

Chiroptische Untersuchungen des Photodetachments elektrogelagerter Anionen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktor der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg

Vorgelegt von
M. Sc. Peter Krüger
Aus Wetzlar

Marburg, 2021

Die vorliegende Dissertation wurde von November 2017 bis August 2021 am Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Karl-Michael Weitzel angefertigt.

Erstgutachter:	Prof. Dr. Karl-Michael Weitzel
Zweitgutachter:	Prof. Dr. Andreas Seubert
Einreichungstermin:	17.08.2021
Prüfungstermin:	30.09.2021
Hochschulkennziffer:	1180

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Theorie	9
2.1	Elektrosprayionisation	9
2.2	Flugzeitmassenspektrometrie	13
2.3	Laserstrahlung	18
2.3.1	Optische Übergänge im Nd:YAG	22
2.3.2	Nicht-lineare Optik	23
2.4	Ionenführung	27
2.4.1	Lineare Multipole	29
2.5	Photodetachment	32
2.6	Circulardichroismus	36
2.6.1	CD in Ionenausbeuten (PICD)	39
2.6.2	CD in Photoelektronen-Winkelverteilung (PECD)	41
3	Experimenteller Aufbau	47
3.1	Übersicht	47
3.2	Elektrosprayionsations-Flugzeitmassenspektrometer	48
3.2.1	Elektrosprayionisationsquelle	50
3.2.2	Ionenfalle und Ionentransferoptiken	52
3.2.3	Flugzeitmassenspektrometer	56
3.2.4	Elektronenabbildung	59
3.2.5	Zeitlicher Ablauf	61
3.2.6	Datenverarbeitung	64
3.3	ns-Laser	65
3.3.1	Polarisationsanalyse	70
3.4	Circulardichroismus-Messungen	72
3.4.1	Messroutine	72
3.4.2	Auswertung	74

3.5	Chemikalien	77
4	Ergebnisse und Diskussion	79
4.1	Charakterisierung des Chiralitätsspektrometers	79
4.1.1	Ionenflugzeitmassenspektrometer	80
4.1.2	Elektronenabbildung und -detektion	82
4.2	Charakterisierung der Ionenquelle	86
4.2.1	Ionenspeicherung	87
4.2.2	Ionentransfer	91
4.3	Laserinteraktion	97
4.3.1	Räumliche Überlagerung	99
4.3.2	Verzögerung zwischen Laserpuls und Feldextraktion	101
4.3.3	Pulsenergie-Abhängigkeit	102
4.4	Quantifizierung der Zirkularpolarisation	103
4.4.1	Rotation eines linearen Polarisators	105
4.4.2	Rotation eines zweiten Wellenplättchens	107
4.5	Chiroptische Untersuchungen von 3,4-Dihydroxyphenylalanin	109
4.5.1	Massenspektren	111
4.5.2	PICD in Ionenausbeuten	114
4.5.3	PICD in Elektronenausbeuten	119
4.5.4	PECD	124
4.5.5	Zusammenfassung	127
4.6	Chiroptische Untersuchungen von Glutaminsäure	128
4.6.1	Massenspektren	130
4.6.2	PICD in Ionenausbeuten	132
4.6.3	PICD in Elektronenausbeuten	139
4.6.4	PECD	144
4.6.5	Zusammenfassung	148
4.7	Chiroptische Untersuchungen von Gramacidin	150
4.7.1	Massenspektren	153
4.7.2	PECD für verschiedene Lösungsmittel	157
4.7.3	PECD von Cs-Adduktionen	161
4.7.4	PICD in Elektronenausbeuten	168
4.7.5	Zusammenfassung	171
5	Zusammenfassung	175

6	Summary	181
7	Ausblick	187
8	Anhang	191
8.1	SIMION-Simulationen	191
8.1.1	Ionentransfer	191
8.1.2	Lineares Flugzeitmassenspektrometer	192
8.1.3	Elektronenprojektion	193
8.2	Experimentelle Bedingungen	194
8.2.1	3,4-Dihydroxyphenylalanin	194
8.2.2	Glutaminsäure	198
8.2.3	Gramicidin	204
8.3	Multiphotonenexponenten	206
8.4	Detektor-Schaltpläne	208
9	Literatur	211

Abkürzungsverzeichnis

Im Folgenden sind die wichtigsten Abkürzungen, welche im Rahmen dieser Arbeit verwendet werden, aufgelistet.

ADC	Analog-Digital-Umsetzer (engl. <i>analog-to-digital converter</i>)
BG	Hintergrund (engl. <i>background</i>), hier: ESI-Signal ohne Lasereinwirkung
BWD	Rückwärts (engl. <i>backward</i>), hier: Entgegen der Laserausbreitungsrichtung
CD	Circulardichroismus
DEFL	Ablenkung (engl. <i>deflection</i>)
DIFF	Differenz, hier: Signalunterschied durch Lasereinwirkung
DOPA	3,4-Dihydroxyphenylalanin
ECD	Elektronischer Circulardichroismus (in Einphotonenabsorption)
ESI	Elektrosprayionisation
FWHM	Halbwertsbreite (engl. <i>full width at half maximum</i>)
FWD	Vorwärts (engl. <i>forward</i>), hier: Entlang der Laserausbreitungsrichtung
GLU	Glutaminsäure
GRA	Gramicidin D (natürliche Peptidmischung)
LCP	Links zirkulare Polarisation (engl. <i>left circular polarization</i>)
LIN	Lineare Polarisation
LP	Laserleistung (engl. <i>laser power</i>)
MCP	Mikrokanalplatte (engl. <i>micro channel plate</i>)
MD	Molekulardynamik
MS	Massenspektrometer bzw. Massenspektrometrie
NMR	Kernspinresonanz (engl. <i>nuclear magnetic resonance</i>)

PECD	Photoelektronen-Circulardichroismus
PICD	Photoionen-Circulardichroismus
QWP	Viertelwellenplättchen (engl. <i>quarter wave plate</i>)
RCB	Abstoßende COULOMB-Barriere (engl. <i>repulsive coulomb barrier</i>)
RCP	Rechts zirkulare Polarisierung (engl. <i>right circular polarization</i>)
REMPI	Resonanzverstärkte Multiphotonenionisation (engl. <i>resonance enhanced multiphoton ionization</i>)
RF	Radiofrequenz
SIG	Signal, hier: ESI-Signal nach Lasereinwirkung
SUM	Summe, hier: Raumintegriertes Signal (FWD + BWD)
TDC	Zeit-Digital-Wandler (engl. <i>time-to-digital converter</i>)
TOF	Flugzeit (engl. <i>time of flight</i>)
UV	Ultraviolett

1 Einleitung

Objekte, deren Spiegelbilder nicht zur Deckung gebracht werden können, werden als chiral bezeichnet. Chiralität manifestiert sich auf molekularer Ebene in Form sogenannter Enantiomere. Abgesehen von der Paritätsverletzung in der schwachen Wechselwirkung, welche lediglich minimale Energiedifferenzen zur Folge hat,^[1] weisen diese Stereoisomere in achiraler Umgebung gleiche chemische und physikalische Eigenschaften auf.

Hingegen kann in chiraler Umgebung, wie beispielsweise dem menschlichen Körper, unterschiedliches Verhalten spiegelbildlicher Moleküle beobachtet werden. So riecht beispielsweise S-Carvon nach Kümmel, während R-Carvon den Duft von grüner Minze aufweist.^[2] Die unterschiedliche Bioaktivität dieser und anderer Enantiomere ist eine Folge der Homochiralität, dem Vorkommen von chiralen Naturstoffen wie Aminosäuren und Zuckern in einer präferierten absoluten Konfiguration.^[3]

Da ebenfalls Unterschiede in Pharmakologie, Toxikologie, Pharmakokinetik und Metabolismus auftreten können, ist die Chiralität molekularer Systeme in Pharmazie und Medizin von besonderer Bedeutung.^[4-6] Als Beispiele seien an dieser Stelle die Wirkstoffe Ibuprofen und Ketamin angeführt. Im Falle des Schmerzmittels Ibuprofen ist das S-Enantiomer (Eutomer) deutlich potenter als die R-Form (Distomer).^[6] Im Allgemeinen wird aus Kostengründen dennoch das Racemat verabreicht, da keine Nachteile festzustellen sind. Diese Beobachtung ist jedoch keineswegs allgemeingültig. Immer wieder sind gesonderte Nebenwirkungen eines Enantiomers festzustellen.^[6] Beispielsweise im Falle des Anästhetikums Ketamin wird toxisches Verhalten des Distomers (R-Ketamin) in Form von Halluzinationen und Unruhen beobachtet.^[6]

Welchen Einfluss die unterschiedliche Bioaktivität von Enantiomeren im Kontext der Fortschritte im Bereich asymmetrischer Synthesen auf den pharmazeutischen Markt haben, ist in der folgenden Abbildung 1.0.1 illustriert. Es ist die absolute Anzahl der in Deutschland zugelassenen Wirkstoffe aufgeschlüsselt nach Chiralität (blau vs. grün) bzw. Enantiomerenreinheit monochiraler Stoffe (rot vs. schwarz) dargestellt. Während das Verhältnis von chiralen und achiralen Substanzen keine nennenswerte Veränderung zeigt, ist in den letzten Jahren ein deutlicher Anstieg des Anteils enantiomerenrein vermarkte-

ter Arzneistoffe zu beobachten. Enantiosensitive Analysemethoden gewinnen folglich an Wichtigkeit, um die Reinheit respektive den Enantiomerenüberschuss von entsprechenden Arzneien zu charakterisieren.

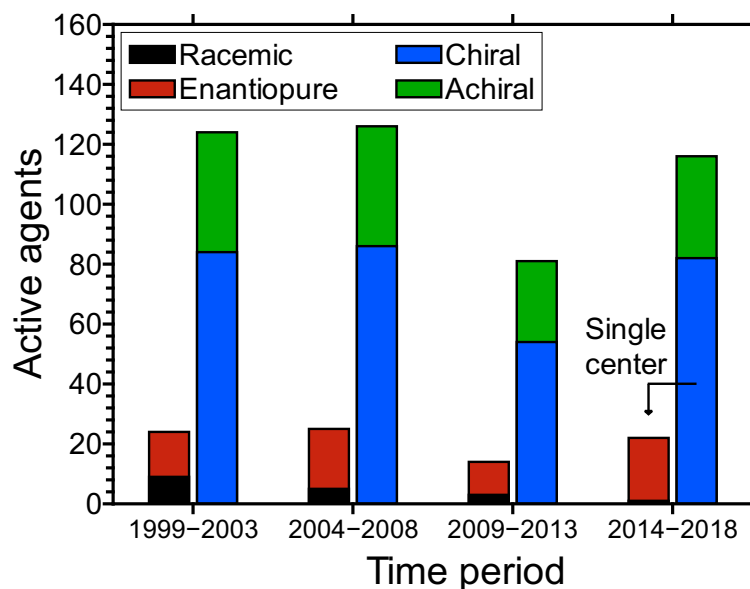


Abbildung 1.0.1: Anzahl der in den angegebenen Zeiträumen zugelassenen achiralen (grün) und chiralen Wirkstoffe (blau) neben der Teilmenge von monochiralen Arzneistoffen, welche in racemischer (schwarz) oder enantiomerenreiner Form (rot) auf den Markt gebracht wurden. Die dargestellten Zahlenwerte wurden Referenz [7] entnommen. Monoklonale Antikörper, größere funktionelle Peptide und polymere Arzneistoffe sind nicht berücksichtigt.

Die analytische Differenzierung von Enantiomeren erfolgt durch die Erzeugung einer geeigneten chiralen Umgebung. Eine Möglichkeit ist die Bildung von diastereomeren Strukturen durch Derivatisierung oder Anlagerung von geeigneten chiralen Substanzen. Diastereomere können aufgrund ihrer unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften mit konventionellen Methoden wie der NMR-Spektroskopie^[8] oder Massenspektrometrie^[9] unterschieden werden.

Das Prinzip diastereomerer Wechselwirkungen wird auch in der chiralen Chromatographie genutzt.^[10,11] Hier kann eine Trennung von Enantiomeren durch chirale Additive in der mobilen Phase, eine Derivatisierung oder die Nutzung einer chiralen Festphase herbeigeführt werden.^[12]

Die absolute Konfiguration eines chiralen Analyten kann mittels Röntgenbeugung von Kristallen^[13] oder in der Gasphase via *Cold Target Recoil Momentum Spectroscopy*

(COLTRIMS) bestimmt werden.^[14,15]

Um die Notwendigkeit der Auswahl eines geeigneten chiralen Hilfsstoffes zur Differenzierung über die Bildung von Diastomeren zu überwinden, können optische Methoden genutzt werden. Neben der *Optical Rotatory Dispersion* (ORD),^[16] also der wellenlängenabhängigen Drehung der Polarisationssebene eingestrahlten Lichts, und der *Raman Optical Activity*,^[17] welche durch die unterschiedliche Streuung zirkular polarisierten Lichts zustande kommt, wird vor allem der Circular dichroismus (CD) für diese Zwecke genutzt.^[18] Die differentielle Absorption von links (LCP) und rechts zirkular polarisiertem Licht (RCP) kann zur quali- und quantitativen Unterscheidung von Enantiomeren sowie zur strukturellen Charakterisierung genutzt werden.^[18] Der CD, gewöhnlich gemessen in der Einphotonenanregung elektronischer Zustände (ECD) oder von Schwingungszuständen (VCD),^[18] wird als Standardtechnik zur Bestimmung der Sekundärstruktur von Proteinen in Lösung verwendet.^[19,20]

In Ergänzung zu diesen Standardmethodiken sind in den letzten Jahren weitere neue Techniken entwickelt worden. Es wurde gezeigt, dass die *High Harmonic Generation* enantiosensitiv gestaltet werden kann und somit beispielsweise die Verfolgung von Dynamiken in chiralen Substanzen gestattet.^[21-23] Ebenso kann ein anderer nicht-linearer Prozess, die Dreiwellen-Mischung im Mikrowellen-Regime, zur Chiralitätsanalyse verwendet werden.^[24,25]

Im Fokus medizinischer, pharmazeutischer und lebensmittelchemischer Fragestellungen stehen häufig keine Reinsubstanzen, sondern Gemische. Daher besteht der Anspruch einer gewissen Selektivität an enantiosensitive Analysemethoden, um aufwendige Trennverfahren zu vermeiden. Die durch breite Banden limitierte Selektivität der konventionellen CD-Spektroskopie hat zur Entwicklung weiterer chiroptischer Methoden geführt. Im Rahmen der Laserionisation mit zirkular polarisiertem Licht können Anisotropien der Ionenausbeuten bei unterschiedlicher Helizität nachgewiesen werden. Der sogenannte Circular dichroismus in Ionenausbeuten (PICD) wurde zuerst in der resonanz-verstärkten Multiphotonenionisation (REMPI) mit ns-Laserpulsen demonstriert.^[26-28] Die Kopplung der CD-Methodik mit der Massenspektrometrie (MS) erlaubt einen Informationsgewinn über die chemische Zusammensetzung und Händigkeit einer Probe. Ein Überblick über die massenselektive Chiralitätsanalyse bietet der Artikel von BOESL et al. [29].

In der AG WEITZEL wurde die PICD-Methodik zum ersten Mal in den Bereich ultrakurzer Laserpulse erweitert.^[30] Einflüsse der Pulsdauer^[31] und nicht-resonanter Anregungsschemata wurden untersucht.^[32,33] Die Unterscheidung von Enantiomeren mittels fs-Laserionisations-Massenspektrometrie konnte an einer Reihe kleiner organischer Mo-

leküle demonstriert werden.^[34] Quantenmechanische Studien zum Circular dichroismus in REMPI-Prozessen wurden von D. KRÖNER durchgeführt.^[35-37]

Zur Kompensation systematischer Messfehler durch apparative Asymmetrien können achirale Referenzsubstanzen^[38] und oder die sogenannte *Twin-Peak*-Methode genutzt werden.^[39,40] Durch Kühlung der Analytmoleküle in einem Überschallstrahl kann der PICD schwingungsaufgelöst betrachtet werden.^[41]

Kürzlich wurden neue Ansätze zur Verstärkung des PICD-Effektes im Rahmen der Rekollision des bei der Photoionisation emittierten Elektrons^[42] sowie durch Orientierung des Analyten beschrieben.^[43]

Nicht nur in totalen Ausbeuten eines Photoionisationsvorgangs, sondern auch in der Winkelverteilung von Photoelektronen können chirale Informationen enthalten sein. Asymmetrien in der Photoelektronen-Winkelverteilung entlang der Laserausbreitungsrichtung bei der Ionisation von zufällig orientierten chiralen Molekülen mit zirkular polarisiertem Licht wurden bereits 1976 von RITCHIE prognostiziert.^[44] In der Einphotonenionisation der beiden Enantiomere des 3-Bromocamphors mittels Vakuumultraviolettstrahlung (VUV) konnte der sogenannte Photoelektronen-Circular dichroismus (PECD) zum ersten Mal experimentell nachgewiesen werden.^[45] Später wurde der PECD dann auch in der Multiphotonenionisation mit Femtosekundenlasern^[46,47] und Nanosekundenlasern^[48,49] beobachtet. Auch bei der Nutzung starker Laserfelder, d. h. im Rahmen der Tunnelionisation und *Above threshold ionization* (ATI) können entsprechende Asymmetrien in der Photoelektronen-Winkelverteilung erfasst werden.^[50-52]

PECD und PICD basieren auf unterschiedlichen physikalischen Effekten und liefern daher komplementäre Informationen. Kürzlich wurde zum ersten Mal die koinzidente Messung der beiden chiroptischen Observablen an den Enantiomeren des 2-Methyloxirans demonstriert.^[53] Die gleichzeitige Erfassung von PECD und PICD verspricht den Gewinn zusätzlicher Informationen, welcher zur zuverlässigeren Unterscheidung von Enantiomeren dienen kann.^[53]

Der PECD ist nicht nur abhängig vom Ausgangsorbital eines Elektrons,^[54] sondern wird auch durch die Konformation^[55-62] und Schwingungen^[63-67] des zurückbleibenden Teilchens bestimmt. Die besondere Strukturempfindlichkeit resultiert aus einer Streuung des Photoelektrons im chiralen Molekülpotential.^[68] Weiterhin ist der PECD abhängig von der Polarisationsellipse des verwendeten Lichts.^[69-71] Durch eine schnelle, kontinuierliche Variation der Elliptizität können Messungen des Enantiomerenüberschusses in Echtzeit erfolgen.^[70] Im Rahmen von *pump-probe*-Experimenten sind zudem hohe Zeitaufösungen erzielbar und Dynamiken können verfolgt werden.^[72]

Für die quantenmechanische Berechnung des PECD in der Einphotonen- sowie Multiphotonenionisation wurden verschiedene Ansätze ausgearbeitet.^[73-79]

Die Anisotropie in der Photoelektronen-Winkelverteilung kann deutlich höhere Werte annehmen als der konventionelle Einphotonenabsorptions-Circulardichroismus.^[80] Dies erlaubt die Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen mit einer hohen Empfindlichkeit (< 1 %).^[81] Durch die Messung der Photoelektronen-Winkelverteilung in Koinzidenz mit entstehenden Ionen, sogenanntes *mass-tagging*, kann eine Massenauflösung des PECD erzielt werden.^[47] Somit ist auch die Analyse von Mixturen unterschiedlicher Enantiomerenpaare möglich.^[82]

Meist wird der PECD durch die Abbildung der Elektronen auf einen ortsauflösenden Detektor bestimmt,^[83] jedoch existieren auch einfachere, günstigere Alternativen.^[69]

Bis zum Zeitpunkt des Beginns dieser Arbeit waren PICD und PECD hinsichtlich ihres Anwendungsbereiches durch die verwendeten Probenzufuhrsysteme deutlich limitiert. Die chiroptischen Methoden erfordern das Vorliegen der Analyten in der Gasphase. Mit den üblicherweise genutzten effusiven Einlässen und Molekularstrahlen können nur hinreichend volatile Moleküle in die Gasphase transferiert werden.

Abhilfe von dieser Limitierung bietet die Elektrosprayionisation (ESI), welche von J. B. FENN entwickelt wurde.^[84-86] Mit Hilfe dieser Methode kann ein breites Spektrum von Analyten intakt in die Gasphase überführt sowie ionisiert werden. Die ESI-Methode ist von großer Bedeutung in der Protein-Massenspektrometrie.^[87-89] Durch den ausgesprochen sanften Charakter können sogar nicht-kovalente Komplexe^[90,91] untersucht werden und es besteht eine Korrelation der Gasphasenstruktur bzw. dem resultierenden Ladungszustand mit der Konformation in Lösung.^[92-95]

Außerdem bietet die Nutzung einer ESI-Quelle die Möglichkeit einer Kopplung mit Flüssigchromatographie-Verfahren.^[96] Daher findet die ESI-MS-Technik auch klinische Anwendung z. B. in der strukturellen Untersuchung und Quantifizierung von Metaboliten in komplexen biologischen Proben.^[97] Hier wäre eine Erschließung bzw. Erweiterung der chiralen Informationsebene interessant, um beispielsweise pharmakokinetische Untersuchungen der Racemisierung chiraler Wirkstoffe zu ermöglichen. Die ESI-Technik kommt auch in oberflächenempfindlichen bzw. bildgebenden Verfahren wie der *Desorption electrospray ionization* (DESI)^[98] und *Laser electrospray mass spectrometry* (LEMS)^[99] zum Einsatz. Hier wäre über die Kopplung mit der PICD- oder PECD-Technik die Erstellung enantiomeren-aufgelöster chemischer Karten möglich.

ESI-Quellen werden bereits an verschiedenen Stellen mit optischen, meist laserbasierten Methoden kombiniert. Im Rahmen der UV-Photodissoziation (UVPD) und der

Elektronen-Photodetachment-Dissoziation (EPD) werden elektrosprayte Analytiken in Tandem-MS-Experimenten zur Strukturaufklärung fragmentiert.^[100–102] Auch in der Photoelektronenspektroskopie (PES) kommen ESI-Quellen zur Bereitstellung von Präkursoranionen vielerorts zum Einsatz.^[103–106]

Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist die Erweiterung des Analytspektrums der leistungsfähigen chiroptischen Methoden PICD und PECD. Im Fokus stehen dabei Chiralitätsuntersuchungen an nicht-volatilen Analyten wie z. B. Aminosäuren, Wirkstoffen und Biopolymeren. Zur Überführung dieser Moleküle mit vernachlässigbarem Dampfdruck in die Gasphase ist eine ESI-Quelle geeignet. Diese galt es im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit mit einem neu entwickelten Chiralitätsspektrometer zu koppeln, welches die Bestimmung des PICD und PECD erlaubt. Durch die Aufladung der Analyten im ESI-Prozess werden im Gegensatz zur klassischen Herangehensweise ionische Präkursorpezies für die Laserinteraktion bereitgestellt. Die Nutzung von Anionen als Vorläufer für chiroptische Experimente verspricht zusätzliche Vorteile. Die energetische Schwelle für den Austritt eines Elektrons aus einem Anion liegt im Allgemeinen deutlich niedriger als für neutrale oder gar kationische Spezies und kann in der Regel durch einzelne UV-Photonen überwunden werden. Die Nutzung eines Einphotonenübergangs in den Kontinuumsbereich hat zur Folge, dass im Gegensatz zum REMPI-Schema keine scharfen Resonanzbedingungen erfüllt werden müssen. Dies verspricht eine allgemeine Anwendbarkeit der Methodik auf verschiedene Substanzklassen – auch in Mischungen. Gleichzeitig werden Abhängigkeiten von Zwischenzuständen und damit verbundene Ausrichtungseffekte eliminiert.^[77,107–110] Ein weiterer Vorteil ist die Reduzierung technischer Anforderungen an Lichtquellen, da vergleichsweise geringe Intensitäten und Photonenenergien benötigt werden. Außerdem ist für Präkursorionen im Gegensatz zu neutralen Analyten eine vorgelagerte Massenselektion realisierbar.

Die Messung des PICD im Photodetachment von mittels ESI erzeugten deprotonierten DNA-Anionen^[111] sowie in der Photodissoziation von protoniertem Phenylalanin^[112] wurde im letzten Jahr demonstriert. Im Rahmen dieser Arbeit wird nun die zentrale Frage beantwortet, ob der PECD im Rahmen eines Photodetachments von Anionen bestimmt werden kann und welche Unterschiede gegebenenfalls zum PICD-Ansatz bestehen. Daran schließen sich weitere Fragestellungen an, welche die Abhängigkeiten des PECD von verschiedenen Präkursorereigenschaften betreffen. Von besonderem Interesse ist dabei die Bestätigung einer Strukturempfindlichkeit des PECD-Effektes für Anionen. Diese würde Untersuchungen von Sekundär- und Tertiärstrukturen biologischer Makromoleküle in der Gasphase sowie deren Änderung in Faltungsprozessen erlauben.

2 Theorie

In diesem Kapitel sollen theoretische Grundlagen, welche in dieser Arbeit von besonderer Relevanz sind, dargelegt werden. Zunächst werden die verwendeten Standardmethodiken der Elektrosprayionisation und Flugzeitmassenspektrometrie beschrieben. Anschließend folgen Erläuterungen zur Erzeugung von Laserstrahlung sowie zur Führung von Ionen. Dann wird der im Rahmen dieser Arbeit betrachtete Photodetachment-Prozess diskutiert und abschließend wird auf den Circular dichroismus in Ionenausbeuten und Photoelektronen-Winkelverteilungen eingegangen, welcher im Fokus der vorliegenden Studien steht.

2.1 Elektrosprayionisation

Die Elektrosprayionisation (ESI) ist eine heutzutage weitverbreitete Methode zur sanften Ionisation und Verdampfung schwerflüchtiger Moleküle. Sie wurde ursprünglich von M. DOLE entdeckt.^[113] Für die Weiterentwicklung und Etablierung der Technik zur Analyse biologischer Makromoleküle erhielt J. FENN im Jahre 2002 den Chemie-Nobelpreis.^[84–86] Das ESI-Funktionsprinzip ist schematisch in Abbildung 2.1.1 illustriert. Der Vorgang kann in mehrere Schritte unterteilt werden: Zunächst erfolgt die Bildung geladener Tröpfchen (1). Anschließend kommt es zur Verkleinerung der Tropfen durch Lösungsmitteilverdampfung (2), gefolgt von COULOMB-Explosionen (3) bis schließlich Ionen freigesetzt werden (4). Im Folgenden werden die genannten Prozessteile nun detailliert erläutert. Eine gering konzentrierte Analytlösung (typischerweise zwischen 10^{-3} mol/L und 10^{-7} mol/L)^[114] wird durch eine unter Hochspannung stehende Kapillare geleitet. Die Polarität der angelegten Spannung bzw. das resultierende elektrische Feld bestimmen dabei den Ladungszustand der zu erzeugenden Ionen. Als Lösungsmittel kommen meist polare Lösungsmittel, wie beispielsweise Methanol, Wasser oder Acetonitril beziehungsweise deren Gemische, zum Einsatz.^[114] Häufig werden Flussraten zwischen 3 μ L/min und 20 μ L/min verwendet. Der Arbeitsbereich kann jedoch in beide Richtungen erweitert werden.^[115] Durch hohe Feldstärken im Bereich der Kapillarenspitze (ca. 10^6 V/m)^[114] kommt es zur Ladungsumverteilung in der Lösung. Ladungsträ-

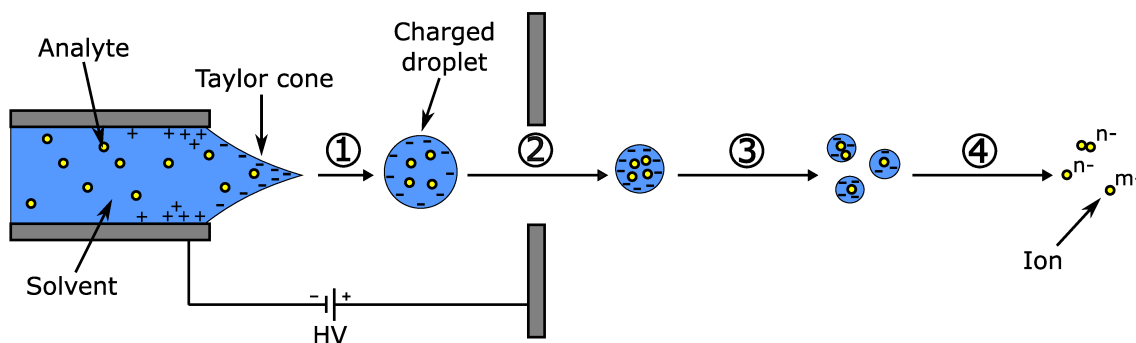


Abbildung 2.1.1: Schematische Darstellung des ESI-Prinzips im negativen Modus: (1) Emission von geladenen Tröpfchen, (2) Verdunstung von Lösungsmittel bis zum RAYLEIGH-Limit, (3) COULOMB-Explosionen und (4) Ionenfreisetzung.

ger einer Polarität reichern sich an der Oberfläche an. Durch das Gleichgewicht von elektrostatischen Kräften und der Oberflächenspannung bildet sich ein sogenannter Taylorkonus aus.^[116] Bei ausreichender Feldstärke kommt es zur abstoßungsbedingten Destabilisierung der Konusspitze und damit zur Jet-Emission. Das entstehende Flüssigfilament zerfällt allerdings bereits nach kurzer Distanz in kleine Tropfen.^[117] Bei sehr hohen elektrischen Feldern können mehrere emittierende Spitzen auftreten, dies wird als Multispray bezeichnet.^[118] Die Tröpfchen im gebildeten Aerosol tragen einen Ladungsüberschuss. Der Elektrospray-Ionisation liegt demzufolge ein elektrophoretischer Mechanismus zu Grunde.^[119,120] Lediglich bei sehr hohen Spannungen können durch elektrische Entladungen weitere Ladungsträger gebildet werden. Dies ist jedoch im Allgemeinen unerwünscht. Typische Spray-Ströme liegen zwischen $0.1 \mu\text{A}$ und $1 \mu\text{A}$.^[121] Bedingt durch die Ladungserhaltung müssen in Abhängigkeit der Polarität gleichzeitig auch Oxidations- oder Reduktionsreaktionen von Solvent, Analyten, Verunreinigungen oder Metall (abhängig von den involvierten Redox-Potentialen) an der ESI-Kapillare stattfinden.^[122–124] Der Einfluss derartiger elektrochemischer Prozesse auf die relativen Häufigkeiten und Identität von Ionen im ESI-Massenspektrum wird kontrovers in der Literatur diskutiert, im Regelfall aber als gering eingeschätzt.^[125] Der Elektrosprayprozess wird meist durch Inertgas hinsichtlich Verneblung und Trocknung unterstützt. Dies erlaubt die Verwendung höherer Flussraten und Lösungsmittel mit höherer Oberflächenspannung.^[126,127]

Das geladene Aerosol besteht aus näherungsweise monodispersen Tropfen. Die Tropfengröße hängt von den jeweiligen Spraybedingungen (wie Flussrate und Spannung)^[128,129] sowie dem Jet-Durchmesser^[117] ab und liegt üblicherweise im Bereich von $1 \mu\text{m}$ bis

40 μm .^[114,130] Ein Tropfen kann dabei mehrere Millionen Elementarladungen tragen.^[130] Verdunstet das Lösungsmittel, so steigt die Ladungsdichte bis schließlich das RAYLEIGH-Limit^[131] (Gleichung 2.1.1) erreicht wird.

$$Q_R = 8 \cdot \pi \sqrt{\epsilon_0 \gamma r_R^3} \quad (2.1.1)$$

Bei Q_R handelt es sich um die RAYLEIGH-Ladung, ϵ_0 ist die elektrische Feldkonstante, γ die Oberflächenspannung des Solvents und r_R stellt den entsprechenden Tropfenradius dar. Übersteigt die elektrische Abstoßung der Ladungsträger an der Tropfenoberfläche die Oberflächenspannung, erfolgt eine COULOMB-Explosion bzw. -Spaltung des Tropfens. Die Spaltung erfolgt dabei hauptsächlich ungleichmäßig, wie in Abbildung 2.1.2 schematisch gezeigt.^[128–130,132,133]

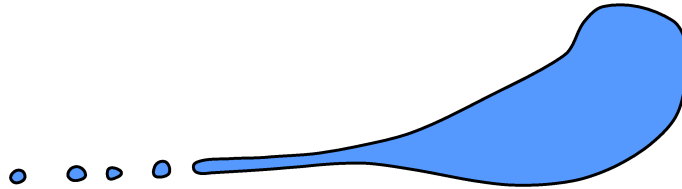


Abbildung 2.1.2: Schematische Darstellung einer ungleichmäßigen COULOMB-Spaltung eines geladenen Tropfens. Der Tropfen verformt sich und bildet einen Vorsatz, aus welchem ein Strahl von kleinen Nachkommen-Tröpfchen emittiert wird. Es handelt sich um eine Rekonstruktion der Fotografie des Prozesses von GOMEZ und TANG [128].

Erzeugte Tropfen sind nicht zu jedem Zeitpunkt ideal sphärisch, sondern schwingen zwischen oblater und prolater Form. Zudem wirken gleichzeitig Scherkräfte durch die atmosphärische Umgebung.^[121,127] Somit kann es durch Verformungen bereits vor dem RAYLEIGH-Limit zum Zerreißen des Tropfens kommen, wenn aufgrund von Krümmungen eine nicht-homogene Ladungsverteilung auf der Oberfläche entsteht.^[121] Dann erfolgt eine Emission von etlichen kleineren Nachkommen-Tropfen in einem Strahl ähnlich zum Taylorkonus.^[134] Die Lebenszeit eines Tropfens bewegt sich gewöhnlich auf der ms-Zeitskala.^[121] Die Nachkommen-Tröpfchen tragen nur wenige Prozent der Ausgangsmasse, enthalten mit 15 % bis 25 % jedoch einen großen Teil der Ladung des Vorläufer-Tröpfchens und sind daher die relevanten Vorläufer für die Ionenbildung.^[114] Der Prozess der Lösungsmittelverdampfung gefolgt von einer COULOMB-Spaltung wiederholt sich bis schließlich ein Nanotropfen entsteht, aus welchem Ionen freigesetzt werden können. Für den Mechanismus der Ionenfreisetzung existieren zwei Modelle:

1. *Charge Residue Model* (CRM) nach M. DOLE et al.: Das Lösungsmittel aus einem Nanotropfen ($r \approx 1$ nm) mit einem Analytmolekül verdampft vollständig, sodass nur Überschussladung und Molekül übrig bleiben.^[113,135]
2. *Ion Evaporation Model* (IEM) nach J. V. IRIBARNE und B. A. THOMSON: In kleinen Tröpfchen ($r < 10$ nm) entstehen hohe elektrische Feldstärken, sodass die direkte Emission von Ionen (in Konkurrenz zur COULOMB-Spaltung) möglich ist.^[136,137]

Es existieren experimentelle Indizien für beide Modelle.^[138] Für Makromoleküle wie beispielsweise Proteine wird im Allgemeinen eine Bildung nach dem CRM erwartet. Dies hat die theoretisch vorhergesagte und experimentell nachgewiesene Korrelation von molekularer Masse M und mittlerem Ladungszustand $Z_{\text{avg}} = a \cdot M^{0.5}$ für globuläre Proteine bzw. die Abhängigkeit des Ladungszustandes von der Analytmoleküloberfläche gezeigt.^[139–142] Für kleinere anorganische und organische Ionen hingegen ist das IEM als relevanter Mechanismus experimentell untermauert und durch Simulationen weiter bestärkt worden.^[143–147]

Das IEM beruht ursprünglich auf der Theorie des Übergangszustandes (engl. *transition state theory*, TST). Es wird ein später Übergangszustand betrachtet, welcher aus der langreichweitigen elektrostatischen Abstoßung mit anderen Oberflächenladungen und der kurzreichweitigen Anziehung durch die Polarisierbarkeit des Tropfens resultiert. Die Aktivierungsenergie hängt von der Ladungsträgerzahl und dem Radius des Tropfens sowie den involvierten Ionen ab.

Im Folgenden sollen abschließend einige Charakteristika von ESI-Massenspektren diskutiert werden. Ein herausragendes Merkmal dieser Ionisationstechnik ist der geringe Fragmentationsgrad. Sogar nicht-kovalente Bindungen können beim ESI-Prozess erhalten bleiben.^[91] Der elektrophoretische Ladungsmechanismus führt dazu, dass fast ausschließlich intakte Ionenaddukte (z. B. mit Na^+) und protonierte bzw. deprotonierte Spezies (Quasimolekülonen) beobachtet werden.^[127,148] Radikationen konnten nur in Einzelfällen bei Analyten mit sehr geringen Ionisationsenergien nachgewiesen werden.^[127]

Um den Aufladungs- bzw. Ionisationsprozess zu unterstützen, werden häufig saure oder basische Analytlösungen verwendet bzw. geringe Mengen von Salzen hinzugegeben. Es sei jedoch an dieser Stelle hervorgehoben, dass die in der Gasphase beobachtete Ladungsverteilung keineswegs streng mit der Ladungsverteilung in Lösung verknüpft ist.^[149–152] Durch die Möglichkeit hochgeladene Ionen zu erzeugen, werden mittels ESI auch bei sehr schweren Analyten vergleichsweise kleine m/z -Verhältnisse beobachtet. Dies hat den

Vorteil, dass weitverbreitete Separationsverfahren wie die Quadrupol-Analyse nutzbar sind. Zudem kann aufgrund der Ladungszustandsverteilung durch eine mathematische Entfaltung die Masse mit besserer Genauigkeit bestimmt werden.^[153–155] Ein weiterer Vorteil der ESI-Methodik ist, dass die Technik besonders einfach mit Flüssigkeitschromatographie gekoppelt werden kann, da die Probenzufuhr in Lösung erfolgt.^[127] Allerdings erfordert der Fakt, dass es sich bei ESI um eine Atmosphären-Technik handelt, die Überführung ins Vakuum zur Massenanalyse mittels mehrere differentieller Pumpstufen. Die ESI-Methodik kann, neben der bereits genannten Quadrupolmassenspektrometrie, auch mit Fourier-Transform-Ionenzyklotronresonanz-^[156], Ionenfallen-^[157] und Flugzeitmassenspektrometrie^[158] gekoppelt werden.

Für die quantitative Auswertung der Ionenausbeuten im Hinblick auf die Zusammensetzung der Analytlösung müssen Besonderheiten wie Einflüsse durch Oberflächenaktivitäten und damit verbundene Sättigungseffekte beachtet werden.^[127,150,159] Die Ionenintensität im Massenspektrum hängt von der Analytionen-Struktur, Solvent-Zusammensetzung sowie verwendeten Additiven ab.^[127]

Im Laufe der Zeit sind verschiedene weitere Varianten der Elektrosprayionisation entstanden. An dieser Stelle seien dabei das *Nanoelectrospray*^[160,161] und die *Desorption Electrospray Ionisation*^[98] als besonders wichtige Vertreter genannt.

2.2 Flugzeitmassenspektrometrie

Die Flugzeitmassenspektrometrie ist eine analytische Methode zur Bestimmung von Ionenhäufigkeiten in Abhängigkeit von Masse und Ladungszustand. Sie zeichnet sich durch hohe erzielbare Massenauflösungen und -genauigkeiten bei guter Sensitivität aus.^[162] Es handelt sich um eine diskontinuierliche Separationstechnik mit vergleichsweise geringer Messzeit. Daher ist unter anderem eine Kombination mit gepulsten Laserionisationsquellen interessant. Die Flugzeitmassenspektrometrie ist jedoch auch mit kontinuierlichen Ionenquellen kompatibel.^[163] Theoretisch besteht kein oberes Massenlimit für diese Art der Massentrennung, daher ist sie für die Analyse von mittels ESI erzeugten, schweren Ionen geeignet. Die genannten Charakteristika in Kombination mit einem vergleichsweise einfachen Aufbau haben zu einer weiten Verbreitung der Flugzeitmassenspektrometrie beigetragen.^[164]

Historisch wurde die Flugzeitmassenspektrometrie bereits in den 40er-Jahren durch STEPHENS begründet.^[165] Die anfangs recht begrenzte Massenauflösung konnte im Laufe der Zeit durch die Einführung von Raum- und Zeitverzögerungsfokussierung nach WILEY

und MCLAREN^[166] sowie die Erweiterung um Ionen-Reflektoren durch Mamyrin^[167] erheblich gesteigert werden. Der Durchbruch der Technik erfolgte dann mit der zunehmenden Verfügbarkeit schneller Elektronik für Datenaufzeichnung und -verarbeitung.^[164]

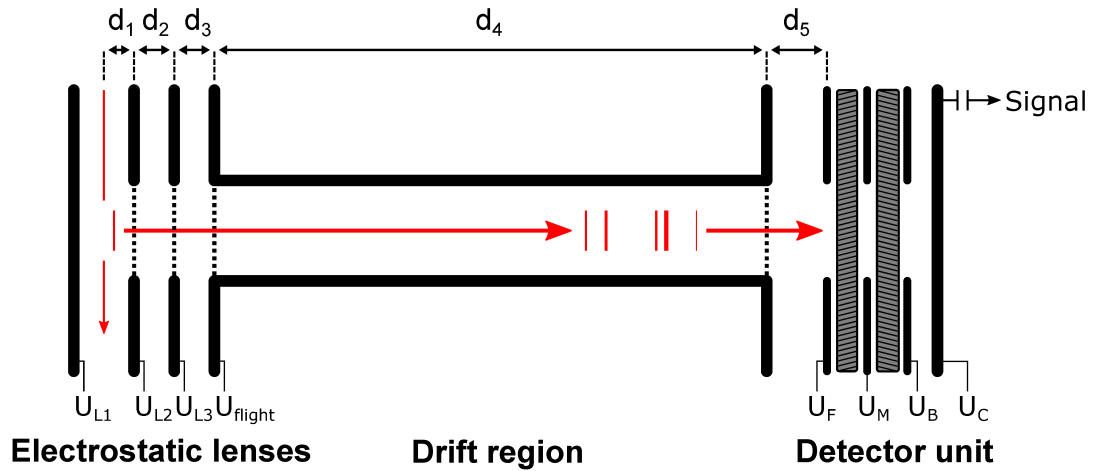


Abbildung 2.2.1: Schematische Darstellung eines dreistufigen linearen Flugzeitmassenspektrometers (TOF-MS) bestehend aus elektrostatischen Linsen, Driftstrecke und Detektoreinheit mit den Distanzen d_i und Spannungen U_j . In Rot ist die Separation eines Ionenpaketes illustriert und Netze sind gepunktet dargestellt.

Der schematische Aufbau eines linearen Flugzeitmassenspektrometers (engl. *time of flight mass spectrometer*, TOF-MS) ist in Abbildung 2.2.1 gezeigt. Ionen werden im Massenspektrometer zwischen zwei elektrostatischen Linsen erzeugt oder aus einer externen Ionenquelle dorthin geleitet (links in Abb. 2.2.1). Durch ein elektrisches Feld zwischen diesen Linsen werden die zu analysierenden Ionen in eine definierte Richtung ausgelenkt. In dem auch im Rahmen dieser Arbeit relevanten Fall der Zufuhr von extern erzeugten Ladungsträgern wird dieses sogenannte Extraktionsfeld gepulst. Im Anschluss erfolgt eine zusätzliche Beschleunigung in weiteren elektrischen Feldern, bevor die Ionen schließlich auf eine feldfreie Driftstrecke eintreten. Es kommt zur zeitlichen und räumlichen Separation der Ionen entsprechend ihres Masse-zu-Ladungsverhältnisses, da gleichgeladene Teilchen (unter Vernachlässigung von initialen Geschwindigkeiten und unterschiedlichen Startpositionen) zwar die gleiche kinetische Energie erhalten, aber aufgrund ihrer verschiedenen Massen ebenfalls unterschiedliche Geschwindigkeiten besitzen. Dieser Zusammenhang wird mit Hilfe der Flugzeitgleichung 2.2.1 quantitativ beschrieben.^[168]

$$\text{TOF}_k = \frac{v_1 - u_0}{a_1} + \sum_{i=2}^k \frac{v_i - v_{i-1}}{a_i} + \frac{d_{k+1}}{v_k} \quad (2.2.1)$$

Die Gesamtflugzeit TOF_k eines Ions mit der Masse m , der Ladung q und der initialen Geschwindigkeit u_0 (entlang der Flugachse) in einem k -stufigen TOF-MS hängt von den Beschleunigungen a_i (Gl. 2.2.3) in den elektrischen Feldern der Stärke E_i , den Geschwindigkeiten v_i (Gl. 2.2.2) nach dem i -ten Feld, sowie den geometrischen Dimensionen d_i ab.^[168]

$$v_i = \sqrt{u_0^2 + \sum_{j=1}^i 2a_j d_j} \quad (2.2.2)$$

$$a_i = \frac{qE_i}{m} \quad (2.2.3)$$

Die Auflösung eines Massenspektrometers gibt an, welchen Massenunterschied Ionen minimal aufweisen können, um im entsprechenden Gerät getrennt zu werden, und ist daher ein essenzielles Charakteristikum. Es existieren verschiedene Definitionen. Im Rahmen dieser Arbeit wird sich dem Halbwertsbreiten-Formalismus bedient. Das Auflösungsvermögen R_{FWHM} wird dabei aus den Peakbreiten im Massenspektrum bzw. Flugzeitspektrum bei halber Peakamplitude gemäß Gleichung 2.2.4 bestimmt.^[163,164]

$$R_{\text{FWHM}} = \frac{m}{\Delta m} = \frac{\text{TOF}}{2 \cdot \Delta \text{TOF}_{\text{FWHM}}} \quad (2.2.4)$$

Durch die Verteilung von Startort, -zeit und -geschwindigkeit der zu analysierenden Ionen wird die erzielbare Auflösung eines TOF-MS begrenzt.^[169] Mittels verschiedener Maßnahmen können die genannten Einflüsse jedoch kompensiert oder zumindest minimiert werden. So kann der Einfluss unterschiedlicher Erzeugungszeitpunkte gleicher Ionen beispielsweise durch Pulsen des Extraktionsfeldes behoben werden. Im Falle der Laserionisation hilft die Verwendung von kürzeren Laserpulsen. Hinsichtlich der zeitlichen Unsicherheit ist zudem eine hinreichend schnelle Detektorantwort wichtig.

Einer Limitierung der Auflösung durch Startpositionsverteilungen kann durch die Verwendung kleiner Extraktionsfelder entgegengewirkt werden, da auf diese Weise nur geringe Energieunterschiede durch die räumliche Verteilung entstehen. Idealerweise wird sich jedoch der sogenannten Raumfokussierung bedient, um die Abhängigkeit von der anfänglichen Position der Ionen zu eliminieren.^[168] In der Raumfokus-Ebene holen die Ionen, welche weiter vom Detektor entfernt gestartet sind und daher eine höhere kinetische Energie durch das Extraktionsfeld erhalten haben, die Ionen ein, welche näher am Detektor gestartet sind. Bei einer geeigneten Wahl der Verhältnisse zwischen den elektrischen Feldstärken im TOF-MS kann der Raumfokus auf der Detektorebene zum Liegen kommen. Die für einen Raumfokus n -ter Ordnung notwendigen Bedingungen sind

erfüllt, wenn alle Ableitungen der Flugzeitgleichung nach dem Startort bis zur n -ten Ableitung null sind. Abbildung 2.2.2 zeigt den Einfluss der Startposition auf die Flugzeit bei verschiedenen Ordnungen des Raumfokus. Es ist erkenntlich, dass der Einfluss der Startposition auf die Flugzeit durch die Raumfokussierung drastisch reduziert werden kann.

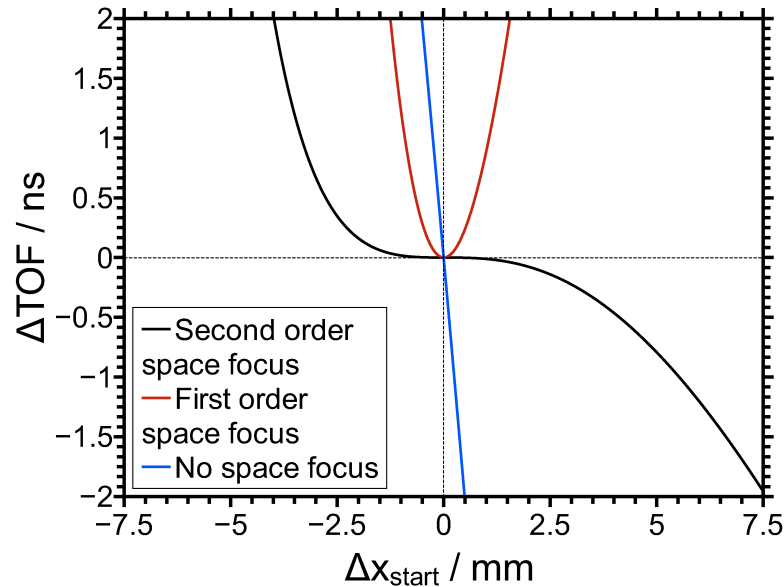


Abbildung 2.2.2: Variation der Flugzeit ΔTOF in Abhängigkeit der Startposition Δx_{start} ohne Raumfokus sowie für einen Raumfokus erster und zweiter Ordnung. Die Berechnungen der Raumfokus-Bedingungen wurden am Beispiel eines dreistufigen TOF-MS mittels MathCAD anhand Gleichung 2.2.1 und den folgenden Abmessungen durchgeführt: $d_1 = 7.5$ mm, $d_2 = 7.5$ mm, $d_3 = 14.5$ mm und $d_4 = 360$ mm.

Die Auflösung eines linearen TOF-MS ist unter Beachtung der soeben diskutierten Maßnahmen letztendlich meist durch die Verteilung der initialen Geschwindigkeiten von Ionen auf der Flugachse fundamental begrenzt.^[164] Es ist möglich diese Verteilung sehr schmal zu halten, z. B. durch die Verwendung eines orthogonalen, effusiven Molekularstrahls oder Überschallstrahls.^[170] Durch die Nutzung betragsmäßig hoher Extraktionsfelder kann der relative Einfluss ungewollter Startenergien, z. B. durch Raumladungseffekte oder aus Fragmentierungsprozessen, ebenfalls reduziert werden. Letzteres führt jedoch zu kleinen Gesamtflugzeiten und steht im Widerspruch zu den kleinen Feldern, welche zur Kompensation räumlicher Einflüsse benötigt werden.^[164]

Weitere Effekte, welche sich auf die Auflösung negativ auswirken können, sind z. B. eine Streuung an Metallgittern, welche die einzelnen Sektionen des TOF-MS separieren, eine

Ablenkung durch Feldinhomogenitäten sowie eine Divergenz des Ionenstrahls auf dem Weg zum Detektor.^[162,164]

Die zeitaufgelöste Detektion der nach dem Masse-zu-Ladungsverhältnissen (m/z) getrennten Ionen erfolgt meist mit Hilfe von Sekundärelektronenvervielfachern wie z. B. Mikrokanalplatten (engl. *Micro Channel Plates*, MCP), welche die geringen Ströme der Primärteilchen verstärken. Die resultierenden elektrischen Signale werden dann durch entsprechend schnelle *Time-to-Digital-Converter* (TDC) oder *Analog-to-Digital-Converter* (ADC) aufgezeichnet.^[163] Die Verwendung des sogenannten Ionenzählens, durch die Kombination von *Constant Fraction Discriminators* (CFD) mit TDC-Messgeräten, erlaubt die Aufzeichnung von rauschfreien Massenspektren auch bei geringen Ionenzahlen ohne Einfluss der Detektorantwortfunktion. Der dynamische Bereich der Technik ist jedoch hinsichtlich größerer Ionenmengen klar begrenzt, da nur ein Event pro Zeiteinheit erfasst werden kann. Im Bereich größerer Ionenströme kommen daher schnelle Digitizer-Messkarten zum Einsatz.^[163]

Die Kombination von Flugzeitanalysatoren mit kontinuierlichen Ionenquellen, wie beispielsweise ESI-Quellen, erfolgt typischerweise in orthogonaler Geometrie.^[171,172] Durch eine Trennung der Massenanalyse-Achse von der Ionenquellen-Achse sind die Geschwindigkeitskomponenten in den jeweiligen Richtungen unabhängig voneinander. Dies erlaubt reproduzierbare Massenkalkulationen und hohe Auflösungen bei wenig divergenten Ionenstrahlen.^[172] Letztere können z. B. durch die sogenannte Kollisions-Fokussierung in vorgelagerten Multipolen erzeugt werden.^[173]

Entsprechend dem Verhältnis der Geschwindigkeiten v_i bzw. kinetischen Energien $E_{\text{kin},i}$ auf der TOF- und Ionenstrahl-Achse kommt es zu einer Neigung der beobachteten Flugbahn. Der Winkel der Trajektorie kann durch Gleichung 2.2.5 abgeschätzt werden.^[172]

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{v_{\text{tof}}}{v_{\text{beam}}} \right) = \tan^{-1} \left(\sqrt{\frac{E_{\text{kin,tof}}}{E_{\text{kin,beam}}}} \right) \quad (2.2.5)$$

Unter Umständen kann eine bauliche Berücksichtigung oder eine Kompensation durch elektrische Querfelder notwendig sein.^[174] Erste ESI-TOF-Massenspektrometer wurden bereits in den 90er-Jahren entwickelt.^[175,176] Heute findet die Kombination der Elektrosprayionisation mit Flugzeitmassenspektrometrie in verschiedensten kommerziellen Geräten Anwendung.

2.3 Laserstrahlung

Laserlicht ist eine Klasse elektromagnetischer Strahlung, welche sich besonders durch räumliche Kohärenz und somit hohe erzielbare Intensitäten auszeichnet. Zudem kann Laserstrahlung – unter Beachtung der Unschärfe von spektraler Bandbreite und Pulslänge – hochgradig monochromatisch und folglich auch zeitlich kohärent sein.^[177]

Ein Laser besteht, wie in Abbildung 2.3.1(a) dargestellt, im Allgemeinen aus mindestens drei Komponenten: Dem aktiven Medium, einer Pump-Quelle sowie dem durch Spiegel aufgebauten Resonator, auch optische Kavität genannt.

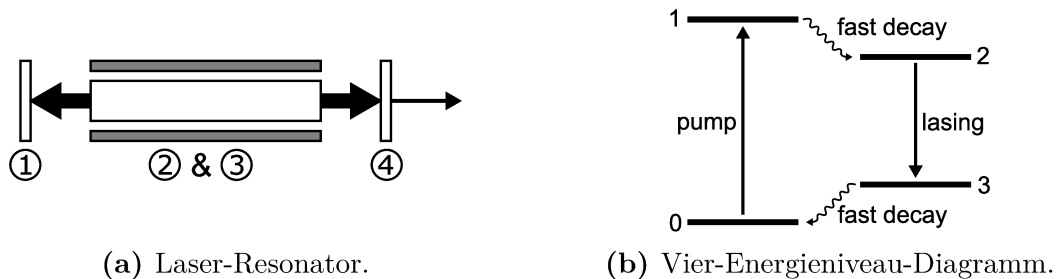


Abbildung 2.3.1: Allgemeiner Aufbau eines Resonators mit aktivem Medium (2), Pump-Quelle (3), Spiegeln (1) und (4) sowie exemplarisches Vier-Energieniveau-Diagramm zur Erzeugung von Laserstrahlung mittels stimulierter Emission.

Gemäß dem Laser-Akronym (*Light amplification by stimulated emission of radiation*) liegt dem Gerät der physikalische Prozess der stimulierten Emission zugrunde. Dieser findet im sogenannten aktiven Medium statt. Da der Vorgang der stimulierten Emission in Konkurrenz zur Absorption steht, ist eine Besetzungsinversion in dem entsprechenden Medium erforderlich. Diese kann wie in Abbildung 2.3.1(b) beispielhaft gezeigt in drei oder vier Niveausystemen durch elektrisches oder optisches Pumpen realisiert werden. Die im Laserresonator in mehreren Durchgängen mittels stimulierter Emission verstärkte Strahlung kann über einen teildurchlässigen Spiegel ausgekoppelt werden.

Die Linienbreite der emittierten Strahlung hängt von verschiedenen Faktoren ab. Durch Kollisionen und die begrenzte Lebensdauer von angeregten Zuständen kommt es zu einer gleichmäßigen, als homogenen bezeichneten Verbreiterung für alle Atome, welche mittels einer LORENTZ-Funktion beschrieben werden kann. Durch feldinduzierte Veränderungen der elektronischen Struktur (STARK-Effekt) und den DOPPLER-Effekt können inhomogene, gaußförmige Verbreiterung hervorgerufen werden.^[177]

In einer optischen Kavität können verschiedene transversale und longitudinale Moden stabil schwingen. Das elektrische Feld einer ideal monochromatischen, uniform polarisier-

ten, paraxialen Welle entlang der z -Achse eines kartesischen Koordinatensystems kann dabei folgendermaßen beschrieben werden:^[178]

$$E(x, y, z, t) = E_0 \cdot u(x, y, z) \cdot e^{i(2\pi\nu t - kz)} + \text{c.c.} \quad (2.3.1)$$

Hierbei treten die Amplitude E_0 , die optische Frequenz ν , die Wellenzahl $k = 2\pi/\lambda$ mit der Wellenlänge λ und die komplexe Feldeinhüllende $u(x, y, z)$ auf. Der Ausdruck *c.c.* beschreibt die komplex-konjugierte Form des ersten Terms. Einen wichtigen Satz von Lösungen der paraxialen Wellengleichung für die Einhüllendenfunktion $u(x, y, z)$ bilden die sogenannten Hermite-Gauß-Strahlen, welche die folgende Form aufweisen:^[178]

$$u_{l,m}(x, y, z) = \frac{\omega_0}{\omega(z)} H_l \left(\frac{\sqrt{2}x}{\omega(z)} \right) H_m \left(\frac{\sqrt{2}y}{\omega(z)} \right) e^{-\frac{x^2+y^2}{\omega^2(z)}} \cdot e^{-ik\frac{x^2+y^2}{2R(z)}} \cdot e^{i(1+l+m)\phi(z)} \quad (2.3.2)$$

$$\omega(z) = \omega_0 \sqrt{1 + \left(\frac{z}{z_R} \right)^2} \quad (2.3.3)$$

$$R(z) = z \left(1 + \left(\frac{z_R}{z} \right)^2 \right) \quad (2.3.4)$$

$$\phi(z) = \tan^{-1} \left(\frac{z}{z_R} \right) \quad (2.3.5)$$

Der erste Teil von Gleichung 2.3.2 stellt einen Amplitudenfaktor dar, welcher die transversale Verteilung gemäß dem Produkt aus den HERMIT-Polynomen H_i und einer Gaußfunktion beschreibt. Bei dem zweiten und dritten Exponentialterm handelt es sich um transversale bzw. longitudinale Phasenfaktoren. Die Rayleighlänge $z_R = \pi\omega_0^2/\lambda$ stellt die Distanz von der Strahltaile ω_0 bis zur Vergrößerung der Strahlgröße $\omega(z)$ um einen Faktor $\sqrt{2}$ dar und $R(z)$ ist der Radius der Krümmung der näherungsweise sphärischen Wellenfront.^[178] Die Lösung für $l = m = 0$ (genannt TEM₀₀) stellt ein gaußförmiges Strahlprofil da und wird besonders häufig verwendet, so auch in dieser Arbeit. Es sei an dieser Stelle angemerkt, dass sich zwar die Strahlgröße ω bei Propagation entlang der z -Achse verändert, aber die Strahlform erhalten bleibt.

Laserlicht ist bedingt durch die Eigenschaften der stimulierten Emission sowie die Bauart der Geräte im Regelfall polarisiert, d. h. der elektromagnetische Feldvektor (und orthogonal dazu der magnetische Feldvektor) schwingt in definierter Ausrichtung zum Wellenvektor, d. h. der Ausbreitungsrichtung. Im Grenzfall der linearen Polarisation bewegt sich der elektrische Feldvektor in einer Ebene. Für den Grenzfall der sogenannten zirkularen Polarisation rotiert der Feldvektor um die Ausbreitungsachse. Mischformen werden als elliptische Polarisation bezeichnet. Dreht sich der elektrische Feldvektor ge-

gen den Uhrzeigersinn, so wird von links zirkular polarisiertem Licht (LCP) gesprochen. Der gegenteilige Fall einer Drehung mit dem Uhrzeigersinn wird entsprechend als rechts zirkular polarisiertes Licht (RCP) bezeichnet. Die Zuordnung des Drehsinns ist dabei abhängig von der Blickrichtung. Beide Definitionsmöglichkeiten, d. h. der Blick mit und entgegen der Lichtquelle, sind gebräuchlich. Im Rahmen dieser Arbeit wird – in Anlehnung an frühere Studien^[34] – ein Blick entlang der Lichtausbreitungsrichtung (von der Lichtquelle weg) zur Bestimmung der Helizität verwendet.

Laser können kontinuierlich im sogenannten Dauerstrich-Modus (engl. *continuous wave*, cw) oder aber gepulst betrieben werden. Durch Bündelung der verfügbaren Energie in kurzen Laserpulsen können besonders hohe Spitzenleistungen erzielt werden. Hinsichtlich der erzielbaren Pulslängen und der Anzahl an involvierten longitudinalen Moden wird zwischen zwei Kategorien gepulster Laser unterschieden.^[179] Beim sogenannten *Q-Switching* werden kurze Pulse (bis zu wenigen ns) durch Schalten der Kavitätsgröße Q erzeugt, indem durch einen geeigneten Shutter gezielt Verluste im Resonator erzeugt und aufgehoben werden. Im *modelocking*-Regime können noch kürzere Laserpulse (bis in den fs-Bereich) durch Kopplung von vielen verschiedenen Moden erzeugt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde sich des Prinzips der Güteschaltung bedient, um hochenergetische Laserpulse auf der ns-Zeitskala zu erzeugen.

Die Güte einer Kavität kann über den Q -Faktor beschrieben werden. Dieser ist proportional zum Verhältnis zwischen der gespeicherten Energie im Resonator $h\nu\phi$ und der pro Zyklus verlorenen Energie $(-d\phi/dt)h\nu$, wobei ϕ die Zahl der Photonen in der Kavität ist.^[178]

$$Q = -2\pi\nu \frac{\phi}{d\phi/dt} \quad (2.3.6)$$

Ist der Intrakavitätsshutter geschlossen, so ist Q klein und damit kann die Besetzungsinversion durch Pumpen des aktiven Mediums groß werden. Wird der Shutter dann geöffnet, so wird Q groß und es kommt zur Verstärkung mittels stimulierter Emission. Dies führt zu einem kurzen intensiven Puls nach einer gewissen Verzögerung (mehrere zehn bis hundert ns). Der zeitliche Verlauf der Besetzungsinversion $N(t)$ und Photonenzahl in der Kavität ist in Abbildung 2.3.2 dargestellt.

Damit eine hinreichende Besetzungsinversion erzielt werden kann, während die Kavitätsgröße gering ist, sind ausreichend hohe Lebenszeiten des oberen Laserniveaus notwendig. Dies ist z. B. bei dipolverbotenen Laserübergängen in den meisten Festkörperlasern der Fall.^[178]

Die Veränderung der Kavitätsgröße Q ist durch verschiedene Ansätze realisierbar. Häufig werden elektro- oder akustooptische Schalter verwendet. Aber auch rotierende Prismen

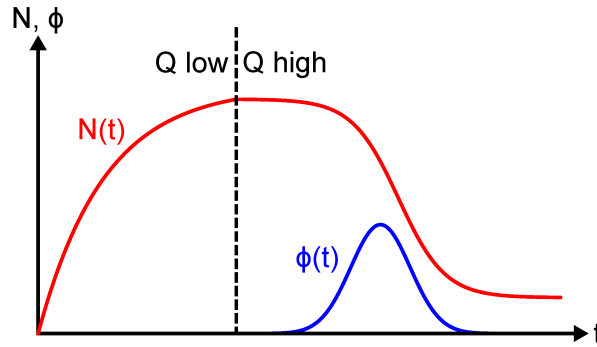


Abbildung 2.3.2: Qualitative Darstellung der Besetzungsinversion N und Photonenzahl ϕ in Abhängigkeit der Zeit t bei Schaltung der Güte Q zu einem Zeitpunkt, welcher durch eine vertikale, gestrichelte Linie markiert ist.

oder saturierbare Absorber können genutzt werden.^[178] Ein elektrooptischer Shutter, wie er in dieser Arbeit verwendet wurde, besteht mindestens aus einer PÖCKELS-Zelle, d. h. einem nicht-linearen elektrooptischen Kristall dessen Brechungsindex durch Anlegen einer Spannung verändert werden kann, und einem Polarisator im Resonator. Die Funktion ist in Abbildung 2.3.3 schematisch am Beispiel des in dieser Arbeit genutzten Lasers gezeigt.

Bei spannungsfreier PÖCKELS-Zelle ist die Kavität geschlossen, d. h. der Q -Faktor ist klein. Vom aktiven Medium einfallendes Licht passiert ein $\lambda/4$ -Wellenplättchen im Resonator zweimal, erfährt dabei insgesamt eine 90° -Drehung der Polarisations Ebene und kann daher den linearen Polarisator nicht mehr passieren. Ein hoher Q -Faktor wird erzeugt, indem die PÖCKELS-Zelle kurzzeitig mit Hochspannung beschaltet wird. Durch eine zusätzliche Verzögerung um jeweils $\lambda/4$ beim Durchgang durch das doppelbrechende Medium der PÖCKELS-Zelle wird der ursprüngliche Polarisationszustand vor dem Durchgang durch den Polarisator wiederhergestellt.

Die Spitzenintensität $I_{\text{pulse,max}}$ eines Laserpulses mit einem räumlichen Strahlprofil sowie einer zeitlichen Intensitätsverteilung nach Gauß kann folgendermaßen berechnet werden:^[181]

$$I_{\text{pulse,max}} = \frac{2\sqrt{2} \cdot E_{\text{pulse}}}{\tau \cdot \pi^{3/2} \cdot \omega_0^2} \quad (2.3.7)$$

Dabei ist die Pulsdauer τ , der Strahlradius ω_0 sowie die Pulsenergie E_{pulse} relevant. Letztere ergibt sich unter Kenntnis der Repetitionsrate aus der einfach zu messenden mittleren Leistung P .

$$E_{\text{pulse}} = \frac{P}{f_{\text{rep}}} \quad (2.3.8)$$

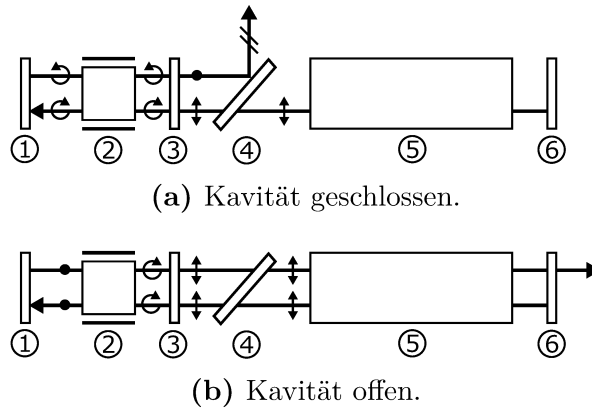


Abbildung 2.3.3: Schematische Darstellung einer elektrooptischen Güteschaltung in einem linearen Resonator aufgespannt durch die Spiegel (1) und (6) mit einem aktiven Medium (5).^[180] Bei geschlossener Kavität (a) ist die Pockelszelle (2) spannungsfrei. Zirkular polarisiertes Licht (\odot), welches vom $\lambda/4$ -Plättchen (3) aus horizontal polarisiertem Licht (\uparrow) erzeugt wird, erfährt keine zusätzliche Verzögerung. Daher resultiert bei erneutem Durchgang des $\lambda/4$ -Plättchens vertikal polarisiertes Licht (\bullet), welches den Polarisator (4) nicht passieren kann. Bei offener Kavität (b) liegt Hochspannung an der Pockels-Zelle (2) an. Durch die zusätzliche Phasenverzögerung der Pockels-Zelle wird der horizontale Polarisationszustand bei erneuter Passage des $\lambda/4$ -Plättchens (3) wiederhergestellt.

2.3.1 Optische Übergänge im Nd:YAG

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Festkörperlaser mit einem aktiven Medium aus Neodym-dotiertem Yttrium-Aluminium-Granat ($\text{Nd}^{3+}:\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$, abgekürzt Nd:YAG) verwendet. Der Nd:YAG-Kristall wurde 1964 von GEUSIC et al. als vielversprechendes Lasermedium identifiziert und gehört heute zu den wichtigsten dielektrischen Lasermaterialien.^[182] Das Energieniveau-Diagramm des Nd^{3+} -Ions in Yttrium-Aluminium-Granat ist in Abbildung 2.3.4 dargestellt.

Stimulierte Emission erfolgt von dem oberen ${}^4F_{3/2}$ -Niveau in die verschiedenen 4I -Niveaus. Die energetische Aufspaltung zwischen den 4F - und 4I -Termen kommt durch die COULOMB-Wechselwirkung der 4f-Elektronen zustande. Die weitere Aufspaltung in die 4F_J - in 4I_J -Zustände ist durch die LS- bzw. RUSSEL-SAUNDERS-Kopplung bedingt.^[178] Im YAG-Kristallfeld kommt es dann noch zur weiteren Aufspaltung der ${}^{2S+1}L_J$ -Terme (siehe Abb. 2.3.4) durch das lokale elektrostatische Feld aufgrund des STARK-Effekts. Lasing kann zwischen verschiedenen Niveaus realisiert werden. Der intensivste und wohl prominenteste Laserübergang, welcher auch in dieser Arbeit genutzt wurde, erfolgt von

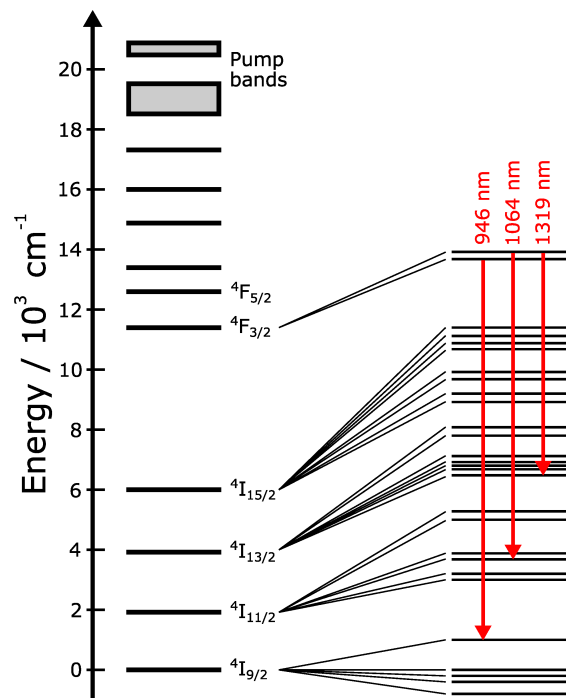


Abbildung 2.3.4: Energieniveau-Diagramm eines Nd:YAG-Lasers mit drei ausgewählten Laserübergängen.^[183]

dem oberen Energieniveau ${}^4F_{3/2}$ in das untere Energieniveau ${}^4I_{11/2}$ bei einer Wellenlänge von 1064 nm. Elektrische Dipolübergänge zwischen den 4f-Zuständen des freien Ions sind nach der LAPORTE-Regel verboten. Durch Dotierung auf azentrische Plätze in einem Material können entsprechende Übergänge jedoch erlaubt werden.

Festkörperlaser, wie der Nd:YAG-Laser, zeichnen sich durch vergleichsweise breite Absorptionsbanden aus. Dies erlaubt das Pumpen durch Xe- oder Kr-Blitzlampen mit hinreichender Effizienz. Bessere Pumpeffizienzen (10 % - 30 %) können mit Diodenlasern, z. B. bei einer Wellenlänge von 808 nm, erzielt werden.^[178]

2.3.2 Nicht-lineare Optik

Bei niedrigen Lichtintensitäten sind Materialeigenschaften im Allgemeinen unabhängig von der Intensität einfallender Strahlung. Das Superpositionsprinzip gilt in diesem Fall, d. h. es kommt zu keiner Interaktion zwischen einzelnen Lichtwellen im Material oder an dessen Grenzflächen. Bei ausreichend hohen Intensitäten hingegen, welche z. B. mit Laserlichtquellen erzielt werden, können optische Materialeigenschaften beeinflusst werden. Die Superposition bricht zusammen und der Impuls- und Energieaustausch zwischen Lichtwellen wird möglich.^[178] In diesem Bereich ist die Antwort des Materials auf das

elektromagnetische Feld nicht linear in Bezug auf die Amplitude des Feldes. Die Abhängigkeit der durch ein optisches Feld induzierten Polarisation $P(t)$ von der elektrischen Feldstärke $E(t)$ kann durch eine Potenzreihe (2.3.9) ausgedrückt werden.^[184,185]

$$\begin{aligned} P(t) &= \epsilon_0 \sum_n \chi^{(n)} E^n(t) & (2.3.9) \\ &= \underbrace{\epsilon_0 \chi^{(1)} E(t)}_{P^{(1)}(t)} + \underbrace{\epsilon_0 \chi^{(2)} E^2(t)}_{P^{(2)}(t)} + \underbrace{\epsilon_0 \chi^{(3)} E^3(t)}_{P^{(3)}(t)} + \dots \end{aligned}$$

Bei ϵ_0 handelt es sich um die elektrische Feldkonstante und $\chi^{(n)}$ sind die elektrischen Suszeptibilitäten n -ter Ordnung. Im Rahmen der vorliegenden, kurzen Einführung in die Thematik der nicht-linearen Optik werden einige vereinfachende Annahme getroffen: Die Antwort des Materials auf das Feld sei instantan, damit sei das Medium zugleich verlust- und dispersionsfrei und die Suzeptibilitäten seien frequenzunabhängig. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wird ein simpler, skalarer Formalismus präsentiert. Für eine umfassende, vektorielle Behandlung der Thematik sei auf die Literatur verwiesen.^[184] Im Folgenden ist eine Abschätzung der Größenordnungen von $\chi^{(n)}$ in kondensierter Materie gegeben:^[184]

$$\begin{aligned} \chi^{(1)} &\simeq 1 \\ \chi^{(2)} &\simeq 2 \cdot 10^{-12} \text{ m/V} \\ \chi^{(3)} &\simeq 4 \cdot 10^{-24} \text{ m}^2/\text{V}^2 \end{aligned}$$

Für elektrische Felder in der Größenordnung von atomaren Feldstärken $E_{at} = e/(4\pi\epsilon_0 a_0^2) = 5 \cdot 10^{11} \text{ V/m}$ liegt der Einfluss der nicht-linearen Terme $P^{(2)}(t)$ und $P^{(3)}(t)$ in Gleichung 2.3.9 in der Größenordnung des linearen Anteils $P^{(1)}(t)$. Dies entspricht Laserintensitäten von $I = 1/2 \cdot \epsilon_0 c E_{at}^2 = 3.5 \cdot 10^{16} \text{ W/cm}^2$.^[184]

Die zeitabhängige Polarisation $P(t)$ kann als Quelle neuer Komponenten des elektromagnetischen Feldes dienen, wie die folgende inhomogene Wellengleichung für nicht-lineare optische Medien zeigt:^[184]

$$\nabla^2 E - \frac{n^2}{c^2} \frac{\partial^2 E}{\partial t^2} = \frac{1}{\epsilon_0 c^2} \frac{\partial^2 P^{(NL)}}{\partial t^2} \quad (2.3.10)$$

Hier ist n der Brechungsindex und c die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum. Die nicht-lineare Polarisation $P^{(NL)} = \epsilon_0 \sum_{n>1} \chi^{(n)} E^n(t)$ treibt das elektrische Feld E an. Die Ableitung $\partial^2 P^{(NL)}/\partial t^2$ ist ein Maß für die Beschleunigung von Ladungen in einem Medium

und nach LARMOR's Theorem geht mit deren Bewegung die Erzeugung elektromagnetischer Strahlung einher. So können optische Felder bei neuen Frequenzen entstehen. Um Letzteres zu zeigen, wird optische Strahlung mit zwei Kreisfrequenzkomponenten ω_1 und ω_2 betrachtet. Das zugehörige elektrische Feld kann gemäß Gleichung 2.3.11 beschrieben werden.^[184,185]

$$E(t) = E_1 e^{-i\omega_1 t} + E_2 e^{-i\omega_2 t} + \text{c.c.} \quad (2.3.11)$$

Fällt besagte Strahlung auf ein geeignetes nicht-lineares Medium, so ergibt sich für den Beitrag zweiter Ordnung der Polarisation $P^{(2)}(t)$ gemäß 2.3.9:

$$P^{(2)}(t) = \epsilon_0 \chi^{(2)} [E_1^2 e^{-2i\omega_1 t} + E_2^2 e^{-2i\omega_2 t} + 2E_1 E_2 e^{-i(\omega_1 + \omega_2)t} + 2E_1 E_2 e^{-i(\omega_1 - \omega_2)t} + \text{c.c.}] + 2\epsilon_0 \chi^{(2)} [E_1 E_1^* + E_2 E_2^*] \quad (2.3.12)$$

Es resultieren Terme mit unterschiedlichen Frequenzen, welche gemäß den obigen Ausführungen zur Erzeugung von Strahlung mit eben dieser Frequenz führen können. Im Falle der Frequenzverdopplung, d. h. der Erzeugung von Strahlung mit $2\omega_1$ bzw. $2\omega_2$, wird von der Bildung der zweiten harmonischen Welle (engl. *second harmonic generation*, SHG) gesprochen.^[186] Diese ist ein Sonderfall der Summenfrequenzbildung (engl. *sum frequency generation*, SFG), welche Strahlung der Frequenz $\omega_1 + \omega_2$ erzeugt. Analog führt die Differenzfrequenzbildung (engl. *difference frequency generation*, DFG) zur Bildung von Wellen der Frequenz $\omega_1 - \omega_2$.^[186] Die zweite Ableitung nach der Zeit des letzten Terms in Gleichung 2.3.12 ist null, d. h. dieser Term führt nicht zur Ausbildung elektromagnetischer Strahlung. Dieser Term ist für den Prozess der optischen Aus- bzw. Gleichrichtung (engl. *optical rectification*, OR), d. h. der Ausbildung eines statischen Feldes über das nicht-lineare Medium, verantwortlich.^[185,186]

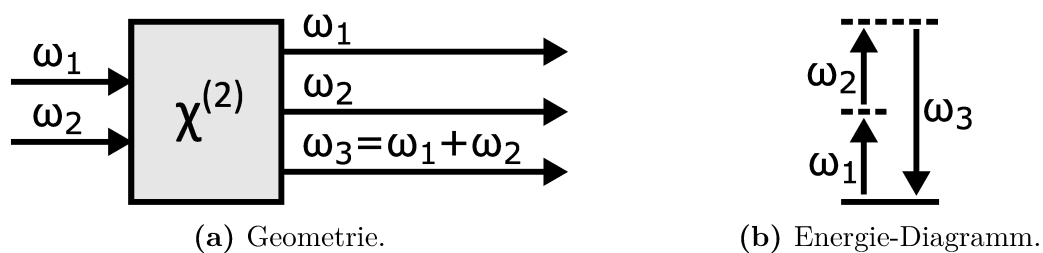


Abbildung 2.3.5: Schematische Darstellung der Summenfrequenz-Bildung in einem nicht-linearen optischen Prozess.^[184] Durchgezogene Linien stellen Eigenzustände des Systems dar, gestrichelte Linien stehen für virtuelle Niveaus.

Der Prozess der SFG ist in Abbildung 2.3.5 illustriert. Die SFG (und somit auch die SHG)

kann als Austausch von Photonen zwischen den verschiedenen Frequenzkomponenten des elektrischen Feldes verstanden werden. Zwei Photonen mit ω_1 und ω_2 werden gleichzeitig, d. h. in einem einzigen quantenmechanischen Prozess, zu Gunsten der Erzeugung eines Photons der Frequenz ω_3 vernichtet.

Auf ähnliche Weise lässt sich die Differenzfrequenzbildung, dargestellt in Abbildung 2.3.6, beschreiben: Wird ein Photon der Frequenz ω_1 zerstört, so fordert die Energieerhaltung die Bildung von Photonen der Frequenz ω_2 und ω_3 . Es kommt also neben der Erzeugung der neuen Welle mit ω_3 (engl. *idler*) zu einer Verstärkung der Strahlung mit der Frequenz ω_2 (engl. *signal*), weshalb der Prozess auch als optisch parametrische Verstärkung (engl. *optical parametric amplification*, OPA) bezeichnet wird. Der Spezialfall stimulierter Emission aus einem virtuellen Zustand, wenn ω_2 nicht vorhanden ist, wird parametrische Fluoreszenz genannt.

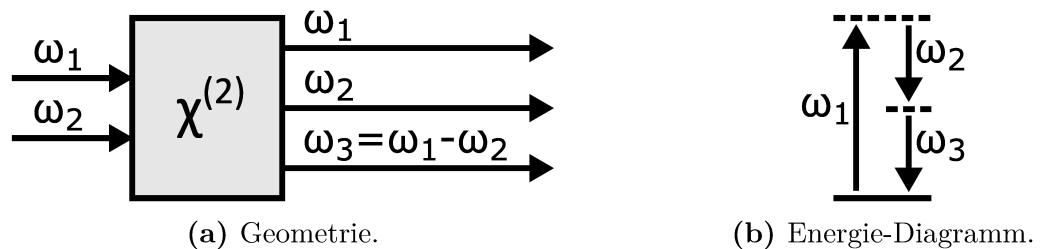


Abbildung 2.3.6: Schematische Darstellung der Differenzfrequenz-Bildung in einem nicht-linearen optischen Prozess.^[184] Durchgezogene Linien stellen Eigenzustände des Systems dar, gestrichelte Linien stehen für virtuelle Niveaus.

Für die effiziente Erzeugung neuer Wellen mittels nicht-linearer Optik ist die Phasenanpassung (engl. *phase matching*) unerlässlich. Durch dispersionsbedingte, unterschiedliche Ausbreitungsgeschwindigkeiten der zu mischenden Wellen kommt es zu Phasenfehlanpassungen Δk in nicht-linearen Medien. Aufgrund der Impulserhaltung muss jedoch $\Delta k = 0$ gelten. Diese Forderung wird auch als Phasenanpassungs-Bedingung bezeichnet. Ein weitverbreiteter Lösungsansatz ist die Ausnutzung doppelbrechender Medien, um die Brechungsindizes für unterschiedliche Wellen anzugleichen.^[178,185]

Entsprechend der Darstellung 2.3.7 für das Beispiel der SHG werden durch Ausrichtung des nicht-linearen Mediums im Winkel θ die Brechungsindizes der ordinären Welle n_o der einfachen Frequenz ω und der extraordinäre Welle n_e der doppelten Frequenz 2ω angeglichen.^[186]

Abschließend sei angemerkt, dass alle Suszeptibilitäten gerader Ordnungen in inversionssymmetrischen Materialien null sind. Häufig verwendete Medien für nicht-lineare

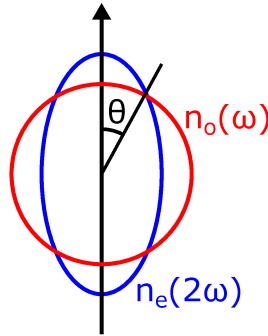


Abbildung 2.3.7: Schematische Darstellung der Phasenanpassung für einen SHG-Prozess in einem doppelbrechenden Medium mit den ordentlichen und außerordentlichen Brechungsindices n_o bzw. n_e .^[178,185]

Effekte zweiter Ordnung sind β -Bariumborat (BBO), Kaliumdihydrogenphosphat (KDP) und Ammoniumdihydrogenphosphat (ADP).^[178]

2.4 Ionenführung

Zur Führung von Ionen – z. B. in Massenspektrometern – werden typischerweise elektrische Felder genutzt. Im einfachsten Fall werden diese durch elektrostatische Linsen erzeugt. Analog zu ihren optischen Äquivalenten, welche Anwendung in der Manipulation des Strahlengangs von Licht finden, dienen diese der gezielten Abbildung geladener Partikel.^[187]

Im Folgenden soll das Beispiel der sogenannten Einzellinse vorgestellt werden. Diese besteht aus drei koaxialen, meist zylindrischen Elektroden mit gleichem Durchmesser und dient der Fokussierung von Strahlen geladener Partikel.^[188] Die Funktion eines solchen Bauteils ist in Abbildung 2.4.1 anhand simulierter Ionenflugbahnen dargestellt.

