



Masterarbeit

Entwicklung einer Python-Anwendung zur Isotopenmustererkennung und Ligandenanalyse von Massenspektren vermessen mit einem Orbitrap-Massenanalysator

Vorgelegt von: Anna Lina Kogiomtzidis

Matrikelnummer: 3235000

24. September 2021

Fakultät für Mathematik und Physik Institut für Radioökologie und Strahlenschutz Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

Erstprüfer: Prof. Dr. Clemens Walther **Zweitprüfer:** Prof. Dr. Klaus Wendt

Betreuerin: Julia Stadler, MSc.

Eigenständigkeiterklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe. Ich versichere, dass ich keine anderen als die angegebenen Quellen benutzt und alle wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommenen Aussagen als solche gekennzeichnet habe und dass die eingereichte Arbeit weder vollständig noch in wesentlichen Teilen Gegenstand eines anderen Prüfungsverfahrens gewesen ist.

Hannover, den 24. September 2021

Anna Lina Kogiomtzidis

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung				
2.	Grundlagen der Massenspektrometrie	3			
	2.1. Elektrospray-Ionisation	4			
	2.1.1. Prinzip	4			
	2.1.2. Messartefakte	5			
	2.2. Das Orbitrap Elite-Massenspektrometer	7			
	2.2.1. Der Orbitrap-Massenanalysator	(
	2.2.2. Fouriertransformation und Datenverarbeitung	13			
3.	Grundlagen der Komplexchemie	15			
	3.1. Europium und Liganden	15			
	3.2. Uran	19			
	3.3. Zirconium	19			
4.	Programmierung	21			
	4.1. Objektorientierte Programmierung in Python	21			
	4.2. Aufbau des Programms	22			
	4.2.1. Das Python-Paket	22			
	4.2.2. Die grafische Benutzeroberfläche	24			
	4.3. Implementierung der Kernfunktionalitäten	28			
	4.3.1. Datenverarbeitung \ldots	28			
	4.3.2. Elementsuche	30			
	4.3.3. Speziessuche	31			
5.	Experimentelle Arbeit	33			
	5.1. Herstellung der Lösungen	33			
	5.2. Messungen mit dem Orbitrap-Massenspektrometer	35			
	5.3. Auswertung	36			
6.	Evaluation und Parameterfindung	43			
	6.1. Vergleich der Datenverarbeitungsmethoden	43			
	6.2. Parameterfindung für die Elementsuche	45			
	6.3. Speziessuche	54			
7.	Zusammenfassung und Ausblick	59			
Lit	teratur	61			
Ab	obildungsverzeichnis	69			
Та	bellenverzeichnis	71			
Α.	Anhang	73			
	A.1. Speziationsdiagramme	73			

A.2. Details zur Programmierung	75
A.2.1. Liste der verwendeten Python-Pakete	75
A.2.2. Berechnung der Korrelationswertung für die Speziessuche	75
A.3. Verwendete Chemikalien	77
A.4. Konzentrationen und pH-Werte	78
A.4.1. Europium	78
A.4.2. Säuren	79
A.4.3. Uran	79
A.4.4. Zirconium	80
A.5. Identifzierte Spezies	81
A.6. Spektren	87
Danksagung	97

1. Einleitung

Die Massenspektrometrie ist ein weites und komplexes Themenfeld, das viele naturwissenschaftliche Disziplinen vereint. Sind die verwendeten Methoden und ihre Anwendungen auch vielfältig, so lassen sie sich doch auf dasselbe grundlegende Prinzip zurückführen. Letztlich gilt es immer, die verschiedenen Komponenten einer zu untersuchenden Probe anhand ihrer Masse voneinander zu trennen und ihre Anteile zu quantifizieren.

In den meisten Fällen erfolgt diese Trennung allerdings nicht nur nach der Masse, sondern nach dem Masse-zu-Ladungsverhältnis. Detektiert werden also nur elektrisch geladene Teilchen. Daher müssen vorher Ionen aus der Probe erzeugt oder extrahiert werden. Für diesen Zweck stehen heute diverse verschiedene Ionisierungsmethoden zur Verfügung, die sich in ihrem Resultat zum Teil erheblich voneinander unterscheiden.

In dieser Arbeit wurde eine Elektrospray-Ionisationsquelle zusammen mit einem Orbitrap-Massenspektrometer verwendet. Diese Kombination zeichnet sich durch eine besonders sanfte Ionisation bei gleichzeitig hohem Auflösungsvermögen aus. Selbst große Makromoleküle bleiben dabei zu weiten Teilen erhalten. Daher eignet sich die Elektrospray-Ionisation (ESI) besonders gut zur massenspektrometrischen Charakterisierung von chemischen Systemen. Der Hauptanwendungsbereich liegt dabei in der Untersuchung von biologischen Proben, beispielsweise zur Identifizierung und Erforschung von Stoffwechselprodukten.

Aber auch in der Radioökologie ist die Speziation von Radionukliden in der Umwelt von großem Interesse. Beispielsweise können die vorliegenden chemischen Verbindungen erhebliche Auswirkungen auf das Transportverhalten eines Radionuklids innerhalb eines ökologischen Systems haben. Dieses Thema ist vor allem im Kontext der (End-)Lagerung von radioaktiven Abfällen oder auch im Hinblick auf kerntechnische Unfälle von Bedeutung. Daher handelt es sich bei der aquatischen Chemie von radioaktiven Elementen um ein höchst relevantes Themenfeld innerhalb der Radioökologie.

Bei der Analyse von chemischen Systemen mittels Massenspektrometrie stehen neben dem Masse-zu-Ladungsverhältnis noch weitere Informationsquellen zur Verfügung. Beispielsweise treten viele Elemente natürlicherweise in Form mehrerer Isotope auf. Da diese Isotope sich in ihrer Masse unterscheiden, zeigt sich also pro Spezies im Spektrum nicht nur ein Signal, sondern eine Peakgruppe entsprechend der Anzahl verschiedener Isotope. Die Massenabstände und Intensitätsverhältnisse dieser Signale sind dabei durch die Massendifferenzen und relativen Häufigkeiten der beteiligten Isotope definiert. Diese Parameter sind dabei für die meisten Elemente innerhalb gewisser Grenzen gut charakterisiert.

Gegenstand dieser Arbeit ist die Programmierung einer Python-Anwendung zur teilautomatisierten Auswertung von Massenspektren auf Grundlage dieser Informationen. Im Fokus stehen dabei zwei verschiedene Anwendungsmöglichkeiten. Zum einen wurde eine allgemeine Isotopenmustererkennung implementiert. Dabei sollen innerhalb eines Massenspektrums alle Peakgruppen identifiziert werden, die zum charakteristischen Isotopenmuster eines vorgegebenen Elementes passen. Auf diese Weise sollen Signale dem gesuchten Element zugeordnet werden.

Darüber hinaus wurde eine Funktion zur Suche von chemischen Verbindungen ent-

1. Einleitung

wickelt. Dabei wird ausgenutzt, dass sich das Isotopenmuster einer Spezies anhand der Isotopenhäufigkeiten der beteiligten Elemente berechnen lässt. Diese theoretische Vorhersage wird mit den Messdaten verglichen, um zu beurteilen, ob die fragliche Verbindung in der Probe enthalten sein könnte oder nicht.

Schließlich wurde das entwickelte Programm getestet und evaluiert, um eine Einschätzung seiner Leistungsfähigkeit und geeigneter Betriebsparameter zu erarbeiten. Dafür wurden Spektren von einigen Elemente in verschiedenen chemischen Umgebungen aufgenommen und ausgewertet, um die Resultate anschließend mit den Ergebnissen der Python-Anwendung zu vergleichen.

Zu diesem Zweck wurden stellvertretend die Elemente Europium, Zirconium und Uran mit ihren natürlichen Isotopenverhältnissen ausgewählt. Europium besitzt mit ¹⁵¹Eu und ¹⁵³Eu zwei stabile Isotope mit sehr ähnlichen Häufigkeiten von 47,8 % bzw. 52,2 %. Zirconium hingegen zeigt mit den Isotopen ⁹⁰Zr (51,5 %), ⁹¹Zr (11,2 %), ⁹²Zr (17,2 %), ⁹⁴Zr (17,4 %) und ⁹⁶Zr (2,8 %) einen etwas komplexeren isotopischen Fingerabdruck. Durch Betrachtung von Uran, das hauptsächlich in Form von ²³⁸U vorliegt und nur einen kleinen Anteil ²³⁵U von ca. 0,7 % aufweist, sollen die Grenzen der hier entwickelten Methoden ausgetestet werden. [1]

Nach einer Einführung in die Grundlagen der Massenspektrometrie und der aquatischen Chemie der betrachteten Elemente in Kapitel 2 und 3 gibt Kapitel 4 einen Überblick über Aufbau und Funktionalität des Programmes. Ausführungen zur experimentellen Arbeit finden sich in Kapitel 5. Kapitel 6 widmet sich schließlich den Ergebnissen und der Diskussion der Evaluation.

2. Grundlagen der Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie stellt heute ein wichtiges Werkzeug zur Analyse der elementaren oder chemischen Zusammensetzung verschiedenster Proben dar. Je nach Anwendungszweck unterscheiden sich die dabei verwendeten Geräte und Methoden erheblich voneinander. In dieser Arbeit wurde ein Orbitrap-Massenspektrometer in Verbindung mit einer Elektrospray-Ionisationsquelle verwendet. Eine ausführlichere Beschreibung dieses Aufbaus folgt in den nächsten Abschnitten. Zunächst aber sollen einige Grundbegriffe behandelt werden. Die folgenden Definitionen und Erläuterungen orientieren sich dabei an *Massenspektrometrie - Ein Lehrbuch* von J. H. Gross [2].

Die Aufgabe der Massenspektrometrie besteht darin, die Bestandteile eines Analyten entsprechend ihrer Masse-zu-Ladungsverhältnisse zu trennen. Diese werden in der Regel als m/z ausgedrückt, wobei m und z hier jeweils als Vielfaches der atomaren Masseneinheit bzw. der Elementarladung zu interpretieren sind. m/z wird üblicherweise als dimensionslose Größe behandelt.

Das Massenspektrum ist die Auftragung der Signalintensität gegen m/z. Es wird dabei unterschieden zwischen Profilspektren, bei denen die Peaks eine Form, Breite und Fläche besitzen, und Strichspektren, die aus vertikalen Linien mit infinitesimaler Breite bestehen. Profilspektren lassen sich durch Zentrierung (engl. *centroiding*) in ein Strichspektrum überführen. Dieser Prozess erleichtert häufig die Interpretation und Verarbeitung des Spektrums, geht aber auch immer mit einem Informationsverlust einher. So geben Peakbreite und -form beispielsweise Aufschluss über die Massenauflösung und sich möglicherweise überlagernde Signale, die sich im Strichspektrum nicht von gut aufgelösten Peaks unterscheiden lassen.

Das Auflösungsvermögen beschreibt dabei die Fähigkeit eines Massenspektrometers zwischen zwei Ionen zu unterscheiden, deren m/z-Werte nur eine geringe Differenz aufweisen. Für die genaue Definition gibt es unterschiedliche Konventionen, die jedoch alle direkt oder indirekt mit der Peakbreite zusammenhängen. In dieser Arbeit wird die Massenauflösung nach IUPAC [3] definiert über die Halbwertsbreite Δm des Peaks eines einfach geladenen Ions mit Masse m:

$$R = \frac{m}{\Delta m} \tag{2.1}$$

Da die Peakbreite bei vielen Instrumenten abhängig von m/z ist, wird bei der Nennung von Auflösungen in der Regel ein zugehöriger m/z-Wert angegeben. Die mit dem Orbitrap-Massenspektrometer aufgenommenen Spektren erreichen Auflösungen zwischen 15 000 und 240 000 bei m/z = 400 [4]. Dabei erhöht sich die Messdauer mit zunehmender Auflösung [2].

Bei Messungen mit einem Orbitrap-Massenspektrometer werden innerhalb der Messdauer meist mehrere (oft einige hundert) separate Spektren aufgezeichnet, die sogenannten *Scans.* Parallel dazu wird für jeden Scan der *Totalionenstrom* (TIC, engl. *total ion current*) gemessen. Diese Werte bilden gegen die Messzeit aufgetragen das *Ionenchromatogramm*. Bei einer vorgelagerten chromatografischen Trennung kann auf diese Weise anhand der jeweiligen Retentionszeiten zwischen einzelnen Komponenten unterschieden werden. Ohne chromatografische Trennung ist es umgekehrt meist wünschenswert, den Ionenstrom möglichst konstant zu halten. Im Anschluss an die Messung werden dann alle Scans zu einem gemittelten Spektrum (engl. *average spectrum*) verarbeitet.

Eine entscheidende Rolle für diese Arbeit spielen die verschiedenen Isotope der Elemente. Da sie sich in ihrer Masse unterscheiden, tauchen sie im Massenspektrum als separate Signale auf. Ionen, die zwar dieselbe elementare Summenformel aber eine unterschiedliche isotopische Zusammensetzung aufweisen, werden als *Isotopologe* bezeichnet. Ein wichtiger Begriff in diesem Zusammenhang ist die *nominelle Masse*, die im Gegensatz zur *exakten Masse* nicht die tatsächliche Masse eines Ions darstellt, sondern die Summe der Massenzahlen aller beteiligter Isotope. Häufig haben unterschiedliche Isotopologe dieselbe nominelle Masse, bei ausreichend hoher Auflösung lässt sich aber auch diese *isotopische Feinstruktur* im Massenspektrum als getrennte Peaks beobachten. So lässt sich beispielsweise mit dem Orbitrap-Analysator die Feinstruktur vieler Verbindungen zu großen Teilen auflösen. Weiterhin bezeichnet die *monoisotopische Masse* die Summe der exakten Massen der häufigsten Isotope aller beteiligten Elemente entsprechend der Summenformel. Es ist zu beachten, dass dies nicht zwangsweise der Masse des häufigsten Isotopologs entsprechen muss.

2.1. Elektrospray-Ionisation

Wie die meisten Massenspektrometer detektiert auch der Orbitrap-Massenanalysator ausschließlich elektrisch geladene Teilchen. Die Extraktion von ionischen Spezies aus der Probe stellt entsprechend einen entscheidenden Schritt der Messung dar. In dieser Arbeit wurde als Ionisationsmethode die ESI genutzt. Diese zeichnet sich durch eine besonders sanfte Überführung der Ionen in die Gasphase bei Atmosphärendruck aus. Chemische Spezies und auch große Moleküle bleiben dabei weitgehend erhalten, weshalb die ESI sich besonders gut für die Analyse der chemischen Beschaffenheit von Proben eignet. [2]

2.1.1. Prinzip

Bei der ESI befindet sich der Analyt in einem meist flüchtigen Lösungsmittel in einer Kapillare aus elektrisch leitendem (oder entsprechend beschichtetem) Material, an die durch eine Gegenelektrode eine Spannung angelegt wird. Durch das elektrische Feld kommt es zu einer Ladungstrennung innerhalb der Kapillare. Je nach Richtung der angelegten Spannung sammeln sich entweder die Kationen oder die Anionen an der Spitze. Die Coulomb-Abstoßung zwischen den gleichnamigen Ladungen verursacht eine Wölbung der Flüssigkeitsoberfläche nach außen. Durch den geringeren Krümmungsradius steigt die Ladungsdichte an der Oberfläche, was wiederum zu einer Verstärkung der Krümmung führt. Dieser Prozess mündet schließlich in der Ausbildung des sogenannten *Taylor-Konus* (Abbildung 2.1 links), an dessen Spitze die elektrischen Kräfte die Oberflächenspannung übersteigen, sodass ein dünner Flüssigkeitsstrahl entsteht.

Dieser zerfällt bald in Tröpfchen von $1-2 \,\mu m$ Größe, die sich durch ihre gegenseitige elektrostatische Abstoßung zu einem feinen Spray verteilen. Aufgrund der Beschleunigung der geladenen Tröpfchen im elektrischen Feld bildet sich die typische Tropfenform mit einem verjüngten Ende aus. Dies und die Verdampfung von Lösungsmittel an der Tropfenoberfläche bewirken eine Erhöhung der Ladungsdichte, wodurch an der



Abb. 2.1.: Schema des ESI-Prozesses (links) und Aufnahme der Spray-Entstehung (rechts). [2]

Spitze ähnlich wie beim Taylor-Konus wesentlich kleinere Tropfen freigesetzt werden. Gleichzeitig kommt es bei ausreichend kleiner Tröpfchengröße nach dem *Ion Evaporation Model* aufgrund der hohen Abstoßungskräfte auch zu einer direkten Verdampfung geladener Moleküle von der Tropfenoberfläche. Durch das Zusammenspiel beider Prozesse entsteht am Ende ein Spray, dessen Tröpfchen fast ausschließlich aus Analyt-Molekülen bestehen. [2]

Bei der für diese Arbeit verwendeten Ionenquelle handelt es sich um eine nanoESI-Quelle, die mit einem besonders geringen Kapillardurchmesser von wenigen Mikrometern arbeitet. Dies führt zu einer höheren Feldstärke an der Nadelspitze und deutlich kleineren Initialtröpfchen mit einem Durchmesser von weniger als 200 nm. Neben dem kleineren Probenverbrauch durch die geringeren Flussraten ergeben sich daraus eine Reihe weiterer Vorteile. Zum einen reduziert die kleinere Tropfengröße das Auftreten von Aufkonzentrationsartefakten (siehe Abschnitt 2.1.2) und Elektrolytkontaminationen. Andererseits verringert sie die zur Tröpchenbildung benötigte Spannung, was den Einsatz von polaren Lösungsmitteln mit hoher Oberflächenspannung, wie z. B. Wasser, ohne das Risiko elektrischer Entladungen ermöglicht. Außerdem kann mit der nanoESI ein deutlich kleinerer Abstand zur Eintrittsöffnung des Massenanlysators realisiert werden. Dies mindert den Spray-Verlust und führt bei gleichen Messbedingungen trotz deutlich niedriger Analyt-Konzentrationen typischerweise zu einer signifikanten Erhöhung der Signalstärke. [5] Auf der anderen Seite zeigen die dünneren Emitter eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Verstopfungen durch Kristallbildung. Dies führt zu einer Limitation der verwendbaren Ionenstärke.

2.1.2. Messartefakte

Trotz der relativen Sanftheit des ESI-Prozesses sind auch hier gewisse Modifikationen der chemischen Speziation nicht vollständig vermeidbar. Die konkrete Manifestation dieser sogenannten Messartefakte hängt stark vom betrachteten System ab, daher soll es nicht Gegenstand dieser Arbeit sein, aus den Messdaten die ursprüngliche chemische Beschaffenheit der Probe zu rekonstruieren. Allerdings stellt die korrekte Zuordnung der gemessenen Signale zu den jeweiligen Spezies einen essenziellen Schritt in der Evaluation der hier entwickelten Methoden dar (siehe Kapitel 6). Ein Überblick über die erwartbaren Ionen ist dafür unabdingbar, weshalb im Folgenden zunächst eine allgemeine Zusammenfassung typischer Messartefakte gegeben werden soll. Aufgrund der im experimentellen Teil verwendeten Chemikalien liegt der Fokus hierbei auf der Speziation ein- oder zweifach geladener Metallkomplexe mit kleineren Liganden. Nähere Ausführungen zu den individuellen untersuchten Systemen finden sich in Kapitel 3.

Sehr häufig zu beobachten ist die unvollständige Verdampfung des Lösungsmittels, die in Anlagerung von Lösungsmittelmolekülen an den Analyten (M) resultiert. Dadurch entstehen z. B. in wässriger Lösung Spezies der Form $[M(H_2O)_n]^q$ (wobei q die Ladung des Analyten darstellt) [6]. Durch Ladungstransfer kann es anschließend zur Hydrolyse gemäß

$$[\mathrm{M}(\mathrm{H}_{2}\mathrm{O})_{\mathrm{n}}]^{\mathrm{q}} \longrightarrow [\mathrm{M}(\mathrm{OH})(\mathrm{H}_{2}\mathrm{O})_{\mathrm{n}-1}]^{\mathrm{q}-1} + \mathrm{H}_{3}\mathrm{O}^{+}$$

$$(2.2)$$

kommen [7, 8]. Dieser Effekt führt häufig zu einer deutlichen Überschätzung von Hydroxidspezies [9].

Da die ESI unter Atmosphärendruck arbeitet, ist auch eine Reduktion durch Ladungstransfer bei Stößen mit Gasmolekülen nach dem Schema

$$M^{q} + X \longrightarrow M^{q-1} + X^{+}$$
(2.3)

nicht unüblich [10, 11]. Dadurch lassen sich auch Oxidationsstufen beobachten, die üblicherweise bei den vorliegenden chemischen Bedingungen nicht zu erwarten wären.

Die bereits erwähnten Aufkonzentrationsartefakte entstehen, wenn sich in einem Mikrotropfen bei der Messung mehrere Teilchen befinden, die vom Detektor als ein Signal registriert werden. Dabei kommt es vor, dass neutrale Moleküle mitgemessen werden, aber auch das Auftreten vermeintlicher Polymere wird bei ausreichender Analyt-Konzentration beobachtet [12]. In salzhaltigen Lösungen bilden sich darüber hinaus häufig Addukte mit ein oder mehreren Elektrolytionen wie beispielsweise K^+ oder Na⁺ [2, 13]. Auch eine Protonenübertragung vom Lösungsmittel auf den Analyten ist nicht ungewöhnlich, formal lassen sich die dadurch entstehenden Spezies ebenfalls als Addukte der Form $[M + H]^{q+1}$ notieren. Dieses Phänomen ermöglicht mitunter auch die Messung ursprünglich neutraler Analyt-Spezies [2, 14].

Eine wichtige Rolle spielen weiterhin verschiedenste Fragmentierungsprozesse. Diese können z. B. zur Abspaltung von Wasser- oder CO₂-Molekülen führen, aber auch der Verlust von funktionellen Gruppen, wie beispielsweise einer Carboxy- oder Phosphat-Gruppe, tritt auf [13, 15, 16]. Eine besondere Form der Fragmentierung ist die Dissoziation eines Nitratliganden zu Stickstoffdioxid. Die durch das dabei zurückbleibende anionische Sauerstoffradikal entstehenden Spezies werden auch als Oxo-Artefakte bezeichnet. Die Gleichungen 2.4 - 2.6 zeigen einen möglichen Reaktionsweg [17, 18].

$$[\mathrm{M}(\mathrm{NO}_3)_{\mathrm{n}}]^- \longrightarrow [\mathrm{MO}(\mathrm{NO}_3)_{\mathrm{n}-1}]^- + \mathrm{NO}_2 \qquad (2.4)$$

$$[\mathrm{MO}(\mathrm{NO}_3)_{\mathrm{n}-1}]^- \longrightarrow [\mathrm{MO}_2(\mathrm{NO}_3)_{\mathrm{n}-2}]^- + \mathrm{NO}_2 \tag{2.5}$$

$$[\mathrm{MO}_2(\mathrm{NO}_3)_{\mathrm{n-2}}]^- \longrightarrow [\mathrm{MO}(\mathrm{NO}_2)]^- + \mathrm{O}_2$$
(2.6)

Neben den bisher beschriebenen relativ allgemeingültigen Effekten bewirkt der Prozess der Spraybildung außerdem eine inhärente Veränderung der chemischen Bedingungen. Die kontinuierliche Verdampfung von Lösungsmittel führt zu Verschiebungen von pH-Wert und Konzentrationsverhältnissen, die wiederum Einfluss auf die chemische Speziation haben können. [11, 19]

2.2. Das Orbitrap Elite-Massenspektrometer

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Massenspektrometer handelt es sich um ein Hybridmassenspektrometer des Typs Orbitrap Elite von THERMO FISHER SCIENTIFIC. Der Aufbau des Gerätes ist in Abbildung 2.2 schematisch dargestellt. Er besteht im Wesentlichen aus vier Komponenten: einer Velos Pro Ionenfalle, der C-Trap (engl. curved linear trap), einer HCD-Zelle (engl. higher energy collisional dissociation) und dem eigentlichen Orbitrap-Massenanalysator. In dieser Arbeit war dem Aufbau lediglich eine nanoESI-Quelle vorgeschaltet. Es besteht jedoch die Möglichkeit, die Ionenquelle mit einer Säule zur chromatografischen Trennung zu koppeln. [4]

Nach dem Austritt aus der Quelle gelangen die Ionen zunächst in die Velos Pro-Einheit. Diese enthält eine lineare Ionenfalle, bestehend aus einer Hoch- und einer Niederdruckzelle, die als eigenständiger Massenanalysator genutzt werden kann, aber auch zur Fragmentierung oder Vorselektion der Ionen. In dieser Arbeit wurde sie hauptsächlich zur Filterung des Ionenstroms entsprechend des eingestellten m/z-Messbereichs eingesetzt. [4] Zwischen Quelle und Ionenfalle befinden sich mehrere Ionenoptiken, die primär der Fokussierung des Ionenstrahls dienen. Außerdem verhindert eine leichte Krümmung des verbauten Quadrupols den Eintritt von Neutralteilchen in den Massenanalysator. [20]

Nach dem Verlassen der Velos Pro werden die Ionen durch einen Oktopol in die C-Trap geleitet. Diese enthält chemisch weitgehend inerten Stickstoff, sodass die Ionen durch Stöße mit den Gasmolekülen einen Großteil ihrer kinetischen Energie verlieren und im Zentrum der C-Trap fokussiert werden. Am Ein- und Ausgang können Spannungen angelegt werden, die als Potentialwall eine Barriere für die Ionen bilden. Dies ermöglicht es, eine definierte Menge von Ionen zunächst in der Falle zu sammeln und anschließend zu verdichten, um sie als komprimiertes Paket mit vergleichsweise schmalbandiger Energieverteilung in den Orbitrap-Massenanalysator zu injizieren. Optional kann die stickstoffgefüllte HCD-Zelle zwischengeschaltet werden, in der für Dissoziationsversuche Stöße bei hohen kinetischen Energien realisiert werden können. Davon wurde in dieser Arbeit allerdings kein Gebrauch gemacht. [4]



Abb. 2.2.: Schematischer Aufbau des Orbitrap Elite-Massenspektrometers. [4]

2.2.1. Der Orbitrap-Massenanalysator

Der Orbitrap-Massenanalysator ist das Herzstück des Massenspektrometers. Er zeichnet sich durch ein hohes Auflösungsvermögen und eine besonders exakte Massenbestimmung aus. Das Konzept des *orbital trapping* wurde erstmals 1923 in der

2. Grundlagen der Massenspektrometrie

Kingdon-Falle implementiert und später von Alexander Makarov zum Orbitrap-Analysator weiterentwickelt. [2, 21]

Grundlage der Methode ist die Oszillation der Ionen um eine spindelförmige Zentralelektrode. Das elektrostatische Feld lässt sich nach Gleichung 2.7 in Zylinderkoordinaten (z, r) als Kombination aus einem logarithmischen und einem Quadrupolpotential beschreiben. Dabei ist k die Feldkrümmung, R_m der sogenannte charakteristische Radius und C eine Konstante.

$$U(r,z) = \frac{k}{2} \left(z^2 - \frac{r^2}{2} \right) + \frac{k}{2} R_m^2 \ln\left(\frac{r}{R_m}\right) + C$$
(2.7)

Die geladenen Teilchen bewegen sich in diesem Feld auf komplexen spiralförmigen Trajektorien. [21] Unter Vernachlässigung der radialen Abhängigkeit lässt sich das Feld in axialer Richtung allerdings als harmonisches Potential ausdrücken.

$$U(z) = \frac{k}{2}z^2 + C'$$
 (2.8)

Mit der Ladung q und der elektrischen Kraft in z-Richtung $F_{el,z} = -q \frac{\partial U}{\partial z}$ ergibt sich daraus die Bewegungsgleichung des harmonischen Oszillators

$$\frac{\mathrm{d}^2 z}{\mathrm{d}t^2} = \frac{F_{el,z}}{m} = -\frac{k\,q}{m}\,z.\tag{2.9}$$

Diese Differentialgleichung lässt sich lösen zu

$$z(t) = C_1 \cos\left(\sqrt{\frac{q\,k}{m}}\,t\right) + C_2 \sin\left(\sqrt{\frac{q\,k}{m}}\,t\right) \tag{2.10}$$

wobei sich die Konstanten C_1 und C_2 aus den Anfangsbedingungen ergeben [22]. Aus Gleichung 2.10 ist aber bereits ersichtlich, dass die axiale Bewegung eine harmonische Schwingung darstellt, deren Frequenz neben der Feldkrümmung ausschließlich vom Masse-Ladungsverhältnis m/q abhängt. In der Massenspektrometrie ist es üblich die Ladung eines Ions als Vielfaches der Elementarladung e auszudrücken. Statt m/q, wird also m/z genutzt, wobei $q = e \cdot z$.

