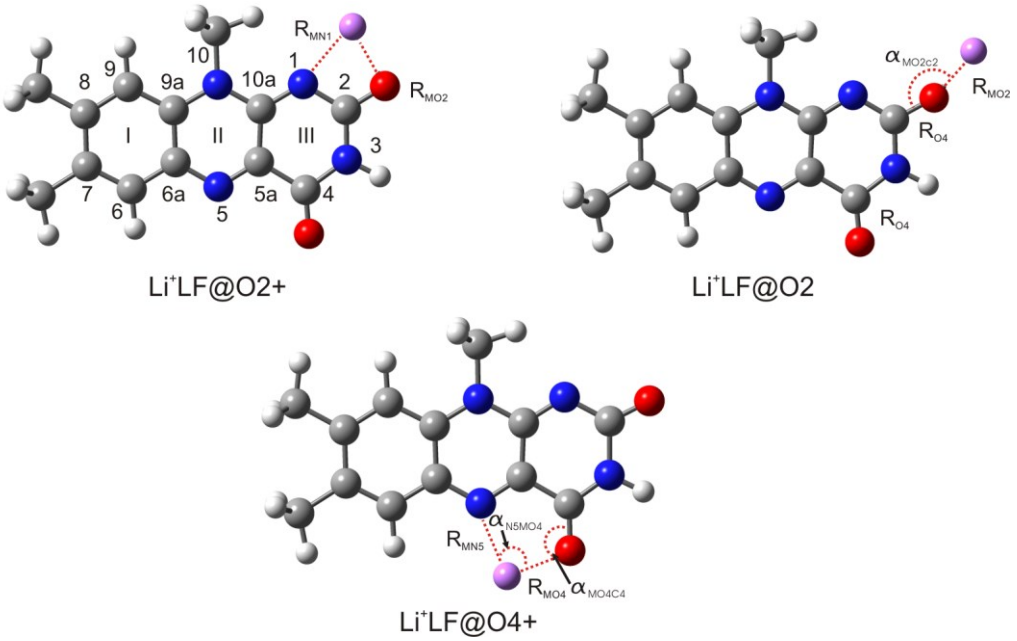

Abbildung II.4.10. Strukturen der planaren O2+, O2 und O4+ Isomere von M^+LF mit Alkalionen (illustriert für M = Li). Die Ringatome, ausgesuchte Bindungsabstände und Winkel sind (nach IUPAC) bezeichnet.

Die Bande um 1770 cm^{-1} (A) wird hier als freie C=O Streckschwingung identifiziert, die sich mit steigender Masse von Li^+ zu K^+ zu tieferen Frequenzen hin verschiebt. Die von Li^+ zu Cs^+ mit steigender Alkalimasse abnehmenden relativen Intensitäten dieser Bande kann nur bedingt durch einen signifikanten Verlust der Laserleistung innerhalb dieses Frequenzbereiches hin erklärt werden (Abbildung C.1 im Anhang). Die Bande B1 ist der gebundenen C=O Streckschwingung zugeordnet und liegt für Li^+LF bei ca. 1627 cm^{-1}. Sie verschiebt sich mit größer werdender Alkalimasse zu höheren Frequenzen und endet für Cs^+LF bei 1652 cm^{-1}. Die zweite, weniger ausgeprägte Bande B2 ist einer gebundenen C=O Streckschwingung eines anderen Isomers zugeordnet. Diese Bande taucht nur bei Li–K zwischen 1675–1702 cm^{-1} auf. Im Cs^+LF Spektrum ist sie hingegen nicht zu sehen.

Mit Hilfe von B3LYP/cc-pVDZ Rechnungen werden für Li^+LF fünf stabile Isomere identifiziert. Drei von ihnen werden durch starke σ-Bindungen des Li^+ an die O4+, O2+ und O2-Position geformt (Abbildung II.4.10). Die resultierenden Bindungsenergien sind entsprechend 277, 270 und 261 kJ/mol. Bei den beiden anderen mit I bzw. N10 bezeichneten Isomeren ist Li^+ an LF π-gebunden (Abbildung C.8 im Anhang). Die Bindungsenergie ist hier deutlich geringer mit Werten von 94 bzw. 55 kJ/mol.

Tabelle II.4-5. Peakpositionen der drei dominanten Banden (A–C) in den IRMPD-Spektren von M^+LF (Abbildung II.4.9) sowie deren zugeordneten Vibrationen und Isomerzugehörigkeit.

	Bandenposition cm^{-1}	Zuordnung Vibration + Isomer
Li^+LF	1775 (A)	$\nu_{C2=O}$ (O4+) / $\nu_{C4=O}$ (O2(+))
	1675 (B2)	$\nu_{C4=O}$ (O4+)
	1627 (B1)	$\nu_{C2=O}$ (O2(+))
	1552 (C1)	ν_{CN} (O4+/O2(+))
Na^+LF	1771 (A)	$\nu_{C2=O}$ (O4+) / $\nu_{C4=O}$ (O2(+))
	1676 (B2)	$\nu_{C4=O}$ (O4+)
	1631 (B1)	$\nu_{C2=O}$ (O2(+))
	1573 (C2)	ν_{CN} (O4+)
	1548 (C1)	ν_{CN}'(O2(+))
K^+LF	1765 (A)	$\nu_{C2=O}$ (O4+) / $\nu_{C4=O}$ (O2(+))
	1702 (B2)	$\nu_{C2=O}$ (O4+)
	1644 (B1)	$\nu_{C2=O}$ (O2(+))
	1569 (C2)	ν_{CN} (O2(+))
	1547 (C1)	ν_{CN}'(O4+)
Cs^+LF	1776 (A)	$\nu_{C4=O}$ (O2)
	1652 (B1)	$\nu_{C2=O}$ (O2)
	1577 (C2)	ν_{CN} (O2)
	1552 (C1)	ν_{CN}'(O2)
Ag^+LF	1766 (A)	$\nu_{C2=O}$ (O4+)
	1662 (B1)	$\nu_{C4=O}$ (O4+)
	1552 (C1)	ν_{CN} (O4+)
Cu^+LF	1773 (A)	$\nu_{C2=O}$ (O4+)
	1663 (B1)	$\nu_{C4=O}$ (O4+)
	1552 (C1)	ν_{CN} (O4+)

Die starken Bindungsenergieunterschiede der σ-Isomere gegenüber den π-gebundenen Isomeren erklärt sich direkt durch die starke elektrostatische Wechselwirkung der M^+ mit den negativ geladenen, nukleophilen O2 und O4 Atomen. Beim Vergleich der hierzu berechneten IR mit den IRMPD-Spektren stellt sich heraus, dass nur die berechneten Spektren der O2(+) und O4(+) Isomere mit den gemessenen Spektren übereinstimmen (Abbildung C.9). Bei den π-Isomeren treten zwei intensive C=O Streckschwingungsbanden nahe 1750 cm^{-1} in Erscheinung, welche im Experiment nicht auszumachen sind. Auch die geringen Bindungsenergien führen dazu, diese π-Isomere für die weitere Analyse auszuschließen, auch in Bezug auf die anderen M^+LF Komplexe. Somit reduziert sich die Anzahl der zu betrachtenden Isomere pro M^+ auf die O2(+) und O4+ gebundenen Komplexe (Abbildung II.4.10).

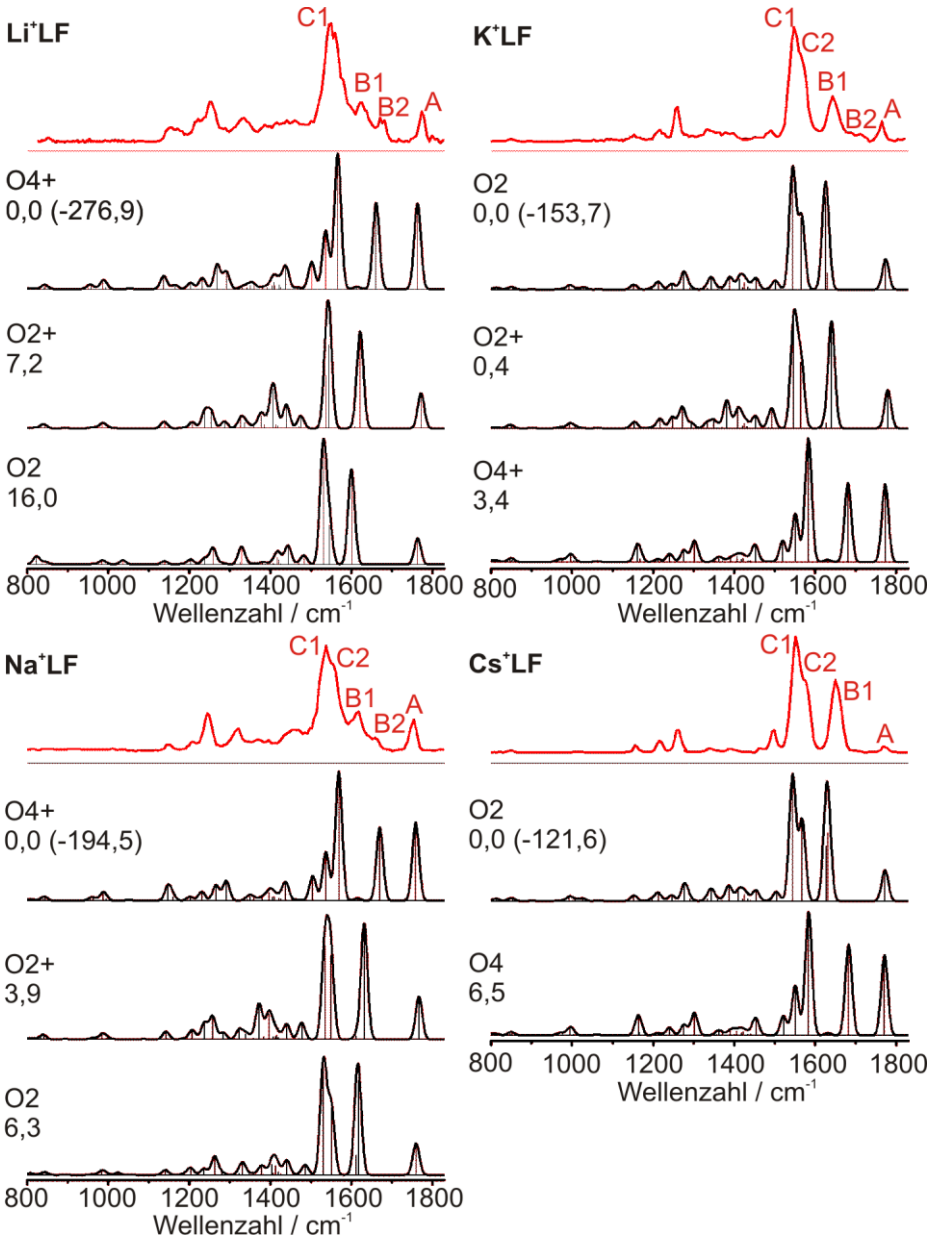

Abbildung II.4.11. Vergleich der experimentellen IRMPD Spektren von M^+LF Komplexen mit Alkalimetallen (M = Li–K, Cs) mit berechneten linearen IR Spektren für die jeweils energetisch niedrigsten Isomere (B3LYP/cc-pVDZ). Die Strichspektren sind mit einem Gaußprofil mit einer Halbwertsbreite von 20 cm^{-1} gefaltet und jeweils mit einem Faktor von 0,964 (Li-Na) bzw. 0,973 (K-Cs) skaliert. Die relativen (absoluten) Gibbs-Energien sind in kJ/mol angegeben.

In Abbildung II.4.11 werden die berechneten linearen IR Spektren der drei stabilsten M^+LF Isomere inklusive deren Bindungsenergien mit den entsprechenden IRMPD Spektren verglichen. Für Rb^+LF sind keine IRMPD Spektren wegen der limitierten Messzeit bei FELIX verfügbar, jedoch werden auch für diese Spezies Berechnungen durchgeführt (Abbildung C.11). Ein Vergleich der gemessenen mit den berechneten Spektren lässt vermuten, dass die B1 und B2 Übergänge den gebundenen

C=O Streckschwingungen derart zugeordnet werden können, dass B1 den C2=O Schwingungen der O2(+) Isomere entsprechen und B2 den C4=O Schwingungen der O4+ Isomere. Alle relevanten Strukturparameter, Vibrationseigenschaften und Energien sowie die Ladungsverteilung der O4+ und O2(+) Isomere aller hier behandelten M^+LF Komplexe sind in Tabelle II.4-6 bis II.4-10 aufgelistet und in Abbildung C.15 bis C.17 im Anhang als Funktion des inversen Ionenradius visualisiert.

Tabelle II.4-6. Für verschiedene M^+LF Isomere berechnete (B3LYP/cc-pVDZ) relative Bindungs- (Δ*E*) und relative (absolute) Gibbs-Energie Δ*G* (G). [a]

Alkalimetall	ΔG (G) kJ/mol	ΔE € kJ/mol	Münzmetall	ΔG (G) kJ/mol	ΔE (E) kJ/mol
Li^+LF@O4+	**0,0 (-276,9)**	**0,0 (-308,6)**	**Cu^+LF@O4+**	**0,0 (-350,2)**	**0,0 (-385,1)**
Li^+LF@O2+	+7,2	+11,9	Cu^+LF@O2+	+26,3	+30,5
Li^+LF@O2	+16,0	+20,0	Cu^+LF@O2-	+50,7	+55,3
Li^+LF@I	+183,2	+185,4	Cu^+LF@O4-	+75,6	+79,5
Li^+LF@N10	+221,9	+228,6	Cu^+LF@I	+164,1	+167,9
Na^+LF@O4+	**0,0 (-194,5)**	**0,0 (-226,1)**	**Ag^+LF@O4+**	**0,0 (-262,1)**	**0,0 (-295,9)**
Na^+LF@O2+	+3,9	+7,2	Ag^+LF@O2+	+3,0	+12,6
Na^+LF@O2	+6,3	+11,4	Ag^+LF@O2-	+37,9	+43,3
Na^+LF@I	+154,6	+159,6	Ag^+LF@O4-	+59,6	+63,7
			Ag^+LF@I	+151,3	+155,0
K^+LF@O2	**0,0 (-153.7)**	**0,0 (-180,7)**			
K^+LF@O2+	+0,4	+1,7	**Au^+LF@O4+**	**0,0 (-320,8)**	**0,0 (-354,9)**
K^+LF@O4+	+3,4	+0,5	Au^+LF@O2+	+1,8	+3,9
			Au^+LF@O2-	+26,6	+28,8
Rb^+LF@O2	**0,0 (-134,7)**	**0,0 (-161,5)**	Au^+LF@O4-	+51,8	+54,1
Rb^+LF@O4+	+4,8	+2,1	Au^+LF@I	+123,0	+127,0
Cs^+LF@O2	**0,0 (-121,6)**	**0,0 (-148,2)**			
Cs^+LF@O4+	+6.5	+2,4			

Das planare O4+ Isomer, in welcher M^+ eine Chelatverbindung zu den freien Elektronenpaaren des O4 und N5 eingeht, ist die stabilste M^+LF Struktur für die leichten Alkaliionen Li^+ und Na^+. Die Bindungsenergien (E) dieser Isomere verringert sich mit der Größe der Metallionen von 309 kJ/mol (Li^+) zu 148 kJ/mol (Cs^+) und die freien Energien folgen dem gleichen Trend (ΔG = 277–122 kJ/mol). Dem wachsenden Ionenradius und der einhergehenden Abnahme der Wechselwirkungsenergie (Tabelle II.4-6) steigt die Bindungslänge von M^+ zu den O4 bzw. N5 Atomen mit der Größe des Metallions an (Tabelle II.4-7). Da sich der Gleichgewichtsabstand des M^+

zu O4 und N5 mit steigendem Ionenradius vergrößert, verringert sich demzufolge der Chelatwinkel α_{N5MO4} (88–53°) wohingegen sich der Winkel α_{MO4N5} öffnet (111–134°).

Tabelle II.4-7. Bindungslängen und Winkel sowie skalierte C=O Streckfrequenzen für die M^+LF@O4+(-) Isomere berechnet auf dem Niveau von B3LYP/cc-pVDZ. Zusätzlich sind auch die Ionenradien von M^+ sowie entsprechende Daten für LF, LF^+ und H^+LF zum Vergleich mit gelistet.

	R_M[a] pm	R_{M-O4} pm	R_{M-N5} pm	$R_{C4=O}$ pm	α_{N5MO4} °	α_{MO4C4} °	$R_{C2=O}$ pm	α_{N3C2O2} °	$\nu_{C4=O}$[b] cm^{-1}	$\nu_{C2=O}$[b] cm^{-1}
LF				121,55			121,53	119,1	1740 (245)	1731 (699)
LF^+				120,67			120,91	122,1	1752 (146)	1671 (154)
H^+LF@O4+[d]	37	98,5	218,8	130,55	113,0	107,4	120,11	116,0	-[c]	1789 (788)
Li^+LF@O4+	76	184,3	208,5	125,10	87,8	110,8	120,51	117,3	1661 (565)	1763 (562)
Na^+LF@O4+	102	217,4	246,9	124,29	73,4	117,7	120,67	117,8	1670 (533)	1758 (569)
K^+LF@O4+	138	248,3	293,5	124,11	61,4	126,6	120,76	117,8	1680 (598)	1773 (588)
Rb^+LF@O4+	152	261,1	312,6	123,96	57,5	129,7	120,80	117,9	1685 (624)	1771 (592)
Cs^+LF@O4+	167	276,7	340,1	123,94	52,8	134,4	120,83	117,9	1682 (681)	1771 (604)
Cu^+LF@O4+	77	203,0	200,9	125,26	86,5	106,5	120,47	117,4	1666 (628)	1781 (552)
Cu^+LF@O4-	77	205,5	476,7	128,07	4,5	233,5	120,56	116,1	-[c]	1791 (777)
Ag^+LF@O4+	115	228,0	23,39	124,61	74,8	112,5	120,56	117,7	1671 (631)	1779 (552)
Ag^+LF@O4-	115	211,4	480,3	126,32	10,0	223	120,78	116,4	-[c]	1783 (759)
Au^+LF@O4+	137	239,1	222,2	124,19	75,0	108,7	120,51	117,8	1671 (640)	1779 (508)
Au^+LF@O4-	137	205,5	476,7	128,07	4,5	233,7	120,56	116,1	-[c]	1791 (766)

[a] Referenz [207]. Die Werte für den effektiven Ionenradius betreffen die Koordinationszahl CN = 6. Für H^+ wurde der kovalente Radius aus dem halben Gleichgewichtsabstand von H_2 benutzt (74 pm). [b] IR Intensitäten (km/mol) sind in Klammern aufgelistet. [c] Die Vibration existiert nicht als lokalisierte Mode.

Durch die unterschiedlichen Bindungslängen des Metalls zum O2 bzw. N5 ist das hieraus resultierende N5-M-O4 Chelat recht asymmetrisch. Nur ein leichter Ladungstransfer von M^+ zu LF wird erwartet, da die Ionisationsenergien der Alkalimetalle (IE = 5,39–3,89 eV für Li–Cs)[208] viel geringer sind als die des LF (berechnet zu IE = 7,72 eV).

Tabelle II.4-8. Bindungslängen und Winkel sowie skalierte C=O Streckfrequenzen für die M^+LF@O2(+) Isomere berechnet auf dem B3LYP/cc-pVDZ Niveau. Zusätzlich sind die Ionenradien von M^+ und entsprechende Daten für LF, LF^+ und H^+LF zum Vergleich mit gelistet.

	R_M[a] pm	$R_{M\text{-}O2}$ pm	$R_{M\text{-}N1}$ pm	$R_{C4=O}$ pm	α_{N3C2O2} °	α_{MO2C2} °	$R_{C2=O}$ pm	$\nu_{C4=O}$[b] cm^{-1}	$\nu_{C2=O}$[b] cm^{-1}
H^+LF@O2+	0,37	0,975	2,30816	1,2025	114,2	108,6	1,3191	1781 (328)	-[c]
Li^+LF@O2	0,76	1,715	3,60413	1,2074	117,1	158,8	1,2673	1763 (320)	1600 (1166)
Li^+LF@O2+	0,76	1,852	2,08407	1,2048	120,8	92,8	1,2525	1772 (305)	1621 (831)
Na^+LF@O2	1,02	2,069	3,88681	1,2086	117,5	156,9	1,2571	1759 (320)	1617 (950)
Na^+LF@O2+	1,02	2,174	2,49780	1,2065	119,4	100,0	1,2456	1767 (310)	1632 (840)
K^+LF@O2	1,38	2,393	4,27538	1,2092	117,8	162,7	1,2535	1774 (322)	1625 (974)
K^+LF@O2+	1,38	2,464	3,05549	1,2077	118,7	111,3	1,2456	1779 (320)	1640 (882)
Rb^+LF@O2	1,52	2,524	4,40569	1,2095	117,8	163,2	1,2512	1773 (324)	1634 (1033)
Cs^+LF@O2	1,67	2,692	4,57839	1,2097	117,9	164,1	1,2506	1772 (326)	1632 (716)
Cu^+LF@O2+	0,77	2,082	2,86617	1,2041	121,6	90,2	1,2503	1785 (338)	1574 (369)
Cu^+LF@O2-	0,77	1,821	4,04778	1,2067	119,9	222,6	1,2826	1782 (328)	1581 (624)
Ag^+LF@O2+	1,15	2,206	2,61331	1,2054	118,6	102,8	1,2579	1786 (331)	1597 (665)
Ag^+LF@O2-	1,15	2,095	4,32916	1,2076	120,0	220,6	1,2740	1779 (324)	1586 (682)
Au^+LF@O2+	1,37	2,065	3,05817	1,2048	114,5	118,2	1,2870	1787 (344)	-[c]
Au^+LF@O2+	1,37	2,037	4,19872	1,2056	121,1	232,7	1,2982	1784 (326)	-[c]

[a] Referenz [207]. Die Werte für den effektiven Ionenradius betreffen die Koordinationszahl CN = 6 . Für H^+ wurde der kovalente Radius aus dem halben Gleichgewichtsabstand von H_2 benutzt (74 pm). [b] IR Intensitäten (km/mol) sind in Klammern aufgelistet. [c] Die Vibration existiert nicht als lokalisierte Mode.

Tatsächlich ergeben die Rechnungen einen nur kleinen Ladungstransfer vom Metallion zum LF, der mit Cs zu Li ($-\Delta q_m$ = 85–128 me, Tabelle II.4-9) als Resultat der kürzer und stärker werdenden Bindungen zunimmt. Die Metallierung von LF an der O4-Position führt nicht nur zu signifikanter Ladungsumordnung an N5 und O4 (Δq_{N5} = 67–143 me, Δq_{O4} = 149–163 me), sondern beeinflusst auch die Ladungsverteilung der weiter entfernten C2=O Gruppe (Δq_{O2} = 44–63 me). Durch die Wechselwirkung mit M^+ kommt es zu einer Verlängerung der C4=O Bindung, was zu einer starken Rotverschiebung der zugehörigen IR aktiven Streckmode führt ($\Delta R_{C4=O}$ = 2,4–3,5 pm, $\Delta\nu_{C4=O}$ = 55–79 cm^{-1}). Gleichzeitig führt dies wegen der Kon-

jugation durch den Pyrimidinring dazu, dass die C2=O Bindung gestaucht wird, was wiederum zu einer Blauverschiebung der entsprechenden spektralen Bande führt ($\Delta\nu_{C4=O}$ = 40 – 32 cm^{-1}). Diese Trends sind ähnlich derer, welche auch für M$^+$LC beobachtet wurden.

Neben den eben beschriebenen O4-N5 Chelaten existieren noch zwei Isomere mit Bindungsstellen an der C2=O Gruppe des LF. Diese als O2+ (N1-M-O2-Chelate) und O2 (C2=O-M linear) bezeichneten Isomere sind für die kleinen Alkalimetalle Li und Na weniger stabil als die oben genannten O4+ Komplexe. Für K-Cs hingegen sind die O2 Isomere die stabilsten Konfigurationen. Die Energiedifferenz zwischen dem stabilsten Li$^+$LF@O4+ und dem zweitstabilsten Li$^+$LF@O2+ wird mit ΔE = 11,9 kJ/mol (ΔG = 7,2 kJ/mol) berechnet. Für K$^+$LF unterscheiden sich alle drei O4+ und O2(+) Isomere nur durch ΔE = 3,4 kJ/mol (ΔG = 1,7 kJ/mol). Für Alkalimetalle größer als K wird das O2+ Isomer für M$^+$LF nicht mehr als stabiles Isomer gefunden. Eine mögliche Ursache ist die abstoßende Wirkung der Methylgruppe an N10 bei steigender Ionengröße, welche die Anziehung durch die N1-Stelle (über)kompensiert. Dies hat zur Folge, dass die O2 Bindungspräferenzen sehr empfindlich mit der Größe des bindenden Metallions variieren. Eine Erklärung hierfür könnte wie folgt lauten. In der Abwesenheit eines in der Nähe liegenden N Atoms (und dessen freien Elektronenpaares) erzwingt die Bindung der C2=O Gruppe mit M$^+$ eine lineare Anordnung, welche auch für K–Cs zu beobachten ist. Kleinere Ionen spüren, wegen ihrer Größe, die abstoßende Wirkung der Methylgruppe weniger und können deswegen von der anziehenden Wirkung der N1-Stelle profitieren, was schließlich in der Bildung des O2+ Isomers resultiert. Trotz ähnlicher Bindungsenergien sind die M-O2 Bindungen im O2 Isomer ($R_{M\text{-}O2}$ = 172–239 pm für M = Li–K) wesentlich kürzer als in den O2+ Isomeren ($R_{M\text{-}O2}$ = 185–246 pm), was vermuten lässt, dass sie in der linearen Anordnung stärker sind. Andererseits sind die M-O2 Bindungen der O2+ Isomere ähnlich den M-O4 Bindungslängen der O4+ Isomere ($R_{M\text{-}O4}$ = 184–248 pm für Li–K), im Einklang mit den vergleichbaren Stabilisierungsenergien für die O2+ und O4+ Chelate. Diese Beobachtung zeigt, dass die zusätzliche M-N5 (O4+) und die M-N1 (O2+) Interaktion zu einer leichten Stabilitätszunahme von M$^+$LF führt. Der gesamte Ladungstransfer von M$^+$ zu FL ist am höchsten bei den O4+ ($-\Delta q_m$ = 84–128 me für M = Li–K) und O2+ Isomeren ($-\Delta q_m$ = 70–120 me) und niedriger bei den O2 Isomeren ($-\Delta q_m$ = 54–77 me für M = Li–K). Nicht verwunderlich ist die Tatsache, dass die Metallisierung an der O2 Position einen sehr starken Einfluss auf die C2=O Bindungslängen und Streckfrequenzen besitzt. Dieser Effekt ist stärker für die linearen O2 Isomere ($\Delta R_{C2=O}$ = 3,8–5,2 pm,

$\Delta\nu_{C4=O}$ = 106-131 cm^{-1}), bedingt durch die stärkeren M-O2 Bindungen, als für die O2+ Chelatstrukturen ($\Delta R_{C2=O}$ = 3–3,7 pm, $\Delta\nu_{C2=O}$ = 91–110 cm^{-1}). Durch Konjugation durch den Pyrimidinring sind auch die C4=O Bindungen durch die Metallierung an O2 (O2+) ein wenig beeinflusst, was zu einer Längenkontraktion von $\Delta R_{C4=O}$ = 0,6–0,8 pm (0,8–1,1 pm) und einer entsprechenden Blauverschiebung $\Delta\nu_{C4=O}$ = 34–23 cm^{-1} (39–32 cm^{-1}) führt. Vergleicht man LC mit LF, so ist der Hauptunterschied, dass LC zwar ein Proton an N1 besitzt, jedoch an N10 kein Substituent vorkommt. Dies führt dazu, dass die N1-Position bei der Metallierung keinen zusätzlichen Einfluss auf die Bindung ausüben kann, was dann für alle Alkalimetallionen zum Ausbilden einer linearen C2=O-M$^+$ Konfiguration führt. Ein sphärisches geschlossenschaliges Ion sollte in der Tat eine anziehende Kraft durch beide freien Elektronenpaare des O2 erfahren, welche in der linearen Konstellation maximal ist. Wegen der geringeren Symmetrie in der Umgebung der C2=O-M$^+$ Bindung im LF kommt es hier zur Ausbildung von gewinkelten C=O-M$^+$ Anordnungen, selbst für Alkalimetalle. Dies wird im Fall der O2 Isomere in den entsprechenden Winkeln α_{MO2C2} widergespiegelt (Tabelle II.4-7). Der C2=O-M$^+$ Winkel weicht hier für M$^+$LF um 20° von der linearen Anordnung ab, während diese Abweichung bei M$^+$LC nur rund 3° beträgt.

Der Vergleich von M$^+$LF mit neutralem LF zeigt den Einfluss der Metallierung auf die verschiedenen Bindungsstellen. Hierzu wurden alle relevanten berechneten Struktur- und Vibrationsdaten, welche sich aus den Rechnungen ergeben, in Tabelle II.4-7 und II.4-8 dargestellt. Das berechnete IR Spektrum für neutrales LF zeigt zwei freie C=O Streckschwingungen bei 1731 und 1740 cm^{-1}. Das Anlagern eines M$^+$ an eine dieser Gruppen führt zu einer wesentlichen Verlängerung dieser Bindung, wodurch deren Streckfrequenz verringert wird. Der Grund hierfür ist der partielle Ladungstransfer vom M$^+$ zur C=O Gruppe. Gleichzeitig schiebt die verbliebene C=O Streckfrequenz durch eine schwache Kontraktion der Bindungslänge leicht ins Blaue.

Tabelle II.4-9. NBO Ladungsverteilung für verschiedene M^+LF Isomere im Vergleich zu neutralem LC, berechnet auf dem Niveau von B3LYP/cc-pVDZ.

	q_M	Δq_{O4}	Δq_{N5}	Δq_{O2}
	me	me	me	me
H^+LF@O4+	527	-38	-31	70
Li^+LF@O4+	872	-163	-143	63
Na^+LF@O4+	913	-146	-118	55
K^+LF@O4+	916	-151	-90	49
Rb^+LF@O4+	924	-146	-81	46
Cs^+LF@O4+	915	-149	-67	44
Cu^+LF@O4+	784	-115	-153	67
Cu^+LF@O4-	811	-192	19	40
Ag^+LF@O+	800	-110	-131	62
Ag^+LF@O4-	841	-187	17	36
Au^+LF@O+	676	-59	-117	68
Au^+LF@O4-	678	-95	23	45
	q_M	Δq_{O2}	Δq_{N5}	Δq_{O4}
	me	me	me	me
H^+LF@O2+	516	-43	40	70
Li^+LF@O2+	880	-145	37	60
Li^+LF @O2	923	-288	31	45
Na^+LF@O2+	916	-138	33	50
Na^+LF@O2	947	-258	27	48
K^+LF@O2	946	-226	26	35
K^+LF@O2+	930	-153	30	44
Rb^+LF@O2	949	-214	25	33
Cs^+LF@O2	945	-209	24	32
Cu^+LF@O2+	784	12	39	64
Cu^+LF@O2-	796	-197	32	46
Ag^+LF@O2+	803	-122	36	57
Ag^+LF@O2-	833	-198	30	42
Au^+LF@O2+	664	-102	37	62
Au^+LF@O2-	656	-103	34	53

Der Vergleich der gemessenen M^+LF Spektren mit dem des gerechneten neutralen LF offenbart beachtliche Rot- und Blauverschiebungen beider C=O Streckmoden (Tabelle II.4-7 und II.4-8). Dies lässt nur den Schluss zu, dass M^+ an eine dieser Stellen binden muss. Aus diesen spektralen Ergebnissen ist es sofort möglich jegliche π-Komplexbildung von M^+LF, wie Isomer I und N10, auszuschließen (Abbildung C.8). Mit Hilfe der bisherigen theoretischen Analyse können, wie bereits erwähnt, die Banden A, B1 und B2 den C=O Streckmoden der beiden Karbonylgruppen der stabilsten O2(+) und O4+ Isomere des M^+LF durch Vergleich mit den berechneten Spektren zugeordnet werden (Abbildung II.4.11). Die Bande A wird hierbei als die überlappende freie C=O Streckschwingung identifiziert d. h. $\nu_{C2=O}$ der O4+ Isomere

und $\nu_{C4=O}$ der O2(+) Isomere. Die Banden B1/B2 werden daraus folgend den gebundenen C=O Streckschwingungen d. h. $\nu_{C4=O}$ der O4+ und $\nu_{C2=O}$ der O2(+) Isomere zugeordnet. Die klare Trennung der Banden B1 und B2 zeugt sehr deutlich von der Koexistenz der beiden stabilsten O4+ und O2(+) Isomere im Experiment für die Alkalimetalle Li–K bei M^+LF. Deren relative Häufigkeit ist auch in Übereinstimmung mit den hierzu theoretisch ermittelten relativen Energien. Wegen der sehr ähnlichen berechneten IR Spektren für die O2 und O2+ Isomere ist es unmöglich bei gegebener Auflösung deren exakte Anteile im gemessenen IRMPD-Spektrum zu bestimmen. Wie schon bei M^+LC (M = K–Cs) zu beobachten, kann es nämlich vorkommen, dass zwei Isomere im IRMPD Spektrum identifiziert werden können, die einen sehr hohen Bindungsenergieunterschied besitzen (Kapitel II.4.1). Aus diesem Grund sollte es der recht geringe Unterschied in der Bindungsenergie von < 10 kJ/mol ermöglichen, beide Spezies (O2(+)) in einem signifikanten Verhältnis zueinander während des ESI-Prozesses zu erzeugen und zu vermessen. Allgemein kann davon ausgegangen werden, dass die in den IRMPD Spektren beobachtete Blauverschiebung der Banden B1 und B2 mit steigendem Ionenradius auf die hiermit einhergehende Verringerung der Interaktionsstärke des Metalls mit dem Flavin zurückzuführen ist. Die Bande B2 verschwindet schließlich im Spektrum des Cs^+LF, womit dieses einzig mit dem O2 Isomer erklärt werden kann (Abbildung II.4.11). Schließlich ist es möglich, die Banden C1 und C2 noch als kombinierte C-N/C-C Ring Vibrationen zu identifizieren (ν_{CN} und ν_{CN}´).

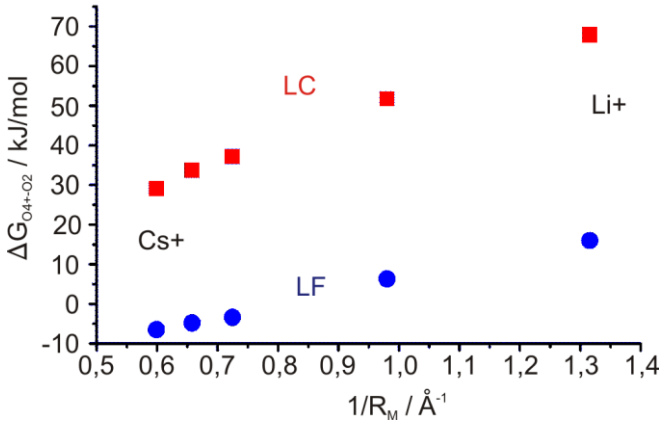

Abbildung II.4.12. Unterschiede in den relativen Gibbs-Energien für die O4+ und O2 Isomere für M^+LC (rote Quadrate) sowie für die M^+LF (blaue Kreise) als Funktion des inversen Ionenradius des Alkalimetallions (Li–Cs) (B3LYP/cc-pVDZ).

In Kapitel II.3.1 bzw. II.4.1, wird bereits der Einfluss eines Protons bzw. von Alkalimetallionen (Li^+–Cs^+) auf die geometrische und elektronische Struktur von LC untersucht. Es stellt sich heraus, dass das O4+ Isomer das stabilste für alle Alkalimetalle ist. Demgegenüber steht die bevorzugte Bindungsstelle eines Protons an N5, ohne Interaktion mit O4. Mit wachsender Alkaliionengröße nimmt die Energiedifferenz zwischen den O2 und O4+ Isomeren von M^+LC immer weiter ab. Dies liegt an der immer geringer werdenden Interaktion mit dem freien Elektronenpaar von N5. Die Energieunterschiede zwischen den beiden Konfigurationen steigen annähernd linear mit dem inversen Metallionenradius ($1/R_M$) von 31,5 kJ/mol für Cs^+LC bis 71,5 kJ/mol für Li^+LC (Abbildung II.4.12.) Trotz dieser recht hohen Energiedifferenzen konnten jeweils beide Isomere in den IRMPD Spektren von M^+LC für K–Cs identifiziert werden. Für M^+LF hingegen liegt die maximale absolute freie Energiedifferenz zwischen dem stabilsten und dem energetisch nächst gelegenen Isomer bei < 16 kJ/mol. Auch diese steigt hier grob linear mit $1/R_M$ (Abbildung II.4.12). Wie bereits erwähnt ist hier das O4+ Isomer jedoch nur für Li^+LF und Na^+LF das stabilste. Überraschenderweise kann das O4+ Isomer in den IRMPD Spektren von M^+LF für Li–K nachgewiesen werden, nicht jedoch in den Spektren von Cs^+LF, obwohl die Energiedifferenz der beiden Isomere in diesem Fall mit kleiner als 7 kJ/mol vorausgesagt wird.