Die erste und letzte Elektrode einer Einzellinse werden meist auf das gleiche Potential $U_{E1} = U_{E3} = U_{E1,E3}$ gelegt, um keine Änderung der kinetischen Energie entlang der Flugachse beim Durchgang der Ionenoptik hervorzurufen.^[187,188] Beim Anlegen einer Spannung U_{E2} an die mittlere Elektrode ungleich der Spannung der beiden anderen Elektroden $U_{E1,E3}$ werden die radialen Geschwindigkeitskomponenten der Ionen durch die Felder zwischen den einzelnen Komponenten beeinflusst. Die Brennweite der Linse kann über das Verhältnis der Spannungen verändert werden.^[188]

Wird ein für die eintreffenden Ionen bremsendes Potential an die mittlere Elektrode gelegt (siehe Abbildung 2.4.1(a)), so kommt es beim Übergang zwischen den Elektroden E1 und E2 zur radialen Ausdehnung des Ionenstrahls. Beim Eintreten in die Elektro-

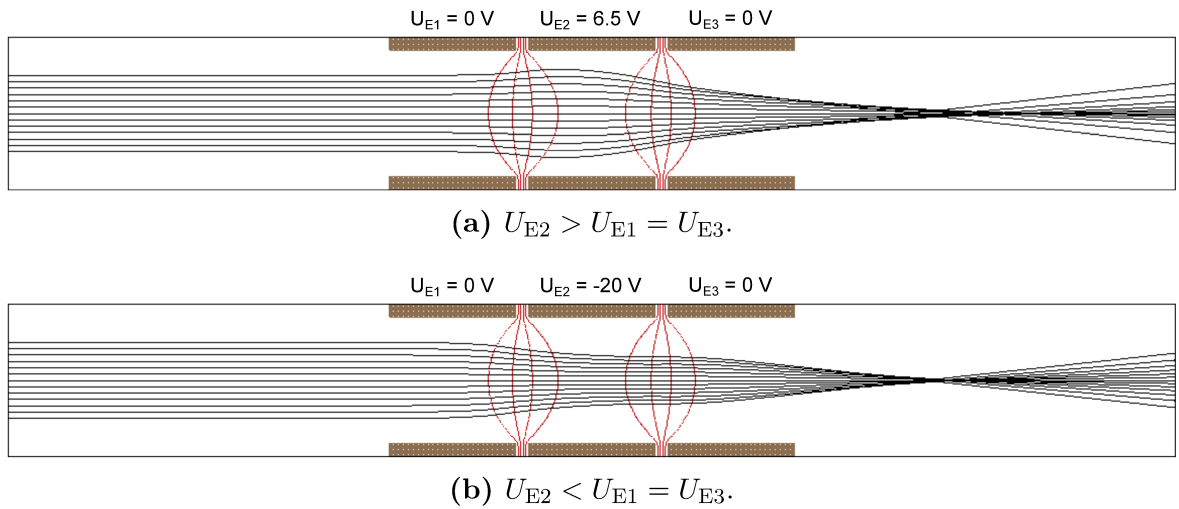


Abbildung 2.4.1: Schematische Darstellung der Funktionsweise einer Einzellinse: In SIMION 8.1 simulierte Trajektorien von Kationen ($m/z = 100$) mit einer kinetischen Energie von 10 eV bei unterschiedlichen Elektrodenpotentialen U_{E2} sowie $U_{E1} = U_{E3} = 0$ V.^[189] In Rot sind jeweils vier Äquipotential-Linien in Abständen von $1/5 \cdot U_{E2}$ dargestellt.

de E3 wird der Strahl durch die Beschleunigung auf die ursprüngliche Geschwindigkeit radial zusammengezogen. Letztendlich überwiegt der Einfluss, der nach innen gerichteten Kräfte, da die Partikel im Zentrum der Einzellinse, d. h. dem Einflussbereich dieser Kräfte, langsamer sind.^[187] Die umgekehrte Abfolge kann für ein anziehendes bzw. beschleunigendes Potential an E2 beobachtet werden. Auch hier überwiegen die nach innen gerichteten, fokussierenden Kräfte, welche allerdings bereits bei der Beschleunigung in die zweite Elektrode E2 wirken. Der Ionenstrahl ist im Inneren der ersten Elektrode E1 langsamer als in Elektrode E2 vor dem abbremsenden Eintritt in die letzte Elektrode E3.^[187]

Trotz der ähnlichen Funktion bieten beide Betriebsarten der Einzellinse unterschiedliche Vor- bzw. Nachteile. So ist beispielsweise die sphärische Aberration kleiner für $U_{E2} < U_{E1,E3}$, da der Ionenstrahl näher zur zentralen Achse geführt wird. Allerdings werden deutlich höhere Spannungsbeträge benötigt als für Einzellinsen mit umgekehrter Polarität $U_{E2} > U_{E1,E3}$ (vgl. Abb. 2.4.1).^[190]

Die besten Ergebnisse hinsichtlich der Fokusschärfe erzielt eine Einzellinse für Partikelstrahlen mit schmaler kinetischer Energieverteilung und unter stoßfreien Bedingungen, d. h. bei vergleichsweise geringen Drücken. Für die Beeinflussung von Ionenflugbahnen bei erhöhten Drücken haben sich dynamische Veränderung der elektrischen Felder als vorteilhaft erwiesen. Hier eignen sich besonders die im folgenden Abschnitt beschriebe-

nen linearen Multipole, welche mit Wechselfeldern im radiofrequenten Bereich arbeiten, zur effizienten Führung von Ionen.^[187,191]

2.4.1 Lineare Multipole

Lineare Multipole dienen der axialen, möglichst verlustfreien Führung von Ionen. Sie bestehen aus einer geraden Anzahl von Metallstäben definierten Querschnitts, welche symmetrisch um eine zentrale Achse angeordnet sind. Für ein ideales Multipolfeld müssen die Stäbe ein hyperbolisches Profil aufweisen, aus Gründen der einfacheren Fertigung werden jedoch häufig runde Stäbe verwendet. Letzteres hat eine Überlagerung verschiedener Multipolordnungen zur Folge, ist für die Führung und Fokussierung von Ionen jedoch nicht weiter hinderlich.^[191]

Ein Multipol besteht aus zwei Elektroden, gebildet durch jeweils die Hälfte der Stäbe. Benachbarte Stäbe gehören jeweils zu unterschiedlichen Elektroden, d. h. die Elektroden wechseln sich in der Multipol-Anordnung stets ab. An die zwei Elektroden werden hochfrequente Wechselspannungen Φ_0 mit jeweils umgekehrter Polarität bzw. Phase angelegt.

$$\Phi_0 = U_0 - V_0 \cos \Omega t \quad (2.4.1)$$

Bei passender Wahl von Kreisfrequenz Ω und Amplitude V_0 der Wechselspannung können Ionen in einem großen Masse- und Ladungsbereich stabil geführt werden. Für die Massenselektion, z. B. in linearen Quadrupolen, werden zudem Gleichspannungen U_0 unterschiedlichen Vorzeichens an die beiden Elektroden angelegt. Zur Führung von verschiedenen Ionen über einen möglichst großen Massebereich wird keine DC-Komponente verwendet, unter dieser Bedingung ($U_0 = 0 \text{ V}$) wird von RF-*only*-Multipolen (engl. *radio frequency*, RF) gesprochen. Es soll an dieser Stelle jedoch erwähnt werden, dass dennoch ein Biaspotential gleichen Vorzeichens an beide Elektroden angelegt werden kann.

Die klassische Bewegungs-Differentialgleichung geladener Teilchen in zeitabhängigen beziehungsweise oszillierenden inhomogenen Feldern ist für Multipole abgesehen vom Quadrupol nicht analytisch lösbar. Zur Beschreibung der Ionenführung in höheren Multipolen, wie z. B. dem in dieser Arbeit verwendeten Oktopol, müssen daher numerische Ansätze verwendet oder Näherungen eingeführt werden.^[192–194]

Ist die Feldfrequenz Ω hinreichend hoch, können die schnellen Oszillationsbewegungen im Wechselfeld und die langsame Driftbewegung eines Ions getrennt betrachtet werden. Die kinetische Energie eines Teilchens bleibt unter diesen Bedingungen im zeitlichen Mittel erhalten. Dementsprechend erfolgt keine Aufnahme von Energie durch das Multipolfeld.

Dieser Fall wird als adiabatische Näherung bezeichnet.^[191]

Im Rahmen der adiabatischen Näherung ist es möglich Vorhersagen anhand eines effektiven Potential $V^*(r)$ für Ionen der Ladung q und Masse m in einer Multipol-Anordnung mit N -Stäben je Elektrode zu treffen.^[191,195]

$$V^*(r) = \frac{N^2 q^2 V_0^2}{4m\Omega^2 r_0^2} \left(\frac{r}{r_0}\right)^{2N-2} \quad (2.4.2)$$

Bei r_0 handelt es sich um den Innenradius des betrachteten Multipols. Ein Kriterium für die Güte der Näherung und die Stabilität der Ionenführung liefert der folgende Adibatizitäts-Parameter η .^[191,195]

$$\eta = 2N(N-1) \frac{qV_0}{m\Omega^2 r_0^2} \left(\frac{r}{r_0}\right)^{N-2} \quad (2.4.3)$$

Es wurde empirisch gezeigt, dass für eine stabile und adiabatische Ionenführung $\eta \leq 0.3$ gelten sollte.^[191] Weiterhin sollte der reduzierte Radius nicht zu groß werden, um Stöße mit den Elektroden zu vermeiden. Hier hat sich $r/r_0 \leq 0.8$ als geeignetes Kriterium gezeigt.^[191] Aus dieser Bedingung folgt unter Berücksichtigung der adiabatischen Energieerhaltung eine maximal zulässige Transversalenergie E_{\max} für die Ionen:^[191]

$$E_{\max} = \frac{q^2 V_0^2 N^2}{4m\Omega^2 r_0^2} \left(\frac{r}{r_0}\right)_{\max}^{2N-2} + \frac{L^2}{2mr_{\max}^2} \quad (2.4.4)$$

Die Zentrifugalenergie, der zweite Term in Gleichung 2.4.4, kann aufgrund der r_{\max}^{-2} -Abhängigkeit und den üblicherweise kleinen Drehimpulsen L vernachlässigt werden.^[191] Aus den Kriterien für η_{\max} und $(r/r_0)_{\max}$ können somit für ein gegebenes E_{\max} eine minimal benötigte RF-Amplitude $V_{0,\min}$ und Frequenz Ω_{\min} ermittelt werden:^[191]

$$V_{0,\min} = \frac{8(N-1)E_{\max}}{Nq\eta_{\max}} \left(\frac{r}{r_0}\right)_{\max}^{-N} \quad (2.4.5)$$

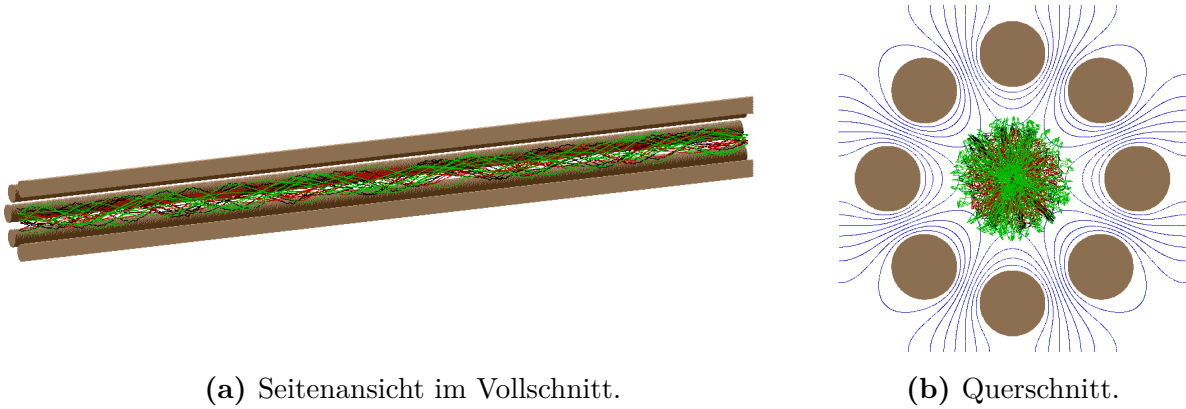
$$\Omega_{\min} = \frac{4(N-1)}{r_0\eta_{\max}} \left(\frac{r}{r_0}\right)_{\max} \sqrt{\frac{E_{\max}}{m}} \quad (2.4.6)$$

Zur Bestimmung der minimalen Spannung und Frequenz für die gleichzeitige Führung von Ionen zweier Massen m_1 und m_2 (wobei $m_1 < m_2$) kann der modifizierte Adibatizitätsparameter gemäß Gleichung 2.4.7 verwendet werden. Die minimale, geeignete

Frequenz wird dabei durch die höhere Masse m_2 bestimmt.^[191]

$$\eta'_{\max} = \eta_{\max} \cdot \left(\frac{m_1}{m_2}\right)^{\frac{N}{2N-N}} \quad (2.4.7)$$

In Abbildung 2.4.2 ist die gleichzeitige Führung von Ionen unterschiedlicher m/z -Verhältnisse in einem linearen Oktopol gezeigt und die Potentiallandschaft im Querschnitt veranschaulicht.



(a) Seitenansicht im Vollschnitt.

(b) Querschnitt.

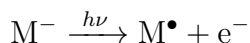
Abbildung 2.4.2: Schematische Darstellung der Funktionsweise eines linearen Oktopols: In SIMION 8.1 simulierte Trajektorien von Kationen des Masse-zu-Ladungsverhältnis $m/z = 50$ (rot), 100 (schwarz) und 200 (grün) mit einer kinetischen Energie von 3 eV .^[189] In Blau sind jeweils acht Äquipotentiallinien in Abständen von $1/9 \cdot \Phi_0$ dargestellt. Simulationsbedingungen: $V_0 = 100 \text{ V}$, $f = 2.5 \text{ MHz}$, $r_0 = 3 \text{ mm}$.

Lineare Multipole begrenzen Ionenflugbahnen durch die Ausbildung eines effektiven Potentials $V^*(r)$ radial, d. h. orthogonal zur Bewegungs- bzw. Führungsachse. Durch Ergänzung von elektrostatischen Linsen am Ein- und Ausgang kann zudem die Beweglichkeit entlang der Multipolachse eingeschränkt werden.^[196] Dazu wird das Potential der Ein- und Ausgangslinse höher als das Biaspotential des Multipols gewählt. Reicht die kinetische Energie eintreffender Ionen aus, um das Eingangspotential zu überwinden, gelangen diese in die Potentialmulde des Multipols. Bei hinreichendem Hintergrunddruck verlieren die geladenen Partikel durch Stöße mit neutralen Gasteilchen kinetische Energie bis schließlich die Potentialbarrieren der Ein- und Ausgangslinse nicht mehr überwunden werden können. Auf diese Weise können Ionen räumlich gefangen und über längere Zeiträume gespeichert werden. Lineare Multipol-Ionenfallen finden Anwendung z. B. in der Massenspektrometrie bei der Kopplung von kontinuierlichen Ionenquellen mit diskontinuierlichen Analysemethoden,^[196] wie auch in dieser Arbeit.

Die Anwesenheit von neutralem Hintergrundgas hat sich auch für die Fokussiereigenschaften von linearen Multipolen als vorteilhaft herausgestellt werden. Durch den Verlust kinetischer Energie beim Stoß mit anderen Gasteilchen, auch als Thermalisierung oder Kollisionskühlung bezeichnet, werden Ionen im Mittel näher an der zentralen Achse geführt.^[197]

2.5 Photodetachment

Die Absorption eines oder mehrerer Photonen durch ein Anion mit nachfolgender Emission eines Elektrons wird als Photodetachment bezeichnet.^[198] Nachfolgend ist der besagte Vorgang für ein geschlossenschaliges, einfach geladenes Anion notiert:



Das Photodetachment bildet somit das Gegenstück zur Photoionisation, welche sich auf neutrale oder kationische Ausgangszustände bezieht. Unterschiede können unter anderem im Hinblick auf die für das Herauslösen eines Elektrons benötigten Energien festgestellt werden. Für Anionen sind im Allgemeinen deutlich niedrigere Photonenenergien $h\nu$ ausreichend, da Valenzelektronen häufig nur vergleichsweise schwach gebunden sind. Der physikalische Prozess des Photodetachments wird häufig im Rahmen der Photoelektronenspektroskopie (PES) zur elektronischen Strukturaufklärung über Messung der kinetischen Energie der Photoelektronen E_{kin} genutzt.^[199] Im Rahmen von KOOPMANS-Theorem, d. h. der Vernachlässigung der Relaxation der verbleibenden Elektronen, kann die Bindungsenergie des Elektrons E_B bestimmt werden:^[200]

$$E_B = h\nu - E_{\text{kin}} \quad (2.5.1)$$

Eine alternative, experimentelle Vorgehensweise zur Untersuchung des Photodetachments ist die Photodetachment-Threshold-Spektroskopie.^[199] Über einen Scan der Photonenenergie bzw. Wellenlänge des verwendeten Lichts können bei quantitativer Erfassung von Detachmentprodukten, wie z. B. langsamen Elektronen, hohe Auflösungen erzielt werden.^[201]

Im Rahmen des Photodetachments werden vor allem zwei zentrale Energiegrößen diskutiert. Die vertikale Detachmentenergie (VDE) und die adiabatische Detachmentenergie (ADE) sind in Abbildung 2.5.1 in einem Potentialenergie-Diagramm veranschaulicht. Die ADE beschreibt die Energiedifferenz des neutralen Radikals M^\bullet im Schwingungs-

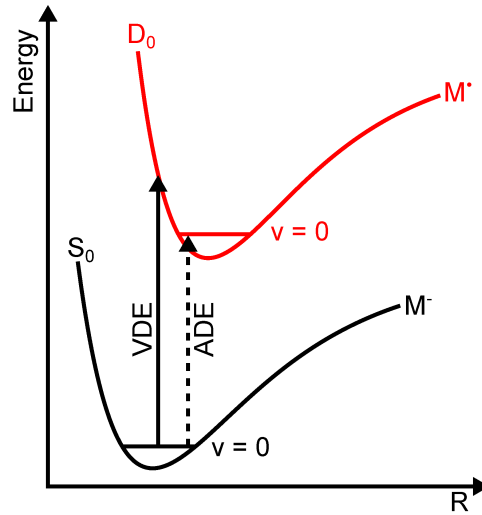


Abbildung 2.5.1: Schematische Darstellung der Potentialenergiekurven eines Anions M^- mit dem elektronischen Grundzustand S_0 und des durch Photodetachment gebildeten, neutralen Radikals M^\bullet mit dem elektronischen Grundzustand D_0 .^[202] Die vertikalen Pfeile stellen die vertikale Detachmentenergie (VDE) und adiabatische Detachmentenergie (ADE) dar.

grundzustand ($v = 0$) relativ zum Anion M^- ebenfalls im Schwingungsgrundzustand. Die VDE hingegen bezieht sich auf die Energie des neutralen Radikals M^\bullet im elektronischen D_0 -Zustand beim Gleichgewichtsabstand des Ausgangszustandes S_0 .

Angeregte elektronische Zustände liegen im Falle von Anionen meist über dem Schwellenwert der ADE und sind daher anfällig für indirektes Elektronendetachment.^[202] Die unterschiedlichen Vorgänge des direkten und indirekten Photodetachment werden im Energieniveau-Diagramm 2.5.2 verglichen.

Beim direkten Photodetachment vom Zustand S_0 in das D_0 -Kontinuum durch ein Photon der Energie $h\nu$ werden Elektronen mit kinetischen Energien um einen Wert von $\epsilon_1 \approx h\nu - \text{VDE}$ erzeugt. Die Übergangswahrscheinlichkeit wird dabei durch den FRANK-CONDON-Überlapp der Schwingungswellenfunktion von S_0 und D_0 bestimmt.

Beim indirekten Photodetachment erfolgt zunächst ein optischer Übergang aus dem Grundzustand des Anions S_0 in einen elektronisch angeregten Zustand. Liegt dieser Zustand – in dem hier gewähltem Beispiel S_2 – über dem Grundzustand des neutralen Radikals D_0 , so kann energetische Relaxation durch Photodetachment erfolgen. Sofern sich die Strukturen von Anion und neutralem Radikal ähneln, kann eine Tendenz zur Erhaltung der Schwingungsenergie beobachtet werden. In Folge werden Elektronen mit kinetischen Energien um einen Wert $\epsilon_2 \approx E(S_2) - E(D_0)$ erzeugt. Die kinetische Energie

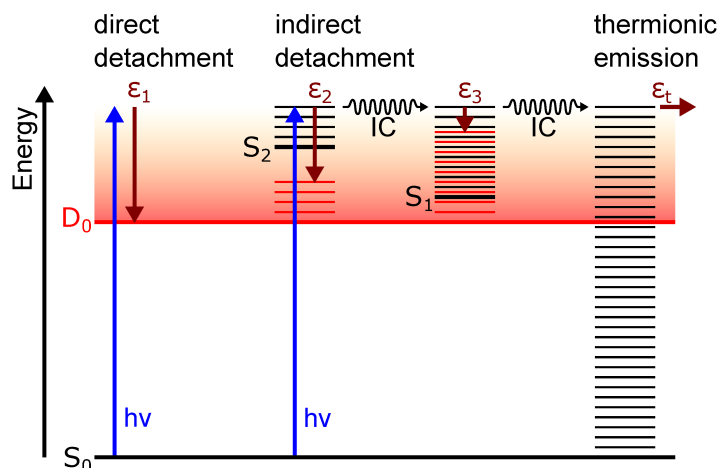


Abbildung 2.5.2: Schematisches Energieniveau-Diagramm zur Illustration von direktem (links) und indirektem Photodetachment (mittig) sowie thermionischer Emission (rechts). Erstellt nach Vorlage von [202].

der Photoelektronen ist für den beschriebenen Fall also in erster Näherung nur von der Energiedifferenz zwischen den involvierten Zuständen S_2 und D_0 abhängig.

Vom angeregten Zustand S_2 ist alternativ eine schnelle innere Konversion (engl. *internal conversion*, IC) in einen weiteren angeregten Zustand S_1 denkbar. Dies kann zur Emission von Elektronen mit kinetischen Energien nahe null ($\epsilon_3 \approx 0$) führen. Erfolgt hingegen eine innere Konversion zurück in den Grundzustand S_0 , so ist über eine vibronische Kopplung mit dem D_0 -Zustand sogenanntes Schwingungsautodetachment möglich.^[203] Bei hohen Schwingungszustandsdichten kann es zudem zur statischen Umverteilung der Schwingungsenergie kommen. Die darauf folgende sogenannte thermionische Emission äußert sich in einer charakteristischen Verteilung der kinetischen Energie der Elektronen.^[202]

$$P(\epsilon_t) \propto \sqrt{\epsilon_t} \cdot \exp\left(\frac{-\epsilon_t}{k_B T_{M\bullet}}\right) \quad (2.5.2)$$

In der Exponentialfunktion tauchen hier die Boltzmann-Konstante k_B sowie die Temperatur des neutralen Radikals $T_{M\bullet}$ auf.

Direkte können von indirekten Photodetachment-Mechanismen anhand der Abhängigkeit der kinetischen Energie der Elektronen von der Photonenenergie unterschieden werden. Beim direkten Photodetachment ist ein linearer Anstieg von E_{kin} mit $h\nu$ zu erwarten, während hingegen die kinetische Energie für den beschriebenen Fall des indirekten Vorgangs über einen gewissen Photonenenergiebereich konstant bleibt. Außerdem ist die Elektronenemission beim indirekten Detachment verzögert, abhängig von der Kopplungsstärke zwischen dem elektronisch angeregtem Zustand und dem Detachment-

Kontinuum erfolgt die Emission auf der fs- bis ps-Zeitskala.^[204]

Die elektronisch angeregten Zustände im Kontinuumbereich können entsprechend der involvierten Elektronenkonfiguration als SHAPE- oder FESHBACH-Resonanz klassifiziert werden.^[204] Dies ist in Abbildung 2.5.3 illustriert.

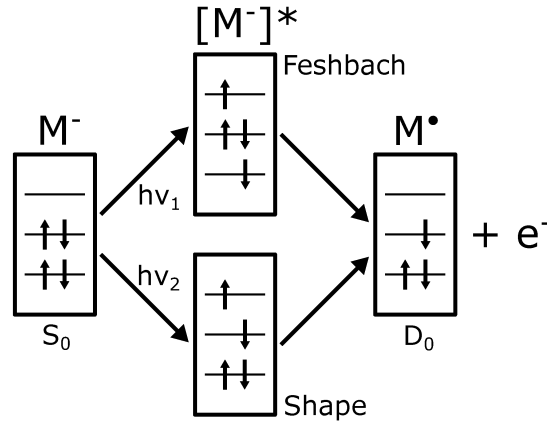


Abbildung 2.5.3: Schematische Darstellung der Änderung der Elektronenkonfiguration beim indirekten Photodetachment: $M^- \rightarrow [M^-]^* \rightarrow M^\bullet + e^-$. Beim elektronisch angeregten Zustand kann zwischen SHAPE (unten) und FESHBACH-Resonanzen (oben) unterschieden werden. Erstellt nach Vorlage aus Referenz [202] und [204].

Angeregte Zustände $[M^-]^*$ der SHAPE-Art müssen nur ein Elektron emittieren, um die Elektronenkonfiguration des neutralen Produkts zu erzielen. Im Falle von FESHBACH-Resonanzen ist zudem eine konzertierte elektronische Rekonfiguration notwendig, um den Grundzustand des neutralen Radikals M^\bullet zu erreichen. Daher ist in letzterem Fall die Kopplung zum Detachment-Kontinuum schwächer. Ein langsames Detachment ist die Folge.

Die experimentelle Bestimmung kinetischer Energien von Photoelektronen kann beispielsweise mittels Flugzeitmessung in Magnetflaschen^[205] oder über die Auswertung eines zweidimensionalen Elektronenbilds^[206] erfolgen. In letzterem Fall wird die Elektronenwolke, welche aus der Geschwindigkeitsverteilung der Photoelektronen folgt, auf einen ortsauflösenden Detektor abgebildet. Aus dem resultierenden Integral über die Projektionsachse kann auf die kinetischen Energien rückgeschlossen werden.

Bis zu diesem Punkt wurden einfach-geladene, geschlossenschalige Anionen als Vorgängerspezies für das Photodetachment diskutiert. Die erarbeiteten Konzepte sind prinzipiell auch für andere Anionen gültig, allerdings gibt es mitunter weitere Einflüsse zu beachten. So muss beispielsweise für mehrfach-geladene Anionen (engl. *multiply charged anions*, MCA) eine abstoßende COULOMB-Barriere (engl. *repulsive coulomb barrier*, RCB) zur

Elektronenemission überwunden werden.^[207–209] Dies ist in der Potentialenergie-Kurve in Abbildung 2.5.4 veranschaulicht.

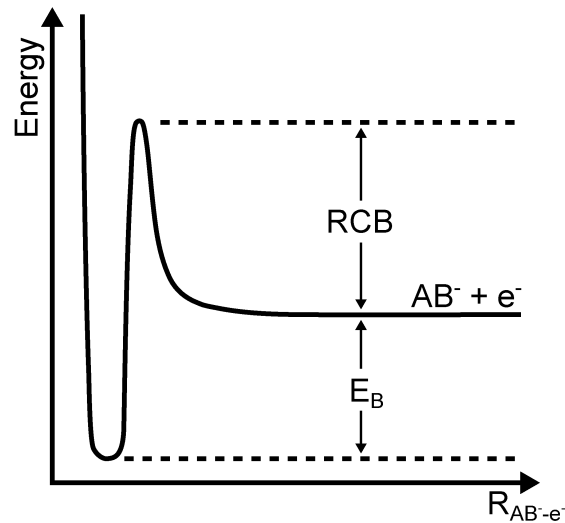


Abbildung 2.5.4: Schematische Potentialenergie-Kurve für das Photodetachment eines zweifachgeladenen Anion AB^{2-} . E_B ist die Bindungsenergie des Elektrons und RCB beschreibt die abstoßende COULOMB-Barriere. Die Darstellung wurde nach Vorlage durch Referenz [208] erstellt.

2.6 Circular dichroismus

Trifft elektromagnetische Strahlung auf ein optisch aktives Medium, wie beispielsweise chirale Moleküle, so können verschiedene Einflüsse beobachtet werden. Diese sind am Beispiel linear polarisierten Lichts (cyan), welches wiederum auch als Superposition zweier zirkular polarisierter Teilwellen (rot und grün) beschrieben werden kann, in Abbildung 2.6.1 illustriert.

Chirale Substanzen können links (LCP) und rechts (RCP) zirkular polarisiertes Licht unterschiedlich gut absorbieren. Dieser Effekt wird als Circular dichroismus bezeichnet und ist in Abbildung 2.6.1(a) veranschaulicht. Durch die stärkere Absorption einer der beiden Teilwellen (rot) beim Materialdurchgang resultiert aus einfallendem, linear polarisiertem Licht (links) schließlich elliptisch polarisiertes Licht (rechts), wobei die Hauptachse der Ellipse weiterhin in der horizontalen Ebene liegt.

Weiterhin können die Ausbreitungsgeschwindigkeiten von links und rechts zirkular polarisiertem Licht sich in einem optisch aktiven Medium unterscheiden, d. h. die Brechungsindizes n variieren für die beiden Helizitäten. Dies wird auch als zirkulare Dop-

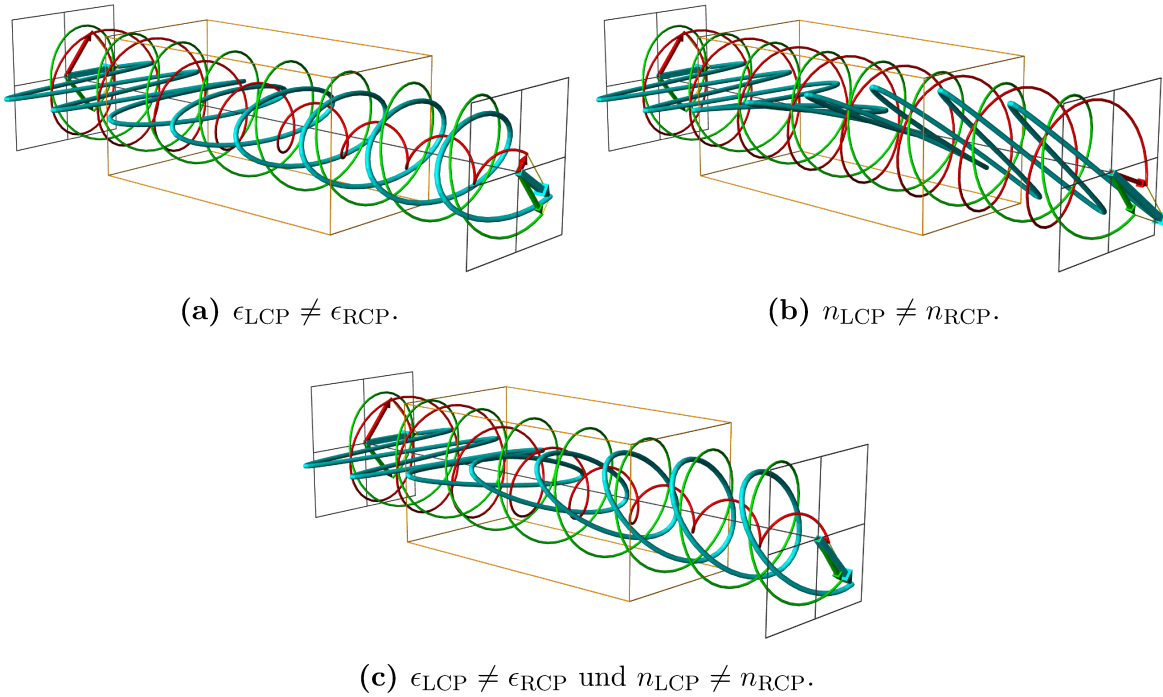


Abbildung 2.6.1: Schematische Darstellung des Einflusses eines optisch aktiven Materials auf den Polarisationszustand elektromagnetischer Strahlung. Linear polarisiertes Licht (cyan), welches auch durch eine Superposition von zirkular polarisierten Teilwellen (rot und grün) beschrieben werden kann, fällt von links nach rechts durch ein Material (orange) mit verschiedenen Eigenschaften: (a) Circulardichroismus, d. h. unterschiedliche Absorptionskoeffizienten $\epsilon_{\text{LCP}} \neq \epsilon_{\text{RCP}}$ (b) Zirkulare Doppelbrechung, d. h. unterschiedliche Brechungsindizes $n_{\text{LCP}} \neq n_{\text{RCP}}$ (c) Kombination von (a) und (b). Die Grafiken wurden erstellt mit [210].

pelbrechung bezeichnet. Die Folge ist in Abbildung 2.6.1(b) dargestellt. Durch einen im Material entstehenden Phasenverschub der beiden Teilwellen resultiert eine Rotation der Polarisationssebene in der Superposition.

Beide Effekte können gleichzeitig auftreten. Durch den Circulardichroismus ändert sich die Elliptizität des einfallenden Lichts in einem optisch aktiven Medium und gleichzeitig erfolgt durch die zirkulare Doppelbrechung bedingt eine Rotation der Polarisationssebene um die Ausbreitungsrichtung, siehe Abbildung 2.6.1(c).

Die Quantifizierung des Circulardichroismus erfolgt normalerweise anhand der unterschiedlichen Absorption A zirkular polarisierten Lichtes gemäß Gleichung 2.6.1.^[18]

$$\Delta A = A_{\text{LCP}} - A_{\text{RCP}} = \log_{10} \left(\frac{I_{\text{RCP}}}{I_{\text{LCP}}} \right) \quad (2.6.1)$$

Die Differenz der Absorptionen von Licht unterschiedlicher Helizität folgt aus der Messung der Lichtintensitäten I_{LCP} bzw. I_{RCP} hinter einer Probe. Alternativ kann der Circular dichroismus auch als Differenz der Absorptionskoeffizienten ϵ beschrieben werden:

$$\Delta\epsilon = \epsilon_{\text{LCP}} - \epsilon_{\text{RCP}} = \frac{1}{c \cdot l} \cdot \Delta A \quad (2.6.2)$$

Hierbei ist c die Konzentration und l die Schichtdicke. Da der Circular dichroismus-Effekt eine Veränderung des Polarisationszustands herbeiführt, ist in der Literatur auch häufig die Angabe von Elliptizitäten $\Psi = 32.98^\circ \cdot \Delta A$ bzw. spezifischen Elliptizitäten $[\Psi] = \Psi \cdot \rho^{-1} \cdot l^{-1}$ (mit der Dichte ρ) zu finden.^[18]

Beim sogenannten Anisotropie-Faktor g wird der Circular dichroismus auf die mittlere Absorption bezogen:

$$g = 2 \cdot \left(\frac{\epsilon_{\text{LCP}} - \epsilon_{\text{RCP}}}{\epsilon_{\text{LCP}} + \epsilon_{\text{RCP}}} \right) \quad (2.6.3)$$

Die Rotation der Polarisations Ebene in optisch aktiven Materialien als Folge der zirkularen Doppelbrechung kann mittels Polarimeter als Rotationswinkel α , auch Drehwert genannt, beziehungsweise als spezifischer Drehwert $[\alpha] = \alpha \cdot \rho^{-1} \cdot l^{-1}$ quantifiziert werden. Der Drehwert ist unter anderem von der Proben temperatur und der Wellenlänge des eingestrahlten Lichts abhängig. Die Untersuchung des Drehwertes in Abhängigkeit der Wellenlänge wird als optische Rotationsdispersion (ORD) bezeichnet. Generell wird eine hyperbolische Abhängigkeit des Drehwertes $\alpha \propto \lambda^{-1}$ beobachtet. In Absorptionsregionen kommt es durch den COTTON-Effekt jedoch zu anormalem Verhalten. Die optische Rotationsdispersionskurve ist über die KRAMERS-KRONIG-Transformation mit dem CD-Spektrum verknüpft.^[18]

Das CD-Spektrum kann zur Unterscheidung von Enantiomeren, Quantifizierung des Enantiomerenüberschusses (engl. *enantiomeric excess*, e.e.) und gegebenenfalls der Zuordnung der absoluten Konfiguration über einen Vergleich mit quantenchemischen Daten oder anderen Experimenten dienen. Ein großes Anwendungsgebiet der CD-Spektroskopie ist zudem die Aufklärung der Sekundär- und Tertiärstruktur biologischer Polymere, wie z. B. Peptide oder Proteine.^[18]

Die Fläche unter einer CD-Bande ist proportional zur sogenannten Rotationsstärke R_{ij} .

$$R_{ij} = \mu_{ij} m_{ij} \cos(\vec{\mu}, \vec{m}) \quad (2.6.4)$$

Das Ausmaß des zu beobachtenden Circular dichroismus beim Übergang von einem Zustand i in einen Zustand j ist somit abhängig von den Beträgen des elektrischen und magnetischen Übergangsdipolmoments μ_{ij} bzw. m_{ij} sowie dem Kosinus des Winkels

zwischen den zugehörigen Vektoren $\vec{\mu}$ und \vec{m} . Das elektrische Übergangsdipolmoment $\vec{\mu}$ beschreibt die Translation von Elektronendichte, während das magnetische Übergangsdipolmoment \vec{m} die Rotation von Elektronendichte charakterisiert.^[18]

Entsprechend der betrachteten Anregungsart bzw. des genutzten Wellenlängenbereichs wird zwischen dem elektronischen Circular dichroismus (engl. *electronic circular dichroism*, ECD) und dem Schwingungs-Circular dichroismus (engl. *vibrational circular dichroism*, VCD) unterschieden. In den beiden Bereichen können komplementäre Informationen gewonnen werden.^[18]

Die Messung von CD-Spektren erfolgt klassisch über Einphotonenabsorption in Lösung. Typische Anisotropiefaktoren g liegen dabei im Bereich von 10^{-4} .^[211] Im Rahmen der konventionellen CD-Spektroskopie stellt die Untersuchung von Gemischen eine besondere Herausforderung dar. Die Selektivität der Methodik ist durch recht breite Absorptions- und CD-Banden gelöster Analyten limitiert. Daher sind neue mehrdimensionale, chiroptische Methoden für die Gasphase konzipiert worden: Der Circular dichroismus in totalen Ausbeuten (engl. *photoion circular dichroism*, PICD) und der Circular dichroismus in Photoelektronen-Winkelverteilungen (engl. *photoelectron circular dichroism*, PECD) werden in den folgenden Abschnitten vorgestellt.

2.6.1 CD in Ionenausbeuten (PICD)

Durch die Kopplung von Massenspektrometrie und CD-Spektroskopie kann der Circular dichroismus gasförmiger Analyten massenaufgelöst untersucht werden. Eine solche mehrdimensionale Analysetechnik erlaubt einen Informationengewinn über die Chiralität sowie die chemische Identität der Probe ohne Umgebungseinflüsse durch z. B. Lösungsmittel.^[29] Somit wird die enantiosensitive Untersuchung von Substanzgemischen ohne vorhergehende Aufreinigungsschritte ermöglicht. Die Anwendung der Massenspektrometrie erfordert jedoch die Verdampfung nicht-gasförmiger Analyten.

Eine Messung des Circular dichroismus in der Intensitätsminderung zirkular polarisierten Lichts durch Absorption ist aufgrund der vergleichsweise geringen Analytdichten in der Gasphase wenig praktikabel. Daher wird der Circular dichroismus anhand der Differenz der totalen Ionenausbeuten Y bei Laserionisation mit zirkular polarisiertem Licht unterschiedlicher Helizität (LCP bzw. RCP) bestimmt (analog zum Anisotropiefaktor 2.6.3).^[38]

$$\text{PICD} = 2 \cdot \left(\frac{Y_{\text{LCP}} - Y_{\text{RCP}}}{Y_{\text{LCP}} + Y_{\text{RCP}}} \right) \quad (2.6.5)$$

Entsprechend dieser Definition wird vom Circular dichroismus in Ionenausbeuten (PICD)

gesprochen. Y_{LCP} und Y_{RCP} bezeichnen die nicht richtungsaufgelösten, totalen Ionenausbeuten für ein bestimmtes Masse-zu-Ladungsverhältnis bei Ionisation mit LCP bzw. RCP-Strahlung. Es sollte an dieser Stelle hervorgehoben werden, dass die Chiralitätsinformation – trotz der Bezeichnung des Effektes mit dem Schlagwort „Ion“ – analog auch in den totalen Ausbeuten der erzeugten Elektronen enthalten ist. Wie auch beim klassischen Circular dichroismus ist eine Vorzeicheninversion des PICD für unterschiedliche Enantiomere gegeben.

Zur Photoionisation wird häufig gepulste Laserstrahlung verwendet. Experimentell kann der Photoionisations-Vorgang dabei durch mehrere Photonen realisiert werden. Im Rahmen der sogenannten Resonanz-verstärkten Multiphotonenionisation (engl. *resonance enhanced multiphoton ionization*, REMPI) werden zudem resonante Zwischenzustände ausgenutzt. Für die Massenanalyse und Detektion erzeugter Ionen ist z. B. die Flugzeitmassenspektrometrie geeignet.^[212]

Für Fälle in denen der erste Anregungsschritt eines mehrstufigen Ionisationsvorgangs durch ein einzelnes Photon erfolgt, konnten Ähnlichkeiten zur klassischen CD-Spektroskopie hinsichtlich der Größe und des Vorzeichens des PICD festgestellt werden.^[212] Am Beispiel des 3-Methylcyclopentanon (3-MCP) wurde gezeigt, dass der Übergang ins Ionisationskontinuum in diesem Fall keine bzw. nur eine untergeordnete Rolle spielt und der PICD somit vom ersten, resonanten Anregungsschritt bestimmt wird.^[213] Für das Photodetachment von Anionen konnten jedoch PICD-Werte für einen Einphotonen-Übergang ins Kontinuum gemessen werden.^[111] Dies zeigt, dass prinzipiell auch für direkte Übergänge von gebundenen in ungebundene Zustände ein Circular dichroismus in totalen Ionenausbeuten auftreten kann.

Die Wahl eines bestimmten Anregungsschemas bestimmt den zu messenden PICD-Wert und die Zahl der in einem Anregungsschritt involvierten Photonen spielt dabei eine entscheidende Rolle. Im Falle der Photoionisation von 3-MCP über einen resonanten Zwischenzustands mittels zwei Photonen konnte beispielsweise eine erhebliche Verstärkung des CD in Ionenausbeuten verglichen mit dem klassischen ECD festgestellt werden.^[213] Für zwei Photonenanregungen gelten unterschiedliche Auswahlregeln, sodass andere Übergänge zugänglich werden.^[214] Während für den Einphotonen-CD die Kopplung von elektronischem und magnetischem Übergangsdipolmoment entscheidend sind, kann für zwei (oder mehr) Photonen zudem auch das elektrische Quadrupolmoment oder permanente Dipolmomente des initialen oder finalen Zustands eine Rolle spielen.^[36,215,216]

Der Circular dichroismus kann nicht nur in der reinen Photoionisation beobachtet wer-

den, sondern auch in der Photodissoziation bzw. Fragmentation von chiralen Analytmolekülen. So konnten beispielsweise große Unterschiede des PICD von Vorläufer- zu Fragmentationen beobachtet werden.^[37,217]

Ein REMPI-Prozess ist im Allgemeinen hoch selektiv, dies ist jedoch für ein Analyseverfahren nicht zwangsweise vorteilhaft, da z. B. für die Untersuchung von Gemischen eine gleichzeitige Ionisation unterschiedlicher Komponenten von Interesse sein kann. Daher wurden nicht-resonante Multiphotonenionisations- sowie Tunnelionisations-Ansätze entwickelt.^[33,42,43]

Aufgrund einer Abhängigkeit des PICD von zufälligen sowie systematischen Veränderungen der Laserintensität I – insbesondere bei nicht-linearen Anregungsvorgängen – und der Analytdichte zwischen den Messungen mit unterschiedlichen Polarisierungen, werden häufig interne Standards genutzt. So kann beispielsweise eine achirale Referenzsubstanz parallel untersucht werden, um künstliche bzw. instrumentelle Asymmetrien zu identifizieren und korrigieren.^[212] Weiterhin wurde von BOESL et al. die sogenannte *twin peak method* entwickelt, welche die Erfassung von Ionenausbeuten für beide Helizitäten mit einem einzigen Laserpuls ermöglicht.^[212]

2.6.2 CD in Photoelektronen-Winkelverteilung (PECD)

Die Ionisation mit zirkular polarisiertem Licht unterschiedlicher Helizität hat nicht nur Einfluss auf die zu beobachtenden Gesamtausbeuten von Ionen respektive Elektronen, sondern führt auch zu Veränderungen in der Winkelverteilung der emittierten Photoelektronen.

In der elektrischen Dipolnäherung lautet die allgemeine Form der normalisierten Photoelektronen-Winkelverteilung für eine zufällige Orientierung des Vorgängerteilchens wie folgt:^[80]

$$I^{(p)}(\theta) = 1 + \sum_{l=1}^{2N} b_l^{(p)} P_l(\cos \theta) \quad (2.6.6)$$

$$= 1 + b_1^{(p)} \cos \theta + b_2^{(p)} \cdot \frac{1}{2}(3 \cos^2 \theta - 1) \text{ für } N = 1 \quad (2.6.7)$$

Der Winkel θ beschreibt die Emissionsrichtung von Photoelektronen relativ zur Ausbreitungsrichtung des Lichts, wobei der Parameter (p) den Polarisationszustand des verwendeten Lichts angibt. Für linear polarisiertes Licht gilt $p = 0$, während Werte von $p = +1$ und $p = -1$ links bzw. rechts zirkular polarisiertem Licht entsprechen. P_l sind die LEGENDRE-Polynome l -ter Ordnung mit den zugehörigen Koeffizienten b_l . Die

Summe in Gleichung 2.6.6 läuft über die zweifache Anzahl der involvierten Photonen N . Im Rahmen dieser Arbeit sind lediglich Einphotonenprozesse untersucht worden. Die für diesen Fall relevante Photoelektronenwinkelverteilung ist durch Gleichung 2.6.7 gegeben sowie in Abbildung 2.6.2 für eine Reihe von Koeffizienten b_1 und b_2 aufgetragen.

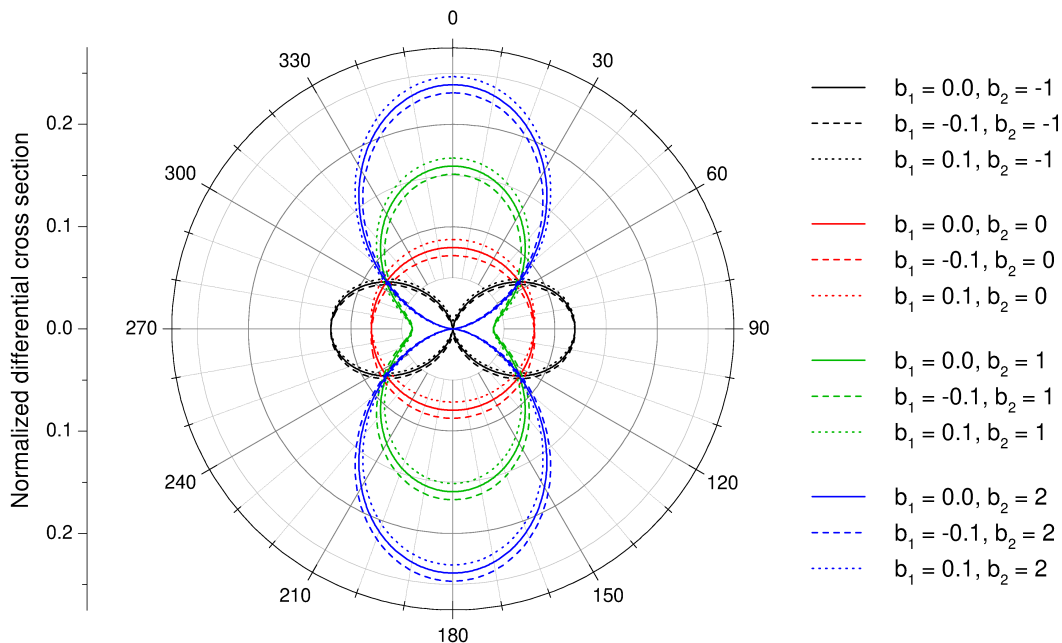


Abbildung 2.6.2: Illustration von Photoelektronen-Winkelverteilungen: Polare Auftragung normierter, differentieller Querschnitte als Funktion des Austrittswinkel θ relativ zur Laserausbreitungsrichtung für unterschiedliche Koeffizienten b_1 und b_2 . Die Linienart (durchgezogen, gestrichelt, gepunktet) zeigt verschiedene b_1 -Koeffizienten (0, -0.1, +0.1) an und unterschiedliche Farben (schwarz, rot, grün, blau) kennzeichnen verschiedene b_2 -Koeffizienten (-1, 0, 1, 2).

Wie in Abbildung 2.6.2 zu erkennen, bestimmen die b_l -Koeffizienten die Form der Photoelektronen-Winkelverteilung. Die Koeffizienten b_1 und b_2 hängen sowohl von der Polarisierung des verwendeten Lichtes als auch von der Dynamik der Photoionisation bzw. des Photodetachments ab. Aus Symmetriebetrachtungen können folgende Eigenschaften festgestellt werden:^[68]

$$b_1^{(0)} = 0 \quad (2.6.8)$$

$$b_1^{(+1)} = -b_1^{(-1)} \quad (2.6.9)$$

$$b_2^{(\pm 1)} = -\frac{1}{2}b_2^{(0)} \quad (2.6.10)$$

Der Term erster Ordnung in Gleichung 2.6.6 verschwindet für linear polarisiertes Licht gemäß Bedingung 2.6.8 und auch für achirale Moleküle gilt in jedem Fall $b_1^{(p)} = 0$. Das heißt nur für die Ejektion von Elektronen aus chiralen Substanzen mit zirkular polarisiertem Licht kann ein Koeffizient $b_1^{(p)}$ ungleich null beobachtet werden und der erste cos-Term in Gleichung 2.6.6 bleibt erhalten. Dieser hat eine Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrie in der Photoelektronen-Winkelverteilung zur Folge, wie in Abbildung 2.6.2 erkenntlich. Für eine Umkehr der Helizität des Lichtes folgt gemäß der Symmetrie-Bedingung 2.6.9 eine Vorzeichenänderung des Koeffizienten b_1 und damit eine Spiegelung der Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrie, siehe Abbildung 2.6.2. Diese Inversion bezüglich der bevorzugten Photoelektronenemissionsrichtung gilt nicht nur beim Wechsel der Helizität des Lichtes, sondern kann auch für den Austausch eines chiralen Analyten gegen sein Spiegelbild (Enantiomer) beobachtet werden.

Der Koeffizient $b_2^{(0)}$, welcher die Photoelektronen-Winkelverteilung für linear polarisiertes Licht bestimmt, ist auch als Anisotropiefaktor β in der Literatur bekannt. Der Zusammenhang mit dem Koeffizienten $b_2^{(\pm 1)}$ für zirkular polarisiertes Licht ist durch Gleichung 2.6.10 gegeben.

Die unterschiedliche Antwort eines chiralen Systems auf zirkular polarisierte Strahlung umgekehrter Helizität hinsichtlich der Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrie in der Photoelektronenwinkelverteilung wird als Photoelektronen-Circulardichroismus (PECD) bezeichnet. Für die Differenz der Photoelektronen-Winkelverteilung mit links und rechts zirkular polarisiertem Licht $I_{\text{diff}}(\theta)$ folgt aus den Gleichungen 2.6.7 und 2.6.9:

$$I_{\text{diff}}(\theta) = I^{(+1)}(\theta) - I^{(-1)}(\theta) = 2b_1^{(+1)} \cos \theta = -2b_1^{(-1)} \cos \theta \quad (2.6.11)$$

Der Circulardichroismus in der Photoelektronen-Winkelverteilung wird also ausschließlich durch den Koeffizienten b_1 bestimmt. Die maximale Differenz $I_{\text{diff}}(\theta)$ wird entlang der Lichtausbreitungsrichtung in Vorwärts- (0°) bzw. Rückwärtsrichtung (180°) beobachtet, daher wird der Einphotonen-PECD folgendermaßen definiert:^[47,80]

$$\text{PECD}_p \equiv 2b_1^{(p)} \quad (2.6.12)$$

Für Mehrphotonen-Prozesse sind weitere ungerade LEGENDRE-Koeffizienten zu berücksichtigen.^[47,83]

Der PECD kann experimentell durch Detektion der in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung

emittierten Elektronen quantifiziert werden.^[47]

$$\text{PECD}_p = 4 \cdot \frac{Y_{p,\text{FWD}} - Y_{p,\text{BWD}}}{Y_{p,\text{FWD}} + Y_{p,\text{BWD}}} \quad (2.6.13)$$

In Gleichungen 2.6.13 bezeichnet $Y_{p,d}$ die jeweiligen Elektronenausbeuten in Vorwärts- ($d = \text{FWD}$) und Rückwärts-Richtung ($d = \text{BWD}$) für links ($p = \text{LCP}$) oder rechts ($p = \text{RCP}$) zirkular polarisiertes Licht.

$$Y_{p,\text{FWD}} = \int_0^{2\pi} \int_0^{\frac{\pi}{2}} I^{(p)}(\theta) \sin \theta d\theta d\phi \quad (2.6.14)$$

$$Y_{p,\text{BWD}} = \int_0^{2\pi} \int_{\frac{\pi}{2}}^{\pi} I^{(p)}(\theta) \sin \theta d\theta d\phi \quad (2.6.15)$$

Einsetzen der entsprechenden Integrale über beide Hemisphären der Winkelverteilung 2.6.14 und 2.6.15 beweist die Äquivalenz von 2.6.13 mit der Definition 2.6.12.^[47]

Der PECD kann – im Gegensatz zum klassischen CD und dem PICD – wie Gleichung 2.6.13 zeigt unter Nutzung von zirkular polarisierter Strahlung nur einer Helizität bestimmt werden. Im Regelfall werden aber auch hier beide Polarisierungen LCP und RCP untersucht, da unter Nutzung der folgenden Symmetriebedingungen (Gl. 2.6.16 und 2.6.17) instrumentelle Asymmetrien aufgehoben werden können.

$$Y_{\text{LCP},d} = -Y_{\text{RCP},d} \quad (2.6.16)$$

$$Y_{p,\text{FWD}} = -Y_{p,\text{BWD}} \quad (2.6.17)$$

Zu diesem Zweck wird ein symmetrisierter PECD-Wert definiert, welcher die halbe Differenz zwischen dem PECD für links und rechts zirkular polarisiertes Licht beschreibt.^[53]

$$\text{PECD} = \frac{\text{PECD}_{\text{LCP}} - \text{PECD}_{\text{RCP}}}{2} \quad (2.6.18)$$

$$= 2 \cdot \left(\frac{Y_{\text{LCP},\text{FWD}} - Y_{\text{LCP},\text{BWD}}}{Y_{\text{LCP},\text{FWD}} + Y_{\text{LCP},\text{BWD}}} - \frac{Y_{\text{RCP},\text{FWD}} - Y_{\text{RCP},\text{BWD}}}{Y_{\text{RCP},\text{FWD}} + Y_{\text{RCP},\text{BWD}}} \right) \quad (2.6.19)$$

Im Vergleich zum PICD fällt auf, dass der PECD ebenfalls die Form eines klassischen Anisotropie-Faktors besitzt (siehe Gleichung 2.6.13), allerdings bedingt durch die Definition $\text{PECD} \equiv 2b_1^{(p)}$ einen zusätzlichen Faktor 2 aufweist. Die Anisotropie liegt im Falle des PECD in partiellen Ausbeuten in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung, während für den PICD die totalen Ausbeuten $Y_p = Y_{p,\text{FWD}} + Y_{p,\text{BWD}}$ betrachtet werden. Aus den PECD-Daten für beide Licht-Helizitäten können demzufolge PICD-Werte ermittelt

werden.

Der PECD ist orbital-spezifisch und abhängig von der kinetischen Energie des emittierten Elektrons respektive der eingestrahlten Wellenlänge.^[68,80,218,219] Außerdem zeigt dieser chiroptische Effekt eine sehr ausgeprägte Abhängigkeit von der Molekülstruktur, wie bei Untersuchungen von chemisch substituierten Spezies^[218], Konstitutionsisomeren^[220], Clustern^[221–223] und Konformeren^[55–60,62,224,225] gezeigt werden konnte. Neben den genannten statischen Struktureigenschaften, sind weiterhin starke Einflüsse auf den PECD durch dynamische Strukturveränderungen wie Schwingungen möglich.^[63,65–67,226,227]

Der PECD-Effekt entsteht primär durch eine Streuung des emittierten Elektrons im chiralen Molekülpotential.^[68,228] Dies hat zur Folge, dass auch für sphärische oder weit entfernte Ausgangsorbitale eine deutliche Asymmetrie in der Photoelektronen-Winkelverteilung beobachtet werden kann.^[56,229–231] Die ausgeprägte Sensitivität auf nur kleine Änderungen im Molekülpotential kommt durch die besondere Phasenabhängigkeit des Interferenzmusters von Partialwellen bei der Streuung des Photoelektrons zustande.^[68] Der totale Wirkungsquerschnitt zeigt keine Phasenabhängigkeit und der b_2 -Koeffizient wird lediglich teilweise vom Kosinus der relativen Phase beeinflusst, der b_1 -Koeffizient hingegen hängt direkt vom Sinus der relativen Phase zwischen Partialwellen des gestreuten Elektrons ab.^[68] Letzteres hat zur Folge, dass der PECD bereits durch minimale Phasendifferenzen beeinflusst werden kann, während der Anisotropie-Koeffizient b_2 aufgrund der Kosinus-Abhängigkeit bei Differenzen nahe null kaum empfindlich gegenüber Veränderungen ist.

Da der PECD aus Quanteninterferenzen von Partialwellen des Photoelektrons resultiert, ist das Vorzeichen und das Ausmaß des Effektes nicht intuitiv vorherzusagen. Allerdings ist eine Berechnung mittels quantenmechanischer Methoden möglich.^[68] Für die Einphotonen-Ionisation^[45] werden Mehrzentren-Ansätze wie die CMS- $X\alpha$ -^[232] und B-spline LCAO DFT-Methode^[73] sowie ein Einzentren-Ansatz^[74] verwendet. Während für den PECD von Elektronen aus Kernschalen qualitativ und quantitativ gute Übereinstimmungen mit Experimenten erzielt werden, sind immer wieder Diskrepanzen im Valenzbereich zu beobachten.^[218,220,233] Für die später entstandene Variante der Untersuchung des PECD durch Mehrphotonen-Ionisation^[46,47] wurden weitere quantenchemische Ansätze zur Berechnung des PECD entwickelt.^[75–79]

Die Erzeugung von Photoelektronen zur Messung des PECD kann auf verschiedene Art und Weise realisiert werden. Wie bereits angedeutet, ist dies durch Einphotonen- oder Multiphotonen-Ionisation möglich, aber das Konzept kann auch in den Bereich der Above-Threshold- (ATI) und Tunnelionisation (TI) ausgedehnt werden.^[50]

Beim weitverbreiteten REMPI-Ansatz kann eine Abhängigkeit des PECD vom Zwischenzustand auftreten.^[50,107,234] Die Nutzung von resonanten Zwischenzuständen kann zudem eine Ausrichtung zur Folge haben.^[77,108,110,235] Auch im Kontinuum können Einflüsse durch Resonanzen beobachtet werden.^[233,236–238]

Die experimentelle Erfassung der Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrie in Photoelektronen-Winkelverteilung ist auf verschiedene Art und Weise möglich. Als besonders vorteilhaft hat sich die Abbildung der Elektronenwolke auf einen orts aufgelösten Detektor gezeigt.^[46,83,239] Aus dem resultierenden Elektronenbild kann der PECD durch Integration der Hemisphären oder Anpassung gemäß Gleichung 2.6.6 berechnet werden. Um den PECD massenaufgelöst zu untersuchen, können Koinzidenz-Ansätze verwendet werden.^[47,53]

Es sollte noch betont werden, dass der hier beschriebene PECD-Effekt nicht mit dem CDAD (engl. *circular dichroism in angular distributions*) verwechselt werden sollte. Letzterer beschreibt Asymmetrien orthogonal zur Lichtachse, welche bei orientierten Analyten beobachtet werden kann. Der CDAD ist nicht enantiosensitiv und verschwindet im Mittel über alle Orientierungen.^[68,108]

Der PECD kann Anwendung in der qualitativen und quantitativen Differenzierung von Enantiomeren finden. Die Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen (engl. *enantiomeric excess*, e.e.) wurde für Gemische aus einem Enantiomerenpaar^[69,81,220] sowie mehreren Enantiomerenpaaren gezeigt.^[82] Der PECD ist dabei in seinem Informationsgehalt komplementär zum PICD, da unterschiedliche physikalische Effekte involviert sind.^[53]

3 Experimenteller Aufbau

In diesem Kapitel wird der im Rahmen dieser Arbeit zur chiroptischen Untersuchung von elektrosprayten Ionen neu entworfene Messaufbau vorgestellt. Zunächst wird eine experimentelle Übersicht gegeben. Anschließend werden die einzelnen Komponenten, angefangen bei der Elektrosprayionisationsquelle, über die Ionenführungsbauteile bis hin zum Flugzeitmassenspektrometer und dem ns-Laser, detailliert beschrieben. Schließlich wird der Ablauf von CD-Messroutinen dargelegt.

3.1 Übersicht

In Abbildung 3.1.1 ist eine schematische Übersicht des verwendeten experimentellen Aufbaus dargestellt. Analytionen werden in einer Elektrosprayionisations-Quelle (ESI) erzeugt und in einer linearen Multipolfalle angereichert. Im Rahmen dieser Arbeit wurde sich auf die Untersuchung von Anionen konzentriert, prinzipiell ist jedoch auch die Generierung von Kationen mittels ESI möglich. Einzelne Ionenpakete werden aus der Falle extrahiert und anschließend orthogonal mit einem gepulsten Nd:YAG-Laser überlagert. Für chiroptische Messungen wird dazu zirkular polarisierte Laserstrahlung über ein $\lambda/4$ -Wellenplättchen erzeugt. Die Vorläuferionen und photochemischen Produkte können auf zwei verschiedene Mikrokanalplatten-Detektoren abgebildet werden. Mit Hilfe eines linearen Flugzeitmassenspektrometers (TOF-MS) ist eine Separation der verbleibenden sowie neu erzeugten Ionen gemäß ihres Masse-zu-Ladungsverhältnisses möglich. Anhand der Differenz von Massenspektren mit und ohne Laser können photochemische Vorgänge, wie z. B. Photodetachment, beobachtet werden. Dies erlaubt die massenaufgelöste Untersuchung des Zirkulardichroismus in Ionenausbeuten (PICD). Durch Projektion von entstehenden Photoelektronen auf einen MCP-Detektor mit zwei Halbkreisanothen, welche entlang der Laserachse ausgerichtet sind, ist zudem die Quantifizierung von Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrien in deren Winkelverteilung (PECD) möglich.

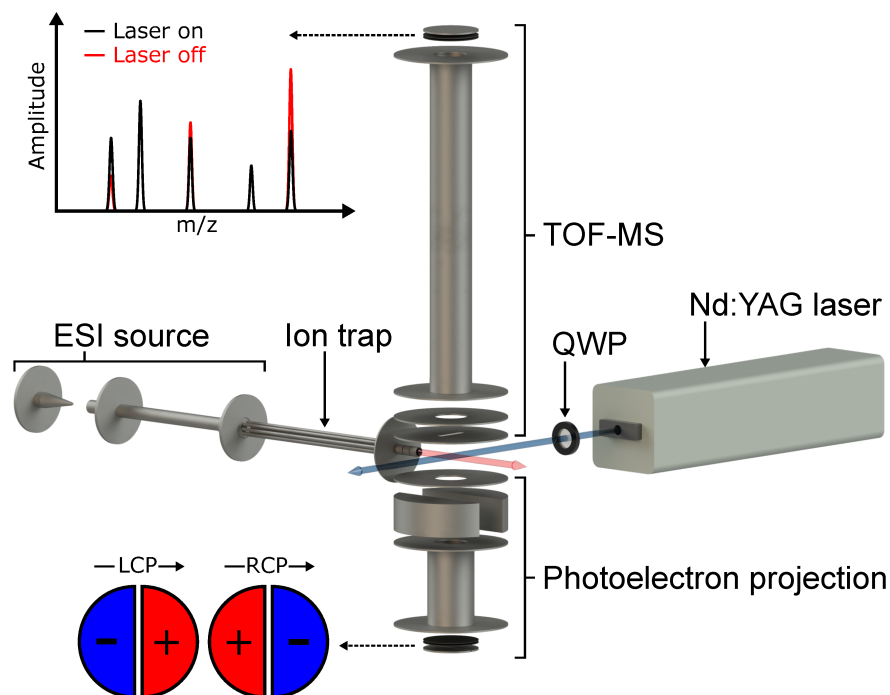


Abbildung 3.1.1: Schematische Übersicht über den experimentellen Aufbau des Chiralitätsspektrometers: Ionen werden mittels Elektrosprayionisation erzeugt, in einer Oktopolfalle angereichert und mit zirkular polarisierten Nd:YAG-Laserpulsen überlagert. Vorläufer- und Produktionen werden in einem Flugzeitmassenspektrometer analysiert (oben). Entstehende Photoelektronen können auf einen zweigeteilten Detektor projiziert werden, um Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrien zu erfassen (unten).^[240]

3.2 Elektrosprayionsations-Flugzeitmassenspektrometer

Nachdem ein Überblick über die allgemeine Funktionsweise des Aufbaus gegeben wurde, soll im Folgenden nun genauer auf das Elektrosprayionsations-Flugzeitmassenspektrometer (ESI-TOF-MS) eingegangen werden. Dazu zeigt Abbildung 3.2.1 Schemata der neu entworfenen Apparatur mit sämtlichen relevanten Komponenten.

Die Analytlösung von Interesse wird durch eine unter Hochspannung stehende Edelstahl-Kapillare geleitet. Das dabei zustande kommende Elektrospray kann durch Einleitung von Stickstoff hinsichtlich Verneblung und anschließender Desolvatisierung unterstützt werden. Die gebildeten, geladenen Tröpfchen werden über eine beheizte Kapillare in eine erste Vakuumstufe ($p \approx 1$ mbar) transferiert. Die erhöhte Temperatur beschleunigt dabei die Lösungsmittelverdampfung, sodass schließlich gemäß den Ausführungen in Kapitel 2.1 Ionen freigesetzt werden. Die Ionen werden mit Hilfe einer Rohrlinse durch einen

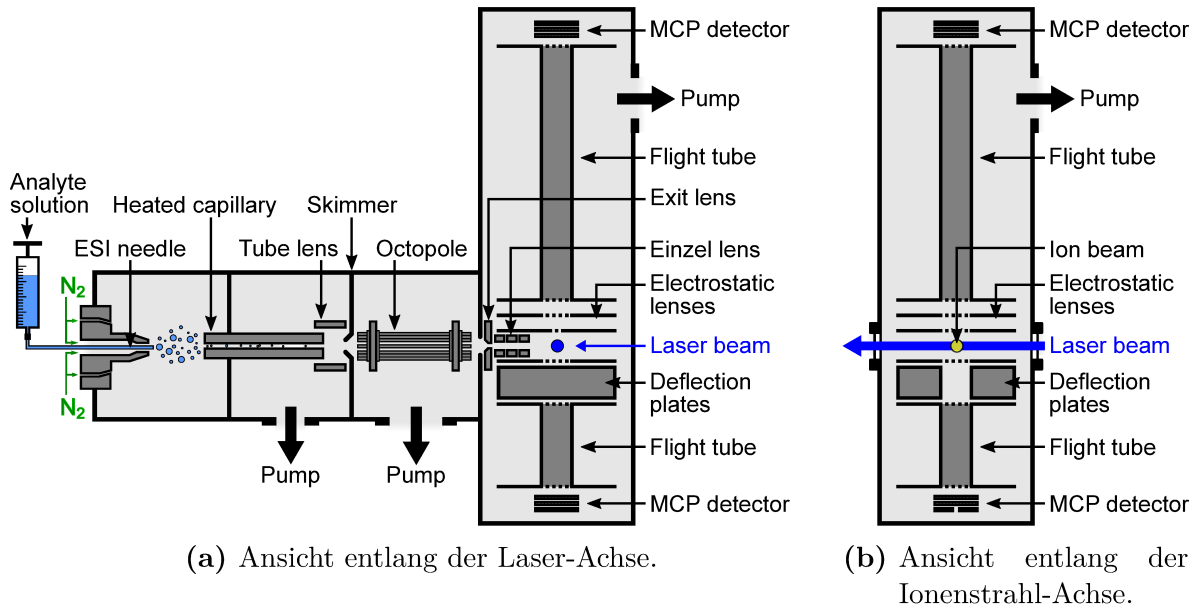


Abbildung 3.2.1: Schematische Darstellung des Elektrosprayionsations-Flugzeitmassenspektrometers (ESI-TOF-MS) in Querschnitten mit beschrifteten Komponenten.

Skimmer in eine weitere Druckstufe ($p \approx 5 \cdot 10^{-3}$ mbar) geleitet. Dort werden die Analytionen in einer linearen Oktopolfalle gespeichert. Durch kurze Spannungspulse an der Ausgangslinse werden einzelne Ionenpakete in die letzte Druckstufe ($p \approx 5 \cdot 10^{-6}$ mbar) beschleunigt. Im Hochvakuum erfolgt eine Fokussierung des gepulsten Ionenstrahls mit Hilfe einer Einzellinse. Anschließend ist eine räumliche und zeitliche Überlagerung der Ionen mit Laserpulsen in orthogonaler Geometrie möglich. Durch Extraktionsfeldpulse werden die verbliebenen sowie neu erzeugten Ladungsträger entsprechend ihrer Polarität auf die vorhandenen Detektoren abgebildet. Den oberen Bereich der Analysenkammer bildet ein dreistufiges lineares Flugzeitmassenspektrometer, welches die quantitative Erfassung von photochemischen Prozessen an elektrosprayten Ionen erlaubt. Der Circular dichroismus in Photoionisation, -detachment sowie -dissoziation kann auf diese Weise massenaufgelöst untersucht werden. Im unteren Teil der Apparatur schließen sich an den Extraktionsbereich zwei Ablenkungsplatten sowie ein kurzes Flugrohr an. Der sich hier befindliche Mikrokanalplatten-Detektor (MCP) zeichnet sich durch eine zweigeteilte Anode aus und dient der Messung von Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrien in Photoelektronen-Winkelverteilungen entlang der Laser-Achse. Durch Querfelder zwischen den Ablenkplatten auf selbiger Achse kann das Elektronenbild zentriert werden, um apparative Asymmetrien zu kompensieren.

In den nachfolgenden Unterkapiteln wird auf das technische Design der einzelnen Baugruppen eingegangen. Außerdem werden die zeitliche Synchronisation sowie die Datenverarbeitung beschrieben.

3.2.1 Elektrosprayionisationsquelle

Die eingesetzte ESI-Quelle entstammt einem SSQ700-Massenspektrometer von FINNIGAN MAT, welches von Prof. STEPHAN SCHILLER (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) bereitgestellt wurde. Das modulare Bauteil, dargestellt im Halbschnitt in Abbildung 3.2.2, wurde für die neue Anwendung mit einer eigenständigen Ansteuerung versehen. Die Spannungs- und Stromversorgung sämtlicher Komponenten wird über zwei Module, gebaut in der Elektronikwerkstatt am Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg, realisiert.

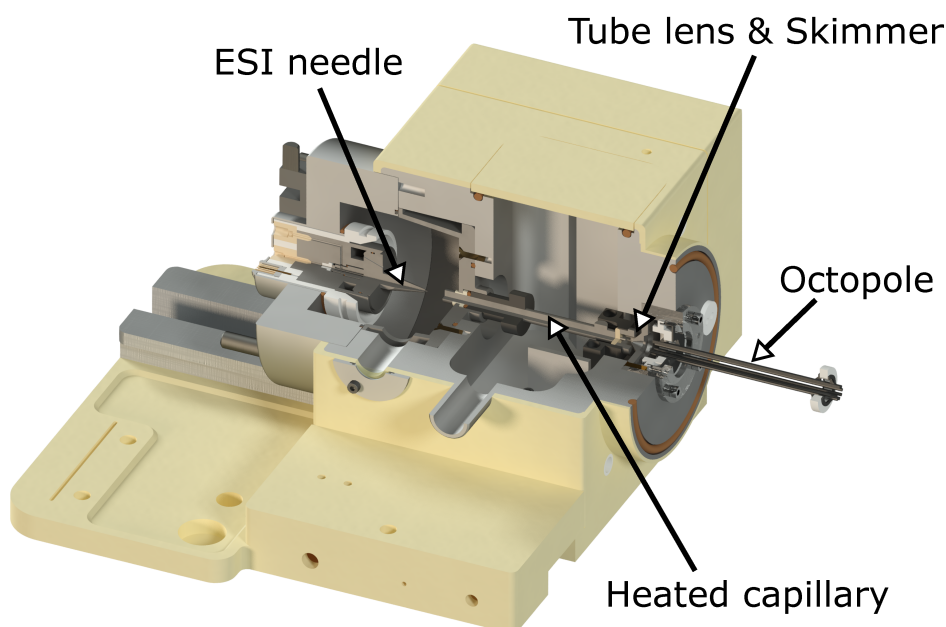


Abbildung 3.2.2: Rendering der ESI-Quelle eines SSQ700-Massenspektrometers im Halbschnitt. Von links nach rechts: ESI-Nadel, beheizte Kapillare, Rohrlinse, Skimmer, Oktopol.

Die Probenzufuhr erfolgt aus SGE-Spritzen mit Volumina von 250 μL (Innendurchmesser = 2.3 mm) oder 10 mL (Innendurchmesser = 14.57 mm) über eine Spritzenpumpe Model 22 von HARVARD APPARATUS. Die Analytlösung wird durch eine mittels LUER-Lock angeschlossene Kunststoff-Kapillare zu einem gerdeten Fitting geleitet. Dort erfolgt der

Übergang in eine Quarzglaskapillare (Innendurchmesser = 100 μm , Außendurchmesser = 190 μm), welche wiederum besagte Lösung in den Spraykopf führt. Mit Flussraten zwischen 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ und 1000 $\mu\text{L}/\text{min}$ wird die Analytlösung in die ESI-Nadel, eine unter Spannung stehende Edelstahlkapillare mit 200 μm Innendurchmesser, gepumpt.

Es ist möglich Hochspannungen von bis zu $\pm 8\text{ kV}$ anzulegen, typische Spannungswerte liegen jedoch im Bereich von $\pm 3\text{ kV}$ bis $\pm 5\text{ kV}$. Die Polarität wird entsprechend der zu erzeugenden Ionensorte gewählt. Positive Polaritäten führen zur Bildung von Kationen, während im negativen Modus Anionen entstehen. In dieser Arbeit wurde sich auf die Erzeugung und Untersuchung von Anionen fokussiert, dennoch wurden alle Komponenten des ESI-TOF-MS so entworfen, dass auch problemlos Kationen-Studien möglich sind.

Der Elektrosprayprozess kann über die Einleitung von trockenem Stickstoff als Ummantelungsgas (engl. *sheath gas*) und/oder Hilfsgas (engl. *auxiliary gas*) hinsichtlich Verneblung und Desolvatisierung unterstützt werden. Die Stickstoffversorgung wird über den in Abbildung 3.2.3 schematisch gezeigten Aufbau gesteuert.

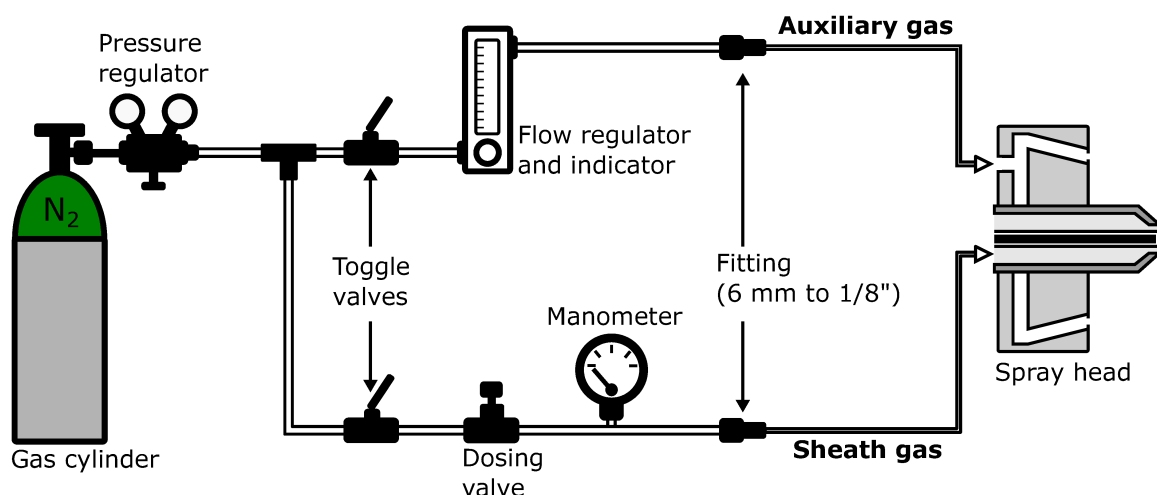


Abbildung 3.2.3: Schema der N₂-Gaszufuhr der ESI-Quelle: Aus einer Gasflasche wird trockener Stickstoff mittels verschiedener Ventile als Ummantelungsgas (engl. *sheath gas*) und/oder Hilfsgas (engl. *auxiliary gas*) in den Spraykopf eingeleitet.

Das Ummantelungsgas stabilisiert den Elektrosprayvorgang und wird standardmäßig mit Drücken zwischen 1 bar und 5 bar zugeführt. Die Verwendung des Hilfsgases ist nur für Flussraten jenseits von 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ oder bei Verwendung von wenig flüchtigen Lösungsmitteln empfehlenswert.^[241] Bei kleinen Flussraten ($\leq 20\ \mu\text{L}\ \text{min}^{-1}$), wie sie in dieser Arbeit genutzt wurden, war keine Hilfsgaszufuhr notwendig.

In einem Abstand von 15 mm zur Spraynadel befindet sich die beheizte Edelstahl-

Kapillare mit einem Innendurchmesser von 400 μm und einer Länge von 113.5 mm. Die Kapillare bildet den Übergang in die erste Vakuumzone für die geladenen Tröpfchen des Elektrosprays und wird standardmäßig auf eine Temperatur von 200 °C geheizt, um die Lösungsmittelverdampfung zu unterstützen. Zudem können Spannungen von bis zu ± 200 V angelegt werden. Typische Spannungswerte liegen jedoch zwischen 0 V und ± 50 V. Die erste Vakuumstufe wird durch eine ALCATEL 2033 Drehschieberpumpe mit einem Saugvermögen von $33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ evakuiert. Unter Spraylast werden Drücke von ungefähr 1 mbar erreicht. Fällt der durch eine Pirani-Messröhre (TPR 010 von PFEIFFER VACUUM) gemessene Druck merklich, so ist dies ein Indikator für eine Verstopfung der Kapillare. Die aus der Kapillare austretenden Ionen werden mittels einer Rohrlinse durch einen Skimmer geleitet, welcher auf Massepotential liegt. Die Skimmeröffnung (Durchmesser = 1 mm) ist gegenüber dem Ausgang der beheizten Kapillare dabei leicht versetzt, sodass die Gaslast durch Neutralteilchen für die nächste Stufe reduziert wird. Um die ionischen Spezies mittels der Rohrlinse in die nächste Druckstufe zu leiten, können Spannungen von bis zu ± 200 V angelegt werden. Die besten Ergebnisse werden zwischen ± 40 V und ± 150 V beobachtet.^[241] Direkt an den Skimmer schließt sich ein linearer Oktopol an. Das Bauteil, welches ebenfalls dem SSQ700-Massenspektrometer entstammt, bildet den Abschluss der ESI-Einheit und wurde im Rahmen dieser Arbeit zu einer Ionenfalle erweitert.

3.2.2 Ionenfalle und Ionentransferoptiken

Der *RF-only*-Oktopol besteht aus acht Stabelektroden mit einem Radius von 1 mm und 117.5 mm Länge. Der innere Multipoldurchmesser beträgt 5.5 mm. Im Quadrupolmassenspektrometer SSQ700 wurde der Oktopol ursprünglich ausschließlich zur axialen Ionenführung und nicht als Ionenfalle verwendet. Für diskontinuierliche Experimente, in diesem Fall die Kopplung der ESI-Quelle mit einem gepulsten Laser sowie einem Flugzeitmassenspektrometer, ist jedoch die Nutzung als lineare Multipolfalle von großem Vorteil. Durch die Speicherung der Ionen mit anschließender Ejektion in komprimierten Ionenpaketen kann die Ionendichte im Laser-Interaktionsvolumen und damit auch der Auslastungsgrad des Gerätes (engl. *duty cycle*) enorm gesteigert werden.

In Abbildung 3.2.4 ist der schematische Aufbau der Ionenoptiken zwischen ESI-Quelle und TOF-MS, bestehend aus der Oktopol-Ionenfalle und einer Einzellinse, inklusive des Potentialverlaufs entlang der Ionenführungsachse gezeigt.

Durch einen Skimmer auf Massepotential treten die Ionen aus der ESI-Quelle in den Oktopol ein. Der Oktopol wird zusätzlich zur Wechsellspannung der Amplitude $U_{\text{oct,RF}}$

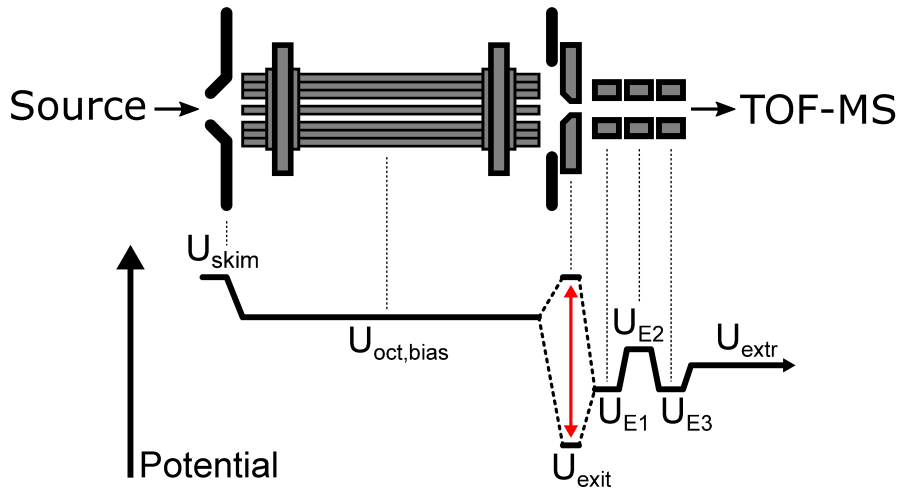
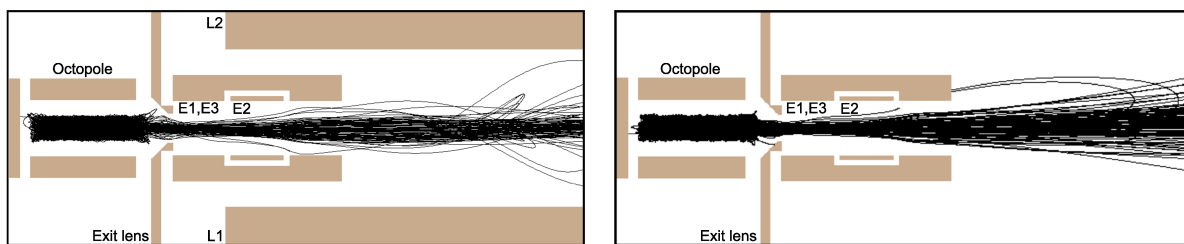


Abbildung 3.2.4: Schematischer Aufbau der Ionenoptiken zwischen Ionenquelle und Flugzeitmassenspektrometer inklusive Potentialverlauf. Ionen werden im linearen Oktupol mit dem Bias-Potential $U_{\text{oct,bias}}$ und der RF-Amplitude $U_{\text{oct,RF}}$ zwischen Skimmer (U_{skim}) und Ausgangslinse (U_{exit}) gespeichert. Durch Spannungspulse an der Ausgangslinse werden Ionenpakete in Richtung des TOF-MS extrahiert und mittels einer Einzellinse fokussiert.

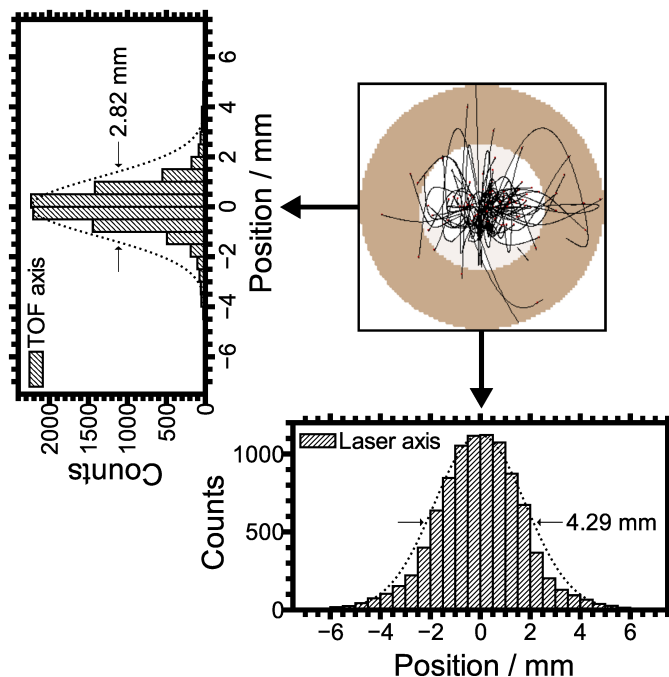
und Frequenz $f_{\text{RF}} = 2.457 \text{ MHz}$ mit einem für die zu speichernde Ionensorte anziehenden Bias-Potential $U_{\text{oct,bias}}$ beaufschlagt. Durch Stöße mit Hintergrund-Gasteilchen ($p_{\text{oct}} \approx 5 \cdot 10^{-3} \text{ mbar}$) verlieren die eingeleiteten Ionen kinetische Energie bis Skimmer und Ausgangslinse schließlich nicht mehr überwunden werden können. Die Ionen werden somit in der Potentialmulde des linearen Multipols gefangen. Die Ausgangslinse liegt während dem beschriebenen Füllvorgang auf Massepotential und wird zum Extrahieren eines Ionenpaketes mit Hilfe eines Pulsgenerators (HP 214B) kurzzeitig mit einem anziehenden Potential beaufschlagt. Die Ionen gelangen dann durch die Ausgangslinse in den Hochvakuum-Bereich des Flugzeitmassenspektrometers. Durch eine Einzellinse mit den Elektrodenspannungen U_{E1} , U_{E2} und U_{E3} kann das Ionenpaket zwischen die beiden Kupferlinsen mit der Bias-Spannung U_{extr} , welche den Extraktionsbereich des TOF-MS bilden, fokussiert werden. U_{E1} und U_{E3} sind im Rahmen dieser Arbeit auf das gleiche Potential $U_{\text{E1,E3}}$ festgelegt worden.