Die auf diese Weise schwingenden Ionen verursachen eine periodische Ladungsverschiebung in der äußeren Elektrode, deren Frequenzkomponenten die der Ionenbewegungen widerspiegeln. Dieser sogenannte Bildstrom wird mit einem Differenzverstärker aufgezeichnet, digitalisiert und anschließend einer Fouriertransformation unterzogen, um ein Frequenzspektrum zu erhalten. Dieses kann schließlich durch Anwendung des Zusammenhangs

$$\omega = \sqrt{\frac{e\,k}{m/z}} \tag{2.11}$$

in ein m/z-Spektrum transformiert werden. [2]

Diese beiden letzten Schritte und ihre Implikationen für die Verarbeitung der massenspektrometrischen Daten sollen im folgenden Abschnitt genauer beleuchtet werden.



Abb. 2.3.: Verlauf einer gedämpften Schwingung [23] (links) und Messung des transienten Signals von ca. $2 \cdot 10^5$ ⁵⁶Fe-Ionen im Orbitrap-Analysator [21] (rechts).

2.2.2. Fouriertransformation und Datenverarbeitung

Auch wenn eine quantitative Auswertung der massenspektrometrischen Daten im eigentlichen Sinne nicht Zielsetzung dieser Arbeit ist, so sind für die Analyse von Isotopenmustern die Häufigkeiten der Isotopologe relativ zueinander doch von entscheidender Bedeutung. Im idealen Grenzfall einer unendlichen, ungedämpften Schwingung ergibt sich aus der Fouriertransformation (FT) in der Frequenzdomäne ein Strichspektrum mit diskreten Delta-Peaks. In der Realität führen Stöße der Ionen mit dem Restgas aber zu einem transienten Signal mit exponentiell abfallender Amplitude (siehe Abbildung 2.3), wodurch die Peaks im Frequenzspektrum (und damit später auch im Massenspektrum) nach der FT eine endliche Breite aufweisen. Damit stellt sich die Frage nach einem geeigneten Maß für die Ionenhäufigkeit. [2, 21, 23]

Dafür kommen im Wesentlichen die Peakhöhe und die Peakfläche infrage. Hierbei handelt es sich um eine nicht-triviale Entscheidung, für die es scheinbar keine allgemeingültige Konvention gibt. So empfehlen Marshall et al. in *Fourier Transforms in NMR, Optical, and Mass Spectrometry: A User's Handbook* [23] die Verwendung der Peakfläche, was in der FT-basierten Massenspektrometrie durchaus Anwendung findet [24]. Allerdings gibt es auch zahlreiche Gegenbeispiele [25, 26]. Für eine fundierte Entscheidung gilt es nachzuvollziehen, wie die Peakformen im Frequenz- und Massenspektrum zustande kommen.

Dafür muss zunächst bedacht werden, dass die Fouriertransformierte \mathcal{F} des Schwingungssignals eine (im mathematischen Sinne) komplexe Funktion ist, für die zunächst eine reelle Entsprechung gefunden werden muss. Dafür können zum Beispiel der Realund Imaginärteil genutzt werden. Im Falle der FT von Schwingungssignalen werden diese häufig durch das sogenannte Absorptions- (A) und Dispersionsspektrum (D) ausgedrückt. Dabei gilt

$$\operatorname{Re}(\mathcal{F}(\omega)) = A(\omega) \cos \phi + D(\omega) \sin \phi \qquad (2.12)$$

$$\operatorname{Im}(\mathcal{F}(\omega)) = D(\omega) \cos \phi - A(\omega) \sin \phi.$$
(2.13)

wobei ϕ die Phase des Signals ist. Für $\phi = 0$ (also wenn sich das Signal zum Zeitpunkt t = 0 in seinem Maximum befindet) entspricht also das Absorptionsspektrum dem Realteil und das Dispersionsspektrum dem Imaginärteil der Fouriertransformierten. Je nach Anwendungszweck wird in der Praxis meist das Absorptionsspektrum oder das Betragspektrum M (engl. Magnitude spectrum) genutzt:

2. Grundlagen der Massenspektrometrie

$$M(\omega) = \sqrt{\operatorname{Re}(\omega)^2 + \operatorname{Im}(\omega)^2} = \sqrt{A(\omega)^2 + D(\omega)^2}$$
(2.14)

Obwohl das Absoprtionsspektrum eine deutlich geringere Peakbreite (und damit eine bessere Auflösung) aufweist, wird beispielsweise in der Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz (FT-ICR) häufig das Betragsspektrum verwendet, da das Absorptionsspektrum bei nicht verschwindender Phase mit asymmetrischen Peakformen reagiert und eine ausreichend genaue Phasenkorrektur über die gesamte Bandbreite des Spektrums eine große Herausforderung darstellt. [23, 27, 28]

Für den Orbitrap-Analysator wurde allerdings ein anderes Verfahren entwickelt, die sogenannte *enhanced Fourier transform (eFT)*. Dabei handelt es sich um eine Kombination aus Absorptions- und Betragsspektrum:

$$ES(\omega) = C(\omega) \cdot A(\omega) + (1 - C(\omega)) \cdot M(\omega) + ES^{CORR}(\omega)$$
(2.15)

mit
$$C(\omega) = 0.5 + 0.5 \cdot \left(\frac{A(\omega)}{\max(A(\omega))} \cdot \frac{M(\omega)}{\max(M(\omega))}\right)$$
 (2.16)

wobei der Verlauf des Wichtungsfaktors $C(\omega)$ so gewählt ist, dass an der Peakbasis der Einfluss des Betragsspektrums überwiegt, während um das Maximum herum das Absorptionsspektrum dominiert. Der letzte Term in Gleichung 2.15 ist ein Korrekturterm zur Unterdrückung von Seitenbanden an der Peakbasis, die durch das Abschneiden des Signals am Ende des Messzeitraumes entstehen können. Mit diesem Verfahren lassen sich deutlich höhere Auflösungen als beim reinen Betragsspektrum erzielen und gleichzeitig eine bessere Peaksymmetrie als bei Verwendung des Absorptionsspektrums. [28]

Welchen Einfluss haben nun verschiedene Parameter auf Peakhöhe und -fläche des resultierenden Spektrums? Für ein typisches transientes Signal

$$x(t) = x_0 \cdot \exp(t/\tau) \cos(\omega_0 \cdot t) \tag{2.17}$$

mit Zerfallszeit τ und verschwindender Phase ergeben sich Absorption und Dispersion zu

$$A(\omega) = \frac{x_0 \cdot \tau}{1 + (\omega_0 - \omega)^2 \tau^2}$$
(2.18)

$$D(\omega) = \frac{x_0 \cdot (\omega_0 - \omega) \tau^2}{1 + (\omega_0 - \omega)^2 \tau^2}.$$
 (2.19)

Das Absorptionsspektrum zeigt dabei eine lorentzartige Peakform, während das Dispersionsspektrum ein punktsymmetrischen Verlauf mit positivem und negativem Teil aufweist (siehe Abbildung 2.4). [23]

Für das Betragsspektrum gilt dann



Abb. 2.4.: Absorptions-, Dispersions- und Betragsspektrum der Fouriertransformierten für ein transientes Signal ohne Phasenverschiebung. [23]

$$M(\omega) = \sqrt{A(\omega)^2 + D(\omega)^2} = x_0 \cdot \sqrt{\frac{\tau^2 + (\omega_0 - \omega)^2 \tau^4}{(1 + (\omega_0 - \omega)^2 \tau^2)^2}}$$
(2.20)

$$=\frac{x_0\cdot\tau}{\sqrt{1+(\omega_0-\omega)^2\,\tau^2}}.$$
(2.21)

Da im Orbitrap-Analysator alle Ionen mit der gleichen Amplitude schwingen [2], ist x_0 direkt proportional zur Anzahl der Ionen mit Schwingungsfrequenz ω_0 . An Gleichung 2.18 und 2.21 ist zudem schnell ersichtlich, dass in beiden Fällen sowohl Peakhöhe als auch -fläche unabhängig von der Frequenz ω_0 sind.

Allerdings lässt sich auch unmittelbar ableiten, dass die Peakhöhe nicht nur proportional zur Häufigkeit der fraglichen Spezies, sondern auch zur Zerfallszeit ist:

$$A(\omega_0) = M(\omega_0) = x_0 \cdot \tau \tag{2.22}$$

Zumindest beim Absorptionsspektrum gilt dies für die Peakfläche nicht:

$$\int_{-\infty}^{\infty} A(\omega) \mathrm{d}\omega = x_0 \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\tau}{1 + (\omega_0 - \omega)^2 \tau^2}$$
(2.23)

$$= x_0 \left[\arctan(\tau \left(\omega - \omega_0 \right)) \right]_{-\infty}^{\infty} = x_0 \pi$$
 (2.24)

Für das Betragsspektrum ist dieser analytische Ansatz nicht zielführend, da die Stammfunktion hier der Areasinus hyperbolicus ist und das Integral somit nicht

2. Grundlagen der Massenspektrometrie

konvergiert. Allerdings gilt hier genau wie beim Absorptionsspektrum für die Halbwertsbreite $\Delta \omega \propto 1/\tau$ [23]. Die Vermutung liegt nahe, dass sich auch in diesem Fall damit in der Praxis eine von τ unabhängige Peakfläche ergibt.

Um zu überprüfen, ob diese Eigenschaften auf die eFT übertragbar sind, wurde $ES(\omega)$ (ohne den Korrekturterm ES^{CORR}) für einige Beispielwerte berechnet und zur Bestimmung der Peakfläche eine numerische Integration durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass auch für die eFT die Peakhöhe proportional zur Zerfallszeit ansteigt, während die Peakfläche konstant bleibt (siehe Abbildung 2.5). Damit scheint die Peakfläche zunächst das geeignetere Maß zur Bestimmung der relativen Ionenhäufigkeit zu sein. Die bisherigen Überlegungen beschränken sich allerdings auf die Frequenzdomäne. Die Umrechnung in ein Massenspektrum nach Gleichung 2.11 hat nicht nur Auswirkungen auf die Peakposition sondern auch auf die Peakbreite. Aufgrund der Quadratwurzel ist das Massenauflösungsvermögen nur halb so groß wie das Frequenzauflösungsvermögen [2]:

$$R = \frac{m/z}{\Delta m/z} = \frac{\omega}{2\Delta\omega} = \frac{1}{\Delta\omega}\sqrt{\frac{k\,e}{m/z}} \tag{2.25}$$

Für die Peakbreite folgt damit

$$\Delta m/z \propto m/z \sqrt{m/z} = (m/z)^{3/2}.$$
 (2.26)

Entsprechend ist auch die Peakfläche (im Gegensatz zur Peakhöhe) abhängig von m/z. Hierbei handelt es sich allerdings um einen systematischen Effekt, der sich ähnlich wie in [29] beispielhaft für *time of flight* (TOF)- und FT-ICR-Geräte beschrieben, mit einer Transformation der m/z-Achse mathematisch korrigieren lässt. Da sich die Peakform bei FT-basierten Massenspektren je nach Datenverarbeitungsmethode in der Regel entweder als lorentz- oder gaußförmig (oder eine Mischform, Näheres dazu in Abschnitt 4.3.1) beschreiben lässt [30] und für beide Kurventypen die Peakfläche proportional zur Halbwertsbreite ist [31], genügt sogar eine einfache Division durch $(m/z)^{3/2}$, um die m/z-Abhängigkeit der Peakfläche auszugleichen.

Für die Abhängigkeit der Peakhöhe von der Zerfallszeit gilt das nicht. Der Abfall des transienten Signals wird hauptsächlich bestimmt durch elastische Stöße, die zu Phasenverschiebungen und Amplitudenverringerung führen, sowie inelastische Stöße, bei denen es zu Ionenverlusten durch Fragmentierung kommt. Es handelt sich hierbei also um statistische Prozesse. [32]

Für die Geschwindigkeit der Ionen im elektrischen Feld des Orbitrap-Analysators gilt [32]

$$v \approx \sqrt{\frac{2 e V}{m/z}}.$$
(2.27)

Entsprechend steigt mit zunehmendem m/z (also kleinerer Frequenz) die mittlere freie Flugzeit und die Stoßfrequenz sinkt. Zudem ist bei größerer Masse der Energieübertrag beim Stoß mit den im Vergleich eher leichten Gasmolekülen im Durchschnitt geringer, was insgesamt für eine längere Zerfallszeit spricht. Andererseits erhöht sich bei größeren, komplexeren Molekülen sowohl der Stoßquerschnitt als auch die



Abb. 2.5.: Abhängigkeit der Peakhöhe und Peakfläche von der Zerfallszeit bei der eFT. $x_0 = 1, \nu = 50$ Hz.

Tendenz zur Fragmentierung, was den Zerfall des transienten Signals beschleunigt. Es handelt sich hier also um ein Zusammenspiel verschiedener Effekte, deren gemeinsame Auswirkungen kaum pauschal nur anhand des Masse-zu-Ladungsverhältnisses vorherzusagen sind.

Vor diesem Hintergrund ist anzunehmen, dass die Peakfläche als Maß für die relative Ionenhäufigkeit der Peakhöhe vorzuziehen ist. Allerdings ist zu bedenken, dass die geschilderten Einflüsse auf die Zerfallszeit im Hinblick auf die verschiedenen Isotopologe einer chemischen Spezies von untergeordneter Bedeutung sein dürften. Gleichzeitig könnte es weitere Peakverbreiterungsmechanismen geben, die bisher nicht berücksichtigt wurden und die sich auf die Peakfläche auswirken. Zudem können einige vorgelagerte Datenmanipulationen wie *Apodisation* und *Zerofilling*, die hier nicht näher betrachtet wurden, zum Verlust der Linearität des Signalverarbeitungsprozesses und zu dadurch bedingten Peakverzerrungen führen, die sich auf Peakhöhe und -fläche auswirken [24]. Daher soll die Frage nach dem besseren Häufigkeitsmaß anhand der experimentellen Daten an späterer Stelle noch einmal aufgegriffen werden (siehe Abschnitt 6.1).

2.3. Isotopenmuster in der Massenspektrometrie

Die Isotopenverteilung der verschiedenen Elemente bietet bei der Auswertung von massenspektrometrischen Daten eine zusätzliche Informationsquelle, derer sich auf verschiedene Weise bedient werden kann. So werden beispielsweise in der Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS, engl. *isotope ratio masss spectrometry*) lokale und zeitliche Schwankungen der Isotopenhäufigkeiten genutzt, um die geographische Herkunft oder das Alter von geologischem Material, Lebensmitteln sowie archäologischen oder forensischen Proben zu bestimmen [33, 34]. Trotz dieser geringfügigen Schwankungen können umgekehrt die Isotopenmuster auch herangezogen werden, um die elementare Zusammensetzung einer gemessenen Spezies zu bestimmen oder zumindest die Menge der möglichen Verbindungen einzugrenzen. Letzteres erfreut sich vor allem im Bereich der Proteomik und Metabolomik (also der Wissenschaften der Proteine und Stoffwechselprodukte) großer Beliebtheit. Massenspektrometrische Messungen dienen in diesem Forschungsfeld vorwiegend der Identifizierung von in biologischen Proben enthaltenen Verbindungen. Zunächst werden dabei in der Regel die gefundenen Spezies mit vorhandenen Datenbanken abgeglichen. Anschließend werden für die nicht identifizierten Verbindungen mögliche elementare Zusammensetzungen berechnet. In beiden Schritten kann die Betrachtung des Isotopenmusters hilfreich sein, da häufig mehrere Verbindungen (innerhalb der Messgenauigkeit) dieselbe monoisotopische Masse aufweisen und auf diese Weise die Menge der passenden Kandidaten erheblich reduziert werden kann. Auch zur Bestimmung des Ladungszustandes einer Spezies kann das Isotopenmuster genutzt werden, denn für den Abstand zweier Isotopenpeaks mit Ladung q auf der m/z-Achse gilt

$$(\Delta^{m/z})_q = \frac{(\Delta^{m/z})_1}{|q|}.$$
 (2.28)

Darüber hinaus werden beim sogenannten *stable isotope labeling* Proben beispielsweise mit 13 C angereichert. Die Massenverschiebung gegenüber der nicht-gelabelten Probe gibt dann Aufschluss über die Anzahl der enthaltenen Kohlenstoffatome. [35]

Für all diese Anwendungszwecke gibt es eine große Auswahl an Softwarelösungen wie CAMERA [36], NTFD [37] MetExtract II [38], SIRIUS [39] und MZmine 2 [40], um nur eine Auswahl zu nennen. Im Allgemeinen dienen diese Programme aber ausschließlich der Identifikation gemessener Komponenten und bieten nicht, wie in dieser Arbeit angestrebt, die Möglichkeit ein ganzes Spektrum nach einem definierten Isotopenmuster zu durchsuchen. Als Gegenbeispiele seien hier ChelomEx [41] und DeltaMS [42] genannt. Letzteres ermöglicht beispielsweise die Analyse von Massenspektren im Hinblick auf Peakpaare mit nutzerdefiniertem Massenabstand und Intensitätsverhältnis. Hierbei ist die Anzahl der zu berücksichtigenden Isotope allerdings auf zwei beschränkt.

Außerdem basieren beide Programme, wie die überwiegende Mehrheit der Anwendungen im Bereich der Proteomik und Metabolomik, auf chromatografischen Vorverarbeitungsmethoden, wie sie beispielsweise das Softwarepaket XCMS [43] zur Verfügung stellt. Diese setzen LC-MS- oder GC-MS-Daten (engl. liquid bzw. qas chromatography mass spectrometry), also eine chromatografische Trennung der enthaltenen Komponenten vor der Messung, voraus und stützen sich für entscheidende Schritte wie Peakerkennung oder Gruppierungen der Signale zu Isotopenmustern maßgeblich auf chromatografische Informationen. Scheltema et al. gehen für ihr eigens konzipiertes Dateiformat *PeakML* sogar einen Schritt weiter und definieren alle Analyten, die über die gesamte Retentionszeit nachweisbar sind, als Hintergrundionen von geringem Interesse [44]. Das Ziel der Messungen in dieser Arbeit hingegen besteht nicht in einer chromatografischen Trennung und Analyse einzelner Verbindungen, sondern im Gegenteil in der Herstellung eines stabilen Elektrosprays und anschließender Betrachtung des gesamten Spektrums mit all seinen Komponenten. Zwar können einzelne Methoden für beide Verfahren hilfreich sein, nichtsdestotrotz handelt es sich hier um zwei fundamental verschiedene Ansätze. Daher ist die bisher vorgestellte Software für die in dieser Arbeit verfolgten Anwendungszwecke nicht unmittelbar anwendbar.

3. Grundlagen der Komplexchemie

Für diese Arbeit wurden Lösungen von ZrOCl_2 in HCl, metallischem Uran in HCl und HNO₃, sowie von Eu(NO₃)₃ in wässriger Lösung mit verschiedenen organischen Liganden untersucht. Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die Chemie dieser Systeme und die zu erwartenden Spezies gegeben werden.

Die Speziationsdiagramme wurden von JULIA STADLER mit *PHREEQC* [45] und *PhreePlot* [46] erstellt. Grundlage für die Berechnungen war die Thermochimie-Datenbank [47]. Die Abhängigkeit der Chlorid- bzw. Nitrat-Konzentration vom pH-Wert im Falle der Uran- und Zirconium-Lösungen wurde nicht berücksichtigt. Stattdessen wurde jeweils ein Konzentrationswert exemplarisch ausgewählt. Diagramme für die anderen Konzentrationen sind in Abschnitt A.1 zu finden.

3.1. Europium und Liganden



Abb. 3.1.: Speziationsdiagramm für eine Europium-Nitrat-Lösung mit [Eu] = 3 mM. Aufgrund der Salzhydrolyse liegt der pH-Wert bei etwa 5,5. Die Carbonat-Spezies sind auf gelöstes Kohlenstoffdioxid aus der Raumluft zurückzuführen.

Europium gehört zur Gruppe der Lanthanoide und besitzt die Elektronenkonfiguration [Xe] $4f^76s^2$. Diese ist analog zur Elektronenkonfiguration des radioaktiven Actinoids Americium ([Rn] $5f^77s^2$). Zudem besitzen beide Elemente sehr ähnliche Ionenradien und Komplexbildungskonstanten. Aufgrund dessen zeigt Europium eine große chemische Ähnlichkeit zu Americium und wird oft als Homolog dazu eingesetzt. [48, 49]

Europium besitzt mit ¹⁵¹Eu und ¹⁵³Eu zwei stabile Isotope. Das Häufigkeitsverhältnis

 $^{151}\mathrm{Eu}{:}^{153}\mathrm{Eu}$ beträgt etwa 0,916, womit die beiden Isotope ähnlich häufig vertreten sind.

Europium tritt bei niedrigen pH-Werten primär in der Oxidationsstufe +3 auf. Durch die in Abschnitt 2.1.2 erwähnten Reduktionsmechanismen ist aber im Falle der ESI auch ein vermehrtes Auftreten der Oxidationsstufe +2 zu erwarten. Wegen ihrer vergleichsweise hohen Ladungsdichte gelten die Kationen der Lanthanoide als harte Säuren und neigen zur Komplexierung mit harten Basen wie beispielsweise Hydroxidionen. [48]

Für die in dieser Arbeit hergestellten Lösungen wurde größtenteils Europium-Nitrat verwendet. Abbildung 3.1 zeigt das Speziationsdiagramm für eine Lösung von 3 mM $Eu(NO_3)_3$ in Wasser. Durch Hydrolyse-Effekte weist diese Lösung einen leicht sauren pH-Wert von ca. 5,5 auf. Bis etwa pH 7 dominiert zwar das unkomplexierte Eu^{3+} -Ion, dieses wäre allerdings bei ca. m/z 50,3 bzw. m/z 51 zu detektieren, was für die durchgeführten Messungen nicht im zu betrachtenden Massenbereich liegt. Daher sind ohne zusätzliche Liganden hauptsächlich Hydroxid- und Nitratspezies, womöglich mit einigen zusätzlichen Wassermolekülen, zu erwarten. Auch Carbonat-Liganden durch aus der Raumluft gelöstes CO_2 könnten sich bilden. Der Anteil von Hydroxid-Verbindungen sollte in wässriger Lösung im sauren Bereich zwar sehr gering sein, durch die Artefaktbildung bei der ESI kann aber mit einem erhöhten Auftreten dieser Komplexe gerechnet werden.

Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)

EDTA gehört zu den Aminopolycarbonsäuren. Als potentielle Bindungsstellen kommen vier Carboxygruppen sowie zwei Stickstoffatome infrage, die insgesamt eine sechszähnige Bindung ermöglichen. Dabei entsteht eine oktaedrische Koordinationsgeometrie, die das Kation von anderen Liganden abschirmt. [50]

Entsprechend sind keine Komplexe mit mehreren EDTA-Liganden zu erwarten. Aufgrund der Eigenschaften des ESI-Prozesses (Abschnitt 2.1.2) wären aber Addukte mit kleineren Liganden wie Hydroxid- oder Nitrationen denkbar. Bei Untersuchungen von Thorium-EDTA-Komplexen mittels ESI stellten sich solche Ionen abhängig vom pH-Wert sogar als dominante Spezies heraus [51].

Üblicherweise liegt EDTA in Metallkomplexen vierfach deprotoniert (EDTA⁴⁻) vor [52], im Zuge der ESI bilden sich aber auch andere Zustände aus, so konnten Baron et al. z. B. bei der Analyse von EDTA-Komplexen mit unterschiedlichen Metallionen mittels ESI unter anderem Spezies der Form $[M(H_2EDTA)]^+$ und $[M(H_3EDTA)]^+$ nachweisen [53].

Phytinsäure

Das Zentrum des Phytinsäuremoleküls bildet ein Ring aus sechs Kohlenstoffatomen, an denen jeweils eine H₂PO₃-Gruppe bindet. Jede dieser Gruppen kann zwei Protonen abgeben, sodass theoretisch eine zwölffache Deprotonierung möglich ist. Daher soll die Phytinsäure im Folgenden als H₁₂Phy notiert werden, bzw. das vollständig deprotonierte Anion als Phy^{12–}, die weniger stark deprotonierten Formen entsprechend als H_xPhy^{(12–x)–}. Aufgrund der Vielzahl an potentiellen Bindungsstellen stellt das Phytat-Anion im Allgemeinen einen starken Komplexbildner dar und liegt meist als Salz in Verbindung mit ein- oder zweiwertigen Metallkationen vor. [54]

Welche Deprotonierungsstufen vorliegen, hängt dabei von den jeweiligen chemi-

schen Randbedingungen ab. In potentiometrischen Titrationsversuchen mit ein- und zweiwertigen Metallionen wurden als Gleichgewichtspunkte die Zustände H_6Phy^{6-} , H_4Phy^{8-} und Phy^{12-} identifiziert [55]. In ESI-Versuchen wurden allerdings auch andere Formen wie H_3Phy^{9-} , H_5Phy^{7-} [56] oder H_9Phy^{3-} [57] nachgewiesen.

Bei Verwendung des handelsüblichen Natriumsalzes wurde zudem im positiven Messmodus bei pH 13 die Anlagerung von bis zu 12 Na⁺-Ionen beobachtet. Bei geringeren pH-Werten war die Anzahl der Kationen zwar geringer, aber auch bei pH 2,8 konnten noch Verbindungen mit bis zu 3 angelagerten Natriumionen nachgewiesen werden. [56]

Im Negativmodus wurden hingegen Spezies gemessen, die scheinbar aus dem Verlust einer oder mehrerer HPO_3 -Gruppen hervorgehen. Auch die Abspaltung von bis zu zwei Wassermolekülen konnte beobachtet werden. [16, 57]

Carbonsäuren

Aufgrund ihrer weiten Verbreitung in biologischen Systemen spielt die Komplexierung von Metallionen mit Carbonsäuren eine große Rolle in der Umweltchemie. Daher wurden neben EDTA und Phytinsäure außerdem Essigsäure, Malonsäure, Oxalsäure und Citronensäure als Liganden genutzt. Dabei weist Essigsäure eine, Malon- und Oxalsäure je zwei und Citronensäure drei Carboxygruppen und zusätzliche eine Hydroxygruppe auf. Im Folgenden seien sie daher abgekürzt als HAc, H_2Mal , H_2Ox und H_4Cit .

Es sei angemerkt, dass die Hydroxygruppe der Citronensäure für die Komplexierung mit Metallionen von untergeordneter Bedeutung ist, daher wird in einigen Quellen auch die Notation H₃Cit verwendet. Für verschiedene Lanthanoide wurden Komplexe mit bis zu zwei HCit^{3–} bzw. H₂Cit^{2–} sowie mit bis zu drei H₃Cit[–]-Liganden beobachtet [58]. In Laserfluoreszenz-Spektroskopie-Versuchen an Eu(III) und Cm(III) wurden darüber hinaus auch gemischte Spezies wie $[M(H_2Cit)(HCit)]_2^-$ und Hinweise auf die Existenz von $[MCit]^-$ -Komplexen gefunden [59].

Für Oxalsäure sind vor allem Verbindung mit dem vollständig deprotonierten Oxalat-Anion bekannt [60, 61], wobei auch von Beteiligung des HOx⁻-Ions berichtet wurde. Europium bildet dabei hauptsächlich 1:1 und 1:2 Komplexe mit dem Oxalat-Ion. Auch die Bildung von Chelatringen mit mehreren Metallionen ist nicht unüblich. [62] Malonat bildet mit Lanthanoid-Ionen sowohl 1:1 als auch 1:2 Komplexe, wobei sowohl HMal⁻ als auch Mal²⁻ als Liganden infrage kommen [63, 64]. Auch hier wurde die Bildung von Chelatringen beobachtet [64, 65].

In saurer Umgebung bildet das Acetat-Anion mit Lanthanoiden hauptsächlich 1:1und 1:2-Komplexe, wobei die dominierende Form vom pH-Wert und den jeweiligen Konzentrationen abhängt. Im Gegensatz dazu wurden bei Untersuchungen von Nd-Acetat-Lösungen mittels ESI-MS Spezies mit bis zu fünf Acetatliganden und zum Teil mehreren Zentralionen identifiziert, die möglicherweise auf die beschriebenen Aufkonzentrationsartefakte zurückzuführen sein könnten. Weiterhin wurden zahlreiche Oxo-Artefakte sowie einige Spezies mit CO_2 - oder CO-Liganden gemessen. [19]



Abb. 3.2.: Speziations diagramm von Uran in HNO_3 mit [U] = 1 mM und $[NO_3^-] = 0.76 \text{ M}$.



