



Strukturelle Untersuchungen an kleinen Peptiden in der Gasphase, mithilfe der Infrarot-Mehrphotonen- Dissoziationsspektroskopie

Inaugural dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades des

doctor rerum naturalium (Dr.rer.nat.)

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf

vorgelegt von

Tim Gorn

Master of Science (M.Sc.)

angefertigt im Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie I
Abteilung für Hochauflösende UV-Laserspektroskopie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der
mathematisch- naturwissenschaftliche Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. Michael Schmitt

Korreferent: Prof. Dr. Rainer Weinkauff

Mündliche Prüfung: 14.12.2017

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die hier vorliegende Dissertation selbstständig verfasst, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, sowie Zitate kenntlich gemacht zu haben. Die Dissertation wurde in der vorgelegten oder ähnlichen Fassung noch bei keiner anderen Institution vorgelegt. Zusätzlich wurden noch keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen. Weiterhin versichere ich an Eides Statt, dass die Dissertation von mir ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist

Alle ermittelten Ergebnisse und Berechnungen, sowie diese Arbeit im .pdf Dateiformat, befinden sich auf der beigefügten CD.

Lahr/Schwarzwald, 06. Jun. 2018

Tim Gorn, M.Sc.

Einige der in dieser Dissertation vorgestellten Ergebnisse, sowie Aspekte der IR-Multi-photonendissoziationsspektroskopie (IRMPD), wurden während des International Symposium on Molecular Beams, 25 - 30 Juni 2017 in Nijmegen vorgestellt ^[ISMB2017].

Danksagung

Ich danke im besonderen Maße Prof. Dr. Michael Schmitt für die Aufnahme in den Arbeitskreis, die Unterstützung und Betreuung während meiner Promotion, sowie für das entgegengebrachte Vertrauen in meine Arbeit. Zusätzlich möchte ich mich für die organisatorische Unterstützung bei den erfolgten Messungen am FELIX laboratory der Radboud University Nijmegen, sowie die Bekanntmachung mit unseren schwedischen Kollegen des Institutes für Physik der Universität Göteborg und für die Einweisung in die interessante Welt der *ab-initio* Rechnungen bedanken.

Bei meinen Kollegen des Arbeitskreises, sowie meinem Freunden vom Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Weinkauff bedanke ich mich für das angenehme Arbeitsklima, die wertvollen apparativen und theoretischen Diskussionen, sowie für die Beschaffung von unzähligen Paketen Kaffee.

Meinen Brüdern, Tobias und Bastian Gorn möchte ich gerne für die regelmäßige Unterstützung an den Wochenenden der letzten Jahre danken, an welchen am Messgeräteaufbau gearbeitet, Neuerungen implementiert, Bauteile verbessert oder repariert werden mussten. Zusätzlich bedanke ich mich bei Tobias für die Einweisung in die AutoCAD Software, da hierdurch erst viele Ideen in Zusammenarbeit mit der Feinmechanik-Werkstatt umgesetzt werden konnten.

Ein besonderer Dank geht auch an die Firma Yokogawa Deutschland GmbH (Ratingen) und an das PCI bzw. Analyseteam, für das entgegengebrachte Vertrauen, die Flexibilität bzgl. meiner Arbeitszeiten und die Übernahme von Projekten und Aufgaben während meiner Abwesenheit an der Universität. Gleiches gilt für meine Kollegen des Projektmanagementteams der Prozessautomation, der SICK Vertriebs GmbH in Waldkirch (Schwarzwald).

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie, Freunden und meiner Freundin Rebecca für die seelische Unterstützung danken. Danke dafür, dass ihr meistens interessiert geguckt habt, wenn ich mal wieder von „dem Gerät“ erzählte und dafür, dass Ihr mich immer wieder motiviert habt das Wichtige aller Lebensbereiche im Fokus zu behalten.

Zusammenfassung

Die in dieser Dissertation behandelten Fragestellungen besitzen ihren theoretischen Hintergrund sowohl in Teilbereichen der Bioanalytik, als auch in den Bereichen der physikalisch-chemischen Forschungsgebiete finden. Nachfolgend werden einige dieser Teilbereiche aufgegriffen und im Bezug zu den in dieser Dissertation betrachteten Fragestellungen erläutert. Diese Fragestellungen bezogen sich einerseits auf die Energetik verschiedener Konformationen von kleinen Peptiden, sowie auf die technische Realisierung zur Ermittlung ihrer Strukturen.

Von besonderer Relevanz in der Biologie und Medizin, gelten zur Klärung der entsprechenden Reaktionsmechanismen im Körper, die jeweiligen Konformationen der involvierten Reaktanden. Durch dieses Wissen ergeben sich neue Möglichkeiten, um derzeitige Krankheitsbilder besser zu verstehen zu können und um diese langfristig zu lindern. Von besonderem Interesse sind hier die proteinogenen Aminosäuren, welche zwar derzeit als gut erforscht gelten, zu denen jedoch weiterhin einige Fragestellungen offen sind. Entsprechend der inter- und intramolekularen Eigenschaften eines Peptides ergeben sich unterschiedliche Eigenschaften *in vivo*. Die in dieser Dissertation ermittelten Ergebnisse dienen als Grundlage für weitere strukturelle Untersuchungen auf diesem Gebiet und der Überprüfung der zugehörigen theoretischen und experimentellen Methoden.

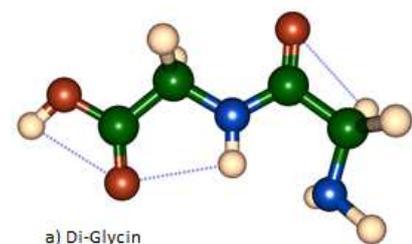
Im Zuge dieser Dissertation habe ich einerseits eine Apparatur zur Mehrphotonenionisation mit Detektion via Massenspektrometrie aufgebaut und in Betrieb genommen, sowie die Konformationen der Dipeptide, Glycin-Glycin (Di-Glycin) und Alanin-Alanin (Di-Alanin) mit einer neuen spektroskopischen Methode, der *IR-Multiphotonendissoziationsspektroskopie (IRMPD)*, untersucht. Die Untersuchung dieser Dipeptide wurde unter Verwendung einer Laserdesorption und einer Infrarotanregung mit dem freien Elektronen-Lasers FELIX in Holland, sowie eines alternativen Messaufbaus an der Radboud University, Niederlande durchgeführt.

Der experimentelle Aufbau in Nijmegen wurde für die Durchführung der noch jungen Messmethode IR-Anregung mit nachfolgender Einphotonenionisation verwendet. In dieser, Mehrphotonen-Anregungsmethode kommt jedoch nicht ausschließlich eine Multiphoton-Infrarot-Anregung mit dem freien Elektronenlaser FELIX zum Einsatz, sondern zusätzlich wird eine nachgeschaltete 1-Photonen-Ionisation mit Vakuum-UV-Photonen (1-VUV) eingesetzt. Damit werden die ins Vakuum gebrachten neutralen, in einem Überschallstrahl gekühlten Moleküle ionisiert und so ein massenabhängiges Signal am Detektor erzeugt. Das generierte Muttermassen- oder Fragment-Signal dient hierbei als Nachweis einer resonanten IR-Anregung. Wenn beim Durchstimmen der Frequenz von FELIX durch die infrarote Strahlung eine Schwingung im neutralen Molekül resonant angeregt wird, wird dies nach der Einphotonen-Ionisation durch eine Fragmentierung und somit einen Intensitätsverlust des Muttermassensignals erkennbar. Die Aufzeichnung des Ionensignals in Abhängigkeit der IR-Wellenlänge entspricht somit indirekt der Aufzeichnung eines IR Spektrums.

Die Besonderheit dieser Messungen liegt darin, dass im Gegensatz zu vorherigen Messungen anderer, die entweder protonierte positiv geladene Peptide oder neutrale Peptide mit aromatischen Seitenketten untersuchten, hier nun neutrale Dipeptide ohne aromatischen Chromophore untersucht werden.

Durch den anschließenden Vergleich der gewonnenen Messdaten mit quantenchemischen Berechnungen, konnte sowohl die unter den experimentellen Bedingungen vorliegende Konformation der beiden Dipeptide bestimmt werden, als auch die gute apparative Eignung des experimentellen Aufbaus für die Bestimmung räumlicher Molekülorientierungen bestätigt werden.

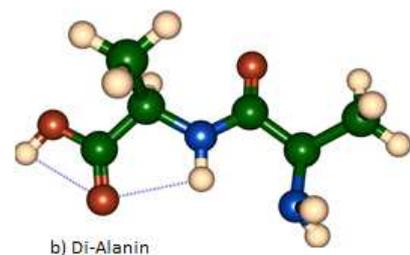
Einen weiteren, wesentlichen Arbeitsbereich dieser Dissertation, stellte die quantenchemische Berechnungen mithilfe der Methoden der „Dichtefunktionaltheorie“, und der *ab initio* Berechnungen mit *coupled cluster* Ansätzen dar. Durch diese Berechnungen konnte die relative räumliche Lage der involvierten Atome in Abhängigkeit der energetischen Lage der Schwingungsniveaus ermittelt, und die experimentell gewonnenen Ergebnisse verifizieren werden. Aufgrund der Tatsache, dass eine große Anzahl an Konformeren vergleichbare Energien besitzt, bestand die Herausforderung in der Ermitt-



lung der energetisch niedrigsten Struktur. Dies wurde in dieser Dissertation durch die Verwendung einer speziellen Software bewerkstelligt, welche eine intelligente Vorauswahl der Konformere möglich machte und somit die Anzahl der potentiell niederenergetischsten Struktur einschränkte. Die nachfolgend durchgeführten, quantenchemischen Berechnungen zur Optimierung der verbleibenden Strukturen, wurden am Hochleistungsrechner „HILBERT“ der Heinrich-Heine-Universität durchgeführt und u.a. mit den theoretischen Berechnungen der Kollegen des Arbeitskreises für Physik der Universität Göteborg, Schweden verifiziert.

Diese Berechnungen reihen sich beispielsweise in den bisherigen Untersuchungen durch Prof. P. Hobza und R. Zahradnik^[P.Hob] ein, welche auf dem Gebiet der theoretischen Chemie vor allem das Feld der theoretischen Beschreibung von Aminosäuren und Proteinen prägen. Die in meiner Dissertation mit der der 1-VUV Ionisierung nicht aromatischer Aminosäuren gewonnenen Resultate, bestätigen und ergänzen diese bisherigen quantenchemischen Berechnungen^[C.Dal]. Weiterhin knüpft die in dieser Dissertation beschriebene Technik an bisher durchgeführte experimentelle und theoretische Untersuchungen an kleinen Biomolekülen in der Gasphase, die in den Gruppen von Levy, Schlag, Schermann, de Vries und Kleinermanns an, welche die notwendigen Grundparameter für die hier durchgeführten Techniken beschreiben^[R.Weiz]. Im Gegensatz zu den klassischen IR-UV-Doppelresonanzexperimenten mit IR-Anregung^{[P. Çar], [H. Pag], [H. Sai], [N. Hei]}, gefolgt von einem resonanten Ionisationsschritt, mit zwei UV-Photonen über den S_1 -Zustand eines aromatischen Chromophors verwenden, benötigt die hier beschriebene Methode keinen Chromophor. In den vorangegangenen Experimenten konnte dieser Chromophor entweder bereits im Peptid in Form einer aromatischen Aminosäure (Tryptophan, Tyrosin oder Phenylalanin) intrinsisch vorliegen, oder muss in einer Synthese als benzenoide Chromophor hinzugefügt werden. Die kovalente Anknüpfung eines Chromophors ändert aber vermutlich auch aber potentiell die Konformation des Peptids.

Die aus quantenchemischen Rechnungen ermittelten, niederenergetischsten Strukturen, welche ebenfalls die experimentellen Daten verifizierten, wurden nachfolgend für Di-Glycin (a) und Di-Alanin (b) dargestellt. Neben der räumlichen Anordnung der Atome in den genannten Dipeptide konnte in dieser Dissertation auch die Ausbildung von intramolekularen nichtkovalenten Rückbindungen ermittelt werden.



Inhalt

Abkürzungen	iii
1. Theoretische Grundlagen und Durchführung der theoretischen Berechnungen	8
1.1. Aminosäuren und Peptide	8
1.1.1. Peptide	10
1.1.2. Nomenklatur	11
1.2. Intramolekulare Bewegungen und IR-Spektroskopie.....	12
1.2.1. Grundlegende elektronische Zusammenhänge	14
1.2.2. Rice-Ramsberger-Kassel-/Markus (RRK-/M) - Theorie.....	16
1.3. Quantenchemische Ab initio -und semi-empirische Optimierungen.....	18
1.3.1. Basissätze	22
1.3.2. Hartree-Fock Variationsmethode.....	24
1.3.3. Semi-empirische Berechnungsmethoden	26
1.3.4. Ab initio Berechnungsmethoden	30
1.3.5. Der „Random structure generator“	36
1.4. Theoretische Optimierungsrechnungen in Bezug Gly-Gly und Ala-Ala.....	37
2. Experimentelle und apparative Grundlagen.....	40
2.1. Nichtresonante Ionisation	40
2.2. Resonante Ionisation	42
2.2.1. IR-VUV-Dissoziations -/Ionisationsspektroskopie (IR-VUV-Ion-Diss)	44
2.1. Laser-Desorption der Proben	46
2.2. FELIX.....	48
1.5.1. Generelle Funktionsweise/ Undulatorsystem.....	48
2.3. Verwendete Geräte/ Spezifikationen	51
2.4. Übersicht über das Messsystem.....	55
2.5. Das Vakuumsystem.....	57
2.6. Das Einlasssystem.....	61
2.7. Die Pulsdüse.....	64

2.7.1.	Ermittlung der Öffnungs -und Verschlusszeiten	65
2.7.2.	Adiabatische Expansion des Trägergas/Analytgemisches	67
2.8.	Ionenoptik.....	72
2.9.	Detektion und Signalverstärkung	75
2.10.	Signale und Signalverarbeitung	77
2.10.1.	System-Synchronisierung	79
2.11.	Apparative Abgrenzungen zum verwendeten Messaufbau des FELIX- Institutes	80
2.11.1.	Reflektron im FELIX Aufbau	82
2.11.2.	Desorption im FELIX Aufbau	83
2.11.3.	Higher Harmonic generation im FELIX Aufbau	85
2.12.	Experimentelle Durchführung der Messungen am FELIX.....	87
3.	Darstellung, Aufbereitung und Diskussion der Ergebnisse.....	88
3.1.	Experimentelle Datenanalyse.....	89
3.2.	Theoretische Datenanalyse	94
3.2.1.	Aufbereitung der theoretischen Spektren, exemplarisch für Gly-Gly und Ala-Ala	97
3.3.	Vergleich der experimentellen und theoretischen Daten.....	100
3.3.1.	Auswertung Gly-Gly.....	100
3.3.2.	Auswertung Ala-Ala	106
3.3.3.	Relative Zustandsdichten Gly-Gly und Ala-Ala	110
3.4.	Referenzdatenvergleich; Gly-Gly und Ala-Ala	115
3.4.1.	Literaturvergleich Gly-Gly.....	116
3.4.2.	Literaturvergleich Ala-Ala.....	119
	Literaturverzeichnis.....	122
	Abbildungs- Formel- und Tabellenverzeichnis	128
	Anhang 1: Semiempirische- und ab-initio Berechnungsdetails	133
	B3LYP; Turbomole Definition	133
	Coupled Cluster (CC2); Turbomole Definition	133

Abkürzungen

FCU	-	Frequency coupling unit (<i>allg.: Frequenzverdopplungseinheit</i>)	Ö.Diff	-	Öl-Diffusionspumpe
SHG	-	secondary harmonic	IC	-	<i>internal conversion (allg.: interne Umlagerung)</i>
FWHM	-	Full width at half maximum	Hz	-	Hertz
PA	-	past acceleration	RT	-	Raumtemperatur
Hz	-	Hertz	t ₀	-	Initiationstrigger
mJ	-	Millijoule	t _{LQ-Switch}	-	Q-Switchtrigger
Nm	-	Nanometer	t _{L-Flash}	-	Blitzlampentrigger
VP(x)	-	Vorpumpennummer. (fortlfd)	VUV	-	Vakuum-UV Strahlung
v(x)	-	Ventilnummer. (fortlfd)	IR	-	Infrarot
He-Ne	-	Helium-Neon	ps	-	Picosekunden
SEV	-	Sekundärelektronenvervielfacher	fs	-	Femtosekunden
	-		THz	-	Terahertz
BBO	-	β-Bariumborat	MW	-	Megawatt
MeV		Megaelektronenvolt	meV	-	Millielektronenvolt
TOF		<i>Time of flight (allg.: Flugzeit)</i>	μJ	-	Mikrojoule
HF	-	Hartree Fock	FEL	-	Freier Elektronenlaser
RSG	-	<i>Random Structure Generator</i>	S ₀	-	Elektronischer Grundzustand
Nd-YAG	-	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser	DFT	-	Dichtefunktionaltheorie
amu	-	<i>engl.: Atomic Mass Unit, Atomare Masseneinheit</i>			
IVR	-	<i>engl.: internal vibrational redistribution, Interne Umlagerung</i>			
NDDO	-	<i>engl.: „neglect of diatomic differential overlap“</i>			
RI	-	<i>engl.: „resolution of identity“, Auflösungs-Näherung</i>			

MNDO	-	<i>engl.: "Modified Neglect of Diatomic Overlap"</i>
MALDI	-	Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation
Ab initio	-	<i>Lat.: "von Anfang an" -Quantenchemische Berechnungsmethoden</i>
CCSD	-	engl.: " <i>coupled-clusters singles and doubles</i> ", einfach und doppelt gekoppelte Cluster
LCAO	-	lineare Kombination der Atomorbitale engl.: linear combination of atomic orbitals
ZPE	-	engl.: " <i>Zero Point Energy</i> ", Nullpunktenergie
FELIX	-	freier Elektronen Laser der Radboud University, Nijmegen (NL)
MPI	-	Mehrphotonen-Ionisation
IRMPD	-	Infrarot-Multiphotonen-Dissoziationsspektroskopie

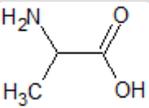
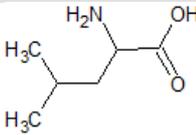
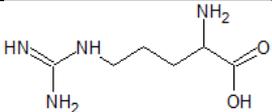
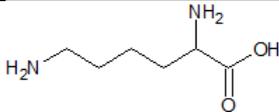
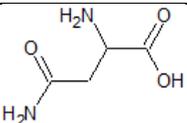
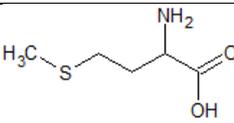
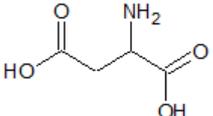
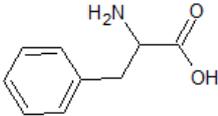
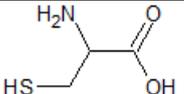
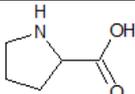
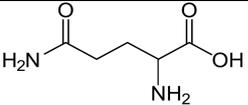
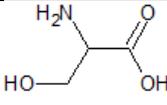
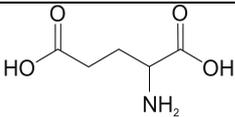
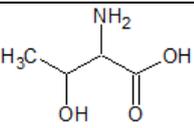
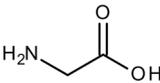
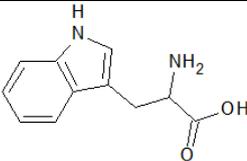
1. Theoretische Grundlagen und Durchführung der theoretischen Berechnungen

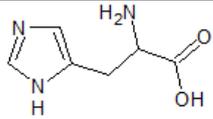
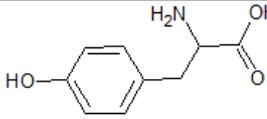
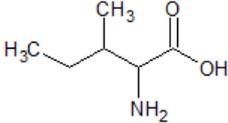
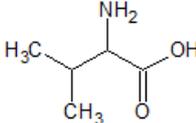
Um eine bessere Nachvollziehbarkeit der in dieser Dissertation ermittelten Ergebnisse zu gewährleisten, gilt es vorab einige theoretische Details der hier betrachteten Fragestellung zu beleuchten. Hierbei werden nachfolgend die notwendigen theoretischen Grundlagen für das Verständnis der hier experimentell und computerchemisch gewonnenen Messergebnisse erläutert. Die Fragestellung dieser Dissertation richtete sich in erster Linie auf die Ermittlung der realen Strukturkonformationen der isoliert vorliegenden Dipeptide, also von zweifach verknüpften. Auf die Aminosäuren im Allgemeinen wird im nachfolgendem Kapitel Bezug genommen. Die konformationsspezifischen Schwingungen der untersuchten Peptide folgen, vor einer näheren Beleuchtung der durchgeführten, quantenchemischen Rechnungen. Im weiteren Verlauf dieser Dissertation werden dann die technischen Besonderheiten des experimentellen Aufbaus näher dargestellt.

1.1. Aminosäuren und Peptide

Aminosäuren gelten als die elementaren Bausteine von Proteinen und Peptiden. In ihrer isolierten Form weisen die α -Aminosäuren eine Amino- und eine Carboxylgruppe, einen Rest (R) sowie ein Wasserstoffatom auf, die an das α -C-Atom der Carboxylgruppe gebunden sind. Der Rest R bezeichnet die jeweilig unterschiedliche Abzweigung der Aminosäure. In Tabelle (AS.T1) werden nachfolgend die häufigsten und biologisch relevanten Aminosäuren mit ihren spezifischen Abzweigungen dargestellt. Hier wird ersichtlich, dass die jeweilige Aminosäure über ein Stereozentrum verfügt, wobei das mögliche L-Enantiomer der abgebildeten Aminosäuren überwiegend über biologische Relevanz verfügt und somit auch ausschließlich Anwendung bei dem Aufbau von Peptiden und Proteinen in biologischen Systemen findet ^[L.Sry1]. Im weiteren Verlauf dieser Dissertation, beziehen sich alle genannten proteinogenen und für die durchgeführten Analysen verwendeten Aminosäuren auf die L-Form. Die entsprechende Symbolik zur Vereinfachung von Aminosäuresequenzen, werden ebenfalls in Tabelle (AS.T1) dargestellt ^[L.Sry2].

Tabelle (AS.T1): Natürliche Aminosäuren, mit molarer Masse, Klassifizierung und Abkürzungssymbolik [J.Kol1]

Aminosäure	Strukturformel	Masse g/mol	Aminosäure	Strukturformel	Masse g/mol
Alanin <i>neutral</i>		89,10	Leucin <i>neutral</i>		131,18
Symbolik	Ala	A		Leu	L
Arginin <i>basisch</i>		174,20	Lysin <i>basisch</i>		146,19
Symbolik	Arg	R		Lys	K
Asparagin <i>neutral</i>		132,12	Methionin <i>neutral</i>		149,21
Symbolik	Asp	N		Met	M
Aspartat <i>sauer</i>		133,10	Phenylalanin <i>neutral</i>		165,19
Symbolik	Asp	D		Phe	F
Cystein <i>neutral</i>		121,16	Prolin <i>neutral</i>		115,13
Symbolik	Cys	C		Pro	P
Glutamin <i>neutral</i>		146,15	Serin <i>neutral</i>		105,05
Symbolik	Glu	Q		Ser	S
Glutamin- säure <i>sauer</i>		147,13	Threonin <i>neutral</i>		119,12
Symbolik	Glu	E		Thr	T
Glycin <i>neutral</i>		75,07	Tryptophan <i>neutral</i>		204,23

Symbolik	Gly	G		Trp	W
Histidin <i>basisch</i>		155,2	Tyrosin <i>neutral</i>		181,19
Symbolik	His	H		Tyr	Y
Isoleucin <i>neutral</i>		131,17	Valin <i>neutral</i>		117,15
Symbolik	Ile	I		Val	V

Teilweise entnommen aus [T.Gor1]

1.1.1. Peptide

Eine Peptidbindung entsteht, wenn der C-Terminus einer ersten Aminosäure mit dem N-Terminus einer zweiten Aminosäure reagiert. Dabei wird ein Wassermolekül abgespalten und es entsteht die C-N-Bindung einer Acetamid-Gruppe. Die genannte Reaktion wurde vereinfacht in Abbildung AS.A1a dargestellt.

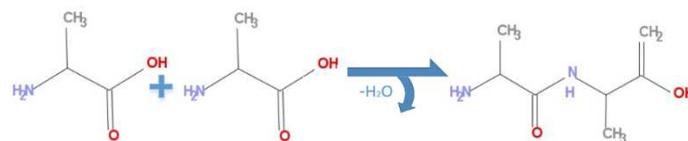


Abbildung (AS.A1a): Acetamidbildung (vereinfacht)

Unter Kondensation von Wasser wird im dargestellten Fall das Di-Peptid Ala-Ala gebildet. Durch weitere mögliche Kondensationen ist das oben gezeigte Produkt zur Polypeptidkette erweiterbar.

Durch die Verknüpfung mehrerer Aminosäuren resultiert somit eine Polypeptidkette, bestehend aus einer Hauptkette (*engl.: backbone*) und den entsprechenden, oben genannten Nebenketten. Das entstandene Peptid weist somit einen aminoendständigen- und einen carboxylendständigen Rest auf (N-, C-Terminus). Hierbei können die Anzahl der Aminosäuren in einem Protein zwischen 50 und 2000 liegen. In dieser kettenartigen Form kann das Peptid als Primärstruktur bezeichnet werden ^[H.Jak1]. Durch eine Ausbildung von Wasserstoffbrücken innerhalb der jeweiligen Peptidketten, können so die Strukturen der α -Helix oder der β -Faltblattstrukturen ausgebildet werden, welche als Sekundärstrukturen der Proteine bezeichnet werden. Die Tertiärstruktur beschreibt den Zusammenschluss mehrerer Sekundärstrukturen,

übergeordnet können die Assoziat mehrerer Tertiärstrukturen als Quartärstruktur bezeichnet werden [L.Sry2].

1.1.2. Nomenklatur

Um die mittels der in dieser Dissertation durchgeführten Photofragmentierung entstehenden Peptid-Massenfragmente eindeutig beschreiben zu können, ist die Verwendung einer eindeutigen Nomenklatur unerlässlich. Eine derzeit gängige Nomenklatur wurde von Roepstorff und Fohlman [P.Roe] erstmals verwendet und wird nachfolgend näher beschrieben.

Das zugehörige Fragment der Hauptkette, dessen positive Ladung in Richtung des N-Terminus dargestellt ist, wird mit $A_i, B_i, C_i, i \in \{1, 2 \dots n\}$ beschrieben. Als A_1 wird nun das Fragment bezeichnet, das aus dem N-Terminus, aus dem ersten Aminosäurerest, sowie dem α -Kohlenstoff der Peptidbindung und H-Atom besteht. Das Fragment B_1 beinhaltet zusätzlich den Carbonylrest, der vorherigen Peptidbindung. Gemäß dieser Reihe beinhaltet das nächste Fragment zusätzlich das Amin der vorherigen Peptidbindung und wird somit als C_1 gekennzeichnet. Die nachfolgenden Fragmente entlang der Hauptkette, ausgehend vom N-Terminus, werden durch A_2, B_2, C_2 usw. gekennzeichnet

Bei Fragmenten, bei denen die positive Ladung in Richtung zum C-Terminus angelagert ist, gestaltet sich die Nomenklatur analog zur oben genannten Vorgehensweise. Es wird sich jedoch invers zum N-Terminus, der Buchstaben $Z_i, Y_i, X_i, i \in \{1, 2 \dots n\}$ bedient und folgt bei der Beschreibung der N-Fragmente einer peptidanzahlabhängigen, aufsteigenden Nummerierung der Fragmente. Anhand eines beispielhaften Peptides, wird diese Nomenklatur in Abbildung dargestellt (AS.A1) [R.Oep1].

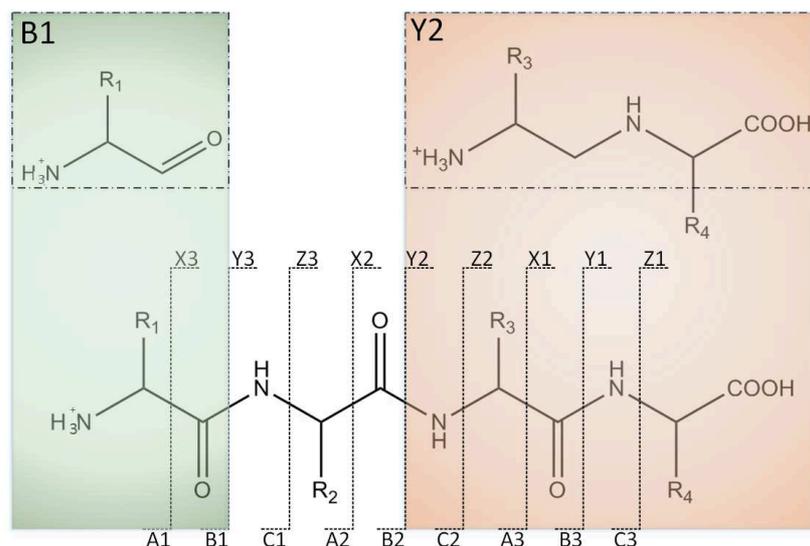


Abbildung (AS.A1): Peptidaufbau, sowie beispielhafte Darstellung jeweils benannten Fragmente.

Das B1-Fragment wurde in der oben gezeigten Darstellung grün markiert und beschreibt entsprechend der Definition nach Roppstorff und Fohlman [Zitat], die Vorgehensweise bei der Benennung der jeweiligen Fragmente. Hierbei wird das gezeigte B1-Fragment ausgehend vom N-Terminus benannt. Vergleichsweise wird das in Rot dargestellte Y2-Fragment ausgehend vom C-Terminus, gemäß der gezeigten Darstellung bezeichnet.

1.2. Intramolekulare Bewegungen und IR-Spektroskopie

In Hinblick auf die hier durchgeführte Anregung der verwendeten Peptide, wird im nachfolgenden auf die Anregungsprozesse der Schwingungszustände des elektronischen Grundzustands (S_0), sowie dem für die hier durchgeführten Analysen essenzielle nicht-resonante Ionisation zur Generierung des spezifischen Fragmentierungsmusters eingegangen. Alle möglichen Schwingungsmöglichkeiten von Molekülen richten sich einerseits nach der intramolekularen atomaren Zusammensetzung, andererseits werden durch intramolekulare Wechselwirkungen, die eine oder andere Schwingung charakteristisch verschieben. Durch die genannten Wechselwirkungen werden, wie allgemein bekannt, zudem die Lage der entsprechenden Schwingungsniveaus beeinflusst und stellen somit eine essentielle Argumentationshilfe bei der Auswertung von experimentell bestimmten Daten dar. Eine detailliertere Darstellung des zugehörigen, vereinfachten elektronischen Modells zur näheren Erklärung der Schwingungen im Bezug zum experimentell generierten Spektrum wird zu einem späteren Zeitpunkt, im Kapitel „Photoionisationsprozesse“ näher beleuchtet.

Die Frequenzen der Molekülschwingungen hängen von der Geometrie des Moleküls (den Atompositionen) und den Kraftkonstanten der Bindungen zwischen den Atomen ab.

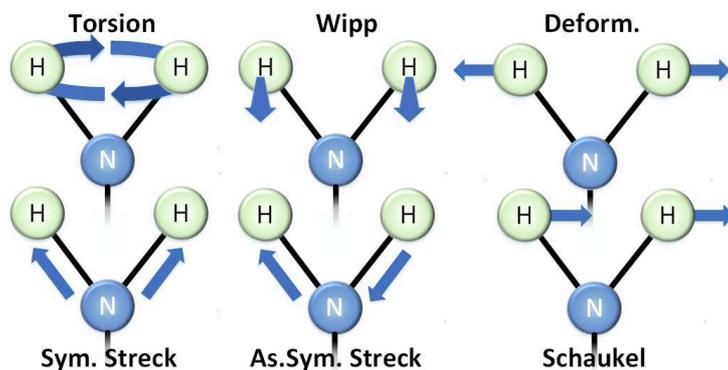


Abbildung (IB.A1): Übersicht über mögliche Schwingungsmoden (exemplarisch für -NH_2)

Exemplarisch sind die möglichen Schwingungszustände am -NH_2 dargestellt. Bei den $3N-6$ Freiheitsgraden handelt es sich einerseits um die Schwingungsmöglichkeiten, abzüglich der 6 insgesamt möglichen Rotationen (3) und Translationen (3) nicht linearer Moleküle. Diese sind gemäß ihrer energetischen Lage im Anregungsspektrum identifizierbar und unterteilen sich zudem in entsprechende Schaukel-, Torsions-, Deformations- und Wippschwingungen, sowie symmetrische und asymmetrische Streckerschwingungen.

Bei den genannten möglichen Schwingungen eines Moleküls, lassen sich diese in symmetrische und asymmetrische Schwingungen differenzieren, sowie in entsprechende Schaukel-, Torsions-, Deformations- und Wippschwingungen, sowie symmetrische und asymmetrische Streckerschwingungen. Diese werden in Abbildung IB.A1 schematisch für -NH_2 dargestellt. Die energetischen Lagen der Schwingungen, lassen sich in Abhängigkeit des Moleküls im Spektrum zuordnen ^[T.Weid1]. Es gilt an dieser Stelle jedoch zu erwähnen, dass nicht all der genannten Schwingungsmöglichkeiten im IR-Spektrum auftreten. Hierbei ändert sich Schwingungsquantenzahl um $\Delta\nu = \pm 1$. Nähere Informationen zur allgemeinen IR Spektroskopie und der zugehörigen Voraussetzungen, lassen sich beispielsweise in der weiterführenden Literatur von Helmut Günzler und Hans-Ulrich Gremlich nachlesen. ^[H.Gün]

1.2.1. Grundlegende elektronische Zusammenhänge

Grundlagen der Fragmentation von Peptiden mittels Laseranregung, werden mit Hilfe eines Jablonskidiagrammes (Abb. Pl.A1) nachfolgend erläutert. Im Jablonskidiagramm werden die jeweiligen elektronischen Zustände und verschiedene Übergänge wie Absorption, Emission, IC, ISC, Stoßrelaxation, sowie die möglichen Schwingungsmoden eines Moleküls bis hin zur Dissoziation dargestellt.

Aus den Schwingungsmoden des Grundzustandes S_0 (Singulettzustandes) eines Moleküls, können durch die Absorption eines Photons, die Elektronen in höhere elektronische Zustände der gleichen Multiplizität angeregt werden (z.B.: S_1, S_2, \dots). In Lösung kann Fluoreszenzstrahlung aus einem angeregten Zustand, nach vorangegangener Stoßrelaxation zum $S_1^{(v=0)}$, nur aus diesem Zustand emittiert werden (Kasha-Regel)^{[K.Ash],[S.upp]}. Das Molekül geht hierbei wieder in einen Schwingungszustand des S_0 über. Man beachte, dass es in den von uns verwendeten extrem ausgedünnten Molekularstrahlen keine Stöße gibt, also keine Stoßrelaxation stattfindet. Ebenfalls ist auch eine innere Konversion (*engl.: internal conversion, Abk.: IC*) denkbar. Das angeregte Elektron geht hierbei isoenergetisch in einen niedrigeren elektronischen Zustand über und relaxiert in Lösung aus diesem strahlungslos bis hin zum entsprechend vibronischem Grundzustand. Ein isoelektronischer Übergang, ist mittels Spinumkehr, des Elektrons auch in einen energetisch niedriger liegenden Triplettzustand möglich (*engl. inter system crossing, Abk.: ISC*). Aus diesem ist die Abregung des Elektrons aus dem $v=0$ Grundzustand, unter Emission von Phosphoreszenz in den S_0 möglich. Zusätzlich ist aus diesem Zustand auch wieder das Erreichen des S_0 über nochmaliges ISC möglich.

Die bereits genannte Stoßrelaxation kann über Stöße mit den sich in der unmittelbaren Umgebung befindlicher Molekülen stattfinden.

Weiterhin kann sich die vorhandene Energie innerhalb der Schwingungen des großen Moleküls umverteilen. Aber auch in kleineren Molekülen besteht diese Möglichkeit, welche im Sinne der involvierten molekularen Zustandsdichten noch später in dieser Dissertation dargestellt werden. Man spricht hier dann von einer internen Schwingungsenergieumverteilung (*IVR*) (*engl.: internal vibrational redistribution*). Im Gegensatz zur Stoßrelaxation kann dieser Prozess ebenfalls im Molekularstrahl stattfinden.

Aufgrund der entsprechend höheren Präsenz potentieller Stoßpartner ist der Stoßrelaxationsweg dominierend in Lösung anzutreffen. Des Weiteren können Stoßrelaxationen in Lösung durch die höhere Konzentration an möglichen Stoßpartnern in einem kleineren Zeitintervall stattfinden als in der Gasphase. Bei angeregten gasförmigen Molekülen im Hochvakuum, ist die Stoßrelaxation als gering anzusehen. Die bereits erwähnten isoenergetischen intramolekularen Übergänge wie z.B.: IC sowie ISC sind von der Anwesenheit von Lösemittelmolekülen unabhängig.

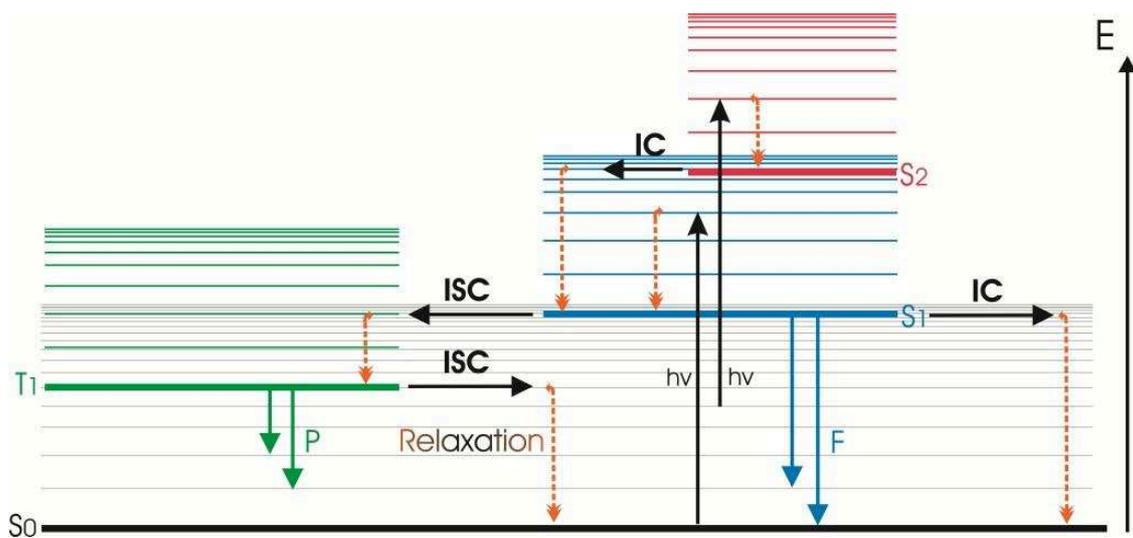


Abbildung PI.A1: Schematische Darstellung des allg. Jablonski Diagramms

„Schematische Darstellung der möglichen elektronischen Übergänge und Zustände, welche nach der Absorption eines Photons erreicht werden können. Dargestellt sind hier die die jeweiligen Schwingungszustände der nicht angeregten und angeregten Zustände, (S_0 , S_1 , S_2 , ...) sowie die unter Spinumkehr erreichbaren, verbotenen Triplettzustände (T_1 , ...). Stoßrelaxationen bis zum jeweilig vibronischen Grundzustand, werden mittels orangefarbener Pfeile dargestellt. Aus den vibronischen Grundzuständen des S_1 bzw. T_1 kann unter der Abgabe von Energie Fluoreszenz (F) bzw. Phosphoreszenz (P) emittiert werden.“ Diese Abbildung inkl. Beschreibung wurde aus [T.Gor1] entnommen.

1.2.2. Rice-Ramsberger-Kassel-/Markus (RRK-/M) - Theorie

Wie allgemein bekannt, bedarf es zur Dissoziation einer ausreichenden Energie, welche in Form der später erläuterten resonanten IR-Anregungen in das untersuchte Molekül eingebracht wird. Neben diesem Aspekt, ist zudem die Dissoziation von der Geschwindigkeit des Einbringens der Energie in das Molekül abhängig, bzw. davon wie schnell sich diese Energie innerhalb des Moleküls im Vergleich dazu verteilen kann. Verteilt sich die Energie im Molekül so muss sie sich statistisch wieder auf einer Bindung sammeln, um eine Dissoziation zu erreichen.

Eine weitere wichtige Annahme zur Dissoziationsenergie für die in dieser Dissertation durchgeführten Untersuchungen an Peptiden ist, dass ausreichend eingebrachte Energie in einem Oszillator (also einer Schwingungsmode) lokalisiert vorliegt, um nachfolgend durch eine Energieeinbringung vieler Photonen ein geändertes Fragmentierungsmuster (in Bezug auf die Ionisierung ohne IR) zu erzeugen. Mehr Energie heisst nur kleinere Fragmente. Ein schwingungsabhängiger lokaler Bindungsbruch ist nicht möglich. Die IR-Anregung wird, wie bereits erwähnt, durch die Verwendung des freien Elektronen Lasers realisiert. Da mit einer Zunahme der Molekülgröße auch eine höhere Zustandsdichte einhergeht, ergibt sich, dass die Wahrscheinlichkeit einer Energieumverteilung im gleichen Maße wie die möglichen Kombinationen der $3N-6$ möglichen Schwingungsfreiheitsgrade zunimmt. Bei gleichbleibender eingebrachter Energie ist die Wahrscheinlichkeit einer Dissoziation somit geringer und die Umverteilung innerhalb des gleichen Zeitintervalls wahrscheinlicher. ^[O.Ric1].

Dieser Zusammenhang zwischen eingebrachter Energie und der Verteilung im unimolekularem System und an die Umgebung, wurde in der Praxis durch L.S. Kassel sowie zeitgleich durch O.K. Rice, H.C. Ramsberger ausgiebig untersucht (RRK) und ist anknüpfen zu den Ausführungen zur IVR darzustellen.

Aus den Forschungsergebnissen nach RRK gehen die entstandenen Theorien davon aus, dass die Energie im Molekül mittels IVR im Molekül verteilt wird. Das Erreichen der Dissoziationsenergie einer Bindung unterliegt einer Statistik bei der Umverteilung. Hierbei wird die eingebrachte Energie im Molekül dissipiert, eine Dissoziation ist dann nur noch über das statistische

Erreichen von genügend Energie an einer Bindung möglich. Unter Vereinfachung der folgenden Punkte können Geschwindigkeitskonstanten der Dissoziation vereinfacht ermittelt werden.

- Die internen Schwingungsmoden werden als harmonische Oszillatoren betrachtet, welche mit fester Frequenz schwingen.
- Molekülrotationen werden als Energieumverteilungsmöglichkeit vernachlässigt, es werden lediglich Schwingungen betrachtet.
- IVR und andere isoenergetische Energieübergänge sind erlaubt.

Aus den Zustandsdichten der Schwingungsmoden und der Zustandssumme der aktiven Moden kann die RRK Geschwindigkeitskonstante $k(E)$ erhalten werden kann.

$$k(E) = \nu \frac{(E - E_0)^{S-1}}{E}$$

Die genannten Zustandsdichten werden im Zuge der Ergebnisdiskussion noch weiter beleuchtet, da diese bei der Auswertung gewonnen experimentellen Daten ebenfalls im erhaltenen Spektrum veranschaulicht werden können. Hierbei ist naheliegend, dass die die jeweiligen Zustandsdichten in Abhängigkeit der vorliegenden molekularen Konfiguration und der involvierten Wellenzahl liegt. Zusätzlich steuerte Marcus ergänzende Aspekte in den 50er Jahren zu den Ausführungen nach RRK bei. Unter Berücksichtigung aller Schwingungsfrequenzen war es hier möglich genauere Angaben zu den jeweiligen Reaktionsgeschwindigkeiten, unterschiedlich großer Moleküle treffen zu können^[R.Mar1]. Experimentelle Parameter wie z.B.: die real vorliegende Frequenz, molekulare Rotationen und das Vorhandensein der Nullpunktenergien wurden hierbei in der Berechnung mitberücksichtigt um die die Werte der molekülabhängigen Dissoziationsenergien bestimmen zu können.

Grundlegend wurden nun die theoretischen Ansätze zur Bestimmung der in dieser Dissertation zu bestimmenden Mollkekülkonformationen dargestellt. Diese Grundlagen, vor allem aus dem Bereich der möglichen molekularen Bewegungen und ihrer energetischen Lagen, liefern wiederum die Grundlage für das nachfolgende Kapitel, der quantenchemischen *ab-initio* und semi-empirischen Berechnungsmethoden. In diesem Kapitel dieser Dissertation, werden diese

Grundlagen auf die theoretische Berechenbarkeit der energetischen Lagen der Schwingungszustände und der darauf resultierenden theoretischen IR-Spektren näher dargestellt. Als Grundvoraussetzung jeglicher experimenteller und, oder theoretischen Ausführungen ist die, wie im gezeigten Jablonski Diagramm zu erkennen, dass das untersuchte Molekül sich nach Möglichkeit im energetisch definiertem, also niedrigsten elektronischen Zustand befindet. In diesem Zustand nimmt das zu untersuchende Molekül ebenfalls die energetisch niedrigste Konformation ein, wenn die Barrieren, welche die Konformere trennen bei der jeweiligen Temperatur überwunden werden können. Nachfolgend werden die Techniken, um diesen energetisch niedrigen Zustand zu berechnen, näher beleuchtet.

1.3. Quantenchemische *Ab initio* -und semi-empirische Optimierungen

Wie bereits erwähnt, die verschiedenen Konformere der untersuchten Dipeptide unterschiedliche IR-Spektren. Durch gehinderte Rotationen um einzelne Bindungen des Peptidrückgrats entsteht eine Vielzahl an möglichen Konformeren. Aus dieser Vielzahl gilt es nun, das mit der geringsten Energie aufzufinden. Nachfolgend wird auf die Grundlagen der theoretischen Berechnungen eingegangen.