Tabelle II.4-10. Unterschiede der relativen Gibbs-Energie, Bindungslängen und NBO Ladungsdifferenzen für M^+LF und M^+LC (B3LY/cc-pVDZ).

	ΔG kJ/mol	ΔR_{MO4} kJ/mol	ΔR_{MN5} kJ/mol	Δq_M me	Δq_{O4} me	Δq_{N5} me
Li^+LF@O4+–Li^+LC@O4+	4,6	-2,5	2,1	-1	-19	17
Na^+LF@O4+–Na^+LC@O4+	2,8	-2,7	3,2	1	-18	-19
K^+LF@O4+–K^+LC@O4+	3,0	-3,6	6,4	1	-22	-51
Rb^+LF@O4+–Rb^+LC@O4+	3,1	-4,0	7,8	1	-23	-63
Cs^+LF@O4+–Cs^+LC@O4+	3,7	-4,7	10,4	2	-25	-79
Cu^+LF@O4+–Cu^+LC@O4+	3,1	-3,3	1,8	1	-18	26
Ag^+LF@O4+–Ag^+LC@O4+	1,6	-4,2	3,5	2	-20	28
Au^+LF@O4+–Au^+LC@O4+	-1,3	-8,6	4,8	6	-22	22
	ΔG kJ/mol	**ΔR_{MO2} kJ/mol**		**Δq_M me**	**Δq_{O2} me**	
Li^+LF@O2–Li^+LC@O2	56,5	-1,3		-9	6	
Na^+LF@O2–Na^+LC@O2	48,3	-1,8		-9	-6	
K^+LF@O2–K^+LC@O2	43,6	-3,5		-9	7	
Rb^+LF@O2–Rb^+LC@O2	41,5	-4,2		-8	6	
Cs^+LF@O2–Cs^+LC@O2	39,3	-5,7		-11	3	

Auch ist es interessant, die Bindungsenergien jeweils separat für die O2 und O4+ Isomere für M^+LC und M^+LF zu betrachten. In Tabelle II.4.10 sind die Unterschiede der relativen Bindungslängen, Gibbs-Energien sowie der NBO Ladungen aufgelistet. Hier stellt sich heraus, dass die M^+LF@O4+ Strukturen um 3–5 kJ/mol leicht höher in der Energie liegen als M^+LC@O4+. Dieser Unterschied ist für die O2 Isomere nochmals deutlich höher und liegt zwischen 56,5–39,3 kJ/mol (Li–Cs). Dies führt wiederum dazu, dass die M-O4 Bindungslängen für M^+LF@O4+ kürzer sind als bei M^+LC@O4+, und zwar um $-\Delta R_{MO4}$ = 2,5–4,7 pm, wohingegen die M-N5 Bindungslängen dem gegenteiligen Trend folgen (ΔR_{MN5} = 2,1–10,4 pm). Ähnliches gilt auch für die O2 Bindungsstellen beider Komplexe. Im Falle von M^+LF@O2 liegt M^+ dichter am O2 Atom als bei M^+LC@O2, und zwar um ΔR_{MO2} = 1,3–5,7 pm. Die NBO Ladungen der M^+ sind für alle Isomere der beiden Komplexe annähernd identisch, und auch die Unterschiede zwischen den Ladungen auf den Bindungsstellen für die O2 Isomere sind vernachlässigbar. Dem gegenüber stehen jedoch die erkennbar höheren NBO Ladungen der beiden O4 ($-\Delta q_{O4}$ = 19–25 me) und N5 Atome ($-\Delta q_{O4}$ = 19–25 me). Neben neutralem LF bietet sich auch ein Vergleich mit dem in Kapitel II.3.2 behandelten H^+LF an, welches spektroskopisch unter denselben experimentellen Bedingungen untersucht wird wie M^+LF. Auch hier führt die Protonierung, in diesem Fall bevorzugt an der O2+ Stelle, nicht zu einer Chelatbildung mit anderen nukleophilen Bereichen des Moleküls. Dennoch erfolgt die Bindung nicht in einer linearen Anordnung entlang der C2=O Achse. In diesem Fall ist dies auf die viel kleinere Ausdehnung des Protons im Vergleich zu jedem Alkaliion zurückzuführen, weswegen die Bindung des Protons an LF stark lokalisiert ist. Andere gefundene Isomere für H^+LF haben die Protonierungsstellen N1, O4+ und N5 welche jedoch mit 11, 34 und 49 kJ/mol weniger stabil sind als das im IRMPD-Spektrum einzig nachweisbare O2+ Isomer. Die experimentelle Abwesenheit der anderen Isomere verwundert auf den ersten Blick, da die Energieabstände moderat erscheinen und im Falle von M^+LC bereits höherenergetische Strukturen auf die gleiche Art experimentell nachgewiesen werden. Eine Erklärung hierfür bieten die hohen Protonentransferbarrieren, welche die Isomere energetisch stark voneinander trennen.

4.5 Münzmetallionen-Lumiflavin Komplexe

Die mit den Alkalimetallen begonnene Analyse der M^+FL Interaktionen wird in diesem Kapitel auf die Münzmetalle Cu, Ag und Au erweitert. Denn wie schon in Kapitel II.4.2 beschrieben haben geschlossenschalige Münzmetalle eine Elektronenkonfiguration ($d^{10}s^0$), die derer der Alkaliionen sehr ähnlich ist (p^6s^0). Letztere binden hierdurch vorrangig mittels elektrostatischer- bzw. Polarisierungskräfte. Bei Münzmetallen hingegen kommt es zu einer zusätzlichen orbitalen Wechselwirkung, die sich aus einer sd-Hybridisierung ($d^{10-x}s^x$) ergibt. Dies wiederum führt zu einem verstärkten kovalenten Anteil an den M^+LF Bindungen.

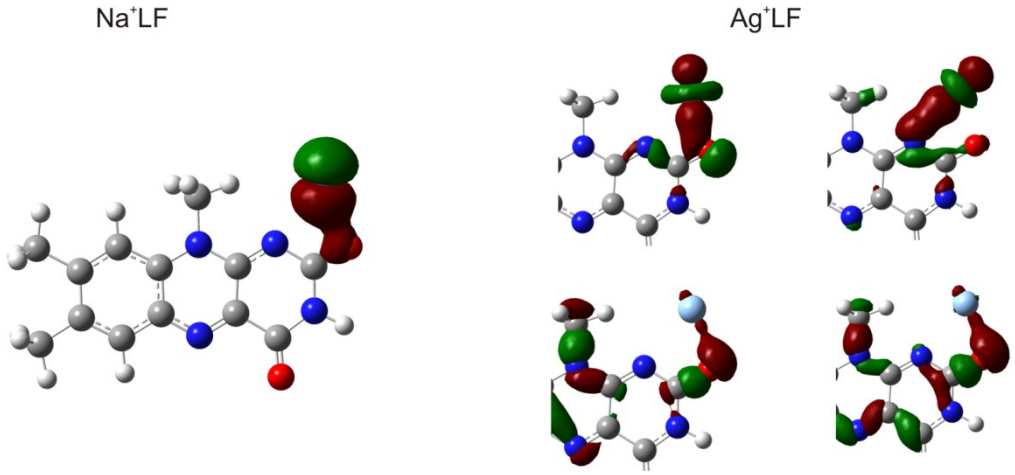

Abbildung II.4.13. Unterschiede im Bindungsverhalten der $M^+LF@O2+$ für M = Na (links) und M = Ag(rechts). Dargestellt sind Molekülorbitale, die einen Überlapp zwischen M^+ und LF besitzen. Während für Na^+LF nur ein bindendes Orbital zwischen M^+ und O2 auszumachen ist, gibt es bei Ag^+LF gleich mehrere Orbitale, die eine bindende Komponente sowohl mit O2 als auch mit N1 besitzen. Im rechten Bild sind nur die relevanten Teile der Ag^+LF Komplexe dargestellt, welche die Bindung des Ag^+ an der O2-Position zeigt. (B3LYP/cc-pVDZ)

In Abbildung II.4.13 sind die Unterschiede im Bindungsverhalten zwischen den Alkali- und den Münzmetallionen mit LF anhand der bindenden Orbitale dargestellt. Für Na^+LF lässt sich nur ein Orbitalüberlapp zwischen Metall und O2 ausmachen. Bei Ag^+ hingegen kommt es zu einem Überlapp der d-Orbitale mit Orbitalen von O2 und N1 und Beiträgen anderer Orbitale. Der erste Unterschied zu den Alkaliionen (IE = 5,39–3,89 eV für Li–Cs)[208] ist die zum LF (IE = 7,72 eV, berechnet) ähnliche Ionisierungsenergie von Cu, Ag und Au (IE = 7,73, 7,58 und 9,23 eV)[208], was zu einem wesentlichen Ladungstransfer zwischen Münzmetall und LF führt. Hierfür werden, abhängig vom Isomer, Werte von Δq_M = 189–216, 159–200 und 336–

344 me für Cu–Au berechnet (Tabelle II.4-10). Diese Werte wiederum zeigen, dass der kovalente Anteil an der M^+LF Bindung in der Reihenfolge Ag < Cu < Au ansteigt. Experimentell konnten nur Ag^+LF und Cu^+LF vermessen werden. Die Gasphasenpräparation von Au^+LF mittels ESI-Prozess misslang. Der Vollständigkeit halber wurde jedoch Au^+LF in der theoretischen Analyse mitberücksichtigt (Abbildung C.14.).

DFT Berechnungen ergeben, dass sich für alle Münzmetallionen die gleichen vier Bindungspositionen bezüglich LF ergeben (Abbildung II.4.14). Das für Cu, Ag und Au gefundene stabilste Isomer ist, wie bei den stark gebundenen Alkalimetallen Li und Na auch, das σ-gebundene planare O2+ Isomer.

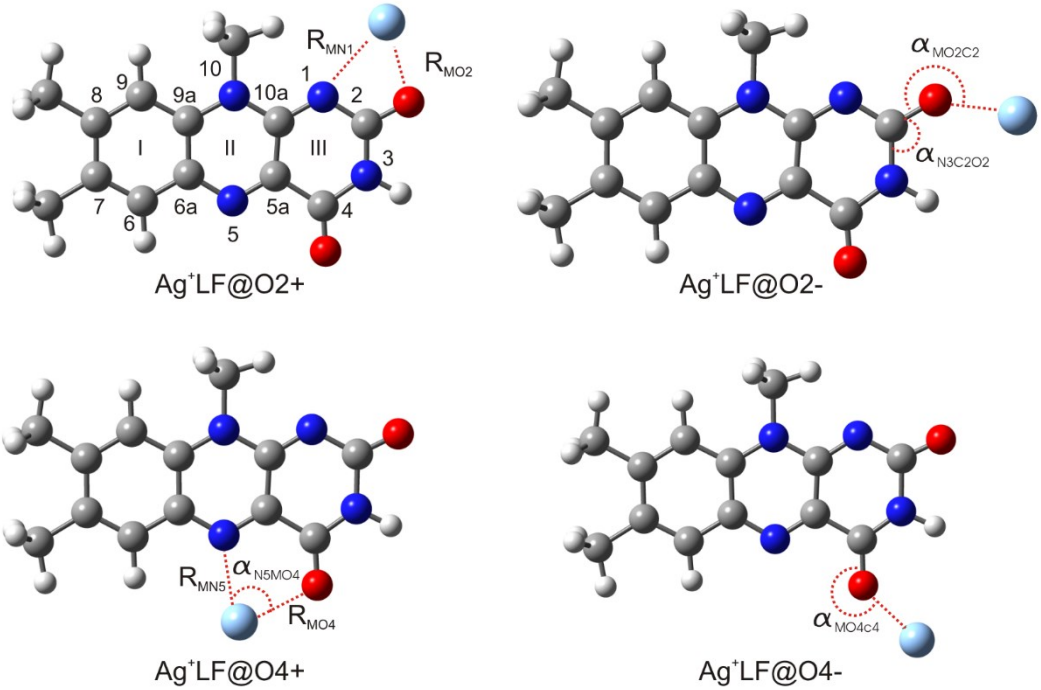

Abbildung II.4.14. Strukturen der planaren O2± und O4± Isomere von M^+LF Komplexen mit Münzmetallionen, dargestellt für M = Ag, inklusive aller relevanten Strukturparameter, und der Nummerierung der einzelnen Atome und Ringe (nach IUPAC).

Diese mit Gibbs-Energien von 350, 262 und 321 kJ/mol für Cu, Ag und Au stabilsten Isomere formen ein O4-N5 Chelat, wie es auch bei M^+LF mit M = Li–Cs beobachtet wird. Anders als bei den Alkalimetallen kann ein zusätzliches O4- Isomer identifiziert werden, bei dem die Bindungsrichtung des M^+ an der C4=O Achse, im Vergleich zum O4+ Isomer, gespiegelt ist (Abbildung II.4.14). Aufgrund der hier fehlenden zusätzlichen M^+-N5 Wechselwirkung, sind diese Isomere jedoch bedeutend instabiler als die jeweiligen O4+ Isomere (um 76, 60, 52 kJ/mol für Cu, Ag, Au). Die identifizierten O2+ Isomere liegen bis auf Cu^+LF@O2+ nur minimal höher als die O4+ Isomere (um 26, 3, 2 kJ/mol für Cu–Au). Die hier gefundenen O2- Isomere sind

wiederum wegen der fehlenden M^+-N1 Bindung deutlich instabiler als die entsprechenden O2+ Strukturen, und zwar um 24, 35 und 25 kJ/mol. Die Art der Bindung bei den O2- Isomeren ist verschieden zu denen der Alkalimetalle, die im ungestörten Zustand eher eine lineare C=O-M^+ Bindung bevorzugen (Kapitel II.4.1). Ein Grund für das Auftauchen der Isomere O2- und O4- liegt in der eingangs erwähnten d^{10-x} s^x Hybridisierung, die zur Ausbildung einer kovalenten Bindung eines d_zs Orbitals mit einem der freien Elektronenpaare der C=O Gruppe führt. Da diese freien Elektronenpaare gewinkelt zur C=O Verbindungslinie ausgerichtet sind, ist auch die M^+LF Bindung für Münzmetalle gewinkelt. Die resultierende Abweichung von der Linearität der C=O-M^+ Bindungen ist für die O2+ (O4+) Isomere aufgrund der zusätzlichen N1 (N5) Anziehung stärker ausgeprägt als für die O2- (O4-) Isomere (Tabelle II.4-7).

Die Suche nach zusätzlichen π-Komplexen für Ag^+ und Cu^+ führt zu einer stabilen Struktur, in der die Münzmetallionen eine kovalente Bindung mit dem C9 Atom des Benzenringes eingehen.[57,210] Dieses Isomer wird als M^+LF@I bezeichnet und besitzt gegenüber der globalen Minimumstruktur (O4+) für Cu^+ bzw. Ag^+ eine um 164 bzw. 151 kJ/mol signifikant niedrigere Bindungsenergie. Eine weitere C-gebundene Struktur ist nicht zu finden.

Im Allgemeinen führt die zusätzliche kovalente Bindung der Münz- gegenüber den Alkalimetallen zu deutlich höheren Bindungsenergien. Das Auftragen der Gibbs-Energien über die inversen Ionenradien $1/R_m$ für alle hier behandelten Komplexe (Abbildung C.15 bis C17. im Anhang) belegt diesen Zusammenhang nochmals. Als Beispiel dient hier das Ag^+, dessen Ionenradius viel größer als der des Li^+ ist (115 und 76 pm)[207], jedoch annähernd die gleiche Bindungsenergie für M^+LF besitzt. Im gleichen Zusammenhang besitzen Cu^+ und Li^+ annähernd gleiche Ionenradien (77 und 76 pm)[207], doch ist die Cu^+LF Bindung viel stärker als die von Li^+LF.

Die gemessenen IRMPD Spektren für Cu^+ und Ag^+ werden in Abbildung II.4.15 mit den berechneten linearen IR Spektren für die O2± und O4± Isomere verglichen. Die sich aus den Berechnungen ergebenden relevanten Energien sowie Strukturen, Vibrationseigenschaften und Ladungsverteilungen sind in Tabelle II.4-4, Tabelle II.4-6 bis II.4-9 sowie in Abbildung C.15 bis C.17 dargestellt. Während sich die O4+ und O4- Spektren in Abbildung II.4.15 sehr stark voneinander unterscheiden, sind die der O2+ und O2- Isomere annähernd identisch. Die Spektren für die M^+FL@I Isomere sind erwartungsgemäß sehr verschieden von den gemessenen, da diese zwei freie C=O Bindungen ähnlich dem neutralen LF besitzen (Kapitel II.4.4, Abbildung C.12 und C.13). Eine genauere Analyse zeigt eine gute Übereinstimmung des gemessenen IRMPD-Spektrums mit dem des O4+ Isomers, vor allem für die Positi-

onen und Intensitäten der Banden A, B1 und C1. Auch wenn im IRMPD-Spektrum keine Hinweise für die Anwesenheit anderer Isomere zu finden sind, so können geringe Anteile nicht ausgeschlossen werden. Zum Beispiel könnte das relativ stabile O2+ Isomer für Ag^+LF einen Anteil am Spektrum als Schulter auf der blauen Seite der Bande nahe 1550 cm^{-1} liefern.

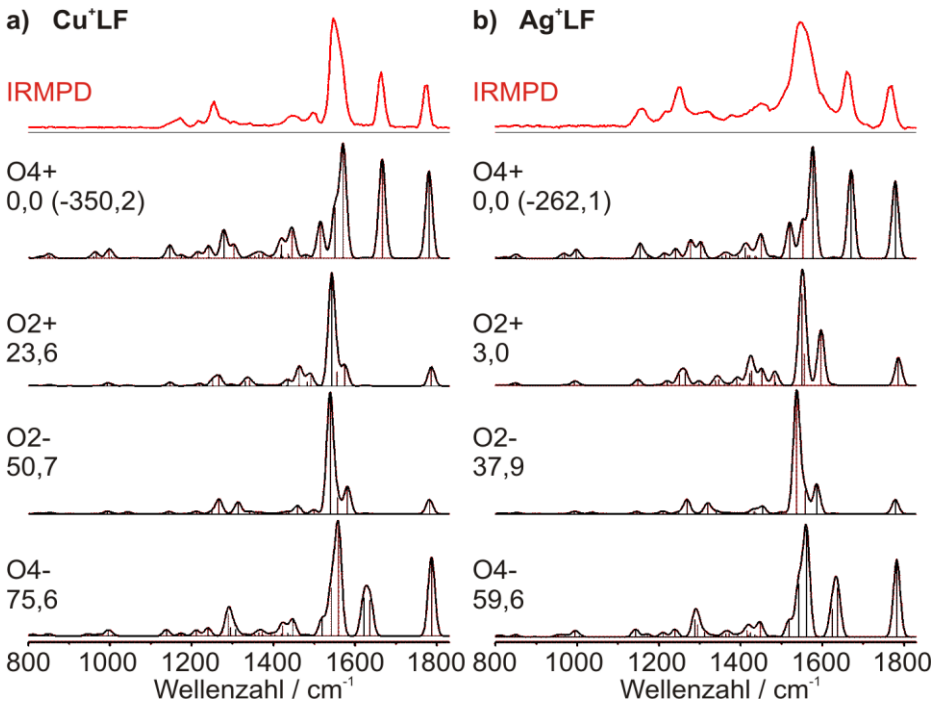

Abbildung II.4.15. Experimentelle IRMPD Spektren von M^+LC Komplexen mit den Münzmetallionen Kupfer **a)** und Silber **b)** im Vergleich zu den berechneten linearen IR Absorptionsspektren der energetisch stabilsten Isomere (B3LYP/cc-pVDZ). Die berechneten Strichspektren sind mit einem Faktor von 0,973 skaliert und mit einer Gaußfunktion mit einer Halbwertsbreite von 20 cm^{-1} gefaltet. Relative (absolute) freie Energien für die globalen (lokalen) Minima sind in kJ/mol angegeben.

Auch wenn sich die Bindungsenergien für Ag^+LF@O4+ und Li^+LF@O4+ sehr ähneln, sind die resultierenden Spektren jedoch sehr unterschiedlich (Abbildung II.4.9). Für Ag^+LF ist hauptsächlich das O4+ Isomer für das experimentelle Spektrum verantwortlich (mit eventuellen Anteilen von O2+), während für Li^+LF sowohl O4+ als auch O2+ eindeutig anhand der Banden B1 und B2 identifiziert werden können. Dies ist erstaunlich, da die Energiedifferenz zum energetisch nächst gelegenen Isomer für Li^+ (7,2 kJ/mol) mehr als doppelt so hoch ist wie für Ag^+ (+3 kJ/mol). Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen für Li^+LC und Ag^+LC, bei denen die Spektren praktisch identisch sind. Auch werden in diesem Falle nur M^+LC@O4+ Isomere identifiziert. Eine andere interessante Frage stellt sich noch zuletzt. Die Abwesenheit von M^+LF@O2 Isomeren in den IRMPD Spektren kann

durch die hohen relativen Bindungsenergien (ΔG = 50,7 bzw. 37,9 kJ/mol für Cu bzw. Ag) dieser Isomere erklärt werden. Denn bei der Ionenerzeugung mittels ESI-Prozess wird diese Energie nur schwer zur Verfügung gestellt. Die Beobachtung, dass zwar die energetisch höher liegenden Li^+LF@O2+ Isomere im Experiment beobachtet und nachgewiesen werden, die energetisch niedrigen Ag^+LF@O2+ Isomere jedoch nicht, bleibt ungeklärt.

4.6 Zusammenfassung: Metallierte Flavine in der Gasphase

Die Interaktion zwischen Metallionen und Flavinmolekülen werden mittels IR Spektroskopie und quantenchemischen Berechnungen an massenselektierten $M^{q+}LC_n$ und M^+LF Komplexen in der Gasphase untersucht. Bedeutend hierbei ist, dass es sich um die ersten spektroskopischen Daten von metallierten Flavinkomplexen in der Gasphase handelt, die somit frei von störenden Lösungsmittel- und Gegenioneneinflüssen aufgenommen sind. Die Suche nach den bevorzugten M^+ Bindungsstellen, deren Bindungsstärke und Art der Wechselwirkung wird hierbei systematisch für Alkali-, Münzmetall- sowie für LC auch für Mg^{2+}-Ionen durchgeführt. Hierdurch ist es möglich, die Abhängigkeit der Wechselwirkung von Ladung, Größe und Art des bindenden Metallions zu bestimmen. Dabei stellt sich heraus, dass die C=O-Streckfrequenzen der beiden Karbonylgruppen sensitive Indikatoren für die Bindungsstellen und Bindungsstärken der vermessenen M^{q+}LC und M^+LF Komplexe sind. Dies kommt daher, dass die beiden C=O Gruppen für die M^{q+} Ionen am attraktivsten sind. Jedoch gibt es hier auch Unterschiede zwischen LC und LF. Während die Bildung eines N5-O4 Chelats für alle M^{q+}LC die stabilste Struktur ergibt, gilt dies bei M^+LF nur für die kleinsten Alkaliionen (Li, Na) sowie für alle Münzmetallionen. Dies ist ein Resultat der zusätzlichen Bindung des M^{q+} an das freie Elektronenpaar des N5 Atoms bei dieser Chelatbindung, die dadurch zusätzlich stabilisiert wird. Bei den O2 Isomeren von M^{q+}LC fehlt diese zusätzliche Stabilisierung jedoch, da das hierzu entsprechende N1 Atom bereits durch ein Wasserstoffatom besetzt ist. Dies scheint die Erklärung zu sein, weswegen die O4+ Bindungsstelle für alle M^{q+}LC am attraktivsten ist. Bei M^+LF ist die N1-Position unbesetzt, jedoch wirkt hier die Methylgruppe an der N10- Stelle repulsiv auf das bindende M^+, auch bei einer möglichen Chelatbildung der weniger stabilen O2+ Isomere von M^+LF. Die hier freien N1-Positionen wirken sich jedoch auf die O2 Bindungseigenschaften aus, weswegen die Winkel $\alpha_{MO2C2} < 180°$ sind, anders als bei M^+LC. Diese zusätzlich verursachte

Stabilisierung könnte der Grund sein, weswegen die größeren Alkaliionen (K–Cs) bevorzugt an O2, anstatt wie bei M^+LC an O4 binden. Denn mit größerem Ionenradius reduziert sich der Abstand zum N5 Atom bei den O4+ Isomeren sowohl bei M^{q+}LC als auch bei M^+LF. Doch da dieser Einfluss immer besteht, auch wenn er mit wachsendem Ionenradius immer kleiner wird, bleiben die O4+ Isomere für alle M^{q+}LC die stabilsten. Bei M^+LF hingegen führt die Veränderung der O2 Bindungsstärke durch das freie N1 Atom ab K^+ dazu, dass die O2 Isomere die stabilsten sind. Beim Vergleich der experimentellen mit den berechneten Spektren für M^{q+}LC lassen sich neben den O4+ auch O2 Isomere für M = K–Cs identifizieren. Die unerwartete Beobachtung dieser signifikant weniger stabilen Isomere wird als Folge des ESI-Prozesses interpretiert. Hier wird vermutet, dass durch diesen Prozess aus der Flüssigphase heraus eine Verteilung der M^{q+}LC fernab des thermodynamischen Gleichgewichts generiert wird. Auch für M^+LF können zum Teil mehrere Isomere im Experiment nachgewiesen werden. Jedoch sind die Bindungsenergieunterschiede hier weitaus geringer als bei M^{q+}LC.

Für jedes Alkaliion, sowohl für M^{q+}LC als auch für M^+LF, skalieren alle strukturellen, energetischen, elektronischen und vibratorischen Parameter monoton und annähernd linear mit dem inversen Ionenradius von M^+. Dieses Verhalten wird durch den dominanten Beitrag der Coulomb-Wechselwirkung des anziehenden Potentials, sowohl in Form elektrostatischer als auch induzierter Kräfte hervorgerufen. Im Gegensatz weichen die Münzmetallionen in vielerlei Hinsicht von diesem Trend ab. Grund sind die zusätzlichen kovalenten Bindungsanteile. Für M^+LF sind diese am kleinsten für Ag^+ und recht ausgeprägt für Cu^+ und Au^+. Dieser zusätzliche Beitrag führt dazu, dass sich z. B. die Ag^+LC und Li^+LC Interaktionen sowie deren IR Spektren sehr ähneln, obwohl der Ionenradius von Ag^+ wesentlich größer ist als der von Li^+. Im Falle von M^+LF als auch M^+LC beeinflussen diese Beiträge auch die Bindungsarten. So existieren O2- und O4- Isomere nur für die Münzmetallionen.

Die Wechselwirkung von Mg^{2+}LC ist wiederum durch die zusätzliche Ladung viel stärker. Experimentell konnte jedoch nur das $Mg^{2+}LC_2$ unter den gegebenen ESI Bedingungen erzeugt werden. Das erhaltene IR Spektrum ist dabei konsistent mit der Struktur, bei der beide LC Liganden mit dem zentralen Metallion an die jeweiligen O4 und N5 Positionen binden.

Der Vergleich zwischen den protonierten LC und LF Komplexen mit den metallierten zeigt, dass sich die Strukturen signifikant voneinander unterscheiden. Während für H^+LC die stabilste Konfiguration aus der Protonierung an der N5 Stelle resultiert, ist für alle M^{q+}LC die Bindung zwischen O4+ und dem N5 Atom die energetisch favorisierte Bindungsposition. Da das H^+ einen viel kleineren Durchmesser besitzt als M^+,

kann es eine direkte Bindung mit dem freien Elektronenpaar des N5 Atoms eingehen. Der größere Ionenradius von M^+ in Verbindung mit der atomaren Konstellation in diesem Bereich des LC Moleküls verhindert das Vordringen von M^+ zur N5 Position. Die unterschiedlichen Bindungspositionen von M^{q+}LC und H^+LC resultieren in unterschiedlichen Vibrationsverhalten und demzufolge in unterschiedlichen IR Spektren. Ähnliches gilt beim Vergleich zwischen den M^+LF und H^+LF Strukturen, welche sich auch signifikant voneinander unterscheiden. Dabei bevorzugt H^+LF die Protonierung an der C2=O Gruppe in einer O2+ Konfiguration.

Der Ladungstransfer, sowohl in M^+LF als auch in M^{q+}LC, müsste aufgrund der bevorzugten Bindung zu einer C=O Gruppe, vorrangig in den n-Orbitalen des LF bzw. LC lokalisiert sein. Die elektronische Struktur des aromatischen π-Elektronensystems sollte hierdurch wenig beeinflusst werden. Aus diesem Grunde müssten auch elektronische $\pi \rightarrow \pi^*$ Übergänge bei Metallierung weniger beeinflusst werden als die $n \rightarrow \pi^*$ Übergänge. Andererseits könnte eine starke Wechselwirkung von M^+ mit N5 bei M^+LC@O4+ auch zu einer starken Beeinflussung der Elektronen des Ringsystems und somit der $\pi \rightarrow \pi^*$ Übergänge führen. In jedem Fall würden sich starke Einflüsse durch großen spektrale Positionsänderungen bemerkbar machen. Durch die unterschiedliche Kopplung verschiedener M^+ an FL kann es zudem zu Veränderungen der Lebenszeiten angeregter Zustände kommen. Um herauszufinden, welche Aussage zutrifft werden VISPD Spektren an kalten H^+LC sowie M^+LC Komplexem mit M = Li–Cs in der kryogenen BerlinTrap-Apparatur. Die Auswertung dieser Messungen sind im nächsten Kapitel zu finden. In weiteren Messungen werden IRMPD Spektren von Li^+RF, Na^+RF und Cs^+RF sowohl an der FELIX Einrichtung in Nieuwegein (Niederlande) als auch bei CLIO in Orsay (Frankreich) aufgenommen. Da die Auflösung dieser Spektren jedoch sehr gering ist, um eine aussagekräftige Auswertung durchführen zu können, wird auf eine Analyse in dieser Dissertation verzichtet. Die gemessenen Spektren sind jedoch im Anhang zu finden (Abbildung C.18).

5 Elektronische Spektroskopie an kalten protonierten und metallierten Lumichrom

Wie bereits in den vorherigen Kapiteln beschrieben, liegt der Hauptzweck dieser Arbeit darin, Flavinmoleküle in der Gasphase spektroskopisch zu untersuchen, um mehr über deren geometrische und elektronische Strukturen und deren energetisches Verhalten zu erfahren. Dies soll wiederum zu einem tieferen Verständnis der biologischen Mechanismen führen, in welchen Flavine involviert sind. Um die Untersuchung an diesen Molekülen weiterzuführen, die mit der IR spektroskopischen Analyse von H^+FL und M^+FL in den Kapiteln II.3 und II.4 beginnt, liegt es auf der Hand auch die elektronischen Strukturen solcher Komplexe in der Gasphase, d. h. ohne störenden Lösungsmittel- und Gegenioneneinfluss, zu untersuchen. Ein tiefes Verständnis über die elektronische Struktur der Flavine ist interessant, da diese aufgrund ihrer photoaktiven Eigenschaften in vielen biologischen Systemen zu finden sind. So wurde vor einigen Jahren der Nachweis erbracht, dass Flavine für die Lichtabsorption in sogenannten BLUFs (Blue Light Sensing Using FAD) und LOV (Light, Oxygen and Voltage) Domänen verantwortlich sind.[6,7] Diese Bereiche sind in höheren Pflanzen, einigen Bakterien und Algen sowie einigen Pilzen zu finden. Hier steuern sie z. B. den Phototropismus, also die lichtinduzierte Bewegung von Pflanzen, oder die zu deren Atmung notwendige Porenöffnung der Epidermis (Stoma). Außerdem sind sie zum Teil an der Regulierung der *zircadianen Rhythmik,* also dem 24 h Rhythmus einiger Zellen, beteiligt oder auch an der lichtabhängigen Genregulation.[215,216]

Es hat sich gezeigt, dass z. B. der primäre Schritt des Photozyklus von FMN in den LOVs damit beginnt, dass nach der Lichtabsorption die Population des niedrigsten angeregten Singulettzustands (S_1) sehr schnell in den tiefsten Triplettzustand (T_1) übergeht. Dies geschieht durch Interkombination, also dem strahlungslosen Übergang zwischen diesen Zuständen innerhalb des Systems (engl. *inter system crossing process,* ISC).[217,218] Der Tripletzustand ist hauptverantwortlich für die dem Flavinchromophor inhärente Reaktivität.[218] Die optische Anregung im UV und VIS Bereich findet bei allen Flavinen vorrangig im Chromophor des 7,8-dimethylsubstituierten Isoalloxazins (iso-Lumichrom) statt. In wässriger Lösung lassen sich für alle Flavine vier strukturlose Absorptionsbanden nachweisen, deren Zentren bei ca. 446, 375, 265 und 220 nm liegen.[5] Hierbei weisen alle vier Absorptionsmaxima einen sehr hohen molaren Extinktionskoeffizienten auf (> 10^4 M/cm), was typisch für

$\pi \rightarrow \pi^*$ Übergänge ist.[5] Auch über mögliche Einflüsse von $n \rightarrow \pi^*$ Übergängen, die aus den freien Elektronenpaaren der N1, N5, N3 und N10 Atome sowie der C2=O und C4=O Gruppen herrühren, wurde bereits berichtet.[5] All diese Untersuchungen wurden meist an Flavinen in fester Form (z. B. gefrorene Lösung, Pellets) und in Lösung durchgeführt. Hierbei können benachbarte Partikel eine stabilisierende Wirkung auf die Flavine besitzen, welche in der Gasphase fehlt. Der Einfluss von sich an Molekülionen anlagernden Atomen (Molekülen) ist in der Gasphase wiederum sehr gut analysierbar. Diese können dem Flavin gezielt sukzessive hinzugefügt werden. Die sich aus der Anlagerung jedes zusätzlichen Atoms (Moleküls) ergebende individuelle Wechselwirkung kann somit durch spektroskopische Methoden erfassbar gemacht werden.

Dieser Ansatz wird bei der Analyse der M^+LC Komplexe (M = Li–Cs) verfolgt, indem hier zwar nicht die Anzahl angelagerter Ionen erhöht, sondern schrittweise die Masse des angelagerten Alkaliions gesteigert wird. Wie schon in Kapitel II.4 beschrieben, sind die energetisch niedrigsten M^+LC Isomere jene, bei denen M^+ mit O4 und N5 eine Chelatverbindung eingeht. Hier zeigt sich, dass die Metallionen ein Chelat mit den O4 und N5 Atomen bilden. Durch die elektrostatische Wechselwirkung von M^+ mit LC über die N5 Position kann es durch M^+ neben der Wirkung auf die n-Orbitale zusätzlich zu einer Beeinflussung der π-Orbitale des Ringsystems kommen. In jedem Fall führt so eine starke Wechselwirkung zu starken Verschiebungen der $n \rightarrow \pi^*$ und der $\pi \rightarrow \pi^*$ Übergänge.

In den folgenden Kapiteln werden die VISPD spektroskopischen Ergebnisse, die in der kryogenen BerlinTrap-Apparatur an H^+LC sowie M^+LC Komplexen gewonnen werden, beschrieben und analysiert. Der hierzu genutzte experimentelle Aufbau und dessen Funktionsweise sind bereits in Teil I ausführlich beschrieben.

Die Spektren werden bei konstanter Fallentemperatur von 25 K aufgenommen. Bei dieser Temperatur lässt sich zum einen ein höheres Fragmentationssignal als bei 5 K erhalten, zum anderen bleibt das Signal über einen langen Zeitraum stabil. Der verwendete Laser ist der in Kapitel I.2.11 beschriebene Panther EX OPO von *Continuum*, welcher hier im Bereich von 415–515 nm (24100–19400 cm^{-1}) mit einer Auflösung von 2 cm^{-1} eingesetzt wird. Hierdurch können die Absorptionseigenschaften der $S_1 \leftarrow S_0$ Übergänge aller vermessenen LC Komplexe mittels VISPD Spektroskopie untersucht werden. Wie schon bei der Auswertung der IR Spektren in den Kapiteln II.3 und II.4 wird auch hier zuerst mit der Analyse des H^+LC begonnen und anschließend mit M^+LC (M = Li–Cs) weiter verfahren.