Abb. 3.3.: Speziations diagramm von Uran in HCl mit [U] = 1 mM und $[Cl^{-}] = 1,1 \text{ M}$.

3.2. Uran

Bei dem zu den Actiniden gehörenden Uran handelt es sich um ein radioaktives Element, es sind also keine stabilen Isotope vorhanden. Den Großteil der natürlichen Uranvorkommen (99,27%) macht das primordiale Isotop²³⁸U aus. Nur ca. 0,7% bestehen aus²³⁵U, das ebenfalls primordial ist. Daneben existieren kleine Mengen an ²³⁴U, die in dieser Arbeit aber vernachlässigt werden. Uran kommt in den Oxidationsstufen +3 bis +6 vor, wobei U(IV) und U(VI) die stabilsten Formen sind. Da U(IV) allerdings eine sehr geringe Löslichkeit besitzt, dominiert in wässriger Lösung in der Regel U(VI). Dieses liegt wiederum fast ausschließlich als Uranyl-Ion UO₂²⁺ vor [66]. Eine Reduktion zu UO₂⁺ ist möglich, wobei der Stabilitätsbereich von U(V) in wässrigen Lösung sehr klein ist [67]. Der ESI-Prozess könnte die Bildung dieser Spezies allerdings begünstigen.

Für diese Arbeit wurde metallisches Uran zunächst in konzentrierter HNO₃ bzw. HCl aufgelöst. Die so entstandenen Lösungen wurden eingedampft und die Rückstände anschließend in schwächerer Säure wieder gelöst. Im Zuge dieser Wiederaufnahme wurden Lösungen mit pH-Werten von ca. 0 und 3 hergestellt. In diesem Bereich sollte hauptsächlich das freie Uranyl-Ion auftreten mit geringen Anteilen von $[UO_2(NO_3)]^+$ im HNO₃- bzw. $[UO_2Cl]^+$ im HCl-Medium (vgl. Abbildung 3.2 und 3.3). Wie für Europium zeigt auch hier das Speziationsdiragramm nur geringe Anteile an Hydroxid-Spezies, die sich im Zuge der Messung aber deutlich erhöhen könnten. Zudem sind geringe Anteile der dimeren Spezies $[(UO_2)_2(OH)]^{3+}$ und $[(UO_2)_2(OH)_2]^{2+}$ zu erwarten.

In Untersuchungen von Uranyl-Nitrat-Lösungen mittels ESI-MS wurden im Vergleich hingegen vermehrt polymere Spezies der Form $[(UO_2)_n X_{2n-1}(H_2O)_m]^+$ mit (X = OH, NO₃), n = 1 - 5 und m = 2 - 4 gefunden [68] sowie diverse Oxo-Artefakte wie beispielsweise $[(UO_2)_2O_2]^+$ oder $[(UO)_2O(NO_3)]^+$. [18]

3.3. Zirconium

Das Element Zirconium gehört zu den Übergangsmetallen und kommt in wässriger Lösung fast ausschließlich in der Oxidationsstufe +4 vor. Dabei existiert das freie Zr⁴⁺-Ion nur bei geringen Konzentrationen unter sehr sauren Bedingungen. In wässriger Lösung bilden sich üblicherweise Hydroxidspezies mit einigen koordinierenden Wassermolekülen. Je nach pH-Wert zeigt sich eine Tendenz zu polymeren Spezies. Dabei nimmt deren Anteil bei ausreichend hoher Konzentration ([Zr] > 10^{-5} M) mit steigendem pH-Wert zu, weshalb in dieser Arbeit geringe pH-Werte im Bereich von 0 bis 0,3 bei einer Konzentration von [Zr] = 1 mM gewählt wurden. [69]

Zirconium besitzt fünf stabile Isotope, eine Übersicht mit den korrespondierenden Isotopenhäufigkeiten ist in Tabelle 3.1 gegeben.

Tab. 3.1.: Stabile Zirconium-Isotope mit relativen Häufigkeiten.

Isotope	Zr-90	Zr-91	Zr-92	Zr-94	Zr-96
Häufigkeit	51,5%	$11{,}2\%$	$17{,}2\%$	$14{,}7\%$	$^{2,8\%}$

Im hier betrachteten pH-Bereich sollte nach dem Speziesdiagramm (Abbildung 3.4) überwiegend $[\text{ZrCl}]^{3+}$ vorliegen. Darüber hinaus zeigen sich Anteile von Zr^{4+} und



Abb. 3.4.: Speziations diagramm von ZrOCl_2 in HCl mit [Zr] = 1 mM und $[\text{Cl}^-] = 0.73 \text{ M}$.

 $[\rm ZrCl_2]^{2+}.$ Auch geringe Mengen der Hydroxid-Spezies $[\rm Zr(OH)]^{3+}$ und $[\rm Zr(OH)_2]^{2+}$ sowie des Trimers $[\rm Zr_3(OH)_4]^{8+}$ werden vorhergesagt. Die Bildung des Tetramers setzt nach den verwendeten Daten erst bei ca. pH 0,45 ein.

Die Ergebnisse unterschiedlicher Studien an Zirconium-Lösungen mittels ESI-TOF-MS sind diesbezüglich nicht immer einheitlich. So konnten Walther et al. für Konzentrationen von $1,5 \,\mathrm{mM}$ im relevanten pH-Bereich eine Dominanz des Tetramers und Anteile des Mono- und Pentamers nachweisen. [69]

In anderen Untersuchungen hingegen wurden bei pH 0,3 auch Di- und Trimere sowie höhere Polymere bis hin zum Undecamer identifiziert. Letztere schienen allerdings nicht über längere Zeit stabil zu sein und konnten nach einer gewissen Alterungszeit nicht mehr nachgewiesen werden. Die Di- und Trimere zeigten sich allerdings auch nach zehn Monaten noch mit einem signifikanten Anteil im Spektrum. [70]

Die gefundenen Spezies lassen sich zusammenfassend aber beschreiben als

$$[\mathrm{Zr}_{\mathrm{p}}(\mathrm{OH})_{\mathrm{x}}\mathrm{Cl}_{\mathrm{v}}(\mathrm{H}_{2}\mathrm{O})_{\mathrm{n}}]^{4\mathrm{p-x-y}}$$

wobei maximal dreifach geladene Spezies gemessen wurden. Dazu sollte allerdings erwähnt werden, dass die hohe Ladungsdichte des Zr(IV)-Ions im Zuge der ESI zu ausgeprägten Messartefakten führen kann [9]. Da in dieser Arbeit keine Maßnahmen getroffen wurden, um diese zu unterdrücken, könnten sich hier also auch andere Spezies zeigen.

4. Programmierung

Das in dieser Arbeit entwickelte Programm besteht aus einem Python-Paket mit mehreren Untermodulen und einer dazugehörigen grafischen Benutzeroberfläche (GUI). In diesem Kapitel sollen Aufbau und Funktionsumfang dieser beiden Komponenten beschrieben werden. Dafür folgt zunächst eine Einführung in die wichtigsten Methoden und Begriffe im Zusammenhang mit den dabei verwendeten Programmiertechniken.

4.1. Objektorientierte Programmierung in Python

Dieses Projekt folgt zu großen Teilen dem Konzept der *objektorientierten Programmierung (OOP)*. Im Folgenden soll die Idee dieses Programmierparadigmas in Grundzügen erläutert werden.

Bei der OOP wird der Code strukturiert durch sogenannte *Klassen*, denen Eigenschaften (*Attribute*) und Aktionen (*Methoden*) zugeordnet werden. Alle zu einer Klasse gehörenden Objekte (die sogenannten *Instanzen* einer Klasse) besitzen dann diese Attribute und Methoden.

Ein klassisches Beispiel zur Veranschaulichung ist die Klasse Fahrzeug. Ein Objekt dieser Klasse könnte beispielsweise die Attribute Farbe und Geschwindigkeit besitzen, deren Werte für jede Instanz unterschiedlich sein können. Eine Methode, die den Wert des Attributs Geschwindigkeit vergrößert, könnte dann z. B. beschleunigen heißen. [71]

Im weitesten Sinne stellt eine Methode dabei lediglich eine Funktion dar, die auf das jeweilige Objekt und seine Eigenschaften zugreifen kann. Während im obigen Beispiel auf diese Weise die Eigenschaften des Objektes selbst modifiziert werden, können Methoden auch einfach dazu dienen, Berechnungen auf Grundlage der Attribute eines Objektes durchzuführen. Ebenso lassen sich damit aber auch Interaktionen zwischen mehreren Objekten definieren, wobei diese aus derselben oder aus unterschiedlichen Klassen stammen können.

Wahlweise kann eine Methode auch parameterabhängig definiert werden. Dem Fahrzeug-Beispiel folgend könnte die Methode **beschleunigen** einen Parameter, auch Argument genannt, haben, um dessen Wert die Geschwindigkeit bei Anwendung der Methode erhöht wird. In Python wird dabei zwischen positionellen Argumenten und Schlüsselwort-Argumenten unterschieden. Positionelle Argumente müssen bei Anwendung der Methode übergeben werden, sonst wird eine Fehlermeldung ausgegeben. Im Gegensatz dazu werden für Schlüsselwort-Argumente bei der Programmierung Standardwerte definiert, auf die zurückgegriffen wird, falls kein anderer Wert übergeben wird. Dadurch lassen sich Methoden erzeugen, die einerseits intuitiv und ohne umfangreiches Vorwissen benutzbar sind, aber andererseits bei Bedarf einen großen Variations- und Optimierungsspielraum bieten.

Ein weiteres wichtiges Konzept im Zusammenhang mit OOP ist die Vererbung. Es wird eine sogenannte Kind-Klasse definiert, die von einer anderen Klasse (der Eltern-Klasse) erbt. Dabei übernimmt die Kind-Klasse automatisch alle Merkmale der Eltern-Klasse und erhält je nach Anwendungsfall zusätzlich eigene Attribute und/oder Methoden. So könnte beispielsweise eine Klasse Auto von Fahrzeug erben

4. Programmierung

und zusätzlich eine Attribut Reifenanzahl erhalten, dem der Wert 4 zugewiesen wird. Dem entgegen stünde beispielsweise eine Klasse Flugzeug, deren Reifenanzahl einen anderen Wert besitzt und die dafür als weiteres Attribut die Flughöhe erhält. Attribute und Methoden der Eltern-Klasse können auch überschrieben oder modifiziert werden. So könnte der Klasse Auto eine Höchstgeschwindigkeit zugewiesen werden, ab der die Methode beschleunigen die Geschwindigkeit nicht weiter erhöht.

4.2. Aufbau des Programms

4.2.1. Das Python-Paket

Das Python-Paket enthält alle Klassen und Funktionen, die im Zuge dieser Arbeit entwickelt wurden. Es stellt die Grundlage für die GUI dar, ist aber auch völlig eigenständig nutzbar und ermöglicht python-versierten Nutzenden durch seine größere Flexibilität im Vergleich zur GUI sogar einen erhöhten Funktionsumfang. Es besteht im Wesentlichen aus den Modulen **spectrum**, **element** und **species**. Darüber hinaus existieren die Module **preprocessing** und **usefull**. Diese sind allerdings nicht für den direkten Zugriff durch die Nutzenden gedacht, sondern enthalten lediglich Funktionen, auf die aus den übrigen Modulen zugegriffen wird.

Umfassend Gebrauch gemacht wurde von den oben beschriebenen Schlüsselwort-Argumenten. Für die im experimentellen Teil dieser Arbeit verwendeten Instrumente und Messparameter können dabei die Standardwerte problemlos beibehalten werden. Modifikationen könnten allerdings notwendig sein, falls ein anderer Instrumententyp eingesetzt werden soll, oder die Instrumentenkonfiguration maßgeblich verändert wird.

Der folgende Abschnitt gibt eine Übersicht über die wichtigsten Klassen und Funktionen.

Das spectrum-Modul

Das spectrum-Modul umfasst alle Klassen und Funktionen im Zusammenhang mit Messdaten und deren Verarbeitung. Bei den in dieser Arbeit angewendeten Methoden besteht der erste Schritt dabei in der Erstellung eines gemittelten Spektrums, in dem die Daten mehrerer (hier meist aller) Scans in einem Spektrum zusammengefasst werden. Bei Messungen im Profilmodus handelt es sich hierbei ebenfalls um ein Profilspektrum. Aus diesem kann dann ggf. durch Zentrierung ein Strichspektrum erstellt werden. Für Details zum Datenverarbeitungsprozess sei auf Abschnitt 4.3.1 verwiesen.

Die Klasse **Spectrum** bietet Zugriff auf jegliche massenspektrometrische Daten in Form von Tabellen bzw. Listen¹ mit m/z- und Intensitätswerten. Außerdem sind Methoden zur grafischen Darstellung (*Plotten*) und zum Exportieren der Daten implementiert. Darüber hinaus steht eine Schnittstelle zur Speziessuche aus dem **species**-Modul zur Verfügung. Außerdem können beliebige Metainformationen hinterlegt werden.

Die Kind-Klassen ProfileSpectrum und CentroidSpectrum erben von Spectrum und repräsentieren Spektren im Profil- bzw. Strichmodus. Im Allgemeinen kann ein ProfileSpectrum zunächst ein beliebiges Massenspektrum im Profilmodus darstellen, im Rahmen des beschriebenen Arbeitsablaufs enthält es jedoch in der Regel die Daten des gemittelten Spektrums. Gegenüber der Eltern-Klasse besitzt das

 $^{^1\}mathrm{Gemeint}$ sind eigentlich Arrays. Im Folgenden wird der Begriff der Liste aber beibehalten werden.

ProfileSpectrum lediglich eine weitere Methode zur Erstellung eines Strichspektrums. Außerdem können zusammengehörende Strich- und Profilspektren miteinander verknüpft werden.

Ein CentroidSpectrum entsteht meist aus der Zentrierung eines Profilspektrums und bietet Zugriff auf alle gefundenen Peaks unter anderem mit Informationen über Peakposition, -höhe, -breite, und -fläche. Standardmäßig wird als Intensitätswert die Peakhöhe genutzt, optional kann aber auch die Fläche verwendet werden. Dafür ist eine Korrektur der Peakfläche auf m/z-Abhängigkeit möglich, indem der qualitative Zusammenhang zwischen Massenauflösung und m/z angegeben wird. Des Weiteren existiert eine Schnittstelle zur Elementsuche.

Für einen bequemen Umgang mit Messdaten wurde außerdem die Klasse Measurement entwickelt. Eine Measurement-Instanz kann zum Beispiel aus einer mzML-Datei erzeugt werden, die die Daten einer massenspektrometrischen Messung enthält. Nach der Initiierung sind die einzelnen Scans als Scan-Objekte (eine Klasse aus dem Python-Paket *ms_deisotope* [72]) verfügbar. Auch Metadaten, beispielsweise zur Instrumentenkonfiguration, können abgerufen werden. Es sind Methoden zur Erstellung von gemittelten Spektren und Strichspektren vorhanden. Außerdem kann auch ein Ionenchromatogramm berechnet werden.

Dateien im raw-Format von THERMO FISCHER SCIENTIFIC können nicht direkt eingelesen werden, allerdings ist eine Konvertierungsfunktion zur Erstellung einer mzML-Datei verfügbar. Diese basiert auf dem *ThermoRawFileParser* [73]. Alternativ können auch csv-Dateien verwendet werden. Dabei werden bei der Initiierung des Measurement-Objekts die m/z und Intensitätswerte jedes Scans einzeln bereitgestellt, so dass mehrere Dateien übergeben werden müssen. Liegt eine csv-Datei mit bereits gemittelten und ggf. zentrierten Messdaten vor, kann aber auch direkt ein ProfileSpectrum oder CentroidSpectrum erzeugt werden.

Das element-Modul

Die Hauptfunktionalität des element-Moduls ist in der Funktion find_isotope_pattern enthalten, mit der innerhalb eines Spektrums nach dem charakteristischen Isotopenmuster eines Elementes gesucht werden kann (Näheres in Abschnitt 4.3.2). Standardmäßig werden dafür die natürlichen Isotopenhäufigkeiten zugrunde gelegt. Diese wurden der entsprechenden Datenbank des Python-Moduls *pyteomics* [74, 75] entnommen. Die Klasse IsotopicComposition ermöglicht es zudem, ein modifiziertes Isotopenverhältnis zu definieren. Für die Berechnung der Isotopenmuster polymerer Spezies steht außerdem die Klasse PolyComposition zur Verfügung.

Das species-Modul

Die im species-Modul enthaltene Species-Klasse wurde zur Repräsentation chemischer Spezies entwickelt. Sie ist eine Kind-Klasse der Formula-Klasse aus dem Modul *pyvalem* [76], die verschiedene Informationen über chemische Verbindungen zugänglich macht. Die Initiierung erfolgt über eine chemische Formel. Im Gegensatz zur Eltern-Klasse ist hier die Spezifizierung einzelner Isotope innerhalb der Formel allerdings nicht möglich, da ein Species-Objekt eine chemische Verbindung mit all ihren Isotopologen darstellen soll. Auch hier kann allerdings ein IsotopicComposition-Objekt (siehe element-Modul) als optionaler Parameter übergeben werden, falls ein verändertes Isotopenverhältnis angewendet werden soll.

4. Programmierung

Neben einer Liste aller Isotopologe sind auch Informationen über relative Häufigkeiten und Massen abrufbar [74, 75]. Optional kann dabei eine maximale Anzahl an Isotopologen oder auch ein Schwellwert für die Häufigkeit angegeben werden.

Auch Methoden zur Vervielfältigung (Multiplikation mit einem ganzzahligen Skalar) und zum Addieren mehrerer Spezies wurden implementiert. Dies erleichtert beispielsweise die automatisierte Erzeugung von Metallkomplexen mit unterschiedlichen Ligandenkonfigurationen und Polymerisierungsgraden.

Daneben bietet das Modul mit der Funktion find_species die Möglichkeit, ein Spektrum nach einer konkreten Spezies zu durchsuchen. Als Ergebnis werden verschiedene Bewertungsparameter sowie Informationen über die erwarteten und die gefundenen Peaks ausgegeben (siehe Abschnitt 4.3.3).

Schließlich dient die Funktion find_stoich der Berechnung möglicher elementarer Zusammensetzungen für konkrete m/z-Werte. Dabei steht eine zusätzliche Funktion zur Verfügung, um zu überprüfen, ob die Ergebnisse sich auf bestimmte Formelbausteine zurückführen lassen.

4.2.2. Die grafische Benutzeroberfläche

Die GUI wurde mit *tkinter* [77] erstellt. In Anlehnung an die Struktur des Python-Pakets ist sie in drei Tabs aufgeteilt: den *Measurement*-Tab, den *Element Search*-Tab und den *Species Search*-Tab. Nach dem Auswählen einer Datei öffnet sich zunächst ein Fenster mit den wesentlichsten Einstellungen für die Vorverarbeitung der Messdaten. Um ggf. die Auswahl des passenden Scan- und Massenbereichs zu erleichtern, werden im Falle von mzML- oder raw-Dateien das Ionenchromatogramm und Plots der einzelnen Scans angezeigt. Alle Spektrum-Plots sind dabei mit einer Navigationstoolbar ausgestattet, die es erlaubt, einzelne Abschnitte zu vergrößern, sich innerhalb des Plots zu bewegen oder die Grafik zu exportieren.

Nach abgeschlossener Verarbeitung wird das resultierende Strichspektrum im *Measurement*-Tab abgebildet, um eine nähere Betrachtung zu ermöglichen (Abbildung 4.1). Hier können ggf. auch die Isotopenverhältnisse eingestellt werden, falls mit künstlichen Radionukliden oder modifizierten Isotopenhäufigkeiten gearbeitet wurde.

Im Tab *Element Search* finden sich neben den Einstellungen für die Elementsuche eine Tabelle und ein Plot-Bereich für die Ergebnisse (Abbildung 4.2). Hier erscheint nach erfolgreicher Suche eine Darstellung des Spektrums, indem die für die unterschiedlichen Elemente gefundenen Peakgruppen farbig hervorgehoben sind.

Der Species Search-Tab folgt einem ähnlichen Aufbau (Abbildung 4.3). Hier können die zu suchenden Verbindungen konfiguriert werden, wobei sowohl eine manuelle Eingabe von Formeln möglich ist als auch ein automatisiertes Konfigurieren von Spezies anhand von Ligandendatenbanken. Diese Datenbanken enthalten mögliche Komplexbausteine mit Kürzel und chemischer Formel sowie Standardwerten für die minimale und maximale Anzahl des Auftretens im Komplex (siehe Tabelle 4.1). Außerdem sind die Einträge nach Stammverbindung und Kategorie sortiert und können einzeln oder in diesen Gruppen über Checkboxen an- und abgewählt werden. Zusätzlich werden von den Nutzenden das Element des Zentralatoms, die zu betrachteten Oxidationszustände und optional ein Ladungsbereich ausgewählt. Anschließend werden innerhalb der festgelegten Parameter alle möglichen Kombinationen der gewählten Liganden mit den verschiedenen Oxidationszuständen berechnet und als Verbindungen für die Speziessuche gespeichert. Optional können weitere Bedingungen zur Eingrenzung der Speziesmenge angegeben werden, beispielsweise wie die Mengen der einzelnen Komponenten zueinander in Relation stehen sollen. Die Erstellung und Bearbeitung der Ligandendatenbanken erfolgt ebenfalls in diesem Tab. Es können unterschiedliche Datenbanken ausgewählt, neue Datenbanken erstellt oder bestehende bearbeitet werden, beispielsweise durch das Hinzufügen weiterer Liganden.

An dieser Stelle sollte erwähnt werden, dass bei der automatisierten Konfiguration eine sorgsame Auswahl der gewünschten Liganden und Addukte sowie der minimalen und maximalen Anzahl dieser unabdingbar ist, um das Programm nicht zu überlasten. Als Beispiel sei auf die für diese Arbeit erstellte Ligandenliste (Tabelle 4.1) verwiesen. Bei Auswahl aller Komponenten mit den voreingestellten Begrenzungen ergeben sich mehr als 10²⁰ verschiedene Kombinationen.

Da auch bei umsichtiger Konfiguration schnell eine Vielzahl an Spezies zusammenkommt, wurde darauf verzichtet, die Ergebnisse direkt nach Abschluss der Suche zu plotten. Stattdessen können die Verbindungen von besonderem Interesse in der Ergebnistabelle markiert und so in kleineren Gruppen dargestellt werden. Dann werden die berechneten Isotopenverteilungen dieser Spezies farbig in das Spektrum eingezeichnet. Das Rechtsklick-Menü der Tabelle ermöglicht außerdem eine detailliertere Ergebnisanzeige für einzelne Spezies.



Abb. 4.1.: Tab in der GUI für die Inspektion des Spektrums.

4. Programmierung



Abb. 4.2.: Tab in der GUI für die Suche nach elementspezifischen Isotopenmustern.



Abb. 4.3.: Tab in der GUI für die Suche nach konkreten chemischen Spezies.

Category	Parent	Symbol	Formula	Min.	Max
Carboxylic Acids	Acetic Acid	AcO	C2H3O2-	0	4
	Citric Acid	Ci	C6H4O7-4	0	4
		H-Ci	C6H5O7-3	0	4
		H2-Ci	C6H6O7-2	0	4
		H3-Ci	C6H7O7-	0	4
	Malonic Acid	H-Mal	C3H3O4-	0	4
		Mal	C3H2O4-2	0	4
	Oxalic Acid	H-Ox	C2HO4-	0	4
		Ox	C2O4-2	0	4
Phosphoric Acids	Phytic Acid	Phy	C6H6O24P6-12	0	3
		H-Phy	C6H7O24P6-11	0	3
		H2-Phy	C6H8O24P6-10	0	3
		H3-Phy	C6H9O24P6-9	0	3
		H4-Phy	C6H10O24P6-8	0	3
		H5-Phy	C6H11O24P6-7	0	3
		H6-Phy	C6H12O24P6-6	0	3
		H7-Phy	C6H13O24P6-5	0	3
		H8-Phy	C6H14O24P6-4	0	3
Synthetic Compounds	EDTA	EDTA	C10H12N2O8-4	0	2
		H-EDTA	C10H13N2O8-3	0	2
		H2-EDTA	C10H14N2O8-2	0	2
		H3-EDTA	C10H15N2O8-	0	2
Anorganic Ligands	Hydroxide	OH	OH-	0	5
	Nitrate	NO3	NO3-	0	4
	Nitrite	NO2	NO2-	0	2
	Chloride	Cl	Cl-	0	5
	Oxide	0	O-2	0	4
Kations	Proton	Н	H+	0	2
	Potassium	Κ	K+	0	10
	Sodium	Na	Na+	0	10
Neutral Adducts	Water	H2O	H2O	0	5
	Silica	SiO2	SiO2	0	2
	Carbon Dioxide	CO2	CO2	0	3
	Carbon Monoxide	CO	СО	0	5

Tab. 4.1.: Beispiel für eine Speziesdatenbank.

4.3. Implementierung der Kernfunktionalitäten

Der folgende Abschnitt soll einen Überblick über die Kernfunktionalitäten des Programms geben. Der Fokus liegt dabei auf der konzeptionellen Umsetzung, die Implementierung soll dabei nur grob umrissen werden. Eine Auflistung der verwendeten Python-Pakete findet sich im Anhang unter Abschnitt A.2.1. Der Quellcode sowie eine HTML-Dokumentation liegen in elektronischer Form bei.

4.3.1. Datenverarbeitung

Wie in Kapitel 2 beschrieben, setzt sich eine Messung mit dem Orbitrap-Massenspektrometer aus mehreren Einzelspektren, den Scans, zusammen. Der erste Schritt im Datenverarbeitungsprozess besteht darin, die Scans zu einem einzigen Spektrum zu mitteln. Dabei kann die Verarbeitung optional auf einen definierten Massenbereich oder ausgewählte Scans bzw. Messzeitintervalle beschränkt werden. Letzteres kann beispielsweise für Messungen mit chromatografischer Trennung nützlich sein.

Zwar erzeugt der Orbitrap-Analysator stets Profilspektren, das Gerät bietet aber die Möglichkeit, diese direkt zu zentrieren und die Daten als Strichspektrum abzuspeichern. Es gilt also zu unterscheiden, ob die Scans im Profil- oder im Strich-Modus aufgenommen werden.

Messungen im Strich-Modus

Im Fall des Strich-Modus besteht die essentielle Aufgabe darin, die Signale aus den unterschiedlichen Scans einander zuzuordnen. Im Idealfalle stammen dann alle Signale innerhalb einer so entstandenen Gruppe vom selben Ion. Die Herausforderung besteht darin, dass aufgrund der Messungenauigkeiten die gemessenen m/z-Werte eines Ions in den verschiedenen Scans leicht variieren. Vor allem bei sehr nah zusammenliegenden Signalen ist die Zuordnung dann nicht immer eindeutig. Um dieses Problem zu lösen, stehen zwei verschiedene Algorithmen zur Verfügung.

Der *Peak Matching* Algorithmus ist eine Variation des von Krishnan et al. für LC-MS-Messungen vorgeschlagenen Verfahrens [78]. Dabei wird als Referenzspektrum zunächst der Scan mit der höchsten Signalanzahl ausgewählt. Ausgehend davon werden der Reihe nach für die weiteren Scans alle Signale dem ihnen jeweils am nächsten liegenden Peak aus dem Referenzspektrum zugeordnet, sofern ein gewisser (benutzerdefinierter) Massenabstand nicht überschritten wird. Sollte kein Peak des Referenzspektrums innerhalb der Massentoleranz liegen, wird das Signal als eigener Peak hinzugefügt.

Im Gegensatz dazu werden beim *Natural Breaks* Algorithmus zunächst alle Scans zu einem Summenspektrum überlagert. Anhand der Abstände zwischen den Signalen im Summenspektrum sollen dann natürliche Minima in der Signaldichte gefunden werden, um auf diese Weise die "intuitiven" Grenzen zwischen den zusammengehörenden Signalen zu finden. Auch hier fungiert ein benutzerdefinierter Maximalwert als Obergrenze für die Peakbreite.

Nach erfolgter Zuordnung der Signale wird die Intensität der einzelnen Beiträge summiert und zur Ermittelung des m/z-Wertes ein nach den Intensitäten gewichteter Mittelwert gebildet. Bei dem so erstellten Spektrum handelt es sich wie bei den Scans um ein Strichspektrum. Aus der Streuung der zu jedem Peak beitragenden Signale kann jedoch eine grobe Abschätzung der Peakbreite berechnet werden.



Abb. 4.4.: Berechnung des Beitrags eines einzelnen Scans zum gemittelten Spektrum.

