

**Massenspektroskopische Untersuchungen von
luftgetragenen organischen Partikeln
mittels LD-APCI-ITMS**

DISSERTATIONSSCHRIFT

zur Erlangung des Doktorgrades im Fachbereich Chemie
der Universität Dortmund

vorgelegt von
Dipl.-Chem. Sven Hoffmann

Tag der mündlichen Prüfung 31.01.2005

Referent: Prof. T. Hoffmann
Korreferent: Prof. B. Lippert

Danksagung

Meinem Betreuer Prof. Dr. T. Hoffmann danke ich für die interessante Aufgabenstellung und seiner wissenschaftlichen Betreuung, sowie seiner stetigen Unterstützung.

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. B. Lippert für die freundliche Übernahme des Korreferates.

Prof. J. M. Ramsey und seiner Arbeitsgruppe danke ich für die freundliche Aufnahme und Unterstützung während meines Forschungsaufenthaltes am ORNL.

Nicht zuletzt bedanke mich bei allen Mitarbeitern des ISAS, welche zu dieser Arbeit beigetragen haben.

1	Zusammenfassung	1
2	Motivation und Stand der Forschung	2
3	Hintergrundinformationen	6
3.1	<i>Laserdesorption/Laserablation</i>	6
3.2	<i>Koronaentladung</i>	8
3.2.1	Grundlagen der elektrischen Entladung	8
3.2.2	Grundlagen der Koronaentladung	9
3.2.3	Koronaentladung als Ionenquelle	10
3.3	<i>Streuung von Licht an Partikeln</i>	13
3.4	<i>Quadrupole/Multipole</i>	16
4	Umbau eines Varian Saturn 2000	19
4.1	<i>Aufbau einer Ionguide</i>	19
4.2	<i>Herstellung eines Radiofrequenzgenerators</i>	20
4.3	<i>Bestimmung der Arbeitsparameter der Ionguide</i>	22
5	Desorptionsexperimente mit dem Varian Saturn 2000	25
5.1	<i>Experimente mit deponiertem Material</i>	25
5.1.1	Versuchsaufbau	25
5.1.2	Versuchsergebnisse	26
5.2	<i>Desorptionsversuche mit Partikeln</i>	27
5.2.1	Partikelgenerierung	27
5.2.2	Fokussierung der Partikel	28
5.2.3	Partikeldetektion und Steuerung des Lasers	28
5.2.4	Schaltungsbeschreibung der Steuerelektronik	29
5.2.5	Versuchsergebnisse	30
6	Versuche mit einem LCQ DECA XP-PLUS Massenspektrometer	31
6.1	<i>Desorptionsversuche an Metalloberflächen</i>	31
6.2	<i>Desorptionsversuche mit Partikeln</i>	33
7	Zusammenfassung der Ergebnisse	37
8	Beschreibung/Umbau des LCQ DECA Massenspektrometers	38
9	Auswahl der Analyten	42

10	Laserdesorption von Metalloberflächen	48
10.1	<i>Beschreibung des verwendeten Lasersystems</i>	48
10.2	<i>Versuchsaufbau für Desorptionsexperimente an Metalloberflächen</i>	50
10.3	<i>Desorptionsexperimente ohne Verwendung einer Matrix</i>	52
10.3.1	Versuche mit Cyclodextrinen	53
10.3.2	Versuche mit anderen Analyten	55
10.4	<i>Desorptionsexperimente mit zusätzlicher Matrix</i>	57
10.4.1	Versuche mit der Matrix Glycerin	57
10.4.2	Versuche mit der Matrix Glykol	63
10.4.3	Einfluß der Pulsenergie auf die Matrix	66
10.4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse	68
11	Desorption von Partikeln	69
11.1	<i>Partikelgenerierung</i>	69
11.2	<i>Versuchsaufbau</i>	70
11.3	<i>Versuche mit Partikeln</i>	73
11.4	<i>Abschätzung der Anzahl desorbierter Partikel</i>	75
11.5	<i>Untersuchungen zur Pulsenergie</i>	78
11.6	<i>Modifizierung des Versuchsaufbaus zu Partikeldetektion</i>	79
12	Zusammenfassung und Diskussion	84
13	Literatur	86

AAS	Atom Absorptions Spectroscopy
AGC	Automatic Gain Control
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductor
CW	Continuous Wave
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DPSS	Diode Pumped Solid State (Laser)
EI	Electron Impact
ELPI	Electrical Low Pressure Impactor
ESI	Electro Spray Ionization
FAB	Fast Atom Bombardment
FEL	Free Electron Laser
GC	Gas chromatograph(y)/Gaschromatograph(ie)
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry
ITMS	Ion Trap Mass Spectrometry
IR	Infrared/Infrarot
LDI	Laser Desorption Ionization
LSIMS	Liquid Secondary Ionization Mass Spectrometry
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
MPI	Multi Photon Ionization
MS	Mass Spectrometry/Massenspektrometrie
OPO	Optical Parametric Oscillator
PMT	Photo Multiplier
RF	Radiofrequency/Radiofrequenz
TIC	Total Ion Current
TOF-MS	Time of Flight Mass Spectrometry/Spectrometer
TTL	Transistor Transistor Logic
UV	Ultraviolett
VOAG	Vibrating Orifice Aerosol Generator

1 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung von Instrumenten und Methoden zur massenspektrometrischen Analyse luftgetragener Einzelpartikel im Größenbereich von 1 – 3 μm . Es wurden Grundlagen erarbeitet, welche insbesondere für die Einzelpartikelanalytik von Bioaerosolen von Bedeutung sind. Ein instrumenteller Aufbau wurde entwickelt, welcher es ermöglicht einzelne, luftgetragene Partikel mittels eines Lasers zu desorbieren, das resultierende Gas über eine Koronaentladung zu ionisieren und schließlich mit einem Ionenfallenmassenspektrometer zu analysieren. Der Hauptunterschied zu bisher vorgestellten Methoden besteht darin, daß zur Erhaltung der Molekülstruktur die Desorption und die Ionisation des Partikelmaterials getrennt voneinander durchgeführt werden und beide Schritte unter Atmosphärendruck erfolgen. Die Funktion des Systems konnte über die fragmentierungsfreie Identifikation der Modellsbstanz α -, β - und γ -Cyclodextrin erfolgreich unter Beweis gestellt werden.

Die Motivation für die durchgeführten Arbeiten lag darin, daß alle bis dato erarbeiteten massenspektrometrischen online Systeme zur Identifikation von luftgetragenen Bakterien und anderen Bioaerosolen an der übermäßigen Fragmentierung, der für die einzelnen Organismen charakteristischen Biomoleküle scheitern. Bei allen bisherigen Systemen wurden die für die massenspektrometrische Analyse benötigten Ionen durch einen hochenergetischen Laserpuls generiert, welcher das partikuläre Material gleichzeitig desorbiert und ionisiert. In der vorliegenden Arbeit wurde anstelle eines UV-Lasers ein Er:YAG-Laser eingesetzt, welcher mit einer Wellenlänge von 2,94 μm den Analyten unter Atmosphärendruck in neutraler Form und weitestgehend intakt in die Gasphase überführt. Die Desorption erfolgt im Bereich einer Koronaentladung, deren chemische Prozesse zur Ionisation des gasförmigen Analyten führen. Weil die Koronaentladung eine sehr weiche Ionenquelle darstellt, kann das desorbierte Material unter Beibehaltung der Molekülstruktur ionisiert werden. Der ionisierte Analyt wird dann über ein Transfersystem in eine Ionenfalle überführt und dort analysiert.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden zum Teil während eines Forschungsaufenthaltes am Oak Ridge National Laboratory (ORNL) in Oak Ridge, TN, USA und zum Teil am Institute for Analytical Sciences (ISAS) in Dortmund erzielt.

2 Motivation und Stand der Forschung

In der Atmosphäre befinden sich unzählige verschiedene Bioaerosole. Diese Bakterien, Viren, Sporen und Pollen sind allgegenwärtiger Bestandteil unseres Lebensraumes und man findet sie in den unteren Luftschichten der Erde auch in den entlegensten Regionen [1]. Für den gesunden menschlichen Körper sind sie weitestgehend unschädlich, weil das Immunsystem mit dieser ständigen Belastung umgehen kann. Einige Bakterien und Viren können sich aber für den Menschen als lebensbedrohlich erweisen, da sie die Fähigkeit besitzen, schon bei der Inhalation weniger Organismen schwere Infektionen hervorzurufen. Schlagzeilen machte in der letzten Zeit im Zusammenhang mit terroristischen Aktivitäten das Milzbrand auslösende Anthrax Bakterium. Aber nicht nur diese besonders gefährlichen Spezies können für den Menschen eine Bedrohung darstellen. Speziell wenn eine Vorerkrankung besteht, können auch einfache Bakterien zu einer komplizierten Infektion führen.

Es wäre daher zum Beispiel in Krankenhäusern wünschenswert, wenn es ein System gäbe, welches die ständige Kontrolle der Raumluft auf Erreger ermöglicht. Alle bisher eingesetzten Verfahren für lebende Organismen beruhen auf der Probenahme mittels Filtern, Impaktoren oder Sammelplatten und der anschließenden Kultivierung auf geeigneten Wachstumsmedien. Nach der Kultivierung erfolgt typischerweise die Identifikation und Auszählung mittels licht- oder elektronenmikroskopischen Techniken. Teilweise unterstützt durch selektive Anfärbetechniken [2], geschieht die Identifikation über morphologische Unterschiede der Organismen. Die Kultivierung der gesammelten Individuen stellt einen sehr zeitintensiven Schritt dar und kann je nach Organismus zwischen mehreren Stunden und einigen Tagen dauern. Dies macht es unmöglich auf eine akute Bedrohung durch die Belastung der Atemluft mit gefährlichen Organismen zeitnah zu reagieren. Speziell bei militärischen Anwendungen ist es essentiell, innerhalb weniger Sekunden über eine bestehende Bedrohung durch biologische Kampfstoffe informiert zu werden. Aber nicht nur in Krankenhäusern und bei der militärischen Luftüberwachung ist ein solches System wünschenswert, sondern überall dort, wo ein zur Probenahme zeitnahes Ergebnis kritisch ist [3, 4]. Ein solches System könnte natürlich auch für andere Proben verwendet werden, da alle denkbaren Proben leicht über Zerstäuber in Partikelform gebracht werden können.

Vielversprechend ist der Ansatz, Bakterien über ihre massenspektrometrischen Muster zu identifizieren. Dazu wird der ganze Organismus über ein geeignetes Verfahren in seine molekularen Bestandteile zerlegt, diese ionisiert und mittels eines Massenspektrometers untersucht. Ziel dabei ist es, charakteristische Verteilungsmuster zu erkennen und diese über eine Datenbank einzelnen Organismen zuzuweisen. Alle funktionierenden massenspektrometrischen Methoden beruhen ebenfalls auf probenehmenden Verfahren. Dadurch kann zwar mit der Kultivierung ein zeitintensiver Schritt vermieden werden, es handelt sich aber trotzdem nicht um Echtzeitmethoden mit denen einzelne Mikroorganismen ohne Anreicherung untersucht werden können.

Bereits 1975 konnten Anhalt und Fenselau mit einem doppelfokussierenden Sektorfeldmassenspektrometer zeigen, daß es im Prinzip möglich ist verschie-

dene Bakterien anhand ihrer Massenspektren voneinander zu unterscheiden [5]. Sie führten dazu die in Lösung vorliegenden Bakterien durch eine Pyrolysezelle und ionisierten die Pyrolyseprodukte mittels einer Elektronenstoßionenquelle. Charakteristische Unterschiede von Phospholipiden und Ubiquinonen wurden zur Unterscheidung herangezogen. Eine derartige direkte Identifizierung anhand von Pyrolyseprodukten wird auch heute noch zur Identifizierung von Sporen eingesetzt [6].

Neben FAB [7] und ESI [8] wurde in jüngerer Vergangenheit hauptsächlich die matrixunterstützte Laserdesorption/Ionisation (MALDI) [9-13] als Ionenquelle für die direkte massenspektrometrische Identifikation von Mikroorganismen eingesetzt. Ullom et al. zeigten in ihren Arbeiten [14], daß es unter Verwendung eines IR-Lasers möglich ist, auch ohne eine zusätzliche Matrix Ionen mittels Laserpulsen zu erzeugen. Die Autoren berichten aber ebenfalls von Problemen bei der Unterscheidung verschiedener Bakterien durch zu kleine, wenig charakteristische Molekülfragmente.

Alle funktionierenden massenspektroskopischen Identifizierungstechniken für Bakterien und Sporen, ob als intakte Zellen oder lysiert, beinhalten die klassischen Probenvorbereitungsschritte: Deposition auf speziellen Probenhaltern, mit oder ohne zusätzlicher Matrix, gefolgt von der Überführung ins Massenspektrometer. Sie sind somit off-line Methoden. Eine wirkliche on-line Methode liegt nur dann vor, wenn das Material einzelner luftgetragener Partikel, welche idealerweise aus nur einem Bakterium bestehen, ohne weitere Aufbereitung ionisiert und sofort analysiert wird.

Die ersten Arbeiten zur massenspektrometrischen Untersuchung von luftgetragenen Partikeln wurden im Jahre 1973 von Davis durchgeführt [15]. Er leitete dazu partikelhaltiges Trägergas durch eine 0,07 mm kleine Bohrung auf ein im Vakuum auf 600 – 200°C erhitztes Metallfilament. Ohne einen Anreicherungsschritt konnte er mit diesem System die Pyrolyseprodukte einzelner Partikel untersuchen. Die durch Elektronenstoß generierten Ionen wurden mit einem Sektorfeld-Massenspektrometer untersucht. Auch bei diesen Arbeiten war die übermäßige Fragmentierung ein Problem. 1984 stellte Sinha [16] das erste System vor, welches einzelne Partikel mittels kurzen Laserpulsen desorbiert und gleichzeitig ionisiert. Die resultierenden Ionen wurden mit einem Quadrupolmassenspektrometer untersucht. Dadurch, daß bei diesem Verfahren die Laserdesorption und Ionisation (LDI) in einem Schritt erfolgen, kommt es zu „charge transfer“ Prozessen zwischen den desorbierten Analyten bzw. Fragmenten. Da kleinere Moleküle bzw. Molekülfragmente naturgemäß niedrigere Ionisationspotentiale besitzen, kommt es zur Anreicherung von, für die Identifikation von Mikroorganismen wenig aussagekräftigen, Molekülfragmenten im unteren Massenbereich.

In den folgenden Jahren wuchs das Interesse an der Einzelpartikelanalytik und eine Reihe von Arbeitsgruppen arbeiten auf diesem Gebiet. [17-21]. Eine gute Übersicht über die verschiedenen Arbeitsgruppen und den von ihnen eingesetzten Verfahren zur Einzelpartikelanalytik findet man in dem vom Noble und Prather im Jahre 2000 erstellten Review über die Entwicklung von massenspektrometrischen Methoden zur Echtzeitanalytik von Aerosolpartikeln [22]. In

den letzten Jahren gehen dabei nahezu alle Arbeitsgruppen so vor, daß die Partikel durch ein zwei- oder dreistufiges Pumpstufensystem in den unter Vakuum betriebenen Ionisierungsraum gebracht werden. Auf dem Weg dorthin wird die Position des Partikels über ein laserbetriebenes Lichtschrankensystem bestimmt, welches zum richtigen Zeitpunkt den Desorptionslaser auslöst. Die bei dieser Desorption/Ionisation entstehenden Ionen werden dann in den meisten Fällen mittels eines Flugzeitmassenspektrometers (TOF-MS) als Analysator nach ihrem Masse zu Ladungsverhältnis getrennt. Die Verwendung eines TOF-Analysators ist aus mehreren Gründen naheliegend. Zunächst eignet sich die gepulste Arbeitsweise der Laserdesorption/Ionisation gut als Startsignal für die Aufnahme des Flugzeitmassenspektrums. Darüber hinaus kann mittels TOF-MS ein komplettes Massenspektrum über einen weiten Massenbereich bei hoher Ionentransmission aufgezeichnet werden, bei einigen Systemen sogar unter simultaner Detektion positiver und negativer Ionen [23].

Das bisher mehrmals angesprochene Problem der Fragmentierung großer, für Mikroorganismen charakteristischer Moleküle in kleine uncharakteristische Fragmente, konnte bisher mit keinem der vorgestellten Systeme gelöst werden. Die bisher eingesetzten Verfahren zur Einzelpartikelanalyse in Echtzeit sind in der Lage zwischen organischem und anorganischem Material zu unterscheiden. Auch eine grobe Eingruppierung in Pollen, Bakterien und anderem organischem Material ist möglich, eine eindeutige Identifizierung über Verteilungsmuster konnte jedoch noch nicht erreicht werden. Größere Erfolge konnten bisher Arbeitsgruppen verzeichnen, die das MALDI-Prinzip auf partikuläre Analyten übertragen haben. So generierten He und Murray ihre Partikel aus einer Lösung, die neben dem Modellanalyten die Matrix DHB enthielt. Mit den erzeugten Partikeln konnten sie mit einem Stickstoff-Laser MALDI-TOF Experimente an Einzelpartikeln durchführen [24]. Dieses Verfahren ist zur Untersuchung von realen Partikeln natürlich wenig geeignet. Kurze Zeit später entwickelte Marijnissen [25] ein System in dem luftgetragene Bioaerosole durch eine mit Matrix gesättigte Kondensationszelle geleitet werden. Die Partikel werden dadurch vor dem Einlaß in das MALDI-TOF mit der Matrix beschichtet. Ihm gelang es, mit diesem Verfahren Fragmente der Zellwand vom Bakterium des Stammes „*Bacillus subtilis var niger*“ nachzuweisen. Klassische MALDI Untersuchungen zeigen aber, daß die Wahl der Matrix einen kritischen Schritt darstellt und über Erfolg oder Mißerfolg des Experimentes entscheidet. Eine auf den Analyten abgestimmte Wahl der Matrix ist mit diesem System, im Falle von realen Proben nicht möglich.

Ziel der Einzelpartikelanalytik kann daher nur ein matrixfreies Untersuchungsverfahren sein, welches gleichzeitig die übermäßige Fragmentierung der charakteristischen Makromoleküle unterbindet. Genau das ist die Motivation zu dieser Arbeit. Die Grundidee der vorliegenden Arbeit besteht darin, den Desorptions- und Ionisationsschritt zu trennen. Durch die Aufspaltung dieses Prozesses in zwei getrennte Einzelschritte sollte es möglich sein, sowohl für die Desorption, wie auch für die Ionisation weiche Bedingungen zu finden, welche die für die Identifizierung von Mikroorganismen über massenspektrometrische Verteilungsmuster notwendigen charakteristischen Makromoleküle weitestgehend intakt lassen.

Coon hat mit seinen Arbeiten [26-28] an deponiertem Material bereits gezeigt, daß diese Art der Entkoppelung prinzipiell möglich ist. Während er noch mit der Matrix Glycerin arbeitete, soll das Endziel dieser Arbeit eine matrixfreie Methode sein. Coon hat in seinen Arbeiten deponiertes, in Glycerin gelöstes Reserpin, mit einem CO₂-Laserpuls als neutrale Moleküle in die Gasphase überführt und dieses anschließend mit einer Koronaentladung ionisiert. Ziel der vorliegenden Arbeit ist, dieses Prinzip auf die Einzelpartikelanalytik zu übertragen. Ob der Einsatz eines weniger energiereichen UV-Laserpulses oder der Einsatz eines IR-Laserpulses zur reinen Desorption besser geeignet ist sollte unter anderem in dieser Arbeit geklärt werden.

Zur besseren Einarbeitung in die zum Teil sehr komplexe Materie wurde zu Beginn der Arbeit ein Forschungsaufenthalt in der Arbeitsgruppe um Michael Ramsey am ORNL durchgeführt. Ramsey und seine Mitarbeiter beschäftigen sich bereits seit mehreren Jahren mit der Untersuchung von Einzelpartikeln. Sie verwenden dazu ebenfalls das Prinzip der Partikeldetektion mittels Streulicht und anschließender Desorption/ Ionisation über einen UV-Laserpuls im Vakuum. Im Gegensatz zu den meisten anderen Arbeitsgruppen wird aber am ORNL ein Ionenfallenmassenspektrometer verwendet. Der zu untersuchende Analyt wird über ein Pumpstufensystem als neutrales Partikel in die Ionenfalle geleitet und dort mit einem Laserpuls desorbiert und ionisiert [29-34]. Der Vorteil des ITMS im Vergleich zu TOF-Analysatoren liegt in der Möglichkeit, bei Bedarf einzelne Ionen zu isolieren und später zur weiteren Untersuchung gezielt in spezifische Molekülbruchteile fragmentieren zu können (Tandem-MS, MS/MS, MSⁿ), ein wesentlicher Vorteil zur sicheren Identifizierung einzelner Komponenten in komplexen Matrices. Beispielsweise konnte die Arbeitsgruppe um Ramsey durch MS³-Experimente eindeutig das Pestizid „Paraquat“ auf luftgetragenen Partikeln nachweisen [35]. Des Weiteren hat die Arbeitsgruppe bereits Erfahrungen mit Bioaerosolen gesammelt, konnte aber aufgrund der bereits beschriebenen Probleme ebenfalls keine Bakterien eindeutig identifizieren [36].

3 Hintergrundinformationen

3.1 Laserdesorption/Laserablation

Anfang der 80er Jahre zeigten die Gruppen um Srinivasan [37-39] und Namban [40, 41] mit ihren Arbeiten, das sich Laser sehr gut zur sauberen Materialbearbeitung eignen. Seitdem wächst die Anzahl der Anwendungen der Laserbearbeitung ständig. Entgegen der konventionellen chemischen Vorstellung des hochenergetischen Vorgangs des Laserabtrags, ist es möglich, ohne extensive thermische und chemische Zersetzung, Material nicht nur destruktiv, sondern auch konstruktiv zu bearbeiten. Neben Schneiden und Bohren zählen daher unter anderem auch das Laserschweißen, die Oberflächenbehandlung, die Dotierung und die Initiierung von Phasenumwandlungen zu den Anwendungen der Lasertechnologie.

Von besonderem Interesse ist vor allem die Laserdesorption und Laserablation mittels gepulstem Laserlicht. Der Begriff der Ablation, welcher auf das Lateinische Wort „Ablatio“ – entfernen – zurückgeht, beschreibt im allgemeinen das laserinduzierte Entfernen von makroskopischen Materialstücken. Unter Laserdesorption versteht man im eigentlichen Sinne die laserinduzierte Entfernung von über Van-der-Waals-Kräfte auf einer Oberfläche adsorbiertem Material. Wie häufig in der Wissenschaft werden diese beiden Begriffe aber teilweise als Synonyme verwendet. Hauptsächlich im Bereich der Partikelforschung hat es sich eingebürgert von Laserdesorption einzelner Partikel zu sprechen, obwohl hier kein adsorbiertes Material entfernt wird. Dies geht wahrscheinlich darauf zurück, daß man zum Ausdruck bringen will, daß das Material des untersuchten Partikels in die Gasphase überführt werden soll und die Entfernung von makroskopischen Bestandteilen aus einem einigen nm bis wenigen μm kleinen Partikeln naturgemäß schwer vorzustellen ist. Auch in dieser Arbeit wird daher von Laserdesorption luftgetragener Einzelpartikel gesprochen.

Während die Zahl der Anwendungen, welche sich das Prinzip der Laserdesorption/Laserablation zunutze machen und damit auch die Zahl der damit verbundenen Veröffentlichungen in den letzten Jahren stark anstieg, findet man nur wenige Arbeiten, die sich mit den beteiligten fundamentalen Prozessen beschäftigen. Ein Grund dafür ist sicherlich die ungeheure Vielfalt an physikalischen, chemischen Vorgängen, die während der Interaktion von Laserstrahlung mit Materie nicht nur parallel ablaufen, sondern auch miteinander in Wechselwirkung treten. Während viele dieser Einzelprozesse theoretisch [42-47] und praktisch [48] untersucht wurden, bleibt die Klärung der Interaktion dieser Prozesse ein Thema mit Forschungsbedarf. Die stark simplifizierte Vorstellung der Laserstrahlung als eine externe Wärmequelle, welche das bearbeitete Material über den Siedepunkt erhitzt, reicht schon bei einfachen Vorgängen schnell nicht mehr aus. Dies zeigt schon die Beobachtung, daß thermisch sensible Substanzen mittels Laserpulsen unter Vermeidung der thermischen Zersetzung in die Gasphase überführt werden können. Generelle Aussagen über die Abläufe, wie sie bei der Interaktion von Laserpulsen mit Materie auftreten, sind aufgrund der unüberschaubaren Anzahl von äußeren

Parametern nur in sehr begrenztem Maße möglich. Neben der Wahl des zu bearbeitenden Materials spielt vor allem die Wahl der Wellenlänge eine entscheidende Rolle. Laser sind heute kommerziell mit Wellenlängen von 157 nm (F₂-Laser) bis 10,6 µm (CO₂-Laser) erhältlich und decken damit den Wellenlängenbereich von UV bis IR ab. Primär führt die Absorption von Laserlicht zur Anregung von elektronischen Zuständen oder Schwingungszuständen. Durch extrem schnelle Relaxation dieser angeregten Zustände wird die gespeicherte Energie teilweise in thermische Energie konvertiert. Dies führt zur Erhitzung des Materials mit Aufheizraten von bis zu 10¹³ K/s [49]. Induzierte lokale Phasenübergänge führen neben der Volumenvergrößerung der elektronisch angeregten Moleküle zur Ausbreitung von Schockwellen. Daneben werden photochemisch induzierte Reaktionen [44] ausgelöst. Ein weiterer wichtiger Parameter ist die Pulslänge. Während bei langen Laserpulsen die eingekoppelte Energie mit dem umliegenden Material in Wechselwirkung treten kann, ist dies bei sehr kurzen Pulsen nur noch begrenzt möglich. In den letzten Jahren wurden Laser verfügbar, welche Pulse von einigen Femtosekunden erzeugen können und eröffneten damit ein neues Forschungsgebiet.