5.1 Elektronische Spektroskopie an protoniertem Lumichrom

In Kapitel II.3 wird bereits eine theoretisch unterstütze, experimentelle Studie beschrieben, in der H^+FL in einer ICR-Zelle bei 300 K gefangen und anschließend IRMPD-Spektren mit Hilfe eines Freie-Elektronen-Lasers gewonnen werden. Diese Studie hat als Schwerpunkt die Untersuchung der Strukturen, Energien und der Vibrationseigenschaften von H^+FL. In diesem Kapitel wird diese Analyse auf die elektronische Struktur von kryogen gekühlten H^+LC erweitert, deren Ergebnisse bereits veröffentlicht sind.[167] Die zur Analyse benötigten VISPD Spektren werden mit der in Teil I beschriebenen BerlinTrap-Apparatur bei 25 K Fallentemperatur aufgenommen. Für die Präparierung von H^+LC wird zunächst eine Mixtur aus 2 mg Lumichrom (Sigma Aldrich, Reinheit 99 %), 17 ml Methanol, 1 ml Wasser und 2,5 ml Methansäure hergestellt. Diese Lösung wird anschließend in der ESI-Quelle mit 2 ml/h gesprüht. Die erzeugten Ionen werden in der 22-Pol Falle auf 25 K gekühlt und auf dem Weg zum Beschleunigungsbereich des ReTOFMS, 50µs nach Extraktion aus dem 22-Pol mit dem OPO Laser bestrahlt. Abbildung II.5.1 zeigt ein Massenspektrum von kaltem H^+LC, welches mit Hilfe des OPOs beim intensiven resonanten S_1 Bandenursprung (19962 cm^{-1}) aufgenommen wurde (schwarze Linie), im Vergleich zu einem Massenspektrum ohne Laserbestrahlung (rote gestrichelte Linie). Die Intensität der H^+LC Mutterionen (m/z 243) ist hier um ca. 150-fach größer als die stärksten laserinduzierten Fragmentationskanäle bei m/z 172 und 198. Ein schwacher Intensitätsanstieg nach Bestrahlung ist auch bei m/z 215 auszumachen. Durch die geringe Massenauflösung kann der Kanal bei m/z 200 nicht von dem bei m/z 198 getrennt werden.

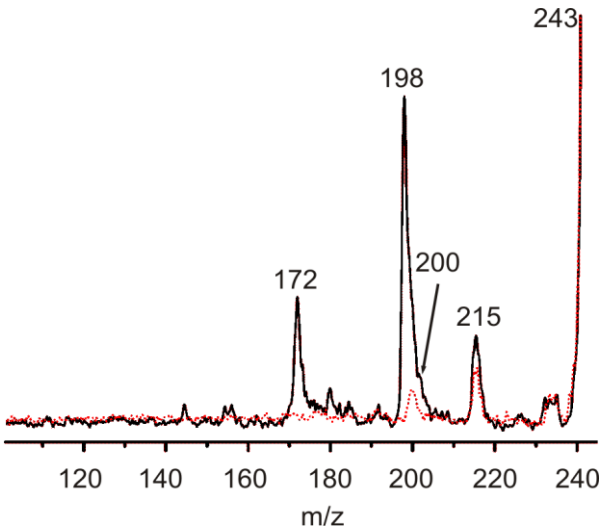

Abbildung II.5.1. Massenspektrum von kalten H^{+*}LC (m/z 243) aufgenommen vor (rot) und nach (schwarz) Beschuss mit OPO Laserstrahlung bei 19962 cm^{-1} (500,95 nm). Bei dieser Wellenlänge befindet sich der Ursprung des $S_1 \leftarrow S_0$ Übergangs.

Die hier auftretenden Fragmente sind die gleichen wie die im Kapitel II.3.1 beschriebenen IRMPD-Experiment. Dies legt die Vermutung nahe, dass der optischen Anregung des S_1 Zustandes eine interne Konversion in den S_0 folgt, welche in einer statistischen Verteilung verschiedener Dissoziationskanäle endet (Abbildung II.2.5.b).

Das aus den Fragmentsignalen der m/z 172 und 198 resultierende VISPD Spektrum ist in Abbildung II.5.2 (rote Spur) dargestellt. Dieses ist sowohl bezogen auf die Laserleistung als auch auf das Mutterionensignal (m/z 243) normiert. Der intensive $S_1 \leftarrow S_0$ Bandenursprung liegt bei 19962 cm^{-1}, wobei viele weitere intensive Vibrationsübergänge zu beobachten sind. Dies lässt den Schluss zu, dass es bei der elektronischen Anregung zu einer wesentlichen Änderung der Geometrie von H^+LC kommt. Mit der verwendeten Laserbandbreite von ca. 2 cm^{-1} ergeben sich hier gemessenen Linienbreiten in der Größenordnung von 6 cm^{-1}. Trotz der relativ hohen Fallentemperatur von 25 K treten keine auffälligen heißen Banden in Erscheinung.

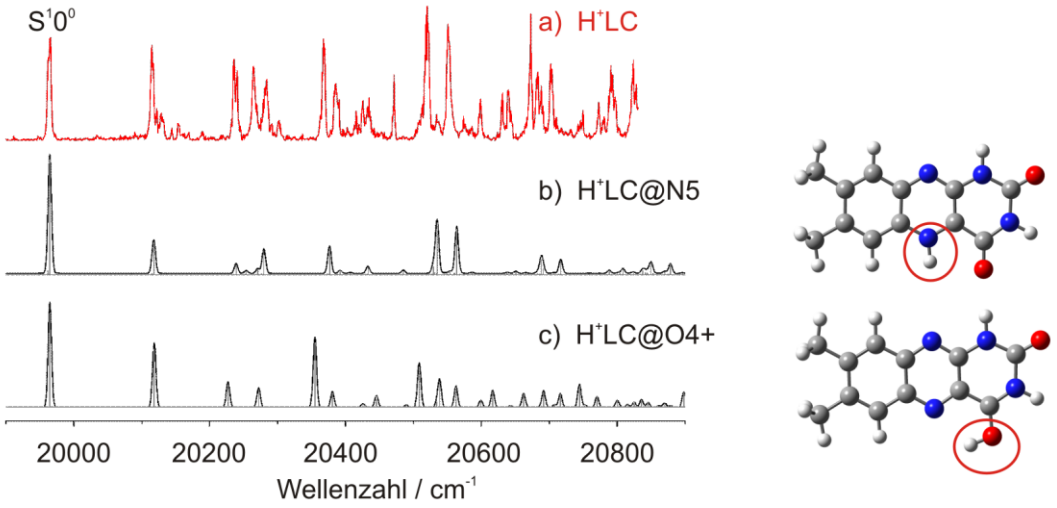

Abbildung II.5.2. Elektronisches Photodissoziationsspektrum von protoniertem Lumichrom (H^+LC). **a)** Experimentelles VISPD Spektrum des $S_1 \leftarrow S_0$ Übergangs von H^+LC aufgenommen bei einer 22-Pol Fallentemperatur von 25 K **b–c)** Franck-Condon Simulationen des H^+LC@N5 und H^+LC@O4+ Isomers sowie deren Strukturen. Die Ursprünge der berechneten Spektren werden dabei so verschoben, dass sie mit dem Ursprung des gemessenen zusammenfallen (Tabelle II.5-1).

Für den S_0 Grundzustand sagen die theoretischen Analysen in Kapitel II.3.1 H^+LC@N5 als stabilstes Isomer voraus, und in der Tat wird nur dieses Isomer experimentell mittels IRMPD nachgewiesen. Andere Isomere mit nukleophilen Bindungsstellen an O4, N10 und O2 sind den Berechnungen zufolge weniger stabil, gleiches gilt hier auch für iso-Lumichrom (iso-LC). Mit Hilfe von zeitabhängigen DFT-Rechnungen auf Basis von PBE0/cc-pVDZ erhält man für die elektronischen Grundzustände der verschiedenen Isomere von H^+LC die entsprechenden elektronischen Spektren. Diese werden wiederum genutzt, um sie den experimentellen VISPD-Spektren zuzuordnen. Für verschiedene H^+LC Isomere (N5, O4+, N10, O2+ sowie H^+iso-LC@N5 (Abbildung II.3.3)) werden die berechneten Bandenursprünge der adiabatischen $S_1 \leftarrow S_0$ Übergänge zusammen mit deren Verschiebungen hinsichtlich des experimentellen Spektrums (Bandenursprung bei 19962 cm^{-1}) sowie deren Protonenaffinitäten in Tabelle II.5-1 gelistet. Auch für PBEO/cc-pVDZ stellt sich heraus, dass das H^+LC@N5 das stabilste Isomer ist. Auch liegt der hierfür berechnete Bandenursprung des S_1 Überganges dem des experimentellen Spektrums am nächsten (ΔS_1 = -809 cm^{-1}). Bemerkenswert ist zudem, dass sich durch die Protonierung im Vergleich zum neutralen LC der $S_1 \leftarrow S_0$ Ursprung um 5673 cm^{-1} (0,7 eV) verschiebt, was auf einen enormen Einfluss des Protons auf die elektronische Struktur hinweist.

Tabelle II.5-1. Berechnete $S_1 \leftarrow S_0$ Bandenursprünge von LC und verschiedenen H^+LC Isomeren sowie die sich ergebenden Verschiebungen bezüglich des gemessenen Bandenursprungs bei 19962 cm^{-1} (ΔS_1) (PBEO/cc-pVDZ). Die relativen Protonenaffinitäten (ΔS_0) des Grundzustandes sind ebenso angegeben. Alle Energien beinhalten harmonische Nullpunkt-Schwingungsenergien. Der absolute Wert für die Protonenaffinität zur Bildung von H^+LC@N5 wurde mit 969 kJ/mol berechnet.

	S_1 cm^{-1}	ΔS_1 cm^{-1}	ΔS_0 cm^{-1}
LC	24826		
H^+LC@N5	19153	-809	0
H^+LC@O4+	18451	-1511	1612
H^+LC@N10	22555	2593	2630
H^+LC@O2+	22422	2460	5828
H^+iso-LC@N5	15437	-4525	6539

Für einen weiteren Vergleich von Theorie und Experiment werden Franck-Condon Simulationen der beiden stabilsten Isomere H^+LC@N5 und H^+LC@O4+ durchgeführt. Der Vergleich dieser beiden Spektren mit dem experimentellen findet sich in Abbildung II.5.2. Um die Vergleichbarkeit zu erhöhen, werden hierbei die aus der Theorie stammenden Strichspektren mit einer Gauß-Funktion mit einer Halbwertsbreite von 6 cm^{-1} gefaltet. Es zeigt sich, dass die meisten Vibrationsbanden des Experiments durch die Franck-Condon-Simulationen reproduziert werden, auch wenn die Intensität des Bandenursprungs hier übermäßig stark ausfällt. Bei der Simulation für H^+LC@O4+ lassen sich nur wenige Banden zufriedenstellend im Experiment wiedergeben. Dies lässt auch für dieses Experiment den Schluss zu, dass in der kryogenen 22-Pol Falle, wie auch im FT-ICR Experiment am FELIX, das N5 Isomer als einziges Isomer identifiziert werden kann.

5.2 Elektronische Spektroskopie an Alkalimetallion-Lumichrom Komplexen

In den Kapiteln II.3 und II.4 werden IRMPD Spektren von isolierten M^+LC Komplexen (M = Li–Cs) intensiv mittels quantenchemischer Rechnungen analysiert. Aufbauend auf diesen Ergebnissen werden diese Komplexe auch in der kryogenen BerlinTrap-Apparatur bezüglich ihrer elektronischen Eigenschaften hin untersucht. Für die Präparierung von M^+LC in der BerlinTrap-Apparatur wird zunächst eine Mixtur aus 2 mg Lumichrom (Sigma Aldrich, 99 % Reinheit), 19 ml Methanol und 1 ml Wasser hergestellt und anschließend entweder 1 mg LiCl, 1 mg NaFl, 5 mg KCl

oder 4,5 mg CsCl hinzugefügt. Diese Lösungen werden in der ESI-Quelle mit 2 ml/h gesprüht. Die erzeugten Ionen werden in der 22-Pol Falle (25 K) gekühlt und nach der Extraktion aus dem 22-Pol im ReTOFMS Beschleunigungsbereich mit dem VIS-OPO Laser bestrahlt. Als Fragmente werden nur die Alkaliionen detektiert, da diese aufgrund ihrer zu LC geringeren Ionisationsenergie Träger der Ladung sind (IE_{LC} = 7,99 eV im Vergleich zu IE_{Alk} = 5,39–3,89 eV für Li–Cs).[208]

In Abbildung II.5.3 sind die gewonnenen VISPD-Spektren von M^+LC sowie von H^+LC zusammen aufgetragen (die einzelnen M^+LC Spektren sind zusätzlich in den Abbildung D.1. und D.2. im Anhang zu finden). Es zeigt sich, dass mit größer werdendem inversen Ionenradius des Liganden der Ursprung des $S_1 \leftarrow S_0$ Übergangs stark ins Rote schiebt, und zwar von Cs^+LC (23581 cm^{-1}) über Li^+LC (21910,8 cm^{-1}) bis hin zum H^+LC (19962 cm^{-1}) um insgesamt 3617 cm^{-1}. Diese großen Verschiebungen zeugen von einem sehr starken Einfluss des angelagerten M^+ auf die elektronische Struktur von LC. Um dieses Verhalten auch theoretisch zu verifizieren, werden für die O2+ und O4+ Isomere von M^+LC quantenchemische Rechnungen sowohl für den Grund-, als auch für den elektronisch angeregten Zustand auf dem PBE0/cc-pVDZ Niveau durchgeführt. Nur diese Isomere können in den IRMPD Spektren, die in den Kapiteln II.3. und II.4. analysiert werden, identifiziert werden. Aus den berechneten Strukturen sowohl für den S_0 als auch den S_1 Zustand der M^+LC lassen sich die Energien für die Ursprünge der $S_1 \leftarrow S_0$ Übergänge bestimmen, die äquivalent zu den Bandenursprüngen der jeweiligen VISPD Spektren der M^+LC sind. Die ermittelten Ursprünge der $S_1 \leftarrow S_0$ Übergänge der M^+LC@O2(O4+) und der H^+LC@N5(O4+) Isomere, sowie die aus den gemessenen VISPD Spektren gewonnenen Bandenursprünge sind zusammen in Abbildung II.5.3 dargestellt sowie in Tabelle II.5-2. gelistet.

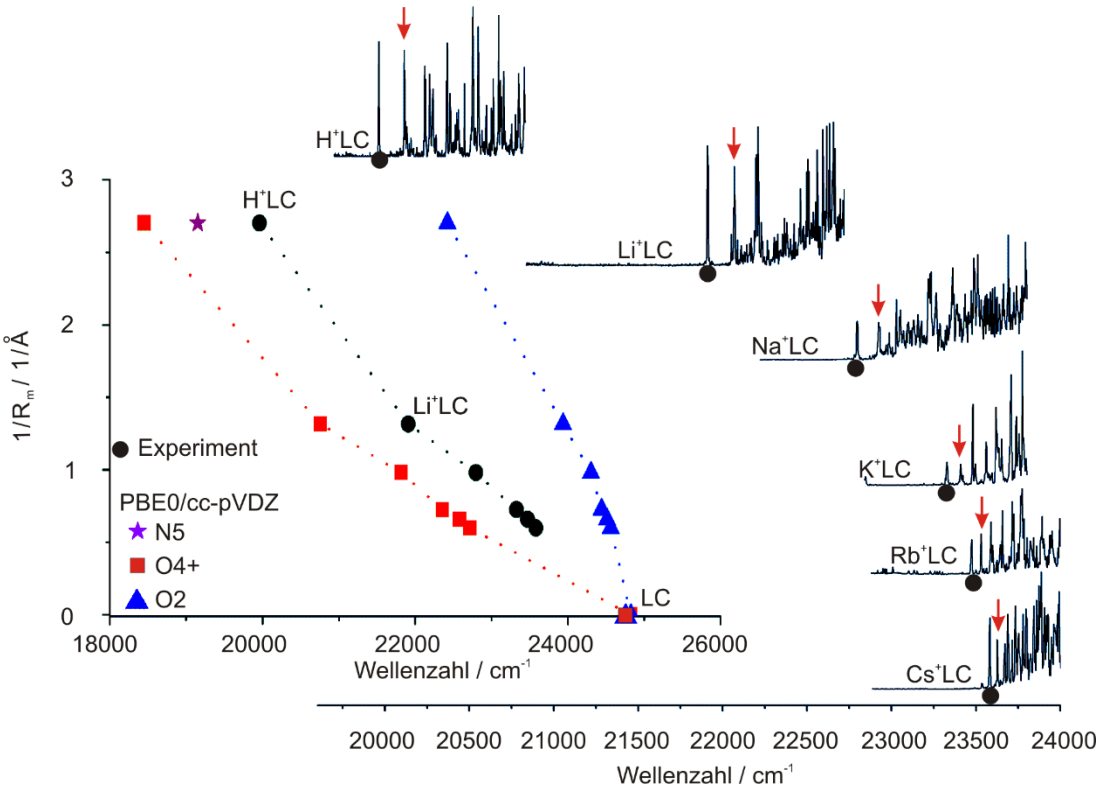

Abbildung II.5.3. Gemessene VISPD Spektren von H^+LC und M^+LC mit M = Li–Cs. Deutlich zu erkennen sind die spektralen Verschiebungen mit Veränderung des Liganden an LC. Auf dem im Bild der Spektren eingelassenen Abbildung ist der inverse Ionenradius über die $S_1 \leftarrow S_0$ Ursprungspositionen von H^+/M^+LC dargestellt. Hierbei zeigt sich, dass die experimentelle Kurve (schwarze Kreise) mit der theoretisch ermittelten Kurve für die O4+ Isomere (rote Quadrate) bzw. dem N5 Isomer (lila Stern) für H^+LC, besser übereinstimmt, als für die jeweiligen O2 Isomere (blaue Dreiecke). Die roten Pfeile über den VISPD Spektren markieren hier den zweiten dominanten Peak, also den ersten Franck-Condon aktiven Übergang.

Hier weichen die berechneten Werte der Bandenursprungspositionen für alle Isomere der M^+LC und H^+LC von den gemessenen ab. Dabei sind diese Abweichungen im Vergleich zum Experiment für jedes M^+LC@O2+ deutlich größer als für die entsprechenden O4+ Isomere. Für M^+LC sind die größten Unterschiede für M = Li auszumachen. Vom gemessenen Bandenursprung weicht der berechnete Wert für das Li^+LC@O4+, rotverschoben um $\Delta S_{1(exp\text{-}O4)}$ = -1153 cm^{-1} ab, während dieser für das O2 Isomer sogar um $\Delta S_{1(exp\text{-}O2)}$ = 2026 cm^{-1} ins Blaue verrückt ist. Noch deutlicher fällt der Unterschied für H^+LC aus. Für H^+LC@N5 beträgt der Abstand vom berechneten zum vermessenen Bandenursprung $\Delta S_{1(exp\text{-}N5)}$ = 811 cm^{-1} (ins Rote verschoben) während dieser für das H^+LC@O2 Isomer um annähernd den dreifachen Wert ins Blaue verschoben ist ($\Delta S_{1(exp\text{-}O2)}$ = 2460 cm^{-1}). Während diese Unterschiede zu den gemessenen Werten mit steigendem Ionenradius für die O4+ Isomere annä-

hernd konstant bleiben, verringern sich diese bei den O2(+) Isomeren. Unter zusätzlicher Einbeziehung der deutlich größeren Abweichung der Bandenursprünge der O2(+) Isomere im Vergleich zu den gemessenen kann der Schluss gezogen werden, dass im Experiment nur M^+LC@O4+ vermessen wird. Dies beruht jedoch darauf, dass die M^+LC@O2 Isomere im untersuchten Spektralbereich optisch nicht absorbieren, wodurch sie, auch wenn sie im Experiment vorhanden wären, hier nicht nachgewiesen werden könnten. Durch die Aufnahme von VISPD Spektren in einem anderen spektralen Bereich könnte auch der Nachweis von O2 Isomeren belegt werden, sofern sie existieren. Durch lineare Extrapolation der in Abbildung II.5.3 dargestellten Kurve der experimentellen Werte kann der Bandenursprung für das neutrale LC auf (24750±250) cm^{-1} abgeschätzt werden. Der durch quantenchemische Rechnungen ermittelte Wert liegt bei 24826 cm^{-1}.

Tabelle II.5-2. Positionen der gemessenen (VISPD) und berechneten $S_1 \leftarrow S_0$ Bandenursprünge der O4+, O2(+) und N5 Isomere von H^+/M^+LC sowie für neutrales LC (PBE0/cc-pVDZ).

	S_1(Exp) cm^{-1}	**S_1(O4+) cm^{-1}**	**S_1(O2(+)) cm^{-1}**	**S_1(N5) cm^{-1}**	**S_1(LC)**
LC					24826
H^+LC	19962	18451	22422	19153	
Li^+LC	21911	20757	23937		
Na^+LC	22796	21818	24303		
K^+LC	23327	22360	24415		
Rb^+ LC	23473	22584	24511		
Cs^+LC	23581	22717	24563		

Bei genauerer Betrachtung der Spektren stellt sich heraus, dass der Abstand der zweiten dominanten Bande im Vergleich zum Bandenursprung mit steigendem Ionenradius kleiner wird (Tabelle II.5-3). Der im Experiment auftretende zweite dominante Peak stimmt in der Frequenz recht gut mit der ersten (Franck-Condon aktiven) *in plane* Schwingung des entsprechenden M^+LC@O4+ überein.

Für Li^+LC@O4+ schwingt hier sowohl der Benzen (I)- als auch der Pyrimidindionring (III) in der Ebene um den Pyrazinteil (II), ebenso wie für H^+LC@N5. Bei den anderen M^+LC@O4+ ist diese erste Franck-Condon aktive Mode eine Torsionsschwingung von M^+ um O4 (Abbildung II.5.4).

Die ersten *in plane* Vibrationen von M^+LC@O2 sind hingegen Biegeschwingungen von M^+ gegenüber O2 und liegen in ihrer Frequenz weit weg von den experimentell ermittelten Bandabständen (Tabelle II.5-3). Die zweiten Schwingungen, die Franck-Condon aktiv sein können, sind für alle M^+LC@O2 die gleichen Biegeschwingungen, wie die erste *in plane* Schwingung für Li^+LC@O4+. Die Frequenzen dieser

Schwingungen verändern sich jedoch nur leicht mit steigender Alkalimasse. Nur für Li^+LC@O2 und H^+LC@O2 können im experimentell ermittelten Energiebereich, der sich aus dem Abstand des Bandenursprungs zur ersten dominanten Bande ergibt, die gleichen Biegeschwingungen vorhergesagt werden wie für Li^+LC@O4+ und H^+LC@N5.

Diese beschriebenen Ring- und Metallvibrationen sind ein zusätzliches Indiz zur Identifizierung der M^+LC@O4+ Isomere im Experiment, was am Beispiel des Na^+LC Komplexes verdeutlicht werden soll. Der Abstand zwischen dem Bandenursprung und dem zweiten dominanten Peak im experimentellen VISPD Spektrum von Na^+LC beträgt 129 cm^{-1}. Den Berechnungen zufolge liegt in nächster Nähe zum experimentellen Wert vom O4+ Isomer ($\upsilon_{IR}(O4+) = 132\ cm^{-1}$) die oben erwähnte Metallschwingung. Für Na^+LC@O2 liegt diese jedoch bei 47 cm^{-1}. Die zweite *in plane* Schwingung für Na^+LC liegt wiederum bei 159 cm^{-1}, also beide viel weiter entfernt.

Tabelle II.5-3. Abstände des zweiten dominant auftretenden Peaks der gemessenen VISPD Spektren ($\Delta\upsilon_{VISPD}$) im Vergleich mit den berechneten Vibrationsfrequenzen der ersten *in plane* Schwingung (Biege- oder Metallschwingung) im S_1 für die Isomere O4+ ($\Delta\upsilon_{IR}(O4+)$) und N5 ($\Delta\upsilon_{IR}(N5)$) und zu den Biegeschwingungen für O2(+) Isomere von H^+/M^+LC (PBE0/cc-pVDZ). Zusätzlich hierzu werden die Frequenzen der ersten *in plan*e Schwingungen (Metallschwingung) der O2 Isomere mit aufgetragen

	$\Delta\upsilon_{VISPD}$ cm^{-1}	υ_{IR}(O4+) cm^{-1}	υ_{IR}(O2(+)) cm^{-1}	υ_{IR-M}(O2) cm^{-1}	υ_{IR}(N5) cm^{-1}
H^+LC	151,4	153,6	152,7		151,07
Li^+LC	158,2	161,3	159,8	87,4	
Na^+LC	129	132,2	158,9	47,4	
K^+LC	82	86,0	158,3	35,2	
Rb^+ LC	57	59,8	158,7	28,9	
Cs^+LC	44	45,2	158,6	25,3	

Die Berechnungen sagen außerdem innerhalb des experimentell ermittelten spektralen Bereiche beim Na^+LC@O4+ Isomer fünf zusätzliche *out of plane* Schwingungen voraus. Ähnliches gilt, bis auf die Na^+ Biegeschwingung bei 47,4 cm^{-1}, auch für das Na^+LC@O2 Isomer, wobei hier 7 out of plane Schwingungen beobachtet werden. Diese Franck-Condon inaktiven Moden wiederum können im gemessenen VISPD-Spektrum von Na^+LC, nicht nachgewiesen werden (Abbildung D.1 im Anhang). Wie bereits erwähnt sind hingegen bei M^+LC@O4+ für M = Na–Cs die ersten *in plane* Schwingungen jene des M^+ und somit die Schwingungsfrequenz abhängig von der Größe des Metallions.

In Abbildung II.5.4 sind die gemessenen Abstände (in cm^{-1}) zwischen dem ersten und zweiten dominanten Peak in Bezug zum inversen Ionenradius des entspre-

chenden M^+ aufgetragen. Zusätzlich werden die IR Frequenzen der weiter oben beschriebenen ersten *in plane* Schwingungen im S_1, sowohl für die O2, als auch für die O4+ Isomere dargestellt. Die Grafik zeigt deutlich, dass die Berechnungen für die O4+ Isomere dem Trend sehr gut folgen, die des O2 Isomers zwischen Li^+ und Rb^+ jedoch stark davon abweichen. Dieses passende Muster kann als nochmaliger Hinweis genommen werden, dass im Experiment nur die M^+LC@O4+ Isomere vermessen werden.

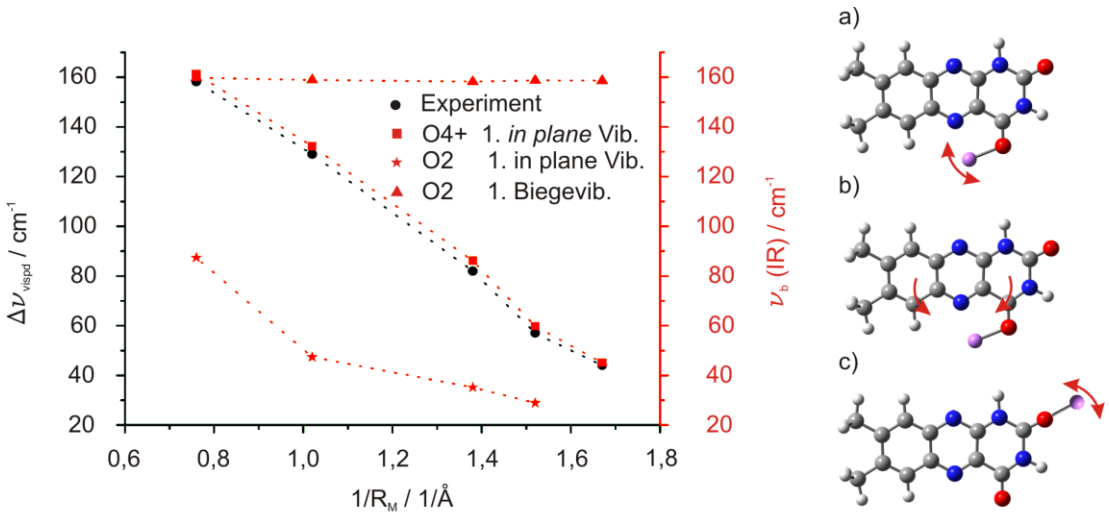

Abbildung II.5.4. Abstände ($\Delta\nu_{VISPD}$) des $S_1 \leftarrow S_0$ Ursprungs zur ersten dominanten Linie im experimentellen VISPD-Spektrum der M^+LC mit M = Li–Cs und H^+LC (schwarz) im Vergleich zu den theoretisch ermittelten Vibrationsfrequenzen ($\Delta\nu_b$(IR)) der ersten *in plane* Vibration im S_1 für M^+LC@O4+ (rote Quadrate), und den zu M^+LC@O2 gehörenden ersten *in plane* (Metall-) Schwingung (rote Sterne) und *in plane* Biegeschwingung (rote Dreiecke), aufgetragen über den inversen Metallionenradius (PBE0/cc-PVDZ). Das experimentelle Muster passt sehr gut zu den Werten für die O4+ Isomere. Die Metallschwingung von M^+LC@O4+ (a) ist ebenso skizziert wie die Form der Ringschwingung, die sich für O2 und O4+ ähneln (b), als auch die der Metallschwingung von M^+LC@O2 (b).

In Kapitel II.4.6 wird beschrieben, dass die Bildung von M^+LC vorrangig die Eigenschaften der C=O Bindungen manipuliert. Es stellte sich hier die Frage, ob bei der elektronischen Anregung hierdurch nur $n-\pi^*$ Wechselwirkungen betroffen sind oder ob M^+ auch Auswirkungen auf die $\pi - \pi^*$ Übergänge besitzt?

Die durchgeführten Rechnungen ergeben eine elektronische Anregung aus den HOMO und HOMO-1 Orbitalen in das LUMO Orbital, welche alle wie in Abbildung D.3 dargestellt π Orbitale sind. Somit ist gezeigt, dass durch die Metallierung im O4+ Isomer über die Bindung zum N5 auch das Ringsystem und demzufolge das π-System der Elektronen stark beeinflusst wird. Die Rechnungen bestätigen zudem,

dass die elektronischen Übergänge in Flavinen durch $\pi - \pi^*$ Wechselwirkungen stattfinden, und dass die Beeinflussung dieser π Elektronen durch M^+ zu den starken Verschiebungen der Absorptionsspektren von M^+LC (und auch H^+LC) im Vergleich zu LC führen.

5.3 Zusammenfassung

Das Kapitel II.5 beschäftigt sich mit der VISPD spektroskopischen Untersuchung und anschließender quantenchemischer Analyse von kryogen gekühlten H^+LC und M^+LC Komplexen, welche mit der in Teil I dieser Arbeit beschriebenen kryogenen BerlinTrap vermessen werden. Die hier gewonnenen Resultate sind die ersten optischen Spektren isolierter Flavine in der Gasphase. Die Analyse des $S_1 \leftarrow S_0$ Bandenursprungs sowie das vibratorische Spektrum, was mit Hilfe von Franck-Condon-Simulationen für H^+LC erstellt wird, sind konsistent mit der Detektion des energetisch stabilsten N5 Isomers. Letzteres wird bereits im IRMPD-Spektrum von in einer ICR-Zelle gefangenen H^+LC Komplexen bei 300 K Fallentemperatur identifiziert (Kapitel II.3.1).

Die zusätzliche Analyse der VISPD Spektren für M^+LC zeigt mit größer werdendem Ionenradius von M^+LC eine starke Blauverschiebung des $S_1 \leftarrow S_0$ Ursprunges (von H^+ bis Cs^+) von 3617 cm^{-1}. Diese starken Änderungen in den experimentellen Spektren zeugen von einem großen Einfluss der Metallionen auch auf das π-Elektronensystem der aromatischen Ringstrukturen bedingt durch die (teilweise) Bindung des Liganden an die N5 Position.

Die quantenchemisch berechneten Energien der $S_1 \leftarrow S_0$ Ursprünge für $M^+LC@O4+$ stimmen mit den VISPD Spektren weit besser überein als für $M^+LC@O2+$. Die Bandenursprünge der $S_1 \leftarrow S_0$ Übergänge für $M^+LC@O2+$ beginnen demzufolge weiter im Blauen, weswegen diese in den vorliegenden VISPD Spektren nicht auftauchen oder mit den Spektrallinien der $M^+LC@O4+$ Isomere unidentifizierbar überlagern. O2 Isomere, wie sie in den IRMPD Spektren von M^+LC (Kapitel 4.1) für M = K–Cs identifiziert werden, können aus diesem Grund innerhalb des vermessenen Spektralbereiches nicht durch VISPD nachgewiesen werden, selbst wenn diese Komplexe im 22-Pol Experiment vorhanden wären. Andererseits wirkt die angewendete Messmethode hierdurch in gewisser Weise Isomer selektiv.

Teil III
Zusammenfassung und Ausblick

1. Zusammenfassung

Diese Dissertation beschäftigt sich mit der Analyse struktureller, energetischer, vibratorischer und elektronischer Eigenschaften von protonierten und metallierten Flavinen in der Gasphase, die mit IR und VIS spektroskopischer sowie quantenchemischer Verfahren durchgeführt werden. Flavine sind eine Gruppe gelber Farbstoffe, die in der Natur in vielen verschiedenen Bereichen zu finden sind. Vielfältige Studien, die die Wirkweise dieser Stoffgruppe in der Natur untersuchen, wurden bereits getätigt. Spektroskopische Untersuchungen an geladenen isolierten Flavinen in der Gasphase lagen zu Beginn dieser Arbeit jedoch praktisch nicht vor. Doch nur an isolierten Molekül(ion)en lassen sich die elementaren Merkmale von Flavinen, wie deren Grundzustandsstruktur, Stabilität, sowie energetische Potentialflächen am besten analysieren. Denn durch den fehlenden Einfluss von Lösungsmitteln, Gegenionen oder anderen störenden Partikeln, wird das Verhalten sowie die Struktur der reinen, ungelösten, optisch absorbierenden Substanz zugänglich. Um diesen Ansatz in die Tat umzusetzen, werden für diese Arbeit IRMPD spektroskopische Untersuchungen an protonierten und metallierten Flavinen mit Hilfe eines FEL bei 300 K in einer ICR Zelle durchgeführt.

Die in einer ersten Messung gewonnenen IRMPD-Spektren von protonierten Lumichrom (H^+LC), Lumiflavin (H^+LF), Riboflavin (H^+RF) sowie Flavinmononukleotid (H^+FMN) werden in Kapitel II.3 mit Hilfe quantenchemischer Analysen auf ihre strukturellen, sowie vibratorische und energetischen Eigenschaften hin analysiert. Das Hauptziel ist es, die Wirkung des Protons auf das neutrale Flavin zu untersuchen und die sich ergebenden bevorzugten Protonierungsstellen zu identifizieren. Durch die quantenchemische Analyse können zudem Rückschlüsse auf die resultierenden Geometrien, die Bindungsenergien und Vibrationsstrukturen jedes einzelnen H^+FL gezogen werden. Dabei stellt sich heraus, dass jedes untersuchte Flavin eine andere bevorzugte Protonierungsstelle besitzt. So zeigt sich, dass das kleinste Flavin Lumichrom bevorzugt an N5 protoniert, was auch experimentell verifiziert wird. Für H^+LF hingegen wird das O2+ Isomer als das energetisch favorisierte identifiziert und auch im Experiment nachgewiesen. Der entscheidende Hinweis zur Identifikation dieser Struktur im IRMPD Spektrum liegt im Verschwinden einer der beiden C=O Streckmoden, die hierdurch zu einem Marker für diese Bindungsposition werden. Für das H^+RF werden zwei N1 protonierte Konformere mit annähernd gleicher Energie als stabilste Strukturen gefunden, für die auch die berechneten Spektren gut mit dem Experiment übereinstimmen. Die genaue spektroskopische Verifizierung einzelner Konformationen, die die Ausrichtung der Ribitylkette mitberücksichtigt, ist jedoch aufgrund der zu geringen Auflösung des experimentellen Spektrums nicht möglich. Für H^+FMN führt die Bindung an O2+ zu den stabilsten identifizierten

Isomeren. Diese sind energetisch sehr ähnlich der H^+FMN@N1 Strukturen. Welche Isomere in welcher Seitenkettenkonstellation im experimentellen Spektrum auftauchen kann jedoch nicht eindeutig gesagt werden, da die hierzu nötige spektrale Auflösung ebenfalls nicht ausreicht. Einige Peakformen im IRMPD-Spektrum deuten jedoch darauf hin, dass sowohl O2+ als auch N1-protonierte Isomere, in verschiedenen Konformationen ihren Beitrag am IRMPD Spektrum haben.

In Kapitel II.4 wird die Analyse auf $M^{q+}LC_n$ und M^+LF Komplexen erweitert. Die bevorzugten Bindungsstellen, deren Stärke und die Art der Wechselwirkung werden hierbei systematisch, für eine Reihe von Alkali-, MünzmetalI- und für LC zusätzlich für Mg^{2+} Ionen aufgeklärt. Die beiden CO-Streckfrequenzen der beiden Karbonylgruppen sind sensitive Indikatoren für die Bindungsposition als auch der Bindungsstärke der vermessenen Komplexe. Hierdurch ist es möglich zu zeigen, dass für alle $M^{q+}LC_n$ durch die Formung eines Chelats zwischen der N5 und O4 Position sich die jeweils stabilste Struktur bildet. Diese kann wiederum in allen IRMPD-Spektren identifiziert werden. Für M^+LF hingegen sind nur für die kleinsten Alkaliionen (Li, Na) sowie alle Münzmetallionen die M^+LF@O4+ Isomere die energetisch stabilsten. Die größeren Alkaliionen (K–Cs) bevorzugen die Bindung an der O2(+) Position des LF. Der Grund für den Unterschied zwischen LC und LF kann darin liegen, dass bei LF die N1 Position durch ein Proton besetzt ist. Hierdurch ist die Bildung eines Chelats zwischen dem N1 und dem O2 Atom nicht möglich und dadurch die Position zwischen O4+ und N5 besonders attraktiv. Bei LF ist die N1 Position hingegen frei, jedoch wirkt die Methylgruppe an N10 wiederum repulsiv auf naheliegende Kationen. Die freie N1 Position wirkt sich wieder attraktiv auf die O2 Position aus. Ein Wechselspiel zwischen Ionengröße und Bindungsposition führt schließlich zu dem beobachteten Verhalten. Dennoch kann auch für M^+LF, wie auch schon für $M^{q+}LC_n$ immer das jeweils stabilste berechnete Isomer im IRMPD-Spektrum identifiziert werden.