Messungen im Profil-Modus

Bei Messungen im Profil-Modus wird (mit geringfügigen Modifikationen im Hinblick auf das m/z-abhängige Auflösungsvermögen des Orbitrap-Analysators) auf die entsprechende Funktion aus dem Python-Paket ms_peak_picker [79] zurückgegriffen. Hier werden zunächst anhand eines Massenbereichs (meist der gesamte Messbereich) und einer Massenauflösung die m/z-Werte des neuen Spektrums aufgestellt. Anschließend werden für jeden Scan die Beiträge für alle diese Datenpunkte als gewichtetes Mittel des jeweils nächst kleineren und größeren m/z-Wertes im Scan ermittelt (siehe Abbildung 4.4). Zuletzt werden die Beiträge aller Scans gemittelt.

Das nach der beschriebenen Methode gemittelte Spektrum ist erneut ein Profilspektrum. Für die Elementsuche (siehe unten) wird jedoch ein Strichspektrum benötigt. Aus diesem Grund werden die Daten im nächsten Schritt einem sogenannten *Peak Picking* Algorithmus unterzogen. Grundlage ist auch hier wieder eine Funktion aus dem ms_peak_picker -Paket, bei der Peaks anhand von lokalen Maxima im Profilspektrum identifiziert werden. Neben dem m/z-Wert und der Peakhöhe werden dabei unter anderem auch die Peakbreite und -fläche bestimmt. Hierbei kann zwischen gaußscher und lorentzscher Peakform gewählt werden.

Wie in Abschnitt 2.2.2 diskutiert, ergeben sich aus der Fouriertransformation im Idealfall lorentzförmige Peaks. Bei der Betrachtung der Spektren wird allerdings deutlich, dass eine gaußsche Peakform die Messdaten wesentlich besser wiedergibt, nicht nur im gemittelten Spektrum, sondern auch in den einzelnen Scans, wie in Abbildung 4.5 exemplarisch dargestellt. Dies könnte auf die angesprochenen Datenmanipulationen (*Zerofilling* und Apodisation) zurückzuführen sein, die vor der Fouriertransformation durchgeführt werden [30]. Aus diesem Grund wurde für den gesamten Datenverarbeitungsprozess ein gaußsches Peakmodell zugrunde gelegt.

Während der von *ms_peak_picker* bereitgestellte Algorithmus für klar getrennte Peaks gute Ergebnisse liefert, stellt sich die Bestimmung der Halbwertsbreite für überlappende Peaks als problematisch heraus. Da der Algorithmus die Peakgrenzen aus dem Intensitätsabfall der Peakflanken bestimmt, werden die Peakbreiten und -flächen an solchen Stellen teils massiv überschätzt. Zudem ergeben sich auch tendenziell zu große Peakhöhen, da bei deren Bestimmung Überlappungen nicht miteinbezogen werden.

Um diesem Umstand zu begegnen, wird der Peak Picking Prozess daher in drei



Abb. 4.5.: Vergleich von Lorentz- und Gaußverteilung mit der gemessenen Peakform. Augenscheinlich stellt die Gaußkurve die bessere Näherung dar.

verschiedenen Genauigkeitsstufen angeboten. Bei geringer Genauigkeit werden die Ergebnisse des ursprünglichen Algorithmus übernommen, während im Gegensatz dazu bei höchster Genauigkeit eine Überlagerung mehrerer Gaußverteilungen an die Messdaten der überlappenden Peaks angepasst wird. Da dieses Vorgehen vor allem bei Spektren mit einer Vielzahl an überlappenden Signalen teils sehr lange Rechenzeiten benötigt, wurde die mittlere Genauigkeitsstufe als Kompromiss entwickelt. Dabei wird zunächst die mittlere Peakbreite im Spektrum bestimmt (ggf. unter Berücksichtigung der m/z-Abhängigkeit) und dort, wo die Signale nicht gut aufgelöst sind, eine entsprechende Korrektur der Peakbreite und -fläche durchgeführt.

4.3.2. Elementsuche

Grundlage der Elementsuche ist die charakteristische Isotopenverteilung des gesuchten Elements. Die Aufgabe besteht dabei darin, im Strichspektrum alle Peakgruppen zu finden, deren Massenabstände und Intensitätsverhältnisse untereinander zu dem gesuchten Isotopenmuster passen. Da die Isotopenhäufigkeit gewissen Schwankungen unterworfen ist und die Massenbestimmung des Instrumentes niemals vollkommen exakt sein kann, ist dabei die Wahl passender Toleranzbereiche von zentraler Bedeutung. Dafür werden Maximalwerte für die Massenabweichung $|\delta m|$ und die Häufigkeitsabweichung $|\delta \rho|$ festgelegt, wobei folgende Definitionen gelten:

$$\delta m = \frac{m/z - m/z_0 - \Delta m}{m/z} \qquad m/z_0: \text{ gemessener } m/z\text{-Wert des Referenzions} \qquad (4.1)$$
$$\Delta m: \text{ theoretische Massendifferenz}$$
$$\delta \rho = \frac{I/I_0 - \rho}{\rho} \qquad I_0: \text{ gemessene Intensität für das Referenzion} \qquad (4.2)$$
$$\rho: \text{ theoretisches Häufigkeitsverhältnis}$$

Zur Beschreibung des generellen Vorgehens kann das Spektrum als Liste aus m/z-Intensität-Paaren betrachtet werden (als Intensitätsmaß kann statt der Peakhöhe wahlweise auch die Peakfläche verwendet werden). Zunächst wird dann aus der gesuchten Isotopenverteilung das häufigste Isotop als Referenz definiert. Alle Massendifferenzen und Intensitätsverhältnisse werden dann relativ zum Referenzisotop
berechnet. Natürlich liegen die Isotope in der Regel in chemischen Verbindungen vor und werden nicht isoliert gemessen. Da sich die Massendifferenzen und Intensitätsverhältnisse aber (im Falle einer monomeren, einfach geladenen Spezies) direkt auf die Molekülionen übertragen lassen, wird im Folgenden der sprachlichen Übersicht halber der Begriff des Isotops stellvertretend für das Molekülion, welches das Isotop enthält, verwendet.

Für jedes Paar $[(m/z)_i, I_i]$ im Spektrum wird nun überprüft, ob das Signal zum Referenzisotop des gesuchten Elements gehören könnte. Dafür wird für jedes weitere Isotop die Menge der Peaks bestimmt, für die die Massendifferenz und das Intensitätsverhältnis relativ zum fraglichen Signal innerhalb der gewählten Toleranzbereiche der theoretischen Vorhersage entsprechen. Falls für jedes Isotop ein entsprechender Peak gefunden wird, wird die Peakgruppe in die Ergebnisliste aufgenommen. Wird für ein Isotop mehr als ein Peak gefunden, so wird das Signal ausgewählt, das die geringsten Abweichungen von den theoretischen Werten zeigt.

Falls ein oder mehrere Isotope eine sehr geringe relative Häufigkeit besitzen, kann optional ein Schwellenwert I_R definiert werden. Eine Peakgruppe wird dann auch bei nicht gefundenen Isotopen noch als potentielles Ergebnis behandelt, solange die zu erwartende Intensität der fehlenden Isotope (abgeschätzt anhand der Intensität des Referenzisotops) kleiner als I_R ist.

Das beschriebene Vorgehen kann auf mehrfach geladene Spezies erweitert werden. Hier sind entsprechend die theoretischen Massendifferenzen durch den Betrag der Ladung zu dividieren. Auch die Suche nach polymeren Spezies ist möglich.

4.3.3. Speziessuche

Die Grundidee hinter der Speziessuche ist simpel. Anhand der Isotopenhäufigkeiten der beteiligten Elemente kann für eine chemische Spezies ein theoretisches Isotopenmuster, also Massen und relative Intensitäten der einzelnen Isotopologe, berechnet werden. Nun gilt es zu prüfen, ob diese vorhergesagten Peaks in den richtigen Intensitätsverhältnissen im Spektrum vorhanden sind.

Zu bedenken ist dabei allerdings die isotopische Feinstruktur. Tendenziell gilt, je komplexer die chemischen Verbindungen werden (also je mehr Atome sie enthalten), desto mehr Isotopologe besitzen die gleiche nominelle Masse. Die sehr nah beieinander liegenden Signale lassen sich dann zum Teil selbst mit dem Orbitrap-Analysator nicht mehr vollständig auflösen. Das durch diese sich überlagernden Signale entstehende Profilspektrum zeigt dann unter Umständen nach Umwandlung in ein Strichspektrum eine andere Peakverteilung als naiver Weise aufgrund der Isotopenhäufigkeiten zu erwarten wäre. Um dieses Problem zu umgehen, wird in dieser Arbeit der von Stoll et al. publizierte Ansatz verfolgt [80].

Dabei wird zunächst unter Berücksichtigung der Auflösung des Spektrums im betrachteten Massenbereich aus der theoretischen Isotopenverteilung ein simuliertes Profilspektrum als Überlagerung von gaußförmigen Peaks erzeugt. Anschließend wird dieses simulierte Spektrum in ein Strichspektrum überführt, welches dann mit den gemessenen Daten verglichen wird. Falls die Messdaten bereits als Strichspektrum vorliegen und keine Informationen über die spektrale Auflösung verfügbar sind, kann der zu verwendende Wert optional manuell eingepflegt werden. Geschieht dies nicht, wird die theoretische Isotopenverteilung übenommen, was formal einer unendlichen Auflösung entspricht.

Zu beachten ist, dass an dieser Stelle aus Effizienzgründen nicht wie in der Datenver-

4. Programmierung

arbeitung der *Peak Picking* Algorithmus aus dem *ms_peak_picker*-Paket verwendet wird, sondern eine schnellere Funktion aus der *SciPy*-Bibliothek [81]. Zur besseren Vergleichbarkeit werden bei Existenz eines Profilspektrums immer sowohl die simulierten als auch die gemessenen Daten diesem Verfahren unterzogen. Da damit allerdings lediglich die Position des Peakmaximums bestimmt wird, stehen hier keine Informationen über Peakbreite oder -fläche zur Verfügung.

Für den Vergleich der beiden Spektren müssen im ersten Schritt aus den Messdaten die Signale ausgewählt werden, die am besten zu den vorhergesagten Peaks passen. Bei Stoll et al. wird dafür aus einem Toleranzbereich um die m/z-Werte der theoretischen Peaks jeweils das Signal mit der größten Intensität gewählt, falls mehrere infrage kommen. Im Gegensatz dazu werden hier standardmäßig vorerst alle möglichen Kombinationen beibehalten und später anhand der berechneten Korrelationswerte die beste Kombination ausgewählt. Da dieses Vorgehen bei Spezies mit vielen Isotopologen sehr zeitaufwändig sein kann, steht allerdings auch die andere Variante zur Verfügung.

Stoll et al. wenden für die Bewertung der Ähnlichkeit zwischen simuliertem und gemessenem Spektrum ein von Tong et al. beschriebenes Verfahren an [82]. Dabei wird zunächst über eine *least-square*-Anpassung ein sogenannter Normierungsfaktor bestimmt, mit dem die relativen Häufigkeiten des simulierten Spektrums an die tatsächliche gemessenen Intensitäten angepasst werden. Anschließend wird aus den relativen Abweichungen der Messwerte von den simulierten Intensitäten ein Korrelationsfaktor bestimmt.

Im Zuge der experimentellen Arbeiten wurde festgestellt, dass der nach diesem Verfahren bestimmte Korrelationswert Intensitätsabweichungen bei Signalen mit geringem Anteil an der Gesamtintensität mitunter nicht adäquat widerspiegelt. Daher wird für diese Signale ein gesonderter Korrelationswert berechnet. Dieser wird dann mit in die Gesamtwertung einbezogen, wobei die Gewichtung anhand des relativen Anteils der beitragenden Signale erfolgt. Außerdem werden zusätzliche Abzüge berechnet für vorhergesagte Peaks, für die keine Entsprechung im Spektrum gefunden wurde. Genauere Angaben zur Berechnung der Gesamtwertung sowie der einzelnen Komponenten sind in Abschnitt A.2.2 zu finden.

5. Experimentelle Arbeit

Die experimentelle Arbeit dient vor allem der Identifizierung von chemischen Spezies innerhalb verschiedener Spektren. Durch Vergleich mit einer manuellen Auswertung sollen später die Ergebnisse des entwickelten Programms qualitativ beurteilt und geeignete Parameter für den Betrieb erarbeitet werden. Die im Spektrum gefundenen Verbindungen müssen dabei nicht zwangsweise die Situation in der Probe widerspiegeln, sondern können durch die in Abschnitt 2.1.2 angesprochenen Messartefakte zum Teil sogar deutlich davon abweichen. In diesem Kapitel soll ein Überblick über die betrachteten Lösungen, ihre Herstellung und die verwendeten Messparameter gegeben werden. Außerdem wird die Auswertung der Messdaten beschrieben.

Alle gemessenen Lösungen enthalten Europium, Uran oder Zirconium. Diese drei Metalle wurden ausgewählt, da sie sehr verschiedene Isotopenmuster aufweisen. Für Europium wurden Lösungen von Europium-Nitrat und Europium-Chlorid in Wasser sowie eine europiumhaltige Hoaglandlösung zur Aufzucht von Pflanzen in Hydrokultur und Europium-Nitrat-Lösungen mit verschiedenen organischen Liganden verwendet. Uran wurde bei pH 0 und pH 3 in HCl und HNO₃ und Zirconylchlorid in HCl im pH-Bereich 0 bis 0,3 gemessen. Tabelle 5.1 zeigt eine Übersicht aller in dieser Arbeit verwendeten Messungen.

5.1. Herstellung der Lösungen

Europium-Lösungen

Zur Herstellung der Europium-Nitrat und -Chlorid-Lösungen wurden 3 mM Eu(NO_3)₃ · $5 H_2O$ bzw. EuCl₃ · $6 H_2O$ in Milli-Q-Wasser gelöst. Die Hoagland-Lösung enthielt 1 mM Europium-Nitrat. Für die übrigen Lösungen wurden zunächst Stammlösungen von Europium-Nitrat und den verwendeten Liganden mit einer Konzentration von 50 mM angesetzt. Anschließend wurden daraus für alle Liganden Lösungen mit einer Europium-Konzentration von 1 mM und einem Europium-Liganden-Verhältnis von 1:1 hergestellt. Die Lösungen mit zwei Liganden wurden bei gleicher Europium-Konzentration auf ein Verhältnis Eu:L₁:L₂ von 2:1:1 eingestellt. Da bei den Messungen der Liganden-Lösungen Probleme mit Signaleinbrüchen auftraten, wurden diese später im Verhältnis 1:10 verdünnt, um einem Verstopfen der nanoESI-Nadel durch zu hohe Ionenfrachten vorzubeugen. Damit ergibt sich für diese Proben eine Europium-Konzentration von 0,1 mM. Eine Übersicht über die verwendeten Chemikalien und die genauen Konzentrationen findet sich in Abschnitt A.3 und A.4.

Uran-Lösungen

Für die Uranproben wurde metallisches Natururan zunächst in konzentrierter Salzsäure bzw. Salpetersäure aufgelöst, anschließend eingedampft und in 10^{-3} -molarer HCl bzw. HNO₃ aufgenommen. Die so entstandenen Stammlösungen wurden verdünnt und anschließend mit dem *iCAP Q* ICP-MS von THERMO FISHER SCIENTIFIC die Urankonzentration bestimmt. Da die Kalibrierstandards aus abgereichertem Uran hergestellt waren und somit ein anderes Isotopenverhältnis aufwiesen als die

5. Experimentelle Arbeit

Element	Lösung	Positivmodus Negativmodus	
Europium	Nitrat	Х	
	Chlorid	Х	
	Hoagland	Х	
	Phytinsäure	Х	x
	EDTA	Х	x
	Oxalat	Х	x
	Citrat	Х	x
	Acetat	Х	x
	Malonat	х	x
	Phytat + EDTA	Х	x
	Oxalat + Citrat	Х	x
	Acetat + Malonat	Х	x
Zirconium	pH0	Х	x
	$\rm pH0,\!15$	х	x
	$\rm pH0,3$	Х	x
Uran	HNO_3 pH 0	х	
	HNO_3 pH 3	х	
	HCl pH 0	х	
	HCl pH 3	х	

Tab. 5.1.: Übersicht über die durchgeführten Messungen.

Stammlösung, war eine exakte Bestimmung der Gesamturankonzentration nach dem üblichen Verfahren anhand eines ausgewählten Isotops nicht möglich. Als Näherung wurde die Kalibrierung stattdessen auf die summierten Counts aller gemessenen Uranisotope (233 U, 234 U, 235 U, 236 U und 238 U) angewendet. Dieses Verfahren basiert auf der Annahme gleicher Messeffizienz für alle Uranisotope. Da dies allerdings mit den vorliegenden Informationen nicht verifiziert werden konnte, ist mit erhöhten Messunsicherheiten zu rechnen. Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen wurden nach *DIN 32645* berechnet (siehe Tabelle A.6). Es ergaben sich für die Stammlösungen Konzentrationen von 54 mM (HCl) bzw. 53 mM (HNO₃). Aus diesen Lösungen wurden anschließend die Probenlösungen mit [U] ≈ 1 mM bei pH 0 und pH 3 hergestellt. Genauere Angaben zu den Konzentrationen und verwendeten Säuren sind in Abschnitt A.4 zu finden.

Zirconium-Lösungen

Eine Stammlösung aus ZrOCl₂ · 8 H₂O in einmolarer HCl mit [Zr] = 10 mM wurde angesetzt und anschließend auf [Zr] = 1 mM verdünnt. Durch unterschiedliche Verhältnisse von einmolarer und 10⁻³-molarer Salzsäure wurden dabei Proben mit pH 0, pH 0,15 und pH 0,3 hergestellt. Für genauere Angaben zu Zirconium-Konzentrationen, pH-Werten und verwendeten Säuren sei auf Abschnitt A.4 verwiesen.

5.2. Messungen mit dem Orbitrap-Massenspektrometer

Die Messungen wurden mit einer nanoESI-Quelle und einem Orbitrap Elite Massenspektrometer von THERMOFISCHERSCIENTIFIC durchgeführt, wobei stets die Orbitrap-Einheit zur Massenanalyse genutzt wurde. Die Eintrittskapillare des Spektrometers wurde auf eine Temperatur von 250 °C geheizt. Die Messdauer betrug jeweils zwei Minuten, wobei eine maximale Injektionszeit von 10 ms bei einer Zielmenge von $1 \cdot 10^6$ Ionen eingestellt wurde. Die Massenauflösung lag bei $R = 120\,000$ für m/z = 400. Die externe Kalibration erfolgte alle zwei Wochen mit den vorgesehenen Kalibrierstandards von THERMO FISHER SCIENTIFIC. Für eine interne Kalibration wurden Raumluftbestandteile als Lockmassen verwendet [9].

Die Spray-Spannung lag zwischen 1,0 kV und 1,8 kV. Vor der eigentlichen Messung wurde durch Variation von Spannung und Abstand zwischen dem Emitter und der Eintrittskapillare ein möglichst stabiles Spray hergestellt. Mitunter wurde der Sprayfluss dabei durch einen Inertgasstrom unterstützt. Die erreichte Spraystabilität schwankte allerdings stark zwischen den einzelnen Messungen.

Die größten Schwierigkeiten traten dabei bei den Zirconium-Messungen auf. Hier erwies sich das Spray durchgehend als äußerst instabil und der detektierte Ionenstrom als vergleichsweise gering. Probleme mit der Spraystabilität gab es auch bei der Uran-HCl-Lösung bei pH 0, obwohl die übrigen Uran-Lösungen ausgesprochen gut zu messen waren. Bei den Europium-Messungen konnte nach der zusätzlichen Verdünnung für die meisten Proben eine zufriedenstellende Spraystabilität erreicht werden. Vor allem in Negativmodus gab es allerdings einige Ausnahmen. Diese betrafen hauptsächlich die acetat- und malonathaltigen Proben.

5.3. Auswertung

Die Auswertung der Spektren erfolgte stets nach einem ähnlichen Schema. Zunächst wurden alle Peakgruppen identifiziert, deren Intensitätsverhältnisse grob zu dem gesuchten Element passten und deren stärkstes Signal eine relative Intensität von über 1 % bezogen auf den Basispeak des Spektrums aufwies.

Für Europium und Zirconium wurde die Identifikation von potentiellen Spezies mit dem Algorithmus für die Elementensuche durchgeführt. Im Vorfeld wurden für eine erste grobe Bestimmung geeigneter Toleranzgrenzen in ausgewählten Spektren (Eu-Nitrat, Eu-Chlorid und Eu-Hoagland) einige Tests an optisch identifizierbaren Europium-Signalen durchgeführt. Die untersuchten Signale zeigten eine Massenabweichung $|\delta m| < 3$ ppm und Intensitätsabweichungen $|\delta \rho| < 0,09$ (für genaue Definitionen der Toleranzgrenzen siehe Abschnitt 4.3.2). Basierend auf diesen Ergebnissen wurden für die Europium-Spektren die Toleranzgrenzen auf $|\delta m_{max}| = 5$ ppm und $|\delta \rho_{max}| = 0,3$ festgelegt. Gesucht wurde nach bis zu zweifach geladenen Monomeren und Dimeren.

Im Fall von Zirconium erwies sich die optische Bestimmung einer ausreichenden Anzahl von Peakgruppen als herausfordernd. Es stellte sich aber schnell heraus, dass die Intensitätsabweichungen hier deutlich höher liegen, insbesondere für ⁹⁶Zr. Daher wurden für die automatisierte Suche nur die vier primären Isotope herangezogen mit einer Intensitätstoleranz von $|\delta \rho_{max}| = 0,5$ für monomere Spezies. Außerdem wurde nach Di-, Tri-, Tetra- und Pentameren gesucht, wobei die Intensitätstoleranz zunächst $|\delta \rho_{max}| = 0,9$ betrug.

Für die Uranspektren wurden alle Signale mit $I_{rel} > 1\%$ untersucht, zunächst unabhängig vom ²³⁵U-Signal.

Im nächsten Schritt wurden die Ergebnisse der einzelnen Messungen verglichen, um die potentiell beteiligten Elemente weiter einzugrenzen. Basierend darauf wurden für die gefundenen Peakgruppen mögliche elementare Zusammensetzungen berechnet, wobei in der Regel die (vermutete) monoisotopische Masse herangezogen wurde.

Die Berechnung möglicher Summenformeln stellt eine Variation des sogenannten *Coin-Change*-Problems dar. Die dahinter stehende Fragestellung lautet, mit welchen Kombinationen vorgegebener Werte sich ein bestimmter Zielwert erreichen lässt. Für die Lösung dieses Problems wurde, inspiriert von einem Blog-Artikel zu diesem Thema [83], ein rekursiver Ansatz gewählt. Die entsprechende Python-Funktion ist im **species**-Modul des entwickelten Python-Paketes zu finden. Es wurde eine Massentoleranz von ± 5 ppm gewählt.

Die auf diese Weise erhaltenen Summenformeln wurden unter Berücksichtigung möglicher Messartefakte auf chemisch sinnvolle Verbindungen untersucht. Bis auf wenige Ausnahmen konnte die Menge möglicher Ergebnisse so auf höchstens eine Spezies reduziert werden. Dort wo sinnvolle Resultate gefunden wurden, wurden deren Isotopenmuster schließlich optisch mit den Messdaten abgeglichen. Falls auch innerhalb eines größeren Toleranzbereichs nur eine mögliche Summenformel für ein Signal infrage kam, wurden gelegentlich auch Ergebnisse mit leichten Unstimmigkeiten im Isotopenmuster übernommen (für Beispiele siehe Abschnitt 6.3).

Im Folgenden sollen die Resultate kurz zusammengefasst werden. Eine Übersicht aller identifizierten Spezies ist in Tabelle A.11 gegeben.

Europium



Abb. 5.1.: Massenspektrum der Europium-Nitrat-Lösung im Positivmodus. Eingezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen.

In den meisten Verbindungen liegt das zentrale Europium-Atom in der Oxidationsstufe +3 vor, allerdings wurden auch einige Eu(II)-Spezies identifiziert, vermutlich bedingt durch Reduktion während des ESI-Prozesses. Abbildung 5.1 und 5.2 zeigen exemplarisch Spektren der Europium-Nitrat- und Europium-Citrat-Lösungen.

Im Positivmodus stellt in den meisten Spektren $[Eu(OH)_2(H_2O)]^+$ die dominierende Spezies dar. Auch sonst sind wie erwartet viele Hydroxidverbindungen mit bis zu fünf (meist aber nicht mehr als drei) Wassermolekülen vorhanden. In der Nitrat- und der Hoagland-Lösung lassen sich außerdem diverse Verbindungen mit Nitrat-Anteilen finden, während in der Chlorid-Lösung stattdessen nur einige wenige chloridhaltige Spezies identifiziert werden konnten. Bei der überwiegenden Mehrheit der gefundenen Verbindungen handelt es sich um Monomere, aber auch einige Dimere konnten bestimmt werden.

Es konnten kaum Oxalat-Spezies bestimmt werden, nur einige wenige Ox- und HOx-Liganden traten in Kombination mit Citrat auf. Möglicherweise findet während der Messung eine Fragmentierung der Oxalat-Ionen statt. Falls vorhanden, beschränkt sich dieses Phänomen allerdings auf Signale von geringer Intensität, da die dominierenden Europium-Peaks auf Hydroxid- und Nitrat-Spezies zurückgeführt werden konnten. In den Citronensäure-Spektren wurden Liganden der Form H_xCit (x = 1 - 3) gefunden und auch einige Hinweise auf Cit⁴⁻ Ionen, wobei maximal zwei Citrat-Liganden pro Spezies beobachtet wurden. Die meisten Carboxy-Liganden fanden sich in den acetathaltigen Lösungen. Dort konnten Verbindungen mit bis zu fünf Acetat-Liganden identifiziert werden, auch Mischungen von Acetat und Malonat innerhalb einer Spezies wurden beobachtet. Die Anzahl der Malonat-Liganden war dabei, genauso wie in den reinen Malonat-Spezies, im Allgemeinen auf zwei begrenzt. Viele Carbonat-Spezies zeigten zusätzliche Nitrat-Liganden, aber auch Mischungen mit Hydroxid-Liganden und Wasser-Addukte waren vertreten. Im Falle der Acetat-Lösungen konnten auch einige Kalium-Addukte beobachtet werden.

Alle vier Deprotonierungszustände des EDTA-Moleküls wurden gefunden. Dabei traten die EDTA-Liganden ausschließlich einzeln und auch nicht gemischt mit Phytat-



Abb. 5.2.: Massenspektrum der Europium-Citrat-Lösung im Negativmodus. Eingezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen.

Liganden auf, häufig aber in Verbindung mit zusätzlichen Hydroxid- oder Nitrat-Ionen. Phytat-Liganden wurden in der Form H_x Phy (x = 2 - 7) identifiziert. Vor allem im negativen Messmodus konnte auch der Verlust von bis zu zwei HPO₃-Gruppen beobachtet werden, dabei traten im Gegensatz zu EDTA keinerlei Mischungen mit Hydroxid- oder Nitrat-Liganden auf, was vermutlich auf den hohen Ladungszustand der Phytat-Liganden zurückzuführen ist. Im Positivmodus aber kamen wiederum einige Phytat-Nitrat-Spezies vor. Sowohl für EDTA als auch für Phytat konnten zahlreiche Addukte mit bis zu 11 Natrium-Ionen beobachtet werden.

Uran



Abb. 5.3.: Massenspektrum von Uran in HNO_3 bei pH 3. Eingezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen.



Abb. 5.4.: Massenspektrum von Uran in HCl bei pH 3. Eingezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen.

Die Spektren der Uran-Lösungen bei pH3 sind in Abbildung 5.3 und 5.4 zu sehen. Eingezeichnet sind auch hier nur einige ausgewählte Spezies. Ein Überblick über alle Verbindungen ist in Tabelle A.11 zu finden. Alle identifizierten Uranspezies enthalten das Uranyl-Ion UO_2^{2+} oder die reduzierte Form UO_2^{+} . Im HCl- und HNO₃-System konnte jeweils eine dimere Spezies identifiziert werden, diese könnten auf Aufkonzentrationseffekte (siehe Abschnitt 2.1.2) zurückzuführen sein. Darüber hinaus wurden ausschließlich Monomere gefunden.