Obwohl sich einige molekulardynamische Arbeiten teilweise sogar speziell mit der Thematik der Laserablation einzelner Partikel beschäftigen [50], existiert zur Zeit kein theoretischer Ansatz, welcher alle ablaufende Prozesse in sich vereint und die Interaktion miteinander berücksichtigt. Vergleichbar mit dem in der Bioanalytik eingesetzten MALDI ist die Laserdesorption/Laserablation daher ein Prozeß, welcher zwar sehr erfolgreich eingesetzt wird, aber noch unzureichend erforscht ist. Vertiefende Informationen über Theorien und Modellvorstellungen der Laserablation und Laserdesorption findet man in dem von Bäumler geschriebenen Lehrbuch „Laser Processing and Chemistry“ [51].

3.2 Koronaentladung

Nach der Desorption des zu untersuchenden Analyten soll dieser, zur Erhaltung der Molekülstruktur möglichst weich ionisiert werden. Eine sehr weiche und einfach zu handhabende Ionenquelle ist die unter Atmosphärendruck betriebene Koronaentladung.

Die Koronaentladung stellt einen Spezialfall der elektrischen Entladung zwischen zwei Elektroden dar. Zum besseren Verständnis der Prozesse, wie sie in der unter Atmosphärendruck betriebenen Koronaentladung ablaufen, folgen daher zuerst allgemeine Grundlagen elektrischer Entladungen.

3.2.1 Grundlagen der elektrischen Entladung

In der Atmosphäre werden durch Abstraktion von Elektronen aus den Luftbestandteilen ständig Ionen gebildet. Die Energie für diesen Prozeß liefert neben der hochenergetischen kosmischen Hintergrundstrahlung vor allem die natürliche Radioaktivität, welche hauptsächlich auf den Zerfall des Radons in der Erdkruste zurückzuführen ist. Dadurch entstehen zwischen 5 und 20 Ladungsträgerpaare pro Kubikzentimeter und Sekunde. Ein Grossteil dieser Ladungsträger geht durch Rekombination von Elektronen mit positiven Ionen wieder verloren, aber es kann durchschnittlich von ca. 500 Ionenpaaren pro Kubikzentimeter Luft ausgegangen werden [52]. Diese ubiquitären Ladungsträger dienen als Initiatoren für viele elektrische Entladungsphänomene und können mit geeigneten Messaufbauten detektiert werden: Legt man an zwei durch ein Gas gegeneinander isolierte Elektroden im Abstand von einigen Zentimetern eine Spannung an, die kleiner als die Durchschlagsspannung ist, kann ein Strom in der Größenordnung von 10^{-13} A gemessen werden. Die in der Atmosphäre bereits vorhandenen Ladungsträger transportieren in diesem Fall den gemessenen Strom. Diese Anordnung wird deshalb auch als „unselbstständige Gasentladung“ bezeichnet, weil die zum Stromtransport benötigten Ladungsträger durch äußere Einflüsse entstehen und nicht bei der Entladung selbst gebildet werden.

Erhöht man das elektrische Potential zwischen den beiden Elektroden, kommt es zur selbständigen Entladung. Oberhalb der Durchschlagsspannung werden die bereits vorhandenen Elektronen so stark beschleunigt, daß die während der mittleren freien Weglänge akkumulierte kinetische Energie ausreicht, um Gasmoleküle zu Ionisieren. Dadurch werden wiederum Elektronen freigesetzt, welche ebenfalls durch das elektrische Feld beschleunigt werden. Es bildet sich auf diese Weise eine Elektronenlawine, die sich in Richtung Anode bewegt. Die positiven Ionen werden ihrerseits in Richtung Kathode beschleunigt. Bei ausreichender kinetischer Energie können sie ebenfalls Elektronen aus dem Kathodenmaterial freisetzen und der Kreislauf der selbständigen Entladung ist geschlossen. Erreicht die Anzahl der Elektronen innerhalb der Elektronenlawine den kritischen Wert von ca. 10^8 , wird die elektrische Feldstärke vor dem Lawinenkopf groß genug, um elektromagnetische Strahlung zu emittieren. Diese kann Sekundärlawinen vor und hinter der Hauptlawine initiieren. Vereinen sich Haupt- und Sekundärlawinen zu einem die Elektroden verbindenden „Streamer“

erfolgt der eigentliche Durchschlag durch den nun niederohmigen Ladungskanal. Dieser Mechanismus ist auch als „Townsend-Entladung“ bekannt. Die Durchschlagsfeldstärke für Luft beträgt unter Normalbedingungen ca. $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Detailliertere Informationen zu elektrischen Entladungsformen findet man in den Monographien von G. Hilgarth und E. Nasser [52, 53].

Prinzipiell könnte man auch die „Townsend-Entladung“ als Ionenquelle verwenden, nur ist sie schwer zu kontrollieren und führt durch die hochenergetischen Prozesse zur Fragmentierung der Analyten. Bei reduziertem Druck findet sie in Form der „Glimmentladung“ eine Anwendung als Ionenquelle und kann bei geeigneten Parametern ebenfalls als weiche Ionenquelle dienen [54, 55].

3.2.2 Grundlagen der Koronaentladung

Unter einer Koronaentladung versteht man eine Teilentladung, wie sie zwischen zwei Elektroden mit deutlich unterschiedlichen Krümmungsradien auftritt. Normalerweise wird dazu eine spitz zulaufende oder nadelförmige Elektrode auf eine flache Elektrode gerichtet, es sind aber auch andere Geometrien denkbar. In Koronabetriebenen Staubabscheidern und anderen Aufbauten [56, 57] wird zum Beispiel ein langer Draht axial durch einen Metallzylinder geführt. Bei der Verwendung von Elektroden mit unterschiedlichen Krümmungsradien resultiert zwischen den beiden Elektroden ein stark inhomogenes elektrisches Feld. In der Nähe der stärker gekrümmten Elektrode ist die elektrische Feldstärke maximal und wird geringer, je näher man sich zur abgeflachten Elektrode hin bewegt. Für den Entladungsmechanismus bedeutet dies, daß die Beschleunigung der Elektronen nun eine Funktion des Ortes ist.

Während im Bereich der spitzen Elektrode die Elektronen stark genug beschleunigt werden um mit ihrer kinetischen Energie weitere Gasmoleküle zu ionisieren, reicht diese in der Nähe der abgeflachten Elektrode dazu nicht mehr aus. Analog zur Entladung im homogenen elektrischen Feld bilden sich Elektronenlawinen, jedoch brechen diese bei Unterschreitung der Durchschlagsfeldstärke, das heißt auf dem Weg zur Gegenelektrode ab. Die Polaritäten der Elektroden bestimmen dabei die Flugrichtung der Elektronen. Im Falle einer positiveren spitzen Elektrode, bewegen sich die Elektronenlawinen auf die Spitze zu um dort in sie einzuschlagen. Bei einer positiveren abgeflachten Elektrode, bewegen sich die Elektronenlawinen von der spitzen Elektrode weg und brechen auf dem Weg zur abgeflachten Elektrode ab.

Bei technischen Anwendungen wird normalerweise die abgeflachte Elektrode auf Masse gelegt und die spitze Elektrode mit einem positiven oder negativen Potential belegt. Die Spannungen liegen bei Elektrodenabständen von 5 - 30 mm zwischen 3 und 10 kV wobei ein Entladungsstrom von $0,5 - 10 \mu\text{A}$ fließt. Der Vorteil dieser Art der Entladung besteht darin, daß sie leicht zu kontrollieren ist und mit wenig technischem Aufwand betrieben werden kann. Für die Namensgebung ist die Ähnlichkeit des Entladungsmusters rund um die spitze Elektrode zur Sonnenkorona verantwortlich. Neben ihrer Anwendung als Ionenquelle wird die Koronaentladung zum Beispiel in Staubabscheidern oder

in der von Xerox entwickelten Photokopiertechnik eingesetzt. Die Koronaentladung ist aber auch ein natürliches Phänomen. Stark geladene Wolken können auf der Erde Ladungen induzieren, die dann an erhöhten Positionen, wie gut leitenden Gebäuden oder Masten, Koronaentladungen hervorrufen. Diese Naturscheinung ist auch unter dem Begriff „St. Elmos Feuer“ bekannt.

3.2.3 Koronaentladung als Ionenquelle

Entladungen wurden 1965 als erstes von Shahin bei der Firma Xerox als Ionenquelle verwendet. Mit einem Quadrupol Massenspektrometer konnte er aus Glimm- und Koronaentladungen stammende N_2^+ und N^+ Ionen detektieren [58, 59]. Zehn Jahre später wurde sie zum ersten mal als Ionenquelle für die Flüssigkeitschromatographie eingesetzt und von Carroll et. al. mit der bis dahin weit verbreiteten ^{63}Ni -Ionenquelle verglichen [60]. Ihre Arbeiten zeigten die etwa hundertfach erhöhte Ausbeute an Reaktandionen. Dies und die bedeutend einfachere Handhabung gegenüber der radioaktiven ^{63}Ni -Ionenquelle führten dazu, daß heute fast ausschließlich Koronaentladungen zur Produktion der Reaktandionen, für unter Atmosphärendruck betriebene chemische Ionenquellen (atmospheric pressure chemical ionization – APCI) verwendet werden.

Um eine Koronaentladung als Ionenquelle nutzen zu können, müssen die Ionen aus dem Bereich der Entladung zum Analysator geleitet werden. Dies geschieht dadurch, das die abgeflachte Elektrode unterhalb der Nadelspitze eine Bohrung enthält, durch die die generierten Ionen in das Transfersystem zum unter Vakuum betriebenen Analysator gelangen. Das elektrische Potentialgefälle zwischen Nadel und Einlaßöffnung sorgt dabei für den Ionentransport zur Einlaßöffnung. APCI-Ionenquellen sind insbesondere für die Flüssigkeitschromatographie von Bedeutung [61, 62], da sie eine direkte Kopplung von Trenntechnik mit der Massenspektrometrie ermöglichen. Dazu sind kommerzielle Ionenquellen mit einem Zerstäuber und einer Heizstrecke ausgerüstet, in der das flüssige Eluat zuerst versprüht und anschließend getrocknet wird. Mit Mantel- und Hilfgasströmen wird zudem ein wandfreier Reaktionsraum geschaffen, der eine Artefaktbildung unterdrückt. Typischerweise wird zum Betrieb einer APCI-Ionenquellen synthetische Luft oder Stickstoff verwendet. Es ist aber auch möglich andere Trägergase einzusetzen. Weil es sich dabei aber um Spezialfälle handelt und sich vollkommen andere Fundamentalreaktionen ergeben. werden hier nur die theoretischen Grundlagen bei der Verwendung von Stickstoff oder (synthetischer) Luft erörtert.

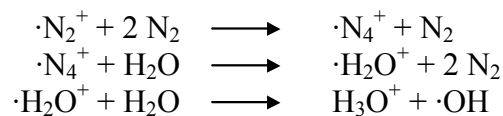
Die fundamentalen Abläufe der APCI lassen sich in drei Teilschritte separieren:

1. Erzeugung von Primärionen
2. Ionen-Molekül-Reaktionen
3. Protonenübertragungsreaktionen

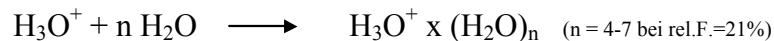
3.2.3.1 Mechanismus der positiven APCI

Wie bereits in Abschnitt 3.2.2 beschrieben, kann eine Koronaentladung sowohl als Anoden- wie auch als Kathodenkorona betrieben werden. Je nach Polarität der Koronanadel ergeben sich unterschiedliche Primärionen, welche in Ionen-Molekül-Reaktionen zu verschiedenen Analytionen führen. Hier soll zunächst auf den Mechanismus der positiven APCI, das heißt Koronaentladungen mit einer gegenüber der flachen Elektrode auf positiven elektrischen Potential liegenden Koronanadel, eingegangen werden.

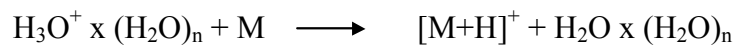
Wie bereits Shahin in seiner Arbeit [59] zeigte, entstehen in der positiven Koronaentladung durch die Kollision von beschleunigten Elektronen mit Luftmolekülen neben $\cdot\text{O}_2^+$ hauptsächlich $\cdot\text{N}_2^+$ Radikalkationen. Good et al. [63, 64] konnten mit ihren Arbeiten zeigen, daß die gebildeten $\cdot\text{O}_2^+$ -Ionen nicht an der Bildung von Analytionen beteiligt sind, sondern lediglich die $\cdot\text{N}_2^+$ -Ionen in einem ersten Schritt bevorzugt mit H_2O Molekülen reagieren. Die nachfolgenden Gleichungen zeigen die in Gasphase ablaufenden Ionen-Molekül-Reaktionen:



Die gebildeten H_3O^+ -Ionen reagieren, abhängig von der relativen Feuchte, zu solvatisierten Wasserclustern [63]:



Diese solvatisierten Wassercluster sind die eigentlichen Reaktandionen, welche gegenüber den Analyten als Brønsted-Säuren fungieren und den Analyten protonieren. Der eingesetzte Analyt wird daher bei der Verwendung einer positiven APCI typischerweise als Pseudomolekularion $[\text{M}+\text{H}]^+$ detektiert. Voraussetzung ist, daß die Protonenaffinität des Analyten höher als die der Reaktandionen ist [65-68].



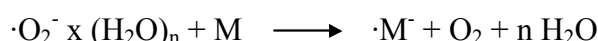
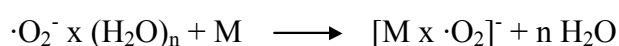
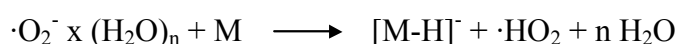
Die Protonenaffinität der Reaktandionen ist abhängig von der Anzahl Wassermoleküle die das Hydroniumion umgebenen und damit eine Funktion der relativen Feuchte. Die Ausbeute an protonierten Analytionen kann dadurch neben Variation der Quellenparameter [69-71] auch über die relative Feuchte des Trägergases beeinflußt werden. Mit steigendem Feuchtegrad steigt auch die Größe der Wassercluster und damit deren Protonenaffinität. Bei zu hohen Feuchten führt dies zu einer verminderten Ausbeute an Analytionen. Unter wasserfreien Bedingungen stehen dagegen keine Wassermoleküle zur Bildung von Reaktandionen zur Verfügung und es kommt zur Bildung von M^+ durch direkte Reaktionen zwischen Analyt und Primärionen. Alle in dieser Arbeit durchgeführten Versuche wurden mit zur Laborluft offenen Aufbauten durchgeführt, welche für die Bildung von Reaktandionen ausreichend Wassermoleküle enthält. Dadurch, daß die Konzentration des Analyten um

mehrere Größenordnungen kleiner ist als die der Reaktanden, kommt es zu einer Abschirmung des Analyten gegenüber Reaktionen mit Primärionen oder Elektronen. Die Energie des Ionisationsprozesses in der Koronaentladung erreicht normalerweise nicht die zur Fragmentierung des Analytmoleküls benötigte Energie, so daß typischerweise nur wenige oder keine Signale für Fragmentationen detektiert werden können.

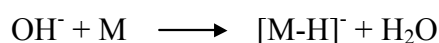
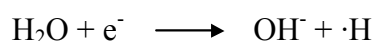
3.2.3.2 Mechanismus der negativen APCI

Obwohl bereits seit langem bekannt [72-76], standen Reaktionen von negativen Reaktanden mit Molekülen weniger stark im Zentrum intensiver Untersuchungen, wie die der positiven APCI. Auch heute wird aufgrund der größeren Empfindlichkeit häufiger mit der positiven APCI gearbeitet. Die negative APCI zeichnet sich im allgemeinen durch schwächere Hintergrundsignale und damit besserem Signal zu Rauschverhältnis, aber geringerer Nachweisgrenze aus. Die Hauptanwendung liegt in der Untersuchung von organischen Säuren, welche durch ihre Acidität für Protonenabstraktionsreaktionen in der Gasphase bestens geeignet sind.

Neben den Arbeiten von Melton [77] und Von Ardenne [78] haben die Arbeiten der Gruppe um Dougherty [79-81] maßgeblich zur Aufklärung der grundlegenden Reaktionen der negativen APCI beigetragen. Im Gegensatz zur positiven APCI ist bei der negativen APCI der Sauerstoff der Ladungsträger, welcher zur Bildung von M^- und $[M-H]^-$ -Ionen führt. Wie bereits in Kapitel 3.2.2 beschrieben nimmt im Falle der negativen Koronaentladung die kinetische Energie der Elektronenlawine auf dem Weg zur abgeflachten Elektrode ab. Dadurch ist die Bildung von $\cdot O_2^-$ durch Elektroneneinfang von niederenergetischen Elektronen möglich. In Abhängigkeit von Temperatur, und Wassergehalt des Trägergases bilden sich daraus $\cdot O_2^- \times (H_2O)_n$ -Clusterionen [67, 75, 82], welche im Plasma folgende Reaktionen eingehen können:



Daneben spielt aber auch die Bildung von OH^- -Ionen durch den Einfang niederenergetischer Elektronen und der anschließenden Abstraktion eines H^+ vom Analyten eine wichtige Rolle [83]



In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich mit der positiven APCI gearbeitet. Der Mechanismus der negativen APCI wurde nur der Vollständigkeit halber aufgeführt.

3.3 Streuung von Licht an Partikeln

Streuung von Licht an Partikeln wird dadurch hervorgerufen, daß die einfallende Strahlung Dipole und elektronische Zustände anregt, welche beim Relaxieren Sekundärstrahlung in alle Richtungen emittieren. Absorption tritt dann auf, wenn ein Teil der gespeicherten Energie in thermische Energie konvertiert wird. Beide Prozesse sind abhängig von der einfallenden Strahlung und dem Partikelmaterial. Der Prozeß der Streuung kann prinzipiell in drei Kategorien unterteilt werden:

1. elastische Streuung → die Wellenlänge des Streulichts ist gleich der Wellenlänge des einfallenden Lichts
2. quasi-elastische Streuung → die Wellenlänge des Streulichts ist aufgrund von Dopplereffekten und Diffusionsverbreiterung gegenüber der des einfallenden Lichtes leicht verschoben
3. unelastische Streuung → die Wellenlänge des Streulichtes ist ungleich der Wellenlänge des einfallenden Lichts (Raman, Fluoreszenz)

Für die Partikeldetektion über Streulicht ist der Prozeß der elastischen Streuung von Bedeutung. Für sphärische Partikel kann die Intensität und Winkelabhängigkeit des elastischen gestreuten Lichtes über die Mie-Theorie berechnet werden. Vertiefende Informationen über die teilweise auch als Mie-Debye-Lorenz-Theorie bezeichnete Berechnungsmöglichkeit, findet man in einer von Bohren und Huffman verfaßten Monographie [84]. Die elastische Streuung von Licht an Partikeln wird von drei Parametern beherrscht:

- der Wellenlänge λ des einfallenden Lichtes
- der Größe des streuenden Partikels
- der optischen Dichte des Partikels

Es hat sich gezeigt, daß es für Berechnungen einfacher ist, diese Parameter zu normieren: Das Verhältnis von Partikelgröße zu einfallendem Streulicht wird als dimensionsloser Parameter α angegeben:

$$\alpha = \frac{\pi D_p}{\lambda} \quad (1)$$

mit: λ = Wellenlänge des einfallenden Lichtes [nm]
 D_p = Durchmesser des Partikels [nm]

Der komplexe Brechungsindex $N = n + ik$ wird auf die optische Dichte des das Partikel umgebenden Mediums normiert.

$$m = \frac{N}{N_0} \quad (2)$$

Der Brechungsindex von Luft beträgt $N_0 = 1,00029 + 0i$, somit gilt für alle Anwendungen in Luft das m und N praktisch identisch sind. Der Realteil des

Brechungsindex beschreibt den nichtabsorbierenden Teil der Brechung, während der Imaginärteil für den absorbierenden Teil steht. Der Imaginärteil des Brechungsindex ist für viele Substanzen sehr klein und nur bei stark adsorbierenden Materialien wie zum Beispiel Rußpartikeln hat der Imaginärteil einen signifikanten Einfluß.

Mit den dimensionslosen Parametern und der Mie-Theorie kann man mittels computergestützten Rechenoperationen die Adsorption und winkelabhängige Streulichtemission von jeder Art sphärischer Körper in Abhängigkeit von der Wellenlänge des einfallenden Lichtes berechnen. Die winkelabhängige Streulichtintensität wird auch Phasenfunktion genannt:

$$P(\theta, \alpha, m) = \frac{F(\theta, \alpha, m)}{\int_0^\pi F(\theta, \alpha, m) \sin \theta \, d\theta} \quad (3)$$

Wobei $F(\theta, \alpha, m)$ die Streulichtintensität im Winkel θ zum einfallenden Licht ist. Weil die Mie-Theorie nur für sphärische Partikel gilt, ist aufgrund der Rotationssymmetrie der Azimudalwinkel Φ zur Berechnung nicht notwendig.

Für einige Sonderfälle bieten Annäherungen eine gute Alternative zur exakteren, aber auch weitaus rechenintensiveren Mie-Theorie. Dazu unterscheidet man basierend auf dem größtenbestimmten Parameter α das Streulichtverhalten in drei Kategorien:

$$\begin{aligned} \alpha \ll 1 &\rightarrow \text{Rayleigh Streuung} \\ \alpha \cong 1 &\rightarrow \text{Mie Streuung} \\ \alpha \gg 1 &\rightarrow \text{geometrische Streuung} \end{aligned}$$

In der vorliegenden Arbeit soll das Streulicht von Partikeln mit einem Durchmesser von 1 – 3 μm detektiert werden. Dazu werden diese mit dem Licht eines frequenzverdoppelten DPSS-Nd:YAG-Laser angeregt werden. Die Wellenlänge beträgt somit 532 nm.

Für α ergibt sich aus Gleichung (1) ein Wert zwischen 5,9 und 17,7 und liegt damit im Bereich der geometrischen Streuung. Diese ist stark von der Form der Partikel abhängig und beruht hauptsächlich auf Reflektion an Oberflächen, sowie der Brechung und Beugung von einfallenden Strahlen.

Abbildung 1 zeigt die von Nemesure in seiner Arbeit [85] angegebenen Phasenfunktionen von Ammoniumsulfatpartikeln mit einem Durchmesser von 0,6 und 1,0 μm in Luft bei einer relativen Feuchte von 80% und einer Erregerwellenlänge von 550 nm. Die beiden Grafiken in Abbildung 1 zeigen deutlich, wie das von links kommende Erregerlicht fast vollständig in Vorwärtsrichtung gestreut wird. Zwar entsprechen die Versuchsbedingungen in Nemesures Arbeit nicht genau den Versuchsbedingungen zur Detektion von Partikeln, jedoch ist es häufig so, das Partikel in der zu untersuchenden Größenordnung stark in Vorwärtsrichtung streuen.

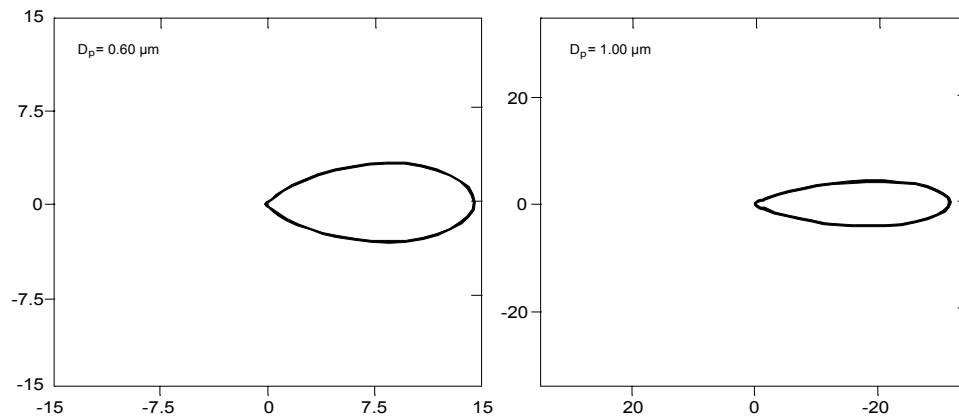


Abbildung 1: Phasenfunktion von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Partikeln (aus [85])

Zur optimalen Partikeldetektion sollte der Photomultiplier, welcher das Streulicht detektiert daher möglichst in einem Winkel von nahezu 180° zum Erregerlicht positioniert werden.

3.4 *Quadrupole/Multipole*

Die Entwicklung von radiofrequenzbetriebenen Fokussiereinrichtungen hat ihren Ursprung in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts. Verschiedene Arbeitsgruppen erkannten, daß geladene Teilchen mit elektrischen Wechselfeldern fokussiert werden können [86, 87]. In ersten Arbeiten wurden dazu statische Quadrupole eingesetzt. Dabei durchquerten geladene Teilchen mit hoher Geschwindigkeit, hintereinander angeordnete kurze Quadrupole mit wechselnden Polaritäten. Man erkannte, daß die Funktion, welche die schnelle Bewegung durch diese Anordnung beschreibt, identisch ist mit der Bewegungsfunktion von geladenen Partikeln, die sich langsam durch ein schnell wechselndes elektrisches Feld bewegen. Es zeigte sich, daß Ionen mit Wechselfrequenzen im Megahertzbereich beeinflußt werden können, während für Elektronen einige Gigahertz notwendig sind. Für geladene Mikropartikel reichen dagegen schon wenige Hertz aus. Die Weiterentwicklung zum Quadrupolfilter und zur Ionenfalle führten schließlich 1953 zum bekannten Patent von Wolfgang Paul und Helmut Steinwedel [88]. Einer der Vorteile des Quadrupols ist, daß Ionen durch inelastische Stöße mit Puffergas besser fokussiert werden können, als es die Gesetze der klassischen Mechanik zulassen. So besagt das Liouville Theorem, daß ein aus "Systempunkten" im Phasenraum gebildetes Volumen im Zeitverlauf zwar seine Form, nicht aber sein Volumeninhalt ändern kann, weil sich sonst auch die Dichte ändern würde. Genau das kann aber durch inelastische Stöße in einem Quadrupol erreicht werden.