Für jedes Alkaliion, sowohl für M^+LC als auch für M^+LF, skalieren alle energetischen-, strukturellen-, elektronischen- und Vibrationsparameter monoton und annähernd linear mit dem inversen Ionenradius von M^+. Dieses Verhalten wird durch den dominanten Beitrag der Coulomb-Wechselwirkung des jeweils anziehenden Potentials hervorgerufen. Im Gegensatz weichen diese Trends für die Münzmetallionen in vielerlei Hinsicht von letzteren wegen zusätzlicher kovalenter Bindungsanteile ab.

Die Protonierung und Metallierung der Flavine erfolgt für die bereits vermessenen Komplexe (bis auf H^+LC@N5) an den C=O Gruppen. Hierdurch sollte der Ladungstransfer bevorzugt auf den n-Orbitalen von LF bzw. LC lokalisiert sein. Inwiefern sich diese Bindungen auch auf das π-Elektronensystem der jeweiligen Chromophore der Flavine auswirken, war bis zu diesem Zeitpunkt unbekannt. Um dies herauszufinden, ist die Kenntnis der UV- und VIS-Spektren notwendig.

Aus diesem Grund wurde für diese Arbeit das 4K-ESI-QPMS-22-Pol-ReTOFMS Ionenfallen-Massenspektrometer BerlinTrap neu aufgebaut, mit dem es möglich ist, hochaufgelöste UV-VISPD-Spektren von kryogen kalten Flavinionen zu erhalten (Kapitel I.2). Eine ESI-Quelle generiert Ionen, die über einen Hexapol-Ionenleiter, einen QPMS, einen QP-Umlenker und einen Oktupol in eine 22-Pol Falle geleitet werden. Hier werden die Ionen gefangen und mittels Puffergas gekühlt. Nach der Kühlung erfolgt der Transfer der Ionen in Richtung eines ReTOFMS, wo diese mit einem gepulsten Laser (UV, VIS, IR) bestrahlt werden. Die bei resonanter Absorption entstehenden Fragmentionen werden anschließend in Abhängigkeit der Laserwellenlänge detektiert, wodurch ein Dissoziationsspektrum generiert werden kann. Die BerlinTrap ist die erste Apparatur in der eine ESI-Quelle mit einer 22-Pol Falle und einem orthogonalen ReTOFMS kombiniert werden. Durch diese Apparatur ist es möglich, alle Fragmentionen, die bei einem Laserschuss entstehen, massenaufgelöst zu detektieren.

In Kapitel I.3 wird die Leistungsfähigkeit dieser Maschine charakterisiert. Mittels UVPD Spektroskopie an H^+Tyrosin ergibt sich eine minimale Vibrationstemperatur von unter 20 K der im 22-Pol gefangenen Ionen. Diese gemessene Temperatur ist ähnlich niedrig wie in einer ähnlichen Apparatur mit einer Ringelektrodenfalle und einem ortho-ReTOFMS.[22] Eine Erklärung für den Unterschied von der Fallen- und der gemessenen Vibrationstemperatur liegt in möglichen Kollisionen der Ionen mit dem Restgas bei der Extraktion aus dem 22-Pol. Aber auch ein Radiofrequenzheizen bedingt durch die 22-Pol Wechselspannung, die über die Endkappen auf die Ionen entlang der Fallenachse wirkt, kann als Erklärung herhalten

Die geringen Ionentemperaturen in der 22-Pol Falle ermöglichen es Heliumkomplexe zu bilden, was mit dem Nachweis von $He_nH_3O^+$ für n = 1–5 und für He_nNa^+ für n = 1–6 gezeigt wird. Durch die erfolgreiche Formung von He_nNa^+ Komplexen wird zudem eine komplett neue Möglichkeit geschaffen, die Bindungseigenschaften von He an Ionen zu untersuchen. Denn He-Atome schrittweise an ein Ion anzulagern ist ein ganz neuer Ansatz, um die Entstehung sowie die Strukturen von z. B. He_nM^{q+}- Solvatationshüllen im Detail zu untersuchen. Üblicherweise erfolgt die Generierung kleiner He Ionenkomplexe durch Energieeintrag (Elektronenstoß) in einen großen He Nanotropfen, der dadurch zerbricht bzw. das He abdampft.[219–221]

Die erfolgreiche Erzeugung *getagter* Ionen führt zudem dazu, dass es mit der BerlinTrap möglich ist, auch IRPD Spektren zu gewinnen, wie es am Beispiel von Ar-Benzaldehyd-Komplexen ebenfalls demonstriert wird.

Nachdem die Funktionsweise der BerlinTrap erfolgreich nachgewiesen ist, werden die geplanten VISPD spektroskopischen Untersuchungen an den Flavinen verwirklicht. Hierzu werden H^+LC und M^+LC Komplexe mit M = Li–Cs in der 22-Pol Falle gekühlt und anschließend mit einem OPO-Laser der $S_1 \leftarrow S_0$ Übergang vermessen. Zur Analyse der Spektren werden quantenchemische Rechnungen sowohl für den S_0 als auch für den S_1 Zustand

durchgeführt. Für die H^+LC Komplexe erfolgen zusätzlich Franck-Condon Simulationen, um die sich hieraus ergebenden Spektren mit den experimentell ermittelten zu vergleichen. Hier liefern die Rechnungen für $H^+LC@N5$ die mit dem Experiment beste Übereinstimmung, was sich mit den Erkenntnissen aus den IRMPD Messungen deckt. Die gewonnenen VISPD Spektren der M^+LC in der BerlinTrap-Apparatur zeigen sehr starke Verschiebungen der $S_1 \leftarrow S_0$ Bandenursprünge in Abhängigkeit der Ionenradien. Dies wiederum ist der Beweis, dass die Metalle, trotz der vorrangigen Bindungen an die O4+ Position, einen sehr starken Einfluss auf das π-Elektronensystem des Chromophors haben. Für alle M^+LC kann aufgrund der besseren Übereinstimmung der berechneten Energien der $S_1 \leftarrow S_0$ Ursprünge der Nachweis des O4+ Isomers bestätigt werden. Die Bandenursprünge der $S_1 \leftarrow S_0$ Übergänge für $M^+LC@O2+$ beginnen jedoch weiter im Blauen, weswegen diese in den vorliegenden VISPD-Spektren nicht auftauchen oder mit den Spektrallinien der $M^+LC@O4+$ Isomere unidentifizierbar verschmelzen.

2. Ausblick

Da sich die vorliegende Arbeit zum einen mit der Entwicklung und dem Aufbau eines kryogenen 4K-ESI-QPMS-22-Pol-ReTOF-Tandemmassenspektrometers beschäftigt, zum anderen mit der spektroskopischen und quantenchemischen Analyse von Flavin-Ion-Komplexen in der Gasphase, soll auch hier ein zweigeteilter Ausblick erfolgen.

Erweiterung der BerlinTrap-Apparatur

Die erfolgreiche Demonstration der Funktionalität der BerlinTrap-Apparatur in mehreren Bereichen, wie der UV-VISPD-Spektroskopie, der IRPD-Spektroskopie oder der Bildung von He Komplexen in der 22-Pol Falle zeigt, dass mit Hilfe dieser Apparatur in Zukunft viele neue Messungen möglich werden.
Ein Aspekt, der vor allem zur Untersuchung komplexer Molekülionen interessant wäre, ist die Erweiterung der spektroskopischen Möglichkeiten auf die IR-UV(VIS) Doppelresonanzspektroskopie. Bei diesem Verfahren werden zu Beginn Molekülionen mit einem durchstimmbareren IR Laser bestrahlt. Ein UV oder VIS Laser, der zuvor auf einen resonanten Übergang des Ions eingestellt wird und bei dieser Frequenz verweilt, wird anschließend im Abstand einiger ns gefeuert. Wechselwirkt der IR Laser nur schwach bis gar nicht mit den Molekülionen, so wird durch den resonanten UV-VIS Übergang ein konstantes Dissoziationssignal detektiert. Ist der zuvor eingestrahlte IR Laser jedoch resonant mit einem Schwingungsübergang, so kommt es zu einer Entvölkerung des Grundzustandes. Da der anschließend feuernde UV Laser nur resonant für den Grundzustand ist, bricht das zuvor konstante Dissoziationssignal an dieser Stelle ein. Beim Verfahren der IR Laserwellenlänge wird somit ein IR Absorptionsdissoziationsspektrum erzeugt. Da die UV Übergänge sehr sensitiv auf unterschiedliche Isomere reagieren, wird hierdurch eine isomerenselektive Analyse komplexer Molekülionen möglich. Die für diese Erweiterung nötigen IR und UV Lasersysteme sind vorhanden und bereits präzise synchronisierbar. Mittels kleiner optischer Erweiterungen sollte dieses Verfahren in Zukunft umsetzbar sein.
Es hat sich gezeigt, dass eine 22-Pol Falle für die Kühlung großer Moleküle nicht zwingend notwendig ist, um die tiefsten bisher messbaren Temperaturen zu erreichen.[46,222] Durch das 22-Pol Feld verteilen sich die Ionen über einen weiten Bereich innerhalb der Falle und durch den Einfluss der Endkappen kann diese Verteilung ringförmige Strukturen annehmen. Dadurch wird der Überlapp mit einem Laserstrahl sehr stark reduziert[136]. In einem Quadrupol werden die Ionen entlang der zentralen Achse fokussiert, wodurch ein Überlapp mit dem Laser deutlich verbessert wird. Eine DrahtQP Falle, wie sie schon in [46] Verwendung findet,

soll in Zukunft den 22-Pol ersetzen. Dadurch wird eine bessere Ionenausbeute und optimierte Dissoziation erhofft.

Um das erzeugte Ionensignal in der Apparatur weiter zu erhöhen ist es möglich, anstelle der jetzt verwendeten ESI Quelle eine Kombination aus Nanosprayquelle und Ionentrichter[146] zu implementieren. Neben der Erhöhung des Ionensignals durch den Trichter sinkt gleichzeitig der Verbrauch der zu sprühenden Analyten durch die gesteigerte Sprüheffizienz der Nanospray-Quelle.

Durch die optimierte Einstellung der Parameter der sich zurzeit in Betrieb befindenden ESI-Quelle wird es wiederum möglich, Wasserkomplexe verschiedener Größe zu erzeugen. Auch hierdurch eröffnet sich ein weites Feld an möglichen Untersuchungen die es gestatten, das Verhalten von Molekülionen beim stufenweisen Anlagern einzelner Wassermoleküle zu untersuchen (Mikrosolvatation/Mikrohydratation). Das Verhalten biologisch relevanter Molekülionen in ihrer Wirkumgebung wird hierdurch noch genauer einsehbar.

Um die Bedienbarkeit der BerlinTrap-Apparatur zu steigern, ist die Implementierung eines genetischen Algorithmus vorgesehen, der die für jeden neuen Analyten neu zu suchenden elektrischen Parameter automatisch optimiert. Der momentan bereits an der BerlinTrap-Apparatur getestete Algorithmus wird die aufwändige Signalsuche automatisieren und beschleunigen.

Für die durchgeführte Vermessung der Flavinkomplexe in der BerlinTrap-Apparatur reicht die Auflösung des verwendeten ReTOFMS vollkommen aus. Doch für zukünftige Messungen, von z. B. sehr großen Molekülionen und deren Komplexen, wäre es jedoch von Vorteil, die Auflösung zu erhöhen. Denn der Nachweis von He/H_2-Komplexen größerer Molekülionen wird hierdurch sehr erschwert bis unmöglich. Eine erste Maßnahme liegt hier in der Verbesserung des ReTOFMS Beschleunigungsbereichs durch Verwenden dünner Bleche anstelle der relativ dicken Platten. Die zweite Verbesserung läge in der Verlängerung der zweiten Ionenflugstrecke hinter dem Reflektor. Auch über die Verwendung eines schnellen Ionendetektors wäre für eine große Auflösungssteigerung notwendig.

Eine letzte Idee, die zu neuen Messmöglichkeiten führen könnte, läge darin, die Massenseparierung, welche bereits bei der Extraktion aus dem 22-Pol zum ReTOFMS auftritt, zu erhöhen. Somit läge im Beschleunigungsbereich des ortho-ReTOFMS wieder eine massenselektierte Spezies vor, die innerhalb dieses Bereiches mittels Laserbestrahlung untersucht werden kann. Die hierdurch erzeugten Fragmente könnten auf dem herkömmlichen Weg im ReTOFMS nachgewiesen werden.

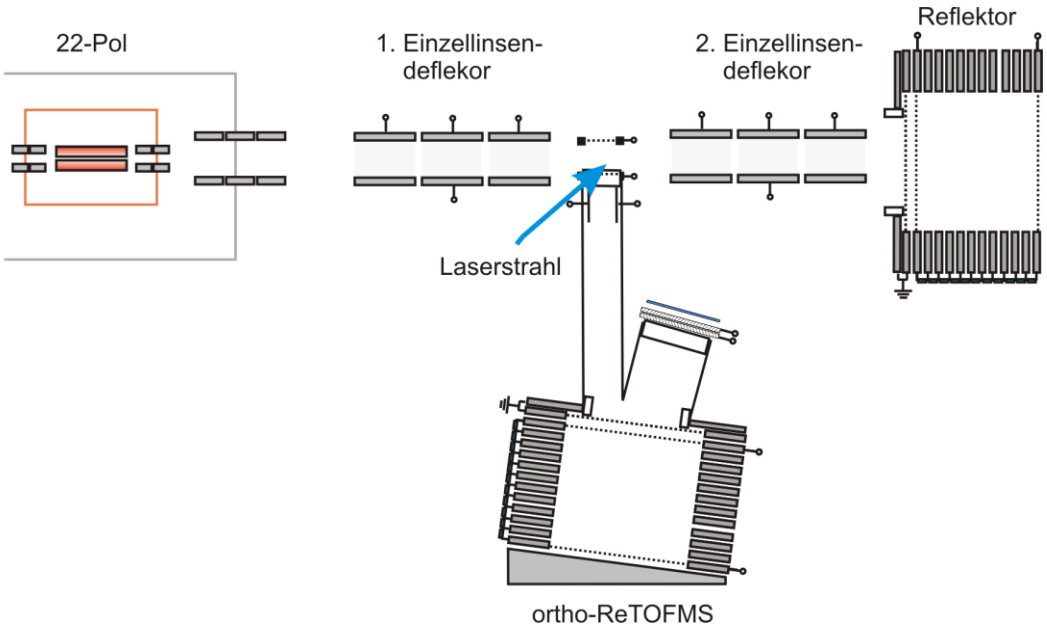

Abbildung III.2.1. Das Anbringen eines Ionenreflektors hinter dem Beschleunigungsbereich des ortho-ReTOFMS könnte die Massenselektivität, die schon durch den Ionentransport vom 22-Pol zum ortho-ReTOFMS bedingt ist, weiter erhöhen. Komplexe, die im 22-Pol entstehen, könnten somit zuerst massenselektiert werden, um so gezielt nur eine Spezies laserspektroskopisch zu untersuchen.

Hierdurch wären Messungen an Komplexen oder anderen Reaktionsprodukten möglich, die erst in der 22-Pol Falle entstehen. Umsetzbar ist dies durch eine Verlängerung der Wegstrecke zwischen 22-Pol und ReTOFMS und zusätzlich durch das Anbringen eines weiteren Ionenspiegels hinter dem ReTOFMS Beschleunigungsbereich (Abbildung III.2.1). Hierfür müsste der vorhandene Experimentieraufbau nur leicht modifiziert werden.

Messungen an Flavinen

Die vorliegende Studie über protonierte und metallierte Flavine liefert viele interessante Einsichten über die fundamentalen Wirkmechanismen, die zu den Eigenschaften dieser Farbstofffamilie führen. Um diese Mechanismen, vor allem bei der elektronischen Anregung noch tiefer zu verstehen, und um herauszufinden, welche Einflüsse dabei jeweils die unterschiedliche Molekülkomplexität hat, sind erweiterte Messungen an H^+FL und M^+FL notwendig.
Die in dieser Arbeit gezeigten IRMPD Spektren von H^+RF bzw. H^+FMN zeigen eine ungenügende Auflösung, um verschiedene Seitenkettentautomere zu identifizieren. Das gleiche gilt für die in Abbildung C.18 dargestellten IRMPD Spektren von M^+RF. Durch die Kühlung im 22-Pol könnte die Anzahl der Tautomere reduziert werden. Eine anschließende IRPD spektroskopische Untersuchung an z. B. Ar- oder He *getagten* H^+FL könnte zudem zu höher aufgelösten IR Spektren führen. Auch würde diese Messmethode an M^+LF neue Erkenntnisse generieren, denn IR Spektren von M^+FMN existieren bisher noch gar nicht.

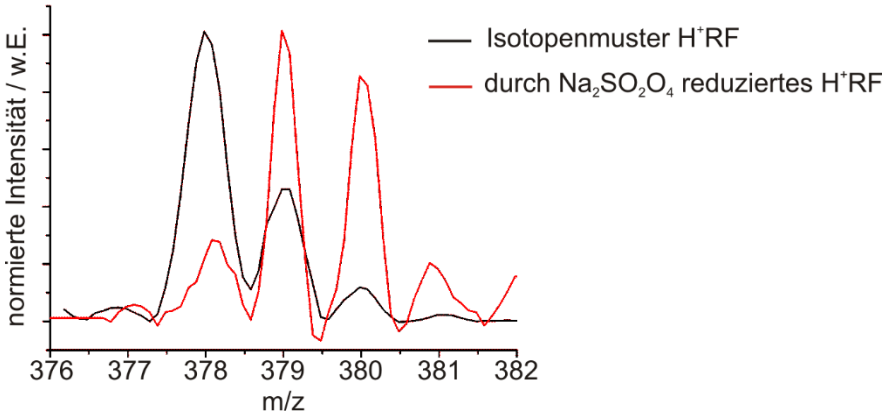

Abbildung III.2.2. Massenspektren von zwei mit der ESI-Quelle gesprühten RF Lösungen. Für die schwarze Spur wurde eine Lösung aus 0,6 mg RF+10 ml H_2O+10 ml Essigsäure gesprüht. Sie stellt das Isotopenmuster von H^+RF dar. Für die rote Spur wurde obiger Lösung 12 mg Natriumdithionith als Reduktionsmittel hinzugefügt. Hierdurch ergibt sich eine Verschiebung der Massenspektren zu m/z+1 im Vergleich zur schwarzen Spur. Gleichzeitig ist der Peak bei m/z 379 im Vergleich zu m/z 378 gewachsen. Dies lässt vermuten, dass in der roten Spur sowohl das H^+RF-Semiquinone (m/z 379) als auch das vollständig reduzierte H^+RF (m/z 380) zu finden sind.

Wie weiter oben schon beschrieben, sollte es mit einigen Modifikationen an der bestehenden ESI-Quelle möglich sein $(H_2O)_n$-H^+FL Komplexe zu bilden, welche anschließend spektroskopisch untersucht werden können. Für Flavine existieren viele Studien, die sich mit deren optischen Verhalten in verschiedensten Lösungen bei unterschiedlichen pH-Werten auseinandersetzen. Durch die stufenweise Anlagerung einzelner Wassermoleküle (Mikrosolvatation) kann hierdurch der Übergang vom einzelnen Molekülion hin zum vollständig gelösten Flavin untersucht werden.

Ein letzter jedoch sehr interessanter Aspekt ist die Erzeugung ionischer Flavine anderer Oxidationsstufen in der Elektrosprayquelle und deren anschließende spektroskopische Untersuchung. In einer für diese Arbeit getätigten Voruntersuchung wurde H^+RF bereits in zwei unterschiedlichen Oxidationsstufen Massenspektrometrisch nachgewiesen (Abbildung III.2.2). Analysen über die strukturelle Beschaffenheit sowie vibratorische und elektronische Eigenschaften könnten auch hier ein tieferes Verständnis über die Natur der Flavine liefern.

3. Literaturverzeichnis

1. Theodor Ackermann. *Physikalische Biochemie. Grundlagen der physikalisch-chemischen Analyse biologischer Prozesse.* 1st ed. (Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1992).
2. Roland Glaser. *Biophysics. An Introduction.* 2nd ed. (Springer Berlin Heidelberg, 2012).
3. Raymond Chang. *Physical Chemistry with Applications to Biological Systems.* 2nd ed. (Prentice Hall College Div, 1981).
4. Eduardo Silva and Ana M. Edwards (ed.). *Flavins. Photochemistry and Photobiology* (Published by The Royal Society of Chemistry, 2006).
5. Heelis, P. F. The photophysical and photochemical properties of flavins (isoalloxazines). *Chemical Society Reviews* **11,** 15–39 (1982).
6. Swartz, T. E. *et al.* Blue-light-activated histidine kinases: two-component sensors in bacteria. *Science* **317,** 1090–1093 (2007).
7. Losi, A. & Gartner, W. Old chromophores, new photoactivation paradigms, trendy applications: flavins in blue light-sensing photoreceptors. *Photochemistry and Photobiology* **87,** 491–510 (2011).
8. M Sugiyama. Effects of vitamins on chromium(VI)-induced damage. *Environmental Health Perspectives* **92,** 63–70 (1991).
9. Massey V. The chemical and biological versatility of riboflavin. *Biochemical Society Transactions* **28,** 283–296 (2000).
10. Paul Karrer. *Nobel Lecture. Carotenoids, Flavins and Vitamin A and B_2* (Stockholm, 1937).
11. Sikorska, E. Khmelinskii, I. V. Worrall, D. R. Koput, J. & Sikorski, M. Spectroscopy and photophysics of iso- and alloxazines. Experimental and theoretical study. *Journal of Fluorescence* **14,** 57–64 (2004).
12. Li, H. Jiang, Z.-Q. Pan, Y. & Yu, S.-Q. Study on electron transfer of fluorescent probe lumichrome and nucleic acid by laser flash photolysis. *Research on Chemical Intermediates* **32,** 695–708 (2006).
13. Stanley, R. J. & Jang, H. Electronic structure measurements of oxidized flavins and flavin complexes using stark-effect spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry A* **103,** 8976–8984 (1999).
14. Kondo, M. Nappa, J. Ronayne, K. L. Stelling, A. L. Tonge, P. J. & Meech, S. R. Ultrafast vibrational spectroscopy of the flavin chromophore. *The Journal of Physical Chemistry B* **110,** 20107–20110 (2006).
15. Wolf, M. M. N. Schumann, C. Gross, R. Domratcheva, T. & Diller, R. Ultrafast infrared spectroscopy of riboflavin: dynamics, electronic structure, and vibration-

al mode analysis. *The Journal of Physical Chemistry B* **112,** 13424–13432 (2008).

16. Haigney, A. *et al.* Ultrafast infrared spectroscopy of an isotope-labeled photoactivatable flavoprotein. *Biochemistry* **50,** 1321–1328 (2011).
17. Bowman, W. D. & Spiro, T. G. Normal mode analysis of lumiflavin and interpretation of resonance Raman spectra of flavoproteins. *Biochemistry* **20,** 3313–3318 (1981).
18. Weigel, A. Dobryakov, A. Klaumunzer, B. Sajadi, M. Saalfrank, P. & Ernsting, N. P. Femtosecond stimulated Raman spectroscopy of flavin after optical excitation. *The Journal of Physical Chemistry B* **115,** 3656–3680 (2011).
19. Takahashi, M. Ishikawa, Y. Nishizawa, J.-I. & Ito, H. Low-frequency vibrational modes of riboflavin and related compounds. *Chemical Physics Letters* **401,** 475–482 (2005).
20. Dopfer, O. IR spectroscopic strategies for the structural characterization of isolated and microsolvated arenium ions. *Journal of Physical Organic Chemistry* **19,** 540–551 (2006).
21. Dopfer, O. Spectroscopic and theoretical studies of CH^+_3-Rg_n clusters (Rg=He, Ne, Ar): From weak intermolecular forces to chemical reaction mechanisms. *International Reviews in Physical Chemistry* **22,** 437–495 (2003).
22. Nadja Heine. *Vibrational Spectroscopy of Gaseous Hydrogen-Bonded Clusters: On the Role of Isomer-Specicity and Anharmonicity*. Dissertation. Freie Universität Berlin, 09/2014.
23. Torsten Wende. *Gas Phase Infrared Photodissociation Spectroscopy of Mass-Selected Ionic Clusters:.* Dissertation. Freie Universität Berlin, 10/2012.
24. John B. Fenn. *Nobel Lecture. Electrospray Wings for Molecular Elephants* (Stockholm, 2002).
25. Wende, T. Heine, N. Yacovitch, T. I. Asmis, K. R. Neumark, D. M. & Jiang, L. Probing the microsolvation of a quaternary ion complex: gas phase vibrational spectroscopy of $(NaSO_4^-)_2(H_2O)_{n=0\text{-}6,\ 8}$. *Physical Chemistry Chemical Physics* **18,** 267–277 (2016).
26. Polfer, N. C. Oomens, J. & Dunbar, R. C. IRMPD spectroscopy of metal-ion/tryptophan complexes. *Physical Chemistry Chemical Physics* **8,** 2744–2751 (2006).
27. Boyarkin, O. V. Mercier, S. R. Kamariotis, A. & Rizzo, T. R. Electronic spectroscopy of cold, protonated tryptophan and tyrosine. *Journal of the American Chemical Society* **128,** 2816–2817 (2006).
28. Barth, A. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1767,** 1073–1101 (2007).
29. Bellina, B. Compagnon, I. Joly, L. Albrieux, F. Allouche, A. R. Bertorelle, F. Lemoine, J. Antoine, R. & Dugourd, P. UV spectroscopy of entire proteins in the gas phase. *International Journal of Mass Spectrometry* **297,** 36–40 (2010).

30. Anokhin, A. S. Gorelik, V. S. Dovbeshko, G. I. Pyatyshev, A. Y. & Yuzyuk, Y. I. Difference Raman spectroscopy of DNA molecules. *Journal of Physics: Conference Series* **584,** 12022–12028 (2015).

31. Rosu, F. Gabelica, V. Pauw, E. de, Antoine, R. Broyer, M. & Dugourd, P. UV spectroscopy of DNA duplex and quadruplex structures in the gas phase. *Journal of Physical Chemistry A* **116,** 5383–5391 (2012).

32. Gabelica, V. Rosu, F. Pauw, E. de, Lemaire, J. Gillet, J.-C. Poully, J.-C. Lecomte, F. Grégoire, G. Schermann, J.-P. & Desfrançois, C. Infrared signature of DNA g-quadruplexes in the gas phase. *Journal of the American Chemical Society* **130,** 1810–1811 (2008).

33. Talbot, F. O. & Simons, J. P. Sugars in the gas phase: the spectroscopy and structure of jet-cooled phenyl β-D-glucopyranoside. *Physical Chemistry Chemical Physics* **4,** 3562–3565 (2002).

34. Jockusch, R. A. Kroemer, R. T. Talbot, F. O. & Simons, J. P. Hydrated sugars in the gas phase: Spectroscopy and conformation of singly hydrated phenyl β-d-glucopyranoside. *Journal of Physical Chemistry A* **107,** 10725–10732 (2003).

35. Parker, A. W. & Quinn, S. J. in *Encyclopedia of Biophysics,* edited by G. C. K. Roberts (Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2013), pp. 1065–1074.

36. Kopysov, V. Makarov, A. & Boyarkin, O. V. Colors for molecular masses: Fusion of spectroscopy and mass spectrometry for identification of biomolecules. *Analytical Chemistry* **87,** 4607–4611 (2015).

37. M. A. Rijs & J. Oomens (eds.). *Gas-Phase IR Spectroscopy and Structure of Biological Molecules* (Springer International Publishing, Cham, 2015).

38. Vdovin, A. Slenczka, A. & Dick, B. Electronic spectroscopy of lumiflavin in superfluid helium nanodroplets. *Chemical Physics* **422,** 195–203 (2013).

39. Zhang, T. Papson, K. Ochran, R. & Ridge, D. P. Stability of flavin semiquinones in the gas phase: the electron affinity, proton affinity, and hydrogen atom affinity of lumiflavin. *Journal of Physical Chemistry A* **117,** 11136–11141 (2013).

40. Oliver Gause. *Femtosecond Spectroscopy and Coherent Control on Flavins in the Gas Phase.* Dissertation. Freie Universität Berlin, 04/2012.

41. Dopfer, O. IR spectroscopy of microsolvated aromatic cluster ions. Ionization-Induced Switch in Aromatic Molecule–Solvent Recognition. *Zeitschrift für Physikalische Chemie* **219,** 125–168 (2005).

42. J-P. Schermann. *Spectroscopy and Modelling of Molecular Building Blocks.* 1st ed. (Elsevier, Amsterdam, Boston, 2008).

43. Roscioli, J. R. McCunn, L. R. & Johnson, M. A. Quantum structure of the intermolecular proton bond. *Science* **316,** 249–254 (2007).

44. Garand, E. Kamrath, M. Z. Jordan, P. A. Wolk, A. B. Leavitt, C. M. McCoy, A. B. Miller, S. J. & Johnson, M. A. Determination of noncovalent docking by infrared spectroscopy of cold gas-phase complexes. *Science* **335,** 694–698 (2012).

45. Wolk, A. B. Leavitt, C. M. Garand, E. & Johnson, M. A. Cryogenic ion chemistry and spectroscopy. *Accounts of Chemical Research* **47,** 202–210 (2014).

46. Roithova, J. Gray, A. Andris, E. Jasik, J. & Gerlich, D. Helium tagging infrared photodissociation spectroscopy of reactive ions. *Accounts of Chemical Research* **49,** 223–230 (2016).

47. Rizzo, T. R. Stearns, J. A. & Boyarkin, O. V. Spectroscopic studies of cold, gas-phase biomolecular ions. *International Reviews in Physical Chemistry* **28,** 481–515 (2009).

48. Bouchet, A. Schutz, M. Chiavarino, B. Crestoni, M. E. Fornarini, S. & Dopfer, O. IR spectrum of the protonated neurotransmitter 2-phenylethylamine: dispersion and anharmonicity of the NH_3^+-π interaction. *Physical Chemistry Chemical Physics* **17,** 25742–25754 (2015).

49. Dopfer, O. & Fujii, M. Probing solvation dynamics around aromatic and biological molecules at the single-molecular level. *Chemical Reviews* **116,** 5432–5463 (2016).

50. Sakota, K. Schutz, M. Schmies, M. Moritz, R. Bouchet, A. Ikeda, T. Kouno, Y. Sekiya, H. & Dopfer, O. Weak hydrogen bonding motifs of ethylamino neurotransmitter radical cations in a hydrophobic environment: infrared spectra of tryptamine$^+$-$(N_2)_n$ clusters ($n \leq 6$). *Physical Chemistry Chemical Physics* **16,** 3798–3806 (2014).

51. Tanabe, K. Miyazaki, M. Schmies, M. Patzer, A. Schutz, M. Sekiya, H. Sakai, M. Dopfer, O. & Fujii, M. Watching water migration around a peptide bond. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **51,** 6604–6607 (2012).

52. Rizzo, T. R. & Boyarkin, O. V. in *Gas-Phase IR Spectroscopy and Structure of Biological Molecules,* edited by M. A. Rijs & J. Oomens (Springer International Publishing, Cham, 2015), pp. 43–97.

53. Gregoire, G. Jouvet, C. Dedonder, C. & Sobolewski, A. L. Ab initio study of the excited-state deactivation pathways of protonated tryptophan and tyrosine. *Journal of the American Chemical Society* **129,** 6223–6231 (2007).

54. Nagornova, N. S. Rizzo, T. R. & Boyarkin, O. V. Interplay of intra- and intermolecular H-bonding in a progressively solvated macrocyclic peptide. *Science* **336,** 320–323 (2012).

55. Asvany, O. P, P. K. Redlich, B. Hegemann, I. Schlemmer, S. & Marx, D. Understanding the infrared spectrum of bare CH_5^+. *Science* **309,** 1219–1222 (2005).

56. Asvany, O. Yamada, K. M. T. Brunken, S. Potapov, A. & Schlemmer, S. Vibrational dynamics. Experimental ground-state combination differences of CH_5^+. *Science* **347,** 1346–1349 (2015).

57. Savoca, M. Wende, T. Jiang, L. Langer, J. Meijer, G. Dopfer, O. & Asmis, K. R. Infrared spectra and structures of silver–PAH cation complexes. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2,** 2052–2056 (2011).

58. Asmis, K. R. & Sauer, J. Mass-selective vibrational spectroscopy of vanadium oxide cluster ions. *Mass Spectrom. Rev.* **26,** 542–562 (2007).

59. Campbell, E. K. Holz, M. Gerlich, D. & Maier, J. P. Laboratory confirmation of C_{60}^+ as the carrier of two diffuse interstellar bands. *Nature* **523,** 322–323 (2015).

60. Chakrabarty, S. Holz, M. Campbell, E. K. Banerjee, A. Gerlich, D. & Maier, J. P. A novel method to measure electronic spectra of cold molecular ions. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **4,** 4051–4054 (2013).

61. Rice, C. A. Hardy, F.-X. Gause, O. & Maier, J. P. $1^1A' \leftarrow X^1A'$ electronic transition of protonated coronene at 15 K. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **5,** 942–945 (2014).

62. Fujihara, A. Matsumoto, H. Shibata, Y. Ishikawa, H. & Fuke, K. Photodissociation and spectroscopic study of cold protonated dipeptides. *The Journal of Physical Chemistry. A* **112,** 1457–1463 (2008).

63. Filsinger, F. Ahn, D.-S. Meijer, G. & Helden, G. von. Photoexcitation of mass/charge selected hemin$^+$, caught in helium nanodroplets. *Physical Chemistry Chemical Physics* **14,** 13370–13377 (2012).

64. Chen, L. Zhang, J. Freund, W. M. & Kong, W. Effect of kinetic energy on the doping efficiency of cesium cations into superfluid helium droplets. *The Journal of Chemical Physics* **143,** 44310 (2015).

65. Zhang, J. Chen, L. Freund, W. M. & Kong, W. Effective doping of low energy ions into superfluid helium droplets. *The Journal of Chemical Physics* **143,** 74201 (2015).

66. Bierau, F. Kupser, P. Meijer, G. & Helden, G. von. Catching proteins in liquid helium droplets. *Physical Review Letters* **105,** 133402 (2010).

67. Bieske, E. J. Soliva, A. M. Friedmann, A. & Maier, J. P. Electronic spectra of N_2^+–$(He)_n$ (n=1, 2, 3). *The Journal of Chemical Physics* **96,** 28 (1992).

68. Bieske, E. J. Nizkorodov, S. Friedmann, A. & Maier, J. P. Metastable decay of N_2^+-He_n (υ = 1) (1 < n ≤ 6) clusters. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **135,** 19–30 (1994).

69. Bieske, E. J. & Dopfer, O. High-resolution spectroscopy of cluster ions. *Chemical Reviews* **100,** 3963–3998 (2000).

70. Hobza, P. & Muller-Dethlefs, K. *Non-Covalent Interactions* (The Royal Society of Chemistry, 2009).

71. Duncan, M. A. Infrared laser spectroscopy of mass-selected carbocations. *The Journal of Physical Chemistry. A* **116,** 11477–11491 (2012).

72. Mueller-Dethlefs, K. Dopfer, O. & Wright, T. G. ZEKE spectroscopy of complexes and clusters. *Chemical Reviews* **94,** 1845–1871 (1994).

73. Patzer, A. Chakraborty, S. Solca, N. & Dopfer, O. IR spectrum and structure of the phenyl cation. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **49,** 10145–10148 (2010).

74. Patzer, A. Schutz, M. Moller, T. & Dopfer, O. Infrared spectrum and structure of the adamantane cation: direct evidence for Jahn-Teller distortion. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **51,** 4925–4929 (2012).

75. Patzer, A. Schutz, M. Jouvet, C. & Dopfer, O. Experimental observation and quantum chemical characterization of the $S_1 \leftarrow S_0$ transition of protonated naphthalene-argon clusters. *The Journal of Physical Chemistry. A* **117,** 9785–9793 (2013).

76. Andrei, H.-S. Solca, N. & Dopfer, O. IR spectrum of the ethyl cation: evidence for the nonclassical structure. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **47,** 395–397 (2008).