Neben dem freien Uranyl-Ion existieren Hydroxid-, Nitrat- und Chlorid-Spezies, häufig mit ein bis drei zusätzlichen Wassermolekülen. Auch mehrere Oxo-Artefakte der Form $[\mathrm{UO}_2\mathrm{O}_2(\mathrm{H}_2\mathrm{O})_n]^+$ (n = 1 - 3) wurden gefunden. Diese Ionen wurden schon früher in ESI-Messungen beobachtet und werden üblicherweise auf die Dissoziation eines Nitratliganden und den dadurch bedingten Verlust von Stickstoffmonoxid zurückgeführt [9, 84]. Da die Signale dieser Spezies hier aber auch im HCl-System gefunden wurden und innerhalb einer großen Massentoleranz von mehr als 30 ppm keine anderen Summenformeln in Frage kommen, muss in diesem Fall ein anderer Bildungsmechanismus zugrunde liegen. Auch zwei verschiedene Reaktionswege wären denkbar.

Zirconium

Auch in den Zirconium-Messungen konnten diverse Hydroxid- und Chlorid-Spezies nachgewiesen werden. Bei den meisten Verbindungen handelt es sich um Monomere, allerdings konnten im Positivmodus auch einige Dimere bestimmt werden. Ein ausreichend sicherer Nachweis höherer Polymere gelang im betrachteten Intensitätsbereich nicht. Allerdings zeigen sich in den Spektren einige weitere Peak-Cluster, die nicht eindeutig zugeordnet werden konnten. Denkbar wäre auch, dass die höheren Polymere nur geringe Intensitäten aufweisen, da hier die Anzahl der Signale, auf die sich die Gesamtintensität aufteilt, im Vergleich mit monomeren Spezies um ein Vielfaches höher ist.

In Abbildung 5.5 und 5.6 sind beispielhaft die Spektren der Zirconyl-Chlorid-Lösung bei pH0 dargestellt. Im Positivmodus sind bei höheren m/z einige Polymere zu

beobachten.

Es fällt auf, dass für viele der identifizierten Zirconium-Spezies die Ladung (unter Annahme der üblichen Oxidationszustände) nicht zur Stöchiometrie der Verbindung passt. Dazu gehören beispielsweise Ionen der Form $[ZrO_3(H_2O)_n]^+$. Das Auftreten dieser Spezies ist mit der aquatischen Chemie des Metalls nicht in Einklang zu bringen und konnte auch durch Vergleich mit anderen Studien nicht verifiziert werden.

Allerdings erwies sich die Messung von Zirconium in wässriger Lösung mittels Orbitrap und ESI schon in früheren Untersuchungen als problematisch. Zum einen scheinen die Ergebnisse stark von der schwankenden Spraystabilität abzuhängen und sind daher nur bedingt reproduzierbar. Zum anderen zeigen die chemischen Spezies bei Messungen mit einem Orbitrap-Massenspektrometer deutlich weniger koordinierende Wassermoleküle als bei vergleichbaren Analysemethoden, wie beispielsweise der TOF-Massenspektrometrie (vgl. [69]). Die fehlende Wasserhülle in Kombination mit der hohen Ladungsdichte des Zr(IV)-Ions führt scheinbar zu einer starken Anfälligkeit für Artefaktbildung und zu gravierenden Veränderungen der chemischen Speziation. So zeigten sich auch bei diesen früheren Untersuchungen Spezies mit ungewöhnlichen Ladungszuständen wie $[ZrO_2(NO_3)_3]^-$ und $[ZrO_2(NO_3)_4]^-$. [9]

Da bei diesen Messungen allerdings mit nitrathaltigen Lösungen gearbeitet wurde, können diese Oxo-Artefakte ähnlich wie beim Uran auf die Dissoziation von NO_3^- zurückgeführt werden. Dieser Bildungsmechanismus kommt bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten HCl-System nicht in Frage. Daher wurden für alle betreffenden Spezies die Hauptpeaks unter Berücksichtigung der in den Lösungen enthaltenen Elemente erneut auf alternative elementare Zusammensetzungen geprüft. Da auch bei einer großen Massentoleranz von über 40 ppm für keines der Signale eine andere Summenformel mit passender Masse gefunden wurde und auch die Isotopenmuster im Rahmen der üblichen Schwankungen mit den Messdaten übereinstimmen, ist davon auszugehen, dass die Spezies korrekt bestimmt wurden.



Abb. 5.5.: Massenspektrum der Zirconyl-Chlorid-Lösung bei pH 0 im Negativmodus. Eingezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen.



Abb. 5.6.: Unterschiedliche Ausschnitte des Massenspektrums der Zirconyl-Chlorid-Lösung bei pH0 im Positivmodus. Eingezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen.

6. Evaluation und Parameterfindung

Im Folgenden soll es darum gehen, die Leistungsfähigkeit des entwickelten Programms in seinen einzelnen Funktionen zu analysieren und geeignete Parameter und Konfigurationen zu erarbeiten. Die Bewertung der Ergebnisse geschieht dabei anhand der im experimentellen Teil gefundenen Spezies, wobei die Annahme zugrunde gelegt wird, dass diese korrekt bestimmt wurden. Damit liegen für die betrachteten Messungen eine Reihe von enthaltenen Ionen vor, deren Massen und relative Häufigkeit bekannt sind. Anschließend kann nun untersucht werden, in welchem Maße die Messwerte von diesen erwarteten Werten abweichen. Um die besten Entsprechungen der vorhergesagten Peaks im Spektrum zu finden, wurde der Algorithmus für die Speziessuche herangezogen. Für die Massentoleranz wurde ein Wert von 5 ppm gewählt.

Die in den Abbildungen eingezeichneten Fehlerbalken stellen rein statistische Unsicherheiten dar, die berechnet wurden nach

$$s = t_p \cdot \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \tag{6.1}$$

wobei N die Stichprobengröße ist und σ die Standardabweichung der Stichprobe. t_p ist ein Korrekturfaktor für kleine Stichprobenmengen gemäß der Student'schen t-Verteilung und bezieht sich auf das 68%-Konfidenzintervall. [85]

6.1. Vergleich der Datenverarbeitungsmethoden

Um die Ergebnisse der unterschiedlichen Datenverarbeitungsmethoden zu vergleichen, wurden zunächst mit den verschiedenen *Peak Picking* Genauigkeiten (siehe Abschnitt 4.3.1) Strichspektren aus den Messdaten erstellt. Anschließend wurden für die erwarteten Peaks der im experimentellen Teil bestimmten Spezies Entsprechungen in den Spektren gesucht und jeweils auf Abweichung von den theoretischen Werten untersucht. Dabei wurden analog zur Elementsuche als Parameter die Massendifferenz und das Intensitätsverhältnis relativ zum Isotop mit der größten Häufigkeit gewählt. Es wurden ausschließlich die Peaks betrachtet, die auf die Isotopenverteilungen von Europium, Uran und Zirconium zurückzuführen sind. Die Intensitätsverhältnisse wurden sowohl anhand der Peakhöhe als auch anhand der Peakfläche berechnet, wobei letztere entsprechend der m/z-Abhängigkeit der Auflösung korrigiert wurden (siehe Abschnitt 2.2.2).

Abbildung 6.1 zeigt die Ergebnisse für die Massenbestimmung. Eingezeichnet ist die Abweichung von der theoretischen Massendifferenz berechnet nach Gleichung 4.1 und gemittelt über alle Messungen, Spezies und Isotope (außer dem jeweiligen Referenzisotop).

Durch Betrachtung der Massendifferenz statt des absoluten Messwerts soll der Einfluss der Kalibrationsqualität auf das Messergebnis minimiert werden. Da die für die mittlere Genauigkeitsklasse durchgeführte Peakbreitenkorrektur keinen Einfluss auf den m/z-Wert hat, wurde an dieser Stelle nicht zwischen geringer und mittlerer Genauigkeit differenziert. Die Abweichungen bei hoher Genauigkeit sind zwar etwas geringer, die Unterschiede liegen aber innerhalb der statistischen Unsicherheiten.



Peak-Picking-Genauigkeit

Abb. 6.1.: Mittlerer Betrag der relativen Abweichung von der theoretischen Massendifferenz bei unterschiedlicher Peak Picking Genauigkeit.



Abb. 6.2.: Mittlerer Betrag der relativen Abweichung vom theoretischen Intensitätsverhältnis für verschiedene Isotope bei unterschiedlicher Peak Picking Genauigkeit.

Da sich die einzelnen Isotope im Hinblick auf die relativen Abweichungen im Intensitätsverhältnis deutlich voneinander unterscheiden (siehe auch Abschnitt 6.2), werden sie für die Analyse der Intensitätsbestimmung getrennt betrachtet. Die Abweichung $\delta\rho$ wurde dabei entsprechend Gleichung 4.2 berechnet.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.2 dargestellt. Im Bezug auf die unterschiedlichen Genauigkeitsstufen kann bei Verwendung der Peakhöhe auch hier kein merklicher Unterschied festgestellt werden. Für die Peakfläche hingegen fallen die durchschnittlichen Abweichungen für ²³⁵U und ⁹²Zr bei mittlerer Genauigkeit deutlich geringer aus. Demgegenüber zeigt die höchste Genauigkeitsstufe allerdings keine weitere Verbesserung. Bei den übrigen Isotopen sind die Unterschiede im Allgemeinen gering. Einzig für ¹⁵¹Eu sind bei mittlerer und hoher Genauigkeit merklich größere Abweichungen zu erkennen. Auch hier liegen die absoluten Unterschiede aber nur bei etwa 0,002.

Beim Vergleich der unterschiedlichen *Peak Picking* Genauigkeiten ist zu beachten, dass die hier untersuchten Spezies aufgrund des Auswertungsprozesses ohnehin wenig überlappende Signale aufweisen. Diese Tatsache könnte die Ergebnisse verfälschen. Außerdem wurden die Messungen bei vergleichsweise hoher Auflösung aufgenommen, weshalb die Spektren zu eher geringen Peakbreiten neigen und damit zumindest für Intensitäten, die deutlich über dem Hintergrundniveau liegen, generell verhältnismäßig wenig Überlappungen zeigen. Die Ergebnisse sind also nicht unbedingt allgemeingültig.

Bei Verwendung der mittleren oder hohen Genauigkeitsstufe erweisen sich die Abweichungen in den meisten Fällen bei Verwendung der Peakfläche als geringfügig kleiner. Im Hinblick auf die statistischen Unsicherheiten sind die Unterschiede für jedes einzelne Isotop zwar nicht signifikant, im Gesamtbild ergibt sich aber eine gewisse Systematik. So sind im Mittel über alle Isotope (bei mittlerer Genauigkeit) die Abweichungen bei Verwendung der Peakhöhe um $0,011 \pm 0,003$ größer als bei Verwendung der Peakfläche.

Zusammenfassend scheint bei Verwendung der Peakfläche die mittlere Genauigkeitsstufe empfehlenswert zu sein. In diesem Fall sind die Abweichungen im Intensitätsverhältnis geringfügig kleiner als für die Peakhöhe. Die Unterschiede sind aber von geringem Ausmaß, sodass auch bei Verwendung der Peakhöhe nicht mit einer nennenswerten Verschlechterung der Ergebnisse zu rechnen ist.

6.2. Parameterfindung für die Elementsuche

Üblicherweise ist bei der Speziessuche die Verwendung eines Profilspektrums vorzuziehen. Da allerdings die Elementsuche auf Grundlage des Strichspektrums durchgeführt wird, wurde dieses hier auch für die Suche der bestimmten Spezies herangezogen. Somit wurde gewährleistet, dass die Ergebnisse die Situation im verwendeten Spektrum adäquat widerspiegeln.

Im Gegensatz zum oben beschriebenen Vorgehen wurden alle Isotopologe¹ genutzt. Dabei wurden für jedes Isotopolog der theoretische m/z-Wert, die theoretische relative Häufigkeit und die erwartete Intensität (berechnet aus dem bei der Speziessuche berechneten Normierungsfaktor und der relativen Häufigkeit) bestimmt sowie m/z-Wert, Höhe und Fläche des zugehörigen gemessenen Peaks. Die Berechnung der relativen Abweichungen von den theoretischen Werten erfolgte nach Gleichung 4.1

¹Der Begriff des Isotopologs wird hier der sprachlichen Übersicht halber verwendet. Strenggenommen handelt es sich hier nicht um die Isotopologe, sondern um die Peaks, die sich aus dem simulierten Spektrum der Spezies ergeben. Diese können wegen Überlagerungen innerhalb der isotopischen Feinstruktur auf mehrere Isotopologe zurückzuführen sein.

6. Evaluation und Parameterfindung

und Gleichung 4.2.

Wie sich bei den ersten Untersuchungen schnell herausstellte, stehen die beobachteten Abweichung im Zusammenhang mit der Intensität der Signale. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse in den Abbildungen in Abhängigkeit von der erwarteten Intensität dargestellt. Dabei stellt jeder Datenpunkt ein Isotopolog innerhalb eines Spektrums dar. Zusätzlich wurden die Datenpunkte entsprechend der relativen Häufigkeit $\rho = P/P_0$ eingefärbt, wobei P die theoretische Häufigkeit des Isotopologs und P_0 die des jeweiligen Referenzisotopologs ist. Während die Häufigkeitsabweichungen auf Grundlage der Ergebnisse aus Abschnitt 6.1 anhand der Peakfläche bestimmt wurden, beziehen sich die Angaben zur erwarteten Intensität hingegen immer auf die Peakhöhe, da sie Ergebnisse der Speziessuche darstellen. Wie in Abschnitt 4.3.3 dargelegt, werden hier ausschließlich Peakhöhen verwendet.

An dieser Stelle sei erwähnt, dass die Intensitäten im gemittelten Spektrum sich unter Umständen je nach Datenverarbeitungsmethode unterscheiden. Hier wurden Profildaten und eine mittlere *Peak Picking* Genauigkeit verwendet. Während der Zentrierungsprozess keinen nennenswerten Einfluss haben dürfte, könnten sich die beschriebenen Abhängigkeiten von der erwarteten Intensität für Messungen, die direkt im Strichmodus aufgenommen wurden, verschieben.

Abweichungen von der theoretischen Massendifferenz

Wie in Abbildung 6.3 zu sehen, nehmen die Abweichungen in der Massendifferenz mit steigender Intensität ab. Für erwartete Intensitäten über 1500 cts liegen die Werte deutlich unter 5 ppm. Dieser Befund deckt sich qualitativ mit früheren Befunden, wonach die Massengenauigkeit des Orbitrap-Analysators bei kleinen Intensitäten geringer ist [86]. Hierbei handelt es sich vermutlich um statistische Effekte, da die Position des Peakmaximums im Spektrum schlussendlich aus einer Art Mittelwert der Schwingungsfrequenzen der einzelnen Ionen hervorgeht. Je größer die Anzahl dieser Ionen, umso weniger fallen Abweichungen bei einzelnen Signalen ins Gewicht. Die ausgeprägten Abweichungen im Bereich $I_{exp} < 200$ könnten allerdings auch auf falsch zugeordnete Signale zurückzuführen sein. Bei diesen Intensitäten ist davon auszugehen, dass es sich hier um Konzentrationen handelt, die nicht mehr zuverlässig nachweisbar sind. Es könnte sich bei den gefundenen Signalen auch um Hintergrundrauschen handeln.

Als Toleranzparameter sowohl für die Element- als auch für die Speziessuche scheint ein Wert von 5 ppm geeignet zu sein, falls eine hohe Sensitivität gewünscht ist. Für eine höhere Spezifität sind durchaus geringere Werte möglich, aber ab etwa 3 ppm muss damit gerechnet werden, dass auch bei höheren Intensitäten einige Peakgruppen nicht mehr erfasst werden.



Abb. 6.3.: Relative Abweichung von der theoretischen Massendifferenz (bezogen auf das Referenzion) bei den untersuchten Spezies. Zusätzlich eingezeichnet sind die bei der Elementsuche verwendeten Toleranzrenzen von ± 5 ppm. Da hier die Abweichungen von der Massendifferenz und nicht die absoluten Massenabweichungen betrachtet werden, sind Werte bis 10 ppm möglich. Unten: vergrößerter Ausschnitt.

Abweichungen vom theoretischen Häufigkeitsverhältnis

Abbildung 6.4 zeigt die gemessenen Häufigkeitsabweichungen. Zunächst fällt auf, dass auch diese bei geringen Intensitäten deutlich ausgeprägter sind. Nach unten hin sind sie auf $\delta \rho = -1$ begrenzt, dieser Wert ergibt sich, wenn für einen vorhergesagten Peak keine Entsprechung im Spektrum gefunden wird (I = 0). Zudem lässt sich ein deutlicher Trend zu negativen Abweichungen beobachten. Die beobachtete Intensität ist also kleiner als erwartet. Nur für sehr kleine Signale mit einer erwarteten Intensität bis etwa 750 cts überwiegen die Datenpunkte mit $\delta \rho > 0$. Wie schon im vorherigen Abschnitt erläutert, handelt es sich hierbei vermutlich um Zufallstreffer aufgrund von Hintergrundrauschen. Möglicherweise liegt hier die mittlere Intensität des Messhintergrunds über der erwarteten Signalintensität, was dann positive Abweichungen bedingt.

Ein Grund für die hohen Abweichungen bei schwachen Signalen ist auch hier die Annäherung der Intensität an das Hintergrundniveau. Allerdings kommt neben den allgemein erhöhten Unsicherheiten während der Messung in diesem Fall noch ein weiterer Effekt hinzu, der auch den Trend zu negativen Abweichungen in Teilen erklären könnte. Wenn das Signal eines untergeordneten Isotopologs unterhalb einer gewissen Intensität nicht mehr zuverlässig nachweisbar ist, tritt unter Umständen der Effekt auf, dass der entsprechende Peak in einigen Scans der Messung zu finden ist, in anderen aber nicht. Wenn das Signal des Referenzisotopologs hingegen in allen Scans auftaucht, führt das Mitteln über alle Scans letztlich zu einer Verzerrung der relativen Häufigkeit, selbst wenn das Häufigkeitsverhältnis innerhalb der Scans, die beide Signale enthalten, korrekt wiedergegeben wird. Um den Intensitätsbereich abzuschätzen, innerhalb dessen dieses Phänomen zu erwarten ist, wurde für die einzelnen Isotopologe bestimmt, in wie vielen Scans der jeweiligen Messung, ein entsprechendes Signal enthalten war. Hierbei wurde lediglich untersucht, ob mindestens ein Peak im Toleranzbereich liegt oder nicht. Das zu erwartende Intensitätsverhältnis wurde nicht berücksichtigt und es wurde keine Differenzierung zwischen Hintergrundrauschen und "echten" Signalen angestrebt. Anschließend wurden die Ergebnisse nach erwarteter Intensität sortiert und die Auffindquote wurde über Gruppen von jeweils 50 Datenpunkten gemittelt. Die Resultate sind in Abbildung 6.5 aufgetragen. Es wird deutlich, dass der beschriebene Effekt für Intensitäten bis etwa $1.5 \cdot 10^4$ cts plausibel ist. Ab diesem Schwellwert, sind die Peaks der Isotopologe zuverlässig in allen Scans auffindbar. Allerdings zeigen sich in Abbildung 6.4b erhöhte Abweichung auch noch bei wesentlich größeren Intensitäten.

Bei Betrachtung von Abbildung 6.4c scheint es auf den ersten Blick Unterschiede zwischen den betrachteten Elementen zu geben. So weisen beispielsweise die Uran-Daten im Vergleich zu den Zirconium-Daten bei ähnlicher Intensität eine höhere Abweichung auf. Leider zeigen die in den Uran- und Zirconium-Messungen identifizierten Spezies für die untergeordneten Isotopologe vergleichsweise geringe Intensitäten. Ab einer Intensität von ca. 10^6 cts sind nur noch Daten aus den Europium-Messungen verfügbar. Daher ist ein Vergleich bei höheren Intensitäten nicht möglich. Ein Abgleich mit Abbildung 6.4b legt aber nahe, dass die Ursache nicht in den gemessenen Lösungen, sondern im Häufigkeitsverhältnis selbst liegen könnte. So weisen einerseits die ¹⁵¹Eu-Signale auch bei verhältnismäßig niedrigen Intensitäten nur geringe Abweichungen auf. Gleichzeitig zeigt sich im Intensitätsbereich $2 \cdot 10^5$ bis $4 \cdot 10^5$ auch innerhalb der Europium-Messungen eine klare Trennung nach Häufigkeitsverhältnis. Die Vermutung liegt nahe, dass der Betrag der Abweichungen, auch unabhängig von der Intensität, mit abnehmender relativer Häufigkeit größer wird.



Abb. 6.4.: Oben: Abweichung vom theoretischen Häufigkeitsverhältnis (bezogen auf das Referenzion)



Abb. 6.5.: Auffindquote in Scans in Abhängigkeit der zu erwartenden Signalintensität, gemittelt über jeweils 50 Datenpunkte.



Abb. 6.6.: Relative Abweichungen $\delta \rho$ in Abhängigkeit des theoretischen Häufigkeitsverhältnisses $\rho = P/P_0$. Berücksichtigt wurden alle Datenpunkte mit $I_{exp} > 1.5 \cdot 10^4$.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde eine weitere Abbildung der relativen Häufigkeitsabweichungen erstellt, diesmal aufgetragen in Abhängigkeit vom theoretischen Häufigkeitsverhältnis ρ und mit einer Farbskala basierend auf der erwarteten Intensität (siehe Abbildung 6.6). Um die Ergebnisse nicht durch die beschriebenen Mittelungseffekte zu verfälschen, wurden nur Datenpunkte mit $I_{exp} > 1,5 \cdot 10^4$ berücksichtigt. Tatsächlich ist der Zusammenhang im Vergleich zu Abbildung 6.4 hier deutlich klarer zu erkennen. Zudem bestätigt die Farbskala eine weitgehende Unabhängigkeit von der Intensität.

Für eine bessere Quantifizierung des Effektes wurden die Daten für die Isotopenpeaks der betrachteten Elemente Europium, Uran und Zirconium aus den Messdaten extrahiert und isoliert von den übrigen Isotopologen betrachtet. Zusätzlich wurden die auf ³⁷Cl zurückzuführenden Peaks in die Analyse mitaufgenommen. Auch hier wurden nur Signale mit einer erwarteten Intensität über dem Schwellwert von $1,5 \cdot 10^4$ cts in die Auswertung einbezogen. Polymere Spezies wurden nicht berücksichtigt. In Abbildung 6.7 sind die Ergebnisse gegen die relative Häufigkeit bezogen auf das Referenzisotop aufgetragen. Abgesehen von den Werten für ⁹²Zr und geringen Abwei-



Abb. 6.7.: Mittlere relative Abweichungen $\overline{\delta\rho}$ für die Isotopenpeaks von Europium, Zirconium, Uran und Chlor. Berücksichtigt wurden alle Datenpunkte mit $I_{exp} > 1.5 \cdot 10^4$.



Abb. 6.8.: Verteilung der relativen Abweichungen $\delta \rho$ für einige ausgewählte Isotope. Berücksichtigt wurden alle Datenpunkte mit $I_{exp} > 1.5 \cdot 10^4$.

chungen bei 96 Zr und 94 Zr, die allerdings innerhalb der statistischen Unsicherheiten liegen, folgen die Datenpunkte einem klaren, stetig ansteigenden Verlauf. Die Isotope 151 Eu einerseits und 235 U bzw. 96 Zr andererseits stellen erwartungsgemäß die Extremwerte dar. Während die mittleren Abweichungen beim Europium-Isotop deutlich unter 5 % liegen, zeigen die 235 U-Signale eine im Mittel um etwa 30 % zu kleine Intensität. Gerade die Werte für die Isotope mit geringen Häufigkeiten basieren allerdings auf nur wenig Datenpunkten (10 Datenpunkte für 96 Zr bzw. 15 für 235 U), entsprechend groß sind hier die statistischen Unsicherheiten.

Abbildung 6.8 zeigt die Verteilung der Abweichungen exemplarisch für die Isotope ¹⁵¹Eu, ⁹⁴Zr und ²³⁵U. Zusätzlich wurden mithilfe der vom Modul *SciPy.Stats* bereitgestellten Funktionen schiefe Gaußverteilungen an die Daten angepasst. Neben der bereits diskutierten Verschiebung des Mittelwertes fällt auf, dass die Daten mit abnehmender relativer Häufigkeit eine deutlich größere Streuung aufweisen. Außerdem lassen sie sich weniger gut durch die Normalverteilung beschreiben. Letzteres könnte allerdings auch darauf zurückzuführen sein, dass bei geringeren Häufigkeiten zunehmend weniger Datenpunkte mit ausreichender Intensität verfügbar sind.



Abb. 6.9.: Typischer Verlauf des transienten Signals im Orbitrap-Analysator. Die Überlagerung mehrerer nah beieinander liegender Frequenzen führt zu einem Schwebungsmuster mit periodisch ab- und zunehmender Amplitude. [88]

Die systematische Diskriminierung von Isotopologen mit geringer relativer Häufigkeit wurde schon früher bei Messungen mit Orbitrap-Massenspektrometern beobachtet. So konnten Erve et al. diesen Effekt beispielsweise anhand des Isotopenmusters von Thiostrepton nachweisen [30]. Auch für FT-ICR-Spektren sind ähnliche Phänomene bekannt. Hier lassen sich die Intensitätsdefizite auf sogenannte Raumladungseffekte, also Coulomb-Interaktionen zwischen den einzelnen Ionenwolken, zurückführen. Diese Störungen fallen allerdings erst nach einigen Sekunden (> 5 s) in Gewicht, eine Zeitspanne, die die Lebensdauer der Ionen im Orbitrap-Analysator (< 2 s) deutlich übersteigt. Daher schlussfolgern die Autoren, dass den Intensitätsverzerrungen in diesem Fall ein anderer Mechanismus zugrunde liegen müsse, und postulieren Schwebungsmuster in den Schwingungen (engl. *isotopic beat patterns*) als mögliche Erklärung.

Schwebungen entstehen durch die Überlagerung mehrerer Schwingungen mit ähnlichen Frequenzen. Durch konstruktive und destruktive Interferenz der einzelnen Wellen kommt es zu einem periodischen Wechsel von Phasen mit hoher und niedriger Amplitude (siehe Abbildung 6.9). Der Einfluss dieser Schwebungsmuster auf die Intensitätsverteilung von Isotopenmustern wurde unter anderem von Easterling et al. sowohl durch Computersimulationen als auch experimentell nachgewiesen. [87]

Allerdings manifestiert sich der Effekt in dieser Studie nicht in einer verringerten Intensität der Isotopenpeaks mit geringer relativer Häufigkeit. Betrachtet wurde eine Gruppe Polymere mit annähernd gaußförmiger Intensitätsverteilung mit und ohne isotopische Feinstruktur. Dabei verursachte das Vorhandensein isotopischer Peaks eine Verzerrung der Intensitätsverteilung hin zu kleineren m/z-Werten, also einer Intensitätserhöhung bei Signalen bei geringem m/z bei gleichzeitigem Intensitätsverlust bei hohem m/z.

Da Thiostrepton ein monoton abfallendes Isotopenmuster besitzt, könnten die Ergebnisse der beiden Studien in diesem Punkt noch in Einklang gebracht werden. Allerdings konnten Erve et al. eine deutliche Verstärkung des Effektes bei höheren Auflösungen beobachten. Im Gegensatz dazu neutralisierten sich die Intensitätsverzerrungen bei Easterling et al. für längere Messdauern.

Basierend auf diesen Ergebnissen konnten Kaufmann et al. zeigen, dass die Ausprägung der Intensitätsverringerung nicht zwangsweise, wie von Erve et al. vermutet, mit steigender Auflösung zunimmt. Stattdessen konnten sie das Problem auf die unvollständige Auflösung benachbarter Peaks zurückführen. Für mittlere Auflösungen, bei denen die betrachteten Peaks nur teilweise getrennt waren, zeigten sich die gravierendsten Abweichungen. Bei weiter steigender Auflösungen und damit einhergehend besserer Trennung der Signale nahm die Intensitätsminderung wieder ab. [89]

Darüber hinaus zeigte sich bei Simulationen des Schwingungsmusters für verschiedene Frequenzverteilungen, dass sich der Anteil von Bereichen destruktiver Interferenz mit der Anzahl der überlagerten Frequenzen erhöhte. Die Autoren schlussfolgern, dass die durch Isotopenpeaks bedingten Schwebungen für Ionen mit geringer Masse eine untergeordnete Rolle spielen und erst für komplexe Moleküle mit hohen Ladungszuständen relevant werden. Als alternative Erklärung schlagen sie ein Problem mit den mathematischen Algorithmen vor, möglicherweise bedingt durch die vor der Fouriertransformation durchgeführte Apodisation des Signals. Da die kommerziellen Orbitrap-Massenspektrometer keinen Zugriff auf die eigentlichen Rohdaten ermöglichen, war eine nähere Eingrenzung der Ursache nicht möglich. [89]

Alle beschriebenen Ansätze und experimentellen Untersuchungen legen allerdings einen Zusammenhang mit der isotopischen Feinstruktur nahe. Diese Verknüpfung lässt sich durch die Ergebnisse dieser Arbeit nicht eindeutig bestätigen. Einerseits scheint der Effekt bei den dimeren Zirconium-Spezies überdurchschnittlich stark zu sein, insbesondere wenn außerdem Chlorid enthalten ist. Diese Verbindungen zeigen gleichzeitig eine besonders ausgeprägte Feinstruktur. Zudem ließen sich so möglicherweise die unerwartet hohen Abweichungen für die ⁹²Zr-Isotopologe erklären, da diese auf der selben nominellen Masse liegen wie die ³⁷Cl-Isotopologe. Andererseits sollte durch die hohe Auflösung der Spektren eine ausreichende Trennung der beiden Signale gewährleistet sein (siehe Abbildung 6.10). Auch sollte sich nach den oben geschilderten Beobachtungen eine generelle Abhängigkeit von der Ausprägung der Feinstruktur zeigen. Stattdessen weist auch das ²³⁵U-Isotop sehr hohe Abweichungen auf, obwohl hier in den meisten Fällen keinerlei Feinstruktur vorhanden ist.