Das fundamentale Prinzip von Multipolen beruht auf der Wechselwirkung von geladenen Teilchen mit inhomogenen elektrischen Wechselfeldern. Während ein geladenes Teilchen in einem homogenen elektrischen Wechselfeld, wie es zum Beispiel zwischen zwei Kondensatorplatten, an denen eine Wechselspannung angelegt wird, auftritt, immer um den gleichen Punkt oszilliert, erfährt es im inhomogenen Wechselfeld eine zusätzliche Kraft. Sie wird Gradientkraft genannt und zeigt in Richtung der geringeren Feldstärke. Dadurch oszilliert das geladene Teilchen um einen Punkt, der nun nicht mehr statisch ist, sondern sich in Richtung geringerer Feldstärke bewegt. Eine exakte Lösung der Bewegungsgleichung ist nur in bestimmten Fällen möglich. Eine Annäherung besteht darin, die Bewegungsfunktionen des Teilchens in einen Drift- und Oszillationsterm aufzuspalten [89]. Die Lösung der Funktion führt zu dem Ergebnis, daß die durch die Feldinhomogenität erzeugte „Drift-Kraft“ proportional zum Quadrat der Ladung und damit unabhängig von der Ladungspolarität ist. Das Potential der „Drift-Kraft“ ist gegeben über:

$$V^* = \frac{q^2 E_0^2}{4m\Omega^2} + q\phi_s \quad (4)$$

mit:

q = Ladung des Teilchens, m = Masse des Teilchens,

E_0 = Amplitude des Wechselfeldes, Ω = Frequenz des Wechselfeldes,

ϕ_s = elektrostatisches Potential

Eine Voraussetzung für diese Annäherung ist, daß die Bedingungen der Bewegung adiabatisch sind. Eine von Weibel und Clark [90] eingeführte und häufig verwendete Definition lautet:

$$|2(a\nabla)E_0| < |E_0| \quad (5)$$

mit:

$$a = \text{Amplitude der Oszillation des Ions} = a = \frac{qE_0}{m\Omega^2}$$

Im Klartext bedeutet dies, daß die Veränderung des elektrischen Feldes während der Oszillation kleiner sein muß als die Feldstärke selbst. Teloj und Gerlich [91] definierten daraus den Stabilitäts- oder Adiabasizitätsparameter η :

$$\eta = \frac{|2(a\nabla)E_0|}{|E_0|} \quad (6)$$

Mit der Definition von a ergibt sich daraus:

$$\eta = \frac{2q|\nabla E_0|}{m\Omega^2} \quad (7)$$

Weil es schwierig ist eine mathematische Definition für stabile Flugkurven zu bestimmen, werden häufig diejenigen Bedingen als stabil definiert, für die die adiabatischen Kriterien zutreffen. Sowohl η als auch V^* sind, außer beim Quadrupol, immer eine Funktion von der Raumkoordinate \mathbf{r} .

Die Potentialfunktion in kartesischen Koordinaten lautet für Quadrupole [92]:

$$\varphi(x, y) = \frac{\varphi_0}{2r_0^2} (x^2 - y^2) \quad (8)$$

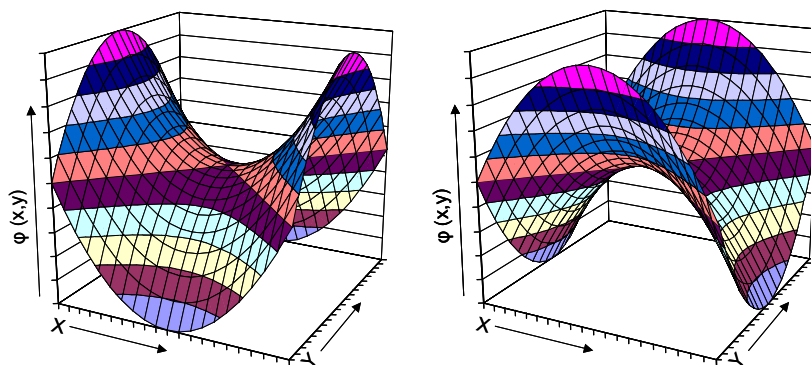


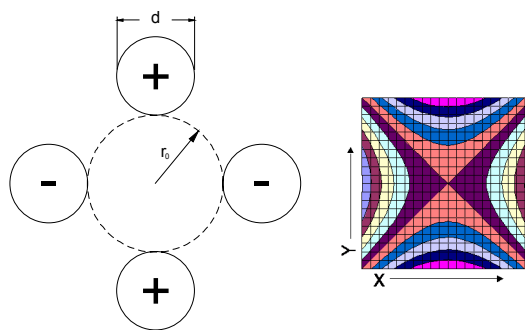
Abbildung 2: Potentialfunktion des Quadrupols

Die beiden Abbildungen zeigen die beiden Potentialzustände zwischen denen ein Quadrupol hin und herschwingt. Durch die schnelle Änderung, werden die Ionen auf den Sattelpunkt der beiden Potentialzustände, welcher sich in der Mitte des Quadrupols befindet, fokussiert.

Für Quadrupole stellen die bekannten „Mathieu-Gleichungen“ [93, 94] die exakte Lösung der Bewegungsgleichung dar. Der Stabilitätsparameter η wird in den Mathieu-Gleichungen als q bezeichnet. Bei der Verwendung des Quadrupols als Massenfilter werden die Parameter normalerweise so gewählt, daß $q = \eta = 0.706$ ist. Für reine Ion-Guides wählt man normalerweise $q = \eta < 0.3$. Dadurch, daß η invers proportional zum Quadrat der Frequenz ist, kann man prinzipiell immer stabile Bedingungen durch Erhöhung der Frequenz erreichen.

Die Besonderheit des Quadrupols liegt darin, daß η und damit die Stabilität einer Flugbahn keine Funktion der Raumkoordinate \mathbf{r} ist. Bei Multipolen höherer Ordnung ist η abhängig von \mathbf{r} und nähert sich 0 an, je kleiner \mathbf{r} wird. Dies bedeutet, daß bei Multipolen höherer Ordnung der Ionenstrahl adiabatischer ist, je näher er dem Zentrum ist. Daraus folgt, daß das oft angewendete Prinzip der Kollisionsrelaxation nur mit Multipolen höherer Ordnung möglich ist. Der Potentialverlauf des effektiven Fokussierungspotentials wird mit zunehmender Elektrodenzahl steiler, wodurch sich auch die Fokussiereigenschaften verbessern.

Um einen Multipol herzustellen müßten im Idealfall die verwendeten Elektroden so geformt werden, daß sie mit den berechneten Äquipotentialflächen übereinstimmen. Dies bedeutet, daß die Elektroden hyperbolisch sein müßten. In der Praxis verwendet man meist aus Konstruktions- und Kostengründen runde Elektroden, die äquidistant um einen Kreis mit dem Radius r_0 angeordnet werden (siehe auch Grafik 1). In einem Patent von 2002 zeigen Koshla und Tehlirian [95] das darüber hinaus auch nahezu rechteckige Elektroden verwendet werden können.



Grafik 1: Schematische Darstellung eines Quadrupols und Äquipotentialflächen

Den Idealbedingungen kommt man mit runden Elektroden am Nächsten, wenn man bei einem Quadrupol $r_{\text{rod}}/r_0 = 1,1468$ wählt. Für andere Multipole gelten andere Verhältnisse. So haben kürzlich Rao und Bhutani [96], mittels SIMION-Modellrechnungen Größenverhältnisse für zwei weitere Multipole berechnet: $r_{\text{rod}}/r_0 = 0,5375$ für Hexapole und $r_{\text{rod}}/r_0 = 0,355$ für Octapole.

Für weitere Details zu Quadrupolen, insbesondere die Berechnung der Stabilitätsparameter a und q kann an dieser Stelle nur auf die einschlägige Literatur verwiesen werden [89, 97].

I. Arbeiten am Oak Ridge National Laboratory (ORNL)

Die in den Kapiteln 4 - 7 beschriebenen Arbeiten wurden im Rahmen meines Forschungsaufenthaltes vom 07.01.2001 bis zum 01.06.2003 am ORNL in Oak Ridge, TN, USA in der Arbeitsgruppe von Prof. John Michael Ramsey, Ph.D. durchgeführt.

4 Umbau eines Varian Saturn 2000

4.1 Aufbau einer Ionguide

Für das Projekt stand ein Varian Saturn 2000 Massenspektrometer zur Verfügung, welches nicht mit einem Einlaßsystem für Atmosphärendruckionenquellen ausgestattet ist. Das Saturn 2000 wird normalerweise für GC/MS Anwendungen verwendet und verfügt nur über eine Elektronenstoßionenquelle. In der Originalkonfiguration wird das Eluat aus der Chromatographiesäule durch eine Öffnung in einer der beiden Abstandhalter zwischen Ringelektrode und Endelektrode in die Ionenfalle geleitet. Die Elektronenquelle, ein Filament mit darüber liegender Gatterelektrode, ist hinter einer der beiden Endelektroden angebracht. Wird das Potential der Gatterelektrode von -200 V auf $+200\text{ V}$ erhöht, werden die vom Filament emittierten Elektronen an der Gatterelektrode vorbei, durch eine Bohrung in der Endelektrode in die Ionenfalle beschleunigt und ionisieren dort durch Elektronenstoß den Analyten. Die Ionen werden während des Scans sequentiell durch Öffnungen in der zweiten Endelektrode aus der Ionenfalle auf den Detektor, einem Sekundärelektronenvervielfacher, geleitet.

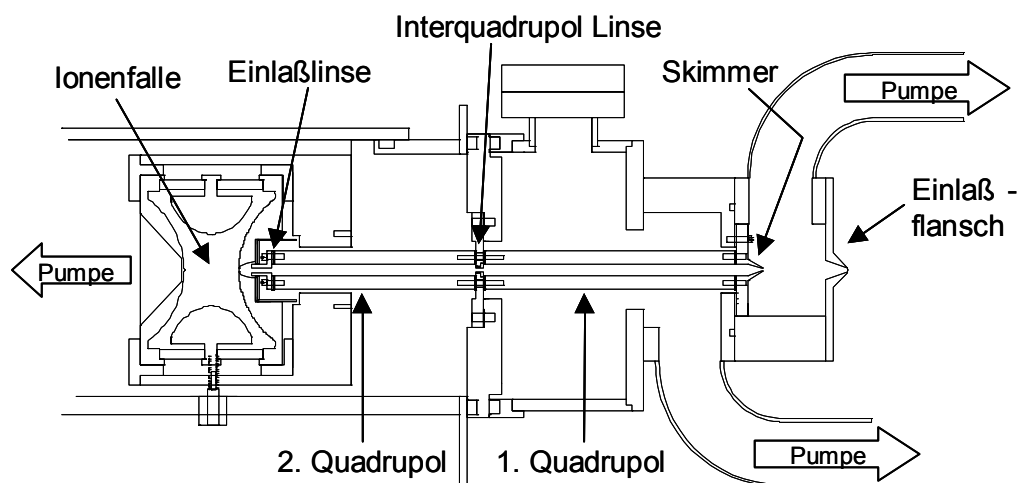


Abbildung 3: Modifikationen Varian Saturn 2000

Das Massenspektrometer mußte für die geplanten Arbeiten nun so umgebaut werden, daß eine Anbindung an Atmosphärendruckionenquellen möglich ist. Dazu wurde die Elektronenquelle hinter der Endelektrode entfernt und an dessen Stelle ein Ionguide System mit differentiellen Pumpstufen an die Ionenfalle angebaut. Die Ionguide wurde zusammen mit Peter Reilly entworfen und die Einzelteile von der Firma Comtech, Oak Ridge, TN hergestellt. Die Ionguide besteht aus drei Pumpstufen, zu deren Betrieb, neben der geräte-eigenen Turbopumpe mit Vorpumpe, zwei zusätzliche Drehschieberpumpen verwendet werden. Die erste Pumpstufe befindet sich hinter einem Flansch mit einer Bohrung von ca. $300\ \mu\text{m}$, welche einen Gaseintritt von ca. $500\ \text{ml/min}$ ermöglicht. Hinter diesem Flansch befindet sich im Abstand von $2,4\ \text{cm}$ ein Skimmer mit einer Einlaßöffnung von $0,02\ \text{Inch}$ (ca. $0,5\ \text{mm}$). Der Raum zwischen Skimmer und Flansch ist für eine Einzel-Linse, welche die Ionen auf die Bohrung des Skimmers fokussieren soll, vorgesehen. Im Betrieb stellte sich

heraus, das diese Einzel-Linse keinen positiven Effekt hat und wurde daher wieder entfernt. Hinter dem Skimmer befindet sich die zweite Pumpstufe, in der die Ionen durch einen Quadrupol geleitet werden. Der erste Quadrupol besteht aus vier Stäben mit einem Durchmesser von 0,15 Inch (ca. 3,8 mm) und einer Länge von 2,744 Inch (ca. 6,97 cm) die rund um einen Kreis mit einem Durchmesser von 0,131 Inch (ca. 3,3 mm) angeordnet sind. Abgeschlossen wird diese Pumpstufe durch eine Einzel-Linse (Interquadrupol Linse) mit einem Innendurchmesser von 0,04 Inch (ca. 1 mm). Hinter dieser Linse befindet sich die dritte und letzte Pumpstufe. Diese wird über die bereits vorhandene Vorpumpe und der standardmäßig zum Massenspektrometer gehörenden Turbopumpe betrieben. In dieser Pumpstufe werden die Ionen über einen weiteren Quadrupol bis zur Einlaßlinse geleitet. Der zweite unterscheidet sich vom ersten Quadrupol nur in der Länge, welche hier 2,2 Inch (ca. 5,59 cm) beträgt. Die Einlaßlinse hat einen Innendurchmesser von 0,062 Inch (ca. 1,6 mm) und dient dazu, die Ionen durch die Endelektrode der Ionenfalle in diese hinein zu beschleunigen. Der genaue Aufbau kann Abbildung 3 entnommen werden



Abbildung 4: Ionguide Rückansicht

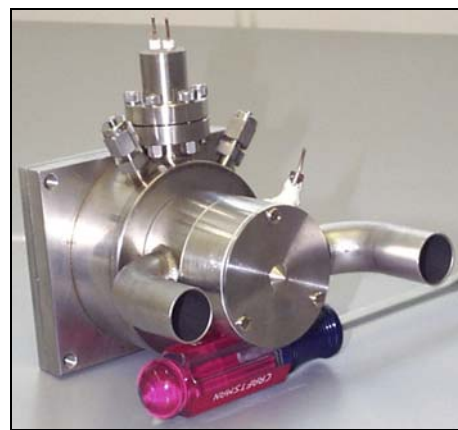


Abbildung 5: Ionguide Frontansicht

4.2 Herstellung eines Radiofrequenzgenerators

Zum Betrieb der Ionguide wird ein Radiofrequenzgenerator benötigt, welcher in der Lage sein muß, beide Quadrupole mit einer Frequenz von 3 – 10 MHz und einer Amplitude von 100 – 300 V zu versorgen. In kommerziellen Geräten werden hauptsächlich RF-Generatoren eingesetzt, welche aus einem Niedervolt Oszillator und mehreren Verstärkerstufen bestehen. Diese Verstärker sind normalerweise für Impedanzen von 50 Ω ausgelegt, die von Quadrupolen und Ionenfallen nicht erreicht werden. Zum Betrieb wird daher ein abgestimmtes Impedanznetzwerk benötigt und schnelle Veränderungen der Frequenz und der Amplitude sind an solchen Systemen nicht ohne Weiteres möglich. Der von Jones et. al. [98, 99] vorgestellte Radiofrequenzgenerator hat diesen Nachteil nicht und Frequenz und Amplitude können im Betrieb verändert werden. Außerdem ist es möglich verschiedene Gleichspannungsoffsets an die Ausgänge zu legen und somit die Eigenschaften der Ionguide weiter zu beeinflussen. Kerneinheit des vorgestellten Generators sind zwei als Gegentaktverstärker aufgebaute

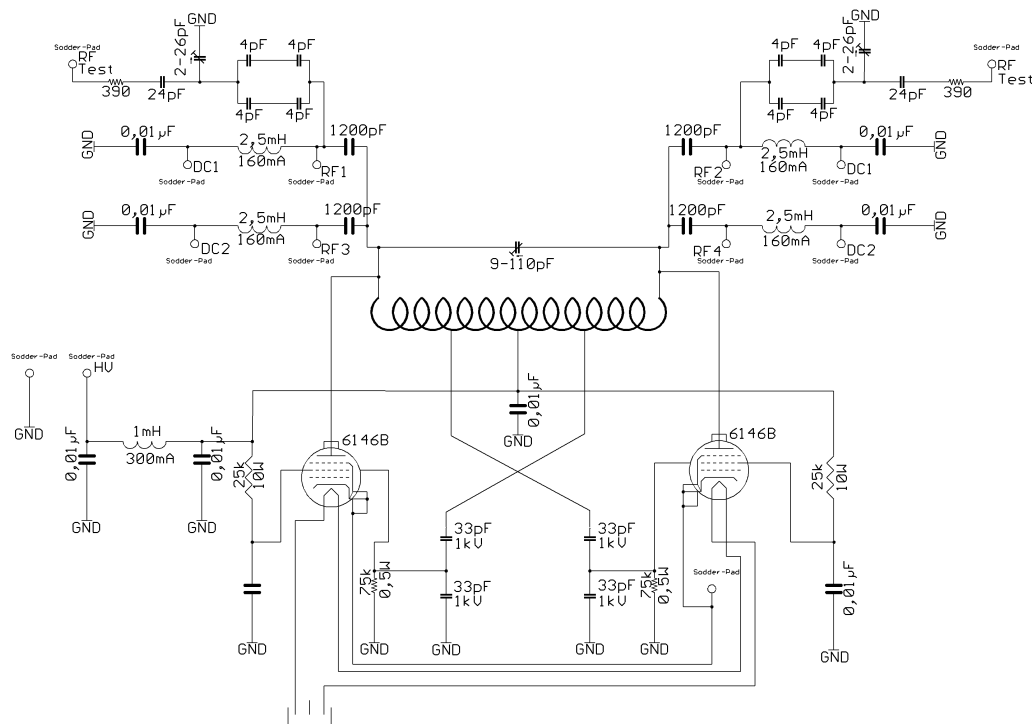


Abbildung 6: Schaltplan RF-Generator

Verstärkeröhren des Typs 6146B. Nähere Details zum Schaltungsaufbau findet man in [98, 99]. Der ursprüngliche Aufbau ist für den Betrieb einer Ionenfalle oder eines Multipoles konzipiert und hat zwei Hochfrequenzausgänge, welche mit einem entgegengesetztem Gleichspannungspotential überlagert werden können. Dies ist für Versuche zur Bestimmung der Fokussiereigenschaften von Quadrupolen und zum Aufbau von Massenfiltern sinnvoll. Der Massenbereich in dem Ionen mit dem gewünschten Masse zu Ladungsverhältnis auf stabilen Flugbahnen durch den Quadrupol gelangen, werden dabei über die Frequenz, die Amplitude und dem DC-Offset bestimmt. Für die durchzuführenden Versuche war es aber notwendig das mittlere Gesamtpotential des einzelnen Quadrupols verändern zu können. Für den Betrieb von zwei Quadrupolen mit unterschiedlichen Gleichspannungsoffsets mußte die Schaltung geringfügig erweitert werden. Insgesamt stehen nun vier Hochfrequenzausgänge zur Verfügung, von denen jeweils zwei entgegengesetzt schwingende mit einem Gleichspannungspotential überlagert werden können. Dadurch ist es möglich die beiden Quadrupole in der Ionguide mit der selben Frequenz und Amplitude zu betreiben und gleichzeitig das relative elektrische Potential zueinander zu verändern. Es ist so möglich eine Potentialrampe zwischen den Quadrupolen einzustellen und die Ionen effektiv in die Ionenfalle zu leiten. Abbildung 6 zeigt den erweiterten Schaltplan. Die Quadrupole werden elektrisch gesehen als reine Radiofrequenzquadrupole betrieben, da an allen vier Elektroden das selbe Gleichspannungspotential anliegt. Die Transmissionseigenschaften werden somit nur über die eingestellte Frequenz und Amplitude definiert. Um einen möglichst kompakten und störungsunanfälligen Aufbau zu gewährleisten, wurde die Schaltung in das Platinenlayoutprogramm „Eagle“ von CadSoft übertragen und damit eine gedruckte Schaltung erstellt. Die Platine wurde von der Firma Beta LAYOUT Ltd. in Irland gefertigt. Der Aufbau der Schaltung und die

Fertigung des Gerätes wurde selbst durchgeführt. Im Gegensatz zum dem von Jones et al. vorgestellten Modell konnte durch den Einsatz einer gedruckten Schaltung eine „fliegende Verdrahtung“ vermieden werden.

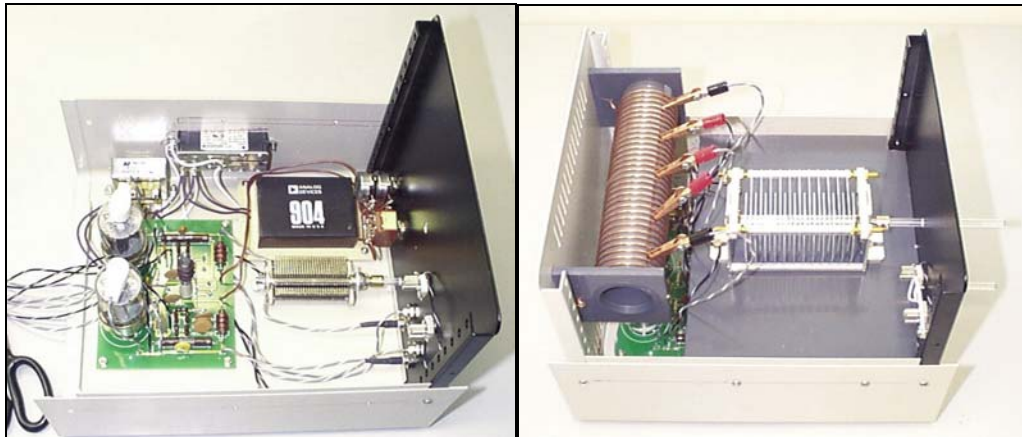


Abbildung 7: RF-Generator

Um die für den Aufbau notwendige handgewundene Spule exakt herstellen zu können, wurde eine PVC-Halterung mit eingefrästen Führungsnuten bei der Firma Comtech, Oak Ridge, TN in Auftrag gegeben. Diese wurde dann mit einem 2 mm starken Kupferdraht umwickelt (siehe Abbildung 7). Zur Stromversorgung des Generators wurde ein Hochspannungsnetzgerät der Firma Glassmann High Voltage, High Bridge, NJ, verwendet.

4.3 Bestimmung der Arbeitsparameter der Ionguide

Nach Fertigstellung der Ionguide und des Radiofrequenzgenerators mußten die elektrischen Potentiale der einzelnen Komponenten des Transfersystems ermittelt werden, die die bei Atmosphärendruck erzeugten Ionen in die Ionenfalle leiten. Bei kommerziellen Massenspektrometern gibt es dafür Optimierungsprogramme, die nacheinander die Potentiale des Transfersystems in Abhängigkeit vom in der Ionenfalle gemessenen Ionenstrom optimieren. Da es sich hier um einen Laboraufbau handelt, mußten die elektrischen Potentiale des Einlaßflansches, des Skimmers, der beiden Quadrupole, der Interquadrupol Linse und der Einlaßlinse von Hand optimiert werden. Weil es eine unüberschaubare Anzahl von möglichen Kombinationen der elektrischen Parameter gibt, ist es praktisch unmöglich alle Komponenten simultan zu optimieren. Deshalb mußten schrittweise alle Potentiale nacheinander optimiert werden. Dazu wurde zwischen dem Einlaßflansch und einer Nadel eine Koronaentladung gezündet und unterhalb der Einlaßöffnung, zwischen Nadel und Einlaßflansch, ein Glasgefäß mit Aceton positioniert. Das verdampfende Aceton wird von der Koronaentladung ionisiert und in das Massenspektrometer transportiert. Der resultierende Ionenstrom wird jeweils hinter dem zu optimierenden Abschnitt des Transfersystems mittels eines μ -Amperemeters gemessen. Die dahinter befindliche Komponente des Transfersystems wird über einen 84 M Ω Sicherheitswiderstand an das μ -Amperemeter angeschlossen, welches wiederum an eine Saugspannung von -40 V angeschlossen ist. Die hinter dem zu optimierenden Abschnitt liegende Komponente des

Transfersystems dient dadurch als Faraday-Cup und sammelt die Ladung der eintreffenden Ionen. Das einzustellende Potential läßt sich so über den gemessenen Ionenstrom optimieren. Da nicht auszuschließen war, daß die zusätzlich angelegte Saugspannung das Verhalten der Ionguide beeinflusst, war das Ziel dieser Messungen nicht unbedingt die Auffindung der optimalen Arbeitsparameter, sondern die Ermittlung einer funktionierenden Grundeinstellung. Abbildung 8 zeigt eine der so aufgenommenen Optimierungskurven. In diesem Fall wurde der DC-Offset des zweiten Quadrupols und das elektrische Potential der Interquadrupol Linse optimiert. Die Einlaßlinse fungierte in oben beschriebener Weise als Faraday-Cup.