77. Schmies, M. Patzer, A. Schutz, M. Miyazaki, M. Fujii, M. & Dopfer, O. Microsolvation of the acetanilide cation (AA^+) in a nonpolar solvent: IR spectra of AA^+-L_n clusters (L = He, Ar, N_2 ; n ≤ 10). *Physical Chemistry Chemical Physics* **16,** 7980–7995 (2014).

78. Savoca, M. Langer, J. & Dopfer, O. IR spectrum and structure of a protonated disilane: probing the Si-H-Si proton bridge. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **52,** 1568–1571 (2013).

79. Sheraz, M. A. Kazi, S. H. Ahmed, S. Anwar, Z. Ahmad, I. & Aubé, J. Photo, thermal and chemical degradation of riboflavin. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **10,** 1999–2012 (2014).

80. Cole, R. B. *Electrospray mass spectrometry. Fundamentals, instrumentation, and applications.* 2nd ed. (Wiley-Blackwell, Oxford, 2008).

81. Bothner, B. & Siuzdak, G. Electrospray ionization of a whole virus: analyzing mass, structure, and viability. *Chembiochem : a European journal of chemical biology* **5,** 258–260 (2004).

82. Asvany, O. Brünken, S. Kluge, L. & Schlemmer, S. COLTRAP. A 22-pole ion trapping machine for spectroscopy at 4 K. *Applied Physics B* **114,** 203–211 (2014).

83. Redwine, J. G. Davis, Z. A. Burke, N. L. Oglesbee, R. A. McLuckey, S. A. & Zwier, T. S. A novel ion trap based tandem mass spectrometer for the spectroscopic study of cold gas phase polyatomic ions. *International Journal of Mass Spectrometry* **348,** 9–14 (2013).

84. Alata, I. Bert, J. Broquier, M. Dedonder, C. Feraud, G. Gregoire, G. Soorkia, S. Marceca, E. & Jouvet, C. Electronic spectra of the protonated indole chromophore in the gas phase. *The Journal of Physical Chemistry. A* **117,** 4420–4427 (2013).

85. Boyarkin, O. V. & Kopysov, V. Cryogenically cooled octupole ion trap for spectroscopy of biomolecular ions. *The Review of scientific instruments* **85,** 33105 (2014).

86. Lee, S. Hauser, D. Lakhmanskaya, O. Spieler, S. Endres, E. S. Geistlinger, K. Kumar, S. S. & Wester, R. Terahertz-visible two-photon rotational spectroscopy of cold OD^-. *Physical Review A* **93,** 32513 (2016).

87. Svendsen, A. Lorenz, U. J. Boyarkin, O. V. & Rizzo, T. R. A new tandem mass spectrometer for photofragment spectroscopy of cold, gas-phase molecular ions. *The Review of scientific instruments* **81,** 73107 (2010).

88. Hock, C. Kim, J. B. Weichman, M. L. Yacovitch, T. I. & Neumark, D. M. Slow photoelectron velocity-map imaging spectroscopy of cold negative ions. *The Journal of Chemical Physics* **137,** 244201 (2012).

89. Luca, A. Schlemmer, S. Čermák, I. & Gerlich, D. On the combination of a linear field free trap with a time-of-flight mass spectrometer. *Review of Scientific Instruments* **72,** 2900 (2001).

90. Goebbert, D. J. Wende, T. Bergmann, R. Meijer, G. & Asmis, K. R. Messenger-tagging electrosprayed ions: vibrational spectroscopy of suberate dianions. *The Journal of Physical Chemistry. A* **113,** 5874–5880 (2009).

91. Neuwirth, D. Eckhard, J. F. Lange, K. Visser, B. Wiedemann, M. Schröter, R. Tschurl, M. & Heiz, U. Using controlled ion extraction to combine a ring electrode trap with a reflectron time-of-flight mass spectrometer. *International Journal of Mass Spectrometry* **387,** 8–15 (2015).

92. Wang, X.-B. & Wang, L.-S. Development of a low-temperature photoelectron spectroscopy instrument using an electrospray ion source and a cryogenically controlled ion trap. *The Review of scientific instruments* **79,** 73108 (2008).

93. Shun-ichi Ishiuchi, Hiromichi Wako, Daichi Kato & Masaaki Fujii. High-cooling-efficiency cryogenic quadrupole ion trap and UV-UV hole burning spectroscopy of protonated tyrosine. *Journal of Molecular Spectroscopy,* DOI: 10.1016/j.jms.2016.10.011 (2016).

94. Stearns, J. A. Mercier, S. Seaiby, C. Guidi, M. Boyarkin, O. V. & Rizzo, T. R. Conformation-specific spectroscopy and photodissociation of cold, protonated tyrosine and phenylalanine. *Journal of the American Chemical Society* **129,** 11814–11820 (2007).

95. Xu, S. Gozem, S. Krylov, A. I. Christopher, C. R. & Mathias Weber, J. Ligand influence on the electronic spectra of monocationic copper-bipyridine complexes. *Physical Chemistry Chemical Physics* **17,** 31938–31946 (2015).

96. Masson, A. Kamrath, M. Z. Perez, M. A. S. Glover, M. S. Rothlisberger, U. Clemmer, D. E. & Rizzo, T. R. Infrared spectroscopy of mobility-selected H^+-Gly-Pro-Gly-Gly (GPGG). *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **26,** 1444–1454 (2015).

97. Lorenz, U. J. & Rizzo, T. R. Planar multipole ion trap/time-of-flight mass spectrometer. *Analytical Chemistry* **83,** 7895–7901 (2011).

98. Dillinger, S. Mohrbach, J. Hewer, J. Gaffga, M. & Niedner-Schatteburg, G. Infrared spectroscopy of N_2 adsorption on size selected cobalt cluster cations in isolation. *Physical Chemistry Chemical Physics* **17,** 10358–10362 (2015).

99. Langenberg, A. Hirsch, K. Ławicki, A. Zamudio-Bayer, V. Niemeyer, M. Chmiela, P. Langbehn, B. Terasaki, A. Issendorff, B. v. & Lau, J. T. Spin and orbital magnetic moments of size-selected iron, cobalt, and nickel clusters. *Phys. Rev. B* **90,** 184420 (2014).

100. Zamudio-Bayer, V. Hirsch, K. Langenberg, A. Lawicki, A. Terasaki, A. V Issendorff, B. & Lau, J. T. Electronic ground states of Fe_2^+ and Co_2^+ as determined

by x-ray absorption and x-ray magnetic circular dichroism spectroscopy. *The Journal of Chemical Physics* **143,** 244318 (2015).

101. Ho, C. Lam, C. Chan, M. Cheung, R. Law, L. Lit, L. Ng, K. Suen, M. & Tai, H. Electrospray ionisation mass spectrometry: Principles and clinical applications. *The Clinical Biochemist Reviews* **24,** 3–12 (2003).

102. Rayleigh. On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity. *Philosophical Magazine Series 5* **14,** 184–186 (2009).

103. Kebarle, P. & Tang, L. From ions in solution to ions in the gas phase - the mechanism of electrospray mass spectrometry. *Analytical Chemistry* **65,** 972A-986A (1993).

104. Davis, E. J. & Bridges, M. A. The rayleigh limit of charge revisited. Light scattering from exploding droplets. *Journal of Aerosol Science* **25,** 1179–1199 (1994).

105. Smith, J. N. Flagan, R. C. & Beauchamp, J. L. Droplet Evaporation and Discharge Dynamics in Electrospray Ionization. *The Journal of Physical Chemistry. A* **106,** 9957–9967 (2002).

106. Taflin, D. C. Ward, T. L. & Davis, E. James. Electrified droplet fission and the Rayleigh limit. *Langmuir* **5,** 376–384 (1989).

107. Dole, M. Molecular Beams of Macroions. *The Journal of Chemical Physics* **49,** 2240 (1968).

108. Iribarne, J. V. On the evaporation of small ions from charged droplets. *The Journal of Chemical Physics* **64,** 2287 (1976).

109. Thomson, B. A. & Iribarne, J. V. Field induced ion evaporation from liquid surfaces at atmospheric pressure. *The Journal of Chemical Physics* **71,** 4451 (1979).

110. Labowsky, M. Fenn, J. B. & Fernandez de la Mora, J. A continuum model for ion evaporation from a drop. Effect of curvature and charge on ion solvation energy. *Analytica Chimica Acta* **406,** 105–118 (2000).

111. Karl Jousten. *Wutz Handbuch Vakuumtechnik.* 10th ed. (Vieweg+Teubner Verlag, 2010).

112. Markus Schütz. *Aufbau und Charakterisierung eines Massenspektrometers mit Elektrospray-Ionisationsquelle.* M.Sc. Arbeit. Technische Universitä Berlin, 09/2012.

113. Alexander Sheldrick. *Generation and characterization of metalated biomolecules in an electrospray ionization mass spectrometer: metal flavin compounds.* B.Sc. Arbeit. TU Berlin, 06/2014.

114. Cermak, I. Compact radio-frequency power supply for ion and particle guides and traps. *Review of Scientific Instruments* **76,** 63302 (2005).

115. Paul, W. Reinhard, H. P. & Zahn, U. von. Das elektrische Massenfilter als Massenspektrometer und Isotopentrenner. *Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei* **152,** 143–182 (1958).

116. Drewsen, M. & Brøner, A. Harmonic linear Paul trap: Stability diagram and effective potentials. *Physical Review A* **62,** 45401 (2000).

117. Dawson, P. H. Quadrupole mass analyzers. Performance, design and some recent applications. *Mass Spectrometry Reviews* **5,** 1–37 (1986).

118. Dawson, P. H. The acceptance of the quadrupole mass filter. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics* **17,** 423–445 (1975).

119. Pfeiffer Vacuum. *Betriebsanleitung TPH 240 / TPU 240* (2004).

120. Pfeiffer Vacuum GmbH. *Vacuum Technology Know How* (2011).

121. R. Coisson, G. Vernizzi & X. Yang (eds.). *Mathieu functions and numerical solutions of the Mathieu equation.* Open-source Software for Scientific Computation (OSSC), 2009 IEEE International Workshop on (2009).

122. Extrel CMS, L. P. *Mass Separation and Focusing* (2004).

123. Randall E. Pedder. Practical Quadrupole Theory: Graphical Theory, May 28 - June 1, 2001.

124. Extrel CMS. *150QC RF/DC Power Supply User's Manual* (2006).

125. D. Gerlich. in *"Molecules and Grains in Space", AIP Press, New York,* edited by I. Nenner (1994), pp. 489–500.

126. D. Gerlich, G. Jerke, U. Muck, U. Person. Schnelles Ventil zur Erzeugung sehr kurzer Gasimpulse, 1990.

127. D.A. Dahl. *SIMION for the personal computer in reflection* (Scientific Instrument Services, Inc.Ringoes, NJ, 2000).

128. Wiley, W. C. & McLaren, I. H. Time-of-Flight Mass Spectrometer with Improved Resolution. *Review of Scientific Instruments* **26,** 1150 (1955).

129. Browder, J. A. Miller, R. L. Thomas, W. A. & Sanzone, G. High-resolution TOF mass spectrometry. II. Experimental confirmation of impulse-field focusing theory. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics* **37,** 99–108 (1981).

130. Möller, K. & Holmlid, L. Ion formation and acceleration with pulsed surface ionization: Two modes for time-of-flight mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **61,** 323–335 (1984).

131. Poschenrieder, W. P. Multiple—focusing time of flight mass spectrometers Part I. Tofms with equal momentum acceleration. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics* **6,** 413–426 (1971).

132. Satoh, T. Tsuno, H. Iwanaga, M. & Kammei, Y. The design and characteristic features of a new time-of-flight mass spectrometer with a spiral ion trajectory. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **16,** 1969–1975 (2005).

133. Boesl, U. Weinkauf, R. & Schlag, E. W. Reflectron time-of-flight mass spectrometry and laser excitation for the analysis of neutrals, ionized molecules and secondary fragments. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **112,** 121–166 (1992).

134. Mamyrin, B. A. Karataev, V. I. Shmikk, D. V. & Zagulin, V. A. The mass-reflectron, a new nonmagnetic time-of-flight mass spectrometer with high resolution. *Journal of Experimental and Theoretical Physics* **37,** 45 (1973).

135. Otto, R. Hlavenka, P. Trippel, S. Mikosch, J. Singer, K. Weidemüller, M. & Wester, R. How can a 22-pole ion trap exhibit ten local minima in the effective potential? *Journal of Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics* **42,** 154007 (2009).

136. Asvany, O. & Schlemmer, S. Numerical simulations of kinetic ion temperature in a cryogenic linear multipole trap. *International Journal of Mass Spectrometry* **279,** 147–155 (2009).

137. Tim Esser. *The Effect of Partially Deiodination on the Structure of Periodinated Closo-Dodecaborate Probed by Infrared Photodissociation Spectroscopy.* MSc. Thesis, 09/26/2013.

138. Cheuk- Yiu NG and Michael Baer (ed.). *Advances in Chemical Physics Series. Inhomogeneous RF Fields: A Versatile Tool For The Study of Processes With Slow Ions* (1992).

139. Asvany, O. Bielau, F. Moratschke, D. Krause, J. & Schlemmer, S. Note: New design of a cryogenic linear radio frequency multipole trap. *Review of Scientific Instruments* **81,** 76102 (2010).

140. J. Eichler, H. J. Eichler. *Laser. Bauformen, Strahlführung, Anwendungen.* 6th ed. (Springer,).

141. I.W.M. Smith (ed.). *Low temperatures and cold molecules. The production and study of ultra-cold molecular ions, chapt. 6* (Imperial College Press,).

142. Choi, C. M. Choi, D. H. Kim, N. J. & Heo, J. Effective temperature of protonated tyrosine ions in a cold quadrupole ion trap. *International Journal of Mass Spectrometry* **314,** 18–21 (2012).

143. Western, C. M. PGOPHER. A program for simulating rotational, vibrational and electronic spectra. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* (2016).

144. Frisch, M. J. Trucks, G. W. Schlegel, H. B. Scuseria, G. E. Robb, M. A. Cheeseman, J. R. Scalmani, G. Barone, V. Mennucci, B. & Petersson. G. A. et al. *Gaussian 09, Revision D.01* (Wallingford CT,).

145. Chakraborty, S. Patzer, A. & Dopfer, O. IR spectra of protonated benzaldehyde clusters, $C_7H_7O^+$-L_n (L=Ar,N_2;n≤2):Ion-ligand binding motifs of the *cis* and *trans* oxonium isomers. *The Journal of Chemical Physics* **133,** 44307 (2010).

146. Kelly, R. T. Tolmachev, A. V. Page, J. S. Tang, K. & Smith, R. D. The ion funnel: Theory, implementations, and applications. *Mass Spectrometry Reviews* **29,** 294–312 (2010).

147. Karas, M. Bahr, U. & Dülcks, T. Nano-electrospray ionization mass spectrometry: addressing analytical problems beyond routine. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **366,** 669–676 (2000).

148. Sazanov, L. A. & Hinchliffe, P. Structure of the hydrophilic domain of respiratory complex I from thermus thermophilus. *Science* **311,** 1430–1436 (2006).

149. Zheng, Y.-J. & Ornstein, R. L. A theoretical study of the structures of flavin in different oxidation and protonation states. Journal of the American Chemical Society. *Journal of the American Chemical Society* **118,** 9402–9408 (1996).

150. Fritchie, C. J. & Johnston, R. M. Molecular complexes of flavins. The crystal structure of lumiflavin–bis(naphthalene-2,3-diol) trihydrate. *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **31,** 454–461 (1975).

151. Wang, M. & Fritchie Jnr, C. J. Geometry of the unperturbed flavin nucleus. The crystal structure of 10-methylisoalloxazine. *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **29,** 2040–2045 (1973).

152. Kuo, M. C. Dunn, J. B. R. & Fritchie Jnr, C. J. The crystal structure of a flavin molecular complex. 10-propylisoalloxazine–bis(naphthalene-2,3-diol). *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **30,** 1766–1771 (1974).

153. Hazekawa, I. Nishina, Y. Sato, K. Shichiri, M. Miura, R. & Shiga, K. A raman study on the C(4)=O stretching mode of flavins in flavoenzymes: Hydrogen bonding at the C(4)=O moiety. *Journal of Biochemistry* **121,** 1147–1154 (1997).

154. North, M. A. Bhattacharyya, S. & Truhlar, D. G. Improved density functional description of the electrochemistry and structure-property descriptors of substituted flavins. The Journal of Physical Chemistry B. *The Journal of Physical Chemistry. B* **114,** 14907–14915 (2010).

155. Meyer, M. Hartwig, H. & Schomburg, D. Semiempirical and ab initio study of closed and open shell derivatives of 10-methylisoalloxazine. A model of flavin redox states. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* **364,** 139–149 (1996).

156. Moonen, C. T. W. Vervoort, J. & Mueller, F. Reinvestigation of the structure of oxidized and reduced flavin. Carbon-13 and nitrogen-15 nuclear magnetic resonance study. *Biochemistry* **23,** 4859–4867 (1984).

157. Kowalczyk, R. M. Schleicher, E. Bittl, R. & Weber, S. The photoinduced triplet of flavins and its protonation states. Journal of the American Chemical Society. *Journal of the American Chemical Society* **126,** 11393–11399 (2004).

158. Roslund, J. Roth, M. Guyon, L. Boutou, V. Courvoisier, F. Wolf, J.-P. & Rabitz, H. Resolution of strongly competitive product channels with optimal dynamic discrimination: application to flavins. *The Journal of Chemical Physics* **134,** 34511 (2011).

159. Sikorska, E. Khmelinskii, I. V. Williams, S. L. Worrall, D. R. Herance, J. R. Bourdelande, J. L. Koput, J. & Sikorski, M. Spectroscopy and photophysics of 6,7-dimethyl-alloxazine: experimental and theoretical study. *Journal of Molecular Structure* **697,** 199–205 (2004).

160. Sikorska, E. Khmelinskii, I. V. Prukała, W. Williams, S. L. Patel, M. Worrall, D. R. Bourdelande, J. L. Koput, J. & Sikorski, M. Spectroscopy and photophysics

of lumiflavins and lumichromes. *Journal of Physical Chemistry A* **108,** 1501–1508 (2004).

161. Hasegawa, J.-y. Bureekaew, S. & Nakatsuji, H. SAC-CI theoretical study on the excited states of lumiflavin. Structure, excitation spectrum, and solvation effect. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **189,** 205–210 (2007).

162. Dudley, K. H. Ehrenberg, A. Hemmerich, P. & Müller, F. Spektren und Strukturen der am Flavin-Redoxsystem beteiligten Partikeln. Studien in der Flavinreihe IX. *Helvetica Chimica Acta* **47,** 1354–1383 (1964).

163. Langer, J. Günther, A. Seidenbecher, S. Berden, G. Oomens, J. & Dopfer, O. Probing protonation sites of isolated flavins using IR spectroscopy. From lumichrome to the cofactor flavin mononucleotide. *ChemPhysChem* **15,** 2550–2562 (2014).

164. Guyon, L. Tabarin, T. Thuillier, B. Antoine, R. Broyer, M. Boutou, V. Wolf, J. P. & Dugourd, P. Femtosecond pump-probe experiments on trapped flavin: Optical control of dissociation. *The Journal of Chemical Physics* **128,** 75103 (2008).

165. Günther, A. Nieto, P. Berden, G. Oomens, J. & Dopfer, O. IRMPD spectroscopy of metalated flavins: structure and bonding of M^{q+}-lumichrome complexes (M^{q+} = Li^{+}-Cs^{+}, Ag^{+}, Mg^{2+}). *Physical Chemistry Chemical Physics* **16,** 14161–14171 (2014).

166. Nieto, P. Günther, A. Berden, G. Oomens, J. & Dopfer, O. IRMPD spectroscopy of metalated flavins: Structure and bonding of lumiflavin complexes with alkali and coinage metal ions. *The Journal of Physical Chemistry. A* (2016).

167. Günther, A. Nieto, P. Müller, D. Sheldrick, A. Gerlich, D. & Dopfer, O. BerlinTrap: A new cryogenic 22-pole ion trap spectrometer. *Journal of Molecular Spectroscopy,* DOI:10.1016/j.jms.2016.08.017.

168. Bouchet, A. Klyne, J. Piani, G. Dopfer, O. & Zehnacker, A. Diastereo-specific conformational properties of neutral, protonated and radical cation forms of (1R,2S)-cis- and (1R,2R)-trans-amino-indanol by gas phase spectroscopy. *Physical Chemistry Chemical Physics* **17,** 25809–25821 (2015).

169. Lorenz, U. J. Solca, N. Lemaire, J. Maitre, P. & Dopfer, O. Infrared spectra of isolated protonated polycyclic aromatic hydrocarbons: protonated naphthalene. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **46,** 6714–6716 (2007).

170. Knorke, H. Langer, J. Oomens, J. & Dopfer, O. Infrared spectra of isolated protonated polycyclic aromatic hydrocarbon molecules. *The Astrophysical Journal* **706,** L66-L70 (2009).

171. Lorenz, U. J. Lemaire, J. Maitre, P. Crestoni, M. E. Fornarini, S. & Dopfer, O. Protonation of heterocyclic aromatic molecules. IR signature of the protonation site of furan and pyrrole. *International Journal of Mass Spectrometry* **267,** 43–53 (2007).

172. Zhao, D. Langer, J. Oomens, J. & Dopfer, O. Infrared spectra of protonated polycyclic aromatic hydrocarbon molecules: azulene. *The Journal of Chemical Physics* **131,** 184307 (2009).

173. Gross, L. Mohn, F. Moll, N. Liljeroth, P. & Meyer, G. The chemical structure of a molecule resolved by atomic force microscopy. *Science* **325,** 1110–1114 (2009).

174. Casaes, R. Provençal, R. Paul, J. & Saykally, R. J. High resolution pulsed infrared cavity ringdown spectroscopy. Application to laser ablated carbon clusters. *The Journal of Chemical Physics* **116,** 6640 (2002).

175. Wheeler, M. D. Newman, S. M. Orr-Ewing, A. J. & Ashfold, M. N. R. Cavity ring-down spectroscopy. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* **94,** 337–351 (1998).

176. Makarov, A. A. Petrova, I. Yu. Ryabov, E. A. & Letokhov, V. S. Statistical inhomogeneous broadening of infrared and raman transitions in highly vibrationally excited XY_6 molecules. *The Journal of Physical Chemistry. A* **102,** 1438–1449 (1998).

177. Oomens, J. Sartakov, B. G. Meijer, G. & Helden, G. von. Gas-phase infrared multiple photon dissociation spectroscopy of mass-selected molecular ions. *International Journal of Mass Spectrometry* **254,** 1–19 (2006).

178. Lehmann, K. K. Scoles, G. & Pate, B. H. Intramolecular dynamics from eigenstate-resolved infrared spectra. *Annual Review of Physical Chemistry* **45,** 241–274 (1994).

179. Rynbrandt, J. D. & Rabinovitch, B. S. Direct demonstration of nonrandomization of internal energy in reacting molecules. rate of intramolecular energy relaxation. *The Journal of Chemical Physics* **54,** 2275–2276 (1971).

180. Black, J. G. Yablonovitch, E. Bloembergen, N. & Mukamel, S. Collisionless multiphoton dissociation of SF_6: A statistical thermodynamic process. *Physical Review Letters* **38,** 1131–1134 (1977).

181. Parneix, P. Basire, M. & Calvo, F. Accurate modeling of infrared multiple photon dissociation spectra: the dynamical role of anharmonicities. *The Journal of Physical Chemistry. A* **117,** 3954–3959 (2013).

182. Yacovitch, T. I. Heine, N. Brieger, C. Wende, T. Hock, C. Neumark, D. M. & Asmis, K. R. Vibrational spectroscopy of bisulfate/sulfuric acid/water clusters: Structure, stability, and infrared multiple-photon dissociation intensities. *The Journal of Physical Chemistry. A* **117,** 7081–7090 (2013).

183. Ewing, G. E. Selection rules for vibrational energy transfer: vibrational predissociation of van der Waals molecules. *The Journal of Physical Chemistry* **91,** 4662–4671 (1987).

184. Reinhard Schinke. *Photodissociation Dynamics. Spectroscopy and Fragmentation of Small Polyatomic Molecules.* 1st ed. (1995).

185. Oepts, D. van der Meer, A. & van Amersfoort, P. W. The Free-Electron-Laser user facility FELIX. *Infrared Physics & Technology* **36,** 297–308 (1995).

186. Eyler, J. R. Infrared multiple photon dissociation spectroscopy of ions in Penning traps. *Mass Spectrometry Reviews* **28,** 448–467 (2009).

187. Marshall, A. G. Hendrickson, C. L. & Jackson, G. S. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. A primer. *Mass Spectrometry Reviews* **17,** 1–35 (1998).

188. Valle, J. J. Eyler, J. R. Oomens, J. Moore, D. T. van der Meer, A. F. G. Helden, G. von, Meijer, G. Hendrickson, C. L. Marshall, A. G. & Blakney, G. T. Free electron laser-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry facility for obtaining infrared multiphoton dissociation spectra of gaseous ions. *Review of Scientific Instruments* **76,** 23103 (2005).

189. Polfer, N. C. & Oomens, J. Reaction products in mass spectrometry elucidated with infrared spectroscopy. *Physical Chemistry Chemical Physics* **9,** 3804–3817 (2007).

190. Lagutschenkov, A. Langer, J. Berden, G. Oomens, J. & Dopfer, O. Infrared spectra of protonated neurotransmitters: serotonin. *The Journal of Physical Chemistry. A* **114,** 13268–13276 (2010).

191. Lagutschenkov, A. Langer, J. Berden, G. Oomens, J. & Dopfer, O. Infrared spectra of protonated neurotransmitters: dopamine. *Physical Chemistry Chemical Physics* **13,** 2815–2823 (2011).

192. Lagutschenkov, A. & Dopfer, O. Infrared spectrum of a protonated fluorescence dye. Acridine orange. *Journal of Molecular Spectroscopy* **268,** 66–77 (2011).

193. Hohenberg, P. & Kohn, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review* **136,** B864-B871 (1964).

194. W. Koch and M.C. Holthausen. *A Chemist`s Guide to Density Functional Theory.* 2nd ed. (WILEY-VCH Verlag, 2001).

195. *TURBOMOLE V6.5 2013, a development of University of Karlsruhe and Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, 1989-2007, TURBOMOLE GmbH, since 2007; available from \\ \tt http://www.turbomole.com ,*

196. Frisch, M. J. *et al. Gaussian 03* (2004).

197. *Avogadro. An Open-Source Molecular Builder and Visualization Tool. ,*

198. Trus, B. L. & Fritchie Jnr, C. J. The crystal structure of 10-methylisoalloxazine hydrobromide dihydrate. *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **25,** 1911–1918 (1969).

199. Schütz, M. Sakota, K. Moritz, R. Schmies, M. Ikeda, T. Sekiya, H. & Dopfer, O. Simultaneous interaction of hydrophilic and hydrophobic solvents with ethylamino Neurotransmitter Radical Cations: Infrared Spectra of Tryptamine^{+}-$(H_2O)_m$-$(N_2)_n$ Clusters (m,n ≤ 3). *The Journal of Physical Chemistry. A* **119,** 10035–10051 (2015).

200. Rutter, W. J. Dalziel, K. Viervoll, H. Zackrisson, M. Ernster, L. & Diczfalusy, E. The interaction of riboflavin, FMN, and FAD with various metal ions: The riboflavin catalyzed photochemical reduction of Fe(III), and photooxidation of Fe(II). *Acta Chemica Scandinavica* **12,** 438–446 (1958).

201. Coursolle, D. Baron, D. B. Bond, D. R. & Gralnick, J. A. The Mtr respiratory pathway is essential for reducing flavins and electrodes in Shewanella oneidensis. *Journal of Bacteriology* **192,** 467–474 (2010).

202. Eichhorn, G. L. *The Structure and Reactivity of Flavin-Metal Complexes* (Elsevier Scientific Pub. Co, Amsterdam, London, New York, 1973).

203. Benecky, M. Yu, T.-J. Watters, K. L. & McFarland, J. T. Metal-flavin complexation. A resonance Raman investigation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure* **626,** 197–207 (1980).

204. Lauterwein, J. Hemmerich, P. & Lhoste, J. M. Flavoquinone-metal complexes. II. Paramagnetic interactions. *Inorganic Chemistry* **14,** 2161–2168 (1975).

205. Lauterwein, J. Hemmerich, P. & Lhoste, J. M. Flavoquinone-metal complexes. I. Structure and properties. *Inorganic Chemistry* **14,** 2152–2161 (1975).

206. Muller, F. Hemmerich, P. & Ehrenberg, A. Light absorption of flavosemiquinone metal chelates. *European Journal of Biochemistry* **5,** 158–164 (1968).

207. Shannon, R. D. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides. *Acta Crystallographica Section A* **32,** 751–767 (1976).

208. Linstrom, P. J. & Mallard, W. G. NIST Chemistry WebBook. Available at http://webbook.nist.gov.

209. Chakraborty, S. & Dopfer, O. Infrared spectrum of the Ag^+-$(pyridine)_2$ ionic complex: probing interactions in artificial metal-mediated base pairing. *Chemphyschem : a European journal of chemical physics and physical chemistry* **12,** 1999–2008 (2011).

210. Lagutschenkov, A. Sinha, R. K. Maitre, P. & Dopfer, O. Structure and infrared spectrum of the Ag^+-phenol ionic complex. *The Journal of Physical Chemistry. A* **114,** 11053–11059 (2010).

211. Forbes, M. W. Bush, M. F. Polfer, N. C. Oomens, J. Dunbar, R. C. Williams, E. R. & Jockusch, R. A. Infrared spectroscopy of arginine cation complexes: Direct observation of gas-phase zwitterions. *The Journal of Physical Chemistry. A* **111,** 11759–11770 (2007).

212. El Aribi, H. Shoeib, T. Ling, Y. Rodriquez, C. F. Hopkinson, A. C. & Siu, K. W. M. Binding energies of the silver ion to small oxygen-containing ligands: Determination by means of density functional theory and threshold collision-induced dissociation. *The Journal of Physical Chemistry. A* **106,** 2908–2914 (2002).

213. Bellina, B. *et al.* Binding motifs of silver in prion octarepeat model peptides: a joint ion mobility, IR and UV spectroscopies, and theoretical approach. *Physical Chemistry Chemical Physics* **14,** 11433–11440 (2012).

214. Keesee, R. G. & Castleman, A. W. Thermochemical Data on Gas-Phase Ion-Molecule Association and Clustering Reactions. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* **15,** 1011–1071 (1986).

215. Losi, A. Flavin-based Blue-Light photosensors: a photobiophysics update. *Photochemistry and Photobiology* **83,** 1283–1300 (2007).

216. Donat P. Häder and Giulio Jori (ed.). *Flavins: Photochemistry and Photobiology. Flavin Based Photoreceptors in Bacteria* (Royal Society of Chemistry, 2006).

217. Swartz, T. E. Corchnoy, S. B. Christie, J. M. Lewis, J. W. Szundi, I. Briggs, W. R. & Bogomolni, R. A. The photocycle of a flavin-binding domain of the blue light photoreceptor phototropin. *The Journal of Biological Chemistry* **276,** 36493–36500 (2001).

218. Climent, T. Gonzalez-Luque, R. Merchan, M. & Serrano-Andres, L. Theoretical insight into the spectroscopy and photochemistry of isoalloxazine, the flavin core ring. *The Journal of Physical Chemistry. A* **110,** 13584–13590 (2006).

219. An-der-Lan, L. Bartl, P. Leidlmair, C. Jochum, R. Denifl, S. Echt, O. & Scheier, P. Solvation of Na^+, K^+, and their dimers in helium. *Chemistry* **18,** 4411–4418 (2012).

220. Muller, S. Mudrich, M. & Stienkemeier, F. Alkali-helium snowball complexes formed on helium nanodroplets. *The Journal of Chemical Physics* **131,** 44319 (2009).

221. Weinberger, N. Ralser, S. Renzler, M. Harnisch, M. Kaiser, A. Denifl, S. Böhme, D. K. & Scheier, P. Ion formation upon electron collisions with valine embedded in helium nanodroplets. *The European Physical Journal D* **70** (2016).

222. Jašík, J. žabka, J. Roithová, J. & Gerlich, D. Infrared spectroscopy of trapped molecular dications below 4K. *International Journal of Mass Spectrometry* **354-355,** 204–210 (2013).

Eigene Publikationen

Günther, A., Nieto P., Müller D., Sheldrick A., Gerlich D., Dopfer O., BerlinTrap: A new cryogenic 22-pole ion trap spectrometer, *Journal of Molecular Spectroscopy*. (2016) DOI: 10.1016/j.jms.2016.08.017

Nieto, P., Günther, A., Berden, G., Oomens, J., Dopfer, O. IRMPD spectroscopy of metalated flavins: Structure and bonding of lumiflavin complexes with alkali and coinage metal ions, *Journal of Physical Chemistry A*, 120 (42), 8297–8308 (2016).

Günther, A., Nieto, P., Berden, G., Oomens, J., Dopfer, O., IRMPD spectroscopy of metalated flavins: structure and bonding of M^{q+}-lumichrome complexes (M^{q+} = Li^+-Cs^+, Ag^+, Mg^{2+}), *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16, 14161–14171 (2014).

Langer, J., Günther, A., Seidenbecher, S.; Berden, G., Oomens, J.; Dopfer, O., Probing protonation sites of isolated flavins using IR spectroscopy. From lumichrome to the cofactor flavin mononucleotide, *ChemPhysChem*, 15, 2550–2562 (2014).

Danksagung

Zum Schluss möchte ich all denjenigen meinen Dank aussprechen, die zur Erstellung dieser Arbeit beigetragen haben.
Bei Prof. Otto. Dopfer möchte ich mich zuerst bedanken, denn er gab mir die Möglichkeit dieses spannende Thema in seiner Arbeitsgruppe zu bearbeiten. Nur durch die freie Arbeitsweise und dem Vertrauen, das er mir entgegenbrachte, ist es mir gelungen diese Arbeit zu Ende zu bringen.
Bei Prof. Stephan Schlemmer möchte ich mich nicht nur wegen der Übernahme des Zweitgutachtens bedanken, sondern auch für die überaus nützlichen Diskussionen, wenn wir uns begegneten, als auch für die technische Unterstützung die er mir zukommen ließ.
Auch Prof. Dieter Gerlich gilt mein Dank, denn er stellte nicht nur die 22-Pol Falle, die ESI-Quelle sowie diverses anderes Equipment zur Verfügung, die die Planung für die BerlinTrap erst initiierte, sondern gab auch viele wertvolle Tipps und Hinweise.
Einen ganz besonderen Dank richte ich an Dr. Pablo Nieto, der mit mir durch die Höhen und Tiefen bei der Durchführung des Projektes ging. Fruchtbare Diskussionen mit ihm führten zu vielen neuen Ideen. Durch die Übernahme des Hauptteiles der quantenchemischen Rechnungen war ich zudem in der Lage, mich intensiver mit der Umsetzung technischer Vorhaben zu beschäftigen. Durch ihn gewann ich nicht nur einen guten Kollegen, sondern auch einen besonderen Freund.
Auch David Müller und Alexander Sheldrick will ich auf diesem Wege herzlich danken. Nur zusammen mit ihnen war es möglich die charakterisierenden Messungen nach der Fertigstellung der Apparatur aufzunehmen. Durch ihren Fleiß und ihrer Hartnäckigkeit konnte die Leistungsfähigkeit immer weiter gesteigert werden.
Ein ganz besonderer Dank geht auch an die Mitarbeiter der FELIX Einrichtung, mit denen ich die für diese Arbeit notwendigen Experimente durchführen durfte, allen voran Jos Oomens und Giel Berden. Ohne ihre Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Ihre Herzlichkeit und die des gesamten FELIX Teams war für mich eine besondere Erfahrung.
Auch bei all den anderen lieben Arbeitskollegen, mit denen ich durch die Promotionszeit ging möchte ich mich an dieser Stelle bedanken. Hier ist besonders Markus Schütz zu nennen, mit dem ich über die Jahre ein Büro teilen durfte. Er kümmerte sich um alle organisatorischen Details, so dass alle technischen Einrichtungen im Labor stets funktionierten. Auch Alexander Patzer soll hier im gleichen Atemzug

genannt werden, der mir in der Anfangsphase der Arbeit viele neuen Ideen lieferte, und mir auch sonst immer helfend zur Seite stand. Das gleiche gilt für Dr. Judith Langer, die mich zu Beginn dieses Projektes in vielerlei Hinsicht unterstützte. Sie führte die Berechnungen zu den protonierten Flavinen durch, wodurch sie mir wiederum sehr viel Arbeit abnahm. Die ehemaligen Studenten Tim Wandrey und Carlsson Kluth sowie Tu Trang Trinh, die in diesem Projekt mit eingebunden waren, dürfen bei dieser Aufzählung nicht fehlen. Sie halfen und unterstützten mich durch ihre ausdauernden Arbeiten aber auch durch ihre junge, aufgeschlossene Art.