Abbildung 3.2.5 zeigt mittels SIMION 8.1 simulierte Trajektorien für den Ionentransfer aus der Oktupol-Ionenfalle in den Extraktionsbereich des TOF-MS. Es wird eine hohe Transmission (94 %) bei hinreichender Fokussierung beobachtet. Die Simulation erfolgte mit Einstellungen, welche typische experimentelle Bedingungen widerspiegeln. Details können dem Abschnitt 8.1 im Anhang entnommen werden. Die Ausdehnung



(a) Ansicht entlang der Laserachse.

(b) Ansicht entlang der TOF-Achse.

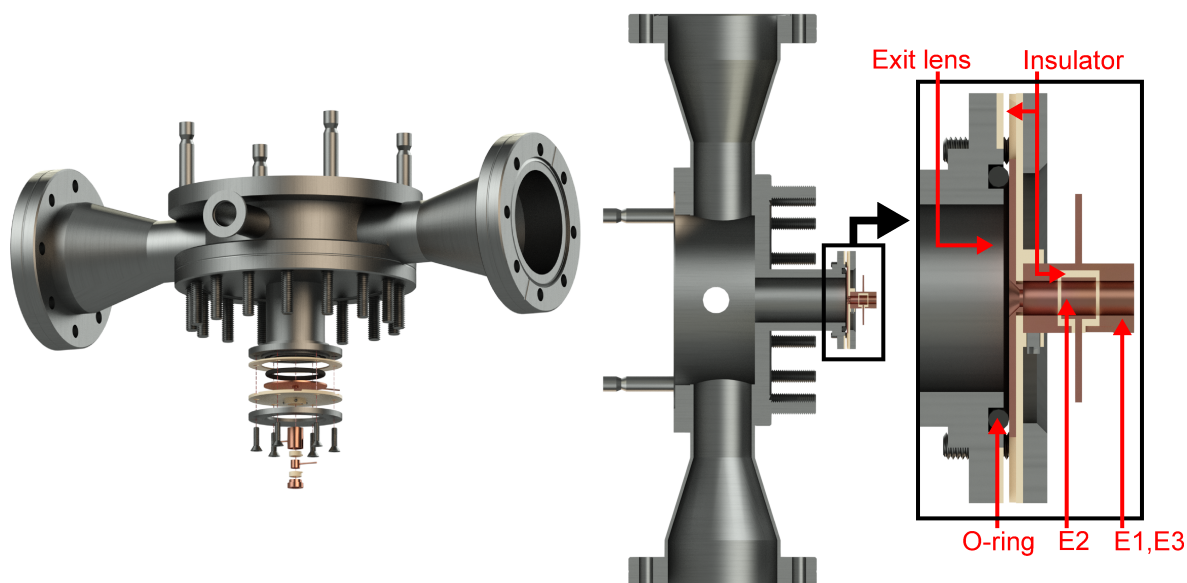


(c) Ansicht entlang der ESI-Achse inklusive der simulierten, räumlichen Verteilung des Ionenstrahls im Zentrum des TOF-MS.

Abbildung 3.2.5: Simulierte Trajektorien für den Transfer von Anionen ($m/z = 196$) aus der linearen Oktupolfalle (links, verkürzt) über Ausgangs- und Einzellinse (mittig) in den Extraktionsbereich des linearen Flugzeitmassenspektrometers (rechts) aus verschiedenen Blickwinkeln (a) und (b) sowie Darstellung des Ionenstrahl-Querschnittes im Zentrum des TOF-MS (c).^[189]

des Ionenpaketes (FWHM) im Zentrum des Flugzeitmassenspektrometers beträgt gemäß der Simulation von 10000 Ionen 2.92 mm entlang der Flugachse und 4.29 mm auf der Laserachse. Die elliptische Form entsteht während dem Übergang von den kreissymmetrischen Ionenführungsoptiken in den spiegelsymmetrischen Extraktionsbereich des TOF-MS bedingt durch die unterschiedlichen Potentiale der elektrostatischen Linsen. Die räumliche Ausdehnung des gepulsten Ionenstrahls entlang der TOF-Achse liegt in der

Größenordnung der Spotgröße des unfokussierten Lasers ($\text{FWHM} = 3.5 \text{ mm}$), sodass eine effiziente Überlagerung der beiden Strahlen möglich ist. Die Fokussierung, insbesondere entlang der Laserachse, kann für höhere Geschwindigkeiten des Ionenstrahls verbessert werden. Im aktuellen Aufbau wird jedoch bevorzugt bei vergleichsweise kleinen finalen Ionenstrahlgeschwindigkeiten gearbeitet, um laterale Diskriminierung im orthogonalen TOF-MS zu verhindern.



(a) Explosionszeichnung.

(b) Querschnitt mit vergrößertem Ausschnitt der Ionentransferoptiken.

Abbildung 3.2.6: Renderings des Adapters zur Kopplung von ESI-Quelle und linearem Flugzeitmassenspektrometer.

In Abbildung 3.2.6 ist das Bauteil gezeigt, welches die Kopplung von ESI-Quelle und TOF-MS ermöglicht. Der Edelstahl-Adapter wird über einen Klemmmechanismus mit Hilfe von vier Stäben an der in Abbildung 3.2.2 gezeigten Quelle befestigt und die Verbindung mit dem Gehäuse des selbstgebauten TOF-MS erfolgt über einen CF100-Flansch. Der aus dem ESI-Modul ragende Oktopol kommt in einem dafür vorgesehenen Rohr, welches bis in die nächste Kammer hineinreicht, zum Liegen. Auf diese Weise wird die Distanz, welche bis zu den elektrostatischen Linsen des Flugzeitmassenspektrometers überwunden werden muss, minimiert. Direkt an den Oktopol schließen sich Ionenoptiken aus Kupfer an. Zunächst folgt die Ausgangslinse mit einem Öffnungsdurchmesser von 2.5 mm und einer Dicke von 2 mm im Zentrum. Die Extraktionsöffnung ist dabei für optimale Transmission – entsprechend dem Vorbild des SSQ700 – konisch gestaltet.^[242] Direkt im Anschluss der Ausgangslinse des Oktopols befindet sich die dreiteilige Einzel-

linse. Diese reicht bis zwischen die Extraktionslinsen des TOF-MS, um Feldeinflüsse auf den Ionenstrahl durch Hochspannungskomponenten des TOF-MS zu verhindern. Aufgrund der dadurch gegebenen geometrischen Restriktionen weist die Einzellinse einen Außendurchmesser von 10 mm, einen Innendurchmesser von 5 mm und eine Elektrodenlänge von 5 mm bei einem Abstand zwischen den Elektroden von 0.5 mm auf.

Das beschriebene Bauteil bildet die zweite Druckstufe zwischen der ersten Vakuumkammer in der ESI-Quelle und dem finalen Hochvakuum-Bereich. Der Unterdruck wird durch zwei HiPace80 Turbopumpen von PFEIFFER VACUUM, welche über konisch-verjüngte Rohre angeflanscht werden, erzeugt. Die Saugleistung der Pumpen wird durch die reduzierten Querschnitte zwar gemindert, dies ist jedoch aufgrund der kompakten Bauweise unabdingbar. Die Druckmessung erfolgt über eine TPR 280 Pirani-Messröhre von PFEIFFER VACUUM an einem ISO-KF16-Flansch. Im Messbetrieb werden Drücke von ca. $5 \cdot 10^{-3}$ mbar erzielt.

3.2.3 Flugzeitmassenspektrometer

Die mittels Elektrosprayionisation erzeugten Ladungsträger wurden im Rahmen dieser Arbeit massenspektrometrisch analysiert. Das lineare Flugzeitmassenspektrometer (TOF-MS), dargestellt in Abbildung 3.2.7, wurde spezifisch für die speziellen Anforderungen dieser Anwendung neu konstruiert. Die zugehörigen Abmessungen können Tabelle 3.2.1 entnommen werden.

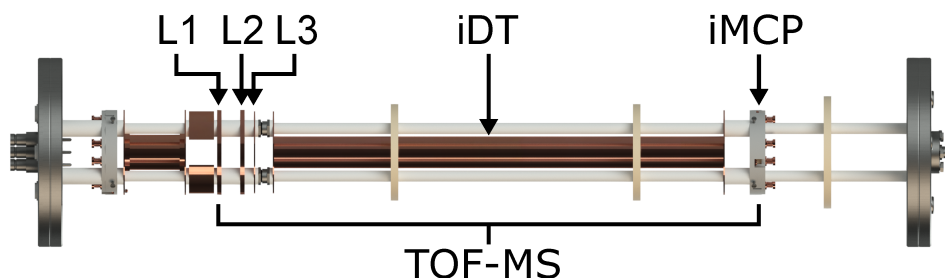


Abbildung 3.2.7: Rendering des Stabsystems zur Elektronenprojektion (links) sowie Massenanalyse mittels Flugzeitmassenspektrometrie (rechts). Das lineare, dreistufige TOF-MS besteht aus drei Linsen (L1, L2 und L3), einem Flugrohr (iDT) und einem Detektor (iMCP).

Der Extraktionsbereich des TOF-MS wird durch die Linsen L1 und L2 aufgespannt. Für die Massenanalyse extern erzeugter Ionen sollte die Extraktionszone während ihrer Befüllung, d. h. zwischen zwei Extraktionspulsen, feldfrei sein. Um die Beeinflussung des Ionenstrahls durch Feldeinflüsse benachbarter elektrischer Felder zu minimieren, wird

der Extraktionsbereich durch 3.5 mm dicke Kupferlinsen mit Nickelnetzen auf beiden Seiten begrenzt. Die elektrischen Feldpulse zur Massenanalyse eines Ionenpaketes mit einer Anstiegsdauer von 100 ns werden durch einen schnellen Hochspannungsschalter (BEHLKE HTS 31-GSM) erzeugt. Das Überschwingen des Rechtecksignals wird durch einen seriellen Widerstand von 330 Ω in der Ausgangsleitung gedämpft und induktive und kapazitive Last werden durch eine kurze Leitung klein gehalten.

Zur Kompensation der räumlichen Ausdehnung des Ionenstrahls kann ein Raumfokus zweiter Ordnung genutzt werden. Um einen Raumfokus zweiter Ordnung unabhängig von der Geometrie ausschließlich über die Festlegung der elektrischen Feldstärken zu ermöglichen, wurde ein dreistufiger Aufbau gewählt. An den Extraktionsbereich schließen sich demnach zwei Beschleunigungsfelder zwischen den Linsen L2 und L3 sowie der Linse L3 und dem Flugrohr iDT an. Auf einer 36 cm langen Driftstrecke werden die Ionen zeitlich und räumlich gemäß ihres Masse-zu-Ladungsverhältnisses separiert, bevor die Ladungsträger schließlich mittels eines Detektors iMCP bestehend aus zwei Mikrokanalplatten (engl. *micro channel plate*, MCP) in Chevron-Anordnung erfasst werden.

Tabelle 3.2.1: Abmessungen des verwendeten linearen Flugzeitmassenspektrometers: Distanzen mit einzelnen Indizes d_i bezeichnen die Länge eines Bauteils i entlang der Flugachse, während Distanzen mit doppelten Indizes d_{i-j} den Abstand zwischen zwei Bauteilen i und j anzeigen (vgl. Abb. 3.2.7).

Bezeichnung	Distanz / mm
d_{L1-L2}	15
d_{L2}	3.5
d_{L2-L3}	7.5
d_{L3}	1
d_{L3-iDT}	14.5
d_{iDT}	360
$d_{iDT-iMCP}$	20

Sämtliche Spannungen für Komponenten des TOF-MS können in beiden Polaritäten erzeugt werden, sodass sowohl die Analyse von Kationen als auch von Anionen möglich ist. Die Beschaltung des MCP-Detektors kann durch den Austausch eines externen Verteilungsmoduls ebenfalls schnell an die zu detektierende Ladungsträger-Polarität angepasst werden. Im Anhang unter Abschnitt 8.4 sind die zugehörigen Schaltbilder hinterlegt.

Der kreisförmige Öffnungsquerschnitt der elektrostatischen Linsen im Massenspektrometer beträgt 20 mm und der Durchmesser der aktiven Detektorfläche liegt bei 25 mm. Lediglich die Extraktionsöffnung in Linse L2 wurde angepasst, um das Signal-zu-Hinter-

grund-Verhältnis für Laserexperimente zu optimieren. Die Öffnung ist als 20 mm langer Schlitz entlang der Laserachse mit einer Breite von 3.5 mm entsprechend der horizontalen Ausdehnung des unfokussierten Lasers realisiert, um ausschließlich das Interaktionsvolumen auf den Detektor abzubilden.

In Abbildung 3.2.8 sind die Ergebnisse einer in SIMION 8.1 simulierten Massenanalyse von einfach-negativ geladenen Ionen ($m/z = 196$) in dem beschriebenen Aufbau gezeigt. Die verwendeten Simulationsbedingungen entsprechen üblichen experimentellen Einstellungen und sind im Anhang zu finden.

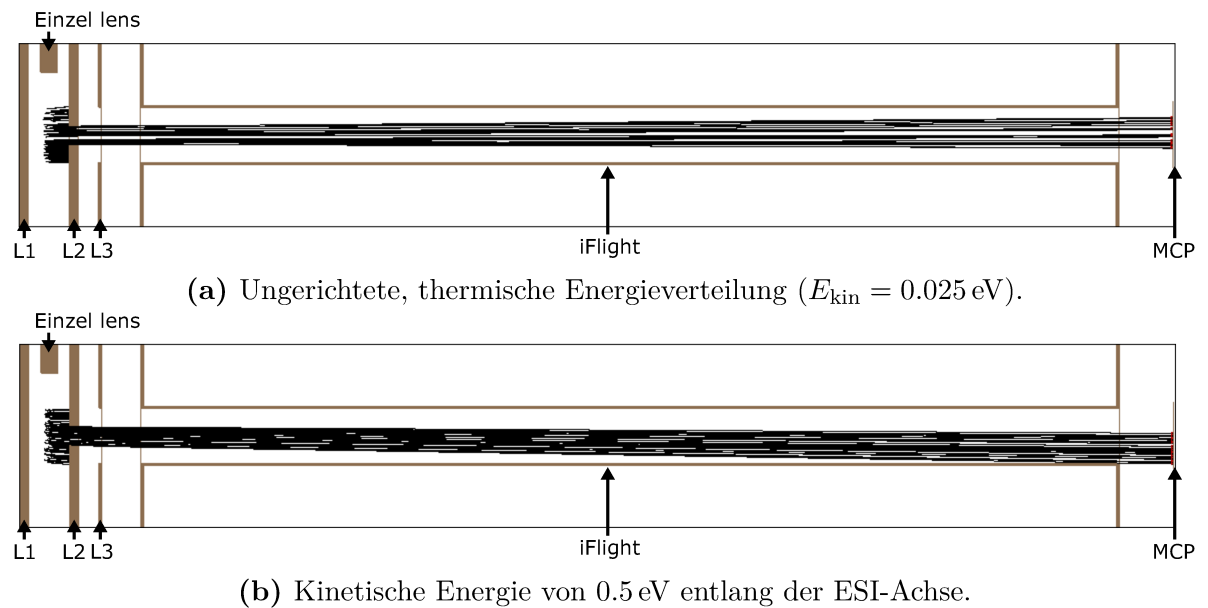


Abbildung 3.2.8: Mittels Simion 8.1 simulierte Trajektorien im dreistufigen, linearen Flugzeitmassenspektrometer bei verschiedenen initialen, kinetischen Energien von Anionen mit $m/z = 196$ (Simulationseinstellungen in Abschnitt 8.1). Ansicht entlang der Laserachse.^[189]

Es wurden verschiedene Startzustände simuliert. Unter (a) ist die Abbildung von vollständig thermalisierten Ionen ohne zusätzliche kinetische Energie auf der ESI-Achse gezeigt. Die Ionen werden vergleichsweise zentral auf den MCP-Detektor abgebildet. Besitzen die abzubildenden Ionen hingegen eine kinetische Energie von 0.5 eV entlang der ESI-Achse, äußert sich das erwartungsgemäß in einer Verschiebung des Detektorbildes. Im aktuellen Aufbau ist es daher sinnvoll bei vergleichsweise kleinen kinetischen Energien des Ionenstrahls zu arbeiten, um laterale Diskriminierung zu unterbinden. Eine Kompensation durch elektrische Querfelder ist bei Bedarf durch die Ergänzung von entsprechenden Optiken realisierbar.

3.2.4 Elektronenabbildung

Das in Abbildung 3.2.9 gezeigte Stabsystem enthält neben dem soeben beschriebenen, linearen Flugzeitmassenspektrometer (rechts) weitere elektrostatische Optiken und einen zweiten Detektor (links). Dieser Teil dient der Abbildung und räumlich-aufgelösten Detektion von Photoelektronen zur Bestimmung des PECD.

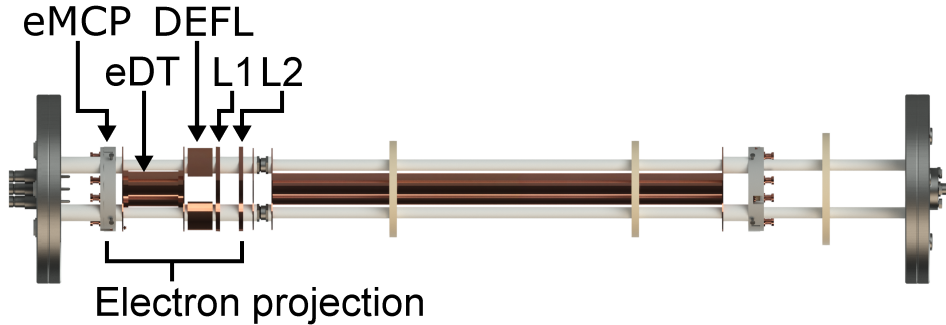


Abbildung 3.2.9: Rendering des Stabsystems zur Massenanalyse mittels Flugzeitmassenspektrometrie (rechts) sowie Elektronenprojektion (links). Der Aufbau zur Elektronenabbildung besteht aus den Linsen L1 und L2, einem Paar von Ablenkungsplatten (DEFL), einem kurzen Flugrohr (eDT) sowie einem MCP-Detektor (eMCP) mit zweigeteilter Anode.

Sämtliche Abmessungen sind in Tabelle 3.2.2 aufgelistet.

Tabelle 3.2.2: Abmessungen des Aufbaus zur Elektronenprojektion: Distanzen mit einzelnen Indizes d_i bezeichnen die Länge eines Bauteils i , während Distanzen mit doppelten Indizes d_{i-j} den Abstand zwischen zwei Bauteilen i und j anzeigen (vgl. Abb. 3.2.9).

Bezeichnung	Distanz / mm
d_{L2-L1}	15
d_{L1}	3.5
$d_{L1-DEFL}$	2.5
d_{DEFL}	20
$d_{DEFL-eDT}$	2.5
d_{eDT}	50
$d_{eDT-iMCP}$	5

Die Projektion der mittels Photodetachment oder -ionisation zwischen den Linsen L1 und L2 erzeugten Elektronen wird durch einen Feldpuls ausgelöst. Zwei Ablenkungsplatten erlauben das Anlegen eines elektrischen Querfeldes entlang der Laserachse. Auf diese Weise kann das projizierte Elektronenbild auf dem Detektor (eMCP) zentriert bzw.

inhärente Asymmetrien des Aufbaus kompensiert werden. An die Ablenkungseinheit schließt sich ein kurzes Flugrohr an. Diese zusätzliche Strecke bis zum Detektor erlaubt eine Ausdehnung der Elektronenwolke, sodass der Detektor mit einem Durchmesser der aktiven Fläche von 25 mm hinreichend ausgeleuchtet wird.

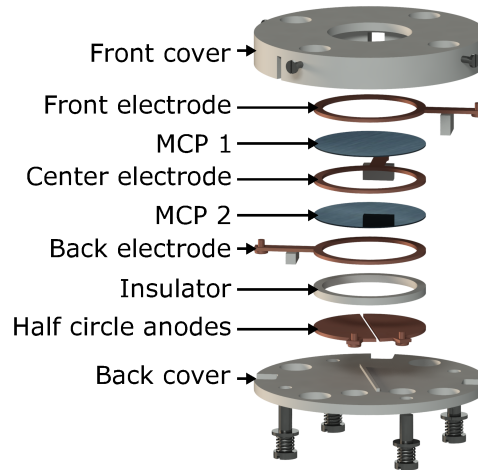
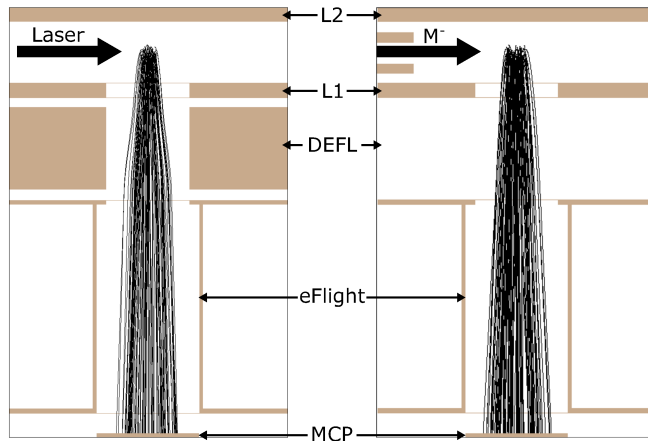


Abbildung 3.2.10: Explosionszeichnung der Detektoreinheit für Elektronen. Eine oben geöffnete, zweiteilige Hülle enthält drei Ringelektroden zwischen denen Mikrokanalplatten platziert werden. Hinter einem isolierenden Abstandhalter befinden sich zwei Halbkreisano-

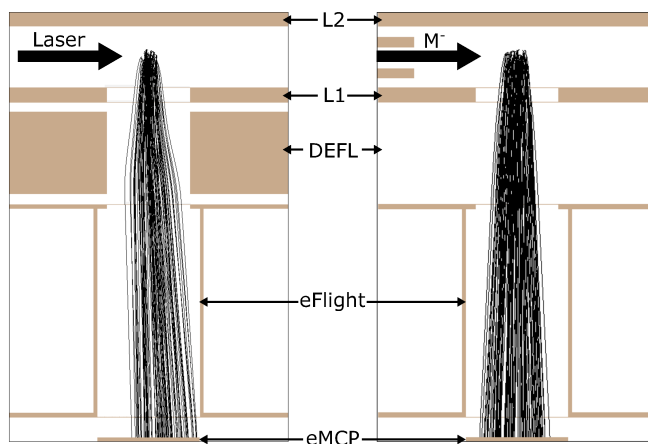
den. Der Detektor, in Einzelteilen in Abbildung 3.2.10 zu sehen, besteht wiederum aus zwei Mikrokanalplatten in Chevron-Anordnung. Allerdings weist dieser im Gegensatz zum Ionendetektor zwei halbkreisförmige Anoden auf, welche über einen 1 mm langen Spalt voneinander separiert sind. Die Halbplatten werden entlang der Laserachse ausgerichtet, sodass die relativ zur Ausbreitungsrichtung des Lichtes in Vorwärts- und Rückwärts-Richtung emittierten Elektronen jeweils auf eine der beiden Hälften abgebildet werden. Das Schema der Spannungsversorgung des Detektors ist im Anhang unter Abschnitt 8.4 hinterlegt.

In Abbildung 3.2.11 ist die mittels SIMION 8.1 simulierte Projektion von Elektronen im vorliegenden Aufbau gezeigt. Die Einstellungen, welche dem Anhang 8.1 entnommen werden können, orientieren sich an typischen experimentellen Bedingungen. Die kinetische Startenergie der Elektronen wurde für die Simulation auf 1 eV festgelegt und die zugehörigen Vektoren über den gesamten Raum zufällig verteilt.

Alle Elektronen aus dem Startvolumen werden auf den Detektor abgebildet. Durch das Anlegen eines elektrischen Querfeldes kann das Elektronenbild in der Detektorebene entlang der Laserachse verschoben werden.



(a) Kein Ablenkungsfeld.



(b) Ablenkungsfeld von 20 V/cm.

Abbildung 3.2.11: Simulierte Trajektorien für die Elektronenabbildung bei verschiedenen Ablenkungsfeldern in Ansichten entlang der ESI-Achse (links) und Laserachse (rechts).^[189]

Für Photodetachment-Experimente wurden geeignete Abbildungsbedingungen anhand von Untersuchungen der Gesamtelektronenausbeute in Abhängigkeit der Spannungen an den Elektronenoptiken bestimmt. Durch entsprechende Optimierungen kann eine möglichst vollständige Projektion aller Photoelektronen auf den Detektor bei guter Ausleuchtung der aktiven Fläche erzielt werden.

3.2.5 Zeitlicher Ablauf

Aufgrund der gepulsten Betriebsweise müssen verschiedene Events im ESI-TOF-MS zeitlich abgestimmt werden. Das Öffnen der Ionenfalle, das Auslösen des Güteschalters im

ns-Laser sowie der Feldextraktionspuls im TOF-MS müssen synchron und mit passender Verzögerung erfolgen, damit Ionen- und Laserpuls maximal überlappen und die Produktionen bzw. Elektronen auf einen gewünschten Detektor abgebildet werden können.

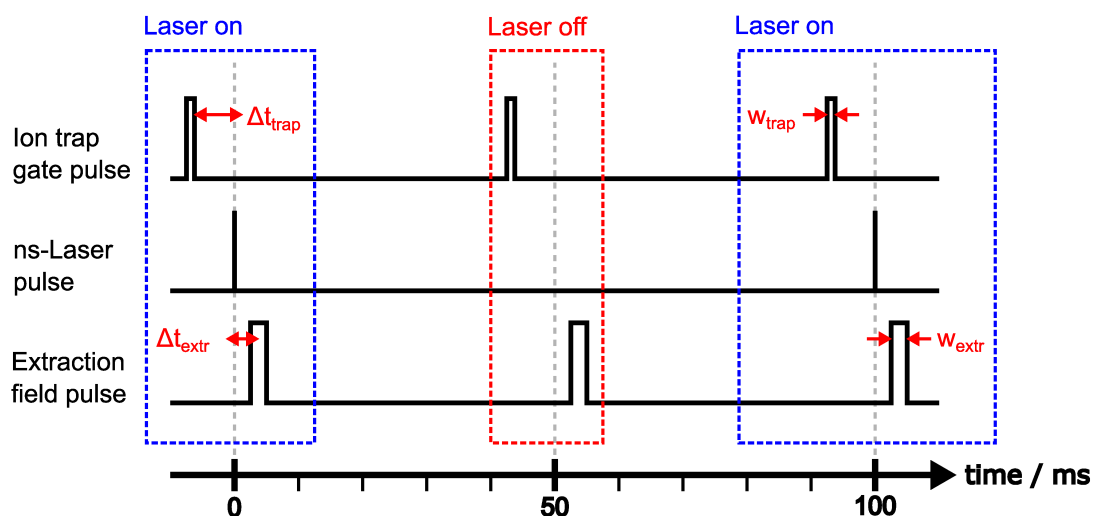


Abbildung 3.2.12: Schematische Darstellung der zeitlichen Abfolge des Ionenfallen-Puls, ns-Laserpuls und Feldextraktionspuls im ESI-TOF-Experiment.

In Abbildung 3.2.12 ist der zeitliche Ablauf des Experimentes illustriert. Zunächst wird die Ionenfalle durch einen Spannungspuls an der Ausgangslinse geöffnet, d. h. ein Ionenpaket wird extrahiert. Dies erfolgt vor dem Eintreffen eines Laserpulses und dem Auslösen der Extraktion zur Massenanalyse (oder Elektronenabbildung), da die Ionen eine gewisse Flugzeit benötigen, um die Strecke ins Zentrum des TOF-MS zurückzulegen. Die optimale Verzögerung relativ zum Laserpuls $\Delta t_{\text{trap}} = t_{\text{trap}} - t_{\text{laser}}$ hängt dabei von den jeweiligen Spannungen der Ionenführungskomponenten respektive der kinetischen Energie sowie der Ionenmasse und -ladung ab.

Auch die zeitliche Abfolge von Laserpuls und Extraktionsfeldpuls im TOF-MS muss optimiert werden. Erfolgt die Extraktion in Richtung Detektor zu spät, so haben die Ladungsträger von Interesse den Extraktionsbereich bereits wieder verlassen. Wird der Feldpuls im TOF-MS hingegen zu früh ausgelöst, so werden die Ionen aus dem Interaktionsvolumen abgezogen, bevor eine Interaktion mit dem Laser stattfinden kann. Die Verzögerung des Feldextraktionspulses relativ zum Laserpuls $\Delta t_{\text{extr}} = t_{\text{extr}} - t_{\text{laser}}$ kann in Abhängigkeit der zeitlichen Abfolge sowohl positive als auch negative Werte annehmen.

Zwischen den Messungen von Massenspektren unter Lasereinfluss (*laser on*) werden ESI-Hintergrundspektren ohne Laser (*laser off*) aufgezeichnet (siehe Abbildung 3.2.12).

Die Aufnahme von Einzelmassenspektren im ESI-TOF-MS erfolgt also mit doppelter Frequenz (20 Hz) verglichen mit der Laserrepetitionsrate (10 Hz). Diese quasi-parallele Erfassung von Spektren mit und ohne Laser ist entscheidend für eine präzise Quantifizierung der durch den Laser in den ESI-Massenspektren hervorgerufenen Veränderungen, denn auf diese Weise können Artefakte durch Instabilitäten und Drifts seitens der Ionenquelle auf ein Minimum begrenzt werden.

In Abbildung 3.2.13 ist die technische Umsetzung der zeitlichen Steuerung des Experimentes schematisch gezeigt.

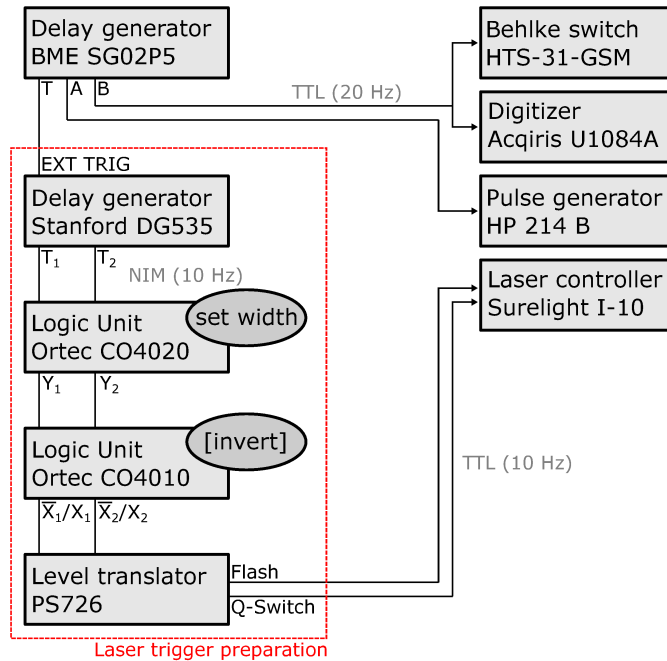


Abbildung 3.2.13: Schematische Darstellung der Komponenten zur Steuerung der zeitlichen Abfolge des ESI-TOF-Experimentes.

Die zeitliche Abstimmung der zuvor beschriebenen Events erfolgt durch eine über Lab-View gesteuerte PCI-Karte SG02P5 von BME. Diese erzeugt einen TTL-Mastertrigger T mit einer Frequenz von 20 Hz sowie zwei individuell verzögerte TTL-Pulse A und B. Relativ zum Mastersignal T werden von einem Verzögerungs-Generator STANFORD DG535 zwei zueinander verzögerte NIM-Pulse mit halber Frequenz (10 Hz) ausgegeben. In zwei Logik-Einheiten (ORTEC CO4020 und CO4010) sowie einem Level-Translator (PHILIPS SCIENTIFIC 726) werden die beiden Signale, welche zum Auslösen der Blitzlampe und des Güteschalters im Surelite I-10 Laser dienen, aufbereitet. Die Pulsbreite und -amplitude werden entsprechend den vorgegebenen Spezifikationen modifiziert und die resultierenden elektrischen Signale werden dem Lasercontroller schließlich als exter-

ner Trigger zugeführt. Zunächst wird die Blitzlampe ausgelöst und dann 181 μs später der Güteschalter.

Das gegenüber dem Referenzsignal T verzögerte Signal A triggert den Pulsgenerator HP 214 B und löst somit den Puls zum Öffnen der Ionenfalle aus. Mit dem Signal B wird die Feldextraktion im TOF-MS über den BEHLKE-Schalter HTS-31-GSM gestartet. Zudem dient das gleiche Signal auch als Startzeitpunkt für die Messkarte U1084A von ACQIRIS zum Aufzeichnen eines Massenspektrums.

3.2.6 Datenverarbeitung

Die Aufbereitung der MCP-Signale erfolgt durch Verstärkereinheiten, welche von der Elektronik-Werkstatt des Fachbereichs Chemie an der Philipps-Universität Marburg nach Vorlage von COYLE et al. gebaut wurden.^[243] Es handelt sich um einen nicht-invertierenden Verstärker mit hoher Bandbreite (200 MHz). Der Verstärkungsfaktor ist durch geringfügige Schaltungsveränderungen anpassbar. Im Rahmen der in dieser Arbeit durchgeführten Messungen wurde ohne eine nominelle Spannungsverstärkung (0 db) gearbeitet, da zu jedem Zeitpunkt ausreichend hohe Signalintensitäten vorlagen. Die Verwendung des besagten Bauteils diente lediglich als Sollbruchstelle bzw. Schutzmaßnahme für sich anschließende empfindliche Messtechnik. Es ist zu beachten, dass bei zu hohen Signalamplituden ($\gtrsim 1\text{ V}$) die Linearität zwischen Eingangs- und Ausgangssignalintensität verloren geht, wie in der folgenden Abbildung 3.2.14 zu sehen ist.

Die Erfassung der Detektorsignale erfolgt über eine schnelle 8-bit Digitizer-PCI-Karte U1084A von ACQIRIS. Als Alternative stehen ein *Constant Fraction Discriminator* (Quad-CFD 935) von ORTEC und eine *Time-to-Digital-Converter*-Karte TDC4HM_lr05 von ROENTDEK zur Verfügung. Durch das Zählen von Einzelevents mit diesen beiden Komponenten kann der dynamische Bereich in die Region von sehr geringen Ionenzahlen erweitert werden. Dies ist beispielsweise für die Verwendung von Lichtquellen mit deutlich geringeren Pulsenergien interessant, wurde für die Experimente mit hochenergetischen ns-Laserpulsen in dieser Arbeit jedoch nicht benötigt.

Die Aufzeichnung von Flugzeitspektren, d. h. das Starten des ESI-TOF-MS und das Auslesen von generierten Daten, ist über die LabView-Programme *TOF-Measurement.vi* bzw. *IY-Measurement.vi* möglich. Die Messprogramme erfassen abwechselnd Einzelspektren mit und ohne Laser und mitteln die Daten jeweils über mehrere Laserschüsse. Gemäß massenspektrometrischer Konvention können die ursprünglich negativen Signale zu Darstellungszwecken invertiert werden, um positive Amplituden zu erhalten. Die Umrechnung von Flugzeit- in Massenspektren wurde über das Programm *TOF_to_mz.vi*

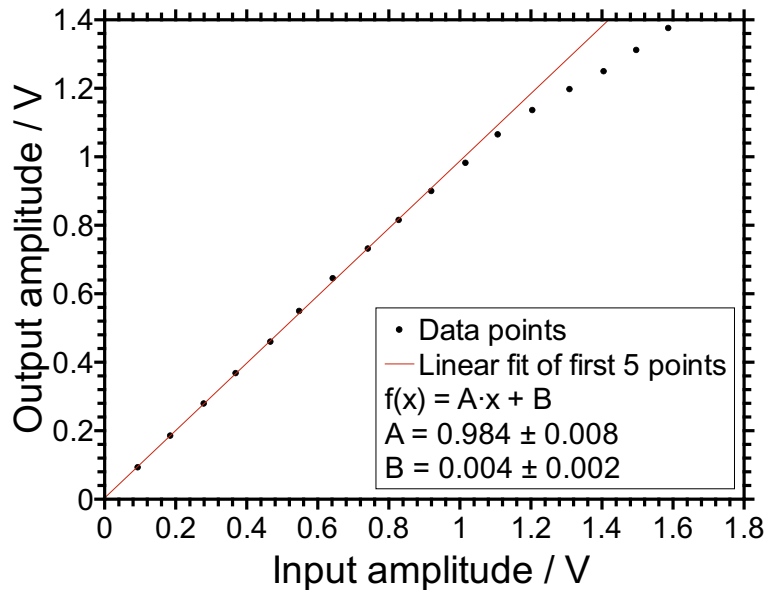


Abbildung 3.2.14: Ausgangssignalamplitude der Vorverstärkereinheit in Abhängigkeit der Eingangssignalamplitude. Ab einer Eingangssamplitude von ca. 1 V erfolgt eine Abweichung von der bei geringeren Spannungen zu beobachtenden Linearität.

realisiert und die Integration von ausgewählten Signalen erfolgte mit Hilfe des VIs *Integrate_TOF-Spectra.vi*. Sämtliche Software wurde im Rahmen dieser Doktorarbeit für den neuen Aufbau programmiert.

3.3 ns-Laser

Als Lichtquelle wurde im Rahmen dieser Arbeit ein Surelite I-10 von CONTINUUM verwendet. Der schematische Aufbau des gütegeschalteten Nd:YAG-Laser ist in Abbildung 3.3.1 gezeigt und die Hersteller-Spezifikationen sind in Tabelle 3.3.1 aufgeführt.

Ein linearer Resonator wird durch einen hochreflektiven (1) und einen teildurchlässigen Spiegel (6) aufgebaut. Das aktive Medium (5) bildet ein 115 mm langer kristalliner Stab mit einem Durchmesser von 6 mm aus mit 0.9% bis 1.4% Neodym-dotiertem Yttrium-Aluminiumgranat. Der wassergekühlte Laserkopf wird durch eine Xe-Blitzlampe in Kombination mit einem Magnesiumoxid-Diffuser gepumpt. Die Güteschaltung zur Erzeugung von hochenergetischen Laserpulsen auf der ns-Zeitskala wird nach dem in Abschnitt 2.3.1 beschriebenen elektrooptischen Prinzip über eine Kaliumdihydrogenphosphat-Pockelszelle (2), ein $\lambda/4$ -Verzögerungsplättchen (3) und einen Dünnsfilm-Polarisator (4) mit

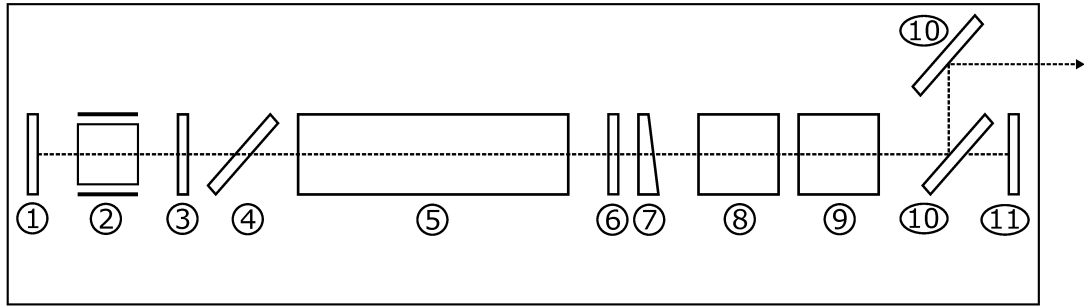


Abbildung 3.3.1: Schematischer Aufbau des Surelite I-10 von CONTINUUM: (1) Hochreflektiver Spiegel, (2) Pockelszelle, (3) $\lambda/4$ -Verzögerungsplatte, (4) Dielektrischer Polarisator, (5) Laserkopf mit aktivem Nd:YAG-Medium und Blitzlampe, (6) Teildurchlässiger Spiegel, (7) Ausgangs-Kompensator, (8) Verdoppler-Kristall, (9) Verdreifachungs-Kristall, (10) Dichroische Spiegel für 355 nm, (11) Strahlblock. Erstellt nach Vorlage von [180].

einer Auslöschungsrate von $> 500 : 1$ realisiert. Für Experimente im UV-Bereich wird die ausgekoppelte Laserfundamentale mit einer Wellenlänge von 1064 nm mittels nicht-linearer Optik verdreifacht. Nach einem Strahlkompensator (7) wird dazu zunächst die zweite Harmonische ($\lambda = 532$ nm) in einem entsprechenden nicht-linearen Kristall (8) erzeugt. Die dritte Harmonische ($\lambda = 355$ nm) wird dann über die Summenfrequenzbildung von fundamentaler und zweiter harmonischer Welle in einem weiteren Kristall (9) generiert. Die Phasenanpassung erfolgt dabei in beiden Prozessen mittels Doppelbrechung über eine Justage der Kristallwinkel. Die Abtrennung unerwünschter Restwellen erfolgt im sogenannten *Surelite Separation Package* (SSP), welches aus zwei lediglich für 355 nm reflektiven, dichroischen Spiegeln und einem Strahlblock für die transmittierte Strahlung bei 532 nm und 1064 nm besteht.

Das resultierende Spektrum nach zwei weiteren externen dichroischen Spiegeln (DS355 und HR355) zur zusätzlichen spektralen Aufreinigung ist in Abbildung 3.3.2 dargestellt. Das ungefilterte Spektrum (Schwarz in Abb. 3.3.2) zeigt neben dem erwarteten intensiven Signal bei 355 nm auch kleinere Peaks bei 709 nm und 1064 nm. Bei letzteren beiden Signalen handelt es sich in erster Linie um Messartefakte, hervorgerufen durch Reflexe höherer Ordnung der dritten Harmonischen im verwendeten Gitter-Spektrometer (SOLAR LASER SYSTEMS S150), wie der Vergleich mit einem Kurzpass-gefilterten Spektrum (rot in Abb. 3.3.2) zeigt. Hinter einem IR-Sperrfilter KG3 von SCHOTT mit Reintransmissionsgraden von $\tau_i(360 \text{ nm}) = 0.9343$, $\tau_i(710 \text{ nm}) = 0.4482$ und $\tau_i(1060 \text{ nm}) = 0.0002$ ^[244] sind die relativen Signalintensitäten für 709 nm und 1064 nm trotz der hohen Auslöschungsrate des Filters in diesem Bereich kaum vermindert. Dies lässt den Schluss zu,

Tabelle 3.3.1: Hersteller-Spezifikationen des CONTINUUM Surelite I-10 Lasers.^[180]

Repetitionsrate / Hz		10
Pulsenergie / mJ	1064 nm	450
	532 nm	200
	355 nm	100
Pulsbreite (FWHM) / ns	1064 nm	5-7
	532 nm	4-6
	355 nm	4-6
Linienbreite / cm^{-1}		1.0
Divergenz ^a / mrad		0.6
Richtungsstabilität / μrads		100
Jitter ^b / ns		0.5
Energiestabilität ^c / %	1064 nm	2.5
	532 nm	3.5
	355 nm	4.0
Leistungsdrift ^d / %	1064 nm	3.0
	532 nm	5.0
	355 nm	5.0
Güte des räumlichen Strahlprofils ^e	Near field (< 1 m)	0.7
	Far field (∞)	0.95

^a Voller Winkel für 86 % der Energie.

^b Relativ zum externen Trigger.

^c Schuss zu Schuss für 99 % aller Pulse.

^d Vom Mittelwert in 8 Stunden.

^e Gaußanpassung durch Fehlerquadratminimierung. Ein perfekter Fit entspricht einem Wert von 1.

dass Gitterreflexe zweiter und dritter Ordnung von 355 nm auf die CCD-Kamera des Messgerätes fallen. Die spektrale Reinheit der Laserstrahlung wurde zusätzlich mit Hilfe eines PELLIN-BROCA-Prismas verifiziert. Nach der spektralen Aufspaltung konnte lediglich ein einzelner blauer Laserspot beobachtet werden. Auch unter Zuhilfenahme einer IR-Wandlerkarte (THORLABS VRC5) konnte keine weitere Laserlinie beobachtet werden. Die erzeugte Laserstrahlung kann somit als spektral hinreichend sauber angesehen werden.

In Abbildung 3.3.3 ist das zeitliche Intensitätsprofil des ns-Laser dargestellt. Das Zeitprofil kann in erster Näherung, abgesehen von einer leichten Asymmetrie, als gaußförmig bezeichnet werden. Eine Anpassung gemäß $f(t) = A \cdot \exp(-(t - t_c)^2 / (2\sigma^2))$ wurde vorgenommen. Anhand des σ -Fitparameters wurde eine Pulsbreite bei halbem Maximum von $t_{\text{FWHM}} = 4.92 \text{ ns}$ bestimmt, welche in guter Übereinstimmung mit den Hersteller-spezifikationen steht.^[180]

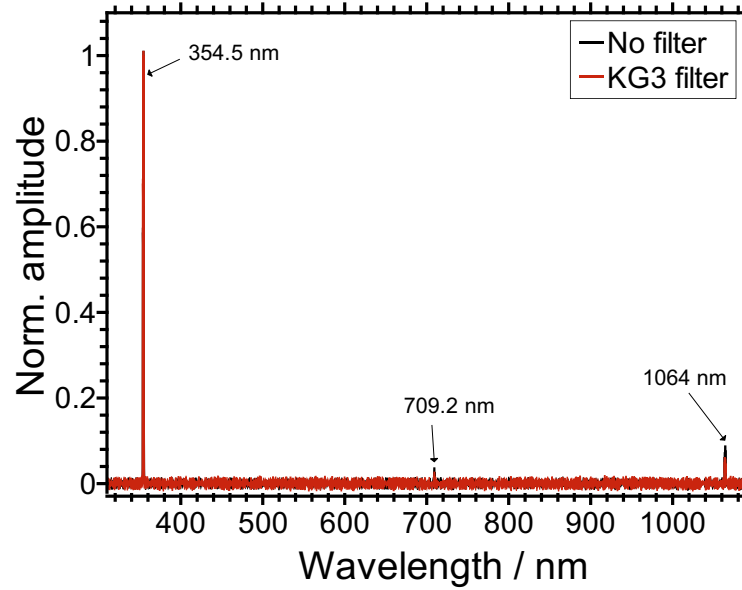


Abbildung 3.3.2: Gefiltertes (Schott KG3) und ungefiltertes Spektrum der dritten Harmonischen des CONTINUUM Surelite I-10 aufgezeichnet mit dem Gitterspektrometer S-150 von SOLAR LASER SYSTEMS hinter zwei dichroischen Spiegeln DS355 und HR355.

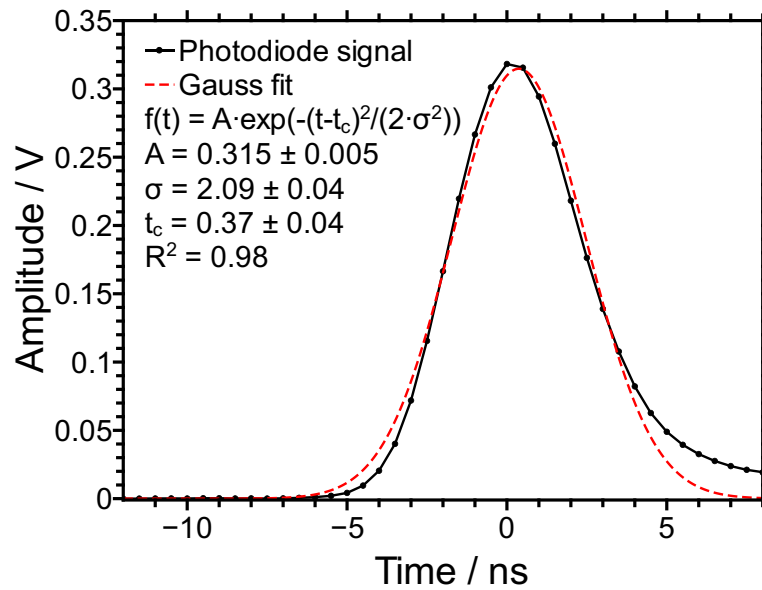


Abbildung 3.3.3: Temporales Intensitätsprofil des CONTINUUM Surelite I-10 gemessen mit der Photodiode DET10A/M von THORLABS und angepasst durch eine Gaussfunktion.

Die räumliche Ausdehnung des Lasers wurde über eine *Knife-Edge*-Profilierung charakterisiert. Mittels einer Mikrometer-Translationsbühne wird dabei schrittweise eine Messerkante in den Strahlengang eingeführt und der Laserstrahl somit zunehmend blockiert, während die mittlere Laserleistung durch ein hinter dem Aufbau angeordnetes Powermeter (GENTECH PSV-310) erfasst wird. Die Ergebnisse von Messungen in unmittelbarer Nähe des ESI-TOF-MS-Eingangsfensters auf der horizontalen und vertikalen Laborachse sind in Abbildung 3.3.4 dargestellt.

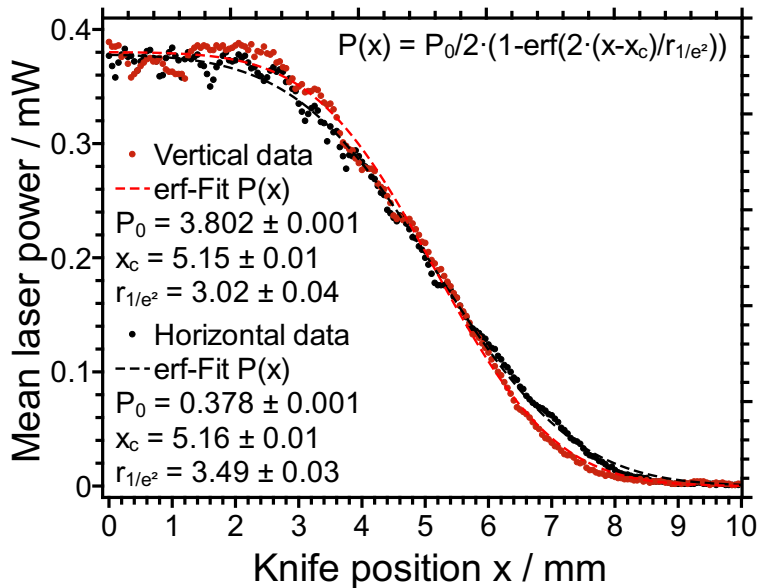


Abbildung 3.3.4: Gemessene mittlere Laserleistung in Abhängigkeit der Messerkanten-Position auf der horizontalen und vertikalen Laborachse im Rahmen einer *Knife-Edge*-Strahlprofilierung inklusive Anpassung durch eine Fehlerfunktion $P(x)$ zur Berechnung des Strahlradius.

Der erwartete sigmoidale Verlauf ist klar erkenntlich. Aus einer Anpassung mittels Fehlerfunktion $P(x) = P_0/2 \cdot (1 - \text{erf}(2(x - x_c)/r_{1/e^2}))$ kann unter Annahme eines Gaußstrahlprofils die Strahlausdehnung bestimmt werden. Für den Radius r_{1/e^2} in Bezug auf eine Intensitätsabnahme um einen Faktor von $1/e^2$ wurde auf der horizontalen Achse ein Wert von 3.49 mm und auf der vertikalen Achse von 3.02 mm bestimmt, d. h. eine geringfügige Elliptizität liegt vor. Der Laser wurde in allen Experimenten ohne Fokussierung eingesetzt.

3.3.1 Polarisationsanalyse

Für Circular dichroismus-Untersuchungen wird aus dem horizontal polarisierten Output des verdreifachten Nd:YAG-Lasers zirkular polarisiertes Licht mittels eines $\lambda/4$ -Verzögerungsplättchens (engl. *quarter wave plate*, QWP) erzeugt. Die Bestimmung der QWP-Orientierung für maximale Anteile zirkularer Polarisation bei möglichst guter Vergleichbarkeit der beiden Helizitäten hinsichtlich zirkularem Polarisationsanteil und Orientierung der linearen Anteile (d. h. Ausrichtung der Polarisationsellipse) erfolgt gemäß dem in Abbildung 3.3.5 gezeigten Aufbau unter Zuhilfenahme eines unbeschichteten Calcite-Glan-Laser-Polarisator 03 PGL 301 ($\lambda = 350 \text{ nm} - 2300 \text{ nm}$) von MELLES GRIOT mit einer Auslöschungsrate von $H_{90} < 5 \cdot 10^{-5}$.

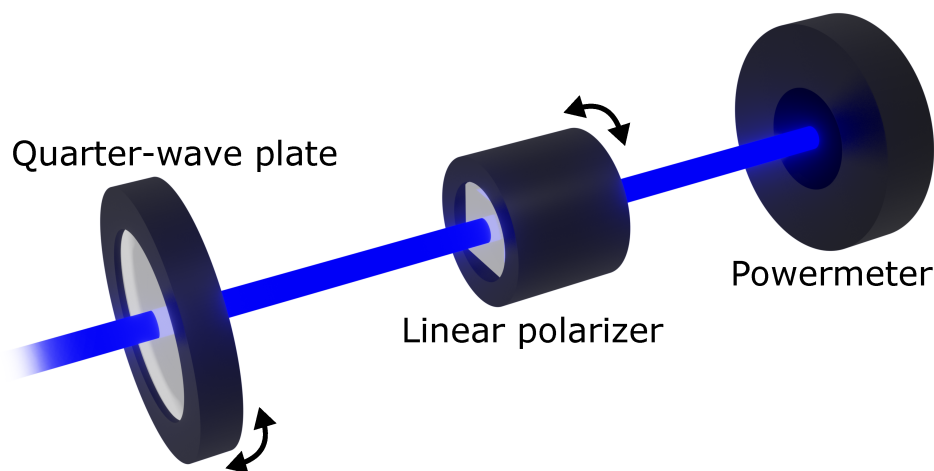


Abbildung 3.3.5: Schematischer Aufbau zur Untersuchung des zirkulären Polarisationsgrades, bestehend aus $\lambda/4$ -Verzögerungsplättchen, linearem Polarisator und Powermeter.

Zunächst wird der lineare Polarisator mit der Transmissionsachse orthogonal zur Laserpolarisationsebene positioniert. Dazu wird dieser mit Hilfe eines Schrittmotors in kleinen Schritten (typischerweise $100 \times 7.2^\circ$ -Schritte) um die Laserachse gedreht, während die mittlere Laserleistung über ein Powermeter (GENTECH PSV-310) erfasst wird. Die Positionen geringster Leistung entsprechen dann der sogenannten gekreuzten Orientierung. Vor dem gekreuzten Polarisator wird anschließend das QWP in eine drehbare Halterung eingesetzt und wiederum in kleinen Schritten (im Regelfall $100 \times 3.6^\circ$ -Schritte) um die Laserachse rotiert. Die Positionen mit maximaler Leistung am Powermeter zeigen dann idealerweise den Zustand des höchsten Zirkularpolarisationsgrades an. Um letzteren zu quantifizieren, wird an den zugehörigen Winkeln mit fixiertem QWP der lineare Polarisator erneut rotiert (wiederum in $100 \times 7.2^\circ$ -Schritten). Aus den resultierenden Daten

kann über eine Anpassung der gemessenen Leistung in Abhängigkeit des Polarisatorwinkels $P(\alpha)$ gemäß Gleichung 3.3.1 der Polarisationszustand charakterisiert werden.

$$P(\alpha) = P_{\max} \cdot \sin^2(\alpha - \alpha_0) + P_0 \quad (3.3.1)$$

P_{\max} beschreibt die Amplitude, P_0 ist der Offset und α_0 stellt die Phase dar. Für ideal zirkular polarisierte Strahlung wird ein konstanter Verlauf in Abhängigkeit des Transmissionsachsen-Winkels α erwartet. Die \sin^2 -Modulation des Signals mit einer Periodizität von 2π kommt durch lineare Restanteile, d. h. bei einem elliptischen Polarisationszustand, zustande. Der Zirkularpolarisationsanteil R_{circ} kann anhand der Amplitude P_{\max} und dem Offset P_0 gemäß Gleichung 3.3.2 quantifiziert werden.^[34]

$$R_{\text{circ}} = \frac{2 \cdot P_0}{2 \cdot P_0 + P_{\max}} \quad \text{für } P_{\max} \geq 0 \quad (3.3.2)$$

Die Steuerung der Schrittmotoren und Aufzeichnung der mittleren Laserleistung am Powermeter erfolgt durch das LabView-Programm *CircPol-Analysis.vi*. Die Software bietet zudem die Funktion die Daten direkt durch \sin^2 -Funktionen anzupassen, um die optimalen Positionen der Optiken schnell zu bestimmen.

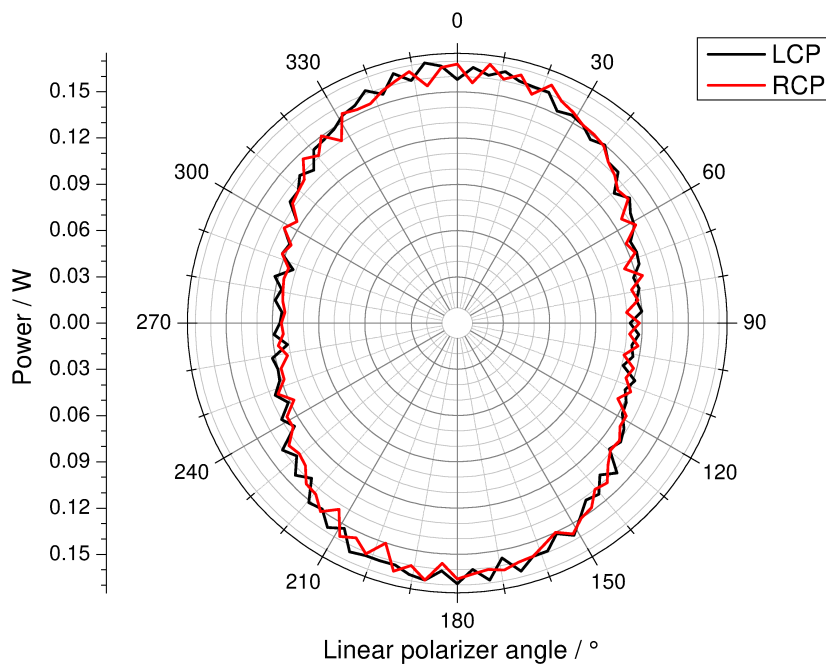


Abbildung 3.3.6: Auftragung der Polarisationsellipse: Gemessene mittlere Leistung P in Abhängigkeit des Polarisatorwinkels α .

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Zirkularpolarisationsanteile in der Größenordnung von

bis zu 82 % für LCP bzw. RCP bestimmt. Eine repräsentative Polarisationsellipse ist in Abbildung 3.3.6 in einem Polardiagramm dargestellt.

Die Restanteile linearer Polarisation liegen in beiden Fällen auf der vertikalen Achse (d. h. orthogonal zur Laserpolarisationsachse). Die Güte des Polarisationsgrades wurde regelmäßig überprüft. Eine umfassende Charakterisierung des Polarisationszustandes inklusive der Bestimmung von STOKES-Parametern folgt in Abschnitt 4.4.

3.4 Circulardichroismus-Messungen

Die Kombination des neu entworfenen ESI-TOF-MS mit der zirkular polarisierten UV-Laserstrahlung erlaubt die Untersuchung des Circulardichroismus in Ionenausbeuten und Photoelektronen-Winkelverteilungen. In diesem Unterkapitel werden der dazu verwendete Messablauf und die Auswertemethodik dargelegt.

3.4.1 Messroutine

Sämtliche chiroptischen Untersuchungen in dieser Arbeit folgten einem definierten Ablauf, welcher in Abbildung 3.4.1 schematisch dargestellt ist.

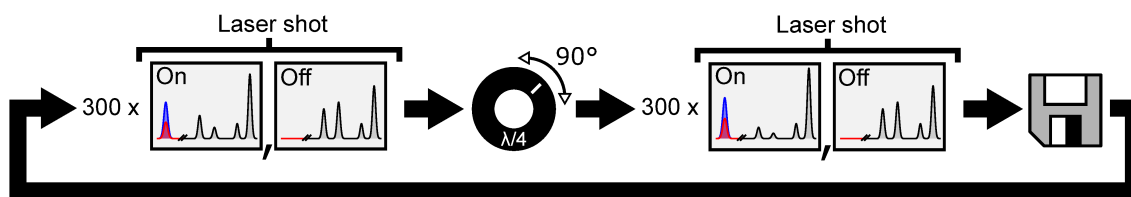


Abbildung 3.4.1: Schematische Darstellung des allgemeinen Messverfahrens zur Ermittlung des PICD und PECD: Alternierend werden Einzelmassenspektren mit und ohne Laser aufgezeichnet. Es werden zunächst 300 Laserschüsse einer Helizität erfasst. Dann wird durch eine 90°-Drehung des $\lambda/4$ -Wellenplättchens die Helizität umgekehrt, bevor wiederum 300 Laserschüsse aufgezeichnet werden. Zur Bestimmung des PECD-Wertes werden die Intensitäten der beiden Elektronensignale (rot und blau) auf dem zweigeteilten Detektor (eMCP) erfasst, für die Messung des PICD hingegen werden die massenaufgelösten Signale am dafür vorgesehenen zweiten Detektor (iMCP) aufgenommen (schwarz).

Für eine festgelegte Anzahl von 300 Laserschüssen werden gemäß der in Abschnitt 3.2.5 beschriebenen Methodik alternierend Einzelmassenspektren mit und ohne Laser aufgezeichnet. Dabei wird zirkular polarisiertes Licht verwendet, welches mit Hilfe eines

achromatischen $\lambda/4$ -Wellenplättchens AQWP05M-340 von THORLABS erzeugt wird. Das Verzögerungsplättchen besteht aus Quarz- und Saphir-Glas, getrennt über einen Luftspalt und weist eine hohe Zerstörschwelle auf (5 J cm^{-2} für $\lambda = 355 \text{ nm}$, $\tau = 10 \text{ ns}$, $f_{\text{rep}} = 10 \text{ Hz}$)^[245]. Die wellenlängenabhängige Verzögerung der verwendeten Optik ist in Abbildung 3.4.2 aufgetragen.

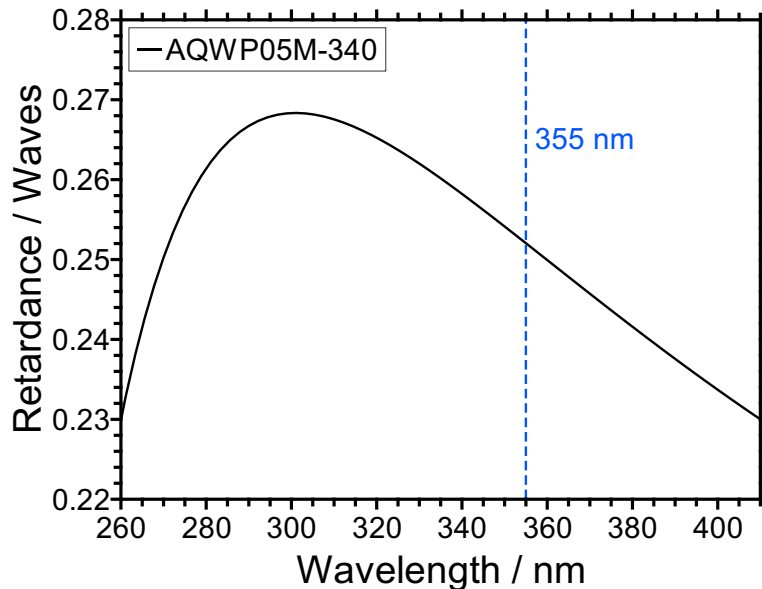


Abbildung 3.4.2: Verzögerung des achromatischen $\lambda/4$ -Wellenplättchens AQWP05M-340 von THORLABS in Abhängigkeit der Wellenlänge.^[245]

Nach der Erfassung von insgesamt 300 Laserschüssen, jeweils bestehend aus einem Flugzeitspektrum mit und ohne Laser, wird die Helizität der zirkular polarisierten Laserpulse durch eine 90° -Drehung des Wellenplättchens umgekehrt. Anschließend werden weitere 600 Einzelmassenspektren, wiederum alternierend mit und ohne Lasereinwirkung, aufgezeichnet. Die Kombination der beiden Teilmessungen mit unterschiedlicher Zirkularpolarisation (LCP und RCP) wird als *pass* bezeichnet. Sämtliche Daten eines *passes* werden in ihrer Rohform gespeichert, um später eine geeignete Wahl der Normierung auf den ESI-Hintergrund vornehmen zu können. Die 8-bit-Zahlenwerte des Digitiziers werden dabei aus Speicherplatz-Gründen in binärer Form gespeichert. Nach dem Speichervorgang beginnt der geschilderte Messzyklus erneut. Im Verlaufe einer Chiralitätsanalyse (auch als *run* bezeichnet) werden mehrere hundert *passes* durchgeführt, wobei ein *pass* bei einer Laserrepetitionsrate von 10 Hz ungefähr eine Minute in Anspruch nimmt. Die häufige Variation des Polarisationszustandes und die unterschiedliche Abfolge der beiden Lichthelizitäten in aufeinanderfolgenden *passes* (RCP,LCP,LCP,RCP,RCP,LCP,...)

minimieren systematische Fehler durch Drifts der mittleren Laserleistung und des Ionsignals der ESI-Quelle.

Alle CD-Messungen wurden mit einem zu diesem Zweck neu entwickelten LabView-Programm *CD-Measurement.vi* durchgeführt. Besagte Software koordiniert die Datenerfassung und Variation der experimentellen Parameter. Die Einstellung des Polarisationszustandes erfolgt automatisiert durch Rotation des QWP mittels des Schrittmotors ST4018L1206-A von NANOTEC über einen *Microstep*-Controller SMC PCI von MICOS. Das Timing des Experimentes wird programmintern über die SG02P5-Karte von BME festgelegt. Die zwei Kanäle der Messkarte U1084A von ACQIRIS werden nach jedem Triggersignal durch das VI ausgelesen und es erfolgt eine Sortierung der erhaltenen Daten gemäß Polarisationszustand und Laser-Status (an/aus). Letzterer wird anhand der zugehörigen Triggernummer (ungerade vs. gerade) bestimmt. Außerdem wird parallel die mittlere Laserleistung hinter dem Ausgangsfenster der Apparatur erfasst. Dies geschieht über ein Leistungsmessgerät TPM-300-CE der Firma GENTEC-EO mit Volumenabsorber-Messkopf (PSV-310), dessen analoge Outputspannung (zwischen 0 V und 1 V) über die PCI-Karte 6221 von NATIONAL INSTRUMENTS ausgelesen wird. Über polarisationsabhängige Kalibrationen kann auf die Laserleistung im Chiralitätspektrometer zurückgeschlossen werden.

Nach jedem *pass* erfolgt bereits eine erste, schnelle Auswertung der erfassten Daten, um dem Benutzer eine Überwachung des Messvorgangs zu erlauben. Neben dem gemitteltem Differenzmassenspektrum und den berechneten CD-Werten kann der Verlauf von Laserleistung sowie ESI-Signal verfolgt werden.

3.4.2 Auswertung

Die Auswertung der erfassten Rohdaten erfolgte mittels zwei LabView-Programmen *PICD-Analysis.vi* und *PECD-Analysis.vi*, welche im Rahmen dieser Arbeit geschrieben wurden. Eine teilweise Automatisierung der Auswertung ist aufgrund der großen Datenmengen unerlässlich. Der allgemeine Ablauf der Datenanalyse ist vereinfacht als Flussdiagramm in Abbildung 3.4.3 dargestellt.

In beiden Programmen werden zunächst die Rohdaten eingelesen. Dabei ist jeweils eine Überprüfung der Signalamplituden auf Sättigung möglich. Im PICD-VI können ganze *passes*, welche eine gewisse Anzahl von Einzelspektren mit Amplituden jenseits eines vom Nutzer definierbaren Grenzwertes enthalten, verworfen werden, während im PECD-VI einzelne Laserschüsse anhand festgelegter Kriterien aussortiert werden können. Dieses voneinander abweichende Vorgehen wurde gewählt, da der PECD im Gegensatz zum

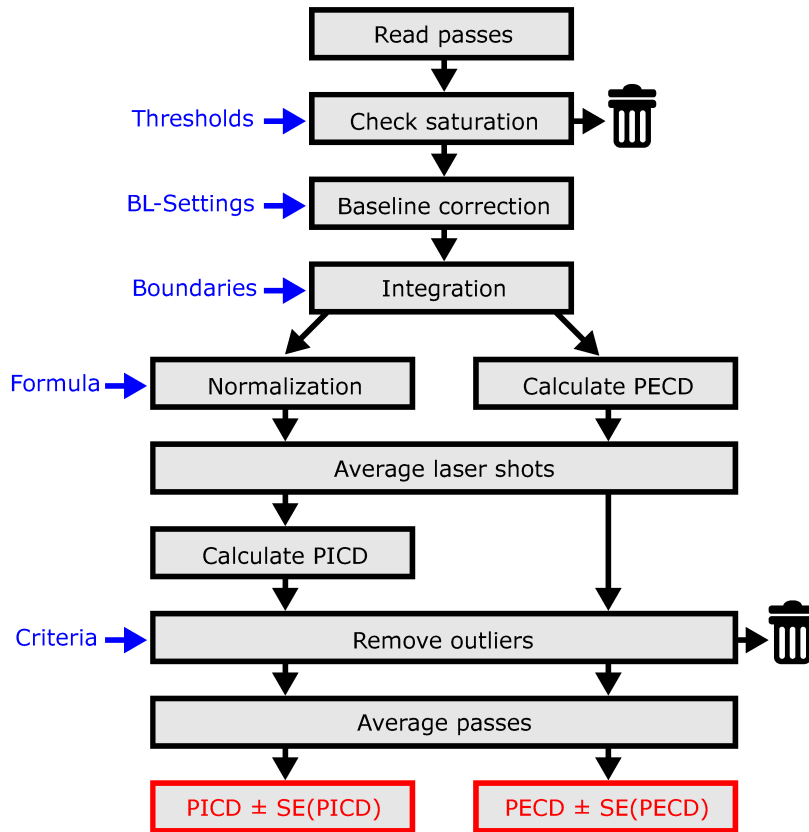


Abbildung 3.4.3: Flussdiagramm der Datenanalyse zur Bestimmung von PICD- und PECD-Werten: Die Massenspektren aller *passes* werden eingelesen, auf Sättigung überprüft, baselinienkorrigiert und in festgelegten Intervallen integriert. Im Falle der PICD-Analyse (linke Spalte) ist eine Normierung möglich, bevor über alle Laserschüsse gemittelt und der PICD-Wert aus den Ausbeuten berechnet wird. Der PECD-Wert (rechte Spalte) hingegen kann direkt aus den Vorwärts- und Rückwärts-Ausbeuten pro Laserschuss ermittelt werden und wird anschließend gemittelt. Nach vom Benutzer definierten Kriterien können in beiden Fällen *passes* aussortiert werden, bevor schließlich der Mittelwert über alle verbleibenden *passes* gebildet wird.

PICD pro Laserschuss bestimmt werden kann. Sättigungseffekte können beispielsweise durch einen unzureichenden Messbereich des Digitizers oder Limitierungen des Vorverstärkers ($< 1\text{ V}$) zustande kommen und müssen zur validen Bestimmung von ausbeutebasierten Größen unbedingt vermieden werden.

Anschließend wird eine Basislinienkorrektur der Massenspektren durchgeführt. Dazu wird in einem zuvor definierten Bereich ohne Signale eine Konstante mittels der *bisquare*-Methode an die Messdaten angepasst und der ermittelte Wert anschließend sub-

trahiert. Es können dabei Restriktionen bezüglich der Variabilität der Basislinie zwischen den einzelnen Laserschüssen und Polarisationszuständen gemacht werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde festgelegt, dass die aufeinanderfolgenden Spektren mit und ohne Laser die gleiche Korrektur erfahren sollten. Die Basislinienkorrektur erfolgt deshalb anhand der Mittelwerte von zusammengehörigen Einzelspektren mit und ohne Laser, um Artefakte in den Differenzspektren zu verhindern.

Nach der Basislinienkorrektur werden die Flugzeitspektren mittels Trapez-Verfahren in zuvor festgelegten Grenzen numerisch integriert. Im Falle der PICD-Analyse wird nur ein Kanal ausgewertet, während für die PECD-Analyse die Elektronensignale auf der vorwärts- und rückwärts-orientierten Anode gleichzeitig verarbeitet werden.

Die erhaltenen absoluten Ionenausbeuten können für die Bestimmung von PICD-Werten normiert werden. Dies ist empfehlenswert, da die absoluten Ausbeuten der betrachteten Photoreaktionsprodukte direkt abhängig von ESI-Signalstärke (Anzahl der Eduktionen) und Laserleistung sind. Auf der Zeitskala der Polarisationsvariation können merkliche Veränderung, insbesondere des ESI-Hintergrundes, erfolgen. Letzteres kann zu Artefakten beim Vergleich der entsprechenden Ausbeuten, d. h. in der PICD-Berechnung, führen. Drifteinflüsse werden durch die verwendete Messroutine großteils kompensiert, dennoch kann eine Normierung vorteilhaft sein. Die Normierungsfunktion ist vom Nutzer der Auswertesoftware frei wählbar. Aus den gegebenenfalls normierten Ausbeuten werden nach einer Mittelung über alle Laserschüsse für jeden *pass* PICD-Werte berechnet.

Der PECD – die Asymmetrie der Photoelektronen-Winkelverteilung entlang der Laserachse – kann für jeden Einzelschuss bestimmt werden, daher ist hier keine Normierung auf Ausbeuten oder Laserleistung notwendig bzw. sinnvoll. Die einzelnen PECD-Werte, welche für die beiden Lichthelizitäten erhalten wurden, werden jeweils für alle Laserschüsse gemittelt. Aus den so bestimmten PECD-Werten für LCP und RCP kann der symmetrisierte PECD-Wert für jeden *pass* berechnet werden.

Bevor abschließend über alle *passes* gemittelt wird, können optional einzelne *passes* als Ausreißer identifiziert und aussortiert werden. Die Kriterien für die Aussortierung werden vom Nutzer festgelegt. Es wurden zwei simple Arten der Ausreißer-Detektion implementiert: Z-Scoring, d. h. das Verwerfen aller Datenpunkten außerhalb eines definierten Konfidenzintervalls, und Aussortierung beim Überschreiten eines Grenzwertes der relativen Standardabweichung in einem *pass*. Beide Methoden können im Hinblick auf die Laserleistung und den ESI-Hintergrund in einem *pass* angewendet werden, d. h. eine Auswahl der berücksichtigten Datenpunkte erfolgt nur anhand von sekundären Informationen und nicht am Nutzsignal selbst. Im Rahmen dieser Arbeit kam diese Funktionalität nicht zum

Einsatz.

Die berechneten CD-Werte, integrierten Hintergrund-Signale (normiert und nicht normiert) sowie die gemessenen Laserleistungen werden von der Auswertesoftware für alle Laserschüsse, *Passes* und gesamte *Runs* im Textformat ausgegeben. Sämtliche Input-Parameter für die Auswertesoftware werden in txt-Files definiert.

3.5 Chemikalien

Die in Tabelle 3.5.1 aufgelisteten Chemikalien wurden in dieser Arbeit als Analyten beziehungsweise Addukte ohne weitere Aufreinigung verwendet. Als Lösungsmittel dienten vollentsalztes Wasser, Methanol (Fisher Chemical, HPLC-grade, $\geq 99.9\%$) und Acetonitril (VWR Chemicals, HPLC-grade, $\geq 99.9\%$).

Tabelle 3.5.1: Reinheit und Bezugsquelle der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Chemikalien.

Stoff	Bezugsquelle	Reinheit
L-Glutaminsäure	Sigma-Aldrich	99.5 %
D-Glutaminsäure	Sigma-Aldrich	99.0 %
L-3,4-Dihydroxyphenylalanin	Sigma-Aldrich	98.9 %
D-3,4-Dihydroxyphenylalanin	Sigma-Aldrich	95.0 %
Gramicidin vom <i>Bacillus aneurinolyticus</i> (<i>Bacillus brevis</i>) ^a	Sigma-Aldrich	95.0 %
Natriumhydroxid	Merck	99.0 %
Caesiumhydroxid-Hydrat	Alfa Aesar	99.9 % ^b

^a Gemisch aus Gramicidin A, B, C und D.

^b In Spurenmetall-Basis, enthält 15 % - 20 % H₂O.

4 Ergebnisse und Diskussion

Dieses Kapitel widmet sich den Ergebnissen, welche mit dem neu entwickelten ESI-TOF-MS im Rahmen dieser Doktorarbeit erzielt werden konnten. In den ersten Unterkapiteln werden Charakteristika des linearen Flugzeitmassenspektrometers und der ESI-Quelle bzw. des gepulsten Ionenstrahls anhand einer Auswahl experimenteller Daten dargelegt. Anschließend wird der Einfluss von Laserstrahlung auf mittels Elektrosprayionisation erzeugte Anionen thematisiert. Nachdem außerdem der Polarisationszustand der Laserpulse quantifiziert wurde, folgt schließlich die Präsentation der Resultate chiroptischer Studien an drei verschiedenen Analytmolekülen: 3,4-Dihydroxyphenylalanin, Glutaminsäure und Gramicidin. Es wird jeweils der Circular dichroismus in Ionenausbeuten (PICD) und Photoelektronen-Winkelverteilungen (PECD) beschrieben.

4.1 Charakterisierung des Chiralitätsspektrometers

Das Chiralitätsspektrometer, bestehend aus einem linearen Flugzeitmassenspektrometer zur Ionendetektion und einer richtungsauflösenden Einheit zur Elektronenabbildung, wurde im Rahmen dieser Arbeit speziell für die Kopplung mit einer ESI-Quelle entwickelt. Da dieser Teil des experimentellen Aufbaus (siehe Sektionen 3.2.3 und 3.2.4) das Kernstück für die chiroptische Analytik darstellt, erfolgt in diesem Abschnitt zunächst eine Charakterisierung der grundlegenden Funktionalität. Um die Elektronen- und Ionenoptiken sowie Detektoren unabhängig von der Ionenquelle zu testen, wurden Ladungsträger durch Laserionisation von in der Hochvakuumkammer verbliebenem Restgas gebildet. Zu diesem Zweck wurde der ns-Laser mit einer plano-konvexen Linse (THORLABS LA4579UV, $f_{\text{lens}} = 30 \text{ cm}$) ins Zentrum der Extraktraktionszone fokussiert, d. h. zwischen die Linsen L1 und L2. Die gebildeten Kationen können im Ionenflugzeitmassenspektrometer getrennt werden (Abschnitt 4.1.1). Im Fall der emittierten Photoelektronen kann eine Projektion auf den MCP-Detektor mit zwei Halbkreisanothen erfolgen (Abschnitt 4.1.2).

4.1.1 Ionenflugzeitmassenspektrometer

In Abbildung 4.1.1 ist exemplarisch ein Massenspektrum gezeigt, welches durch die Laserionisation von Restgas in der Hochvakuumkammer erhalten wurde. Es wurden die folgenden Spannungen an die elektrostatischen Optiken des linearen Flugzeitmassenspektrometers angelegt: $U_{L1} = 1000 \text{ V}$, $U_{L2} = -0.5 \text{ V}$, $U_{L3} = -300 \text{ V}$ und $U_{\text{iDT}} = -1800 \text{ V}$. Der Detektor wurde über die dafür vorgesehene Verteilereinheit (Abb. 8.4.2) mit einer Spannung von -2.3 kV versorgt.

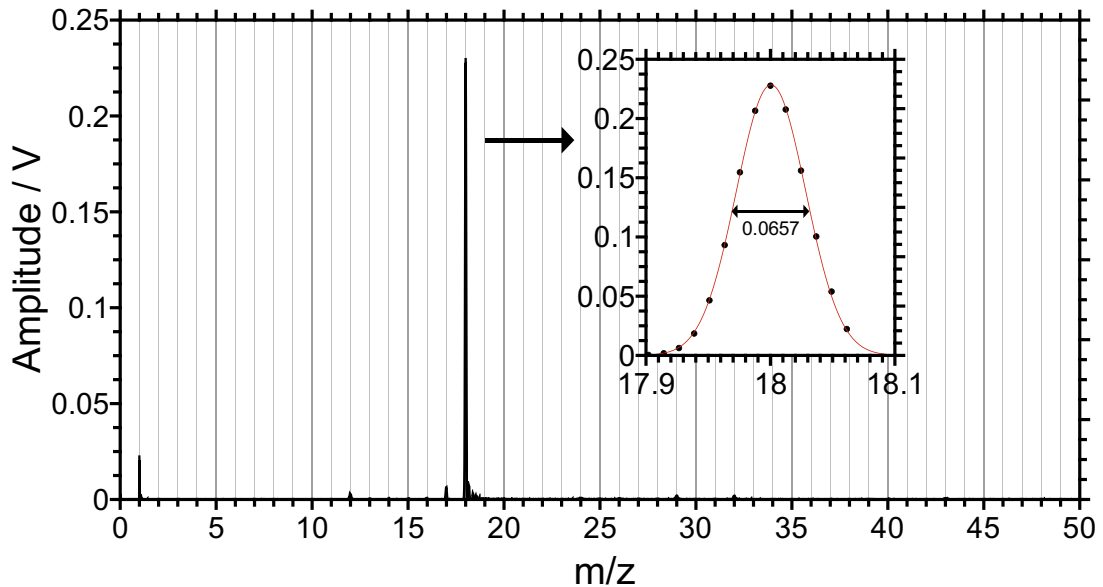


Abbildung 4.1.1: Laserionisations-Massenspektrum von Restgas im linearen TOF-MS mit fokussierter Strahlung ($E_{\text{pulse}} = 9 \text{ mJ}$). Das H_2O^+ -Signal bei $m/z = 18$ ist vergrößert dargestellt und wurde durch eine Gauß-funktion angepasst.

Es können verschiedene voneinander klar getrennte Signale detektiert werden. Das intensivste Signal wird bei einem m/z -Verhältnis von 18 erfasst. Dieses Signal kommt durch die einfache Photoionisation von Wasser zustande. Außerdem können Protonen und OH^+ bei $m/z = 1$ bzw. 17 nachgewiesen werden. Ein kleines Signal mit $m/z = 32$ weist auf die Ionisierung von Sauerstoffmolekülen hin. Weitere wenig intensive Signale bei m/z -Verhältnissen von 12, 24, 29 und 43 entstammen Kohlenwasserstoffen.

Die jeweiligen Peakformen können sehr gut durch Gauß-funktionen beschrieben werden. Dies ist in Abbildung 4.1.1 am Beispiel des Wassererkations gezeigt. Anhand der Halbwertsbreite des H_2O^+ -Signals wurde ein Auflösungsvermögen R_{FWHM} von 274 bestimmt. Dieser Wert liegt für die Untersuchung von thermalisierten Ionen ($T \approx 300 \text{ K}$) in einer

für lineare TOF-MS üblichen Größenordnung.^[169]

Im hier untersuchten Fall eines kleinen Laserfokus ist die Auflösung des TOF-MS im Regelfall durch die initiale kinetische Energieverteilung oder das Zeitprofil der Lichtquelle limitiert.^[169] Für die Untersuchung eines Ionenstrahls aus der ESI-Quelle ist jedoch eine deutlich breitere Startortsverteilung zu erwarten. Diese gilt es zu kompensieren, um angemessene Massenauflösungen zu erhalten. Dazu soll ein Raumfokus zweiter Ordnung dienen. Die dazu notwendigen Einstellungen sollen im Folgenden abgeschätzt werden. Die Flugzeitgleichung für ein dreistufiges, lineares TOF-MS lautet folgendermaßen:^[168]

$$\begin{aligned}
 \text{TOF} = & \underbrace{\frac{\sqrt{2m}}{qE_1} \left(\sqrt{qd_1E_1 + U_0} \pm \sqrt{U_0} \right)}_{t_1} & (4.1.1) \\
 & + \underbrace{\frac{\sqrt{2m}}{qE_2} \left(\sqrt{qd_2E_2 + qd_1E_1 + U_0} - \sqrt{qd_1E_1 + U_0} \right)}_{t_2} \\
 & + \underbrace{\frac{\sqrt{2m}}{qE_3} \left(\sqrt{qd_3E_3 + qd_2E_2 + qd_1E_1 + U_0} - \sqrt{qd_2E_2 + qd_1E_1 + U_0} \right)}_{t_3} \\
 & + \underbrace{\frac{\sqrt{2m}d_4}{2\sqrt{qd_3E_3 + qd_2E_2 + qd_1E_1 + U_0}}}_{t_4}
 \end{aligned}$$

Die Gesamtflugzeit TOF ergibt sich aus der Summe von vier Teilflugzeiten t_i in den unterschiedlichen Abschnitten des Massenspektrometers. In den ersten drei Zonen erfolgt auf den Strecken $d_1 = d_{L1-L2}/2 \pm \Delta x$, $d_2 = d_{L2-L3}$ und $d_3 = d_{L3-iDT}$ eine Beschleunigung der Ionen mit der Masse m , der Ladung q und der kinetischen Startenergie U_0 durch die entsprechenden Felder E_1 , E_2 bzw. E_3 . Δx bezeichnet die Abweichung des Startortes eines Ions vom Zentrum der Extraktionszone. Anschließend passieren die Ionen die Driftstrecke $d_4 = d_{iDT} + d_{iDT-iMCP}$ und werden schließlich detektiert.