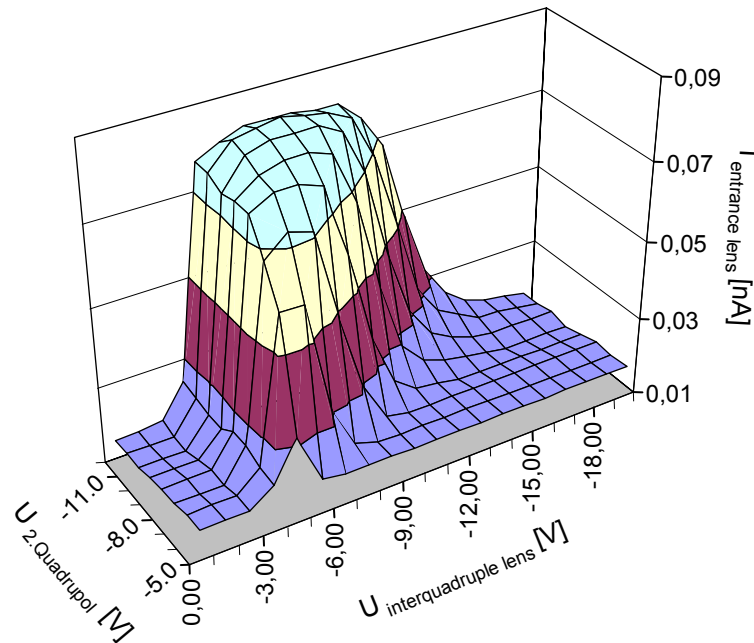


Abbildung 8: eine der Optimierungskurven der Ionguide

Nachdem die Parameter ermittelt wurden, welche die Ionen über die eingestellte Potentialrampe in die Ionenfalle leiten, mußte eine Möglichkeit gefunden werden das Transfersystem an und abzuschalten. Dies ist notwendig, da während des Auslesens der Ionenfalle keine weiteren Ionen in die Falle gelangen dürfen. In ersten Versuchen diente nur die Einlaßlinse“ als Gatter, um die Ionen in die Ionenfalle einzulassen oder sie davor zu stoppen. Es ergaben sich aber Probleme mit in den Quadrupolen „gestauten“ Ionen. Das Transfersystem ist darauf ausgelegt die Ionen kontinuierlich von der Atmosphärendruckionenquelle in die Ionenfalle zu leiten. Es fehlt daher eine Beschleunigungsspannung, welche in den Quadrupolen gespeicherte Ionen extrahieren könnte. Während des Scans sammelten sich die weiter eintreffenden Ionen in den Quadrupolen und „verstopften“ regelrecht das Transfersystem. Deshalb wird auch der Skimmer als Gatter verwendet, um zu verhindern, daß Ionen während des Scans in das Transfersystem gelangen. Zur zeitlichen Steuerung wird das „e-Gate Signal“ des Massenspektrometers verwendet. Wie in Kapitel 4.1 beschrieben, verwendet die Originalkonfiguration des Massenspektrometers eine Elektronenquelle mit darüberliegender Gatterelektrode als Elektronenstoßionisationsquelle. Auf der Steuerungsplatine des Massenspektrometers ist ein CMOS-Signal abgreifbar, welches anzeigt ob die

Gatterelektrode geöffnet oder geschlossen ist (e-Gate-Signal). Die Gatterelektrode wird während der Sammelzeit geöffnet und während des Auslesens der Ionenfalle geschlossen. Das CMOS-Signal wird über einen 74LS08BI-Chip nach TTL konvertiert und triggert einen Pulsgenerator der Firma „Stanford Research“. Beim Eintreffen des Triggersignals, welches anzeigt, daß das Massenspektrometer nun die nicht vorhandene Elektronenstoßionenquelle einschalten will, schaltet der Pulsgenerator über einen Transistor des Typs LF356 die Spannung des Skimmers von +24 V auf -15 V und mit einem Transistor des Typs APEX PA97 die Spannung der Einlaßlinse von +60 V auf -60 V. Die Einlaßzeiten können über die am Pulsgenerator einstellbaren Pulslängen variiert werden. Typischerweise wurde der Skimmer 2 ms vor der Einlaßlinse auf Sperrspannung geschaltet, um zu verhindern, daß sich Ionen im Transfersystem akkumulieren. Abbildung 9 zeigt das vereinfacht dargestellte Transfersystem mit den verwendeten elektrischen Potentialen. Die in Abbildung 8 angegebenen Potentiale unterscheiden sich von den in Abbildung 9 ermittelten, weil nach erfolgter Optimierung alle Potentiale um +15 V angehoben wurden, um den Ionenfluß, in die im zeitlichen Mittel auf Masse liegende Ionenfalle zu verbessern.

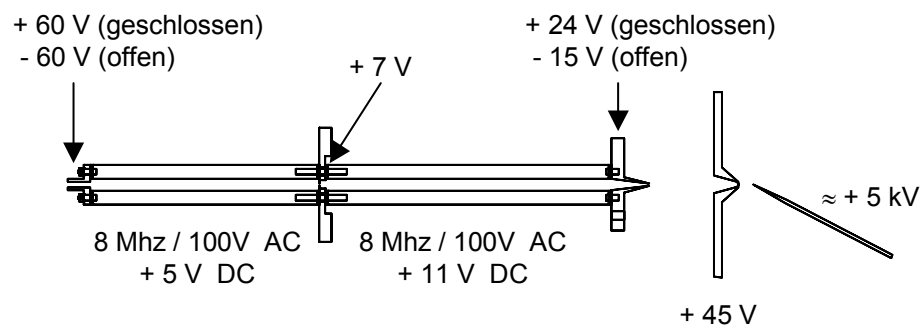


Abbildung 9: Potentiale des Transfersystems

5 Desorptionsexperimente mit dem Varian Saturn 2000

5.1 Experimente mit deponiertem Material

Es wurden zuerst Versuche mit deponiertem Material durchgeführt. Dadurch sollte gewährleistet werden, daß genügend Analyt in die Gasphase transportiert wird und eine Feinabstimmung der Parameter erfolgen konnte.

5.1.1 Versuchsaufbau

Als Oberfläche für die Desorptionsexperimente mit dem umgebauten Massenspektrometer Varian Saturn 2000 wurde ein 2 mm starker Kupferdraht verwendet. Die Schnittfläche wurde poliert und die Seiten zur Sicherheit mit einem Schrumpfschlauch isoliert. Die Oberfläche wird mit dem zu untersuchenden Analyten beladen und wie in Abbildung 10 gezeigt zwischen Einlaßöffnung des Massenspektrometers und der Koronanadel positioniert. Die Kupferoberfläche kann mit einem X-Y-Z-Verschiebetisch frei im Raum positioniert werden. Um Überschläge zu verhindern,

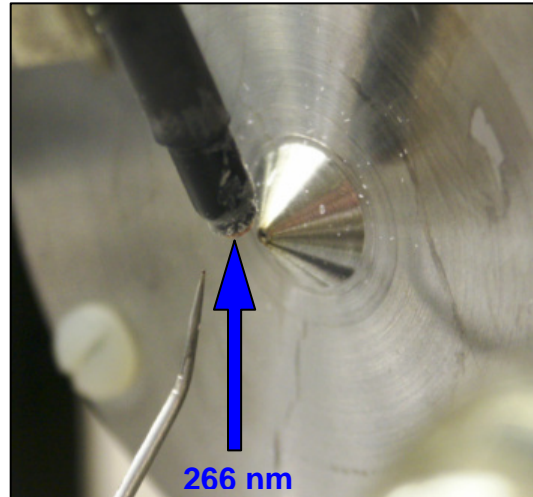


Abbildung 10: Versuchsaufbau Varian Saturn 2000

wird diese über einen 84 M Ω Widerstand an ein Hochspannungsnetzteil der Firma Stanford Resarch, Sunnyvale, CA angeschlossen. Das typischerweise an der Oberfläche angelegte Potential liegt bei 500 V. Die Koronanadel, welche ebenfalls mit einem X-Y-Z-Verschiebetisch positionierbar ist, wird im Abstand von ca. 10 – 15 mm zur Einlaßöffnung positioniert. Zum Betrieb der Koronantladung wird ein Konstantstromhochspannungsgerät der Firma Glassmann High Voltage, High Bridge, NJ verwendet. Der Entladungsstrom wird auf 4 - 6 μ A begrenzt, wodurch sich eine Entladespannung von 5 - 6 kV ergibt. Um Überschläge zu vermeiden, ist auch die Koronanadel über einen 84 M Ω Sicherheitswiderstand an die Stromversorgung angeschlossen. Zur Desorption wird ein Nd:YAG-Laser der Firma New Wave Research, Fremont, CA verwendet. Die Fundamentalwellenlänge des Nd:YAG-Lasers (1064 nm) wird mittels zweier interner Kristalle erst auf 532 nm verdoppelt und schließlich auf 266 nm vervierfacht. Die Pulse sind 3 - 4 ns kurz und haben eine regelbare Pulsenergie von maximal 5 mJ. Zur stufenlosen Regelung der Pulsenergie wird ein optischer Abschwächer eingesetzt. Zum triggern des Lasers dient der in Kapitel 4.3 beschriebene Pulsgenerator, der auch zur Steuerung der Einlaßpotentiale verwendet wird. Das Laserlicht wird erst über einen Spiegel senkrecht nach oben reflektiert und dann mit einer Quarzlinse ($f = 10$ cm) auf die Oberfläche fokussiert.

5.1.2 Versuchsergebnisse

Als erstes wurde versucht die von Coon [28] vorgestellten Versuche mit Reserpin in einer Glycerinmatrix zu wiederholen. Trotz Variation aller Parameter, das heißt Laserenergie, Fokusbereich, Position von Koronapipeline und Desorptionsoberfläche, sowie aller elektrischen Parameter konnte kein Signal detektiert werden, welches eindeutig auf desorbiertes Material zurückzuführen war. Die Verwendung anderer Analyten inklusive Tryptophan, Glutathion und Latexpartikeln änderte daran nichts. Unabhängig davon, ob Glycerin als Matrix verwendet wurde oder nicht konnte für keine der eingesetzten Analyten ein Signal beobachtet werden. Teilweise war bei sehr hohen Laserenergien bei m/z 63 ein Signal für Kupferionen, die aus der Oberfläche resultierten detektiert werden. Lediglich mit deponiertem Benzophenon konnte ein eindeutiger Unterschied zwischen den Massenspektren, die mit und ohne Laserbeschuss aufgenommen wurden, festgestellt werden. Benzophenon, eine bei Raumtemperatur feste Substanz (Smp.: 47,8°C, Sdp.: 305,4°C), wurde in deionisiertem Wasser gelöst und nach dem Aufgeben auf die Oberfläche dort zum Trocknen belassen. Abbildung 11 zeigt das ohne Laserbeschuss aufgenommene Massenspektrum. Ein Vergleich mit dem in Abbildung 12 gezeigtem Massenspektrum mit Laserbeschuss läßt erkennen, daß der Laserpuls offensichtlich auf der Oberfläche deponiertes Benzophenon in die Gasphase überführt.

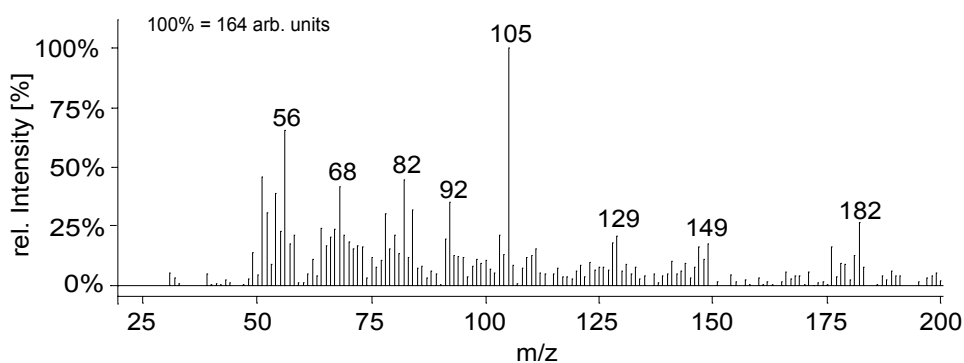


Abbildung 11: Massenspektrum von Benzophenon ohne Laserbeschuss

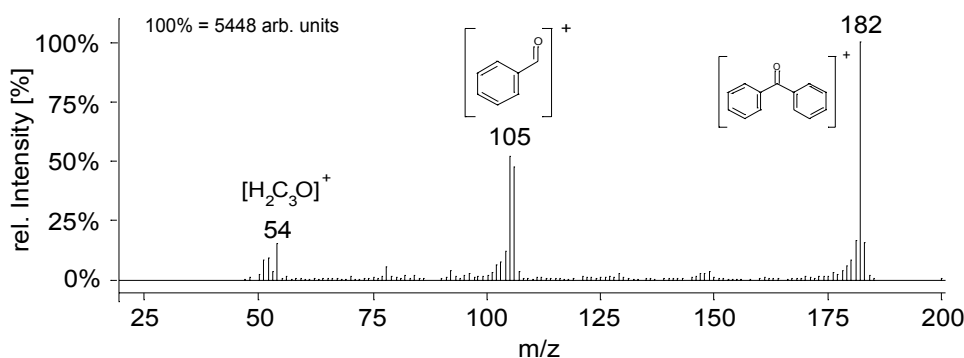


Abbildung 12: Massenspektrum von Benzophenon mit Laserbeschuss

Auffällig ist, daß neben den für Benzophenon typischen Fragmenten ein Signal für das Molekülion (M^+) und nicht, wie für APCI-MS erwartet, ein Signal für das Pseudomolekülion ($[M+H]^+$) detektiert wird. Zur Interpretation kam erschwerend hinzu, das aufgrund der fehlenden EI-Quelle die Massenskala des Massenspektrometers nicht mit der internen Kalibriersubstanz (FC-43 = Perfluortributylamin) kalibriert werden konnte. Die Abweichung des detektierten Signals konnte daher auch auf ein nicht hundertprozentig kalibriertes System zurückzuführen sein. Wie sich später herausstellen sollte (siehe Kapitel 6.2), war dies aber nicht der Fall.

5.2 *Desorptionsversuche mit Partikeln*

Bei den bisher durchgeführten Experimenten konnte beobachtet werden, das durch den Laserpuls ohne Zweifel Analytmateriale von der Oberfläche abgetragen wird. Trotzdem konnte in den meisten Fällen kein Signal detektiert werden. Dies lies vermuten, daß das desorbierte Material nicht in die Gasphase überführt wurde, sondern in Form von kleinen Partikeln abgetragen wird. Es bestand daher die Hoffnung, das partikelförmige Analyten mittels Laserpulsen besser in die Gasphase überführt werden können als deponiertes Material. Des weiteren sollte, im Falle eines auf die Einlaßöffnung des Massenspektrometers gerichteten Partikelstrahls der Materialtransport in das Transfersystem verbessert werden. Es wurde daher entschieden Versuche mit Partikeln durchzuführen.

5.2.1 Partikelgenerierung

Zur Generierung der zu untersuchenden Partikel wurde der gleiche Aufbau verwendet, den schon Reilly und Whitten [33] für ihre Arbeiten zur Laserdesorption und gleichzeitigen Ionisation von Partikeln in Ionenfallen verwendet haben. Den genauen Aufbau findet man in der oben angegebenen Literatur. Hier soll daher nur eine Kurzbeschreibung erfolgen: Der zu untersuchende Analyt wird mit einem geeigneten Lösungsmittel (hauptsächlich Wasser) aufgenommen und mit einem Kollisionszerstäuber der Firma CH Technologies, Westwood, NJ, zerstäubt. Das erzeugte feuchte Aerosol wird mit einem Luftstrom durch ein geheiztes Edelstahlrohr senkrecht nach oben transportiert. In diesem Bereich werden die Partikel getrocknet und das Lösungsmittel in die Gasphase überführt. Danach werden die Partikel durch einen mit Eiswasser gekühlten Bereich geleitet, in dem das Lösungsmittel auskondensiert. Am oberen Ende verlassen die trockenen und weitestgehend lösungsmittelfreien Partikel den kolonnenförmigen Aufbau. Die eingesetzten Analytlösungen führten zu polydispersen Aerosolen mit einem mittleren Durchmesser von ca. 1 μm . Dies wurde anhand gesammelter Partikel elektronenmikroskopisch ermittelt. Für die Partikelexperimente wurden neben Tryptophan, Glutathion, Benzophenon auch Standardpartikel aus Latex verwendet. Da der Gasstrom, der den Partikelgenerator verläßt, mit einigen L/min zu hoch für den nachfolgend beschriebenen Partikelstrahlgenerator ist, wurde durch einen Split nur ein Teil des partikelbeladenen Gasstromes verwendet.

5.2.2 Fokussierung der Partikel

Auf der Grundlage mehrerer gasdynamischer Arbeiten [100-104] wurde ein Düsenaufbau zur Generierung eines Partikelstrahls aus dem mit Partikeln beladenen Gasstrom entworfen und von der ORNL eigenen Glasbläserei hergestellt. Abbildung 13 zeigt eine Querschnittszeichnung der Fokussier-einrichtung. Eine auf 200 μm verjüngte Glaskapillare wird konzentrisch von einer äußeren Kapillare umgeben. Diese weist am Ende eine Öffnung von 1 mm Durchmesser auf und dient zum Führen des Mantelgasstromes. Der partikelbeladene Gasstrom aus dem Aerosolgenerator wird durch die innere Kapillare geleitet und vom Mantelgas zu einem Partikelstrahl geformt. Bei ausgeglichenen Druckverhältnissen zwischen Partikelgasstrom und Mantelgasstrom ist der Partikelstrahl über eine Distanz von ca. 2 – 3 cm stabil und hat einen Durchmesser von wenigen hundert μm . Die Äußere Kapillare hat einen Durchmesser von $\frac{1}{4}$ Inch und kann direkt an eine handelsübliche Swagelok™-Verschraubung angeschlossen werden. Das Düsensystem wird so angeordnet, daß der Partikelstrahl axial auf die Einlaßöffnung des Transfersystems trifft. Die in Abbildung 10 gezeigte Position der Koronanadel bleibt unverändert. Der zur Desorption eingesetzte Nd:YAG-Laser wird auf den Partikelstrahl fokussiert.

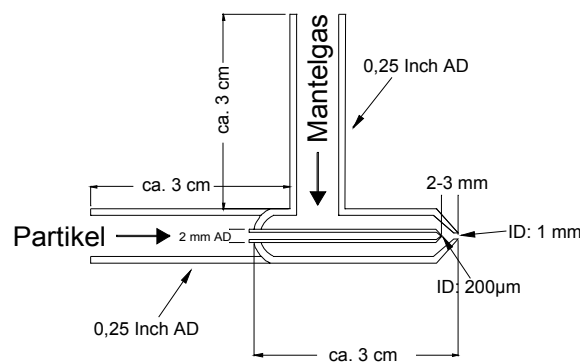


Abbildung 13: Partikelstrahlgenerator

5.2.3 Partikeldetektion und Steuerung des Lasers

Auf den Partikelstrahl wird zusätzlich ein Detektionslaserstrahl fokussiert. Das emittierte Streulicht der einzelnen Partikel wird über eine Sammellinse auf eine Glasfaser fokussiert und zu einem Photomultiplier geleitet. Als Detektionslaser dient ein kleiner frequenzverdoppelter DPSS CW Nd:YAG-Laser. Obwohl es für den Photomultiplier wenig Unterschied macht, welche Wellenlänge verwendet wird, ist dieser Laser mit seiner Wellenlänge von 532 nm gut geeignet, weil das menschliche Auge besonders empfindlich für grünes Licht ist und die Justierarbeiten dadurch erleichtert werden. Zur Weiterverarbeitung der Signale des Photomultipliers wurde eine elektrische Schaltung entwickelt, welche im richtigen Moment den Desorptionslaser auslöst. Die aufgebaute Elektronik greift außerdem in die Signalverarbeitung des Massenspektrometers ein. Sobald das Gerät über das bereits in Kapitel 4.1 beschriebene „e-Gate Signal“ anzeigt, das nun Ionen in der Falle gespeichert werden, wird der Steuerungsprozessor (CPU) und somit das gesamte Massenspektrometer angehalten. Wenn vom PMT das Streulicht eines Partikels detektiert wird, löst

die Elektronik den Desorptionslaser aus und startet die CPU wieder. Das Massenspektrometer verarbeitet die generierten Ionen und mit dem erneuten Anstieg des „e-Gate Signals“ beginnt der Zyklus von vorne. Somit ist der gesamte Analysezyklus abhängig vom Eintreffen eines Partikels und das System arbeitet „on demand“.

5.2.4 Schaltungsbeschreibung der Steuerelektronik

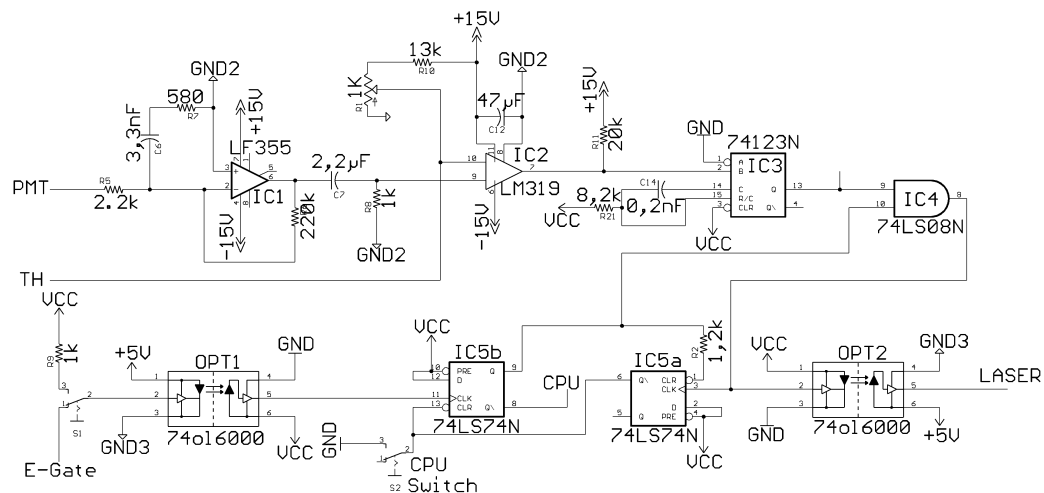


Abbildung 14: Schaltplan der Steuerelektronik

Die Verstärkerkaskaden des Photomultipliers erzeugen beim Detektieren des Streulichtes negative Strompulse welche durch den hier als invertierenden Verstärker aufgebauten JFET Operationsverstärker LF355 (IC1) in positive Spannungspulse konvertiert werden. Das verstärkte Signal wird vom Hochgeschwindigkeits-Komparator LM319 mit einem, über das 1 kΩ Potentiometer R1 eingestellten Schwellwert verglichen. Der Schwellwert dient zur Klassifizierung der Streulichtintensität und verhindert die Fehlinterpretation des thermischen Rauschens des Photomultipliers als Partikelsignal. Beim Überschreiten des Schwellwertes schaltet der Komparator durch und triggert IC3. Der TTL Baustein 74123 dient zur Pulsformung und liefert mit dem verwendeten Widerstand von 8,2 kΩ und dem Kondensator mit 0,2 nF Pulse mit einer Breite von ca. 500 ns.

Das „e-Gate Signal“ vom Massenspektrometer wird über den Optokopler OPT1 zum IC5b geleitet. Die beiden Bausteine des Flipflops 7474 sind so miteinander verschaltet, daß die ansteigende Flanke des „Gate-Signals“ den invertierten Ausgang von IC5b (Pin8 Q) auf Low setzt. Dieser Ausgang wird verwendet, um die CPU des Massenspektrometers über die Funktion CPU-Hold anzuhalten. Es wird das Low-Signal benutzt, weil es am einfachsten war, die CPU über einen auf der Platine befindlichen Inverter anzusteuern. Abbildung 15 berücksichtigt dies und zeigt das zum Anhalten der CPU erforderliche High Signal.

Die nun auf diese Weise gestoppte CPU verbleibt in diesem Zustand bis ein Partikel detektiert wird. Wenn dies der Fall ist, liegen beide Eingänge des UND-Gatters von IC4 auf High. IC4 schaltet daraufhin durch, triggert über den Optokopler OPT2 den Desorptionslaser und schaltet aufgrund der ansteigenden

Flanke auf Pin 3 von IC5a den Ausgang (Pin8) wieder auf High, wodurch die CPU wieder gestartet wird. Dadurch, daß die CPU sofort angehalten wird, wenn das „e-Gate Signal“ eintrifft, ist die Scanzeit nach dem Triggern des Desorptionslasers gleich der über die Software des Massenspektrometers eingestellten Ionisationszeit (siehe Abbildung 15).

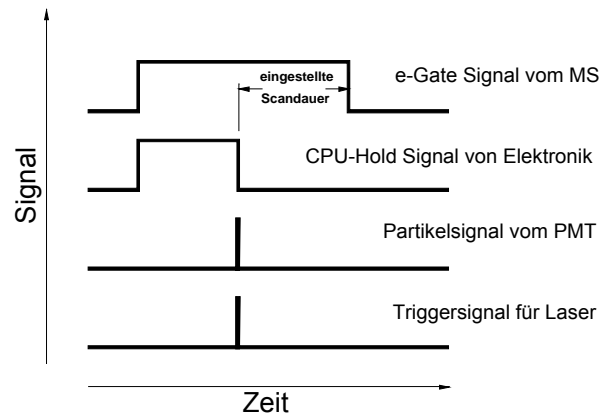


Abbildung 15: Ablaufdiagramm Lasersteuerung

5.2.5 Versuchsergebnisse

Trotz Variation aller veränderbaren Versuchsparameter (Position von Koronadadel, Partikelstrahl und Desorptionslaser, Pulsenergie und Größe des Fokus, sowie Scanzeit und der elektrischen Parameter des Transfersystems) konnten keine Massenspektren von Partikeln aufgezeichnet werden. Auch die Vergrößerung des Partikeldurchmessers durch Konzentrationserhöhung der zerstäubten Analytlösung blieb erfolglos. Ebenfalls der Einsatz eines Vibrating Orifice Aerosol Generators (VOAG) zur Erzeugung von Partikeln mit Durchmessern von einigen μm blieb ohne Erfolg. Der Grund des Scheiterns liegt wahrscheinlich in der ungenügenden Empfindlichkeit des modifizierten Massenspektrometers. Die absolute Empfindlichkeit konnte nicht ermittelt werden, da keine Gerätschaften für die Gasanalytik vorhanden waren. Problematisch war auch, daß keine definierte und konstante Ionenquelle für die eingesetzten Analyten verfügbar war, die zur optimalen Justierung des Transfersystems hätte verwendet werden können. Ob der Ansatz, deponierte oder partikuläre Analyten mittels Laserpulse zuerst in die Gasphase zu bringen und das neutrale, gasförmige Material in einem zweiten Schritt mit einer Koronaentladung zu Ionisieren durchführbar ist oder nicht, konnte mit dem vorliegenden System nicht geklärt werden.