Aber auch alle anderen Arbeitskollegen dürfen hier nicht unerwähnt bleiben, denn sie haben mich nicht nur fachlich und mit guten Inspirationen unterstützt, sondern auch für ein außergewöhnliches Arbeitsklima gesorgt, dies natürlich auch bei den außeruniversitären Aktivitäten.

Der Arbeitsgruppe von Prof. Stephan Schlemmer gilt auch ein besonderer Dank, hier sollen vor allem Oskar Asvany, Sven Fanghänel und Christoph Konietzko genannt werden, durch die ich viele technische Hinweise erhalten habe. Außerdem erklärten sie sich bereit mir eines ihrer Piezoventile zur Verfügung zu stellen, was ich sehr zu schätzen weiß.

Auch bei Tim Esser möchte ich mich an dieser Stelle bedanken, denn er stellte uns seinen selbstprogrammierten genetischen Algorithmus zur Verfügung, der zurzeit erfolgreich in der BerlinTrap angewendet wird.

Für die finanzielle Unterstützung der gesamten Projektzeit danke ich der DFG (DO 729/6-1 und 6-2) und der TU-Berlin.

Zu guter Letzt möchte ich mich auch bei den vielen nicht wissenschaftlichen Mitarbeitern bedanken, mit denen ich im Laufe der Jahre die Bekanntschaft machen durfte. Hier will ich mich zunächst bei Sabine Remus bedanken, die mir selbstlos viel organisatorische Arbeit abnahm. Auch den Mitgliedern der feinmechanischen Werkstatt, allen voran Jörn Six und Fabian Sielaff gebührt mein freundschaftlicher Dank. Denn nur durch ihre Fähigkeiten wurde die Umsetzung der technischen Zeichnungen für die BerlinTrap-Apparatur zur Realität. Das Gleiche gilt für Dietmar Dudyka und Joachim Bohs aus der elektronischen Werkstatt.

Anhang A

Abbildung A.1. Oszilloskopaufnahme von Ionenpulsen detektiert am MCP Detektor des ReTOFMS. Die gemessenen Pulshöhen liegen zwischen 10 und 30 mV. Die Pulsbreiten werden zwischen 6 und 10 ns angegeben.

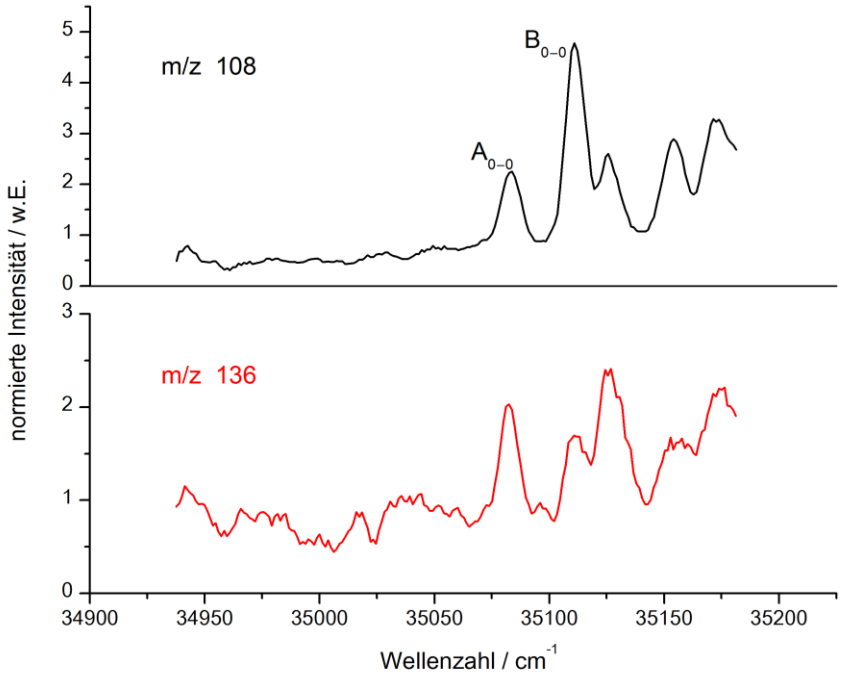

Abbildung A.2. UVPD Spektrum von H^+Tyrosin für zwei unterschiedliche Fragmentkanäle m/z 108 und 136 gemessen bei einer Fallentemperatur von 5 K. Die Spektren selbst werden durch Mittelung von fünf benachbarten Punkten geglättet.

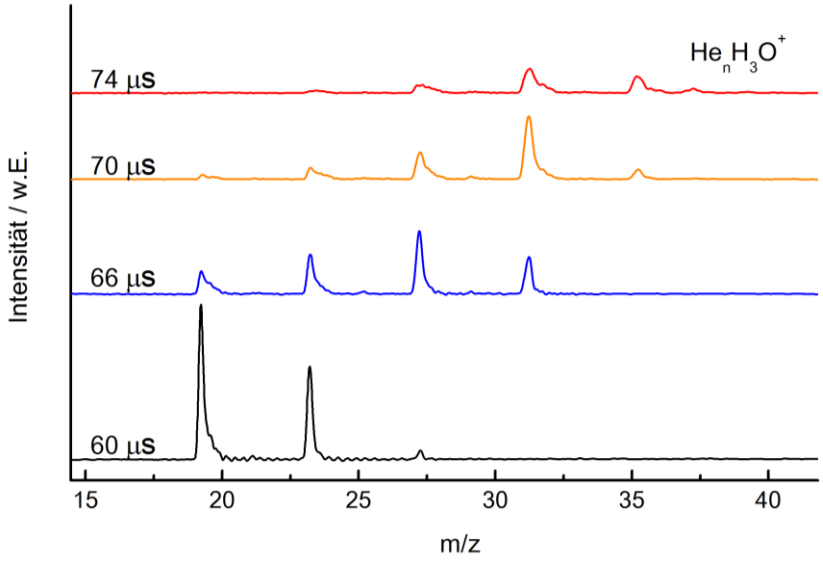

Abbildung A.3. ReTOF Massenspektrum von $He_nH_3O^+$ Komplexen, die in der 22-Pol Falle gewachsen sind. Die Massenspektren wurden bei verschiedenen ReTOFMS Beschleunigungszeiten nach der Extraktion aus dem 22-Pol aufgenommen.

Anhang B

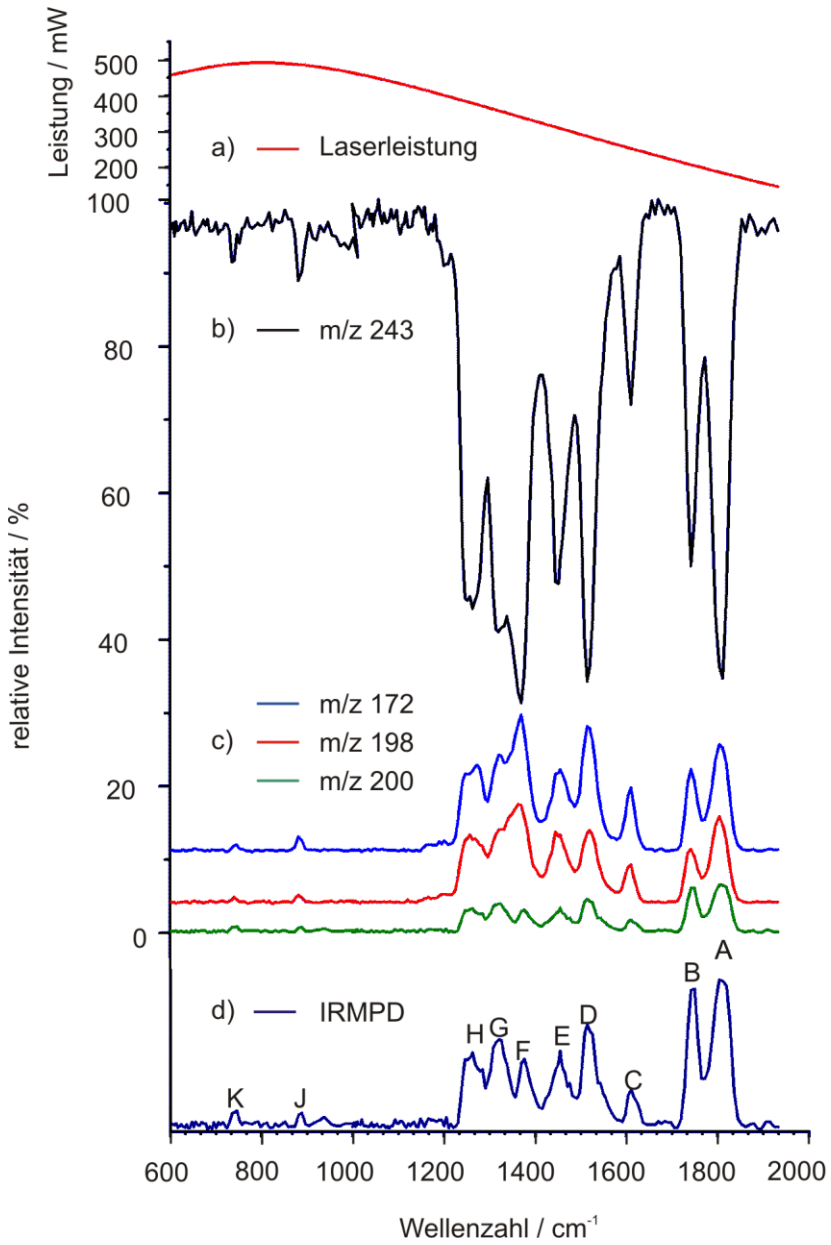

Abbildung B.1. a) Wellenlängenabhängige Laserleistung im Vergleich mit dem **b)** Ionen-„Depletion“ Signal von H^+LC, **c)** den korrespondierenen Fragmentionensignalen mit m/z 172,198 und 200 sowie **d)** dem resultierenden IRMPD Spektrum. Die Ionenintensitäten sind auf den Maximalwert des Muttersignals (ohne *Depletion)* normiert. Für einen besseren Überblick wird das Ionensignal von m/z 172 mit 11 % das mit m/z 198 mit 4 % Offset geplottet.

Tabelle B-1. Vergleich der berechneten Vibrationsfrequenzen des $H^+LC@N5$ Isomers mit den experimentellen Übergangsfrequenzen in Abbildung II.3.3. ν_0 und ν_{0-skal} sind die unskalierten und skalierten Frequenzen, die sich aus den Berechnungen ergeben. (i.E. = in der Ebene, a.E. = aus Ebene heraus). Bei der Bezeichnung „atmend“ dehnen bzw. stauchen sich alle Verbindungen eines Ringes gleichzeitig.

Bande	ν_{IRMPD} cm^{-1}	ν_0 cm^{-1}	ν_{0-skal} cm^{-1}	$Intensität$ km/mol	Zuordnung
A	1810	1864	1799	813	$\nu_{C2=O}, \delta_{1H3H}$
B	1745	1802	1739	363	$\nu_{C4=O}, \delta_{3H}$
C	1610	1675	1616	188	$\nu_{5-4a,10-10a,6-7}$ (i.E.)
		1659	1601	54	$\nu_{6-5a,8-9,5-4a}$(i.E.)
D	1520	1571	1516	411	$\nu_{10a-1,6-7}$ (i.E.)
E	1450	1503	1450	219	III atmend, $\nu_{5a-6,9-9a}, \nu_{7-CH_3}, \nu_{8-CH_3}$(i.E.)
		1475	1423	47	δ_{CH_3}
		1453	1402	54	δ_{8-CH_3}
F	1370	1412	1363	128	$\nu_{7-8a,5a-9a}, \delta_{CH_3}$(i.E.)
		1397	1348	108	ω_{CH_3}, ν_{5a-9a}(i.E.)
G	1320	1382	1334	128	$\nu_{1-2-3,6-7,5a-6,9a-10}$(i.E.)
		1368	1320	51	$\nu_{9a-10-10a,5a-9a,7-8,4-4a}$(i.E.)
		1362	1314	172	$\delta_{1H5H}, \nu_{4a-10a,4-4a,10-10a,3-4}$(i.E.)
H	1260	1319	1273	166	I atmend, $\nu_{9a-10,2-3,1-2}$(i.E.)
J	880	924	892	59	$\delta_{5H9H}, \gamma_{Ch_3}$(a.E.)
K	740	755	729	86	δ_{3-2-1}(a.E.)

.

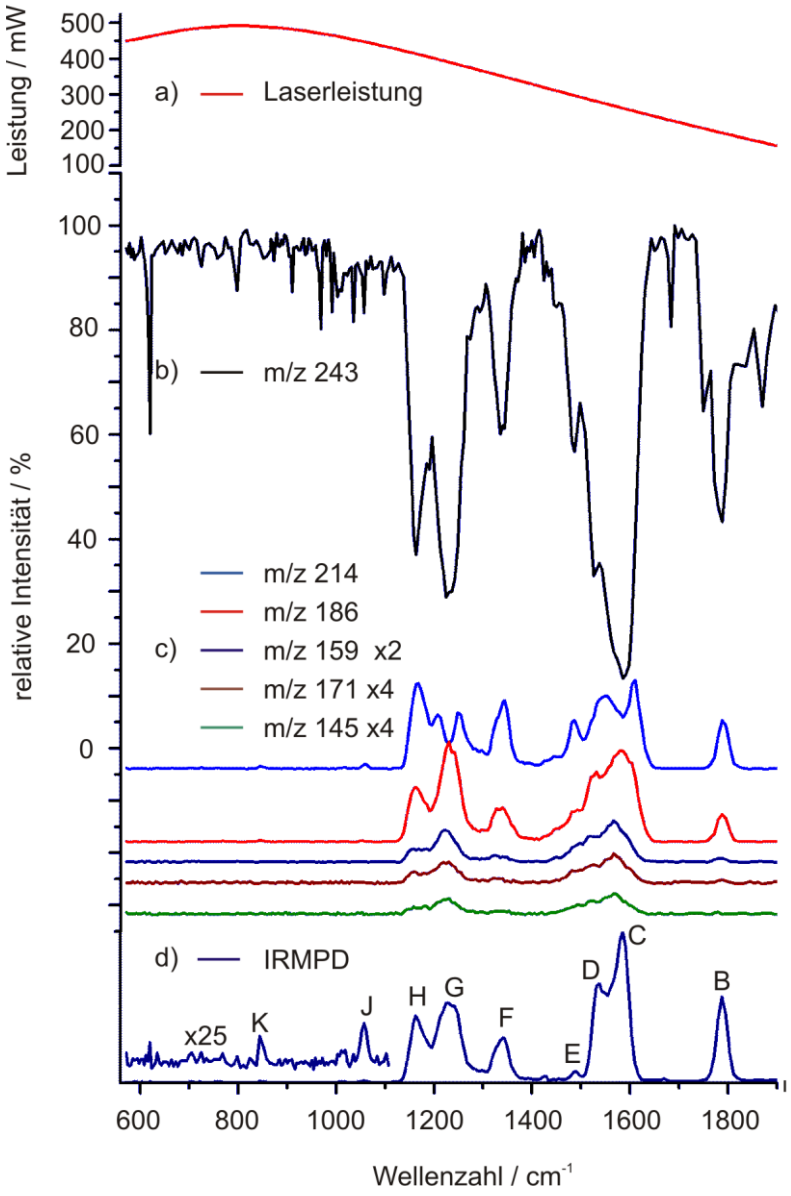

Abbildung B.2. a) Wellenlängenabhängige Laserleistung im Vergleich mit dem **b)** Ionen-„Depletion“ Signal von H^+LF, **c)** dem korrespondierenen Fragmentionensignalen mit m/z 214, 186, 171, 159 und 145 sowie **d)** dem resultierenden IRMPD Spektrum. Die Ionenintensitäten sind auf den Maximalwert das Muttersignals (ohne *Depletion)* normiert. Für einen besseren Überblick wird das Ionensignal von m/z 214, 186, 171, 159 und 145 jeweils mit einem Offset von -4 %, -18 %, -26 %, -22 %, und -32 % geplottet. Die scharfen Spitzen im Muttersignal sind durch Instabilitäten der ESI Quelle bedingt.

Tabelle B-2. Vergleich der Vibrationsfrequenzen für das berechnete H^+LF@O2+ Isomer mit den experimentellen Übergangsfrequenzen in Abbildung II.3.3. ν_0 und ν_{0-skal} sind die unskalierten und skalierten Frequenzen, die sich aus den Berechnungen ergeben (i.E. = in der Ebene, a.E. = aus Ebene heraus). Bei der Bezeichnung „atmend" dehnen bzw. stauchen sich alle Verbindungen eines Ringes gleichzeitig.

Bande	ν_{IRMPD} cm^{-1}	ν_0 cm^{-1}	ν_{0-skal} cm^{-1}	$Intensität$ km/mol	Zuordnung
A					$\nu_{C2=O}, \delta_{1H3H}$
B	1790	1847	1782	328	$\nu_{C4=O}, \delta_{3H}$ (i.E.)
C	1580	1643	1585	967	$\nu_{1-2,}\delta_{3H}, \delta_{COH}$ (i.E.)
		1615	1558	202	$\nu_{2-3,4a-10a,5a-9a,7-8}, \delta_{3H}, \delta_{COH}$ (i.E.)
D	1540	1595	1539	945	$\nu_{10-10a,5-5a,7-8,5a-9a,2-3}, \nu_{OH}, \omega_{CH_3}, \delta_{3H}, \delta_{COH}$ (i.E.)
		1582	1527	320	$\nu_{4a-5,5a-9a,8-9,9a-10,10a-1,2-3}, \delta_{3H9H}, \delta_{CH_3}$(i.E.)
E	1490	1523	1470	108	II atmend,$\nu_{9-9a,7-8}, \delta_{6H9H}, \delta_{CH_3}$ (i.E.)
F	1340	1382	1334	91	$\nu_{7-8,5a-9a,4a-10a}, \delta_{6H9H}, \gamma_{CH_3}$ (i.E.)
G	1230	1286	1241	156	I atmend, $\nu_{4-4a}, \delta_{6H9H}$ (i.E.)
		1255	1211	49	$\nu_{4-4a,9-9a}, \delta_{6H9H}, \delta_{COH}$ (i.E.)
H	1160	1229	1186	112	$\nu_{7-8,3-4,1-2,8-CH_3 7-8-CH_3}, \delta_{3H6H9H}, \delta_{COH}$ (i.E.)
		1202	1160	260	$\nu_{44-4a,9-9a}, \delta_{6H9H}, \delta_{COH}$ (i.E.)
J	1060	1019	983	44	ω_{CH3}
K	840	723	698	43	δ_{3H} (a.E)

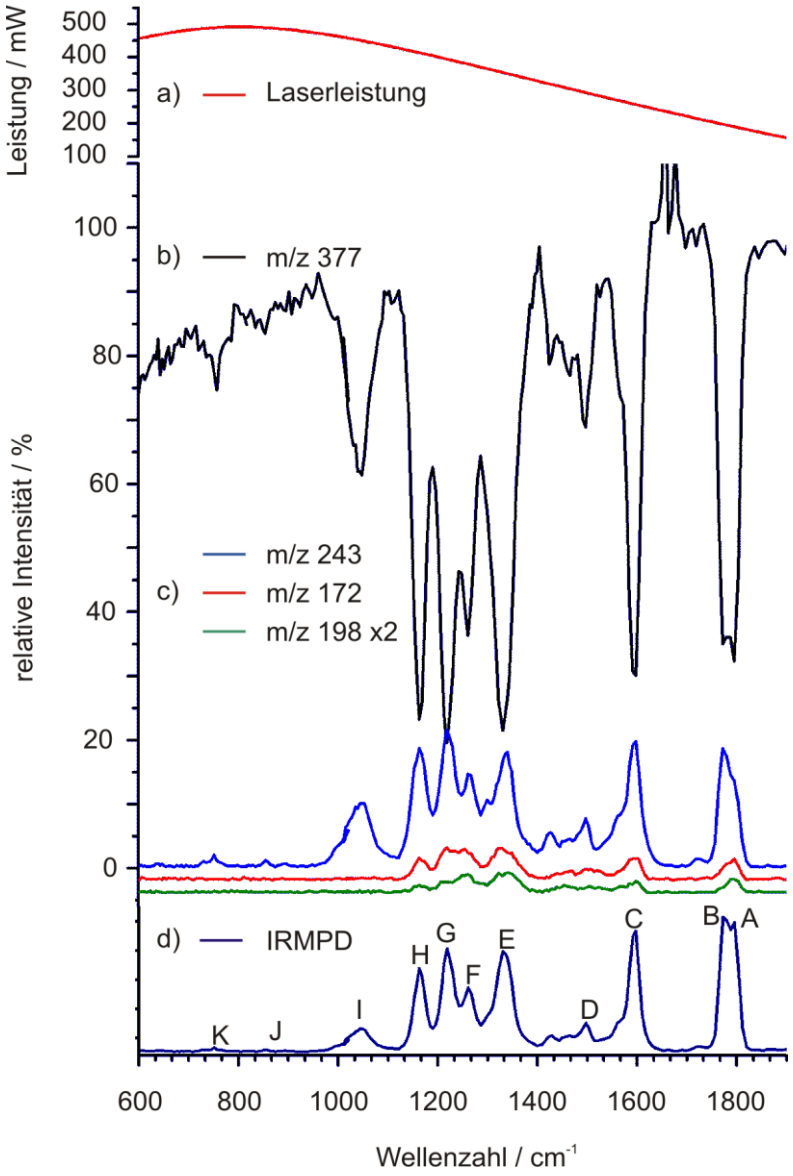

Abbildung B.3. a) Wellenlängenabhängige Laserleistung im Vergleich mit dem **b)** Ionen-„Depletion“ Signal von H^+RF, **c)** dem korrespondierenen Fragmentionensignalen mit m/z 243, 172, und 198 sowie **d)** dem resultierenden IRMPD Spektrum. Die Ionenintensitäten sind auf den Maximalwert des Muttersignals (ohne *Depletion)* normiert. Für einen besseren Überblick wird das Ionensignal von m/z 172, und 198 jeweils mit einem Offset von -2 % und -4 % geplottet.

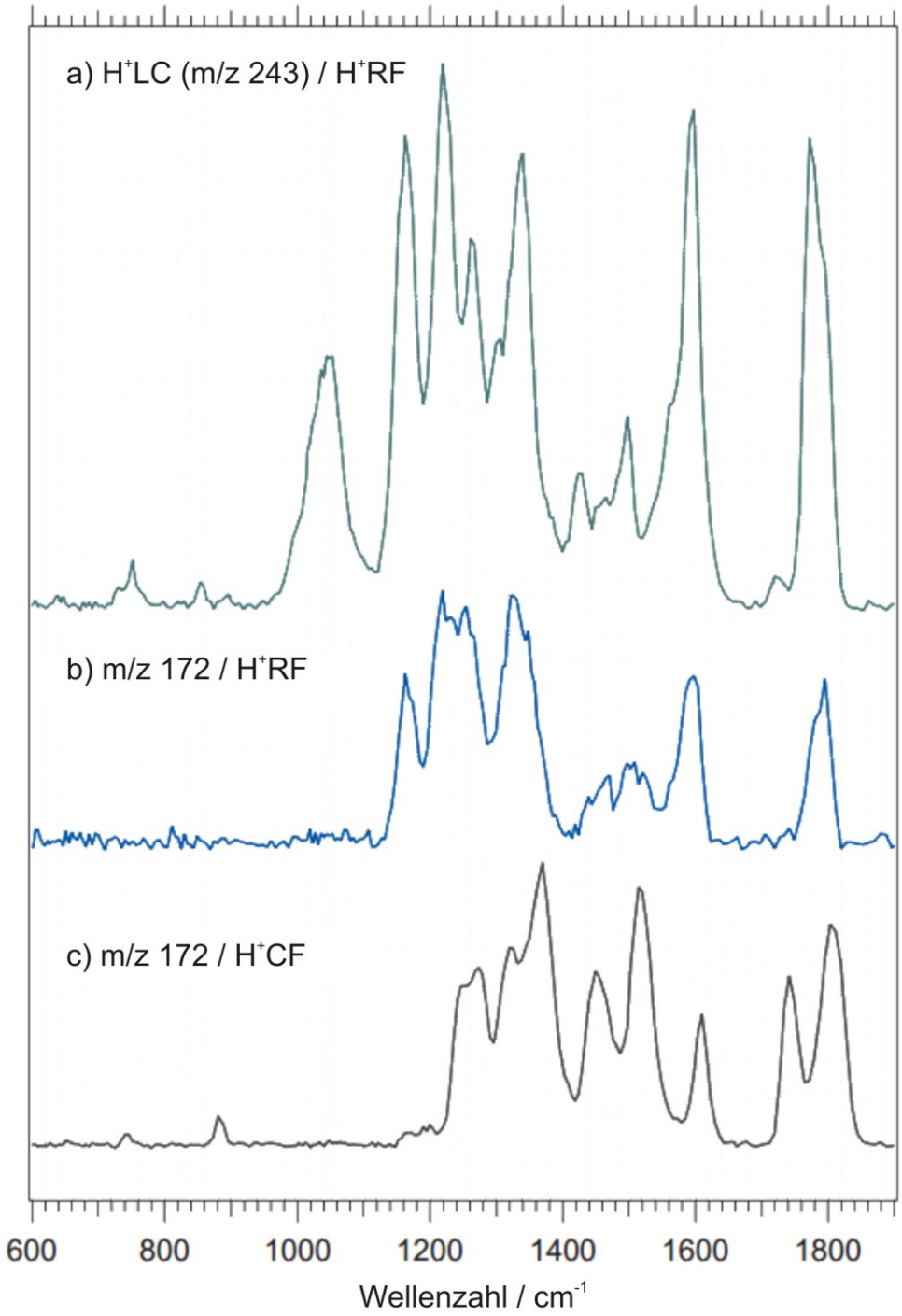

Abbildung B.4. Vergleich der experimentellen Fragmentspektren der Dissoziationskanäle von H^+RF mit m/z 243 (a) und (b) m/z 172, mit dem Fragmentationskanal m/z 172 der bei der Dissoziation von H^+LC zu beobachten ist. H^+RF dissoziiert also in H^+LC welches im selben Zyklus wieder in den Kanal m/z 172 dissoziiert. (Grafik adaptiert aus [163])

Tabelle B-3 Wasserstoff-Bindungslängen der protonierten RF Konformere aus Abbildung II.3.5. (Tabelle adaptiert aus [163])

H^+RF	H-Bindung	H Bindungslänge pm
H^+RF-1β@N1	$C_\beta - O \cdots H - N_1$	176
	$C_\beta O - H \cdots O(H) - C_\delta$	174
	$C_\delta O - H \cdots O(H) - C_\varepsilon$	208
H^+RF-2γ@N1	$C_\gamma - O \cdots H - N_1$	180
	$C_\beta O - H \cdots O(H) - C_\delta$	180
	$C_\delta O - H \cdots O(H) - C_\varepsilon$	208
H^+RF-2δ@N1	$C_\delta O - H \cdots H - N_1$	171
	$C_\delta O - H \cdots O(H) - C_\varepsilon$	205
H^+RF-1δ@N1	$C_\delta - O \cdots H - N_1$	173
H^+RF-1γ@N1	$C_\gamma - O \cdots H - N_1$	175
H^+RF-1ϵ@N1	$C_\varepsilon - O \cdots H - N_1$	178
H^+RF-2@O2+	$C_\beta O - H \cdots O(H) - C_\delta$	180
	$C_\delta O - H \cdots O(H) - C_\varepsilon$	208
H^+RF-2ϵ@N1	$C_\varepsilon - O \cdots H - N_1$	169
	$C_\gamma O - H \cdots O(H) - C_\delta$	219

Tabelle B-4 Vergleich der Vibrationsfrequenzen für das berechnete H^+RF-1β@N1 Isomer mit den experimentellen Übergangsfrequenzen in Abbildung II.3.3. ν_0 und ν_{0-skal} sind die unskalierten und skalierten Frequenzen, die sich aus den Berechnungen ergeben (i.E. = in der Ebene, a.E. = aus Ebene heraus). Bei der Bezeichnung „atmend“ dehnen bzw. stauchen sich alle Verbindungen eines Ringes gleichzeitig. (Grafik adaptiert aus [163])

Bande	ν_{IRMPD} cm^{-1}	ν_0 cm^{-1}	ν_{0-skal} cm^{-1}	$Intensität$ km/mol	Zuordnung
A	1795	1856	1791	590	$\nu_{C2=O}, \delta_{1H3H}$ (i.E.)
B	1770	1834	1770	381	$\nu_{C4=O,}\delta_{3H}$ (i.E.)
C	1600	1643	1585	518	$\nu_{10-10a,5-5a,9-9a,6-7,}\delta_{1H,}\delta_{6H9H,}\delta_{\alpha-CH_2}$ (i.E.)
D	1500	1556	1502	115	$\nu_{9-9a,4a-5,7-8,10a-1}, \delta_{1H}, \delta_{6H9H,}\ \delta_{\alpha-CH_2}$ (i.E.)
		1535	1481	90	$\nu_{7-8,5a-6,4a-10a,9-9a}, \delta_{1H6H9H}, \delta_{CH_3}, \delta_{\alpha-CH_2}$ (i.E.)
E	1330	1370	1322	104	δ_{rib} (i.E.)
		1366	1318	301	$\nu_{1-2,4-4a,10-10a,9-9a,6-7}$, $\delta_{1H6H9H}, \delta_{CH_3}, \delta_{rib}$ (i.E.)
		1331	1284	180	$\nu_{5-5a,10-10a,10a-1,9-9a,7-8}, \delta_{6H9H}, \gamma_{\alpha-CH_3}, \delta_{\beta-CHC}$ (i.E.)
F	1260	1282	1237	182	I atmend, $\nu_{1-2,4-4a}, \delta_{6H9H}$ (i.E.)
G	1220	1253	1218	160	$\nu_{1-2,3-4,4a-10a,9-9a,7-8}, \delta_{3H6H9H}$, $\delta_{\alpha-CH_2}$ (i.E.)
H	1160	1198	1156	71	$\nu_{9a-10,5-5a,7-CH_3,8-CH_3}, \delta_{3H6H9H}, \gamma_{\alpha-CH_3}, \delta_{rib}$ (i.E.)
I	1050	1089	1051	65	$\nu_{ribC-OH}, \delta_{rib}$ (i.E.)
		1075	1037	73	$\nu_{ribC-OH}, \delta_{rib}$
		1065	1028	59	$\nu_{ribC-C}, \delta_{ribCOH}$ (a.E)
J	850	876	845	21	$\nu_{5-5a,10-\alpha-C}, \delta_{I,II}, \delta_{6H9H}$ (i.E.), δ_{1H} (a.E), δ_{rib}
K	750	808	780	65	δ_{1H} (a.E.)

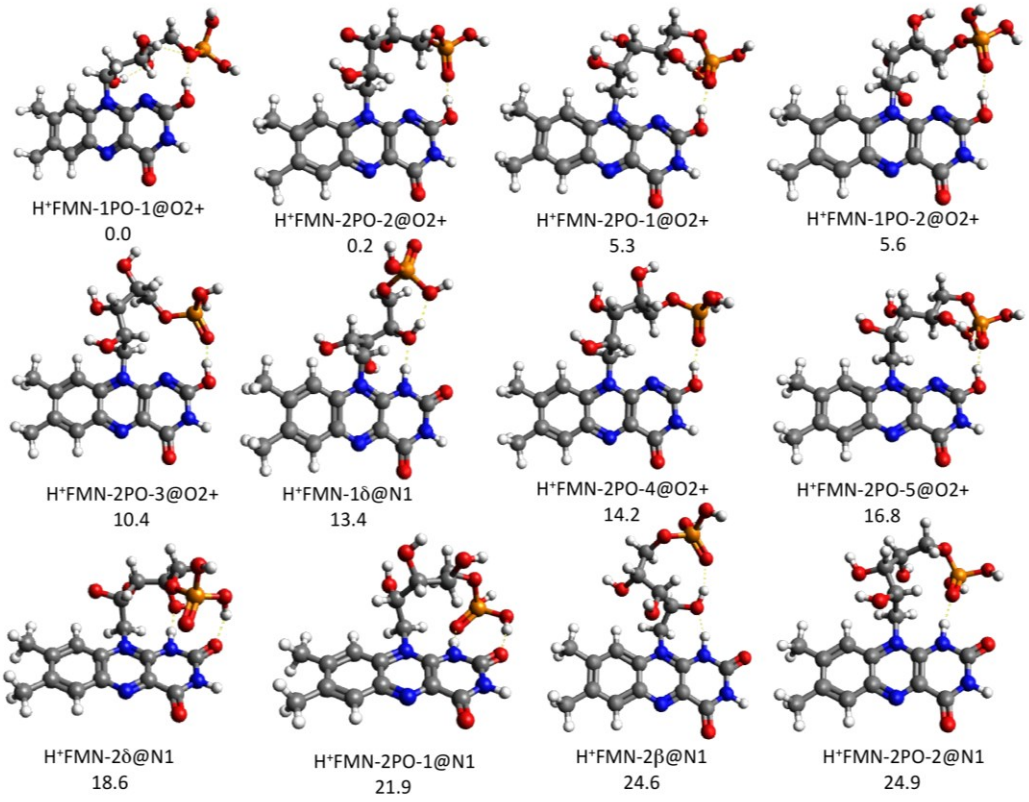

Abbildung B.5. Strukturen und relative Gibbs-Energien in kJ/mol der energetisch stabilsten H^+FMN@O2+ und H^+FMN@N1 Konformere, welche auf dem Niveau von B3LYP/cc-pVDZ berechnet werden.