Neben der bereits erwähnten Anforderung den energetisch niedrigsten Zustand des Dipeptids zu berechnen, ist weiterhin die Notwendigkeit einer Verifizierung der experimentell ermittelten Schwingungszustände bzw. Übergänge zu berücksichtigen. Das hier gesuchte globale energetische Minimum der verwendeten Struktur, beschreibt die energetisch minimalste Anordnung aller Atombindungen, für alle drei Raumebenen, auf der Potentialfläche.

Die Gesamtenergie eines Systems setzt sich aus der Kernabstoßungsenergie und der elektronischen Energie zusammen. Hierbei steht Z für die Ladung und R für den Abstand der Atome im Raum.

$$(QS.G38) \quad \sum_I^{Kern} \sum_{J < I} \frac{Z_I Z_J e^2}{\Delta R_{IJ}}$$

Diese gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass die zur Dissoziation benötigte Energie $E > E_0$ in einer Mode lokalisiert wird. Zur Ermittlung des gesuchten energetischen, globalen Minimums, bedarf es einer Geometrieoptimierung bis zur Erreichung eines an Null approximierten Energie-

gradienten. Die Ermittlung des Energiegradienten erfolgt durch das Aufstellen der Hesse-Matrix, welche die zweiten Ableitungen der potentiellen Energie des Systems nach den Normalkoordinaten darstellt. Dieses Optimierungsverfahren wird Gradientenverfahren genannt. Das Gradientenverfahren (auch Verfahren des steilsten Abstiegs) geht von einem Näherungswert aus. Ausgehend davon bewegt man sich in Richtung des negativen Gradienten (also mit dem steilsten Abstieg). Die Optimierungsschritte werden durchgeführt, bis der Gradient fast gleich oder gleich Null ist.^[M.Sch1]

Die Berechnung der gewünschten Kraftkonstanten aus den zweiten analytischen Ableitung der Energien nach den Normalkoordinaten, erweist sich in Abhängigkeit von der gewünschten Genauigkeit der Methode (*ab-initio* oder semi-empirisch) als sehr zeit- und kostenintensiv. Um nach der Strukturoptimierung eine Frequenzanalyse durchführen zu können, die gewählte quantenchemische Methode die Geometrie möglichst exakt darstellen. Dies stellt einen hohen Anspruch an den durchschnittlich erreichten Gradienten.

Die Geometrien mit minimaler Energie werden in Abhängigkeit der Umgebungsbedingungen oftmals auch dominierend in der Natur angetroffen. Entsprechend der ermittelten Geometrie der zu untersuchenden Moleküle, können anschließend die experimentell bestimmten Schwingungszustände mit den theoretischen Rechnungen verglichen und bei Übereinstimmung die jeweiligen Konformere identifiziert werden.

Nachfolgend werden einige quantenchemische *ab initio*, sowie semi-empirische Geometrieoptimierungen näher beleuchtet. Die durchgeführten quantenchemischen und semiempirischen Berechnungen wurden unter der Verwendung des Turbomole Programmpakets (v.6.6) durchgeführt.

Zur Optimierung von Molekülgeometrien muss die Schrödinger Gleichung gelöst werden.

$$(QS.G1) \quad \hat{H}\Psi_n(\vec{r}, \vec{R}) = E_n \Psi_n(\vec{r}, \vec{R})$$

Hierbei werden durch Ψ_n die zugrundeliegenden totalen Wellenfunktionen des Zustandes (n), der involvierten Kernkoordinaten bzw. Vektoren (\vec{R}) und die Koordinaten der Elektronen (\vec{r}) betrachtet. Sowohl der Hamiltonoperator (\hat{H}), als auch die zugrundeliegende Wellenfunktion der Elektronen wird entsprechend der jeweiligen Aufgabe, durch die Verwendung geeigneter Methoden optimiert.

In Übereinstimmung mit der Born-Oppenheimer Näherung, werden Kernbewegung und Elektronenbewegung separiert. ^[B.Opp1] Der Hamiltonoperator ist in Gleichung (QS.G3), in Übereinstimmung mit der Born-Oppenheimer Näherung, dargestellt.

$$(QS.G3) \quad \hat{H} = \frac{\hbar^2}{2m_{el}} \sum_i^{N_{el}} \nabla_i^2 - j_0 \sum_i^{N_e} \sum_l^{N_{nuc}} \frac{Z_l}{r_{li}} + \frac{1}{2} j_0 \sum_{i \neq j}^{N_{el}} \frac{1}{r_{ij}}$$

Hierbei ist $j_0 = \frac{e_0^2}{4\pi\epsilon_0}$ und m_{el} die Masse des Elektrons.

Der elektronische Teil der Gleichung (QS.G3) wird mittels einer Slater-Determinante beschrieben, welche die Spinorbitale ($\phi(\vec{r})$) der Elektronen beschreibt. In der in Gleichung (QS.G4) gezeigten Slater-Determinante, steht jede Position in der gezeigten Matrix für die jeweilige Position des entsprechend involvierten Orbitals, in Übereinstimmung mit dem Pauliprinzip und der damit anzunehmenden der Elektronen in den Orbitalen ^[J.Neu].

$$(QS.G4) \quad \psi(\vec{r}) = \det(\phi_1, \phi_2, \dots, \phi_n) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \det \begin{bmatrix} \phi_1(\vec{r}1) & \dots & \phi_N(\vec{r}1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(\vec{r}N) & \dots & \phi_N(\vec{r}N) \end{bmatrix}$$

Die genannten Darstellungen liefern die Grundlage der semi-empirischen und quantenchemischen Rechnungen. Die für diese Dissertation verwendeten Berechnungsmethoden lassen sich sowohl in die Kategorie der semi-empirischen und quantenchemischen Berechnungen einsortieren, als auch in deren Unterkategorien. Zur besseren Veranschaulichung wurden die verwendeten Methoden vorab mit der entsprechenden Kategorisierung in Abbildung (QS.A1) dargestellt.

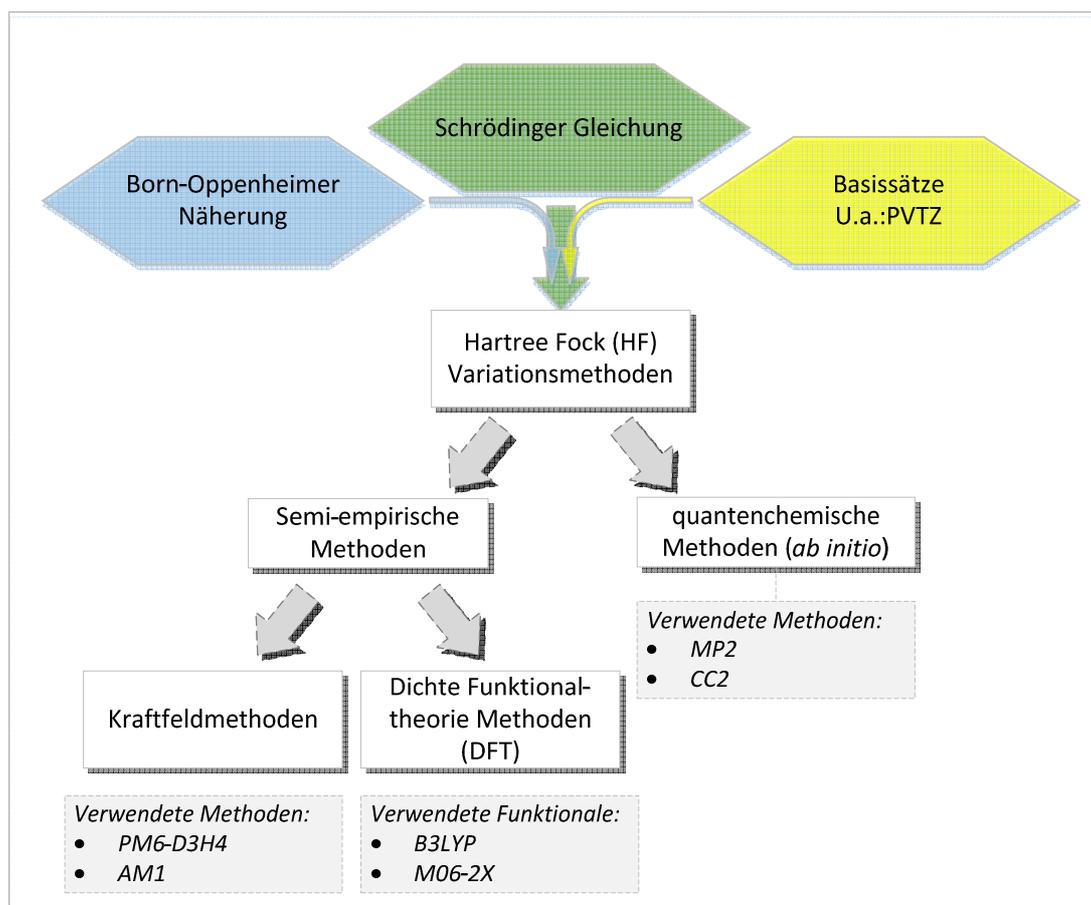


Abbildung QS.A1: Übersicht über verwendete Optimierungsmethoden

Als Grundlage für quantenchemische Berechnungs- und Optimierungsmethoden, dient jeweils die Schrödingergleichung, in Kombination mit der entsprechenden Darstellung von Orbitalmodellen über die zugrundeliegenden Basissätze. Als zusätzlich Grundannahme dient die Born-Oppenheimer Näherung, im Sinne einer vernachlässigten Kernbewegung in Relation der betrachteten elektronischen Zustände, sowie die Hartree-Fock Ansätze.

Ausgehend von diesem Grundgerüst werden die Berechnungs- und Optimierungsmethoden in semi-empirische, sowie ab-initio Methoden aufgespalten. Sowohl die DFT, als auch HF-Variationsmethoden machen sich z.T.: zugrundeliegende empirische Daten zur Erreichung kostengünstigerer und doch hochwertiger Berechnungsergebnisse zunutze. Die jeweilig vereinfachten Orbitalmodelle erzielen hierbei unterschiedliche Berechnungsgenauigkeiten, wobei die DFT Methoden um verschiedene, anwendungsbezogene Funktionale ergänzt werden können und so als genauere Methoden im semi-empirischen Bereich gelten.

Ab initio Berechnungen werden als genaueste, aber auch als kostenintensivste Methoden genannt und beruhen im Gegensatz zu den semi-empirischen Methoden auf optimierten, quantenchemischen Modellen ohne experimentell zugrundeliegende Datensätze. Neben der Møller-Plesset Störungstheorie gilt vor allem die Coupled-Cluster Methode als eine der optimiertesten Methoden und gilt so für einen weiten Applikationsbereich als geeignet.

1.3.1. Basissätze

Bei den verwendeten Basissätzen handelt es sich um Linearkombinationen der Atomorbitale (LCAO). Üblicherweise werden für die Basisfunktionen Gauß-Typ-Orbitale verwendet, welche der Lösung der Wellenfunktion des Wasserstoffatoms entspringen^[P.Gil1]. Hierbei werden in Abhängigkeit der gewählten Anzahl und Komplexität der Basissätze und der implementierten Basisfunktionen (φ_i) bessere Näherungen erzielt.

$$(QS.G5) \quad \varphi(r) = R_l(r)Y_{lm}(\theta, \phi)$$

Zur Optimierung der Gaußfunktion und somit zur Darstellung der optimierten, zugrundeliegenden Orbitalmodelle, wird der radiale Anteil der Funktion als die Summe seiner normalisierten Exponentialfunktionen, sowie normalisierten Konstante $A(l, \alpha_p)$ und des Kontraktionskoeffizienten (c_p) betrachtet.

$$(QS.G6) \quad R_l(r) = r^l \sum_{p=1}^P c_p A(l, \alpha_p) e^{-\alpha_p r^2}$$

In der einfachsten Form weist ein Basissatz eine einzelne Basisfunktion auf. Als Grundlage der in dieser Dissertation durchgeführten Rechnungen wurde der cc-pVTZ-Basissatz^[T.Dun] verwendet, welcher die Polarisierung der Molekülorbitale mitberücksichtigt. Hierbei setzt sich der verwendete Basissatz aus „cc-p“, „V“ und „TZ“ zusammen. „cc-p“ beschreibt den Bezug zur involvierten Polarisierungsimplementierung und steht für *correlation-consistent polarized*. Der Aspekt der Verzerrung eines Orbitals via Verwendung der „cc-p“ Basis erlaubt zusätzlich eine schrittweise Implementierung größerer Polarisierungsfunktionen (z.B.: d,f,g,...). Den Rechnungen liegt also ein angepasstes Molekülorbitalmodell zugrunde, welches bei z.B. Geometrieoptimierungen einen wesentlichen Teil zur Genauigkeit der durchgeführten Rechnung beitragen kann. Zur Veranschaulichung wurde die Linearkombination eines p-Orbitals, unter Verwendung eines Polarisierungsaspektes zur Ausbildung eines angepassten Modells eines verzerrten, bindenden p-Orbitals in Abbildung (QS.A2) veranschaulicht.

„V“ wird hier für die Betrachtung der Valenzorbitale definiert, „TZ“ dient der Indikation der Verwendung eines engl.: *triple zeta valence electron* Bezuges. Die Bezeichnung *triple* spiegelt somit die Verwendung von drei Funktionen zur Berechnungen jedes Valenzorbitales wieder. Ebenso referenziert *zeta* (ζ), den Exponenten der Slaterorbitaltypen. [E.Dav]

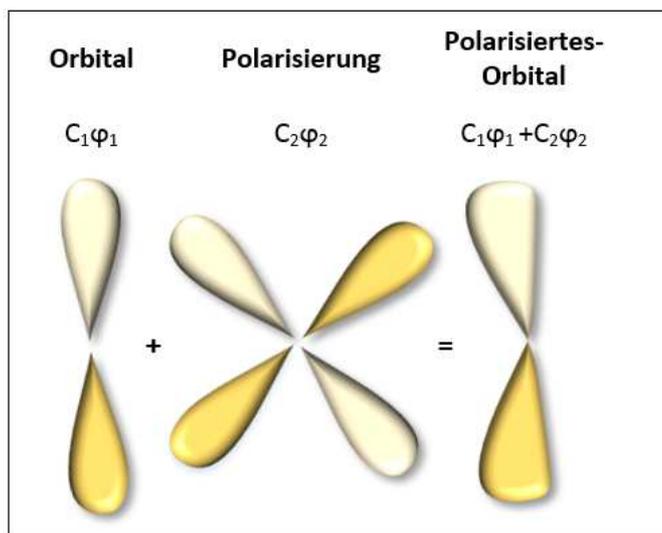


Abbildung QS.A2: Linear Kombination bindender Orbitale

Im Falle des dargestellten bindenden p-Orbitals wird durch die Verwendung eines LCAO Ansatzes die geometrische Struktur des Orbitales zugunsten der Berechnungsgenauigkeit der verwendeten Methode angepasst. Die hier gezeigte d-Polarisierung wird so entsprechend mit dem bindenden d-Orbital kombiniert und ergibt somit eine modifizierte und exaktere Darstellung der den Berechnungen zugrundeliegenden Orbitaldarstellungsweise.

Entsprechend der Abbildung (QS.A1), wird wie bereits genannt, zwischen semi-empirischen und *ab initio* Rechnungen unterschieden. Beginnend bei den semi-empirischen Methoden teilen sich diese in Kraftfeldmethoden und Dichtefunktionalmethoden (DFT) auf.

1.3.2. Hartree-Fock Variationsmethode

Die Hartree Fock Methode (HF) ist die Grundlage für semi-empirische und für ab-initio Berechnungen und zeichnet sich durch die Variation der Koeffizienten der Slater-Determinante, zur Findung der optimalen Geometrie des jeweiligen elektronischen Zustandes aus. Hierbei werden die Koeffizienten der Slaterdeterminaten gemäß des Rayleigh-Ritz Prinzips, für die Ermittlung des entsprechend niedrigsten Zustandes schrittweise variiert. [J.Don]

Bei der HF Methode liegt die Annahme zugrunde, dass sich jedes Elektron in einem elektrostatischen Feld um den Kern bewegt. Der Einfluss der ebenfalls vorhandenen weiteren Elektronen wird in Form eines durchschnittlichen, energetischen Einflusses eines Feldes beschrieben. Der genannte Einfluss durch die restlichen Elektronen dient der genaueren Beschreibung der realen Gegebenheiten innerhalb der Slaterdeterminatenbeschreibung.

Es handelt sich bei der Hartree-Fock Beziehung um ein nicht-lineares Eigenwertproblem, wobei die in der Gleichung (QS.G7) dargestellte Form, mit m die Anzahl und mit ψ die zugehörigen Orbitale (gemäß: $\det(\phi_1, \phi_2, \dots, \phi_n)$) beschreibt.

$$(QS.G7) \quad \hat{F}|\psi\rangle = E_m|\psi\rangle$$

In Bezug auf die Darstellung der HF Beziehung, kann der HF Operator in seiner generellen Form folgendermaßen dargestellt werden, wobei sich die Summierung auf die besetzten Orbitale (Im Sinne des Eigenwertes), aller Elektronen (l) bezieht.

$$(QS.G8) \quad \hat{F} = \hat{H}_1 + \sum_l^{N_{El}} \langle \psi_l | \hat{H}_2 | \psi_l \rangle - |\psi_l\rangle \langle \psi_l | \hat{H}_2$$

\hat{H}_1 beschreibt hier den einfachen Anteil jedes Atoms und \hat{H}_2 den zweifachen Teilchenanteil, bzw. den Anteil der vorhandenen Bindung zweier Atome, der Hamilton-Operatoren [F.Jen]. Im Vergleich zur o.g. generellen Form werden bei der nachfolgenden Darstellung von \hat{H}_1 bei der Summierung die entsprechenden Kerne (k) betrachtet. Z_k beschreibt die entsprechende Kernladung

$$(QS.G9) \quad \hat{H}_1 = -\frac{\Delta r}{2} - \sum_k^{N_{Kern}} \frac{Z_k}{|r-R_k|}; \hat{H}_2 = \frac{1}{|r_2-r_1|}$$

Die Abstände des Elektrons zu den Kernen werden in der gezeigten Darstellung durch $|r - R_k|$, und der Abstand zweier Elektronen untereinander durch $|r_2 - r_1|$ beschrieben.

Im Falle eines molekularen Zustandes in welchem keine ungepaarten Elektronen vorliegen, kann der Term der gezeigten generellen Darstellung der HF Beziehung, durch einen Einzel-elektronterm (\hat{H}_{1El}) beschrieben werden. Hierbei wird erneut über die besetzten Orbitale aufsummiert, wobei die Coulombabstoßung der Elektronen berücksichtigt wird. Dieser wird in Form eines Coulomboperators (\hat{J}_m) und einem Austauschoperator (\hat{K}_m) dargestellt. Der Austauschoperator beschreibt hier die Energieänderung welche durch die unterschiedlichen Spins Effekte induziert wird.

$$(QS.G10) \quad \hat{F} = \hat{H}_{1El} + \sum_m [2\hat{J}_m(1) - \hat{K}_m(1)]$$

$$(QS.G11) \quad \hat{J}_m(1)\psi_m(1) = j_0 \int \psi_m^*(2) \frac{1}{r_{12}} \psi_m(1)\psi_m(2)d\tau_2$$

$$(QS.G12) \quad \hat{K}_m(1)\psi_m(1) = k_0 \int \psi_m^*(2) \frac{1}{r_{12}} \psi_m(1)\psi_m(2)d\tau_2$$

Trotz der Möglichkeit eine Verbesserung durch einen entsprechend großen Basissatz hervorzurufen, unterliegt diese Methode dem sogenannten Hartree-Fock Limit, welches die Genauigkeit der Methode einschränkt. Hierbei werden die realen, interelektronischen Bezüge und Modelle durch diese Methode nur grundlegend abgedeckt, zu Gunsten der Berechnungsgeschwindigkeit. Zur Verfeinerung der HF-Methode verwendet man die semi-empirische Dichtefunktionaltheorie (DFT). Die DFT basiert auf der HF-Theorie und erweitert sie durch die Verwendung von Hybridfunktionalen. Der beschriebene Hartree-Fock-Austausch wird bei diesen Funktionalen anteilig in den Austausch-Korrelations-Teil des Dichtefunktionals eingebracht. Weitere bedeutende Methoden, welche auf dem Hartree-Fock Prinzip aufbauen lassen sich im Bereich der *ab-initio* Berechnungen finden. In dieser Dissertation wird in den nachfolgenden Kapiteln auf die verwendeten Møller-Plesset-störungstheoretischen Methoden (im speziellen MP2) und die ebenfalls verwendete *coupled-cluster* Methode (CC2) eingegangen.

1.3.3. Semi-empirische Berechnungsmethoden

Bei der Kraftfeldmethode PM6 ^[J.Ste1] handelt es sich um eine semi-empirische Methode. Im Vergleich zu anderen Kraftfeldern, wie z.B. AM1 oder MNDO, liefert die PM6-Methode ^[B.Dew1] in vergleichsweise kurzer Rechenzeit gute Resultate für Energien. Daher wird in dieser Arbeit die PM6-Methode ausführlich erklärt, während die andern nur umrissen werden.

Semi-empirische Methoden sind eng an die HF Methodik angelehnt, zeichnen sich hierbei jedoch durch die Verwendung von experimentell bestimmten Parametern in der Schrödinger-Gleichung bzw. in bereits besprochenen Koeffizienten der Slaterdeterminate aus.

Der verwendete Hartree-Fock Ansatz wird bei den semi-empirischen Methoden vereinfacht, indem einige notwendige Informationen (beispielsweise im Bezug zum HF-Operator und im speziellen des verwendeten zwei-Elektronen-Integrals) für die genaue Berechnung, durch empirische Daten parametrisiert werden. Hierdurch ist es möglich die Genauigkeit der Ergebnisse entsprechend näher an die Realität und den *ab-initio* Rechnungen anzusiedeln, unter der Verwendung einer minimalen Basissatzgröße.

Die Austin Model-1 (AM1) Methode arbeitet beispielsweise, wie die PM-Methoden aufbauend auf der *Neglect of Diatomic Differential Overlap* (NDDO) ^[B.Dew3] -und der *Modified Neglect of Diatomic Overlap* (MNDO) ^[B.Dew2] Näherung. Der Kern sowie die Valenzelektronen, werden bei dieser Methode als punktförmiger Rumpf, mit einer effektiven Ladung (Z_k) betrachtet. Im Falle mehrerer Atome kommt es zur Abstoßung dieser Rümpfe bzw. der jeweiligen Kerne. Die entstehenden Kernabstände liegen hierbei im ungefähren Abstand des van der Waals Radius, wobei dieser Abstand bei z.B.: MNDO tendenziell unterschätzt wird. Eventuelle Wasserstoffbrücken können hierdurch nur schlecht beschrieben werden, wodurch in dieser Dissertation die Wahl auf eine für diese Notwendigkeit spezialisierte Methode wie PM6- D3H4 fiel.

Die Energie eines Moleküls E_M ist durch die Summe der jeweiligen elektronischen Energien E_e und Abstoßungen E_{Ab} der Kerne K und L in direkter Nachbarschaft zu betrachten ^[B.Dew2].

$$(QS.G13) \quad E_M = E_e + \sum_K E_{Ab} < \sum_L E_{Ab}$$

Der Term der Abstoßung wird nach Dewar et al. ^[B.Dew1] folgendermaßen beschrieben, wobei die einfließenden Parameter der u.g. Gleichungen auf semi-empirischen Daten beruhen. Y_{SS} beschreibt hier einen empirischen Teil, welcher sich auf die Wechselwirkung der beiden Kerne bezieht.

$$(QS.G14) \quad E_{Ab} = Z_K Z_{LY_{ss}}$$

$$(QS.G15) \quad F_K = e^{-\alpha_K R_{KL}} + \sum_i K_K e^{L_{K_i}(R_{KL} - M_{K_i})^2}$$

$$(QS.G16) \quad F_L = e^{-\alpha_L R_{KL}} + \sum_i K_L e^{L_{L_i}(R_{KL} - M_{L_i})^2}$$

Der Abstand der genannten Kerne (K, L) wird hier als R_{KL} , und die Indizes der Summierungen gelten für die eingebrachten Kerne des zu berechnenden Moleküls. K wird hier zur Beschreibung der Gaußbreite verwendet und der Parameter K wird in Abhängigkeit der erwarteten Aussage (Energie des Gesamtsystems) eingebracht und dient zur zusätzlichen Verfeinerung der Berechnungsergebnisse, durch die Verwendung empirischer Daten.

1.3.3.1. Dichte-Funktional-Theoriemethoden

Wie bereits einleitend zu diesem Kapitel erwähnt, finden auch die DFT Rechnungen ihren Ursprung in der HF Methodik. Anstelle der Wellenfunktion werden bei der DFT Methode die Elektronendichten (Wahrscheinlichkeitsdichten) der involvierten Elektronen für die Berechnungen herangezogen. Die hier vorgestellte Methode der Betrachtung der Elektronendichte erweist sich in der Praxis als weniger aufwendig als die Betrachtung der zugehörigen, entsprechenden Anzahl an Wellenfunktionen der Elektronen und genauer als die Annahme eines statischen Feldes, durch die umliegenden Elektronen. Um jedoch einen Bezug zwischen der Elektronendichte und der Wellenfunktion und somit weiterhin eine Näherung durch die Schrödingergleichung zu erhalten, wird das Hohenberg-Kohn Theorem in die Berechnungen involviert^[P-Hoh].

Hierbei wird zugrunde gelegt, dass jedes Potential eines Grundzustandes, durch ein Funktional der Elektronendichte beschrieben werden kann ($V_1(\vec{r})$) und somit auch die Wellenfunktion ψ_j für jedes Elektron.

Zur Berechnung dieser Elektronendichte, werden die Kohn-Sham Funktionen für jedes Elektron gebildet und liefern anschließend über das Quadrat der Summierung ($n(\vec{r})$) eine Aussage über den Absolutwert der Wellenfunktion aller involvierten Elektronen.

$$(QS.G17) \quad \left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + V_1(\vec{r}) - E_j\right) \psi_j(\vec{r}) = 0$$

$$(QS.G18) \quad n(\vec{r}) = \sum_{j=1}^{N_{EL}} |\psi_j(\vec{r})|^2$$

Das Potential des Grundzustandes und die damit zusammenhängende Elektronendichte ($V_1(\vec{r})$) werden mit dem nachfolgend dargestellten Hartree-Term iterativ ermittelt. Hierbei wird entsprechend des vorab beschriebenen Unterschiedes zu den Kraftfeld- bzw. HF-Methoden, die Wechselwirkung der Elektronen untereinander beschrieben, wobei $V_{XC}(\vec{r})$ hier die Korrelation des Wechselwirkungspotentials in dem Mehrelektronensystem beschreibt.

$$(QS.G19) \quad V_1(\vec{r}) = V(\vec{r}) + \int \frac{n(\vec{r}')}{|\vec{r}-\vec{r}'|} d^3\vec{r}' + V_{XC}(\vec{r})$$

Dieser genannte Term ist durch verschiedene Funktionale zugänglich, wobei hier die „*generalized gradient approximation*“ als Grundlage dient. Hierbei werden in Abhängigkeit der Elektronendichte, sowie der jeweiligen Abstände zueinander der Gradient der entsprechenden Energie ermittelt und diese dann bis zur Erwirkung eines minimalen Gradienten schrittweise angepasst. In dieser Dissertation wurde ein Hybridfunktional (B3LYP) verwendet, welches sich durch meist gute Ergebnisse und eine relativ kurze Rechenzeit auszeichnet. Hierbei werden sowohl diese Anpassung als auch die Variationsmethodik der Hartree-Fock Theorie verwendet

[A.Bec1]

1.3.4. *Ab initio* Berechnungsmethoden

Die Genauigkeit der oben genannten semiempirischen Verfahren ist beschränkt. Zwar lassen sich Berechnungen des gleichen Funktionals relativ zueinander betrachten, jedoch liegen die errechneten Energien der Variationsrechnungen tendenziell oberhalb der realen Gesamtenergie und immer in Abhängigkeit des verwendeten Funktionales vor. Es ergibt sich also für jedes Funktional lediglich die Annahme, dass eine Struktur mit geringerer Energie gleichzeitig für ein besseres Ergebnis der Berechnung steht, obwohl die erzielten Berechnungsergebnisse sich hier nicht absolut betrachten lassen.

Bei den genannten Methoden ist zu beachten, dass sich in Abhängigkeit der Molekülgröße ebenfalls unterschiedliche Genauigkeiten in Bezug auf die ermittelten Energien berechnen, welche sich auf die nicht vorhandene Größenkonsistenz dieser Methoden, bzgl. des Abstands zweier Kerne zueinander und der involvierten Elektronen zurückführen lassen ^[P-Atk1]. In Abhängigkeit einer Molekülgröße, verändert sich ebenfalls der Abstand zweier Kerne zueinander, welche somit ab einer gewissen Entfernung in keiner Wechselwirkung mehr zueinander stehen. Die dann errechnete Gesamtenergie sollte somit der Energie zweier einzeln betrachteten Kerne entsprechen, insofern es sich um eine größenkonsistente Berechnungsmethode handelt.

Berücksichtigend einer notwendigen Größenkonsistenz, stehen die *ab initio* Berechnungen (*lat.: Von Anfang an*), welche auch in dieser Dissertation in Form der nachfolgend erläuterten Møller- Plesset Störungstheorie (MP bzw. MP2) und *coupled cluster* Methoden (CC2) verwendet wurden (siehe auch QS.A1). *Ab initio* Berechnungen eignen sich in Bezug auf die Größenkonsistenz für Berechnung genauerer Totalenergien und liefern somit eine genauere Aussage und Vergleichbarkeit zu experimentell und möglicherweise in der Natur vorliegenden Konformeren, sowie der bereits einleitend zu den in diesem Kapitel genannten und gesuchten Molekülparametern.

1.3.4.1. Møller-Plesset Störungstheorie

Die Møller-Plesset Störungstheorie [c. Møll] liefert ergänzend der der HF Methodik einen nun nicht mehr iterativen Teil bei (im Vergleich zur oben ausgeführten Variationsmethode). Der zugehörige Hamilton-Operator unterteilt sich in zwei verschiedene Terme. Es wird zwischen einem nunmehr lösbaeren Teil (siehe HF-Methoden) des Hamiltonoperators (\hat{H}_0), sowie einem additiven Störungseinfluss (\hat{H}_s) unterschieden.

$$(QS.G20) \quad \hat{H} = \hat{H}_0 + \lambda \hat{H}_s$$

$$(QS.G21) \quad \hat{H}_s = \sum_{i < j} \hat{r}_{i,j}^{-1} - \sum_{m^i} [2\hat{J}_m(i) - \hat{K}_m(i)]$$

Durch die Summierung von I und j werden in der oben genannten Gleichung die Elektronen, sowie durch m^i die besetzten Spinorbitale bezeichnet. Durch die Potenzreihenentwicklung der involvierten Elektronen, entsprechenden Energien,

$$(QS.G22) \quad \psi = \psi^{(0)} + \lambda \psi^{(1)} + \lambda^{(2)} \psi^{(2)} + \lambda^{(3)} \psi^{(3)} + \dots$$

$$(QS.G23) \quad E = E^{(0)} + \lambda E^{(1)} + \lambda^{(2)} E^{(2)} + \lambda^{(3)} E^{(3)} + \dots$$

und das Einsetzen die Schrödingergleichung (QS.G1),

$$(QS.G24) \quad (\hat{H}_0 + \lambda \hat{H}_s)(\psi^{(0)} + \lambda \psi^{(1)} + \dots) = (E^{(0)} + \lambda E^{(1)} + \dots)$$

wird der genannte Störeinfluss nochmals verdeutlicht. Nach Multiplizieren der Produkte erhält man nun die Störungsgleichungen, bei welchen sich im Folgenden ausschließlich auf die ersten drei beschränkt wurde.

$$(QS.G25) \quad (\hat{H}_0 + \hat{E}_0)\psi^{(0)} = 0 ; \hat{H}_0\psi_s = \hat{E}_0\psi_s$$

$$(QS.G26) \quad (\hat{H}_0 + \hat{E}_0)\psi^{(2)} = (E^{(1)} - \hat{H}_s)\psi^{(0)}$$

$$(QS.G27) \quad (\hat{H}_0 + \hat{E}_0)\psi^{(3)} = (E^{(1)} - \hat{H}_s)\psi^{(1)} - E^{(2)}\psi^{(0)}$$

\hat{H}_0 wird in der Møller-Plesset Störungstheorie^[c. Møll] als die Summe der Eielektronen-Fockoperatoren angegeben.

$$(QS.G28) \quad \hat{H}_0 = \hat{H}_{HF} = \sum_i^{N_{el}} \hat{F}_i$$

Aus diesem Grund wird diese Gegebenheit ebenfalls in die Betrachtung der Störungsfunktionen einbezogen, wodurch sich durch Multiplikation mit $\langle \psi_0 |$ der folgende Ausdruck der (QS.G29) und anschließend für $E^{(0)}$ der aus Gleichung (QS.G29a) ergibt.

$$\langle \psi^{(0)} | \hat{H}_0 + \hat{E}_0 | \psi^{(0)} \rangle = 0 \Rightarrow$$

$$(QS.G29) \quad \langle \psi^{(0)} | \hat{H}_0 | \psi^{(0)} \rangle = \hat{E}_0 \langle \psi^{(0)} | \psi^{(0)} \rangle = \hat{E}_0$$

$$(QS.G29a) \quad \hat{E}^{(0)} = \langle \psi^{(0)} | \hat{H}_0 | \psi^{(0)} \rangle = \sum_i^{N_{el}} \hat{E}_i$$

Die entsprechenden Energieoperatorwerte für $\hat{E}^{(1)}$ ergeben sich analog hierzu, gemäß dem involvierten Störeinfluss.

$$(QS.G30) \quad \hat{E}^{(1)} = \langle \psi^{(0)} | \hat{H}_s | \psi^{(0)} \rangle$$

Nachdem $\hat{E}^{(0)}$ und $\hat{E}^{(1)}$ nun ermittelt wurden, wird im speziellen in der Methode der MP2 auf den Aspekt der Ermittlung von $\hat{E}^{(2)}$ eingegangen, welche nachfolgend in Gleichung (QS.31) beschrieben wurde. Hierbei gilt \hat{H}_s wie gehabt als Störeinfluss, ψ_J ist hier als eine Eigenfunktion von \hat{H}_{HF} beschrieben, welche korrespondierend zum Eigenwert $\hat{E}_J^{(0)}$ eine multipel angeregte Determinante beschreibt.

$$(QS.G31) \quad \hat{E}^{(2)} = \sum_J \frac{\langle \psi_J | \hat{H}_s | \psi_0 \rangle \langle \psi_0 | \hat{H}_s | \psi_J \rangle}{E_0^{(0)} - E_J^{(0)}}$$

Die berechnete Energie der Methode MP2 (E_{MP2}), beruht auf der Summierung eines 4 Kern, 2 Elektronenansatzes. Wie auch in Darstellung (QS.G21), werden mithilfe der Indizierung (z.B.: m^i) die besetzten -und ohne Indizierung die unbesetzten Orbitale mit der Energie (ϵ) beschrieben. Die Energie eines Kernes (E), wird so durch den entsprechenden Divisor errechnet.

$$(QS.G32) \quad E_{MP2} = \frac{1}{4} \sum_{m^i, m, n^i, n} [t_{m^i n^i}^{mn} \langle m^i n^i | mn \rangle]$$

t beschreibt in Gleichung (QS.G32) die Amplituden und wird durch die folgende Gleichung zugänglich.

(QS.G33)

$$t_{m^i n^i}^{mn} = \frac{\langle m^i n^i | mn \rangle}{\varepsilon_{m^i} + \varepsilon_{n^i} - \varepsilon_m - \varepsilon_n}$$

Es wird ersichtlich, dass der Aufwand dieser Methode um einiges höher liegt, als beispielsweise die Berechnungen durch eine DFT-Methode. Durch das Team um F. Weigend wurde jedoch der zeitliche Ertrag durch die Implementierung eines speziellen Basissatzes, sowie durch die Nutzung der Identität-Auflösungs-Näherung (RI) engl.: „resolution of identity“, dem zu erwarteten Fehlerfaktor gegenübergestellt und in Abhängigkeit des verwendeten Basissatzes und verwendeten Programmes mit 5-10 angegeben. [F.We1]

Die genannte Methode (RI) beruht entgegen des ursprünglichen 4 Kerne, 2 Elektronen Ansatzes der MP2 auf einem 3 Kernintegral und der Verwendung von Symmetrieaspekten. Unter der Verwendung von zusätzlichen Hilfs-Basissätzen und -Funktionen, wurde die genannte RI-Methode anschließend von Weigend et al. in Turbomole implementiert und so für den Anwendungsbereich als RI-MP2 zugänglich gemacht. [F. Wei2]

Um die MP2 Methode weiter zur Verfeinern, wurde durch S. Grimme [S.Grim1] die Darstellung der Gleichung (QS.G32) weiter angepasst. Hierbei wurden nicht nur die Elektronen im Einzelnen betrachtet, sondern auch die jeweilige Spin-Orientierung der Elektronen mit in der Berechnung berücksichtigt. Es ergibt sich somit eine angepasste Darstellung für die parallelen und antiparallelen Bestandteile der betrachteten Orbitale, welche die MP2 Methode weiter korrigieren. In Gleichung (QS.G34 - G37) wird der Zusammenhang der Paarungsenergie für die parallelen und antiparallelen Bestandteile dargestellt.

1.3.4.2. *Coupled-Cluster Methode*

Eine weitere Methode in die die notwendige Größenkonsistenz implementiert wurde ist die von H.Kümmel und F. Coester eingeführte *Coupled-Cluster*(CC)-Näherung ^[H.Kue1]. Bei der CC Methode handelt es sich um eine der genauesten, verfügbaren Berechnungsmethoden für kleine bis mittelgroße Moleküle. Neben den hier notwendigen Berechnungen im Bereich des elektronischen Grundzustandes wird diese Methode ebenfalls in dem Bereich der angeregten Zustände eingesetzt dient oft als Verfeinerung der bereits durchgeführten Berechnungen aus dem Bereich der MP, oder DFT Optimierungen.

Entsprechend der vorab beschreibenden Berechnungsansätze handelt es sich auch bei der *Coupled-Cluster* Näherung um eine Berechnungsmöglichkeit auf dem Ansatz der HF-Methodik, im Sinne der involvierten Wellenfunktionen und des Hamiltonoperators der Schrödingergleichung ^[P-Atk1].

$$(QS.G39) \quad \hat{H}|\psi\rangle = E|\psi\rangle$$

Im Ansatz der *Coupled-Cluster* Näherung wird die zugrundeliegende Wellenfunktion, durch einen Cluster-Operator erweitert und verhält sich so analog zum MP Ansatz, im Sinne des in Gleichung (QS.G20) dargestellten Zusammenhanges zwischen eingefügtem Störeinfluss und Hamiltonoperator, sowie der anschließenden Summierung (QS.G22). Aufgrund der in dieser Dissertation verfolgten Schwingungsanregungen des jeweiligen Grundzustandes und der damit einhergehenden Messergebnisse, entfällt an dieser Stelle die Notwendigkeit einer Betrachtung von angeregten elektronischen Zuständen. Die Methode wird nachfolgend grundlegend erläutert und für die Berechnungen ohne den Aspekt der angeregten Zustände genutzt.

$$(QS.G40) \quad \psi = e^T \psi_0 \quad ; \quad T = T_1 + T_2 + \dots$$

Der Clusteroperator wird mithilfe einer Taylorreihenentwicklung (QS.G41), in Abhängigkeit der besetzten Orbitale erweitert.

$$(QS.G41) \quad e^T = 1 + T + \frac{1}{2!}T^2 + \dots$$

Im Vergleich zur Methodik der MP2 wird bei der Betrachtungsweise durch den *Coupled-Cluster* Methode zugunsten der Genauigkeit ein Mehrelektronenansatz im Sinne von Anregungsübergängen verfolgt. Die elektronischen Übergänge der Anzahl der involvierten Elektronen wird jeweils untereinander gekoppelt betrachtet, um angemessene Berechnungskosten in Abhängigkeit zur erzielten Genauigkeit der Methode zu erzielen. Hieraus ergibt sich, dass auch der Clusteroperator entsprechend dem jeweiligen Übergangstypus deklariert wird. Hierbei wird nachfolgend eine Indexierung des Clusteroperators ($T_1 \rightarrow$ ein Elektronübergang, $T_2 \rightarrow$ zwei Elektronenübergang ...) ähnlich der bereits vorgestellten Darstellungsweise der Amplituden sowie Spin-Orientierung der MP-Methodik (QS.G34-G37) ^[A.Hell]

$$(QS.G42) \quad T_1 \psi_0 = \sum_{m^i, m} t_{m^i}^m \psi_{m^i}^m \quad ; \quad T_2 \psi_0 = \sum_{m^i n^i, m, n} t_{m^i n^i}^{m, n} \psi_{m^i, n^i}^{m, n}$$

In der bereits beschriebenen Abhängigkeit der Berechnungskosten zur hier vorgestellten Methode, stehen verschiedene Möglichkeiten im Bezug zur *Coupled-Cluster* Methode zur Verfügung. Hierbei wurde sich bei der Berechnung der in dieser Dissertation dargestellten Systeme lediglich auf die Verwendung von T_1 und T_2 betrachtet und wird hier durch die Bezeichnung CC2 der verwendeten Methode bezeichnet. Diese Restriktion dient im Allgemeinen ebenfalls in der *coupled-clusters singles and doubles* (CCSD) Methode als Grundlage, deren Vorteile in die CC2 Methodik implementiert wurden. ^[O.Chr1]

Die bereits erwähnt, bestehenden Parallelen zwischen der MP und CC und so auch der CC2 Methodik. Diese beziehen sich jedoch zusätzlich auf die Verfügbarkeit der im Abschnitt der MP-Methodik erwähnten RI Aspekte sowie der Berechnungsmöglichkeiten für angeregte und nicht-angeregte Zustände in der CC2 Methode und wurden umfassend um das Team um C.Hättig et al. beschrieben ^{[C.Hät1] [C.Hät2] [C.Hät3]}.

1.3.5. Der „Random structure generator“

Eine erstellte Struktur (z.B: via TMoleX, als „xyz- Koordinaten“) wird mittels einer schnellen bzw. semi-empirischen Kraftfeldenergiemethode (z.B.: PM6-D3H4) ^[B.Dew1] voroptimiert. Wie jedoch bekannt, besteht das Risiko, dass sich die ursprünglich für die Rechnungen verwendete Geometrie, in oder nahe an einem lokalen Minimum befindet und somit bei der nachfolgenden Verwendung von zeitaufwendigeren *ab-initio* Rechnungen wie z.B.: MP2 bzw. CC2, zu Falschaussagen im Bezug zu den durchgeführten Experimenten führen kann. Um dies zu vermeiden ist es notwendig, die entsprechende Struktur zu verändern und erneut mit einer der o.g. schnellen Methoden zu optimieren, bis ein vermeintlich globales Minimum der Struktur ermittelt wurde. Anschließend werden weitere Methoden aus dem Bereich der *ab-initio* Rechnungen notwendig, um eine zuverlässige und genauere Aussage über globale Minima, den damit zusammenhängenden und an null approximierten Gradienten, Lage der Schwingungszustände, der Geometrie und intramolekulare Wechselwirkungen treffen und mit den gewonnenen, experimentellen Daten vergleichen zu können. Um eine möglichst große Auswahl an Konformeren generieren zu können und diese vor der Durchführung der zeitaufwendigen *ab-initio* Methoden miteinander vergleichen zu können, wurde in dieser Dissertation der „Random Structure Generator“ ^[T.Häb1] verwendet.

Mithilfe dieses Programmes können erstellte Strukturen importiert und anschließend automatisiert durch die Drehung um ausgewählte Bindungen umorientiert werden. Der Grad der Drehungen an der entsprechenden Bindung erfolgt zufällig. Die generierte Struktur wird Mithilfe des implementierten MOPAC-Programmpaketes, unter erneuter Zuhilfenahme der semi-empirischen Optimierungsmethode (z.B.: PM6-D3H4) ^[J.Ste1] verfeinert. Die hierbei ermittelte Gesamtenergie wird der generierten Struktur zugeordnet, wobei die genannte Energie nicht absolut, sondern Relation zur jeweils energetisch niedrigsten, erzeugten Struktur in [kJ/mol] angegeben wird. Insofern Strukturen einer gleichen Energie erzeugt wurden, sollten diese verworfen werden. Der entsprechende angewandte Faktor für diese Überprüfung wurde mit 0,1 kJ/mol Differenzenergie bei der Anwendung von PM6-D3H4 gewählt.

Durch den verwendeten „Random Structure Generator“ können die generierten Strukturen in Ihrer geometrischen Lage im kartesischem Koordinatensystem exportiert und somit für weiterführende quantenchemische *ab-initio*, oder DFT Rechnungen zugänglich gemacht werden.

1.4. Theoretische Optimierungsrechnungen in Bezug Gly-Gly und Ala-Ala

Im konkreten Fall der experimentell betrachteten β -Dipeptide: Gly-Gly und Ala-Ala wurden durch den *Random Structure Generator* 237.000 Strukturen bzw. im Fall von Ala-Ala 220.000 Strukturen erzeugt und, wie in Abbildung DF.A1 dargestellt, mittels der schnellen semiempirischen Methode PM6-D3H4 optimiert. Im Zuge dieser Optimierung, welche durch das im MOPAC Softwarepaket durchgeführt wird, kann hierüber ebenfalls eine Abschätzung der Totalenergie getroffen werden. Aufgrund der fehlenden Nullpunktenergie ist diese jedoch nicht als Absolutwert in Betracht zu ziehen, sondern gilt nur als relativer Wert für den Vergleich der generierten Strukturen untereinander.