6 *Versuche mit einem LCQ DECA XP-PLUS Massenspektrometer*

Zum Ende des Forschungsaufenthaltes am ORNL bestand die Möglichkeit drei Tage an einem Finnigan Deca XP-Plus Massenspektrometer einer anderen Arbeitsgruppe zu messen. Das Gerät ist serienmäßig mit einem Transfersystem für Atmosphärendruckionenquellen ausgerüstet. Dieses ist bis auf wenige Unterschiede mit dem Transfersystem des in Kapitel 8 beschriebenen Finnigan DECA Massenspektrometers identisch und wird daher hier nicht im Detail beschrieben. Zur zeitlichen Steuerung des Desorptionslasers wird der „Tube Gate Offset“, welcher zur Einlaßregulierung der Ionen durch die Transferkapillare dient, verwendet. Über einem Spannungsteiler ($R_{\text{ges}} = 1 \text{ M}\Omega$) wird ein Pulsgenerator getriggert, welcher wiederum den Laser steuert. Bei allen Versuchen wurde ohne AGC gearbeitet (siehe Kapitel 8).

6.1 *Desorptionsversuche an Metalloberflächen*

Für die Desorptionsversuche mit dem DECA XP Plus Massenspektrometer wurde eine Edelstahloberfläche mit einem Durchmesser von 4 mm verwendet. Die polierte Oberfläche wird mit dem in wäßriger Lösung vorliegenden Analyten beladen und nach dem Trocknen, wie in Abbildung 16 gezeigt, im Abstand von ca. 3 – 5 mm vor die Einlaßkapillare positioniert. Mit einem Hochspannungsnetzgerät wird das Potential der Oberfläche auf 900 V eingestellt. Die Koronanadel befindet sich im Abstand von 20 – 30 mm vor der Einlaßöffnung. Bei geringeren Abständen kam es häufig zu Entladungen zwischen der Nadel und der Einlaßkapillaren. Die Entladespannung beträgt 4,5 kV, wodurch sich ein Entladestrom von $0,5 \mu\text{A}$ ergibt. Zu Beginn eines jeden Scans wird der Laser wie oben beschrieben durch den „Tube Gate Offset“ ausgelöst.

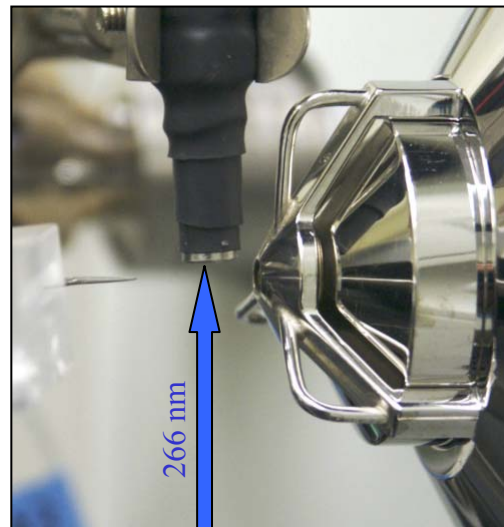


Abbildung 16: Versuchsaufbau DECA XP Plus

Aufgrund der begrenzten Messzeit wurde nur mit der Aminosäure Tryptophan gearbeitet. Als erstes wurde durch die Wiederholung der Desorptionsversuche an Oberflächen überprüft, ob die Annahme, daß das bisher verwendete Gerät für diese Art von Versuchen nicht empfindlich genug ist zutrifft oder ob ein generelles Problem besteht.

Die Versuche verliefen vielversprechend. Mit Laserbeschuß und eingeschalteter Koronaentladung konnte das in Abbildung 18 gezeigte Massenspektrum für Tryptophan aufgezeichnet werden. Ein Vergleich mit den in Abbildung 17 gezeigten Massenspektren, welche nur mit aktiver Koronaentladung bzw. nur

mit Laserbeschuß aufgenommen wurden, zeigt die deutliche Steigerung der Signalintensität und Signalqualität, welche durch die Kombination von Laserbeschuß und Koronaentladung erzielt werden können.

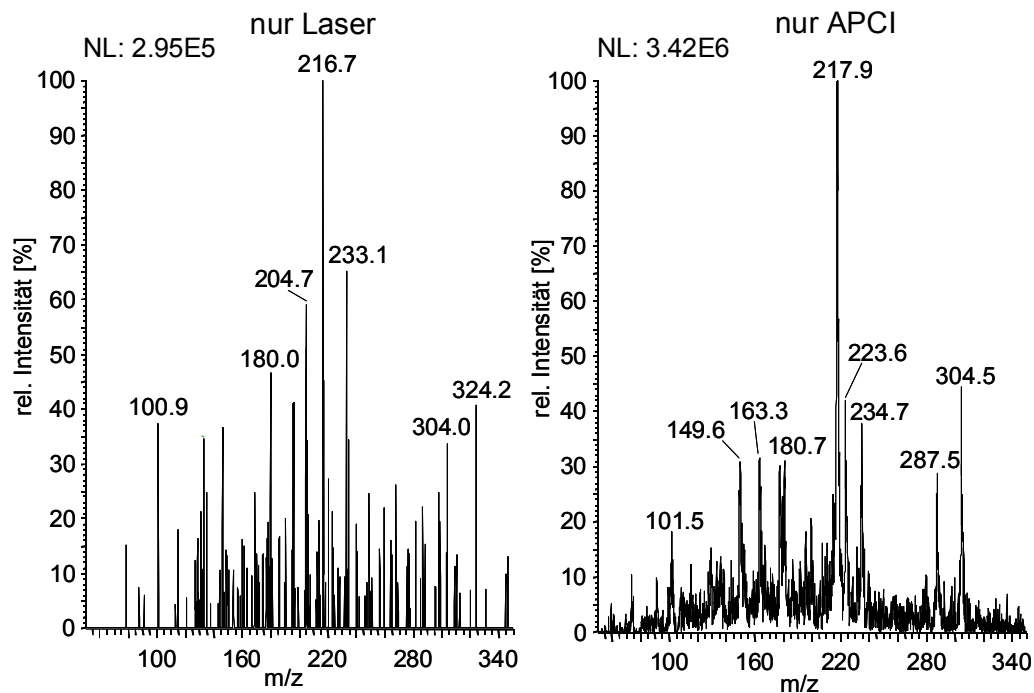


Abbildung 17: Massenspektren aufgenommen nur mit Laserbeschuß, bzw. nur mit APCI

Die Tatsache, dass nur mit Laserbeschuß ein Massenspektrum aufgenommen werden konnte, zeigte zwar, daß durch den Laserpuls ebenfalls Ionen generiert werden, aber die geringe Signalintensität ließ vermuten, daß die durch den Laserpuls generierten Ionen im Vergleich zur Anzahl der emittierten Neutralteilchen so gut wie keinen Einfluß auf das Gesamtsignal haben. Insbesondere die Beobachtung, daß im Falle der Kombination von Laserpuls und Koronaentladung ausschließlich ein Signal für das Pseudomolekularion $[M+H]^+$ ($M_{\text{Tryptophan}} = 204,23 \text{ g/mol}$) aufgezeichnet werden konnte, schien zu bestätigen, daß neutrales Tryptophan in die Gasphase überführt wird, welches dort durch die in Kapitel 3.2.3.1 beschriebenen Prozesse in der Koronaentladung protoniert wird. Wie sich später herausstellen sollte, stammt wahrscheinlich der überwiegende Teil der Ionen aus Photoionisationsprozessen und das elektrische Feld der Koronaentladung begünstigt lediglich den Ionentransport zur Einlaßöffnung des Massenspektrometers. Nähere Informationen dazu folgen im nächsten Kapitel.

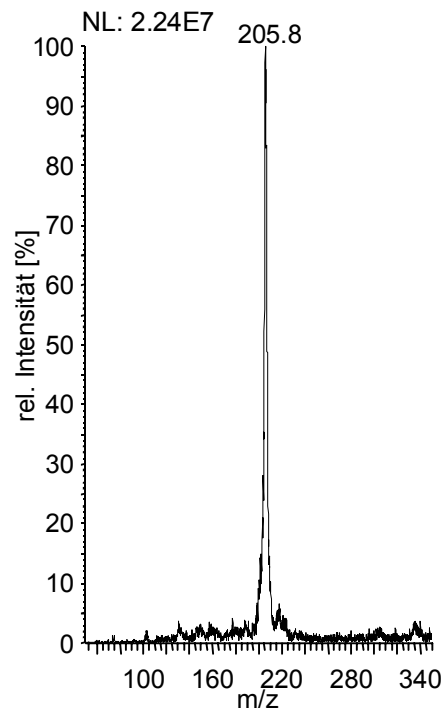


Abbildung 18: Laser + APCI

6.2 Desorptionsversuche mit Partikeln

Bestärkt in der Annahme, daß das bisherige Fehlschlagen der Versuche auf die ungenügende Empfindlichkeit des umgebauten Varian Saturn 2000 Massenspektrometers zurückzuführen war, wurde beschlossen die restliche Meßzeit für Partikelexperimente zu verwenden.

Um den Versuchsaufbau möglichst einfach zu halten, wurde auf den Einsatz des in Kapitel 5.2.2 beschriebenen Düsensystems zur Generierung eines Partikelstrahls verzichtet. Durch die Verwendung einer einfachen ausgezogenen Glaskapillaren ist zwar der Partikelstrahl viel breiter und nicht so gut definiert, wie bei der Verwendung des Düsensystems. Dies ist aber auch nicht erforderlich, weil bei diesem Versuchsaufbau die Partikel nicht detektiert wurden. Es bestand keine Möglichkeit in die Steuerelektronik des Massenspektrometers einzugreifen und damit die Datenverarbeitung bis zum Eintreffen eines Partikels anzuhalten. Eine scharf definierter Partikelstrahl, welcher die Detektion der einzelnen Partikel ermöglicht, war daher nicht notwendig. Die Verwendung einer einfachen ausgezogenen Glaskapillaren reduzierte darüber hinaus noch die Gefahr des Zusetzens der Düse. Analog zu den vorherigen Versuchen wurde der Laserpuls durch das „Tube Gate Offset“ Signal zu Beginn eines jeden Scans ausgelöst. Partikel können aus diesem Grund nur zufällig getroffen werden, wenn sich zum Zeitpunkt des Laserpulses ein Partikel im Fokus des Laserstrahls befindet.



Abbildung 19: Versuchsaufbau für Partikelexperimente

Erste Versuche zeigten schnell, daß die Ausrichtung des partikelbeladenen Gasstromes verändert werden mußte. Bei axialer Ausrichtung wird zwar der Materialtransport in das Massenspektrometer begünstigt, es ergeben sich aber Probleme mit impaktierten Partikeln an der Transferkapillaren. Weil die Temperatur der Kapillaren 200°C beträgt, führt dies nach einiger Zeit dazu, daß ein starkes Signal des hier verwendeten Analyten Tryptophan detektiert werden kann, welches von verdampfendem Material auf der Oberfläche der Transferkapillaren resultiert. Deshalb wurde die Glaskapillare, wie auf Abbildung 19 zu erkennen, im rechten Winkel zur Einlaßkapillaren positioniert. Nicht desorbiertes Partikelmaterial fliegt nun an der Einlaßöffnung vorbei. Die Koronanadel wurde im Abstand von 20 – 30 mm vor der Einlaßöffnung positioniert. Der Fokus des Desorptionslasers befand sich ca. 5 mm vor der Einlaßkapillaren.

Abbildung 20 zeigt das über mehrere Minuten aufgenommene Totalionen-chromatogramm, sowie die Massenspur für Ionen, die aus Tryptophanpartikeln resultieren. In den ersten beiden Minuten (Chromatogramm wurde gekürzt) ist nur die Koronaentladung eingeschaltet. Weil die Partikel nicht mit der weichen

Ionenquelle wechselwirken, kann kein Signal für Tryptophan detektiert werden. Nach dem Einschalten des Lasers (2. bis 8. Minute) konnten vereinzelt Massenspektren aufgezeichnet werden, die eindeutig Signale enthalten, welche auf desorbiertes Tryptophan zurückzuführen sind.

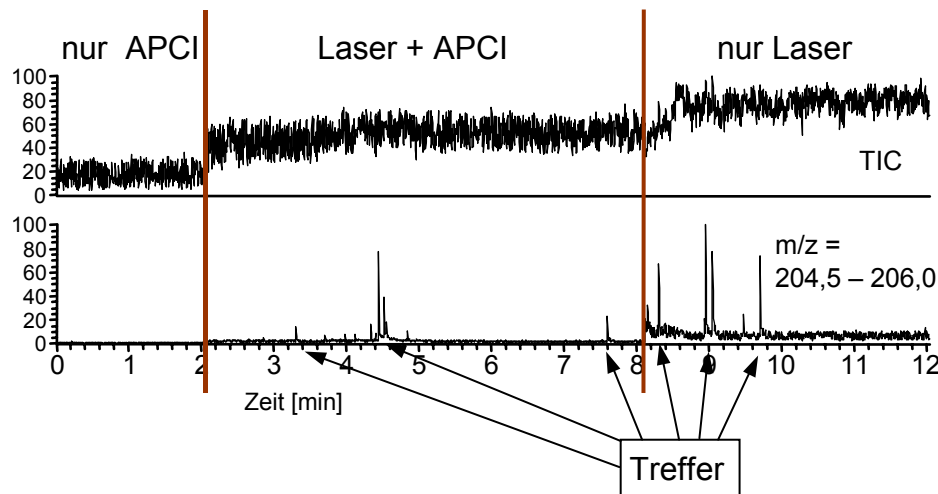


Abbildung 20: TIC und Massenchromatogramm für Partikelexperiment

Abbildung 21 zeigt eines der aufgenommenen Massenspektren eines „Treffers“. Zur Überprüfung der Theorie, daß der Laser das Partikel nur desorbiert und nicht ionisiert, wurde die Koronaentladung deaktiviert und der Partikelstrahl nur mit dem Nd:YAG-Laser beschossen. Trotz ausgeschalteter Koronaentladung konnte ein Signal für das Pseudomolekül $[M+H]^+$ von Tryptophan detektiert werden. Dies zeigt, daß bei diesem Aufbau nicht die Reaktionen in der Koronaentladung, sondern allein der Laserpuls für die Ionenbildung verantwortlich ist.

Das bei der Photoionisation primär gebildete Radikalkation, welches im Regelfall als Molekülion $[M]^+$ im Massenspektrum detektiert wird, kann unter Atmosphärendruck durch Radikalreaktionen mit neutralen Analytmolekülen oder unter Einwirkung von ubiquitärem Wasser in der Laborluft zur Bildung von $[M+H]^+$ führen [105]. Die Detektion des Signals für das Pseudomolekül ist in diesem Fall daher irreführend, aber nicht ungewöhnlich.

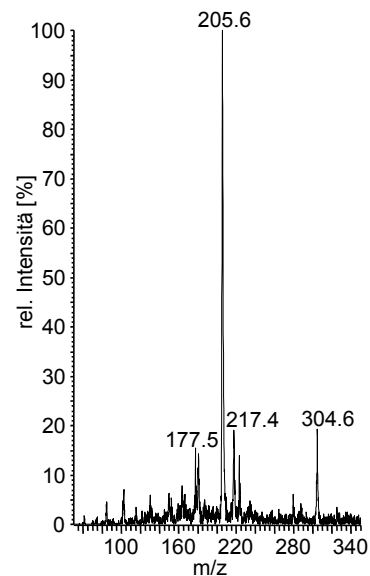


Abbildung 21: Massenspektrum eines „Treffers“

Wahrscheinlich hat auch bei den vorhergehenden Versuchen die Potentialdifferenz der Koronaentladung lediglich den Ionentransport zur Einlaßöffnung des Massenspektrometers begünstigt. Bei den zuletzt durchgeführten Partikelexperimenten hat offenbar der nah an der Einlaßöffnung vorbeigeführte Trägergasstrom diese Transportfunktion übernommen. Eine Reduktion der Laserenergie führte zu keinem detektierbaren Signal. Weitere Bemühungen, die

Pulsenergie so zu dosieren, daß einzelne Partikel nur desorbiert und nicht gleichzeitig ionisiert werden, schlugen fehl.

Die erste Ionisationsenergie von Tryptophan beträgt 8,43 eV [106]. Zur Photoionisation sind daher zwei Photonen mit einer Wellenlänge von 266 nm (4,66 eV/Photon) notwendig. Zweiphotonige Übergänge sind relativ wahrscheinlich und die einzige Möglichkeit, die auftretende Ionisation zu unterdrücken, besteht in der Erhöhung der Wellenlänge des Lasers. Die Fundamentalwellenlänge eines Nd:YAG-Lasers beträgt 1064 nm, welche durch zweimalige Frequenzverdopplung auf 266 nm verkürzt wird. Bei einer Wellenlänge von 1064 nm beträgt die Energie eines Photons nur noch 1,17 eV und eine Photoionisation über Multiphotonabsorption ist deutlich weniger wahrscheinlich. Es wurde daher beschlossen, die Partikelexperimente mit 1064 nm zu wiederholen.

Um die Fundamentalwellenlänge des Lasers verwenden zu können, wurde die Gehäuseabdeckung des Laserkopfes entfernt und die beiden frequenzverdoppelnden Kristalle ausgebaut. Durch Einbau eines Prismas, welches den Laserstrahl um 90° ablenkt, wird der Laserpuls unter Umgehung der serienmäßigen Filteroptik, welche normalerweise dazu dient Restlicht mit einer von 266 nm abweichenden Wellenlänge herauszufiltern, seitlich aus dem Gehäuse herausgeführt. Nach der Justierung des Strahlengangs wurden die Partikelexperimente mit Tryptophan wiederholt.

Abbildung 22 zeigt neben dem Totalionenchromatogramm die aufgenommene Massenspur für den Massenbereich m/z 204,5 – 206,0. Während der ersten zweieinhalb Minuten war der Partikelgasstrom nicht eingeschaltet. Wenn Partikel durch die Koronaentladung geleitet und mit dem Laser beschossen wurden, konnte zwar eine verstärkte Fluktuation des Totalionenstromes beobachtet werden, aber nur in zwei Fällen war ein Signal für Pseudomolekülonen von Tryptophan erkennbar. In allen anderen Fällen, waren lediglich die Intensitäten der Hintergrundsignale erhöht. Einem Spektrum mit erhöhter Intensität des Totalionenstromes ging meistens mit einem deutlich vernehmbaren Knall einher. Dies war offenbar dann der Fall, wenn ein Partikel getroffen wurde. Trotz dieser deutlichen Interaktion von Laserpuls mit dem Partikelgasstrom, konnte nur in zwei Fällen ein Massenspektrum aufgezeichnet werden, welches Ionen zeigt, die eindeutig von desorbiertem Tryptophan resultieren. Abbildung 23 zeigt eines der beiden Spektren.

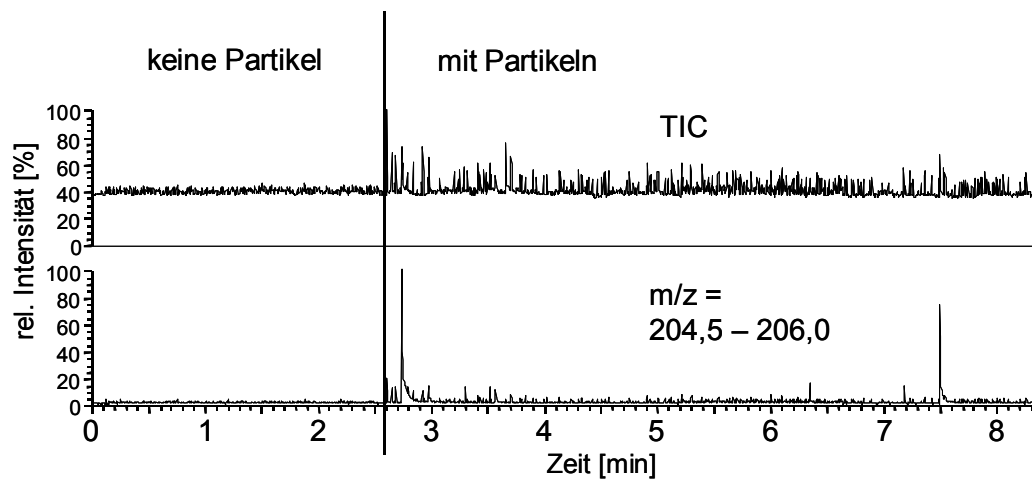


Abbildung 22: TIC und Massenchromatogramm für Partikelexperiment mit 1064 nm

Die mit der Fundamentalwellenlänge durchgeführten Versuche zeigen aus nicht geklärten Gründen eine sehr schlechte Reproduzierbarkeit. Alle Bestrebungen eine Versuchsreihe aufzunehmen, welche eindeutig zeigt, daß durch den Laserpuls das Partikelmaterial lediglich desorbiert wird und die resultierenden Neutralteilchen von den Prozessen in der Koronaentladung anschließend ionisiert werden, verliefen erfolglos. Aufgrund der auf drei Tage begrenzten Meßzeit am DECA XP Plus Massenspektrometer mußten die Versuche daraufhin eingestellt werden.

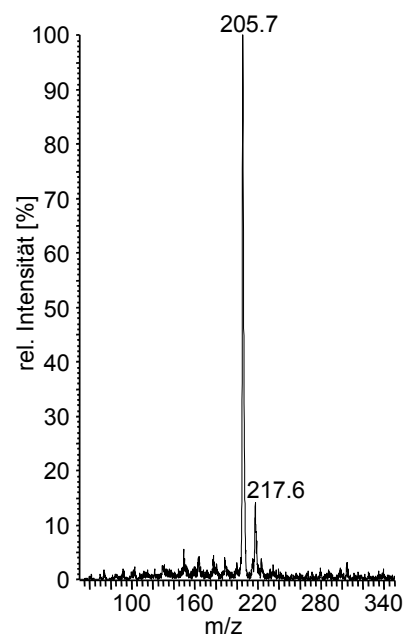


Abbildung 23: „Treffer“ mit 1064 nm Laserpuls

7 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die an zwei Massenspektrometern durchgeführten Experimente mit deponiertem, sowie partikulären Material, zeigten, daß eine eindeutige Interaktion zwischen Laserpuls und Analyten beobachtet werden kann. Trotzdem konnte das angestrebte Ziel, durch Trennung von Desorption und Ionisation organisches Material unter Beibehaltung der Molekülstruktur massenspektroskopisch zu untersuchen nicht erreicht werden. Bei der Verwendung von Laserpulsen mit einer Wellenlänge von 266 nm ist trotz Variation der Pulsenergie eine Trennung von Desorption und Ionisation nicht möglich. Versuche mit der Fundamentalwellenlänge des Nd:YAG-Lasers verliefen zwar vielversprechend, aber aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse konnte der Beweis, daß die eingesetzte Koronaentladung tatsächlich für die Ionenbildung verantwortlich ist nicht erbracht werden. Trotzdem zeigten die bisher durchgeführten Versuche, daß eine Einzelpartikelanalytik unter Atmosphärendruck durchführbar ist.

Es wurde daher beschlossen anstelle eines Nd:YAG-Lasers für die Arbeiten am ISAS einen Er:YAG-Laser zu verwenden, da dieser mit seiner Wellenlänge von 2,94 μm ideal geeignet ist um resonant OH- und NH-Streckschwingungen anzuregen. Eine direkte Ionisation des Analyten über MPI ist bei einer Photonenenergie von 0,42 eV äußerst unwahrscheinlich.

II. Arbeiten am Institute for Analytical Sciences (ISAS)

Die in den folgenden Kapiteln beschriebenen Arbeiten wurden während der Zeit vom 02.06.2003 - 31.07.2004 unter der Leitung von Prof. Thorsten Hoffmann am ISAS in Dortmund durchgeführt.

8 Beschreibung/Umbau des LCQ DECA Massenspektrometers

Für alle Arbeiten am ISAS wurde ein Massenspektrometer des Typs LCQ DECA, der Firma Thermo Finnigan, San Jose, CA, USA verwendet. Es ist standardmäßig mit einem Einlaßsystem ausgestattet, welches unter Atmosphärendruck erzeugte Ionen in die unter Vakuum betriebene Ionenfalle transportiert. Das Transfersystem besteht hauptsächlich aus einer Transferkapillare, einem Quadrupol und einem Octapol.

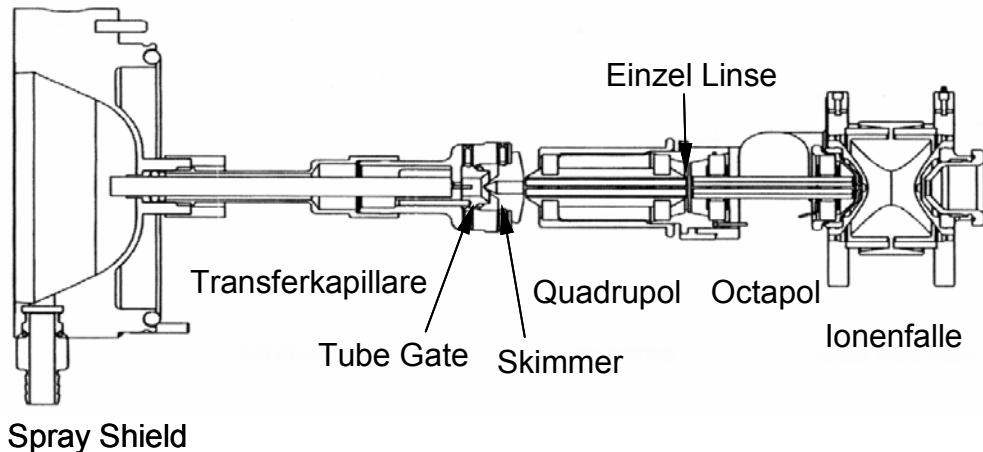


Abbildung 24: Transfersystem LCQ™ DECA (Thermo Finnigan LCQ™ DECA Hardware Manual)

Kommerzielle Ionenquellen (ESI, APCI, Nanospray, AP-MALDI) werden so an dem, die Transferkapillaren umschließenden Spray Shield befestigt, daß ein zur Laborluft separierter Aufbau entsteht. Durch Spülen des Reaktionsraumes mit Stickstoff können störende Hintergrundsignale, welche von Substanzen in der Laborluft resultieren, unterdrückt werden. Die beheizte Transferkapillare ragt ca. 15 mm in das Spray Shield hinein und hat eine Länge von ca. 13 cm. Durch die Bohrung mit einem Durchmesser von 500 µm, transportiert die Transferkapillare je nach eingestellter Temperatur pro Minute ungefähr 600 ml Gas in das Massenspektrometer. Hinter der Transferkapillare befindet sich eine Einzel Linse, das „tube gate“, welche die Ionen auf einen Skimmer fokussiert. Der Skimmer ist relativ zum Auslaß der Transferkapillaren ein wenig versetzt angebracht, um zu verhindern, daß störende Neutralteilchen in die Ionenfalle gelangen.