Tabelle B-5 Bindungslängen der Wasserstoffbrücken protonierter FMN Konformere aus Abbildung B.5. (Tabelle adaptiert aus [163])

H^+FMN	**H-Bindung**	**H- Bindungslänge [pm]**
H^+FMN-1PO-1@O2+	P=O···H-O2	158
	C_βO-H···O(H)-C_δ	185
	C_γ-O···H=P	189
H^+FMN-2PO-2@O2+	P=O···H-O2	155
	C_δO-H···O(H)-P	207
	C_γ-O···O(H)-C_δ	214
	C_βO-H···O(H)-C_γ	221
H^+FMN-2PO-1@O2+	P=O···H-O2	156
	C_δ-O···H-N_1	192
H^+FMN-1PO-2@O2+	P=O···H-O2	153
	C_γO-H···O(H)-C_δ	217
	C_βO-H···O(H)-C_γ	219
H^+FMN-2PO-3@O2+	P=O···H-O2	154
	C_γO-H···O(H)-C_δ	218
H^+FMN-1δ@N1	C_δ-O···H-N1	172
	C_δO-H···O=P	187
H^+FMN-2PO-4@O2+	P=O···H-O2	154
	C_γO-H···O(H)-C_δ	226
H^+FMN-2PO-5@O2+	P=O···H-O2	158
	C_βO-H···O(H)-C_γ	224
	C_δO-H···O=P	196
H^+FMN-2δ@N1	C_δ-O···H-N1	176
	PO-H···O2	185
	C_βO-H···O(H)-C_γ	224
H^+FMN-2PO-1@N1	P=O···H-N1	163
	PO-H···O2	198
	C_γO-H···O(H)-C_δ	223
H^+FMN-2β@N1	C_β-O···H-N1	164
	C_βO-H···O=P	173
H^+FMN-2PO-2@N1	P=O···H-N1	168
	C_βO-H···O(H)-C_γ	219

Tabelle B-6. Vergleich der berechneten Vibrationsfrequenzen des H^+FMN-1PO-1@O2+ Isomers mit den experimentellen Übergangsfrequenzen in Abbildung II.3.6. ν_0 und ν_{0-skal} sind die unskalierten und skalierten Frequenzen, die sich aus den Berechnungen ergeben. (i.E. = in der Ebene, a.E. = aus Ebene heraus). Bei der Bezeichnung „atmend" dehnen bzw. stauchen sich alle Verbindungen eines Ringes gleichzeitig. *(*Tabelle adaptiert aus [163])

Bande	ν_{IRMPD} cm^{-1}	ν_0 cm^{-1}	ν_{0-skal} cm^{-1}	Intensität km/mol	Zuordnung
B	1780	1838	1774	387	$\nu_{C4=O}, \delta_{3H}$ (i.E.)
C	1590	1638	1581	774	$\nu_{C2=O,}\delta_{3H}, \nu_{10-10a,5-5a}$ (i.E.)
D	1540	1601	1545	84	$\nu_{2-3,4a-10a,4a-5,5a-9a,7-8,}\delta_{6H9H,}\delta_{C2OH}, \gamma_{\alpha-CH_3,}$ (i.E.)
		1589	1533	681	$\nu_{10-10a,2-3,5-5a,5-9a,7-8}, \delta_{3H}, \delta_{C2OH}\ \delta_{\beta-CHC}$ (i.E.)
		1584	1529	918	$\nu_{1-2,2-3,4a-5}, \delta_{3H}, \delta_{C2OH}$ (i.E.)
E	1340	1385	1337	126	$\nu_{4a-10,5a-9,7-8}, \delta_{6H9H}\ , \delta_{\alpha-CH_2}, \delta_{CH_3}$ (i.E.)
F	1260	1298	1253	260	$\nu_{4a-10a,4a-10a,4-4a,7-8}\ , \delta_{6H9H,}, \delta_{C2OH}, \delta_{rib}$ (i.E.)
G	1230	1254	1210	99	$\nu_{3-4,4-4a,5a-6,7-CH_3}, \delta_{3H9H}, \delta_{C2OH}, \delta_{rib}$ (i.E.)
H	1160	1156	1116	695	$\nu_{P=O}, \nu_{5-5a,*9a-10,3-4}, \delta_{3H6H}, \delta_{C2OH}, \delta_{rib}$ (i.E.)
		1138	1098	95	$\delta_{C2OH}, \delta_{rib}$
		1122	1083	95	$\delta_{ribphos}$
I	1060	1094	1056	78	$\nu_{rib}, \nu_{7-CH_3,9a-10,3-4}$
J	1020	1051	1014	69	δ_{POH}
K	930	985	950	164	$\nu_{O-PO(OH)_2}, \delta_{ribphos}$
		958	924	246	$\delta_{C2OH}, \delta_{POH}$
		943	909	191	$\delta_{C2OH}, \delta_{ribphos}$
		935	803	124	$\delta_{C2OH}, \delta_{ribphos}$

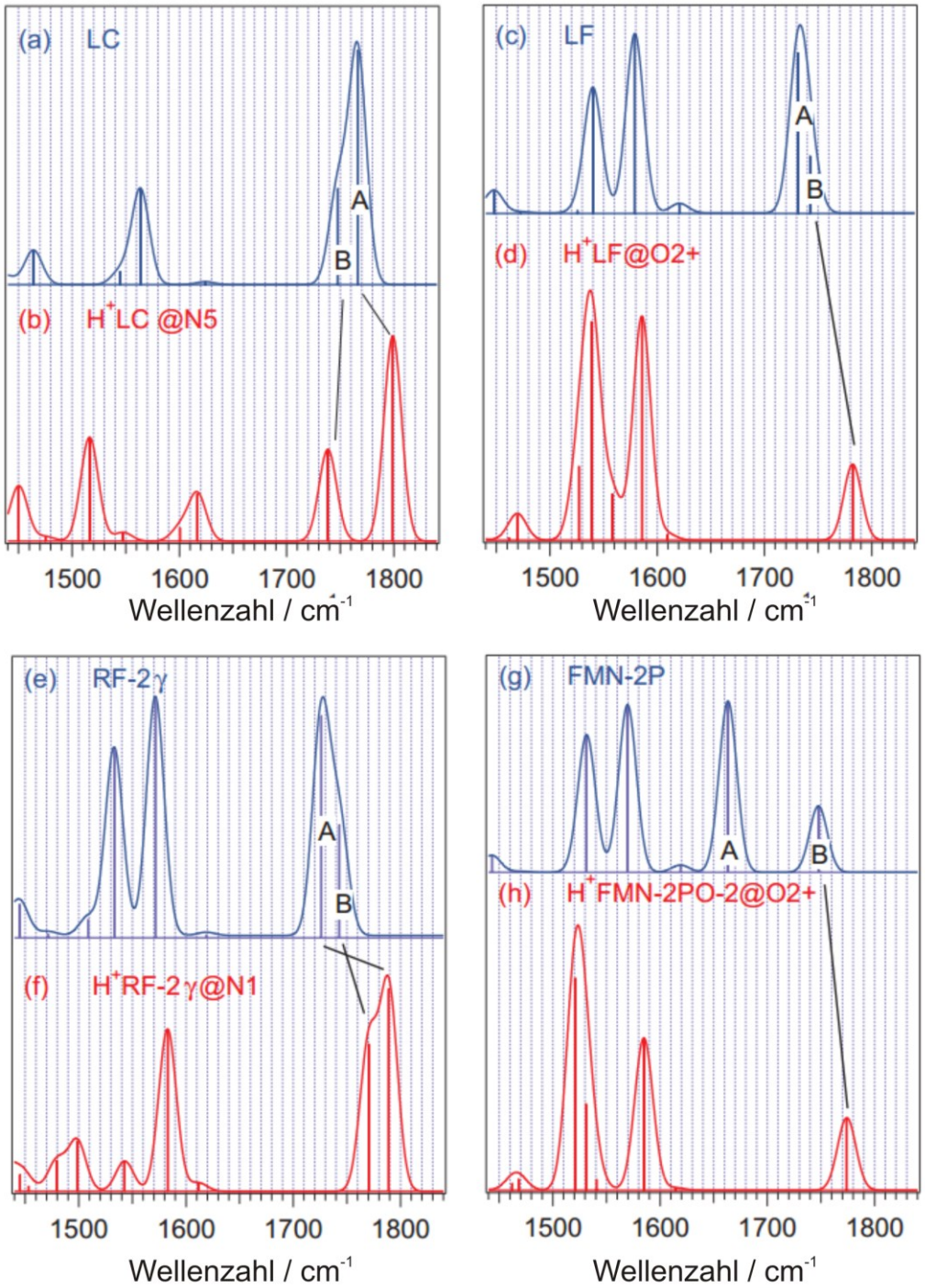

Abbildung B.6. Effekt der Protonierung auf die Vibrationsstruktur im Bereich der C=O Streckfrequenzen sowie der Ringmoden. Dargestellt ist der Vergleich der berechneten Spektren (B3LYP/cc-pVDZ) der neutralen Flavine mit den energetisch günstigsten protonierten Isomeren von Lumichrom (a) LC und (b) H^+LC@N5, Lumiflavin (c) LF und (d) H^+LF@O2+, Riboflavin (e) RF-2γ und (f) H^+RF-2γ@N1 und Flavinmononukleotid (g) FMN-2P und (h) FMN-2P@O2+. Beide C=O Moden können einfach voneinander unterschieden werden. Die C2=O Bande **A** ist intensiver als die C4=O Bande **B**. Die durchgezogenen Linien zeigen die Verschiebungen durch die Protonierung. **A** verschwindet für O2 protonierte Flavine. Die Frequenzen sind mit 0,965 skaliert und die Strichspektren mit einer Halbwertsbreite von 20 cm^{-1} gefaltet. (Grafik entnommen aus [163])

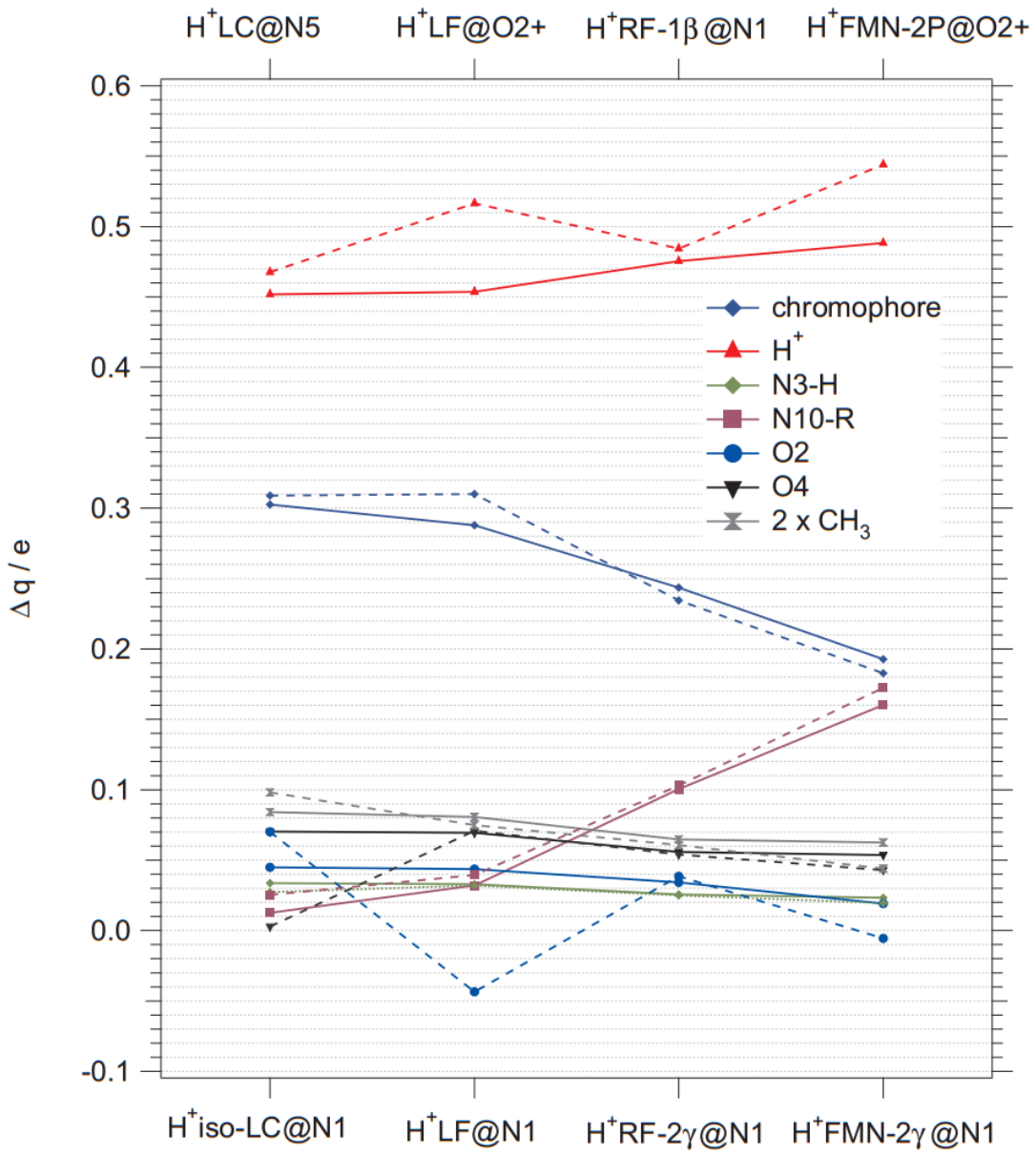

Abbildung B.7 Entwicklung der Veränderungen der NBO Ladung Δq_{pn} von LC, LF RF und FMN nach Protonierung zu H^+LC@N5, H^+LF@O2+, H^+RF-1β@N1 und H^+FMN-2PO-1@O2+ (gepunktet) im Vergleich zur jeweiligen N1 protonierten Spezies H^+LC@N10, H^+LF@N1, H^+RF-1β@N1 und H^+FMN-2PO-1@N1 (durchgezogene Linie) für verschiedene Gruppen innerhalb der Flavinmoleküle. Chromophore (dunkelblau) stellt dabei die Summe der NBO Ladungen aller Ringatome inklusive der beiden H Atome an C6 und C9 dar, 2xCH_3 (grau) die der zwei Methylgruppen an den C7 und C8 Atomen und N10-R (lila) die aller Atome des N10 Substituenten.O2 (blau), O4 (schwarz), N3-H (grün) und H^+ (rot) stellen die Werte für einzelne Atome dar. (Grafik entnommen aus [163])

Anhang C

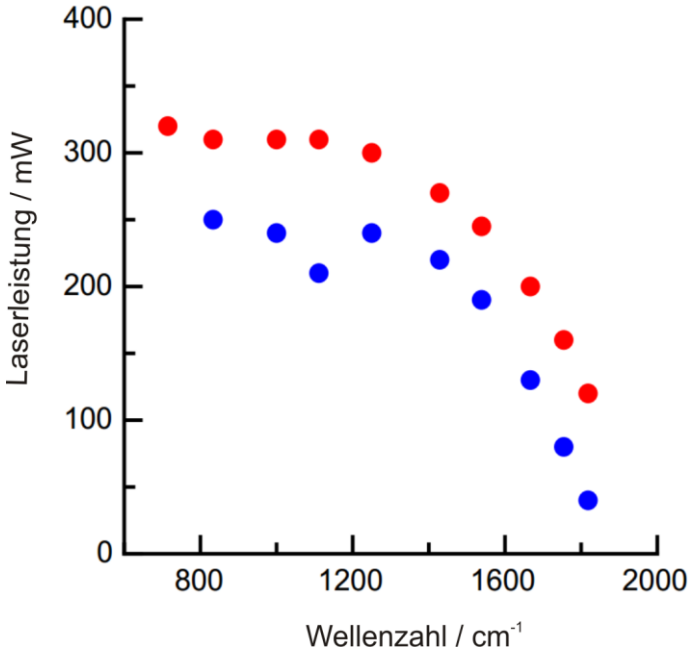

Abbildung C.1. Laserleistung von FELIX bei der Aufnahme des $Mg^{2+}LC_2$, $Li^{+}LF$, $Cs^{+}LF$ Spektrums (blau) und anderer Metallionen-Flavin-Komplexe. (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [165]. Copyright (2014) American Chemical Society)

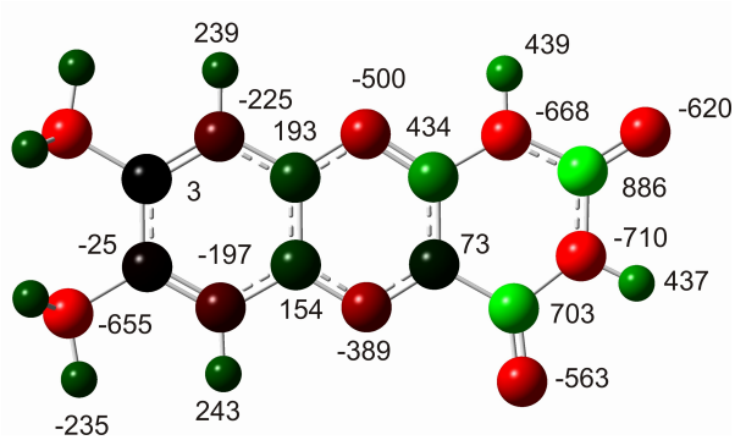

Abbildung C.2. NBO Ladungsverteilung von LC (in me) berechnet auf dem Niveau von B3LYP/cc-pVDZ (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [165]. Copyright (2014) American Chemical Society)

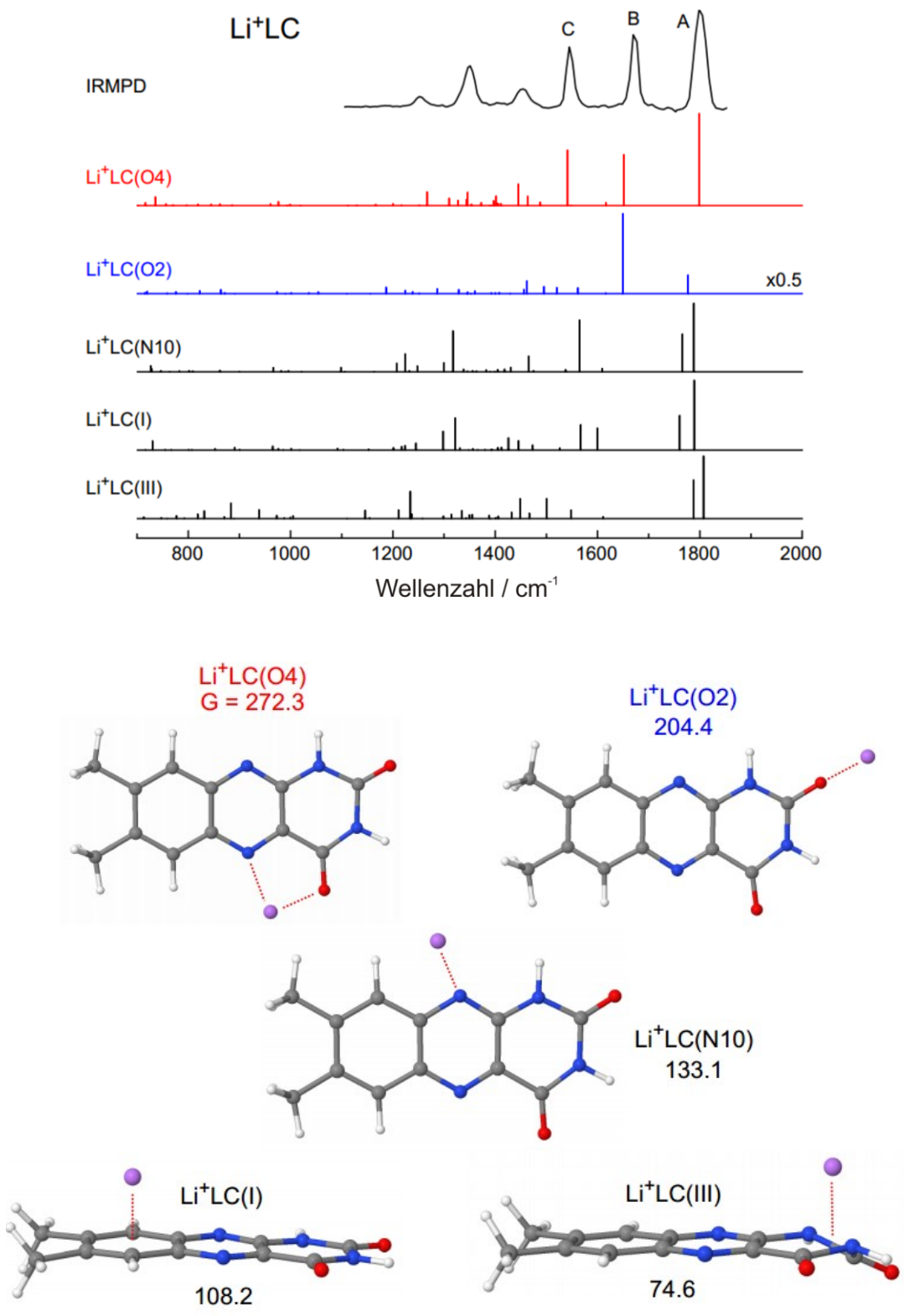

Abbildung C.3. Vergleich der IRMPD Spektren von Li^+LC mit den linearen Absorptionsspektren, berechnet für verschiedenen Isomere auf dem B3LYP/cc-pVDZ Niveau. (oben) Die zu den Spektren gehörenden Strukturen sind ebenfalls dargestellt (unten). (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [165]. Copyright (2014) American Chemical Society)

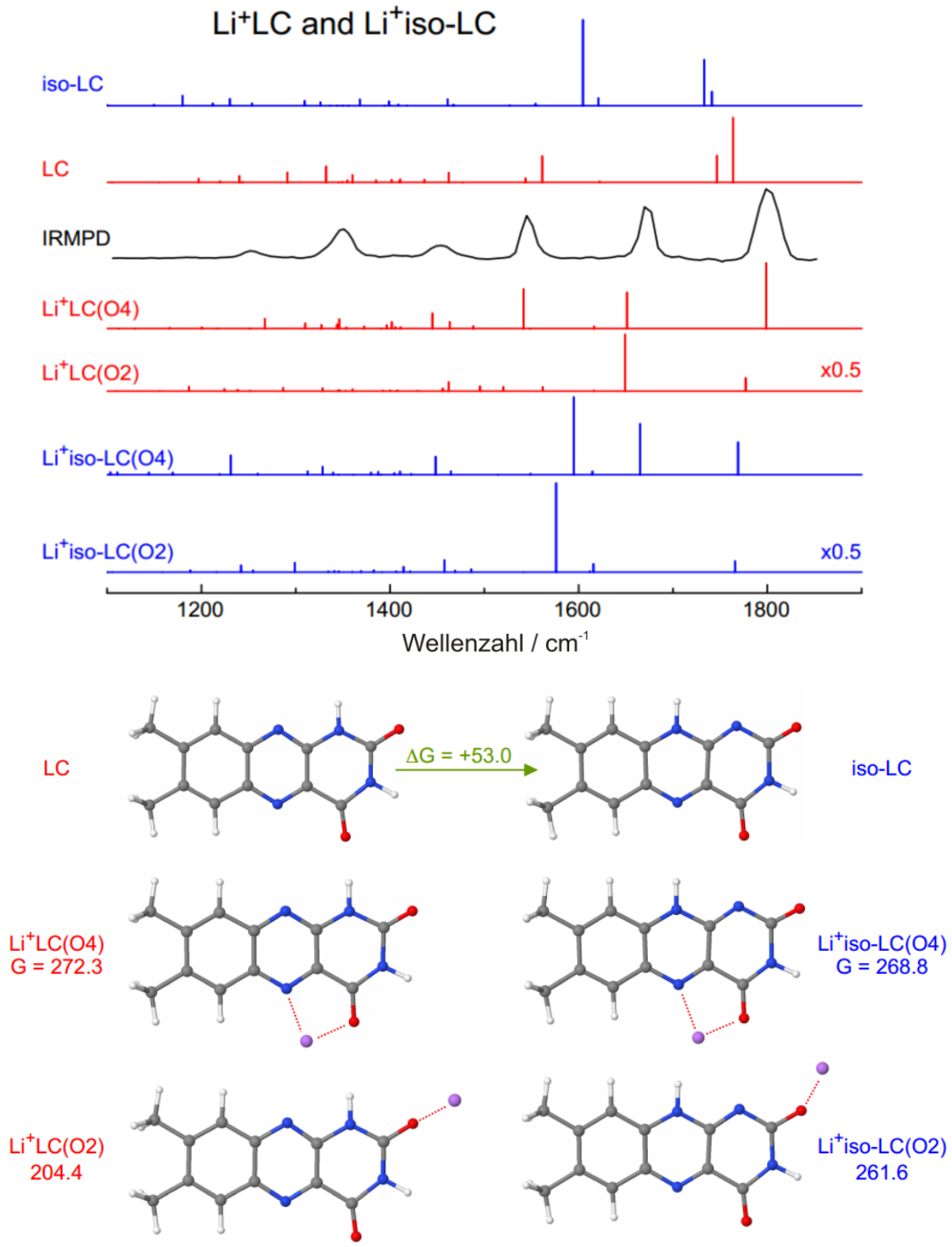

Abbildung C.4. Vergleich der IRMPD Spektren von Li^+LC mit den linearen Absorptionsspektren, berechnet für LC, iso-LC und den O4+ und O2 Isomeren der Li^+-Komplexe, auf dem Niveau von B3LYP/cc-pVDZ (oben). Die zu den Spektren gehörenden Strukturen sind ebenfalls dargestellt (unten). (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [165]. Copyright (2014) American Chemical Society)

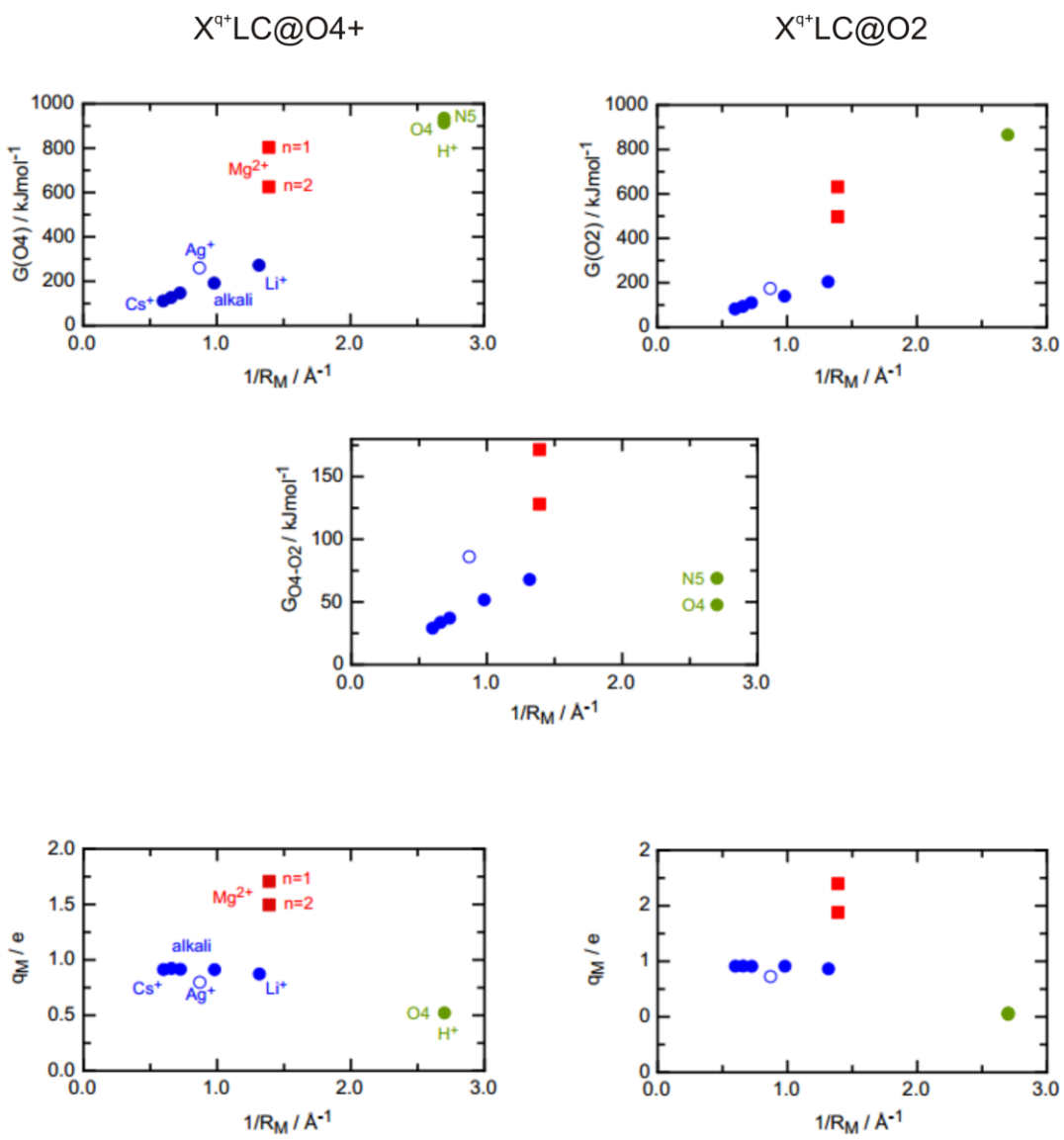

Abbildung C.5. Gibbs-Energie (oben) aufgetragen über den inversen Ionenradius für $M^{q+}LC_n$ mit n =1,2 sowie M = Li–Cs (blau/gefüllt), Ag (blau/Kreis) Mg (rot/Quadrat) sowie H^+LC (grün) für die entsprechenden O4+ (links) sowie O2 Isomere (rechts). In der Mitte ist die Differenz der Gibbs-Energien zwischen den O2 und O4+ Isomeren aufgetragen. In den unteren Bildern ist die resultierende Ladung des Substituenten (M^+ bzw. H^+) nach Bindung an LC dargestellt. Für alle Bilder gilt der gleiche Farbcode wie für die oberen beiden Bilder. (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [165]. Copyright (2014) American Chemical Society)

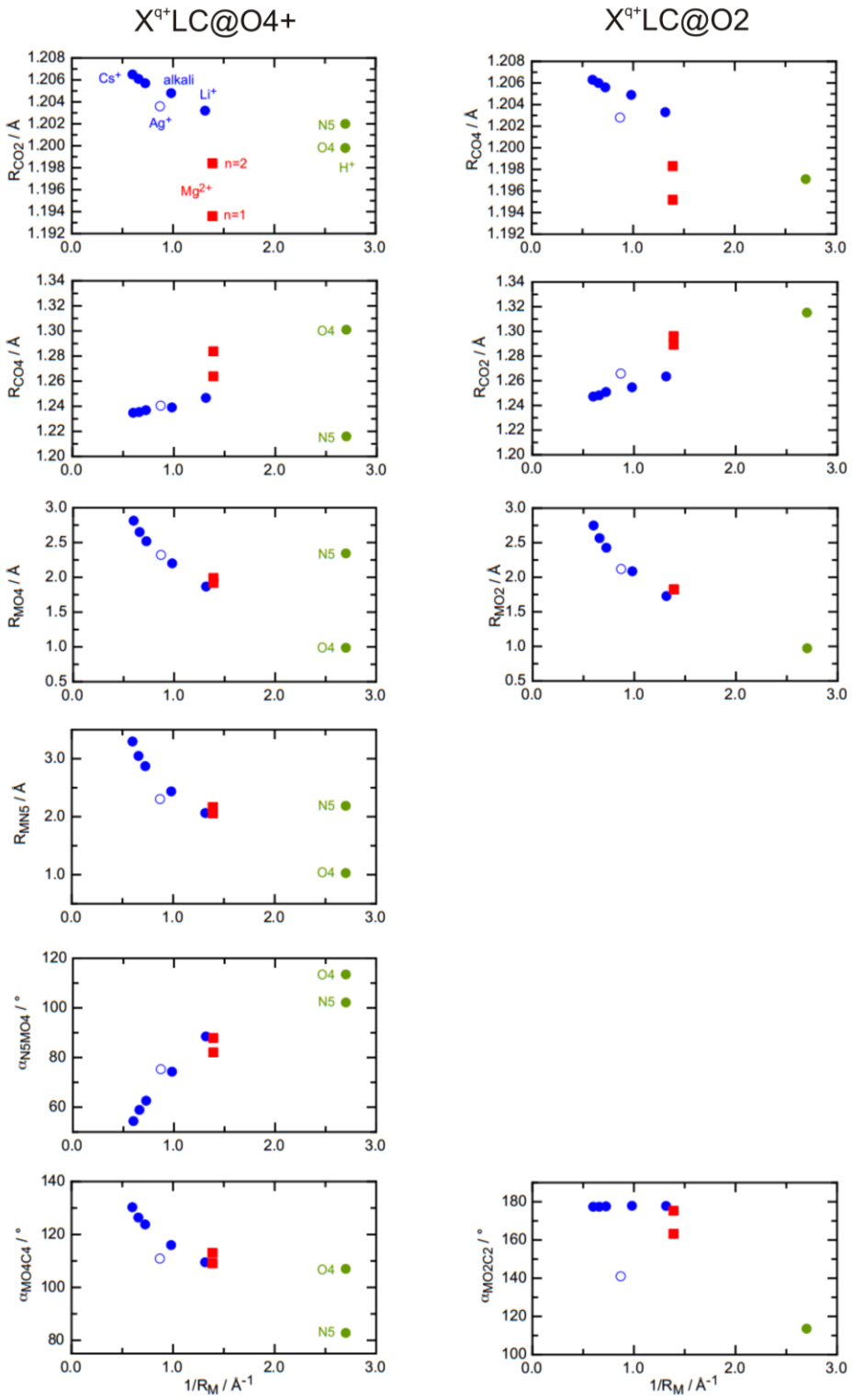

Abbildung C.6. Ausgesuchte strukturelle Parameter (Bindungsabstände R und Winkel α) aufgetragen über den inversen Ionenradius für $M^{q+}LC_n$ mit n =1 und 2 sowie M = Li–Cs (blau/gefüllt), Ag (blau/Kreis) Mg (rot/Quadrat) sowie H^+LC (grün) für die entsprechenden O4+ (links) und O2 Isomere (rechts). (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [165]. Copyright (2014) American Chemical Society)

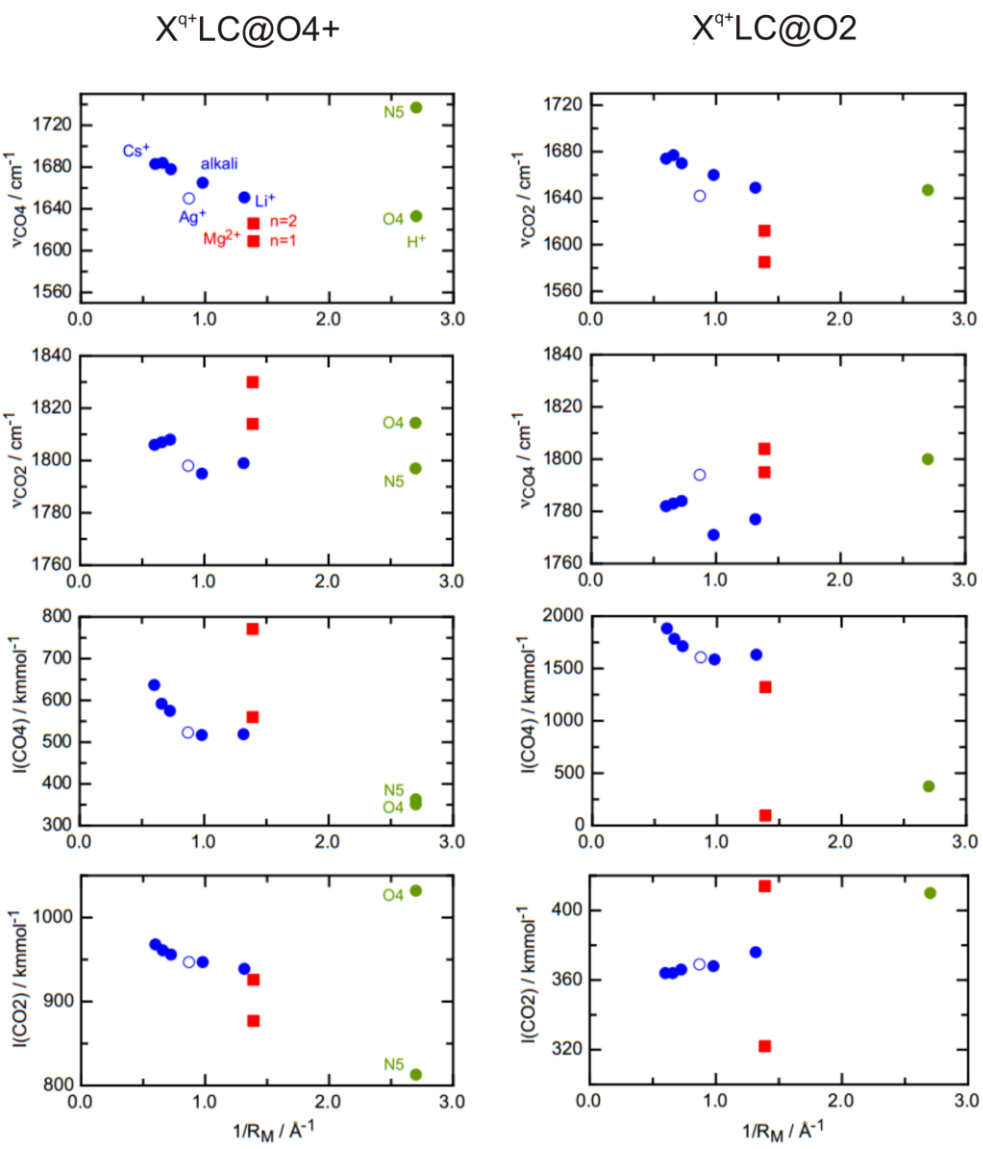

Abbildung C.7. Ausgesuchte Schwingungsparameter (Schwingungsfrequenz υ und Intensität I) aufgetragen über den inversen Ionenradius für $M^{q+}LC_n$ mit n =1 und 2 sowie M = Li–Cs (blau/gefüllt), Ag (blau/Kreis) Mg (rot/Quadrat) sowie H^+LC (grün) für die entsprechenden O4+ (links) und O2 Isomere (rechts). (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [165]. Copyright (2014) American Chemical Society)

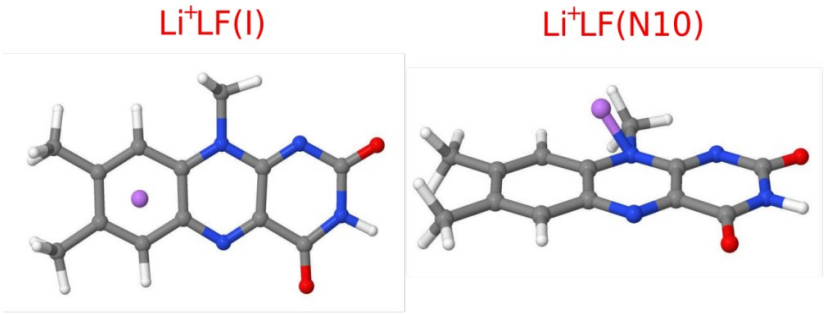

Abbildung C.8. Strukturen der I und N10 Isomere von Li⁺LF (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [166]. Copyright (2014) American Chemical Society)

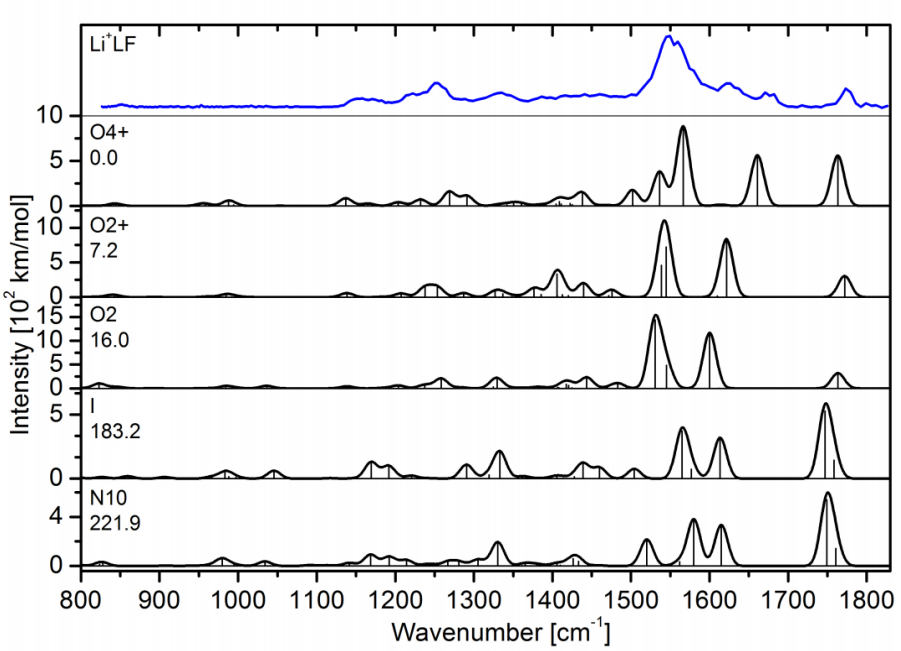

Abbildung C.9. IRMPD Spektrum von Li⁺LF im Vergleich zu den linearen Absorptionsspektren aller gefundenen stabilen Isomere (berechnet mit B3LYP/cc-pVDZ). Freie Energien im Bezug zum stabilsten Isomer sind in kJ/mol angegeben. (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [166]. Copyright (2014) American Chemical Society)