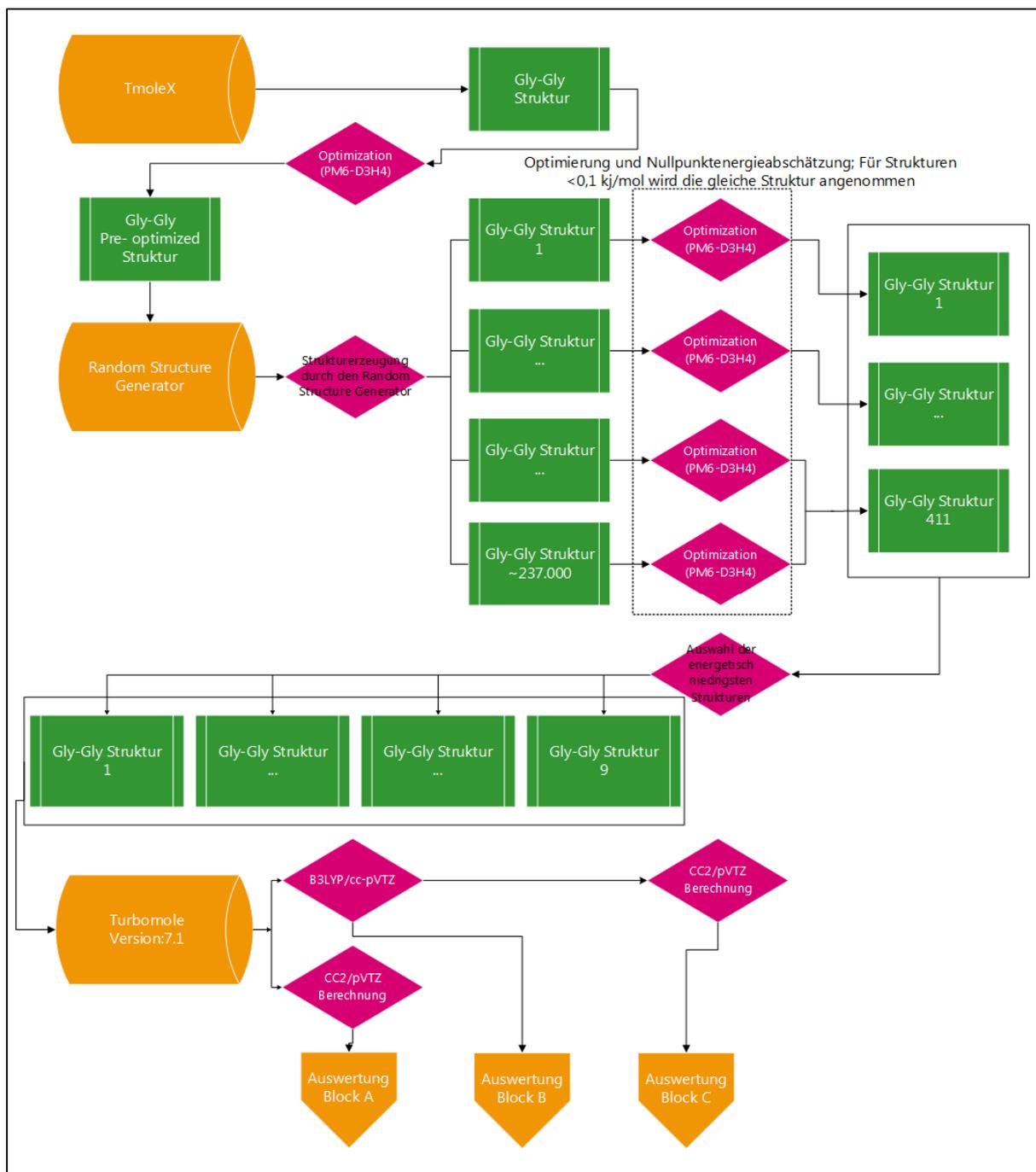


Abbildung DF.A1: Prinzipieller Ablauf der Strukturermittlung

Eine erstellte Struktur (mittels zB.: TmoleX, hier für Gly-Gly) wird nach Erstopoptimierung, mit einer schnellen DFT Methode, in den Random Structure Generator importiert. Durch zufällige Drehung der involvierten Bindungen und nachfolgende, schnelle Strukturoptimierung, werden potentiell niederenergetische Konformere erzeugt und nach Abschätzung ihrer Totalenergie, entsprechend dieser Energie sortiert. Die Strukturen mit potentiell geringster Energie aus dieser Auswahl werden mithilfe verschiedener Methoden optimiert, um die entsprechend der experimentell bestimmten Spektren zugehörige Konformation zu erhalten.

Als Kriterium, welche Struktur von dem RSG als „gleiche“ Struktur -und welche als neue Struktur bewertet wird, wurde im Fall der hier verwendeten Dipeptide ein Energieunterschied von $>0,1$ kJ/mol verwendet. Aufgrund dieser Vorooptimierung konnten im Fall der hier genannten, betrachteten Strukturen, die Anzahl der vorliegenden Konformere auf 411 für Gly-Gly und für Ala-Ala auf 500 reduziert werden. Die restlichen ließen sich durch die genannte Vorooptimierung, als eins der verbliebenden Konformere (im Sinne eines ermittelten, lokalen energetischen Minimums) identifizieren.

Zur Bestimmung des Konformeres mit globaler Minimalenergie kommen jene in Betracht, welche bereits bei der Vorooptimierung eine weitaus geringere Energie als die restlichen Konformere einnehmen. Hierbei lagen bei Gly-Gly nunmehr sechs Konformere vor, dessen dargestellte Totalenergie sich um den Faktor 100 zur nächst höher energetischen Struktur befanden, im Falle Ala-Ala wurden unter dem gleichen Kriterium fünf Konformere identifiziert. Nachfolgend wurden DFT Berechnungen mit den genannten Konformeren durchgeführt, wobei sich diese auf B3LYP-Funktionale mit cc-pVTZ als Basissatz bezogen. Analog hierzu wurden RI-CC2/pVTZ Berechnungen durchgeführt, um nachfolgend, beide Methoden gegenüberzustellen und die Berechnungsergebnisse verifizieren zu können. Ergänzend wurden die resultierenden Konformationen der B3LYP-Berechnungen ebenfalls für den Vergleich der Methoden und der Konformationen mit der coupled cluster Methode RI-CC2/pVTZ nachoptimiert.

Zur Verifizierung der berechneten Konformationsresultate, wurden neben den oben genannten Rechnungen, zusätzlich DFT Rechnungen unter der Zuhilfenahme der Software Gaussian durchgeführt. Hierbei wurden für die Konformere Gly-Gly und Ala-Ala das Funktional B3LYP mit der 6-31+G** Basis gewählt und die mittels des RSG generierten Konformere nachoptimiert.

Entsprechend der theoretisch ermittelten Konformeren, welche stellvertretend für die Energetisch optimalste Struktur stehen sollen, gilt es nachfolgend die experimentellen Grundlagen zur Verifizierung dieser darzustellen.

2. Experimentelle und apparative Grundlagen

Nach den nun dargestellten Möglichkeiten die entsprechenden Moleküle in ihrer minimalen energetischen Lage und im theoretischen IR Spektrum, theoretisch berechnen zu können, verbleibt nun noch die experimentellen Möglichkeiten näher darzustellen. Hierbei ist entsprechend der vorab dargestellten Grundlagen erforderlich, dass entsprechend der theoretischen Rechnungen, ebenfalls im Experiment ein definierter Zustand der Analyten verwendet wird, um eine mit der Theorie vergleichbare Grundlage zu schaffen. Anknüpfend an die vorherigen Ausführungen aus dem Bereich der Grundlegenden elektronischen molekularen Gegebenheiten, werden nachfolgend die für die Experimente die experimentellen, hier verwendeten Möglichkeiten zur Analyse näher dargestellt.

Zur Erläuterung der erhaltenen Messergebnisse, ist ein Verständnis über die Grundprinzipien der verwendeten Methode vorausgesetzt. Nachdem nun die allgemeinen elektronischen Abläufe im Kapitel der intramolekularen Bewegungen und IR-Spektroskopie erläutert wurden, wird nachfolgend auf die allgemeinen nichtresonanten Mehrphotonen-Ionisationsprozesse (MPI) eingegangen. Zusätzlich wird aufgrund des Bezuges zu den durchgeführten Messungen, die Methode des Ion-Dip sowie Mehrphotonen-Dissoziationsspektroskopie näher beschrieben ^[A.Rij²]. Die zugehörige einfache Photoionisation ist aufgrund der Vollständigkeit an dieser Stelle zu nennen und wird ebenfalls nachfolgend, im experimentellen Teil dieser Arbeit, als Abwandlungsmethode der Ion-Dip Technik näher erwähnt.

2.1. Nichtresonante Ionisation

Die Ionisierung von Molekülen kann auf verschiedene Möglichkeiten erreicht werden. Eine dieser Möglichkeiten stellt die aus der Massenspektrometrie bekannte matrixunterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI) dar. Diese Methode wird zwar verwendet um thermisch labile Substanzen in die Gasphase zu überführen, jedoch stellt für die hier durchgeführten Experimente MALDI keine geeignete Methode dar, da die Ionisierung der Analyten erst zu einem späteren Zeitpunkt, als bei der Einbringung in den Vakuumraum erfolgen soll. Auf die in diesen Experimenten verwendete Methode der Laserdesorption zur Einbringung der Substanzen in die Gasphase, ohne Ionisierung, wird im nachfolgenden, apparativen Teil dieser Arbeit eingegangen. Wenn die Analyten neutral in den Vakuumraum eingebracht und durch eine Koexpansion mit dem Trägergas Argon gekühlt werden, liegen sie im Schwingungsgrundzustand in

der Gasphase vor. Aus diesem Grundzustand heraus wird die Substanz ionisiert und im Flugzeitmassenspektrometer ein Detektorsignal des Mutterions erzeugt. Nachfolgend wird die nicht resonante Ionisierung, sowie die in dieser Dissertation zum Einsatz gekommenen 1-VUV Ionisierung beschrieben.

Im nichtresonanten Fall der Ionisierung wird das Elektron vom Grundzustand über virtuelle Zwischenzustände, durch Absorption von K Photonen aus dem Laserstrahl ins Ionisierungskontinuum überführt. Hierbei ist neben der Anzahl der Photonen, die entsprechende Photonenflussdichte $\phi = \left[\frac{E_{Puls}}{h\nu\Delta tA} \right]$ von Relevanz, welche durch die Frequenz und die Intensität der verwendeten Anregungsstrahlung bestimmt wird. Hierbei steht E_{Puls} für die Pulsenergie, Δt für die Zeitdauer und A für die bestrahlte Fläche. Die zugehörige Bindungsenergie zur Erreichung der Ionisation ist gemäß Gleichung PI.G1 ebenfalls von der Photonenzahl abhängig^[L.Lom1].

$$(PI.G1) \quad K = \left[\frac{I_p}{h\nu} \right]$$

Der Prozess der nichtresonanten MPI wurde in Abbildung PI.A2 mit „NR“ markiert dargestellt.

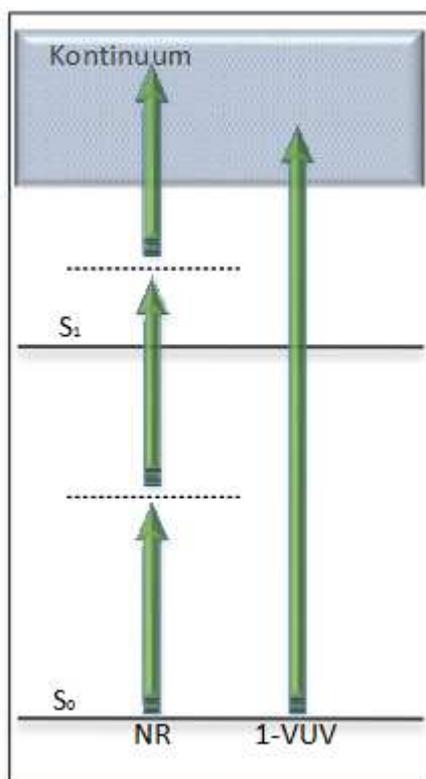


Abbildung PI.A2: Nichtresonante MPI und 1-VUV PI

Gezeigt ist eine schematische Darstellung einer nicht resonanten MPI und einer 1-VUV Ionisierung. Im nicht-resonanten Fall wird eine Ionisierung mittels der Absorption von Photonen hervorgerufen, wobei hierbei kein Zwischenzustand populierte wird. Im Gegenzug wird bei der 1-VUV Ionisierung das Ionisierungskontinuum durch lediglich ein Photon erreicht.

Hierbei liegen die üblichen Ionisierungsenergien organischer Moleküle zwischen 6 – 13 eV ^[S.Eki1]. Das Erreichen des in Abbildung PI.A2 gezeigten Kontinuums ist ebenfalls durch die Einbringung von nur einem hochenergetischen Photons möglich dessen Energie im Bereich des Vakuum-UV liegt. Wie in Abbildung PI.A2 dargestellt, wird hier durch lediglich ein Photon das Molekül in das Ionisierungskontinuum überführt.

2.2. Resonante Ionisation

Im Gegensatz zur nichtresonanten Ionisation wird bei der resonanten Mehrphotonenionisation, mindestens ein angeregter Zustand erreicht, der einem Eigenzustand des Moleküls entspricht. Hierbei wird dieser durch die Absorption von n Photonen erreicht, wobei $1 \leq n < K$. Die resonante Anregung mit einem Photon in einen Eigenzustand des Moleküls und nachfolgender Ionisation mit einem zweiten Photon wird als (1+1)-REMPI bezeichnet. Haben beide Photonen unterschiedliche Energie, so kann der Prozess auch als (1+1')-REMPI bezeichnet werden. Bei Absorption von zwei Photonen, die über einen virtuellen Zustand einen angeregten Zustand erreichen und eines weiteren Photons, das von dem resonant angeregten Zustand ins Ionisationskontinuum führen, ist die Bezeichnung als (2+1)-REMPI üblich.

Durch diese resonanten Techniken, im speziellen durch Doppelresonanztechniken, bei denen ein Anregungsschritt im Infraroten durch einen Mehrphotonenionisationsschritt geprobt wird, stehen weitere Möglichkeiten zu Verfügung, welche weitere strukturelle Analysen von Molekülen durch die hohe Selektivität der Ionisierung, mit anschließender massenspektrometrischer Detektion zulassen. Hierbei sind durch die Kombination von IR/UV Techniken, Aussagen über entsprechende Molekülkonformationen von Peptiden möglich ^[A.Rij3]. Als Grundvoraussetzung steht hier oft die ausreichende Leistung des verwendeten IR-Lasers (z.B. durch die Verwendung des bereits erläuterten FEL), um die sich zumeist geringe Konzentration an Probemolekülen in der Gasphase und die kleinen Übergangsdipolmomente, im Sinne der Detektionsgrenzen zu kompensieren.

Um molekülspezifische Informationen, bezüglich vorliegender Konformationen zu erhalten, wird nachfolgend die hierfür erforderliche Grundlage der resonanten Ionisierung näher erläutert, wobei die hier verwendete Methode grundlegend auf der Ion-Dip Methode aufbaut ^[J.Car1]. Bei der hier verwendeten Methode wird durch eine Doppelresonanz ein Massensignal auf dem Detektor erzeugt, welches durch die Ionisierung des Analytmoleküls herrührt. Durch

einen durchstimmbaren IR Laser z.B. den FEL wird nun der entsprechende Wellenlängenbereich durchgestimmt.

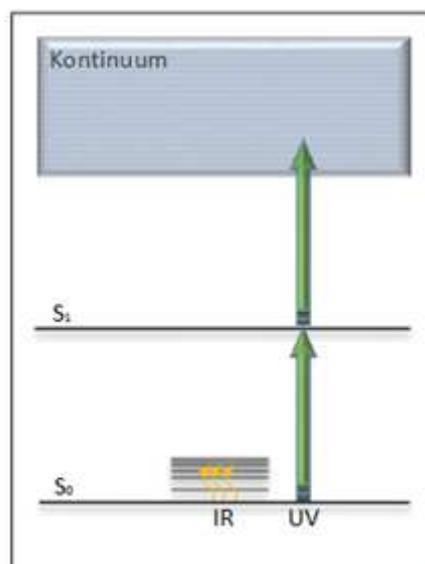


Abbildung PI.A3: Schematische Darstellung; Ion-Dip Methode

Dargestellt ist der stark vereinfachte, schematische, resonante Ionisierungsübergang. Speziell in der hier gezeigten Methode, als auch in der verwandten Ion-Dip Technik, wird einige Nanosekunden vor dem resonanten Übergang ein IR-Laser eingekoppelt und in seiner durchgestimmt. Bei Erreichen eines resonanten Schwingungszustandes stehen die involvierten Elektronen nicht mehr dem resonanten Übergang zu Verfügung, wodurch das detektierte Massensignal in seiner Intensität reduziert wird.

Erreicht der IR-Laser, welcher dem Ionisierungslaser vorgeschaltet ist, einen resonanten Übergang (Schwingungsniveau), wird der Grundzustand entsprechend depopuliert. Somit stehen die jeweiligen Moleküle nicht mehr für die Ionisierung zur Verfügung, wodurch das sichtbare Detektorsignal reduziert wird und der elektronische Übergang indirekt sichtbar wird. Im englischen bezeichnet man solche Methoden als *action spectroscopy*. Entlang des durchgestimmten IR Bereiches ist somit eine Ermittlung der Schwingungsniveaus (hier für den Grundzustand) möglich. Als Voraussetzung gilt eine entsprechend „kalter“ Zustand bei der Anregung des Analyten, das heißt eine überwiegende Besetzung des Schwingungsgrundzustands. Die hier erläuterte Methode fand im Zuge dieser Dissertation keine Anwendung, steht aber in unmittelbarer Verwandtschaft zu den hier durchgeführten Messungen.

2.2.1. IR-VUV-Dissoziations-/Ionisationsspektroskopie (IR-VUV-Ion-Diss)

Für die in dieser Dissertation durchgeführten Messungen, wurde durch einen VUV Laser eine Einphotonenionisation verwendet und die zugehörige Muttermasse in einem Flugzeitmassenspektrometer detektiert^[V.Yat]. Dieses Muttermassensignal dient als Nachweis der IR-Anregung durch VUV-induzierte Ionisation und Dissoziation (IR-VUV-Ion-Diss). Bei vorheriger Besetzung eines Schwingungsniveaus nach Durchstimmen des IR-Lasers, wird nachfolgend das Muttermassensignal reduziert. Jedoch geschieht dies nicht wie bei der Ion-Dip Spektroskopie durch die ausbleibende Erreichung des Ionisationskontinuums, sondern durch die Entstehung von Molekülfragmenten des Probemoleküls. Durch die energetisch höherliegenden Schwingungszustände, wird bei der Einphotonenionisation diese Zusatzenergie mit in das Ion eingebracht, so dass eine Fragmentierung erfolgt.

Die resonante IR- Energie zur Besetzung eines Schwingungszustandes erfolgt in komplexerer Form, als in Abbildung PI.A4 dargestellt. Hierbei ist die Anregung eines Schwingungszustandes, durch die Einbringung von mehreren Photonen wahrscheinlich. Entsprechend der Ausführungen nach RRKM geht kann der angeregte Schwingungszustand isoenergetisch, durch IVR in einen anderen Schwingungszustand übergehen. Eine nachgeschaltete Absorption eines weiteren Photons führt dann wieder zur Anregung der vorherig angeregten Schwingung und somit anschließend, durch 1-VUV Anregung zum bereits erläuterten Fragmentmuster.

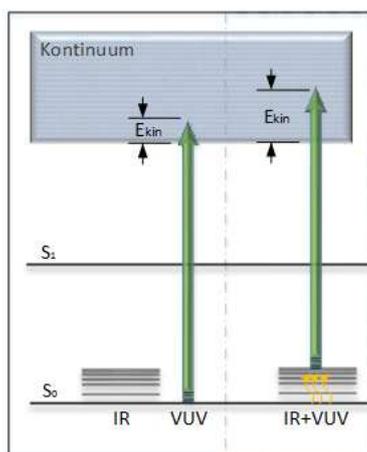


Abbildung PI.A4: Massensignalverringern durch Fragmentierung

Die vereinfachte Darstellung des experimentell durchgeführten Versuchsaufbaus, zeigt die Reduzierung des Massensignals anhand von vorab populierte, resonante Schwingungszustände. Durch die hierdurch höher liegenden Elektronen, führt die nachfolgend addierte, Strahlung zu einer höheren Belastung der Molekülbindungen und durch ein Übersteigen der Ionisierungsenergie zu einem Molekülspezifischem Fragmentierungsmuster. Resultierend steht eine reduzierte, detektierte Muttermassenkonzentration für einen resonanten Schwingungszustand des Grundzustandes.

Abhängig von den Ionisierungsenergien der zu untersuchenden Moleküle, wird somit ein substanzspezifisches Fragmentmuster erzeugt und der detektierbare Muttermassepeak reduziert. Aus der energetischen Position der so nachgewiesenen Schwingungsniveaus, lassen sich durch Vergleich mit berechneten Schwingungsspektren, Rückschlüsse auf die jeweilige Konformation des Probemoleküls im Schwingungsgrundzustand treffen.

2.3. Laser-Desorption der Proben

Um die Probenmoleküle ungestört von einer Umgebung untersuchen zu können müssen die Moleküle in die Gasphase gebracht werden. Da die zu untersuchenden Dipeptide nicht flüchtig sind, müssen sie durch geeignete Maßnahmen in den gasförmigen Zustand überführt werden. Dies könnte mittels einer Sublimation aus einem temperaturgesteuerten Gefäß erfolgen. Aufgrund der starken intermolekularen Wechselwirkung im Festkörper, würden theoretisch hohe Temperaturen benötigt, um eine Verdampfung von Peptiden zu erreichen. Bei solch hohen Temperaturen finden in Peptiden aber bereits intramolekulare Umlagerungsreaktionen, sowie Fragmentierungen bzw. Degradierungen statt, welche das Ergebnis verfälschen. ^[A.Rij1]

Die einfache Methode der thermischen Verdampfung ist also für Peptide unmöglich anwendbar, da sie sich zersetzen bevor sie in die Gasphase sublimieren. Neben dem Thermospray-Verfahren ^[T.Riz1] besteht die Möglichkeit der Überführung der Analyten in die Gasphase mittels der Laserdesorption.

Zusätzlich besteht die Notwendigkeit, dass die eingebrachten Neutalmoleküle reproduzierbar kalt sind und im Schwingungs-Grundzustand vorliegen. Die Methode, um das zu erreichen wird im apparativen Teil dieser Arbeit, im Abschnitt der Überschallstrahldüse näher beleuchtet. Auf die technischen Aspekte der Laserdesorption wird ebenfalls im apparativen Teil dieser Arbeit eingegangen.

Zur Vermeidung der thermischen Degradation und auch um eine effiziente Kühlung der internen Freiheitsgrade auf wenige Kelvin zu erreichen, wird die Laserdesorption meist in Kombination mit einer Überschallstrahltechnik verwendet. ^[G.Mei1]

Die hier wohl bekannteste Methode in Bezug auf die Peptidanalytik via Massenspektrometrie ist die matrixunterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI). Diese wird nur aufgrund Ihres Bekanntheitsgrades an dieser Stelle genannt, aber wegen der hier nicht gewünschten Ionisation der Probenmoleküle nicht verwendet und deshalb nicht weiter erläutert. ^{[I.Pin1], [R.Cra1]}

In dieser Dissertation wurde zu Einbringung der Analyten in den Vakuumraum eine Methode verwendet, welche ebenfalls unter Verwendung einer Matrixsubstanz und Laserabsorption die Analytmoleküle in die Gasphase transportiert. Diese Methode im Allgemeinen geht auf die Ausführungen um Grotemeyer und Schlag zurück, welche die Einbringung sensibler Analytmoleküle in den Vakuumraum zeigten ^[J.Gro] Die prinzipielle Funktion dieser Methode wird in Abbildung LD.A1 dargestellt. Hierbei wurde die Abbildung jedoch schon auf die in dieser Dissertation durchgeführte Methode angepasst. Hierbei wird die Probe in fester Form, mit Graphitpulver gemischt und den Pulsen eines Nd:YAG Lasers von 1064nm ausgesetzt. Hierdurch wird die Probe schlagartig verdampft. Die in dieser Arbeit angewandte Technik zur Überführung der Analytmoleküle, ohne die Ionisierung dieser, wird in dieser Arbeit im nachfolgenden technischen Abschnitt dieser Arbeit näher dargestellt.

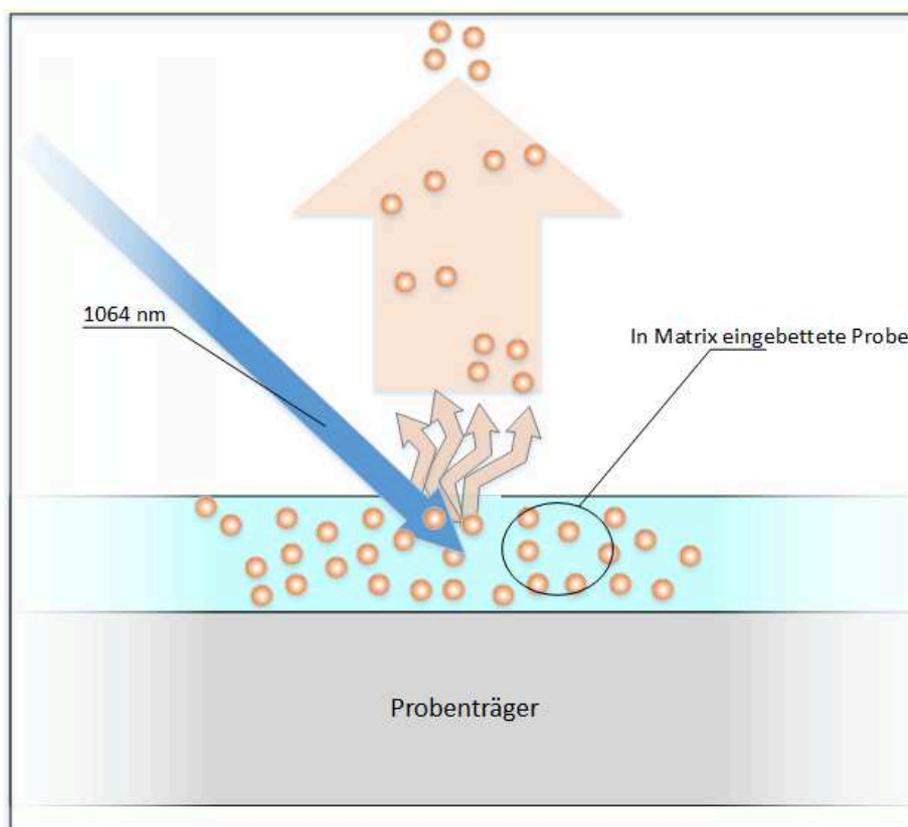


Abbildung LD.A1: Schematische Darstellung der verwendeten Laserablation

Die vollständig in die Matrix eingebettete Probe, wird indirekt durch die schlagartige Verdampfung der Matrix in die Gasphase überführt. Zur Vermeidung von Ionisationseffekten, nimmt bei den hier durchgeführten Messungen die Wahl der richtigen Anregungswellenlänge mit 1064nm, sowie die Wahl der richtigen Matrixsubstanz eine tragende Rolle ein. Als Matrixsubstanz eignet sich für kurzkettige Peptide beispielsweise die Verwendung von kolloidalem Graphit in welches das feste Probenmaterial eingearbeitet wird.

2.4. FELIX

Für die in dieser Arbeit beschriebenen Experimente wurde zur Anregung der Schwingungszustände der eingebrachten Probenmoleküle der freie Elektronen Laser (FEL) der Radboud Universität in Nijmegen (Niederlande) des Institutes für freie Elektronen-Laser Infrarot (IR) Experimente (FELIX) verwendet. Bei einem FEL wird im Gegensatz zu einem konventionellen Lasersystem, nicht unter der Verwendung eines laseraktiven Mediums eine Besetzungsinversion abgeräumt und somit Laserstrahlung erzeugt. Im Vergleich zur funktionell verwandten Synchrotronquellen, werden im FEL zur Erzeugung der elektromagnetischen Strahlung ^[D.5031] Elektronen nach dem Passieren eines Undulatorsystems zur Strahlungsemission gebracht. Anschließend erfolgt bei diesem System die schrittweise Verstärkung durch einen Resonator.

1.5.1. Generelle Funktionsweise/ Undulatorsystem

Mittels einer Elektronenkanone werden Elektronen erzeugt, welche nachfolgend in einer linearen Beschleunigungseinheit beschleunigt werden. In diesen Beschleunigungseinheiten werden die Elektronen auf annähernd Lichtgeschwindigkeit gebracht, bevor diese in den Resonatorraum eingekoppelt werden. Sogenannte Mikropakete werden im Resonatorraum, mithilfe von Transversalmagneten bzw. Undulatoren erzeugt, bei welchen es sich prinzipiell um das Resultat einer alternierenden Anordnung von Dipolmagneten handelt. Bei der Durchquerung des Elektrons führen die Undulatoren zu einer sinusförmigen Elektronenbewegung, wodurch die Elektronen senkrecht zu ihrer Bewegungsrichtung beschleunigt werden. Durch die Transversalbeschleunigung werden so die Mikropakete erzeugt, bei welchen das eingekoppelte Elektronenpaket in Phase in spontan emittierende Scheiben separiert wird. Durch die Transversalbeschleunigung der Elektronen ergibt sich eine kegelförmige Abstrahlung des spontan emittierten Lichtes, wobei hier der Lorenzfaktor die Frequenzverschiebung in Vorwärtsrichtung ausdrückt ^[B.Kin1]

$$(FX.G1) \quad \gamma = \frac{1}{\sqrt{1-\beta^2}}$$

Da die Generierung einer kegelförmigen Abstrahlung ein nicht kohärentes Strahlprofil voraussetzt, wird eine Resonatorverstärkung über die Verwendung von Spiegeln analog zu konventionellen Lasersystemen notwendig.

Die genannten Prozesse wurden schematisch in Abbildung (FX.A1) dargestellt.

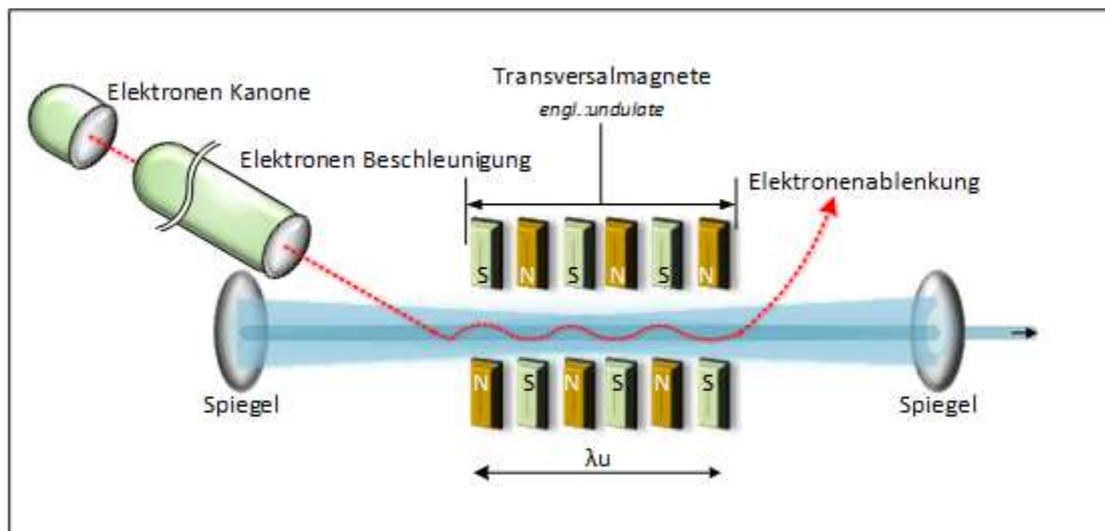


Abbildung FX.A1: Schematische Darstellung des FELIX Systems

Ausgehend von der Elektronenkanone werden die generierten Elektronen mithilfe einer Beschleunigungseinheit auf annähernde Lichtgeschwindigkeit beschleunigt und anschließend in den Resonatorraum eingekoppelt. Durch die sich in diesem befindlichen alternierend ausgerichteten Dipolmagneten wird eine Sinusbewegung der Elektronen implementiert. Hierdurch beginnen diese spontan Synchrotronstrahlung zu emittieren. Zusätzlich werden durch die alternierende Bewegung und dem damit zusammenhängenden Dopplereffekt, Microbunches erzeugt. Die spontan emittierte Strahlung wird mithilfe von Spiegeln an den Außenseiten des Resonator Raums verstärkt. [F.elx1]

Die erzeugte Wellenlänge ist abhängig von der verwendeten Undulatorperiode (λ_u), sowie dem Undulatorparameter aus Gleichung (FX.G2). [W.Ack1]

$$(FX.G2) \quad K = \frac{eB_0\lambda_u}{2\pi mc}$$

Dieser ist wiederum von der verwendeten Magnetfeldstärke (B_0), der Lichtgeschwindigkeit (c), sowie der Ladung (e) und der Masse des Elektrons (m) abhängig. Die Abhängigkeit zur erzeugten Wellenlänge ergibt sich aus dem Zusammenhang der Gleichung FX.G3. [L.Eli1]

$$(FX.G3) \quad \gamma = \frac{\lambda_u}{2\gamma^2} \left(1 + \frac{K^2}{2}\right)$$

Durch die synchronisierte, periodische Einkopplung von neuen Elektronen in den Resonatorraum, kann die Generierung der erzeugten Strahlung weiter forciert werden, wodurch letztendlich die in der nachfolgenden Tabelle FX.T1 dargestellten Spezifikationen im Sinne von Leistung und Profil erreicht werden können.

Tabelle (FX.T1): Systemspezifikationen des verwendeten FEL der Radboud University Nijmegen^[F.elx1]

In dieser Tabelle finden sich die Spezifikationen des für diese Versuche verwendeten FEL der Radboud University Nijmegen. Ersichtlich wird hier die nennenswerte hohe Leistung und die somit verknüpfte Eignung für Experimente im IR Bereich und der verknüpften Notwendigkeit einer Exposition mit einer hohen Photonflussdichte.

System	FELIX
Elektronenstrahl	40/45 - 1 MeV
Spektralbereich	2,7- 150 μm 3500 - 66 cm^{-1} 120 - 2 THz 450 - 8 meV
Pulsstruktur	Mikro-/Makropuls
Mikropulsenergie	1 - 20 μJ
Makropulsenergie	$\leq 100 \text{ mJ @ 1GHz}$
Max. Leistung	$\leq 100 \text{ MW}$
Polarisierung	linear
Spektrale Bandbreite FWHM ^{*1}	0,2 - 5 %
Korrespondierende Pulslänge ^{*1}	250 fs – 6 ps
Kontinuierlicher Regelbereich	200 - 300 %

^{*1}Der verwendete FEL produziert limitierte Pulse gemäß Fourier Transformation

Mittels des durchstimmbaren FEL können die jeweiligen Schwingungszustände der neutralen Analytmoleküle, durch IR Strahlung im Femtosekundenbereich angeregt werden. Vorab wurden hierzu einige gängige, diesem Populationsschritt folgende Ionisationsprozesse in den Kapiteln 2.1 und 2.2 vorgestellt, welche essentiell für die energetische Analyse der besagten Schwingungszustände des Grundzustandes sind. Diese dienen als Grundlage für die ebenfalls durchgeführten Berechnungen zur Ermittlung der jeweiligen Grundzustandsenergien, sowie Molekülgeometrieoptimierungsrechnungen. Die genannten Rechnungen sollen ebenso der Verifizierung der ermittelten Analyseergebnisse dienen.

2.5. Verwendete Geräte/ Spezifikationen

Bauteil/ Messapparaturbestandteil	Spezifikationen/ Verwendete Konfiguration
Lasersystem/ Optische Elemente	
Nd:YAG-Pulslaser	
<i>Modell:</i>	<i>Spectra Physics Quanta; Ray GCR-170</i>
<i>Pulsbreite:</i>	<i>100 μs</i>
<i>Verwendete Emissionswellenlänge</i>	<i>2. Harmonische (SHG) - 532 nm</i>
<i>Verwendete Auskopp-lungsenergie</i>	<i>3.00 W @10 Hz (300 mJ)</i>
<i>Verwendete Aufheizzeit</i>	<i>~15 min.</i>
Farbstofflaser	
<i>Modell:</i>	<i>Laser analytical Systems; LDL 105/205</i>
<i>Gitter</i>	<i>2400 Wellenzahlen</i>
<i>LAS 20505</i>	<i>Spiegel zur Verwendung bei 523 nm</i>
<i>Verwendete Auskopp-lungsenergie:</i>	<i>~14mJ</i>
Coherent He-Ne-Laser	
<i>Modell:</i>	<i>HENE Head SPL</i>
Pellin Broca Prismenaufbau	
<i>Modell:</i>	<i>LAS PS040196</i>
FCU Dopplerkristalle	
<i>Modell:</i>	<i>BBO für 220-330nm</i>

Bauteil/Messapparaturbestandteil	Spezifikationen/ Verwendete Konfiguration
Einlasssystem	
Pulsdüse	
Modell:	<i>Parker Instrumentation; Iota One</i>
Pulsdüsensteuerung:	
Modell:	<i>Parker Instrumentation; 060-0001-800</i>
Öffnungsbereich:	<i>>5μs</i>
Frequenz:	<i>0,1 bis 250Hz</i>
Heizwiderstände:	
Modell:	<i>Dale RH-10 10W</i>
Probengefäß:	<i>2,7Ω 1% Mexico M0342</i>
Düse:	<i>3,3Ω 1% Mexico M0437</i>
Vakuumsystem	
Druckmessung	
P1	
Messumformer:	<i>Thermovac TM 22</i>
Sensor:	<i>TM 22</i>
P2	
Messumformer	<i>Leybold; Ionivac IM 210</i>
Sensor	<i>TR111</i>
P3	
Messumformer	<i>Leybold; Ionivac IM 210</i>
Sensor	<i>TR111</i>
Vorpumpen	
VP1	
Modell:	<i>Alcatel /Leroy Somer; LS100L1-2060; 1420 tr/min</i>
VP2	
Modell:	<i>Alcatel 2033</i>
VP3	
Modell:	<i>Leybold Trivac; D168 ; 16m³/min</i>
Öl-Diffusionspumpe (Ö.Diff)	
Modell:	<i>Balzers; DIF 250;BP D06 500/0485</i>

Bauteil/ Messapparaturbestandteil	Spezifikationen/ Verwendete Konfiguration	
Turbomolekular-Vakuumpumpen		
Turbo 1		
Modell:	Leybold; Turbovac 151	
Netzteil	Leybold; NT151/361	
Turbo 2		
Modell:	Leybold; Turbovac 151	
Netzteil	Leybold; Turbotronic NT20	
Turbo 3		
Modell:	Pfeiffer PH110W; @ 110l/s	
Netzteil	Pfeiffer; TCP 270 @715Hz	
Ionenoptik / Driftstrecke/Detektor		
Ionenoptik / Driftstrecke		
Modell:	R.M-Jordan Co. C-677	
Driftstreckenlänge:	115 cm Ionisation-Detektor	
Durchmesser-Driftstrecke:	~ 73 mm	
Auflösung:	150-200, bei Verwendung mit Überschallstrahldüse bis max. 1000	
Repellerspannung [V]:	0 bis -4,5 kV	
Gridelektrodenspannung [V]:	0 bis -4,5 kV	
Auslenkungselektroden [V]:	X1	-330 bis +330
	X2	+330 bis -330
	Y1	-275 bis +275
	Y2	+275 bis -275
Detektion		
MCP System Modell:	Bergmann Messgeräte Entwicklung KG	
Anzahl MCP:	2	
Typ:	Chevron	
Spannungen	Nachbeschleunigung PA)	0 bis -5,0 kV
	MCP Vorderseite	0 bis -4,0 kV
	MCP Rückseite	0 bis -4,5 kV

Bauteil/ Messapparaturbestandteil	Spezifikationen/ Verwendete Konfiguration
Peripherie	
200MHz- MCP-Anodensignalverstärker	
Modell:	Femto; HVA-200M-40-B; 20,40 db
Bandbreite:	200 MHz
Noise:	30 microVolt (RMS)
Eingangswiderstand:	150 Ohm
Ausgangssignal:	±1,5 V
Oszilloskop	
Modell:	Tektronix 520A
Samplingrate	500 MS/s
Bandbreite:	500 MHz
Zeitbasis	500 ps/Sektion bis 10 s/ Sektion
Delaygeneratoren/Siganlsnchron.	
: Time-Delay-Generator	
Modell	Stanford Research Systems; DH535
20Hz/10Hz Sync.-Uhr/Delaygenerator	
Modell:	Eigenbau; PC1 HHU Geb 26.43; K.Kelbert
Skimmer	
Modell:	Beam dynamics, Inc.
Durchmesser:	1 bzw. 2 mm

2.6. Übersicht über das Messsystem

Beim verwendeten Versuchsaufbau zur Untersuchung von Fragmentierungsprozessen, handelt es sich um ein Flugzeitmassenspektrometer, sowie der entsprechenden Geräteperipherie. Der Versuchsaufbau wurde in Abbildung (ÜM.A1) schematisch dargestellt, wobei die dazugehörigen Spezifikationen der einzelnen, kommerziell erhältlichen Komponenten, in Abschnitt 1.3 näher dargestellt wurden. Der Versuchsaufbau beinhaltet einen Neodym-dotierten Yttrium-Aluminium-Granat-Laser (Nd:YAG-Laser) ①, einen durch diesen gepulsten, durchstimmbaren Farbstofflaser ②, dessen Laserstrahl nach der Frequenzverdopplung (FCU) ④ via β -Bariumborat Kristall (BBO) durch einen Pellin Broca Prismenaufbau ⑤ spektral separiert wird. Vor der Einkopplung des Laserstrahls in das Messgerät ⑥ wird zur vorherigen Raumfokussierung in das Zentrum der Ionenoptik eine CaF-Linse außerhalb der Messapparatur angebracht. Der Übergang in den Vakuumraum der Messapparatur wird mittels CaF-Fenster realisiert. Rückseitig der Messapparatur befindet sich eine Photodiode ⑦, welche bei Laseraktivierung als Zeitpunkt der Ionisation der Neutralteilchen und somit ein zeitliches Referenzsignal für die Flugzeit verwendet wird. Dieses Referenzsignal wird zusammen mit dem zeitverzögerten, verstärktem MCP-Anodensignal auf einem Oszilloskop ⑧ dargestellt und mithilfe einer Messsoftware auf einem Messrechner ⑨ ausgewertet. Die genannte Software wird ebenfalls verwendet, um die gewünschte Laserwellenlänge bzw. die Gitter-Motorposition des Farbstofflasers ③ zu wählen, sowie eine zugehörige FCU-Motorstellungs-Kalibration durchzuführen. Die Messsoftware wurde in der ursprünglichen Form von Andreas Schiefke^[A.Sch1] mittels Labview erstellt und in den nachfolgenden Jahren durch weitere Personen^[C.Jac1], weiterentwickelt. Die hier verwendete Messapparatur ⑥ wurde durch verschiedene Personen im Arbeitskreis errichtet, während dieser Dissertation nach langer Standzeit erneut Instandgesetzt und stellenweise modifiziert. Die entsprechenden Modifikationen werden in den jeweiligen Unterkapiteln zu den Bestandteilen der Messapparatur näher beschrieben.

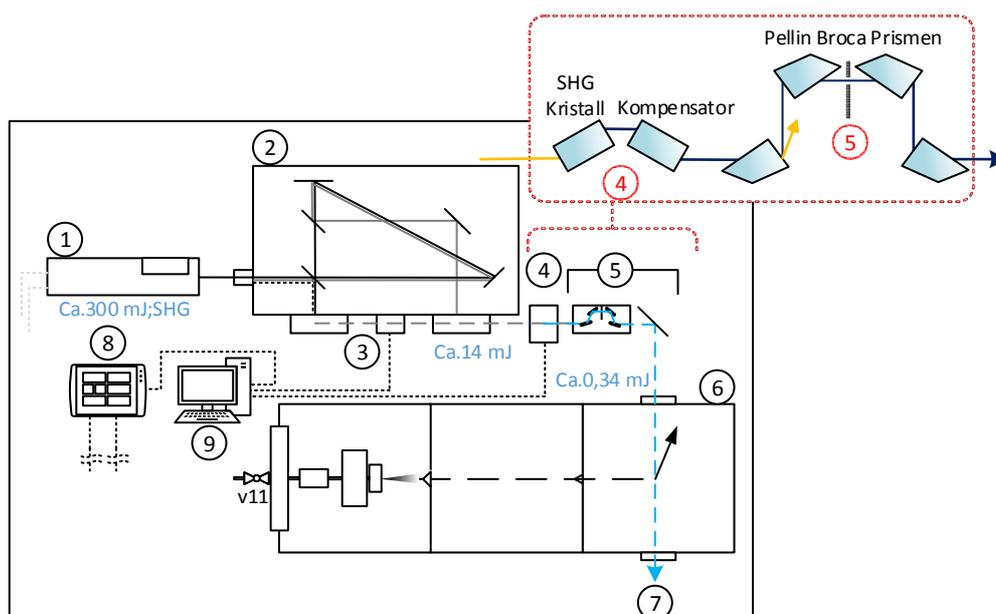


Abbildung (ÜM.A1): Versuchsanordnung

Ausgehend von der 2. harmonischen des Nd:YAG Pumpasers, wird mittels der gitterpositionsabhängigen Strahlung das LAS Farbstofflasers über den BBO-FCU die Laserwellenlänge verdoppelt und nach entsprechender optischer Ausrichtung und Fokussierung in den Messaufbau eingekoppelt. Die entsprechende Messsignalerfassung und die notwendigen Motoransteuerungen sowie Kalibration, werden mittels eines Oszilloskops und einem PC und LabView realisiert. Zum Zeitpunkt des im Messgerät eintreffendem Laserlichtes werden die, mittels einer Überschallstahldüse generierten neutralen Gasmoleküle in der Ionenoptik ionisiert und abhängig von Ihrer Flugzeit zu unterschiedlichen Zeiten detektiert. Der Zeitpunkt der Ionisierung wird hier mittels einer Photodiode rückseitig des Messgerätes erfasst und dient als Referenz zur Ermittlung der Flugzeit.