Es sei angemerkt, dass unter Verwendung von Gleichung 4.1.1 mit den in Tabelle 3.2.1 spezifizierten Geometrieparametern gewisse Beiträge vernachlässigt werden. Flugzeiten durch die verschiedenen Linsen werden nicht berücksichtigt, da diese eine vergleichsweise geringe Dicke aufweisen. Außerdem wird die Potentialdifferenz zwischen Flugrohr und Detektorfront vernachlässigt, da diese abschließende Beschleunigung keinen großen Einfluss auf die Gesamtflugzeit hat.

Zur Abschätzung der Raumfokusbedingungen werden die ersten beiden Ableitungen der Flugzeitgleichung gleich null gesetzt. Das daraus folgende Gleichungssystem wurde mit-

tels MATHCAD hinsichtlich der benötigten Feldstärken numerisch gelöst. Es wurden Verhältnisse der elektrischen Felder von $E_2/E_1 = 0.7$ und $E_3/E_1 = 5.5$ bestimmt. Dieses Ergebnis bietet sich als Startpunkt für die empirische Optimierung der Auflösung an.

Die Funktionalität des linearen TOF-MS konnte anhand der Laserionisation von Restgas demonstriert werden. Die mit dem neuen Gerät erzielbare Auflösung liegt in einem für die Chiralitätsanalyse akzeptablen Bereich. Anhand der Flugzeitgleichung wurden Raumfokusbedingungen zweiter Ordnung abgeschätzt.

4.1.2 Elektronenabbildung und -detektion

Durch Anlegen geeigneter Spannungen an die elektrostatischen Linsen der Extraktionszone ($U_{L1} = 0.5 \text{ V}$, $U_{L2} = -150 \text{ V}$), die Ablenkplatten ($U_{\text{DEFL,FWD}} = U_{\text{DEFL,BWD}} = 150 \text{ V}$) sowie das Elektronenflugrohr ($U_{\text{eDT}} = 300 \text{ V}$) können durch Restgasionisation gebildete Photoelektronen auf den Elektronendetektor abgebildet werden. In Abbildung 4.1.2 sind die aus insgesamt 1000 Laserschüssen erhaltenen mittleren Flugzeitspektren auf den zwei Detektoranoden dargestellt.

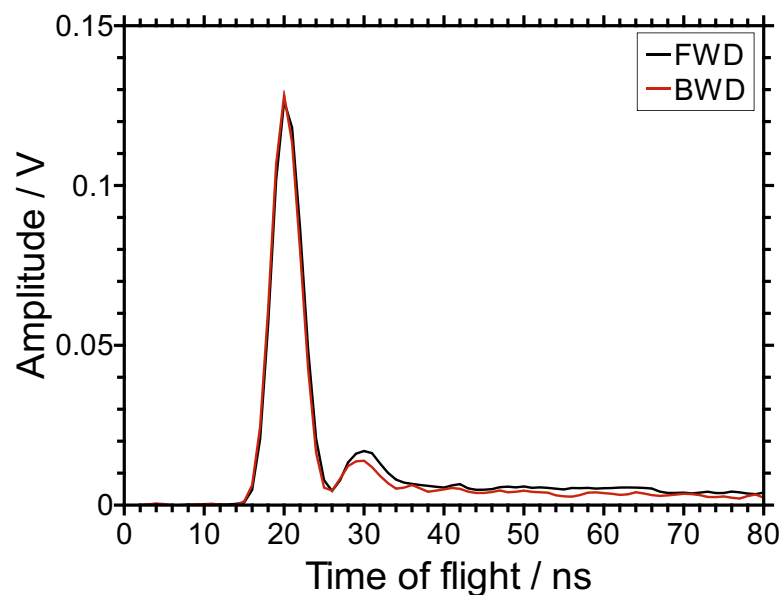


Abbildung 4.1.2: Elektronensignale der Restgasionisation mit fokussierter Laserstrahlung ($E_{\text{pulse}} = 9 \text{ mJ}$) sowie nachfolgende Signalreflektionen auf dem Elektronendetektor in Vorwärts- (FWD) und Rückwärtsrichtung (BWD) relativ zur Ausbreitungsrichtung des Laserstrahls.

Es werden auf beiden Anoden Elektronensignale bei Flugzeiten von 20 ns beobachtet.

Einem intensiven Primärsignal folgt unmittelbar ein deutlich kleineres sekundäres Signal. Wie die Betrachtung von Einzelevents offenbart, wird Letzteres nicht durch später eintreffende Elektronen hervorgerufen. Der zweite Amplitudenanstieg kann auf die spezifische Signalform der Detektorantwort zurückgeführt werden, welche durch bauartbedingte Impedanzfehlanspassungen zustande kommt. Da im Rahmen chiroptischer Analysen Integrale ausgewertet werden, ist die explizite Signalform bzw. das Auftreten von schwachen Signalreflexionen unerheblich. Zur Bestimmung von Elektronenausbeuten wurde ausschließlich das Primärsignal herangezogen. Die Halbwertsbreite des Elektronensignals liegt mit 4.5 ns erwartungsgemäß in der Größenordnung der Pulslänge des verwendeten Lasers von 5 ns.

Zur Aufzeichnung der Elektronensignale in Abbildung 4.1.2 wurde mit statischen Feldern gearbeitet und die Flugzeit ist relativ zu einem Photodiodensignal (THORLABS DET10A/M) des gepulsten Lasers bestimmt worden. Bei einer Nutzung der ESI-Quelle wird die als Repeller fungierende Linse (L1 oder L2) mit Feldpulsen beaufschlagt. Die Flugzeit wird dann relativ zum Triggersignal des Feldextraktionspulses gemessen. Dies hat den Vorteil, dass bei einer Variation der Laser- oder Ionenfallenverzögerung keine Flugzeitänderung der relevanten Elektronen bzw. Ionensignale auftritt.

Im soeben diskutierten Beispiel wurde das Elektronenbild durch eine geeignete Wahl des Fokuspunktes auf dem Detektor zentriert. Mit Hilfe der Ablenkungsplatten kann das Elektronenbild auf dem Detektor verschoben werden. Dies ist in Abbildung 4.1.3 gezeigt.

In Schwarz und Rot sind die Integrale der Elektronensignale auf der Vorwärts- (FWD) bzw. Rückwärts-Anode (BWD) des Detektors dargestellt. Außerdem ist in Blau die Gesamtelektronenausbeute (SUM) aufgetragen. Werden positivere Spannungen an die Vorwärts- als an die Rückwärts-Ablenkplatte angelegt ($U_{\text{DEFL,FWD}} > U_{\text{DEFL,BWD}}$, definiert als positives Ablenkungsfeld), so wird erwartungsgemäß eine Signalsteigerung auf der FWD-Anode des Detektors beobachtet. Das gegenteilige Verhalten tritt für negative Ablenkungsfelder auf ($U_{\text{DEFL,FWD}} < U_{\text{DEFL,BWD}}$). Die Summe der beiden Ablenkspannungen $U_{\text{DEFL,FWD}}$ und $U_{\text{DEFL,BWD}}$ wurde stets konstant gehalten.

Im Bereich betragsmäßig kleiner Ablenkungsfelder kann eine Verminderung des Gesamtelektronensignals festgestellt werden. Dies ist dem zur Isolation notwendigen Abstand zwischen den beiden Detektoranoden geschuldet. Sekundärelektronen, welche hinter den Mikrokanalplatten auf den Isolationsstreifen zwischen den Kupferanoden treffen, werden nicht erfasst. Folglich sind höhere Gesamtströme bzw. -ausbeuten zu messen, wenn das Elektronenbild nicht zentral auf dem Detektor zum Liegen kommt.

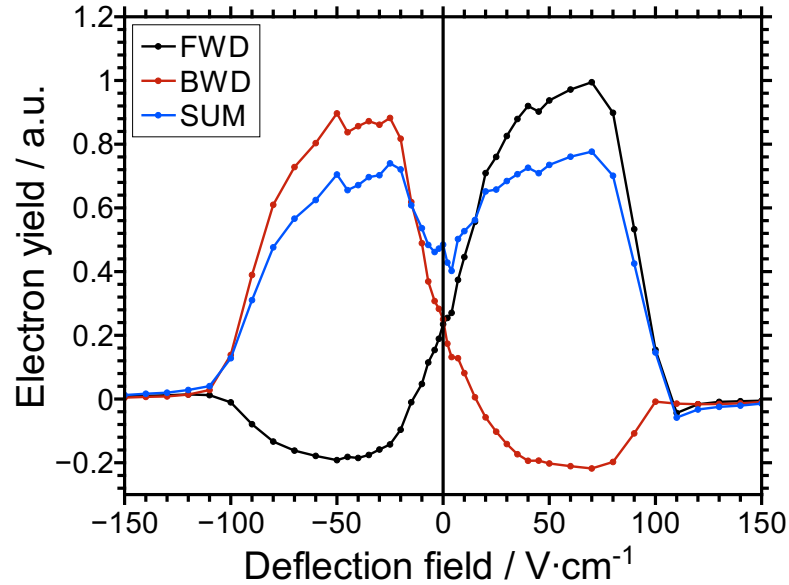


Abbildung 4.1.3: Elektronenausbeuten auf der Vorwärts- (FWD) und Rückwärtsanode (BWD) des Elektronendetektors sowie deren Summe (SUM) in Abhängigkeit des elektrischen Querfeldes zwischen den Ablenkungsplatten.

Bei hinreichend hohen Beträgen des Ablenkungsfeldes fällt das Elektronensignal auf null ab, da die erzeugten Ladungsträger nicht mehr auf die aktive Fläche des Detektors projiziert werden.

Auffällig in Abbildung 4.1.3 ist, dass bei hohen Elektronenausbeuten auf einer der beiden Anoden negative Integrale auf der jeweils anderen Anode auftreten. Dieser Fakt deutet auf eine kapazitive Kopplung zwischen den beiden Kupferanoden hin. Das Auffangen eines Signals in Form von Sekundärelektronen durch eine der Anoden führt – bedingt durch die räumliche Nähe – auch eine elektrische Antwort der zweiten Anode herbei. Dieser sogenannte *cross-talk* ist am Beispiel der Detektion eines einzelnen Elektrons in Abbildung 4.1.4 gezeigt.

Das Auftreffen eines Elektrons am Detektor äußert sich durch eine negative Amplitude (hier nicht invertiert) an der Vorwärtsanode. Parallel kann eine Rückkopplung an der Rückwärtsanode aufgezeichnet werden. Da die elektrische Antwort der signalfreien Anode vergleichsweise gering ausfällt und im zeitlichen Mittel (d. h. bei Integration) eine dem Signal entgegengesetzte Polarität aufweist, ist der hier beschriebene *cross-talk* für die Bestimmung von Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrien unkritisch. Im Gegenteil, es kann sogar eine minimale elektrische Verstärkung der Differenzen (FWD-BWD) durch

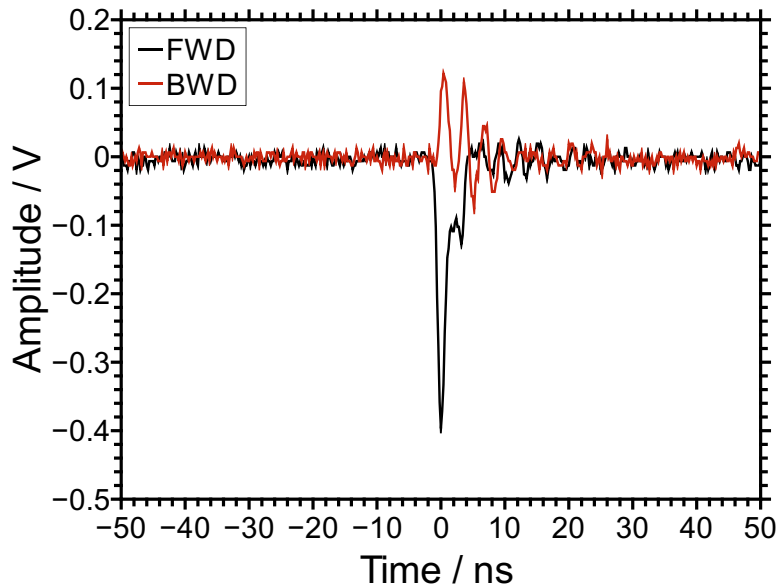


Abbildung 4.1.4: Einzelelektronensignal auf der Vorwärtsanode (FWD) und kapazitive Rückkopplung der Rückwärtsanode (BWD). Die Amplitude wurde entgegen der üblichen Darstellungsweise nicht invertiert und der Zeitnullpunkt ist auf das erfasste Signal festgelegt worden.

diesen Effekt erwartet werden.

Wird das Extraktionsfeld gepulst, wie es für die Einkopplung eines extern gebildeten Ionenstrahls erforderlich ist, so ergeben sich vergleichbare Resultate hinsichtlich des Elektronenspektrums. Allerdings sind zu den Schaltzeitpunkten Störsignale (engl. *noise*) auf den Signalleitungen zu finden. Diese sind in Abbildung 4.1.5 dargestellt.

Durch das schnelle Ein- und Ausschalten einer hohen Spannung an einer der Spektrometerkomponenten werden gedämpfte Schwingungen in die Signalleitungen der MCP-Detektoren induziert. Im Falle der Ionendetektion sind die besagten Störsignale vor dem Eintreffen der Ionen wieder abgeklungen. Bei der Betrachtung von Elektronen kann es jedoch zur Überlagerung mit einem Störsignal kommen. Aus einer Reihe von nachfolgend aufgelisteten Gründen ist der Einfluss der Schaltvorgänge für die in dieser Arbeit durchgeführten Studien vernachlässigbar. Die Amplituden der unerwünschten gedämpften Schwingungen (≤ 15 mV) sind bei den verwendeten Feldpulsamplituden deutlich kleiner als die erzielbaren Signalamplituden der Elektronenpeaks. Das Integral über ein Störsignal ist zudem nahezu null, da die Amplitude um den Nullwert oszilliert. Außerdem werden zur Bestimmung chiroptischer Variablen im Rahmen dieser Arbeit bevorzugt Differenzausbeuten herangezogen. Die in zwei Spuren in gleichem Ausmaß enthaltenen

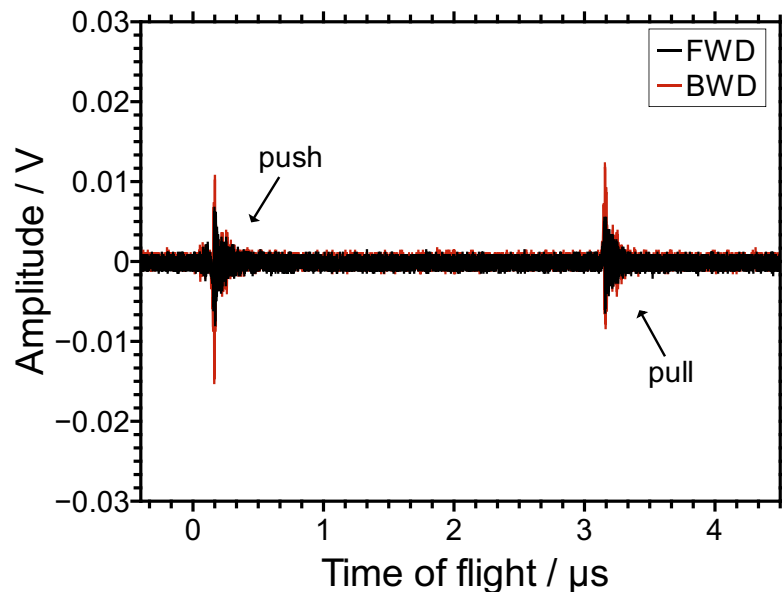


Abbildung 4.1.5: Störsignale beim Ein- (*push*) und Ausschalten (*pull*) einer Spannung von -150 V an der Repellerlinse (hier L2).

unerwünschten Anteile können auf diese Weise aufgehoben werden.

Am Beispiel der Restgasionisation konnte die Abbildung und Detektion von Photoelektronen im neuen Aufbau demonstriert werden. Mit Hilfe des verwendeten Detektors, welcher über zwei Halbkreisanothen verfügt, können dabei in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung emittierte Elektronen separat nachgewiesen werden. Elektrische Querfelder zwischen Ablenkplatten erlauben zudem eine Positionierung des Elektronenbildes entlang der Laserachse.

4.2 Charakterisierung der Ionenquelle

Die ordnungsgemäße Funktionalität des linearen Flugzeitmassenspektrometers wurde am Beispiel der Laserionisation von Restgas nachgewiesen. Nun soll die Kopplung des TOF-MS mit der ESI-Quelle demonstriert werden. Die zu diesem Zweck ergänzte Oktopol-Ionenfalle sowie die verschiedenen Transferoptiken werden daher im Folgenden charakterisiert.

Sämtliche präsentierte Daten wurden durch die Elektrosprayionisation von L-Glutaminsäure (0.2 mmol L^{-1} in einer 1:3-Mischung aus Wasser und Acetonitril) im negativen Modus erhalten. Die verwendeten experimentellen Einstellungen der ESI-TOF-Apparatur

sind Tabelle 8.2.6 im Anhang dieser Arbeit zu entnehmen.

4.2.1 Ionenspeicherung

In Abbildung 4.2.1 sind ESI-Massenspektren des L-Enantiomers der Glutaminsäure (GLU) im negativen Modus, welche mit dem neuen Aufbau gemessen werden konnten, gezeigt.

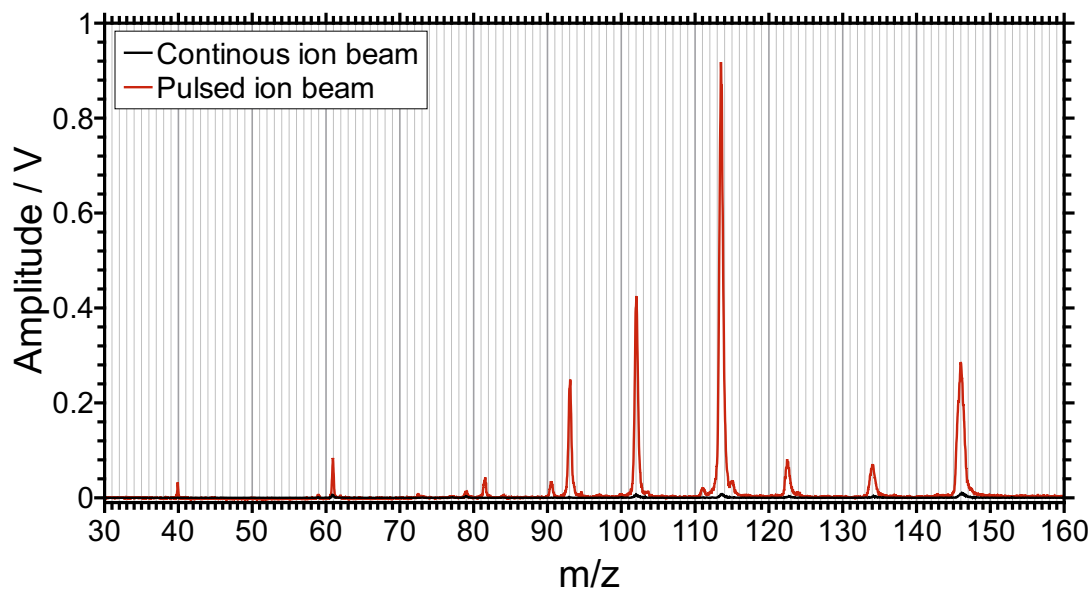


Abbildung 4.2.1: Vergleich von ESI-Massenspektren der L-Glutaminsäure bei kontinuierlichem Ionenstrahl und gepulstem Ionenstrahl.

Zunächst sei das Augenmerk auf das in Rot dargestellte Massenspektrum gerichtet, welches im standardmäßigen Betrieb mit einem gepulsten Ionenstrahl erhalten wurde. Separierte Signale verschiedener Glutaminsäure-Anionen können detektiert werden. Bei einem m/z -Verhältnis von 146 wird das einfach deprotonierte Molekül $[M-H]^-$ beobachtet. Im Bereich kleinerer m/z -Verhältnisse sind zudem eine Reihe von solvatisierten Dianionen nachzuweisen. Das intensivste Signal wurde für $m/z = 113.5$ erhalten und korrespondiert mit dem Dianion $[(M-2H)(CH_3CN)_2]^{2-}$. Eine detailliertere Diskussion des Massenspektrums der Glutaminsäure erfolgt in Abschnitt 4.6.1.

Die erfolgreiche Kopplung der kommerziellen ESI-Quelle mit dem neu entwickelten Chiralitätsspektrometer konnte somit demonstriert werden. Es sollte betont werden, dass ohne eine zusätzliche Verstärkung des Detektorsignals recht hohe Signalamplituden von bis zu 0.9 V erzielt werden können. Die Ionenquelle stellt demnach ausreichende Ionendich-

ten für eine direkte Digitalisierung der Messsignale über Analog-zu-Digital-Konverter zur Verfügung.

Dieser Umstand ist hauptsächlich der Verwendung einer Ionenfalle zu verdanken, wie ein Vergleich mit dem ebenfalls in Abbildung 4.2.1 aufgetragenen Massenspektrum eines kontinuierlichen Ionenstrahls (schwarz) zeigt.

Die Gesamtionenausbeute steigt durch das Pulsen des Ionenstrahls in diesem Beispiel um einen Faktor von 38. Für spezifische Ionen können sogar noch größere Intensitätssteigerungen festgestellt werden. Das Dianion mit dem m/z -Verhältnis von 113.5 zeigt zum Beispiel eine Erhöhung des zugehörigen Integrals um einen Faktor von 89. Die Ionenausbeuten im TOF-MS können also durch eine Zwischenspeicherung der elektrosprayten Ionen um ein bis zwei Größenordnungen gesteigert werden.

Die detektierbare Gesamtionenausbeute wurde in Abhängigkeit des Tastgrades (engl. *duty cycle*), d. h. der Frequenz mit welcher Massenspektren aufgezeichnet werden, untersucht. Die Resultate sind in Abbildung 4.2.2 in Form normierter Gesamtionenausbeuten zu finden.

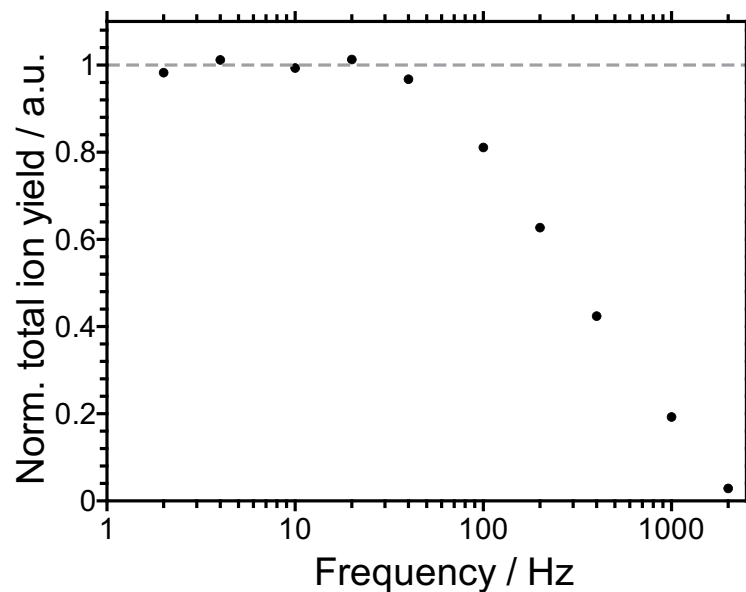


Abbildung 4.2.2: Gesamtionenausbeute in einem ESI-Massenspektrum von L-GLU (normiert auf den Mittelwert der Ausbeuten bei $f \leq 20$ Hz) in Abhängigkeit der Pulsfrequenz f des ESI-TOF-MS.

Anfangen bei niedrigen Frequenzen ist zunächst keine Veränderung der Gesamtionenausbeute bei einer Frequenzsteigerung zu erkennen. Trotz der häufigeren Entnahme von Ionenpaketen aus dem Multipol ist keine Signalminderung in den Massenspektren

festzustellen. Die Ionenfalle ist in diesem Bereich saturiert, d. h. die ESI-Quelle bietet mehr Ionen an, als der Oktopolfalle entnommen werden. Bei der für Laserexperimente verwendeten Frequenz von 20 Hz sowie kleineren Frequenzen liegen folglich die im vorliegenden Aufbau maximal erzielbaren Ionendichten der extrahierten Ionenpakete vor. Ab einer Frequenz von ungefähr 40 Hz kann eine Abnahme der Gesamtsignalintensitäten festgestellt werden. Die Ionendichte in der Oktopolfalle und folglich den extrahierten Ionenpaketen sinkt durch die häufigere Entnahme von Ionen.

Die Zusammensetzung eines aus der Ionenfalle extrahierten Ionenpaketes hängt von der Bias-Spannung $U_{\text{oct,bias}}$ sowie der RF-Amplitude $U_{\text{oct,RF}}$ des Oktopols ab. Dies ist in Abbildung 4.2.3 illustriert.

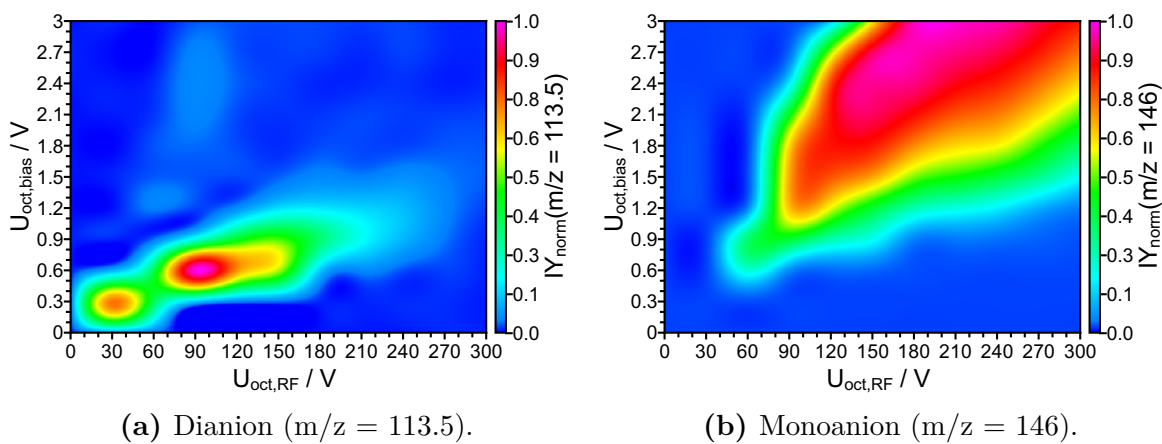


Abbildung 4.2.3: Normierte Ionenausbeuten von $[(\text{M}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{CN})_2]^{2-}$ ($m/z = 113.5$) und $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($m/z = 146$) in Abhängigkeit der Ionenfallenspannungen $U_{\text{oct,bias}}$ und $U_{\text{oct,RF}}$ in einer Falschfarben-Darstellung.

In Abbildung 4.2.3(a) und 4.2.3(b) sind die normierten Ionenausbeuten eines Dianions ($m/z = 113.5$) bzw. eines Monoanions ($m/z = 146$) der Glutaminsäure in einer Falschfarben-Darstellung als Funktion der beiden Oktopol-Spannungsparameter dargestellt. Es zeigt sich, dass die jeweils höchsten Ausbeuten in unterschiedlichen Bereichen auftreten. Für die Speicherung des Dianions sind kleine RF-Amplituden $U_{\text{oct,RF}}$ und kleine Bias-Spannungen $U_{\text{oct,bias}}$ vorteilhaft, während die maximalen Monoanion-Intensitäten bei größeren $U_{\text{oct,RF}}$ - und $U_{\text{oct,bias}}$ -Werten zu beobachten sind.

Die Stabilität der radialen Ionenspeicherung im Oktopol ist entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 2.4.1 abhängig von der Amplitude des RF-Feldes. Die adiabatische, stabile Führung von Ionen größerer Masse ist in Übereinstimmung mit den experimentellen Resultaten bei größeren Peak-to-Peak-Amplituden $U_{\text{oct,RF}}$ möglich.

Die Abhängigkeit der relativen Intensitätsverteilung im Massenspektrum von der Bias-Spannung $U_{\text{oct,bias}}$ hat verschiedene Gründe. Der Bias des Oktopols bildet die zur Ionenspeicherung notwendige Potentialmulde entlang der Ionenführungsachse. Durch Stöße mit Hintergrundgas werden dort gespeicherte Ionen thermalisiert. Die Multipolfalle stellt den Ausgangspunkt für die Überführung der Ionen in das TOF-MS dar. Somit ist das zugehörige Biaspotential für die Beschleunigung und finale kinetische Energie der gespeicherten Spezies relevant. Die kinetische Energie der Ionen bzw. die damit verknüpfte Transferzeit kann, wie im folgenden Abschnitt 4.2.2 diskutiert wird, sofern die zeitliche Abfolge des Experimentes unverändert bleibt, die relative Intensitätsverteilung im Massenspektrum beeinflussen.

Das Biaspotential ist nicht nur für die Ionenspeicherung und den anschließenden Transfer ins Hochvakuum von Bedeutung, sondern spielt auch bei der Befüllung der Ionenfalle eine wichtige Rolle. Werden die Stabelektroden des Multipols mit anziehenden Biaspotentialen beaufschlagt, führt dies zur Ausbildung eines Potentialgradienten zum Skimmer. Dieser Gradient hat eine Beschleunigung von Ladungsträgern beim Eintritt in die Oktopolkammer zur Folge. Bedingt durch die resultierenden Geschwindigkeiten der Ionen kann es zur Fragmentierung bei Stößen mit Hintergrundgas (engl. *collision-induced dissociation*, CID) kommen.

Dies ist anhand des Vergleiches von zwei Massenspektren bei unterschiedlichen Bias-Spannungen des Oktopols in Abbildung 4.2.4 gezeigt.

Bei geringen $U_{\text{oct,bias}}$ -Werten (0.6 V, rot) können intensive Signale für m/z -Verhältnisse von 113.5 und 146 beobachtet werden. Bei einer Erhöhung der Biasspannung auf 3 V (schwarz) ist eine fast vollständige Verarmung dieser Spezies festzustellen. Dieser Fakt in Kombination mit dem Auftreten neuer, zuvor nicht detektierbarer Ionen im Bereich kleinerer m/z -Verhältnisse spricht für die Stoßfragmentierung besagter GLU-Anionen.

Die Kopplung des Flugzeitmassenspektrometers mit der ESI-Quelle konnte am Beispiel der Elektrosprayionisation von Glutaminsäure erfolgreich demonstriert werden. Die Relevanz der Speicherung von Ionen im Oktopol für hohe Signalintensitäten und einen respektablen *duty cycle* wurde in diesem Zusammenhang hervorgehoben. Einflüsse der Ionenfallen-Parameter auf die zu detektierende Ionenverteilung sind diskutiert worden. Letztere können zur aktiven Gestaltung der Präkursor-Verteilung für Photodetachment-Experimente ausgenutzt werden.

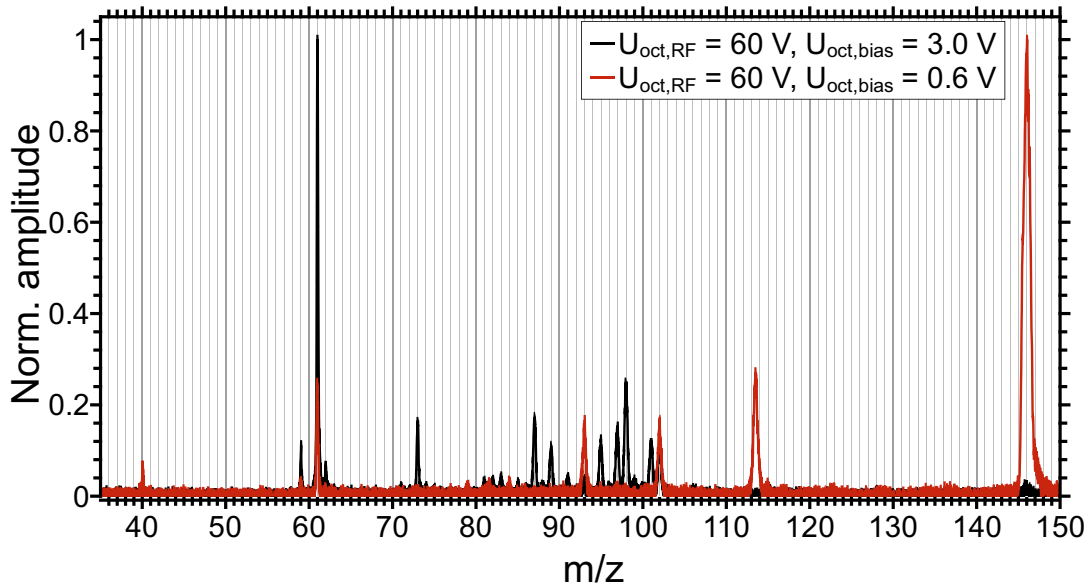


Abbildung 4.2.4: Vergleich von L-GLU-Massenspektren bei unterschiedlichen Biasspannungen des Oktopols. Bei erhöhtem Bias treten durch Stoßfragmentierung (engl. CID) neue Fragmentionen-Signale auf.

4.2.2 Ionentransfer

Die Oktopol-Ionenfalle und die Wahl ihrer Spannungskomponenten ist – wie soeben gezeigt – für die Gesamtionenausbeuten sowie die relative Intensitätsverteilung im Massenspektrum entscheidend. Die sich anschließenden elektrostatischen Transferoptiken sind verantwortlich für die Überführung der gespeicherten Ionen ins Zentrum der Extraktionsregion des Chiralitätsspektrometers. Mit Hilfe von kurzen Spannungspulsen an der Ausgangslinse werden Ionenpakete extrahiert und durch die Einzellinse zwischen die Linsen L1 und L2 geleitet.

Im Folgenden werden Transmission und Fokussierung des Ionenstrahls bei diesem Transfer in Abhängigkeit der involvierten Potentiale diskutiert. Zunächst wird dabei auf die Einzellinse eingegangen. Diese hat die wichtige Aufgabe den Ionenstrahl im Zentrum des Extraktionsbereiches zu bündeln, um eine möglichst effiziente Überlagerung mit dem Laser zu gestatten.

In Abbildung 4.2.5 sind links die normierte Ionenausbeute und rechts das anhand der Halbwertsbreite berechnete Auflösungsvermögen eines ausgewählten Signals ($m/z = 113.5$) in Abhängigkeit der beiden Einzellinsenpotentiale $U_{E1,E3}$ und U_{E2} dargestellt. Zur Illustration der zweidimensionalen Abhängigkeit wurde eine Falschfarben-Darstellung gewählt.

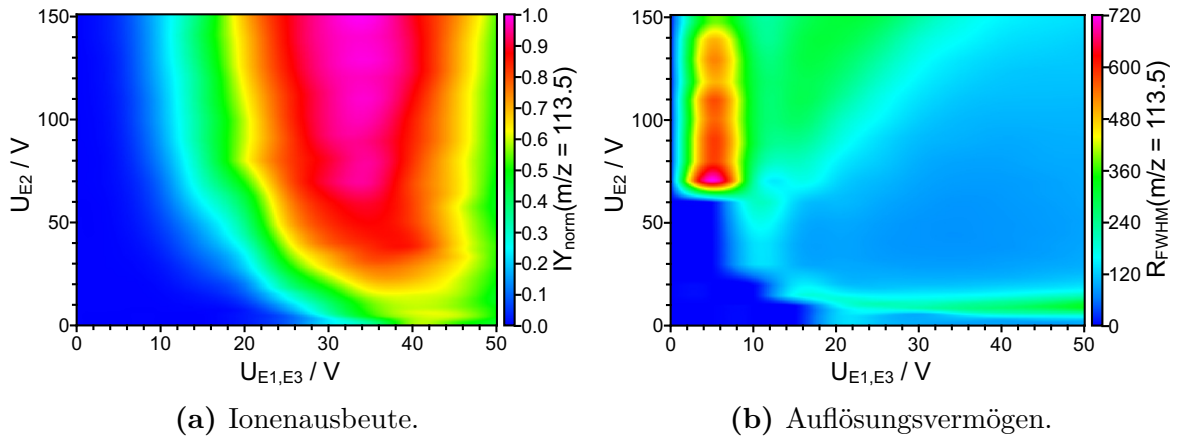


Abbildung 4.2.5: Normierte Ionenausbeute und Auflösungsvermögen des Dianions $[(M-2H)(CH_3CN)_2]^{2-}$ ($m/z = 113.5$) in Abhängigkeit der Einzellinsen-Spannungen U_{E2} und $U_{E1,E3}$.

Abbildung 4.2.5(a) zeigt, dass für hohe Fokussierspannungen $U_{E2} > 100$ V bei $U_{E1,E3} \approx 35$ V die maximale Signalintensität für das Dianion $[(M-2H)(CH_3CN)_2]^{2-}$ erhalten werden kann. Das Auflösungsvermögen R_{FWHM} in Abbildung 4.2.5(b) ist in diesem Bereich allerdings nicht optimal. Es können zwei Maxima hinsichtlich R_{FWHM} ausgemacht werden: Das im untersuchten Bereich globale Maximum für $U_{E1,E3} \ll U_{E2}$ und ein schwächer ausgeprägtes lokales Maximum für $U_{E1,E3} \gg U_{E2}$. Diese zwei Bereiche entsprechen den beiden in Abschnitt 2.4 erwähnten Betriebsmodi einer Einzellinse.

Die Ausdehnung des Ionenstrahls entlang der TOF-Achse sowie dessen Divergenz wirken sich über die entsprechenden Verteilungen der Startposition bzw. kinetischen Energie auf die im linearen TOF-MS erzielbare Massenauflösung aus. Eine hohe Auflösung spricht für einen kompakten, wenig divergenten Ionenstrahl. Die Modulation des Auflösungsvermögens mit dem Verhältnis $U_{E2}/U_{E1,E3}$ bestätigt somit die Funktionalität der Einzellinse. Allerdings ist ein Kompromiss zwischen optimaler Ionenausbeute und Auflösung notwendig. Diese Feststellung könnte ein Hinweis auf mögliche COULOMB-Abstoßungseffekte bei hohen Ionendichten sein, welche zu einer Ausdehnung des Ionenstrahls führen.

Die optimalen Einstellungen des TOF-MS hinsichtlich der Massenauflösung wurden empirisch bestimmt. Das Auflösungsvermögen R_{FWHM} wurde zu diesem Zweck anhand zweier Signale ($m/z = 113.5$ und 146) in Abhängigkeit der Spannungen $U_{L1,amp}$, U_{L3} und U_{iDT} untersucht. Der Extraktionsbias $U_{extr} = U_{L1,bias} = U_{L2}$ wurde konstant gehalten, um die Einkopplung des Ionenstrahls nicht zu beeinflussen. Die Resultate sind in Abbildung 4.2.6 dargestellt.

Es zeigt sich, dass das maximale Auflösungsvermögen für Mono- und Dianionen unter

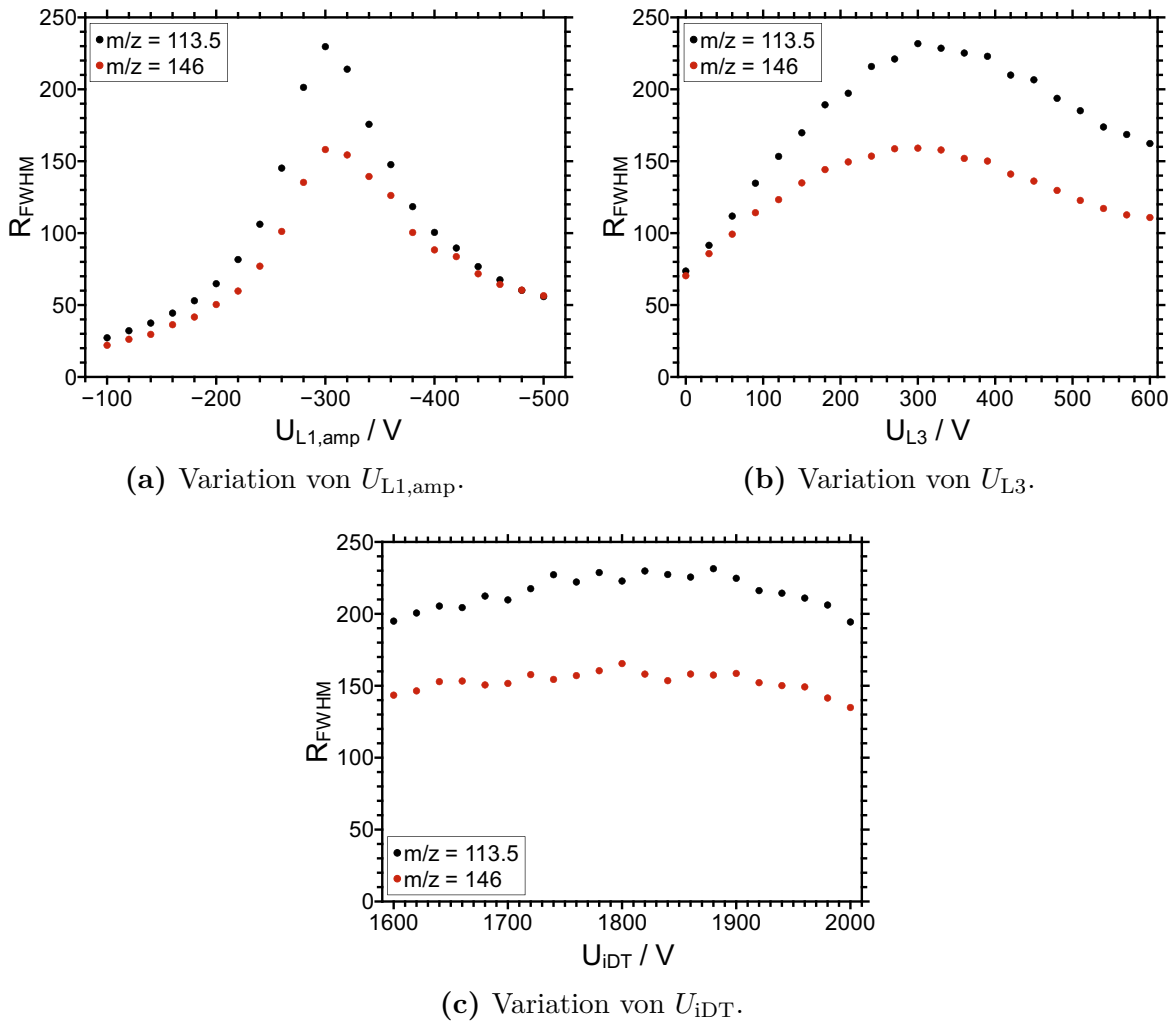


Abbildung 4.2.6: Auflösungsvermögen R_{FWHM} in Abhängigkeit der Spannungen an den Linsen des Massenspektrometers bestimmt anhand des Monoanions $[M-H]^-$ ($m/z = 146$) sowie des Dianions $[(M-2H)(CH_3CN)_2]^{2-}$ ($m/z = 113.5$) der L-Glutaminsäure.

vergleichbaren Bedingungen von $U_{L1,amp} = -300$ V, $U_{L3} = 300$ V und $U_{IDT} = 1800$ V erhalten wird. Die entsprechenden elektrischen Feldstärken E_1 , E_2 und E_3 betragen 200 V cm $^{-1}$, 400 V cm $^{-1}$ bzw. 1241 V cm $^{-1}$. Somit weichen die empirisch bestimmten Verhältnisse $E_2/E_1 = 2$ und $E_3/E_1 = 6.2$ von den zuvor anhand der Flugzeitgleichung abgeschätzten Werten $E_2/E_1 = 0.7$ bzw. $E_3/E_1 = 5.5$ ab. Ursächlich dafür sind wohl die getroffenen, in Abschnitt 4.1.1 diskutierten Näherungen.

Die Absolutwerte von R_{FWHM} unterschieden sich für die untersuchten Spezies. Dies könnte durch Inhomogenitäten im Ionenstrahl respektive unterschiedliche Verteilungen von

Startort und/oder initialer kinetischer Energie auf der TOF-Achse bedingt sein. Das unter Nutzung des ESI-Strahls zu erzielende Auflösungsvermögen fällt mit Werten im Bereich von 150 - 250 etwas geringer für den zuvor beschriebenen Fall der Laserionisation aus. Dennoch wird eine für die Zwecke dieser Arbeit akzeptable Trennung erzielt. Neben den Einzellinsenspannungen spielen auch die Amplitude des Ausgangslinsenpulses U_{exit} und der Bias der Extraktionszone $U_{\text{extr}} = U_{L1,\text{bias}} = U_{L2}$ eine Rolle für die Ionentransmission. In Abbildung 4.2.7 sind die Gesamtausbeuten von -L-GLU-Anionen in Abhängigkeit dieser Spannungen dargestellt.

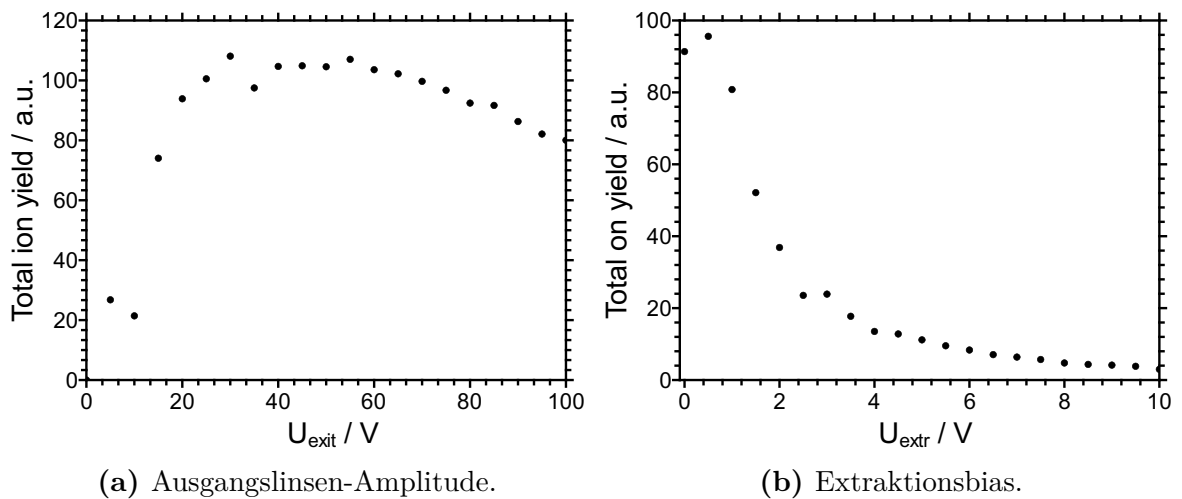


Abbildung 4.2.7: Gesamtionenausbeuten im ESI-Massenspektrum von L-GLU in Abhängigkeit der Ausgangslinsen-Amplitude U_{exit} und des Extraktionsbias $U_{\text{extr}} = U_{L1,\text{bias}} = U_{L2}$.

Im Falle der Ausgangslinsenamplitude (Abb. 4.2.7(a)) zeigt sich, dass ein gewisser Schwellenwert überschritten werden muss, im vorliegenden Beispiel ca. 10 V, um eine effektive Extraktion von Ionen aus dem Oktopol zu ermöglichen. Nach der Überschreitung des Grenzwertes wird ein Plateau maximaler Ionenausbeuten beobachtet, bevor schließlich eine leichte Abnahme der Ionentransmission mit weiter zunehmendem U_{exit} eintritt.

Für den Fall des Extraktionsbias U_{extr} , aufgetragen in Abbildung 4.2.7(b), offenbart sich ein anderes Bild. Mit zunehmender Spannung fällt die Gesamtionenausbeute ab einem Wert von 0,5 V kontinuierlich. Der Extraktionsbias bestimmt die finale Geschwindigkeit auf der ESI-Achse vor der Massenanalyse. Entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 3.2.3 kann es bei zu hohen Ionenstrahlgeschwindigkeiten zur lateralen Diskriminierung im orthogonal angeordneten TOF-MS und damit zum Signaleinbruch kommen.

Nachdem Transmission und Fokussierung des gepulsten Ionenstrahls diskutiert wurden,

soll nun ein Blick auf die Verteilung verschiedener Ladungsträger in einem Ionenpaket entlang der ESI-Achse geworfen werden. Dazu wurden Massenspektren in Abhängigkeit der Verzögerung zwischen dem Öffnen der Ionenfalle und der Feldextraktion im TOF-MS ($t_{\text{extr}} - t_{\text{trap}}$) aufgezeichnet. Die bei zwei unterschiedlichen Öffnungsdauern ($w_{\text{trap}} = 300 \text{ ns}$ bzw. $3 \mu\text{s}$) erhaltenen Ionenausbeuten sind für verschiedene m/z -Verhältnisse in Abbildung 4.2.8 aufgetragen.

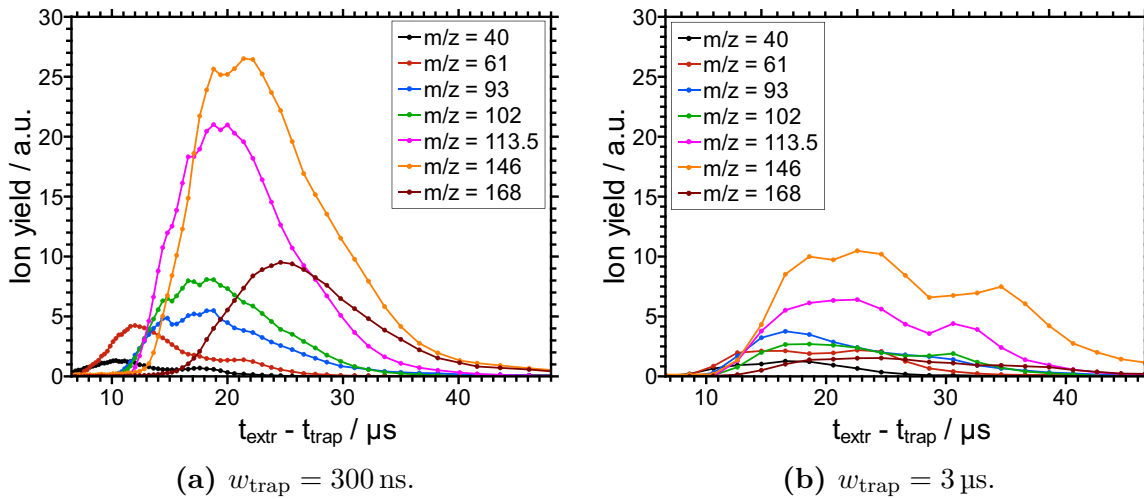


Abbildung 4.2.8: Ionenausbeuten in Abhängigkeit der Verzögerung zwischen dem Öffnen der Ionenfalle und der Feldextraktion im TOF-MS für unterschiedliche Öffnungsdauern (a) $w_{\text{trap}} = 300 \text{ ns}$ und (b) $w_{\text{trap}} = 3 \mu\text{s}$.

Als Erstes wird der in Abbildung 4.2.8(a) dargestellte Fall eines vergleichsweise kurzen Öffnungszeitraums der Ionenfalle betrachtet. Es zeigt sich, dass bei geringen Extraktionsverzögerungen zunächst Ionen kleiner m/z -Verhältnisse im Massenspektrum auftreten. Mit zunehmender Verzögerung, d. h. einer späteren Massenanalyse relativ zum Öffnungszeitpunkt der Ionenfalle, tauchen nacheinander weitere Ionen höherer m/z -Verhältnisse auf. Nachdem die Ionenausbeuten jeweils ein Maximum durchlaufen haben, fallen diese schließlich für weiter steigende Verzögerungen ab.

Ein Ionenpaket weist also im Extraktionsbereich des TOF-MS eine räumliche sowie zeitliche Verteilung der Ionen unterschiedlicher m/z -Verhältnisse entlang der ESI-Achse auf. Dies ist eine Folge des Transfers aus der Oktopolfalle. Ionen werden in einem schmalen Startzeitfenster aus der Falle beschleunigt. Auf dem Weg in das Extraktionsvolumen im Zentrum des TOF-MS erfolgt dann eine Separation der Ionen nach dem m/z -Verhältnis aufgrund unterschiedlicher Geschwindigkeiten. Die resultierenden Flugzeitverteilungen einzelner m/z -Verhältnisse sind mit FWHM-Werten im Bereich von etlichen Mikrose-

kunden recht breit und überlagern einander. Dennoch kann die Verzögerungszeit zu einer groben Vorselektion von Präkursorpezies für Laserexperimente dienen.

Verglichen mit der kurzen Öffnungsdauer von nur 300 ns zeigen sich in Abbildung 4.2.8(b) für eine um eine Größenordnung längere Öffnungszeit der Ionenfalle (3 μ s) merkliche Unterschiede. Die resultierenden Verteilungen sind deutlich breiter und flacher. Ursächlich dafür können die weniger eingegrenzten Startzeitpunkte bzw. Startorte des Ionen transfers sowie die geringere Ionendichte in der Oktopolfalle bei längeren Öffnungsdauern sein. Für hohe Ionendichten bzw. -ausbeuten sind demzufolge kurze Öffnungsdauern der Ionenfalle vorteilhaft.

Mit Hilfe der Flugzeitinformationen in Abbildung 4.2.8(a) kann eine Abschätzung der kinetischen Energien im Ionenstrahl entlang der ESI-Achse erfolgen. Zu Beginn des Transfers in das Zentrum des TOF-MS werden die Anionen durch Spannungen ≥ 20 V an der Ausgangs- und Einzellinse beschleunigt. Beim Eintritt zwischen die Linsen L1 und L2, welche einen Bias von 0.5 V aufweisen, werden die Ionen deutlich abgebremst. Den Großteil der Transferzeit verbringen die Ionen folglich zwischen den Linsen L1 und L2 auf dem Weg zur Extraktionsöffnung im Zentrum des TOF-MS. Vom Ausgang der Einzellinse bis zum Mittelpunkt der Extraktionszone muss eine Strecke von 23 mm überwunden werden. Werden die Verzögerungszeiten in Abbildung 4.2.8(a) in erster Näherung als Flugzeiten für besagte Distanz angenommen, so können die in Abbildung 4.2.9 gezeigten kinetischen Energieverteilungen abgeschätzt werden.

Die drei Dianionen mit $m/z = 93$, 102 und 113.5 sowie das Monoanion mit $m/z = 146$ zeigen sehr ähnliche Verteilungen der kinetischen Energie auf der ESI-Achse. Der energetische Mittelwert liegt bei ungefähr 1 eV und die Verteilung weist eine Halbwertsbreite von ca. 1 eV auf.

In diesem Abschnitt wurde der gepulste Ionenstrahl hinsichtlich seiner Zusammensetzung, Ausdehnung und Geschwindigkeit im Zentrum des Chiralitätsspektrometers charakterisiert. Die Fokussierung des Ionenstrahls mit Hilfe der Einzellinse erlaubt Massanalysen elektrosprayter Ionen mit respektablem Auflösungsvermögen und verspricht eine effiziente Überlagerung mit ns-Laserpulsen. Weiterhin wurden verschiedene experimentelle Parameter (U_{exit} , U_{extr} und w_{trap}) hinsichtlich der erzielbaren Ionenausbeuten optimiert, um möglichst hohe Ionendichten für Photodetachment-Experimente zur Verfügung zu stellen. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Festlegung der Verzögerungszeit zwischen der Öffnung der Ionenfalle und der Feldextraktion zur Massenanalyse eine Manipulation der Präkursorverteilung für Laserexperimente erlaubt.

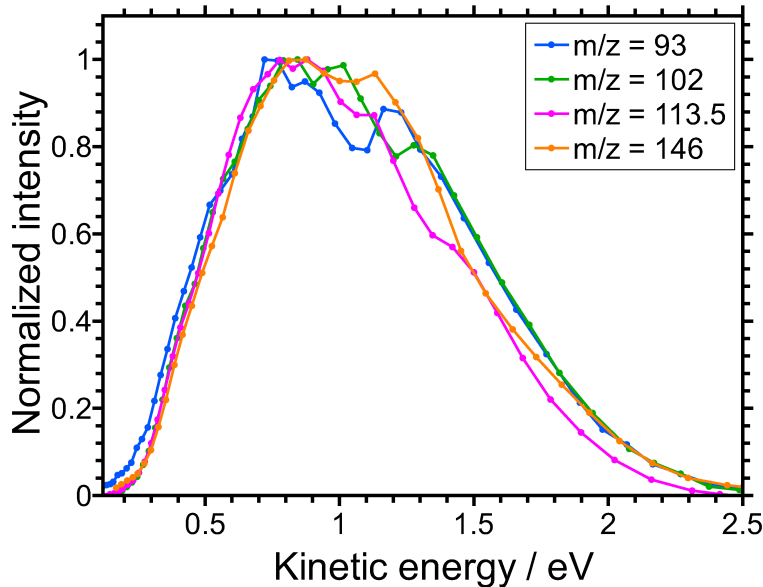


Abbildung 4.2.9: Kinetische Energieverteilungen von L-GLU-Anionen ($m/z = 93, 102, 113.5$ und 146) im Zentrum des TOF-MS entlang der ESI-Achse. Die kinetischen Energien wurden anhand der Verzögerung zwischen Öffnung der Ionenfalle und Feldextraktion abgeschätzt.

4.3 Laserinteraktion

In den beiden vorherigen Sektionen wurde das im Rahmen dieser Arbeit aufgebaute ESI-TOF-Massenspektrometer umfassend charakterisiert. Nun soll die Einkopplung des ns-Lasers in dieses Gerät thematisiert werden. Zirkular polarisiertes Laserlicht schafft eine chirale Umgebung, welche im Rahmen chiroptischer Studien zu analytischen Zwecken ausgenutzt werden kann. Observablen zur Berechnung des PICD oder PECD sind dabei Ionen- bzw. Elektronenausbeuten, welche durch den Laser manipuliert wurden. Daher wird eine möglichst ausgeprägte Wechselwirkung von elektrogelassenen Präkursoren mit der Laserstrahlung angestrebt.

In Abbildung 4.3.1 sind die Auswirkungen von UV-Laserpulsen des Surelite I-10 ($\lambda = 355$ nm) auf Flugzeit- bzw. Massenspektren von Glutaminsäure-Anionen illustriert.

Wie in Abbildung 4.3.1(a) zu sehen, können unter Lasereinwirkung Photoelektronen generiert werden. Ohne den Laser oder in Abwesenheit des Ionenstrahls wird hingegen kein entsprechendes Signal erfasst. Dementsprechend handelt es sich bei den detektierten Elektronen eindeutig um Produkte der Interaktion von Anionen mit UV-Laserstrahlung. Auch bei einer Betrachtung der Massenspektren zeigen sich Veränderungen durch Lasereinwirkung. Dies ist in Abbildung 4.3.1(b) am Beispiel des Dianions mit einem m/z -

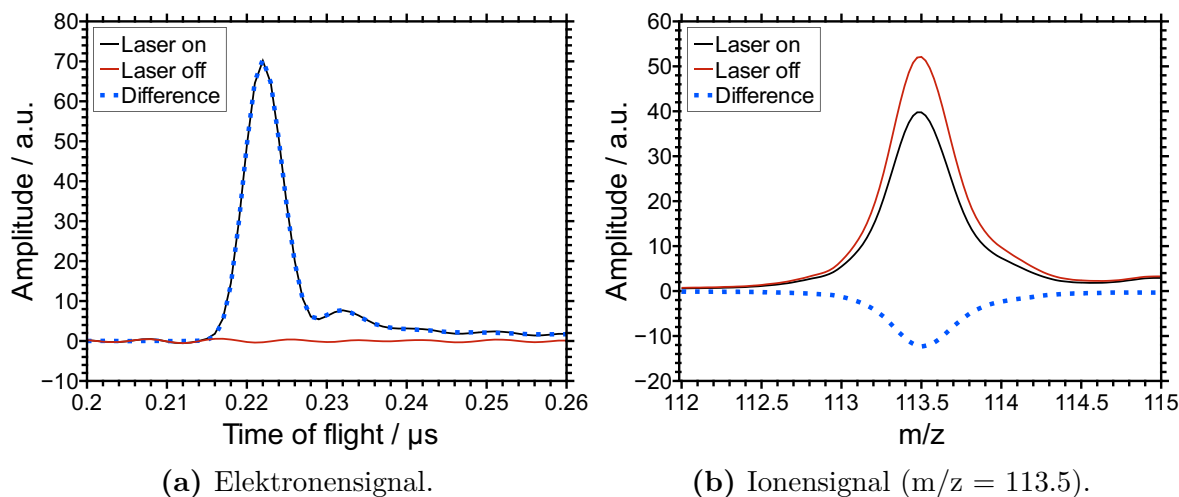


Abbildung 4.3.1: Vergleich von Elektronen-Flugzeitspektren (a) und Massenspektren (b) mit und ohne Lasereinwirkung. Es wurden Pulsenergien von 16 mJ und 44 mJ zur Aufzeichnung des Elektronensignals bzw. des Ionensignals von GLU-Anionen verwenden.

Verhältnis von 113.5 gezeigt. Unter Lasereinkopplung ist eine Signalverminderung respektive eine negative Differenz (*Laser on* - *Laser off*) zu beobachten. Dies ist wie auch die Elektronenemission eine Folge des Photodetachments der elektrosprayten Anionen. Eine detaillierte Diskussion der ablaufenden photochemischen Vorgänge ist in Abschnitt 4.6.1 zu finden. Im Folgenden wird sich zunächst der quantitativen Optimierung der beschriebenen Lasereinflüsse gewidmet.

Es sollte erwähnt werden, dass ebenfalls Experimente mit fs-Laserpulsen durchgeführt wurden. Verschiedene Anionen – unter anderem auch Glutamat – wurden mit fokussierten sowie unfokussierten Laserpulsen bei Wellenlängen von 400 nm und 800 nm sowie Pulsenergien von bis zu 80 μJ bzw. 600 μJ überlagert. Es konnte keine Interaktion nachgewiesen werden. Dies könnte der höheren Wellenlänge und/oder der mehrere Größenordnungen kleineren Laserfluenz geschuldet sein.

Eine wichtige Voraussetzung für hohe Elektronenausbeuten bzw. Ionenausbeutedifferenzen ist eine möglichst effiziente Überlagerung der Präkursorionen mit den UV-Laserpulsen in Zeit und Raum. Dies wird in den zwei folgenden Unterabschnitten beschrieben. Abschließend wird die Pulsenergie-Abhängigkeit der besagten Größen thematisiert.

4.3.1 Räumliche Überlagerung

Eine essenzielle Voraussetzung für die Erzeugung einer messbaren Wechselwirkung zwischen dem Ionenstrahl aus der ESI-Quelle und dem gepulsten Laser ist die räumliche Überlagerung beider Strahlen im Extraktionsvolumen des Chiralitätsspektrometers.

Die Interaktionsgeometrie wurde über die Justage des Laserstrahls optimiert, da der Ionenstrahl im vorliegenden Aufbau nicht frei verschoben werden kann. Die Abhängigkeit der Ionenausbeutedifferenz von der Laserausrichtung ist an einem gewählten Beispiel ($m/z = 113.5$) in Abbildung 4.3.2 gezeigt. Links ist das Ergebnis einer schrittweisen Verschiebung des Strahlengangs in der Horizontalen zu sehen. Rechts ist die äquivalente Darstellung für die vertikale Ebene zu finden. Die Laserposition im Zentrum des TOF-MS wurde jeweils mittels geometrischer Optik über Messungen vor und hinter der Apparatur bestimmt.

Eine Variation des Laserpointings über den dargestellten Bereich hinaus ist aufgrund von räumlichen Begrenzungen durch Eingangs- und Ausgangsfenster bzw. durch die Linsen L1 und L2 des TOF-MS nicht möglich.

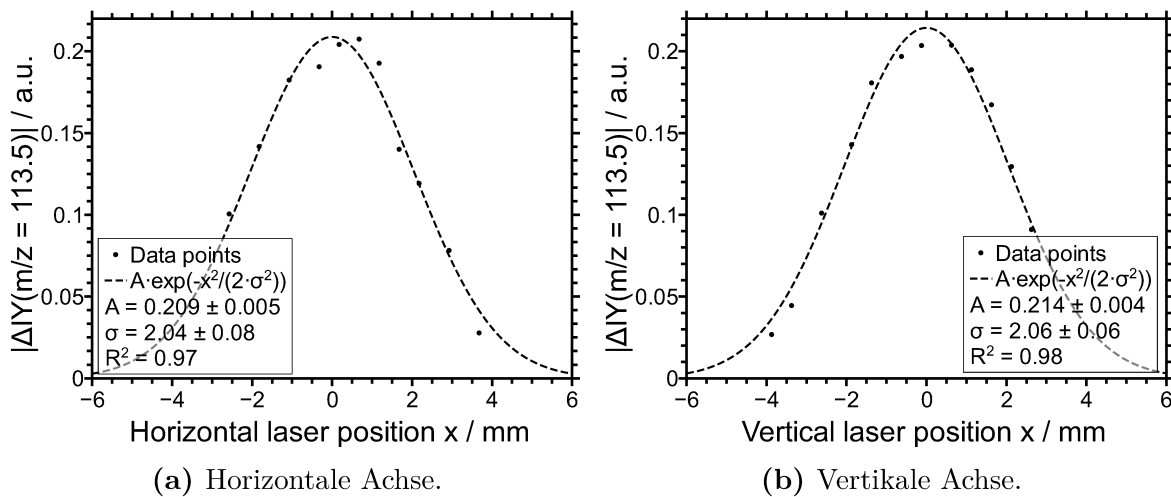


Abbildung 4.3.2: Beträge der Ausbeutedifferenzen für $m/z = 113.5$ in Abhängigkeit der Laserpositionierung bei einer Pulsenergie von $E_{\text{pulse}} = 40$ mJ angepasst durch Gaußfunktionen. Der Nullpunkt der Positionsachse wurde jeweils anhand der maximalen Differenzausbeute festgelegt.

Die optimale Interaktionsgeometrie wurde über eine Variation der Lasereinkopplung erfolgreich bestimmt. Die Ausbeutedifferenzen des Dianions $[(M-2H)(CH_3CN)_2]^{2-}$ können dabei sowohl für die Verschiebung des Laserstrahls in horizontaler als auch in vertikaler Richtung in guter Näherung durch Gaußfunktionen beschrieben werden.

In der Horizontalen wurde mittels der in Abbildung 4.3.2(a) dargestellten Anpassung eine Standardabweichung von $\sigma_h = 2.04$ mm bestimmt. Die Signalmodulierung kommt in dieser Raumrichtung durch die begrenzte Weite der Extraktionsöffnung in der Linse L2 zustande. Wird der Laserstrahl zu weit links oder rechts eingekoppelt, so wird der Ionenstrahl zwar getroffen, aber die involvierten Ionen werden nicht oder nur teilweise auf den Detektor abgebildet.

Entlang der vertikalen Laborachse wird ein vergleichbarer Wert der Standardabweichung von $\sigma_v = 2.06$ mm erhalten. In dieser Richtung werden die zu messenden Ausbeutedifferenzen durch die räumliche Abmessung des Ionenstrahls bestimmt. Aus den vorliegenden Daten kann daher die Ionenstrahlausdehnung auf der TOF-Achse ermittelt werden. Das gemessene Ionenstrahlprofil in Abbildung 4.3.2(b) ist das Ergebnis einer Faltung des wahren Ionenstrahlprofils mit dem Laserstrahlprofil. Der verwendete Laser weist ein räumliches Gaußprofil mit einer Standardabweichung von $\sigma_{\text{laser}} = 1.51$ mm in der Vertikalen auf. Wird angenommen, dass der Ionenstrahl ebenfalls durch ein Gaußprofil beschrieben werden kann, so muss für den experimentellen Wert σ_v folgender Zusammenhang gelten:

$$\sigma_v = \sqrt{\sigma_{\text{laser}}^2 + \sigma_{\text{ion-beam}}^2}$$

Für $\sigma_{\text{ion-beam}}$ kann somit ein Wert von 1.4 mm berechnet werden. Dies entspricht einer Halbwertsbreite des Ionenstrahls von 3.3 mm auf der TOF-Achse und ähnelt somit dem Resultat der SIMION-Simulationen in Abbildung 3.2.5 (FWHM = 2.8 mm). Die Ionenstrahlausdehnung auf der Laserachse, welche zuvor durch SIMION-Simulationen mit einer Halbwertsbreite von 4.29 mm abgeschätzt wurde, kann auf die beschriebene Weise nicht experimentell ermittelt werden.

Es sei abschließend angemerkt, dass Elektronen und Ionen je nach verwendeten experimentellen Bedingungen prinzipiell aus verschiedenen Raumsegmenten auf den jeweiligen Detektor abgebildet werden. Die Einkopplung des Lasers respektive die orthogonale Interaktionsgeometrie wurde hier anhand der zu messenden Ionenverarmung eines GLU-Dianions optimiert. Da die Extraktionsöffnung in Linse L1 größer als in L2 ist, eignet sich die bestimmte Laserposition auch zur Generierung von Photoelektronen und deren Abbildung auf den dafür vorgesehenen Detektor.

4.3.2 Verzögerung zwischen Laserpuls und Feldextraktion

Da sowohl die verwendete Laserlichtquelle als auch der Ionenstrahl gepulst betrieben werden, ist nicht nur eine räumliche Überlagerung notwendig, sondern es muss auch eine zeitliche Abstimmung zur Erzeugung einer Wechselwirkung vorliegen.

In Abbildung 4.3.3 ist die Abhängigkeit der Differenzausbeute des $[(M-2H)(CH_3CN)_2]^{2-}$ ($m/z = 113.5$) sowie der Photoelektronenausbeute von der Verzögerung zwischen dem Feldextraktionspuls und dem Laserpuls $t_{\text{extr}} - t_{\text{laser}}$ gezeigt. Der Extraktionszeitpunkt t_{extr} wurde dabei als Wendepunkt der Anstiegsflanke des Repellerpulses definiert und t_{laser} bezeichnet den Zeitpunkt der maximalen Laserintensität.

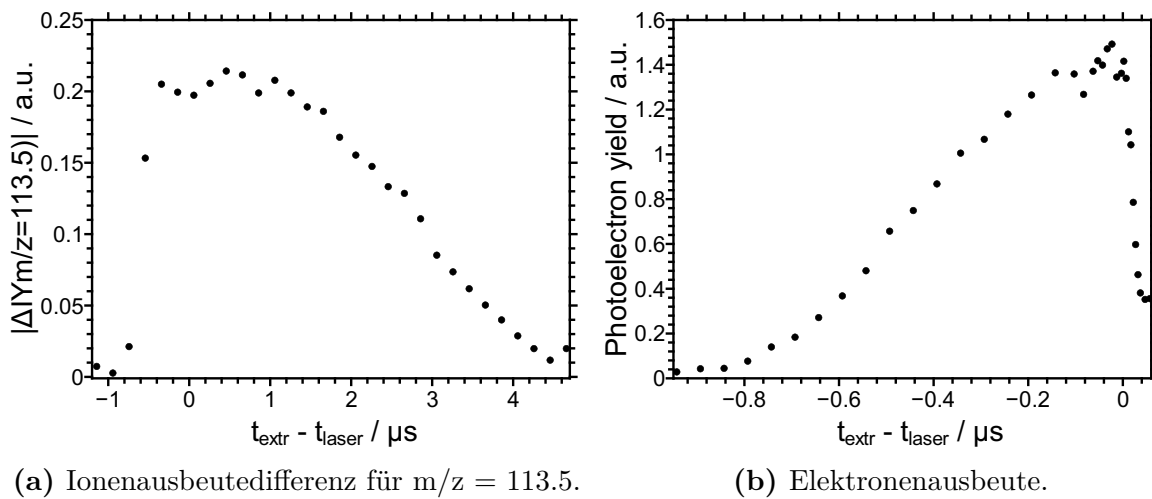


Abbildung 4.3.3: Absolute Ionenausbeutedifferenzen für $m/z = 113.5$ (a) und Elektronenausbeuten (b) in Abhängigkeit der Verzögerung zwischen Extraktionsfeldpuls und Laserpuls.

Zunächst wird anhand Abbildung 4.3.3(a) der Einfluss der zeitlichen Abfolge von Laserpuls und Feldextraktionspuls auf die Ionenausbeuten diskutiert. Trifft der Laserpuls nach dem Auslösen der Feldextraktion ein ($t_{\text{extr}} - t_{\text{laser}} < 0$), so sinkt der Anteil der Ionen, welche mit dem Laser wechselwirken können, da das Ionenpaket bereits aus dem Interaktionsvolumen in Richtung des Detektors beschleunigt wird. Wird der Ionenstrahl allerdings vom Laserpuls getroffen, bevor die Feldextraktion beginnt ($t_{\text{extr}} - t_{\text{laser}} > 0$), so besteht die Gefahr, dass die Produkte einer Wechselwirkung das Extraktionsvolumen durch ihre Geschwindigkeitskomponente entlang der ESI-Achse verlassen. Da im vorliegenden Aufbau die kinetische Energie des Ionenstrahls klein gehalten wird, fällt die zu beobachtende Differenzausbeute nur langsam mit zunehmender Verzögerung ab und es steht ein breites Zeitfenster zur Untersuchung der Laserinteraktion zur Verfügung.

Bei einer Betrachtung der Elektronenausbeuten zeigt sich ein anderes Bild. Das Zeitfenster, in welchem Photoelektronen detektiert werden können, ist deutlich schmaler. Im Bereich negativer Verzögerungen ist auch hier ein Abfall der quantifizierbaren Laserinteraktion festzustellen, da die Präkursorionen durch den Extraktionspuls vorzeitig das Interaktionsvolumen verlassen. Wird die Feldextraktion nur etwas zu spät ausgelöst, hat der Großteil der Photoelektronen das Volumen, welches auf den Detektor abgebildet wird, bereits verlassen. Dies ist der hohen Geschwindigkeit der Elektronen geschuldet.

Geeignete Verzögerungszeiten zwischen Laserpuls und Feldextraktionspuls zur Untersuchung von Lasereinflüssen in Ionenausbeutedifferenzen sowie Elektronenausbeuten wurden bestimmt und Limitierungen aufgezeigt.

4.3.3 Pulsenergie-Abhängigkeit

In den vorherigen beiden Unterkapiteln wurde die Abhängigkeit der Photodetachment-Ausbeute von der räumlichen und zeitlichen Überlagerung der Präkursorionen mit UV-Laserpulsen beschrieben. Nun soll der Einfluss der Pulsenergie auf die zu detektierenden Ionen- und Elektronenausbeuten diskutiert werden.

In Abbildung 4.3.4 sind dazu die bei unterschiedlichen mittleren Laserleistungen gemessenen Ausbeutedifferenzen von Elektronen (schwarz) und Ionen mit einem m/z -Verhältnis von 113.5 (rot) in doppellogarithmischer Form aufgetragen.

Durch lineare Anpassungen der zwei Datensätze können anhand der resultierenden Steigungen die Multiphotonenexponenten der zugrunde liegenden Photodetachment-Prozesse bestimmt werden. Im Falle der Auswertung von Elektronenausbeuten wird eine Steigung von 0.90 ± 0.04 erhalten und für das ausgewählte Dianion ergibt sich unter der Betrachtung von Differenzausbeuten ein Wert von 0.92 ± 0.02 . Die beiden Multiphotonenexponenten stimmen somit im Rahmen der gegebenen Standardfehler überein und liegen knapp unter einem Wert von eins.

Bei dem ablaufenden Photodetachment handelt es sich folglich um einen Einphotonen-Prozess. Dies steht in Übereinstimmung mit Literaturberichten.^[246] Die Beobachtung von Multiphotonenexponenten < 1 könnte durch schwach ausgeprägte Sättigungseffekte im Bereich der verwendeten Pulsenergien (5 mJ - 66 mJ) bedingt sein. Die Photoelektronenausbeuten und die Ionensignalverarmung skalieren im vorliegenden Fall in erster Näherung linear mit der mittleren Laserleistung bzw. Pulsenergie.

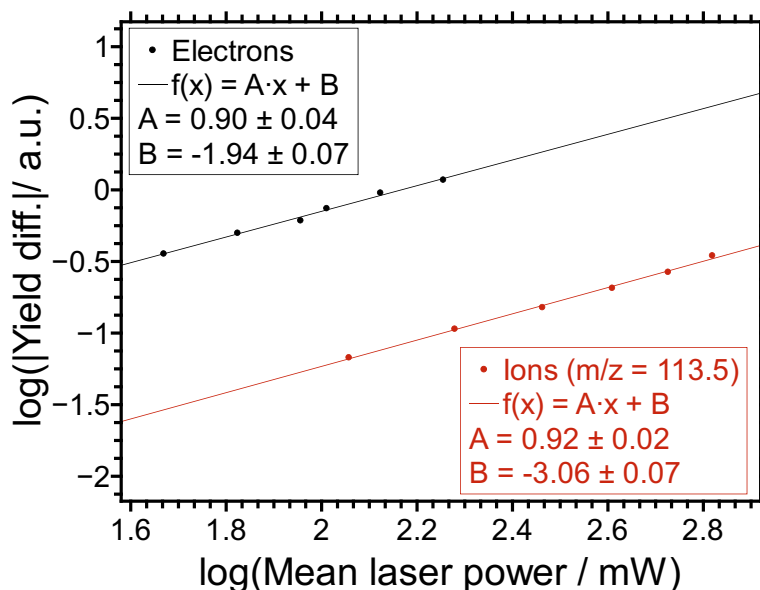


Abbildung 4.3.4: Doppellogarithmische Auftragung der Ionen- und Elektronenausbeutedifferenzen beim Photodetachment von solvatisierten Glutaminsäure-Dianionen in Abhängigkeit der Pulsenergie.

4.4 Quantifizierung der Zirkularpolarisation

Im vorherigen Abschnitt wurde die Kopplung des ESI-TOF-MS mit einem Lasersystem zur Untersuchung des Photodetachments demonstriert. Bevor nun in den nachfolgenden Kapiteln erste chiroptische Studien an verschiedenen Analyten vorgestellt werden, soll eine Charakterisierung der dazu benötigten zirkularen Polarisationszustände erfolgen. Die Quantifizierung des zirkularen Polarisationsgrades R_{circ} erfolgt dabei zunächst über den in Abschnitt 3.3.1 vorgestellten Ansatz. Im ersten Schritt wird ein linearer Polarisator im Strahlengang positioniert und dessen Transmissionsachse orthogonal zur Laserpolarisationsebene ausgerichtet.

In Abbildung 4.4.1 ist die hinter dem Polarisator an einem Powermeter gemessene mittlere Laserleistung (schwarz) in Abhängigkeit des Orientierungswinkels dieser Optik dargestellt.

Ein Winkel von 0° bzw. 180° entspricht einer vertikalen Ausrichtung der Transmissionsachse des Polarisators im Laborkoordinatensystem. In diesem Fall kann keine Transmission beobachtet werden. Bei Winkeln von 90° und 270° kommt die Transmissionsachse in der Horizontalen zum Liegen, d. h. parallel zur Laserpolarisationsebene. Hier kann dementsprechend die maximale Laserleistung detektiert werden.

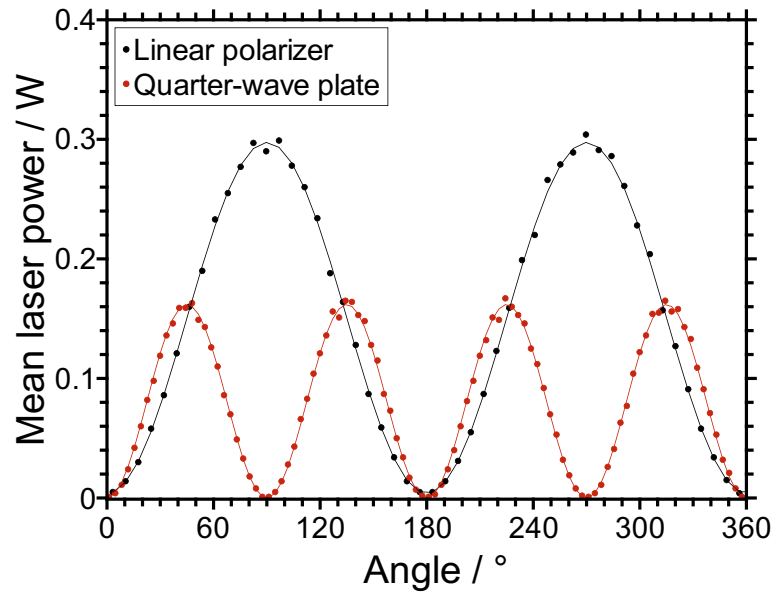


Abbildung 4.4.1: Mittlere Laserleistungen bei Rotation eines linearen Polarisators im Strahlengang (schwarz) sowie bei Rotation eines ergänzten $\lambda/4$ -Wellenplättchens (rot). Die Datenpunkte wurden durch \sin^2 -Funktionen gemäß Gleichung 3.3.1 angepasst ($P_0 = 0.004$, $P_{\max} = 0.294$ und $x_0 = 0.2$ bzw. $P_0 = 0.000$, $P_{\max} = 0.162$ und $x_0 = 0.1$). Zur Beschreibung der QWP-Messreihe wurde die \sin^2 -Periode halbiert.

Sobald der lineare Polarisator durch dessen Positionierung im Winkel von 0° oder 180° orthogonal zur Laserpolarisationsebene ausgerichtet ist, wird das zur Erzeugung zirkularer Polarisation verwendete $\lambda/4$ -Wellenplättchen (QWP) in den Strahlengang eingebracht. Um die bestmögliche Orientierung der optischen Achse zur Erzeugung zirkular polarisierten Lichts zu finden, wird das QWP vor dem Polarisator (d. h. näher an der Lichtquelle) in einer entsprechenden Halterung rotiert. Die dabei resultierenden Laserleistungen (rot) sind ebenfalls in Abbildung 4.4.1 aufgetragen.

Es werden erneut Minima und Maxima der transmittierten Leistung beobachtet. Ein Minimum bzw. die vollständige Extinktion durch den Polarisator kommt zustande, wenn sich die schnelle oder langsame Achse des QWP in der Laserpolarisationsebene befindet und somit der horizontale Polarisationszustand erhalten bleibt. Maxima entstehen falls die Laserpolarisationsebene einen 45° -Winkel zur schnellen oder langsamen Achse des QWP einschließt. In dieser Konfiguration wird der lineare Polarisationszustand des einfallenden Lichts durch eine Verzögerung orthogonaler Teilwellen so manipuliert, dass Licht mit hohen Zirkularpolarisationsanteilen entsteht. Die Folge ist, dass Teile der

Laserstrahlung den linearen Polarisator passieren können. Im Falle vollständig zirkular polarisierter Laserpulse sind dies 50 % der einfallenden Leistung.

Wird das QWP in Orientierungen maximaler Transmission gebracht, so werden im Idealfall zirkular polarisierte Laserpulse generiert. Bedingt durch experimentelle Imperfektionen, wie z. B. nicht exakte Verzögerungen um $\lambda/4$, verbleiben im Regelfall jedoch lineare Polarisationsanteile, d. h. es wird elliptisch polarisiertes Licht erhalten. Durch eine Rotation des QWP um 90° kann die Helizität der Ellipse umgekehrt werden. Die im verwendeten Aufbau generierten Polarisationszustände werden in den folgenden beiden Unterkapiteln charakterisiert.

4.4.1 Rotation eines linearen Polarisators

Nachdem die benötigten Optiken (Polarisator und QWP) im Strahlengang ausgerichtet wurden, kann gemäß der in Abschnitt 3.3.1 vorgestellten Methodik nun der zirkulare Polarisationsgrad R_{circ} bestimmt werden.

Zu diesem Zweck wird für einen durch die QWP-Ausrichtung definierten Polarisationszustand (LCP, RCP oder LIN) der lineare Polarisator rotiert und die mittlere Laserleistung mit Hilfe des Powermeters aufgezeichnet. Die Resultate sind in Abbildung 4.4.2 dargestellt.

Für ideal zirkular polarisiertes Licht wäre eine von der Polarisatorausrichtung unabhängige, konstante Laserleistung zu erwarten. Jedoch wird für die hier untersuchten Polarisationszustände, bezeichnet mit LCP und RCP, eine Modulation der detektierbaren Leistung festgestellt. Dies deutet auf einen elliptischen Charakter der Laserpolarisation hin.

Durch eine \sin^2 -Anpassung gemäß Gleichung 3.3.1 können Rückschlüsse auf die verbliebene lineare Polarisationskomponente getroffen werden. Alle für die dargestellten Messdaten erhaltenen Fitparameter sind in Tabelle 4.4.1 aufgelistet. Über einen Vergleich der Amplitude P_{max} , welche durch lineare Polarisationsanteile zustande kommt, mit dem Offset P_0 , welcher auf der zirkularen Komponente basiert, kann entsprechend Gleichung 3.3.2 auf den zirkularen Polarisationsgrad R_{circ} geschlossen werden.^[34,247] Dieser ist ebenfalls in Tabelle 4.4.1 zu finden.