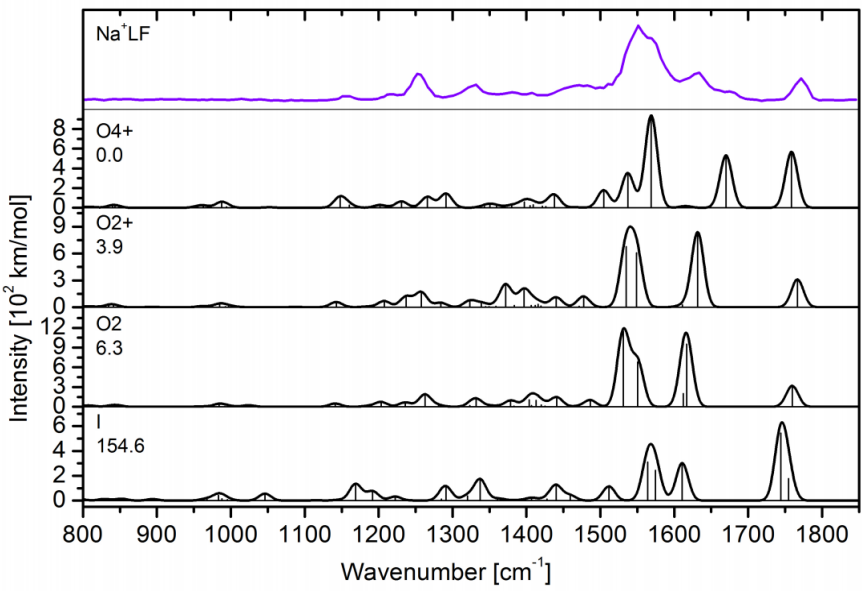

Abbildung C.10. IRMPD Spektrum von Na^+LF im Vergleich zu den linearen Absorptionsspektren aller gefundenen stabilen Isomere (berechnet mit B3LYP/cc-pVDZ). Freie Energien im Bezug zum stabilsten Isomer sind in kJ/mol angegeben. (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [166]. Copyright (2014) American Chemical Society)

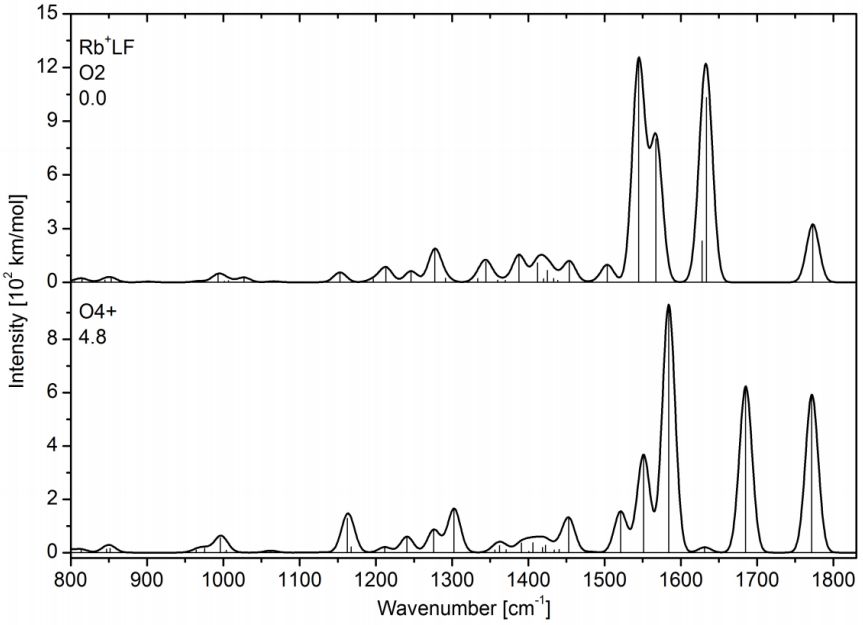

Abbildung C.11 Lineare Absorptionsspektren für Rb^+LF (berechnet mit B3LYP/cc-pVDZ). Freie Energien im Bezug zum stabilsten Isomer sind in kJ/mol angegeben. (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [166]. Copyright (2014) American Chemical Society)

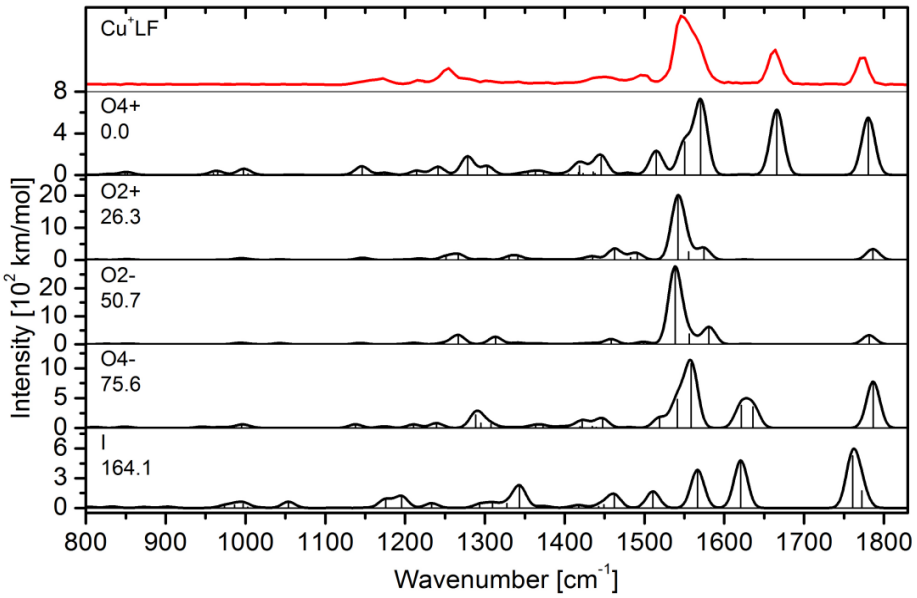

Abbildung C.12. IRMPD Spektrum von Cu^+LF im Vergleich zu den linearen Absorptionsspektren aller gefundenen stabilen Isomere (berechnet mit B3LYP/cc-pVDZ). Freie Energien im Bezug zum stabilsten Isomer sind in kJ/mol angegeben. (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [166]. Copyright (2014) American Chemical Society)

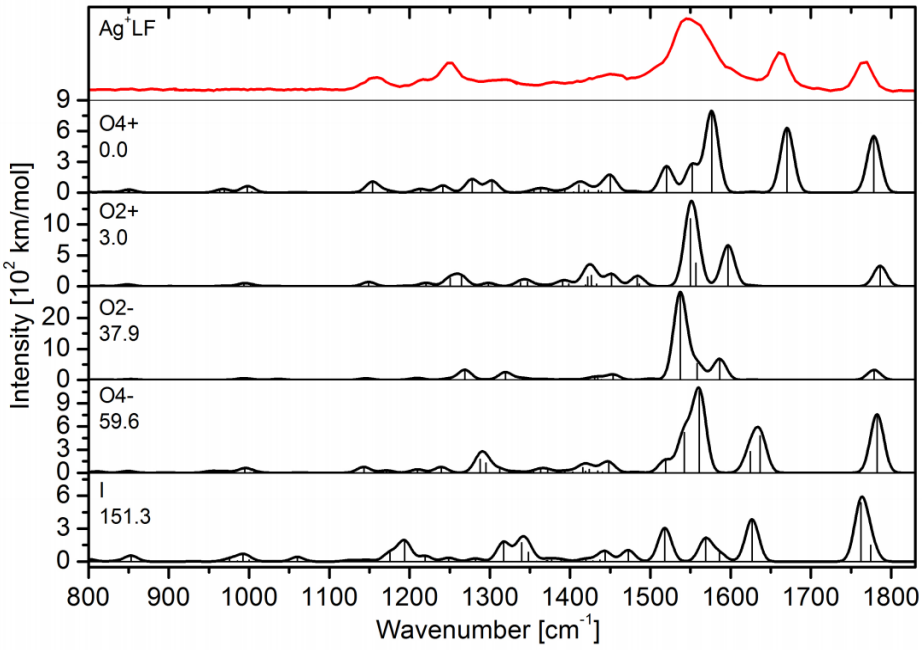

Abbildung C.13. IRMPD Spektrum von Ag^+LF im Vergleich zu den linearen Absorptionsspektren aller gefundenen stabilen Isomere (berechnet mit B3LYP/cc-pVDZ). Freie Energien im Bezug zum stabilsten Isomer sind in kJ/mol angegeben. (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [166]. Copyright (2014) American Chemical Society)

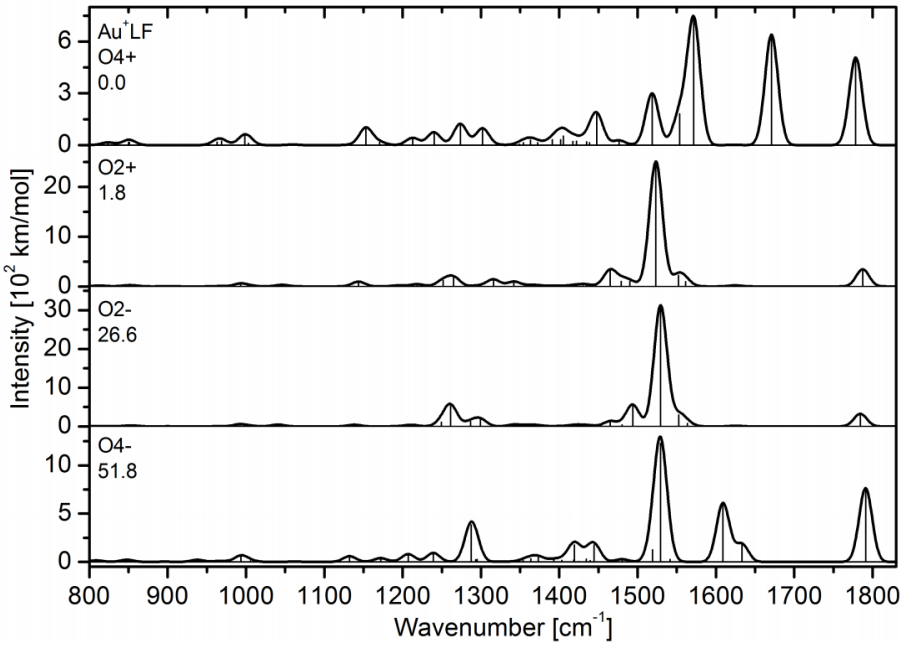

Abbildung C.14. Lineare Absorptionsspektren für Au^+LF (berechnet mit B3LYP/cc-pVDZ). Freie Energien im Bezug zum stabilsten Isomer sind in kJ/mol angegeben. (Nachdruck mit Erlaubnis von Referenz [166]. Copyright (2014) American Chemical Society)

Tabelle C-1. Fragmentionenkanäle, die bei der IRMPD von M^+LF entstehen.

	Massenkanal des Fragments [m/z]
Li^+LF	186, 192, 194
Na^+LF	23, 105, 108, 187
K^+LF	39, 113
Cs^+LF	133
Cu^+LF	276, 278
Ag^+LF	107,109,292,320,322

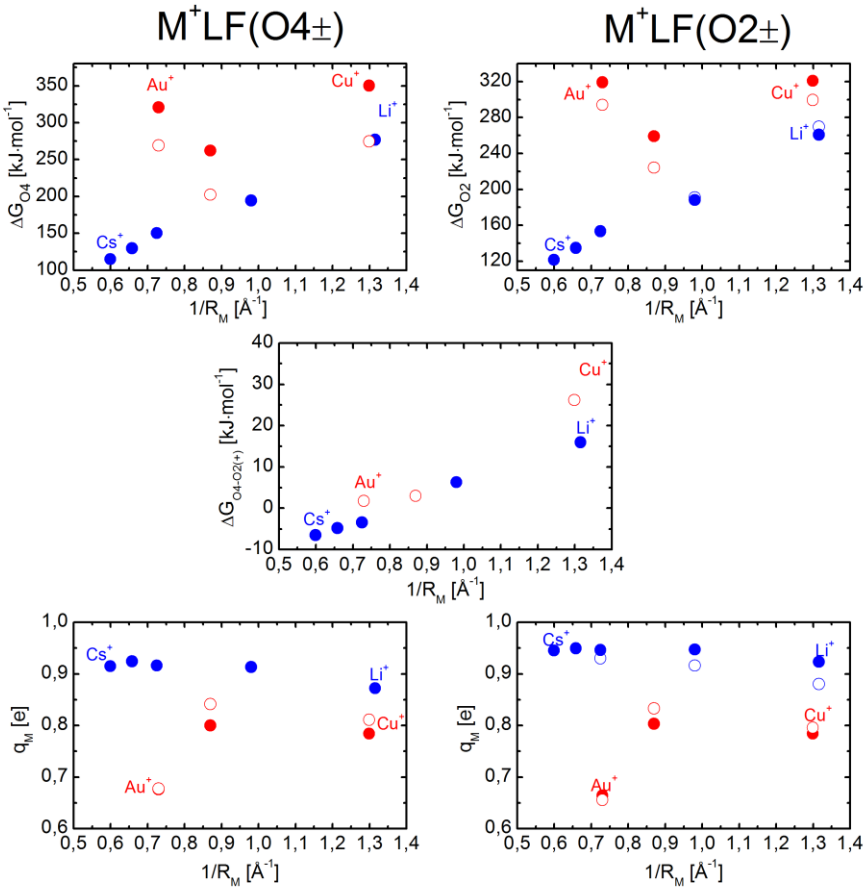

Abbildung C.15. Gibbs-Energie (oben) aufgetragen über den inversen Ionenradius für M^+LF mit M = Li–Cs (blaue Kreisfläche), Cu–Au (rote Kreisfläche) sowie deren Differenzen voneinander (rote Kreisfläche) für die entsprechenden O4+ (links) sowie O2+ Isomere (rechts). In der Mitte ist die Differenz der Gibbs-Energien zwischen den O2 und O4+ Isomeren aufgetragen. In den unteren Bildern ist die resultierende Ladung der Metallionen nach Bindung an LF dargestellt. Für alle Bilder gilt der gleiche Farbcode wie für die oberen beiden Bilder.

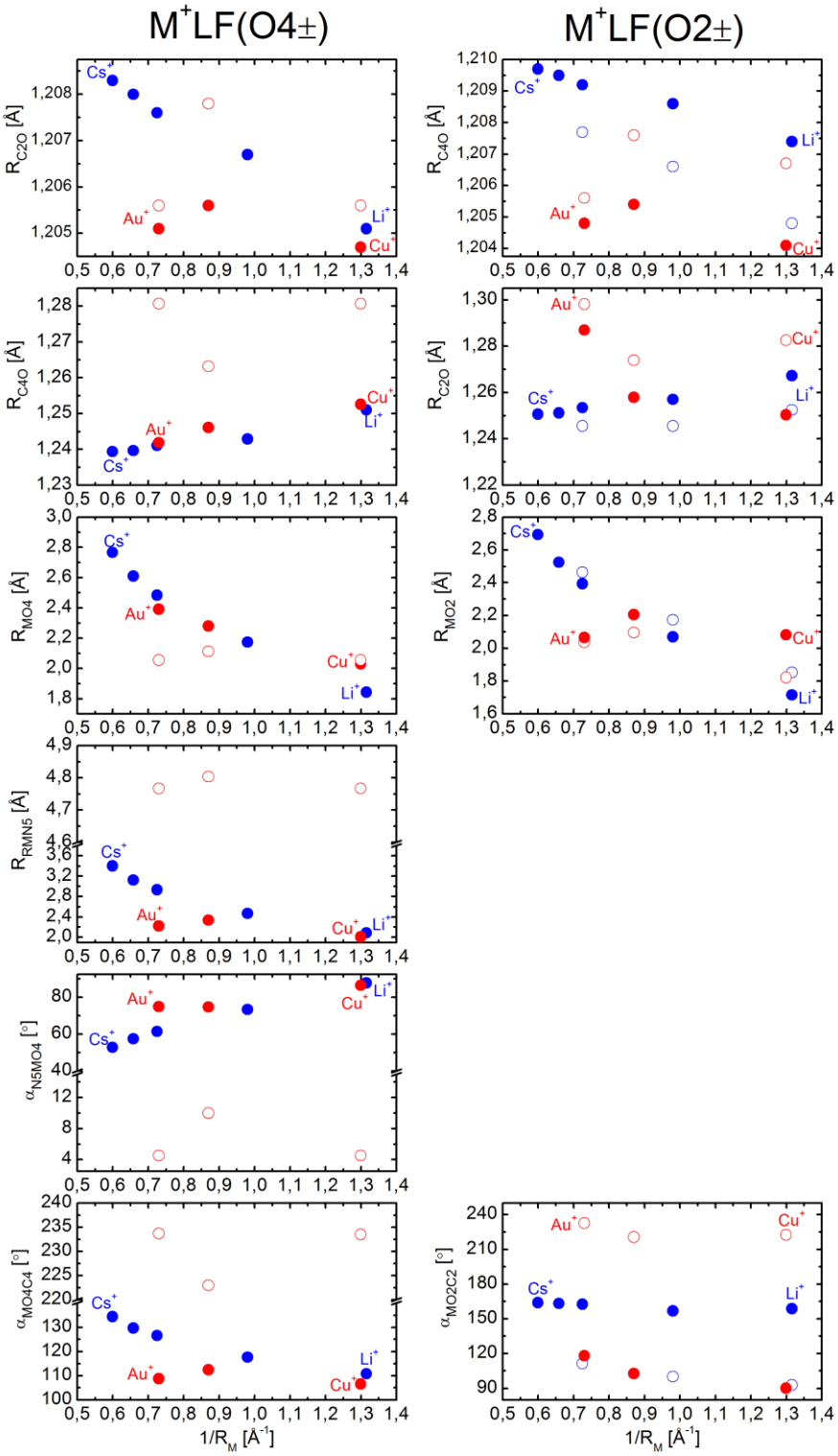

Abbildung C.16 Ausgesuchte Strukturparameter der O4± und O2± Isomere von M^+LF mit M = Li–Cs (blaue Kreise) und M = Cu–Au (rote Kreise) als Funktion des inversen Ionenradius des Metallions. Gefüllte (offene) Kreise stehen für Daten der O4+ und O2 (O2+) Isomere. Gefüllte (offene) rote Kreise entsprechen Daten der O4+ und O2+ (O4- und O2-) Isomeren.

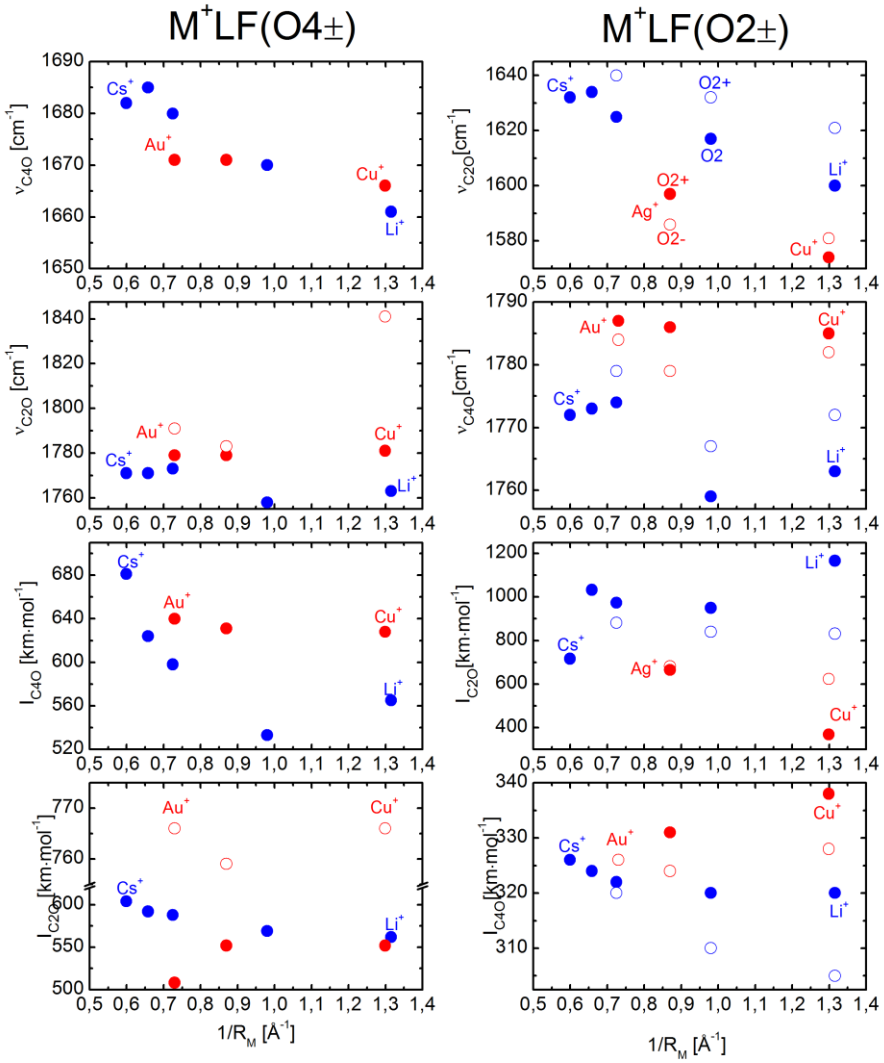

Abbildung C.17 Ausgesuchte Vibrationsparameter (C=O Streckschwingung) der O4± und O2± Isomere von M⁺LF mit M = Li–Cs (blaue Kreise) und M = Cu–Au (rote Kreise) als Funktion des inversen Ionenradius des Metallions. Gefüllte (offene) Kreise stehen für Daten der O4+ und O2 (O2+) Isomere. Gefüllte (offene) rote Kreise entsprechen Daten der O4+ und O2+ (O4- und O2-) Isomeren.

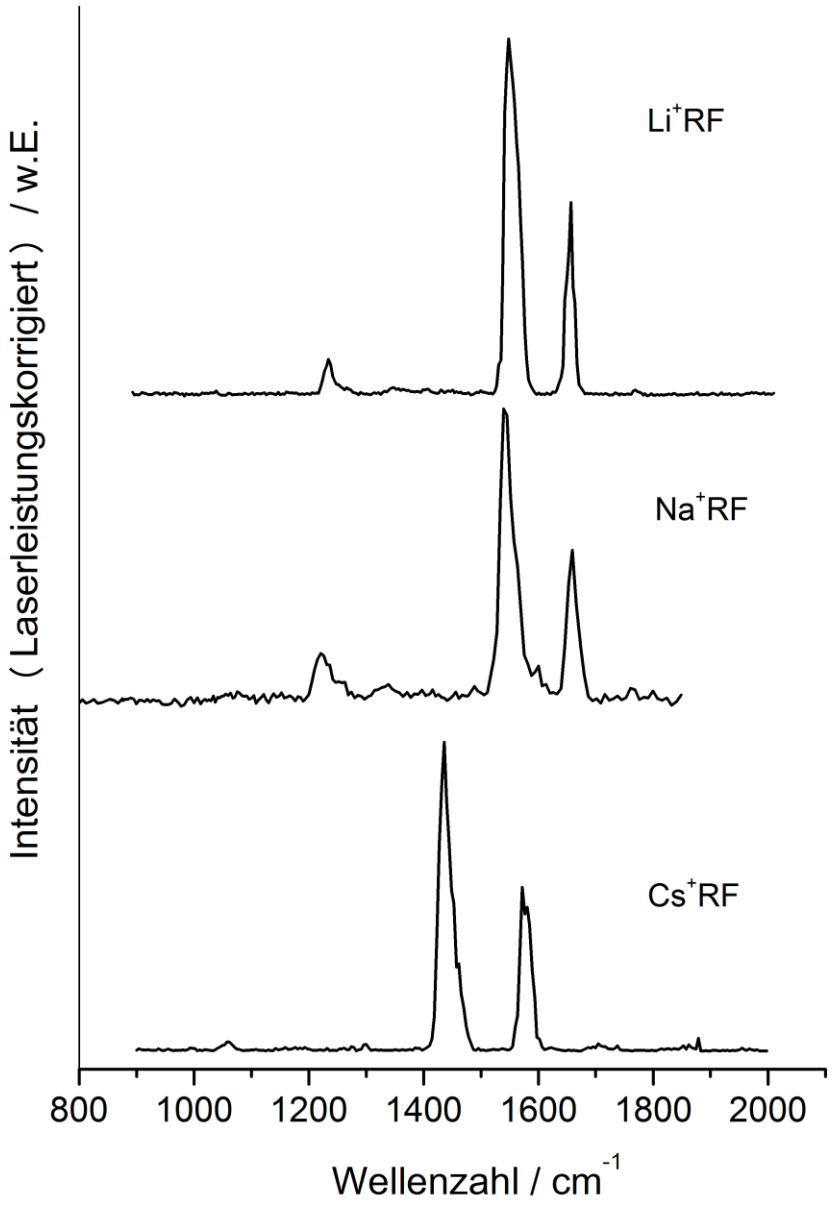

Abbildung C.18. Gemessene IRMPD Spektren für M^+RF mit M = Li, Na und Cs. Die Spektren für Cs^+RF und Li^+RF wurden bei CLIO gemessen, die von Na^+RF bei FELIX.

Anhang D

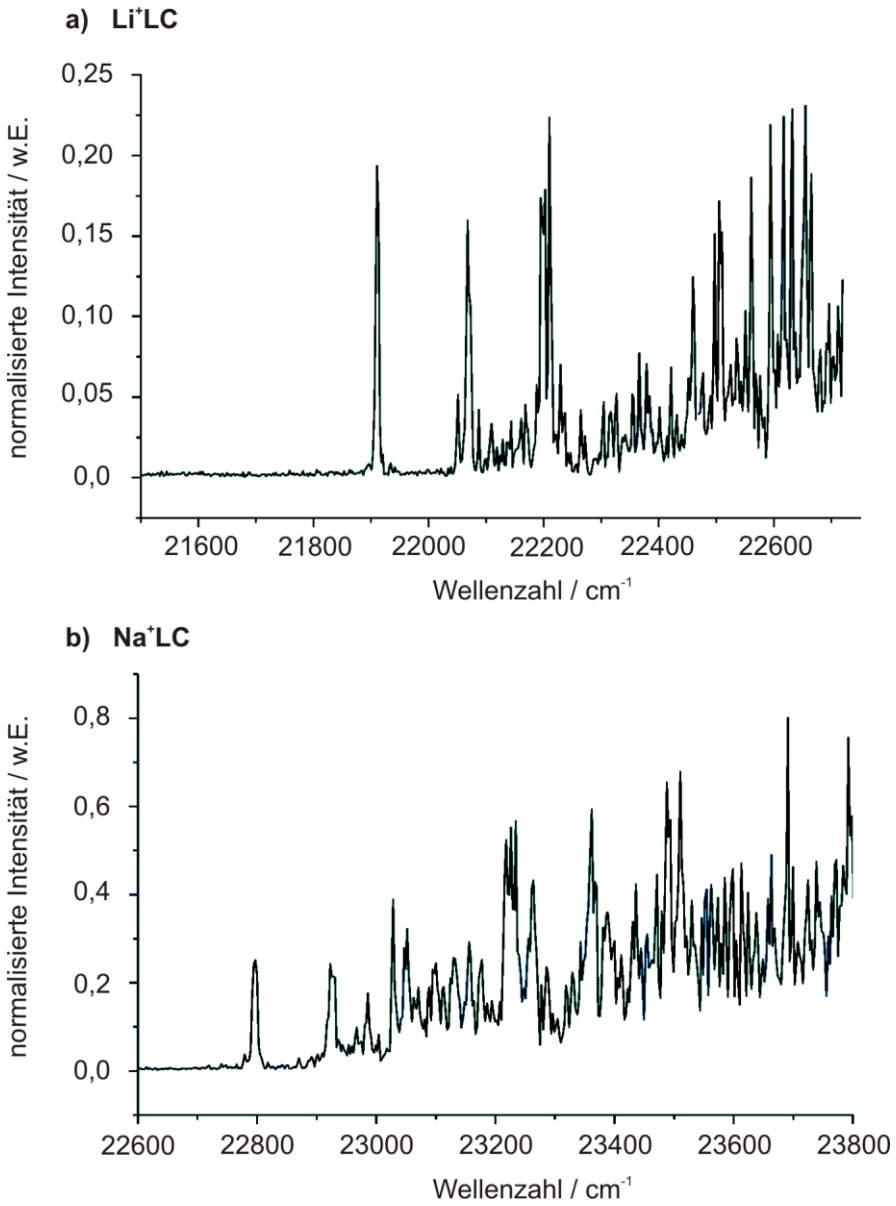

Abbildung D.1. VISPD Spektren von a) Li^+LC und b) Na^+LC aufgenommen bei einer 22-Pol Fallentemperatur von 25 K. Der Laserbeschuss erfolgte im ReTOFMS Beschleunigungsbereich.

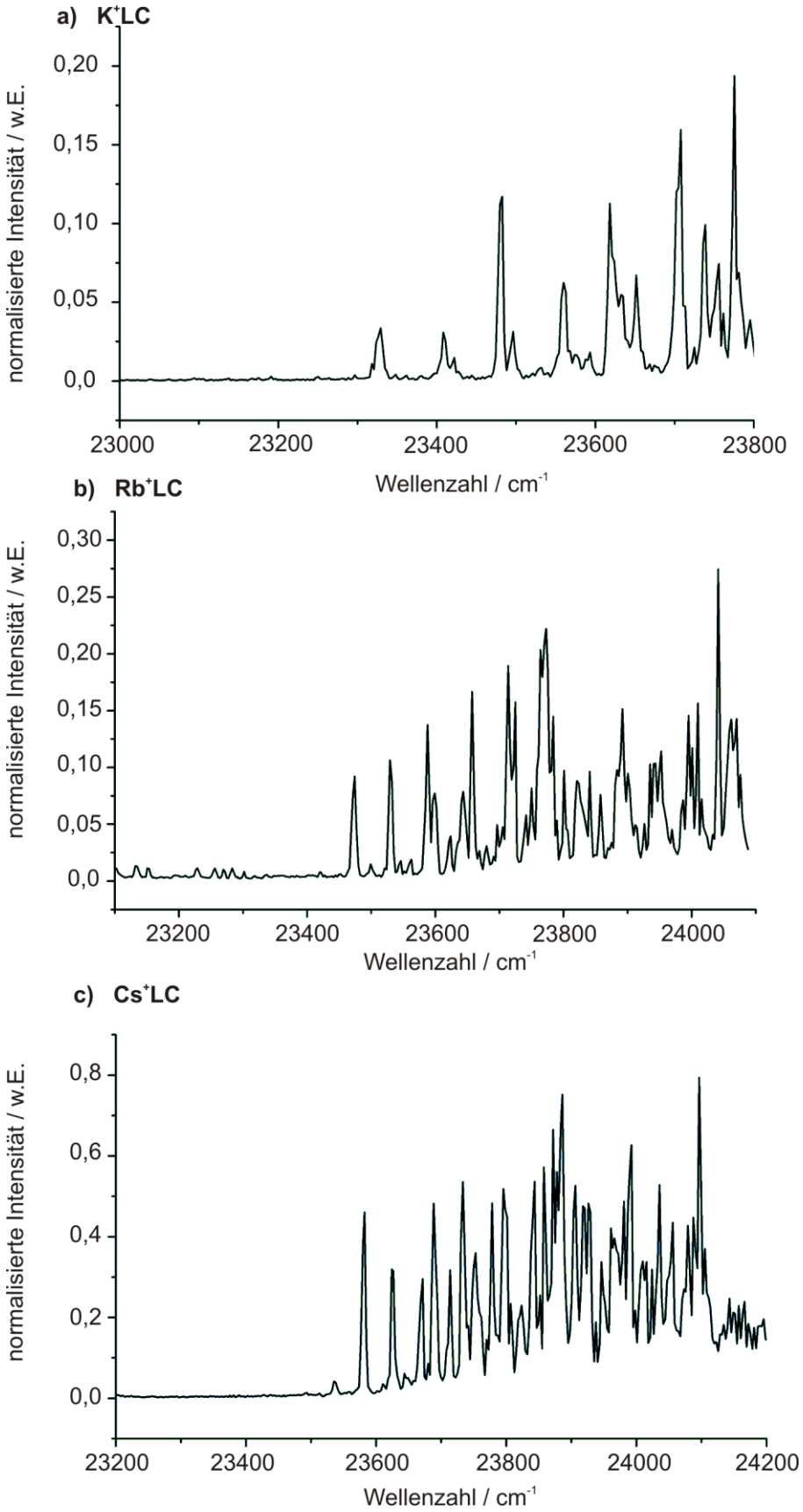

Abbildung D.2 UVPD. Spektren von a) K^+LC und b) Rb^+LC und c) Cs^+LC aufgenommen bei einer 22-Pol Fallentemperatur von 25 K. Der Laserbeschuss erfolgte im ReTOFMS Beschleunigungsbereich.

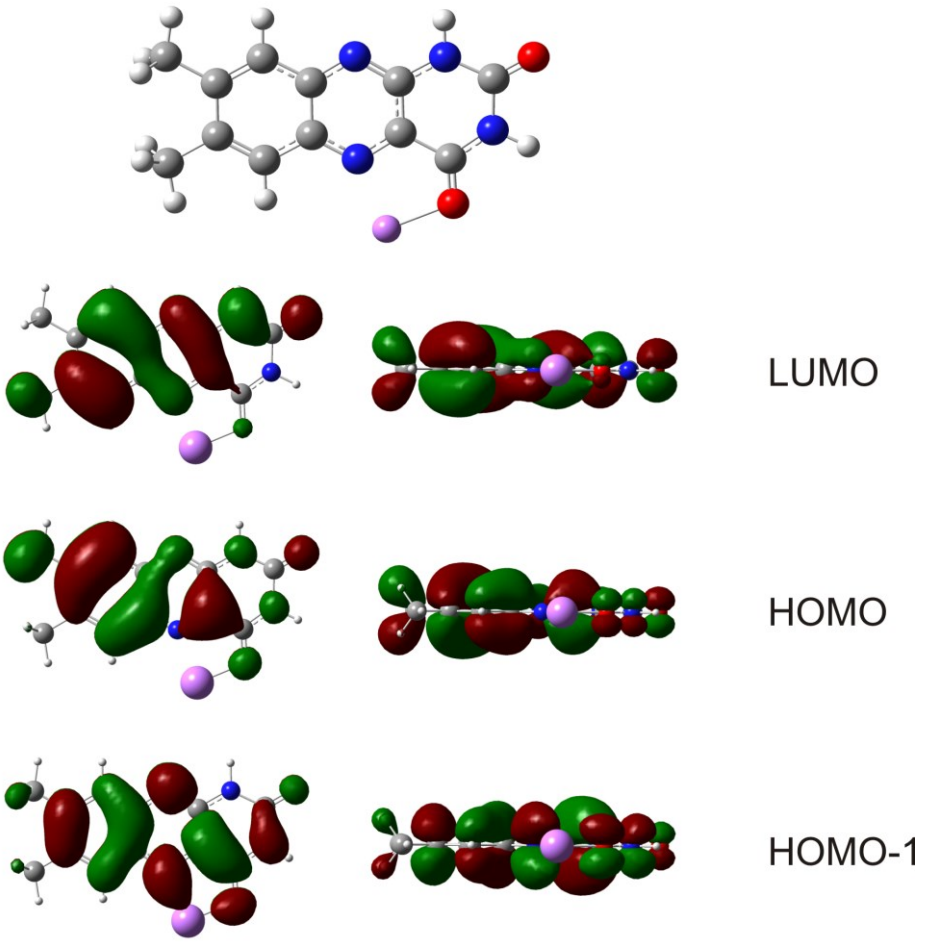

Abbildung D.3. Darstellung der Molekülorbitale des S_0 Zustandes die beim $S_1 \leftarrow S_0$ Übergang beteiligt sind. Zwischen den hier gezeigten π Orbitalen findet der elektronische Übergang durch eine $\pi - \pi^*$ Wechselwirkung angeregt wird.