Die Messapparatur teilt sich in mehrere Teilbereiche auf, welche schematisch in Abbildung (ÜM.A1) dargestellt sind. Durch ein Einlasssystem wird der Analyt in Kammer 1 der Messapparatur ⑥ eingebracht. Dieser gelangt anschließend durch einen Skimmer in Kammer 2, in welcher divergente Molekülstrahlen abgeschieden werden sollen. Durch einen weiteren Skimmer gelangt der Analyt in die 3. Kammer und so zum Ionisationsbereich, sowie zur Beschleunigungs- und –Ionenoptik der Messapparatur. Zentral oberhalb der Repellerplatte (Beschleunigungseinheit) der Ionenoptik trifft der frequenzverdoppelte und spektral separierte Laserstrahl des Farbstofflasers auf die Molekülwolke. Nach der Ionisierung und Beschleunigung der ehem. Neutralmoleküle, erfolgt die zeitliche Massenselektion der Molekülionen mittels einer feldfreien Flugstecke. Die Detektion wird wie bereits erwähnt, mittels eines MCP Detektoraufbaus in Kombination mit einer Signalverstärkungseinheit, sowie ein an einen PC gekoppeltes Oszilloskop erzielt. Die jeweilige zeitliche Synchronisierung der involvierten Bauteile, wurde unter Zuhilfenahme von Delaygeneratoren realisiert, auf deren Ansprech- und Signalzeiten, sowie Signalverläufe zu einem späteren Zeitpunkt noch näher eingegangen wird. Nachfolgend werden das Vakuumsystem, das Einlasssystem, der Ionisationsbereich, der Beschleunigungs-

und –Ionenoptik, die Driftstrecke sowie Detektor und Auswerteeinheit näher dargestellt. Zusätzlich wird ein für diese Messapparatur aufgebauter Koaleszenzfilter zur Abscheidung von Öl-Aerosolnebel aus den Drehschieber-Vorpumpen näher beschrieben.

2.7. Das Vakuumsystem

Um die entsprechenden Messungen durchführen zu können, wird ein ausreichendes Vakuum vorausgesetzt. Hierbei ist beispielsweise neben der Notwendigkeit eines ausreichenden Vakuums für die Detektorfunktion, eine möglichst hohe freie mittlere Weglänge für die kalten Analytmoleküle von Vorteil. Wie bereits erwähnt, werden die jeweiligen Kammern der Messapparatur über Skimmer voneinander getrennt. Dies dient neben der Abscheidung von divergenten Molekülstrahlen einer schrittweisen Verbesserung des Vakuums, ausgehend vom Einlasssystem.

Für ein ideales Gas ist die freie mittlere Weglänge gemäß Gleichung (VS.G1) folgendermaßen definiert, wobei (n) hier die Teilchendichte pro Volumeneinheit und (σ) den Wirkungsquerschnitt in Translationsrichtung des betrachteten Gases beschreibt. ^[C.Wil1]

$$(VS.G1) \quad x = \frac{1}{n\sigma}$$

Zur Systemevakuierung wurden ausgehend von atmosphärischen Druckbedingungen, Bypassleitungen zwischen den einzelnen Kammern installiert. Dies verhindert hohe mechanische Belastungen während der Evakuierung an den verhältnismäßig kleinen Skimmeröffnungen, die aufgrund der unterschiedlichen Ansaugraten der Vorpumpen (VP1, VP2) und Turbopumpen (Turbo 2, Turbo 3) entstehen können. Nach der vollständigen Evakuierung können die Bypassleitungen mittels der Durchgangsventile (V1, V4) verschlossen werden. Der generelle schematische Aufbau des installierten Pumpensystems wurde in Abbildung (VS.A1) dargestellt. Die hier dargestellten und verwendeten Steckerbelegungen werden nachfolgend in Tabelle (VS.T1) definiert und gelten auch für nachfolgende Zeichnungen.

Tabelle (VS.T1): Ansteuerungslegende der verwendeten TOF-MS Apparatur

Pos.	Bezeichnung	Pos.	Bezeichnung	Pos.	Bezeichnung
1.1	- Heizelement 1/2	5.2	- Y- Ausrichtung 1/2	V8	- Verschlussventil Systembelüftung
1.2	- Heizelement 2/2	6.1	- X-Ausrichtung 1/2	V9	- Nadelventil Systembelüftung
2.1	- Pulsdüse 1/2	6.2	- X- Ausrichtung 1/2	V10	- Verschlussventil Systembelüftung
2.2	- Pulsdüse 2/2	7.1	- Gridspannung	V11	- Verschlussventil Trägergaszufuhr
3.1	- Thermoelement 1/2	8.1	- Repellerplattenspannung	V12	- Turbo 1: Verschlussventil Sys-
3.2	- Thermoelement 2/2	V1	- Turbo 2: Bypasszugang via Belüftungsanschluss/ Systembelüftung	V13	- Verschlussventil Kammer 3/ Detek-
4.1	- Nachbeschl.(PA)	V2	- Turbo 2: Pumpenverb. zu VP2	P1	- Druckmessung Kammer 1
4.2	- MCP Frontseite	V3	- Turbo 3: Pumpenverb. zu VP2	P2	- Druckmessung kammer 3
4.3	- Messsignal-Ausgang	V4	- Turbo 3: Bypasszugang via Belüftungsanschluss/Systembelüft.	P3	- Druckmessung Detektorkammer
4.4	- MCP Rückseite	V5	- Verschlussventil VP2		
4.5	- <i>nicht belegt</i>	V6	- Verschlussventil VP1		
5.1	- Y-Ausrichtung 1/2	V7	- Nadelventil Systembelüftung Kammer 1		

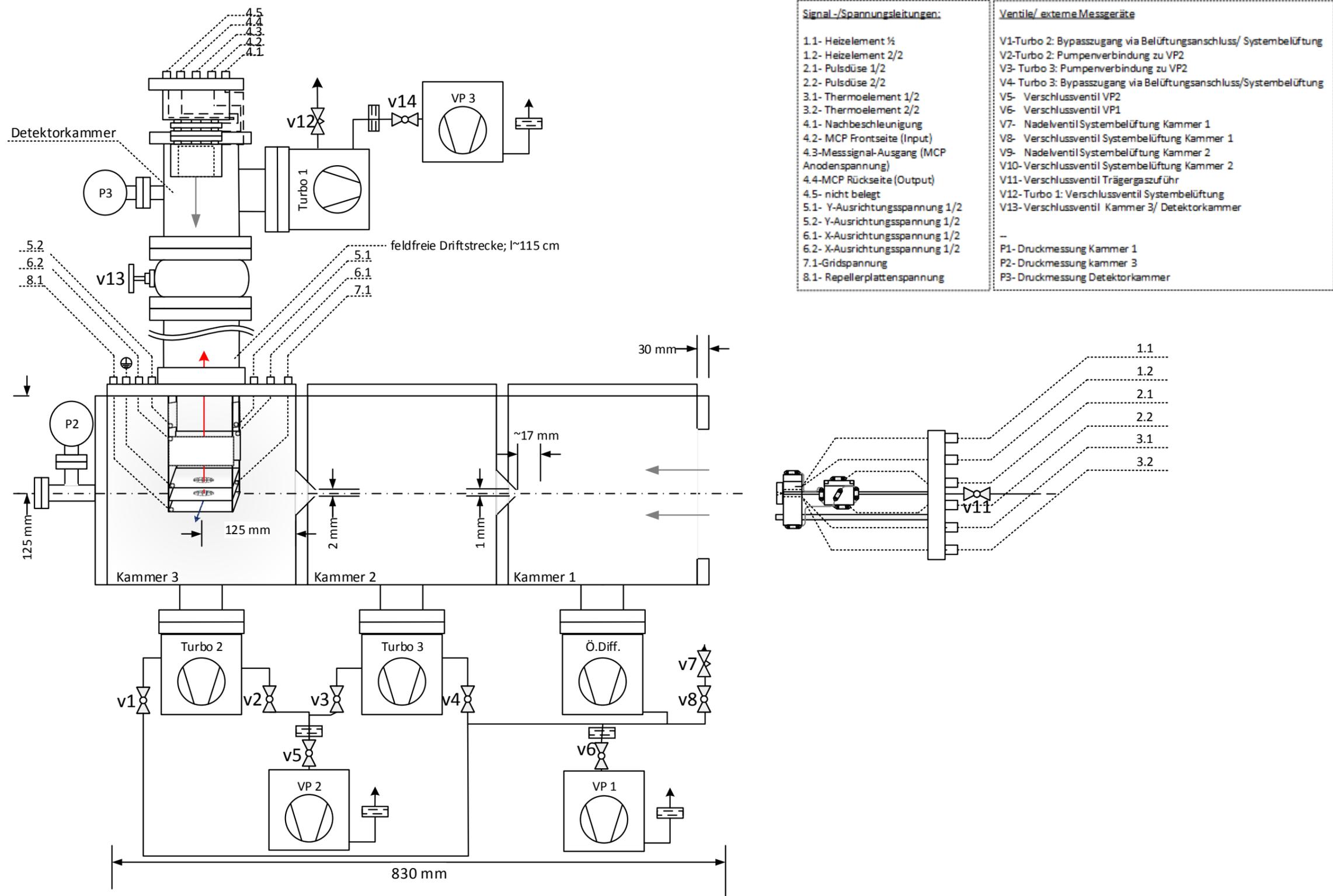


Abbildung (VS.A1): Genereller schematischer Aufbau der Messapparatur

Dargestellt sind die drei Vakuumkammern der Messapparatur, sowie die Detektionskammer und Flugstrecke. Das Vakuum in den Kammern wird über die entsprechenden Turbopumpen generiert, wobei zum Schutz der Skimmer vor großen Druckdifferenzen bei der Systemevakuierung durch die Vorpumpen (VP), zusätzlich ein schließbarer Bypass zwischen den jeweiligen Kammern installiert wurde. Zusätzlich werden in dieser Abbildung die entsprechenden Positionen der Druckanzeigen, Absperrventile, Filter, sowie Anschlüsse der involvierten Bauteile dargestellt.

Kammer 1 wurde zusätzlich mit einem Schieberventil am Skimmerdurchgang zu Kammer 2 ausgestattet, um das Einlasssystem ohne vorherige atmosphärische Entspannung der gesamten Messapparatur entnehmen zu können. Um dem anfallenden Druckanstieg durch das Einlasssystem im Messbetrieb kompensieren zu können, wird Kammer 1 mittels einer Öldiffusionspumpe und eigener Vorpumpe (VP 1) evakuiert. Konstruktionsbedingt ist es möglich das Öl in Form eines Aerosols in Kammer 1 der Messapparatur gelangen kann, sich dort ablagert und somit mittelfristig zu einer Verschlechterung der Vakuumqualität führt. Um dies zu vermeiden, die Wartungsintervalle der Messapparatur zu verlängern und um die Öldiffusionspumpe vor eventuell herunterfallenden Fremdkörpern während der Wartung zu schützen, wurde eingangsseitig der Öldiffusionspumpe Lamellen in Konfiguration eines Beffels angebracht. Diese werden mittels eines Kryostats von der Außenseite der Messapparatur auf ca. -20°C (30 min, $\sim 1^{\circ}\text{C}$) gekühlt.

VP 1 und VP2 wurden aufgrund von Vibrationsbelastungen auf die Messapparatur von dieser soweit möglich entkoppelt. Dies wurde in Form einer mehrfach gummigepufferten Hebebühne realisiert, welche speziell für dieses Messsystem angefertigt wurde. Beim Erreichen statischer Anlagendruckverhältnisse, besteht das Risiko eines erhöhten Aufkommens an Öl-aerosol in der Anlage, da sich die Gas Durchflussgeschwindigkeit in der Anlage reduziert. Um einem hohen Wartungsaufwand entgegenzuwirken, wurde ein spezielles Filtersystem aus dem Bereich der Koaleszenzfilter entworfen, welches das auftretende Öl abscheidet. Entsprechend der Abbildung VS.A2, wird durch den tangential eingebrachten Gasanschluss eine filterinterne Maximierung der genutzten Filteroberfläche erzeugt. Ebenfalls lässt sich an der Abbil-



dung das eingebrachte Filterelement, sowie das Ölreservoir erkennen. Das Filterelement wurde für die Aufgabe zur Abscheidung von Öl-aerosol aus einem unpolarem Material gewählt, welches netzartig und hier in unterschiedlichen Maschengrößen im Filterelement eingebracht wurde. Auf die allgemeinen Details der Koaleszenzabscheidung wird an dieser Stelle nicht weiter eingegangen. Nähere Informationen lassen sich in der allgemeinen Literatur finden, hier ist besonders das Werk von T.Waters zu empfehlen ^[T.Wat]

Abbildung VS.A2: Koaleszenzfilter

Zur Abscheidung von Öl-Aerosols wird ein unpolares, grob und feinmaschiges Filtermaterial ausgewählt. Das erstellte Filtergehäuse verfügt über einen tangentialen Gasanschluss am Grundkörper des Gehäuses, um eine möglichst maximale Oberflächennutzung des Filterelementes zu erzeugen.

2.8. Das Einlasssystem

Das Einlasssystem dient zur Verdampfung und zur periodischen, gasförmigen Einkopplung des Analyten in Kammer 1 des Messsystems.

Wie in Abbildung (EL.A1) zu sehen, besteht das Einlasssystem prinzipiell aus einer Grundplatte, einer durchführenden Rohrleitung für den Gas- und Proben transport, sowie aus einem Probenreservoir, der Pulsdüse und den Heizelementen inkl. Heizungssteuerung. Durch eine Aussparung an der Aussenhülle der Messapparatur, kann das Einlasssystem in den Vakuumraum eingeführt werden. Die Zentrierung auf die Skimmeröffnung erfolgt mittels Stellschrauben an der Außenhülle der Messapparatur.

Das Einlasssystem wird auf einer Edelstahlplatte durch die durchgeführte Rohrleitung fixiert. Zur Stabilisierung des Systems und unter Berücksichtigung der materialspezifischen, thermischen Leitfähigkeit wurden zusätzlich Keramikstäbe an der Edelstahlplatte befestigt und mit dem Einlasssystem verbunden

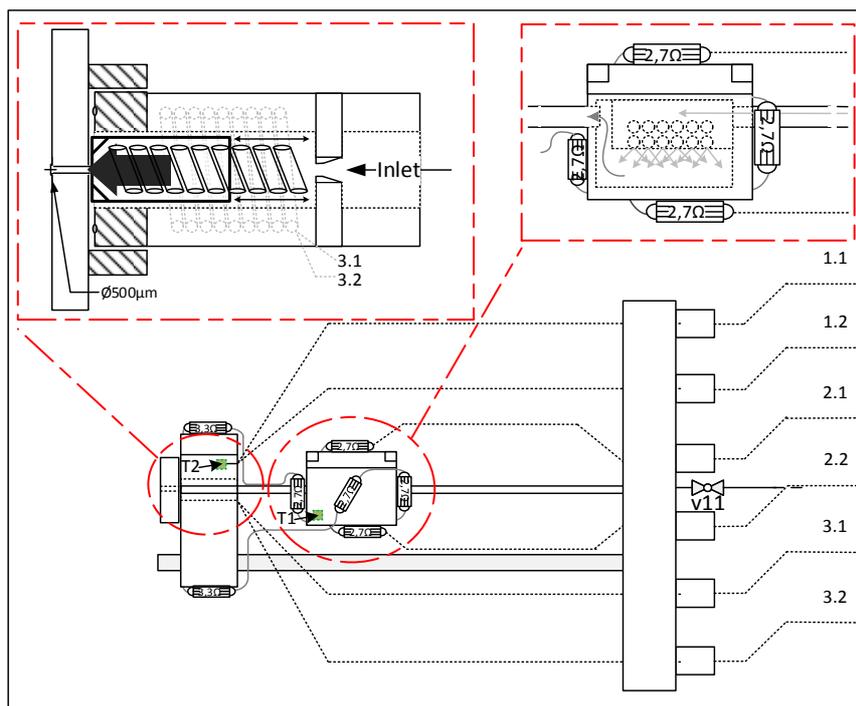


Abbildung (EL.A1): Schematische Darstellung der verwendeten Pulsdüse.

Durch eine Rohrleitung wird das Trägergas in einen beheizten Probenraum geführt. Hier wird die entsprechende Probe partiell in die Gasphase überführt und gelangt durch den Trägergasdruck (ca. 1,5 barg) zur Pulsdüse. Durch einen magnetischen Öffnungsmechanismus wird in einer Taktung von 10Hz stoßweise Gas in den Vakuumraum eingebracht. Durch die schnelle Öffnung und den damit erzeugten Überschallstrahl, entsteht ein für diese Messungen notwendiger, kalter Molekularstrahl. Die jeweilige Position der notwendigen Temperaturüberwachung und -steuerung sind in der Abbildung als T1 und T2 beschrieben.

Die sich in einem Probengefäß befindliche Probensubstanz (in flüssiger, oder fester Form) wird mithilfe von Heizwiderständen partiell in die Gasphase überführt, wobei die notwendige stufenlose Regulierung der genutzten Heizwiderstände über ein Thermoelement in Zusammenarbeit mit einem PID Regler realisiert wird. Alle elektrischen Leitungen wurden aus 1mm Edelstahl gefertigt. Der Grund hierfür ist die Vermeidung möglicher Ausgasungen ausgehend den Kunststoffummantelungen standardmäßiger elektrischer Zuleitungen. Zur Minimierung von Kondensationsbrücken auf dem Weg zur Einlassdüse und zur Optimierung der Heizleistung wurde das komplette Einlasssystem in den Vakuumraum der Messapparatur integriert und die entsprechenden Gasleitungen zur Pulsdüse ebenfalls durch Heizwiderstände beheizt. Durch das verwendete Trägergas (Argon 5.0 Eingangsdruck $\sim 1,5$ barg) wird dann die gasförmige Probensubstanz zur Einlassdüse transportiert. Durch die Pulsdüse wird der Analyt dann anschließend in das Messsystem eingebracht. Durch die Expansion des Messgases in die Vakuumapparatur muss entsprechend die notwendige Expansionsenergie kompensiert werden, um so

eventuelle Kondensationspunkte in der Pulsdüse (im speziellen am Pulsdüsenausgang) zu vermeiden. Hierzu wurde wie ebenfalls in Abbildung (EL.A1) erkennbar, die Pulsdüse in einen Messingblock eingelassen, um einen flächendeckenden Energieeintrag zu gewährleisten. Zusätzlich wurden die entsprechenden Heizwiderstände so gewählt, dass die Temperatur an am Messingblock (T2) ca. 20 °C über der Temperatur des Probengefäßes (T1) liegt. Hierdurch sollen ebenfalls eventuelle Kondensationspunkte und somit das Risiko eines Zusetzens der Probenleitungen entgegengewirkt werden. Prinzipiell könnten mit diesem Aufbau Temperaturen von bis zu 240°C im Probengefäß realisiert werden. Das eingesetzte Thermoelement wurde zur Steuerung der Temperatur, in dem Messingblock integriert. Ein zusätzlicher PT100-Temperatursensor zur Überwachung der direkten Proben temperatur, wurde an der Außenseite des Probengefäßes installiert. Ebenfalls ist in Abbildung (EL.A1) schematisch dargestellt ist eine speziell angefertigte Diffusionseinheit im Probengefäß, um einen effektiven Proben transport zu gewährleisten und um die Probe gleichmäßig verdampfen zu können.

Um die Düsenöffnung durch den Skimmer justieren zu können, wurde im Innenraum der Kammer 1 der Messapparatur ein Spiegel eingebracht, welcher durch eine entsprechende Aussparung an der Oberseite des Messgerätes einsehbar ist. Endseitig der Kammer 3 wurde ein Helium-Neon Laser zwischen Repellerplatte und Grid und somit durch die Skimmer der Kammer 1 und 2 justiert. Durch den angebrachten Spiegel in Kammer 1 ist somit eine Justage der Pulsdüse auf den gewünschten Laserexpositionsort in der Ionisationskammer (Kammer 3) zwischen Repellerplatte und Grid möglich. Dieses Justageprinzip wurde von M. Buskers Messaufbau adaptiert ^[M.Bus1]

2.9. Die Pulsdüse

Die Pulsdüse (General Valve , Iota one, Düsendurchmesser 500 μm , 10 Hz, 300-400 μs) besteht, wie in Abbildung (EL.A1) zu sehen, aus einem Stößel, einem magnetischem Schlitten, sowie aus einer Feder. Die Feder liefert den entsprechenden Anpressdruck für den Schlitten und Stößel, um den Düsenausgang vollständig verschließen zu können. In der Außenhülle der Pulsdüse befindet sich eine Spule, über deren Magnetfeld der magnetische Schlitten, sowie der Stößel in Abhängigkeit der gewünschten Öffnungsdauer nach hinten gezogen werden. In dieser Position wird das Probenmedium in die Gasphase expandiert^[U.Boe1]. Auf diesen Prozess wird im Abschnitt 2.9.2.2 (Der Ultraschallstrahl) noch näher eingegangen.

Um den notwendigen Öffnungsimpuls durch die Steuerelektronik bereitzustellen, das entsprechende Magnetfeld in der Spule aufzubauen, die Düse zu öffnen und wieder zu schließen, bedarf es einer gewissen Zeitdauer zwischen geplanter und tatsächlicher vollständiger Düsenöffnung, sowie erneutem Düsenverschluss. Um diese Zeitspannen zu ermitteln und um die Reproduzierbarkeit der Pulsdüse sicherzustellen, wurden nachfolgende Tests mit dem Düsenaufbau durchgeführt.

2.9.1. Ermittlung der Öffnungs- und Verschlusszeiten

Zur Ermittlung der Öffnungs- und Verschlusszeiten wurde orthogonal zur Düsenöffnung des Aufbaus von Abbildung (PD.A1), im Abstand von ca. 1-2 mm ein He-Ne-Laser (Helium-Neon) entlanggeführt. Dieser wurde auf eine Photodiode justiert, welche an das versuchsaufbauzugehörige Oszilloskop via BNC angeschlossen wurde. Die gesamte Laser-Pfadlänge betrug hier wie in Abbildung Düsentest schematisch dargestellt, ca. 150 cm, wobei die Pulsdüsenöffnung sich einer Entfernung von ca. 130 cm von der Photodiode befand.

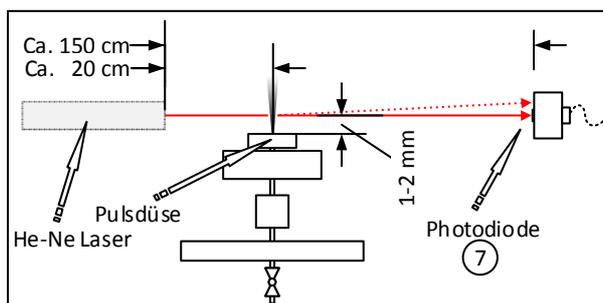


Abbildung (PD.A1): Charakterisierung der spezifischen Pulsdüsen Öffnungs- und Verschlusszeiten.

Ein He-Ne-Laser wurde entlang der Pulsdüsenöffnung auf eine Photodiode justiert. In Abhängigkeit der spezifischen Öffnungs- und Verschlusszeit der Pulsdüse, wird lokalisiert am Düsenausgang der Brechungsindex des durchstrahlten Mediums und somit die Auslenkung des He-Ne-Lasers geändert. Durch die hiermit verbundene Fluktuation der Ausgangsspannung der Photodiode ist eine Abschätzung der Düsenreaktionszeiten möglich.

Um nun eine Abschätzung über die Öffnungs- und Verschlusszeiten der Pulsdüse treffen zu können, wurde die Steuerelektronik der Pulsdüse mit 10 Hz via des messaufbauzugehörigen Stanford Delay Generators getriggert. Die Pulsdüse wurde bei 10Hz, 1350 μ s mit einer Düsentemperatur von 30°C betrieben. Der Düsendruck zur Kompensation der höheren Umgebungsdruckverhältnisse im Vergleich mit Vakuummessbedingungen wurde hierbei ausgehend von 1,5 bar um 1 bar erhöht. Aus den unterschiedlichen Polarisierbarkeiten des verwendeten Argons und des CO₂'s in der Luftumgebung ergeben sich unterschiedliche Brechungsindices und somit eine Ablenkung des He-Ne-Laser von der Photodiode bei düsenöffnungsinduzierten Argonausströmung [R.Ash], [K.L.Const], [K.Bir]. Diese Ablenkung induziert eine sich ändernde Ausgangsspannung der Photodiode, welche exemplarisch für den Öffnungstrigger von 1350 μ s in Abbildung (PD.A2) dargestellt wurde.

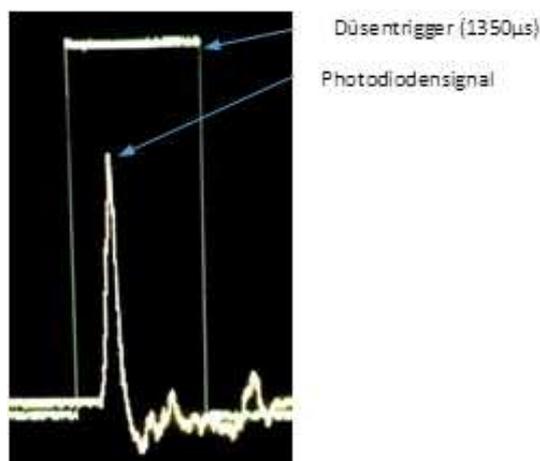


Abbildung (PD.A2): Darstellung der Pulsdüsenreaktionszeit

Induziert durch die Ablenkung des He-Ne-Lasers ergibt sich eine Fluktuation der Photodioden-Ausgangsspannung. Dargestellt ist hier der eingehende TTL-Puls in die Pulsdüsensteuerung. Es ergibt sich durch die interne Weiterleitung des Signals, sowie zur letztendlichen Öffnung der Pulsdüse eine benötigte Zeitdauer von ca. $310\mu\text{s}$ (vorausgesetzt $T_{\text{Triggersignal}} > 310\mu\text{s}$).

Die genannte Ablenkung des Laserstrahls spiegelt hierbei die Dauer der internen Weiterleitung des Triggersignals an die Pulsdüse, sowie die tatsächliche Zeitdauer zur Öffnung des Magnetventils wieder und liegt unabhängig von der Länge des Triggersignals bei $\sim 310\mu\text{s}$ (Vorausgesetzt die Länge des Triggersignals ist länger als die Reaktionszeit der Pulsdüse). Die Öffnungszeiten wurden für ca. 30 Minuten mit den experimentell bestimmten Werten aus Abbildung (PD.A2), ohne nennenswerte Änderungen beobachtet.

Große Relevanz für die hier durchgeführten Messungen spielt wie bereits vorab erwähnt, die Kühlung und eine möglichst räumlich zentrierte Population der kalten Analytmoleküle, bevor diese durch die Quelle bzw. durch den eingesetzten Laser ionisiert werden. Hierfür wird nachfolgend näher auf die verwendete Pulsdüse eingegangen, um diese Eigenschaften der Analytmoleküle zu realisieren.

2.9.2. Adiabatische Expansion des Trägergas/Analytgemisches

Für Experimente zur Untersuchung von elektronischen Zuständen und Übergängen in Molekülen, sollten sich diese in einem definierten, schwingungs- und rotationskalten, Grundzustand (S_0) befinden. Dies kann beispielsweise durch die Erzeugung eines Molekularstrahls, durch die Verwendung einer Überschallstrahldüse realisiert werden. Deren Aufbau wurde bereits in Kapitel (Die Pulsdüse) erläutert und wurde erstmals durch Kantowitz und Grey vorgestellt [A.Kan]. Dabei wird aus einer Düse, die mit mehreren bar Ar beaufschlagt ist ein kurzer Gaspuls herausgelassen. Dieser Edelgaspuls nimmt dann bei richtig gewähltem Zeitschema die laser-desorbierten Moleküle durch Stöße mit. Neben dieser Transporteigenschaft des Überschallstrahls kommt es auch zu einer Kühlung der durch die Laserdesorption aufgeheizten Probenmoleküle. Bei den vielen Stößen zwischen den Ar-Atomen und den Probenmolekülen wird nämlich aus den Molekülen interne Schwingungsenergie an die Translation des das Ar-Trägergases abgegeben.

Entsprechend dieser Anforderung an den Zustand der Analyten, besteht zusätzlich die Notwendigkeit einer möglichst großen, mittleren freien Weglänge (λ) nachdem der Analyt in das Messsystem eingebracht wurde. Diese ist wie bereits in Kapitel (Das Vakuumsystem) erwähnt, direkt durch die verwendete Vakuumqualität (VS.G1) beeinflussbar. [H.Mic1]

Natürlich müssen die Probenmoleküle nach der Kühlung stoßfrei fliegen, damit eine Wiederaufheizung vermieden wird. Nach Knudsen ergibt sich für ein atomares Expansionsgas durch die Abhängigkeit der freien mittleren Weglänge zum Durchmesser (d) der Düsenöffnung eine dimensionslose Zahl, die Knudsenzahl (Kn). Für diese gilt für Verhältnisse von freier mittlerer Weglänge zum Düsendurchmesser von $Kn \geq 1$ und $Kn \ll 1$ unterschiedliche Annahmen in Bezug auf die, durch die durch unterschiedliche Konstitutionen des Strahlprofiles hervorgerufenen molekularen Eigenschaften.

2.9.2.1. Effusives Strahlprofil

Bei $Kn \geq 1$ spricht man von einem effusiven Strahlprofil, welches sich durch nahezu keine Zusammenstöße der Gasteilchen beim Austritt aus der Düse auszeichnet, vorausgesetzt einer entsprechenden, geringen Molekülkonzentration im Gas.

Eine Verteilung der internen Freiheitsgrade der genannten Moleküle bleibt somit erhalten, es erfolgt also keine Abkühlung der Analytmoleküle durch die näherungsweise anzunehmende, isentrope expansive Einkopplung in den Vakuumraum. Es ergibt sich für ideale Gase in Übereinstimmung mit der Boltzmann Verteilung der folgende allgemeine Zusammenhang der Gleichung (PD.G1), auf welche ebenfalls in Abbildung (PD.A3) referenziert wird.

$$(PD.G1) \quad \frac{N}{N_0} = e^{-\frac{mv^2}{2k_B T_0}}$$

Bedingt ist dies durch die Entstehung eines laminaren Strömungsprofils bei der Einkopplung in das Messgerät. Ob ein laminarer, oder ein turbulentes Strömungsprofil vorliegt ist abhängig vom besagten Innendurchmesser, der Mediendichte (δ) -und Viskosität (dynamisch, η) sowie der verwendeten Flussgeschwindigkeit (v). Hieraus ergibt sich nach den ursprünglichen Ansätzen von Osborne Reynolds ^[O.Rey1] die Reynoldszahl (Re) der allgemeinen Literatur (PD.G2).

[T.Wat]

$$(PD.G2) \quad Re = \frac{\varrho v D}{\eta}$$

Für diese gilt in die Annahme, dass bei Werten von $Re < 2.300$ ein laminares Strömungsprofil und somit auch Knudsenzahlen entsprechend des effusiven Strahlprofils vorliegen. Bei Reynoldszahlen zwischen $2.300 < Re < 4.000$ ist ein vorherrschend turbulentes Strömungsprofil anzutreffen, wobei sowohl laminare, als auch turbulente Profile in diesem Bereich als instabil gelten. Entsprechend liefern Werte $Re > 4.000$ ein turbulentes Strömungsprofil ^{[Y.Pom1], [P.Man1]},

[D.Mox]

Die Annahme eines turbulenten Strömungsprofils, bei der Ausbildung eines Überschallstrahls und somit induzierter Kühlung der Moleküle ist hier naheliegend, da eine Turbulenz ebenfalls auf eine erhöhte Anzahl intramolekularer Stöße schließen lässt.

2.9.2.2. Der Überschallstrahl

Bei Knudsenzahlen $Kn \ll 1$ wird eine kleine mittlere freie Weglänge in Abhängigkeit der Austrittsöffnung und des somit entstehenden genannten turbulenten Strömungsprofils angenommen wobei resultierend die Ausbildung des Überschallstrahls durch die adiabatische Expansion des Gases in den Vakuumraum vorauszusetzen ist.

Die Ausbildung eines Überschallstrahls in o.g. Abhängigkeiten, lässt sich für die anzunehmende adiabatische Expansion des einzubringenden Analyt-Trägergasgemischs und die einfache Gegenüberstellung der jeweiligen Zustände (Vor -und nach der Expansion) ausgehend vom Energieerhaltungssatz für ideale Gase näherungsweise beschreiben. Grundlegend wird hier die Näherung getroffen, dass vor der Expansion des Gases keine Strömung auf der Druckseite der Düse vorliegt und somit der Term der kinetischen Energie der Totalenthalpie entfällt.

$$(PD.G3) \quad H_0 = H + \frac{1}{2}mv^2$$

Resultierend ergibt sich nach der Expansion eine maximale kinetische Energie bei minimaler Enthalpie (H). Da die Enthalpie direkt von der spezifischen Wärmekapazität (C_p), sowie der Temperatur abhängt ($H=C_p \cdot T$), ergibt sich also eine maximale kinetische Energie der Moleküle beim Erreichen einer minimalen Temperatur des expandierenden Gases.

Die maximal erreichbare Geschwindigkeit (v) ist in Verhältnis mit der Schallgeschwindigkeit der Umgebung (u) zu betrachten und ergibt so die Machzahl (M), wobei bei Machzahlen von >1 von einem Überschallstrahl gesprochen werden kann.

$$(PD.G4) \quad M = \frac{v}{u}$$

Die lokale Schallgeschwindigkeit des Mediums ist von der Temperatur, der Masse, sowie dem Verhältnis der Wärmekapazitäten bei konstantem Volumen bzw. konstantem Druck C_p / C_v (γ) abhängig und kann gemäß Gleichung (PD.G5) folgendermaßen dargestellt werden.

$$(PD.G5) \quad u = \sqrt{\frac{T k_B \gamma}{m}} \quad \text{wobei } k_B = C_p - C_v$$

Nach dem oben genannten Zusammenhang wird deutlich, dass eine hohe Machzahl sich positiv auf die Kühlung des Probengases auswirkt. Es ergibt sich der folgende Zusammenhang

durch umformen von Gleichung (PD.G5) in Übereinstimmung mit den Ausführungen zur lokalen Schallgeschwindigkeit aus (PD.G4)

$$(PD.G6) \quad \frac{T}{T_0} = \left(1 + \frac{k-1}{2} M^2\right)^{-1}$$

Über die Poisson-Gleichung ergibt sich der Zusammenhang der erreichbaren Temperatur- und Druckverhältnissen, wodurch eine hohe Machzahl und eine somit effektive Kühlung der Moleküle über eine Erhöhung von p_0 erwirkt werden kann. ^{[H.Kra1], [T.Wat]}

$$(PD.G7) \quad \frac{T}{T_0} = \left(\frac{p}{p_0}\right)^{k-1}$$

Im Gegensatz zur adiabatischen Expansion in den Vakuumraum eines einatomigen Gases, wie z.B.: Argon ergibt sich für die Einbringung eines mehratomigen Gases ein komplexerer Mechanismus entsprechend der zutreffenden, möglichen Umverteilung der Energie auf Vibrations- und Schwingungsfreiheitsgrade.

Hierbei ist eine Reduzierung des Kühleffektes T/T_0 durch den näher beschriebenen Zusammenhanges in (PD.G6) bzw. hier durch die Senkung des Adiabatenkoeffizienten (γ) bedingt. Durch eine entsprechend kleine Konzentration des Analyten bzw. einen massiven Überschuss an Trägergas (z.B.: Argon) kann dieser Effekt reduziert und somit eine effektive Kühlung der Analytmoleküle vorausgesetzt werden. Nähere Informationen zu diesem Thema lassen sich der zahlreich zu diesem Thema erschienenen Literatur, unter dem Stichwort "*seeded-beam*" entnehmen^[R.Cam1].

Zusätzlich liegt durch die genannte Expansion eine engere Verteilung der Molekülwolke vor, wodurch eine longitudinale Vergrößerung dieser, in Translationsrichtung durch das Messgerät verkleinert wird. Die entsprechenden Geschwindigkeitsverteilungen sowie das austretende Strahlprofil wurden schematisch in Abbildung (PD.A3) dargestellt.

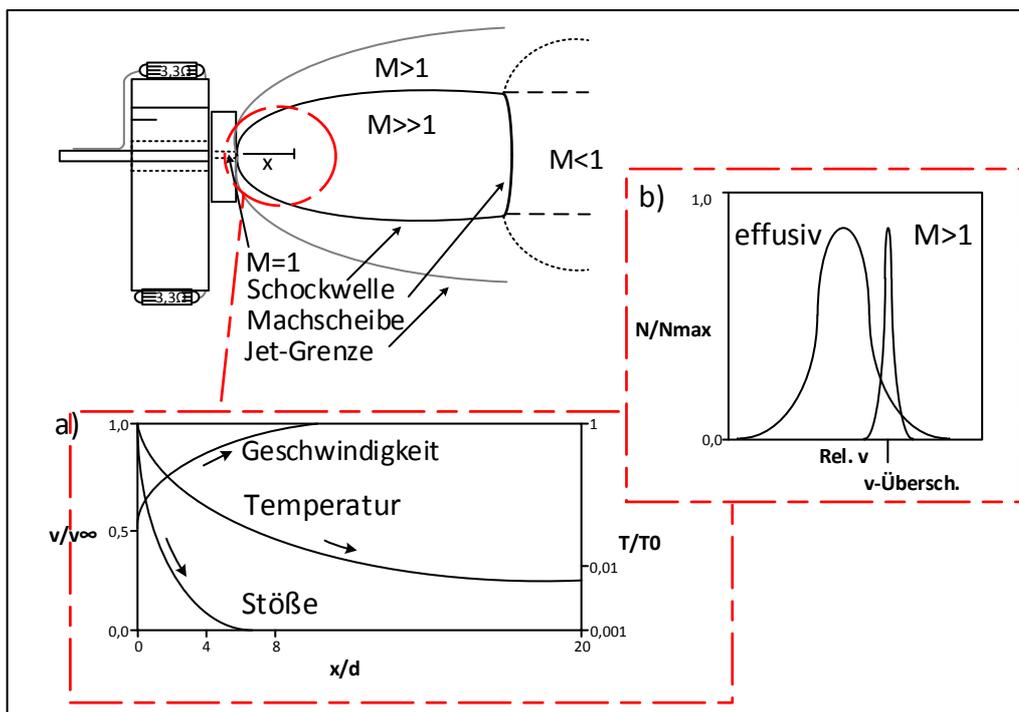


Abbildung (PD.A3): Schematische Darstellung des räumlichen und zeitlichen Strahlprofils und abh. zu den Umgebungsvariablen

Schematisch ist hier das Strahlprofil der Überschalldüse dargestellt. Erkennbar sind die Bereiche in welchen auf molekularer Ebene Überschall erreicht wird, sowie die Abgrenzungen zum Unterschallgeschwindigkeitsbereich und der Machscheibe. In Abb. Teilbereich a) wird schematisch der Zusammenhang zwischen dem Abstand zur Düse, der Temperatur und dementsprechenden intramolekularen Stößen veranschaulicht. Es ist erkennbar, dass sich die Stöße bei fortlaufender Expansion des Gases verringern und bereits in einer Entfernung von wenigen Pulsdüsendurchmessern keine Stöße mehr stattfinden und sich somit die Molekularstrahleigenschaften z.B.: Temperatur nicht mehr ändern. In Teilbereich b) dieser Abbildung werden die Geschwindigkeitsprofile in Abhängigkeit der Machzahl dargestellt. Es ergibt sich eine Abhängigkeit einer engeren Geschwindigkeitsverteilung der Moleküle des expandierten Gases zu zunehmender Machzahl. Die Machzahl ist bei dem verwendeten Aufbau von den Temperaturen, dem Eingangsdruck, der Molekülgröße dem Düsenquerschnitt und den jeweiligen Wärmekapazitäten abhängig

Auf die bereits genannte Notwendigkeit einer möglichst kleinen Molekülwolke, im Sinne der erzielbaren Auflösung des Massenspektrometers, wird zusätzlich im nachfolgenden Kapitel 0 Ionenoptik näher eingegangen.

2.10. Ionenoptik

Die verwendete Ionenoptik wurde schematisch in Abbildung (IO.A1) Ionenoptik dargestellt. Ebenfalls in dieser Abbildung dargestellt sind die herstellerbezogenen Dimensionsangaben der involvierten Bauteile. Die durch die Laserstrahlung erzeugten Ionen und Ionenfragmente werden durch das angelegte, homogene elektrische Feld (E_s) mit jeweils der gleichen Energie (in Abhängigkeit zur jeweiligen Ladung) beschleunigt. Durch die unterschiedlichen Massen/Ladungsverhältnisse (m/z) der beschleunigten Ionen, ergeben sich umgekehrt proportionale Flugzeiten (T_{Flug}) durch die Flugstrecke (L) für diese^[B.Mam1].

$$(IO.G1) \quad T_{Flug} \propto L \sqrt{\frac{m}{z \cdot E_s}}$$

Hieraus resultiert, dass Ionen mit kleinerem m/z eher auf den Detektor treffen, als größere. Die verwendete Ionenoptik teilt sich wie in der Literatur zur linearen Massenspektrometrie nach McLaren und Wiley in Repellerplatte und Gridelektrode, bzw. in zwei verschiedene Beschleunigungsbereiche (S,d) auf^{[W.Wil1], [H.Kat1]}.

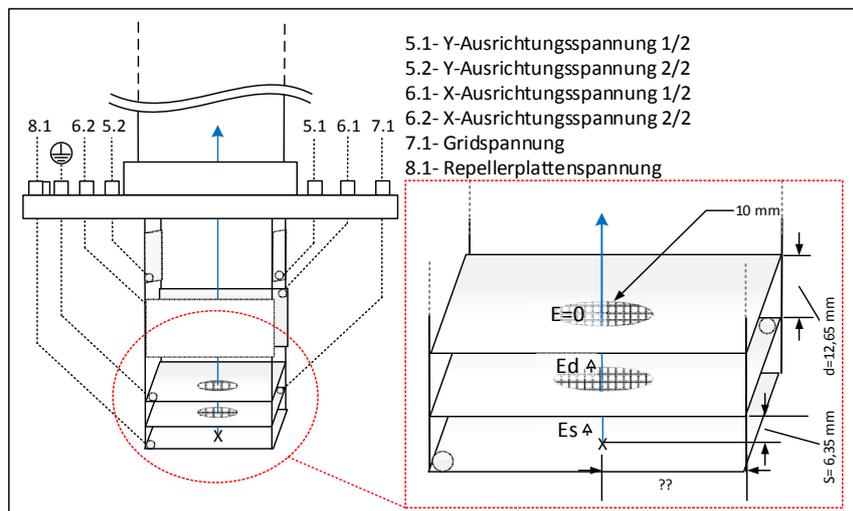


Abbildung (IO.A1): Schematische Darstellung der Ionenoptik

In aufsteigender, horizontaler Richtung sind die Repellerplatte zur Beschleunigung der generierten Ionen, die Gridelektrode zur Fokussierung der Ionen auf den Detektor und eine weitere, an Messe anliegende Elektrode dargestellt. Ebenfalls dargestellt sind die jeweiligen Abstände und Dimensionierungen der genannten Elektroden, sowie die jeweiligen Elektrodenpaare zur Ausrichtung der beschleunigten Ionen in x- und y-Richtung.

Die Auflösung (R) eines solchen Aufbaus ist mittels des R(50%)-Wertes definierbar, wobei sich hierbei auf die Trennbarkeit zweier verschiedener Massepeaks bei mittlerer Halbwertesbreite (FWHM)=50% der Peakhöhe berufen wird ^[R.Weil]

$$(IO.G2) \quad R(50\%) = \frac{m}{\Delta m(\text{FWHM})}$$

Aufgrund der Tatsache, dass der räumliche und zeitliche Querschnitt der Übertragung der Energie zur Ionisierung der Moleküle nicht beliebig klein gestaltbar ist, ergibt sich eine Entstehung von Ionen gleicher m/z an unterschiedlichen Orten innerhalb des Laserprofils und zu unterschiedlichen Zeiten während des Laserpulses ($\Delta T_{\Delta s}$). Die resultierenden, unterschiedlichen Ankunftszeiten gleicher m/z am Detektor nehmen so also negativen Einfluss auf die Massenauflösung des Massenspektrometers. Hieraus ergibt sich für die Definition der Trennbarkeit zweier Massen der folgender Zusammenhang ^{[W.Wil1], [H.Kat1]}.

$$(IO.G3) \quad \Delta T_{\Delta s} \leq T_{m+1} - T_m$$

Die Verwendung von zwei Beschleunigungsbereichen dient der räumlichen Fokussierung der Ionenwolke am Detektor und verbessert somit die Massenauflösung des Massenspektrometers. Hierbei werden Ionen aus unterschiedlicher vertikaler und horizontaler Lage zur Repellerplatte, unterschiedlich lange dem Beschleunigungsfeld) ausgesetzt, somit unterschiedlich stark beschleunigt und werden so an einem bestimmten Punkt fokussiert. Der Fokus (D) richtet sich wie in Gleichung (IO.G5) beschrieben nach dem Verhältnis der angelegten elektrischen Feld der Repeller- und Grid-elektrode (E_s, E_d) sowie nach den Abständen der jeweiligen Elektroden zueinander.

$$(IO.G4) \quad k_0 = \frac{s \cdot E_s + d \cdot E_d}{s \cdot E_s}$$

$$(IO.G5) \quad D = 2 \cdot s \sqrt{k_0^3} \left(1 - \frac{1}{k_0 + \sqrt{k_0^0 s_0}} d \right)$$

Die aus diesem Zusammenhang resultierende maximal voneinander trennbare Masse kann nach folgendermaßen bestimmt werden, wobei es sich bei Δs weiterhin um den Durchmesser des hier verwendeten Laserprofils handelt. ^[W.Wil1]

$$(IO.G6) \quad M_{max}^0 \triangleq 16 \cdot k_0 \left(\frac{s}{\Delta s} \right)$$

Die Ausrichtung der Ionen in horizontaler Richtung erfolgt durch die ebenfalls in Abbildung: Ionenoptik dargestellten Ausrichtungselektroden in X- und in Y-Richtung. Die Länge der verwendeten Driftstrecke konnte durch die in Tabelle IO.T1 experimentell bestimmten optimalen Spannungen und den entsprechenden Elektrodendimensionierungen für Indol (Mutterion, $m/z=117$)^[J.Pow1] und den obigen Gleichungen mit 115 cm verifiziert werden. Bei den verwendeten Spannungen wurde ein maximales Massensignal für Indol erzeugt. Auf den hierfür verwendeten Detektor wird nachfolgend näher eingegangen.