Für den LCP- und RCP-Zustand wurden zirkulare Polarisationsanteile von 82.0 % bzw. 81.7 % ermittelt. Folglich sind nicht unerhebliche Anteile linearer Polarisation enthalten. Die Orientierung der Polarisationsellipse bzw. die Achse, auf welcher die lineare Polarisationskomponente liegt, ergibt sich aus der Phase der \sin^2 -Funktion, d. h. dem Fitparameter x_0 . Die Anpassungen beider Helizitäten zeigen Phasen von ungefähr 90°

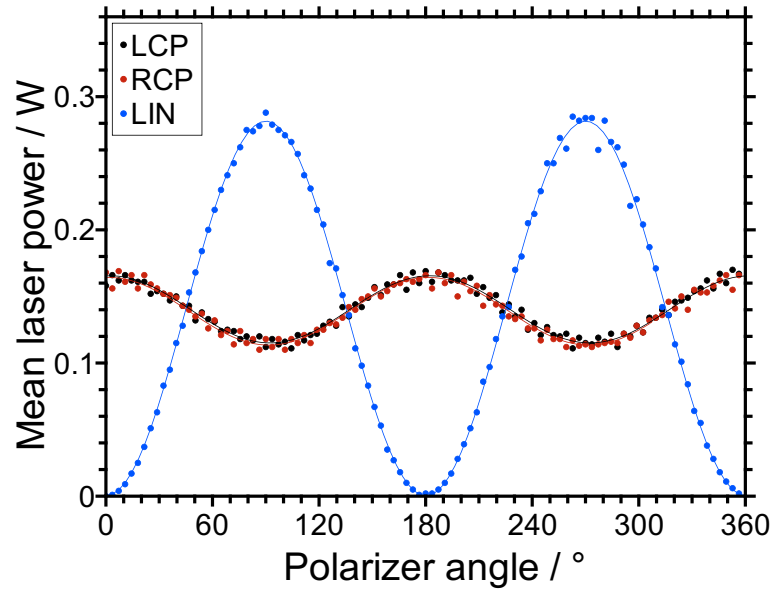


Abbildung 4.4.2: Mittlere Laserleistungen bei Rotation eines linearen Polarisators hinter einem $\lambda/4$ -Wellenplättchen in Orientierungen zur Erzeugung von links- (LCP) und rechtszirkular (RCP) sowie linear (LIN) polarisiertem Licht. Die Datenpunkte wurden gemäß Gleichung 3.3.1 jeweils durch \sin^2 -Funktionen angepasst. Die Fitparameter können Tabelle 4.4.1 entnommen werden.

Tabelle 4.4.1: Fitparameter x_0 , P_0 und P_{\max} gemäß Gleichung 3.3.1 aus Anpassungen der mittleren Laserleistung bei rotierendem Polarisator für verschiedene Polarisationszustände (siehe Abb. 4.4.2) sowie daraus resultierende zirkulare Polarisationsanteile R_{circ} .

Polarisationszustand	x_0	P_0	P_{\max}	$R_{\text{circ}} / \%$
LCP	92.5	0.115	0.050	82.0
RCP	91.8	0.113	0.051	81.7
LIN	0.1	0.000	0.281	0.3

an, d. h. die maximale Lasertransmission wird für Orientierungen nahe 0° oder 180° beobachtet (vgl. Abb. 4.4.2). Demzufolge liegt die lineare Polarisationskomponente in beiden Fällen in der vertikalen Ebene.

Der linksdrehende (LCP) sowie rechtsdrehende Polarisationszustand (RCP) weisen in Anbetracht der spezifizierten QWP-Verzögerung von 0.252 (siehe Abb. 3.4.2) zwar recht geringe, aber gut vergleichbare zirkulare Polarisationsanteile von ca. 82.0 % auf. Ebenso ist die Orientierung der Ellipsen-Hauptachse für beide Helizitäten näherungsweise iden-

tisch. Die somit gegebene Vergleichbarkeit der Polarisationsellipsen bietet ein nützliches Symmetrie-Kriterium für die Untersuchung des Circular dichroismus.

In Abbildung 4.4.2 und Tabelle 4.4.1 sind weiterhin auch die Ergebnisse für linear polarisierte Laserpulse (Polarisationsebene auf schneller Achse des QWP) dargestellt. Die erhaltenen Resultate bestätigen die Herstellerspezifikationen des verwendeten ns-Lasers. Der Laser emittiert hochgradig linear polarisierte Laserpulse mit einer horizontalen Ausrichtung der Polarisationssebene.

Die hier vorgestellte Methodik wurde zur regelmäßigen Überprüfung der Polarisationsgüte verwendet.

4.4.2 Rotation eines zweiten Wellenplättchens

Alternativ zu dem soeben präsentierten Ansatz wird in der Literatur häufig der STOKES-Formalismus zur umfassenden Charakterisierung des Polarisationszustandes von Licht verwendet.^[248] Daher sollen in diesem Unterkapitel die STOKES-Parameter S_0 , S_1 , S_2 und S_3 , welche den sogenannten STOKES-Vektor \vec{S} bilden, bestimmt werden.

Zu diesem Zweck wurde ein weiteres $\lambda/4$ -Wellenplättchen zwischen dem linearen Polarisator und dem vorhandenen Wellenplättchen eingesetzt und rotiert, während wiederum die mittlere Laserleistung am Powermeter verfolgt wird.^[249]

Die für unterschiedliche Polarisationszustände (LCP, RCP und LIN) erhaltenen Resultate sind in Abbildung 4.4.3 dargestellt.

Für die durch einen Polarisator in Winkel α und ein Wellenplättchen mit der Verzögerung δ im Winkel β transmittierte Leistung $P(\alpha, \beta, \delta)$ gilt folgender allgemeiner Zusammenhang:^[250]

$$P(\alpha, \beta, \delta) = \frac{1}{2}(S_0 + (S_1 \cos(2\beta) + S_2 \sin(2\beta)) \cos(2\alpha - 2\beta) + ((S_2 \cos(2\beta) - S_1 \sin(2\beta)) \cos(\delta) + S_3 \sin(\delta)) \sin(2\alpha - 2\beta)) \quad (4.4.1)$$

Wird wie in diesem Fall ein $\lambda/4$ -Wellenplättchen verwendet, gilt ferner $\delta = 90^\circ$. Der lineare Polarisator bleibt während der Messung – also der Rotation des zusätzlichen QWP – in einer Position fixiert. Im vorliegenden Fall wurde die Polarisator-Transmissionsachse in der Vertikalen festgesetzt. In Anbetracht des zur Bestimmung der STOKES-Parameter festgelegten Koordinatensystems,^[250] in welchem die Referenzachse in der Horizontalen liegt, gilt daher weiterhin $\alpha = 90^\circ$. Mit Hilfe der Bedingungen $\alpha = \delta = 90^\circ$ kann die messbare Leistung als Funktion des QWP-Winkels $P(\beta)$ aus Gleichung 4.4.1 erhalten

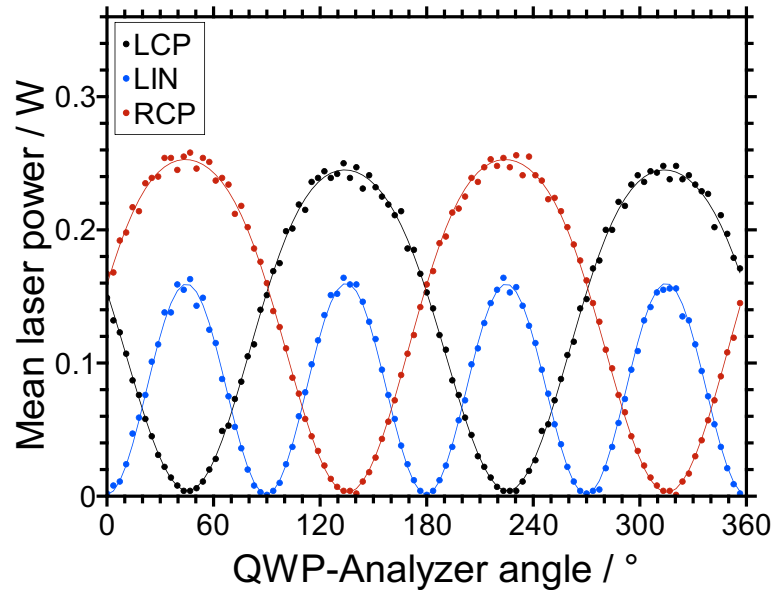


Abbildung 4.4.3: Mittlere Laserleistungen bei Rotation eines zweiten $\lambda/4$ -Wellenplättchen hinter einem $\lambda/4$ -Wellenplättchen, welches der Erzeugung von links- (LCP) und rechtszirkular (RCP) sowie Transmission von linear (LIN) polarisiertem Licht dient. Die Datenpunkte wurden gemäß Gleichung 4.4.2 angepasst. Die resultierenden STOKES-Parameter sind in Tabelle 4.4.2 aufgelistet.

werden.

$$P(\beta) = \frac{1}{2}(S_0 - (S_1 \cos(2\beta) + S_2 \sin(2\beta)) \cos(2\beta) + S_3 \sin(2\beta)) \quad (4.4.2)$$

Durch eine Anpassung der in Abbildung 4.4.3 aufgetragenen Daten gemäß Gleichung 4.4.2 werden die STOKES-Parameter S_0 , S_1 , S_2 und S_3 als Fitparameter erhalten. Alle Werte wurden auf die einfallende Leistung normiert, sodass $S_0 = 1$ gilt. Die auf diese Weise erhaltenen STOKES-Vektoren für zirkular polarisierte Laserpulse (LCP und RCP) sowie den linearen Ausgangszustand (LIN) sind in Tabelle 4.4.2 aufgeführt.

Der Parameter S_1 beschreibt die Dominanz von linear horizontal polarisiertem Licht ($+1 \hat{=} \text{LHP}$) über linear vertikal polarisiertes Licht ($-1 \hat{=} \text{LVP}$), S_2 zeigt ein Übergewicht von linear polarisiertem Licht auf der positiven ($+1 \hat{=} \text{L+45P}$) relativ zur negativen 45° -Achse ($-1 \hat{=} \text{L-45P}$) an und S_3 vergleicht rechts zirkulare ($+1 \hat{=} \text{RCP}$) mit links zirkularen ($-1 \hat{=} \text{LCP}$) Komponenten.^[248]

In Übereinstimmung mit den zuvor präsentierten Resultaten ist auch hier ein nicht vernachlässigbarer Restanteil linearen Lichtes auf der vertikalen Achse zu beobachten. Die

Tabelle 4.4.2: STOKES-Vektoren verschiedener Polarisationszustände: LCP, RCP und LIN. Der Parameter S_0 wurde in allen Fällen durch entsprechende Normierung auf einen Wert von 1 festgelegt und wird daher nicht aufgeführt.

Komponente	Polarisationszustand		
	LCP	RCP	LIN
S_1	-0.231	-0.244	0.988
S_2	-0.021	-0.015	-0.012
S_3	-0.969	0.979	0.013

Helizitäten in S_3 sind allerdings für die gewählten QWP-Ausrichtungen klar entgegengesetzt. Im Falle der LIN-Laserpulse handelt es sich erwartungsgemäß um horizontal polarisiertes Licht.

Es sei abschließend angemerkt, dass trotz der elliptischen Natur der Polarisationszustände in der vorliegenden Arbeit der Einfachheit halber von zirkular polarisierten Laserpulsen mit den entsprechenden Abkürzungen LCP bzw. RCP gesprochen wird.

4.5 Chiroptische Untersuchungen von 3,4-Dihydroxyphenylalanin

Nachdem die grundlegende Funktionalität der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Apparatur und ihrer Komponenten erwiesen wurde, wird nun die Chiralitätsanalyse von Enantiomeren mit Hilfe des neuen experimentellen Aufbaus demonstriert. Als ein Analyt für chiroptische PICD- und PECD-Untersuchungen wurde 3,4-Dihydroxyphenylalanin gewählt. Es handelt sich um eine α -Aminosäure mit der in Abbildung 4.5.1 gezeigten Struktur.

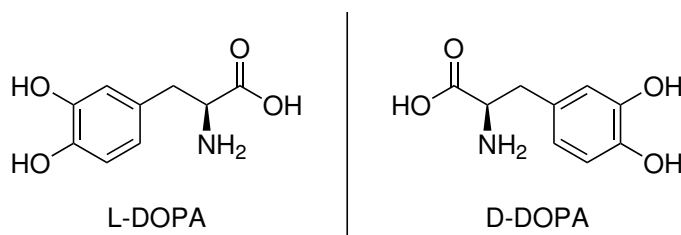


Abbildung 4.5.1: Struktur der L- und D-Enantiomere des 3,4-Dihydroxyphenylalanins (DOPA).

3,4-Dihydroxyphenylalanin (abgekürzt DOPA) ist ein Präkursor verschiedener Catecho-

lamin-Neurotransmitter wie Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin^[251] sowie Melanin-Pigmentfarbstoffe^[252] (siehe Abb. 4.5.2). DOPA wird im menschlichen Körper aus der proteinogenen Aminosäure Tyrosin durch Hydroxylierung synthetisiert.

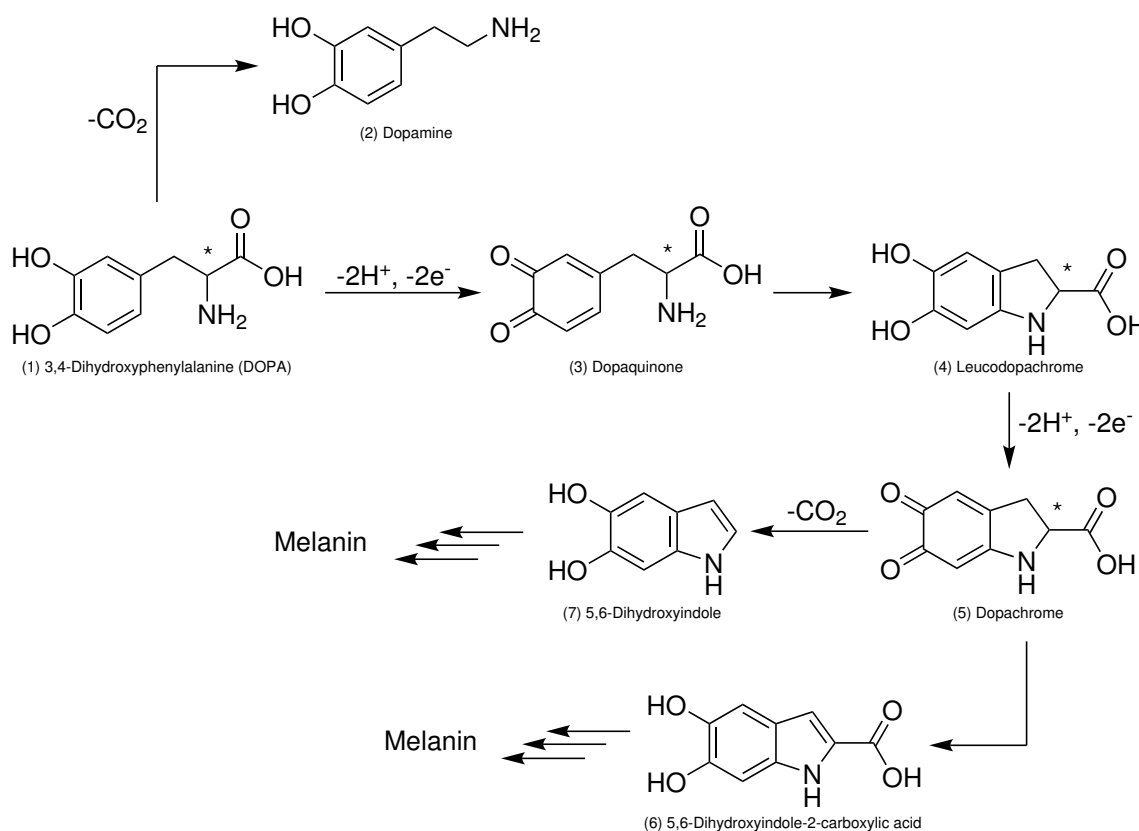


Abbildung 4.5.2: Schematische Darstellung möglicher Reaktionspfade von DOPA: Dopamin-Bildung durch Decarboxylierung (oben) versus Oxidationsreaktionen, Ringschluss und Decarboxylierung im Rahmen der Melanogenese (unten). Erstellt nach [252] und [253].

Das L-Enantiomer des 3,4-Dihydroxyphenylalanins wird unter dem Namen Levodopa zur Behandlung der Parkinson-Krankheit hergestellt und vertrieben.^[6] Die pharmakologische Wirkung von DOPA wurde von ARVID CARLSSON entdeckt, welcher diesbezüglich im Jahr 2000 mit einem Teil des Medizin-Nobelpreises bedacht wurde.^[254] DOPA ist eine sogenannte Prodrug. Die Aminosäure kann – im Gegensatz zu Neurotransmittern wie Dopamin – die Blut-Hirnschranke passieren.^[255] Anschließend wird das Vorläuferteilchen durch Decarboxylierung im Gehirn zu Dopamin metabolisiert.

Im Jahre 2001 wurde WILLIAM S. KNOWLES ein Teil des Chemie-Nobelpreises für seine Arbeiten zur asymmetrischen Hydrierung verliehen.^[256] Ein herausragendes Beispiel war dabei die in Abbildung 4.5.3 dargestellte Synthese von L-DOPA.^[257]

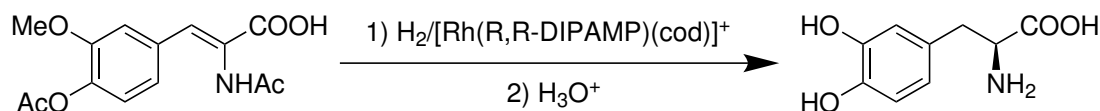


Abbildung 4.5.3: Synthese des L-DOPA durch asymmetrische Hydrierung nach W. A. KNOWLES unter Nutzung eines Rh-Katalysators mit Diphosphin-Ligand.^[256]

Der Einbau von DOPA in Proteine ist prinzipiell möglich. In Klebstoff-Proteinen von Muscheln dient DOPA beispielsweise der feuchtigkeitsunabhängigen Adhäsion sowie der Quervernetzung.^[258]

DOPA ist licht- und oxidationsempfindlich.^[259] Wie in Abbildung 4.5.2 dargestellt, können durch die Oxidation von DOPA verschiedene Indolstrukturen entstehen, welche zu Melanin polymerisieren.^[252] Dies äußert sich in einer Braunfärbung des ansonsten farblosen Feststoffes.

Im Gegensatz zum klinisch hochwirksamen L-DOPA (Eutomer), ist das Spiegelbild D-DOPA nicht pharmakologisch aktiv (Distomer).^[6] Da D-DOPA aufgrund einer Verminderung der Granulozyten, einer Untergruppe weißer Blutkörperchen, für den Menschen zudem toxisch ist (Agranulozytose), wird enantiomeren-reines L-DOPA für Behandlungszwecke eingesetzt.^[6]

Die qualitative und quantitative Differenzierung zwischen den DOPA-Enantiomeren ist also von besonderem analytischem Interesse. Daher wird im Folgenden in *proof-of-principle*-Experimenten untersucht, ob das Photodetachment elektrosprayter DOPA-Anionen mit zirkularpolarisiertem Licht enantiosensitiv ist. Nachdem der Photodetachmentprozess anhand von Massenspektren charakterisiert worden ist, werden zu diesem Zweck der Circular dichroismus in totalen Ionen- und Elektronenausbeuten (PICD) sowie in der Photoelektronenwinkelverteilung (PECD) diskutiert. Die Resultate sind in Referenz [240] publiziert worden. Eine Genehmigung zur Reproduktion des veröffentlichten Materials wurde von JOHN WILEY AND SONS erteilt.

4.5.1 Massenspektren

In Abbildung 4.5.4 sind ESI-TOF-Massenspektren des 3,4-Dihydroxyphenylalanins in einer 1:3-Mischung (v/v) aus Wasser und Acetonitril im Anionen-Modus dargestellt.

Die schwarze Spur zeigt das Massenspektrum, welches nach Lasereinwirkung erhalten wird, und in Rot ist das ESI-Hintergrundspektrum ohne Lasereinfluss zu sehen. Zur Visualisierung der Unterschiede dient die Differenz dieser Spektren, welche wiederum in

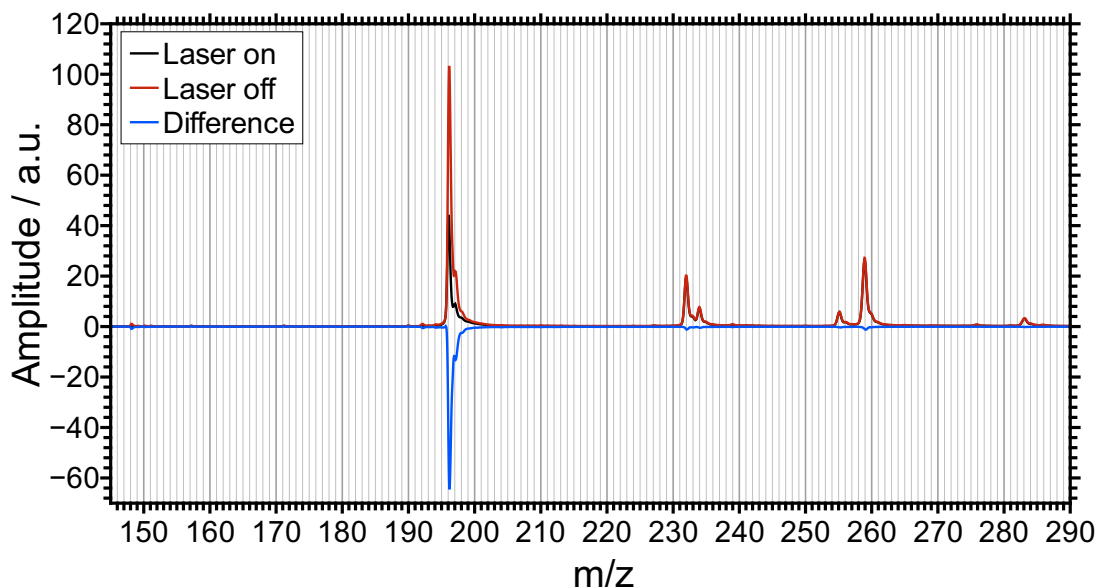
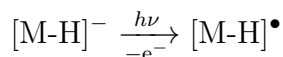


Abbildung 4.5.4: ESI-TOF-Massenspektren von 3,4-Dihydroxyphenylalanin ($c = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$) in einer 1:3-Mischung (v/v) aus Wasser und Acetonitril im Anionen-Modus mit (schwarz) und ohne Laser (rot) sowie das durch Photodetachment hervorgerufene Differenzspektrum (blau). Es sind Mittelwerte von LCP- und RCP-Spektren bei einer Pulsenergie von 31 mJ dargestellt, welche im Rahmen von Referenz [240] veröffentlicht wurden.

Blau dargestellt ist. Neben einem intensiven Signal bei einem m/z -Verhältnis von 196, welches dem einfach deprotonierten DOPA $[\text{M-H}]^-$ zugeordnet werden kann, sind einige weniger ausgeprägte Peaks bei höheren m/z -Verhältnissen erkenntlich. Hier handelt es sich um verschiedene Adduktionen. Ein Vorschlag für die Zuordnung dieser und weiterer Signale ist in Tabelle 4.5.1 zu finden.

Die durch Wechselwirkung mit ns-Laserpulsen zu beobachtenden Veränderungen (Differenzspur in Abb. 4.5.4) werden klar durch das $[\text{M-H}]^-$ -Ion dominiert. Hier kann eine erhebliche Signalverarmung beobachtet werden. Dies weist auf den Ablauf des folgenden Photodetachmentprozesses hin:



Das radikalische Produkt kann aufgrund des neutralen Ladungszustandes nicht nachgewiesen werden. Lediglich die Verarmung des Präkursors und die Bildung von Photoelektronen sind quantifizierbar.

Tabelle 4.5.1: Vorgeschlagene Signalzuordnung im ESI-TOF-Massenspektrum von DOPA (negativer Modus).

m/z	Ion
148	$[M-5H-CO_2]^-$
192	$[M-5H]^-$
196	$[M-H]^-$
232	$[(M-H)(H_2O)_2]^-$
234	$[(M-H-CO_2)(CH_3CN)_2]^-$
255	$[(M-H)(CH_3CN)(H_2O)]^-$
259	$[(M-2H+Na)(CH_3CN)]^-$
283	$[(M-H-CO_2)(CH_3CN)(H_2O)_5]^-$

Signale im Bereich geringer m/z-Verhältnisse wurden durch eine geeignete Wahl der Ionenfallenparameter (RF-Amplitude, DC-Bias und Öffnungsverzögerung) unterdrückt. Auf diese Weise wird das unerwünschte Photodetachment achiraler Präkursorpezies wie z. B. dem deprotonierten 5,6-Dihydroxyindol ($m/z = 148$, vgl. Abb. 4.5.2), welches im Laufe der Zeit durch Oxidation des DOPA entstehen kann, verhindert.

Sämtliche Differenzen, welche für Adduktensignale mit $m/z > 200$ auftreten, sind in guter Näherung gegenüber dem Beitrag des $[M-H]^-$ zur Gesamtdifferenz von 92 % zu vernachlässigen.

Es wird also primär das Photodetachment des einfach-deprotonierten, unsolvatisierten DOPA betrachtet. Dieses ist mit einer Verminderung des Hintergrundsignals um 55 % bei einer Pulsenergie von 31 mJ sehr effizient. Die Vernichtung von mehr als der Hälfte der Präkursorionen belegt eine sehr gute Überlagerung von Ionenpaket und Laserpuls im Extraktionsvolumen des neu entwickelten ESI-TOF-MS.

Wird die Photoelektronenausbeute in Abhängigkeit der verwendeten Pulsenergie bzw. mittleren Laserleistung gemessen, so ergibt sich in einer doppellogarithmischen Auftragung (Abb. 8.3.1) eine Steigung von 0.87 ± 0.07 . Eine äquivalente Auswertung der Ionenausbeutedifferenzen (Abb. 8.3.2) liefert einen Multiphotonenexponenten von 0.78 ± 0.03 . Es handelt sich demzufolge bei dem hier untersuchten Photodetachment um einen Einphotonenprozess. Bei hohen Pulsenergien deuteten sich Sättigungseffekte an.

Der beschriebene Photodetachmentvorgang soll in den folgenden Abschnitten für die beiden DOPA-Enantiomere im Hinblick auf Einflüsse der verwendeten Lichthelizität untersucht werden. Zunächst wird der Circular dichroismus in totalen Ionen- und Elektronenausbeuten betrachtet (PICD), anschließend wird eine Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrie in der Photoelektronenwinkelverteilung (PECD) diskutiert.

4.5.2 PICD in Ionenausbeuten

Der PICD wurde bis zum jetzigen Zeitpunkt vor allem in der Photoionisation von neutralen Vorgängerspezies untersucht.^[164] Dabei kann der Circular dichroismus direkt aus den resultierenden Ionenausbeuten für links- bzw. rechts zirkular polarisiertes Licht nach Gleichung 2.6.5 berechnet werden.

Da im vorliegenden Fall des Photodetachments von Monoanionen allerdings kein ionisches Produktsignal detektiert werden kann, ist dieser Ansatz per se nicht anwendbar. Der PICD wird daher nachfolgend im Rahmen einer Signalverarmung von Präkursorionen diskutiert. Dies stellt eine Herausforderung dar, denn im Gegensatz zur klassischen Herangehensweise werden dabei laserinduzierte Veränderungen auf einem ionischen Signalthintergrund ausgewertet. Durch die Erfassung von ESI-Massenspektren zwischen dem Eintreffen aufeinanderfolgender Laserpulse kann der ionische Hintergrund allerdings in die Berechnung des PICD miteinbezogen werden.

In diesem Unterkapitel werden verschiedene Berechnungsansätze des PICD anhand einer Ionenverarmung vorgestellt und verglichen. Die alternative Herangehensweise der Auswertung der totalen Photoelektronenausbeuten wird im nächsten Unterkapitel vorgestellt.

In Abbildung 4.5.5 sind die in mehreren Messdurchläufen (engl. *runs*) von D- und L-DOPA erfassten Ionenausbeuten sowie mittleren Laserleistungen für einzelne *passes* aufgetragen. Die verwendeten Messbedingungen sind in Tabelle 8.2.1 des Anhangs aufgeschlüsselt. Insgesamt wurden 728 *passes* mit L-DOPA als Analyt und 640 *passes* mit D-DOPA gemessen.

Bei Betrachtung der $[M-H]^-$ -Ausbeuten ohne Laser (schwarz) in Abbildung 4.5.5(a) offenbaren sich Drifts und Schwankungen des ESI-Signals im Verlauf eines *runs* sowie zwischen den verschiedenen *runs*. Diese Signalveränderungen können zwar durch Optimierung der Elektrospraybedingungen bis zu einem gewissen Grad minimiert werden, jedoch sind für die benötigten vergleichsweise langen Messzeiträume stets gewisse Instabilitäten zu erwarten. Eine Veränderung des ESI-Hintergrundes spiegelt sich erwartungsgemäß unmittelbar in der Signalintensität (rot) wieder, welche nach Laserinteraktion beobachtet werden kann.

Durch Veränderungen der Präkursorionenzahl zwischen einer LCP- (ausgefüllte Symbole) und einer RCP-Teilmessung (leere Symbole) besteht folglich die Gefahr der Erfassung unechter Anisotropien bei einer Betrachtung der absoluten Signalabnahme unter Lasereinfluss. Um den Einfluss von gerichteten Veränderungen (engl. *drifts*) des ESI-Hintergrundes möglichst zu eliminieren, wird die Helizität häufig umgekehrt und die

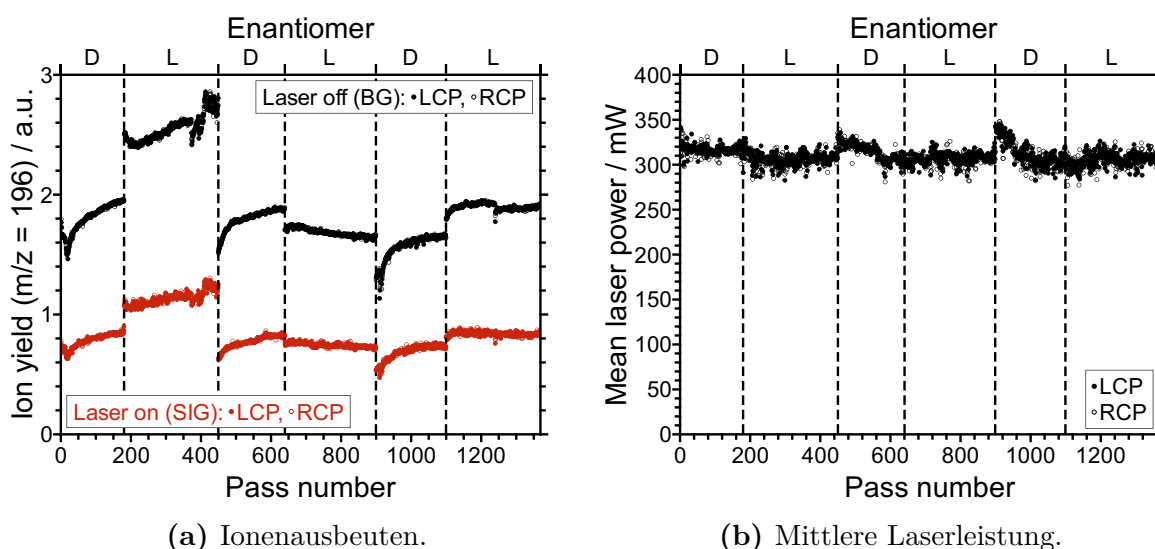


Abbildung 4.5.5: Ionenausbeuten für das $[M-H]^-$ -Ion des L- bzw. D-DOPA ($m/z = 196$) mit und ohne Laser (links) sowie mittlere Laserleistung (rechts) für alle gemessenen *passes*. Gestrichelte Linien markieren einen Probenwechsel zwischen *runs*.

Reihenfolge der Erfassung von LCP und RCP stets alterniert. Als zusätzliche Maßnahme kann eine Normierung auf den Signalthintergrund vorgenommen werden.

Neben der Präkursorionenzahl hat auch die mittlere Laserleistung einen Einfluss auf das Ausmaß der Signalverarmung durch Photodetachment. Die Laserleistung wird daher im Experiment gleichzeitig mit den Ionenausbeuten erfasst. Das Resultat kann Abbildung 4.5.5(b) entnommen werden. Die Laserleistung ist vergleichsweise stabil. Lediglich geringfügige zufällige Schwankungen zwischen unterschiedlichen *passes* sind zu beobachten. In Einzelfällen zeigt sich zudem eine systematische Abnahme der Laserleistung zu Beginn eines *runs*. Um Einflüsse auf die resultierenden Ionenausbeuten zu berücksichtigen, ist auch hier eine Normierung denkbar.

Aus den diskutierten Abhängigkeiten ergeben sich verschiedene Ansätze zur Berechnung des PICD anhand normierter Ionenausbeuten oder Ausbeutedifferenzen. Eine naheliegende Möglichkeit wäre den PICD direkt anhand der Ionenausbeuten nach Lasereinwirkung zu berechnen. Allerdings würden dabei sämtliche Ladungsträger ausgewertet – auch jene Ionen, welche nicht mit dem Laser interagiert haben. Dies würde den messbaren PICD-Effekt durch einen konstanten, helizitäts-unabhängigen Hintergrund vermindern und ist daher nicht praktikabel. Vielmehr bietet sich eine Nutzung der Differenzen (DIFF) von Massenspektren mit (SIG) und ohne (BG) Lasereinwirkung an, um den besagten laserunabhängigen Anteil nicht in der PICD-Berechnung zu berücksichtigen.

Diese absolute Differenz der Signalausbeuten ($\text{DIFF} = \text{SIG} - \text{BG}$) ist gemäß obiger Ausführungen proportional zur Präkursorionenzahl (BG), welche durch die ESI-Quelle bereitgestellt wird, und zur mittleren Laserleistung (LP). Daher erscheinen Normierungen der Signalabnahme auf die beiden genannten Größen sinnvoll. In der folgenden Abbildung 4.5.6 sind neben der absoluten Ausbeutedifferenz DIFF auch die relative Differenz DIFF/BG sowie die auf Laserleistung normierten Differenzen DIFF/LP und $\text{DIFF}/(\text{LP}\cdot\text{BG})$ für alle *passes* aufgetragen.

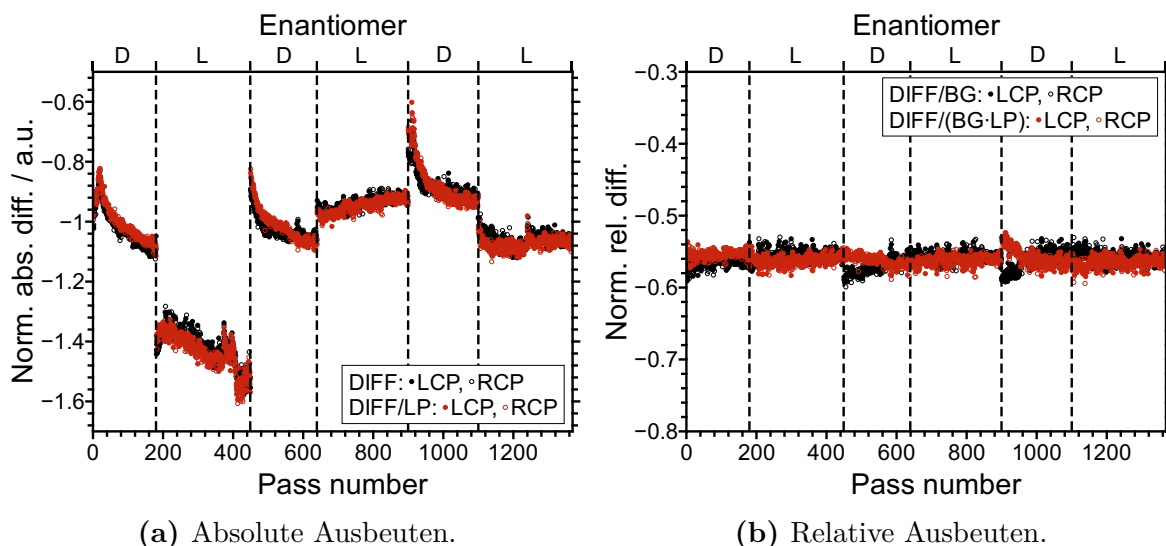


Abbildung 4.5.6: Normierte Ionenausbeutedifferenzen für das $[\text{M-H}]^-$ -Ion des L- bzw. D-DOPA ($m/z = 196$) für alle gemessenen *passes*. Die zur Normierung verwendeten Laserleistungen wurden auf einen Mittelwert von eins skaliert. Vertikale, gestrichelte Linien markieren einen Probenwechsel zwischen *runs*.

Die absoluten Ausbeutedifferenzen (DIFF) offenbaren erneut die zuvor diskutierten Instabilitäten der ESI-Quelle. Durch eine Normierung auf den parallel gemessenen ESI-Hintergrund (DIFF/BG) ist eine fast vollständige Aufhebung dieser Einflüsse festzustellen. Die relative Differenz, d. h. der Anteil der Signalverarmung, liegt für alle *passes* vergleichsweise konstant bei einem Wert von ca. -55% . Unter Einbeziehung der Laserleistung können nur geringe Veränderungen festgestellt werden. Die auf die Laserleistung normierte absolute Differenz DIFF/LP und relative Differenz $\text{DIFF}/(\text{LP}\cdot\text{BG})$ zeigen die größten Veränderungen zu Beginn eines *runs*. Während ab *pass* 450 eine anteilige Aufhebung der durch das Warmlaufen des Lasers verursachten Unstetigkeit festgestellt werden kann, zeigt sich im Bereich ab *pass* 900 eine übermäßige Korrektur bzw. eine Überschätzung des Laserleistungseinflusses. Dies ist ein Hinweis darauf, dass der Einphotonen-

Detachmentprozess bei den verwendeten Pulsenergien bereits teilweise gesättigt ist und daher keine lineare Skalierung hinsichtlich der Laserleistung angenommen werden kann. Die Hypothese bestätigt sich bei Betrachtung der Leistungsabhängigkeit der Ionenausbeute (siehe Abbildung 8.3.2 im Anhang).

Die gemäß den vorgeschlagenen Normierungsverfahren erhaltenen Ausbeuten für LCP- und RCP-Laserpulse aus Abbildung 4.5.6 können in Gleichung 2.6.5 eingesetzt werden, um den Circulardichroismus in der Signalverarmung des $[M-H]^-$ -Ions zu bestimmen. Mit den in Tabelle 8.2.2 gelisteten Auswerteparametern wurden auf diese Weise PICD-Werte für insgesamt 1368 *passes* berechnet. Diese wurden gemittelt, um schließlich die in Tabelle 8.2.2 aufgeführten und in Abbildung 4.5.7 aufgetragenen Mittelwerte und Standardfehler zu erhalten.

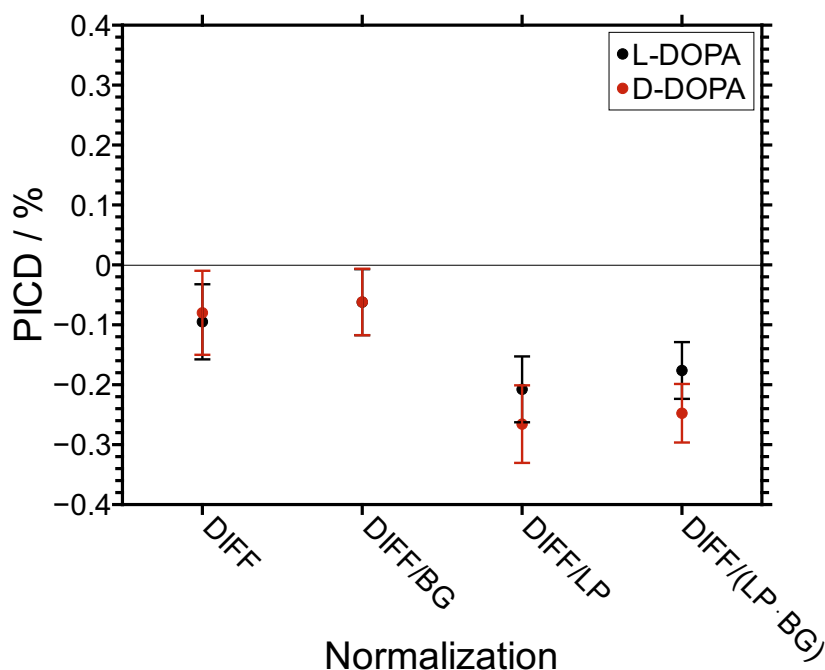


Abbildung 4.5.7: PICD-Werte des $[M-H]^-$ -Ions von L- und D-DOPA für verschiedene Normierungsansätze.

Die erhaltenen PICD-Werte lassen unabhängig von der jeweiligen Normierungsart keine Differenzierung zwischen den beiden Enantiomeren des DOPA zu. Die Mittelwerte für L- und D-DOPA sind im Rahmen der Standardfehler nicht zu unterscheiden.

Berechnungen des PICD über die absolute Differenz (DIFF) und die relative Signalverarmung (DIFF/BG) liefern vergleichbare Resultate. In beiden Fällen werden leicht negative Werte zwischen 0 % und -0.16 % erhalten. Diese Beobachtung zeigt, dass systematische

Einflüsse basierend auf Instabilitäten der ESI-Quelle bereits durch die gewählte Messmethodik größtenteils kompensiert werden. Allerdings konnten die Standardfehler durch eine Normierung der zu beobachtenden Ausbeutedifferenzen auf den ESI-Hintergrund (DIFF/BG) etwas reduziert werden.

Bei einer Berücksichtigung der mittleren Laserleistung werden sowohl für die absolute (DIFF/LP) als auch die relative Ionenausbeutedifferenz (DIFF/(LP·BG)) negativere PICD-Werte erhalten. Die Differenz der PICD-Mittelwerte von L- und D-DOPA nimmt dabei leicht zu. Gleichzeitig kann auch in diesem Fall eine Reduzierung der Standardfehler festgestellt werden. Im Rahmen der gegebenen Fehlerbalken ist dennoch keine Differenzierung der Enantiomere möglich.

Nicht unterscheidbare, aber von null verschiedene PICD-Werte für L- und D-DOPA weisen auf instrumentelle Asymmetrien hin. Für beide Enantiomere werden negative PICD-Werte erhalten, d. h. das Photodetachment mit RCP-Laserpulsen ist unabhängig von der absoluten Konfiguration effizienter. Ursächlich könnten beispielsweise geringfügige Polarisations- oder Leistungsunterschiede der verwendeten LCP- und RCP-Laserpulse sein.

Die Zunahme besagter Asymmetrie im Rahmen der Normierung auf gemessene Laserleistungen spricht auf den ersten Blick dafür, dass unterschiedliche LCP- und RCP-Pulsenergien nicht für die künstliche Anisotropie verantwortlich sind. Allerdings ist zu beachten, dass die Leistungsmessung hinter der Apparatur bedingt durch das Brewster-Ausgangsfenster, welches als linearer Polarisator fungiert, polarisationsabhängig ist. An den jeweiligen Messtagen wurden zirkularen Polarisationsanteile für LCP zwischen 75 % und 77 % sowie für RCP zwischen 80 % und 81 % ermittelt. Daher können auch über die Drehrichtung hinausgehende Polarisationsunterschiede zwischen den verwendeten LCP- und RCP-Laserpulsen für den systematischen Fehler eine Rolle spielen. Um Polarisations- und Laserleistungs-Einflüsse getrennt betrachten zu können, müsste eine von der Polarisationsellipse vollkommen unabhängige Leistungsmessung realisiert werden.

Die Berücksichtigung von Präkursorionenausbeute und Laserleistung bei der Messung des PICD elektrosprayter Ionen wurden ebenfalls von DALY et al. beschrieben.^[111] Am hier präsentierten Beispiel des 3,4-Dihydroxyphenylalanins konnte zwar ein positiver Einfluss hinsichtlich der Standardfehler des PICD nachgewiesen werden, eine Kompensation instrumenteller Artefakte bzw. Asymmetrien durch die gewählten Normierungsansätze konnte jedoch nicht gezeigt werden. Zu diesem Zweck könnten achirale Referenzsubstanzen hinzugezogen werden.^[29]

Anhand der präsentierten PICD-Daten ist keine Unterscheidung der DOPA-Enantiomere

Tabelle 4.5.2: PICD-Werte des $[M-H]^-$ -Ions von L- und D-DOPA für verschiedene Normierungsansätze.

Normierung	PICD	
	L-DOPA	D-DOPA
DIFF	$-0.095 \% \pm 0.063 \%$	$-0.080 \% \pm 0.070 \%$
DIFF/BG	$-0.062 \% \pm 0.055 \%$	$-0.062 \% \pm 0.055 \%$
DIFF/LP	$-0.208 \% \pm 0.055 \%$	$-0.266 \% \pm 0.065 \%$
DIFF/(LP·BG)	$-0.176 \% \pm 0.047 \%$	$-0.248 \% \pm 0.049 \%$

möglich. Jedoch konnte erfolgreich gezeigt werden, dass mit Hilfe des neuen ESI-TOF-MS der PICD elektrosprayter Anionen im Photodetachment mit hervorragender Genauigkeit bestimmt werden kann. Sämtliche ermittelten Standardfehler der Mittelwerte sind kleiner als 0.1 %.

4.5.3 PICD in Elektronenausbeuten

Eine alternative Herangehensweise zur Bestimmung des PICD ist die Berechnung des Anisotropiefaktors anhand von totalen Elektronenausbeuten. Dies erscheint im Kontext der historisch entstandenen Bezeichnung Photoionen-Circulardichroismus (PICD) zunächst kontraintuitiv. Die Abhängigkeit des Photodetachment-Wirkungsquerschnitts von der Lichthelizität ist jedoch neben den soeben diskutierten Ionenausbeuten analog auch in den totalen Elektronenausbeuten wieder zu finden, denn für jedes vernichtete Anion entsteht ein Elektron.

Ein Nachteil der Betrachtung von Elektronen anstelle von Ionen ist das Fehlen einer Masseninformation über das Vorläuferteilchen. Dies ist für den hier vorliegenden Fall jedoch nicht von Bedeutung, da aufgrund der geladenen Natur des Vorläufers eine gewisse Selektion vorgenommen werden konnte, sodass die detektierbaren Elektronen quasi ausschließlich dem Präkursor $[M-H]^-$ entstammen.

Zur Erfassung der totalen Elektronenausbeuten wurde der dafür vorgesehene zweite MCP-Detektor verwendet und die Summe der Signale auf beiden Anoden ausgewertet. Gleichzeitig mit den Photoelektronen werden bedingt durch die identische Ladungspolarität auch die Präkursoranionen auf diesen Detektor abgebildet. Abbildung 4.5.8 zeigt ein typisches Massenspektrum unter Lasereinfluss.

Aufgrund des kurzen Flugrohres ist die Massenauflösung recht begrenzt, dennoch ist neben dem Elektronenpeak auch das Signal des $[M-H]^-$ klar erkenntlich. In Abbildung 4.5.9(a) sind die Ausbeuten des entsprechenden Hintergrundsignals (schwarz) so-

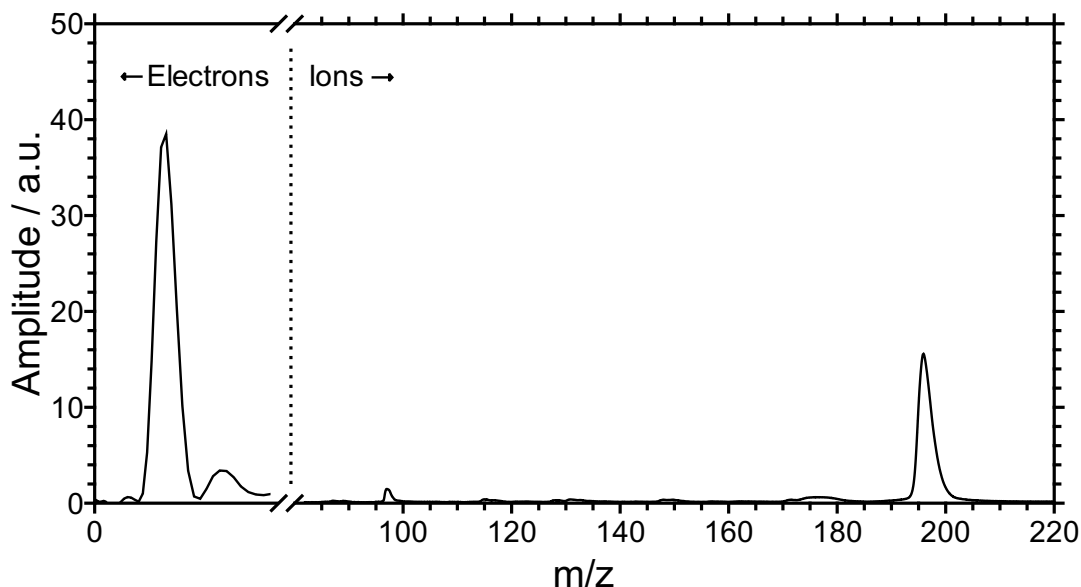


Abbildung 4.5.8: Typisches Massenspektrum von L-DOPA nach Lasereinwirkung auf dem Elektronendetektor. Links ist der Elektronenpeak zu sehen, rechts kann bei einem m/z -Verhältnis von 196 das einfach deprotonierte DOPA-Signal detektiert werden. Es ist die Summe der Signale beider Anoden dargestellt.

wie die zugehörigen Elektronenausbeuten für mehrere Messreihen der beiden DOPA-Enantiomere aufgetragen. Die verwendeten experimentellen Bedingungen sind in Tabelle 8.2.4 im Anhang hinterlegt.

Auch hier sind erneut Instabilitäten des ESI-Hintergrundsignals (schwarz) zwischen und in *runs* erkenntlich, welche sich in die absoluten Photoelektronenausbeuten (rot) fortpflanzen. In Abbildung 4.5.9(b) sind die für jeden *pass* gemessenen mittleren Laserleistungen aufgetragen. Die Laserpulsenergien sind für die hier präsentierten Elektronenmessreihen durch die Verwendung von *neutral-density*-Filtern reduziert worden, um eine Detektorsaturierung zu verhindern. Bei diesen geringen Laserleistungen kommt die Messunsicherheit des verwendeten Powermeters deutlich stärker zum Tragen, wie die relative Streuung der Messwerte erahnen lässt.

In Anlehnung an das vorherige Unterkapitel wird auch im Folgenden wiederum der Einfluss verschiedener Normierungen bzw. Berechnungsgrundlagen auf den zu bestimmenden PICD betrachtet. Die Elektronenausbeutedifferenz (DIFF) wird in Relation zur parallel gemessenen $[M-H]^-$ -Hintergrundionenausbeute (BG) und der mittleren Laserleistung (LP) gesetzt. Es sei angemerkt, dass die Auswertung von Differenzen in diesem Fall

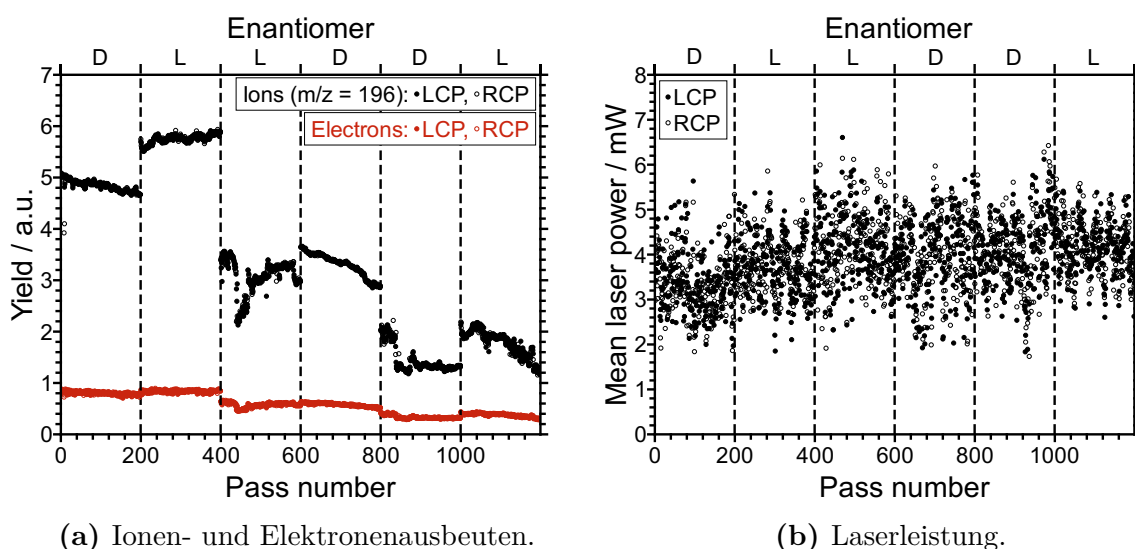


Abbildung 4.5.9: Photoelektronenausbeuten bei Lasereinwirkung und $[M-H]^-$ -Ausbeute ohne Lasereinfluss von L- und D-DOPA (links) sowie mittlere Laserleistung (rechts) für alle gemessenen *passes*. Vertikale, gestrichelte Linien markieren einen Probenwechsel zwischen *runs*.

zwar nicht notwendig ist, da kein elektronischer Hintergrund existiert, aus Gründen der Vergleichbarkeit aber dennoch Anwendung fand.

Die Elektronenausbeutedifferenz DIFF sowie die sich daraus ergebenden normierten Differenzen $DIFF/LP$, $DIFF/BG$ und $DIFF/(BG \cdot LP)$ sind in Abbildung 4.5.10 für alle gemessenen *passes* aufgetragen.

Eine Normierung der Elektronenausbeuten (DIFF) auf die Hintergrund-Ionenausbeute des Vorläuferions $[M-H]^-$ (BG) führt zu einer über den Messverlauf nicht völlig konstanten relativen Elektronenausbeute ($DIFF/BG$). Es sind weiterhin Einflüsse der ESI-Signalstärke erkenntlich. Die Photoelektronenausbeute ist nicht streng proportional zur gemessenen $[M-H]^-$ -Ionenausbeute.

Eine mögliche Erklärung liefern Sättigungseffekte, welche durch COULOMB-Abstoßung im Interaktionsbereich des Massenspektrometers bei hohen Ionendichten auftreten könnten. Photoelektronen können nur in einem durch die Laserabmessungen begrenzten Bereich entstehen. Die in diesem Segment erzielbare Ionendichte ist durch die COULOMB-Abstoßung zwischen den Anionen limitiert. Werden mehr Ionen aus der Quelle in den Extraktionsbereich geführt, dehnt sich der Ionenstrahl aus. Aufgrund der großen Extraktionsöffnung können die zusätzlichen Ionen auf den Detektor abgebildet werden, aber es erfolgt keine proportionale Zunahme der Elektronenausbeuten, da nicht alle dieser Ionen mit dem Laser interagieren. Dies kann folglich zu der gezeigten Überschätzung der

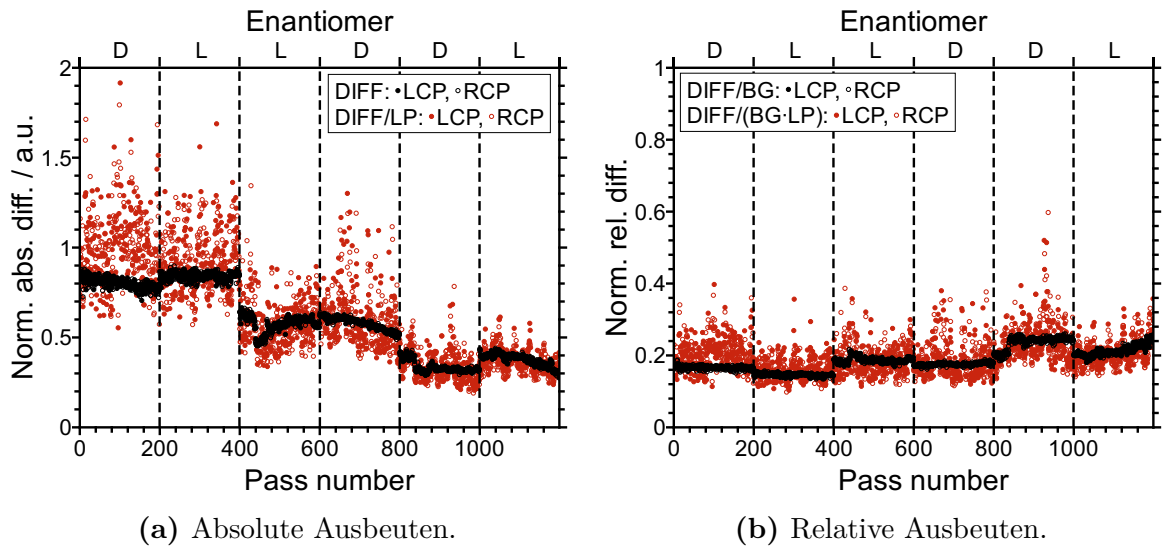


Abbildung 4.5.10: Normierte Elektronenausbeutedifferenzen von L- bzw. D-DOPA für alle gemessenen *passes*. Die verwendeten Laserleistungen wurden auf einen Mittelwert von eins skaliert. Vertikale, gestrichelte Linien markieren einen Probenwechsel zwischen *runs*.

Einflüsse der Präkursorionenzahl führen.

Normierungen auf die gemessene mittlere Laserleistung DIFF/LP und $\text{DIFF}/(\text{LP}\cdot\text{BG})$ äußern sich in einer großen Streuung der berechneten Werte. Dies ist auf die bereits erwähnten Messungenauigkeiten des Powermeters im hier relevanten Bereich kleiner Laserleistungen zurückzuführen. Für die angestrebte Normierung wäre eine Erfassung der vergleichsweise geringen Laserleistung mit einem empfindlicheren Messgerät sinnvoll. Durch eine Auswertung der für LCP- und RCP-Laserpulse erhaltenen Daten unter den in Tabelle 8.2.3 aufgeführten Bedingungen konnten die in Abbildung 4.5.11 dargestellten mittleren PICD-Werte und Standardfehler für verschiedene Normierungsansätze erhalten werden. Eine Auflistung der numerischen PICD-Resultate ist in Tabelle 4.5.3 zu finden.

Anhand der vorliegenden PICD-Werte, welche aus totalen Elektronenausbeuten bestimmt wurden, ist keine Unterscheidung der DOPA-Enantiomere möglich. Der PICD aus absoluten (DIFF) und relativen Elektronenausbeuten (DIFF/BG) liegt für L- und D-DOPA bei leicht negativen Werten zwischen -0.10% und -0.53% . Erneut kann eine geringe, aber im Anbetracht der Standardfehler signifikante künstliche Anisotropie beobachtet werden. Die Abweichung der PICD-Werte von null ist in dieser Messreihe etwas ausgeprägter als im Falle der zuvor präsentierten Untersuchung der Ionenverarmung. Es kann keine wesentliche Reduzierung der Standardfehler durch eine Berücksichtigung des

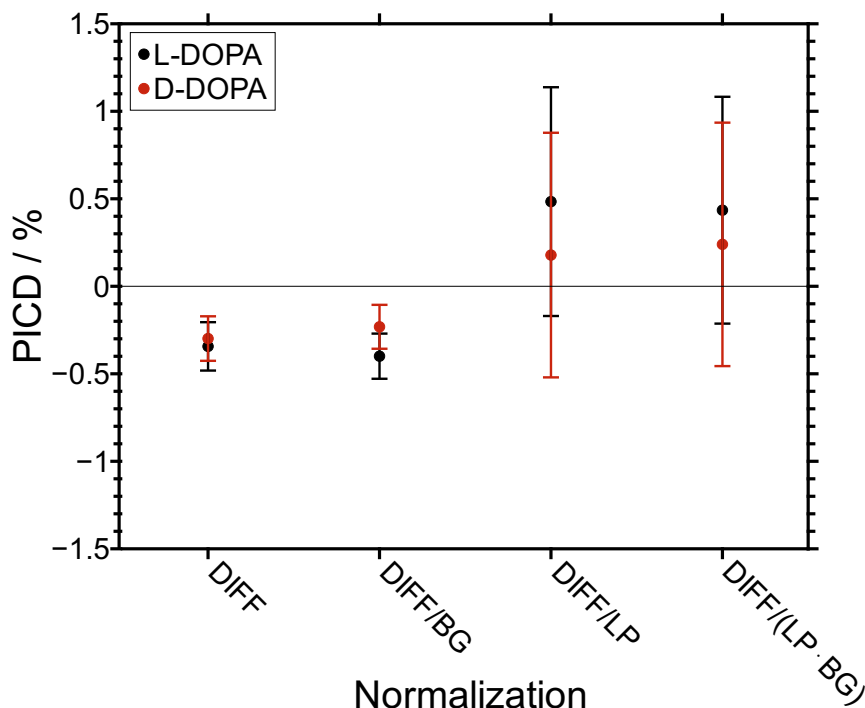


Abbildung 4.5.11: PICD-Werte in totalen Elektronenausbeuten von L- und D-DOPA-Anionen für verschiedene Normierungsansätze.

ionischen Hintergrundes festgestellt werden.

Bei einer Einbeziehung der mittleren Laserleistung (DIFF/LP und DIFF/(LP·BG)) wird ein erheblicher Anstieg der Standardfehler beobachtet. Dies ist auf die bereits erwähnte, ungenaue Bestimmung dieses Parameters zurückzuführen. Die mittleren PICD-Werte von L- und D-DOPA werden durch eine Normierung auf die Laserleistung in unterschiedlichem Ausmaß beeinflusst. In beiden Fällen ist eine Verschiebung in den Bereich positiverer Werte ersichtlich.

Tabelle 4.5.3: PICD-Werte in totalen Elektronenausbeuten von L- und D-DOPA für verschiedene Normierungsansätze.

Normierung	PICD	
	L-DOPA	D-DOPA
DIFF	-0.34 % ± 0.14 %	-0.30 % ± 0.13 %
DIFF/BG	-0.40 % ± 0.13 %	-0.23 % ± 0.13 %
DIFF/LP	+0.48 % ± 0.65 %	+0.18 % ± 0.70 %
DIFF/(LP·BG)	+0.43 % ± 0.65 %	+0.24 % ± 0.70 %

Der Circular dichroismus im Photodetachment von DOPA-Anionen konnte mit Hilfe des neuen Aufbaus neben der Verarmung von Ionenausbeuten auch in der Bildung von Photoelektronen untersucht werden. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass anhand des Circular dichroismus in totalen Photoelektronenausbeuten des Präkursor-Anions $[M-H]^-$ keine Differenzierung der DOPA-Enantiomere möglich ist. Die erhaltenen Resultate sind diesbezüglich konsistent mit den zuvor beschriebenen Ergebnissen, welche anhand der Ionenverarmung bestimmt wurden.

4.5.4 PECD

Im vorherigen Abschnitt wurde der Circular dichroismus des Photodetachments von deprotoniertem DOPA in totalen Elektronenausbeuten, d. h. dem Integral über sämtliche Raumrichtungen, diskutiert. Die Chiralität eines Präkursoranions kann sich jedoch auch in Asymmetrien der Photoelektronen-Winkelverteilung entlang der Laserausbreitungsrichtung äußern. Im Folgenden wird daher der Photoelektronen-Circular dichroismus (PECD) von DOPA-Anionen untersucht.

Zu diesem Zweck wird erneut der im vorherigen Abschnitt verwendete Datensatz herangezogen. Dieser wurde unter den in Tabelle 8.2.4 gelisteten Einstellungen erhalten. Die zuvor in ihrer Gesamtheit betrachteten Elektronenausbeuten werden nun in der Vorwärts- und Rückwärtsrichtung relativ zur Laserpropagationsachse aufgeschlüsselt. Dazu wurden die auf den beiden Halbplatten-Anoden auftretenden Elektronensignale mit den in Tabelle 8.2.5 gegebenen Einstellungen ausgewertet.

In Abbildung 4.5.12 sind die auf diese Weise erhaltenen PECD-Werte aller gemessenen *passes* dargestellt. Links sind die für beide Helizitäten (LCP und RCP) nach Gleichung 2.6.13 berechneten PECD-Werte, rechts die daraus gemäß Gleichung 2.6.19 folgenden symmetrisierten PECD-Werte dargestellt. Ergänzend zu den Resultaten für L- und D-DOPA sind auch PECD-Werte einer racemischen Mischung dieser Enantiomere in 510 *passes* dargestellt.

Die hier präsentierten Ergebnisse aus einminütigen Einzelmessungen offenbaren Asymmetrien in der Photoelektronen-Winkelverteilung. In Abbildung 4.5.12(a) äußert sich diese durch positivere PECD-Werte des D-DOPA (rot) mit LCP-Laserpulsen (ausgefüllte Symbole) im Vergleich zu RCP-Laserpulsen (offene Symbole), während für L-DOPA (schwarz) das umgekehrte Verhalten beobachtet werden kann. Im Falle des D-DOPA wird beim Photodetachment mit LCP-Laserpulsen also eine Begünstigung der Photoelektronenemission in Vorwärts-Richtung beobachtet. Nach einem Wechsel der Lichthelizität oder des Enantiomers ist hingegen eine gesteigerte Tendenz der Rückwärts-Emission

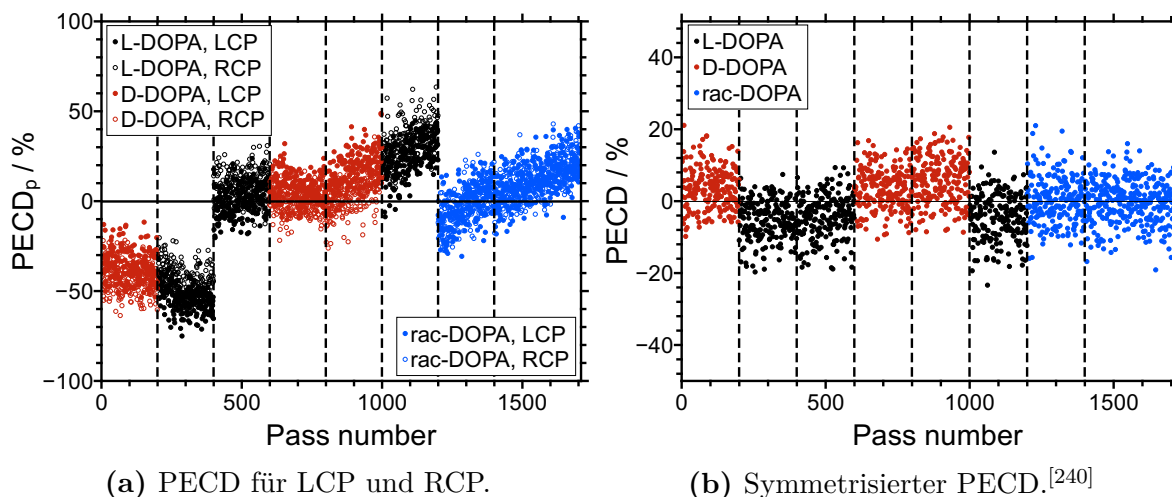


Abbildung 4.5.12: PECD-Werte für das Photodetachment von L-, D- und *rac*-DOPA-Monoanionen $[M-H]^-$. Vertikale, gestrichelte Linien deuten einen Probenwechsel zwischen zwei *runs* an.

festzustellen.

In vielen Einzelmessungen kann das Fehlen einer Inversion- bzw. Nullsymmetrie zwischen $PECD_{LCP}$ und $PECD_{RCP}$ festgestellt werden. Dies folgt aus einer nicht exakt zentrischen Abbildung des Elektronenbildes auf die beiden Detektor-Anoden. Die Mittelwerte der LCP- und RCP-Teilmessungen $(PECD_{LCP} + PECD_{RCP})/2$ eines *passes* variieren innerhalb und zwischen den verschiedenen *runs* (siehe Abb. 4.5.12(a)). Ursächlich können apparative Asymmetrien wie eine dezentrale Einleitung des Ionenstrahls in das TOF-MS oder unerwünschte elektrische sowie magnetische Querfelder sein. Eine Kompensation, d. h. eine Zentralisierung des Elektronenbildes, ist auf der Laserachse prinzipiell durch die Deflektorplatten möglich (siehe z. B. *passes* 400 - 799).

Durch Ausnutzung der Symmetrie-Eigenschaften des PECD kann eine Symmetrisierung gemäß Gleichung 2.6.18 vorgenommen werden. Das Ergebnis ist wiederum für alle Einzelmessungen in Abbildung 4.5.12(b) zu sehen. Die zuvor angesprochenen Unterschiede zwischen den DOPA-Enantiomeren sind nun sehr deutlich zu erkennen. D-DOPA zeigt im Mittel positive PECD-Werte, d. h. eine bevorzugte Emission in Vorwärtsrichtung beim Photodetachment mit LCP-Laserpulsen, und L-DOPA offenbart im Mittel einen negativen PECD, also eine Begünstigung der Rückwärtsemission bei LCP-Helizität.

Zur Überprüfung der geschilderten PECD-Resultate wurden weiterhin racemische Mischungen aus den DOPA-Enantiomeren hergestellt und untersucht (blau). Diese zeigen – wie für netto-achirale Proben zu erwarten – keine wechselnden Asymmetrien in der Pho-

toelektronen-Winkelverteilung bei Helizitätsumkehrung und bestätigen somit die Chiralität des DOPA als den Ursprung des zu beobachteten PECD.

Die in Abbildung 4.5.12(b) gezeigten symmetrisierten PECD-Werte wurden für die verschiedenen *runs* sowie die Gesamtheit aller Einzelmessungen eines Enantiomers gemittelt. Die resultierenden Mittelwerte sowie Standardfehler sind in Tabelle 4.5.4 aufgeführt.

Tabelle 4.5.4: Mittlere, symmetrisierte PECD-Werte für das Photodetachment von Monoanionen $[M-H]^-$ des L-, D- und *rac*-DOPA.

Datensatz	<i>passes</i>	PECD		
		L-DOPA	D-DOPA	<i>rac</i> -DOPA
1	1-399	$-5.20 \% \pm 0.38 \%$	$+3.68 \% \pm 0.41 \%$	-
2	400-799	$-4.17 \% \pm 0.41 \%$	$+3.59 \% \pm 0.39 \%$	-
3	800-1199	$-4.55 \% \pm 0.45 \%$	$+5.80 \% \pm 0.45 \%$	-
4	1200-1399	-	-	$+0.36 \% \pm 0.46 \%$
5	1400-1709	-	-	$-0.11 \% \pm 0.34 \%$
Gesamt ^[240]		$-4.64 \% \pm 0.24 \%$	$+4.36 \% \pm 0.25 \%$	$+0.07 \% \pm 0.27 \%$

Zwischen den jeweils an einem Messtag aufgezeichneten Datensätzen, bestehend aus aufeinanderfolgenden *runs* beider Enantiomere, sind deutliche Unterschiede hinsichtlich des unsymmetrisierten PECD-Wertes festzustellen (vergleiche Abb. 4.5.12(a)). Der erste Datensatz ($pass < 400$) zeigt apparative Asymmetrien in der Größenordnung von -50% , welche den Unterschied zwischen LCP und RCP-Messung um ungefähr eine Größenordnung übersteigen. Der zweite Datensatz ($400 \leq pass < 800$) zeigt eine recht zentrale Elektronenprojektion, welche über eine Einstellung der Deflektorspannungen erzielt wurde. Und der dritte Datensatz ($800 \leq pass < 1200$) weist eine konstante Veränderung der Elektronenabbildung mit der Zeit auf.

Trotz der genannten Unterschiede können in allen Fällen klare Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrien quantifiziert werden und es ist eine eindeutige Unterscheidung der Enantiomere möglich. Zwischen den mittleren symmetrisierten PECD-Werten der einzelnen *runs* eines Enantiomers (Tab. 4.5.4) bestehen geringe Abweichungen, welche in Einzelfällen über die gegebenen Standardfehler hinausgehen können. Eine klare Systematik dieser Abweichungen hinsichtlich der verwendeten Messbedingungen ist jedoch nicht erkennlich.

Unter Einbeziehung aller Daten werden für L- und D-DOPA mittlere PECD-Werte von $-4.64 \% \pm 0.24 \%$ bzw. $4.36 \% \pm 0.25 \%$ erhalten. Die racemische Mischung zeigt einen von null nicht zu unterscheidenden $PECD = 0.07 \% \pm 0.27 \%$. Eine grafische Illustration

dieser Resultate ist in Abbildung 4.5.13 gezeigt.

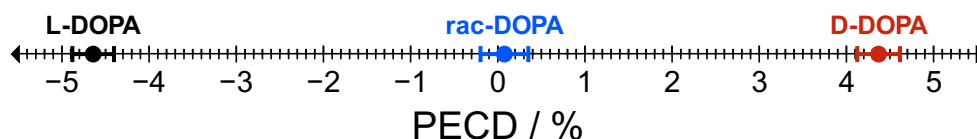


Abbildung 4.5.13: Mittlere PECD-Werte für das Photodetachment von L-, D- und *rac*-DOPA-Monoanionen $[M-H]^-$ mit den zugehörigen Standardfehlern als Fehlerbalken. Darstellung von Daten publiziert in Referenz [240].

Somit konnte zum ersten Mal der PECD in einem Photodetachment-Vorgang nachgewiesen werden.^[240] Der PECD-Effekt für deprotoniertes DOPA ($[M-H]^-$) beträgt im Mittel 4.5%. Im Rahmen der Standardfehler kann die Vorzeichenumkehr beim Enantiomerenwechsel beobachtet werden. Erwartungsgemäß wird für eine racemische Mischung keine Asymmetrie in der Photoelektronen-Winkelverteilungen beobachtet. Dies demonstriert die Eignung des PECD von elektrosprayten Anionen zur Differenzierung von Enantiomeren und damit zur Chiralitätsanalyse.

4.5.5 Zusammenfassung

Es wurden chiroptische Studien an 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA), einem Parkinson-Medikament, durchgeführt. Anhand von Differenzmassenspektren wurde zunächst das Photodetachment von $[M-H]^-$ -Anionen nachgewiesen. Durch eine grobe Massenselektion der elektrosprayten Ionen vor dem Eintreffen im Laserinteraktionsvolumen wurden weitere Präkursorionen weitestgehend unterdrückt, sodass der Detachmentvorgang des einfach deprotonierten DOPA gezielt untersucht werden kann.

Der PICD wurde in der Verminderung von Ionenausbeuten sowie anhand der Messungen von totalen Elektronenausbeuten bestimmt. Trotz langer Messzeiten und daraus folgenden geringen Unsicherheiten (Standardfehler $\leq 0.14\%$) konnte in beiden Fällen anhand der PICD-Resultate keine Differenzierung der DOPA-Enantiomere erfolgen.

Es wurden verschiedene Ansätze zur Berechnung des PICD bei unterschiedlicher Normierung der Ausbeuten mit LCP- und RCP-Laserpulsen verglichen. Durch eine Berücksichtigung der gleichzeitig gemessenen mittleren Laserleistung und Präkursorionenmenge sollten systematische Fehler verhindert und statistische Unsicherheiten minimiert werden.

Unter Einbeziehung der genannten Größen konnten die Standardfehler des PICD reduziert werden, da Instabilitäten von ESI-Quelle und ns-Laser erfasst werden.

In mehreren Fällen wurden von null verschiedene PICD-Werte für beide Enantiomere beobachtet. Dies ist ein Hinweis auf instrumentelle Asymmetrien, welche beispielsweise in der Präparation der unterschiedlich polarisierten Laserpulse zustande kommen können. Eine Kompensation durch Normierungen auf die gemessenen mittleren Leistungen war nicht möglich. Zur Korrektur künstlicher Anisotropien würde sich die Verwendung achiraler Referenzsubstanzen anbieten.

Weiterhin wurde der PECD durch eine Erfassung der in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung emittierten Photoelektronen bestimmt. Es konnte zum ersten Mal eine Asymmetrie entlang der Laserausbreitungsrichtung in der Photoelektronen-Winkelverteilung für einen Photodetachmentvorgang nachgewiesen werden.^[240] Anhand der vergleichsweise großen Asymmetrie von ungefähr 4.5 % ist eine zuverlässige Unterscheidung der DOPA-Enantiomere möglich. Für L-DOPA wurde ein negativer PECD-Wert erhalten ($-4.64 \% \pm 0.24 \%$), für D-DOPA ergab sich entsprechend ein positives Vorzeichen ($+4.36 \% \pm 0.25 \%$). In einer Kontrollmessung konnte gezeigt werden, dass für eine racemische Mischung erwartungsgemäß ein PECD-Wert von null gemessen wird. Da der PECD pro Laserschuss bestimmt werden kann, ist im Gegensatz zum PICD keine Normierung auf Laserleistung oder Präkursorionenmenge notwendig. Über einen Vergleich der für LCP- und RCP-Laserpulse erhaltenen PECD-Werte kann außerdem eine Symmetrisierung erfolgen, um apparative Asymmetrien in der Elektronenprojektion aufzuheben.

Der Vergleich von PECD- und PICD-Werten zeigt die komplementäre Natur der chiroptischen Methoden. Während der Circular dichroismus in totalen Ionen- und Elektronenausbeuten keine Differenzierung der Enantiomere erlaubt, können mit Hilfe des Circular dichroismus in der Photoelektronen-Winkelverteilungen die beiden DOPA-Enantiomere unterschieden werden.

4.6 Chiroptische Untersuchungen von Glutaminsäure

Am Beispiel der Aminosäure 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) konnte im vorherigen Kapitel die chiroptische Analyse von elektrosprayten Anionen und somit die gewünschte Funktionalität des neuen experimentellen Aufbaus demonstriert werden. Im Folgenden wird zur Bestätigung der allgemeinen Anwendbarkeit dieser Technik und als weiterer Schritt in Richtung der Analyse biologischer Polymere eine proteinogene Ami-

nosäure untersucht. Als Prototyp wurde zu diesem Zweck die Glutaminsäure, eine nicht essenzielle α -Aminosäure (abk. GLU bzw. E), ausgewählt. Die Struktur der beiden GLU-Enantiomere ist in Abbildung 4.6.1 gezeigt.

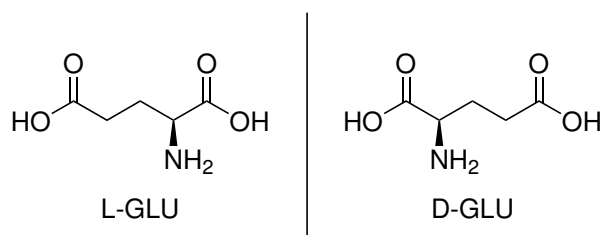


Abbildung 4.6.1: Struktur der L- und D-Glutaminsäure (GLU).

Die Glutaminsäure besitzt neben einer Amino- ($pK_s = 9.58^{[260]}$) und Carboxyl-Funktion ($pK_s = 2.16^{[260]}$) eine weitere Carboxyl-Funktion in der Seitengruppe ($pK_s = 4.15^{[260]}$) und reagiert daher sauer. In neutraler Lösung liegt GLU deprotoniert als einfaches Anion vor. Die anionische Form wird auch Glutamat genannt.

In der Natur kann quasi-ausschließlich die L-Form angetroffen werden. Lediglich in Ausnahmefällen wie z. B. bestimmten bakteriellen Zellwänden ist die D-Form zu finden.^[261] Eine kommerzielle Herstellung der L-Glutaminsäure erfolgt in großem Maßstab durch Fermentation.^[262]

Die Glutaminsäure zählt nicht nur zu den Proteinbausteinen, sondern ist auch der häufigste erregende Neurotransmitter im zentralen Nervensystem des Menschen.^[263] Außerdem nimmt die Glutaminsäure verschiedene Schlüsselrollen im Zellmetabolismus ein.^[264] Freie Glutaminsäure erzeugt den Umami-Geschmack. Glutamat-Salze (wie *Monosodium glutamate*, MSG) werden vor allem in der asiatischen Küche als Geschmacksverstärker genutzt.^[265]

Glutaminsäure wurde unter anderem als Analyt ausgewählt, da mittels ESI durch zweifache Deprotonierung Dianionen präpariert werden können. Diese Präkursorionen bieten den Vorteil, dass nach einfachem Photodetachment ionische Produkte detektiert werden können. Im folgenden Abschnitt wird das Photodetachment zweifach geladener GLU-Anionen diskutiert. Anschließend werden die chiroptischen Observablen PICD und PECD für die ablaufenden Prozesse bestimmt und verglichen.

Die Resultate der im Folgenden präsentierten Untersuchungen sind in Referenz [240] publiziert worden. Eine Lizenz zur Reproduktion des veröffentlichten Materials im Rahmen dieser Arbeit wurde von JOHN WILEY AND SONS eingeholt.

4.6.1 Massenspektren

Es wurden ESI-Massenspektren von L-Glutaminsäure in einer 1:3-Mischung (v/v) aus Wasser und Methanol in Anwesenheit von 2 eq. Natriumhydroxid aufgezeichnet. Die Resultate im negativen ESI-Modus mit (schwarz) und ohne Lasereinwirkung (rot) sowie das sich daraus ergebende Differenzspektrum (blau) sind in der folgenden Abbildung 4.6.2 dargestellt.

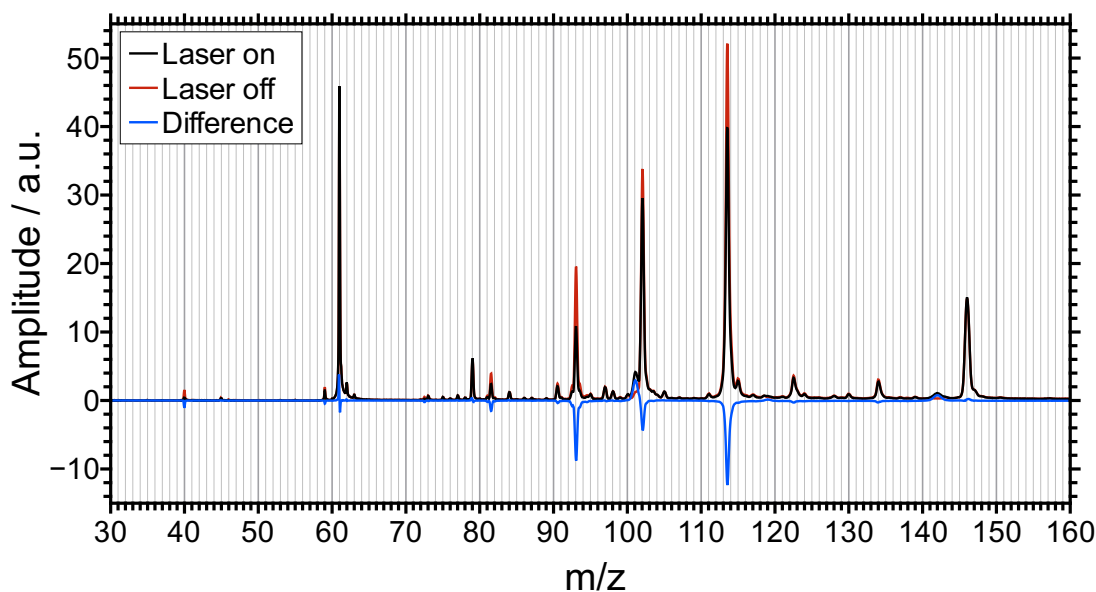


Abbildung 4.6.2: ESI-Massenspektren von $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ L-Glutaminsäure in einer 1:3-Mischung (v/v) aus Wasser und Acetonitril im Anionen-Modus mit (schwarz) und ohne Laser (rot), sowie das durch Photodetachment hervorgerufene Differenzspektrum (blau). Es sind Mittelwerte von LCP- und RCP-Spektren bei einer Pulsenergie von 44 mJ dargestellt, welche im Rahmen von Referenz [240] veröffentlicht wurden.

Die Massenspektren der L-Glutaminsäure offenbaren eine Vielzahl verschiedener Signale. Vorschläge zur Identifizierung der zugehörigen ionischen Spezies sind in Tabelle 4.6.1 zu finden.

Im niederen m/z -Bereich sind Signale von deprotoniertem Acetonitril ($m/z = 40$) sowie Hydrogencarbonat ($m/z = 61$) zu beobachten. Das Signal mit dem höchsten zu beobachteten m/z -Verhältnis von 146 gehört zur einfach deprotonierten Glutaminsäure $[\text{M-H}]^-$. Die zweifach deprotonierte Glutaminsäure $[\text{M-2H}]^{2-}$ ist bei $m/z = 72.5$ zu erwarten, wird jedoch nur mit sehr geringer Intensität detektiert. In einem deutlich größeren Ausmaß können mit m/z -Verhältnissen von 81.5, 90.5, 93, 102, 113.5, 122.5 und 134

Tabelle 4.6.1: Vorgeschlagene Signalzuordnung im ESI-Massenspektrum von GLU.

m/z	Ion
40	$[\text{CH}_2\text{CN}]^-$
61	$[\text{HCO}_3]^-$
72.5	$[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$
81.5	$[(\text{M}-2\text{H})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$
90.5	$[(\text{M}-2\text{H})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2-}$
93	$[(\text{M}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{CN})]^{2-}$
101	$[\text{M}-2\text{H}-\text{CO}_2]^{\bullet-}$
102	$[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, $[(\text{M}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{CN})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$
113.5	$[(\text{M}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{CN})_2]^{2-}$
119	$[(\text{M}-2\text{H}-\text{CO}_2)(\text{H}_2\text{O})]^{\bullet-}$
122.5	$[(\text{M}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{CN})_2(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$
134	$[(\text{M}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{CN})_3]^{2-}$
142	$[(\text{M}-2\text{H}-\text{CO}_2)(\text{CH}_3\text{CN})]^{\bullet-}$
146	$[\text{M}-\text{H}]^-$

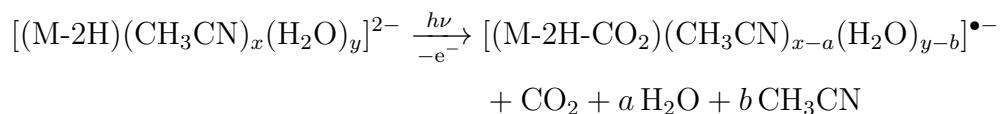
unterschiedlich solvatisierte Formen des Dianions $[(\text{M}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{CN})_x(\text{H}_2\text{O})_y]^{2-}$ nachgewiesen werden. Bei einem m/z-Verhältnis von 102 könnte zudem das einfach geladene, decarboxylierte Ion $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ auftreten.