Hinter dem Skimmer befindet sich ein Quadrupol, gefolgt von einer Einzel Linse, welche die Ionen auf den Einlaß des Octapols fokussiert. Sowohl Quadrupol, wie auch Octapol werden mit einer festen Frequenz von 2,45 MHz und einer Amplitude von 400 V betrieben. Die zum Transport der Ionen notwendige Potentialrampe wird durch zusätzliche Gleichspannungsoffsets von typischerweise -10 bis +10 V realisiert. Die Ionen verlassen den Octapol und werden in der dahinter befindlichen Ionenfalle gespeichert. Die Anzahl, der in der Ionenfalle gespeicherten Ionen wird durch die Einlaßzeit (injection time) kontrolliert. Diese kann je nach Ausbeute der Ionenquelle zwischen wenigen und einigen tausend ms betragen.

Die Speicherfunktion der Falle beruht darauf, daß die Ionen durch äußere, an die Elektroden der Ionenfalle angelegte elektrische Wechselfelder auf stabilen Bahnen in der Ionenfalle präzidieren. Zur Analyse werden die Ionen sequentiell durch eine Bohrung in der detektorseitigen Endelektrode aus der Ionenfalle entfernt (Scan). Dazu wird schrittweise die Amplitude der angelegten Radiofrequenz erhöht, welches bewirkt, daß die gespeicherten Ionen auf instabile Flugbahnen gelangen und schließlich die Ionenfalle verlassen. Bei Erhöhung der Amplitude werden zuerst Ionen mit kleinen Masse zu Ladungsverhältnis aus der Ionenfalle entfernt und bei weiterer Erhöhung diejenigen mit größerem Masse zu Ladungsverhältnis.

Um die Signalqualität zu optimieren ist es normalerweise notwendig, die Anzahl der in der Falle gespeicherte Ionen zu kontrollieren. Eine zu geringe Zahl von Ionen in der Falle führt zu einem ungünstigen Signal zu Rausch-Verhältnis und die einwandfreie Detektion von Signalen kann nicht gewährleistet werden. Sind dagegen zu viele Ionen in der Falle gespeichert, wird das angelegte elektrische Wechselfeld durch die lokalen Ladungen der Ionen verzerrt, was beim Auslesen der Falle zu Signalverbreiterungen führt. Dieser Effekt wird allgemein als Raumladungseffekt bezeichnet.

Die AGC-Funktion („automatic gain control“) hilft Raumladungseffekte zu vermeiden und bestimmt die optimale Einlaßzeit. Dazu wird vor dem eigentlichen Scan ein kurzer Prescan mit definierter Einlaßzeit durchgeführt, welcher nur die Anzahl der gespeicherten Ionen und nicht deren Verteilungsmuster bestimmt. Diese Angabe dient der Steuerungssoftware, zusammen mit der Zielwertvorgabe als Rechengrundlage um die optimale Einlaßzeit zu bestimmen. Die AGC-Funktion wird normalerweise bei allen kontinuierlich arbeitenden Ionenquellen eingesetzt. Im Falle der Laserdesorption mit anschließender Ionisation ist dies aus folgenden Gründen nicht sinnvoll: Zum Einen ist aufgrund der geringen Analytmengen eine Überfüllung der Ionenfalle nicht zu erwarten, zum Anderen werden die Ionen in kurzen Pulsen erzeugt, wodurch die vom Prescan ermittelte Ionenanzahl nicht repräsentativ für die Anzahl der Ionen, die während und nach dem Laserpuls in die Ionenfalle gelangen. Deshalb wurde die AGC-Funktion deaktiviert und statt dessen mit fest eingestellten Einlaßzeiten gearbeitet.

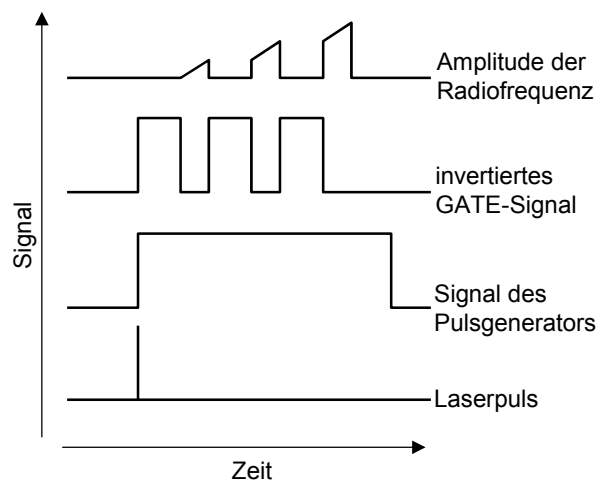
Damit während des Auslesens keine weiteren Ionen in die Falle gelangen, wird an vier Punkten des Transfersystems der Ionen transport unterbrochen: Das „tube gate“ wird mit einem Offset von +200 V (-200 V bei der Analyse von negativen Ionen) belegt, die Einzel-Linse zwischen dem Quadrupol und dem Octapole wird mit einem Offset von +130 V (-130 V bei negativen Ionen) belegt und der Quadrupol, wie auch der Octapole werden abgeschaltet. Die Spannung des „tube gates“ liegt über einen Spannungsteiler auf der Steuerungsplatine als Servicesignal vor. Dieses Signal schaltet zwischen ca. -10 V und +10 V hin und her und zeigt damit an, ob das „tube gate“ das Passieren der Ionen ermöglicht oder unterbindet.

Der Hersteller der Massenspektrometers ermöglicht es nicht in den zeitlichen Ablauf von Speichern der Ionen und Auslesen der Falle einzugreifen. Deshalb

ist die Beobachtung und Verwendung des beschriebenen Servicesignals die einzige Möglichkeit den aktuellen Betriebszustand des Gerätes (Speichern/Auslesen) in Erfahrung zu bringen. Für alle Desorptionsexperimente an Oberflächen wurde die abfallende Flanke des Servicesignals zu Beginn der Einlaßzeit, welche anzeigt, daß das Transfersystem nun Ionen in die Ionenfalle läßt, als Triggersignal für den Er:YAG-Laser verwendet.

Um das Signal zu Rausch-Verhältnis der Spektren weiter zu verbessern, ermöglicht eine weitere Funktion des Massenspektrometers sogenannte Microscans durchzuführen. Das angezeigte und aufgenommene Massenspektrum wird dabei über die eingestellte Anzahl der Microscans gemittelt. Weil für die vorliegende Arbeit das von einzelnen Laserpulsen resultierende Massenspektrum interessant ist, wurde diese Funktion ebenfalls deaktiviert.

Die Qualität der Spektren kann dadurch verbessert werden, daß ein Scan in sogenannte Subscans unterteilt wird. Die Steuersoftware verteilt dazu die eingestellte Einlaßzeit auf mehrere Scans, die jeweils nur einen Teil der Ionen erfassen. Bei jedem Subscan wird deshalb nur ein Teil des eingestellten Massenbereichs ausgelesen. Ob und wie viele Subscans durchgeführt werden, kann vom Benutzer nicht gesteuert werden und richtet sich nach dem eingestellten Massenbereich. Zwischen den Subscans werden immer wieder Ionen in die Falle gelassen, was dazu führt, daß auch der Laser über das Gate-Signal mehrmals getriggert werden würde. Deshalb wurden vorzugsweise Scanparameter eingestellt, bei denen keine Subscans durchgeführt werden.



Grafik 2: Ablaufschema Subscans

Wenn dies nicht möglich war, wurde mit einem Pulsgenerator eine, die Mehrfachpulse einschließende Funktion generiert, die dann den Laser triggert. Grafik 2 verdeutlicht dies anhand eines Beispiels in dem drei Subscans durchgeführt werden. Diese Vorgehensweise ist suboptimal, weil zum Einen die während der Subscans generierten Ionen nicht erfaßt werden können und zum Anderen dieses Prinzip eine kontinuierliche Ionenquelle voraussetzt und annimmt, daß zwischen den einzelnen Subscans der Ionenfluss konstant ist. Das ist aber bei der vorliegenden, gepulsten Ionenquelle nicht der Fall. Massen-

spektren, die in dieser Arbeit mit der beschriebenen Methode aufgenommen wurden, sind speziell gekennzeichnet.

Ein weiteres Problem, welches es zu lösen galt, war die schlechte Zugänglichkeit der Einlaßkapillaren. Wie Abbildung 24 zeigt, ist der Einlaß der Transferkapillaren vom Spray Shield umgeben und läßt nur wenig Spielraum zu Positionierung von nicht kommerziellen Ionenquellen. Die Verwendung einer Kapillarverlängerung sollte aufgrund der einhergehenden Ionenverluste weitestgehend vermieden werden. Das Originalteil wurde daher durch ein neu entworfenes Spray Shield ersetzt, welches so konzipiert wurde, daß es universell einsetzbar ist, damit kommerzielle Ionenquellen an dem verwendeten Gerät weiter genutzt werden können.

Von der feinmechanischen Werkstatt des ISAS wurde ein zweigeteiltes Formteil hergestellt, das dem erhöhten Platzbedarf bei Laboraufbauten gerecht wird und über den Einsatz eines Adapters die Verwendung der kommerziellen Ionenquellen weiterhin ermöglicht. Die beiden Abbildungen unten zeigen das neue Spray Shield mit und ohne „Adapter-C“. Eine Kapillarverlängerung konnte zwar nicht ganz vermieden werden, aber auf 15 mm verkürzt werden (siehe auch Abbildung 58 auf Seite 72).

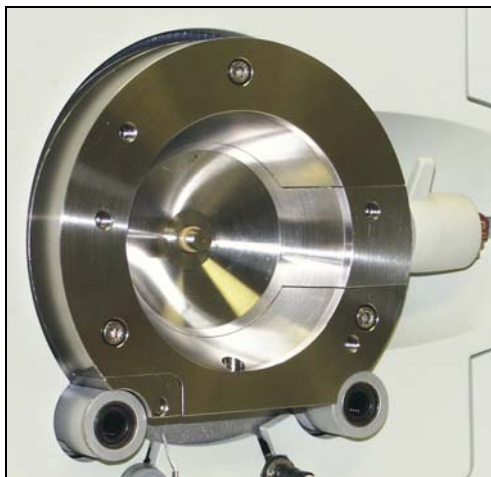


Abbildung 26: Spray Shield mit Adapter



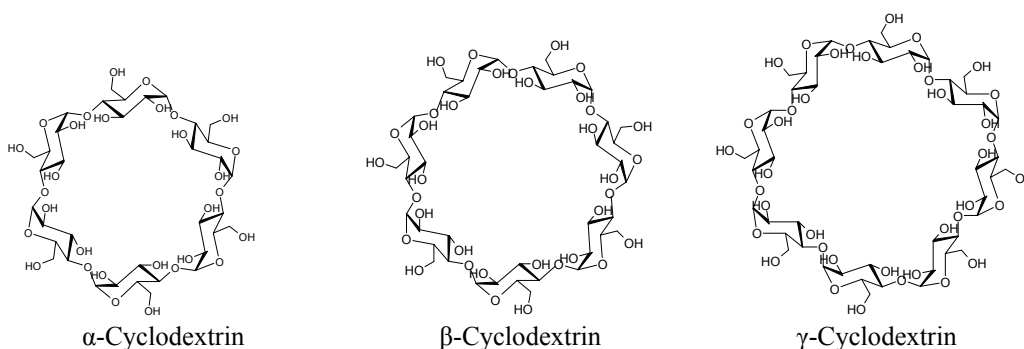
Abbildung 25: Spray Shield ohne Adapter

9 Auswahl der Analyten

Für die Partikelexperimente werden zur resonanten Einkopplung der Laserenergie, Analyten mit einem hohen Absorptionskoeffizienten bei der Wellenlänge des Er:YAG-Lasers ($\lambda = 2,94 \mu\text{m}$) benötigt. Außerdem sollten sie, aufgrund des in Abschnitt 11.1 beschriebenen Herstellungsverfahrens der Partikel eine gute Löslichkeit in Wasser aufweisen und im Milligrammaßstab zu erschwinglichen Preisen erhältlich sein. Aufgrund der Tatsache, daß nur ein Teil der Partikel desorbiert wird und eine Absaugung der überschüssigen Partikel nicht hundertprozentig gewährleistet werden kann, sollten die eingesetzten Analyten darüber hinaus weitestgehend ungiftig sein.

Erste Versuche wurden, wie bereits am ORNL geschehen mit Tryptophan durchgeführt. Es zeigte sich aber schnell der große Nachteil des zur Laborluft offenen Versuchsaufbaus: Während dieses Problem am ORNL nicht bestand sind am ISAS im unteren Massenbereich (bis ca. m/z 550) die Hintergrundsignale sehr intensiv. Diese resultieren hauptsächlich von Weichmachern, die von allgegenwärtigen Kunststoffgegenständen emittiert werden. Bei der Verwendung von kommerziellen Ionenquellen stellt dies, aufgrund des abgeschirmten und mit Stickstoff gespülten Aufbaus, kein Problem dar. Damit sinnvolle Messungen mit einem zur Laborluft offenen Aufbau überhaupt möglich sind, müssen die Molekülmassen der Modellanalyten daher über 550 g/mol liegen. Eine Eignung der Analyten für APCI-Experimente ergibt sich bereits aus der Fragestellung.

Eine Substanzklasse, die die oben angegebenen Erfordernisse gut erfüllt, ist die der Cyclodextrine. Cyclodextrine, auch Schardinger Zucker genannt, sind cyclische Oligomere aus α -1,4-verknüpften Glucopyranoseeinheiten. Die drei natürlich vorkommenden und am besten untersuchten Cyclodextrine sind α -, β -, und γ -Cyclodextrin mit jeweils 6, 7 beziehungsweise 8 Monomeren.



Cyclodextrine sind seit 1891 [107] bekannt und vor allem aufgrund der Fähigkeit Wirt-Gast-Komplexe bilden zu können von wissenschaftlichem Interesse. Die konusförmigen Moleküle besitzen eine hydrophile Wandung, die einen lipophilen Innenraum umschließt. Diese Form hat ihnen den Namen „molekulare Zuckertüten“ beschert. Der lipophile Innenraum macht sie für eine Vielzahl von industriellen Anwendungen interessant. So werden sie beispielsweise dafür verwendet durch ihren hydrophilen Charakter die Bioaktivität von eingelagerten, wenig wasserlöslichen Medikamenten zu erhöhen.

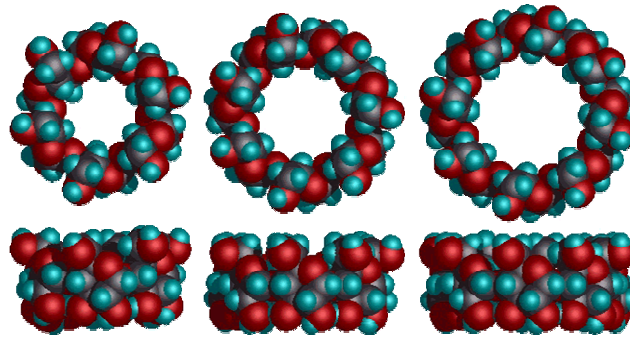


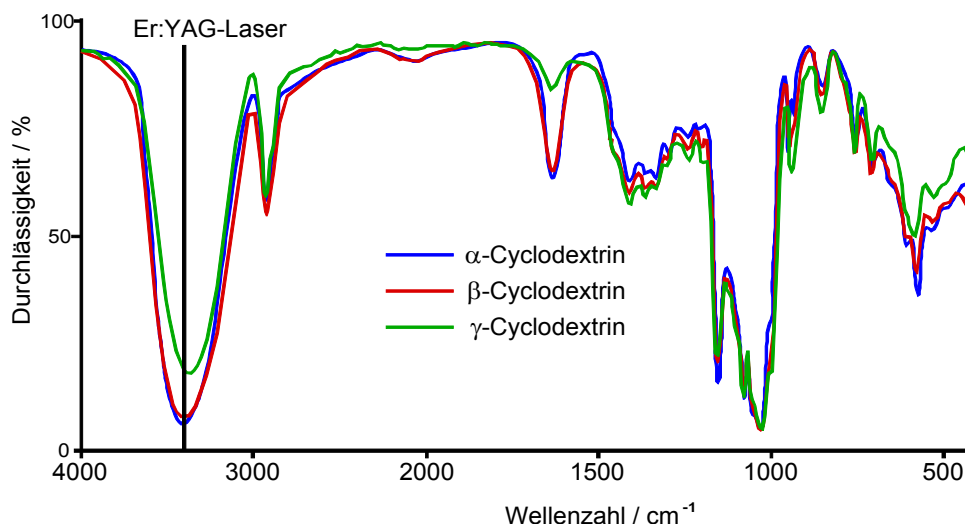
Abbildung 27: Kalottenmodelle von α -, β -, und γ -Cyclodextrin
Bildquelle: Toyama National College of Technology, Japan

Cyclodextrine sind ungiftig, solange sie nicht in die Blutbahn injiziert werden, da sie dort mit Cholesterin schwerlösliche Komplexe bilden und die Blutadern verstopfen können. In vielen Ländern sind sie als Nahrungsmittelzusatz zugelassen und werden in Medikamenten als Trägersubstanz für Wirkstoffe eingesetzt. Hergestellt werden sie durch die Umsetzung von Stärke mit Cyclodextringlycosyltransferase (CGTase), die aus verschiedenen Organismen extrahiert werden kann. Das Enzym wurde erstmals im *Bacillus macerans* entdeckt und liefert neben α - und γ - hauptsächlich β -Cyclodextrin. Durch gezielte Suche konnten Bakterien isoliert werden, deren Enzyme hauptsächlich α - oder β -Cyclodextrin synthetisieren.

	α -Cyclodextrin	β -Cyclodextrin	γ -Cyclodextrin
Glucoseeinheiten	6	7	8
Summenformel	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
$M (^{12}C)$ [$g \cdot mol^{-1}$]	972	1134	1296
Käfigdurchmesser [Å]	4,7 - 5,3	6,0 - 6,5	7,5 - 8,3
Löslichkeit [g/ 100 mL H_2O]	14,5	1,85	23,2
Schmelzbereich [°C]	250-260	255-265	240-245

Tabelle 1: Stoffeigenschaften von α -, β -, und γ -Cyclodextrin

Die im Vergleich zu den anderen Cyclodextrinen relativ schlechte Löslichkeit von β -Cyclodextrin in Wasser läßt sich dadurch erklären, daß beim β -Cyclodextrinmolekül die benachbarten Hydroxylgruppen am C2 und C3-Atom der Monomereinheiten untereinander H-Brückenbindungen eingehen können und dadurch zur Hydratation nicht mehr zur Verfügung stehen. Grafik 3 zeigt die IR-Spektren der drei in dieser Arbeit verwendeten Cyclodextrine. Das Absorptionsmaximum bei 3401 cm^{-1} ($2,94\text{ }\mu\text{m}$), hervorgerufen durch die Absorptionsbanden der OH-Streckschwingungen ist deutlich zu erkennen.



Grafik 3: IR-Spektren von α -, β - und γ -Cyclodextrin

Zu klären blieb, ob sich Cyclodextrine für APCI-Versuche eignen und Signale der intakten Moleküle beobachtet werden können. Die Koronaentladung gilt allgemein als eine weiche Ionenquelle, trotzdem kann, insbesondere bei sehr großen Molekülen, teilweise eine Fragmentierung der Analyten beobachtet werden. Es sollte daher zunächst sichergestellt werden, ob die ausgesuchten Analyten als Modellsubstanzen für das Projekt geeignet sind. Die einfachste Methode um dies zu überprüfen ist der Einsatz einer kommerziellen APCI-Quelle. Es wurde daher die für Flüssigkeiten optimierte Ionenquelle, wie sie von Thermo-Finnigan ausgeliefert wird, verwendet. Die kommerzielle APCI-Quelle spiegelt die Versuchsbedingungen, wie sie bei Desorptionsexperimenten mit Lasern auftreten nur sehr schlecht wieder, weil zum Verdampfen die Analytlösung hinter dem Zerstäuber für einige ms auf ca. 300 - 450°C erhitzt wird.

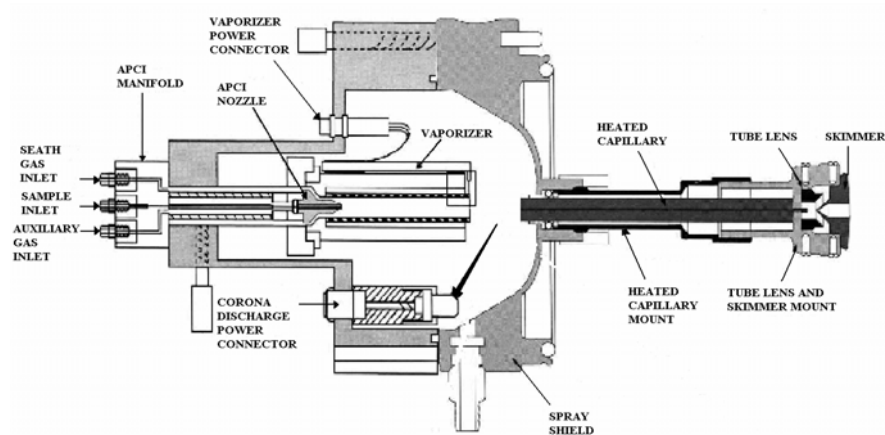


Abbildung 28: Aufbau der kommerziellen APCI-Ionenquelle
(Thermo Finnigan LCQ™ DECA Hardware Manual)

Es war zu erwarten, daß sich die Analyten aufgrund der Hitzeeinwirkung teilweise zersetzen würden. Da bei den späteren im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen der Verdampfer durch einen Desorptionslaser ersetzt

und die langanhaltende Hitze einwirkung entfällt, sollten Versuche mit der kommerziellen APCI-Quelle nur darüber Aufschluß darüber, ob die Koronaentladung als Ionenquelle generell für die Untersuchung von Cyclodextrinen geeignet ist und ob ein - wenn auch schwaches - Signal für die Molekülionen beobachtet werden kann.

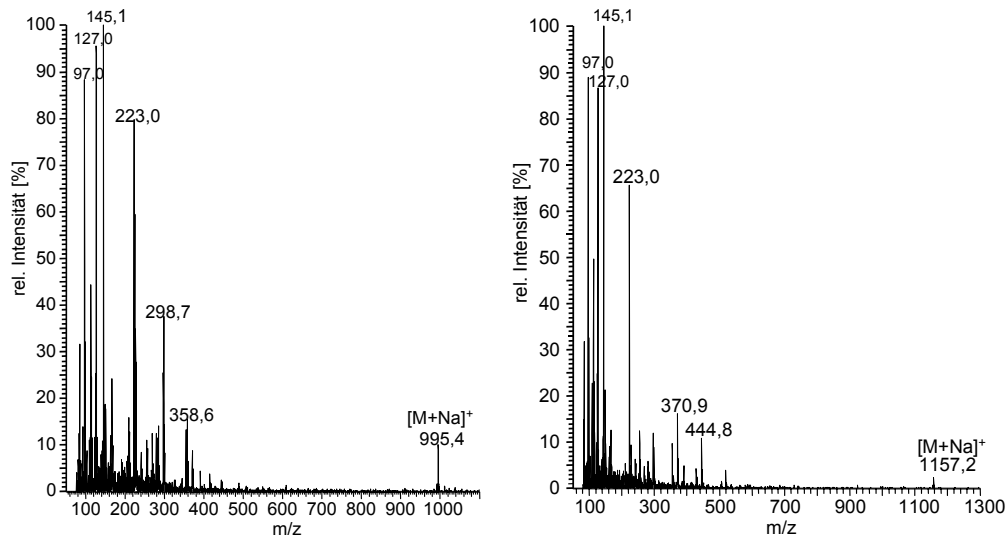


Abbildung 29: APCI-Massenspektren von α - und β -Cyclodextrin

Für diese Vorversuche wurden wäßrige Lösungen von α -Cyclodextrin (2,16 mg/100 mL), β -Cyclodextrin (3,16 mg/100 mL) und γ -Cyclodextrin (1,38 mg/100 mL) hergestellt und über eine Spritzenpumpe in die APCI-Quelle des Massenspektrometers eingeleitet. Die Abbildungen zeigen die hintergrundkorrigierten Massenspektren der untersuchten Analyten und bestätigen die bereits erwartete Fragmentierung als Folge der hohen Temperaturen im Verdampfer der Ionenquelle. Auf das beobachtete Fragmentierungsmuster soll hier nicht weiter eingegangen werden. Es bleibt nur zu erwähnen, daß im unteren Massenbereich meist die gleichen Spezies zu finden sind, welche auf ähnliche Zersetzungsreaktionen hinweisen. Dieses ist aufgrund der ähnlichen Strukturen der Analyten, die alle aus dem gleichen Monomer aufgebaut sind, nicht weiter überraschend.