Tabelle (IO.T1): Darstellung der Beschleunigungs- und Fokussierparameter der verwendeten Ionenoptik

Ionisierung			
Laserwellenlänge	282,5		
Energie	Ca. 0,34 mJ		
	Spannungen	Elektrisches Feld (V/cm)	
Repellerplatte	-4,5 kV	Es ↑	~300
Gridelektrode	-375 V	Ed ↑	~7090
--	Berechnete Parameter		
k0	13		
D	115 cm		
M_{\max}^0	8323		

2.11. Detektion und Signalverstärkung

Bei dem verwendeten Detektor handelt es sich um einen Mikrokanalplatten-Detektor (*engl. Micro channel plates, MCP*). Dieser ist in seiner Grundfunktionsweise mit einem Sekundärelektronenvervielfacher (SEV) übereinstimmend, wobei sich jedoch bei der MCP zahlreiche SEV's auf bzw. in der MCP befinden. Mittels eines angelegten Spannungsgradienten von ca. 1kV zwischen der Vorder- und der Rückseite einer einzelnen MCP wird durch den im geringen Maße fließenden Strom durch das Halbleitermaterial, ein Potential bzw. homogenes elektrisches Feld innerhalb der einzelnen Kanäle der MCP generiert. Ein im Vakuum eintreffendes Ion ist so in der Lage ein Elektron aus der Wandung des MCP Kanals auszulösen, welches durch die hohe Feldstärke in Richtung des positiveren Endes beschleunigt wird. Durch erneutes Auftreffen auf der Wandung innerhalb der MCP, werden zusätzliche Elektronen generiert und in die gleiche Richtung beschleunigt. Die Funktionsweise von MCP-Detektoren wurde bereits in zahlreichen Literaturquellen beschrieben, dementsprechend wurde auf die Ausführung an dieser Stelle verzichtet und ausschließlich auf die technischen Details und Besonderheiten des hier verwendeten Detektoraufbaus eingegangen.

Die generierten Elektronen treffen nach dem Verlassen der MCP auf eine Anode. Diese wird für die standardmäßig als Keilelektrode aufgebaut um hier die entsprechende, für manche Applikationen, interessante orts aufgelöste Detektionsmöglichkeit der MCP nutzen zu können. [H.Ph01] In dem hier verwendeten Aufbau wird jedoch lediglich die Aussage über die detektierten Ionen pro Zeitintervall und somit generierter Anodenstrom/Zeit zur Auswertung verwendet. Mittels eines kommerziell erhältlichen Strom- Spannungswandlers wird das ausgehende Anodensignal verstärkt und an die Auswerteeinheit weitergegeben. In dem in Abbildung (IO.A2) dargestellten Detektoraufbau, wurden zwei, in Reihe geschaltete MCPs in Chevronanordnung verwendet. Durch die Verwendung von zwei MCPs werden mehr Elektronen in Bezug auf ein eintreffendes Ion generiert, wodurch das Signal/Rausch Verhältnis im Vergleich zu der Verwendung einer einfachen MCP verkleinert wird. Die angelegte Spannung liegt hier optimalerweise im Bereich von -4,5 kV rückseitig und bei ca. -4 kV vorderseitig der MCP. Die Widerstände der MCP's, gemessen unter atmosphärischen Druckbedingungen liegen beim genannten Detektoraufbau bei $\sim 145\text{M}\Omega/\text{MCP}$.

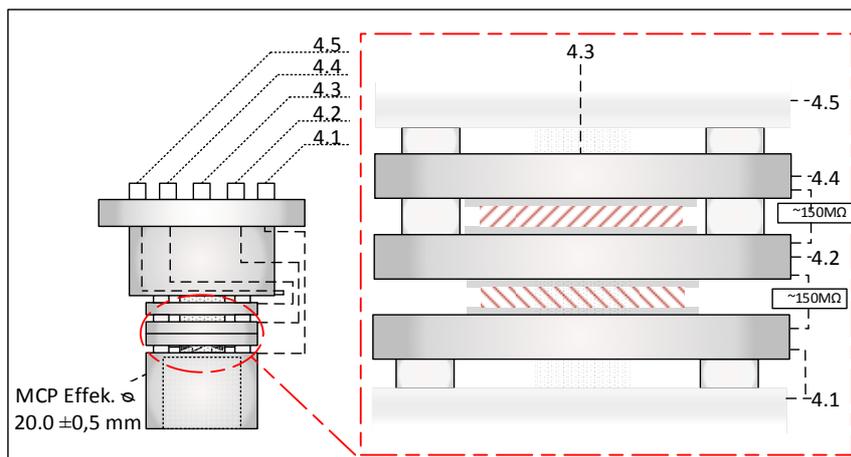


Abbildung (IO.A2): Schematische Darstellung des Detektors

Dargestellt wurde der MPC Detektor mit der chevronartigen Konfiguration der MCP Einheiten. Hierbei wird mittels einer Nachbeschleunigungsstrecke, die kinetische Energie der zu detektierenden Ionen erhöht und somit die Auslösung eines weiteren Elektrons aus der Detektoroberfläche vereinfacht.

Zusätzlich verfügt der hier verwendete Detektoraufbau über eine Nachbeschleunigungsstrecke. Durch eine Nachbeschleunigung der eintreffenden Ionen, kann deren kinetische Energie erhöht und somit die Auslösungswahrscheinlichkeit von Elektronen im Detektor erhöht werden. Dies wirkt sich ebenfalls positiv auf das bereits genannte Signal-Rausch Verhältnis aus, da ein entsprechend kleinerer MCP-Spannungsgradient verwendet werden kann. Zusätzlich verweilen langsamere Ionen einer Masse länger in dem angelegten, elektrischen Feld und werden so stärker beschleunigt. Dies wiederum kann sich positiv auf die erreichbare Massenauflösung des Systems auswirken, wobei dieser Effekt bei dem hier verwendeten Aufbau durch das Fehlen von entsprechenden Ringelektroden, zur Ausbildung eines notwendigen, gepulsten und abfallenden Feldes ^[G.Kin1] als vernachlässigbar zu betrachten ist.

2.12. Signale und Signalverarbeitung

Nachdem die entstandenen Ionen über die Ionenoptik beschleunigt und über den Detektor ein Signal erzeugt haben, wird dieses wie bereits erwähnt auf dem Oszilloskop in zeitlichen Bezug zur generierten Photodiodenspannung gesetzt, nachdem es zuvor über den verwendeten Strom-Spannungswandler verstärkt wurde. Mittels einer relativ schnellen IEEE(GPIB 488.2) Verbindung, werden diese Signale an den Mess-PC weitergegeben. Hier erfolgt die Auswertung über eine speziell entwickelte Software, welche durch den Arbeitskreis (AK Prof.Dr.Schmitt ehem. AK Prof.Dr Kleinermanns) erstellt und weiterentwickelt wurde^[A.Sch1] [C.Jac1] [M.Bus1]. Mittels dieser Software können sowohl die Signale, als auch die entsprechenden Kalibrationen der FCU's zur Gitterposition des Farbstofflasers und somit zur entsprechenden Wellenlänge durchgeführt und hinterlegt werden. Somit können die Messsignale des Detektors in Übereinstimmung mit der entsprechend verwendeten Wellenlänge gebracht werden und erlauben so eine wellenlängen- und flugzeitabhängige Auswertung des entstandenen Fragmentmusters der detektierten Ionen. Zusätzlich besteht die Möglichkeit durch den genannten Aufbau, spezifische Schwankungen des Messsignals, durch eine Mittelung der Messergebnisse vorzunehmen. Hierbei werden die Fragmentmuster bzw. deren Flugzeiten einer Wellenzahl, über einen gewissen Zeitraum zugeordnet, bevor die Gitterposition um ein Inkrement verschoben wird.

Die Gesamtheit der verwendeten, messgerätespezifischen Signalverläufe wurde in Abbildung (SG.A1) näher dargestellt. Hier werden sowohl die verwendeten Signalverläufe der statischen Spannungen der z.B.: Ionenoptik dargestellt, aber auch die entsprechenden 10Hz Signale zur Erzeugung der gasförmigen Neutralmolekülwolke, der Laserionisierung und der damit verbundenen Detektion und Referenzsignalerzeugung.

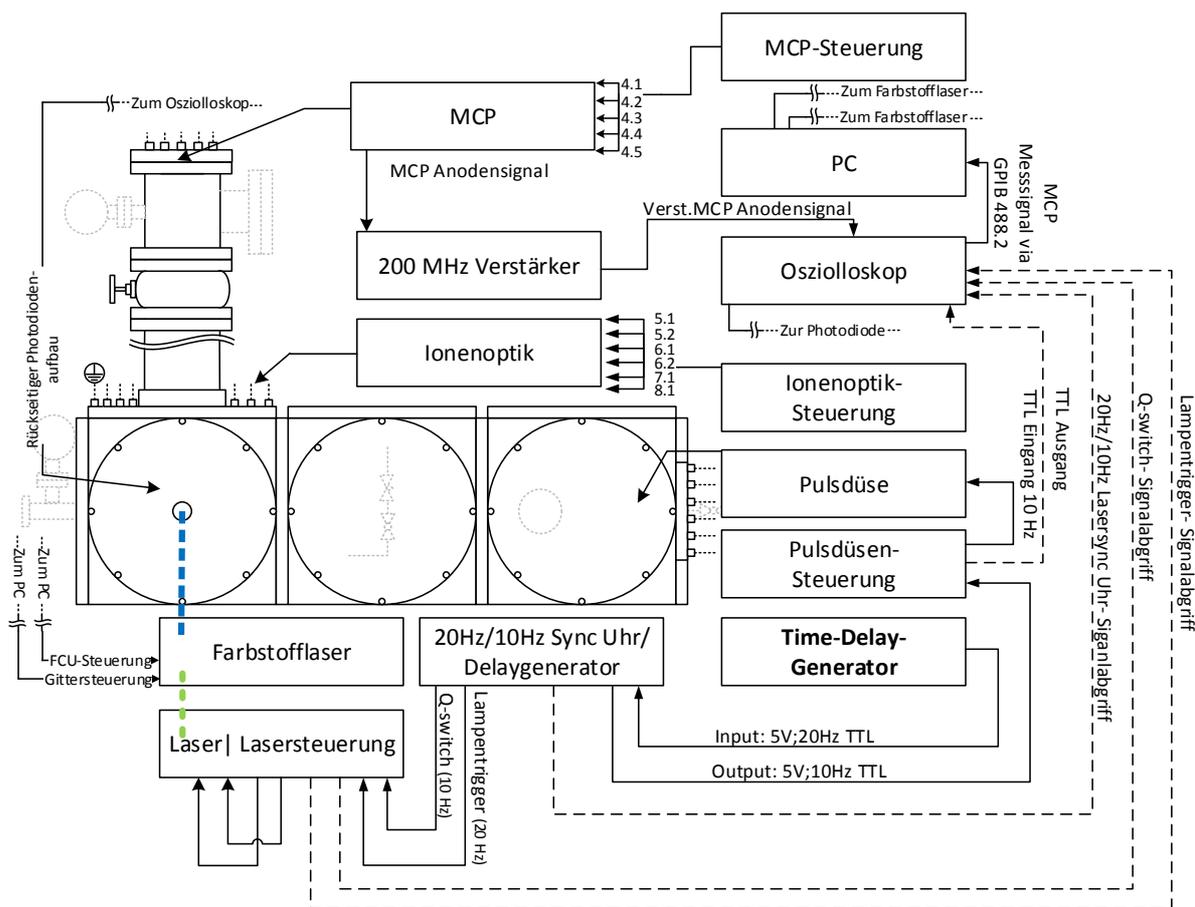


Abbildung (SG.A1): Darstellung der messgerätespezifischen Signalverläufe

Neben der schematischen Darstellung des Messgerätes sind hier die statischen, sowie die frequentierten Signalverläufe dargestellt. Beginnend beim Time-Delay Generator wird ein 10 Hz, 5V TTL-Signal vorgegeben. Einerseits wird die Pulsdüse angesteuert um zum Zeitpunkt der Laserexposition die Ionenwolke an der entsprechenden Position der Ionenoptik vorlegen zu können. Andererseits dient dieses Signal der Synchronisation der Blitzlampen(20Hz) -und Q-Switchsignale(10Hz), welche entsprechend zeitverzögert mittels eines 20Hz/10Hz Delaygenerator an die Lasersteuerelektronik weitergeleitet werden. Die generierte Laserstrahlung wird rückseitig der Messapparatur mittels einer Photodiode detektiert und an ein Oszilloskop weitergegeben. Dieses Signal dient als zeitliche Referenz zur Flugzeit, welche mittels der installierten MCP detektiert wird. Das Anodensignal der MCP wird mittels eines Strom-/Spannungswandlers verstärkt und ebenfalls mittels des Oszilloskops abgegriffen. Zur Synchronisation der jeweiligen Bauteile und somit zur Optimierung des Messsignals, dient das Oszilloskop als visuelles Hilfsmittel zur Darstellung der jeweiligen Ausgangssignale. Über eine IEEE(GPIB 488.2) Schnittstelle wird das Messsignal an einen Messrechner weitergegeben, über diesen ebenfalls die Kalibration der FCU's und die Arretierung der jeweiligen Gitterposition automatisiert vorgenommen werden kann.

Um zu gewährleisten, dass sowohl die Neutalmoleküle als auch die entsprechende Laserstrahlung mit einer Taktung von 10 Hertz (Hz) zum gleichen Zeitpunkt im Mittelpunkt der Ionenoptik eintreffen, bedarf es einer Synchronisierung der verwendeten Triggerzeiten für das Lasersystem (Blitzlampe und Q-Switch), der Pulsdüse, sowie der Steuereinheiten. Auf diese

wird nachfolgend näher eingegangen, wobei hier ausschließlich Argon als Trägergas verwendet wurde und somit auch die ermittelten Zeiten der Flug Geschwindigkeit von Argon im Vakuum zugrunde liegen.

2.12.1. System-Synchronisierung

In Übereinstimmung mit den Ausführungen aus Kapitel 2.5.2 (Der Überschallstrahl) ergibt sich eine Abhängigkeit der erreichbaren Fluggeschwindigkeit zum verwendeten Trägergas durch den Zusammenhang der entsprechenden Wärmeleitfähigkeitskoeffizienten und der damit verknüpften Adiabatenkoeffizienten^[K.Jou2]

$$(SG.G1) \quad c_w = \sqrt{\frac{2RT}{M}}$$

Exemplarisch ergibt sich für Argon nach diesem Zusammenhang eine mittlere Geschwindigkeit im Vakuum von $\sim 400 \text{ms}^{-1}$ und für Helium $\sim 1.750 \text{ms}^{-1}$ ^[K.Jou1].

Für den hier beschriebenen Aufbau wurden die entsprechenden Synchronisationszeiten der involvierten Bauteile, unter Verwendung von Argon als Trägergas und Indol als Analyt, unter der Einkopplung unter Raumtemperatur (RT) ermittelt.

Entsprechend der Abbildung (SG.A2) wurden die messgerätespezifischen Signalharmonisierungen dargestellt, wie Blitzlampen ($t_{L-Flash}$)- und Q-Switchtrigger ($t_{LQ-Switch}$), sowie Initiationstrigger (t_0) und schematisch der Pulsdüsenöffnungsvorgang aus Kapitel 0 (*Ermittlung der Öffnungs- und Verschlusszeiten*)

Hierbei wurde das erzeugte Detektormesssignal experimentell maximiert. Die dargestellten Zeiten ergeben sich in Abhängigkeit des Düsentriggers und einer damit zusammenhängenden Molekülflugzeit bis zum Zentrum der Ionenoptik, von $846 \mu\text{s}$ nach vollständiger Öffnung der Pulsdüse bzw. von $1156 \mu\text{s}$ nach Erzeugung des Initiationstriggers ausgehend an die Steuereinheit der Pulsdüse. Die entstehende Differenz zwischen Initiationstrigger und letztendlicher Öffnung der Pulsdüse, wurde bereits in *Kapitel 2.5 (Die Pulsdüse)* näher beleuchtet. Die Differenz zwischen Initiationstrigger, des Farbstofflaserpumpvorganges, Zurücklegung der Distanz zum Messgerät und der Laserexposition, wurde in Abbildung (SG.A2) nicht näher ausgeführt, liegt jedoch in Summe bei einigen 100ns. Für die Ermittlung der internen Flugzeit wurde die Reaktion der geräterückseitigen Photodiode gewählt, wodurch die genannten laserspezifischen Verzögerungszeiten vernachlässigt werden können.

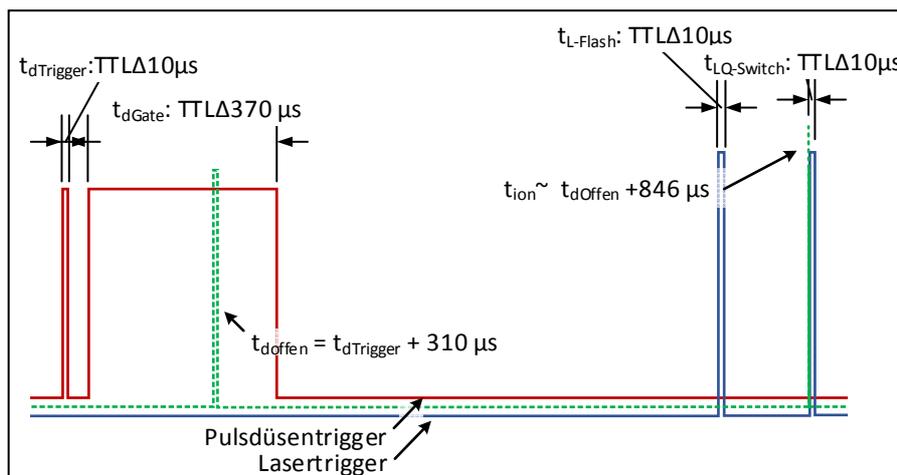


Abbildung SG.A2: Darstellung der messgerätespezifischen Synchronisationszeiten für Argon/Indol

Ausgehend vom Initiationstrigger ($t_{dTrigger}$) wird nach der Steuerungsabhängigen Verzögerungszeit im T_{dGate} die Pulsdüse geöffnet (t_{doffen}), wodurch mithilfe eines Überschallstrahls das Analyt/Trägergas in das Messgerät koexpandiert wird. Abhängig von der von der Fluggeschwindigkeit der Analytmoleküle und der Entfernung zur Ionenoptik ergibt sich eine messgeräteeinterne Flugzeit für Indol von $846 \mu s$ nach vollständiger Öffnung der Pulsdüse bzw. von $1156 \mu s$ nach Erzeugung des Initiationstriggers ausgehend an die Steuereinheit der Pulsdüse. Die entsprechenden Synchronisationszeiten für die Blitzlampen und den Q-Switch werden in dieser Darstellung als $t_{L-Flash}$ und $t_{LQ-Switch}$ bezeichnet

2.13. Apparative Abgrenzungen zum verwendeten Messaufbau des FELIX- Institutes

Apparative Unterschiede zwischen dem vorab Erläuterten und dem für die Messungen verwendeten experimentellen Aufbau, lassen sich im Bereich der Einlasssystems, in weiteren Maßnahmen zur Verbesserung der Massenauflösung des Detektionsaufbaus, sowie speziellen experimentspezifischen Komponenten finden. Nachfolgend werden neben den bereits erfolgten grundlegenden, theoretischen Ausführungen dieser Systembestandteile, auf die technischen Aspekte der Komponenten Stellung genommen.

Um Analyten in die Gasphase zu überführen besteht wie genannt die Möglichkeit, mittels thermischer Behandlung den notwendigen Gasdruck der Analytsubstanz zu erzeugen. Ausgehend von diesem Zustand kann dann die Einkopplung mittels des in Abschnitt „Die Pulsdüse“ beschriebenen Überschallstrahlbaus und dem entsprechendem Trägergas erfolgen. Abgrenzend zu der dargestellten Möglichkeit, die Analytmoleküle mittels der Co-Expansion herunter zu kühlen, findet im verwendeten Aufbau der hier durchgeführten experimentellen Versuche die Kühlung nicht über diesen Weg statt. In dem hier gewählten Aufbau wird nachfolgend

technisch dargestellt, eine Einbringung der Analytmoleküle in den Vakuumraum mittels Laser-desorption realisiert. Abgrenzend zu der bisher Dargestellten Methode treffen die gasförmigen Analytmoleküle erst nach der Expansion des Trägergases auf dieses^[M.Vri]. Es erfolgt also die effektive Kühlung der Moleküle über Stöße mit dem Trägergas, welches nach der Überführung der Analytmoleküle in die Gasphase auf dieses trifft und orthogonal beschleunigt. Ein entsprechendes, richtiges Timing ist hierfür obligatorisch

Aus der massenspektrometrischen Analytik von biologischem Probenmaterial ist bekannt, dass selbst in kurzkettigen Peptiden bei der thermischen Behandlung bereits Fragmentierungen oder Umlagerungen stattfinden können, da diese hohen Temperaturen zur Ausbildung des notwendigen Gasdrucks benötigt werden. Hierdurch erweist sich die bisherige Einkopplungsmethode des o.g. Messaufbaus als nicht bzw. nur partiell geeignet.

Wie bereits einführend zu dieser Arbeit erläutert, stehen alternative Einkopplungsmethoden für Peptide zur Verfügung. Bei dem für die Messungen verwendeten Messaufbau wurde sich aufgrund der aus der Literatur bekannten, guten Eignung von Desorption mittels verhältnismäßig geringer Laserenergie beschränkt, welche nachfolgend apparativ noch näher dargestellt wird. Zusätzlich besteht durch den verwendeten Desorptionsaufbau die Möglichkeit, die genannten und notwendigen Vorzüge z.B.: im Sinne der gerichteten Analyt Translation der Überschallstrahldüse zu nutzen.

Neben der alternativen Einbringung der Analytsubstanz, werden nachfolgend die weiteren Ergänzungen zum experimentellen Aufbau der in den vorherigen Kapiteln beschriebenen Messapparatur näher erläutert. Im Fokus stehen hier die experimentellen Grundbedingungen zur Untersuchung der Schwingungszustände des elektronischen Grundzustandes (S_0) von ausgewählten Peptiden und eine durch vorherige Population dieser Zustände induzierte Beeinflussung des Fragmentierungsmusters, bei anschließender nicht resonanter Photodissoziation der Analytmoleküle. Um eine vollständige Population der entsprechenden Schwingungszustände zu forcieren, ist eine konstante und hohe Exposition mit einem durchstimmbaren fern-infraroten Profil unerlässlich. Um diese zur Verfügung zu stellen, wurden wie einleitend zu dieser Arbeit erläutert, die Untersuchungen der Schwingungsgrundzustände, am FEL der Radboud Universität in Nijmegen (Niederlande) des Institutes für freie Elektronen-Laser infrarot Experimente (FELIX) durchgeführt.

Nachfolgend werden auch die technischen Unterschiede des vorab diskutierten und den für die Untersuchung der kurzkettigen Peptide verwendeten Aufbau näher erläutert.

2.13.1. Reflektron im FELIX Aufbau

Eine weitere Möglichkeit, um die Auflösung maßgeblich zu verbessern, stellt der Einsatz eines Reflektrons innerhalb der Ionenflugstrecke dar. Entgegen des vorab beschriebenen Aufbaus, wurde für die in dieser Dissertation durchgeführten Messungen des FELIX Labors unter Zuhilfenahme eines Reflektronaufbaus durchgeführt. Wie bereits im Kapitel „Detektion und Signalverarbeitung“ erwähnt, besteht ein auslösungslimitierender Zusammenhang zwischen dem eingebrachten Laserprofil und der damit verbundenen, räumlich unterschiedlichen Position der entstehenden Ionen. Durch die mögliche unterschiedliche "Startposition" gleicher Massen, werden die durch die Strahlung entstandenen Ionen auch zu unterschiedlich stark beschleunigt und impliziert so zeitverzögerte Ankunft am Detektor. Durch den Einsatz von elektrischen Linsen, mit in Flugrichtung ansteigendem induzierten elektromagnetischen Feld kann nun der Effekt der unterschiedlich stark beschleunigten Ionen ausgeglichen werden. Die Ionen mit der größeren kinetischen Energie sind somit in der Lage, weiter in das Reflektron einzudringen, bevor das herrschende Feld die Ionen vollständig abbremst und invers beschleunigt. Die nun längere Flugstrecke ins Reflektron, im Vergleich zum weiter hinten gestarteten Ion an der Startposition, wurde somit ausgeglichen. Dargestellt wird dieser Ablauf schematisch in Abbildung RT.A1^[R.Weid].

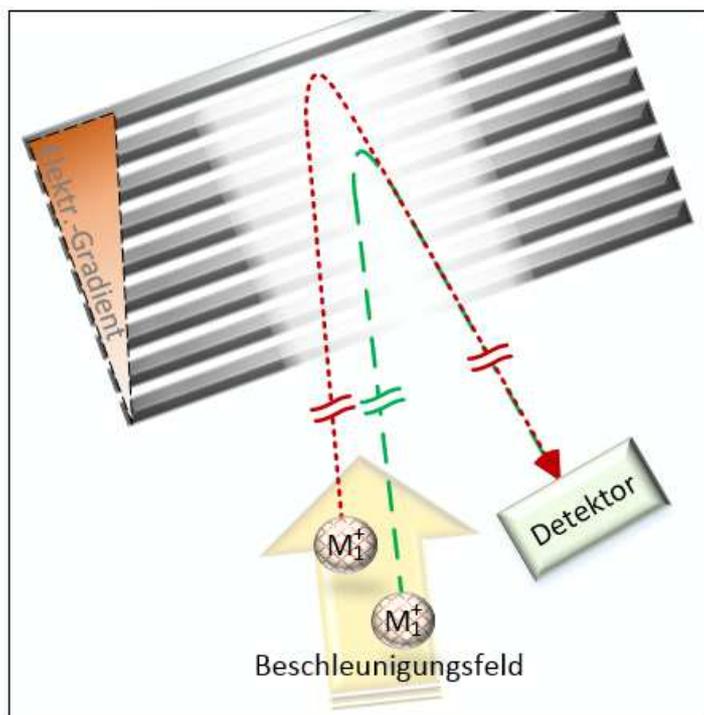


Abbildung (RT.A1): Reflektor

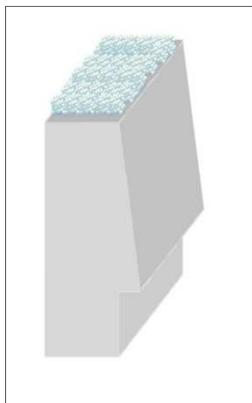
Die an unterschiedlicher Startposition startenden Ionen dringen aufgrund ihrer unterschiedlichen Geschwindigkeit am Ende der Flugstrecke unterschiedlich weit in das in Flugstrecken-Richtung ansteigende, elektrische Feld ein und werden invers wieder aus dem Reflektor beschleunigt. Unterschiedliche Startpositionen werden durch die unterschiedliche Eindringtiefe in das Reflektor und somit auch durch die unterschiedlichen Flugzeitfenster nun wieder ausgeglichen.

2.13.2. Desorption im FELIX Aufbau

Im Kapitel der theoretischen Grundlagen wurde bereits auf die Notwendigkeit einer alternativen Einkopplungsmethode für thermisch sensitive Probenmaterialien eingegangen. Durch die Verwendung eines Desorptionsaufbaus werden die Analyten mithilfe von Graphitpulver (Handelsbezeichnung: Carbon black) Matrixmaterials und der Verwendung einer Anregungswellenlänge von 1064 nm und 1-2 mJ Desorptionsenergie in den gasförmigen Zustand überführt siehe Abbildung (DB.A2) . Anschließend werden die neutralen Moleküle mithilfe eines Überschallstrahls gekühlt und zu einer wie bereits beschriebenen, baugleichen Ionoptik transportiert.

2.13.2.1. Probenvorbereitung und Aufbau

Einige Milligramm der in die Gasphase zu überführenden Substanz werden mithilfe eines Mörsers im Verhältnis (3:1) mit Graphitpulver verrieben. Ein Probenträger aus Graphit, wie in Ab-



bildung DB.A1 schematisch dargestellt, mithilfe von Schleifpapier für die Probenaufnahme vorbereitet. Mithilfe kreisförmiger Bewegungen über das homogene Stoffgemisch gleichmäßig auf den Probenträger aufgebracht.

Durch einen entsprechenden Probenträger-halter, wird die Probe in die Messapparatur eingebracht. Nach der Justage des Desorptionslasers und Synchronisierung der Pulsdüse in horizontaler Richtung, wird über eine Vertikaljustage des Probenträgers ein maximales Messsignal erzeugt.

Abb.: DB.A1:Probenthalter

Um eine konstante Überführung der Probe in die Gasphase

während des Messvorganges zu gewährleisten, wird anschließend mithilfe eines Schrittmotors die Probenträgerposition sukzessive verschoben. Ein Probenwechsel erfolgte bei durchgehendem Messbetrieb nach ca. 45-50 Minuten.

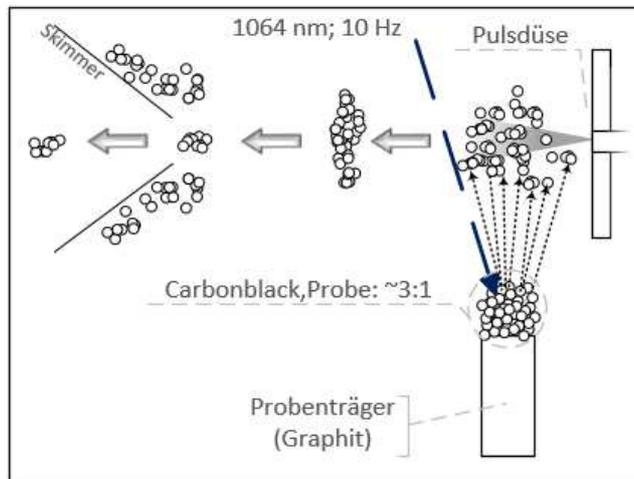


Abbildung DB.A2: Schematischer Desorptionsvorgang

Das Stoffgemisch aus Graphit und Probenmaterial (3:1) wird mittels einer Halterung unterhalb der Pulsdüsenöffnung positioniert. Mithilfe von 2-3 mJ der Nd-YAG Strahlung wird die in Graphit eingebettete Probe in den gasförmigen Zustand überführt und mithilfe der Pulsdüse zur Ionenoptik transportiert.

Die in die Gasphase überführten Analyt Moleküle werden mithilfe des Überschallstrahls zur Ionenoptik transportiert. Die durchgeführten Untersuchungen zur Ermittlung der elektronischen Lage der Schwingungszustände, wird einerseits durch den FELIX-Laser und zusätzlich mithilfe einer Exposition mit 118 nm VUV Laserlicht durchgeführt. Durch die Exposition mit VUV wird eine nicht resonante Überführung der Analytmoleküle in den Ionisierten Zustand hervorgerufen (Desorption/Ionisation) und die Lage der elektronischen Schwingungszustände über detektierte Ionenintensitäten ermittelt.

2.13.3. Higher Harmonic Generation im FELIX Aufbau

Die für diese Experimente notwendige Erzeugung der 118 nm Strahlung (die neunte harmonische des Nd-YAG), wurde mithilfe der 3. Harmonischen (355 nm) eines Nd-YAG Lasers (Fundamentale Wellenlänge: 1064 nm) erzeugt. Hierbei wird die zweite und dritte Harmonische intern im verwendeten Lasersystem generiert, wobei auf diesen Prozess der in der Literatur^[W.Dem] beschriebenen Frequenzverdopplung über doppelbrechende Kristalle an dieser Stelle nicht weiter eingegangen wird. Nachfolgend wird die durch Frequenzverdreifung generierte 355 nm Strahlung in eine 18 cm lange Gaszelle geleitet, in welcher ein Gemisch aus Xe und Ar (1:10; 200 mbar) vorgelegt wurde. Damit die Verdreifung halbwegs effizient funktioniert, müssen die Brechungsindizes des Gasgemisches für 355 nm und 118 nm gleich sein, da sonst die beiden Wellen längs des Strahls in der Gaszelle aus der Phase laufen, was zu einer Wiederauslöschung des 118 nm Strahls führen würde. Während dies in doppelbrechenden Kristallen mit Hilfe der zwei Brechungsindizes in zwei verschiedenen Kristallrichtungen erreicht werden kann, ist das in Edelgasen normalerweise unmöglich: Der Brechungsindex steigt normalerweise im Edelgas monoton mit der Frequenz. Hilfreich ist hier der in der Literatur beschriebene für drei Photonen der Wellenlänge 355 nm nahezu resonante Übergang des Xenon (5p-5d) der dazu führt, dass hinter der Resonanz (also zu höheren Frequenzen) in Xe der Brechungsindex für 118 nm kleiner ist als für 355 nm. Für das Ar ist der Brechungsindex für 118 nm aber größer als für 355 nm. Durch ein geeignetes Mischungsverhältnis von Ar und Xe kann nun im Gasgemisch die Gleichheit der Brechungsindizes für 355 nm und 118 nm erreicht werden. ^{[N.Loc1][J.Rei]}

Es gilt zu erwähnen, dass im Allgemeinen durch die geringere Teilchendichte und nicht vorhandene Gitterstruktur im Gas, die Effektivität wesentlich geringer als die Frequenzvervielfachung durch Festkörper ausfällt ^[W.Dem]. Diese liegt im Allgemeinen für den gesamten Prozess der VUV Erzeugung bei ca. 10^{-7} %. Die technische Durchführung der Erzeugung von Photonen mit 10,5 eV durch die Einbringung von 355 nm Strahlung geht neben den Ausführungen von Kung und Young ^[A.Kun1] zusätzlich auf die Veröffentlichungen von Zych und Bjorklund zurück ^{[L.Zyc1], [G.Bjo1]}.

Die Gaszelle ist wie in Abbildung GZ.A1 schematisch dargestellt durch eine Vakuumpumpe bis auf 200 mbara evakuierbar und wurde im Sinne der erforderlichen Strahlungstransmission an der Ein- und Ausgangsseite mit CaF Linsen ausgestattet. Durch das unterschiedliche Maß der Brechung der Strahlung an den Linsen, kann gemäß der obigen, in der Literatur erwähnten Ausführung, die erzeugte 118 nm Strahlung von der verbliebenen 355 nm Strahlung separiert - und zusammen mit der IR-Strahlung in den Zentralbereich der Ionenoptik bzw. der Ionenwolke justiert werden. Die Erzeugung der 118 nm Strahlung wurde hierbei mit einer

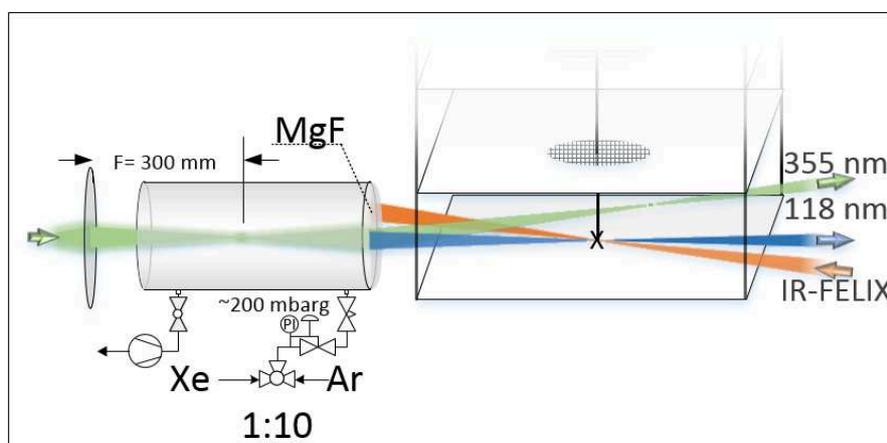


Abbildung GZ.A1: Schematische Darstellung des Gaszellenaufbaus

Strahlung der 3. Harmonischen eines Nd-YAG Lasers wird eine Gaszelle ausgelentkt bzw. mithilfe einer Linse fokussiert. Durch ein Gasgemisch (1:10 ; Xe:Ar) wird Strahlung mit der Wellenlänge 118 nm erzeugt. Die verbliebene 355 nm Strahlung wird aufgrund der verwendeten CaF-Linse aus dem Zentralbereich der Ionenoptik abgelenkt werden.

Die vorliegenden experimentellen Ergebnisse wurden aufgrund der Nutzbarkeit des FEL sowie der hier vorhandenen Desorptionseinheit an der vorhandenen Apparatur zur Mehrphotonenionisierung des „*FELIX Laboratory at Radboud University*“ angefertigt. Aufgrund der Sensitivität der verwendeten Analytmoleküle gegenüber der thermischen Überführung in

den gasförmigen Zustand, konnten für die hier durchgeführten Analysen, die Desorptionseinheit des Messaufbaus des FELIX Instituts genutzt werden. Aufgrund der hohen verfügbaren Photonenzahl pro Laserschuss im IR-Spektralbereich, bezogen auf eine Pulslänge von bis zu 6 ps des FEL des FELIX Institutes, werden die Vorzüge der hier durchgeführten Messungen nochmals verdeutlicht. Im Zuge dieser Dissertation wurde zusätzlich ein Messgerät mit der Möglichkeit der Einkopplung von flüssigen und festen Analyten in einen Vakuumraum, unter Zuhilfenahme einer Überschallstrahldüse in der physikalischen Chemie I, AK Schmitt, der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf in Betrieb genommen und modifiziert. Nachfolgend wird dieser Messaufbau näher erläutert und die einzelnen Bauteile näher dargestellt. Aufgrund eines fehlenden, passenden Lasersystems und Softwareanbindung, konnte der Messaufbau nach der Fertigstellung lediglich auf seine Funktionalität überprüft werden. Anschließend werden im nachfolgendem Kapitel die funktionellen Unterschiede zum verwendeten Messaufbau im FELIX-Institut und dem genannten Messaufbau der Heinrich-Heine-Universität gegenübergestellt

2.14. Experimentelle Durchführung der Messungen am FELIX

Zur Erstellung der experimentellen Daten wurde gemäß des vorab erläuterten Geräteaufbaus die Probe und Peripherie vorbereitet und die genannten Lasersysteme zur Molekülwolke justiert. Nach Erreichen eines maximalen Muttermassesignals durch die Kopplung der Laserquelle für nicht resonante Ionisierung, wurde zusätzlich die FELIX-Quelle entsprechend einer maximalen Abnahme des Massesignals, bei Erreichen eines resonanten Schwingungszustandes justiert. Die Aufnahme des Spektrums erfolgte durch die Aufzeichnung der mit 10 Hz generierten Mutterionen und der zugehörigen, mit 5 Hz eingekoppelten Energie des FEL. Pro Messpunkt wurden so jeweils 5 Aufnahmen mit und ohne FELIX-Einkopplung erzeugt, bevor der FEL um 2 Wellenzahlen (cm^{-1}) im Falle von Gly-Gly im Bereich von 564 und 1820 cm^{-1} und bei der Vermessung von Ala-Ala von 625 bis 1833 cm^{-1} spektral verschoben wurde. Zusätzlich wurde zu jedem Messpunkt die aktuell vorliegenden Energien des FEL aufgezeichnet, welche zur manuellen Normierung der Messwerte herangezogen wurden.

3. Darstellung, Aufbereitung und Diskussion der Ergebnisse

Im Zuge der hier durchgeführten Datenaufbereitung für Ala-Ala und Gly-Gly, wurde bei der Auswertung der nachfolgenden Berechnungsergebnisse, ebenfalls die notwendige Anzahl der jeweilig involvierten Photonen abgeschätzt. Im Allgemeinen liegen die notwendigen Dissoziationsenergien bei organischen Molekülen bei ca. 2 -7 eV^[W.Dem1]. In dem hier betrachteten Fall wurden für den Analyten Gly-Gly und Ala-Ala, mittels der theoretischen Berechnungen, notwendige Dissoziationsenergien von 3,39 eV und 3,52 eV berechnet. Durch die experimentelle Vorgehensweise, werden in Abhängigkeit der verwendeten FELIX Wellenzahl, unterschiedliche Photonenzahlen zum Erreichen der Dissoziationsschwelle benötigt. Die jeweilig im experimentellen Verlauf benötigten Photonenzahlen wurden für die untersuchten Substanzen in Tabelle DA.T1 abgeschätzt.

Tabelle (DA.T1): Abschätzung der notwendigen Photonenzahl im experimentellen Verlauf

In dieser Tabelle wird das abgeschätzte Verhältnis zwischen experimentellem Wellenzahlverlauf und der analytspezifischen Photonenzahl, zum Erreichen der Dissoziationschwelle dargestellt. Hierbei wird im Fall von Ala-Ala und Gly-Gly von einer notwendigen Dissoziationsenergie von 3,39 bzw. 3,53 eV und einer Energie von $1,239 \cdot 10^{-4}$ eV/cm⁻¹ ausgegangen^[F.Weil]

Wellenzahl [cm-1]	600	800	1000	1200	1400	1600	1800
Gly-Gly [Ph.Z]	46	35	28	23	20	18	16
Ala-Ala [Ph.Z]	48	39	29	24	21	18	16

Im apparativen Teil dieser Arbeit wurde bereits im Abschnitt des FELIX, auf die Notwendigkeit einer hohen Photonendichte pro Laserpuls eingegangen, um hier eine optimale resultierende Signalintensität und somit vergleichbare Ergebnisse im Messverlauf zu gewährleisten. Ausgenommen anderer möglicher Fragmentierungspfade, wurden beim Analyt Gly-Gly der Dissoziationskanal der atomaren Masseneinheit (amu) 102 u und 30 u dominierend vorgefunden. Im Fall der Struktur Ala-Ala wurde dieser bei 44 u und 116 u beobachtet. Entsprechend der Definition nach Roepstorff und Fohlman handelt es sich in beiden Fällen um die Fragmente A1 bzw. X1^[R.Oep1]. Im Kapitel in Bezug zu den relativen Zustandsdichten wird nachfolgend erneut Bezug auf die hier erwähnten Fragmente genommen, da die hier erwähnten Fragmente bei der Durchführung des Experimentes entgegen der Vermutung stehen, dass der beobachtete Intensitätsverlust in Richtung absteigender Wellenzahl, für eine nicht ausreichende Photonenzahl stehen könnte.

Aus den experimentellen und theoretischen Daten ergeben sich Zusammenhänge, welche nachfolgend dargestellt und diskutiert werden. Hierbei sind ebenfalls Literaturdaten Vergleiche zu ziehen, bzw. diese den hier gewonnenen Ergebnissen gegenüberzustellen. Um eine Vergleichbarkeit der hier gewonnenen Daten praktikabel zu gestalten, werden die Ergebnisse nachfolgend aufbereitet und dargestellt.

3.3. Experimentelle Datenanalyse

Im Zuge der experimentellen Vermessung von Gly-Gly und Ala-Ala, ergab die Bestimmung von Ala-Ala das in Abbildung ED.A1 dargestellte Spektrum und für Gly-Gly das aus Abbildung ED.A2. Die Rohdaten der Messung (unter Verwendung des FELIX) wurden hierbei bereits durch die zum jeweiligen Zeitpunkt vorhandene Intensität des FELIX normiert, dieser Vorgang wird hier nicht explizit ausgeführt. Zur Erstellung dieser Spektren wurden jeweils wie in der Durchführung geschildert alternierend Daten unter Einwirkung des FEL und ohne dessen Einwirkung aufgezeichnet. Die Daten ohne FEL liefern somit den Hintergrund des Muttermassenpeaks. Diese Prozedur ist für diese Art der Messungen zwingend erforderlich, da sowohl die verwendete Pulsdüse in ihrer Funktion Varianzen in Bezug auf das Strahlprofil aufweisen könnte oder der verwendete Probenträger kleinere Inhomogenitäten in Bezug auf Füllmaterial/Probe nicht ausschließt. Neben diesem Einfluss unterliegen auch die Lasersysteme gewissen, kleineren Schwankungen, was sich wiederum auf die Intensität des durch den Detektor dargestellte Intensität des Muttermassensignals auswirken könnte. Durch die Tatsache, dass elektronische Komponenten ebenfalls gewissen Spezifikationen unterliegen und somit in deren Performance limitiert sind, ergeben sich auch für die Synchronizität der involvierten Signale entsprechende, sehr geringe Variationsmöglichkeiten. Dies könnte beispielsweise zu einer minimal verzögert eintreffenden Molekülwolke am Ionisierungsort führen. Somit ist neben den alternierend aufgezeichneten Messungen zwischen der Einwirkung des FELIX und ohne dessen Einwirkung, die Aufzeichnung mehrerer Datensätze obligatorisch und entspricht hier ebenfalls der üblichen wissenschaftlichen Praxis.

Einen weiteren Aspekt aus dem Segment der üblichen wissenschaftlichen Praxis, stellt die Überwachung der Systemparameter während der Analyse dar. Im Speziellen bezieht sich diese Aussage auf den Systemdruck bzw. Vakuum, die gleichmäßige Bewegung des Probenträgers, statische Druckbedingungen eingehend zur Pulsdüse, Funktion der verwendeten Gaszelle,

Aufzeichnungselektronik, sowie die Beobachtung der Laserintensitäten des Desorptions-, des YAG-Pumplasers und des freien Elektronen-Lasers.