Unter Lasereinwirkung können verschiedene Veränderungen des Massenspektrums beobachtet werden. Die GLU-Dianionen $[(\text{M}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{CN})_x(\text{H}_2\text{O})_y]^{2-}$, z. B. bei m/z = 93, 102 und 113.5, zeigen eine merkliche Signalverarmung. Das Ausmaß der relativen Signalabnahme bzw. der Photodetachmentquerschnitte hängt dabei von der jeweiligen Solvathülle ab. Mit steigender Anzahl der angelagerten Lösungsmittelmoleküle werden die Dianionen stabiler gegenüber dem Photodetachment. Dies zeigt z. B. der Vergleich der relativen Verarmung von Anionen mit einem bzw. zwei Acetonitril-Molekülen (m/z = 93 vs. 113.5).

Weiterhin treten zwei neue Signale bei m/z = 119 sowie m/z = 142 auf und das schwache Signal bei m/z = 101 wird intensiver. Diese drei zunehmenden Signale können decarboxylierten, radikalischen GLU-Monoanionen $[(\text{M}-2\text{H}-\text{CO}_2)(\text{CH}_3\text{CN})_x(\text{H}_2\text{O})_y]^{\bullet-}$ zugeordnet werden. Das Monoanion $[\text{M}-\text{H}]^-$ mit einem m/z-Verhältnis von 146 zeigt keine signifikante Ausbeuteveränderung.

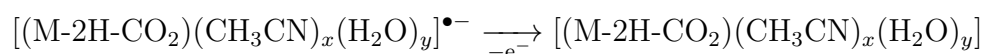
Die geschilderten Beobachtungen deuten auf den Ablauf eines dissoziativen Photodetach-

ment-Prozesses hin, wie er nachfolgend gezeigt ist:



Durch das Herauslösen eines Elektrons kommt es zu einer CO₂-Abspaltung. Weiterhin können auch angelagerte Lösungsmittelmoleküle abgelöst werden. Entsprechend den in Abschnitt 4.3.3 präsentierten Daten der Laserleistungsabhängigkeit von Ionen- und Elektronenausbeuten handelt es sich bei dem dissoziativen Photodetachment um einen Einphotonen-Prozess.

Ein Vergleich der Signalverarmung (negative Differenzen) und Signalzunahme (positive Differenzen) in Abbildung 4.6.2 zeigt, dass mehr Ionen vernichtet als neue ionische Produkte gebildet werden. Dies weist auf einen möglichen Verlust eines weiteren Elektrons der im Photodetachment erzeugten Radikalanionen hin:

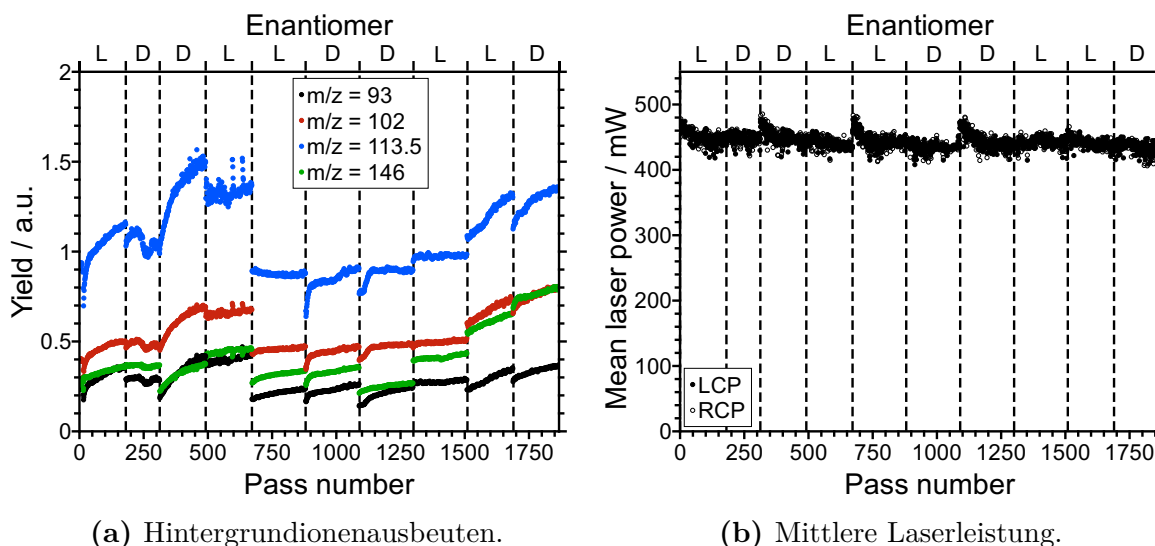


Ein derartiges Autodetachment führt zur Emission von Elektronen mit kinetischen Energien nahe 0 eV. Solches Verhalten wurde für das Photodetachment von GLU-Dianionen von DENG et al. theoretisch vorhergesagt und experimentell mittels Photoelektronenspektroskopie (PES) bestätigt.^[246]

Der Circulardichroismus im Photodetachment solvatisierter Dianionen der Glutaminsäure wird im Folgenden zunächst in totalen, d. h. über den gesamten Raum integrierten, Ausbeuten diskutiert. Als Observablen können dabei aufgrund des zweifach-geladenen Charakters der Präkursoranionen neben deren Signalverarmung und der Anzahl emittierter Photoelektronen auch die Ausbeuten gebildeter radikalischer Monoanionen dienen.

4.6.2 PICD in Ionenausbeuten

In diesem Abschnitt wird der massenaufgelöste PICD im Photodetachment von solvatisierten GLU-Dianionen diskutiert. Es wurden 958 *passes* mit L-GLU und 909 *passes* mit D-GLU als Analyt gemessen. Dies entspricht einer Gesamtzahl von etwa 1.1 Millionen Laserschüssen. In Abbildung 4.6.3 sind die Hintergrundionenausbeuten ohne Lasereinwirkung und die mittlere Laserleistung im Verlauf der einzelnen *passes* aufgetragen. Die verwendeten Messbedingungen können Tabelle 8.2.7 im Anhang dieser Arbeit entnommen werden.



(a) Hintergrundionenausbeuten.

(b) Mittlere Laserleistung.

Abbildung 4.6.3: Hintergrundionenausbeuten ausgewählter Anionen von L- bzw. D-GLU (links) sowie mittlere Laserleistung (rechts) für alle gemessenen *passes*. Vertikale, gestrichelte Linien markieren einen Probenwechsel zwischen *runs*.

In Grafik 4.6.3(a) sind die Ionenausbeuten von drei ausgewählten solvatisierten GLU-Dianionen mit m/z -Verhältnissen von 93, 102 und 113.5 (schwarz, rot bzw. blau) neben den Ausbeuten des Monoanions $[M-H]^-$ bei $m/z = 146$ (grün) dargestellt. Die detektierten Ausbeuten variieren systematisch innerhalb der verschiedenen *runs*. In den meisten Fällen kann ein Anstieg des ESI-Signals im Laufe der Messzeit beobachtet werden. Auch zwischen den einzelnen *runs* bzw. beim Probenwechsel (gestrichelte Linien) sind Variationen der Ionenausbeuten festzustellen. Beim Blick auf die mittlere Laserleistung (Abb. 4.6.3(b)) zeigt sich, dass diese vergleichsweise konstant ist. Jedoch können auch hier geringfügige gerichtete sowie ungerichtete Variationen beobachtet werden.

Da beide diskutierten Größen relevant für das zu messende Ausmaß des Photodetachments sind, ist eine Berücksichtigung der Präkursorausbeute sowie Laserleistung zur Erhöhung der Messgenauigkeit sowie zur Kompensation von systematischen Fehlern sinnvoll. Im Falle des DOPA wurden bereits verschiedene Ansätze zur Berechnung des PICD für eine Signalverarmung vorgestellt. Diese werden auch hier zur Bestimmung des Circular dichroismus in der Signalverarmung von GLU-Dianionen angewendet.

Durch den im Vergleich zum DOPA höheren Ladungszustand der GLU-Präkursorionen können gemäß den Ausführungen im letzten Abschnitt auch ionische Produkte erfasst werden. Dies erlaubt die massenaufgelöste Untersuchung des PICD im Signalanstieg von ausgewählten Monoanionen. Erscheinen die neu gebildeten Radikale in m/z -Bereichen

ohne Hintergrundsignale, wie hier z. B. das $[(M-2H-CO_2)(CH_3CN)]^{\bullet-}$ -Ion bei $m/z = 142$, so kann der PICD im Photodetachment analog zum konventionellen Photoionisations-Ansatz hintergrundfrei bestimmt werden. Allerdings bietet die Nutzung von ionischen statt neutralen Präkursorspezies den zusätzlichen Vorteil, dass die Präkursormenge präzise erfasst und berücksichtigt werden kann. Das heißt auch für die Betrachtung der radikalischen Produkte kann der PICD anhand normierter Ausbeuten berechnet werden. Um eine Normierung auf Integrale der Präkursorionen vornehmen zu können, müssen diese jedoch zunächst identifiziert werden.

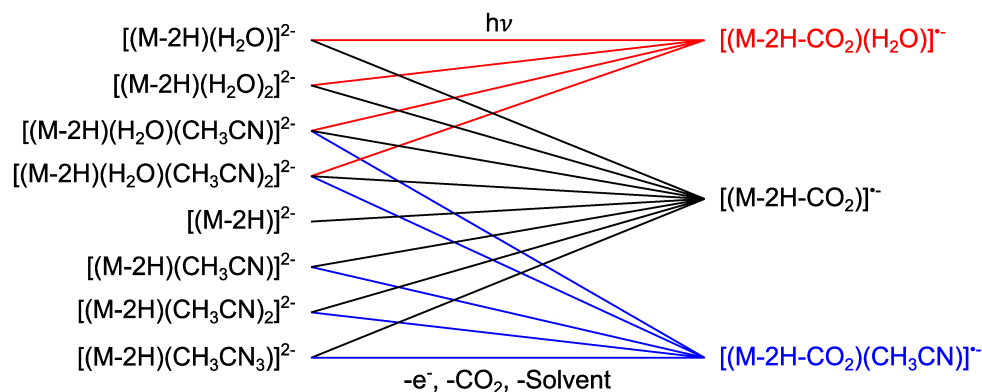


Abbildung 4.6.4: Übersicht der Zuordnung von möglichen Präkursorionen zu verschiedenen Produktionen.

Im Falle des Photodetachments von solvatisierten Glutaminsäure-Dianionen konnten drei decarboxylierte, radikalische Produkte nachgewiesen werden. Neben dem unsolvatisierten Ion $[(M-2H-CO_2)]^{\bullet-}$ ($m/z = 101$) entstehen Lösungsmitteladdukte mit Wasser $[(M-2H-CO_2)(H_2O)]^{\bullet-}$ ($m/z = 119$) und Acetonitril $[(M-2H-CO_2)(CH_3CN)]^{\bullet-}$ ($m/z = 142$). Unter der Annahme, dass im Hochvakuum kein intermolekularer Lösungsmitteltransfer stattfindet, können für die beiden Addukte einige der solvatisierten Dianionen als Vorläufer ausgeschlossen werden. Dies ist in Abbildung 4.6.4 illustriert. Für die nachfolgend präsentierten Normierungen wurden die summierten Ausbeuten aller jeweiligen Vorgängerionen verwendet. Eine ebenfalls denkbare Normierung auf die Gesamtionenausbeute aller Spezies wurde nicht genutzt, da Veränderungen der relativen Intensitätsverteilung im Massenspektrum nicht berücksichtigt werden.

In Abbildung 4.6.5 sind normierte Ionenausbeuten ausgewählter Spezies für alle *passes* dargestellt. Links (Abb. 4.6.5(a)) ist ein Beispiel für ein abnehmendes Signal ($m/z = 113.5$) gezeigt und rechts (Abb. 4.6.5(b)) werden die Resultate für ein im Rahmen des Photodetachments ansteigendes Signal ($m/z = 142$) dargestellt.

Die absolute Ausbeutedifferenz des Signals mit $m/z = 113.5$ durch Photodetachment

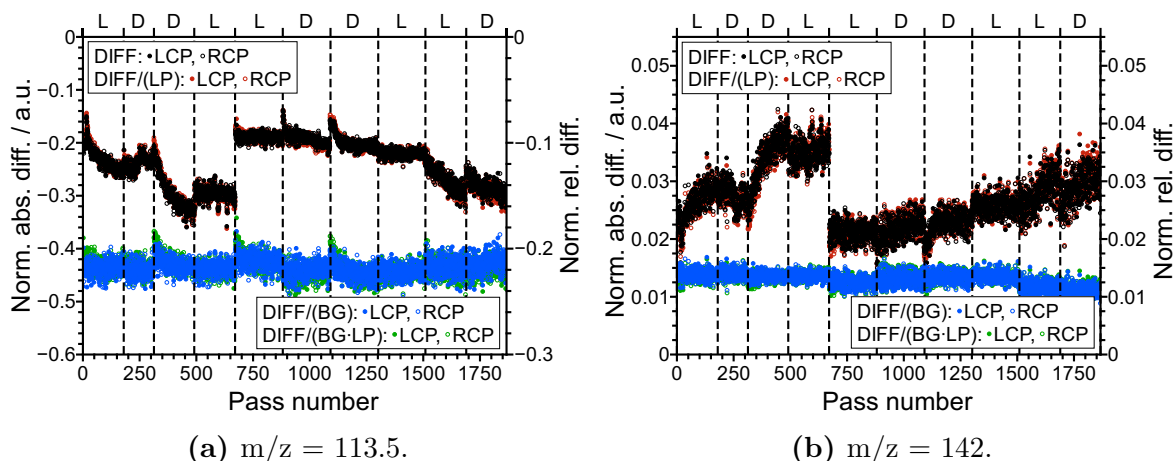
(a) $m/z = 113.5$.(b) $m/z = 142$.

Abbildung 4.6.5: Normierte Ionenausbeutedifferenzen für ein verarmtes ($m/z = 113.5$) und entstehendes Signal ($m/z = 142$) beim Photodetachment von L- bzw. D-GLU-Anionen für alle gemessenen *passes*. Die zur Normierung verwendeten Laserleistungen wurden auf einen Mittelwert von eins skaliert. Vertikale, gestrichelte Linien markieren Probenwechsel zwischen *runs*.

(DIFF in Abb. 4.6.5(a)) variiert entsprechend der Präkursorionenmenge (vgl. Abb. 4.6.3). Durch Normierung auf die Hintergrundausbete wird eine über alle *passes* nahezu konstante relative Differenz DIFF/BG von -22% erhalten. Der Einfluss einer zusätzlichen Normierung auf die Laserleistung DIFF/(BG·LP) kann als vergleichsweise gering bewertet werden. Eine signifikante Reduzierung der Streuung der Messwerte ist nicht erkenntlich. Auch kann eine Kompensation der Unstetigkeiten zu Beginn einzelner *runs* (siehe z. B. $pass \geq 313$), welche entsprechend Abbildung 4.6.3(b) durch das Warmlaufen des Lasers zustande kommen, nicht nachgewiesen werden. Im Gegenteil, es wird eine zusätzliche Abnahme der ohnehin geringeren Differenzbeträge durch die Normierung beobachtet. Dies deutet auf weitere zeitabhängige Equilibrierungseffekte zu Beginn einer Messreihe hin, welche durch eine Erfassung der mittleren Laserleistung nicht berücksichtigt werden können.

Die durch den Signalanstieg beim Photodetachment für ein m/z -Verhältnis von 142 zu beobachtende positive Differenz (Abb. 4.6.5(b), DIFF) weist ebenfalls eine Korrelation mit der Hintergrund-Signalintensität der ESI-Quelle auf (vgl. Abb. 4.6.3). Gemäß den obigen Ausführungen werden bei einer Normierung für das Ion $[(M-2H-CO_2)(CH_3CN)]^{\bullet-}$ alle Dianionen, welche ein Acetonitril-Molekül angelagert haben, als mögliche Eduktspezies berücksichtigt. Das Ergebnis ist wiederum eine vergleichsweise konstante normierte Ausbeute (DIFF/BG). Auch in diesem Beispiel sind die Einflüsse einer Normierung auf

die mittlere Laserleistung sehr gering.

Aus den für LCP- und RCP-Laserpulse erhaltenen Ausbeuten wurden mit Hilfe der Software *PICD-Analysis.vi* unter den Einstellungen aus Tabelle 8.2.8 gemäß der vorgestellten Normierungsansätze PICD-Werte bestimmt. Exemplarisch sind in Abbildung 4.6.6 die Resultate für die bereits zuvor diskutierten Ionen mit m/z -Verhältnissen von 113.5 und 142 dargestellt. In Tabelle 4.6.2 sind diese und weitere PICD-Werte in numerischer Form aufgelistet.

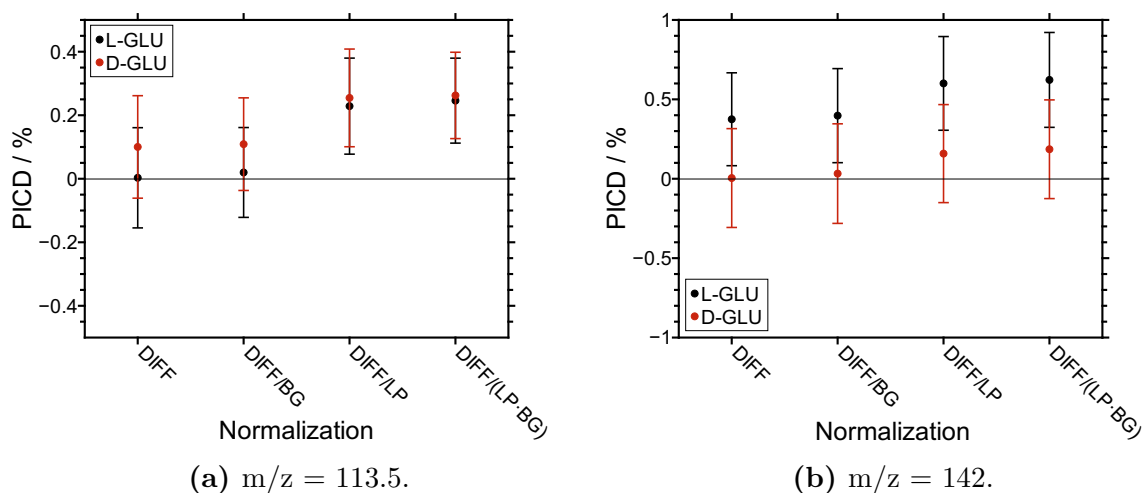


Abbildung 4.6.6: Durch verschiedene Normierungsansätze erhaltene PICD-Werte für zwei ausgewählte Ionenspezies von L- und D-GLU.

Für alle bestimmten PICD-Werte ist im Rahmen der Standardfehler des Experimentes keine Unterscheidung zwischen den beiden Enantiomeren der Glutaminsäure möglich.

Im Folgenden sollen anhand der gezeigten Beispiele des verarmten Signals mit $m/z = 113.5$ und des ansteigenden Signals mit $m/z = 142$ die Vor- und Nachteile der verschiedenen Normierungsansätze eruiert werden.

Der Einfluss einer Normierung der Ionenausbeutendifferenzen auf den ESI-Signalthintergrund (DIFF/BG) ist verglichen mit PICD-Werten, welche anhand von absoluten Ausbeutendifferenzen (DIFF) bestimmt wurden, sehr gering. Lediglich Änderungen in der Größenordnung von 10^{-2} % können für Mittelwerte und Standardfehler des PICD festgestellt werden. Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit den DOPA-Resultaten und bekräftigt die aufgestellte Hypothese, dass der Großteil der systematischen Fehler, welche durch unerwünschte Variationen des ESI-Hintergrundes zwischen LCP- und RCP-Teilmessungen entstehen, bereits durch den häufigen Wechsel zwischen den beiden Polarisationszuständen und eine alternierende Messreihenfolge erfasst wird.

Bei einer Normierung auf die hinter der Apparatur gemessene mittlere Laserleistung kann ein konstanter Verschiebung zu positiveren PICD-Werten beobachtet werden, da im Mittel höhere RCP-Leistungen aufgezeichnet wurden. Im Falle von D-GLU fällt die Erhöhung des PICD etwas geringer als für L-GLU aus. Diese Veränderungen haben eine zunehmende Abweichung vom Nullwert zur Folge. Vorliegende instrumentelle Asymmetrien werden also auch in diesem Fall (vgl. DOPA) durch die Normierungen nicht kompensiert.

Eine signifikante Reduzierung der Fehlerbalken bzw. Standardfehler durch die verschiedenen Normierungsansätze ist ebenso nicht festzustellen. Insgesamt können keine wesentlichen Vorteile der Einbeziehung von Präkursorionenausbeute und Laserleistung für den hier vorgestellten Fall nachgewiesen werden.

In Abbildung 4.6.7 sind neben den bereits diskutierten Beispielen die PICD-Werte für weitere Ionen in Abhängigkeit des m/z -Verhältnisses gezeigt. Die linke Grafik 4.6.7(a) zeigt PICD-Werte, welche direkt anhand der Ausbeutedifferenzen berechnet wurden. Rechts in Grafik 4.6.7(b) sind wiederum vergleichend die Resultate für eine Normierung auf Laserleistung und ionischen Hintergrund zu sehen ($\text{DIFF}/(\text{BG}\cdot\text{LP})$).

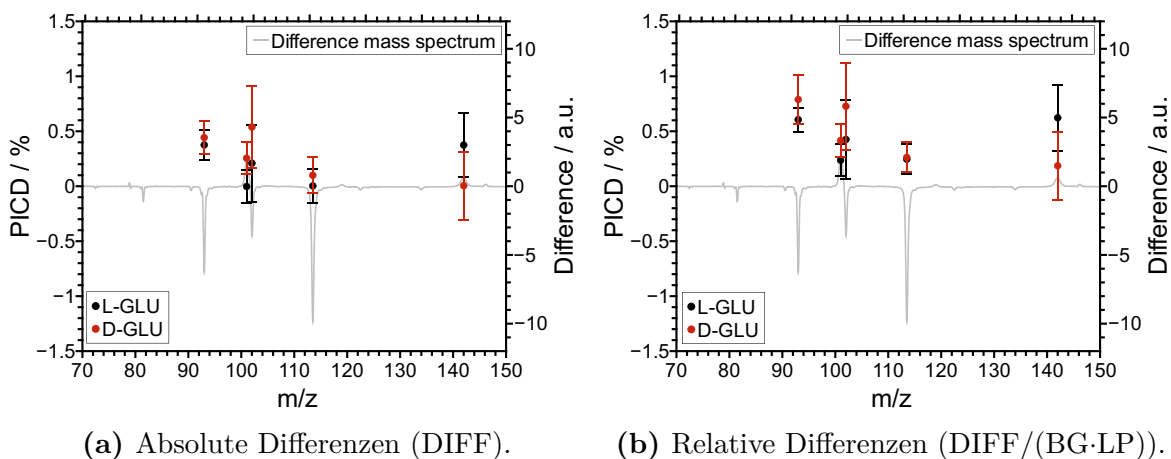


Abbildung 4.6.7: PICD-Werte verschiedener Anionen von L- und D-GLU für zwei ausgewählte Normierungsansätze.

Für beide Normierungsansätze ergibt sich ein ähnliches Bild. Für vier Ionen ($m/z = 93, 101, 102$ und 113.5) werden positivere Mittelwerte des PICD von D-GLU erhalten, während für ein Ion ($m/z = 142$) der gegenteilige Fall auftritt. Für keinen der genannten Fälle kann jedoch im Rahmen der Standardfehler eine Differenzierung der GLU-Enantiomere anhand des PICD-Wertes vorgenommen werden. Weitere Ionen wurden aufgrund der vergleichsweise geringen Differenzausbeuten nicht betrachtet. Die kleinsten Unsicherheiten

ten werden für Signalverarmung bei $m/z = 93$ und 113.5 erhalten, da hier die größten Differenzen bei Lasereinwirkung auftreten.

Tabelle 4.6.2: Massenaufgelöste PICD-Werte des Photodetachments von L- und D-GLU-Anionen für verschiedene Normierungsansätze.

Normierung	m/z	PICD	
		L-GLU	D-GLU
DIFF	93	+0.38 % \pm 0.14 %	+0.44 % \pm 0.15 %
	101	+0.00 % \pm 0.15 %	+0.25 % \pm 0.15 %
	102	+0.21 % \pm 0.35 %	+0.54 % \pm 0.37 %
	113.5	+0.00 % \pm 0.16 %	+0.10 % \pm 0.16 %
	142	+0.37 % \pm 0.29 %	+0.00 % \pm 0.31 %
DIFF/BG	93	+0.38 % \pm 0.11 %	+0.45 % \pm 0.12 %
	101	+0.01 % \pm 0.15 %	+0.26 % \pm 0.15 %
	102	+0.21 % \pm 0.37 %	+0.58 % \pm 0.40 %
	113.5	+0.02 % \pm 0.14 %	+0.11 % \pm 0.15 %
	142	+0.40 % \pm 0.30 %	+0.03 % \pm 0.31 %
DIFF/LP	93	+0.61 % \pm 0.14 %	+0.60 % \pm 0.14 %
	101	+0.22 % \pm 0.15 %	+0.41 % \pm 0.15 %
	102	+0.43 % \pm 0.34 %	+0.68 % \pm 0.37 %
	113.5	+0.23 % \pm 0.15 %	+0.25 % \pm 0.15 %
	142	+0.60 % \pm 0.30 %	+0.16 % \pm 0.31 %
DIFF/(BG·LP)	93	+0.61 % \pm 0.11 %	+0.60 % \pm 0.12 %
	101	+0.24 % \pm 0.15 %	+0.41 % \pm 0.15 %
	102	+0.43 % \pm 0.36 %	+0.73 % \pm 0.40 %
	113.5	+0.25 % \pm 0.14 %	+0.26 % \pm 0.14 %
	142	+0.62 % \pm 0.30 %	+0.19 % \pm 0.31 %

Trotz der aufgrund langer Messzeiten geringen Standardfehler, welche für die beiden genannten Ionen in einem Bereich ≤ 0.16 % liegen, kann kein signifikanter PICD-Effekt beobachtet werden. In der kürzlich veröffentlichten Studie zum PICD von elektrosprayten DNA-Anionen wurden von DALY et al. Anisotropien in Gesamtionenausbeuten von bis zu 2% beschrieben.^[111] Ausbeutedifferenzen in dieser Größenordnung für unterschiedliche Lichthelizitäten könnten mit Hilfe des verwendeten Aufbaus prinzipiell erfasst werden. Die hier untersuchten solvatisierten GLU-Dianionen weisen jedoch bei der gegebenen Wellenlänge von 355 nm keinen hinreichend großen bzw. messbaren PICD auf.

4.6.3 PICD in Elektronenausbeuten

Nachdem im vorherigen Unterkapitel der massenaufgelöste Circular dichroismus in totalen Ionenausbeuten diskutiert wurde, wird nun vergleichend der Circular dichroismus in totalen Elektronenausbeuten betrachtet. Die emittierten Photoelektronen tragen die selben Chiralitätinformationen in ihrer Gesamtausbeute wie die beim Photodetachment simultan gebildeten und vernichteten ionischen Spezies. Im Gegensatz zu Ionen, welche anhand ihrer Masse einen Rückschluss auf das Präkursorteilchen ermöglichen, ist im Falle der Elektronen im verwendeten experimentellen Aufbau keine Sortierung entsprechend des Ursprungszustandes möglich. Das heißt im Folgenden wird die Gesamtheit aller ablaufenden Photodetachmentprozesse betrachtet und ein mittlerer PICD-Wert diskutiert, welcher aus einer gegebenen Präkursorverteilung resultiert.

Zur Messung des PICD in totalen Elektronenausbeuten und des im nachfolgenden Kapitel thematisierten PECD wurden die Photoelektronen auf den zweigeteilten Elektronendetektor projiziert. Die verwendeten Messbedingungen können Tabelle 8.2.10 im Anhang entnommen werden. Da anionische Präkursoren verwendet werden, können diese polaritätsbedingt ebenfalls auf dem besagten Detektor registriert werden. Ein Beispiel für ein typisches Massenspektrum von L-GLU, wie es während Elektronenmessungen erhalten werden kann, ist in Abbildung 4.6.8 gezeigt.

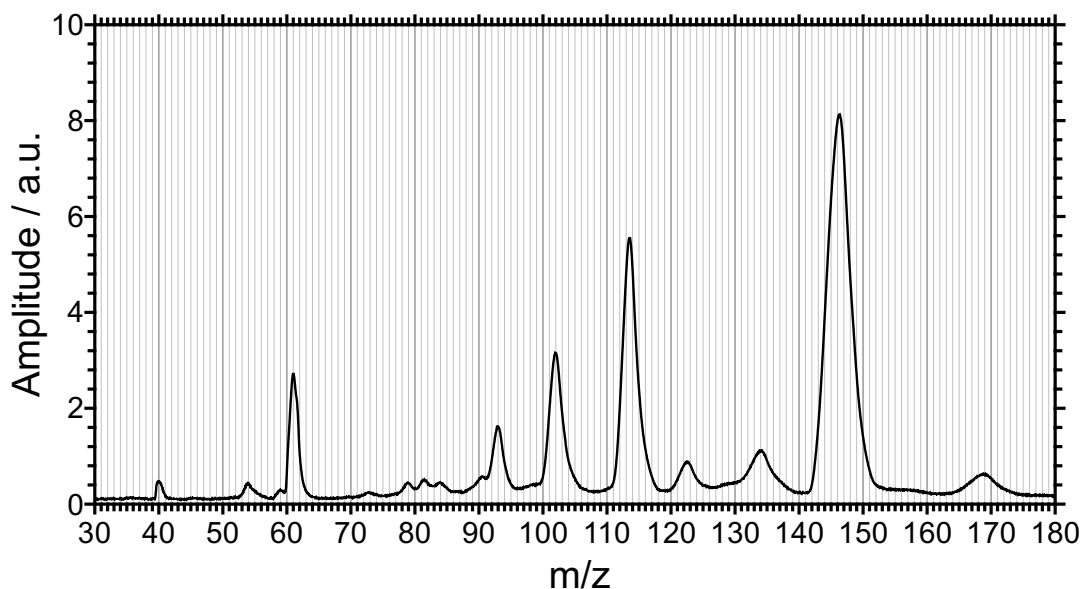


Abbildung 4.6.8: Typisches ESI-Massenspektrum von L-GLU im negativen Modus auf dem Elektronendetektor. Es ist die Summe der beiden Anodensignale ohne Lasereinwirkung dargestellt.

Das Spektrum zeigt die bereits in Abschnitt 4.6.1 diskutierten Signale, weist allerdings aufgrund der kürzeren Flugstrecke eine schlechtere Auflösung auf. Dennoch können einige Spezies voneinander separiert und somit für eine Normierung herangezogen werden.

In Abbildung 4.6.9 sind die im Verlauf der Messung von 799 *passes* und 800 *passes* mit L- bzw. D-GLU erhaltenen Photoelektronenausbeuten, ausgewählte Hintergrundionen- ausbeuten sowie mittlere Laserleistungen aufgetragen.

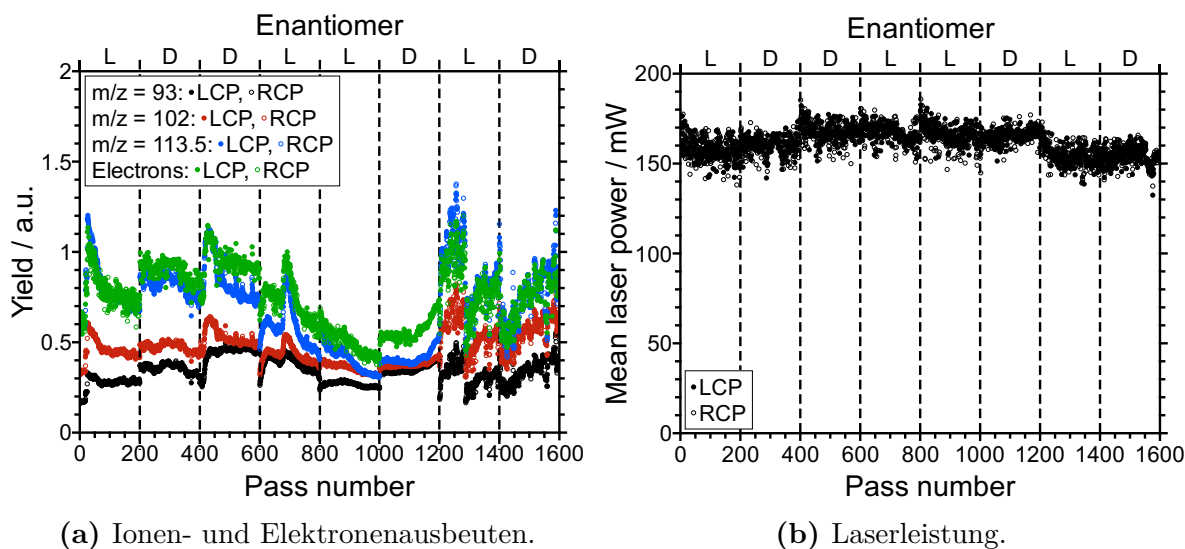
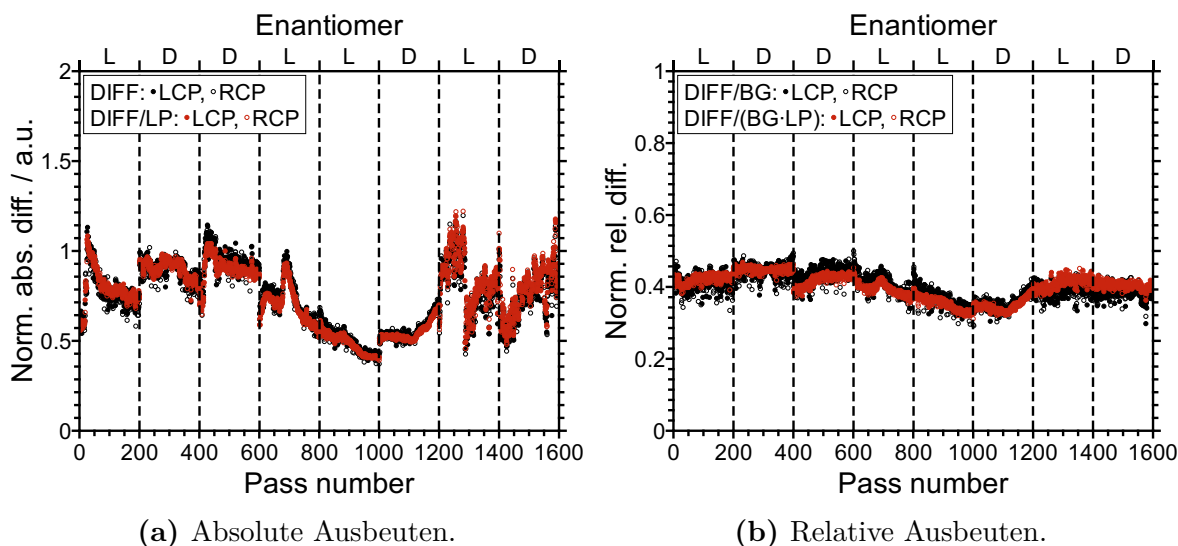


Abbildung 4.6.9: Photoelektronen- und ausgewählte Hintergrundionen- ausbeuten beider GLU-Enantiomere (links) sowie mittlere Laserleistung (rechts) für alle gemessenen *passes*. Vertikale, gestrichelte Linien markieren Probenwechsel zwischen *runs*.

Die präsentierten Daten zeigen bereits zuvor beobachtete Trends: Die von der ESI-Quelle bereitgestellte Präkursorionenmenge kann erheblich zwischen *runs* und innerhalb von *runs* variieren, während die Laserleistung im Messverlauf vergleichsweise konstant bleibt. In Analogie zu den bereits präsentierten PICD-Auswertungen kann auch in diesem Fall eine Normierung des Nutzsignales (DIFF) auf die Präkursorionenmenge und/oder mittlere Laserleistung erfolgen. Als Präkursorausbeute wurde die Summe der Integrale von Signalen bei m/z -Verhältnissen von 93, 102, 113.5, 122.5 und 134 verwendet. Die Resultate aller *passes* sind in Abbildung 4.6.10 dargestellt.

Auch hier zeigen sich ähnliche Trends wie in den zuvor diskutierten Datensätzen. Die relative Differenz (DIFF/BG) ist verglichen mit der absoluten Differenz (DIFF) deutlich konstanter über den gesamten Messverlauf. Jedoch ist im vorliegenden Beispiel immer noch eine gewisse systematische Variation bzw. Abhängigkeit vom ESI-Hintergrund zu erkennen. Dieses Verhalten kann durch Änderungen der Präkursor-Verteilung erklärt



(a) Absolute Ausbeuten.

(b) Relative Ausbeuten.

Abbildung 4.6.10: Normierte Elektronenausbeutedifferenzen für alle gemessenen *passes* von L- bzw. D-GLU. Die zur Normierung verwendeten Laserleistungen wurden auf einen Mittelwert von eins skaliert. Vertikale, gestrichelte Linien markieren Probenwechsel zwischen *runs*.

werden. Der verwendete Normierungsansatz berücksichtigt in einer einfachen Summation alle solvatisierten Dianionen ($m/z = 93, 102, 113.5, 122.5$ und 134) in gleicher Weise. Letztere können jedoch unterschiedliche Photodetachment-Querschnitte aufweisen. Um Veränderungen der relativen Intensitätsverteilung im Präkursor-Spektrum korrekt widerzuspiegeln, müsste die Normierung auf Hintergrundionenausbeuten zusätzlich eine Gewichtung entsprechend des jeweiligen Beitrags zum Elektronensignal enthalten. Ein solcher Ansatz kann prinzipiell in der Auswertesoftware implementiert werden, wurde jedoch nicht weiterverfolgt.

Eine Berücksichtigung der mittleren Laserleistung führt zu einer geringeren Streuung der normierten Ausbeuten zwischen den *passes*.

Der PICD kann nun anhand der verschiedenen normierten Elektronenausbeuten für LCP- und RCP-Laserpulse berechnet werden. Um Konsistenz und maximale Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wird dabei wiederum die Differenz von Flugzeitspektren mit und ohne Lasereinwirkung herangezogen, obwohl kein elektronischer Hintergrund ohne Lasereinwirkung vorliegt. Die nach einer Auswertung mit Hilfe des Programmes *PICD-Analysis.vi* unter den in Tabelle 8.2.9 spezifizierten Einstellungen erhaltenen PICD-Werte sind für die verschiedenen Normierungsansätze in Abbildung 4.6.11 aufgetragen und in Tabelle 4.6.3 aufgelistet.

Für eine Berechnung anhand absoluter (DIFF) oder relativer (DIFF/BG) Ausbeutediffe-

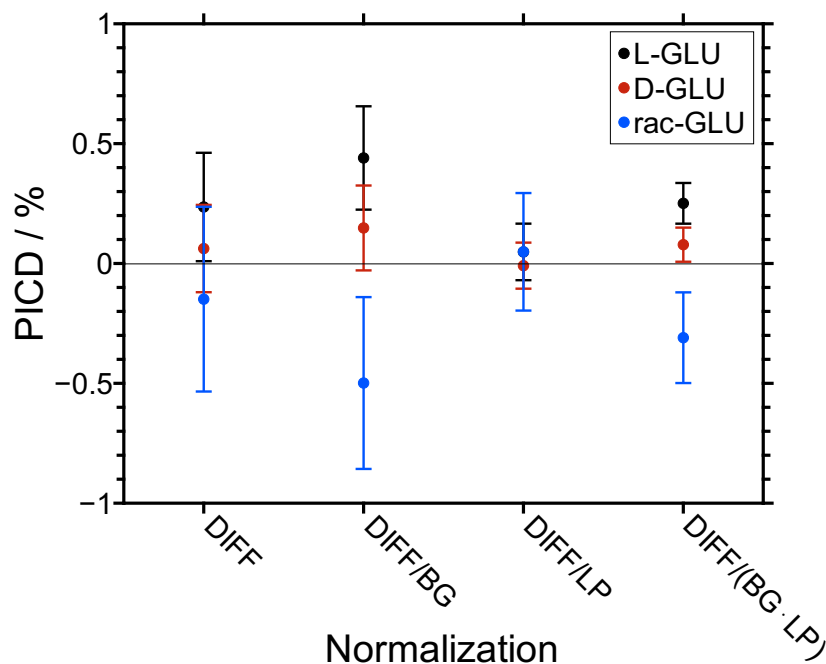


Abbildung 4.6.11: PICD-Werte in totalen Elektronenausbeuten von L-, D- und *rac*-GLU für verschiedene Normierungsansätze.

renzen ist keine Unterscheidung der GLU-Enantiomere anhand eines Circular dichroismus in totalen Elektronenausbeuten (PICD) möglich. Selbiges gilt für eine Normierung der absoluten Elektronenausbeute auf die Laserleistung (DIFF/LP). Dies steht in Übereinstimmung mit den massenaufgelösten PICD-Werten, welche im vorherigen Kapitel in einer Ionenanreicherung sowie -verarmung bestimmt wurden.

Eine gleichzeitige Normierung auf den ionischen Hintergrund und die mittlere Laserleistung (DIFF/BG·LP) führt zu einer Trennung der PICD-Werte der beiden GLU-Enantiomere im Rahmen der Standardfehler. Die minimale PICD-Differenz zwischen L- und D-GLU könnte durch einen sehr gering ausgeprägten CD-Effekt im Photodetachment oder systematische Messfehler zustande kommen.

Zur Überprüfung, ob die beobachtete Differenz der PICD-Werte von L- und D-GLU einem systematischen Messfehler entspringt, wurden Messungen an einem racemischen Gemisch der GLU-Enantiomere durchgeführt. Die resultierenden PICD-Mittelwerte aus 402 *passes* sind ebenfalls in Abbildung 4.6.11 aufgetragen und in Tabelle 4.6.3 aufgeführt. Für die anhand relativer Ausbeuten DIFF/BG und DIFF/(BG·LP) berechneten PICD-Werte zeigen sich hier signifikante Abweichungen zu den Ergebnissen der reinen Enantiomere. Da der PICD des Racemats zwischen den PICD-Werten der D- und L-Aminosäuren

liegen muss, belegt diese Beobachtung die Vermutung von systematischen Abweichungen zwischen *runs* mit unterschiedlichen Analyten. Die Größenordnung der festgestellten künstlichen Anisotropien hat zur Folge, dass keine Unterscheidung der Enantiomere anhand der PICD-Differenz bei einer Normierung auf Laserleistung und Präkursorausbeute möglich ist.

Der PICD ist anfällig für verschiedene systematische Fehler, da die Berechnung anhand von nacheinander mit unterschiedlichen Helizitäten gemessenen Ausbeuten erfolgt. Durch Veränderungen von Präkursorionemengen und/oder Laserleistung zwischen LCP- und RCP-Messungen können artifizielle PICD-Werte erhalten werden. Ebenso ist eine Vergleichbarkeit der beiden Polarisationsellipsen von Bedeutung. Systematische Fehler bzw. apparative Anisotropien zeigen sich im durchgeführten Experiment ebenfalls in Form der fehlenden Vorzeicheninversion des PICD beim Enantiomerenwechsel.

Durch eine Normierung auf die Eduktionenzahl (BG) nimmt die Asymmetrie der PICD-Werte von L- und D-GLU bezüglich des Nullwertes zu, da ein Verschiebung zu positiveren CD-Werten festgestellt werden kann. Eine Berücksichtigung der Laserleistung hingegen hat in diesem Fall eine Reduktion der Nullabweichung zur Folge.

Tabelle 4.6.3: PICD-Werte in totalen Elektronenausbeuten von L-, D- und *rac*-GLU für verschiedene Normierungsansätze.

Normierung	PICD		
	L-GLU	D-GLU	<i>rac</i> -GLU
DIFF	+0.24 % ± 0.23 %	+0.06 % ± 0.18 %	-0.15 % ± 0.39 %
DIFF/BG	+0.44 % ± 0.22 %	+0.15 % ± 0.18 %	-0.50 % ± 0.36 %
DIFF/LP	+0.05 % ± 0.12 %	-0.01 % ± 0.10 %	+0.05 % ± 0.25 %
DIFF/(LP·BG)	+0.25 % ± 0.08 %	+0.08 % ± 0.07 %	-0.31 % ± 0.19 %

Bei einer Normierung auf die parallel erfasste mittlere Laserleistung zeigt sich zudem eine signifikante Reduzierung der Standardfehler. Für die gleiche Anzahl an Datenpunkten wird unter Einbeziehung der Laserleistung eine Halbierung der statistischen Unsicherheit festgestellt. Ein solch ausgeprägter Effekt wurde für Untersuchungen des CD in totalen Ionenausbeuten von DOPA- und GLU-Anionen nicht beobachtet. Dies könnte dem Fakt geschuldet sein, dass hier niedrigere Laserleistungen verwendet wurden. Der verwendete Laser zeigt in diesem Arbeitsbereich größere relative Instabilitäten zwischen *passes* wie ein Vergleich der Abbildungen 4.6.3(b) und 4.6.9(b) offenbart. Durch eine Kompensation der Einflüsse auf die Elektronenausbeuten im Rahmen der Normierung können die

Standardfehler reduziert werden.

Die präsentierten PICD-Werte in Elektronenausbeuten können aufgrund zu kleiner bzw. nicht messbarer Anisotropien und der Anfälligkeit für systematische Fehler bedingt durch apparative Einflüsse nicht zur Enantiomerendifferenzierung herangezogen werden.

4.6.4 PECD

Unter Betrachtung sowohl der massenaufgelösten Ionenausbeuten als auch der totalen Elektronenausbeuten konnte kein Circular dichroismus (PICD) festgestellt werden, welcher eine zuverlässige Differenzierung der Enantiomere der Glutaminsäure erlaubt. Daher wird nun die Photoelektronen-Winkelverteilung betrachtet und eine Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrie entlang der Laserachse untersucht, um eine Unterscheidung der spiegelbildlichen Moleküle über den PECD-Effekt zu ermöglichen.

Zu diesem Zweck sind die Elektronenausbeuten auf den beiden Halbkreisanothen mit Hilfe des Programms *PECD-Analysis.vi* gemäß den in Tabelle 8.2.11 aufgeführten Einstellungen ausgewertet worden. Die erhaltenen PECD-Werte für alle gemessenen *passes* sind in Abbildung 4.6.12 aufgetragen. Es wurden je 799, 800 und 402 Wiederholungsmessungen für L-, D- bzw. *rac*-GLU durchgeführt.

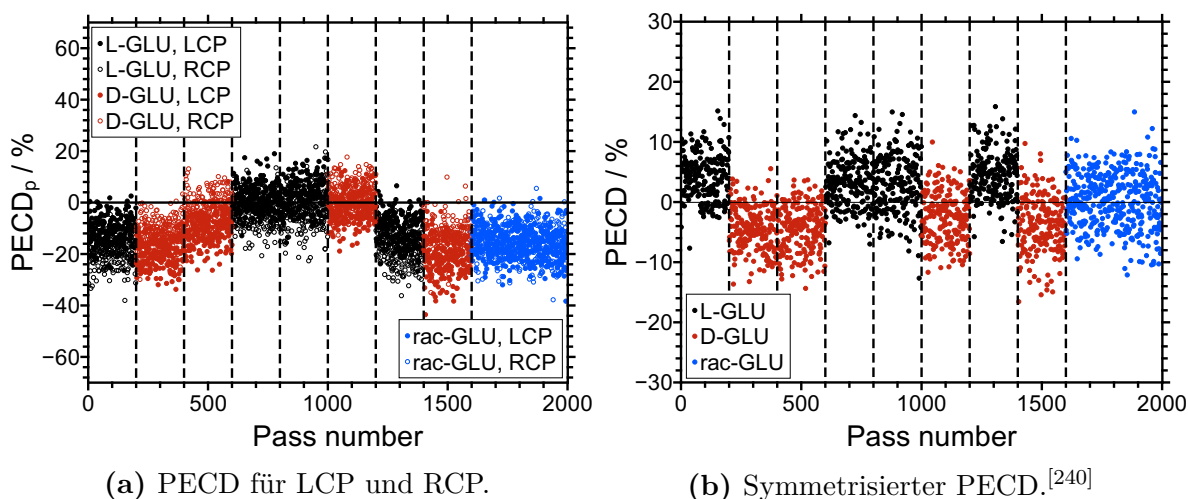


Abbildung 4.6.12: PECD-Werte für das Photodetachment von solvatisierten L-, D- und *rac*-GLU-Dianionen $[(M-2H)(CH_3CN)_x(H_2O)_y]^{2-}$ sowie das Autodetachment gebildeter Radikationen (siehe Abschnitt 4.6.1). Vertikale, gestrichelte Linien deuten einen Probenwechsel zwischen zwei *runs* an.

Links in Abbildung 4.6.12(a) sind die für beide Helizitäten mit den zwei GLU-Enantiomeren sowie einer racemischen Mischung erhaltenen unsymmetrisierten PECD-Werte dargestellt. Rechts in Abbildung 4.6.12(b) ist der daraus folgende symmetrisierte PECD gezeigt.

Für L-GLU (schwarz) wird mit LCP-Laserpulsen (ausgefüllte Symbole) eine Begünstigung der Photoelektronenemission in Vorwärtsrichtung festgestellt. Dies äußert sich in positiveren PECD-Werten verglichen mit RCP-Laserpulsen (leere Symbole). Für D-GLU (rot) wird der umgekehrte Fall beobachtet. Beim Photodetachment mit LCP-Laserpulsen erfolgt eine Verschiebung der Elektronenverteilung auf dem Detektor in Rückwärtsrichtung relativ zum Ergebnis mit RCP-Laserpulsen.

Eine Umkehrung des PECD-Effektes beim Wechsel der absoluten Konfiguration des Analyten ist somit erwartungsgemäß gegeben. In den Rohdaten aus Abbildung 4.6.12(a) ist für verschiedene *runs* allerdings kein ideal inversionssymmetrisches Verhalten des PECD für einen Wechsel der Lichthelizität erkenntlich. Das Elektronenbild wurde bedingt durch apparative Asymmetrien nicht zu jedem Zeitpunkt exakt zentrisch auf den Detektor projiziert. Wie bereits am Beispiel des DOPA gezeigt, ist über eine Ausnutzung der Symmetrieanforderung umgekehrter Helizitäten eine Berücksichtigung der variierenden Abbildungsbedingungen gemäß Gleichung 2.6.19 möglich.

Das Ergebnis der Symmetrisierung ist in Abbildung 4.6.12(b) zu sehen. Beim Vergleich der PECD-Werte einzelner *passes* deutet sich bereits eine Unterscheidbarkeit der Enantiomere an. Durch Mittelwertbildung der präsentierten Wiederholungsmessungen mit L-, D- und *rac*-GLU ergeben sich die in Tabelle 4.6.4 aufgelisteten PECD-Werte.

Tabelle 4.6.4: Mittlere PECD-Werte ausgewählter *runs* für das Photodetachment von solvatisierten L-, D- und *rac*-GLU-Dianionen $[(M-2H)(CH_3CN)_x(H_2O)_y]^{2-}$ sowie das Autodetachment gebildeter Radikationen.

Datensatz	passes	PECD		
		L-GLU	D-GLU	<i>rac</i> -GLU
1	1-400	+4.16 % ± 0.27 %	-4.30 % ± 0.25 %	-
2	401-800	+3.11 % ± 0.27 %	-4.45 % ± 0.26 %	-
3	801-1200	+2.86 % ± 0.34 %	-2.64 % ± 0.29 %	-
4	1201-1599	+4.35 % ± 0.28 %	-3.78 % ± 0.33 %	-
5	1600-2001	-	-	+0.28 % ± 0.23 %
Gesamt ^[240]		+3.62 % ± 0.15 %	-3.79 % ± 0.14 %	+0.28 % ± 0.23 %

L-GLU weist in jedem Datensatz einen positiven PECD auf, während D-GLU stets ne-

gative Werte zeigt. Die Effektstärke liegt dabei im einstelligen Prozentbereich. Der mittlere PECD variiert allerdings zwischen den unterschiedlichen *runs* eines Enantiomers. In mehreren Fällen können signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Messtagen, d. h. Differenzen jenseits der Standardfehler, beobachtet werden. So wird beispielsweise für D-GLU im zweiten Datensatz ein PECD-Wert von $-4.45\% \pm 0.26\%$ erhalten und am nächsten Tag ergibt sich ein deutlich geringerer Wert von nur $-2.64\% \pm 0.29\%$ (dritter Datensatz).

Diese systematischen Abweichungen können vor dem Hintergrund erläutert werden, dass eine Verteilung verschiedener Präkursor-Dianionen $[(M-2H)(CH_3CN)_x(H_2O)_y]^{2-}$ untersucht wurde. Die einzelnen Ionen können basierend auf verschiedenen Solvathüllen unterschiedliche individuelle PECD-Werte aufweisen. Da im durchgeführten Experiment keine Identifikation des Ausgangszustandes anhand von Koinzidenzen oder kinetischen Energien der Elektronen möglich ist, wird stets die mittlere Asymmetrie in der Photoelektronen-Winkelverteilung aller Präkursorspezies bestimmt. Die Präkursor-Verteilung kann trotz vergleichbarer experimenteller Einstellungen des ESI-TOF-MS variieren, wie die folgende Abbildung 4.6.13 zeigt.

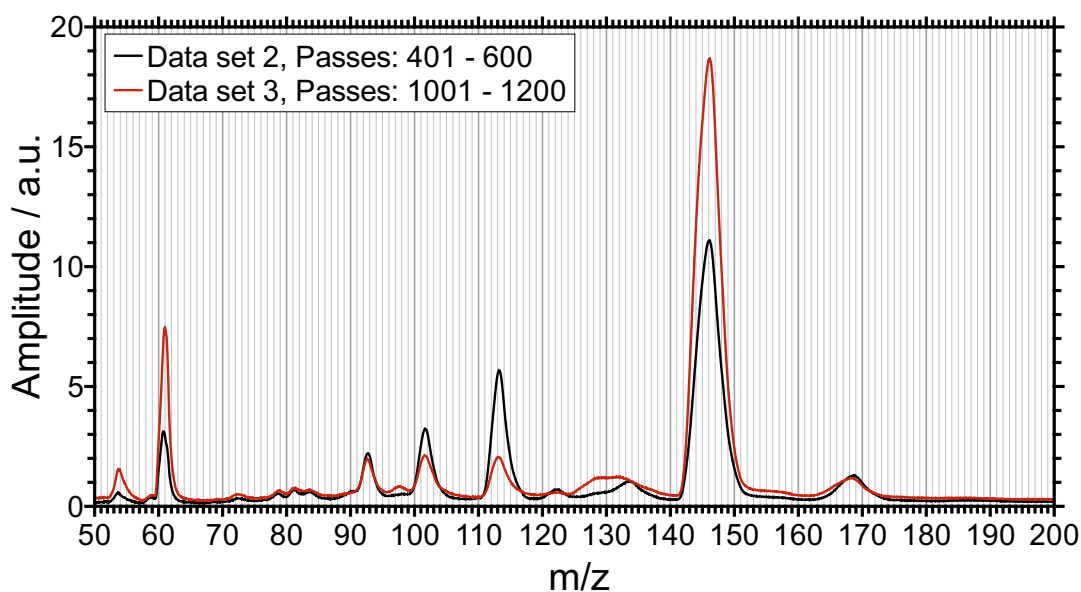


Abbildung 4.6.13: Mittlere Massenspektren von D-GLU auf dem Elektronendetektor an aufeinanderfolgenden Messtagen (Datensatz 2 und 3).

Es sind die während der PECD-Messung aufgezeichneten Massenspektren von D-GLU für zwei ausgewählte Messtage (Datensatz 2 und 3) gezeigt. Wie im zuvor diskutierten Differenzspektrum in Abbildung 4.6.2 erkenntlich, sind die Dianionen $[(M-2H)(CH_3CN)]^{2-}$,

$[(M-2H)(CH_3CN)(H_2O)]^{2-}$ und $[(M-2H)(CH_3CN)_2]^{2-}$ mit m/z -Verhältnissen von 93, 102 bzw. 113.5 die hauptsächlich relevanten Präkursorteilchen für die Freisetzung von Elektronen. Bei einem Vergleich der relativen Intensitätsverteilung dieser drei Dianionen in Abbildung 4.6.13 fällt auf, dass klare Unterschiede zwischen den zwei präsentierten Datensätzen bestehen. Während in einem der gezeigten Beispiele (rot) ähnliche Ionenausbeuten für die verschieden solvatisierten Dianionen erhalten wurden, sind in dem zweiten dargestellten Fall (schwarz) deutliche Ausbeuteunterschiede festzustellen. Diese verschiedenen Präkursor-Verteilungen können zu abweichenden mittleren PECD-Werten führen, da die individuellen PECD-Werte jeweils in unterschiedlichem Ausmaß zum Ergebnis beitragen.

Die Beobachtung deutlicher Veränderungen des PECD-Wertes mit der gleichzeitig erfassten Veränderung der relativen Intensitätsverteilung der ESI-Präkursor suggeriert folglich, dass die verschieden solvatisierten Dianionen der Glutaminsäure in der Tat unterschiedliche PECD-Werte aufweisen. Eine quantitative Untersuchung dieses Verhaltens wäre durch die Ergänzung einer Präkursor-Massenselektion in einem Tandem-MS-Experiment möglich.

Es sollte an dieser Stelle angemerkt werden, dass die beim Autodetachment von GLU-Radikalanionen freiwerdenden Elektronen (siehe Abschnitt 4.6.1) ebenfalls einen Teil der detektierten Elektronenausbeute ausmachen. Ob diese Elektronen noch eine chirale Information in ihrer Winkelverteilung aufweisen oder nur einen konstanten Hintergrund darstellen, kann ohne die Möglichkeit einer selektiven Auswertung dieser Elektronen, z. B. über eine Betrachtung der kinetischen Energie, nicht festgestellt werden.

Die unter Einbeziehung aller Messungen erhaltenen mittleren PECD-Werte für die beiden GLU-Enantiomere sowie eine racemische Mischung sind in der folgenden Grafik 4.6.14 illustriert.

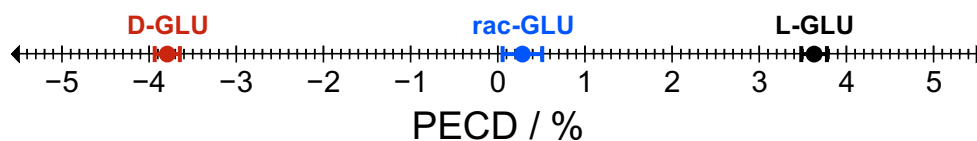


Abbildung 4.6.14: Mittlere PECD-Werte sowie Standardfehler beim Photodetachment von solvatisierten Dianionen $[(M-2H)(CH_3CN)_x(H_2O)_y]^{2-}$ sowie Autodetachment resultierender Radikalanionen für L-, D- und *rac*-GLU. Darstellung von Daten publiziert in Referenz [240].

Für L-GLU wird ein positiver PECD-Wert von $+3.62\% \pm 0.15\%$ erhalten. Im Falle von D-GLU beträgt der mittlere PECD aus allen Einzelmessungen $-3.79\% \pm 0.14\%$.^[240]

Im Rahmen der Standardfehler kann die zu erwartende Vorzeicheninversion beobachtet werden. Für eine netto-achirale Probe, wie racemische Mischungen, ist ein Circular dichroismus von null zu erwarten. Für die im Rahmen dieser Arbeit präparierte racemische Mischung von Glutaminsäure wurde allerdings ein leicht positiver PECD von $0.28 \% \pm 0.23 \%$ erhalten. Ursächlich könnten beispielsweise Einwaageabweichungen oder experimentelle Imperfektionen bei der Elektronenabbildung sein. Insgesamt ist anhand der erhaltenen PECD-Werte eine klare Differenzierung zwischen den Aminosäure-Enantiomeren möglich.

4.6.5 Zusammenfassung

Mit Hilfe des neu entworfenen ESI-TOF-MS wurden beide Enantiomere der Glutaminsäure, einer proteinogenen Aminosäure, untersucht. Zunächst wurde anhand von Differenzmassenspektren der Einfluss von UV-Laserpulsen auf mittels ESI erzeugte Anionen der Glutaminsäure analysiert. Über die Signalverarmung solvatisierter Dianionen sowie Erzeugung decarboxylierter Radikalanionen konnte dissoziatives Photodetachment nachgewiesen werden. Aus einer Diskrepanz der Integrale vernichteter und gebildeter Ionen wurde auf einen sich anschließenden Autodetachment-Prozesses der durch Photodetachment gebildeten Radikalanionen geschlossen. Das Monoanion $[M-H]^-$ zeigte keine Verarmung bei Lasereinwirkung und das unsolvatisierte Dianion $[M-2H]^{2-}$ konnte mit keiner relevanten Intensität detektiert werden. Die mittels Photodetachment emittierten Elektronen entstammen somit einer Verteilung unterschiedlich solvatisierter GLU-Dianionen.

Der Circular dichroismus der Glutaminsäure-Anionen wurde zunächst massenaufgelöst in Ionenausbeuten untersucht. Dabei wurden fünf verschiedene Signale ausgewertet. Zum einen wurden zwei bei Lasereinkopplung ansteigende Signale ($m/z = 101$ und 142) betrachtet. Zum anderen sind drei Signale ($m/z = 93$, 102 und 113.5), welche einen deutliche Verarmung unter Lasereinwirkungen offenbarten, herangezogen worden. Für die durch Photodetachment mit LCP- und RCP-Laserpulsen hervorgerufenen Ausbeutedifferenzen wurde der PICD anhand verschiedener Normierungsansätze berechnet. Im Falle der Untersuchung des PICD in einer Signalminderung wurden die gleichen Ansätze wie für DOPA verfolgt, d. h. eine Berücksichtigung der mittleren Laserleistung und der Hintergrundionenausbeute des jeweils betrachteten Signals. Für ansteigende Signale wurde analog verfahren, allerdings ist die Ausbeutedifferenz in diesem Fall auf die Summe aller möglichen Vorgängerionenausbeuten bezogen worden. Für sämtliche betrachteten Ionen konnte keine Unterscheidung der GLU-Enantiomere anhand des PICD vorgenommen

werden. Die verschiedenen Normierungsansätze zeigten keine nennenswerten Verbesserungen im Hinblick auf systematische oder zufällige Fehler.

Auch über eine Betrachtung der totalen Elektronenausbeuten konnte keine zuverlässige Differenzierung der GLU-Enantiomere erfolgen. Zwar wurde im Falle einer Normierung der Elektronenausbeute auf das Integral relevanter Präkursorionen sowie die mittlere Laserleistung eine über die Standardfehler hinausgehende Differenz der PICD-Werte von L- und D-GLU beobachtet, ein Vergleich mit Messergebnissen einer racemischen Mischung zeigte jedoch, dass diese Differenz in der Größenordnung systematischer Fehler des Experimentes durch apparative Anisotropien liegt. Am Beispiel der Auswertung des PICD in Elektronenausbeuten konnte demonstriert werden, dass eine Normierung auf die mittlere Laserleistung zu einer deutlichen Reduzierung der Standardfehler führen kann.

Die Quantifizierung von Asymmetrien in der Photoelektronen-Winkelverteilung entlang der Laserachse erlaubte eine eindeutige Differenzierung der GLU-Enantiomere.^[240] Für L-, D- und *rac*-GLU wurden PECD-Werte von $+3.62\% \pm 0.15\%$, $-3.79\% \pm 0.14\%$ bzw. $+0.28\% \pm 0.23\%$ erhalten. Ein Vergleich einzelner *runs* an verschiedenen Messtagen offenbarte dabei eine Veränderung des messbaren PECD in Abhängigkeit Präkursor-Verteilung. Diese Erkenntnis suggeriert einen Einfluss der Solvathülle auf den PECD von GLU-Dianionen. Zur Quantifizierung dieser Beobachtung wäre eine massenaufgelöste PECD-Studie verschiedener GLU-Dianionen von Interesse.

Durch chiroptische Untersuchung der Glutaminsäure konnten verschiedene Resultate, welche zuvor anhand von 3,4-Dihydroxyphenylalanin beschrieben wurden, bestätigt werden. Während die Differenzierung von Enantiomeren anhand des PICD in beiden Fällen nicht möglich war, erlaubt der PECD jeweils eine zuverlässige Unterscheidung.

Ein Vergleich der PECD-Werte der beiden untersuchten Aminosäuren zeigt ein umgekehrtes Vorzeichen bei gleicher absoluter Konfiguration. Außerdem ist der detektierte PECD-Effekt im Falle von GLU mit ca. 3.7% kleiner als für DOPA. Ursächlich für diese Unterschiede können die verschiedenen Seitenketten der Aminosäuren, aber auch die unterschiedlichen Ladungs- und Solvatzustände der Präkursorteilchen sein.

Am Beispiel der Glutaminsäure konnte gezeigt werden, dass der PECD auch im Photodetachment mehrfach-geladener und solvatisierter Präkursorpezies messbar ist. Die präsentierten Ergebnisse deuten somit eine allgemeine Anwendbarkeit der neuen ESI-PECD-Methodik an. Diese Hypothese ist allerdings durch die Untersuchung weiterer Substanzklassen noch zu untermauern.

4.7 Chiroptische Untersuchungen von Gramacidin

Nachdem zum ersten Mal der Photoelektronen-Circulardichroismus im Photodetachment von elektrosprayten Mono- beziehungsweise Dianionen zweier Aminosäuren gezeigt werden konnte, soll nun der ESI-PECD-Ansatz von diesen vergleichsweise kleinen Monomereinheiten auf biologische Polymere übertragen werden. Ziel ist es einerseits die prognostizierte Erweiterung des zugänglichen Massenbereiches an einem ausgewählten Beispiel zu demonstrieren und andererseits die Abhängigkeit des PECD von der Sekundär- und Tertiärstruktur biologischer Makromoleküle zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurde Gramacidin als Analyt ausgewählt. Gramacidin stellt eine Mischung aus mehreren strukturell ähnlichen Peptiden dar und kann aus dem *Bacillus Brevis* isoliert werden. Dieser Naturstoff wird in Anlehnung an dessen Entdecker DUBOS^[266] häufig zusätzlich mit dem Buchstaben „D“ bezeichnet. Die allgemeine Primärstruktur ist in Abbildung 4.7.1 gezeigt.

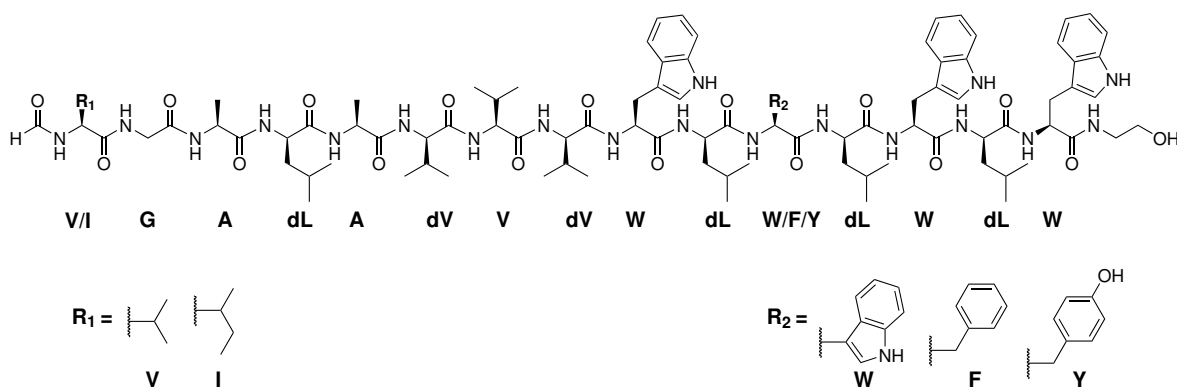


Abbildung 4.7.1: Primärstruktur der Gramacidine mit Einbuchstaben-Codes (V $\hat{=}$ Valin, I $\hat{=}$ Isoleucin, G $\hat{=}$ Glycin, A $\hat{=}$ Alanin, L $\hat{=}$ Leucin, W $\hat{=}$ Tryptophan, F $\hat{=}$ Phenylalanin, Y $\hat{=}$ Tyrosin). D-Aminosäuren sind zudem mit einem „d“ gekennzeichnet.

Es handelt sich um ein lineares Peptid aus insgesamt 15 Aminosäuren. Die Sequenz lautet XGALAVVVWLXLWLW, wobei X einen Platzhalter für Aminosäuren mit variierenden Seitenketten darstellt. In Tabelle 4.7.1 sind die verschiedenen Varianten des Gramacidins nebst ihren Bezeichnungen aufgelistet.

Es kann zwischen drei Hauptvarianten des Gramacidins unterschieden werden. In den mit A, B und C bezeichneten Peptiden treten unterschiedliche aromatische Seitenketten R₂ an Position 11 auf. Mit einem Anteil von ungefähr 80 % wird am häufigsten Tryptophan an dieser Stelle beobachtet. Diese Form wird als Gramacidin A bezeichnet. Aber auch

Tabelle 4.7.1: Bezeichnungen der unterschiedlichen Gramacidin-Varianten mit den Resten R_1 und R_2 (Abb. 4.7.1) sowie typische prozentuale Anteile im Naturprodukt des *Bacillus Brevis*.

Bezeichnung	R_1	R_2	Anteil ¹ / %
A1	L-Valin (V)	L-Tryptophan (W)	80 ^[267]
A2	L-Isoleucin (I)	L-Tryptophan (W)	
B1	L-Valin (V)	L-Phenylalanin (F)	6 ^[267]
B2	L-Isoleucin (I)	L-Phenylalanin (F)	
C1	L-Valin (V)	L-Tyrosin (Y)	14 ^[267]
C2	L-Isoleucin (I)	L-Tyrosin (Y)	

¹ Verteilung kann variieren.

Phenylalanin (Gramacidin B) und Tyrosin (Gramacidin C) treten mit Häufigkeiten in der Größenordnung von 6 % beziehungsweise 14 % auf. Zusätzlich kann in 5 % bis 20 % aller Fälle an Position 1 anstelle von Valin (V) auch Isoleucin (I) nachgewiesen werden.^[268] Diese Modifikation des Alkylrestes R_1 wird durch Anhängen einer 1 (Valin) oder 2 (Isoleucin) an das jeweilige Kürzel des Gramacidins hervorgehoben.

Da Gramacidin ausschließlich aliphatische und aromatische Seitenketten aufweist, handelt es sich um ein ausgesprochen hydrophobes Peptid. Der N-Terminus ist formyliert und der C-Terminus wird durch Ethanolamin geschützt. Eine Besonderheit dieses Naturstoffes ist das Vorkommen von vergleichsweise selten zu beobachtenden D-Aminosäuren. Der alternierende Aufbau von Gramacidin aus D- und L-Aminosäuren hat entscheidende strukturelle Konsequenzen. Durch diesen kommen in einem β -Faltblatt die Seitenketten aller Aminosäuren auf einer Seite zum Liegen. Letzteres führt dazu, dass bei der Anordnung der besagten β -Stränge in einer Helix, einer sogenannten β -Helix, alle Seitenketten nach außen zeigen. Die Abwesenheiten von nach innen gerichteten Seitenketten ermöglicht die Ausbildung von Kanälen, welche dem Transport von Ionen dienen können.

Gramacidin tendiert zur Ausbildung von Dimeren (Abb. 4.7.2). Dabei sind primär zwei verschiedene Strukturtypen relevant, welche als Kanal und Pore bezeichnet werden.^[269] In Lipiddoppelschichten dominiert ein Dimer aus Kopf-zu-Kopf angeordneten rechtsdrehenden Helices (Kanal, Abb. 4.7.2(a)).^[269,270] Gramacidin kann Zellmembranen durchdringen und erlaubt den selektiven Transport von monovalenten Kationen. Da auf diese Weise essenzielle Konzentrations- und Potentialgradienten zerstört werden können, was wiederum den Zelltod zur Folge haben kann, wird Gramacidin als Antibiotikum eingesetzt.^[271]

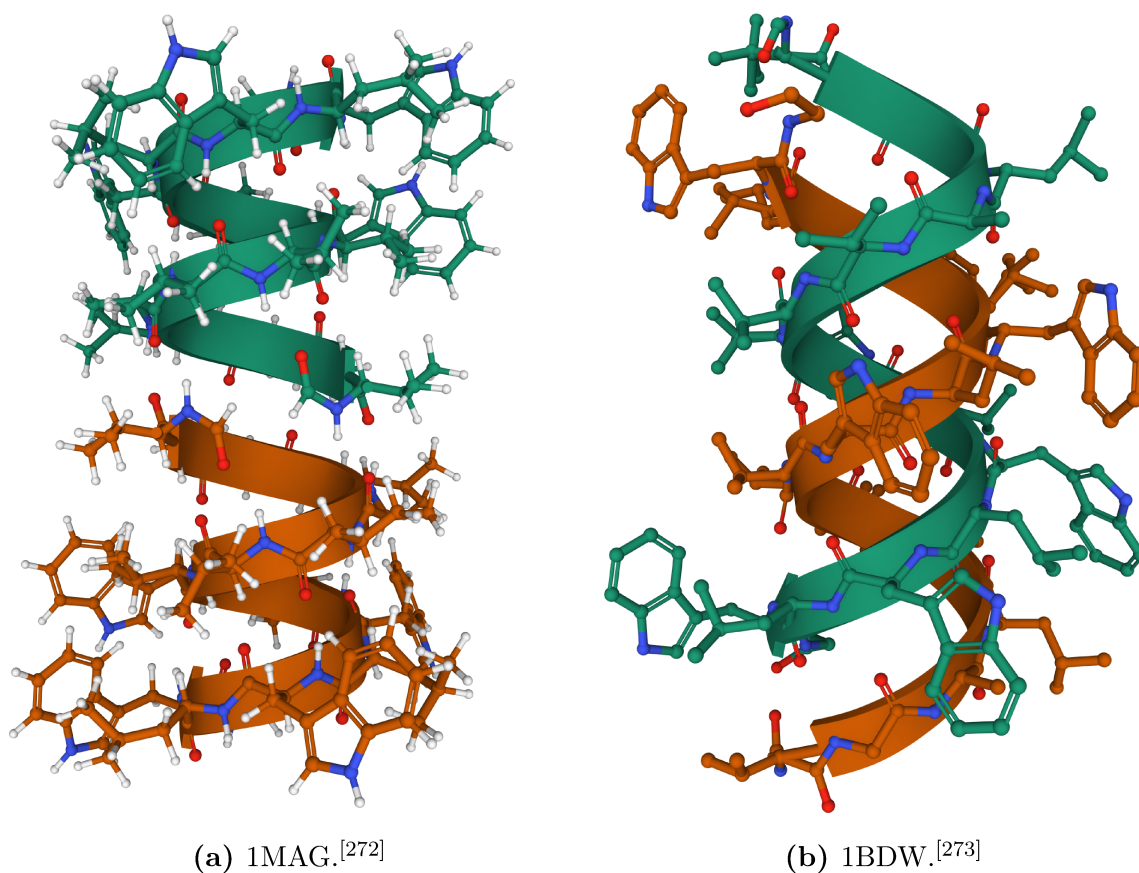


Abbildung 4.7.2: Ausgewählte Konformationen des Gramicidin A aus der RCSB Protein-Datenbank:^[274,275] Ein helikales Dimer wie es mittels Festkörper-NMR in Lipid-Doppelschichten charakterisiert werden konnte (links) sowie eine Doppelhelix-Struktur wie sie in Kristallen mittels Röntgenbeugung beobachtet wurde (rechts).

In organischen Lösungsmitteln wie z. B. diversen Alkoholen wird häufig ein anderes Strukturmotiv, auch Pore genannt, beobachtet.^[269] Hier können parallele und antiparallele Doppelhelices auftreten. Die jeweilige Konformation ist dabei stark abhängig vom Solvent, der Konzentration und der Temperatur wie verschiedene CD- und NMR-Studien offenbarten.^[276–279] Ein Beispiel für diesen Strukturtyp ist in Abbildung 4.7.2(b) zu sehen. Hierbei handelt es sich um einen Ausschnitt einer Kristallstruktur des Gramicidins, wobei vergleichbare Konformationen in Lösung nachgewiesen werden konnten.^[280] In polaren Lösungsmitteln wie beispielsweise Dimethylsulfoxid (DMSO) und 2,2,2-Trifluorethanol (TFE) dominieren Monomere des Gramicidins.^[269,276] Über NMR-spektroskopische Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass diese in einer Random-Coil-Form vorliegen.^[281]

Änderungen der Konformation sind nicht nur in Abhängigkeit des Lösungsmittels zu beobachten, sondern können auch bei der Anlagerung von Alkaliionen, wie z. B. Cs^+ , festgestellt werden.^[282–285]

Die strukturelle Flexibilität des Gramacidins, welche in Lösung beobachtet werden konnte, wurde mittels Molekular-Dynamik-Simulationen (MD) ebenfalls für die Gasphase prognostiziert.^[286] In MD-Simulationen wurde die Tendenz zur Bildung von β -Faltblättern als Sekundärstruktur bestätigt und die Bindung von Alkaliionen untersucht.^[286] In Kombination mit Ionen-Mobilitäts-Spektrometrie konnten strukturelle Veränderungen bei der Anlagerung von Na^+ , K^+ und Cs^+ nachgewiesen werden.^[286] Mittels IR-Spektroskopie wurden Hinweise auf eine helikale Sekundärstruktur für neutrales, gasförmiges Gramacidin erhalten.^[287,288] In ESI(+)-Massenspektren wurden zudem verschiedene Anteile von Hetero- und Homodimeren des Gramacidins in Abhängigkeit des verwendeten Lösungsmittels beobachtet.^[289,290]

Die beschriebene strukturelle Flexibilität macht Gramacidin zu einem hervorragendem Untersuchungsobjekt für den hochgradig struktursensitiven PECD. Nach einer Diskussion der Präparation von Gramacidin-Anionen in der Gasphase sowie deren Photodetachment im folgenden Abschnitt wird anschließend auf die Resultate von PECD-Messungen unterschiedlicher Gramacidinlösungen eingegangen. Zunächst wird die Lösungsmittelabhängigkeit des PECD elektrosprayter Anionen diskutiert. Hierbei stellt sich die interessante Frage, ob ein strukturelles Gedächtnis der isolierten Gasphasenkonformation im Hinblick auf den solvatisierten Ausgangszustand nachgewiesen werden kann. Dann wird der Einfluss der Zugabe von Caesiumhydroxid und der damit verbundenen Bildung von Adduktionen in der Gasphase auf den PECD untersucht. Schließlich werden die erhaltenen PECD-Resultate mit dem Circular dichroismus in totalen Elektronenausbeuten (PICD) verglichen.

4.7.1 Massenspektren

In Abbildung 4.7.3 sind ESI-Massenspektren der Gramacidin-Mixtur (GRA) von SIGMA ALDRICH in einer 20:80-Mischung aus Wasser und Methanol im Anionen-Modus dargestellt. Das Massenspektrum unter Lasereinwirkung ist in Schwarz zu sehen, in Rot ist das ESI-Hintergrundspektrum ohne Lasereinfluss erkenntlich und in Blau wurde die Differenz dieser beiden Kurven aufgetragen.

Es sind zwei Bereiche mit jeweils mehreren Signalen erkenntlich, welche in Abbildung 4.7.3 in Insets hervorgehoben wurden. Im Bereich hoher Massen, d. h. bei m/z -Verhältnissen um 1900, sind mehrere breite Peaks zu beobachten, welche Monoanionen des

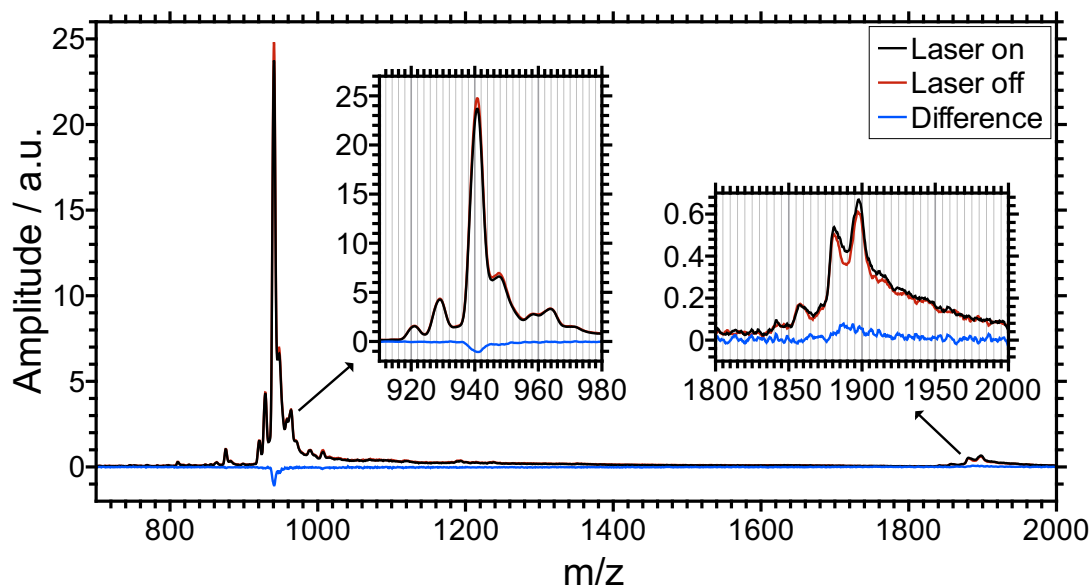


Abbildung 4.7.3: ESI-Massenspektren von 50 mmol L^{-1} Gramicidin in einer 20:80-Mischung aus Wasser und Methanol im Anionen-Modus mit (schwarz) und ohne Laser (rot), sowie das durch Photodetachment hervorgerufene Differenzspektrum (blau). Es wurden RCP-Laserpulse mit einer Pulsenergie von 42 mJ verwendet. Die Daten wurden mittels eines SAVITZKY-GOLAY-Filters^[291] zweiten Grades mit 10 Punkten geglättet.

Gramicidins zugeordnet werden können. Bei m/z -Verhältnissen um 940 werden mehrere intensive Dianionen-Signale erhalten. Die für die Gramicidin-Peptidmischung durch einfache und doppelte Deprotonierung zu erwartenden Anionen mit den zugehörigen m/z -Verhältnissen sind in Tabelle 4.7.2 aufgeführt.

Im Bereich der Dianionen sind Signale der drei verschiedenen Peptidvarianten A, B und C des Gramicidins zu finden. Das Signal mit dem kleinsten m/z -Verhältnis im gezeigten Ausschnitt von 920.5 kann der B1-Variante zugeordnet werden. Der benachbarte Peak mit einem m/z -Verhältnis von 928.5 wird durch Dianionen des C1-Typs hervorgerufen. Die intensivsten Signale bei m/z -Verhältnissen von 940 und 947 entsprechen dem Gramicidin A1 und der Isoleucin-Variante A2. Die relative Intensitätsverteilung der GRA-Dianionensignale im Massenspektrum steht in guter Übereinstimmung mit der Probenzusammensetzung des Antibiotikums gemäß Tabelle 4.7.1: $A \gg C > B$ und $A1 \gg A2$. Die Isoleucin-Varianten B2 und C2 konnten experimentell nicht nachgewiesen werden, da für diese sehr geringe Signalintensitäten zu erwarten sind und eine Überlagerung mit den benachbarten Signalen C1 bzw. A1 die Identifizierung von entsprechenden

Tabelle 4.7.2: Masse-zu-Ladungsverhältnisse (m/z) für verschiedene Mono- und Dianionen von Gramacidin mit verschiedenen Seitenresten R_1 und R_2 (vergleiche Abb. 4.7.1).

m/z	Ion	Bezeichnung	R_1	R_2
920.5	$[M-2H]^{2-}$	B1	L-Valin	L-Phenylalanin
927.5	$[M-2H]^{2-}$	B2	L-Isoleucin	L-Phenylalanin
928.5	$[M-2H]^{2-}$	C1	L-Valin	L-Tyrosin
935.5	$[M-2H]^{2-}$	C2	L-Isoleucin	L-Tyrosin
940	$[M-2H]^{2-}$	A1	L-Valin	L-Tryptophan
947	$[M-2H]^{2-}$	A2	L-Isoleucin	L-Tryptophan
1842	$[M-H]^-$	B1	L-Valin	L-Phenylalanin
1856	$[M-H]^-$	B2	L-Isoleucin	L-Phenylalanin
1858	$[M-H]^-$	C1	L-Valin	L-Tyrosin
1872	$[M-H]^-$	C2	L-Isoleucin	L-Tyrosin
1881	$[M-H]^-$	A1	L-Valin	L-Tryptophan
1895	$[M-H]^-$	A2	L-Isoleucin	L-Tryptophan

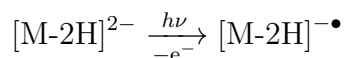
Peaks zusätzlich erschwert.