Somit liegt der Schluss nahe, dass dem hier beobachteten Phänomen noch ein weiterer Auslöser zugrunde liegen könnte als die von Erve und Kaufmann beschriebenen Effekte. Für eine abschließende Klärung dieser Frage wären allerdings weitere Untersuchungen notwendig. So könnten Messungen bei anderen Auflösungen oder eine systematische Untersuchung der Feinstrukturabhängigkeit Hinweise auf mögliche Erklärungen geben. Auch Computersimulationen zum besseren Verständnis des Signalverarbeitungsprozesses könnten sich als hilfreich erweisen.

Unabhängig von ihrer Ursache sind die diskutierten Verzerrungen der Isotopenmuster eine wichtige Erkenntnis, die es bei der Verwendung von Isotopenhäufigkeiten für die Auswertung von Orbitrap-Spektren zu beachten gilt. Zusammenfassend werden die theoretischen Häufigkeitsverhältnisse für ausgeglichene Isotopenverteilungen verhältnismäßig gut wiedergegeben. Die Europium-Signale zeigen bei ausreichender Intensität ($I_{exp} > 1,5 \cdot 10^4$) in 98 % der Fälle Abweichungen von unter 10 % und in 84 % der Fälle liegen die Diskrepanzen unterhalb von 5 %.



Abb. 6.10.: Isotopische Feinstruktur des M+2-Signals von [ZrOCl₃]⁻. Die ⁹²Zr- und ³⁷Cl-Isotopenpeaks sind gut aufgelöst.

In dieser Arbeit wurde ausschließlich mit den natürlichen Isotopenhäufigkeiten gearbeitet. Falls davon abweichend ein künstliches Isotopen-Labeling angewendet werden soll, sollte nach Möglichkeit ein ausgeglichenes Häufigkeitsverhältnis eingestellt werden. Geeignet wären vermutlich zwei oder drei Isotope mit ähnlicher Häufigkeit.

Bei wesentlich geringeren Isotopenhäufigkeiten empfiehlt es sich möglicherweise, vor der Analyse unbekannter Proben zunächst ein gut charakterisiertes System zu untersuchen, um eine Einschätzung der zu erwartenden Intensitätsverhältnisse zu erlangen. Unter Umständen könnte die Elementsuche auch mit einer entsprechend modifizierten Isotopenverteilung durchgeführt werden. Abbildung 6.7 kann hierbei als Orientierung dienen, aber vor allem bei abweichenden Instrumentenkonfigurationen muss mit einer Verschiebung der Werte gerechnet werden.

6.3. Speziessuche

Primäres Ergebnis der Speziessuche ist ein Konfidenzwert, der eine Abschätzung dafür liefern soll, wie gut die Messdaten zu dem berechneten Isotopenmuster einer chemischen Spezies passen. Um die Aussagekraft dieses Konfidenzwertes beurteilen zu können, ist abgesehen von der Sensitivität auch die Frage nach der Spezifität von entscheidender Bedeutung. Neben der bereits ausgiebig genutzten Liste von enthaltenen Spezies, die im Folgenden als Testmenge bezeichnet werden soll, wird also auch eine Kontrollmenge von nicht enthaltenen Spezies benötigt.

Um einen typischen Arbeitsablauf möglichst realistisch wiederzugeben, wurden dafür für das jeweils häufigste Isotopolog aller Spezies aus der Testmenge bis zu fünf weitere, nicht notwendigerweise chemisch sinnvolle, elementare Zusammensetzungen mit der gleichen Masse berechnet. Dabei wurden nur Elemente berücksichtigt, die auch in der entsprechenden Probe enthalten waren. Bei mehr als fünf Ergebnissen wurde eine zufällige Auswahl getroffen. Anschließend wurden die Ergebnisse der Speziessuche für die so erzeugte Kontrollmenge mit denen der Testmenge verglichen. Dabei wurde sowohl die Gesamtwertung Γ betrachtet als auch die Intensitätskorrelation Ω sowie die Korrelationsabzüge für kleine Signale ω und die Abzüge für fehlende Peaks ϕ einzeln (siehe Abschnitt 4.3.3, Details zur Berechnung im Anhang unter Abschnitt A.2.2).



Abb. 6.11.: Vergleich der Isotopenmuster der beiden Spezies $[EuH_7C_{11}N_{10}O_6]^+$ und $[Eu(H_2EDTA)(NO_3)Na]^+$. Der Übersicht halber wurden die Peaks für $Eu(H_2EDTA)(NO_3)Na^+$ um 0,1 Einheiten auf der m/z-Achse nach rechts verschoben, zu beachten ist die logarithmische Auftragung.

Die ersten Tests zeigten schnell, dass auch viele Spezies aus der Kontrollmenge eine hohe Gesamtwertung erreichen. Bei genauerer Betrachtung wurde festgestellt, dass einige der Isotopenmuster für die berechneten elementaren Zusammensetzungen in der Kontrollmenge große Ähnlichkeiten zu ihren Entsprechungen aus der Testmenge aufweisen. Abbildung 6.11 zeigt beispielhaft die Isotopenmuster für $[EuH_7C_{11}N_{10}O_6]^+$ (Kontrollmenge) und $[Eu(H_2EDTA)(NO_3)Na]^+$ (Testmenge). Abgesehen von leichten Unterschieden in der isotopischen Feinstruktur zeigen die Intensitätsverteilungen große Übereinstimmungen. Größere Diskrepanzen sind erst bei Peaks mit relativen Häufigkeiten von etwa $\rho = 0.03$ zu sehen. Wie im letzten Abschnitt dargelegt wurde, sind die erwartbaren Abweichungen in diesem Intensitätsbereich aber bereits so groß, dass eine Unterscheidung der beiden Spezies auf dieser Grundlage kaum möglich ist. Aufgrund dieser Beobachtung erfolgte durch manuellen Vergleich der berechneten Isotopenmuster mit den Messdaten eine Unterteilung der Kontrollmenge in die Untergruppen A und B, wobei Gruppe B alle Spezies enthält, deren Isotopenverteilung in guter Übereinstimmung mit den Messwerten steht. Die Ergebnisse, aufgeschlüsselt nach Testmenge, Kontrollmenge A und Kontrollmenge B, sind in Abbildung 6.12 dargestellt. Die Werte bewegen sich auf einer Skala von null bis eins. Erwartungsgemäß erreichen die Spezies aus der Testmenge ebenso wie aus Kontrollmenge B bis auf wenige Ausnahmen hohe Werte. Ebenso gibt es aber auch in Kontrollmenge A nach wie vor einen signifikanten Teil, der eine gute Wertung erhält.

Um mögliche Ursachen für hohe Werte in der Kontrollmenge bzw. niedrige in der Testmenge zu klären, wurden die entsprechenden Spezies näher untersucht. Der Großteil der unerwartet kleinen Werte innerhalb der Testmenge ist auf dimere Zirconium-Spezies zurückzuführen. Hier ist der in Abschnitt 6.2 beschriebene Effekt der Intensitätsdefizite bei weniger häufigen Isotopologen besonders ausgeprägt. In den anderen Fällen liegen die Gründe für kleine Werte hauptsächlich in vereinzelten Signalen, die sich außerhalb der Massentoleranz befinden und somit als nicht gefunden gewertet werden. Auffällig häufig findet sich in Eu-Chlorid-Spezies der ³⁷Cl¹⁵¹Eu-Peak bei leicht erhöhten m/z-Werten, näher als vorhergesagt am ³⁵Cl¹⁵³Eu-Signal. Als Beispiel



Abb. 6.12.: Vergleich der Gesamtwertung Γ sowie der Einzelkomponenten Ω , ω und ϕ für Testmenge, Kontrollmenge mit nicht passendem Isotopenmuster (A) und Kontrollmenge mit gut passendem Isotopenmuster (B).

sind in Abbildung 6.13 die beiden Signale für $[EuCl(OH)(H_2O)_2]^+$ dargestellt. Die Möglichkeit einer fehlerhaften Identifizierung der Spezies wurde in Betracht gezogen, aber da innerhalb einer Massentoleranz von über 20 ppm bei den vorhandenen Elementen keine andere Zusammensetzung mit passender Masse gefunden wurde, kann davon ausgegangen werden, dass die Verbindung korrekt bestimmt wurde.

Auch die vollständige Abwesenheit von Peaks, die vergleichsweise hohe Intensitäten von teilweise mehreren Zehntausend Counts aufweisen sollten, konnte beobachtet werden. Dies betrifft verstärkt die ¹⁸O-Signale in Europium-Spezies. In Einklang mit Abschnitt 6.2 zeigten sich mitunter auch Probleme mit Intensitätsdefiziten bei den weniger häufigen Isotopologen, vor allem bei Zirconium-Spezies mit ohnehin geringer Intensität.

Bei den Verbindungen aus Kontrollmenge A, die hohe Punktzahlen erreichen, sind es meist ähnliche Gründe, die dazu führten, dass das Isotopenmuster als nicht ausreichend gut passend bewertet und die Spezies der Gruppe A zugeordnet wurde. Vor diesem Hintergrund ist es nachvollziehbar, dass innerhalb der Wertungen keine klare Trennung zwischen Test- und Kontrollmenge erreicht wurde.

Im Vergleich zeigen die Verteilungen des Intensitätskorrelationsfaktors Ω , berechnet nach Stoll et al. [80], und der Gesamtwertung Γ merkliche Unterschiede. Allerdings scheinen die zusätzlichen Abzüge auf den ersten Blick eher Spezies zu betreffen, deren Intensitätskorrelation im unteren Mittelfeld liegt, und nicht so sehr wie beabsichtigt diejenigen mit hohen Werten.

Für eine quantitative Analyse der Ergebnisse, sowie auch für eine (teil-)automatisierte Auswertung von Messwerten, sind Schwellenwerte von großem Nutzen. Stoll et al. führen diesbezüglich Grenzwerte von 0,8 und 0,85 ein. Dabei wurde nur die Intensitätskorrelation Ω herangezogen. Aufgrund der zusätzlichen Abzüge durch ω



Abb. 6.13.: Vorhergesagtes Isotopenmuster von $[EuCl(OH)(H_2O)_2]^+$ gegenüber den Messdaten. Es zeigt sich für den ³⁷Cl-Peak eine deutlich zu geringe Intensität und eine merkliche Verschiebung nach rechts.

Tab. 6.1.: Anteile von Test- und Kontrollmenge mit Gesamtwertung bzw. Intensitätskorrelation unter dem jeweiligen Schwellenwert.

	Anteil $\Omega < 0.85$		Anteil $\Gamma < 0.75$	
Testmenge $(N = 361)$	16	(4, 4%)	15	(4,2%)
Kontrollmenge A $\left(N=353\right)$	251	(71,0%)	268	(75, 9%)
Kontrollmenge B $\left(N=122\right)$	3	(2,5%)	5	(4,1%)

und ϕ , wurde hier für die Gesamtwertung Γ ein etwas niedrigerer Wert von 0,75 gewählt. Tabelle 6.1 zeigt eine Übersicht über die Anteile von Test- und Kontrollmenge, die jeweils unterhalb dieser Schwellenwerte liegen.

In der Gegenüberstellung zeigt sich, dass die zusätzlichen Abzüge eine geringfügig bessere Trennung zwischen Test- und Kontrollmenge bewirken. Durch die Verwendung der Gesamtwertung Γ konnte im Vergleich zur reinen Intensitätskorrelation der Anteil der falsch-positiven Ergebnisse um 17 Spezies (entspricht 4,9 Prozentpunkten) reduziert werden ohne Zunahme der falsch-negativen Resultate.

In der Studie von Stoll et al. wurden 25 Verbindungen untersucht, wobei allerdings im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit neben der korrekten Summenformel alle weiteren Verbindungen betrachtet wurden, deren monoisotopische Masse innerhalb eines 5 ppm-Toleranzbereichs liegt und die einige chemische Randbedingungen erfüllen. Auf diese Weise entsteht eine deutlich kleinere Testmenge (N = 25) bei gleichzeitig wesentlich größerer Kontrollmenge (N = 4025). Die Ergebnisse für die Testmenge sind vergleichbar mit den hier erzielten Resultaten. Für drei Spezies (12 %) lag der Korrelationswert für die korrekte Formel unterhalb des 0,85-Schwellenwertes, was zwar anteilig deutlich mehr ist als in dieser Arbeit. Allerdings erhielt keine der enthaltenen Verbindungen einen Wert unter 0,8. Diesen Wert unterschreiten in der vorliegenden

Testmenge aus oben beschriebenen Gründen immerhin noch elf Spezies. Diese sind zum Großteil auf die Zirconium-Dimere zurückzuführen.

Anders gestaltet sich die Situation bei der Kontrollmenge. Während bei Stoll et al. im Schnitt nur etwa 6 % der falschen Summenformeln einen Korrelationswert von über 0,85 erzielten, liegt der Anteil hier mit ca. 25 % trotz der Vorauswahl anhand des Isotopenmusters deutlich höher. Wird auch Kontrollmenge B mitberücksichtigt, verstärken sich die Unterschiede noch. Diese Diskrepanz könnte sich durch die unterschiedliche Beschaffenheit der enthaltenen Spezies erklären lassen. Während Stoll et al. mit organischen Verbindungen mit jeweils zwischen 18 und 55 Kohlenund Wasserstoffatomen arbeiteten, wurden hier ausschließlich kleine Metallkomplexe betrachtet. Die Isotopenmuster werden dabei von den Isotopenhäufigkeiten der Zentralatome (Europium, Zirconium oder Uran) dominiert, während die anderen beteiligten Elemente mit Ausnahme von Chlor eine untergeordnete Rolle spielen. Auf diese Weise sind die Unterschiede in der Intensitätsverteilung zwischen der korrekten Formel und den anderen berechneten Verbindungen womöglich weniger signifikant, solange die Art und Anzahl der Zentralatome übereinstimmt.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass weder der reine Intensitätskorrelationsfaktor noch die Gesamwertung eine eindeutige Aussage über die Korrektheit einer Summenformel bzw. das Vorhandensein einer chemischen Spezies erlauben. Während die enthaltenen Verbindungen zwar in den meisten Fällen hohe Werte erlangen, trifft dies auch auf einen signifikanten Teil der nicht vorhandenen Spezies zu. Als Schwellenwert für die Gesamtwertung scheint eine Punktzahl von 0,75 geeignet zu sein. Vor allem wenn das Isotopenmuster im Wesentlichen auf einem Element beruht, ist der Wertungsalgorithmus allerdings anfällig für falsch positive Ergebnisse. Aus diesem Grund sollten die Resultate stets nur als Anhaltspunkt dienen und nie als alleiniges Entscheidungskriterium.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine Python-Anwendung zur Auswertung von Massenspektren entwickelt. Die Hauptandwendungen bestehen in der automatisierten Erkennung von elementspezifischen Isotopenmustern und der Bewertung von Korrelationen zwischen den Messwerten und den Isotopenverteilungen gegebener chemischer Spezies.

Zur Bewertung wurden mit einem Orbitrap-Massenspektrometer und einer ESI-Quelle Messungen an Europium-, Zirconium- und Uran-Lösungen durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass die Isotopenmusternanalyse ein hilfreiches Werkzeug zur Auswertung von massenspektrometrischen Daten sein kann. Dies gilt insbesondere für Elemente mit einer ausgeglichenen Isotopenverteilung wie Europium. Die relative Häufigkeitsabweichung der detektierten Signale lag hier im Allgemeinen bei unter 10 %, in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle sogar bei unter 5 %. Bei der verwendeten Massenauflösung ($R = 120\,000$ bei m/z = 400) lag die Abweichung von der theoretischen Massendifferenz bei unter 5 ppm, meist auch unterhalb von 3 ppm.

Höhere Abweichungen sind für Komponenten mit Konzentrationen nahe der Nachweisgrenze und entsprechend schwachen Signalen zu erwarten. Es stellte sich außerdem heraus, dass bei der verwendeten Instrumentenkonfiguration die Abweichungen vom vorhergesagten Intensitätsverhältnis für Isotopologe mit geringer relativer Häufigkeit auch bei ausreichend hohen Konzentrationen deutlich ausgeprägter sind. Die betroffenen Signale zeigen durchweg eine geringere Intensität als erwartet. So betrugen die Abweichungen für ²³⁵U im Schnitt etwa 30 % mit Maximalwerten von fast 60 %.

Die Ursachen für diesen Effekt konnten nicht abschließend geklärt werden. Vorherige Studien legen aber einen Zusammenhang mit der isotopischen Feinstruktur nahe. Dieser Ansatz steht in guter Übereinstimmung mit den hohen Abweichungen, die für dimere Zirconium-Chlorid-Spezies beobachtet wurden, bietet aber keine zufriedenstellende Erklärung für die Intensitätsdefizite bei ²³⁵U, da hier die identifizierten Verbindung kaum eine Feinstruktur zeigen. Möglicherweise handelt es sich auch um eine Überlagerung verschiedener Mechanismen.

Für eine ausführlichere Untersuchung des Phänomens wären weitere Messungen notwendig. Beispielsweise könnte sich ein systematischer Vergleich von Systemen mit unterschiedlich ausgeprägter Feinstruktur als aufschlussreich erweisen. Auch eine Variation der Messparameter, vor allem der verwendeten Auflösung, könnte Hinweise auf mögliche Ursachen liefern. Zuletzt ließen sich durch Computersimulationen potentielle Auswirkungen des mathematischen Signalverarbeitungsprozesses analysieren.

Es bleibt allerdings festzuhalten, dass die hohen Abweichungen bei weniger häufigen Isotopologen die Detektion von Isotopenmustern deutlich erschweren. Es müssen entsprechend hohe Toleranzgrenzen gewählt werden, was wiederum ein größeres Maß an manueller Auswertearbeit notwendig macht. Daher wäre eine zukünftige Optimierung der Messparameter im Hinblick auf die Minimierung besagter Intensitätsdefizite erstrebenswert.

Das beschriebene Phänomen wirkt sich auch auf die Korrelationsbewertungen für chemische Spezies negativ aus. Insbesondere die Zirconium-Dimere mit Chlorid-Liganden zeigen aus diesem Grund häufig sehr geringe Korrelationswerte. Im Allgemeinen

7. Zusammenfassung und Ausblick

konnten aber für den Großteil der bestimmten Verbindungen hohe Werte erzielt werden. Als Schwellenwert wird eine Gesamtwertung von 0,75 vorgeschlagen. Etwa 96 % aller identifizierten Spezies liegen über diesem Wert. Allerdings zeigte sich in der Evaluation eine vergleichsweise hohe Anfälligkeit des Verfahrens für falschpositive Ergebnisse. So wurden als Kontrolle auch Verbindungen untersucht, die nicht in der Probe enthalten waren, aber die gleiche monoisotopische Masse wie eine der identifizierten Spezies aufwiesen. Aus dieser Gruppe erhielten trotz weniger gut passendem Isotopenmuster etwa 25 % eine Wertung über dem Schwellenwert. Dies liegt vermutlich hauptsächlich an den durch die metallischen Zentralatome dominierten Isotopenverteilungen der identifizierten Verbindungen. Dadurch zeigen auch die nicht zutreffenden Summenformeln häufig ein ähnliches Isotopenmuster, wenn die Zentralatome übereinstimmen. Aus diesem Grund sollte die Korrelationsbewertung hauptsächlich als erster Anhaltspunkt dienen und nicht als alleiniges Entscheidungskriterium herangezogen werden.

Literatur

- [1] J. Magill. *Karlsruher Nuklidkarte*. Lage/Lippe: Haberbeck, 2006. ISBN: 9279021753.
- [2] J. H. Gross. *Massenspektrometrie*. Spektrum-Akademischer Vlg, 27. Sep. 2012. ISBN: 3827429803.
- [3] V. Gold, Hrsg. The IUPAC Compendium of Chemical Terminology. International Union of Pure und Applied Chemistry (IUPAC), 2019. DOI: 10.1351/ goldbook.
- [4] Thermo Fisher Scientific. Orbitrap Elite Hardware Manual. 2011.
- [5] M. Karas et al. "Nano-electrospray ionization mass spectrometry: addressing analytical problems beyond routine". In: *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 366.6-7 (März 2000), S. 669–676. DOI: 10.1007/s002160051561.
- [6] S. E. Rodriguez-Cruz et al. "Hydration Energies and Structures of Alkaline Earth Metal Ions, M2+(H2O)n,n= 5-7, M = Mg, Ca, Sr, and Ba". In: *Journal* of the American Chemical Society 121.38 (Sep. 1999), S. 8898–8906. DOI: 10.1021/ja9911871.
- [7] A. T. Blades et al. "Studies of alkaline earth and transition metal M++ gas phase ion chemistry". In: *The Journal of Chemical Physics* 92.10 (Mai 1990), S. 5900–5906. DOI: 10.1063/1.458360.
- [8] M. Beyer et al. "Unimolecular Reactions of Dihydrated Alkaline Earth Metal Dications M2+(H2O)2, M = Be, Mg, Ca, Sr, and Ba: Salt-Bridge Mechanism in the Proton-Transfer Reaction M2+(H2O)2 -> MOH+ + H3O+". In: Journal of the American Chemical Society 121.7 (1999). S. 1565–1573. DOI: 10.1021/ ja982653+.
- [9] M. Raiwa. "Modifikation der Orbitrap Ionenoptik zur Unterdrückung von Messartefakten". Masterarbeit. Institut für Radioökologie und Strahlenschutz, 2017.
- [10] G. R. Agnes und G. Horlick. "Electrospray Mass Spectrometry as a Technique for Elemental Analysis: Preliminary Results". In: *Applied Spectroscopy* 46.3 (März 1992), S. 401–406. DOI: 10.1366/0003702924125311.
- C. Moulin et al. "Speciation of Uranium by Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Comparison with Time-Resolved Laser-Induced Fluorescence". In: Applied Spectroscopy 54.6 (Juni 2000), S. 843–848. DOI: 10.1366/0003702001950201.
- [12] M. Steppert et al. "On the polymerization of hexavalent uranium. An electrospray mass spectrometry study". In: *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 26.6 (Feb. 2012), S. 583–591. DOI: 10.1002/rcm.6128.
- B. O. Keller et al. "Interferences and contaminants encountered in modern mass spectrometry". In: Analytica Chimica Acta 627.1 (Okt. 2008), S. 71–81. DOI: 10.1016/j.aca.2008.04.043.
- [14] R. Kostiainen und T. J. Kauppila. "Effect of eluent on the ionization process in liquid chromatography-mass spectrometry". In: *Journal of Chromatography* A 1216.4 (Jan. 2009), S. 685–699. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.08.095.

- [15] J. A. Leenheer et al. "Molecular Resolution and Fragmentation of Fulvic Acid by Electrospray Ionization/Multistage Tandem Mass Spectrometry". In: Analytical Chemistry 73.7 (Apr. 2001), S. 1461–1471. DOI: 10.1021/ac0012593.
- [16] C. A. McIntyre et al. "High-resolution mass spectrometric analysis of myoinositol hexakisphosphate using electrospray ionisation Orbitrap". In: *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 31.20 (Sep. 2017), S. 1681–1689. DOI: 10.1002/rcm.7935.
- T. H. Hester et al. "Fragmentation of [Ni(NO3)3]-: A Study of Nickel-Oxygen Bonding and Oxidation States in Nickel Oxide Fragments". In: *Inorganic Chemistry* 55.13 (Juni 2016), S. 6634–6642. DOI: 10.1021/acs.inorgchem. 6b00812.
- S. Pasilis et al. "Ions generated from uranyl nitrate solutions by electrospray ionization (ESI) and detected with fourier transform ion-cyclotron resonance (FT-ICR) mass spectrometry". In: Journal of the American Society for Mass Spectrometry 17.2 (Feb. 2006), S. 230-240. DOI: 10.1016/j.jasms.2005.10.015.
- [19] L. W. McDonald et al. "Failure of ESI Spectra to Represent Metal-Complex Solution Composition: A Study of Lanthanide–Carboxylate Complexes". In: *Analytical Chemistry* 86.2 (Jan. 2014), S. 1023–1029. DOI: 10.1021/ac401751r.
- [20] Thermo Fisher Scientific. LTQ Series Hardware Manual. 2015.
- [21] A. Makarov. "Electrostatic Axially Harmonic Orbital Trapping: A High-Performance Technique of Mass Analysis". In: Analytical Chemistry 72.6 (März 2000), S. 1156–1162. DOI: 10.1021/ac991131p.
- [22] W. Demtröder. Experimentalphysik 1. Springer Berlin Heidelberg, 2015. DOI: 10.1007/978-3-662-46415-1.
- [23] A. Marshall. Fourier transforms in NMR, optical, and mass spectrometry : a user's handbook. Amsterdam New York: Elsevier, 1989. ISBN: 0444873600.
- [24] A. L. Rockwood und J. C. L. Erve. "Mass Spectral Peak Distortion Due to Fourier Transform Signal Processing". In: Journal of The American Society for Mass Spectrometry 25.12 (Sep. 2014), S. 2163–2176. DOI: 10.1007/s13361– 014-0982-0.
- S. L. Blake et al. "Spectral Accuracy and Sulfur Counting Capabilities of the LTQ-FT-ICR and the LTQ-Orbitrap XL for Small Molecule Analysis". In: Journal of The American Society for Mass Spectrometry 22.12 (Sep. 2011), S. 2269–2275. DOI: 10.1007/s13361-011-0244-3.
- S. Ilchenko et al. "An Improved Measurement of Isotopic Ratios by High Resolution Mass Spectrometry". In: Journal of The American Society for Mass Spectrometry 24.2 (Jan. 2013), S. 309–312. DOI: 10.1007/s13361-012-0536-2.
- [27] M. Scigelova et al. "Fourier Transform Mass Spectrometry". In: Molecular & Cellular Proteomics 10.7 (Juli 2011), S. M111.009431. DOI: 10.1074/mcp. m111.009431.
- [28] O. Lange et al. "Enhanced Fourier transform for Orbitrap mass spectrometry". In: International Journal of Mass Spectrometry 369 (Aug. 2014), S. 16–22. DOI: 10.1016/j.ijms.2014.05.019.
- [29] Y. Wang. "Computational Method and System for Mass Spectral Analysis". US 7,577,538 B2. 18. Aug. 2009.