Die in Abbildung ED.A1 und ED.A2 gezeigten Spektren stellen wie bezeichnet, jeweils den Mittelwert der Mehrfachbestimmung dar, welche zur jeweiligen Wellenzahl aufgezeichnet wurden. Hierbei sind in dieser Darstellung die beiden wellenlängenabhängigen Graphen zur Veranschaulichung in einer Grafik dargestellt, wobei die Darstellung ED.A1 für den Verlauf der Messungen von Gly-Gly und Abbildung ED.A2 für die der Messung des Moleküls Ala-Ala stehen. Ebenfalls werden in den gezeigten Darstellungen die entsprechenden Bereiche visuell dargestellt, welche aufgrund von Leistungseinbrüchen des Nd-YAG Lasers aus den nachfolgenden Darstellungen der Gesamtspektren entnommen wurden (siehe ED.A3 und ED.A4). Zusätzlich ist in Bezug auf die Subtraktion der beiden gezeigten Auszeichnungen mit und ohne FEL Exposition zu nennen, dass bei der Subtraktion und der Erstellung der Darstellungen ED.A3 und ED.A4 ein Schwellenwert zur Reduzierung entsprechender Unregelmäßigkeiten eingebracht wurde. Diese Unregelmäßigkeiten lassen sich wie bereits erwähnt auf kurzzeitige Phänomene, wie z.B.: schwankende Laserenergien zurückführen.

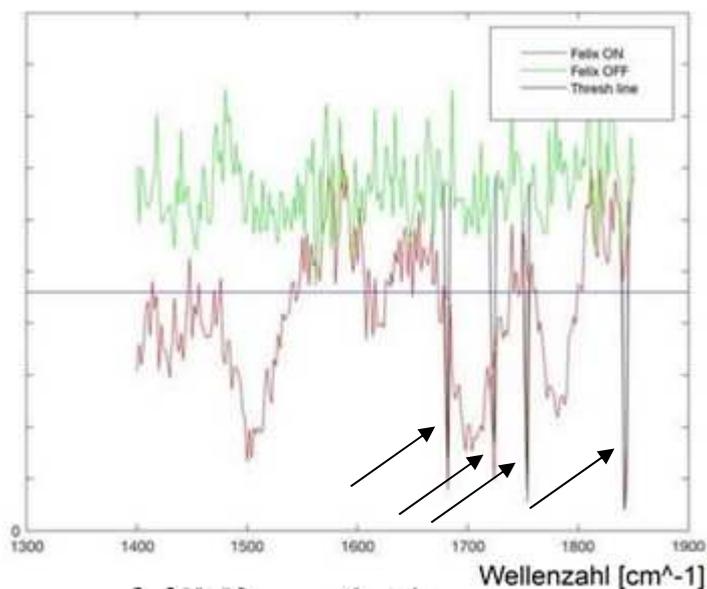


Abbildung (ED.A1): Messverlauf zur Bestimmung von Gly-Gly, mit und ohne FELIX Einwirkung

Es erfolgte die Aufnahme eines alternierenden Spektrums mit und ohne die Einwirkung des FELIX. Hierbei wurden pro Messpunkt (je 1cm⁻¹ im Bereich 564 und 1820 cm⁻¹) 5 Durchläufe (mit/ohne FELIX) aufgezeichnet. In dieser Abbildung ist jedoch zu beachten, dass die Skalierung des Spektrums aus Gründen der besseren Darstellbarkeit, lediglich im Bereich zwischen 1400 und 1820 cm⁻¹ abgebildet wurde.

Ebenfalls wurden in dieser Darstellung die Bereiche gekennzeichnet, welche aufgrund von Leistungseinbrüchen des Nd-YAG Lasers aus der nachfolgenden Darstellung des Gesamtspektrums entnommen wurden. Das resultierende Spektrum wurde durch die Subtraktion der gezeigten Spektren erstellt, wobei hier ein Schwellenwert von 0,0511 eingebracht wurde. Durch diesen Schwellenwert wurden entsprechende Unregelmäßigkeiten im Spektrum reduziert.

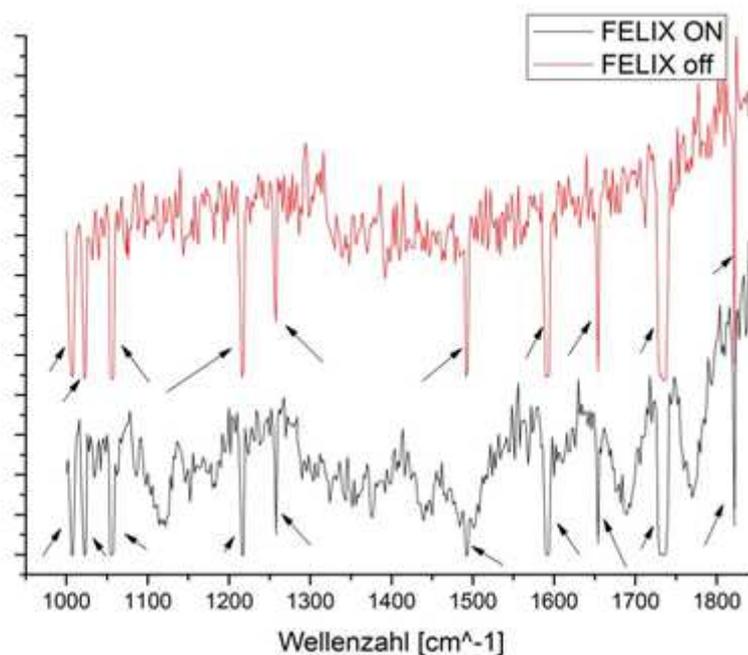


Abbildung (ED.A2): Messverlauf zur Bestimmung von Ala-Ala, mit und ohne FELIX Einwirkung

Es erfolgte die Aufnahme eines alternierenden Spektrums mit und ohne die Einwirkung des FELIX. Hierbei wurden pro Messpunkt (je 1cm^{-1} im Bereich 625 bis 1833cm^{-1}) 5 Durchläufe (mit/ohne FELIX) aufgezeichnet. In dieser Abbildung ist jedoch zu beachten, dass die Skalierung des Spektrums aus Gründen der besseren Darstellbarkeit, lediglich im Bereich zwischen 1400 und 1820cm^{-1} abgebildet wurde. Ebenfalls wurden in dieser Darstellung die Bereiche gekennzeichnet, welche aufgrund von Leistungseinbrüchen des Nd-YAG Lasers aus der nachfolgenden Darstellung des Gesamtspektrums entnommen wurden. Das resultierende Spektrum wurde durch die Subtraktion der gezeigten Spektren erstellt, wobei hier ein Schwellenwert von $0,0511$ eingebracht wurde. Durch diesen Schwellenwert wurden entsprechende Unregelmäßigkeiten im Spektrum reduziert.

Zur Isolierung des unmittelbaren, wellenzahlabhängigen Einflusses der Fern-IR Strahlung auf die Muttermasse, ist das Hintergrundspektrum vom Hauptspektrum zu subtrahieren. Hieraus ergeben sich die in Abbildung ED.A3 und ED.A4 dargestellten Spektren für Gly-Gly- bzw. Ala-Ala.

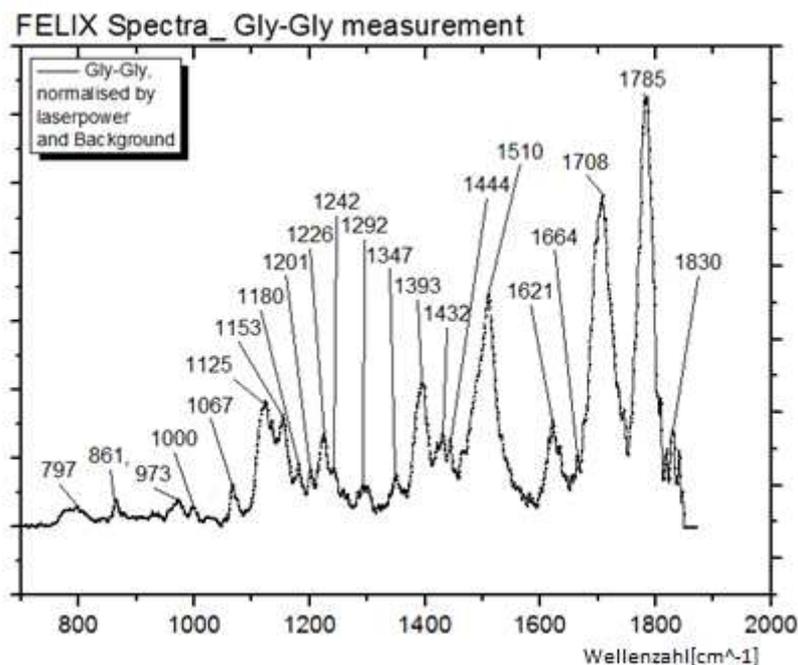


Abbildung (ED.A3): Aufbereitetes, experimentelles Absorptionsspektrum: Gly-Gly

Aufgetragen wurde die durchschnittliche Abnahme der Muttermasse in Abhängigkeit der gewählten Wellenzahl des FELIX Lasers. Hierbei erfolgte die Auszeichnung der jeweils 5-fach lokal vorliegenden Intensität alternierend zum Backgroundspektrum. Nach Abzug des Hintergrundsignales unter vorheriger Normierung der eingebrachten FELIX Laserintensität/Zeit liegt das hier gezeigte Spektrum im Bereich von (564 und 1820cm^{-1}) für Gly-Gly vor

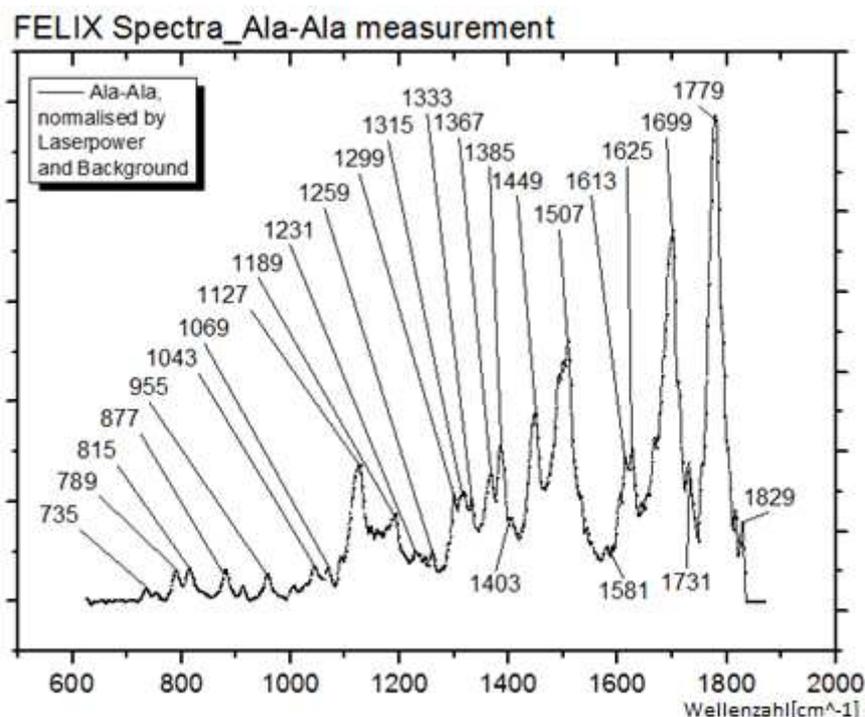


Abbildung (ED.A4): Aufbereitetes, experimentelles Absorptionsspektrum: Ala-Ala

Aufgetragen wurde die durchschnittliche Abnahme der Muttermasse in Abhängigkeit der gewählten Wellenzahl des FELIX Lasers. Hierbei erfolgte die Auszeichnung der jeweils 5-fach lokal vorliegenden Intensität alternierend zum Backgroundspektrum. Nach Abzug des Backgroundsignals unter vorheriger Normierung der eingebrachten FELIX Laserintensität/Zeit liegt das hier gezeigte Spektrum im Bereich von (625 bis 1833 cm^{-1}) für Ala-Ala vor

Entsprechend dieser Darstellung ergeben sich die Lagen der jeweiligen Schwingungszustände der beiden Analyten, welche für repräsentativ für eine spezifische Konformation dieser steht. Eine Aussage über die tatsächlichen Strukturen der involvierten molekularen Konformationen, ist wie in dieser Dissertation bereits eingehend erläutert mittels der DFT und-/oder ab initio Berechnungen weitestgehend bestimmbar und wird im Kapitel der theoretischen Datenanalyse erneut aufgegriffen. Die Darstellungen ED.A3 und ED.A4 resultieren wie genannt aus der Variation der verwendeten FELIX Wellenzahl, welche in diesen Darstellungen gegen die jeweils detektierte Muttermassenintensität auf dem MCP Detektor aufgetragen wurde (abzgl. Hintergrund und unter Normierung der FELIX Leistung). Anhand dieser Grafiken ist sowohl für Gly-Gly, als auch für Ala-Ala auffällig, dass in beiden Fällen die vorliegenden Intensitäten der IR Übergänge in direkter Relation zu den verwendeten Wellenzahlen zu stehen zu scheinen. Argumentativ liegen hier die möglichen Ursachen eventuell in Energiegradienten, verursacht durch das Durchstimmen über einen Wellenlängenbereich vor, andererseits besteht die Möglichkeit, dass sich im Scanverlauf der Einfluss der IVR ändert und somit im gezeigten Spektrum

sichtbar wird. Zusätzlich ist an dieser Stelle ein möglicher Einfluss von RRKM zu nennen, welcher hier eventuell einen Einfluss auf das Spektrum nehmen könnte. Diese genannten Möglichkeiten werden nach der Darstellung der theoretischen Ergebnisse erneut aufgegriffen, da sich diese für die Diskussion dieser möglichen Einflüsse durchaus hilfreich erweisen können.

Zusätzlich stellt sich nach der Aufnahme der gezeigten Spektren die Frage nach bisher verfügbaren Referenzen, welche vergleichbare Ergebnisse, oder argumentative Hinweise in Bezug auf die hier durchgeführten Messungen geben können. Auch dieses Thema wird nach der vollständigen Darstellung der hier durchgeführten Aktivitäten in Bezug auf die Substanzen Ala-Ala und Gly-Gly erneut aufgegriffen und diskutiert.

3.4. Theoretische Datenanalyse

Im Zuge der wie oben gezeigten Berechnung aus den Bereichen der B3LYP Rechnungen wurden gemäß den gezeigten Parametern verschiedene Konformere berechnet, welche prinzipiell für die experimentell bestimmten Substanzen stehen könnten. Diese Konformere wurden in der Abbildung TD.A1 dargestellt. Ebenfalls wurden die berechneten Totalenergien mit den zugehörigen Nullpunktenergien aufgetragen. Die hier gezeigten Darstellungen stammen einerseits aus den Turbomole-Berechnungen der B3LYP mit dem Basissatz cc-pVTZ und andererseits aus den durch die Software Gaussian berechneten Konformeren der Methode B3LYP mit dem Basissatz 6-31+G**. Vor der Auftragung in den gezeigten Abbildungen wurden die jeweiligen Berechnungen miteinander verglichen und entsprechend der Total- und Nullpunktenergien aufgetragen. Hierbei wurde bei beiden Berechnungsmethoden nahezu identische Konformere, im Sinne der jeweiligen berechneten Energie und atomarer Orientierung identifiziert.

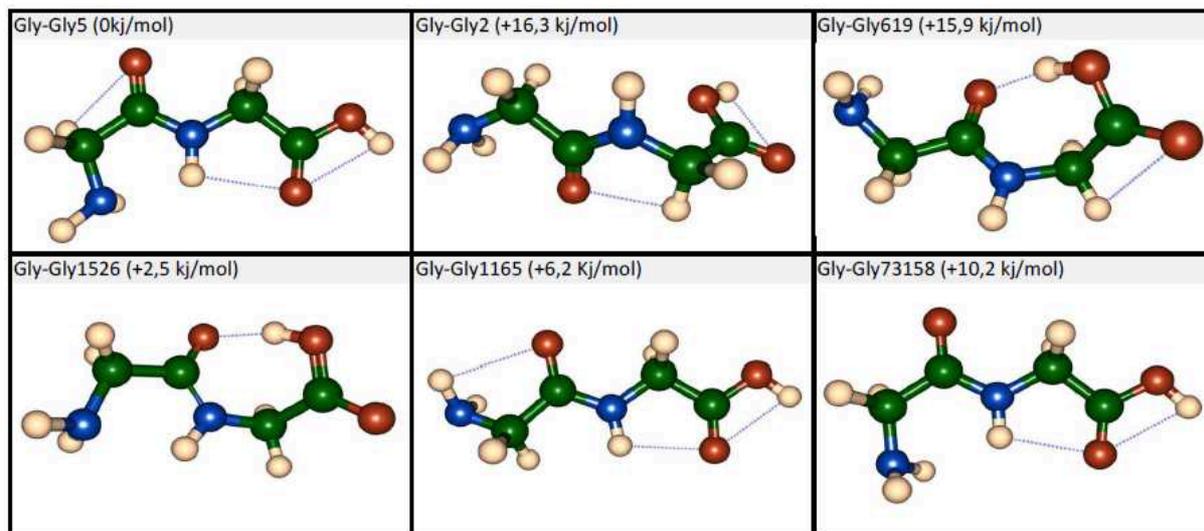


Abbildung (TD.A1G): Ermittelte Konformere und deren energetische Lage auf der hyperbolischen Fläche (Gly-Gly)

In dieser Abbildung wurden die ermittelten und visualisierten Konformere für Gly-Gly nebeneinander aufgetragen. Die berechneten und ebenfalls angegebenen Relativenergien ergeben sich aus der jeweiligen Gesamt- und Nullpunktenergie, sowie dem für jede Methode zu normierenden Korrekturfaktor. Die vorgelegte Struktur mit entsprechend geringster Energie wurde als Nullpunkt definiert und die anderen Strukturen in Relation hierzu gesetzt. Die hierbei notwendige Konvertierung erfolgte durch den Faktor 2625 kj/mol*Hartree. Die Korrektur der Nullpunktenergie erfolgte gemäß der Literatur ^[J.Mer]

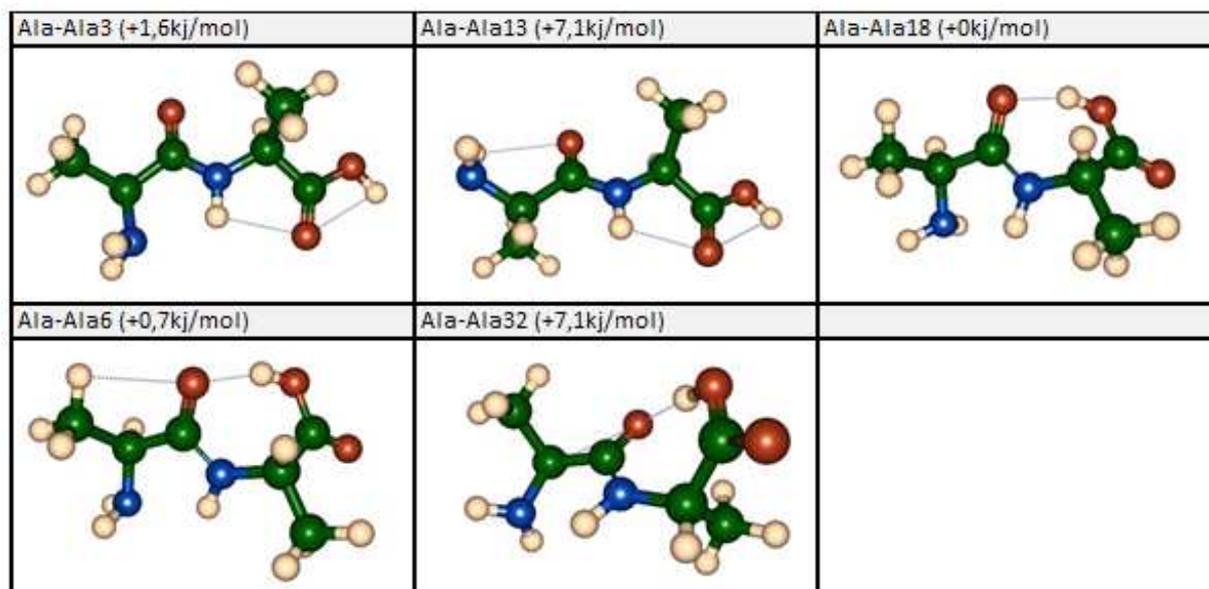


Abbildung (TD.A1A): Ermittelte Konformere und deren energetische Lage auf der hyperbolischen Fläche (Ala-Ala)

In dieser Abbildung wurden die ermittelten und visualisierten Konformere für Gly-Gly nebeneinander aufgetragen. Die Berechneten und ebenfalls dargestellten Energien ergeben sich aus der jeweiligen Total und Nullpunktenergie, sowie dem für jede Methode zu normierenden Korrekturfaktor. Die vorgelegte Struktur mit entsprechend geringster Energie wurde als Nullpunkt definiert und die anderen Strukturen in Relation hierzu gesetzt. Die hierbei notwendige Konvertierung erfolgte durch den Faktor 2625 kj/mol*Hartree. Die Korrektur der Nullpunktenergie erfolgte gemäß der Literatur ^[J.Mer]

Die geringsten Energien ergeben sich für die Konformere Gly-Gly5 und Ala-Ala13, diese gelten also bis hierhin als die am wahrscheinlichsten, auch experimentell vorliegende Verbindung nach entsprechender adiabatischer Expansion und Kühlung. Um diese These jedoch zu bestätigen zu können, ist ein Vergleich der theoretischen Spektren mit den experimentellen Daten erforderlich.

3.4.1. Aufbereitung der theoretischen Spektren, exemplarisch für Gly-Gly und Ala-Ala

Um die theoretischen Daten einem Vergleich mit den experimentellen Daten zugänglich zu machen, bedarf es einiger Maßnahmen, da die aus den theoretischen Rechnungen erhaltenen Daten lediglich Auskunft über die ermittelte Lage der entsprechenden Schwingungsbande und deren abgeschätzte Intensität ausgibt. Für die Verbindungen Gly-Gly5 und Ala-Ala3 wurden die ausgegebenen Daten visuell aufbereitet und zur Veranschaulichung in Abbildung TD.A2 und TD.A3 für Gly-Gly5 und Ala-Ala3 dargestellt. In den genannten Abbildungen wurden die entsprechend ausgegebenen Lagen der Banden, durch vertikale Ankerlinien mit der x-Achse verbunden. Zusätzlich wurde die Skalierung der x-Achse auf den experimentell betrachteten Wellenzahlbereich angepasst. Von einer Skalierung der y-Achse wurde derzeit abgesehen, da die gezeigten Peak Intensitäten nur relativ zueinander betrachtet werden.

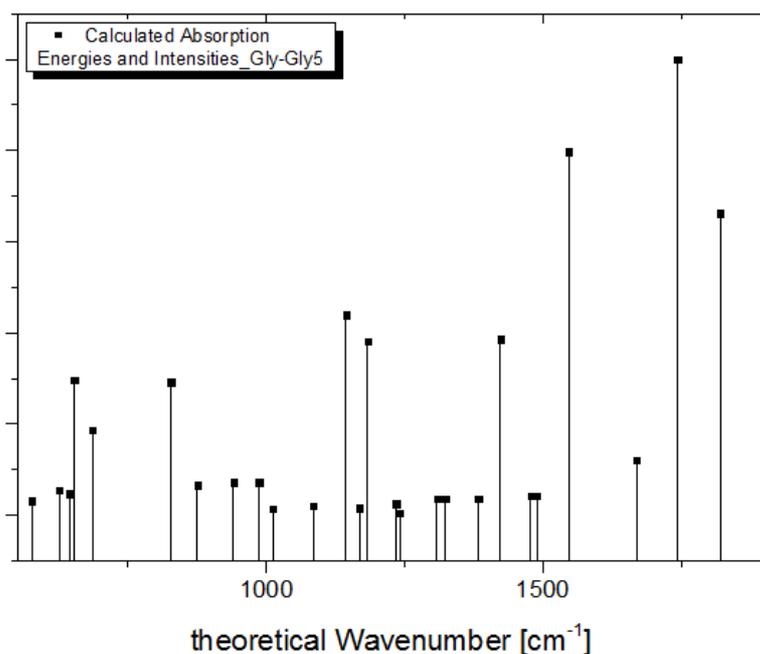


Abbildung (TD.A2): Intensitäten und Lagen der theoretischen Schwingungszustände von Gly-Gly5 (564 und 1820 cm^{-1})

Resultierend aus den semi-empirischen B3LYP Berechnung für Gly-Gly erfolgte ebenfalls eine Berechnung des theoretischen Absorptionsspektrums. Hierbei wurden die ermittelten Intensitäten und energetischen Lagen der theoretischen Schwingungsmoden in dieser Abbildung aufgetragen. Hierbei wurde jedoch bei der Darstellung von der Abbildung einer y-Achsen Skalierung abgesehen, da die involvierten Intensitäten noch zu einem späteren Zeitpunkt diskutiert werden und zum derzeitigen Punkt der Diskussion noch als nicht Relevanz zu sehen sind.

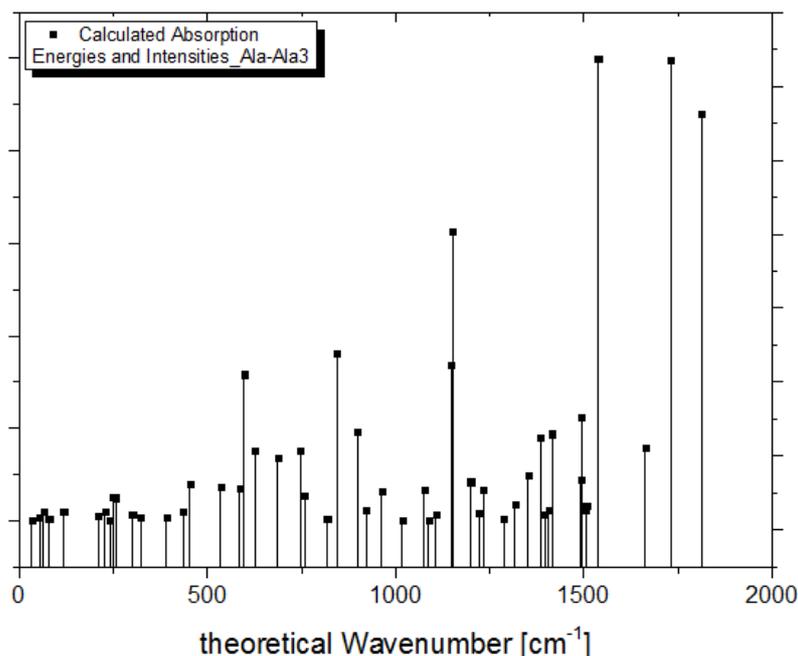


Abbildung (TD.A3): Intensitäten und Lagen der theoretischen Schwingungszustände von Ala-Ala3 (625 bis 1833 cm⁻¹)

Resultierend aus den semi-empirischen B3LYP Berechnung für Ala-Ala erfolgte ebenfalls eine Berechnung des theoretischen Absorptionsspektrums. Hierbei wurden die ermittelten Intensitäten und energetischen Lagen der theoretischen Schwingungsmoden in dieser Abbildung aufgetragen. Hierbei wurde jedoch bei der Darstellung von der Abbildung einer y-Achsen Skalierung abgesehen, da die involvierten Intensitäten noch zu einem späteren Zeitpunkt diskutiert werden und zum derzeitigen Punkt der Diskussion noch als nicht Relevanz zu sehen sind.

Ein weiterer Schritt zur Veranschaulichung der theoretisch gewonnenen Daten, stellt die mathematische Faltung mit einer definierten Gaußbreite dar.

Hierbei werden im konkreten Fall die Intensität und die Lage der in Abbildung ED.A2 und ED.A3 dargestellten Banden genutzt und diese nach Faltung mit einer Gaußfunktion an diesem Punkt als Peak mit der gewählten, mittleren Gaußbreite dargestellt. Die mittlere Gaußbreite wurde in diesem Fall so gewählt, dass diese denen der experimentell gewonnenen Spektren entspricht. (Die mittlere Peakbreite wurde so bei den experimentell gewonnenen Daten bei Gly-Gly mit 32cm^{-1} und bei Ala-Ala-mit 23cm^{-1} ermittelt und zur Faltung verwendet). Resultierend ergeben sich die in den Abbildungen ED.A4 und ED.A5 gezeigten, exemplarischen Spektren für Gly-Gly5 und Ala-Ala3. Nachfolgend werden auch die Daten der, durch die theoretischen Rechnungen resultierenden Spektren ebenfalls für die Gegenüberstellung zu den experimentellen Daten herangezogen.

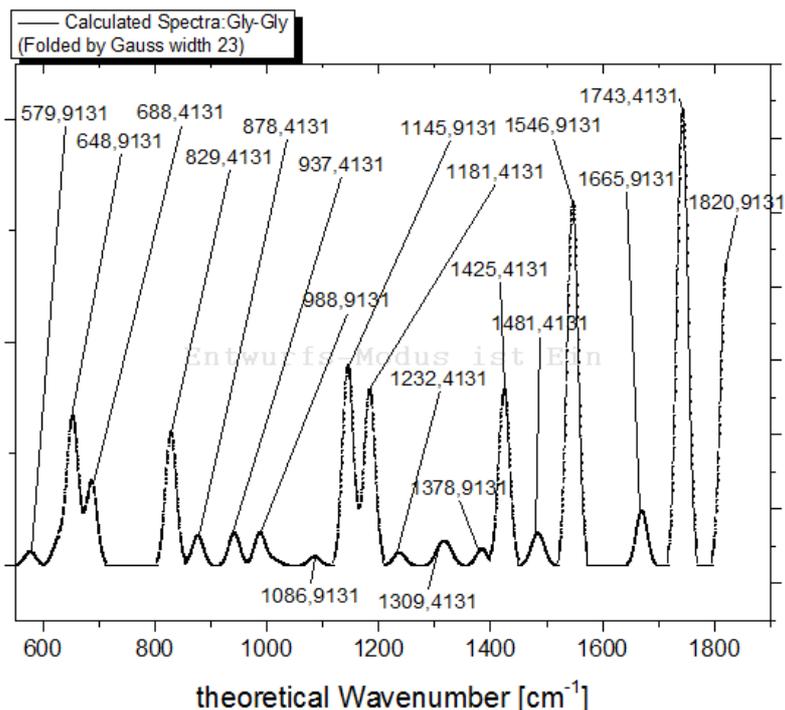


Abbildung (TD.A4): Theoretische Absorptionsspektrum Glg-Gly5, gefaltet: mittlere Gaußbreite: 23cm^{-1}

Die Daten der in Abbildung TD.A2 gezeigten Lagen und Intensitäten der theoretischen Schwingungsmoden werden in der hier gezeigten Darstellung mit einer Gaußbreite von 23cm^{-1} gefaltet dargestellt. Weiterhin wurde bisweilen auf die Darstellung einer Skalierung der y-Achse verzichtet, da diese zu diesem Zeitpunkt nur relativ zueinander, aber nicht als Bezugsgröße betrachtet werden können.

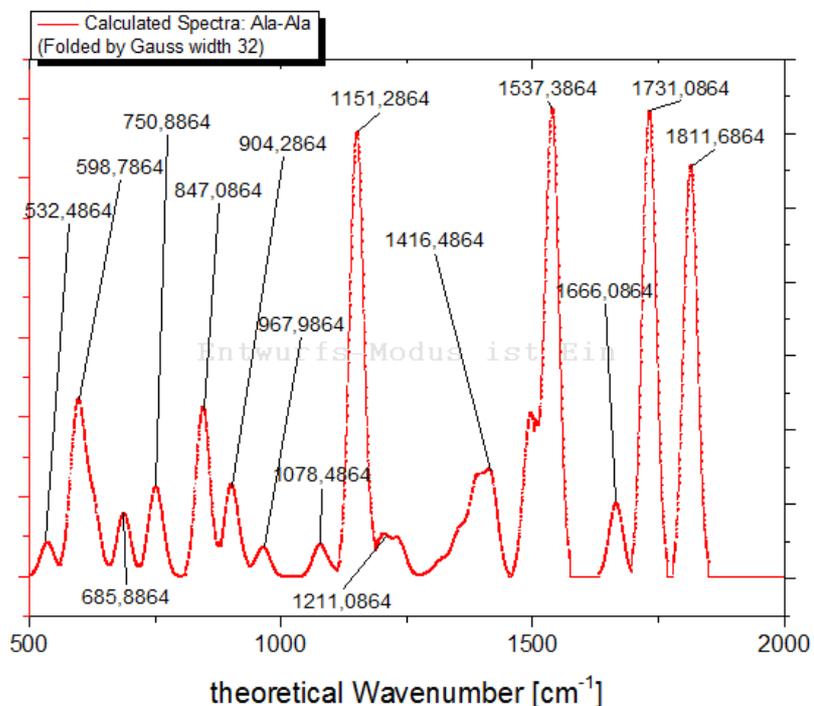


Abbildung (TD.A5): Theoretische Absorptionsspektrum Ala-Ala3, gefaltet: mittlere Gaußbreite: 32cm^{-1}

Die Daten der in Abbildung TD.A3 gezeigten Lagen und Intensitäten der theoretischen Schwingungsmoden werden in der hier gezeigten Darstellung mit einer Gaußbreite von 32cm^{-1} gefaltet dargestellt. Weiterhin wurde bisweilen auf die Darstellung einer Skalierung der y-Achse verzichtet, da diese zu diesem Zeitpunkt nur relativ zueinander, aber nicht als Bezugsgröße betrachtet werden können.

3.5. Vergleich der experimentellen und theoretischen Daten

Wie im Kapitel der quantenchemischen ab initio und semiempirischen Berechnungen erläutert, werden die erzielten Ergebnisse der Berechnungen in Abhängigkeit zur ausgewählten Methode unter bzw. überschätzt. Es ergibt sich also die Notwendigkeit einer Normierung der gewonnenen Daten in Ausrichtung zur x-Achse. Um nach wie vor die entsprechenden Peaks der theoretischen Berechnungen einem spezifischen Schwingungstyp zuordnen zu können, wurde das experimentell ermittelte Spektrum entlang der x-Achse normiert.

Tabelle (VE.T1): Wellenzahlnormierung der exp. Daten der Analyten Ala-Ala, Gly-Gly entsprechend ED.A3 bzw. ED.A4

Gly-Gly	Ala-Ala
	0,975

Durch die genannte Normierung ergibt sich nun die Möglichkeit eines qualitativen Vergleichs der infrage kommenden, theoretischen -mit den experimentellen Spektren.

3.5.1. Auswertung Gly-Gly

Diese wurden für Ala-Ala und Gly-Gly in Abbildung VE.AG1 bzw. VE.AA1 dargestellt. Hierbei wurden als oberstes, gezeigtes Spektrum jeweils das experimentelle aufgetragen und darunterliegend die oben dargestellten theoretischen Spektren. In Abbildung VE.AG1 wurde die Komponente Gly-Gly619 von der Darstellung ausgenommen, da diese nach erster qualitativer Sichtung, aufgrund von massiven Unterschieden der Lage der Banden nicht mehr als mögliches Konformer in Frage kommt. Zusätzlich ist hervorzuheben, dass auch die berechnete Gesamtenergie des Konformeres sich weit vom z.B.: Gly-Gly5, um ca. +16 kJ/mol unterscheidet und somit auch unter der Berücksichtigung von eventuellen Berechnungsungenauigkeiten nicht mehr als energetisch niedrigstes Konformer in Frage kommen kann. In Abbildung VE.AG1 wurde als unterstes theoretisches Spektrum das von Gly-Gly1526 aufgetragen. Hierbei ist auffällig, dass die hier gezeigten Banden im Bereich um ca. 1600-1800 weder in Form noch Lage mit denen der experimentellen Daten korrespondieren. Unter Betrachtung der restlichen, dargestellten Bereiche sind auch hier nur wenige Übereinstimmungen mit den experimentellen Daten zu beobachten. Somit wird auch das Konformer Gly-Gly1526 nachfolgend von der weiteren Auswertung ausgenommen, obwohl dieses Konformer vom energetischen Standpunkt, sich zuerst als vielversprechend darstellte. Die in Abbildung VE.AG1 verbleibenden Spektren der in Frage kommenden geometrischen Molekülorientierungen wurden entsprechend der jeweils berechneten Energien aufsteigend sortiert.

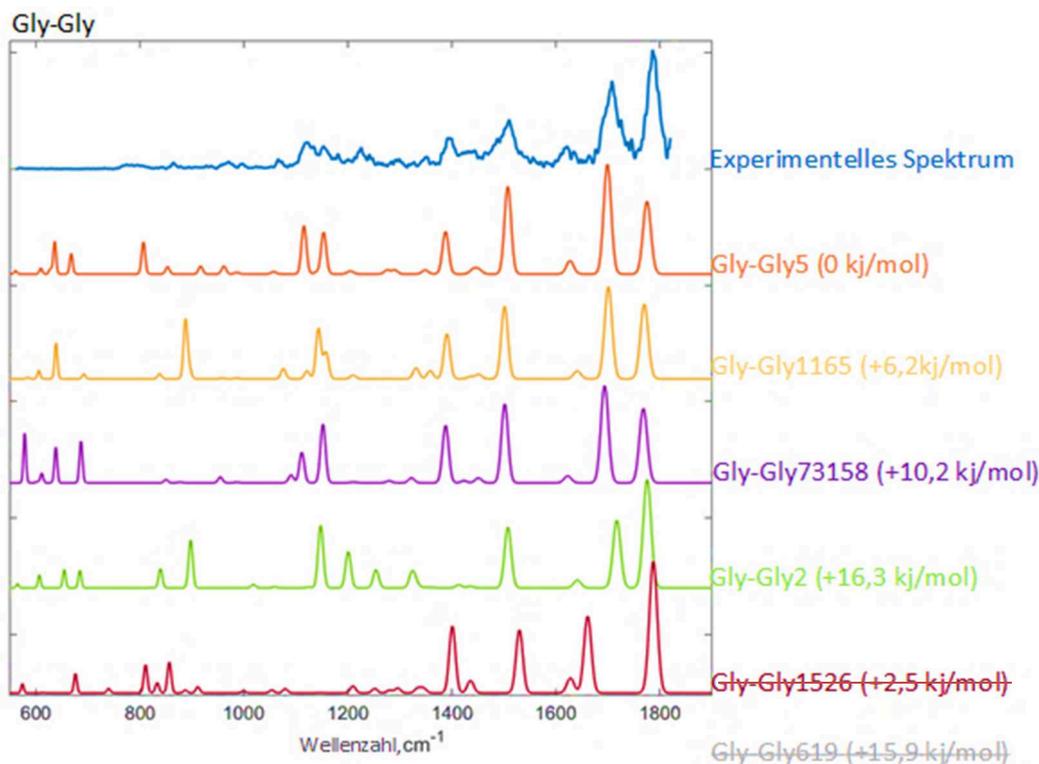


Abbildung (VE.AG1): Theoretische/experimentelle Spektren Gly-Gly

In dieser Abbildung wurden die theoretisch ermittelten Schwingungsspektren der jeweilig in Frage kommenden Konformere unter dem in x-Achsenrichtung normierten experimentellen Spektrum aufgetragen. Entgegen dem vorab gezeigten Konformeren, wurde hier die Struktur Gly-Gly619 von der Diskussion ausgenommen, da diese nach qualitativem Vergleich keinerlei Vergleichbarkeit zum dargestellten experimentellen Spektrum lieferte und energetisch nicht als das „energetisch niedrigste“ Konformer in Frage kommt.

Ausgehend von der energetisch „höchsten“ Struktur (im Vergleich zur „niedrigsten“ -hier Gly-Gly5) sind nun nachfolgend wie Lagen der jeweiligen Banden zu vergleichen. Hierbei wird einerseits über den gesamten spektralen Messbereich, als auch die Fingerprintregion in diese Auswertung einbezogen.

Die nun für die Auswertung verbleibenden Konformere weisen z.T. erhebliche Unterschiede in Ihrer errechneten Gesamtenergie auf, obwohl diese Strukturen jeweils mittels der genannten Methoden optimiert wurden. Es liegt die Vermutung nahe, dass nach der durchgeführten Berechnung bzw. Strukturoptimierung, die Konformere zu lediglich einer optimierten Struktur führen müssten. Wie in Abbildung VE.AG1 dargestellt, wird diese Vermutung widerlegt. Der Grund für dieses Phänomen ist mit dem allgemeinen Modell der hyperbolischen Fläche zu begründen. Betrachtet man eine zu optimierende Struktur, so wird diese inkrementell zu einer minimalen energetischen Lage angepasst. Bei der Nutzung des RSG wurde dieses Inkrement

vergleichsweise hoch gewählt (durch die Wahl einer ungenaueren, aber schnellen Optimierungsmethode), wo durch die ermittelten Strukturen sich zwar wie erwähnt in der Nähe eines globalen, energetischen Minimums befanden, aber noch weiter optimiert werden mussten. Durch die Verkleinerung des Inkrementes bzw. Wahl einer genaueren Methode und anschließender Optimierung mittels der genannten semi-empirischen, oder ab initio Berechnungen wurden die oben gezeigten Strukturen weiter in die Richtung des globalen Minimums optimiert. Jedoch besteht hierdurch das Risiko, dass die jeweils final ermittelte Konformation der Strukturen in einem lokalen Minimum mündet. Somit besteht wie in Abbildung VE.AG1 gezeigt, zwar eine Ähnlichkeit der Strukturen untereinander und zu den experimentell gewonnenen Daten, jedoch spricht eine geringere Totalenergie unter Einbeziehung der Nullpunktenergie eher für das Erreichen des globalen Minimums und somit auch theoretisch für eine vollständige Übereinstimmung mit den experimentell gewonnenen Daten.

Dieser Zusammenhang wird auch bei der näheren Betrachtung der Abbildung VE.AG1 verdeutlicht. Betrachtet man den Bereich zwischen >1800 und 1600 cm^{-1} so scheinen die dargestellten theoretischen Spektren sehr ähnlich zu sein und mehr oder weniger den experimentellen Daten zu entsprechen. Bei näherer Betrachtung des genannten Bereiches werden jedoch geringe Unterschiede im Vergleich zu den experimentellen Daten deutlich. Hierbei scheint vor allem die Struktur Gly-Gly2 in diesem Bereich durch den geringen Abstand der beiden intensiven Peaks und der somit sich unterscheidenden Lage des Peakmaximums im Vergleich zum Experiment. Die Betrachtung weiterer Peaks in absteigender Wellenzahl liefert, wie ersichtlich, weitere Unterschiede im Vergleich zu den experimentellen Daten und ist in Übereinstimmung mit der energetischen Lage im Vergleich zu Gly-Gly5 ebenfalls als eher nicht von der dem Experiment korrespondierenden Konformer auszugehen. Im Bereich >1800 und 1600 cm^{-1} verbleiben somit die Konformere Gly-Gly73158, Gly-Gly 1165 und Gly-Gly5 für einen Vergleich mit den gewonnenen experimentellen Daten. Hierbei besteht bei allen drei Konformeren eine große Ähnlichkeit der intensiven Peaks im Bereich $1700\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ in Bezug auf das jeweils vorhandene Peakmaximum und im Vergleich zum Experiment. Auffällig an dieser Stelle ist jedoch das inverse Intensitätsverhältnis der genannten Peaks im Vergleich zum Experiment. Um diesen Inversion zu erklären, sind die jeweilig anzunehmenden, relativen Zustandsdichten mit in die Diskussion einzubeziehen. Auf diese wird jedoch zu einem späteren Zeitpunkt im Kapitel

„Relative Zustandsdichten Gly-Gly und Ala-Ala“ näher eingegangen. Lediglich beim nachfolgenden Peak bei $\text{ca. } 1600\text{cm}^{-1}$ ist bei dem Konformer Gly-Gly1165 ein leichter Rot-versatz auffällig, welcher abweichend den experimentellen Daten gegenübersteht.

Für den weiteren Vergleich der gezeigten, für die Übereinstimmung mit den experimentellen Daten in Frage kommenden Konformere, wurde in Abbildung VE.AG2 der Bereich zwischen 550 und 1500 cm^{-1} vergrößert dargestellt.

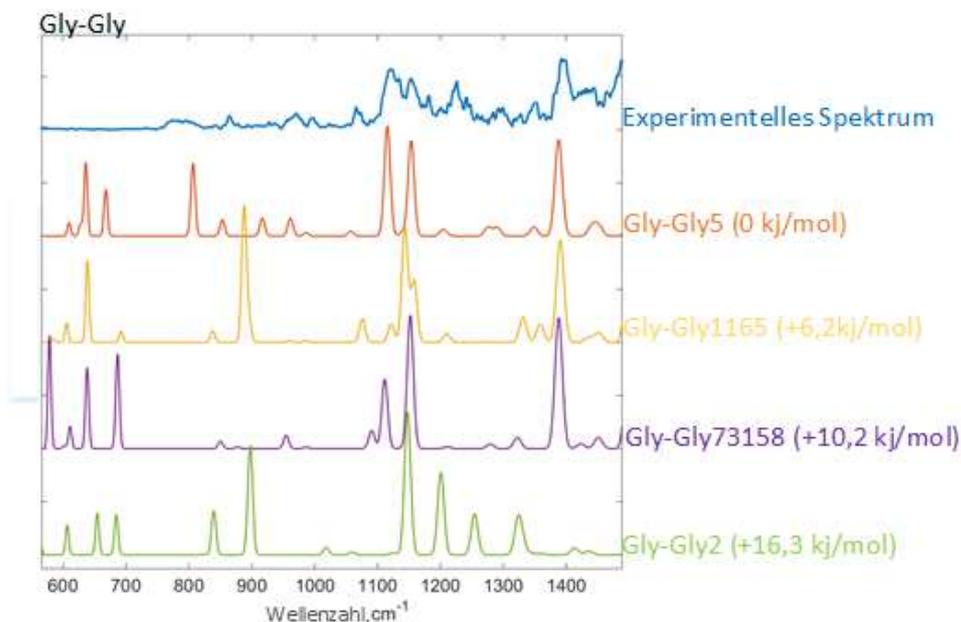


Abbildung (VE.AG2): Vergrößerte theoretische/experimentelle Spektren Gly-Gly

Die experimentellen Daten und die theoretischen Schwingungsspektren der Konformere wurden in der Region zwischen 1500 und 550 cm^{-1} vergrößert dargestellt. Aus dem Vergleich der im Experiment gefundenen und der durch die Berechnungen simulierten Lagen der Schwingungszustände konnte Gly-Gly5 als das am wahrscheinlichsten im Experiment vorliegende Konformer dargestellt werden. Durch das Fehlen einiger Peaks der anderen, berechneten Konformere, oder durch zuzuordnende Peaks konnten die Strukturen Gly-Gly73158, Gly-Gly1165 und Gly-Gly1526 sukzessive als vorliegendes Konformer bei der Durchführung der Messungen ausgeschlossen werden.