Bei m/z -Verhältnissen größer als 950 sind weitere einander überlagernde Signale zu beobachten. Hier handelt es sich vermutlich um verschiedene Addukte des Gramacidins mit Lösungsmittelteilchen oder Kationen (z. B. Na^+). Eine zuverlässige Zuordnung ist aufgrund der begrenzten Massenauflösung nicht möglich. Auch bei kleineren m/z -Verhältnissen können weitere wenig intensive Signale beobachtet werden. Diese könnten durch eine Hydrolyse des Gramacidins zustande kommen. So würde das Signal bei $m/z \approx 876.5$ beispielsweise zu einer Spaltung des Gramacidins A1 zwischen den Aminosäuren 1 (Valin) und 2 (Glycin) passen.

Im Bereich der Monoanionen sind in Analogie zum Dianionen-Segment des Massenspektrums wiederum mehrere Signale auszumachen, welche von links nach rechts den Peptiden B1, C1, A1 und A2 entsprechen könnten. Die relative Intensitätsverteilung der Monoanionen, besonders im Hinblick auf die A1- und A2-Anionen, unterscheidet sich jedoch vom zuvor beschriebenen Bild im Bereich der Dianionen. Die höchste Amplitude wird für m/z -Verhältnisse knapp unter 1900 beobachtet. Dieses Verhalten könnte durch das starke Ausschmieren der Signale zu höheren m/z (engl. *Tailing*) bedingt sein.

Unter Einstrahlung von hochenergetischen ns-Laserpulsen mit einer Wellenlänge von 355 nm können Veränderungen der Signalintensitäten des Gramacidins im Massenspektrum festgestellt werden. In der Differenzspur in Abbildung 4.7.3 ist im Bereich der

Dianionen bei m/z -Verhältnissen um 940 eine Signalverarmung erkenntlich, während gleichzeitig ein Signalanstieg für Monoanionen nahe $m/z = 1900$ beobachtet werden kann. Dies spricht für den Ablauf des folgenden Photodetachmentprozesses:



Die Differenzausbeuten von Mono- und Dianionen können in diesem Fall nicht quantitativ verglichen werden, um weitere Rückschlüsse auf sekundäre Prozesse wie ein Autodetachment von Radikalanionen zu ermöglichen, da im aktuellen Aufbau für große m/z -Verhältnisse Diskriminierungseffekte auftreten können.

Unter Betrachtung der Photoelektronenausbeuten in Abhängigkeit der mittleren Laserleistung konnte ein Multiphotonenexponent von 1.2 ermittelt werden (doppellogarithmische Auftragung 8.3.3 im Anhang). Demzufolge skaliert die Photodetachment-Ausbeute näherungsweise linear mit der eingestrahlten Laserpulsenergie und es kann angenommen werden, dass es sich hier um einen Einphotonen-Detachmentprozess handelt.

Das Photodetachment von Gramicidin-Dianionen wurde von MATHEIS et al. mittels Photoelektronenspektroskopie untersucht. Es wurden Hinweise auf eine Konkurrenz von verzögertem und direktem Photodetachment gefunden. Zudem konnten Werte für die zweite Elektronenaffinität von $2.35 \text{ eV} \pm 0.15 \text{ eV}$ und für die repulsive COULOMB-Barriere (RCB) von $0.5 \text{ eV} \pm 0.15 \text{ eV}$ bestimmt werden.^[292] Aus der Höhe der RCB konnte abgeschätzt werden, dass die beiden Ladungen im Gramicidin-Dianion einen Abstand von ungefähr 14 \AA aufweisen müssen. Auf dieser Basis wurde eine helikale Gasphasenstruktur des Dianions mit partieller Entfaltung durch Ladungsabstoßung vorgeschlagen.^[292]

In Anbetracht der ausschließlich aliphatischen und aromatischen Seitenketten des Gramicidins stellt sich die Frage nach der Lokalisierung der beiden Ladungen im Gramicidin. MATHEIS et al. schlugen auf Basis eines Vergleichs des Photodetachment-Spektrums mit berechneten UV-Spektren deprotonierten Tryptophans eine Deprotonierung der Hydroxygruppe des Ethanolamids am C-Terminus sowie am Stickstoff einer Peptid-Bindung vor.^[292] Ein Vergleich mit DFT-Rechnungen an Modellsystemen suggerierte weiterhin, dass das Photodetachment bevorzugt vom Rückgrat des Peptides erfolgt.^[292]

In den folgenden Abschnitten soll nun der PECD für den beschriebenen Photodetachmentvorgang der GRA-Dianionen untersucht werden. Dabei wird zunächst die Abhängigkeit vom Ausgangszustand in Lösung und anschließend der Einfluss des Austausches von Protonen gegen Caesiumionen untersucht.

4.7.2 PECD für verschiedene Lösungsmittel

Gramacidin zeigt in der Flüssigphase bedingt durch seine strukturelle Flexibilität eine starke Abhängigkeit der Konformation vom jeweiligen Lösungsmittel.^[276,277] Für die Elektrosprayionisation wird eine Korrelation der Gasphasen- und Lösungsstrukturen diskutiert.^[92,93] Am Beispiel des Gramacidins konnte in zwei ESI(+)-Studien bereits eine Abhängigkeit der zu detektierenden Gasphasenspezies vom Solvent der Analytlösung nachgewiesen werden. Für die Erzeugung von Kationen aus alkoholischen Lösungen konnten sowohl Homo- als auch Heterodimere beobachtet werden, während in der Anwesenheit von Wasser lediglich Monomere detektiert wurden.^[289,290] Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit untersucht, ob der struktursensitive PECD elektrosprayer Gramacidin-Anionen ebenfalls eine Abhängigkeit von der Lösungsmittelzusammensetzung zeigt.

Als Untersuchungsobjekte wurden – in Anlehnung an die erwähnten Studien – Lösungen von Gramacidin ($c = 50 \mu\text{mol L}^{-1}$) in reinem Methanol und einem 50:50-Gemisch (v/v) aus Methanol und Wasser ausgewählt. Zur Unterstützung der Spraystabilität wurde 1 eq. Natriumhydroxid als Additiv eingesetzt. In Abbildung 4.7.4 ist ein Vergleich der erhaltenen Massenspektren für den Bereich der Gramacidin-Dianionen gezeigt.

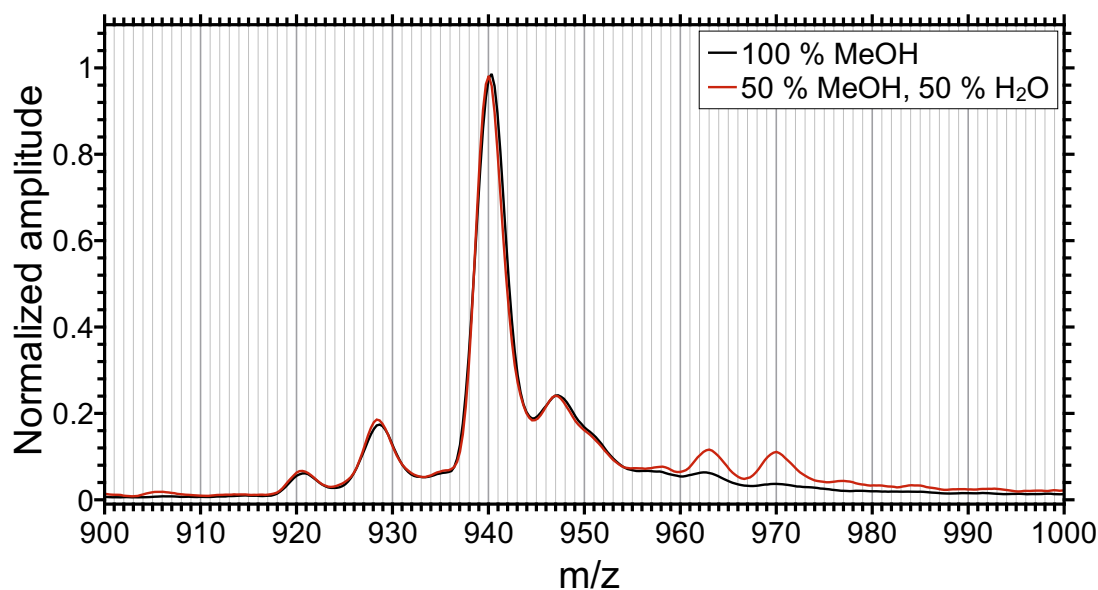


Abbildung 4.7.4: Vergleich des Dianionen-Bereiches der normierten ESI-Massenspektren von Gramacidin ($c = 50 \mu\text{mol L}^{-1}$) in unterschiedlichen Lösungsmittelzusammensetzungen.

In Schwarz ist das Massenspektrum des Gramacidins in reinem Methanol gezeigt. In

Rot ist das Massenspektrum dargestellt, welches für eine Lösungsmittelmixtur mit Wasser erhalten wird. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden beide Spektren auf die höchste Signalintensität normiert. Die Massenspektren sind einander sehr ähnlich. Im Bereich der unsolvatisierten Gramacidine B1 ($m/z = 920.5$), C1 ($m/z = 928.5$), A1 ($m/z = 940$) und A2 ($m/z = 947$) können keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden. Lediglich bei Masse-zu-Ladungsverhältnissen von $m/z = 963$ und 970 kann eine Intensitätserhöhung für das Lösungsmittelgemisch beobachtet werden. Aufgrund der minimalen Änderungen der relativen Intensitätsverteilung, kann der Einfluss auf den zu messenden PECD-Wert jedoch als vernachlässigbar eingestuft werden.

Zur Überprüfung der prognostizierten Solventabhängigkeit der Konformation wurden zunächst Einphotonen-Absorptions-CD-Spektren einer Lösung von Gramacidin in einem Methanol/Wasser-Gemisch an einem JASCO J-815 Spektrometer (Philipps-Universität Marburg, Core Facility Proteinbiochemie und -spektroskopie) aufgezeichnet. Das Resultat (rot) ist neben einem CD-Spektrum des Gramacidins in reinem Methanol (schwarz) in Abbildung 4.7.5 dargestellt.

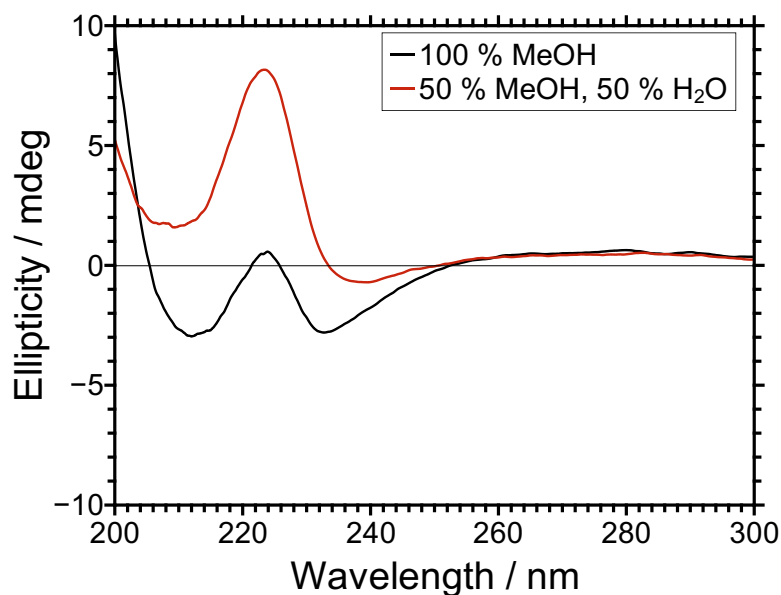


Abbildung 4.7.5: Einphotonen-Absorptions-CD-Spektren von Gramacidin ($c = 50 \mu\text{mol L}^{-1}$) in reinem Methanol sowie in einer 50:50 Mischung aus Methanol und Wasser.

Das Vergleichsspektrum in reinem Methanol steht qualitativ in guter Übereinstimmung mit Literaturdaten.^[276,279,283] Es treten zwei Minima bei Wellenlängen von 212 nm und 233 nm auf. Dazwischen befindet sich ein lokales Maximum bei einer Wellenlänge von

223 nm. In Literaturspektren liegt Letzteres im Bereich negativer Elliptizitäten.^[276,279,283] Im Bereich niederer Wellenlängen, nahe 200 nm, kann ein steiler Anstieg des CD beobachtet werden.

Durch die Anwesenheit von Wasser verändert sich das CD-Spektrum deutlich. Das Maximum bei 223 nm wird ausgeprägter und verschiebt sich klar in den Bereich positiver Elliptizitäten. Das Minimum bei höheren Wellenlängen liegt nun bei $\lambda = 239$ nm und ist nur noch sehr schwach ausgeprägt. Eine signifikante Veränderung ist auch im Bereich kleinerer Wellenlängen erkenntlich. Hier liegt zwar weiterhin ein lokales Minimum vor, aber dieses befindet sich nun im Bereich positiver Elliptizitäten. Insgesamt ähnelt das CD-Spektrum des Methanol/Wasser-Gemisches stark dem CD-Spektrum, welches für Trifluorethanol beobachtet wird.^[276,289] Dies lässt darauf schließen, dass in Übereinstimmung mit verschiedenen Literaturberichten für längerkettige Alkohole durch die Zugabe von Wasser eine Verschiebung des Gleichgewichts von dimeren zu monomeren Strukturen erfolgt.^[289,290]

Anhand des Photoelektronen-Circulardichroismus wird nun diskutiert, ob in der Gasphase noch strukturelle Einflüsse des Lösungsmittels festzustellen sind. In Abbildung 4.7.6 sind zu diesem Zweck die mittleren PECD-Werte inklusive der zugehörigen Standardfehler von Gramacidin in einer reinen Methanol-Lösung sowie einem Methanol/Wasser-Gemisch (50:50) illustriert. Die verwendeten experimentellen Bedingungen sowie Auswertungseinstellungen können den Tabellen 8.2.12 und 8.2.13 im Anhang entnommen werden.

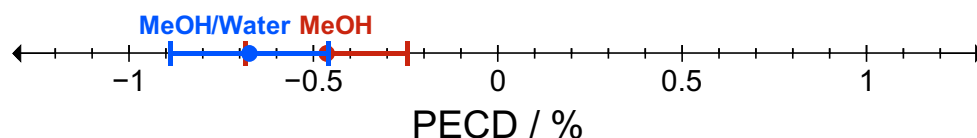


Abbildung 4.7.6: Symmetrisierte PECD-Werte von Gramacidin-Dianionen elektrosprayt aus reinem Methanol und einer 50:50 Methanol/Wasser-Mischung im grafischen Vergleich.

Die gezeigten PECD-Werte wurden durch Mittelwertbildung von je 620 *passes* bzw. 692 *passes* für die reine Methanollösung und das Wasser/Methanol-Gemisch bestimmt. Im Falle der ausschließlich alkoholischen Lösung wurde ein PECD von $-0.46\% \pm 0.22\%$ gemessen. Die Untersuchung der Lösungsmittelmixtur ergab einen PECD-Wert von $-0.67\% \pm -0.21\%$. Demnach kann in beiden Fällen ein von null verschiedener, negativer PECD nachgewiesen werden. Dieser Fakt demonstriert, dass die PECD-Methodik

durch die Kopplung mit der Elektrosprayionisation nun auch auf ausgedehnte molekulare Systeme anwendbar ist. Im Rahmen der Standardfehler kann allerdings zwischen den beiden Lösungsmittelzusammensetzungen kein Unterschied in der Photoelektronen-Winkelverteilung hinsichtlich der Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrie festgestellt werden. Da in mehreren Einphotonenionisations-Studien eine ausgeprägte Sensitivität des PECD auf die Konformation^[55–60,62,224,225] sowie Dimerisierung^[221,222,224] verschiedener Analyten nachgewiesen werden konnte, kann ein analoges struktursensitives Verhalten für den PECD im Photodetachment erwartet werden. Infolgedessen ist die Beobachtung vergleichbarer PECD-Werte ein Hinweis darauf, dass aus den hier untersuchten Solvat-systemen ähnliche Gasphasenstrukturen der Gramacidin-Dianionen resultieren.

Die im Rahmen der Standardfehler identischen PECD-Werte suggerieren also, dass – entgegen den beschriebenen Resultaten der CD-Spektroskopie in der Flüssigphase – in der Gasphase keine strukturellen Unterschiede verbleiben oder ein voneinander abweichender Dimerisierungsgrad vorliegt.

Dieses Ergebnis scheint zunächst in Widerspruch zu Literaturarbeiten zu stehen, welche eine Lösungsmittelabhängigkeit von Dimer-Ausbeuten für die Erzeugung von gasförmigen Kationen des Gramacidins mittels ESI beschreiben.^[289,290] CHITTA und GROSS detektierten dreifach- und zweifach-positiv geladene Dimere in unterschiedlichem Ausmaß bei verschiedener Lösungsmittelzusammensetzung.^[290] Ein insgesamt vierfach-geladenes Dimer konnte allerdings nicht nachgewiesen werden. Dies legt den Schluss nahe, dass eine nicht-kovalente Verknüpfung von zwei doppeltgeladenen Gramacidin-Ionen bedingt durch die COULOMB-Abstoßung nicht stabil ist. Eben diese zweifach-geladenen Ionen sind in negativer Form jedoch die relevanten Vorläuferionen für den hier untersuchten Photodetachment-Prozess bei einer Wellenlänge von 355 nm. Der scheinbare Widerspruch zu den Arbeiten [289] und [290], könnte demnach durch die Betrachtung von Spezies höherer Ladungsdichte im Rahmen des Photodetachments zustande kommen. Aufgrund der begrenzten Auflösung des linearen TOF-MS ist keine eindeutige Identifizierung von Dimersignalen im Massenspektrum anhand des Abstandes im ¹³C-Isotopenmuster möglich. Allerdings ist das Fehlen des Signals eines dreifach-negativ geladenen Dimers [2 GRA-3H]³⁻ in Abbildung 4.7.3 ($m/z \approx 1254$), wessen Analogon im positiven Ionenmodus nachgewiesen werden konnte,^[290] ein Hinweis auf die generelle Abwesenheit von Dimer-Spezies in der Gasphase. Die experimentellen Bedingungen scheinen für die Überführung von nicht-kovalent gebundenen Dimeren in die Gasphase nicht ausreichend sanft zu sein. Unter Berücksichtigung der prognostizierten Instabilität des [(GRA-2H)₂]⁴⁻ kann deshalb angenommen werden, dass der PECD von monomeren,

isolierten Gramacidin-Dianionen bestimmt wurde.

Im Anbetracht der nicht-unterscheidbaren PECD-Werte für beide Probenlösungen (Abb. 4.7.6) liegt die Folgerung nahe, dass die entsprechenden monomeren Gasphasen-Konformationen der Gramacidin-Dianionen einander ähnlich sind. In IR-spektroskopischen Untersuchungen des gasförmigen, neutralen Gramacidins wurden Hinweise auf das Vorliegen eines einzigen Konformers bzw. eine Familie sehr ähnlicher Konformere gefunden.^[287,288] Für ein mehrfach-geladenes Ion, wie es hier untersucht wurde, ist zwar ladungsbedingt eine Anpassung der Sekundärstruktur wahrscheinlich, gleichzeitig ist jedoch auch Einschränkung des zugänglichen Konformationsraums bedingt durch die intramolekulare COULOMB-Abstoßung zu erwarten.

Mittels ESI erzeugte Gramacidin-Dianionen werden im verwendeten Aufbau zunächst in einer Oktopolionenfalle gespeichert. Durch seltenes ($f = 20$ Hz) und nur kurzzeitiges Öffnen ($w_{\text{trap}} = 300$ ns) der Ionenfalle sind lange Verweildauern möglich. Ausgedehnte Aufenthaltszeiten in der Ionenfalle erlauben eine strukturelle Anpassung der Anionen an die Gasphasenumgebung. Unabhängig von der Solventhistorie kann schließlich die gleiche Sekundärstruktur bzw. Konformation minimaler Energie erreicht werden. Diese Hypothese steht in Übereinstimmung mit den präsentierten PECD-Resultaten.

Es sollte angemerkt werden, dass trotz der soeben dargelegten schlüssigen Diskussion unterschiedliche Konformationen des Gramacidins vorliegen könnten, falls diese bei einer Wellenlänge von 355 nm vergleichbare PECD-Werten aufweisen. Um diese Ambiguität zukünftig zu vermeiden, wäre die Verwendung einer Lichtquelle mit variabler Wellenlänge sinnvoll. Durch die erweiterte Dimensionalität ließen sich zusätzliche Informationen gewinnen, welche eine Interpretation im Hinblick auf strukturelle Unterschiede vereinfachen würde.

Es konnte am Beispiel des Gramacidins gezeigt werden, dass der PECD von ausgedehnten molekularen Systemen wie Peptiden über das Photodetachment elektrosprayter Anionen zugänglich ist. Eine strukturelle Sensitivität des Effektes basierend auf einer Lösungsmittel-Historie der Probe konnte allerdings nicht nachgewiesen werden. Als möglicher Grund wurde die strukturelle Equilibrierung in der Ionenfalle vorgeschlagen.

4.7.3 PECD von Cs-Adduktionen

Gramacidin dient als Prototyp eines Kanals für monovalente Ionen. Daher ist die Interaktion mit verschiedenen Alkaliionen von besonderem Interesse. Die Struktur von Addukten des Gramacidins mit verschiedenen Alkaliionen in kondensierter Phase wurde

in einer Reihe von NMR- und CD-Studien thematisiert.^[282–285] Bei der Anlagerung von Cs^+ an Doppelhelices des Gramicidin konnten deutliche Strukturänderungen beobachtet werden.^[284] Auch für die Gasphase wurden signifikante Konformationsänderungen unter Anlagerung von Cs^+ -Ionen an neutrales Gramicidin durch MD-Simulationen theoretisch vorhergesagt und mittels Ionen-Mobilitäts-Spektrometrie experimentell bestätigt.^[286] Mittels Elektrosprayionisation erzeugte Ionenpaare aus Gramicidin-Anionen und Cs^+ -Kationen stellen daher ein vielversprechendes System zur Demonstration der strukturellen Sensitivität des PECD im Photodetachment dar. In Abbildung 4.7.7 sind ESI-Massenspektren einer Lösung von $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ Gramicidin mit 2 mmol L^{-1} CsOH in einer 20:80-Mischung aus Wasser und Methanol dargestellt.

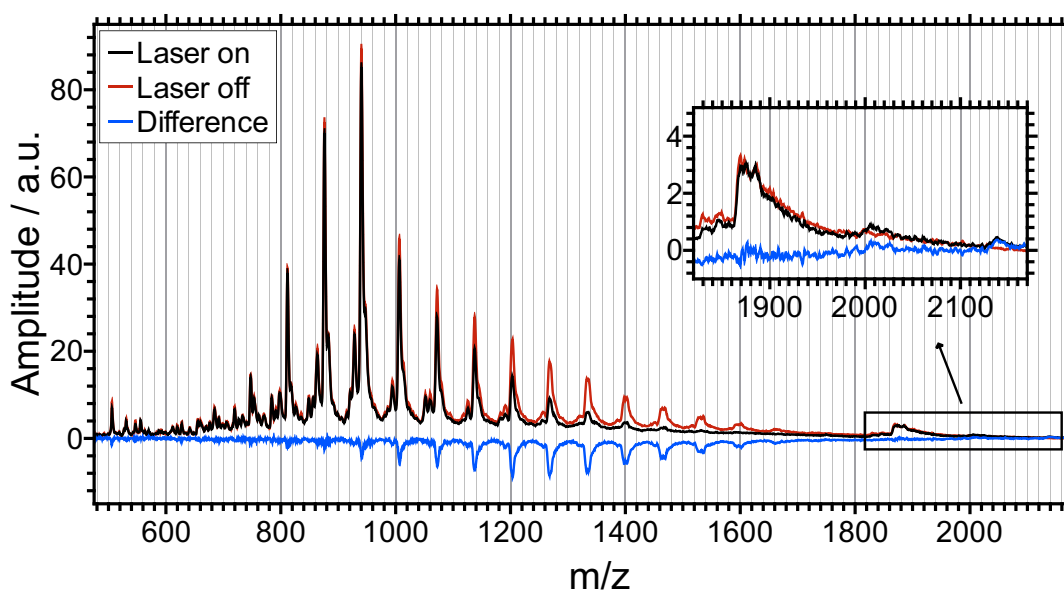


Abbildung 4.7.7: ESI-Massenspektren einer 50 mmol L^{-1} Gramicidin-Lösung mit 2 mmol L^{-1} CsOH in einer 20:80-Mischung aus Wasser und Methanol im Anionen-Modus. Gemittelte Spektren mit (schwarz) und ohne Laser (rot) sowie das durch Photodetachment hervorgerufene Differenzspektrum (blau). Es wurden RCP-Laserpulse mit einer Pulsenergie von 42 mJ verwendet. Die Daten wurden mittels eines SAVITZKY-GOLAY-Filters^[291] zweiten Grades mit 10 Punkten geglättet.

Es offenbart sich eine Vielzahl von Signalen. In Übereinstimmung mit Abbildung 4.7.3 können erneut Monoanionensignale im oberen Massenbereich nahe $m/z \approx 1900$ beobachtet werden. Ebenso sind mit m/z -Verhältnissen um 940 isolierte Dianionen der verschiedenen Gramicidin-Varianten zu detektieren. In einem nominellen Abstand von jeweils 66

Masseneinheiten schließen sich zu höheren Massen eine Vielzahl neuer Signale an. Hier handelt es sich um Addukte des Gramacidins mit Cs-Ionen der Form $[M-(n+2)H+nCs]^{2-}$. In diesen Dianionen wurden n Protonen durch Cs^+ -Ionen ersetzt.

Im Bereich $m/z < 940$ ist ebenfalls eine große Zahl von neuen Signalen angesiedelt. Durch die Zugabe von Caesiumhydroxid steigt der pH-Wert und es kommt zur alkalischen Hydrolyse von Peptidbindungen. So kann beispielsweise die vermehrte Bildung von Anionen mit m/z -Verhältnissen von 876.5 und 812 beobachtet werden, welche durch Spaltungen am N-Terminus zwischen Valin und Glycin bzw. Alanin und Isoleucin entstehen.

Unter Betrachtung der Differenz (blau) der Massenspektren mit (schwarz) und ohne (rot) Laser ist die Verarmung verschiedener Gramacidin-Dianionen bei Lasereinkopplung erkenntlich. Absolute und relative Integrale der für Gramacidin-Dianionen zu beobachtenden Differenzbeträge sind in Abbildung 4.7.8 in Abhängigkeit der Zahl der angelagerten Caesiumionen aufgetragen.

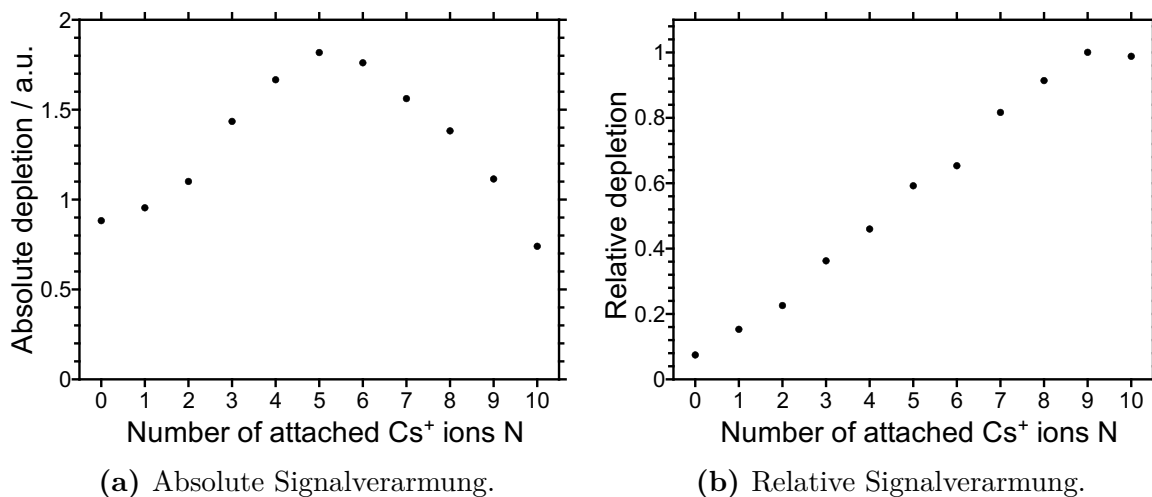
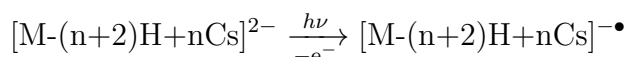


Abbildung 4.7.8: Absolute (a) und relative (b) Ausbeutedifferenzbeträge beim Photodetachment von Gramacidin-Dianionen $[M-(n+2)H+nCs]^{2-}$, in welchen $0 \leq n \leq 10$ Protonen durch Cs^+ -Kationen ersetzt wurden. Die relative Verarmung bezieht die absolute Ausbeutedifferenz auf die ESI-Hintergrundsignalintensität des jeweiligen Ions.

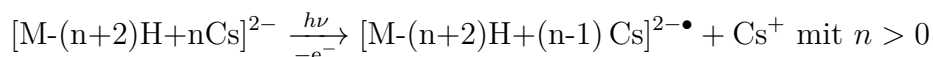
Die betragsmäßig höchste Ausbeutedifferenz wird in Abbildung 4.7.8(a) für $n = 5$ beobachtet. Insgesamt zeigen jedoch alle detektierten Adduktionen eine signifikante Verarmung bei Lasereinwirkung, d. h. es liegt eine breite Verteilung von Präkursorionen für das Photodetachment vor. Bei Betrachtung der relativen Ausbeutedifferenzen, genauer gesagt dem Anteil der Signalverarmung eines gewissen Ions in Bezug auf die Intensität

des Signals ohne Lasereinkopplung, in Abbildung 4.7.8(b) fällt auf, dass diese von der Anzahl der angelagerten Cs⁺-Ionen n abhängen. Die relative Signalverarmung steigt in erster Näherung linear mit n bis schließlich für n ≥ 9 eine vollständige Vernichtung der Präkursorionen erreicht wird. Diese Beobachtung zeigt, dass die Gramacidin-Dianionen [M-(n+2)H+nCs]²⁻ mit steigendem n anfälliger für den Verlust von Elektronen unter Lasereinwirkung werden. Eine denkbare Erklärung wäre eine zunehmende Destabilisierung der Dianionen durch eine Erhöhung der negativen Ladungsdichte im Peptid beim Austausch von Protonen gegen Cs⁺-Ionen.

Während es im Bereich der Dianionen zu einer Signalabnahme bei Lasereinkopplung kommt, kann im Bereich der Monoanionen ein schwacher Signalanstieg beobachtet werden (Inset in Abb. 4.7.7). Auch hier deutet sich eine Zunahme des Differenzbetrages mit der Anzahl der durch Cs⁺ ersetzten Protonen für den dargestellten Bereich n ≤ 2 an. Die dargelegten Befunde legen folgenden Photodetachment-Prozess nahe:



Weiterhin wäre auch ein dissoziatives Detachment unter Abspaltung von Cs⁺-Ionen denkbar.



Als Produkte würden radikalische Dianionen [M-(n+2)H+(n-1)Cs]^{2-•} entstehen. Im Massenspektrum müssten Signale neben einem Dianion [M-(m+2)H+mCs]²⁻ mit m = n - 1 Caesiumionen auftreten. Es konnten keine Hinweise auf derartige Spezies gefunden werden, dies könnte jedoch der geringen Massenauflösung geschuldet sein.

Bevor die Ergebnisse der PECD-Analyse in der Gasphase vorgestellt und diskutiert werden, soll mittels konventioneller CD-Spektroskopie zunächst ein Blick auf den Ausgangszustand in Lösung geworfen werden. Als Lösungsmittel für die Elektrosprayionisation von Gramacidin in Anwesenheit von Caesiumionen wurde eine 20:80 Mischung aus Wasser und Methanol gewählt. Das Volumenverhältnis dieser Mischung liegt somit zwischen den Volumenverhältnissen der beiden im vorherigen Abschnitt diskutierten Solventmixturen (0:100 und 50:50). Die Einphotonen-Absorptions-CD-Spektren von Gramacidin mit und ohne Caesiumhydroxid in diesem Lösungsmittel sind in Abbildung 4.7.9 dargestellt. Das CD-Spektrum von Gramacidin in einer 20:80 Mischung von Wasser und Methanol ohne Caesiumhydroxid (schwarz) ist dem im vorherigen Abschnitt präsentierten Resultat einer 50:50-Mischung aus den gleichen Lösungsmitteln (Abb. 4.7.5) quali- und quantita-

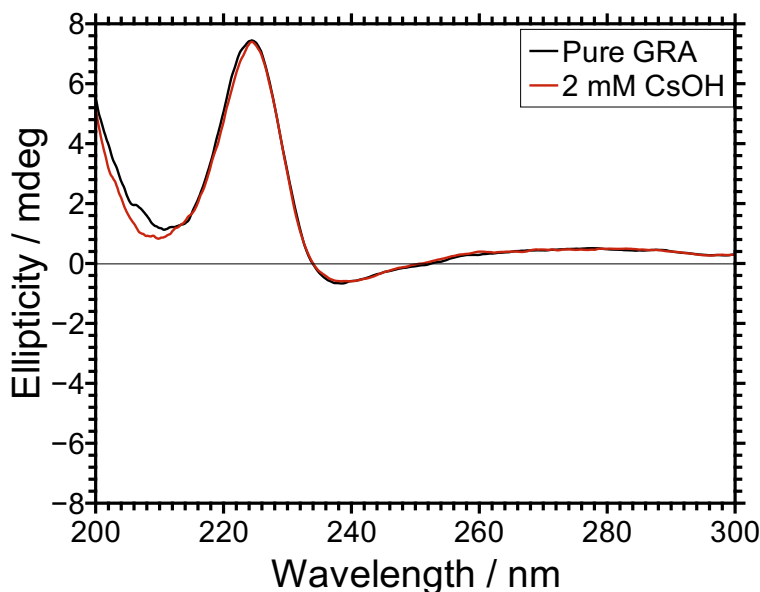


Abbildung 4.7.9: Einphotonen-Absorptions-CD-Spektren von Gramacidin ($c = 50 \mu\text{mol L}^{-1}$) in einer 20:80 Mischung aus Wasser und Methanol mit bzw. ohne Zugabe von Caesiumhydroxid.

tiv sehr ähnlich. Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit Literaturberichten, dass bereits geringe Mengen von Wasser in Alkohol ausreichen, um das Konformationsgleichgewicht vollständig auf die Seite monomerer Spezies zu bringen.^[290]

Unter Zugabe von 40 Äquivalenten Caesiumhydroxid ($c = 2 \text{ mmol L}^{-1}$) (rot) ist keine signifikante Änderung des CD-Spektrums messbar. Lediglich im unteren Wellenlängenbereich nahe 200 nm sind minimale Abweichungen der beiden Kurven vorhanden. Anhand der hier präsentierten ECD-Daten kann demzufolge keine signifikante Veränderung der Konformationsverteilung in einer Wasser/Methanol-Mischung bei Zugabe von Caesiumionen belegt werden.

Dies ist eine interessante Feststellung, da für rein methanolische Lösungen von Gramacidin erhebliche Veränderungen des CD-Spektrums zwischen 200 nm und 250 nm unter Zugabe vergleichbarer Mengen Caesiumchlorid oder Caesiumcarbonat beschrieben wurden.^[284] Basierend auf einem Vergleich von CsCl, Cs₂CO₃ und KOH durch CHEN et al. wurde der Einfluss von Anionen auf die Struktur von Gramacidin als vernachlässigbar eingestuft.^[284] Demzufolge kann das Ausbleiben eines strukturellen Einflusses durch die Zugabe von CsOH in dem hier beschriebenen Fall nur auf die veränderte Lösungsumgebung zurückzuführen sein.

Für die Bindung von Caesiumionen an Gramacidin in organischen Lösungsmitteln wie

Methanol wurden doppel-helikale Konformationen beschrieben, bei denen Caesiumionen im Inneren einer sogenannten Porenstruktur durch mehrere Carbonyl-Funktionen koordiniert werden.^[282–284] Bei der Einlagerung von Cs^+ ist eine strukturelle Veränderung einhergehend mit Verschiebungen in der Konformationsverteilung zu beobachten. Dies äußert sich in dramatischen Veränderungen des CD-Spektrums.^[269,283]

Durch die Zugabe von Wasser wird das Gleichgewicht zwischen monomeren und verschiedenen dimeren Strukturen in Methanol quasi-vollständig auf die Seite der Monomere verschoben.^[289,290,293] Dies verhindert die Komplexierung von Cs^+ mit dimeren Gramicidin-Doppelhelices, wie ein Vergleich des CD-Spektrums in Abbildung 4.7.9 mit Literaturdaten in reinem Methanol bestätigt.^[284] Die Bildung entsprechender Porenstrukturen des Gramicidins würde sich in stark negativen Elliptizitäten nahe 200 nm äußern.^[284]

Die Beobachtung eines trotz hoher Caesium-Konzentration unveränderten CD-Spektrums in der verwendeten Lösungsmittelmischung lässt darauf schließen, dass entweder keinerlei Anlagerung von Cs^+ an Gramicidin in Gegenwart von Wasser erfolgt oder eine entsprechende Anlagerung keine merklichen strukturellen Veränderungen erfordert. Letzteres konnte bereits beobachtet werden. Für die Bindung von Cs^+ an die sogenannte Kanalform des Gramicidins in z. B. Phospholipid-Vesikeln konnte keine bzw. nur eine minimale Veränderungen des CD-Spektrums festgestellt werden.^[269,294]

Nun soll der Einfluss der Anlagerung von Caesium-Ionen an Gramicidin in der Gasphase untersucht werden. Dazu wurde der PECD von Gramicidin-Lösungen in 20:80-Mixturen aus Wasser und Methanol mit und ohne CsOH gemessen und verglichen. Die dabei für Experiment und Auswertung verwendeten Einstellungen blieben gegenüber den zuvor präsentierten Messreihen unverändert (siehe Abschnitt 8.2.3). Die Resultate sind in Abbildung 4.7.10 dargestellt.

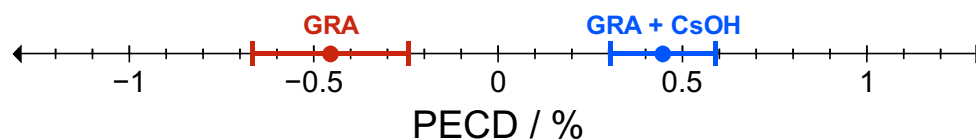


Abbildung 4.7.10: Symmetrisierte PECD-Werte von Gramicidin-Dianionen elektrodesprayed aus einer 20:80 Methanol/Wasser-Mischung mit und ohne Caesiumhydroxid ($c = 2 \text{ mmol L}^{-1}$) im grafischen Vergleich.

Der mittlere PECD sowie der Standardfehler wurden im Falle des reinen Gramicidins (rot) aus 816 *passes* und für die mit Cs^+ angereicherte Lösung (blau) aus 1003 *pas-*

ses bestimmt. Für die GRA-Probenlösung mit Caesiumhydroxid wurde ein PECD von $+0.45 \% \pm 0.14 \%$ erhalten. Die Messung ohne Caesiumhydroxid ergab einen PECD-Wert von $-0.46 \% \pm 0.21 \%$. Erwartungsgemäß herrscht im Rahmen der Standardfehler Übereinstimmung zwischen dem hier erhaltenen PECD von Gramacidin in einer 20:80-Mischung aus Wasser und Methanol mit den im letzten Abschnitt diskutierten PECD-Werten für Lösungsmittelansätze mit Verhältnissen von 0:100 und 50:50. Der nach der Zugabe von 40 Äquivalenten Caesiumhydroxid bestimmte PECD-Wert ist leicht positiv und damit klar verschieden von den zuvor erhaltenen Werten.

Der Unterschied des PECD-Wertes von Gramacidin-Dianionen $[M-2H]^{2-}$ und Cs-Addukten $[M-(n+2)H+nCs]^{2-}$ kann durch sogenannte *initial-* oder *final-state*-Effekte begründet sein.

Im Rahmen der Anlagerung von Cs^+ unter Abspaltung von Protonen kommt es zu einer Änderung der elektronischen Struktur eines Dianions. Polare, kovalente Bindungen werden durch Bindungen mit vorwiegend ionischem Charakter ersetzt. Der Einfluss der Substitution von Protonen durch Caesiumionen äußert sich bereits in einer Erhöhung der Photodetachmentquerschnitte (Abb. 4.7.8(b)). Änderungen der elektronischen Struktur eines Präkursors bzw. chemische Substitution können sich auf den PECD-Wert auswirken.^[218] Da der Ausgangszustand des Photodetachments betroffen ist, wird in diesem Fall von einem *initial-state*-Effekt gesprochen. Ein solcher Effekt kann als Ursache für die hier beobachteten PECD-Differenzen nicht ausgeschlossen werden, da eine Verteilung von Präkursor-Dianionen betrachtet wird (Abb. 4.7.8(a)), in welchen im Mittel $n = 5$ Protonen durch Caesiumionen ersetzt wurden.

Unter Berücksichtigung der vergleichsweise begrenzten Zahl an aciden Wasserstoffen im Gramacidin und in Anbetracht des Nachweises von zahlreichen Substitutionen liegt die Annahme nahe, dass die Ersetzung von Protonen durch Caesiumionen am Rückgrat des Peptids, genauer gesagt dem Stickstoff der Peptidbindung, erfolgt. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung eines kontinuierlichen Verlaufes der Ionenhäufigkeiten sowie ihrer Differenzen (Abb. 4.7.7) mit zunehmendem n untermauert. Sollten unterschiedliche Reaktionszentren, wie z. B. Tryptophan-Seitenketten, involviert sein, wären Unstetigkeiten in den experimentellen Trends zu erwarten.

Vor dem Hintergrund der strukturellen Flexibilität des Gramacidins und der Größe eines Cs^+ (167 pm)^[295] erscheint es wahrscheinlich, dass mit der Ersetzung von Protonen durch Caesiumionen auch eine Änderung der Konformation des Gramacidins einhergeht. In Ionen-Mobilitäts-Experimenten wurden in Übereinstimmung mit MD-Simulationen Konformationsänderungen von Gramacidin bei Anlagerung von Cs^+ beobachtet.^[286] Dies

legt nahe, dass auch für den hier diskutierten Fall anionischer Spezies strukturelle Anpassungen an die chemische Modifikation erfolgen.

Beim Photodetachment wird das emittierte Elektron im chiralen Molekülpotential gestreut, dadurch können langreichweitige Struktureinflüsse festgestellt werden.^[68] Da die Interferenz elektronischer Partialwellen im Endzustand des Photodetachment-Prozesses erfolgt, wird in diesem Zusammenhang auch von *final-state*-Effekten gesprochen. Einflüsse dieser Art können aufgrund der prognostizierten Strukturänderungen im vorliegenden Fall zusätzlich zu den bereits diskutierten *initial-state*-Effekten eine Rolle für die beobachtete Veränderung des PECD spielen.

Für neutrales und anionisches Gramicidin wurden Hinweise auf helikale Gasphasenstrukturen gefunden.^[287,288,292] In Anbetracht der Vorzeicheninversion des PECD bei einer Substitution von H^+ durch Cs^+ wäre eine Änderung der Drehrichtung einer helikalen Sekundärstruktur als Ursache denkbar. Ähnliches Verhalten wurde bereits für eine synthetische Gramicidinvariante in Lösung beobachtet.^[296] Durch Zugabe von Cs^+ erfolgt eine Umlagerung von einer linksdrehenden Doppelhelix zu einer rechtsdrehenden Einfachhelix.^[296] Durch die alternierenden absoluten Konfigurationen der Aminosäuren im Gramicidin ist eine Änderung der Drehrichtung einer helikalen Sekundärstruktur leicht möglich. In organischen Lösungsmitteln stehen beispielsweise Konformationen unterschiedlicher Helizität im Gleichgewicht.^[277]

Insgesamt konnte die Empfindlichkeit des PECD auf die Substitution von Protonen durch Caesiumionen in Gramicidin-Dianionen nachgewiesen werden. Ursächlich für die zu beobachtenden Differenzen können Änderungen der elektronischen Struktur oder Konformation, wie beispielsweise eine Helizitätsinversion, sein. Zur Aufklärung der relevanten Einflüsse könnte ein Vergleich mit quantenchemisch optimierten Konformationen von Cs^+ -substituierten Gramicidin-Dianionen dienen.

4.7.4 PICD in Elektronenausbeuten

Die in den vorherigen Abschnitten präsentierten Messreihen enthalten zusätzlich zu den bereits diskutierten PECD-Daten auch Informationen über den PICD in Form der totalen Elektronenausbeuten. In diesem Unterkapitel soll daher nun der PICD von Gramicidin-Dianionen im Photodetachment thematisiert werden. Im Folgenden wird die Abhängigkeit des PICD vom für den ESI-Vorgang genutzten Lösungsmittel sowie der Einfluss einer Anlagerung von Cs^+ -Ionen diskutiert.

Dazu sind die aus den PECD-Datensätzen gewonnenen mittleren PICD-Werte sowie die

entsprechenden Standardfehler in Tabelle 4.7.3 aufgelistet und in Abbildung 4.7.11 illustriert. Wie im Falle der PECD-Werte wird jeweils das Ensemble aller Präkursorionen des Gramicidins betrachtet. Eine massenaufgelöste Untersuchung des PICD wurde aufgrund geringer Photodetachmentquerschnitte nicht durchgeführt.

Tabelle 4.7.3: PICD-Werte der totalen Elektronenausbeuten des Photodetachments von Gramicidin-Dianionen, welche mittels Elektrosprayionisation aus Lösungsmitteln verschiedener Zusammensetzung und ggf. nach Zugabe von CsOH erzeugt wurden.

Run	c_{GRA} / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	c_{CsOH} / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	Solvent ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$)	PICD / %	Norm. PICD ¹ / %
A	50	0	0:100	$+0.70 \pm 0.71$	$+2.08 \pm 0.71$
B	50	0	50:50	$+0.41 \pm 0.29$	$+1.92 \pm 0.29$
C	50	0	20:80	-0.87 ± 0.53	-0.55 ± 0.53
D	50	2	20:80	-0.62 ± 0.15	$+0.12 \pm 0.15$

¹ Ausbeuten wurden auf die mittlere Laserleistung normiert.

Um Einflüsse variierender Laserpulsenergien auf den PICD zu minimieren, wurde eine Normierung der erhaltenen Elektronenausbeuten auf die gleichzeitig gemessene mittlere Laserleistung durchgeführt. Eine Normierung auf Präkursor-Ionenausbeuten, wie sie für GLU und DOPA diskutiert wurde, ist in diesem Fall nicht möglich. Aufgrund ihrer hohen Masse können keine Gramicidin-Anionen im für die Elektronenerfassung verwendeten Zeitfenster (ca. 8 μs bei einer Abtastrate von 1 ns/pt) detektiert werden.

Für rein methanolische Lösungen (A) von Gramicidin sowie eine 50:50-Mischung aus Wasser und Methanol (B) kann kein Unterschied des PICD im Rahmen der gegebenen Standardfehler festgestellt werden. Die anhand der absoluten Elektronenausbeuten (DIFF) bestimmten PICD-Werte (schwarz) liegen mit $+0.70 \% \pm 0.71 \%$ und $+0.41 \% \pm 0.29 \%$ nahe null. Für die Normierung auf die mittlere Laserleistung (rot) kann eine Verschiebung zu positiveren PICD-Werten von $+2.08 \% \pm 0.71 \%$ und $+1.92 \% \pm 0.29 \%$ beobachtet werden, da in den beiden Messreihen A und B höhere mittlere Laserleistungen für RCP als für LCP gemessen wurden.

Ebenso bestehen keine signifikanten Differenzen zwischen den PICD-Werten von Gramicidin mit (D) und ohne Caesiumhydroxid (C) in einer 20:80 Mischung aus Wasser und Methanol. Ohne eine Normierung werden PICD-Werte von $-0.87 \% \pm 0.53 \%$ und $-0.62 \% \pm 0.15 \%$ erhalten. Bei Normierung auf die mittleren Laserleistungen ist auch in diesem Fall eine Verschiebung zu positiveren Werten ($-0.55 \% \pm 0.53 \%$ und $+0.12 \% \pm 0.15 \%$) zu beobachten.

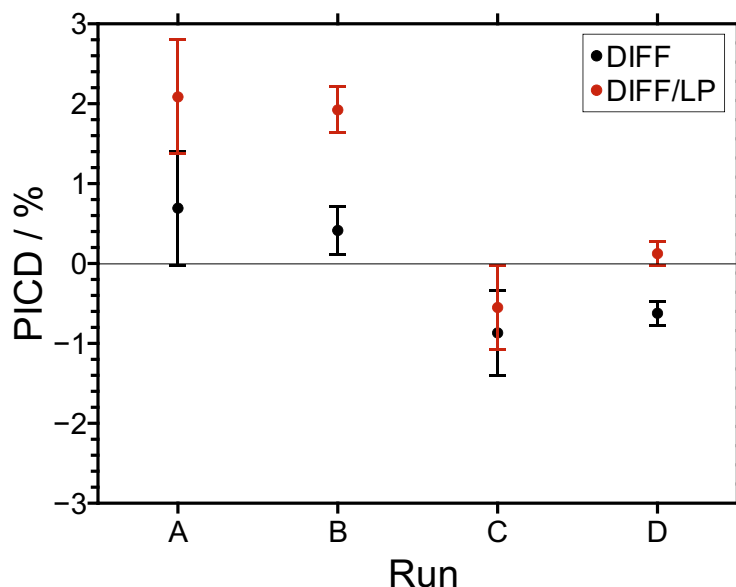


Abbildung 4.7.11: PICD von Gramicidin-Dianionen berechnet anhand von absoluten Photoelektronenausbeuten (schwarz) bzw. auf die Laserleistung normierten Ausbeuten (rot) für unterschiedliche Analytlösungen (A, B, C und D). Anionen wurden mittels Elektrosprayionisation von Gramicidin in Solventmixturen des Verhältnisses 0:100 (A), 50:50 (B) und 20:80 (C und D) aus Wasser und Methanol erzeugt. Analytlösung D wurde mit 2 mM CsOH versetzt.

Im Folgenden sollen die präsentierten PICD-Resultate, welche anhand von totalen Elektronenausbeuten bestimmt wurden, mit den PECD-Ergebnissen aus den vorherigen Abschnitten verglichen werden.

Hinsichtlich der Abhängigkeit der chiroptischen Observablen von der Solvent-Zusammensetzung der ESI-Analytlösung zeigen sich für PECD und PICD keine Unterschiede. In beiden Fällen werden vergleichbare Resultate für einen reinen Methanol-Ansatz und eine Wasser/Methanol-Mischung erhalten. Dies unterstützt die zuvor aufgestellte Hypothese, dass bedingt durch die experimentellen Bedingungen unabhängig von der Solventhistorie der Probe gleiche Gasphasenstrukturen resultieren. Die strukturelle Empfindlichkeit des PICD-Effektes im Photodetachment von elektrogesprayten Anionen wurde kürzlich zum ersten Mal beschrieben.^[111]

Für das Photodetachment von Gramicidin-Dianionen nach einer Substitution von n Protonen durch Caesiumionen konnten im Rahmen der PECD-Untersuchungen signifikante Unterschiede gegenüber unveränderten GRA-Proben beobachtet werden. Im Falle des PICD kann im Rahmen der Standardfehler allerdings kein Einfluss der Zugabe von Cs^+ -

Ionen festgestellt werden. Dies zeigt erneut die vormals erwähnte Komplementarität der beiden chiroptischen Ansätze und verdeutlicht die besondere Empfindlichkeit des PECD auf das chirale Molekülpotential.

Beim Vergleich der PECD- und PICD-Daten des Gramacidins fällt weiterhin auf, dass der PICD von Ansatz C von den Resultaten für die Ansätze A und B abweicht, während die mit A, B und C bezeichneten verschiedenen Lösungsmittelmixturen jedoch vergleichbare PECD-Werte liefern. Da keine andere Erklärung für dieses abweichende Verhalten vorliegt, kann angenommen werden, dass es sich hier um einen systematischen Messfehler handelt. Die Messreihen A und B sowie C und D wurden jeweils unmittelbar hintereinander und daher unter bestmöglich vergleichbaren experimentellen Bedingungen aufgezeichnet. Zwischen den Messreihen B und C wurden allerdings die Optiken zur Erzeugung und Analyse der Zirkularpolarisation neu justiert. Obwohl die Zirkularpolarisationsanteile R_{circ} in einem vergleichbaren Bereich blieben ($R_{\text{LCP}} = 73-77\% < R_{\text{RCP}} = 81-86\%$), könnten kleine Unterschiede in den linearen Restanteilen der beiden Helizitäten zu einer veränderten, künstlichen Asymmetrie im PICD führen. Der PECD erlaubt eine intrinsische Symmetrisierung der Daten anhand eines Vergleiches zwischen LCP und RCP und ist aufgrund dieses internen Standards weniger anfällig für systematische Fehler durch instrumentelle Asymmetrien.

Anhand der PICD-Werte konnte die Hypothese der Unabhängigkeit der GRA-Gasphasenstruktur von der Solventhistorie des ESI-Analyten weiter bekräftigt werden. Im Falle der Untersuchung der Substitution von Protonen durch Caesiumionen in Gramacidin-Dianionen zeigt sich, dass für den PICD – im Gegensatz zum PECD – kein Einfluss festgestellt werden kann. Dies bestätigt erneut die Komplementarität der chiroptischen Methoden.

4.7.5 Zusammenfassung

Im Folgenden sollen die präsentierten Resultate der chiroptischen Untersuchungen des Antibiotikums Gramacidin kurz zusammengefasst, in den Kontext dieser Arbeit eingeordnet und mit dem aktuellen Stand der Literatur verglichen werden.

Neben seiner pharmazeutischen Bedeutung und der besonderen Funktionalität als Kanalbildner wurde Gramacidin vor allem aufgrund der molekularen Größe und strukturellen Flexibilität als Analyt ausgewählt. Ziel der Untersuchungen war zum einen die Demonstration der Anwendbarkeit der ESI-PECD-Technik auf biologische Makromoleküle. Darüber hinaus sollte die für den PECD in der Photoionisation von neutralen

Analyten nachgewiesene Struktursensitivität auch für das Photodetachment von elektrogesprayten Anionen untersucht werden.

Das Photodetachment von zweifach-deprotoniertem Gramicidin bei einer Wellenlänge von 355 nm konnte anhand eines Vergleiches von Massenspektren mit und ohne Laserwirkung belegt werden. Dieser Prozess wurde mit Hilfe der chiroptischen Methoden PECD und PICD untersucht.

Zunächst wurde der Einfluss der Solventhistorie des ESI-Analyten auf die Gasphasen-Struktur betrachtet. Dazu wurden GRA-Lösungen aus reinem Methanol sowie einer Mischung aus Wasser und Methanol verwendet. Mittels konventioneller CD-Spektroskopie konnte gezeigt werden, dass in diesen Lösungen unterschiedliche Konformationsverteilungen des Gramicidins vorliegen. Für beide Proben wurden nach der Überführung in die Gasphase mittels ESI im Rahmen der Standardfehler jedoch identische PECD- und PICD-Werte erhalten. Dies kann als ein Beleg für vergleichbare Gasphasen-Konformationen interpretiert werden. Im Anbetracht der experimentellen Gegebenheiten könnten lange Speicherzeiten in der Ionenfalle und der Verlust nicht-kovalenter intermolekularer Bindungen beim Transfer in das Chiralitätsspektrometer ursächlich für das Angleichen ursprünglich unterschiedlicher Konformationen sein.

Weiterhin wurden die Konsequenzen einer Zugabe von Caesiumhydroxid zu einer Gramicidin-Lösung evaluiert. In ESI-Massenspektren konnte die extensive Substitution von Protonen gegen Caesiumionen in Gramicidin-Dianionen beobachtet werden. PECD und PICD der resultierenden Präkursionen-Verteilung wurden bestimmt. Es konnte eine Veränderung des PECD nach der Zugabe von Caesiumhydroxid nachgewiesen werden, während der PICD im Rahmen der Messgenauigkeit identisch mit Resultaten unsubstituierter GRA-Dianionen ist. Die beobachtete Inversion des PECD-Wertes kann aus einer Änderung der elektronischen Struktur oder Konformation im Zuge der chemischen Substitution resultieren. Der PICD ist für das hier gewählte Beispiel nicht sensitiv auf die genannten Effekte.

Bei den hier vorgestellten Resultaten handelt es sich um die ersten PECD-Messungen an biologischen Polymeren. Die Erweiterung des Anwendungsbereiches dieser mächtigen, chiroptischen Technik auf diese in Medizin und Pharmazie hochgradig relevanten Systeme stellt einen wichtigen Fortschritt dar, denn der PECD ist ein vielversprechendes Tool für die strukturelle Charakterisierung solcher Systeme in der Gasphase. Erste Hinweise auf eine mögliche Konformationssensitivität wurden für das Photodetachment von Cs-substituierten Gramicidin-Dianionen gefunden. Ein Vergleich mit PICD-Resultaten zeigt die überlegene Sensitivität des PECD im vorliegenden Fall und beweist erneut die

Komplementarität der neuen ESI-PECD-Technik zum kürzlich ebenfalls vorgestellten ESI-PICD-Ansatz.^[111]

5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein neues Chiralitätsspektrometer für chiroptische Untersuchungen an mittels Elektrosprayionisation (ESI) erzeugten Anionen konzipiert und aufgebaut. Eine kommerzielle ESI-Quelle wurde über eine Reihe von Transferoptiken mit einem zu diesem Zweck entwickelten linearen Flugzeitmassenspektrometer (TOF-MS) gekoppelt. Im Zentrum des Chiralitätsspektrometers können Ionenpakete mit zirkular polarisierten ns-Laserpulsen einer Wellenlänge von 355 nm wechselwirken. Dabei gebildete sowie vernichtete Ladungsträger können im Falle von Ionen massenaufgelöst oder bei der Betrachtung von Photoelektronen richtungsaufgelöst über dafür vorgesehene Detektoreinheiten nachgewiesen werden. Dies erlaubt die Bestimmung komplementärer chiroptischer Observablen: Dem Circular dichroismus in totalen Ausbeuten (PICD) sowie dem Circular dichroismus in der Photoelektronen-Winkelverteilung (PECD).

Der neue experimentelle Aufbau wurde umfassend beschrieben und anhand verschiedener Testmessungen charakterisiert. Die Funktion der Ionen- und Elektronen-Analyse-einheiten konnte am Beispiel der Restgasionisation demonstriert werden. Das dreistufige lineare TOF-MS ermöglicht die massenspektrometrische Analyse von Ionen und der Elektronendetektor mit zwei Halbkreis-Anoden erlaubt den Nachweis von Photoelektronen, welche relativ zur Laserausbreitungsrichtung in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung emittiert wurden. Über ein elektrisches Querfeld zwischen zwei Ablenkplatten ist dabei eine Zentralisierung des Elektronenbildes auf besagter Achse möglich.

Das Pulsen des ursprünglich kontinuierlichen Ionenstrahls aus der ESI-Quelle durch Speicherung elektrosprayerter Ionen in einer Oktopol-falle erhöht die für Laserexperimente nutzbare Präkursorionendichte um mehrere Größenordnungen. Mit Hilfe einer Einzel-linse kann der Ionenstrahl bei der Überführung in den Interaktionsbereich fokussiert werden. Dies ermöglicht eine effiziente Überlagerung von Ionenpaketen und Laserpulsen bei respektabler Auflösung. Infolge der Nutzung eines Raumfokus zweiter Ordnung konnten Auflösungsvermögen des TOF-MS von bis zu $R_{\text{FWHM}} \approx 240$ erreicht werden. Durch effiziente Überlagerung von Ionen- und Laserpulsen in Raum und Zeit können si-

gnifikante Veränderungen im Massenspektrum sowie die Erzeugung von Photoelektronen herbeigeführt werden. So konnte beispielsweise eine Signalverarmung von bis zu 55 % für das einfach-deprotonierte 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) festgestellt werden. Bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Prozessen handelt es sich um Einphotonen-Photodetachmentvorgänge, wie Untersuchungen der Leistungsabhängigkeit verschiedener Ausbeutedifferenzen offenbarten.

Mittels eines $\lambda/4$ -Wellenplättchens konnten aus der dritten Harmonischen eines Nd:YAG-Lasers elliptisch polarisierte Laserpulse erzeugt werden. Es wurden zirkulare Polarisationsanteile für beide Lichthelizitäten von etwa 80 % erhalten. Die linearen Restanteile kamen jeweils auf der vertikalen Achse zum Liegen.

Die Eignung des beschriebenen Aufbaus für die Chiralitätsanalyse elektrosprayter Anionen wurde in *proof-of-principle*-Experimenten an zwei unterschiedlichen Aminosäuren untersucht.^[240] Als Analyten wurden 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA), ein Parkinson-Medikament, und die proteinogene Glutaminsäure (GLU) ausgewählt.

Im Falle von DOPA wurde das Photodetachment von Monoanionen $[M-H]^-$ untersucht. Über eine geeignete Wahl der experimentellen Bedingungen konnte eine grobe Selektion vorgenommen und andere Präkursorpezies nahezu vollständig unterdrückt werden. GLU zeigte bei der verwendeten Wellenlänge nur für dianionische Spezies eine signifikante Ausbeutedifferenz unter Lasereinwirkung. Das Photodetachment einer Verteilung unterschiedlich solvatisierter GLU-Dianionen $[(M-2H)(CH_3CN)_x(H_2O)_y]^{2-}$ wurde betrachtet. Dabei handelt es sich um einen dissoziativen Prozess, welchem ein Autodetachment der gebildeten decarboxylierten Radikalanionen folgen kann.

Der PICD wurde in der Verarmung der genannten Präkursoranionen, in totalen Photoelektronenausbeuten und – falls vorhanden – anhand der Bildung neuer Radikalanionen bestimmt. Trotz geringer Standardfehler im unteren Promille-Bereich konnte in keinem Fall eine Unterscheidung der Enantiomere vorgenommen werden, da jeweils für die L- und D-Aminosäuren im Rahmen der Fehlerbalken ununterscheidbare PICD-Werte erhalten wurden. Allerdings konnten immer wieder Abweichungen des PICD vom Nullwert bedingt durch apparative Anisotropien festgestellt werden.

Um Instabilitäten der Präkursorionenausbeute sowie mittleren Laserleistung im Messverlauf zu berücksichtigen, wurden verschiedene Normierungsansätze getestet und verglichen. Die Ausbeutedifferenzen der betrachteten Ladungsträger durch Lasereinwirkung wurden auf parallel gemessene Hintergrundionenausbeuten und/oder die mittlere Laserleistung bezogen. Es konnte zwar in einzelnen Fällen eine Reduzierung der Standardfeh-

ler belegt werden, allerdings war keine zuverlässige Kompensation systematischer Fehler bzw. instrumenteller Anisotropien nachzuweisen.

Durch eine Auswertung der in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung emittierten Photoelektronen konnte der PECD für die mittels ESI erzeugten Präkursorverteilungen der beiden Aminosäuren DOPA und GLU bestimmt werden (siehe Abb. 6.0.1).^[240] Für L- und D-DOPA wurden PECD-Werte von $-4.64\% \pm 0.24\%$ bzw. $4.36\% \pm 0.25\%$ erhalten. L- und D-GLU zeigten mit PECD-Werten von $3.62\% \pm 0.15\%$ bzw. $-3.79\% \pm 0.14\%$ weniger ausgeprägte Vorwärts-Rückwärts-Asymmetrien mit umgekehrtem Vorzeichen bei gleicher absoluter Konfiguration. Kontrollmessungen racemischer Gemische lieferten erwartungsgemäß PECD-Werte nahe oder gleich null.

Am Beispiel der hier untersuchten Aminosäuren wurde somit zum ersten Mal der Photoelektronen-Circulardichroismus im Photodetachment nachgewiesen.^[240] Die dabei beobachteten Anisotropien im einstelligen Prozentbereich belegen das Potential der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten ESI-PECD-Methodik für Chiralitätsanalysen.

Um die Erweiterung des zugänglichen Analytspektrums in den Bereich ausgedehnter molekularer Systeme durch die Nutzung einer ESI-Quelle zu demonstrieren, wurden chiroptische Studien an Gramicidin (GRA) durchgeführt. Es handelt sich um ein biologisches Polymer mit pharmakologischer Relevanz, genauer gesagt ein antibiotisches Peptid aus insgesamt 15 Aminosäure-Einheiten.

Das Photodetachment zweifach-deprotonierten Gramicidins wurde mit LCP- und RCP-Laserpulsen ausgelöst. PECD und PICD wurden anhand von Photoelektronenausbeuten in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung bzw. deren Summe bestimmt. Ziel der Untersuchungen des strukturell flexiblen Gramicidins war eine Bestätigung der Konformations-Empfindlichkeit des PECD für Photodetachmentvorgänge und damit die Demonstration der Eignung der ESI-PECD-Technik zur Charakterisierung der Sekundärstruktur von Biomolekülen in der Gasphase. Zu diesem Zweck wurde zunächst die Abhängigkeit des PECD von der Solventhistorie der Präkursorionen untersucht. Es wurden GRA-Lösungen aus reinem Methanol sowie Wasser/Methanol-Mischungen analysiert. Obwohl gemäß Literaturdaten^[276,289,290] und ECD-Spektren in der Flüssigphase unterschiedliche Konformationsverteilungen vorliegen, wurden in der Gasphase vergleichbare PECD- und PICD-Werte bestimmt. Dieses Resultat spricht für ähnliche Gasphasen-Konformationen, welche im Anbetracht einer strukturellen Equilibrierung in der Ionenfalle und dem möglichen Verlust nicht-kovalenter Bindungen bei der Überführung in die Gasphase rationalisiert werden können.

Da Gramicidin als Kanalbildner in Lipiddoppelschichten fungiert, sind die Anlagerung von Alkaliionen und damit einhergehende Strukturänderungen von besonderem Interesse. Auf Basis dieser Motivation wurde der Einfluss der Substitution von Protonen durch Caesiumionen auf die chiroptischen Observablen von GRA-Dianionen untersucht. Für die nach einer Zugabe von 40 eq. CsOH erhaltene Präkursorverteilung wurde ein positiver PECD von $0.45\% \pm 0.14\%$ gemessen. Dieser Wert weicht vom Resultat einer reinen GRA-Lösung mit $-0.46\% \pm 0.21\%$ ab (siehe Abb. 6.0.1). Die Veränderung des PECD kann durch elektronische Struktureinflüsse oder Konformationsanpassungen bei Cs^+ -Substitution zustande kommen. Der PICD-Wert blieb im Rahmen der Messunsicherheiten unverändert.

Neben der wichtigen Erkenntnis, dass mit Hilfe des neuen Aufbaus nun Messungen des PECD biologischer Makromoleküle möglich sind, konnten durch die Untersuchungen am Gramicidin erste Hinweise auf die prognostizierte Strukturempfindlichkeit des PECD im Photodetachment gefunden werden. Die beobachtete Vorzeicheninversion des PECD bei Cs^+ -Substitution könnte beispielsweise durch eine Änderung der Drehrichtung einer helikalen Sekundärstruktur zustande kommen. Zur Bestätigung dieser Hypothese wäre ein Vergleich mit quantenchemischen Rechnungen von Interesse.

In der folgenden Abbildung 6.0.1 sind die soeben beschriebenen PICD- und PECD-Resultate der drei untersuchten Analyten grafisch zusammengefasst. Der dargestellte PICD-Wert wurde anhand von Elektronenausbeuten bestimmt. Vergleichbare Resultate wurden jedoch auch für die Bestimmung von Anisotropien in ionischen Ausbeuten erhalten.

Der direkte Vergleich der beiden komplementären chiroptischen Messgrößen PICD und PECD zeigt, dass sowohl für DOPA und GLU als auch für GRA Informationen in der Photoelektronen-Winkelverteilung gewonnen werden können, wo die totalen Ausbeutedifferenzen keinen relevanten CD-Effekt zeigen. Der PICD und dessen Eignung für die Enantiomerendifferenzierung sowie strukturelle Charakterisierung von elektrosprayten Anionen wurde im letzten Jahr am Beispiel von DNA-Strängen zum ersten Mal von DALY et al. beschrieben.^[111] Für die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Analytsysteme konnten anhand des PICD jedoch keine Differenzierungen zwischen Enantiomeren vorgenommen werden. Zudem wurden an verschiedenen Stellen systematische Fehler durch instrumentelle Anisotropien beobachtet.

Im Falle des PECD ist – im Gegensatz zum PICD^[111] – keine Normierung der betrachteten Ausbeuten erforderlich, denn Asymmetrien in der Photoelektronen-Winkelverteilung

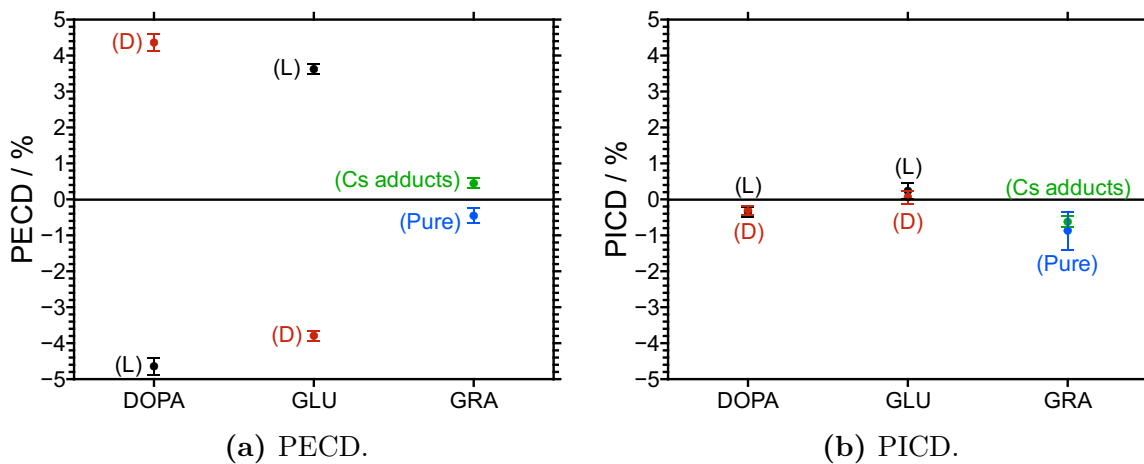


Abbildung 5.0.1: Circulardichroismus in richtungsaufgelösten (PECD) sowie totalen, unnormierten Elektronenausbeuten (PICD) beim Photodetachment elektrosprayter Anionen von L- und D-3,4-Dihydroxyphenylalanin^[240] (DOPA), L- und D-Glutaminsäure^[240] (GLU) sowie Gramicidin (GRA) mit und ohne angelagerte Caesiumionen.

lung können pro Laserschuss ausgewertet werden. Zudem ist die Aufhebung apparativer Asymmetrien, wie z. B. einer nicht ideal zentrischen Abbildung auf den Detektor, durch eine Symmetrisierung der für LCP- und RCP-Pulse erhaltenen Daten möglich.

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte ESI-PECD-Methodik, d. h. die Untersuchung des PECD im Photodetachment elektrosprayter Anionen, hat zahlreiche Vorteile gegenüber der bis zum jetzigen Zeitpunkt etablierten Messung des PECD in der Photoionisation von Neutralteilchen. Neben der bereits erwähnten Erweiterung des Analytenspektrums bietet die Nutzung einer ESI-Quelle inhärent auch Zugang zu anionischen Präkursorpezies. Letztere können im Allgemeinen durch einzelne UV-Photonen photodetacht werden. Damit entfallen scharfe Resonanzbedingungen als Voraussetzung. Dies verspricht eine allgemeine Anwendbarkeit der Methodik, auch für beispielsweise Substanzgemische. Die Interpretation des PECD wird zudem durch die Vermeidung einer Abhängigkeit vom Zwischenzustand und damit einhergehenden Orientierungseffekten^[77,107–110] vereinfacht.

Ein weiterer positiver Nebeneffekt der Nutzung von anionischen Vorläuferspezies ist eine Reduzierung der technischen Anforderungen an die verwendeten Lichtquellen. Verglichen mit Multiphotonen-Laborexperimenten wird weniger Intensität benötigt und im Vergleich mit Synchrotron-Studien ist deutlich weniger Photonenenergie erforderlich. Zudem bieten geladene Präkursoren die Möglichkeit zur Massenselektion und er-

lauben somit eine massenaufgelöste Bestimmung des PECD ohne die Anwendung von Koinzidenz-Techniken, welche im Allgemeinen lange Messzeiten durch eine Limitierung der Zählraten zur Folge haben.

6 Summary

In the scope of this work a new chirality spectrometer was designed and built for chiroptical studies of electrosprayed anions. To this end, a commercial ESI source was coupled with a linear time-of-flight mass spectrometer. In the center of the chirality spectrometer ion packages can interact with circular polarized nanosecond laser pulses with a wavelength of 355 nm. Created and depleted charge carriers can be detected mass-resolved in case of ions or direction-resolved in case of photoelectrons by two individual detector units. This allows the determination of complementary chiroptical observables: The circular dichroism in total ion yields (PICD) and the circular dichroism in the photoelectron angular distribution (PECD).

The new experimental setup was presented in detail and characterized by a variety of measurements.

Full functionality of the ion and electron analyzer units has been demonstrated for the example of residual gas ionization. Mass spectrometric separation of ions is realized by a three-stage linear TOF-MS. The electron detector with two half circle anodes allows the quantification of photoelectrons emitted in forward and backward direction relative to the propagation direction of the laser beam. By using a lateral electric field between two deflection plates, the electron image can be centered on this axis.

By pulsing the initially continuous ion beam coming from the ESI source using an octopole ion trap, the precursor ion density for laser experiments can be increased by multiple orders of magnitude. The ions can be focused by means of an einzel lens during the transfer into the interaction region. This enables an efficient overlap of ion packages with laser pulses and permits the acquisition of mass spectra with reasonable resolution. Resolving powers of $R_{\text{FWHM}} \approx 240$ can be achieved by utilizing a second order space focus.

Due to an efficient spatial as well as temporal overlap of ion and laser pulses, significant changes of the mass spectra and the emission of photoelectrons can be induced. For example, a signal depletion of up to 55% was observed for singly-deprotonated 3,4-

Dihydroxyphenylalanine (DOPA). An investigation of the induced signal differences as a function of laser power revealed that all processes studied in this work are caused by single-photon detachment.

By means of a quarter wave plate, elliptical polarized laser pulses were generated from the third harmonic of a Nd:YAG laser. Circular polarization percentages of ca. 80% were determined. Linear polarization components were oriented along the vertical axis.

The viability of the presented setup for chirality analysis of electrosprayed anions was demonstrated in proof of principle experiments on amino acids. 3,4-Dihydroxyphenylalanine (DOPA), an anti-Parkinson agent, and the proteinogenic glutamic acid were chosen as analytes.

In case of DOPA the photodetachment of monoanions $[M-H]^-$ was investigated. By choosing appropriate experimental conditions, a rough selection of precursors could be achieved and further ionic species were almost completely discriminated. For GLU only dianions exhibit significant yield changes under influence of the laser. Hence, the photodetachment of a distribution of solvated dianions $[(M-2H)(CH_3CN)_x(H_2O)_y]^{2-}$ was studied. The latter is a dissociative process, which can be followed by an autodetachment of the generated decarboxylated radical anions.

The PICD was determined in different ways using the depletion of the precursor ions, the total photoelectron yields and – if applicable – the yields of created radical anions. Despite low standard errors in the permille range, no distinction between enantiomers was possible due to undistinguishable PICD-Values of the L- und D-amino acids. Yet, in a number of cases nonzero PICD values were caused by an instrument-based anisotropy. Different normalization approaches were tested and compared to take instabilities of the precursor ion density and the mean laser power into account. Yield differences of the charge carriers of interest caused by photodetachment were normalized to the simultaneously measured background ion yield and/or the mean laser power. In some cases, a decrease of standard errors was apparent, but no reliable compensation of systematic errors could be observed.

The PECD of anionic precursor distributions created by electrospray ionization of the amino acids DOPA and GLU was determined by evaluation of the photoelectrons emitted in forward and backward direction (see figure 6.0.1). PECD values of $-4.64\% \pm 0.24\%$ and $4.36\% \pm 0.25\%$ were obtained for L- and D-DOPA, respectively. L- and D-GLU exhibit inverted signs and less pronounced asymmetries in the photoelectron angular distribution, as can be seen in their PECD values of $3.62\% \pm 0.15\%$ and $-3.79\% \pm 0.14\%$,

respectively. Control measurements using racemic mixtures resulted in PECD values close to or equal to zero, as expected.

Using two different amino acids as examples, the photoelectron circular dichroism was detected in the photodetachment for the first time.^[240] Anisotropies in the photoelectron angular distribution of several percent reveal the capability of the new ESI-PECD method for chirality analysis.

Chiroptical studies of gramicidin were conducted to demonstrate the extension of the scope of the PECD technique by the utilization of an ESI source. Gramicidin is a biopolymer of pharmacological relevance. More precisely, it is an antibiotic peptide consisting of 15 amino acids.

Photodetachment of doubly deprotonated gramicidin was enforced by LCP and RCP laser pulses. PECD and PICD were determined using the photoelectron yields in forward as well as backward direction and their sum, respectively. Objectives of these experiments on structurally flexible gramicidin were the affirmation of the conformation sensitivity of the PECD for photodetachment processes and with that the demonstration of the viability of the ESI-PECD method for characterization of secondary structures of biopolymers in the gas phase. To this end, the influence of the solvent history of the precursor ions on the PECD value was investigated. GRA solutions made from pure methanol and water/methanol mixtures were analyzed. Despite having different conformational distributions in the liquid phase according to literature^[276,289,290] and ECD data, comparable PECD and PICD values were obtained for the gas phase. This result indicates similar gas phase conformations and can be interpreted in the light of structural equilibration within the ion trap and the possible loss of non-covalent bonds. Since gramicidin forms ion channels in phospholipid membranes, the binding of alkali ions and associated structural changes are of special interest. On this basis, the influence of substitution of caesium ions for protons on the PECD of gramicidin dianions has been investigated. For the precursor ion distribution after adding 40 eq. of CsOH to a GRA solution, a PECD of $0.45\% \pm 0.14\%$ was measured. This value deviates from the result of $-0.46\% \pm 0.21\%$ which was obtained for a pure GRA solution (see figure 6.0.1). The alteration of the PECD value can be either attributed to changes of the electronic structure or conformation by Cs⁺ substitution. Within the standard errors the PICD is not affected.

In addition to the finding that using the new setup the PECD analysis of biopolymers is now possible, first indications for the predicted conformational sensitivity of the PECD

in the photodetachment were found during chiroptical experiments on gramicidin. The observed sign inversion of the PECD upon Cs⁺ substitution could be caused by a change of the sense of rotation of a helical secondary structure. To confirm this hypothesis, comparison with quantum chemical data would be of interest.

The PICD and PECD results of the three different analytes investigated in this work are summarized in figure 6.0.1. The plotted PICD values were measured in total electron yields. Similar results were obtained for determining anisotropies in ion yields.

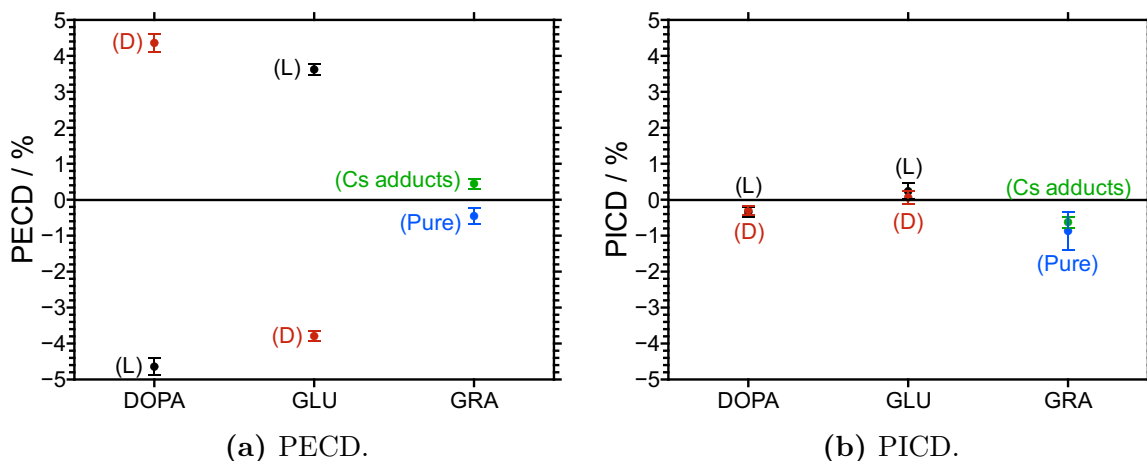


Figure 6.0.1: Circular dichroism in directionally resolved (PECD) as well as total unnormalized electron yields (PICD) for the photodetachment of electrosprayed L- and D-3,4-Dihydroxyphenylalanine^[240] (DOPA), L- and D-glutamic acid^[240] (GLU) as well as Gramicidin (GRA) with and without caesium ions.

Direct comparison of the complementary chiroptical values PICD and PECD reveals that for DOPA and GLU as well as GRA valuable information can be gained in the photoelectron angular distribution, while no relevant circular dichroism can be observed in the total yield differences. The PICD and its viability for chiral discrimination and structural characterization of electrosprayed anions was first reported last year by DALY et al. for DNA strands.^[111] For the analytes which were investigated in the present case, no distinction between enantiomers was possible based on the PICD. Furthermore, systematic errors caused by setup-based anisotropies were encountered in a number of cases.

In case of the PECD, no normalization of photoelectron yields is necessary due to the possibility of determining the forward-backward asymmetry each laser shot. In addition to that, the compensation of setup-based asymmetries like a non-central projection on

the detector can be realized by symmetrization using data for LCP and RCP laser pulses. The ESI-PECD method reported in this work, i.e., measuring of the PECD in the photodetachment of electrosprayed anions, offers numerous advantages over the classic PECD approach which is based on the photoionization of neutrals. Apart from the already mentioned extension of the investigateable analyte range, the utilization of an ESI source offers access to anionic precursors. In general, these can be photodetached by single UV photons, hence no sharp resonance conditions apply. This suggests a universal applicability of the method even for mixtures. Additionally, the interpretation of PECD values is simplified by avoiding dependencies on the intermediate state and associated alignment effects.^[77,107–110]

A positive side effect of using anionic precursors is the reduction of technical requirements regarding the light sources used. Compared to multiphoton experiments, less intensity is needed, and compared to synchrotron studies, lower photon energies are sufficient. Furthermore, the use of charged analytes enables the implementation of precursor mass selection. In this way, the mass-resolved measurement of the PECD can be achieved, overcoming the need for mass-tagging electrons by coincidence techniques which limit count rates and thus cause long measurement times.

7 Ausblick

Diese Arbeit bietet durch die erstmalige Kombination der etablierten ESI-Methode mit der aufstrebenden PECD-Technik einen Ausgangspunkt für etliche zuvor nicht mögliche Experimente. Die Nutzung einer ESI-Quelle erweitert den Anwendungsbereich von kleinen, volatilen Molekülen auf Makromoleküle, welche z. B. für vielfältige medizinische und pharmazeutische Fragestellungen von Interesse sind.

Um das volle Potential bzw. die gesamte Dimensionalität der ESI-PECD-Methode ausnutzen zu können, sind folgende apparative Erweiterungen von Interesse:

1. Durch die Ergänzung einer Massenselektionsstufe vor der Laserinteraktionsregion könnten Tandem-MS-Experimente an ausgewählten Präkursoranionen durchgeführt werden. Diese Erweiterung würde somit unter anderem die gezielte Untersuchung der Einflüsse von Solvathülle, Ionenanlagerung und Ladungszustand auf den PECD von elektrosprayten Anionen ermöglichen. Entsprechende Studien wären beispielsweise an den auch im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Analyten Glutaminsäure und Gramicidin (mit CsOH) vorstellbar.
2. Die Verwendung einer Lichtquelle variabler Wellenlänge würde eine zusätzliche Dimension schaffen, welche interessant für strukturelle Charakterisierungen und nützlich für die quantitative Enantiomerendifferenzierung wäre. Im Falle von Konformationsstudien könnten spektrale Features des Circular dichroismus mit experimentellen oder theoretischen Verläufen verglichen werden.^[62,111] Für die Messung von Enantiomerenüberschüssen (e.e.) kann eine vorhergehende Optimierung der chiralen Antwort anhand dieses Parameters hilfreich sein. Geeignete durchstimmbare Lichtquellen wären beispielsweise ein (frequenzverdoppelter) Farbstofflaser oder ein optisch parametrischer Oszillator (OPO).
3. Durch die Ergänzung eines ortsauflösenden Elektronendetektors könnten im Rahmen des sogenannten *Velocity Map Imaging* die kinetischen Energien der untersuchten Photoelektronen bestimmt werden.^[206] Dies ermöglicht die selektive Auswertung des Circular dichroismus in der Winkelverteilung von Photoelektronen be-

stimmter kinetischer Energien.^[47] Eine solche Technik könnte beispielsweise mit Hilfe einer Ersetzung der Kupferanoden durch einen Phosphorschirm mit CCD-Kamera realisiert werden.^[46,297] Ein Beispiel für ein mögliches Anwendungsgebiet wäre die getrennte Untersuchung der Elektronen, welche im Photo- und Auto-detachment von Glutaminsäure-Dianionen gebildet werden.