- [30] J. C. L. Erve et al. "Spectral accuracy of molecular ions in an LTQ/Orbitrap mass spectrometer and implications for elemental composition determination". In: Journal of the American Society for Mass Spectrometry 20.11 (Nov. 2009), S. 2058–2069. DOI: 10.1016/j.jasms.2009.07.014.
- [31] R. Matthiesen. "LC-MS Spectra Processing". In: Mass Spectrometry Data Analysis in Proteomics. Humana Press, 2013, S. 47–63. DOI: 10.1007/978-1-62703-392-3_2.
- [32] A. Makarov und E. Denisov. "Dynamics of ions of intact proteins in the Orbitrap mass analyzer". In: Journal of the American Society for Mass Spectrometry 20.8 (Aug. 2009), S. 1486–1495. DOI: 10.1016/j.jasms.2009.03.024.
- [33] Z. Muccio und G. P. Jackson. "Isotope ratio mass spectrometry". In: The Analyst 134.2 (2009), S. 213–222. DOI: 10.1039/b808232d.
- [34] W. Meier-Augenstein. "Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry". In: *Journal of Chromatography A* 842.1-2 (Mai 1999), S. 351–371. DOI: 10.1016/s0021-9673(98)01057-7.
- [35] K. Scheubert et al. "Computational mass spectrometry for small molecules". In: Journal of Cheminformatics 5.1 (März 2013). DOI: 10.1186/1758-2946-5-12.
- [36] C. Kuhl et al. "CAMERA: An Integrated Strategy for Compound Spectra Extraction and Annotation of Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Data Sets". In: Analytical Chemistry 84.1 (Dez. 2011), S. 283–289. DOI: 10. 1021/ac202450g.
- [37] K. Hiller et al. "NTFD-a stand-alone application for the non-targeted detection of stable isotope-labeled compounds in GC/MS data". In: *Bioinformatics* 29.9 (März 2013), S. 1226–1228. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt119.
- [38] C. Bueschl et al. "MetExtract II: A Software Suite for Stable Isotope-Assisted Untargeted Metabolomics". In: Analytical Chemistry 89.17 (Aug. 2017), S. 9518– 9526. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02518.
- [39] S. Böcker et al. "SIRIUS: decomposing isotope patterns for metabolite identification". In: *Bioinformatics* 25.2 (Nov. 2008), S. 218-224. DOI: 10.1093/ bioinformatics/btn603.
- [40] T. Pluskal et al. "MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data". In: BMC Bioinformatics 11.1 (Juli 2010). DOI: 10.1186/1471-2105-11-395.
- [41] O. Baars et al. "ChelomEx: Isotope-Assisted Discovery of Metal Chelates in Complex Media Using High-Resolution LC-MS". In: Analytical Chemistry 86.22 (Nov. 2014), S. 11298–11305. DOI: 10.1021/ac503000e.
- [42] T. U. H. Baumeister et al. "DeltaMS: a tool to track isotopologues in GC- and LC-MS data". In: *Metabolomics* 14.4 (Feb. 2018). DOI: 10.1007/s11306-018-1336-x.
- [43] C. A. Smith et al. "XCMS: Processing Mass Spectrometry Data for Metabolite Profiling Using Nonlinear Peak Alignment, Matching, and Identification". In: *Analytical Chemistry* 78.3 (Feb. 2006), S. 779–787. DOI: 10.1021/ac051437y.
- [44] R. A. Scheltema et al. "PeakML/mzMatch: A File Format, Java Library, R Library, and Tool-Chain for Mass Spectrometry Data Analysis". In: Analytical Chemistry 83.7 (Apr. 2011), S. 2786–2793. DOI: 10.1021/ac2000994.

- [45] D. L. Parkhurst und C. Appelo. Description of input and examples for PHREEQC version 3: a computer program for speciation, batch-reaction, onedimensional transport, and inverse geochemical calculations. 2013. DOI: 10. 3133/tm6a43.
- [46] D. Kinniburgh und D. Cooper. "PhreePlot: Creating graphical output with PHREEQC". In: (2011).
- [47] E. Giffaut et al. "Andra thermodynamic database for performance assessment: ThermoChimie". In: Applied Geochemistry 49 (Okt. 2014), S. 225–236. DOI: 10.1016/j.apgeochem.2014.05.007.
- [48] G. R. Choppin und E. N. Rizkalla. "Chapter 128 Solution chemistry of actinides and lanthanides". In: *Lanthanides/Actinides: Chemistry*. Elsevier, 1994, S. 559– 590. DOI: 10.1016/s0168-1273(05)80051-0.
- [49] R. J. Fellows et al. "Europium Uptake and Partitioning in Oat (Avena sativa) Roots as Studied by Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy and Confocal Microscopy Profiling Technique". In: *Environmental Science & Technology* 37.22 (Nov. 2003), S. 5247–5253. DOI: 10.1021/es0343609.
- [50] M. Bucheli-Witschel und T. Egli. "Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids". In: *FEMS Microbiology Reviews* 25.1 (Jan. 2001), S. 69–106. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2001.tb00572.x.
- [51] A. J. Cartwright et al. "Characterisation of thorium–ethylenediaminetetraacetic acid and thorium–nitrilotriacetic acid species by electrospray ionisation-mass spectrometry". In: Analytica Chimica Acta 590.1 (Mai 2007), S. 125–131. DOI: 10.1016/j.aca.2007.03.010.
- [52] M. Binnewies et al. Allgemeine und Anorganische Chemie. Springer-Verlag GmbH, 2. Dez. 2016. 965 S. ISBN: 9783662450673.
- [53] D. Baron und J. G. Hering. "Analysis of Metal-EDTA Complexes by Electrospray Mass Spectrometry". In: Journal of Environmental Quality 27.4 (Juli 1998), S. 844–850. DOI: 10.2134/jeq1998.00472425002700040019x.
- [54] N. Reddy et al. "Phytates in Legumes and Cereals". In: Advances in Food Research. Elsevier, 1982, S. 1–92. DOI: 10.1016/s0065-2628(08)60110-x.
- [55] G. Marolt et al. "Complex Formation of Phytic Acid With Selected Monovalent and Divalent Metals". In: Frontiers in Chemistry 8 (Sep. 2020). DOI: 10.3389/ fchem.2020.582746.
- [56] L. Heighton et al. "Electrospray ionization mass spectroscopy shows speciation of phytate to be pH dependent". In: *Journal of food, agriculture & environment* v. 6.no. 2 (2008), pp. 402-407–2008 v.6 no.2.
- [57] M. Cegłowski et al. "Determination of Conditional Stability Constants for Phytic Acid Complexes with Mg2+, Ca2+ and Zn2+ Ions Using Electrospray Ionization Mass Spectrometry". In: 22 (2016), S. 245-252. ISSN: 1469-0667. DOI: 10.1255/ejms.1444.
- [58] A. Ohyoshi et al. "A study of citrate complexes of several lanthanides". In: Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry 34.6 (Juni 1972), S. 1955–1960. DOI: 10.1016/0022-1902(72)80548-7.
- [59] A. Heller et al. "Curium(iii) citrate speciation in biological systems: a europium(iii) assisted spectroscopic and quantum chemical study". In: *Dalton Transactions* 41.45 (2012), S. 13969. DOI: 10.1039/c2dt31480k.

- [60] G. M. Gadd. "Fungal Production of Citric and Oxalic Acid: Importance in Metal Speciation, Physiology and Biogeochemical Processes". In: Advances in Microbial Physiology. Elsevier, 1999, S. 47–92. DOI: 10.1016/s0065-2911(08)60165-4.
- [61] K. J. Cantrell und R. H. Byrne. "Rare earth element complexation by carbonate and oxalate ions". In: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51.3 (März 1987), S. 597–605. DOI: 10.1016/0016-7037(87)90072-x.
- [62] P. Thakur et al. "An improved thermodynamic model for the complexation of trivalent actinides and lanthanide with oxalic acid valid to high ionic strength". In: *Chemical Geology* 413 (Okt. 2015), S. 7–17. DOI: 10.1016/j.chemgeo. 2015.07.029.
- [63] G. Degischer und G. R. Choppin. "Malonate complexing of lanthanide ions". In: Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry 34.9 (Sep. 1972), S. 2823–2830. DOI: 10.1016/0022-1902(72)80588-8.
- [64] S. Hussain et al. "Synthesis, Thermal, Structural Analyses, and Photoluminescent Properties of a New Family of Malonate-Containing Lanthanide(III) Coordination Polymers". In: *Frontiers in Chemistry* 7 (Apr. 2019). DOI: 10.3389/fchem.2019.00260.
- [65] M. Yasuda et al. "Stability of Complexes of Several Carboxylic Acids Formed with Bivalent Metals". In: Bulletin of the Chemical Society of Japan 33.8 (Aug. 1960), S. 1067–1070. DOI: 10.1246/bcsj.33.1067.
- [66] G. Meinrath. "Aquatic Chemistry of Uranium". In: FOG Freiberg Online Geoscience 1 (Jan. 1994).
- [67] I. Grenthe et al. "Uranium. The chemistry of the actinide and transactinide elements". In: *Springer: The Netherlands* 3 (2006), S. 577.
- [68] N. G. Tsierkezos et al. "Can Electrospray Mass Spectrometry Quantitatively Probe Speciation? Hydrolysis of Uranyl Nitrate Studied by Gas-Phase Methods". In: *Inorganic Chemistry* 48.13 (Mai 2009), S. 6287–6296. DOI: 10.1021/ ic900575r.
- [69] C. Walther et al. "Investigation of polynuclear Zr(IV) hydroxide complexes by nanoelectrospray mass-spectrometry combined with XAFS". In: Analytical and Bioanalytical Chemistry 388.2 (Apr. 2007), S. 409–431. DOI: 10.1007/s00216– 007–1223–1.
- [70] M. Steppert. "Massenspektrometrische Untersuchungen des Komplexierungsverhaltens von Actinid-Ionen in Lösung". Diss. Johannes Gutenberg-Universitat Mainz, 9. März 2012.
- [71] T. Theis. *Einstieg in Python*. Bonn: Rheinwerk Verlag, 2017. ISBN: 9783836245258.
- [72] J. Klein. *ms_deisotope*. 2018.
- [73] N. Hulstaert et al. "ThermoRawFileParser: Modular, Scalable, and Cross-Platform RAW File Conversion". In: *Journal of Proteome Research* 19.1 (Nov. 2019), S. 537–542. DOI: 10.1021/acs.jproteome.9b00328.
- [74] A. A. Goloborodko et al. "Pyteomics—a Python Framework for Exploratory Data Analysis and Rapid Software Prototyping in Proteomics". In: *Journal* of The American Society for Mass Spectrometry 24.2 (Jan. 2013), S. 301–304. DOI: 10.1007/s13361-012-0516-6.

- [75] L. I. Levitsky et al. "Pyteomics 4.0: Five Years of Development of a Python Proteomics Framework". In: *Journal of Proteome Research* 18.2 (Dez. 2018), S. 709-714. DOI: 10.1021/acs.jproteome.8b00717.
- [76] C. Hill. *pyvalem 2.1.0.* 9. Jan. 2021.
- [77] G. Van Rossum. The Python Library Reference, release 3.8.2. Python Software Foundation, 2020.
- [78] S. Krishnan et al. "Instrument and process independent binning and baseline correction methods for liquid chromatography-high resolution-mass spectrometry deconvolution". In: Analytica Chimica Acta 740 (Aug. 2012), S. 12–19. DOI: 10.1016/j.aca.2012.06.014.
- [79] J. Klein. *ms_peak_picker*. 2018.
- [80] N. Stoll et al. "Isotope pattern evaluation for the reduction of elemental compositions assigned to high-resolution mass spectral data from electrospray ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry". In: *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 17.12 (Dez. 2006), S. 1692–1699. DOI: 10.1016/j.jasms.2006.07.022.
- [81] P. Virtanen et al. "SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python". In: *Nature Methods* 17.3 (Feb. 2020), S. 261–272. DOI: 10.1038/ s41592-019-0686-2.
- [82] H. Tong et al. "Automated data massaging, interpretation, and e-mailing modules for high throughput open access mass spectrometry". In: *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 10.11 (Nov. 1999), S. 1174–1187. DOI: 10.1016/s1044-0305(99)00090-2.
- [83] N. Bhatt. Dynamic Programming: Combination Sum Problem. 13. Aug. 2008. URL: https://www.codeguru.com/cpp/cpp/algorithms/combinations/ article.php/c15409/Dynamic-Programming-Combination-Sum-Problem. htm (besucht am 15.07.2021).
- [84] A. R. Bubas et al. "Collision-induced dissociation of [UO 2 (NO 3) 3] and [UO 2 (NO 3) 2 (O 2)] - and reactions of product ions with H 2 O and O 2". In: Journal of Mass Spectrometry 56.3 (Feb. 2021). DOI: 10.1002/jms.4705.
- [85] JCGM et al. Evaluation of measurement data Guide to the expression of uncertainty in measurement. Techn. Ber. BIPM, IEC, IFCC, ILAC, ISO, IUPAC, IUPAP und OIML, 2008.
- [86] J. V. Olsen et al. "Parts per Million Mass Accuracy on an Orbitrap Mass Spectrometer via Lock Mass Injection into a C-trap". In: *Molecular & Cellular Proteomics* 4.12 (Dez. 2005), S. 2010–2021. DOI: 10.1074/mcp.t500030mcp200.
- [87] M. L. Easterling et al. "Isotope beating effects in the analysis of polymer distributions by Fourier transform mass spectrometry". In: *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 10.11 (Nov. 1999), S. 1074–1082. DOI: 10.1016/s1044-0305(99)00091-4.
- [88] Q. Hu et al. "The Orbitrap: a new mass spectrometer". In: Journal of Mass Spectrometry 40.4 (2005), S. 430–443. DOI: 10.1002/jms.856.
- [89] A. Kaufmann und S. Walker. "Accuracy of relative isotopic abundance and mass measurements in a single-stage orbitrap mass spectrometer". In: *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 26.9 (März 2012), S. 1081–1090. DOI: 10.1002/rcm.6195.
- C. R. Harris et al. "Array programming with NumPy". In: *Nature* 585.7825 (Sep. 2020), S. 357–362. DOI: 10.1038/s41586-020-2649-2.
- [91] W. McKinney. "Data Structures for Statistical Computing in Python". In: Proceedings of the 9th Python in Science Conference. SciPy, 2010. DOI: 10. 25080/majora-92bf1922-00a.
- [92] J. D. Hunter. "Matplotlib: A 2D Graphics Environment". In: Computing in Science & Engineering 9.3 (2007), S. 90–95. DOI: 10.1109/mcse.2007.55.
- [93] A. Meurer et al. "SymPy: symbolic computing in Python". In: PeerJ Computer Science 3 (Jan. 2017), e103. DOI: 10.7717/peerj-cs.103.
- [94] L. M. Mentel. mendeleev A Python resource for properties of chemical elements, ions and isotopes. 2014.
- [95] F. Lundh. "An introduction to tkinter". In: URL: www. pythonware. com/library/tkinter/introduction/index. htm (1999).
- [96] D. Farrell. "DataExplore: An Application for General Data Analysis in Research and Education". In: Journal of Open Research Software 4 (März 2016). DOI: 10.5334/jors.94.
- [97] G. Brandl. Sphinx 4.1.1. Juli 2021.

Abbildungsverzeichnis

2.1.	Schema des ESI-Prozesses (links) und Aufnahme der Spray-Entstehung (rechts). [2]	5
2.2. 2.3.	Schematischer Aufbau des <i>Orbitrap Elite</i> -Massenspektrometers. [4] . Verlauf einer gedämpften Schwingung [23] (links) und Messung des	7
	transienten Signals von ca. $2 \cdot 10^5$ ⁵⁶ Fe-Ionen im Orbitrap-Analysator [21] (rechts)	9
2.4.	Absorptions-, Dispersions- und Betragsspektrum der Fouriertransfor- mierten für ein transientes Signal ohne Phasenverschiebung. [23]	11
2.5.	Abhängigkeit der Peakhöhe und Peakfläche von der Zerfallszeit bei der eFT. $x_0 = 1, \nu = 50$ Hz	13
3.1.	Speziationsdiagramm für eine Europium-Nitrat-Lösung mit $[Eu] = 3 \text{ mM}$. Aufgrund der Salzhydrolyse liegt der pH-Wert bei etwa 5,5. Die Carbonat-Spezies sind auf gelöstes Kohlenstoffdioxid aus der Raumluft	
3.2.	zurückzuführen	15
3.3.	$= 0.76 \mathrm{M}.$	18
2.4	1,1 M.	18
3.4.	Speziationsdiagramm von $ZrOCl_2$ in HCI mit $[Zr] = 1$ mM und [CI] = 0,73 M	20
4.1. 4.2.	Tab in der GUI für die Inspektion des Spektrums	25 26
4.3. 4.4.	Berechnung des Beitrags eines einzelnen Scans zum gemittelten Spek-	26
4.5.	trum	29 30
5.1.	Massenspektrum der Europium-Nitrat-Lösung im Positivmodus. Ein- gezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen	37
5.2.	Massenspektrum der Europium-Citrat-Lösung im Negativmodus. Ein-	01
5.3.	gezeichnet sind einige ausgewante verbindungen	38
5.4.	einige ausgewählte Verbindungen	38
55	ausgewählte Verbindungen.	39
5.6.	modus. Eingezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen Unterschiedliche Ausschnitte des Massenspektrums der Zirconvl-	40
	Chlorid-Lösung bei pH0 im Positivmodus. Eingezeichnet sind einige ausgewählte Verbindungen.	41
6.1.	Mittlerer Betrag der relativen Abweichung von der theoretischen Mas- sendifferenz bei unterschiedlicher Peak Picking Genauigkeit	44

6.2.	Mittlerer Betrag der relativen Abweichung vom theoretischen Inten- sitätsverhältnis für verschiedene Isotope bei unterschiedlicher Peak Bieleing Consuigkeit	4.4
6.3.	Relative Abweichung von der theoretischen Massendifferenz (bezo- gen auf das Referenzion) bei den untersuchten Spezies. Zusätzlich eingezeichnet sind die bei der Elementsuche verwendeten Toleranzren- zen von ± 5 ppm. Da hier die Abweichungen von der Massendifferenz und nicht die absoluten Massenabweichungen betrachtet werden, sind	44
6.4.	Werte bis 10 ppm moglich. Unten: vergroßerter Ausschnitt Oben: Abweichung vom theoretischen Häufigkeitsverhältnis (bezogen auf das Beferenzion)	47
6.5.	Auffindquote in Scans in Abhängigkeit der zu erwartenden Signalin- tensität, gemittelt über jeweils 50 Datenpunkte.	-19 50
6.6.	Relative Abweichungen $\delta\rho$ in Abhängigkeit des theoretischen Häufig- keitsverhältnisses $\rho = P/P_0$. Berücksichtigt wurden alle Datenpunkte mit $L_{err} > 1.5 \cdot 10^4$.	50
6.7.	Mittlere relative Abweichungen $\overline{\delta\rho}$ für die Isotopenpeaks von Europi- um, Zirconium, Uran und Chlor. Berücksichtigt wurden alle Daten- punkte mit $L \ge 1.5$, 10 ⁴	51
6.8.	Verteilung der relativen Abweichungen $\delta\rho$ für einige ausgewählte Iso- tope Berücksichtigt wurden alle Datenpunkte mit $L_{err} > 1.5 \cdot 10^4$	51
6.9.	Typischer Verlauf des transienten Signals im Orbitrap-Analysator. Die Überlagerung mehrerer nah beieinander liegender Frequenzen führt zu einem Schwebungsmuster mit periodisch ab- und zunehmender	01
	Amplitude. [88]	52
6.10.	. Isotopische Feinstruktur des M+2-Signals von $[ZrOCl_3]^-$. Die ⁹² Zr- und ³⁷ Cl-Isotopenpeaks sind gut aufgelöst	54
6.11.	. Vergleich der Isotopenmuster der beiden Spezies $[EuH_7C_{11}N_{10}O_6]^+$ und $[Eu(H_2EDTA)(NO_3)Na]^+$. Der Übersicht halber wurden die Peaks für Eu(H_2EDTA)(NO_3)Na^+ um 0,1 Einheiten auf der m/z -Achse nach	
6.12.	rechts verschoben, zu beachten ist die logarithmische Auftragung Vergleich der Gesamtwertung Γ sowie der Einzelkomponenten Ω, ω und	55
	ϕ fur Testmenge, Kontrollmenge mit nicht passendem Isotopenmuster (A) und Kontrollmenge mit gut passendem Isotopenmuster (B)	56
6.13.	. Vorhergesagtes Isotopenmuster von $[EuCl(OH)(H_2O)_2]^+$ gegenüber den Messdaten. Es zeigt sich für den ³⁷ Cl-Peak eine deutlich zu geringe Intensität und eine merkliche Verschiebung nach rechts	57
A 1		01
A.1.	Speziationsdiagramm von Uran in HNO_3 mit $[U] = 1$ mM und $[NO_3]$ = 1,05 mM	73
A.2.	Speziations diagramm von Uran in HCl mit $[U] = 1 \text{ mM}$ und $[Cl^-] = 1 \text{ mM}$.	73
A.3.	Speziations diagramm von ZrOCl_2 in HCl mit $[\operatorname{Zr}] = 1 \text{ mM}$ und $[\operatorname{Cl}^-]$ = 1,12 M	74
A.4.	Speziations diagramm von ZrOCl_2 in HNO_3 mit $[\text{Zr}] = 1 \text{ mM}$ und $[\text{Cl}^-] = 0.53 \text{ M}$	74
A.5.	Spektren aller verwendeten Lösungen.	87

Tabellenverzeichnis

3.1.	Stabile Zirconium-Isotope mit relativen Häufigkeiten	19
4.1.	Beispiel für eine Speziesdatenbank.	27
5.1.	Übersicht über die durchgeführten Messungen.	34
6.1.	Anteile von Test- und Kontrollmenge mit Gesamtwertung bzw. Inten- sitätskorrelation unter dem jeweiligen Schwellenwert.	57
A.1. A.2. A.3.	Konzentrationen der Europium-Nitrat- und Europium-Chlorid-Lösungen. Zusammensetzung der Europium-Hoagland-Lösung	78 78
A.4.	Einwaagen	78
A.5.	Einwaagen	79
A.6.	und Zirconium	79
A.7.	und ²³⁸ U. Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen wur- den nach den Anweisungen der <i>DIN 32645</i> berechnet	79
A.8.	(bestimmt aus den Einwaagen)	80
A.9.	der Säuren berechnet unter der Annahme vollständiger Dissoziation. Konzentrationen und pH-Werte der gemessenen Zirconium-	80
A.10	Probenlösungen	80
A.11	Deprotonierungszustände werden als H_xL gekennzeichnet	81
	Spezies.	81

A. Anhang

A.1. Speziationsdiagramme



Abb. A.1.: Speziations diagramm von Uran in HNO_3 mit [U] = 1 mM und $[NO_3^-] = 1,05 \text{ mM}$.



Abb. A.2.: Speziations diagramm von Uran in HCl mit [U] = 1 mM und $[Cl^-] = 1 \text{ mM}$.



Abb. A.3.: Speziations diagramm von ZrOCl_2 in HCl mit [Zr] = 1 mM und $[\text{Cl}^-] = 1,12 \text{ M}$.



Abb. A.4.: Speziations diagramm von ZrOCl_2 in HCl mit [Zr] = 1 mM und $[\text{Cl}^-] = 0.53 \text{ M}$.

A.2. Details zur Programmierung

A.2.1. Liste der verwendeten Python-Pakete

- numpy [90]
- pandas [91]
- matplotlib [92]
- scipy [81]
- sympy [93]
- ms_deisotope [72]
- ms_peak_picker [79]
- mendeleev [94]
- pyteomics [74] [75]
- pyvalem [76]
- tkinter [95]
- ttkbootstrap
- tkscrolledframe
- pandastable [96]
- sphinx [97]

A.2.2. Berechnung der Korrelationswertung für die Speziessuche

Ausgangssituation: Aus der Simulation des Isotopenmusters unter Berücksichtigung der spektralen Auflösung resultiert eine Menge an theoretisch vorhergesagten Peaks mit m/z-Werten $\{m_0, ..., m_M\}$ und relativen Häufigkeiten $\{T_0, ..., T_M\}$ mit $T_i \in (0,1] \forall i$. Dem gegenüber steht eine Menge gemessener Signale mit m/z-Werten $\{\mu_0, ..., \mu_M\}$ und korrespondierenden Intensitäten $\{I_0, ..., I_M\}$. Es gilt

$$\frac{|m_i - \mu_i|}{m_i} \le \delta m_{max} \quad \forall i \tag{A.1}$$

mit einer variablen Massentoleranz δm_{max} . Falls für einen vorhergesagten Peak innerhalb dieses Toleranzbereichs keine Entsprechung im Spektrum gefunden wurde, wird die entsprechende Intensität gleich null gesetzt.

Es gilt nun, ein Maß für die Güte der Korrelation zwischen der berechneten Häufigkeitsverteilung und den gemessenen Intensitätsverhältnissen zu finden. Dafür werden die folgenden Schritte angewandt.

1. Berechnung des Normierungsfaktors

Berechne einen Normierungsfaktor α zur Anpassung der relativen Häufigkeiten an das gemessene Intensitätslevel, sodass

$$\sum_{j=0}^{M} (I_j - \alpha T_j)^2$$
 (A.2)

minimal ist. Für α folgt [82]

$$\implies \alpha = \frac{\sum_{j} I_{j} T_{j}}{\sum_{j} T_{j}^{2}}$$
(A.3)

2. Signalfilterung

Zur Vermeidung von übermäßigen Abweichungen durch Peaks, die von größeren Signalen überlagert werden setze $I_j = 0$, falls $I_j > 2 \alpha T_j$.

3. Gewichtungsfaktoren

Aufgrund der in Abschnitt 6.2 beschriebenen Mittelungseffekte kann es für Signale nahe oder unterhalb der Nachweisgrenze im Zuge des Datenverarbeitungsprozesses zu Verzerrungen des Intensitätsverhältnisses kommen. Daher sollen Abweichungen für Signale mit solch geringen Intensitäten weniger stark gewichtet werden. Die Wichtungsfaktoren werden berechnet nach

$$w_j = 1 - \frac{1 - T_j / T_{max}}{1 + k \cdot \alpha T_j}$$
 mit $T_{max} = \max(\{T_j\})$ (A.4)

Diese Formel und der Faktor k wurden für das verwendete Instrument empirisch ermittelt, indem abhängig von der Intensität die Auffindquote von erwarteten Signalen in den Scans der Messungen untersucht wurde (Abb. 6.5). Der Term im Zähler dient als Korrekturfaktor für den Fall, dass alle Intensitäten sehr gering sind. In diesem Fall sollten auch schwache Signale normal gewichtet werden, solange sie eine relevante relative Häufigkeit aufweisen, da die Gesamtwertung sonst überdurchschnittlich hoch ausfallen könnte.

4. Allgemeine Intensitätskorrelation

Berechne Korrelationsfaktor zwischen theoretischer Verteilung und gemessenen Signalen:

$$\Omega = \sigma \cdot \left(1 - \sqrt{\frac{\sum_{j} w_j^2 \left(I_j / \alpha - T_j \right)^2}{\sum_{j} T_j^2}} \right)$$
(A.5)

wobe
i σ ein optionaler, benutzerdefinierter Faktor ist, der angewendet wird, wenn die Berechnung im Wesentlichen auf einem einzigen Signal basiert. Dies dient dazu, monoisotopischen elementaren Zusammensetzungen (oder solche, die nur ein Isotopolog mit relevanter Häufigkeit besitzen) einen geringeren Wert zuzuweisen, da diese immer eine Korrelation von 1 aufweisen, falls mindestens ein Peak im Toleranzbereich liegt. Besonders für einen automatisierten Vergleich verschiedener elementarer Zusammensetzungen kann diese Option von Nutzen sein.

5. Intensitätskorrelation für kleine Signale

Berechne einen weiteren Korrelationsfaktor für Signale mit geringem relativen Anteil i Bestimme Peaks mit relativer Intensität $T_j < 0.3$:

$$J_S = \{j \mid T_j < 0,3\} \tag{A.6}$$

ii Berechne neuen Normierungsfaktor, da die Verwendung des ursprünglichen Faktors α zu sehr hohen Abweichungen führen kann:

$$\alpha_S = \frac{\sum_{j \in J_S} I_j T_j}{\sum_{j \in J_S} T_j^2} \tag{A.7}$$

iii Berechne neue Gewichtungsfaktoren (nutze hier weiterhin $\alpha,$ da davon auszugehen ist, dass dies eine bessere Abschätzung der tatsächlich zu erwartenden Intensität liefert)

$$w_{S,j} = \frac{1 - T_j / T'_{max}}{1 + k \cdot \alpha T_j} \qquad \text{mit } T'_{max} = \max(\{T_j \mid j \in J_S\})$$
(A.8)

iv Berechne gewichtete relative Abweichungen:

- Falls $J_S = \{ \} \implies \omega = 0$
- Falls $I_j = 0 \ \forall \ j \in J_S \implies \omega = \sum_{j \in J_S} w_{S,j} T_j$
- Sonst

$$\omega = \left(\sum_{j \in J_S} T_j\right) \sqrt{\frac{\sum_{j \in J_S} w_{S,j}^2 \left(I_j / \alpha_S - T_j\right)^2}{\sum_{j \in J_S} T_j^2}}$$
(A.9)

Dabei dient die Multiplikation mit $\sum_{j \in J_S} T_j$ zur Begrenzung der Abzüge auf den tatsächlichen Anteil der hier betrachteten Signale.