Ausgehend von 1400cm^{-1} liefert der intensive, einfache Peak bei Gly-Gly73158, Gly-Gly1165 und Gly-Gly5 eine Übereinstimmung zum Experiment. Lediglich das Konformer Gly-Gly1526 liefert hier keine Übereinstimmung. Im Bereich von 1347 cm^{-1} liefern die experimentellen Daten einen Peak, welcher sowohl bei Gly-Gly 1165 als auch bei Gly-Gly5 zu entdecken ist. Somit liegen erste Anhaltspunkte vor, dass das Konformer Gly-Gly73158 eventuell nicht vollständig mit den experimentellen Daten übereinstimmt. Weitere signifikante Auffälligkeiten im Spektrum lassen sich bei der Struktur Gly-Gly1165 im Bereich zwischen 1127 und 1189 cm^{-1} finden. Hierbei liegt einer, den experimentellen Daten nicht zuzuordnender Peak mit hoher Intensität vor. Zusätzlich entspricht das Intensitätsverhältnis der zuzuordnenden Peaks im Vergleich zu

Gly-Gly5 nicht den experimentell dargestellten Datensatz. Die nachfolgenden Peaks im Bereich zwischen 1150 und 800cm^{-1} sind bei den Strukturen Gly-Gly73158, Gly-Gly1165 und Gly-Gly1526 gar nicht, oder nur teilweise in den experimentellen Daten wiederzufinden. Wird die Struktur Gly-Gly5 betrachtet, so sind lediglich die Peaks im Bereich $<900\text{cm}^{-1}$ nicht eindeutig zuzuordnen, da in diesem Bereich die experimentellen Peaks mit nur sehr geringer Intensität vorliegen. Der Grund für die geringe Intensität ist ebenfalls durch die oben erwähnte, mögliche Anzahl der relativen Schwingungszustände bzw. der in diesem Abschnitt vorhandenen zu erklären und wird weiter im dafür vorgesehen Kapitel diskutiert.

Aufgrund der Gegenüberstellung der jeweilig simulierten Spektren ergibt sich, dass die dem Experiment ähnlichste Struktur auch die Struktur mit der geringsten erreichten Gesamtenergie darstellt. Somit wird nachfolgend die Struktur Gly-Gly5 näher betrachtet und die jeweilig ermittelten Peaks den spezifischen Schwingungsmoden zugeordnet, welche im Kapitel der Intermolekularen Bewegungen prinzipiell vorgestellt wurden. Durch die Zuordnung der theoretischen Peaks, welche in Übereinstimmung mit dem Experiment liegen, ergibt sich somit die Möglichkeit auch das experimentelle Spektrum spezifischen Schwingungen zuordnen zu können.

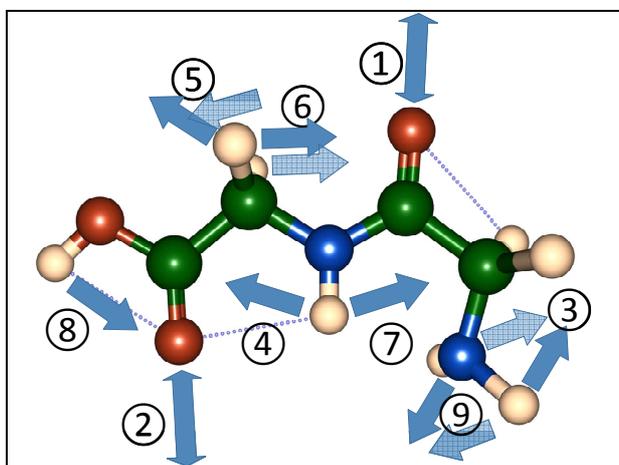


Abbildung (VE.AG3): experimentelle Schwingungszuordnung: Gly-Gly

Die theoretischen bzw. indirekt bestimmten Schwingungsmoden des durchgeführten Experimentes wurden in dieser Darstellung kumuliert dargestellt. Im oberen energetischen Bereich des Schwingungsspektrums lassen sich hier die C=O Streckschwingungen antreffen. Energetisch absteigend finden sich die in Bezug auf die Bindungsenergie folgenden Schwingungen von NH_2 bzw. $-\text{NH}$ gefolgt von denen der involvierten Gruppen: $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}$, $-\text{OH}$ und NH_2 . Die Nummerierung der hier gezeigten Darstellung folgt hier der absteigenden Energie im Schwingungsspektrum. Die zugehörigen Wellenzahlen finden sich in Tabelle VE.TG1.

Werden die gefundenen Peaks der theoretischen bzw. indirekt der experimentellen Peaks betrachtet, so sind nach den genannten Berechnungsmethoden diese Peaks verschiedenen

Schwingungsmoden zuzuordnen. Hierbei kann ein sichtbarer Peak eine Mischung aus verschiedenen Schwingungen sein. Aus die jeweils dominierende, identifizierbare Schwingung wurde hierbei isoliert betrachtet. In Abbildung VE.AG3 wurden jeweils berechneten Schwingungsmoden den experimentellen Daten zugeordnet dargestellt. In Tabelle VE.TG1 wurden die zugehörigen Wellenzahlen der experimentellen Daten, sowie die Nummern und Schwingungsbezeichnung aufgetragen. Bei der Zuordnung der experimentellen- zu den theoretischen Peaks, wurde diese aufgrund geringer werdender Intensität der experimentellen Daten in Richtung geringerer Energien erschwert. Diese Problematik wurde bereit im Abschnitt der experimentellen Datenanalyse erwähnt, trat jedoch auch bei der Zuordnung der Schwingungsmoden über die theoretischen Daten in Erscheinung. Wie bereits erwähnt, handelt es sich um ein Phänomen, welches auch bei der Analyse von Ala-Ala in Erscheinung getreten ist und wird somit zu einem späteren Zeitpunkt, nach der näheren Betrachtung er Ala-Ala Daten diskutiert.

Tabelle (VE.TG1): Zuordnung der theoretischen Schwingungsmoden (Gly-Gly)

Die theoretischen bzw. indirekt bestimmten Schwingungsmoden des durchgeführten Experimentes wurden in dieser Tabelle in energetisch absteigender Reihenfolge dargestellt. Die hierbei identifizierten dominierenden Schwingungsmoden (entsprechend eines maximalen Vektors der Schwingung in Bezug auf andere identifizierte, molekulare Schwingungen bei entsprechender energetischer Lage) wurden der energetischen Lage der Schwingung, in genannter, absteigender Reihenfolge zugeordnet.

Gly-Gly5		
Nr.:	Experimentelle Zuordnung	
1	1785 cm-1	C=O Streckschwingung
2	1708 cm-1	C=O Streckschwingung
3	1621 cm-1	-NH ₂ Spreizschwingung
4	1510 cm-1	-NH Anharm, Pendelschwingung
5	1444 cm-1	-CH ₂ Spreizschwingung
6	1393 cm-1	-CH ₂ Neigungsbewegung
7	1347 cm-1	-CH und -NH Pendelschwingung
8	1153 cm-1	-OH Pendelschwingung
-	1125 cm-1	Gerüstschwingung (nicht eindeutig zuzuordnen)
9	1067 cm-1	-NH ₂ Pendelschwingung
-	1292 cm-1	Gerüstschwingung (nicht eindeutig zuzuordnen)

Entsprechend der physikalischen Eigenschaften der involvierten Gruppen des Konformerer Gly-Gly5, befinden sich die C=O Streckschwingungen, im Vergleich zu den anderen, identifizierten Schwingungstypen im höheren energetischen Bereich des aufgezeichneten Schwingungsspektrums. Entsprechend der Abbildung VE.AG3 wurde eine potentielle Beeinflussung der Lage der involvierten Schwingungsmoden durch intermolekulare Wechselwirkungen identifiziert. Für die nunmehr mit sehr großer Wahrscheinlichkeit dem experimentellen Daten entsprechende Verbindung, wurde diese intermolekulare Wechselwirkung in der Form einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem endständigen Wasserstoffatom der -OH Gruppe, sowie dem Sauerstoffatom dem Sauerstoffatom der endständigen Carboxylgruppe identifiziert. Zusätzlich konnte die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem genannten Sauerstoffatom der Carboxylgruppe und dem Wasserstoffatom der molekular mittelständigen Amidbindung identifiziert werden. Konstruktiv zur Ausbildung einer Wasserstoffbindung, lässt sich bei der hier vorliegenden Konformation die planare Struktur der dargestellten Struktur bezeichnen.

3.5.2. Auswertung Ala-Ala

Analog zu der Auswertung von Gly-Gly, wurden auch für Ala-Ala die theoretischen Schwingungsspektren mit dem des Experimentes verglichen, nach diese normiert wurden. Die theoretischen Spektren im Vergleich zum experimentellen wurden in Abbildung VE.AA1 dargestellt. Im Unterschied zur vorab dargestellten Auswertung für Gly-Gly wurden in der Darstellung für Ala-Ala die Spektren nicht entsprechend der aufsteigend berechneten Energien aufgetragen. Die Auftragung erfolgte hier gemäß der vorab visuell abgeschätzten Ähnlichkeit zum Experiment. Im Falle von Gly-Gly lag diese bei der energetisch niedrigsten Struktur vor, im Falle von Ala-Ala ist erkennbar, dass dies nicht vollständig zutreffen zu scheint. Die energetische niedrigste berechnete Struktur (Ala-Ala18) zeigt im direkten Vergleich zum Experiment, dass der experimentell vorhandene Peak um 1779 cm^{-1} im Falle von Ala-Ala18 zu höheren Energien verschoben zu sein scheint. Im Vergleich zum nächsten, intensiven Peak des Experimentes (um 1699 cm^{-1}) ist dieser bei der theoretisch berechneten Struktur zu niedrigeren Energien verschoben. Nachfolgende Peaks in der Lage geringerer Energien im gezeigten Spektrum liefern ebenfalls nur geringe Übereinstimmung zum Experiment. Selbiges gilt für die ge-

zeigten Strukturen Ala-Ala6, sowie Ala-Ala32. Die genannten Strukturen werden somit nachfolgend von der Weiteren Auswertung ausgenommen, obwohl hierbei Ala-Ala18, sowie Ala-Ala6 sich in Bezug auf die berechneten Total- und Nullpunktenergien sich zuerst als potentielle Konformationen zeigten.

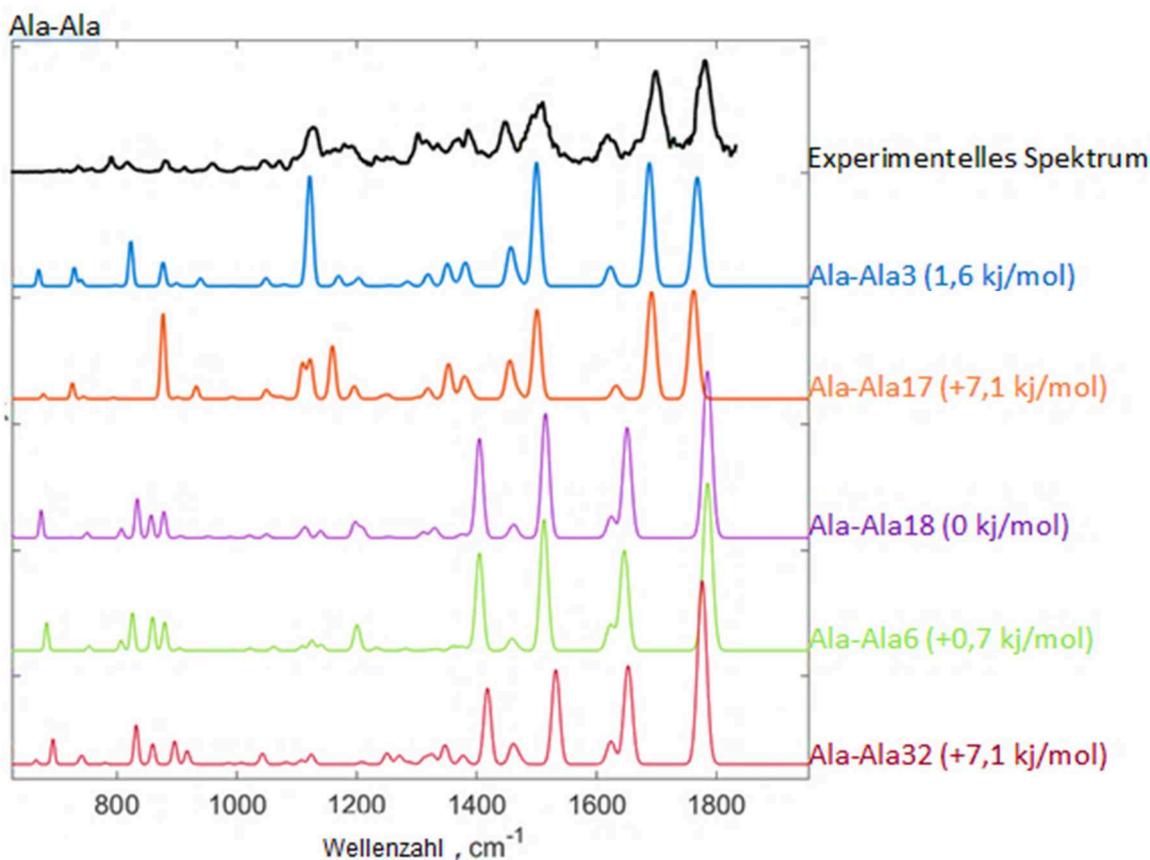


Abbildung (VE.AA1): Theoretische/experimentelle Spektren Ala-Ala

In dieser Abbildung wurden die theoretisch ermittelten Schwingungsspektren der jeweilig in Frage kommenden Konformere unter dem in x-Achsenrichtung normierten experimentellen Spektrum aufgetragen. In der visuellen Betrachtung der gezeigten Daten, ergibt sich für die Struktur Ala-Ala3 die größte Übereinstimmung zu den experimentellen Daten. Die Struktur mit der geringsten, Berechneten Nullpunkt- und Totalenergie zeigt hingegen nur geringe Übereinstimmung mit dem experimentell gewonnenem Spektrum.

In Betrachtung der verbleibenden Strukturen zur Auswertung (Ala-Ala3 und Ala-Ala17) liegen die experimentell vorliegenden, intensiven Peaks bei 1779 und 1699 cm^{-1} beide in gleicher Form bei den genannten Strukturspektren vor. Der weitere Vergleich der Schwingungsspektren mit den Spektren der beiden Strukturen liefert in beiden Fällen eine hohe Übereinstimmung der Peaks. Wird der niederenergetischere Bereich der Spektren betrachtet, so wird beim Spektrum der Struktur Ala-Ala17 sichtbar, dass im Bereich von ca. 1385 cm^{-1} die Übereinstimmung nicht vollständig vorzuliegen. Hingegen treffen bei der Struktur Ala-Ala3, die Lage der Peaks in diesem Bereich vollständig mit denen des Experimentes überein. Dieser Sachverhalt

trifft ebenso auf die Peaks im Bereich von 1127 cm^{-1} zu. Zusätzlich zu der Übereinstimmung des theoretischen Spektrums zu den experimentellen Daten, liegt die Berechnete Total und Nullpunktenergie der Struktur Ala-Ala3 mit $1,6\text{ kJ/mol}$ äußerst nahe zu der ursprünglich niedrigsten Berechneten Struktur Ala-Ala18. Hier ist anzunehmen, dass es sich bei der Struktur Ala-Ala3 aufgrund von Berechnungsungenauigkeiten um die Energetisch niedrigste Struktur handelt. Nachfolgend wird die Struktur Ala-Ala3 näher betrachtet und die jeweilig ermittelten Peaks den spezifischen Schwingungsmoden zugeordnet, welche im Kapitel der Intermolekularen Bewegungen prinzipiell vorgestellt wurden. Durch die Zuordnung der theoretischen Peaks, welche in Übereinstimmung mit dem Experiment liegen, ergibt sich somit die Möglichkeit auch das experimentelle Spektrum spezifischen Schwingungen zuordnen zu können.

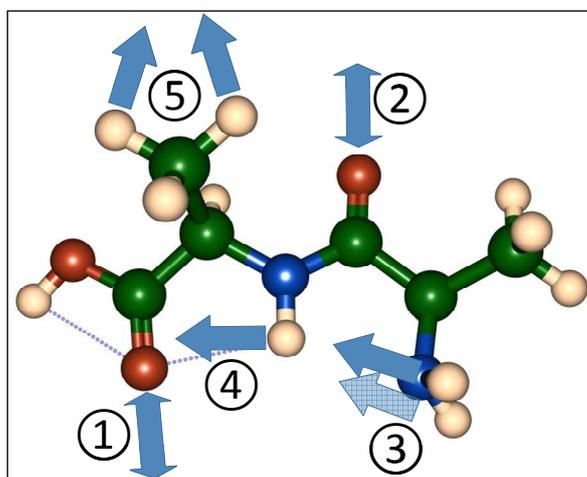


Abbildung (VE.AA2): experimentelle Schwingungszuordnung: Ala-Ala

Die theoretischen bzw. indirekt bestimmten Schwingungsmoden des durchgeführten Experimentes wurden in dieser Darstellung kumuliert dargestellt. Im oberen energetischen Bereich des Schwingungsspektrums lassen sich hier die C=O Streckschwingungen antreffen. Energetisch absteigend finden sich die in Bezug auf die Bindungsenergie folgenden Schwingungen von NH_2 sowie von denen der Gruppe: $-\text{CH}_2$. Die Nummerierung der hier gezeigten Darstellung folgt hier der absteigenden Energie im Schwingungsspektrum. Die zugehörigen Wellenzahlen finden sich in Tabelle VE.TA1.

In Abbildung VE.AA2 werden die ermittelten, theoretischen Schwingungen bzw. die indirekt ermittelten Schwingungen des durchgeführten Experimentes dargestellt. Hierbei wurden analog zu den bei Ala-Ala gefundenen Schwingungsmoden auch bei Gly-Gly, C=O Streckschwingungen im höherenergetischen Bereich ermittelt, was sich wiederum mit den physikalischen Bindungseigenschaften deckt. Nachfolgend wurden in energetischer Reihenfolge weitere Schwingungen identifiziert, welche in Tabelle VE.TA1 in energetisch absteigender Reihenfolge aufgetragen wurden. Im Vergleich zum Molekül Gly-Gly konnten auch im Falle von Ala-Ala potentielle intermolekulare Wechselwirkungen durch die verwendeten Berechnungsmetho-

den identifiziert werden. Im Falle von Ala-Ala wurden deckungsgleich zu den Ergebnissen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem endständigen Wasserstoffatom, dem doppelt gebundenem Sauerstoffatom der Carboxylgruppe, sowie dem Wasserstoffatom der molekular mittelständigen Amidgruppe ermittelt werden. Hierbei ist anzunehmen, dass die Ausbildung der genannten Wasserstoffbrücken sowohl im Falle von Ala-Ala, als auch im Fall von Gly-Gly durch die planare Struktur beider Verbindungen bevorzugt wird.

Tabelle (VE.TA1): Zuordnung der theoretischen Schwingungsmoden (Ala-Ala)

Die theoretischen bzw. indirekt bestimmten Schwingungsmoden des durchgeführten Experimentes wurden in dieser Tabelle in energetisch absteigender Reihenfolge dargestellt. Die hierbei identifizierten dominierenden Schwingungsmoden (entsprechend eines maximalen Vektors der Schwingung in Bezug auf andere identifizierte, molekulare Schwingungen bei entsprechender energetischer Lage) wurden der energetischen Lage der Schwingung, in genannter, absteigender Reihenfolge zugeordnet.

Ala-Ala3		
Experimentelle Zuordnung		
1779	cm-1	C=O Streckschwingung
1699	cm-1	C=O Streckschwingung
1625	cm-1	-NH ₂ Spreizschwingung
1507	cm-1	-NH ₂ Pendelschwingung
1385	cm-1	-CH ₂ (3) Spreizschwingung
1127	cm-1	Gerüstschwingung (nicht eindeutig zuzuordnen)
1043	cm-1	Gerüstschwingung (nicht eindeutig zuzuordnen)

3.5.3. Relative Zustandsdichten Gly-Gly und Ala-Ala

Entsprechend der bisherigen Ausführungen ist bei den dargestellten Spektren für Ala-Ala und Gly auffällig, dass die Intensitäten der aufgezeichneten Peaks in Abhängigkeit zur aufgetragenen Wellenzahl und Photonenzahl zuzunehmen zu scheinen. Einerseits würde hier die Möglichkeit bestehen, dass durch RRKM Einflüsse in Abhängigkeit zur eingebrachten Energie die Entstehung von Mutterionen reduziert wird und somit auch die Peakintensität, sukzessive im Verlauf der Aufzeichnung mit absteigender Energie reduziert wird. Bei näherer Betrachtungsweise ist jedoch der Einfluss durch RRKM untergeordnet zu betrachten, da RRKM höhere Relevanz einnimmt, je größer das betrachtete Molekül ist. Durch die zunehmende Größe liegt die eingebrachte Energie im Molekül nicht lokal an einer Bindung vor, sondern verteilt sich innerhalb dieses. Nähere Informationen wurden bereits im Kapitel zu diesem Thema dargestellt. Einerseits ist somit die verhältnismäßig kleine Größe der hier betrachteten Moleküle anzumerken, welche aber viele flexible Schwingungsmöglichkeiten besitzen, zusätzlich ist auch erneut auf die Entstehung der Ionen in diesem Experiment einzugehen. Durch die Einbringung der 118 nm Strahlung und der damit verbundenen Erzeugung der Ionen mithilfe dieser Strahlung, ist die Erzeugung der Mutterionen ausschließlich von dieser Strahlungsquelle abhängig. Lediglich durch die Besetzung von resonanten Zuständen unterschiedlicher energetischer Lage ist durch die gewählte Wellenzahl der FELIX Strahlung eine Intensitätsreduzierung zu erwirken. Ein nicht Erreichen eines resonanten Zustands durch die IR Strahlung generiert somit immer die gleiche Intensität des Muttermassensignals durch die VUV Strahlung. Durch die Tatsache, dass alleinig die 118 nm Quelle für die Erzeugung von Ionen Anwendung findet, diese aber im Verlauf der Spektrenerzeugung weder in der Intensität, noch in anderen Eigenschaften verändert wird, ist auf die entsprechenden Zustandsdichten in Abhängigkeit der IR Strahlung näher einzugehen. Wird erneut die Ursache in der im Verlauf des Experimentes veränderten Wellenlänge des FELIX-Lasers betrachtet, so ist zusätzlich die jeweils vorliegende Zustandsdichte zu der Erklärung dieses Phänomens heranzuziehen. In Abhängigkeit der verwendeten FELIX-Wellenlänge findet so eine schnelle, oder zeitverzögerte Relaxation der Elektronen in den Grundzustand statt. Diese Zeitspanne ist einerseits von dem Erreichen resonanten Zustandes abhängig und zusätzlich von der Lage dieses Zustandes. Hierbei werden im elektronischen Sinne, in Abhängigkeit der verwendeten Wellenlänge bzw. Wellenzahl höherliegende resonante Zustände besetzt, aus welchen via IVR der Grundzustand erreicht wird. Hierbei ist gemäß dem, im theoretischen Teil dieser Arbeit dargestellten Jablonski Diagramm, die Dichte

an möglichen Schwingungszuständen (Zustände pro cm^{-1}) nicht proportional zur eingebrachten Energie zu sehen, sondern verläuft vielmehr, wie nachfolgend dargestellt, exponentiell.

Zur Veranschaulichung dieses Sachverhaltes und zur Verifizierung der Aussage, dass die hier beobachtete Intensitätsabnahme durch die Erhöhung der absoluten Anzahl der möglichen Zustände und über die Erhöhung der Zustandsdichte begründet sein könnte, wurden nachfolgend die jeweilig möglichen Zustände der Moleküle Gly-Gly5 und Ala-Ala3 berechnet.

Als Grundlage dienen hier die theoretisch berechneten Spektren der genannten Verbindungen, welche bereits vorab gezeigt und diskutiert wurden. Die jeweiligen Zustände berechnen sich hier aus den vorliegenden Schwingungen bzw. Peaks und der Lage dieser im Spektrum. Beispielhaft wurden in Tabelle (RZ.T1) die Zustandsdichten für Ala-Ala3 im unteren Spektrenbereich dargestellt (außerhalb des experimentellen Messbereiches), um die Art der Berechnung näher zu veranschaulichen.

Wie zu erkennen liegt in diesem Beispiel die erste berechnete Schwingung bei 32 cm^{-1} , die zweite bei 33 cm^{-1} und die dritte bei 53 cm^{-1} . Somit liegt die absolute Anzahl der möglichen Schwingungszustände bei 32 cm^{-1} bei einem, bei 33 cm^{-1} bei zwei usw. Die genannte Zustandsdichte ergibt sich nun aus der Anzahl der möglichen Zustände (inklusive Kombinationsbanden und Obertöne) pro Wellenzahl. Im konkreten Fall bedeutet dies für den ersten Zustand bei 32 cm^{-1} eine Zustandsdichte von $0,0303 \text{ Zuständen/ cm}^{-1}$, für den zweiten Zustand mit einem Abstand von 20 Wellenzahlen zum nächsten Zustand eine Zustandsdichte von $0,05 \text{ Zuständen/ cm}^{-1}$. Zusätzlich zur genannter Berechnung, ist die Kombination verschiedener Zustände möglich und ergibt somit einen resultierenden Zustand in einem höheren Wellenzahlengebiet. Es wird ersichtlich, dass mit steigender Anzahl der vorhandenen Zustände, zusätzlich die Anzahl der Kombinationsmöglichkeiten der Zustände steigt. Hieraus ergibt sich, dass somit die Gesamtsumme der möglichen Zustände und die Zustandsdichte in einem exponentiellen Maße mit der Wellenzahl steigt. Zusätzlich ist naheliegend, dass mit der Anzahl der involvierten Atome (und somit der Schwingungsmöglichkeiten) der Exponent entsprechend anpasst.

Um die genannten Zustände und Zustandsdichten zu ermitteln, wurde im Arbeitskreis eine spezielle Software^[M.Boe1] erstellt, welche die jeweilige Zustandsdichte in Bezug zum betrachteten, simuliertem Spektrum und in Abhängigkeit zur Wellenzahl berechnen lässt.

Tabelle (RZ.T1): Beispielhafte Darstellung der möglichen Zustände und Zustandsdichten (Ala-Ala3)

In dieser Tabelle wurden exemplarisch für den unteren Wellenzahlbereich (außerhalb des experimentellen Messbereiches) die jeweilig möglichen Zustände und Zustandsdichten dargestellt. Durch diese Darstellung ist

der Zusammenhang zwischen einem berechneten Schwingungszustand, Abstand zum nächsten Schwingungszustand und die damit zusammenhängende Zustandsdichte erkennbar. Hierbei wird zur Berechnung der Zustandsdichte ein betrachteter Zustand durch den Abstand (in cm^{-1}) bis zum nächsten Zustand dividiert. Hierdurch ergeben sich die genannten Zustände/ cm^{-1} . Die Anzahl der Zustände ergibt sich durch die Aufsummierung der berechneten Zustände im betrachteten Wellenzahlbereich und aus möglichen Kombinationen von Zuständen zum Erreichen des betrachteten Wellenzahlenbereiches.

Wavenumber [cm^{-1}]	0	1	32	33	53	...
Number of States [Z]	0	0	1	2	3	...
Density of States [Z/ cm^{-1}]	0	0	0,0303	0,05	0,1	...

Aufgrund der langen Berechnungszeit im höheren Energiebereich, wurden für die in Abbildung RZ.A1 dargestellten Abhängigkeiten der Zustandsdichten und der jeweiligen Anzahl der möglichen Zustände in einem Abstand von $\leq 5 \text{ cm}^{-1}$ berechnet. Im Bereich niedriger kann es zu zufälligen Kumulationen von Zuständen kommen, welche lokal eine zu hohe Zustandsdichte vortäuschen. An diesen Stellen wurde der Berechnungsabstand entsprechend auf $\leq 2 \text{ cm}^{-1}$ verringert, um eine Verfälschung der Berechnungsergebnisse auszuschließen bzw. zu minimieren. In der Abbildung RZ.A1 ist neben der jeweiligen Anzahl der Zustandsdichte pro Wellenzahl und der zugehörigen Zustandsdichte zusätzlich eine berechnete Trendkurve über alle berechneten Zustände. Die Berechnungen beziehen sich hier lediglich auf den Wellenzahlbereich, welcher ebenfalls in den Experimenten angewandt wurde.

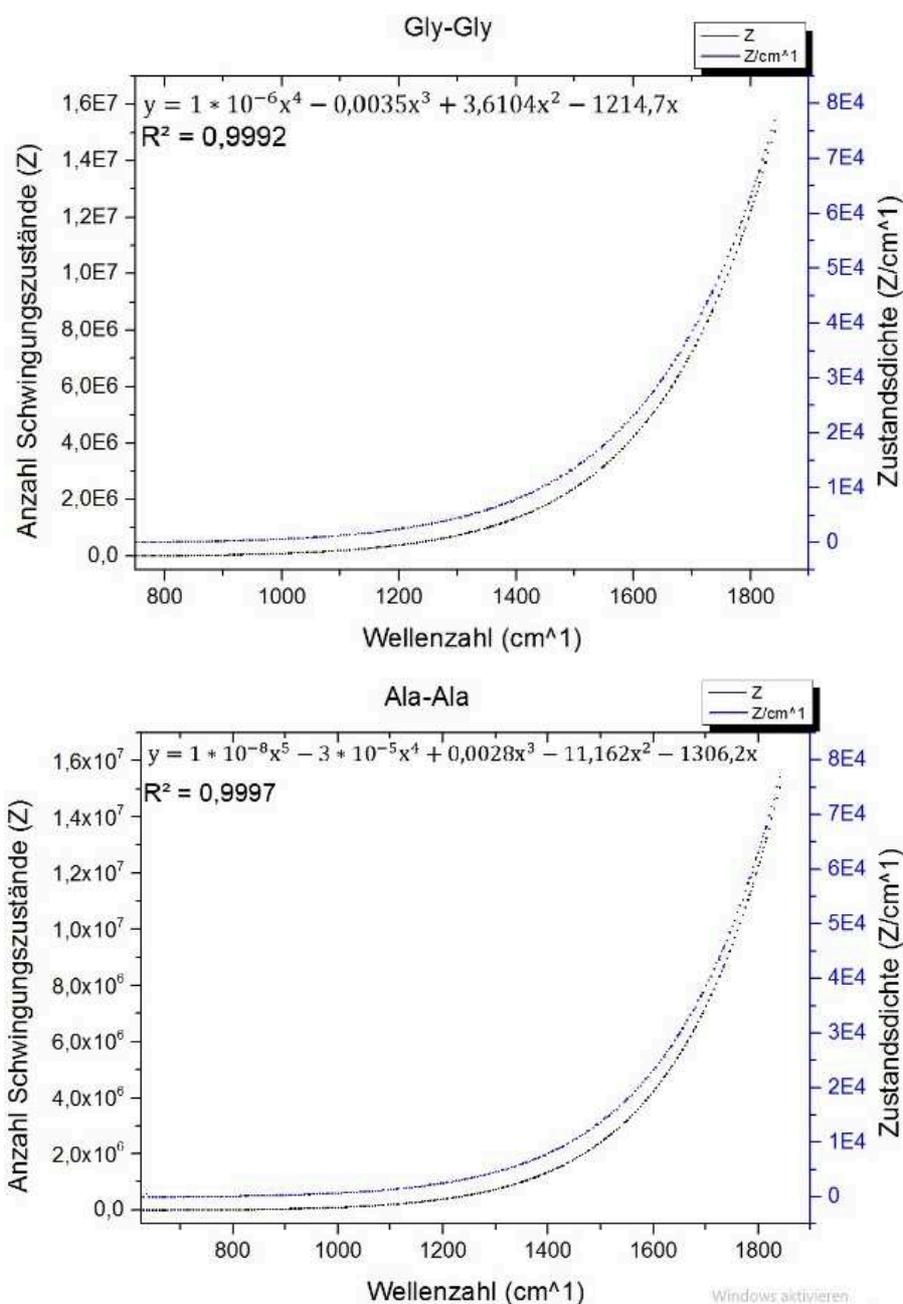


Abbildung (RZ.A1): Errechnete Zustandsdichten für die Konformere Gly-Gly5 und Ala-Ala3

In dieser Abbildung werden die für Gly-Gly5 und Ala-Ala3 berechneten Zustandsdichten und Anzahlen der möglichen Zustände dargestellt. Hierbei ist jeweils untenliegend die jeweilige Anzahl und obenliegend die zugehörige Zustandsdichte aufgetragen. Im weiteren Verlauf entlang der in x-Richtung aufgetragenen Wellenzahl [cm⁻¹] wird der massive Anstieg der beiden molekularen Parameter verdeutlicht.

Im Nachfolgenden wurden die berechneten Zustandsdichten in Abbildung RZ.A2 zusammen mit den experimentell gewonnene Spektren aufgetragen. In Betrachtung der intensiven Peaks des Experimentes, liefert die kumulierte Darstellung mit den Zustandsdichten eine gute Übereinstimmung zu der Annahme, dass der experimentell beobachtete Intensitätsverlust in Über-

einstimmung mit der dargestellten Zustandsdichte liegt und somit eine Umlagerung der eingebrachten Energie via IVR in Abhängigkeit der eingebrachten Energie zu den gezeigten Intensitätsänderungen führt.

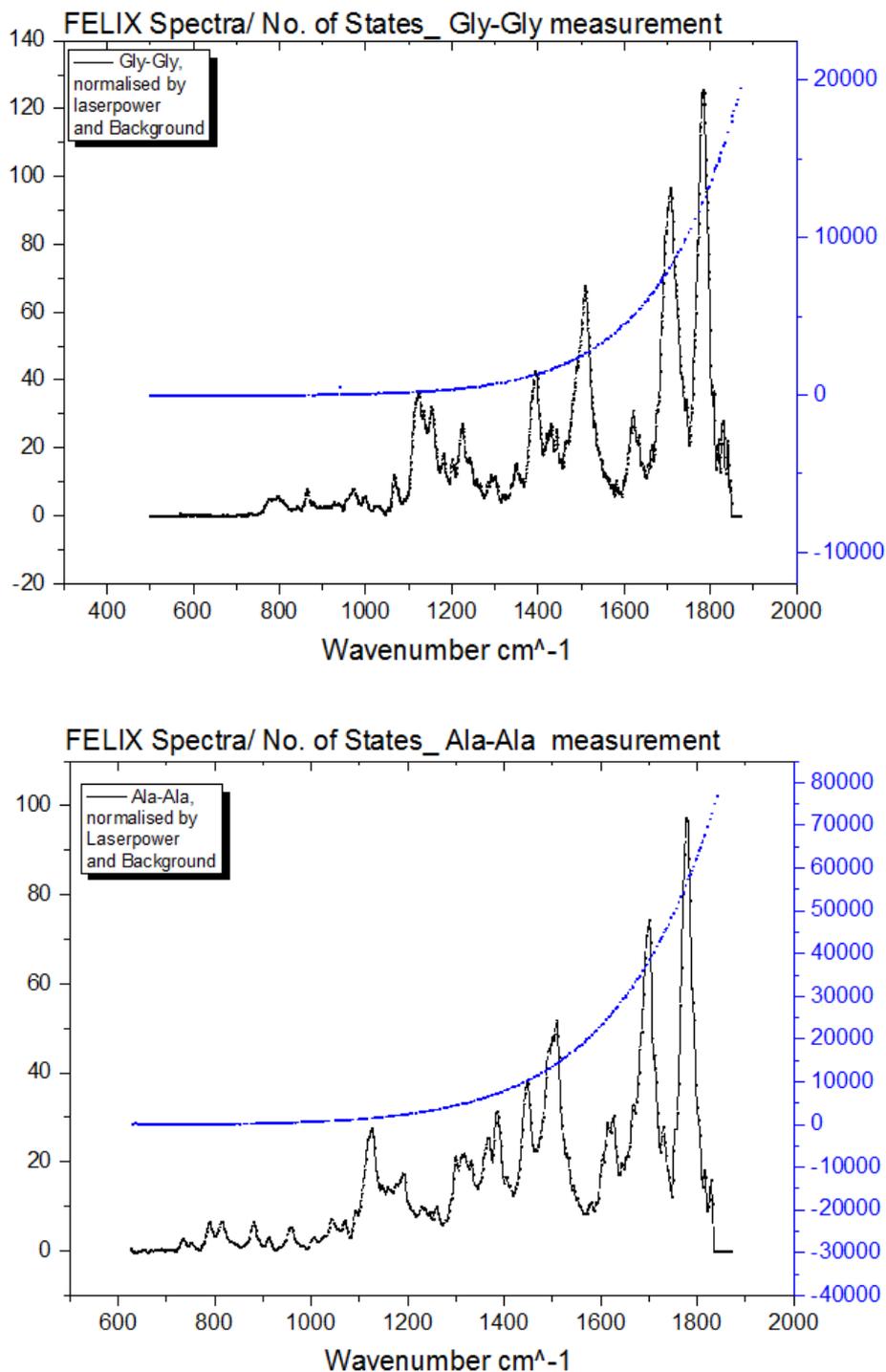


Abbildung (RZ.A2): Errechnete Zustandsdichten für die Konformere Gly-Gly5 und Ala-Ala3 inkl. Berechneter, Zustandsdichte aus RZ.A1

Die Zusammenführung der berechneten Zustandsdichten mit den experimentell gewonnenen Daten zeigt, eine gute Übereinstimmung zwischen der scheinbar sich im Verlauf in Richtung niedrigerer Wellenzahlen verringernder Intensität und der entsprechenden Summe der Zustandsdichten. Hierbei ist anzunehmen, dass

die in Abhängigkeit der höheren, eingebrachten Energie verfügbaren Zustände zu einer Intensitätsmaximierung führen. Im Umkehrschluss führen wenige verfügbare Schwingungszustände zu geringerer dargestellter Intensität, da hier durch eine schnellere Relaxation, über weniger Zustände vorhanden scheint

Im Nachfolgenden werden die hier ermittelten Resultate der experimentellen Bestimmungen der Infrarot-Mehrphotonen-Dissoziationsspektroskopie, mit entsprechenden Referenzen verglichen. Aufgrund der Tatsache, dass die hier ermittelten experimentellen Daten auf einer neuen Technologie der Spektroskopie beruhen, konnten auch durch eine intensive Literaturrecherche, keine Referenzen mit einem gleichen experimentellen Aufbau ermittelt werden. Somit ist ein Vergleich zwischen den hier gewonnenen Daten mit artverwandten Experimenten zu ziehen. Die zugehörige theoretische Berechnung soll im folgendem ebenfalls mit der Literatur verglichen werden.

3.6. Referenzdatenvergleich; Gly-Gly und Ala-Ala

In der direkten Literaturrecherche lassen sich im Bereich der theoretischen Berechnungen zahlreiche Quellen zum Thema der Konformationsbestimmung von Di-Peptiden finden. Allerdings richten sich diese in erster Linie an Strukturuntersuchungen, welche sich entweder in Lösung befinden und/oder in welchen Lösemittelleffekte untersucht werden sollen ^[S.Kov1]. Untersuchungen von Di-Peptiden in der Gasphase richten sich hauptsächlich an die Bestimmung von Konformationsänderungen von Di-Peptiden in Ausbildung von Komplexverbindungen (Kupfer, Silber usw). Zusätzlich werden auch protonierte Formen der Di-Peptide untersucht, welche in der Verwendung von z.B.: MALDI, oder ESI von hoher Relevanz sind. Für die in dieser Dissertation betrachteten Strukturen sind vor allem die Arbeiten um Armentrout ^[P.Arm1] zu nennen. In diesen wurden Berechnungen ebenfalls mit der unter anderem hier verwendeten B3LYP Methoden durchgeführt, um im Falle von Gly-Gly die entsprechend energetisch niedrigste Konformation bestimmen zu können. Unterschiede bestehen jedoch in der Darstellung der protonierten Strukturform von Gly-Gly unter Armentrout, diese Literaturquelle wird dennoch für den Vergleich mit den hier gewonnenen Ergebnissen herangezogen.

Ein experimenteller Vergleich steht durch die von Cabezas^[C.Cab] durchgeführten Messungen zur Verfügung. Experimentell gesehen wurde in der Arbeit um Cabezas, die Probe ebenfalls durch Laserablation und unter Zuhilfenahme einer Überschallstrahldüse in den Vakuumraum überführt. Nachfolgend wurden durch Cabezas die Struktur für Gly-Gly mittels einer Fourier transformierten Mikrowellenspektroskopie analysiert und anschließend mittels M06-2X/aug-cc-pVTZ theoretisch verifiziert.

Gleiches gilt für die in der Literatur verfügbaren Quellen für die Struktur Ala-Ala. Di-Alanin wurde hier in der protonierten Form durch Sohn et al. ^[W.Soh] untersucht und wird nachfolgend ebenfalls einem Vergleich der hier gewonnenen Daten unterzogen. Zusätzlich sind an dieser Stelle die theoretischen Rechnungen aus dem Bereich der ab initio Berechnungen durch Wen-Ling Feng ^[W.Fen] zu nennen, da hier ebenfalls unprotonierte Dipeptide in der Gasphase theoretisch untersucht wurden. Somit sind diese Ergebnisse ebenfalls mit denen der in dieser Dissertation ausgearbeiteten Resultate gegenüberzustellen, da in dieser Dissertation die coupled Cluster (CC2) Berechnungen die durchgeführten B3LYP Berechnungen verifizierten.

3.6.1. Literaturvergleich Gly-Gly

Im direkten Vergleich der in dieser Dissertation gewonnenen Ergebnisse mit denen nach Armentrout, liegen bei den theoretischen Ergebnissen nach Armentrout, wie bereits erwähnt protonierte Strukturen vor. Nach Armentrout wurden die in der Abbildung LG.A1 dargestellte Konformation als Endresultat theoretisch bestimmt. Im Vergleich hierzu wurde in dieser Abbildung zusätzlich die in dieser Dissertation bestimmte Struktur nochmals aufgetragen. Hier ist zu erkennen, dass beide Strukturen sich sowohl in der atomaren Lage, als auch in den involvierten Bindungswinkeln sehr ähnlich zu sein scheinen. Lediglich die endständige CH_3 -Gruppe und NH_2 -Gruppe scheinen hier die wesentliche Diskrepanz der beiden dargestellten, optimierten Strukturen zu zeigen, diese liegen nach Armentrout um ca. 180° gedreht vor. Zusätzlich ist erkennbar, dass der mittelständige, doppelt gebundene Sauerstoff in der Struktur von Armentrout minimal in Richtung der endständigen CH_3 -Gruppe und NH_2 -Gruppe geneigt zu sein scheint.

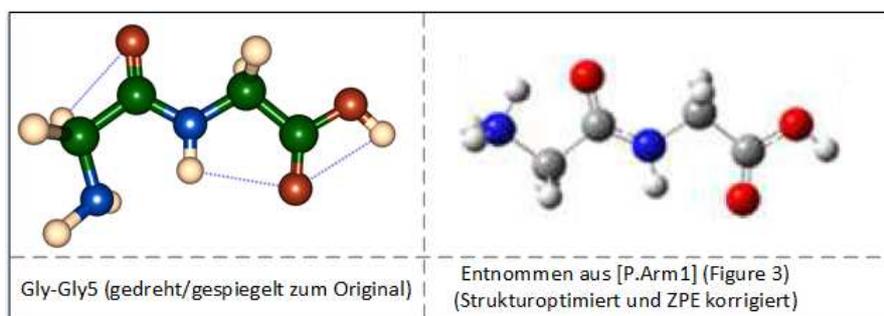


Abbildung (LG.A1): Vergleich der Gly-Gly5 Struktur zur Referenz; Armentrout [P.Arm1]

Es wird in dieser Abbildung die Struktur Gly-Gly5 gegen die aus der Literatur bekannte Struktur um Armentrout aufgetragen. Hierbei wird ersichtlich, dass die beiden dargestellten Strukturen jeweils eine planare Struktur ausweisen. Durch die dargestellte protonierte Struktur in der Literatur, liegen endständige Gruppen dieser Struktur um 180° verdreht zur hier ermittelten Struktur vor. Zusätzlich wurden in der Literatur die

intermolekularen Wechselwirkungen der Struktur nicht dargestellt, was wiederum zu der verdrehten, endständigen Gruppe führen kann.

Unter Berücksichtigung der in der Referenz zugrundeliegenden protonierten Di-Glycin Form, ist eine Änderung der Lage der protonierten Gruppe im Molekül, sowie aller benachbarten Atome im Gly-Gly Gerüst im Vergleich zu den hier vorliegenden Daten dieser Dissertation äußerst wahrscheinlich. Eine übereinstimmende Konformation zwischen der in der Referenz gezeigten Struktur und des in dieser Dissertation erarbeiteten Konformers, ist somit als durchaus realistisch zu erachten, zumal die planare Grundgerüststruktur auch nach Armentrout bestätigt worden zu sein scheint. Zusätzlich steht jedoch, wie bereits in diesem Kapitel einleitend erwähnt, eine weitere Referenz in Bezug auf die Optimierungsrechnungen der Struktur Gly-Gly zur Verfügung, um die hier entstandenen Resultate zu verifizieren.

Die Arbeit um Carlos Cabzas beschäftigt sich neben den theoretischen Berechnungen für Gly-Gly, ebenfalls mit der experimentellen Konformationsbestimmung dieser Struktur. Hierbei werden wie in den in dieser Dissertation durchgeführten Experimenten, die Proben ebenfalls mittels einer Laser Desorptionsmethode, neutral in die Gasphase überführt und anschließend über eine Überschallstrahldüse adiabatisch gekühlt. Die nachfolgend durchgeführten Messungen unterscheiden sich allerdings von denen, die in dieser Dissertation zugrunde liegen. Hierbei wurden in der Arbeit um C.Cabzas die neutralen, kalten Moleküle mittels einer Fourier-transformierten Mikrowellenstrahlung, rotationsaufgelöst über eine ^{14}N -Methode bestimmt. Auf die experimentellen Unterschiede sollen an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden, da hier die Aussage von größerer Bedeutung ist, in wieweit die unterschiedlichen experimentellen Methoden, in Kombination mit den jeweils durchgeführten theoretischen Berechnungen, zu gleichen Ergebnissen führten und ob die erzielten Resultate sich somit gegenseitig verifizieren können. In Abbildung LG.A2 wurden für den visuellen Vergleich der Konformere, diese nebeneinander aufgetragen.