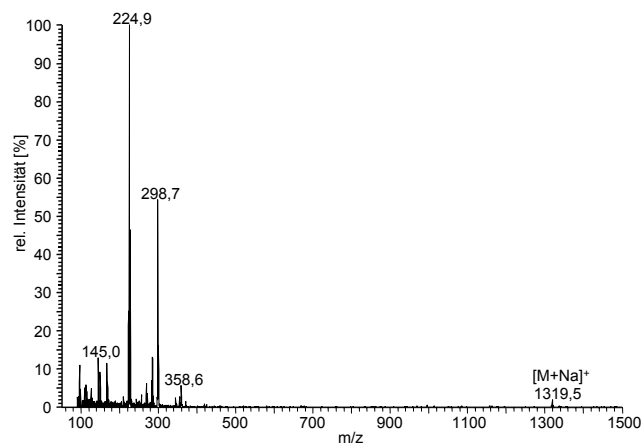


Abbildung 30: APCI-Massenspektrum von γ -Cyclodextrin

Auffällig ist, daß in keinem der drei aufgenommenen Spektren ein Signal, der für APCI-MS sonst typischen Spezies $[M+H]^+$ zu beobachten ist. Statt dessen finden sich in allen Spektren nur Signale für Addukte von Cyclodextrinen mit Na^+ . Aufnahmen mit veränderten Einstellungen bezüglich des Massenbereiches zeigen, das neben Natrium- auch Kalium-Addukte gebildet werden (siehe Abbildung 31). Cyclodextrine eignen sich für eine Vielzahl von Wirt-Gast-Komplexen und unter den gegebenen Versuchsbedingungen ist die Einlagerung von Na^+ - oder K^+ -Ionen in den hydrophoben und elektronenreichen Innenraum der Ringstruktur energetisch offensichtlich günstiger als die Protonierung einer der Hydroxylgruppen.

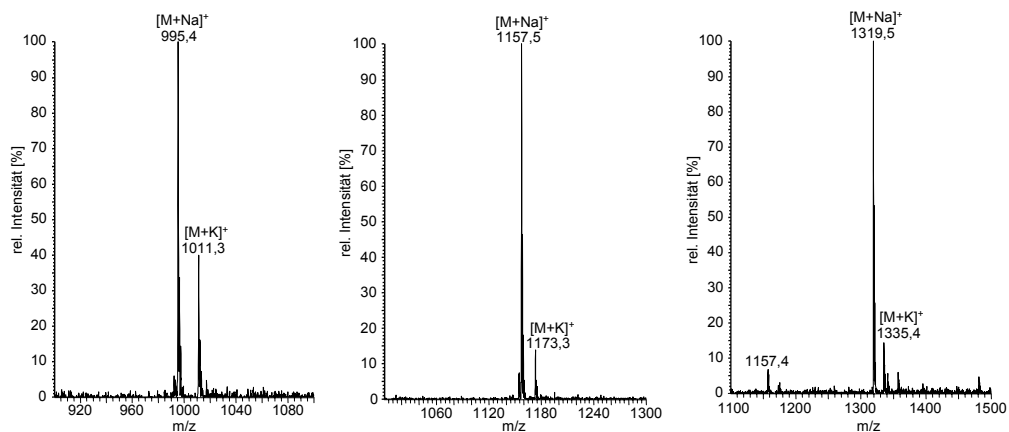
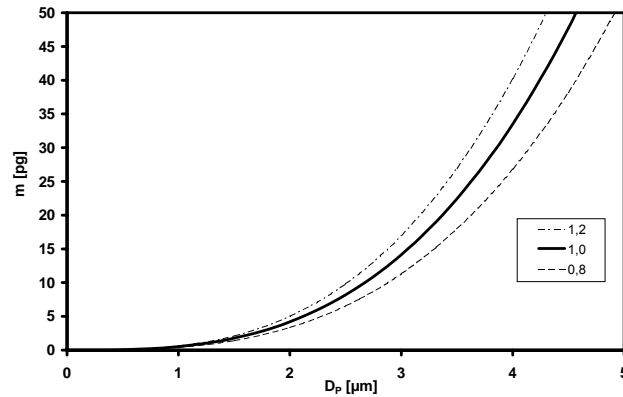


Abbildung 31: APCI-Massenspektren von α -, β - und γ -Cyclodextrin

Die Versuche haben gezeigt, daß Signale für intakte Molekülonen von Cyclodextrinen mittels APCI-MS beobachtet werden können und sie sich daher prinzipiell für die angestrebten Untersuchungen von Einzelpartikeln als Modellsubstanzen eignen. Unklar war bis dahin die Nachweisgrenze des verwendeten Massenspektrometers in Bezug auf diese Analyten.

Grafik 4 zeigt die Funktion der Partikelmasse in Abhängigkeit vom Partikeldurchmesser für angenommene Partikeldichten von 1,2; 1,0 und 0,8 g/cm³. Unter der Voraussetzung, daß das gesamte Partikel homogen ist, aus nur einer Substanz besteht und im Falle der Laserdesorption die gesamte Partikelmasse in die Gasphase überführt wird, läßt sich die für die gewählte Partikelgröße mindestens notwendige Nachweisgrenze ablesen. Im Falle eines Partikels mit einem Durchmesser von 2 μ m, bedeutet dies, daß das Massenspektrometer in der Lage sein muß, pro Scan eine Gesamtanalytmenge von ca. 5 pg detektieren zu können.

Um zu klären, ob die absoluten Nachweisgrenzen des Massenspektrometers ausreichen und damit für die geplanten Experimente mit Partikeln überhaupt eine Aussicht auf Erfolg besteht, wurden Versuche zu den Nachweisgrenzen durchgeführt.



Graphik 4: Partikelmasse in Abhängigkeit von D_p

Zu diesem Zweck wurden die oben beschriebenen Lösungen verwendet und zur Variation der absoluten Analytmenge die Einlaßzeiten des Massenspektrometers verändert. Der AGC-Mode (siehe Kapitel 8) wurde ausgeschaltet und die Einlaßzeit des Transfersystems auf feste Werte eingestellt. Über die Einlaßzeit, dem Fördervolumen der Spritzenpumpe und der Lösungskonzentration läßt sich dadurch die detektierte Gesamtmasse an Analyten berechnen.

Abbildung 32 zeigt einige der aufgenommenen Spektren. Wie das Spektrum rechts zeigt, konnte im Falle von γ -Cyclodextrin ein eindeutiges Signal für das $[M+Na]^+$ -Ion bei einer Analytmenge von 25 pg/Scan detektiert werden. Zu beachten ist, daß die verwendete kommerzielle APCI-Quelle für große Flußraten optimiert ist und die Quellenparameter (z.B.: Verdampfertemperatur, Hilfsgasströme) nicht an das gegebene Problem angepaßt wurden. Aufgrund der Ionenquellengeometrie erreicht ein Teil des Analyten erst gar nicht die Koronaentladung und wie bereits beschrieben, geht ein Großteil des Analyten durch thermische Zersetzung im Verdampfer verloren. Im Falle von Desorptionsexperimenten an Partikeln sind viele dieser Probleme nicht gegeben. Daher ist anzunehmen, daß die Nachweisgrenze des verwendeten Massenspektrometers zumindest für größere Partikel (3 – 4 μm) ausreichend sein sollte.

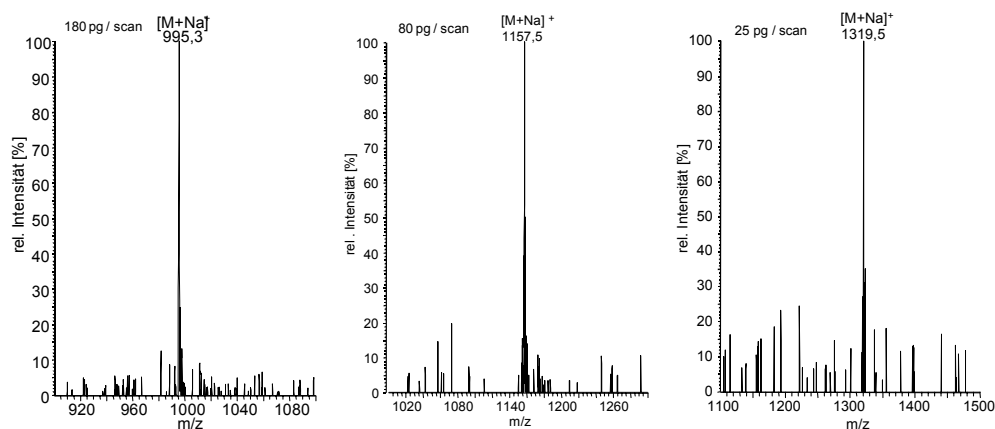


Abbildung 32: α -Cyclodextrin, gemittelt (50 Scans) β -Cyclodextrin, gemittelt (39 Scans) γ -Cyclodextrin, gemittelt (21 Scans)

10 Laserdesorption von Metalloberflächen

10.1 Beschreibung des verwendeten Lasersystems

Für alle in den nachfolgenden Kapiteln beschriebenen Versuche, welche am ISAS durchgeführt wurden, ist ein Er:YAG-Laser verwendet worden. Die Wellenlänge der emittierten Strahlung dieses Lasertyps beträgt $2,94 \mu\text{m}$ und ist damit ideal geeignet um OH- und NH-Streckschwingungen in Molekülen anzuregen.

Abbildung 33 zeigt den Aufbau des Laserkopfes mit seinen beiden Spiegeln, dem Er:YAG-Kristall ($\text{Er:Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$) und der Güteschaltung. Der Wirkungsgrad eines Er:YAG-Lasers ist verglichen mit anderen Festkörperlasern eher schlecht. Er benötigt daher für gleiche Laserleistungen eine deutlich höhere Pumpenergie als zum Beispiel ein Nd:YAG Laser. Die Kosten für geeignete Pumplaserdioden sind zur Zeit noch sehr hoch, daher gibt es, von einigen Versuchsaufbauten einmal abgesehen, zur Zeit nur Blitzlampengepumpte Er:YAG-Laser. Die Blitzlampe befindet sich zusammen mit dem Kristall in einer wassergekühlten und innen verspiegelten Ummantelung.

Die Güteschaltung beruht auf dem Prinzip der „Unterdrückten internen Totalreflexion“ und besteht aus zwei Prismen, die durch einen kleinen Spalt voneinander getrennt sind. In Ruhestellung wird hier das Laserlicht total reflektiert. Durch zwei Piezokristalle (Aktuatoren) können die Prismen gegeneinander gepreßt werden, wodurch sich der Spalt schließt und der Modulator geöffnet wird. Die Güteschaltung ermöglicht Laserpulse mit Pulsdauern im ns-Bereich.

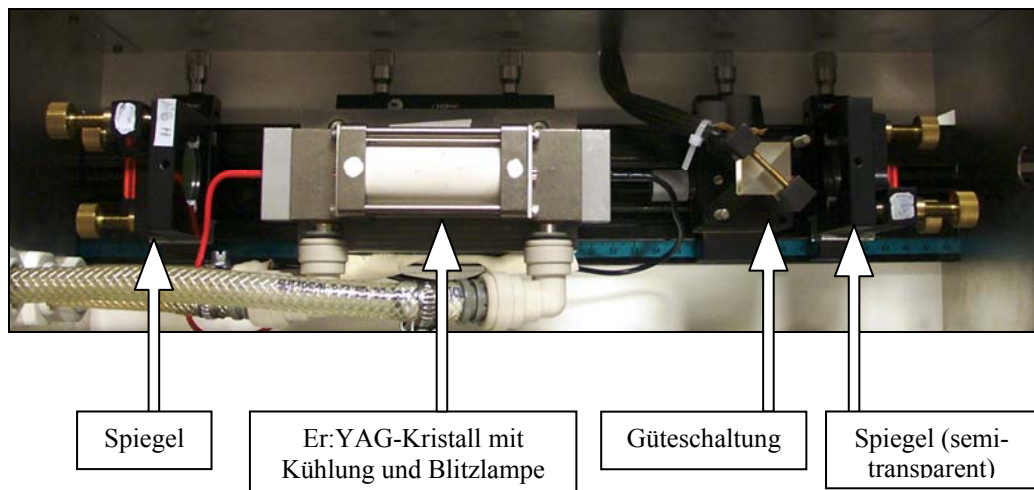


Abbildung 33: Aufbau des Er:YAG-Laserkopfes

Die genaue Pulslänge ist von der im Kristall gespeicherten Energie abhängig. Pulsdauer und Pulsenergie sind somit aneinander gekoppelt. Je energiereicher ein Puls ist, desto kürzer ist die dazugehörige Pulsdauer. Ohne Güteschaltung, bei sogenannten „freilaufenden“ Lasern, liegt die Pulsdauer zwischen 100 und $500 \mu\text{s}$.

Die Pulsenergie ist stark von der Repetitionsrate abhängig. Bei dem verwendeten Lasersystem ist die abgestrahlte Laserenergie bei ca. 3 Hz maximal. Der Laser kann entweder mit einer festen Schußfrequenz betrieben werden, oder über ein externes TTL-Signal getriggert werden. In beiden Fällen sollte die eingestellte Repetitionsrate 15 Hz nicht überschreiten.

Ein generelles Problem von gepulsten Lasersystemen ist die Puls zu Puls Stabilität. Beide in den Abbildungen unten dargestellten Laserpulse wurden mit den gleichen Parametern aufgezeichnet, zeigen aber eine deutlich verschiedene Pulsform.

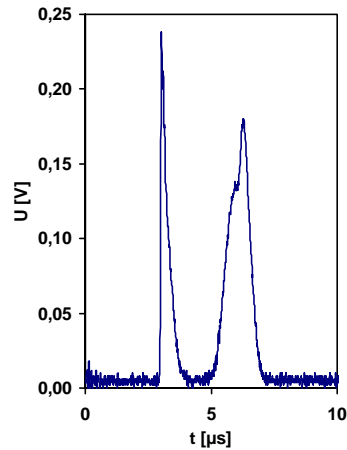


Abbildung 34: Laserpuls

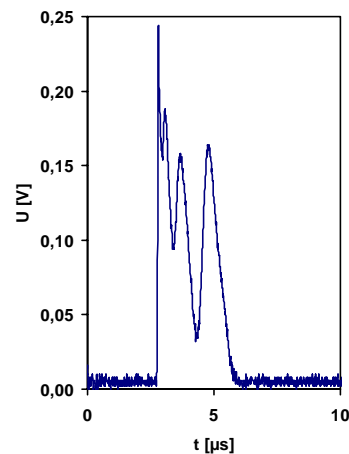
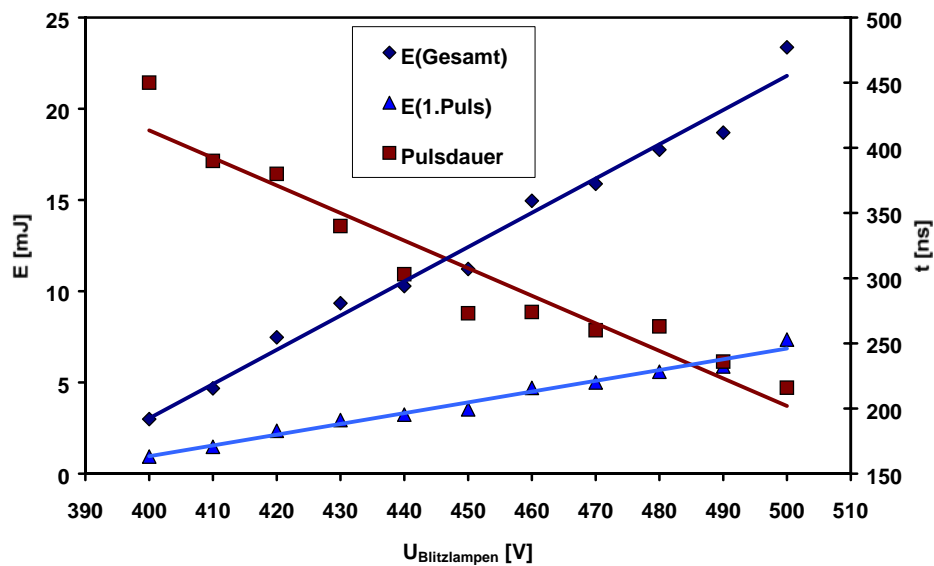


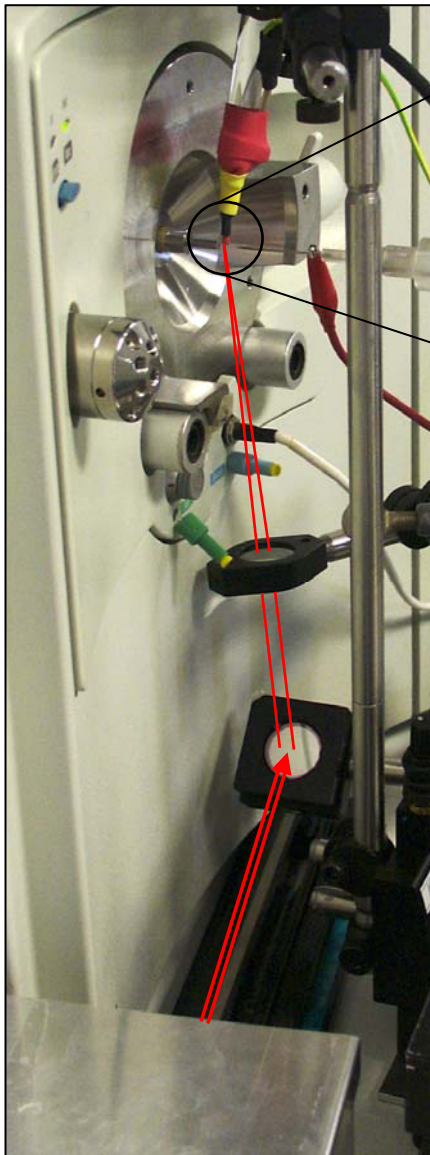
Abbildung 35: Laserpuls

Diese Tatsache ist für Desorptionsexperimente nicht sehr gravierend, sollte aber bei der Auswertung beachtet werden. Wichtig für Experimente mit luftgetragenen Partikeln ist, daß der erste Laserpuls energiereich genug ist, um das Partikelmaterial effektiv in die Gasphase überführen zu können. Grafik 5 zeigt die Abhängigkeit der abgestrahlten Laserenergie und Pulslänge von der eingestrahlenen Pumpenergie, die zur Entladungsspannung der Blitzlampe proportional ist.



Grafik 5: Pulsenergie und Pulsdauer

10.2 Versuchsaufbau für Desorptionsexperimente an Metalloberflächen



Analog zu den, am ORNL durchgeführten Versuchen, wurden auch am ISAS zuerst Desorptionsexperimente mit auf Oberflächen deponierten Substanzen durchgeführt.

Dazu wurden üblicherweise 1 – 2 μL einer wäßrigen Lösung auf einen Edelstahlstift mit einem Durchmesser von 2 mm aufgegeben und bis zur vollständigen Trockene dort belassen. Der Stift wird dann im Abstand von ca. 4 – 5 mm vor der Kapillarverlängerung mittels eines X-Y-Z-Verschiebetisches positioniert. Der Abstand zur Einlaßbohrung beträgt ca. 2 mm.

Die Koronanadel – bezogen von Thermo Finnigan – wird ebenfalls über einen X-Y-Z-Verschiebetisch im Abstand von ca. 15 mm zur Kapillarverlängerung, in Höhe der Einlaßbohrung, positioniert. Zum Betrieb der Koronaentladung wird ein Hochspannungsnetzgerät der Firma FUG, Typ HCN 14 M-2000 verwendet. Der Strom wird auf 2 μA begrenzt, wodurch sich eine Entladespannung von ca. 6,6 kV ergibt. Zur Unterdrückung von Überschlägen wird die Koronanadel über einen 56 M Ω - Widerstand an die Stromversorgung angeschlossen.

Für das Potential des Metallstiftes wird die Stromversorgung des Massenspektrometers verwendet, welche normalerweise die ESI- bzw. APCI-Ionenquelle mit Strom versorgt. Zum Schutz des Instrumentes ist der Edelstahlstift ebenfalls über einen 56 M Ω Widerstand angeschlossen. Das elektrische Potential der Metalloberfläche ist so gewählt, daß die Koronaentladung trotz der Einbringung einer weiteren Elektrode in das elektrische Feld zwischen den beiden Entladungselektroden, weitestgehend ungestört abläuft. Zur Ermittlung des korrekten Potentials wird der Metallstift schrittweise in den Bereich der Koronaentladung

abgesenkt und die Spannung so lange nachgeregelt bis die ursprünglichen Entladungsparameter wieder erreicht werden. Dies wird wiederholt, bis sich der Metallstift an der gewünschten Position befindet.

Die Optimierungsschritte ergaben, daß das einzustellende Potential nicht sehr kritisch ist. Es beträgt bei der oben beschriebenen geometrischen Anordnung der Elektroden ungefähr +800 V. Bei grober Unterschreitung dieses Wertes (ab ca. +400 V) erfolgt die Koronaentladung zwischen Nadelspitze und Desorptionsoberfläche, so daß keine Ionen in das Massenspektrometer gelangen. Bei einem zu hohen Potential erfolgt eine Entladung zwischen der Kante des Metallstiftes und der Einlaßkapillaren. Für alle Desorptionsexperimente von Oberflächen wurde das Potential auf +800 V eingestellt. Entgegen der Meinung von Coon [28], der postuliert, daß das Potential der Desorptionsoberfläche den Ionen transport zur Einlaßkapillaren optimiert, lassen die Ergebnisse der beschriebenen Experimente eher den Schluß zu, daß das Potential der Desorptionsoberfläche lediglich einen weitestgehend ungestörten Betrieb der Koronaentladung ermöglicht.

Der Laserpuls wird über einen dielektrischen Spiegel nach oben reflektiert und mit einer Saphirlinse ($f = 120 \text{ mm}$) auf die Metalloberfläche fokussiert. Die Linse ist ebenfalls mit einem X-Y-Z-Verschiebetisch frei im Raum positionierbar, so daß die mit Analyt beladene Oberfläche während der Messung „abgerastert“ werden kann. Der Fokusbereich beträgt ca. 0,5 mm. Die daraus resultierende Energiedichte läßt sich aufgrund der oben beschriebenen Mehrfachpulse nicht exakt bestimmen, liegt aber je nach Blitzlampenspannung zwischen 10^6 und $10^7 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$.

Zum triggern des Lasers wird das über eine kleine Schaltung aufbereitete Gate-Signal (siehe Kapitel 8) vom Massenspektrometer verwendet. Wenn das Signal von + auf -10 V umschaltet, das Massenspektrometer also Ionen in die Ionenfalle läßt, wird über den Spannungsteiler der Eingang des invertierenden Optokopplers 6N137 auf „low“ gelegt, wodurch der Ausgang auf „high“ schaltet. Der Transistor BC547 an der Ausgangsseite dient lediglich zur Stromverstärkung, damit das Signal beim Anschluß an den 50Ω -Eingang des Lasers nicht zusammenbricht. Durch die Verwendung eines Optokopplers ist sichergestellt, das eventuelle Störsignale, die beim Auslösen der Blitzlampen oder der Güteschaltung laserseitig entstehen, nicht mit der Elektronik des Massenspektrometers rückkoppeln können.

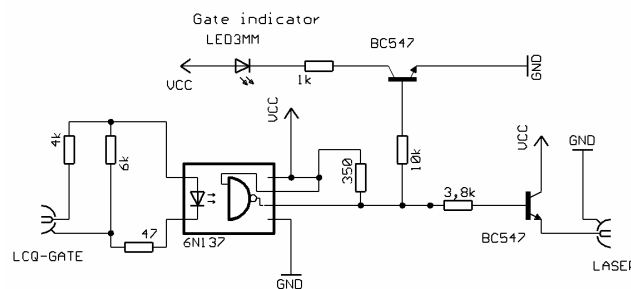


Abbildung 36: Triggerschaltung

10.3 Desorptionsexperimente ohne Verwendung einer Matrix

Das Ziel dieser Arbeit ist es, luftgetragene Partikel ohne zusätzliche Matrix, durch resonante Einkopplung der Energie zu desorbieren. Zur Vorbereitung und Optimierung der Versuchsparameter für diese Arbeiten, wurden zuerst Versuche mit deponiertem Material durchgeführt. Damit die Versuchsbedingungen so weit wie möglich späteren Partikelexperimenten gleichen, wurde darauf verzichtet eine, die Desorption unterstützende, Matrix zu verwenden.

Trotzdem ist bei allen Experimenten immer eine Matrix vorhanden, welche sich nur schwer vermeiden läßt. Bei allen Versuchen wurden wäßrige Lösungen verwendet, welche auf der Desorptionsoberfläche bei Raumtemperatur getrocknet wurden. Dadurch ist neben dem Kristallwasser auch immer eine Restfeuchte in der Probe vorhanden. Zur Vermeidung dieser Restfeuchte wäre es nötig gewesen die Proben unter Vakuum zu trocknen. Die Arbeiten von Talrose et al. zeigen [108], daß bereits eine kurze Kontaktzeit mit der „feuchten“ Laborluft ausreicht, um die Ergebnisse zu beeinflussen. Weil in dieser Arbeit unter Atmosphärendruck gearbeitet wurde und die Proben während des Experimentes über mehrere Minuten mit der Laborluft in Kontakt treten, wurde erst gar nicht versucht die Proben vollkommen wasserfrei zu präparieren. Wie Abbildung 37 zeigt, ist die Durchlässigkeit von Wasser für Strahlung mit einer Wellenlänge von $2,94\ \mu\text{m}$ fast 0% und macht Wasser damit zum optimalen Energieabsorber für die Pulsenergie des Er:YAG-Lasers. Dies ist mit ein Grund warum dieser Lasertyp im Hinblick auf spätere Anwendungen ausgesucht wurde. Bei jeglichem biologischen Material ist immer Zellwasser vorhanden, welches als Matrix fungieren kann, wenn der gewünschte Analyt selbst nicht bei $2,94\ \mu\text{m}$ absorbiert. „Ohne Matrix“ bedeutet in diesem Kapitel daher ohne die Verwendung einer zusätzlichen Matrix, die die Desorption unterstützen soll, aber mit der immer vorhandenen Matrix Wasser. Eine quantitative Untersuchung zur Effektivität dieser Matrix war nicht möglich, da sich die Probe nur wenige Millimeter vor der heißen Einlaßkapillaren befindet und der Wassergehalt daher nicht konstant ist. Auch die Untersuchung von Tröpfchen wurde zwar versucht, konnte aber, aufgrund des schnellen Eintrocknens nicht quantitativ erfaßt werden. Qualitativ schien mit erhöhter relativen Feuchte auch eine erhöhte Signalintensität einherzugehen.