6. Abzüge für nicht gefundene Peaks

Berechne zusätzliche Abzüge für vorhergesagte Signale, für die keine Entsprechung gefunden wurde.

$$\phi = \sum_{j \in J_F} w_j T_j \tag{A.10}$$

wobe
i $J_{\mathbb{F}}$ die Menge der Peaks ist, für die keine Entsprechung im Spektrum gefunden wurde

7. Berechnung der Gesamtwertung

Verrechne alle obigen Komponenten zu einem Gesamtwert

$$\Gamma = \Omega - \omega - \phi \tag{A.11}$$

A.3. Verwendete Chemikalien

- Citronensäure wasserfrei (BERND KRAFT, $\geq 99,5\%$)
- Ethylendiamintetraessigsäure Dinatriumsalz Dihydrat (VWR, 99,7%)
- Europium(III)-Chlorid Hexahydrat (SIGMA ALDRICH, 99,9% trace metals basis)
- Europium(III)-Nitrat Pentahydrat (SIGMA ALDRICH, 99,9% trace metals basis)
- Kaliumacetat (SIGMA ALDRICH, $\geq 99,0\%$)
- Malonsäure (ALFA AESAR, $\geq 99,5\%$)
- Oxalsäure wasserfrei (FLUKA, > 99% (RT))
- Phytinsäure Natriumsalz Hydrat (SIGMA ALDRICH, $\geq 99\%$ phosphorus basis)
- Salpetersäure 69% (MERCK, zur Analyse, Ph.Eur.)
- Salzsäure 37 % (VWR, Ph.Eur.)
- Uran Späne (MERCK, zur Analyse)
- Zirconiumdichloridoxid Octahydrat (ALPHA AESAR, 98%)

A.4. Konzentrationen und pH-Werte

A.4.1. Europium

Tab. A.1.: Konzentrationen der Europium-Nitrat- und Europium-Chlorid-Lösungen.

Lösung	Substanz	Konzentration
Eu-Nitrat	$\mathrm{Eu}(\mathrm{NO}_3)_3 \cdot 5\mathrm{H_2O}$	$3\mathrm{mM}$
Eu-Chlorid	$\rm EuCl_3\cdot6H_2O$	$3\mathrm{mM}$

Tab. A.2.: Zusammensetzung der Europium-Hoagland-Lösung.

Substanz	Konzentration $[\mu \mathrm{M}]$
KNO_3	1009
$\rm Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$	299,8
$\rm MgSO_4\cdot 7 H_2O$	198,8
$\rm NH_4H_2PO_4$	87,08
$\rm FeSO_4\cdot 7H_2O$	1,640
EDTA \cdot N_{12} \cdot $2\mathrm{H}_{2}\mathrm{O}$	0,8059
H_3BO_3	4,626
$\rm MnCl_2\cdot4H_2O$	0,9146
$\rm ChSO_4\cdot 5H_2O$	0,03204
$\rm H_2MoO_4$	$0,\!05557$
$\rm ZnSO_4\cdot 7H_2O$	0,07651

Tab. A.3.: Konzentrationen der Europium-Liganden-Lösungen berechnet nach Einwaagen.

Ligand	Substanz	$c(Eu) [10^{-4} M]$	$c(L) [10^{-4} M]$
Phytat	$\mathrm{C_6H_{18}O_{24}P_6}\cdot\mathrm{xNa}\cdot\mathrm{yH_2O}$	$0,\!995$	0,969
Oxalat	CH_2O_4	1,005	0,943
Malonat	$C_2H_4O_4$	0,933	0,976
Acetat	$C_2H_3KO_2$	1,036	0,940
Citrat	$\rm C_6H_8O_7$	1,012	1,029
EDTA	$\rm C_{10}H_{14}N_{2}Na_{2}O_{8}\cdot2H_{2}O$	0,983	0,908

Ligand	$c(Eu) [10^{-4} M]$	$c(L1) [10^{-4} M]$	$c(L2) [10^{-4} M]$
EDTA + Phytat	1,030	$0,\!458$	$0,\!507$
Oxalat + Citrat	1,021	$0,\!472$	0,517
Acetat + Malonat	1,045	0,466	0,489

Tab. A.4.: Konzentrationen der gemischten Liganden-Lösungen berechnet nach Einwaagen.

A.4.2. Säuren

Tab. A.5.: Gemessene p	pH-Werte der Säuren für
die Lösungsansätze von	Uran und Zirconium.

	realer pH-Wert
$\mathrm{HNO}_3~\mathrm{pH}0$	0,11
$\mathrm{HNO}_3~\mathrm{pH}3$	$2,\!98$
$\mathrm{HCl}\;\mathrm{pH}0$	-0,05
$\mathrm{HCl}\ \mathrm{pH}3$	3,01

A.4.3. Uran

Tab. A.6.: Ergebnisse der ICP-MS-Messungen. Die Kalibration erfolgte anhand der summierten Intensitäten der Uranisotope 233 U, 234 U, 235 U, 236 U und 238 U. Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen wurden nach den Anweisungen der DIN 32645 berechnet.

	Massenanteil [ppt]	Stoffmengenkonzentration [M]
Nachweisgrenze	0,124	$5,26 \cdot 10^{-13}$
Erfassungsgrenze	$0,\!247$	$1,05 \cdot 10^{-12}$
Bestimmungsgrenze	$11,\!563$	$4,90 \cdot 10^{-11}$
verdünnte HNO ₃ -Probe	$367,\!158$	$1{,}56\cdot10^{-9}$
verdünnte HCl-Probe	378,700	$1,61 \cdot 10^{-9}$

A. Anhang

Stammlösung	Verdünnungsfaktor	c(U) [mM]
U-HNO ₃	$3,32\cdot 10^7$	51,60
U-HCl	$3,36\cdot 10^7$	54,01

Tab. A.7.: Konzentration der Uran-Stammlösungen berechnet aus den Ergebnissen der ICP-MS-Messungen (Tabelle A.6) und dem Verdünnungsfaktor (bestimmt aus den Einwaagen).

Tab. A.8.: Zusammensetzung der gemessenen Uran-Probenlösungen. Die Chloridund Nitratkonzentration wurden aus den pH-Werten und Einwaagen der Säuren berechnet unter der Annahme vollständiger Dissoziation.

Lösung	c(U) [mM]	$c(NO_3^{-\!})~[M]$
$\text{U-HNO}_3 \; \text{pH} 0$	1,004	0,76
$\operatorname{U-HNO}_3\mathrm{pH}3$	0,967	$1,\!047\cdot 10^{-3}$
	c(U) [mM]	$c(Cl^{-})~[M]$
U-HCL pH0	1,014	1,101
U-HCl pH 3	1,006	$0,977 \cdot 10^{-3}$

A.4.4. Zirconium

Tab. A.9.: Konzentrationen und pH-Werte der gemessenenZirconium-Probenlösungen.

Lösung	realer pH-Wert	$c(ZrOCl_2\cdot 8H_2O)~[mM]$
$\operatorname{Zr}\mathrm{pH}0$	$-0,05^{a}$	$0,\!993$
${\rm Zr~pH0,}15$	$0,\!14$	0,977
${\rm Zr~pH0,3}$	0,28	0,527

^a pH-Wert der verwendeten Säure

A.5. Identifzierte Spezies

_

_

Kürzel	Ion
Ac	$[\mathrm{C_2H_3O_2}]^-$
Mal	$[{\rm C}_3{\rm H}_2{\rm O}_4]^{2-}$
Ox	$[C_2O_4]^{2-}$
Cit	${\rm [C_6H_4O_7]^{4-}}$
Phy	$[C_6H_6O_{24}P_6]^{12-}$
EDTA	$[C_{10}H_{12}N_2O_8]^{4-}$

Tab. A.10.: Verwendete Symbole für die Europium-Liganden-Anionen. Andere Deprotonierungszustände werden als $\mathbf{H}_{\mathbf{x}}\mathbf{L}$ gekennzeichnet.

Tab. A.11.: Übersicht über alle in den verschiedenen Messungen identifizierten Spezies.

Spezies	Messungen
$Eu(OH)(H_2O)_2^{2+}$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat
$Eu(OH)(H_2O)_3^{2+}$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Chlorid, Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Mal ⁺
$Eu(OH)(H_2O)_4^{2+}$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Chlorid, Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺
${\rm Eu(OH)(H_2O)_5^{2+}}$	$Eu-Ac-Mal^+$, $Eu-Ac^+$, $Eu-Cit^+$, $Eu-Mal^+$
EuO^+	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Chlorid
$Eu(OH)^+$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Chlorid, Eu-Ac- Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺ , Eu-Phy ⁺
$\mathrm{Eu(OH)}_{2}^{+}$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Chlorid, Eu-Ac- Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺ , Eu-Phy ⁺
$Eu(OH)(H_2O)^+$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Chlorid, Eu-Ac- Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺
$Eu(OH)_2(H_2O)^+$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Chlorid, Eu-Ac- Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺ , Eu-Phy ⁺
	Fortsetzung auf der nächsten Seite

A. Anhang

Spezies	Messungen
$Eu(OH)(H_2O)_2^+$	Eu-Hoagland
EuNO_{3}^{+}	Eu-Hoagland, Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺
$Eu(OH)Cl(H_2O)^+$	Eu-Chlorid
$\mathrm{Eu(OH)_2(H_2O)_2^+}$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Chlorid, Eu-Ac- Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺
$Eu(OH)(NO_3)^+$	Eu-Nitrat
$\mathrm{Eu(NO_3)(H_2O)^+}$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺
$\mathrm{EuCl(OH)(H_2O)_2^+}$	Eu-Chlorid
$\rm Eu(OH)(NO_3)(H_2O)^+$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺
$\mathrm{Eu(NO_3)(H_2O)_2^+}$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat
${\rm EuCl_2(H_2O)_2^+}$	Eu-Chlorid
$\mathrm{Eu(NO_3)(OH)(H_2O)_2^+}$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat
$\rm Eu(\rm NO_3)_2(\rm H_2O)^+$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat
$\rm Eu(OH)_2(NO_3)_2^-$	Eu-Ac-Mal ⁻ , Eu-Mal ⁻
$Eu(NO_3)_2(H_2O)_2^+$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Cit ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺
$\mathrm{Eu}(\mathrm{NO}_3)_2(\mathrm{H}_2\mathrm{O})_3^+$	Eu-Hoagland, Eu-Nitrat, Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Ac ⁺ , Eu-Mal ⁺ , Eu-Ox-Cit ⁺ , Eu-Ox ⁺
${ m Eu}({ m NO}_3)_3^-$	Eu-Ac-Mal ⁻ , Eu-Ac ⁻ , Eu-Ox-Cit ⁻
$\rm{Eu}(\rm{NO}_3)_3(\rm{OH})^-$	Eu-Mal ⁻
${ m Eu}({ m NO}_3)_4^-$	Eu-Ac-Mal ⁻ , Eu-Ac ⁻ , Eu-Cit ⁻ , Eu-Mal ⁻ , Eu-Ox-Cit ⁻ , Eu-Ox ⁻
${\rm Eu}_2({\rm NO}_3)_5({\rm H}_2{\rm O})_2^+$	Eu-Nitrat
${\rm Eu}_2({\rm NO}_3)_5({\rm H}_2{\rm O})_3^+$	Eu-Nitrat
$\rm Eu(Ac)(HMal)(H_2O)^+$	$Eu-Ac-Mal^+$
$\mathrm{Eu(HMal)(H_2O)_3}^{2+}$	Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Mal ⁺
$\rm Eu(HMal)(H_2O)_4^{2+}$	Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Mal ⁺
$\rm{Eu}(Mal)(\rm{H}_2\rm{O})_2^+$	Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Mal ⁺
$Eu(Mal)(H_2O)_3^+$	Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Mal ⁺

Spezies	Messungen
$Eu(HMal)_2(H_2O)^+$	Eu-Ac-Mal ⁺ , Eu-Mal ⁺
$\rm Eu(H_3Cit)(H_2O)^{2+}$	$\operatorname{Eu-Cit}^+$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_{3}Cit})(\mathrm{H_{2}O})_{3}^{2+}$	$\operatorname{Eu-Cit}^+$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_3Cit})(\mathrm{H_2O})_4^{2+}$	$\operatorname{Eu-Cit}^+$
${\rm Eu}_2({\rm H}_3{\rm Cit})({\rm OH})_3({\rm H}_2{\rm O})_2^{2+}$	Eu-Cit ⁺
${\rm Eu}({\rm H_6Phy})({\rm Na})_5({\rm H_2O})^{2+}$	$Eu-EDTA-Phy^+$, $Eu-Phy^+$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_2Phy})(\mathrm{Na})_9^{2+}$	$Eu-Phy^+$
$Eu(H_2EDTA)(H_2O)^+$	$Eu-EDTA^+$
$Eu(HEDTA)(Na)^+$	$Eu-EDTA-Phy^+$, $Eu-EDTA^+$
$\rm Eu(EDTA)(Na)_2(H_2O)^+$	Eu-EDTA-Phy ⁺ , Eu-EDTA ⁺
$Eu(H_3EDTA)(NO_3)^+$	Eu-EDTA ⁺
$\rm Eu(H_2EDTA)(NO_3)(Na)^+$	$Eu-EDTA^+$
$Eu(HEDTA)(Na)_2(NO_3)^+$	Eu-EDTA-Phy ⁺ , Eu-EDTA ⁺
${\rm Eu(HEDTA)(NO_3)_2(Na)_3^+}$	Eu-EDTA ⁺
$\rm{Eu}(Ac)_2(OH)_2^-$	$Eu-Ac^-$
${\rm Eu}({\rm Ac})_3({\rm OH})^-$	$\mathrm{Eu-Ac^{-}}$
${ m Eu}({ m Ac})_4^-$	$\mathrm{Eu-Ac^{-}}$
${ m Eu}({ m Ac})_3({ m NO}_3)^-$	$Eu-Ac^-$
${\rm Eu}({\rm Ac})_2({\rm NO}_3)_2^-$	Eu-Ac ⁻
${ m Eu}({ m Ac})_5({ m K})^-$	Eu-Ac ⁻
$\rm{Eu}(Ac)_4(NO_3)(K)^-$	$Eu-Ac^-$
$\rm Eu(Ac)_3(NO_3)_2(K)^-$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{Ac})_2(\mathrm{K})(\mathrm{NO}_3)_3^-$	Eu-Ac ⁻
$\rm Eu(Ac)(NO_3)_4(K)^-$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{Ac})_5(\mathrm{NO}_3)(\mathrm{K})_2^-$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{Ac})_4(\mathrm{NO}_3)_2(\mathrm{K})_2^-$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{Ac})_3(\mathrm{NO}_3)_3(\mathrm{K})_2^{-}$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{Ac})_2(\mathrm{NO}_3)_4(\mathrm{K})_2^-$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{Ac})_5(\mathrm{NO}_3)_2^-$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{Ac})_4(\mathrm{NO}_3)_3^-$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{Ac})_3(\mathrm{NO}_3)_4^-$	Eu-Ac ⁻

A. Anhang

Spezies	Messungen
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{Ac})_2(\mathrm{NO}_3)_5^-$	$Eu-Ac^-$
$\mathrm{Eu}_{2}\mathrm{K}(\mathrm{Ac})_{5}(\mathrm{NO}_{3})_{3}^{-}$	$\mathrm{Eu} ext{-}\mathrm{Ac}^-$
$\mathrm{Eu}_{2}\mathrm{K}(\mathrm{Ac})_{4}(\mathrm{NO}_{3})_{4}^{-}$	$Eu-Ac^-$
${ m Eu}({ m Ac})_2({ m Mal})^-$	Eu-Ac-Mal ⁻
$\rm Eu(Ac)(Mal)(NO_3)^-$	Eu-Ac-Mal ⁻
${\rm Eu}({\rm Mal})_2^-$	Eu-Ac-Mal ⁻ , Eu-Mal ⁻
${\rm Eu}_2({\rm NO}_3)_2({\rm Mal})_3^{2-}$	$Eu-Mal^-$
${ m Eu(Mal)(NO_3)_2^-}$	Eu-Ac-Mal ⁻ , Eu-Mal ⁻
$\rm Eu(Mal)(HMal)(NO_3)^-$	$Eu-Mal^-$
$Eu(HMal)(NO_3)_3^-$	Eu-Ac-Mal ⁻ , Eu-Mal ⁻
${ m Eu}({ m HMal})_2({ m NO}_3)_2^-$	$Eu-Mal^-$
$\rm{Eu}(\rm{H}_2\rm{Mal})(\rm{NO}_3)_4^-$	$Eu-Mal^-$
${ m Eu}({ m HMal})_3({ m NO}_3)^-$	$Eu-Mal^-$
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{NO}_3)_2(\mathrm{Cit})(\mathrm{Ox})^{2-}$	Eu-Ox-Cit ⁻
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{NO}_2)(\mathrm{Cit})(\mathrm{HOx})_2^{2-}$	Eu-Ox-Cit ⁻
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{Ox})(\mathrm{HCit})_2^{2-}$	Eu-Ox-Cit ⁻
$Eu(HCit)(H_2Cit)^{2-}$	Eu-Cit ⁻ , Eu-Ox-Cit ⁻
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{Cit})_2^{2-}$	Eu-Cit ⁻ , Eu-Ox-Cit ⁻
${ m Eu}({ m HCit})({ m OH})^-$	Eu-Cit ⁻ , Eu-Ox-Cit ⁻
$\mathrm{Eu}_2(\mathrm{NO}_3)(\mathrm{HCit})(\mathrm{Cit})^{2-}$	Eu-Cit ⁻ , Eu-Ox-Cit ⁻
${ m Eu}({ m HCit})({ m NO}_3)^-$	Eu-Cit ⁻ , Eu-Ox-Cit ⁻
$\rm Eu(\rm HCit)(\rm NO_3)(\rm H_2O)^-$	Eu-Ox-Cit ⁻
$\rm{Eu}(\rm{H}_2\rm{Cit})(\rm{NO}_3)_2^-$	Eu-Cit ⁻ , Eu-Ox-Cit ⁻
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_{3}Cit})(\mathrm{NO_{3})_{3}^{-}}$	Eu-Ox-Cit ⁻
${ m Eu}({ m H_2Cit})_2^-$	$Eu-Cit^-$, $Eu-Ox-Cit^-$
$\rm Eu(H_3Cit)(H_2Cit)(NO_3)^-$	$Eu-Cit^-$, $Eu-Ox-Cit^-$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_7Phy}-2\mathrm{HPO_3})^{2-}$	Eu-Phy ⁻
${\rm Eu}({\rm H_7Phy}-2{\rm HPO_3})({\rm H_2O})^{2-}$	Eu-Phy ⁻
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_7Phy}-\mathrm{HPO_3})^{2-}$	$Eu-EDTA-Phy^-$, $Eu-Phy^-$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_7Phy}-\mathrm{HPO_3})(\mathrm{H_2O})^{2-}$	$Eu-Phy^-$
$Eu(H_6Phy - HPO_3)(Na)^{2-}$	Eu-EDTA-Phy ⁻ , Eu-Phy ⁻

Spezies	Messungen
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_6Phy}-\mathrm{HPO_3})(\mathrm{Na})(\mathrm{H_2O})^{2-}$	${ m Eu-Phy^-}$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H}_{5}\mathrm{Phy}-\mathrm{HPO}_{3})(\mathrm{Na})_{2}^{2-}$	${ m Eu-Phy}^-$
${\rm Eu}({\rm H}_{5}{\rm Phy}-{\rm HPO}_{3})({\rm Na})_{2}({\rm H}_{2}{\rm O})^{2-}$	${ m Eu-Phy}^-$
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_4Phy}-\mathrm{HPO_3})(\mathrm{Na})_3(\mathrm{H_2O})^{2-}$	${ m Eu-Phy}^-$
$\rm Eu(H_6Phy)(Na)^{2-}$	$\operatorname{Eu-Phy}^-$
${\rm Eu}({\rm H_6Phy})({\rm Na})({\rm H_2O})^{2-}$	Eu-Phy ⁻
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H}_{5}\mathrm{Phy})(\mathrm{Na})_{2}^{2-}$	Eu-Phy ⁻
${\rm Eu}({\rm H_6Phy})({\rm OH})({\rm Na})_2^{2-}$	Eu-Phy ⁻
$\mathrm{Eu}(\mathrm{H_4Phy})(\mathrm{Na})_3^{2-}$	$\operatorname{Eu-Phy}^-$
${\rm Eu}({\rm H_4Phy})({\rm Na})_3({\rm H_2O})^{2-}$	Eu-Phy ⁻
$\rm Eu(H_7Phy-2HPO_3)(Na)^-$	${\rm Eu-Phy}^-$
${ m Eu}({ m EDTA})({ m OH})^{2-}$	Eu-EDTA-Phy ⁻ , Eu-EDTA ⁻
${\rm Eu}({\rm EDTA})^-$	Eu-Ac-Mal ⁻ , Eu-EDTA-Phy ⁻ , Eu-EDTA ⁻
${\rm Eu}({\rm HEDTA})({\rm NO}_3)^-$	$Eu-EDTA^-$
$\rm{Eu}(\rm{EDTA})(\rm{OH})_2(\rm{Na})_2^-$	$Eu-EDTA-Phy^-$
${ m Eu(EDTA)(NO_3)(Na)^-}$	$Eu-EDTA^-$
UO_2^+	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0, U-HCl pH 3
$\rm UO_2(OH)^+$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0, U-HCl pH 3
$\rm UO_2(H_2O)^+$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0, U-HCl pH 3
$\rm UO_2(OH)(H_2O)^+$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0, U-HCl pH 3
$\mathrm{UO}_2(\mathrm{H}_2\mathrm{O})_2^+$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0, U-HCl pH 3
$\rm UO_2O_2(\rm H_2O)^+$ a	U-HCl pH 0
$\mathrm{UO}_2(\mathrm{OH})(\mathrm{H}_2\mathrm{O})_2^+$	U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0, U-HCl pH 3 $$
$\mathrm{UO}_2(\mathrm{H}_2\mathrm{O})_3^+$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0 $$
$\rm UO_2O_2(H_2O)_2^{+\ a}$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0, U-HCl pH 3
$UO_2O_2(H_2O)_3^{+a}$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3, U-HCl pH 0 $$
$\rm UO_2NO_3(H_2O)^+$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3 $$

A. Anhang

Spezies	Messungen
$\mathrm{UO_2NO_3(H_2O)_2^+}$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3 $$
$\mathrm{UO}_2\mathrm{NO}_3\mathrm{(H_2O)}_3^+$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3 $$
$({\rm UO}_2)_2({\rm NO}_3)_3({\rm H}_2{\rm O})_2^+$	U-HNO3 pH 0, U-HNO3 pH 3 $$
$\rm UO_2Cl(H_2O)^+$	U-HCl pH 0
$UO_2Cl(H_2O)_2 +$	U-HCl pH 3
$\mathrm{UO}_{2}\mathrm{Cl}(\mathrm{H}_{2}\mathrm{O})_{3}^{+}$	U-HCl pH 3
$({\rm UO}_2)_2{\rm Cl}_3{\rm (H}_2{\rm O})_3^+$	U-HCl pH 0, U-HCl pH 3
$ m ZrO(OH)^+$	$Zr pH0^+, Zr pH0,15^+, Zr pH0,3^+$
${\rm ZrO_3^{+\ a}}$	$Zr pH0^+, Zr pH0,15^+$
$\operatorname{Zr(OH)}_{3}^{+}$	Zr pH 0 ⁺ , Zr pH 0,15 ⁺ , Zr pH 0,3 ⁺
$\rm ZrO_3(H_2O)^+$ a	Zr pH 0 ⁺ , Zr pH 0,15 ⁺ , Zr pH 0,3 ⁺
$\rm Zr(OH)_3(H_2O)^+$	Zr pH 0 ⁺ , Zr pH 0,15 ⁺ , Zr pH 0,3 ⁺
$\rm ZrO_3(H_2O)_2^{+\ a}$	Zr pH 0 ⁺ , Zr pH 0,15 ⁺ , Zr pH 0,3 ⁺
$\rm ZrCl(OH)_2(H_2O)^+$	Zr pH 0 ⁺ , Zr pH 0,15 ⁺ , Zr pH 0,3 ⁺
$\rm ZrCl(OH)O_2(H_2O)^+~a$	$Zr pH0^+, Zr pH0,15^+$
$\rm ZrO_3(H_2O)_3^{+\ a}$	$Zr pH0^+, Zr pH0,15^+$
$\rm ZrCl(OH)O_2(H_2O)_2^{+\ a}$	$Zr pH0^+, Zr pH0,15^+$
$\rm Zr_2(OH)_5O^+$	$Zr pH0^+, Zr pH0,15^+$
$\rm Zr_2Cl(OH)_4O^+$	${ m Zr}~{ m pH}0^+$
$\operatorname{Zr}_2(\operatorname{OH})_7^+$	Zr pH 0 ⁺ , Zr pH 0,15 ⁺ , Zr pH 0,3 ⁺
$\operatorname{Zr}_2(\operatorname{OH})_6\operatorname{O_2^+a}$	$Zr pH0^+, Zr pH0,15^+$
$\rm Zr_2(OH)_5O_2(H_2O)^+$ a	${ m Zr}~{ m pH}0^+$
$\operatorname{Zr}_{2}\mathrm{Cl(OH)}_{6}^{+}$	$Zr pH0^+, Zr pH0,15^+$
$\rm Zr_2Cl(OH)_6O^+$ a	$\operatorname{Zr}\mathrm{pH}0^+$
$\operatorname{Zr}_2\operatorname{Cl}_2(\operatorname{OH})_5^+$	$\operatorname{Zr}\mathrm{pH}0^+$
$\rm Zr_2Cl(OH)_6(H_2O)^+$	$\operatorname{Zr}\mathrm{pH}0^+$
$\rm ZrCl_2O_2^{-a}$	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
$\rm ZrCl_2O(OH)^-$	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
$\rm ZrCl_2O_3^{-a}$	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
$\rm ZrCl_2O_2(OH)^{-\ a}$	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
ZrCl ₃ O ⁻	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻

Spezies	Messungen
$\rm ZrCl_2O_4^{-a}$	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
${ m ZrCl_3O_2^{-a}}$	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
$\rm ZrCl_3O_2(OH)^{-}$ a	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
${ m ZrCl}_4({ m OH})^-$	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
${\rm ZrCl}_4{\rm O}_2^{-}$ a	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻
${ m ZrCl}_5^-$	Zr pH 0 ⁻ , Zr pH 0,15 ⁻ , Zr pH 0,3 ⁻

^a Ladungszustand stimmt nicht mit den erwarteten Oxidationsstufen der beteiligten Elemente überein. Da auch innerhalb einer großzügigen Massentoleranz (> 30 ppm) unter Berücksichtigung der in den Lösungen enthaltenen Elemente keine anderen Verbindungen mit passender Masse gefunden wurden, ist anzunehmen, dass es sich trotzdem um die korrekte Summenformel handelt. Im HNO₃-System können O⁻ und O₂⁻ Liganden aus der Dissoziation von Nitrat-Liganden unter Verlust von NO oder NO₂ entstehen [84]. Für das HCl-System konnte der Bildungsmechanismus dieser Verbindungen nicht geklärt werden.

A.6. Spektren



Abb. A.5.: Spektren aller verwendeten Lösungen.









91









Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Clemens Walther für die Möglichkeit, meine Masterarbeit am Institut für Radioökologie und Strahlenschutz zu schreiben, und natürlich für die gute Betreuung währenddessen. Bedanken möchte ich mich auch bei Prof. Dr. Klaus Wendt dafür, dass er sich bereit erklärt hat, diese Arbeit als Zweitprüfer zu begleiten.

Ein großes Dankeschön geht vor allem an meine Betreuerin Julia Stadler, die mir wo immer notwendig mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat.

Außerdem möchte ich mich bei Michael Steppert für die Planung und Beratung bei diesem Projekt bedanken.

Vielen Dank weiterhin an Stefan Bister für die Unterstützung im Labor und bei der Versuchsplanung.

Ich danke auch Sandra Reinhard für die Durchführung der ICP-MS Messungen.

Bei Sebastian Büchner bedanke ich mich für die Instandhaltung der Orbitrap und bei Manuel Raiwa für die umfangreiche Vorarbeit an diesem Gerät, von der ich sehr profitiert habe.

Ein großes Dankeschön geht auch an alle übrigen Mitarbeitenden des Instituts für die tolle Arbeitsatmosphäre, auch wenn sich der persönliche Kontakt dieses Mal pandemiebedingt leider in Grenzen hielt.

Nicht zuletzt gilt ein großer Dank meinen Freunden und meiner Familie für die moralische und auch die finanzielle Unterstützung während dieses Studiums.

Und Sebastian, einmal mehr, danke für alles.