Neben den aufgeführten Punkten, welche jeweils eine neue analytische Dimension eröffnen, wäre auch eine Erhöhung des Auflösungsvermögens des Flugzeitmassenspektrometers durch die Implementierung eines Reflektrons attraktiv. Diese würde die Aufklärung ablaufender Photodetachmentprozesse für Ionen hoher m/z -Verhältnisse vereinfachen. Mit diesen oder Teilen dieser Anpassungen des experimentellen Aufbaus können verschiedene wissenschaftliche Themen bearbeitet werden. Zentrale Fragestellungen, welche sich den im Rahmen dieser Arbeit erbrachten *proof-of-principle*-Resultaten anschließen, betreffen dabei vor allem die weiterführende Aufklärung grundlegender Eigenschaften der neuen ESI-PECD-Methodik.

Einerseits stellt sich die Frage, welche PECD-Einflüsse aus den Eigenheiten der Nutzung einer ESI-Quelle zur Präkursorpräparation folgen. Im Detail umfasst dies Effekte durch den Ladungscharakter und die gegebenenfalls angelagerten Ionen oder Lösungsmittelmoleküle. Es konnten bereits indirekte Hinweise auf Solventeffekte im Falle der Glutaminsäure beobachtet werden. Zur Quantifizierung dieser und weiterer Effekte ist jedoch eine massenaufgelöste ESI-PECD-Untersuchung notwendig. Außerdem wäre eine vergleichende Studie mit Photoionisations-PECD-Messungen nützlich, um etwaige Unterschiede der Methodiken aufzuklären.

Andererseits besteht Bedarf zur tiefergehenden Aufklärung der strukturellen Sensitivität des PECD von biomolekularen Anionen. Erste Hinweise auf mögliche Konformationseinflüsse konnten in dieser Arbeit am Beispiel des Gramicidins beobachtet werden. Zur Bestätigung der in diesem Zusammenhang aufgestellten Hypothesen könnte ein Vergleich mit quantenchemisch bestimmten Sekundärstrukturen der entsprechenden Präkursoranionen dienen. Ebenfalls könnte eine massenaufgelöste Untersuchung des PECD von Cs-substituierten Gramicidin-Dianionen helfen eine Differenzierung zwischen Einflüssen der elektronischen Struktur und Konformationsänderungen vorzunehmen.

Alternativ können andere Analytensysteme für den Beweis der Strukturempfindlichkeit der ESI-PECD-Methodik herangezogen werden. Denkbar wäre die Untersuchung minimal chemisch modifizierter Moleküle, die bekanntermaßen unterschiedliche Sekundärstrukturen ausbilden. Ebenso könnte die Faltungsdynamik bei einer Strukturanpassung an die Gasphasenumgebung verfolgt werden, indem eine Variation der Transfer- bzw.

Speicherungszeiten im Massenspektrometer erfolgt.

Die bis hierher aufgeführten Stoßrichtungen befassen sich mit der PECD-Methodik. Im neu entwickelten Chiralitätsspektrometer ist allerdings nachgewiesenermaßen auch der PICD bestimmbar. Im Rahmen dieser Arbeit wurde festgestellt, dass dieser in den gewählten Fällen weniger sensitiv auf Änderungen der absoluten Konfiguration (DOPA und GLU) und elektronischen Struktur bzw. Konformation (GRA) ist. Jedoch könnte es sich hier – in Anbetracht eines Vergleiches mit Referenz [111] – um Einzelfälle handeln. Eine Untersuchung weiterer Analyten wäre daher von Interesse. Um instrumentelle Anisotropien korrigieren zu können, würde sich dabei die Nutzung von achiralen Referenzsubstanzen anbieten.^[38]

8 Anhang

8.1 SIMION-Simulationen

8.1.1 Ionentransfer

Der Ionentransfer aus der linearen Oktupolfalle in den Extraktionsbereich des Flugzeitmassenspektrometers wurde mittels SIMION 8.1 unter den in Tabelle 8.1.1 aufgelisteten Einstellungen simuliert. Die verwendeten Spannungen wurden in Anlehnung an Experimente am 3,4-Dihydroxyphenylalanin gewählt. Einfach geladene Anionen eines Masse-zu-Ladungsverhältnisses von 196 wurden im Oktupol mit einer zylindrischen Startortsverteilung erstellt. Im Oktupol-Bereich, d. h. bis zum Mittelpunkt der Ausgangslinse, werden Stöße mit Stickstoff-Teilchen nach einem Harte-Kugelmodell (HS1) simuliert. Um den Zustand der Ionenfalle im Experiment annähernd nachzubilden, können sich die Ionen mit einer kinetischen Startenergie von 0.1 eV für einen Zeitraum von 100 μ s im Multipol verteilen, bevor die Ausgangslinse mit einem rechteckigen Spannungspuls beaufschlagt wird. Dieser Spannungspuls hat eine Länge von 2 μ s, obwohl im Experiment schmalere Pulsbreiten von 300 ns verwendet wurden, da für die exakte Umsetzung des experimentellen Wertes in der Simulation keine Transmission beobachtet werden konnte. Diese Diskrepanz zwischen Simulation und Experiment könnte durch die im Rahmen der Simulation fehlende COULOMB-Abstoßung zwischen Ionen zustande kommen. Diese ist im Experiment aufgrund der hohen Ionendichten in der Oktupolfalle nicht vernachlässigbar.

Der Multipol wurde in der Simulation mit einer Länge von nur 10 mm deutlich verkürzt implementiert, um den Rechenaufwand in einem bewältigbaren Bereich zu halten. Eine solche Näherung erscheint legitim, da die Extraktion von Ionenpaketen beim kurzen Öffnen der Ausgangslinse ohnehin primär aus dem nahegelegenen vorderen Bereich des Multipols erfolgt. Um die Fallenfunktion nachstellen zu können, wurde der Oktupol an dessen Eingang mit einer planaren Linse auf Massepotential versehen, welche den Skimmer im realen Aufbau repräsentiert. Die Ionen gelangen hinter der Ausgangslinse durch

die Einzellinse in den Exktraktionsbereich des TOF-MS. Dieser Bereich ist ebenfalls nicht vollständig in der Simulation abgebildet. Aus Effizienzgründen wurde lediglich der Bereich bis einschließlich des Zentrums der elektrostatischen Linsen L1 und L2 beschrieben.

Die gegebenen Transmissionswerte und die Ausdehnung des Ionenstrahls orthogonal zur Transferachse wurden anhand der Simulation von 10000 Ionen bestimmt.

Tabelle 8.1.1: SIMION-Einstellungen für die Simulation des Ionentransfers aus dem Oktopol in das Flugzeitmassenspektrometer.

Parameter	Wert
RF-Amplitude (p/p) des Oktopols $U_{\text{oct,RF}}$ / V	200
DC-Bias des Oktopols $U_{\text{oct,bias}}$ / V	3
Ausgangslinsen-Amplitude U_{exit} / V	25
Bias der Linsen L1 und L2 $U_{\text{extr}} = U_{\text{L1}} = U_{\text{L2}}$ / V	0.5
Einzellinsen-Referenzspannung $U_{\text{E1,E3}}$ / V	25
Einzellinsen-Fokusspannung U_{E2} / V	120
Anzahl der simulierten Ladungsträger N	1000 ^a , 10000 ^b
Masse / u	196
Ladung / e	-1
Erzeugungsort	Zentrum des Oktopols
Startpositionsverteilung	Zylindrisch auf ESI-Achse: Radius = 1 mm, Länge = 5 mm
Kinetische Startenergie / eV	0.1 ^c
Temperatur des Hintergrundgases / K	300
Stoßquerschnitt des Hintergrundgases / m ²	$2.27 \cdot 10^{-18}$
Masse des Hintergrundgases / u	28
Druck im Oktopol-Bereich / Pa	0.1
Radio-Frequenz des Oktopols / Hz	$2.4 \cdot 10^6$
Verzögerung des Ausgangslinsenpulses / μs	100
Pulslänge des Ausgangslinsenpulses / μs	2

^a Zur Darstellung von Trajektorien.

^b Bestimmung der Transmission und räumlichen Verteilung der Ionen.

^c Entlang der ESI-Achse.

8.1.2 Lineares Flugzeitmassenspektrometer

Der Vorgang einer Massenanalyse im dreistufigen TOF-MS-Eigenbau wurde mit Hilfe von SIMION 8.1 simuliert. Die Spannungen der verschiedenen Elektroden wurden typischen experimentellen Einstellungen entsprechend festgelegt. Als Testspezies dienten

100 Anionen mit einem Masse-zu-Ladungsverhältnis von 196, welche mit einer zylindrischen Startortsverteilung und einer fixen kinetischen Startenergieverteilung im Zentrum des TOF-MS erstellt wurden. Entsprechend dem realen Experiment wurde die Repellerlinse mit einer zeitabhängigen Spannung, genauer gesagt einem Rechteckpuls mit einer linearen Anstiegsflanke, belegt. Alle Simulationsparameter sind in Tabelle 8.1.2 zusammengefasst.

Tabelle 8.1.2: SIMION-Einstellungen für die Simulation des dreistufigen, linearen Flugzeitmassenspektrometers.

Parameter	Wert
Repeller-Amplitude $U_{L1,amp}$ / V	-300
Bias der Linsen L1 und L2 $U_{L1,bias} = U_{L2}$ / V	0.5
Einzellinsen-Referenzspannung $U_{E1,E3}$ / V	25
Spannung der Linse L3 U_{L3} / V	300
Flugrohrspannung U_{iDT} / V	1800
Detektor-Eingangsspannung / V	1700
Anzahl der simulierten Ladungsträger N	100
Masse / u	196
Ladung / e	-1
Erzeugungsort	Zentrum des TOF-MS
Startpositionsverteilung	Zylindrisch auf ESI-Achse: Radius = 2 mm, Länge = 20 mm
Kinetische Startenergie / eV	Variiert ^a
Dauer der Anstiegsflanke / μ s	0.1
Extraktionspulslänge / μ s	4

^a Siehe Bildunterschriften in Abb. 3.2.8.

8.1.3 Elektronenprojektion

Die Projektion von Elektronen mittels verschiedener elektrostatischer Optiken auf einen MCP-Detektor mit zweigeteilter Anode wurde in der Software SIMION 8.1 simuliert. Die Spannungen der verschiedenen Komponenten wurden auch in diesem Fall typischen experimentellen Einstellungen für Untersuchungen an 3,4-Dihydroxyphenylalanin nachempfunden. Es wurden Trajektorien für insgesamt 100 Elektronen simuliert. Letztere wurden auf einem Zylinder verteilt im Zentrum der Linsen L1 und L2 erzeugt und zudem mit einer kinetischen Startenergie von 1 eV bei zufälliger Verteilung in alle Raumrichtungen beaufschlagt. In der Simulation wurde ein idealer rechteckiger Spannungspuls an die Repellerelektrode L2 angelegt. Um die Funktion der Ablenkungsplatten zu testen,

wurden Simulationen mit und ohne elektrisches Querfeld durchgeführt. Alle Simulationsparameter sind wiederum in Tabelle 8.1.2 zusammengefasst.

Tabelle 8.1.3: SIMION-Einstellungen zur Simulation der Elektronenabbildung auf den MCP-Detektor mit zweigeteilter Anode.

Parameter	Wert
Repeller-Amplitude $U_{L2,amp}$ / V	-150
Bias der Linsen L1 und L2 $U_{L1} = U_{L2,bias}$ / V	0.5
Einzellinsen-Referenzspannung $U_{E1,E3}$ / V	25
Vorwärts-Deflektorspannung $U_{DEFL,FWD}$ / V	150 ^a , 170 ^b
Rückwärts-Deflektorspannung $U_{DEFL,BWD}$ / V	150 ^a , 130 ^b
Flugrohrspannung U_{eDT} / V	300
Detektor-Eingangsspannung / V	500
Anzahl der simulierten Ladungsträger N	100
Masse / u	0.00055
Ladung / e	-1
Erzeugungsort	Zentrum des TOF-MS
Startpositionsverteilung	Zylindrisch auf ESI-Achse: Radius = 2 mm, Länge = 5 mm
Kinetische Startenergie / eV	1 eV ^c
Dauer der Anstiegsflanke / μ s	0
Verzögerung des Extraktionspulses / μ s	0
Extraktionspulslänge / μ s	4

^a Keine Ablenkung.

^b Ablenkung durch ein Querfeld von 20 V cm^{-1} .

^c In alle Raumrichtungen verteilt.

8.2 Experimentelle Bedingungen

Im Folgenden sind sortiert nach den verschiedenen Analytmolekülen und der jeweils untersuchten chiroptischen Observable (PICD und PECD) die verwendeten experimentellen Einstellungen tabellarisch aufgeführt. Relative Zeitangaben beziehen sich auf das Triggersignal des Lasers.

8.2.1 3,4-Dihydroxyphenylalanin

Für alle CD-Studien wurden Lösungen der Enantiomere des 3,4-Dihydroxyphenylalanins in einer 1:3-Mischung (v/v) aus Wasser und Acetonitril mit einer Konzentration von $c = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$ verwendet. Es kamen keine Additive zum Einsatz.

PICD

Tabelle 8.2.1: Einstellungen des ESI-TOF-Massenspektrometers für Messungen des PICD von DOPA-Anionen.

	Parameter	Wert
ESI-Quelle	Probenflussrate Q_{sample}	10 $\mu\text{L min}^{-1}$
	Sheathgas-Druck p_{sheath}	40 psi - 41 psi
	Spray-Spannung U_{spray}	-3.5 kV
	Kapillaren-Spannung U_{cap}	-10 V
	Rohrlinsen-Spannung U_{tube}	-50 V
Ionenführung	Oktopol-RF-Amplitude (p/p) $U_{\text{oct,RF}}$	250 V, 300 V ^a
	Oktopol-Bias $U_{\text{oct,bias}}$	3 V
	Ausgangslinsen-Spannung U_{exit}	25 V
	Einzellinsen-Referenzspannung $U_{\text{E1,E3}}$	25 V
	Einzellinsen-Fokusspannung U_{E2}	120 V
	Ionenfallen-Gatepulsbreite w_{trap}	300 ns
TOF-MS	Extraktionszonenbias $U_{\text{extr}} = U_{\text{L1,bias}} = U_{\text{L2}}$	0.5 V
	L1-Amplitude $U_{\text{L1,amp}}$	-300 V
	L3-Spannung U_{L3}	300 V
	Ionen-Flugrohrspannung U_{iDT}	1.8 kV
	Ionen-MCP-Spannung U_{iMCP}	3.9 kV
	Ionenfallenverzögerung Δt_{trap}	-21 μs
	Extraktionsverzögerung Δt_{extr}	4 μs
	Extraktionspulsbreite w_{extr}	4 μs
Laser	Pulsenergie E_{pulse}	31 mJ
Datenverarbeitung	Sampling-Intervall $\Delta t_{\text{adc,sample}}$	1 ns
	Trigger-Verzögerung $\Delta t_{\text{adc,delay}}$	6 μs
	ADC-Messbereich $U_{\text{adc,FS}}$	2.0 V
	ADC-Offset $U_{\text{adc,offset}}$	0.5 V

^a RF-Amplitude wurde für Messtage 2 und 3 leicht erhöht.

Tabelle 8.2.2: Auswertungseinstellungen zur Berechnung von PICD-Werten von DOPA-Anionen anhand von Ionenausbeuten.

	Parameter	Wert
Integrationsgrenzen	Startflugzeit ($m/z = 196$)	11.51 μs
	Endflugzeit ($m/z = 196$)	11.68 μs
Basislinien-Korrektur	Anpassungsbeginn	6.0 μs
	Anpassungsende	6.1 μs
	Anwendung	1x pro Laserschuss ^a
<i>pass</i> -Sortierung	Saturierungsüberprüfung	Aus ^b
	Ausreißerbestimmung	Aus

^a Aufeinanderfolgende Spektren mit und ohne Laser erfahren dieselbe Korrektur.

^b Kontrolle zeigte keine Saturierungseffekte.

Tabelle 8.2.3: Auswertungseinstellungen zur Berechnung von PICD-Werten von DOPA-Anionen anhand von Elektronenausbeuten.

	Parameter	Wert
Integrationsgrenzen	Startflugzeit (Elektronen)	0.175 μs - 0.178 μs ^a
	Endflugzeit (Elektronen)	0.186 μs - 0.190 μs ^a
	Startflugzeit ($m/z = 196$)	7.100 μs
	Endflugzeit ($m/z = 196$)	7.255 μs - 7.275 μs ^a
Basislinien-Korrektur	Anpassungsbeginn	0.0 μs
	Anpassungsende	0.1 μs
	Anwendung	1x pro Laserschuss ^b
<i>pass</i> -Sortierung	Saturierungsüberprüfung	Aus ^c
	Ausreißerbestimmung	Aus

^a Passende Wahl für einzelne *runs*.

^b Aufeinanderfolgende Spektren mit und ohne Laser erfahren dieselbe Korrektur.

^c Kontrolle zeigt keine Saturierungseffekte.

PECD

Tabelle 8.2.4: Einstellungen des ESI-TOF-Massenspektrometers für Messungen des PECD von DOPA-Anionen.

	Parameter	Wert
ESI-Quelle	Probenflussrate Q_{sample}	$10 \mu\text{L min}^{-1}$
	Sheathgas-Druck p_{sheath}	38 psi - 40 psi
	Spray-Spannung U_{spray}	$-3.5 \text{ kV}, -4.0 \text{ kV}^{\text{a}}$
	Kapillaren-Spannung U_{cap}	-10 V
	Rohrlinsen-Spannung U_{tube}	-50 V
Ionenführung	Oktopol-RF-Amplitude (p/p) $U_{\text{oct,RF}}$	150 V
	Oktopol-Bias $U_{\text{oct,bias}}$	3 V
	Ausgangslinsen-Spannung U_{exit}	25 V
	Einzellinsen-Referenzspannung $U_{\text{E1,E3}}$	25 V
	Einzellinsen-Fokusspannung U_{E2}	120 V
	Ionenfallen-Gatepulsbreite w_{trap}	300 ns
TOF-MS	Extraktionszonenbias $U_{\text{extr}} = U_{\text{L1}} = U_{\text{L2,bias}}$	0.5 V
	L2-Amplitude $U_{\text{L2,amp}}$	-150 V
	FWD-Ablenkspannung $U_{\text{DEFL,FWD}}$	150 V^{b}
	BWD-Ablenkspannung $U_{\text{DEFL,BWD}}$	150 V^{b}
	Elektronen-Flugrohrspannung U_{eDT}	300 V
	Elektronen-MCP-Spannung U_{eMCP}	2.4 kV
	Ionenfallenverzögerung Δt_{trap}	$-26 \mu\text{s}$
	Extraktionsverzögerung Δt_{extr}	$0.33 \mu\text{s}$
	Extraktionspulsbreite w_{extr}	$4 \mu\text{s}$
Laser	Pulsenergie E_{pulse}	0.4 mJ
Datenverarbeitung	Sampling-Intervall $\Delta t_{\text{adc,sample}}$	1 ns
	Trigger-Verzögerung $\Delta t_{\text{adc,delay}}$	$0 \mu\text{s}$
	ADC-Messbereich $U_{\text{adc,FS}}$	$1.0 \text{ V}, 2.0 \text{ V}^{\text{c}}$
	Spannungsoffset $U_{\text{adc,offset}}$	$0.25 \text{ V}, 0.5 \text{ V}^{\text{c}}$

^a $Pass \geq 800$.^b Leichte Anpassungen ($\pm 1 \text{ V}$) zwischen *runs* zur Zentrierung des Elektronenbildes.^c Messbereich wurde an die jeweilige Signalintensität angepasst.

Tabelle 8.2.5: Auswertungseinstellungen zur Berechnung von PECD-Werten von DOPA-Anionen.

	Parameter	Wert
Integrationsgrenzen	Startflugzeit (Elektronen)	0.175 μs
	Endflugzeit (Elektronen)	0.186 μs
Basislinien-Korrektur	Anpassungsbeginn	0.0 μs
	Anpassungsende	0.1 μs
	Anwendung	1x pro Laserschuss ^a
<i>pass</i> -Sortierung	Saturierungsüberprüfung	Aus ^b
	Ausreißerbestimmung	Aus

^a Aufeinanderfolgende Spektren mit und ohne Laser erfahren dieselbe Korrektur.

^b Kontrolle zeigte keine Saturierungseffekte.

8.2.2 Glutaminsäure

Glutaminsäure wurde aus Lösungen mit Konzentrationen von $c = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$ bis $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ in 1:3-Mischungen (v/v) von Wasser und Acetonitril elektrosprayt. Als Additiv wurden jeweils 2 eq. Natriumhydroxid zugegeben.

Charakterisierung

Tabelle 8.2.6: Einstellungen des ESI-TOF-Massenspektrometers zur Charakterisierung anhand von Glutaminsäure-Anionen.

	Parameter	Wert
ESI-Quelle	Probenflussrate Q_{sample}	20 $\mu\text{L min}^{-1}$
	Sheathgas-Druck p_{sheath}	41 psi - 42 psi
	Spray-Spannung U_{spray}	-3.0 kV
	Kapillaren-Spannung U_{cap}	-10 V
	Rohrlinsen-Spannung U_{tube}	-50 V
Ionenführung	Oktopol-RF-Amplitude (p/p) $U_{\text{oct,RF}}$	61 V
	Oktopol-Bias $U_{\text{oct,bias}}$	0.5 V
	Ausgangslinsen-Spannung U_{exit}	25 V
	Einzellinsen-Referenzspannung $U_{\text{E1,E3}}$	20 V
	Einzellinsen-Fokusspannung U_{E2}	100 V
	Ionenfallen-Gatepulsbreite w_{trap}	300 ns
TOF-MS	Extraktionszonenbias $U_{\text{extr}} = U_{\text{L2}} = U_{\text{L1,bias}}$	0.5 V
	L1-Amplitude $U_{\text{L1,amp}}$	-299 V
	L3-Spannung U_{L3}	301 V
	Ionen-Flugrohrspannung U_{iDT}	1801 V
	Ionen-MCP-Spannung U_{iMCP}	3899 kV
	Ionenfallenverzögerung Δt_{trap}	-16 μs
	Extraktionsverzögerung Δt_{extr}	0.6 μs
	Extraktionspulsbreite w_{extr}	2 μs
Datenverarbeitung	Messgerät	LECROY
		Wavesurfer 422 ^a

^a Geräteeinstellungen je nach Messaufgabe.

PICD

Tabelle 8.2.7: Einstellungen des ESI-TOF-Massenspektrometers für Messungen des PICD von Glutaminsäure-Anionen.

	Parameter	Wert
ESI-Quelle	Probenflussrate Q_{sample}	10 $\mu\text{L min}^{-1}$
	Sheathgas-Druck p_{sheath}	34 psi - 40 psi
	Spray-Spannung U_{spray}	-4.4 kV
	Kapillaren-Spannung U_{cap}	-10 V
	Rohrlinsen-Spannung U_{tube}	-50 V
Ionenführung	Oktopol-RF-Amplitude (p/p) $U_{\text{oct,RF}}$	30 V
	Oktopol-Bias $U_{\text{oct,bias}}$	0.3 V
	Ausgangslinsen-Spannung U_{exit}	25 V
	Einzellinsen-Referenzspannung $U_{\text{E1,E3}}$	25 V
	Einzellinsen-Fokusspannung U_{E2}	120 V
	Ionenfallen-Gatepulsbreite w_{trap}	300 ns
TOF-MS	Extraktionszonenbias $U_{\text{extr}} = U_{\text{L2}} = U_{\text{L1,bias}}$	0.5 V
	L1-Amplitude $U_{\text{L1,amp}}$	-300 V
	L3-Spannung U_{L3}	300 V
	Ionen-Flugrohrspannung U_{iDT}	1802 V
	Ionen-MCP-Spannung U_{iMCP}	3900 kV
	Ionenfallenverzögerung Δt_{trap}	-17 μs
	Extraktionsverzögerung Δt_{extr}	0.33 μs
	Extraktionspulsbreite w_{extr}	2 μs
Laser	Pulsenergie E_{pulse}	44 mJ
Datenverarbeitung	Sampling-Intervall $\Delta t_{\text{adc,sample}}$	1 ns
	Trigger-Verzögerung $\Delta t_{\text{adc,delay}}$	4 μs
	ADC-Messbereich $U_{\text{adc,FS}}$	2.0 V, 1.0 V ^a
	Spannungsoffset $U_{\text{adc,offset}}$	0.8 V, 0.3 V ^a

^a $Pass \geq 1091$.

Tabelle 8.2.8: Auswertungseinstellungen zur Berechnung von PICD-Werten von Glutaminsäure-Anionen in Ionenausbeuten.

	Parameter	Wert
Integrationsgrenzen	Startflugzeit (m/z = 93)	7.994 μ s
	Endflugzeit (m/z = 93)	8.027 μ s
	Startflugzeit (m/z = 101)	8.300 μ s
	Endflugzeit (m/z = 101)	8.355 μ s
	Startflugzeit (m/z = 102)	8.371 μ s
	Endflugzeit (m/z = 102)	8.418 μ s
	Startflugzeit (m/z = 113.5)	8.756 μ s
	Endflugzeit (m/z = 113.5)	8.913 μ s
	Startflugzeit (m/z = 142)	9.802 μ s
	Endflugzeit (m/z = 142)	9.904 μ s
Basislinien-Korrektur	Anpassungsbeginn	4.0 μ s
	Anpassungsende	4.1 μ s
	Anwendung	1x pro Laserschuss ^a
<i>pass</i> -Sortierung	Saturierungsüberprüfung	Aus ^b
	Ausreißerbestimmung	Aus

^a Aufeinanderfolgende Spektren mit und ohne Laser erfahren dieselbe Korrektur.

^b Manuelle Kontrolle zeigte keine Saturierungseffekte.

Tabelle 8.2.9: Auswertungseinstellungen zur Berechnung von PICD-Werten von Glutaminsäure-Anionen in Elektronengesamtausbeuten.

	Parameter	Wert
Integrationsgrenzen	Startflugzeit (Elektronen)	0.215 μs
	Endflugzeit (Elektronen)	0.228 μs
	Startflugzeit ($m/z = 93$)	4.875 μs
	Endflugzeit ($m/z = 93$)	5.060 μs
	Startflugzeit ($m/z = 102$)	5.150 μs
	Endflugzeit ($m/z = 102$)	5.310 μs
	Startflugzeit ($m/z = 113.5$)	5.420 μs
	Endflugzeit ($m/z = 113.5$)	5.630 μs
	Startflugzeit ($m/z = 122.5$)	5.650 μs
	Endflugzeit ($m/z = 122.5$)	5.775 μs
	Startflugzeit ($m/z = 134$)	5.890 μs
	Endflugzeit ($m/z = 134$)	6.050 μs
Basislinien-Korrektur	Anpassungsbeginn	0.0 μs
	Anpassungsende	0.1 μs
	Anwendung	1x pro Laserschuss ^a
<i>pass</i> -Sortierung	Saturierungsüberprüfung	Aus ^b
	Ausreißerbestimmung	Aus

^a Aufeinanderfolgende Spektren mit und ohne Laser erfahren dieselbe Korrektur.

^b Kontrolle zeigte keine Saturierungseffekte.

PECD

Tabelle 8.2.10: Einstellungen des ESI-TOF-Massenspektrometers für Messungen des PECD von Glutaminsäure-Anionen.

	Parameter	Wert
ESI-Quelle	Probenflussrate Q_{sample}	10 $\mu\text{L min}^{-1}$, 20 $\mu\text{L min}^{-1}$, ^a
	Sheathgas-Druck p_{sheath}	35 psi - 39 psi
	Spray-Spannung U_{spray}	-3.0 kV, -3.9 kV ^b
	Kapillaren-Spannung U_{cap}	-10 V
	Rohrlinsen-Spannung U_{tube}	-50 V
Ionenführung	Oktopol-RF-Amplitude (p/p) $U_{\text{oct,RF}}$	60 V, 29 V ^b
	Oktopol-Bias $U_{\text{oct,bias}}$	0.5 V, 0.35 V ^b
	Ausgangslinsen-Spannung U_{exit}	25 V
	Einzellinsen-Referenzspannung $U_{\text{E1,E3}}$	20 V, 25 V ^b
	Einzellinsen-Fokusspannung U_{E2}	100 V, 120 V ^b
	Ionenfallen-Gatepulsbreite w_{trap}	300 ns
TOF-MS	Extraktionszonenbias $U_{\text{extr}} = U_{\text{L1}} = U_{\text{L2,bias}}$	0.5 V
	L2-Amplitude $U_{\text{L2,amp}}$	-150 V
	FWD-Ablenkspannung $U_{\text{DEFL,FWD}}$	150 V
	BWD-Ablenkspannung $U_{\text{DEFL,BWD}}$	150 V
	Elektronen-Flugrohrspannung U_{eDT}	300 V
	Elektronen-MCP-Spannung U_{eMCP}	2.35 kV, 2.4 kV ^b
	Ionenfallenverzögerung Δt_{trap}	-16 μs , -17 μs ^b
	Extraktionsverzögerung Δt_{extr}	0.3 μs
	Extraktionspulsbreite w_{extr}	2 μs
Laser	Pulsenergie E_{pulse}	16 mJ
Datenverarbeitung	Sampling-Intervall $\Delta t_{\text{adc,sample}}$	1 ns
	Trigger-Verzögerung $\Delta t_{\text{adc,delay}}$	0 μs
	ADC-Messbereich $U_{\text{adc,FS}}$	2.0 V
	Spannungsoffset $U_{\text{adc,offset}}$	0.8 V

^a Für $pass \geq 401$ reduziert, um Kapillaren-Verstopfung zu vermeiden.^b $Pass \geq 1201$.

Tabelle 8.2.11: Auswertungseinstellungen zur Berechnung von PECD-Werten von Glutaminsäure-Anionen.

	Parameter	Wert
Integrationsgrenzen	Startflugzeit (Elektronen)	0.215 μs
	Endflugzeit (Elektronen)	0.225 μs
Basislinien-Korrektur	Anpassungsbeginn	0.0 μs
	Anpassungsende	0.1 μs
	Anwendung	1x pro Laserschuss ^a
<i>pass</i> -Sortierung	Saturierungsüberprüfung	Aus ^b
	Ausreißerbestimmung	Aus

^a Aufeinanderfolgende Spektren mit und ohne Laser erfahren dieselbe Korrektur.

^b Kontrolle zeigte keine Saturierungseffekte.

8.2.3 Gramacidin

Gramacidin D wurde mit einer Konzentration von $c = 50 \mu\text{mol L}^{-1}$ in Lösungsmittelmixturen aus Wasser und Methanol verschiedener Zusammensetzungen (0:100, 20:80 und 50:50) untersucht. Als Additive kamen entsprechend den Angaben in Abschnitt 4.7 NaOH (1 eq) oder CsOH (40 eq) zum Einsatz.

PECD

Tabelle 8.2.12: Einstellungen des ESI-TOF-Massenspektrometers für Messungen des PECD von Gramicidin-Anionen.

	Parameter	Wert
ESI-Quelle	Probenflussrate Q_{sample}	10 $\mu\text{L min}^{-1}$
	Sheathgas-Druck p_{sheath}	13 psi - 34 psi ^a
	Spray-Spannung U_{spray}	-3.8 kV
	Kapillaren-Spannung U_{cap}	-50 V
	Rohrlinsen-Spannung U_{tube}	-130 V
Ionenführung	Oktopole-RF-Amplitude (p/p) $U_{\text{oct,RF}}$	450 V
	Oktopole-Bias $U_{\text{oct,bias}}$	3 V
	Ausgangslinsen-Spannung U_{exit}	100 V
	Einzellinsen-Referenzspannung $U_{\text{E1,E3}}$	25 V
	Einzellinsen-Fokusspannung U_{E2}	120 V
	Ionen-Gatepulsbreite w_{trap}	300 ns
TOF-MS	Extraktionszonenbias $U_{\text{extr}} = U_{\text{L1}} = U_{\text{L2,bias}}$	0.8 V
	L2-Amplitude $U_{\text{L2,amp}}$	-100 V
	FWD-Ablenkspannung $U_{\text{DEFL,FWD}}$	150 V ^b
	BWD-Ablenkspannung $U_{\text{DEFL,BWD}}$	150 V ^b
	Elektronen-Flugrohrspannung U_{eDT}	300 V
	Elektronen-MCP-Spannung U_{eMCP}	2.1 kV - 2.4 kV ^c
	Ionenfallenverzögerung Δt_{trap}	46 μs
	Extraktionsverzögerung Δt_{extr}	0.33 μs
Extraktionspulsbreite w_{extr}	4 μs	
Laser	Pulsenergie E_{pulse}	18 mJ
Datenverarbeitung	Sampling-Intervall $\Delta t_{\text{adc,sample}}$	1 ns
	Trigger-Verzögerung $\Delta t_{\text{adc,delay}}$	0 μs
	ADC-Messbereich $U_{\text{adc,FS}}$	2.0 V
	Spannungsoffset $U_{\text{adc,offset}}$	0.5 V

^a Niedrige Drücke für reines Methanol, höhere Drücke für Wassergemische.

^b Geringfügige Anpassungen (± 2 V) zur Elektronbild-Zentrierung.

^c Variation der Verstärkung je nach Ionensignal.

Tabelle 8.2.13: Auswertungseinstellungen zur Berechnung von PECD-Werten von Gramicidin-Anionen.

	Parameter	Wert
Integrationsgrenzen	Startflugzeit (Elektronen)	0.176 μ s
	Endflugzeit (Elektronen)	0.188 μ s
Basislinien-Korrektur	Anpassungsbeginn	0.0 μ s
	Anpassungsende	0.1 μ s
	Anwendung	1x pro Laserschuss ^a
<i>pass</i> -Sortierung	Saturierungsüberprüfung	Aus ^b
	Ausreißerbestimmung	Aus

^a Aufeinanderfolgende Spektren mit und ohne Laser erfahren dieselbe Korrektur.

^b Kontrolle zeigte keine Saturierungseffekte.

8.3 Multiphotonenexponenten

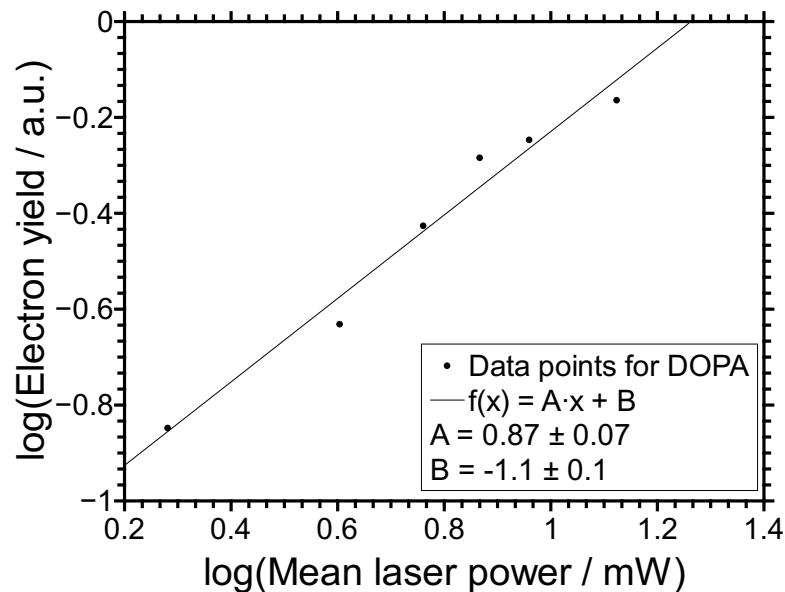


Abbildung 8.3.1: Elektronenausbeuten für das Photodetachment von DOPA-Anionen $[M-H]^-$ in Abhängigkeit der mittleren Laserleistung in einer doppellogarithmischen Auftragung. Die Steigung A repräsentiert den sogenannten Multiphotonenexponenten.^[240]

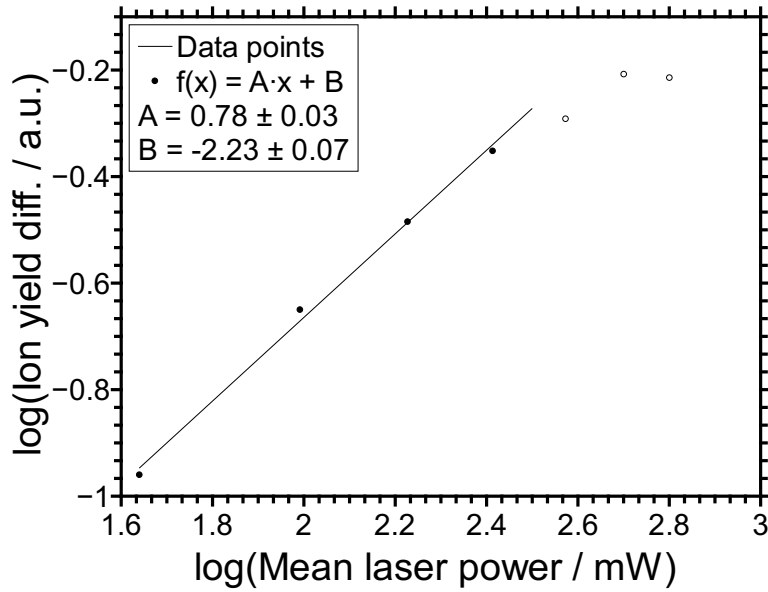


Abbildung 8.3.2: Ionenausbeutedifferenzen für das Photodetachment von DOPA-Anionen $[M-H]^-$ in Abhängigkeit der mittleren Laserleistung in einer doppellogarithmischen Auftragung. Die Steigung A repräsentiert den sogenannten Multiphotonenexponenten.

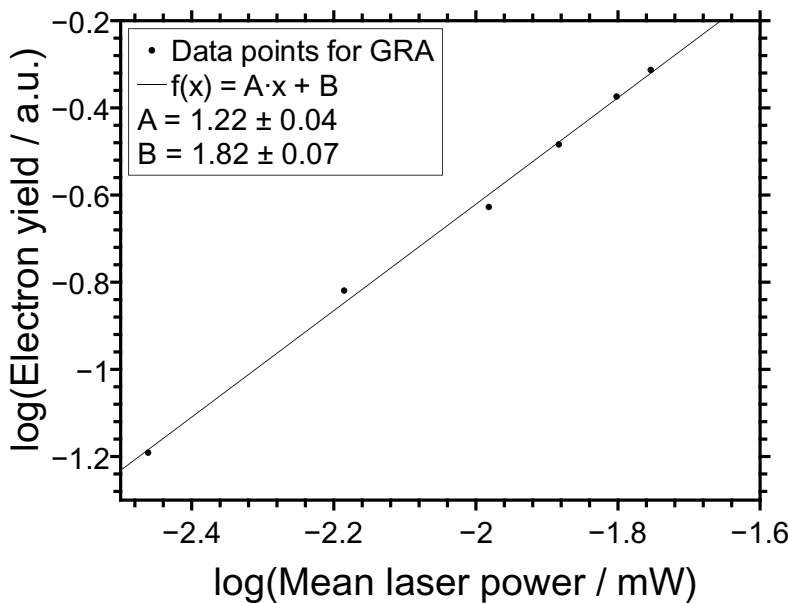


Abbildung 8.3.3: Elektronenausbeuten für das Photodetachment von Gramicidin-Dianionen $[M-2H]^{2-}$ in Abhängigkeit der mittleren Laserleistung in einer doppellogarithmischen Auftragung. Die Steigung A repräsentiert den sogenannten Multiphotonenexponenten.

8.4 Detektor-Schaltpläne

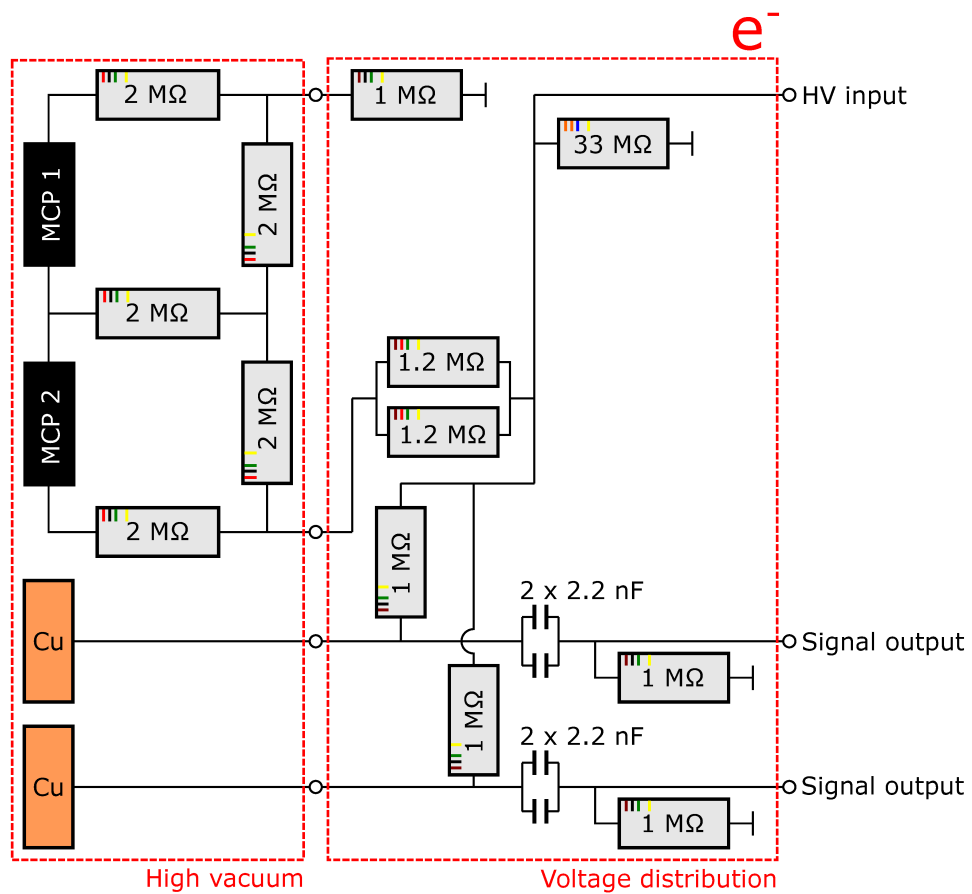


Abbildung 8.4.1: Spannungsversorgung und Signalauskopplung des Mikrokanalplatten-Detektors für Elektronen.

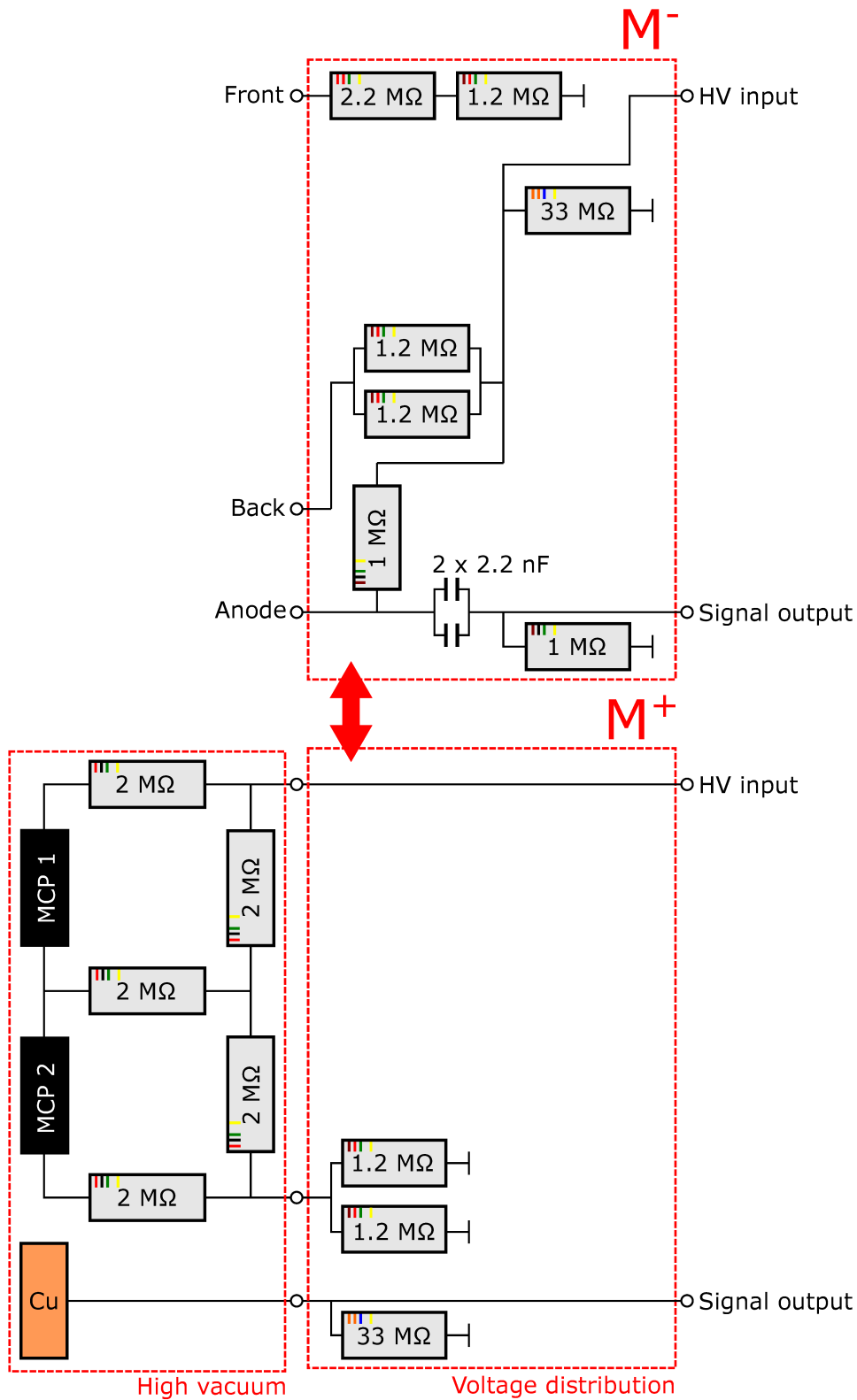


Abbildung 8.4.2: Spannungsversorgung und Signalauskopplung des Mikrokanalplatten-Detektors für Kationen und Anionen.

9 Literatur

- [1] M. Quack, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4618–4630.
- [2] L. Friedman, J. G. Miller, *Science* **1971**, *172*, 1044–1046.
- [3] I. Myrgorodska, C. Meinert, Z. Martins, L. Le Sergeant d’Hendecourt, U. J. Meierhenrich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1402–1412.
- [4] E. J. Ariëns, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1984**, *26*, 663–668.
- [5] J. Knabe, *Pharm. Unserer Zeit* **1995**, *24*, 324–330.
- [6] L. A. Nguyen, H. He, C. Pham-Huy, *Int. J. Biomed. Sci.* **2006**, *2*, 85–100.
- [7] H. J. Roth, *DAZ* **2019**, 70–73.
- [8] D. Parker, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 1441–1457.
- [9] Z. P. Yao, T. S. Wan, K. P. Kwong, C. T. Che, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5383–5393.
- [10] N. R. Srinivas, *Biomed. Chromatogr.* **2004**, *18*, 207–233.
- [11] I. Ilisz, R. Berkecz, A. Péter, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2008**, *47*, 1–15.
- [12] K. Robards, P. R. Haddad, P. E. Jackson, *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*, Elsevier, Amsterdam, **1994**.
- [13] H. D. Flack, G. Bernardinelli, *Chirality* **2008**, *20*, 681–690.
- [14] M. Pitzer, M. Kunitski, A. S. Johnson, T. Jahnke, H. Sann, F. Sturm, L. P. H. Schmidt, H. Schmidt-Böcking, R. Dörner, J. Stohner, J. Kiedrowski, M. Reggelin, S. Marquardt, A. Schießer, R. Berger, M. S. Schöffler, *Science* **2013**, *341*, 1096–1100.
- [15] P. Herwig, K. Zawatzky, M. Grieser, O. Heber, B. Jordon-Thaden, C. Krantz, O. Novotný, R. Repnow, V. Schurig, D. Schwalm, Z. Vager, A. Wolf, O. Trapp, H. Kreckel, *Science* **2013**, *342*, 1084–1086.
- [16] H. Eyring, H.-C. Liu, D. Caldwell, *Chem. Rev.* **1968**, *68*, 525–540.

- [17] L. D. Barron, F. Zhu, L. Hecht, G. E. Tranter, N. W. Isaacs, *J. Mol. Struct.* **2007**, *834-836*, 7–16.
- [18] *Circular dichroism: Principles and applications*, (Hrsg.: N. Berova, K. Nakanishi, R. W. Woody), Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [19] S. M. Kelly, T. J. Jess, N. C. Price, *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1751*, 119–139.
- [20] N. J. Greenfield, *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 2876–2890.
- [21] R. Cireasa, A. E. Boguslavskiy, B. Pons, M. C. H. Wong, D. Descamps, S. Petit, H. Ruf, N. Thiré, A. Ferré, J. Suarez, J. Higuete, B. E. Schmidt, A. F. Alharbi, F. Légaré, V. Blanchet, B. Fabre, S. Patchkovskii, O. Smirnova, Y. Mairesse, V. R. Bhardwaj, *Nature Phys.* **2015**, *11*, 654–658.
- [22] D. Baykusheva, D. Zindel, V. Svoboda, E. Bommeli, M. Ochsner, A. Tehlar, H. J. Wörner, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2019**, *116*, 23923–23929.
- [23] D. Ayuso, O. Neufeld, A. F. Ordonez, P. Decleva, G. Lerner, O. Cohen, M. Ivanov, O. Smirnova, *Nat. Photonics* **2019**, *13*, 866–871.
- [24] D. Patterson, M. Schnell, J. M. Doyle, *Nature* **2013**, *497*, 475–477.
- [25] D. Patterson, J. M. Doyle, *Phys. Rev. Lett.* **2013**, *111*, 023008.
- [26] Boesl von Grafenstein, Ulrich, A. Bornschlegl, *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 2085–2087.
- [27] R. Li, R. Sullivan, W. Al-Basheer, R. M. Pagni, R. N. Compton, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 144304.
- [28] A. Bornschlegl, C. Logé, U. Boesl, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *447*, 187–191.
- [29] U. Boesl, A. Kartouzian, *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2016**, *9*, 343–364.
- [30] H. G. Breunig, G. Urbasch, P. Horsch, J. Cordes, U. Koert, K.-M. Weitzel, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 1199–1202.
- [31] P. Horsch, G. Urbasch, K.-M. Weitzel, D. Kröner, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 2378–2386.
- [32] P. Horsch, G. Urbasch, K.-M. Weitzel, *Z. Phys. Chem.* **2011**, *225*, 587–594.
- [33] P. Horsch, G. Urbasch, K.-M. Weitzel, *Chirality* **2012**, *24*, 684–690.
- [34] N. Reusch, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, Marburg, **2016**.
- [35] D. Kröner, *J. Phys. Chem. A* **2011**, *115*, 14510–14518.

-
- [36] D. Kröner, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17*, 19643–19655.
- [37] D. Kröner, T. Gaebel, *J. Phys. Chem. A* **2015**, *119*, 9167–9177.
- [38] C. Logé, A. Bornschlegl, U. Boesl, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *395*, 1631–1639.
- [39] C. Logé, U. Boesl, *ChemPhysChem* **2011**, *12*, 1940–1947.
- [40] T. Ring, C. Witte, S. Vasudevan, S. Das, S. T. Ranecky, H. Lee, N. Ladda, A. Senftleben, H. Braun, T. Baumert, *Rev. Sci. Instrum.* **2021**, *92*, 033001.
- [41] K. Titze, T. Zollitsch, U. Heiz, U. Boesl, *ChemPhysChem* **2014**, *15*, 2762–2767.
- [42] J.-L. Bégin, M. Alsaawy, R. Bhardwaj, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 14074.
- [43] K. Fehre, S. Eckart, M. Kunitski, C. Janke, D. Trabert, M. Hofmann, J. Rist, M. Weller, A. Hartung, L. P. H. Schmidt, T. Jahnke, H. Braun, T. Baumert, J. Stohner, P. V. Demekhin, M. S. Schöffler, R. Dörner, *Phys. Rev. Lett.* **2021**, *126*, 083201.
- [44] B. Ritchie, *Phys. Rev. A* **1976**, *13*, 1411–1415.
- [45] N. Böwering, T. Lischke, B. Schmidtke, N. Müller, T. Khalil, U. Heinzmann, *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *86*, 1187–1190.
- [46] C. Lux, M. Wollenhaupt, T. Bolze, Q. Liang, J. Köhler, C. Sarpe, T. Baumert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 5001–5005.
- [47] C. S. Lehmann, N. B. Ram, I. Powis, M. H. M. Janssen, *J. Chem. Phys.* **2013**, *139*, 234307.
- [48] A. Kastner, T. Ring, H. Braun, A. Senftleben, T. Baumert, *ChemPhysChem* **2019**, *20*, 1416–1419.
- [49] A. Kastner, G. Koumarianou, P. Glodic, P. C. Samartzis, N. Ladda, S. T. Ranecky, T. Ring, S. Vasudevan, C. Witte, H. Braun, H.-G. Lee, A. Senftleben, R. Berger, G. B. Park, T. Schäfer, T. Baumert, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22*, 7404–7411.
- [50] S. Beaulieu, A. Ferré, R. Généaux, R. Canonge, D. Descamps, B. Fabre, N. Fedorov, F. Légaré, S. Petit, T. Ruchon, V. Blanchet, Y. Mairesse, B. Pons, *New J. Phys.* **2016**, *18*, 102002.
- [51] S. Beaulieu, A. Comby, B. Fabre, D. Descamps, A. Ferré, G. Garcia, R. Généaux, F. Légaré, L. Nahon, S. Petit, T. Ruchon, B. Pons, V. Blanchet, Y. Mairesse, *Faraday Discuss.* **2016**, *194*, 325–348.
-

- [52] K. Fehre, S. Eckart, M. Kunitski, C. Janke, D. Trabert, J. Rist, M. Weller, A. Hartung, L. P. H. Schmidt, T. Jahnke, R. Dörner, M. Schöffler, *J. Phys. Chem. A* **2019**, *123*, 6491–6495.
- [53] C. S. Lehmann, K.-M. Weitzel, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22*, 13707–13712.
- [54] S. Stranges, S. Turchini, M. Alagia, G. Alberti, G. Contini, P. Decleva, G. Fronzoni, M. Stener, N. Zema, T. Prospero, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 244303.
- [55] D. Di Tommaso, M. Stener, G. Fronzoni, P. Decleva, *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 924–934.
- [56] C. J. Harding, I. Powis, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 234306.
- [57] G. A. Garcia, L. Nahon, C. J. Harding, I. Powis, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 1628–1639.
- [58] S. Turchini, D. Catone, G. Contini, N. Zema, S. Irrera, M. Stener, D. Di Tommaso, P. Decleva, T. Prospero, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 1839–1846.
- [59] G. A. Garcia, H. Soldi-Lose, L. Nahon, I. Powis, *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 847–853.
- [60] S. Turchini, D. Catone, N. Zema, G. Contini, T. Prospero, P. Decleva, M. Stener, F. Rondino, S. Piccirillo, K. C. Prince, M. Speranza, *ChemPhysChem* **2013**, *14*, 1723–1732.
- [61] S. Daly, M. Tia, G. A. Garcia, L. Nahon, I. Powis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 11054–11058.
- [62] S. Turchini, *J. Phys. Condens. Matter* **2017**, *29*, 503001.
- [63] G. A. Garcia, L. Nahon, S. Daly, I. Powis, *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 2132.
- [64] M. M. Rafiee Fanood, H. Ganjtabar, G. A. Garcia, L. Nahon, S. Turchini, I. Powis, *ChemPhysChem* **2018**, *19*, 921–933.
- [65] G. A. Garcia, H. Dossmann, L. Nahon, S. Daly, I. Powis, *ChemPhysChem* **2017**, *18*, 500–512.
- [66] H. Ganjtabar, R. Hadidi, G. A. Garcia, L. Nahon, I. Powis, *J. Mol. Spectrosc.* **2018**, *353*, 11–19.
- [67] H. Ganjtabar, G. A. Garcia, L. Nahon, I. Powis, *J. Chem. Phys.* **2020**, *153*, 034302.

-
- [68] I. Powis in *Advances in Chemical Physics*, (Hrsg.: S. A. Rice), Advances in chemical physics, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA, **2008**, S. 267–329.
- [69] J. Miles, D. Fernandes, A. Young, C. M. M. Bond, S. W. Crane, O. Ghafur, D. Townsend, J. Sá, J. B. Greenwood, *Anal. Chim. Acta* **2017**, *984*, 134–139.
- [70] A. Comby, E. Bloch, C. M. M. Bond, D. Descamps, J. Miles, S. Petit, S. Rozen, J. B. Greenwood, V. Blanchet, Y. Mairesse, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 5212.
- [71] C. Lux, M. Wollenhaupt, C. Sarpe, T. Baumert, *ChemPhysChem* **2015**, *16*, 115–137.
- [72] A. Comby, S. Beaulieu, M. Boggio-Pasqua, D. Descamps, F. Légaré, L. Nahon, S. Petit, B. Pons, B. Fabre, Y. Mairesse, V. Blanchet, *J. Phys. Chem. Lett.* **2016**, *7*, 4514–4519.
- [73] D. Toffoli, M. Stener, G. Fronzoni, P. Decleva, *Chem. Phys.* **2002**, *276*, 25–43.
- [74] P. V. Demekhin, A. Ehresmann, V. L. Sukhorukov, *J. Chem. Phys.* **2011**, *134*, 024113.
- [75] I. Dreissigacker, M. Lein, *Phys. Rev. A* **2014**, *89*, 053406.
- [76] A. N. Artemyev, A. D. Müller, D. Hochstuhl, P. V. Demekhin, *J. Chem. Phys.* **2015**, *142*, 244105.
- [77] R. E. Goetz, T. A. Isaev, B. Nikoobakht, R. Berger, C. P. Koch, *J. Chem. Phys.* **2017**, *146*, 024306.
- [78] A. D. Müller, A. N. Artemyev, P. V. Demekhin, *J. Chem. Phys.* **2018**, *148*, 214307.
- [79] A. D. Müller, E. Kutscher, A. N. Artemyev, P. V. Demekhin, *J. Chem. Phys.* **2020**, *152*, 044302.
- [80] R. Hadidi, D. K. Bozanic, G. A. Garcia, L. Nahon, *Adv. Phys. X* **2018**, *3*, 1477530.
- [81] A. Kastner, C. Lux, T. Ring, S. Züllighoven, C. Sarpe, A. Senftleben, T. Baumert, *ChemPhysChem* **2016**, *17*, 1119–1122.
- [82] M. M. R. Fanood, N. B. Ram, C. S. Lehmann, I. Powis, M. H. M. Janssen, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 7511.
- [83] M. H. M. Janssen, I. Powis, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 856–871.
- [84] M. Yamashita, J. B. Fenn, *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 4451–4459.
-

- [85] J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong, C. M. Whitehouse, *Science* **1989**, *246*, 64–71.
- [86] J. B. Fenn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3871–3894.
- [87] B. Domon, R. Aebersold, *Science* **2006**, *312*, 212–217.
- [88] J. R. Yates, *Org. Mass Spectrom.* **1998**, *33*, 1–19.
- [89] Y. Oda, K. Huang, F. R. Cross, D. Cowburn, B. T. Chait, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 6591–6596.
- [90] J. M. Daniel, S. D. Friess, S. Rajagopalan, S. Wendt, R. Zenobi, *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, *216*, 1–27.
- [91] J. A. Loo, *Mass Spectrom. Rev.* **1997**, *16*, 1–23.
- [92] A. Patriksson, E. Marklund, D. van der Spoel, *Biochemistry* **2007**, *46*, 933–945.
- [93] K. Breuker, F. W. McLafferty, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105*, 18145–18152.
- [94] S. K. Chowdhury, V. Katta, B. T. Chait, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9012–9013.
- [95] I. A. Kaltashov, R. R. Abzalimov, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2008**, *19*, 1239–1246.
- [96] C. M. Whitehouse, R. N. Dreyer, M. Yamashita, J. B. Fenn, *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 675–679.
- [97] C. S. Ho, C. W. K. Lam, M. H. M. Chan, R. C. K. Cheung, L. K. Law, L. C. W. Lit, K. F. Ng, M. W. M. Suen, H. L. Tai, *Clin. Biochem. Rev.* **2003**, *24*, 3–12.
- [98] Z. Takáts, J. M. Wiseman, B. Gologan, R. G. Cooks, *Science* **2004**, *306*, 471–473.
- [99] P. Flanigan, R. Levis, *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2014**, *7*, 229–256.
- [100] Z. Guan, N. L. Kelleher, P. B. O’Connor, D. J. Aaserud, D. P. Little, F. W. McLafferty, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1996**, *157-158*, 357–364.
- [101] R. Antoine, P. Dugourd, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 16494–16509.
- [102] R. Antoine, J. Lemoine, P. Dugourd, *Mass Spectrom. Rev.* **2014**, *33*, 501–522.
- [103] X.-B. Wang, L.-S. Wang, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2009**, *60*, 105–126.
- [104] C. R. S. Mooney, D. A. Horke, A. S. Chatterley, A. Simperler, H. H. Fielding, J. R. R. Verlet, *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 921–927.

-
- [105] H. H. Fielding, G. A. Worth, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 309–321.
- [106] V. G. Stavros, J. R. R. Verlet, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2016**, *67*, 211–232.
- [107] A. Kastner, T. Ring, B. C. Krüger, G. B. Park, T. Schäfer, A. Senftleben, T. Baumert, *J. Chem. Phys.* **2017**, *147*, 013926.
- [108] M. Tia, M. Pitzer, G. Kastirke, J. Gatzke, H.-K. Kim, F. Trinter, J. Rist, A. Hartung, D. Trabert, J. Siebert, K. Henrichs, J. Becht, S. Zeller, H. Gassert, F. Wiegandt, R. Wallauer, A. Kuhlins, C. Schober, T. Bauer, N. Wechselberger, P. Burzynski, J. Neff, M. Weller, D. Metz, M. Kircher, M. Waitz, J. B. Williams, L. P. H. Schmidt, A. D. Müller, A. Knie, A. Hans, L. Ben Ltaief, A. Ehresmann, R. Berger, H. Fukuzawa, K. Ueda, H. Schmidt-Böcking, R. Dörner, T. Jahnke, P. V. Demekhin, M. Schöffler, *J. Phys. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 2780–2786.
- [109] S. Beaulieu, A. Comby, D. Descamps, S. Petit, F. Légaré, B. Fabre, V. Blanchet, Y. Mairesse, *J. Chem. Phys.* **2018**, *149*, 134301.
- [110] A. Pier, K. Fehre, S. Grundmann, I. Vela-Perez, N. Strenger, M. Kircher, D. Tsitsonis, J. B. Williams, A. Senftleben, T. Baumert, M. S. Schöffler, P. V. Demekhin, F. Trinter, T. Jahnke, R. Dörner, *Phys. Rev. Research* **2020**, *2*, 033209.
- [111] S. Daly, F. Rosu, V. Gabelica, *Science* **2020**, *368*, 1465–1468.
- [112] H. J. Eun, A. Min, C. W. Jeon, I. T. Yoo, J. Heo, N. J. Kim, *J. Phys. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 4367–4371.
- [113] M. Dole, L. L. Mack, R. L. Hines, R. C. Mobley, L. D. Ferguson, M. B. Alice, *J. Chem. Phys.* **1968**, *49*, 2240–2249.
- [114] P. Kebarle, U. H. Verkerk, *Mass Spectrom. Rev.* **2009**, *28*, 898–917.
- [115] S. J. Gaskell, *Org. Mass Spectrom.* **1997**, *32*, 677–688.
- [116] G. I. Taylor, *Proc. R. Soc. Lond. A* **1964**, *280*, 383–397.
- [117] M. Cloupeau, B. Prunet-Foch, *J. Aerosol. Sci.* **1994**, *25*, 1021–1036.
- [118] M. G. Ikonou, A. T. Blades, P. Kebarle, *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 957–967.
- [119] R. J. Pfeifer, C. D. Hendricks, *AIAA J.* **1968**, *6*, 496–502.
- [120] I. Hayati, A. Bailey, T. Tadros, *J. Colloid Interface Sci.* **1987**, *117*, 205–221.
- [121] P. Kebarle, L. Tang, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 972A–986A.
- [122] G. J. van Berkel, F. Zhou, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 2916–2923.
- [123] A. T. Blades, M. G. Ikonou, P. Kebarle, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 2109–2114.
-

- [124] G. van J. Berkel, *J. Anal. At. Spectrom.* **1998**, *13*, 603–607.
- [125] J. F. d. La Mora, G. J. van Berkel, C. G. Enke, R. B. Cole, M. Martinez-Sanchez, J. B. Fenn, *Org. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 939–952.
- [126] A. P. Bruins, T. R. Covey, J. D. Henion, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 2642–2646.
- [127] A. P. Bruins, *J. Chromatogr. A* **1998**, *794*, 345–357.
- [128] A. Gomez, K. Tang, *Phys. Fluids* **1994**, *6*, 404–414.
- [129] K. Tang, A. Gomez, *Phys. Fluids* **1994**, *6*, 2317–2332.
- [130] J. N. Smith, R. C. Flagan, J. L. Beauchamp, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 9957–9967.
- [131] J. W. Strutt, *London Edinburgh Dublin Philos. Mag. J. Sci.* **1882**, *14*, 184–186.
- [132] R. L. Grimm, J. L. Beauchamp, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 6291–6297.
- [133] D. C. Taffin, T. L. Ward, E. J. Davis, *Langmuir* **1989**, *5*, 376–384.
- [134] J. La Fernández de Mora, *Annu. Rev. Fluid Mech.* **2007**, *39*, 217–243.
- [135] G. Schmelzeisen-Redeker, L. Bütfering, F. W. Röllgen, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1989**, *90*, 139–150.
- [136] J. V. Iribarne, *J. Chem. Phys.* **1976**, *64*, 2287.
- [137] B. A. Thomson, J. V. Iribarne, *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4451–4463.
- [138] M. Wilm, *Mol. Cell. Proteom.* **2011**, *10*, M111.009407.
- [139] B. E. Winger, K. J. Light-Wahl, R. R. Ogorzalek Loo, H. R. Udseth, R. D. Smith, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1993**, *4*, 536–545.
- [140] L. P. Tolić, G. A. Anderson, R. D. Smith, H. M. Brothers, R. Spindler, D. A. Tomalia, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1997**, *165-166*, 405–418.
- [141] J. La Fernandez de Mora, *Anal. Chim. Acta* **2000**, *406*, 93–104.
- [142] I. A. Kaltashov, A. Mohimen, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 5370–5379.
- [143] I. G. Loscertales, J. La Fernández de Mora, *J. Chem. Phys.* **1995**, *103*, 5041–5060.
- [144] P. Kebarle, *Org. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 804–817.
- [145] M. Gamero-Castao, J. F. d. La Mora, *Org. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 790–803.
- [146] M. Gamero-Castaño, J. La Fernández de Mora, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 815–832.

-
- [147] V. Znamenskiy, I. Marginean, A. Vertes, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 7406–7412.
- [148] U. H. Verkerk, P. Kebarle, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2005**, *16*, 1325–1341.
- [149] M. A. Kelly, M. M. Vestling, C. C. Fenselau, P. B. Smith, *Org. Mass Spectrom.* **1992**, *27*, 1143–1147.
- [150] N. B. Cech, C. G. Enke, *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 362–387.
- [151] G. Wang, R. B. Cole, *Org. Mass Spectrom.* **1994**, *29*, 419–427.
- [152] S. Zhou, K. D. Cook, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2000**, *11*, 961–966.
- [153] T. R. Covey, R. F. Bonner, B. I. Shushan, J. Henion, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1988**, *2*, 249–256.
- [154] M. Mann, C. K. Meng, J. B. Fenn, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1702–1708.
- [155] M. Labowsky, C. Whitehouse, J. B. Fenn, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1993**, *7*, 71–84.
- [156] K. D. Henry, J. P. Quinn, F. W. McLafferty, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5447–5449.
- [157] G. J. van Berkel, G. L. Glish, S. A. McLuckey, *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 1284–1295.
- [158] A. N. Verentchikov, W. Ens, K. G. Standing, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 126–133.
- [159] L. Tang, P. Kebarle, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 3654–3668.
- [160] M. Wilm, M. Mann, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1994**, *136*, 167–180.
- [161] M. Wilm, M. Mann, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 1–8.
- [162] M. Guilhaus, V. Mlynski, D. Selby, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 951–962.
- [163] J. H. Gross, *Mass Spectrometry*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2011**.
- [164] U. Boesl, *Mass Spectrom. Rev.* **2017**, *36*, 86–109.
- [165] W. E. Stephens, *Bull. Am. Phys. Soc.* **1946**, *21*, 22.
- [166] W. C. Wiley, I. H. McLaren, *Rev. Sci. Instrum.* **1955**, *26*, 1150–1157.
- [167] B. A. Mamyrin, V. I. Karataev, D. V. Shmikk, V. A. Zagulin, *Sov. Phys. JETP* **1973**, *37*, 45–48.
- [168] D. P. Seccombe, T. J. Reddish, *Rev. Sci. Instrum.* **2001**, *72*, 1330.
- [169] R. B. Opsal, K. G. Owens, J. P. Reilly, *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 1884–1889.
-

- [170] D. M. Lubman, R. M. Jordan, *Rev. Sci. Instrum.* **1985**, *56*, 373–376.
- [171] J. H. J. Dawson, M. Guilhaus, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1989**, *3*, 155–159.
- [172] M. Guilhaus, D. Selby, V. Mlynski, *Mass Spectrom. Rev.* **2000**, *19*, 65–107.
- [173] A. N. Krutchinsky, I. V. Chernushevich, V. L. Spicer, W. Ens, K. G. Standing, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1998**, *9*, 569–579.
- [174] M. Guilhaus, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1994**, *5*, 588–595.
- [175] A. F. Dodonov, I. V. Chernushevich, V. V. Laiko in *Time-of-Flight Mass Spectrometry*, (Hrsg.: R. J. Cotter), ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington, DC, **1993**, S. 108–123.
- [176] O. A. Mirgorodskaya, A. A. Shevchenko, I. V. Chernushevich, A. F. Dodonov, A. I. Miroshnikov, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 99–107.
- [177] W. Demtröder, *Laserspektroskopie 1: Grundlagen*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2011**.
- [178] F. Träger, *Springer Handbook of Lasers and Optics*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2012**.
- [179] M. Eichhorn, *Laserphysik: Grundlagen und Anwendungen für Physiker, Maschinenbauer und Ingenieure*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2013**.
- [180] Continuum, Operation and Maintenance Manual for Surelite Lasers, **2002**.
- [181] G. A. McRae, *Laser Chem.* **1994**, *14*, 245–249.
- [182] J. E. Geusic, H. M. Marcos, L. G. van Uitert, *Appl. Phys. Lett.* **1964**, *4*, 182–184.
- [183] W. Koechner, *Solid-State Laser Engineering*, Springer, New York, **2006**.
- [184] R. W. Boyd, *Nonlinear Optics*, Elsevier, Amsterdam, **2008**.
- [185] E. Hecht, *Optik*, 7. Auflage, de Gruyter, Berlin, Boston, **2018**.
- [186] D. Meschede, *Optik, Licht und Laser*, 3. Auflage, Vieweg+Teubner Verlag / GWV Fachverlage GmbH, Wiesbaden, **2008**.
- [187] H. Wollnik, *J. Mass Spectrom.* **1999**, *34*, 991–1006.
- [188] A. Adams, F. H. Read, *J. Phys. E: Sci. Instrum.* **1972**, *5*, 150–155.
- [189] D. A. Dahl, *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *200*, 3–25.
- [190] I. W. Drummond, *Vacuum* **1984**, *34*, 51–61.

-
- [191] D. Gerlich in *Advances in Chemical Physics*, (Hrsg.: C.-Y. Ng, M. Baer, I. Prigogine, S. A. Rice), John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, **1992**, S. 1–176.
- [192] I. Szabo, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1986**, *73*, 197–235.
- [193] C. Hägg, I. Szabo, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1986**, *73*, 277–294.
- [194] C. Hägg, I. Szabo, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **1986**, *73*, 295–312.
- [195] D. Gerlich, *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, *19*, 581.
- [196] D. J. Douglas, A. J. Frank, D. Mao, *Mass Spectrom. Rev.* **2005**, *24*, 1–29.
- [197] A. V. Tolmachev, I. V. Chernushevich, A. F. Dodonov, K. G. Standing, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **1997**, *124*, 112–119.
- [198] D. Pegg in *Springer Handbook of Atomic, Molecular, and Optical Physics*, (Hrsg.: G. Drake), Springer, New York, **2006**, S. 891–899.
- [199] R. R. Corderman, W. C. Lineberger, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1979**, *30*, 347–378.
- [200] T. Koopmans, *Physica* **1934**, *1*, 104–113.
- [201] T. N. Kitsopoulos, I. M. Waller, J. G. Loeser, D. M. Neumark, *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *159*, 300–306.
- [202] A. Henley, H. H. Fielding, *Int. Rev. Phys. Chem.* **2019**, *38*, 1–34.
- [203] C. L. Adams, H. Schneider, J. M. Weber, *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 4017–4030.
- [204] C. S. Anstöter, J. N. Bull, J. R. Verlet, *Int. Rev. Phys. Chem.* **2016**, *35*, 509–538.
- [205] P. Kruit, F. H. Read, *J. Phys. E: Sci. Instrum.* **1983**, *16*, 313–324.
- [206] A. T. J. B. Eppink, D. H. Parker, *Rev. Sci. Instrum.* **1997**, *68*, 3477–3484.
- [207] L.-S. Wang, C.-F. Ding, X.-B. Wang, J. B. Nicholas, *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *81*, 2667–2670.
- [208] X.-B. Wang, C.-F. Ding, L.-S. Wang, *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *81*, 3351–3354.
- [209] C.-F. Ding, X.-B. Wang, L.-S. Wang, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 8633–8636.
- [210] A. Szilágyi, EMANIM: Interactive visualization of electromagnetic waves, Web application, **2019**.
- [211] A. Rodger, D. Marshall, *The Biochemist* **2021**, *43*, 58–64.
- [212] U. Boesl, A. Bornschlegl, C. Logé, K. Titze, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 6913–6924.
-

- [213] C. Logé, U. Boesl, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 11981–11989.
- [214] M. Pawlicki, H. A. Collins, R. G. Denning, H. L. Anderson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3244–3266.
- [215] W. J. Meath, E. A. Power, *J. Phys. B: At. Mol. Phys.* **1987**, *20*, 1945–1964.
- [216] I. Tinoco, *J. Chem. Phys.* **1975**, *62*, 1006–1009.
- [217] C. Logé, U. Boesl, *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 4218–4223.
- [218] G. A. Garcia, H. Dossmann, L. Nahon, S. Daly, I. Powis, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 16214–16224.
- [219] M. Ilchen, G. Hartmann, P. Rupprecht, A. N. Artemyev, R. N. Coffee, Z. Li, H. Ohldag, H. Ogasawara, T. Osipov, D. Ray, P. Schmidt, T. J. A. Wolf, A. Ehresmann, S. Moeller, A. Knie, P. V. Demekhin, *Phys. Rev. A* **2017**, *95*, 053423.
- [220] L. Nahon, L. Nag, G. A. Garcia, I. Myrgorodska, U. Meierhenrich, S. Beaulieu, V. Wanie, V. Blanchet, R. Géneaux, I. Powis, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 12696–12706.
- [221] L. Nahon, G. A. Garcia, H. Soldi-Lose, S. Daly, I. Powis, *Phys. Rev. A* **2010**, *82*, 032514.
- [222] I. Powis, S. Daly, M. Tia, B. C. de Miranda, G. A. Garcia, L. Nahon, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 467–476.
- [223] S. Daly, I. Powis, G. A. Garcia, M. Tia, L. Nahon, *J. Chem. Phys.* **2017**, *147*, 013937.
- [224] S. Daly, I. Powis, G. A. Garcia, H. Soldi-Lose, L. Nahon, *J. Chem. Phys.* **2011**, *134*, 064306.
- [225] M. Tia, B. Cunha de Miranda, S. Daly, F. Gaie-Levrel, G. A. Garcia, L. Nahon, I. Powis, *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 2765–2779.
- [226] G. Contini, N. Zema, S. Turchini, D. Catone, T. Prospero, V. Carravetta, P. Bolognesi, L. Avaldi, V. Feyer, *J. Chem. Phys.* **2007**, *127*, 124310.
- [227] I. Powis, *J. Chem. Phys.* **2014**, *140*, 111103.
- [228] M. Stener, G. Fronzoni, D. Di Tommaso, P. Decleva, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 3284–3296.
- [229] U. Hergenhahn, E. E. Rennie, O. Kugeler, S. Marburger, T. Lischke, I. Powis, G. Garcia, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 4553–4556.

-
- [230] I. Powis, *Chirality* **2008**, *20*, 961–968.
- [231] V. Ulrich, S. Barth, S. Joshi, U. Hergenbahn, E. Mikajlo, C. J. Harding, I. Powis, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 3544–3549.
- [232] D. Dill, J. L. Dehmer, *J. Chem. Phys.* **1974**, *61*, 692–699.
- [233] M. Stener, D. Di Tommaso, G. Fronzoni, P. Decleva, I. Powis, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 024326.
- [234] M. M. Rafiee Fanoood, M. H. M. Janssen, I. Powis, *J. Chem. Phys.* **2016**, *145*, 124320.
- [235] S. Beaulieu, A. Comby, D. Descamps, B. Fabre, G. A. Garcia, R. Géneaux, A. G. Harvey, F. Légaré, Z. Mašín, L. Nahon, A. F. Ordonez, S. Petit, B. Pons, Y. Mairesse, O. Smirnova, V. Blanchet, *Nature Phys.* **2018**, *14*, 484–489.
- [236] I. Powis, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 878–882.
- [237] L. Nahon, G. A. Garcia, C. J. Harding, E. Mikajlo, I. Powis, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 114309.
- [238] D. Catone, M. Stener, P. Decleva, G. Contini, N. Zema, T. Prospero, V. Feyer, K. C. Prince, S. Turchini, *Phys. Rev. Lett.* **2012**, *108*, 083001.
- [239] L. Nahon, G. A. Garcia, I. Powis, *J. Electron Spectrosc.* **2015**, *204*, 322–334.
- [240] P. Krüger, K.-M. Weitzel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 17861–17865.
- [241] Finnigan MAT, TSQ/SSQ 7000 Series Systems Atmospheric Pressure Ionization Operator's and Service Manual, **1993**.
- [242] P. Krüger, Masterthesis, Philipps-Universität Marburg, Marburg, **2017**.
- [243] S. T. Coyle, G. G. Hembree, M. R. Scheinfein, *Rev. Sci. Instrum.* **1995**, *66*, 4000–4001.
- [244] SCHOTT, Datenblatt KG3, **2014**, https://www.schott.com/d/advanced_optics/8c568719-c307-4c00-982d-c1278c501c43/1.10/schott-shortpass-kg3-may-2019-de.pdf (besucht am 21.01.2021).
- [245] Thorlabs, AQWP05M-340 Raw Data, **2019**, https://www.thorlabs.com/images/popupimages/AQWP05M-340_Data.xlsx (besucht am 21.01.2021).
- [246] S. H. M. Deng, G.-L. Hou, X.-Y. Kong, M. Valiev, X.-B. Wang, *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 5256–5262.
- [247] P. Horsch, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, Marburg, **2013**.
-

- [248] E. Collett, *Field Guide to Polarization*, SPIE Press, Bellingham, **2012**.
- [249] B. Schaefer, E. Collett, R. Smyth, D. Barrett, B. Fraher, *Am. J. Phys.* **2007**, *75*, 163–168.
- [250] H. G. Berry, G. Gabrielse, A. E. Livingston, *Appl. Opt.* **1977**, *16*, 3200–3205.
- [251] T. Nagatsu, M. Levitt, S. Udenfriend, *J. Biol. Chem.* **1964**, *239*, 2910–2917.
- [252] P. A. Riley, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **1997**, *29*, 1235–1239.
- [253] V. del Marmol, F. Beermann, *FEBS Lett.* **1996**, *381*, 165–168.
- [254] A. Carlsson, M. Lindqvist, T. Magnusson, *Nature* **1957**, *180*, 1200.
- [255] J. E. Hardebo, C. Owman, *Ann. Neurol.* **1980**, *8*, 1–31.
- [256] W. S. Knowles, *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 106–112.
- [257] W. S. Knowles, *J. Chem. Educ.* **1986**, *63*, 222.
- [258] M. Yu, J. Hwang, T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5825–5826.
- [259] Sigma-Aldrich, 3,4-Dihydroxy-L-Phenylalanine Product Information: <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/315/570/d9628pis.pdf> (besucht am 28.07.2021).
- [260] *CRC Handbook of Chemistry and Physics, Internet Version 2005*, (Hrsg.: D. R. Lide), CRC Press, Boca Raton, FL, **2005**.
- [261] G. Genchi, *Amino Acids* **2017**, *49*, 1521–1533.
- [262] Y. Izumi, I. Chibata, T. Itoh, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*, 176–183.
- [263] B. S. Meldrum, *J. Nutr.* **2000**, *130*, 1007S–15S.
- [264] P. Newsholme, J. Procopio, M. M. R. Lima, T. C. Pithon-Curi, R. Curi, *Cell Biochem. Funct.* **2003**, *21*, 1–9.
- [265] S. Jinap, P. Hajeb, *Appetite* **2010**, *55*, 1–10.
- [266] R. D. Hotchkiss, R. J. Dubos, *J. Biol. Chem.* **1941**, *141*, 155–162.
- [267] D. A. Langs, *Science* **1988**, *241*, 188–191.
- [268] E. Gross, B. Witkop, *Biochemistry* **1965**, *4*, 2495–2501.
- [269] B. A. Wallace, *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1990**, *19*, 127–157.
- [270] R. R. Ketchum, W. Hu, T. A. Cross, *Science* **1993**, *261*, 1457–1460.

- [271] D. S. Wishart, C. Knox, A. C. Guo, D. Cheng, S. Shrivastava, D. Tzur, B. Gautam, M. Hassanali, *Nucleic Acids Res.* **2008**, *36*, D901–6.
- [272] R. R. Ketchem, K. C. Lee, S. Huo, T. A. Cross, *J. Biomol. NMR* **1996**, *8*, 1–14.
- [273] B. M. Burkhardt, N. Li, D. A. Langs, W. A. Pangborn, W. L. Duax, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, *95*, 12950–12955.
- [274] H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T. N. Bhat, H. Weissig, I. N. Shindyalov, P. E. Bourne, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 235–242.
- [275] D. Sehnal, S. Bittrich, M. Deshpande, R. Svobodová, K. Berka, V. Bazgier, S. Velankar, S. K. Burley, J. Koča, A. S. Rose, *Nucleic Acids Res.* **2021**, W431–W437.
- [276] D. W. Urry, J. D. Glickson, D. F. Mayers, J. Haider, *Biochemistry* **1972**, *11*, 487–493.
- [277] W. R. Veatch, E. T. Fossel, E. R. Blout, *Biochemistry* **1974**, *13*, 5249–5256.
- [278] W. R. Veatch, E. R. Blout, *Biochemistry* **1974**, *13*, 5257–5264.
- [279] Y. Chen, B. A. Wallace, *Biopolymers* **1997**, *42*, 771–781.
- [280] Wallace, *J. Struct. Biol.* **1998**, *121*, 123–141.
- [281] B. Roux, R. Brüschweiler, R. R. Ernst, *Eur. J. Biochem.* **1990**, *194*, 57–60.
- [282] A. S. Arseniev, I. L. Barsukov, V. F. Bystrov, *FEBS Lett.* **1985**, *180*, 33–39.
- [283] B. A. Wallace, *Biophys. J.* **1986**, *49*, 295–306.
- [284] Y. Chen, B. A. Wallace, *Biophys. J.* **1996**, *71*, 163–170.
- [285] B. M. Burkhardt, R. M. Gassman, D. A. Langs, W. A. Pangborn, W. L. Duax, V. Pletnev, *Biopolymers* **1999**, *51*, 129–144.
- [286] L. Chen, Y. Q. Gao, D. H. Russell, *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 689–696.
- [287] A. Abo-Riziq, B. O. Crews, M. P. Callahan, L. Grace, M. S. de Vries, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5166–5169.
- [288] A. M. Rijs, M. Kabeláč, A. Abo-Riziq, P. Hobza, M. S. de Vries, *ChemPhysChem* **2011**, *12*, 1816–1821.
- [289] M. Bouchard, D. R. Benjamin, P. Tito, C. V. Robinson, C. M. Dobson, *Biophys. J.* **2000**, *78*, 1010–1017.
- [290] R. K. Chitta, M. L. Gross, *Biophys. J.* **2004**, *86*, 473–479.

- [291] A. Savitzky, M. J. E. Golay, *Anal. Chem.* **1964**, *36*, 1627–1639.
- [292] K. Matheis, L. Joly, R. Antoine, F. Lépine, C. Bordas, O. T. Ehrler, A.-R. Allouche, M. M. Kappes, P. Dugourd, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15903–15906.
- [293] M. V. Jagannadham, R. Nagaraj, *Biopolymers* **2005**, *80*, 708–713.
- [294] B. A. Wallace, *Biopolymers* **1983**, *22*, 397–402.
- [295] E. Riedel, C. Janiak, *Anorganische Chemie*, 8. Auflage, de Gruyter, Berlin, **2011**.
- [296] H.-D. Arndt, D. Bockelmann, A. Knoll, S. Lamberth, C. Griesinger, U. Koert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4062–4065.
- [297] M. Wollenhaupt, M. Krug, J. Köhler, T. Bayer, C. Sarpe-Tudoran, T. Baumert, *Appl. Phys. B* **2009**, *95*, 245–259.