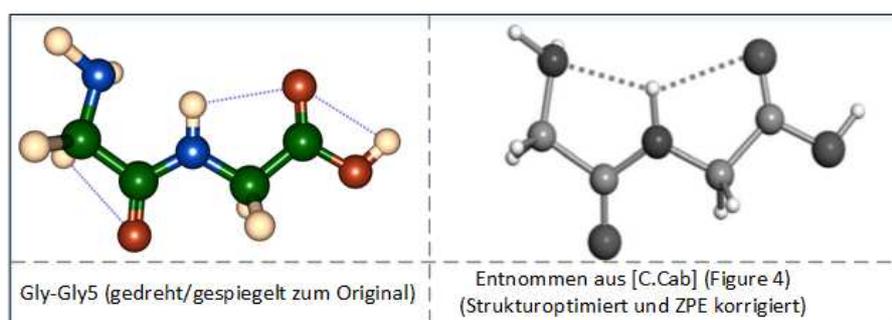


Abbildung (LG.A2): Vergleich der Gly-Gly5 Struktur zur Referenz; C.Cabzas [C.Cab]

Die direkte Gegenüberstellung der der Strukturen zeigt eine gute Übereinstimmung dieser. Hierbei weisen beide Strukturen eine planare Grundstruktur auf und unterscheiden sich im visuellen Sinne nicht in ihrer räumlichen, atomaren Konformation. Die jeweilige Ermittlung der Wasserstoffbrücken viel bei beiden Strukturen unterschiedlich aus, wobei dies auch im Sinne von Berechnungsungenauigkeiten zu erklären ist.

In der hier erwähnten Arbeit um Cabzas wurde für die Verifizierung der experimentellen Daten ebenfalls eine semi-empirischen Methode, ebenfalls mit dem Basissatz pVTZ verwendet. Gemäß Abbildung LG.A2 wird ersichtlich, dass nach Cabezas die die involvierte atomare Konfiguration grundsätzlich der in dieser Dissertation ermittelten Konfiguration entspricht.

In Bezug auf die in dieser Dissertation ermittelten intermolekularen Wechselwirkungen, unterscheiden sich diese Resultate von denen, die durch Cabezas dargestellt wurden. Nach Cabezas wird angenommen, dass die genannten Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der endständigen -NH_2 Gruppe, dem mittelständigem Wasserstoffatom und dem Carbonylsauerstoff entsteht. Von chemischen Standpunkt aus, sind wie bekannt sowohl Sauerstoff, als auch Stickstoff in der Lage Wasserstoffbrücken auszubilden. Sauerstoff überwiegt jedoch im Sinne der elektronegativen Eigenschaften denen von Stickstoff. Eine Ausbildung der in dieser Dissertation gezeigten Wasserstoffbrücken ist somit zwar theoretisch wahrscheinlicher, jedoch ist die nach Cabezas gezeigte Darstellung nicht auszuschließen. Neben der Elektronegativität, sind hier die geometrischen Einflüsse und Abhängigkeiten der atomaren Abstände anzuführen, welche ebenfalls einen Einfluss auf die Ausbildung der gezeigten Wasserstoffbrücken Einfluss nehmen. Hinsichtlich der geometrischen Einflüsse ergibt sich die Möglichkeit, dass die jeweils verwendeten Berechnungsmethoden zur Ermittlung der intermolekularen Wechselwirkungen somit unterschiedliche Resultate liefern. Gleiches gilt für die ebenfalls in Abbildung LA.A2 gezeigten Wechselwirkungen für Gly-Gly5, zwischen dem doppelt gebundenem Sauerstoffatom, sowie den Wasserstoffatomen der benachbarten CH_2 Gruppe.

Die in der Arbeit nach Cabezas verwendete Berechnungsmethode zur Bestimmung der atomaren Konformation von Gly-Gly, eignet sich vor allem zur Bestimmung von molekularer Kinetik. In der Arbeit nach Cabezas wurde diese Methode für diese Bestimmung verwendet. Hinsichtlich des mittleren absoluten Fehlers liegt dieser in der Berechnungsmethode M06-2X, mit dem verwendeten Basissatz, ungefähr 30% über dem der in dieser Dissertation verwendeten Methoden zur alleinigen Bestimmung der Konformation^[S.Vya]. Eine Ausbildung der in der Abbildung LG.A2 gezeigten, linken Konformation ist somit weiterhin als wahrscheinlicher anzusehen.

Neben den in dieser Dissertation durchgeführten B3LYP Berechnungen, wurden zur weiteren Verifizierung der Mess- und Berechnungsergebnisse, Berechnungen aus dem Bereich der ab initio Berechnungen durchgeführt. Die hier verwendete coupled cluster Methode, mit dem Basissatz cc-pVTZ führte ebenfalls zur oben gezeigten Konformation. Im Hinblick auf die errechneten Total -und Nullpunktsenergien lag hier die gleiche Reihenfolge der gezeigten, potentiellen Konformere vor, jedoch wurden durch die CC2 Berechnung im absoluten Sinne höhere Energien errechnet, als durch die B3LYP Methode. Das Vorliegen gleicher Konformationen liefert neben der Verifizierung der B3LYP Ergebnisse die Aussage, dass eine Verwendung aufwendigerer und kostenintensiverer Berechnungsmethoden, bei den hier durchgeführten Untersuchungen keinen wesentlichen Vorteil verschafft.

3.6.2. Literaturvergleich Ala-Ala

Der direkte Vergleich zwischen der in dieser Dissertation mittels der bereits mehrfach erwähnten B3LYP Methode berechneten, energetisch niedrigsten Struktur, sowie der in der Literatur um Sohn ^[W.Soh] erarbeiteten Konformation wurden nachfolgend in Abbildung LA.A1 einander gegenübergestellt.

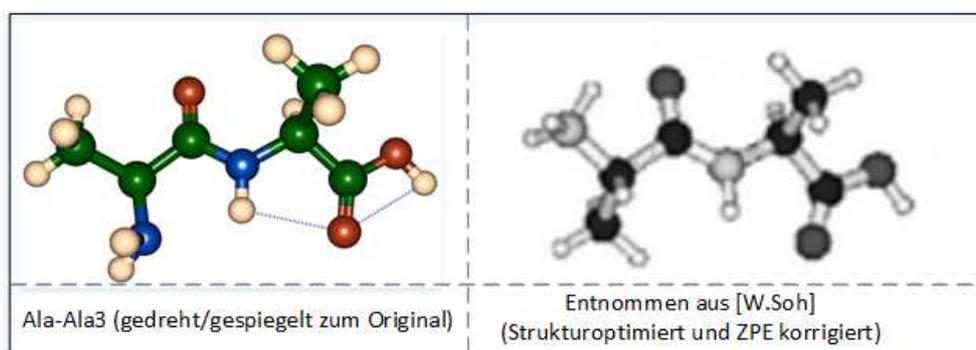


Abbildung (LA.A1): Vergleich der Ala-Ala3 Struktur zur Referenz; Woon Yong Sohn et al. [W.Soh]

In dieser Abbildung wurden die mittels der B3LYP Berechnung erzielte Strukturkonformation gegen die Konformation der Referenz nebeneinander aufgetragen. Es ist erkennbar, dass eine starke Übereinstimmung der beiden Strukturen besteht. Lediglich die endständige, protonierte Sektion der Literaturstruktur ist vermutlich aufgrund der Protonierung um 180° verdreht.

Aus der in Abbildung LA.A1 dargestellten Gegenüberstellung wird ersichtlich, dass sich die beiden Konformere in der generellen räumlichen Orientierung kaum unterscheiden. Nach Sohn et al. liegt in der dargestellten Form die betrachtete Struktur in seiner protonierten Form für. Aufgrund dieser Tatsache wurden bereits beim Analyten Gly-Gly einige Unterschiede hervorhoben. Auch bei der hier gezeigten Struktur liegen einige Unterschiede im Vergleich zur in dieser Dissertation nicht protonierten Struktur vor, welche auf diese zurückzuführen ist. In

diesem konkreten Fall liegt die endständige $\text{-NH}_{2(3)}$ -Gruppe protoniert vor. Aus diesem Grund scheint diese im Vergleich zur links dargestellten Struktur aus vermutlich sterischen Gründen, zusammen mit der anliegenden CH-Gruppe räumlich um ca 180° gedreht vorzuliegen.

In der hier gezeigten, optimierten Struktur Ala-Ala3 wurde neben der räumlich optimierten Struktur, zusätzlich noch eine potentielle, intermolekulare Wasserstoffbrücke bestimmt. Diese Art der Untersuchung wurde nach Sohn et al. nicht explizit dargestellt. Eine für die Verifizierung der in dieser Dissertation generierten räumlichen Struktur für Ala-Ala in der Gasphase, steht in der Literatur nicht zur Verfügung. Dennoch liefert die hier gezeigte protonierte Form der Literatur, wenn auch nur eingeschränkt die Aussage, dass die in dieser Dissertation ermittelte Struktur der energetisch und somit auch am ehesten dem Experiment zugehörigen Struktur entspricht.

Im weiteren Vergleich steht die mehrfach erwähnte Berechnung der coupled cluster Methode der Ala-Ala3 Struktur. Aufgrund der sich stark unterscheidenden Art der Berechnung und der zugrundeliegenden Grundparameter zwischen semi-empirischen und ab initio Berechnungen, ist das Erzielen einer gleichen räumlichen Struktur ebenfalls als durchaus hinreichende Verifizierung der Daten zu sehen. In Abbildung LA.A2 wurden die Konformere aus den Berechnungen nach B3LY und CC2 einander gegenübergestellt. Neben der hier sichtbaren Übereinstimmung der beiden räumlichen Konfigurationen der beiden Konformere ist ebenfalls die gute Übereinstimmung des jeweiligen theoretischen Spektrums mit den experimentellen Daten nochmals hervorzuheben.

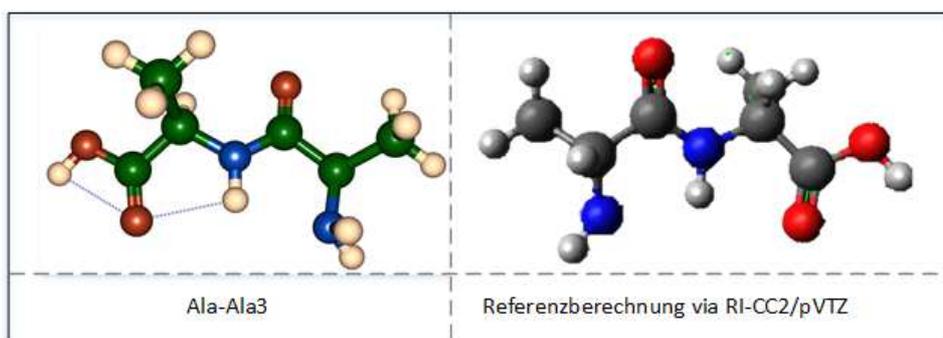


Abbildung (LA.A2): Vergleich der Ala-Ala3 Struktur zur Referenzberechnung via RI-CC2/pVTZ

In dieser Abbildung wurden die mittels der B3LYP Berechnung erzielte Strukturkonformation gegen die Konformation der Referenzberechnung der ab initio Methode RI-CC2/pVTZ nebeneinander aufgetragen. Erkennbar ist hier die Übereinstimmung der beiden Strukturen und der somit gegebenen Verifizierung der in dieser Dissertation bestimmten Struktur Ala-Ala3.

Auch im Vergleich der errechneten Total- und Nullpunktenergien, der durch die CC2 Methode berechneten Strukturen, die gleiche Reihenfolge wie bei den B3LYP Berechnungen, sowie eine in Summe höhere Energie als bei den B3LYP Berechnungen vorgefunden. Weiterhin

zeigt die CC2 Berechnung aufgrund der übereinstimmenden Struktur zu B3LYP, dass für die hier durchgeführte Art der Berechnungen die effektive, aber dennoch günstige Methode B3LYP als ausreichend erweist.

Literaturverzeichnis

[A.Bec1]	-	A. D. Becke; J. Chem. Phys. 98, 5648, 1993
[A.Hell]	-	A. Hellweg, S. Grün, and C. Hättig. Benchmarking the Performance of Spin-Component Scaled CC2 in Ground and Electronically Excited States. Phys. Chem. Chem. Phys., 10:1159–1169, 2008
[A.Kan]	-	A. Kantrowitz, J. Grey, Rev. Sci. Instrum. 22, S.:328,1951
[A.Kun1]	-	A. H. Kong, J. F. Young, S. E. Harris, AppJ. Phys. Left. 1973, 22, X1-302; 28, 294, 1976
[A.Rij1]	-	Rijs, Anouk M., Oomens, Jos, Gas-Phase IR Spectroscopy and Structure of Biological Molecules , Page 3-5, Springer International Publishing Switzerland, ISBN 978-3-319-19204-8, 2015
[J.Rei]	-	John F. Reintjes. Nonlinear Optical Parametric Processes in Liquid and Gases. Academic Press Inc. Orlando, Florida, 1984.
[A.Rij2]	-	Cirtog, M.Rijs,A.M.; Loquais, Y.; Brenner, V.r.; Tardivel, B.; Gloaguen, E; Mons, M.Far, mid-infrared signatures of solvent-solute interactions in a microhydrated model peptide chain. J. Phys. Chem Lett, 3, 3307-3311, 2012
[A.Rij3]	-	Jaeqx, S; Oomens, J.; Cimas, A; Gageot, M.P.;Rijs,A.M. Gas-phase peptide structures unraveled by far-IR spectroscopy: combining IR-UV ion-dip with Born-Oppenheimer molecular dynamics simulations. Angew. Chem, 126, 3737-3740, 2014
[A.Sch1]	-	Andreas Schiefke, Dissertation, Universität Düsseldorf, 1995
[B.Dew1]	-	B. M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Heady, and J. J. P. Steward. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Model. J. Am. Chem. Soc., 107:3902–3909, 1985
[B.Dew1]	-	M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Heady, and J. J. P. Steward. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Model. J. Am. Chem. Soc., 107:3902–3909, 1985.
[B.Dew2]	-	M. J. S Dewar, und W. Thiel, Ground States of Molecules. 38. The MNDO Method. Approximations and Parameters. 39. MNDO Results for Molecules containing Hydrogen, Carbon, Nitrogen, and Oxygen. J. Am. Chem. Soc., 99:4899, 4907, 1977
[B.Dew3]	-	M. J. S Dewar, Quantum Mechanical Molecular Models. J. Phys. Chem., 89:2145, 1985
[B.Kin1]	-	B. M. Kincaid: „A short-period helical wiggler as an improved source of synchrotron radiation“. Journal of Applied Physics 48, 2684, 1977
[B.Mam1]	-	Laser assisted reflectron time-of-flight mass spectrometry, Opens overlay B.A. MamyrinOpens overlay, International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes, Volume 131, Pages 1-19, 1994
[B.Opp1]	-	M. Born, R. Oppenheimer, Zur Quantentheorie der Molekeln, Annalen der Physik No.20, 1927
[C. Møl]	-	C. Møller, M.S. Plesset Phys. Rev., 46, 618, 1934
[C.Cab]	-	Cabezas C, Varela M, Alonso JL,The Structure of the Elusive Simplest Dipeptide Gly-Gly, Angew Chem Int Ed Engl., Jun 1;56(23):6420-6425, 2017
[C.Dal]	-	C.Dale Keefe,Jason K.Pearson, Ab initio investigations of dipeptide structures, Journal of Molecular Structure: THEOCHEM,Volume 679, Issues 1–2, 22 June 2004, Pages 65-72

[C.Hät1]	-	C. Hättig. Geometry Optimizations with the Coupled-Cluster Model CC2 Using the Resolution-Of-The-Identity Approximation. <i>J. Chem. Phys.</i> , 118(17):7751–7761, 2003
[C.Hät2]	-	C. Hättig and A. Köhn. Transition Moments and Excited State First-Order Properties in the Second-Order Coupled Cluster Model CC2 Using the Resolution of the Identity Approximation. <i>J. Chem. Phys.</i> , 117:6939–6951, 2002.
[C.Hät3]	-	C. Hättig and F. Weigend. CC2 Excitation Energy Calculations on Large Molecules Using the Resolution of the Identity Approximation. <i>J. Chem. Phys.</i> , 113:5154–5161, 2000
[C.Jac1]	-	Christoph Jacoby, Dissertation, Universität Düsseldorf, 1997
[C.Wil1]	-	William C. Hinds: <i>Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles</i> . Wiley-Interscience, ISBN 0471194107, 1999
[D.5031]	-	DIN 5031 Teil 7 Januar, Strahlungsphysik im optischen Bereich und Lichttechnik, Benennung der Wellenlängenbereiche, 1984
[D.Mic1]	-	Dale, Michael J.; Knochenmuss, Richard; Zenobi, Renato, Graphite/Liquid Mixed Matrices for Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry, <i>Analytical Chemistry</i> . 68 (19): 3321–9, 1996
[D.Mox]	-	David Moxey and Dwight Barkley, Distinct large-scale turbulent-laminar states in transitional pipe flow, <i>PNAS</i> 2010 107 (18) 8091-8096, 2010
[E.Dav]	-	E. R. Davidson and D. Feller. Basis Set Selection for Molecular Calculations. <i>Chemical Reviews</i> , 86(4):681–696, 1986
[F. Wei2]	-	F. Weigend and M. Häser. RI-MP2: First Derivatives and Global Consistency. <i>Theor. Chem. Acc.</i> , 97:331, 1997.
[F.elx1]	-	FELIX Laboratory Brochure of application, selected Specifications of the Felix Laser, 2016
[F.Jen]	-	Frank Jensen, <i>Introduction to Computational Chemistry</i> , 2. Auflage, Wiley, ISBN 978-0-470-01187-4, 2007
[F.Weil]	-	Frank Weinhold, Clark R. Landis, <i>Discovering Chemistry with Natural Bond Orbitals</i> , ISBN: 9781118119969, Appendix E, 2012
[F.Weil1]	-	F. Weigend, A. Kohn, and C. Hättig. Efficient Use of the Correlation Consistent Basis Sets in Resolution of the Identity MP2 Calculations. <i>J. Chem. Phys.</i> , 116(8):3175–3183, February 2002.
[G.Bjo1]	-	G. C. Bjorklund, <i>IEEE J. Quantum Electron.</i> , QE-11, 287-296, 1975
[G.Kin1]	-	G.R. Kinsel, M.V. Johnston, Linear time-of-flight mass spectrometers: Postsource pulse focusing conditions and mass scale, <i>Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes</i> , 91, p. 157, 1989
[G.Meil1]	-	Meijer, G, Devries MS, Hunziker HE, Wendt HR, Laser desorption jet-cooling of organic-molecules, cooling characteristics and detection sensitivity. <i>Appl Phys.B-Photophys Laser Chem</i> 51(6):395–403, 1990
[H.Gün]	-	H. Günzler, H. Gremlich: <i>IR-Spektroskopie: Eine Einführung</i> . 4. Auflage. Wiley-VCH, Weinheim, ISBN 978-3-527-30801-9, S. 165–240., 2003
[H.Jak1]	-	H.D.Jakubke, <i>Peptide</i> , 6ff, 1992
[H.Kat]	-	H.S. Katzenstein, Friedland W.E., New Time-Of-Flight Mass Spectrometer, <i>The Rev. of Sci. Instrum.</i> , 26(4), p.324., 1955
[H.Kra1]	-	Helmut Kraus, <i>Die Atmosphäre der Erde: Eine Einführung in die -Meteorologie</i> , 3. Auflage, ISBN:3-540-20656-6, 2004
[H.Kue1]	-	H.Kuempel, F.Coester, Short-range correlations in nuclear wave functions, <i>Nucl. Phys. Band 17</i> , S. 477–485, 1960

[H.Mic1]	-	Herman, Michel et al, High resolution Fourier transform spectroscopy of jet-cooled molecule; International Reviews in Physical Chemistry, vol. 19, no. 2, pp. 277-325
[H. Pag]	-	H. Page, Y. R. Shen and Y. T. Lee, J. Chem. Phys., 1988, 88, 5362. S. Tanabe, T. Ebata, M. Fujii and N. Mikami, Chem. Phys. Lett., 1993, 215, 347–352.
[H.Pho1]	-	Hamamatsu Photonics K.K.: Characteristics and Applications of Microchannel plates. Technical manual RES-0795
[H. Sai]	-	H. Saigusa and E. C. Lim, J. Phys. Chem., 1991, 95, 2364. C. M. Leavitt, A. B. Wolk, J. A. Fournier, M. Z. Kamrath E. Garand, M. J. V. Stipdonk and M. A. Johnson, J. Phys. Chem. Lett., 2012, 3, 1099–1105.
[ISMB2017]	-	„ http://www.ru.nl/ismb2017/about-ismb/ “- Abgerufen 11.09.2017 (9:46 Uhr)
[I.Pin1]	-	Ifred Pingoud, Claus Urbanke, Arbeitsmethoden der Biochemie, Walter de Gruyter, ISBN 3-11-016513-9, 1997
[J.And1]	-	J. B. Anderson and J. B. Fenn, Velocity Distributions in Molecular Beams from Nozzle Sources; Phys. Fluids 8, 780 ,1965
[J.Car1]	-	Carney JR, Hagenmeister FC, Zwier TS, Hydrogen-bonding topologies of indole-(water)n clusters from resonant ion dip infrared spectroscopy. J.Chem Phys. 108:3379-82, 1998
[J.Don]	-	J.K.L MacDonald, Successive Approximations by the Rayleigh-Ritz Variation Method, Phys. Rev. 43, 830,1933
[J.For1]	-	J. B. Foresman, Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods, Gaussian, 2. Auflage, 111ff, 1995
[J.Gro]	-	J.Grottemeyer, E.W.Schlag, Angewandte Chemie, Volume 27, No.4, S.447-592, 1988
[J.Kol1]	-	J. Kollmann und K. H. Römm, TaschenAtlas der Biochemie, 3. Auflage, p. 60ff, 2003.
[J.Mer]	-	J. Merrick, D. Moran, L. Radom, An Evaluation of Harmonic Vibrational Frequency Scale Factors, J. Phys. Chem. A, 111, 11683-11700, 2007
[J.Mor1]	-	J. W. Morgan, D. H. Russell Tim Scales, Comparative Studies of 193 nm Photodissociation an TOF-TOFMS Analysis of Bradykinin Analogues: The Effects of Charge Site(s) and Fragmentation J. Am. Soc. Mass Spectrom., Bd. 17, p. 721,2006
[J.Neu]	-	J. von Neumann, Mathematische Grundlagen der Quantenmechanik. Springer, Berlin 1932
[J.Pow1]	-	James C. Powers, Mass spectrometry of simple indoles, J. Org. Chem. 33 (5), pp 2044–2050 , 1968
[J.Ste1]	-	James J.P. Steward, Optimization of parameters for semiempirical methods 5, Modification of NDDO approximations and application to 70 elements, J Mol Model 13 1173-1213, 2007
[J.Sun1]	-	Sunner, J.; Dratz, EChen, Graphite surface-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of peptides and proteins from liquid solutions, Y.-C. Anal. Chem, 67, 4335-42, 1995
[K.Ash]	-	Kasha, M. Discussions of the Faraday Society, 1950, 9: p.14-19
[K.Bir]	-	K.P. Birch and M.J. Downs, "Correction to the updated Edlén equation for the refractive index of air," Metrologia 31, 315-316, 1994
[K.Jou1]	-	Karl Jousten , Wutz Handbuch Vakuumtechnik, 7. Auflage Vieweg Verlag Braunschweig/Wiesbaden, Tabelle 17.5, S. 667, 1988
[K.Jou2]	-	Karl Jousten (Hrsg.), Wutz Handbuch Vakuumtechnik, 7. Auflage Vieweg Verlag Braunschweig/Wiesbaden, Tabelle 17.5, S. 25, 1988
[K.L.Const]	-	Tables of Physical & Chemical Constants (16th edition 1995). 2.1.4 Hygrometry. Kaye & Laby Online. Version 1.0 (2005); www.kayelaby.npl.co.uk - Besucht: 07.2016
[L.Eli1]	-	L. R. Elias et al.: „Observation of Stimulated Emission of Radiation by Relativistic Electrons in a Spatially Periodic Transverse Magnetic Field“. Physical Review Letters 36, 717,1976

[L.Lom1]	-	L. Lompré, G. Mainfray, and C. Manus, Multiphoton resonance effects in very high laser fields: twelve-photon ionisation of krypton at 1013 Wcm ⁻² , Journal of Physics B 13, 85.1980.
[L.Sry1]	-	Stryer, L., Biochemistry, 4, 15ff, 1987
[L.Sry2]	-	Stryer, L., Biochemistry, 4. attachment, 1987
[L.Zyc1]	-	L. J. Zych, J. F. Young, IEEE I. Quantum Electron., QE-12, 147-149 1978
[M.Boe1]	-	Böhm, M., Rotationsaufgelöste elektronische Spektroskopie an flexiblen Molekülen und Molekülkomplexen, Dissertation, Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf, 2010.
[M.Bus1]	-	Matthias Busker Dissertation, Universität Düsseldorf, 2009
[L.Sry3]	-	Berg, Jeremy M., Stryer, Lubert, Tymoczko, John L, Stryer Biochemie ISBN 978-3-8274-2989-6, 2013
[M.Mad1]	-	Stimulated Emission of Bremsstrahlung in a Periodic Magnetic Field, John M. J. Madey, J. Appl. Phys. 42, 1906, 1971
[M.Opa1]	-	J. J. P. Steward. MOPAC Version 16.057W, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, 2016
[M.Sch1]	-	M.W. Schmidt, K.K. Baldrige, J.A. Boatz, J.H. Jensen, S. Koseki, M.S. Gordon, K.A. Nguyen, T.L. Windus, S.T. Elbert, QCPE Bulletin, 10, 52, 1990
[M.Vri]	-	M.S. de Vries, H.E. Hunzinger, Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry 106, p.:31-36, 1997
[N. Hei]	-	N. Heine, M. R. Fagiani and K. R. Asmis, J. Phys. Chem. Lett., 2015, 6, 2298–2304.
[O.Chr1]	-	O. Christiansen, H. Koch, and P. Jorgensen. The Second-Order Approximate Coupled Cluster Singles and Doubles Model CC2. Chem. Phys. Lett., 243:409–418, 1995
[O.Rey1]	-	O. Reynolds An Experimental investigation of the Circumstances which Determine Whether the Motion of Water Shall Be Direct or Sinuous, and of the Law of Resistance in Parallel Channels Phils. Trans. R. Soc. Lond. 1883 174, 934-982, 1883
[O.Ric1]	-	O. K. Rice und H. C. Ramsberger, Theories of unimolecular gas reactions at low pressures. II, J. Am. Chem. Soc., Bd. 50, p. 617, 1928
[P.Arm1]	-	P. B. Armentrout, Amy L. Heaton, Thermodynamics and Mechanisms of Protonated Diglycine Decomposition: A Guided Ion Beam Study, J. Am. Soc. Mass Spectrom. (2012) 23:632Y643, 2011
[P.Atk1]	-	P. W. Atkins and R. Friedman. Molecular Quantum Mechanics. Oxford University Press, 5. Auflage, 2011.
[P. Çar]		P. Çarçabal, R. T. Kroemer, L. C. Snoek, J. P. Simons, J. M. Bakker, I. Compagnon, G. Meijer and G. von Helden, Phys. Chem. Chem. Phys., 2004, 6, 4546–4552.
[P.Gil1]	-	Peter M.W. Gill Molecular Integrals Over Gaussian Basis Functions, Advances in Quantum Chemistry. 25: 141–205, 1994
[P.Roe]	-	P. Roepstorff, Fohlman: <i>Proposal for a common nomenclature for sequence ions in mass spectra of peptides. Biomed Mass Spectrom.</i> In: <i>Biomedical Mass Spectrometry.</i> 11, Nr. 11, 1984
[P.Hob]	-	The J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Czechoslovak Academy of Sciences, Dolejškova 3, 18223 Prague, Czechoslovakia
[P.Hoh]	-	P. Hohenberg and W. Kohn. Inhomogeneous Electron Gas. Phys. Rev., 136, B864–B871, 1964
[P.Man1]	-	Paul Manneville Spatiotemporal perspective on the decay of turbulence in wall-bounded flows, Phys. Rev. E 79, 025301(R) – Published 20 February 2009; Erratum Phys. Rev. E 79, 039904, 2009

[R.Ash]	- R.L. Asher, D. Bellert, T. Buthelezi, V. Lewis, P.J. Brucat; A measure of the effective electric-dipole polarizability of argon Chemical Physics Letters Volume 234, Issues 1–3, Pages 113–118, 1995
[R.Cam1]	- Roger Campargue, Atomic and Molecular Beams: The State of the Art, 1. Auflage, -S.918ff, ISBN 3-540-673378-4, 2000
[R.Cra1]	- Rainer Cramer, Advances in MALDI and Laser-Induced Soft Ionization Mass Spectrometry, Springer International Publishing Switzerland, ISBN 978-3-319-04819-2, 2016
[R.Mar1]	- R. A. Marcus, Skiing the Reaction Rate Slopes Journal of Chemical Physics 20, 1959, S.359
[R.Oep1]	- Roepstorff, Fohlman-Biomed. Mass Spectrometry, Vol 11, No.11, 601, 1984
[R.We1]	- U. Boesl 1, R. Weinkauff, E.W. Schlag, Reflectron time-of-flight mass spectrometry and laser excitation for the analysis of neutrals, ionized molecules and secondary fragments, International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes; Volume 112, Issues 2–3, 15, Pages 121-166, 1992
[R.We2]	- R. Weinkauff, JP. Schermann, MS. De Vries, K.Kleinermanns,Eur. Phys. J. D 20, 309–316, 2002
[S.Eki1]	- Seki, K. Ionization Energies of Free Molecules and Molecular Solids. Mol. Cryst. Liq Cryst. Inc. Nonlinear opt. 17 (1), 255-270, 1989
[S.Grim1]	- S. Grimme, Improved Second-Order Moller-Plesset Perturbation Theory by Separate Scaling of Parallel- and Antiparallel-Spin Pair Correlation Energies. J. Chem. Phys., 118(20):9095–9102, 2003.
[S.Koy1]	- Koyambo-Konzapa SJ, Minguirbara A, Nsangou M., Solvent effects on the structures and vibrational features of zwitterionic dipeptides: L-diglycine and L-Dialanine., Aug;21(8):189, 2015
[S.upp]	- Chemistry and Light. Suppan, P. Royal Society of Chemistry, 1994. p.56
[S.Vya]	- Vyacheslav S. Bryantsev et al., Evaluation of B3LYP, X3LYP, and M06-Class Density Functionals for Predicting the Binding Energies of Neutral, Protonated, and Deprotonated Water Clusters, J. Chem. Theory Comput., Vol. 5, No. 4, p:1016-1025, 2009
[T.Dun]	- T. H. Dunning. Gaussian-Basis Sets for Use in Correlated Molecular Calculations. I. The Atoms Boron through Neon and Hydrogen. J. Chem. Phys., 90(2):1007–1023, 1989
[T.Gor1]	- Gorn,T, Bestimmung von Absorbtiionsquerschnitten im ESI-MS, Masterarbeit, Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf 2014
[T.Häb1]	- Thomas Häber. Random Structure Generator
[T.Riz1]	- Rizzo TR, Park YD, Levy DH, A molecular-beam of tryptophan, J Am Chem Soc 107 (1):277–278, 1985
[T.Wat]	- Tony Waters, Industrial Sampling Systems, 1. Auflage, ISBN: 978-0-615-73250-3, 2013
[T.Weid1]	- Johann Weidlein, U.Mueller, K.Dehnicke, Schwingungsspektroskopie; Eine Einführung, 2. Aufl., Thieme, 1988
[U.Boe1]	- EP 0 770 870 A2 EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG 02.05.1997, Patentblatt 18, 1997
[W.Ack1]	- W. Ackermann et al.: „Operation of a free-electron laser from the extreme ultraviolet to the water window“. Nature Photonics 1, 336–342, 2007
[W.Dem]	- W.Demtröder, Laserspektroskopie, 4.Auflage, Springer Verlag Berlin, 2000
[N.Loc1]	- N P. LOCKYER and J C. VICKERMAN;SINGLE PHOTON IONISATION MASS SPECTROMETRY USING LASER-GENERATED VACUUM ULTRAVIOLET PHOTONS; Laser Chem., Vol. 17, pp. 139-159, 1997
[W.Dem1]	- Wolfgang Demtröder: Experimentalphysik 4: Kern-, Teilchen- und Astrophysik, Springer DE, ISBN 3-642-01597-2, S. 26, 2009

[W.Fen]	-	Wen-Ling Feng [†] and Shan Xi Tian, Ab Initio Molecular Dynamics Simulation Study of Dissociative Electron Attachment to Dialanine Conformers, <i>J. Phys. Chem. A</i> , 119 (10), pp 1838–1845, 2015
[W.Soh]	-	Woon Yong Sohn, Jae Shin Lee, Structure and Conformational Stability of Protonated Dialanine, <i>J. Phys. Chem. A</i> , , 114 (28), pp 7537–7543, 2010
[W.Wil1]	-	W. C. Wiley and I. H. McLaren, Time-of-Flight Mass Spectrometer with Improved Resolution, <i>Rev.Sci.Instrum.</i> , 26, 1150, 1955
[Y.Pom1]	-	Pomeau, Front motion, metastability and subcritical bifurcations in hydrodynamics Front motion, metastability and subcritical bifurcations in hydrodynamics, <i>Physica D: Nonlinear Phenomena Physica D: Nonlinear Phenomena</i> , Volume 23, Issues 1–3, December, Pages 3–11, 1986

Abbildungs- Formel- und Tabellenverzeichnis

Abbildungen

Kapitel	Kennzeichnung	Name
Aminosäuren und Peptide	AS.A1a	Acetamidbildung (vereinfacht)
	AS.A1	Peptidaufbau, sowie beispielhafte Darstellung jeweils benannter Fragmente.
Intermolekulare Bewegungen	IB.A1	Übersicht über mögliche Schwingungsmoden (exemplarisch für NH ₂)
Laser-Desorptionsprozesse in biologischem Probenmaterial	LD.A1	Schematische Darstellung der verwendeten Laser Absorption Methode
FELIX	FX.A1	Schematische Darstellung des FELIX Systems
Quantenchemische Ab initio -und semi-empirische Optimierungsmethoden	QS.A1	Übersicht über verwendete Optimierungsmethoden
	QS.A2	Linear Kombination bindender Orbitale
Übersicht über das Messsystem	ÜM.A1	Versuchsanordnung
Das Vakuumsystem	VS.A1	Genereller schematischer Aufbau der Messapparatur
	VS.A1	Koaleszenzfilter
Das Einlasssystem	EL.A1	Schematische Darstellung der verwendeten Pulsdüse
Die Pulsdüse	PD.A1	Charakterisierung der spezifischen Pulsdüsen Öffnungs- und Verschlusszeiten.
	PD.A2	Darstellung der Pulsdüsenreaktionszeit
	PD.A3	Schematische Darstellung des räumlichen und zeitlichen Strahlprofils und abh. zu den Umgebungsvariablen
Ionenoptik	IO.A1	Schematische Darstellung der Ionenoptik

Kapitel	Kennzeichnung	Name
	IO.A2	Schematische Darstellung des Detektors
Detektion und Signalverstärkung	SG.A1	Darstellung der messgerätespezifischen Signalverläufe
	SG.A2	Darstellung der messgerätespezifischen Synchronisationszeiten für Argon/Indol
Reflektron im FELIX Aufbau	RT.A1	Reflektron
Probenvorbereitung und Aufbau	DB.A1	Probenhalter
	DB.A2	Schematischer Desorptionsvorgang
Gaszelle Im FELIX Aufbau	GZ.A1	Schematische Darstellung des Gaszellenaufbaus
Photoionisationsprozesse	PI.A1	Schematische Darstellung des allg. Jablonski Diagramms
	PI.A2	Nicht resonante MPI und 1-VUV PI
	PI.A3	Schematische Darstellung; Ion-Dip Methode
	PI.A4	Massensignalreduzierung durch Fragmentierung
Theoretische Optimierungsrechnungen in Bezug Gly-Gly und Ala-Ala	DF.A1	Prinzipieller Ablauf der Strukturermittlung
Experimentelle Datenanalyse	ED.A1	Messverlauf zur Bestimmung von Gly-Gly, mit und ohne FELIX Einwirkung
	ED.A2	Messverlauf zur Bestimmung von Ala-Ala, mit und ohne FELIX Einwirkung
	ED.A3	Aufbereitetes, experimentelles Absorptionsspektrum: Gly-Gly
	ED.A4	Aufbereitetes, experimentelles Absorptionsspektrum: Ala-Ala

Kapitel	Kennzeichnung	Name
Theoretische Datenanalyse	TD.A1G	Ermittelte Konformere und deren energetische Lage auf der hyperbolischen Fläche (Gly-Gly)
	TD.A1A	Ermittelte Konformere und deren energetische Lage auf der hyperbolischen Fläche (Ala-Ala)
	TD.A2	Intensitäten und Lagen der theoretischen Schwingungszustände von Gly-Gly5 (564 und 1820 cm ⁻¹)
	TD.A3	Intensitäten und Lagen der theoretischen Schwingungszustände von Ala-Ala3 (625 bis 1833 cm ⁻¹)
	TD.A4	Theoretische Absorptionsspektrum Glg-Gly5, gefaltet: mittl. Gaußbreite: 23ccm ⁻¹)
	TD.A5	Theoretische Absorptionsspektrum Ala-Ala3, gefaltet: mittl. Gaußbreite: 32ccm ⁻¹)
Vergleich der Experimentellen und Theoretischen Daten	VE.AG1	Theoretische/experimentelle Spektren Gly-Gly
	VE.AG2	Vergrößerte theoretische/experimentelle Spektren Gly-Gly
	VE.AG3	Schwingungszuordnung: Gly-Gly
	VE.AA1	Theoretische/experimentelle Spektren Ala-Ala
	VE.AA2	experimentelle Schwingungszuordnung: Ala-Ala
Relative Zustandsdichten Gly-Gly und Ala-Ala	RZ.A1	Errechnete Zustandsdichten für die Konformere Gly-Gly5 und Ala-Ala3
	RZ.A2	Errechnete Zustandsdichten für die Konformere Gly-Gly5 und Ala-Ala3 inkl. Berechneter, Zustandsdichte aus RZ.A1
Literaturvergleich Gly-Gly	LG.A1	Vergleich der Gly-Gly5 Struktur zur Referenz; Armentrout [P.Arm1]
	LG.A1	Vergleich der Gly-Gly5 Struktur zur Referenz; C.Cabzas [C.Cab]
Literaturvergleich Ala-Ala	LA.A1	Vergleich der Ala-Ala3 Struktur zur Referenz; Woon Yong Sohn et al. [W.Soh]
	LA.A2	Vergleich der Ala-Ala3 Struktur zur Referenzberechnung via RI-CC2/pVTZ

Formeln

Kapitel	Kennzeichnung	Name
FELIX	FX.G1	Lorenzfaktor/Frequenzverschiebung
	FX.G2	Undulatorparameter
	FX.G3	Wellenlängenabhängigkeit
Photoionisationsprozesse	PI.G1	Photonenanzahl zur Ionisation
Quantenchemische Ab initio - und semi-empirische Optimierungsmethoden	QS.G38	Gesamtenergie eines Systems
	QS.G1	Schrödinger Gleichung
	QS.G2	Hamiltonoperator
	QS.G3	Hartree-Fock Beziehung
	QS.G4	Salter-determinate
	QS.G5	Gauss-Typ-Orbitale
	QS.G6	Radialer Funktionsanteil
	QS.G7	Hartree-Fock Beziehung
	QS.G8	HF Operator in seiner generellen Form
	QS.G9	HF Operator- Kernsummierung
	QS.G10, QS.G11, QS.G12	Coulomb-operators/ Austauschoperator
	QS.G13	Energie eines Moleküls
	QS.G14-16	Energie zweier Moleküle
	QS.G17	Kohn-Sham Funktionen
	QS.G18	Absolutwert der Wellenfunktion
	QS.G19	Wechselwirkungspotential im Mehr-elektronensystem
	QS.G20	Hamilton Operator/ beaufschlagter Störungseinfluss
	QS.G21	Störungseinfluss/Spin-Orbitale
	QS.G22	Wellenfunktion Potenzreihenentwicklung
	QS.G23	Energie Potenzreihenentwicklung
	QS.G24	Schrödingergleichung nach Potenzreihenentwicklung
	QS.G25-27	Störungsgleichungen für drei Elektronen
	QS.G28	Summe der Eielektronen-Fockoperatoren
	QS.G29	Störungsfunktionen in Fockoperatoren
	QS.G29a- G30	Energieoperatorwerte inkl. Störeinfluss
	QS.G31	Energieoperatorwerte inkl. Störeinfluss für $E^{(2)}$
	QS.G32	Totalenergie MP2
	QS.G33	Totalenergie-Amplituden MP2
	QS.G34- G37	Spin-Orientierung der Elektronen MP2

	QS.G39	Schrödingergleichung /Hamiltonoperator (coupled Cluster)
	QS.G40	Wellenfunktion/ Cluster-Operator
	QS.G41	Taylorreihenentwicklung coupled Cluster
	QS.G42	Spin-Orientierung
Das Vakuumsystem	VS.G1	freie mittlere Weglänge
Die Pulsdüse	PD.G1	Maxwell-boltzmann Verteilung
	PD.G2	Berechnung der Reynoldszahl
	PD.G3	Berechnung der Totalenthalpie
	PD.G4	Berechnung der Machzahlen
	PD.G5	Die lokale Schallgeschwindigkeit
	PD.G6	Machzahl/Kühleffekt
	PD.G7	Poisson-gleichung
Ionenoptik	IO.G1	Berechnung der Flugzeiten
	IO.G2	Berechnung der Auflösung
	IO.G3	Trennbarkeit zweier Massen
	IO.G4, IO.G5	Fokusberechnung
	IO.G6	Maximale Masse
Detektion und Signalverstärkung	SG.G1	Wärmeleitfähigkeitskoeffizienten

Tabellen

Kapitel	Kennzeichnung	Name
Aminosäuren und Peptide	AS.T1	Natürliche Aminosäuren, mit molarer Masse und Klassifizierung
	AS.T1	Aminosäuresymbolik
FELIX	FX.T1	Systemspezifikationen des verwendeten FEL der Radboud University of Nijmegen
Das Vakuumsystem	VS.T1	Ansteuerungslegende der verwendeten TOF-MS Apparatur
Ionenoptik	IO.T1	Darstellung der Beschleunigungs- und Fokussierparameter der verwendeten Ionenoptik
Darstellung, Aufbereitung und Diskussion der Ergebnisse	DA.T1	Abschätzung der notwendigen Photonenzahl im experimentellen Verlauf
Vergleich der experimentellen und theoretischen Daten	VE.T1	Wellenzahlnormierung der exp. Daten der Analyten Ala-Ala, Gly-Gly entsprechend ED.A3 bzw. ED.A4
Vergleich der Experimentellen und Theoretischen Daten	VE.TG1	Zuordnung der theoretischen Schwingungsmoden (Gly-Gly)
	VE.TA1	Zuordnung der theoretischen Schwingungsmoden (Ala-Ala)
Relative Zustandsdichten Gly-Gly und Ala-Ala	RZ.T1	Beispielhafte Darstellung der möglichen Zustände und Zustandsdichten (Ala-Ala3)

Anhang 1: Semiempirische- und ab-initio Berechnungsdetails

B3LYP; Turbomole Definition

```

a coord      Add Atomic Coordinates from File<file>
ired         Redundant internal coordinates
*           Terminate molecular Geometry specification and write geometry data
            into Control file
b all cc-    Assign atomic Basis Sets --> cc-pVTZ (T.H. Dunning; JCP 90, 1007 (1989)
pVTZ
*           Terminate this section and write data or data referrence to control
eht         Provide MOS && Occupation numbers from extended Hueckel Guess
y           Do you want the default Paramenters for the extended Hueckel Calcula-
            tion ?
0           Enter the molecular Charge
y           Do you accept this occupation? (default= y)
dft         DFT parameters
on          to switch on DFT
func b3-lyp DFT is used. Enter Functional you want to change to
*           terminate this menu

```

Coupled Cluster (CC2); Turbomole Definition

```

a coord      Add Atomic Coordinates from File<file>
*           Terminate molecular Geometry specification and write geometry data
            into Control file
no          You did not yet define any interna Coordinate: Only an incomplete set
            of -1 internals specified Recommendation: Use Carteisan coordinates
            (Enter "no" Below)
b all cc-    Assign atomic Basis Sets --> cc-pVTZ (T.H. Dunning; JCP 90, 1007
pVTZ        (1989)
*           Terminate this section and write data or data referrence to control
eht         Provide MOS && Occupation numbers from extended Hueckel Guess
y           Do you want the default Paramentersfor the extended hueckel Calcula-
            tion ?
0           Enter the molecular Charge
y           Do you accept this occupation? (default= y)
scf         select NON-default SCF parameter
conv       accuracy of SCF-energy
8          your input has to be in integer in the range 4-9
iter       maxium number of iterations
50         enter new value for maximum number of scf-iterations
enter      back
cc         options and data groups for ricc2
cbas      assign auxilary (CBAS) Basis Sets
bl        List Atomic Basis sets assigned
*         End this section and save data on file control

```

ricc2	Data group \$ricc2 (Models and global options)
geopt	optimize geometry for wavefunction (y) and state (x)
*	write \$ricc2 to file and leave the menu
memory	set maximum core memory (present value 500mb)
8192	memory which should be used in mb
*	Save definitions and leave menu
*	End of define session