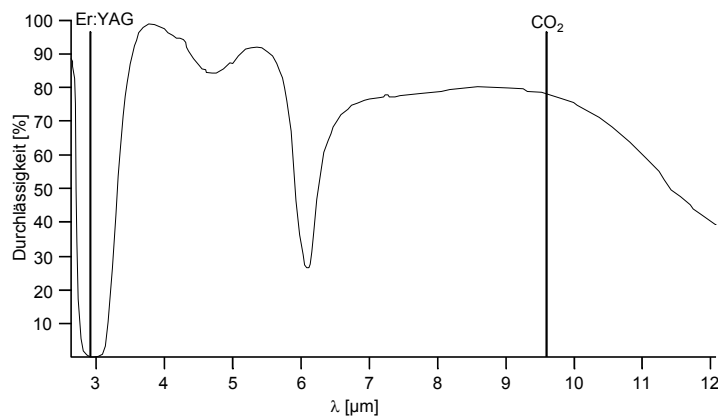


Abbildung 37: IR-Spektrum von Wasser (flüssig)

10.3.1 Versuche mit Cyclodextrinen

Für die nachfolgend beschriebenen Desorptionsexperimente wurden wäßrige Lösungen von Cyclodextrinen hergestellt (je ca. 50 mg / 5 mL). Nach der Reinigung des Stahlstiftes im Ultraschallbad wurden üblicherweise 1 μ L der Lösung auf die Edelstahloberfläche pipettiert und dort zum Trocknen belassen. Diese Vorgehensweise ergibt eine Beladung mit ca. 10 μ g Analyt. Der beladene Metallstift wird dann, wie in Kapitel 10.2 beschrieben, vor die verlängerte Einlaßkapillare positioniert. Nach dem Einstellen der Scanparameter des Massenspektrometers wird die Blitzlampe des Lasers gezündet und die Blitzlampenspannung schrittweise erhöht, bis ein Ionenstrom detektiert werden kann. Die Oberfläche wird dann durch Verschieben der Fokussierlinse „abgerastert“.

Auffällig ist, daß bei den Desorptionsexperimenten, im Gegensatz zu den Versuchen mit wäßrigen Lösungen (vergleiche Kapitel 9), oft das für APCI-Ionenquellen erwartete Signal für das Pseudomolekülion $[M+H]^+$ beobachtet werden kann (m/z 973 für α -Cyclodextrin, m/z 1135 für β -Cyclodextrin). Abbildung 38 zeigt eine typische Massenspur von α -Cyclodextrin, die sich beim „Abrastern“ der Oberfläche ergibt.

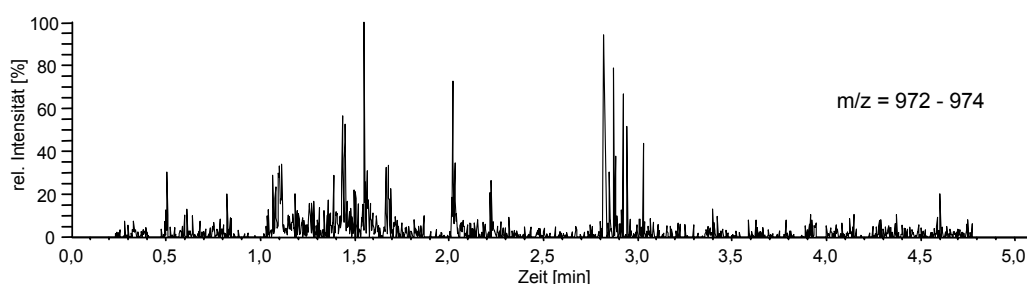


Abbildung 38: Massenspur von α -Cyclodextrin auf Oberfläche (10 μ g Beladung)

Es ist deutlich zu erkennen, daß einigen Stellen der Oberfläche intensivere Signale ergeben als andere. Trotzdem ist es nicht möglich von einer Position auf der Oberfläche ein über mehrere Laserpulse stabiles Signal zu erhalten. Generell sind die Ergebnisse schlecht reproduzierbar und ohne die Massenspektren über 20 - 50 Scans zu mitteln, kann kein akzeptables Signal zu Rauschverhältnis erreicht werden. Bei Versuchen mit weniger als 10 μ g Substanz auf der Oberfläche konnten keine Ionen detektiert werden. Die Erhöhung der Substanzmenge brachte ebenfalls keine Verbesserung der Signalqualität und Signalstabilität.

Die Versuche wurden einige Male mit den gleichen Versuchsbedingungen wiederholt. Es zeigte sich, daß sich nicht nur die Massenspektren der verschiedenen Positionen einer Probe voneinander unterscheiden, sondern auch teilweise deutliche Unterschiede zwischen den Proben zu beobachten sind. Die beiden Abbildungen auf Seite 54 zeigen jeweils eine Auswahl an gemittelten Spektren von α - bzw. β -Cyclodextrin an verschiedenen Positionen von, zum Teil unterschiedlichen Versuchen, bei jeweils identischen Desorptions- und Ionisationsbedingungen.

Während einige Signale offensichtlichen Alkalimetallkomplexen zugeordnet werden können, bleibt die Identität vieler Signale ungeklärt.

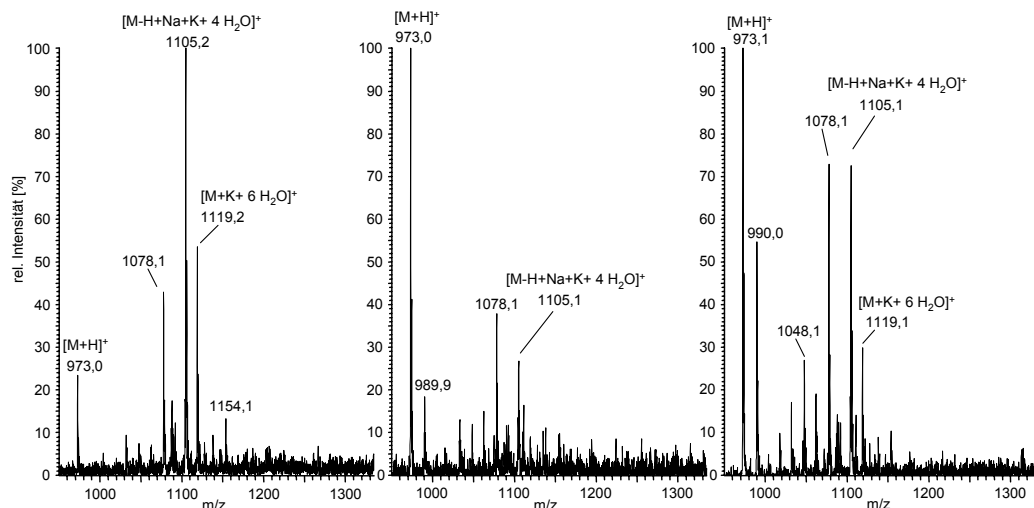


Abbildung 39: Spektren von α -Cyclodextrin aus verschiedenen Versuchen an verschiedenen Positionen (jeweils ca. 30-50 Scans gemittelt)

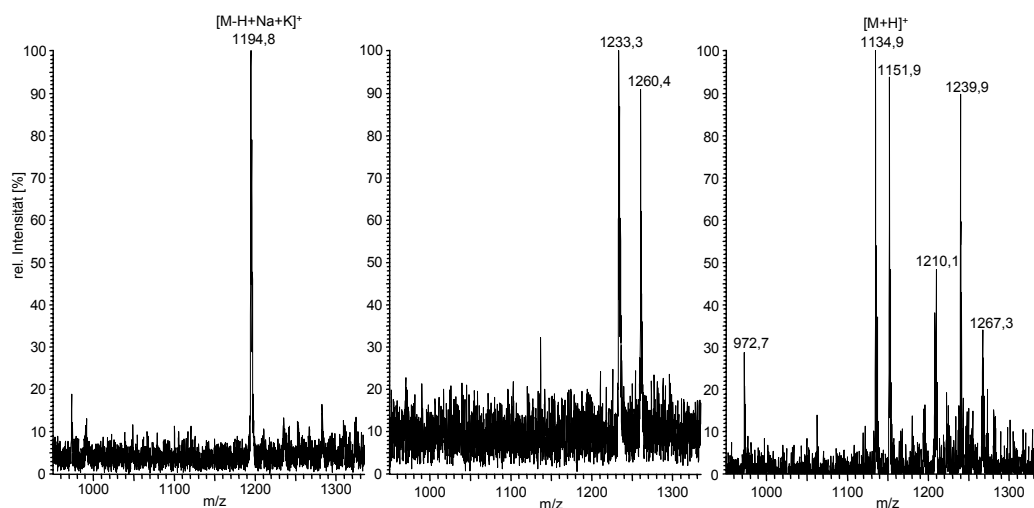


Abbildung 40: Spektren von β -Cyclodextrin aus verschiedenen Versuchen an verschiedenen Positionen (jeweils ca. 30-50 Scans gemittelt)

Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Massenspektren, die von verschiedenen Positionen erhalten wurden, ist wahrscheinlich die inhomogene Substanzverteilung auf der Oberfläche. Beim Trocknen kristallisiert der Analyt nicht homogen aus und die verschiedenen Positionen unterscheiden sich nicht nur durch die deponierte Materialmenge, sondern auch durch eine unterschiedliche Restfeuchte beziehungsweise unterschiedliche Mengen an Kristallwasser.

Unerwartet ist, daß die Signalintensität mit Erhöhung der deponierten Analytmenge nicht verbessert werden konnte. Teilweise befand sich soviel Substanz auf der Oberfläche, daß mit dem bloßem Auge erkennbar war, an welchen Stellen der Laser das Material entfernt hatte. Dies läßt darauf schließen, daß das Material zwar von der Oberfläche abgetragen wird, es aber nicht in die Gasphase überführt, sondern in partikulärer Form von der Oberfläche entfernt wird. Da die Koronaentladung eine sehr weiche Ionenquelle darstellt führt die Wechselwirkung dieses abgesputterten partikulären Materials mit der Entladung

wahrscheinlich nicht zu detektierbaren Ionen, sondern bestenfalls zu geladenen Mikropartikeln.

10.3.2 Versuche mit anderen Analyten

Zur Vorbereitung möglicher Partikelexperimente wurden zusätzlich noch zwei weitere Analyten untersucht. Zuerst wurden Standardpartikel auf Melaminharz-basis mit einem Durch-messer von 5 μm auf der Oberfläche deponiert und mit dem Laser desorbiert.

Melaminharz ist ein Copolymerisat aus Melamin (2,4,6-Triamino-1,3,5-triazin) und Formaldehyd. Unter Abspaltung von Wasser entstehen bei der thermisch induzierten Reaktion der Monomere hochmolekulare N,N-Acetale. Abbildung 41 zeigt die Bruttoreaktionsgleichung welche zur Kettenverlängerung des Melaminharzes führt. Wie zu erkennen ist führt die Reaktion bestehender Oligomere mit Melamin und Formaldehyd zu einer effektiven Massenzunahme von 138 u pro Reaktionsschritt.

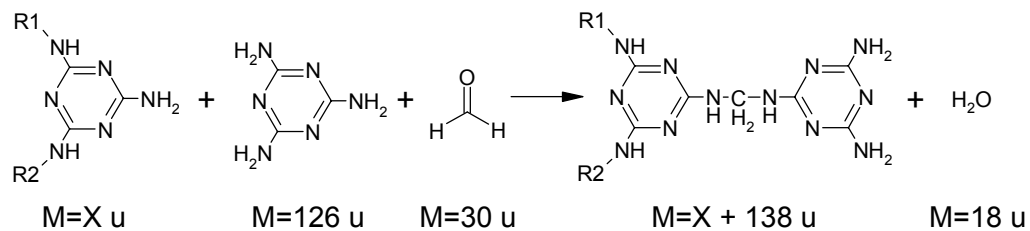


Abbildung 41: Bruttoreaktionsgleichung zur Bildung von Melaminharz

Das aufgenommene und in Abbildung 42 dargestellte Massenspektrum bestätigt mit seinen äquidistanten Signalen im Abstand von m/z 138 die angegebene Reaktionsgleichung.

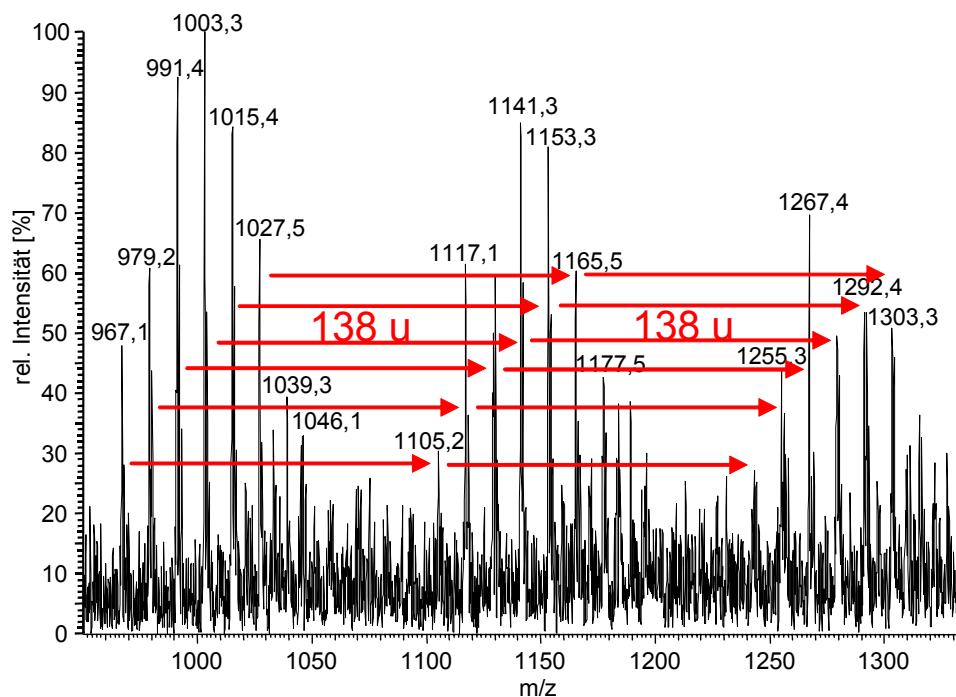


Abbildung 42: Melaminharzpartikel (gemittelt über 58 Scans)

Als zweites wurden Pollen von *Ambrosia Trifida* untersucht. Die Ergebnisse waren, trotz der ebenfalls geringen Signalintensität im Vergleich zu den anderen Versuchen ohne desorptionsunterstützende Matrix, besser reproduzierbar. Abbildung 43 zeigt das über 27 Scans gemittelte Massenspektrum von desorbierten Pollen. Eine Interpretation des Massenspektrums kann aufgrund fehlender Zusatzinformationen nicht erfolgen. Auch die Frage inwieweit das hier gezeigte Massenspektrum charakteristisch für Pollen dieses Typs ist kann, aufgrund fehlender Vergleichsmöglichkeiten mit anderen Pollen, zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht bestimmt werden.

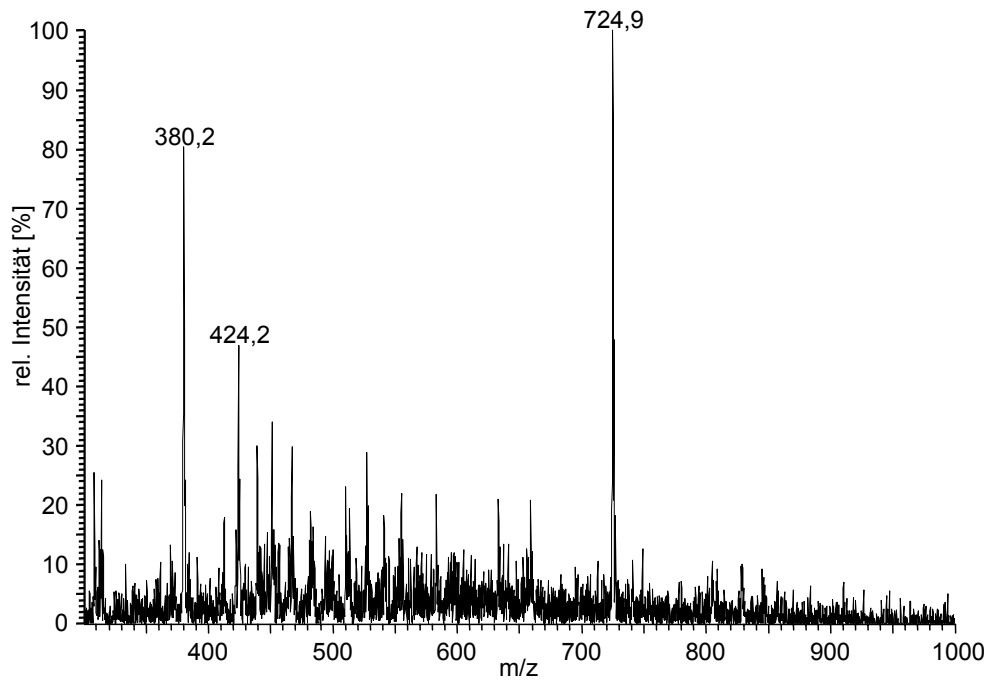


Abbildung 43: Pollen von *Ambrosia Trifida* (gemittelt über 27 Scans)

10.4 Desorptionsexperimente mit zusätzlicher Matrix

10.4.1 Versuche mit der Matrix Glycerin

Kapitel 10.3 zeigt, daß durch die Desorption mit anschließender Ionisation von auf Oberflächen deponiertem Material, kein zeitlich und örtlich stabiles Signal beobachtet werden kann. Weil es ohne ein stabiles Signal nahezu unmöglich ist, die Versuchsparameter zu optimieren, wurde entschieden die von Coon [28] beschriebenen Versuche mit dem Er:YAG-Laser zu wiederholen. Coon berichtet in seinen Arbeiten von einem über mehrere tausend Schuß stabilem System von Reserpin in einer Glycerinmatrix, welches er mit einem CO₂-Laser desorbierte.

Die Verwendung von Glycerin als Matrix in der Massenspektrometrie ist hauptsächlich durch das „Fast Atom Bombardment“ (FAB) und der damit verwandten Technik „Liquid Secondary Ionization Mass Spectrometry“ (LSIMS) bekannt. Bei beiden Methoden wird der Analyt in eine flüssige Matrix eingebettet und mit neutralen Argon oder Xenon Atomen (FAB) oder Cs⁺-Ionen (LSIMS) beschossen. Neben Glycerin wird oft auch 3-Nitrobenzylalkohol oder Dithioerythrit verwendet. Beim Auftreffen der Atome bzw. Ionen mit kinetischen Energien von einigen KeV werden sowohl positive als auch negative Matrix- und Analytionen aus der Probe herausgeschleudert. Typischerweise findet man im FAB-Massenspektrum neben Fragmenten auch die Pseudomolekülionen [M+H]⁺ bzw. [M-H]⁻. FAB und LSIMS, welche Ende der 70er, Anfang der 80er Jahre entwickelt wurden [109-111] sind vielfach durch ESI-MS abgelöst worden, bleiben aber insbesondere für schwerflüchtige und thermisch labile Analyten wertvolle Untersuchungsmethoden.

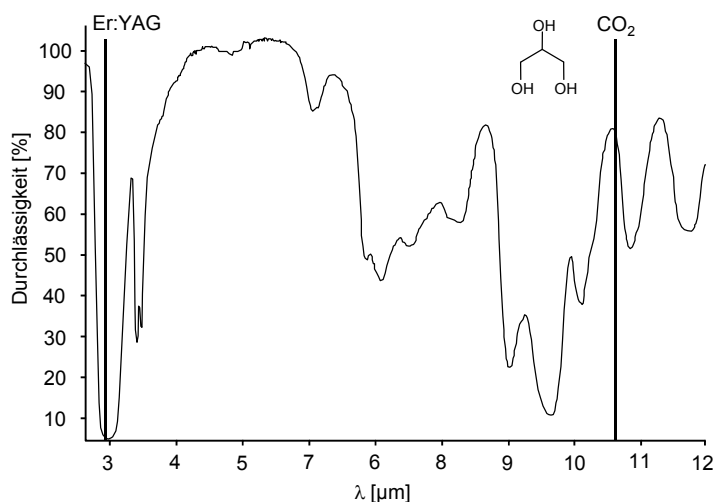


Abbildung 44: IR-Spektrum von Glycerin (flüssig)

Glycerin wird ebenfalls häufig als Matrix für IR-MALDI [108, 112-114] und AP-IR-MALDI [115] eingesetzt. Bei diesen Verfahren werden ebenfalls IR-Laser eingesetzt. Neben dem Er:YAG-Laser werden dazu oft auch durchstimmbare Systeme wie Nd:YAG gepumpte OPO-Laser oder freie Elektronen Laser (FEL) verwendet. Allerdings liegen beim MALDI-Prozess verwendete

Laserenergien mit einigen hundert bis tausend μJ pro Puls deutlich unter den in dieser Arbeit verwendeten Laserenergien.

Wie Abbildung 44 zeigt, beträgt die Durchlässigkeit von Glycerin für Strahlung mit der Wellenlänge $2,94 \mu\text{m}$ nahezu 0%. Die Pulsenergie des Er:YAG-Lasers wird im Vergleich zum von Coon verwendeten CO_2 -Laser ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$, Transmission 85%) deutlich effizienter eingekoppelt. Glycerin sollte daher als Desorptionsmatrix in Verbindung mit einem Er:YAG-Laser sogar noch effektiver funktionieren. Weil reines Glycerin hoch viskos ist, wurde für alle Versuche eine 87%ige wäßrige Lösung von Glycerin verwendet.

10.4.1.1 Versuche mit Reserpin

Reserpin ist das Hauptalkaloid der tropischen Pflanze *Rauwolfia serpentina* und kann aus dem milchigen Pflanzensaft des ca. einen Meter hohen Gewächses gewonnen werden. Chemisch gesehen ist Reserpin eine Kombination aus der Aminosäure Tryptophan und einer Terpeneinheit. Das sowohl aus der Pflanze gewonnene, als auch synthetisch hergestellte Alkaloid wird als Blutdruck senkendes Mittel und als beruhigendes Psychopharmaka eingesetzt. Seine Wirkung beruht auf dem Eingriff in den Noradrenalin-Kreislauf des Körpers, der unter anderem die Weitung der Blutgefäße reguliert.

In der Massenspektrometrie wird Reserpin häufig als Kalibriersubstanz für APCI-MS und ESI-MS Systeme eingesetzt. Da diese besonders empfindlich für Reserpin sind, werden ebenfalls die Detektionsgrenzen oft mit Reserpin bestimmt. Coon hat bei seinen Versuchen zur Desorption und anschließender Ionisation [28] ebenfalls mit dem System Reserpin/Glycerin gearbeitet, verwendete aber einen gepulsten CO_2 -Laser.

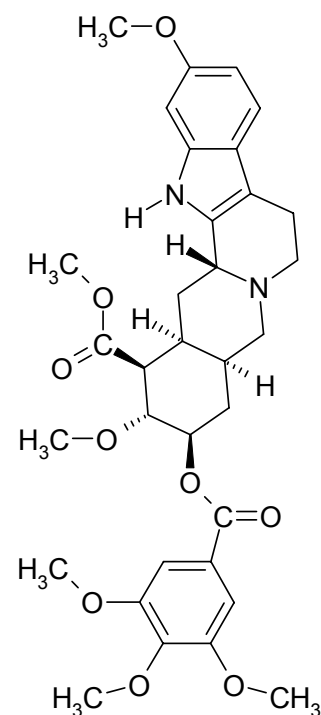


Abbildung 45: Reserpin

Wie das IR-Spektrum in Abbildung 46 zeigt, absorbiert Reserpin weder bei der Wellenlänge $10,6 \mu\text{m}$ (Transmission 85%) noch bei der Wellenlänge $2,94 \mu\text{m}$ (Transmission 75%) besonders stark. Versuche, deponiertes Reserpin mit dem Er:YAG-Laser über resonante Einkopplung der Energie, das heißt ohne Verwendung einer Matrix, zu desorbieren, verliefen daher auch wenig erfolgreich.

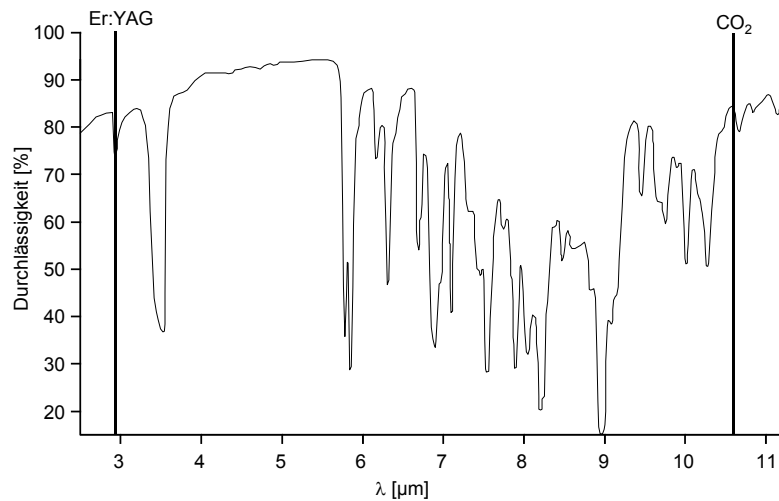


Abbildung 46: IR-Spektrum von Reserpin

Für die nachfolgend beschriebenen Experimente wurde eine Lösung aus 3,97 mg Reserpin in 5 mL Wasser und 100 μ L Essigsäure verwendet. Von dieser Lösung wird typischerweise 1 μ L (ca. 800 ng Reserpin) auf die Edelstahloberfläche gegeben und bei Raumtemperatur getrocknet. Danach wird 1 μ L Glycerin zu dem Rückstand auf der Oberfläche gegeben und das deponierte Material mit dem Glycerin durch mehrmaliges Aufsaugen in die Pipetten-spitze vermischt.

Die Versuche mit Matrix verliefen sehr erfolgreich. Durch die Zugabe von Glycerin konnte die Signalintensität und die Signalqualität beachtlich gesteigert werden. Die Versuchsanordnung liefert über mehrere tausend Schuß sehr stabile Massenspektren von einer Position der Oberfläche. Es ist darüber hinaus nicht notwendig über mehrere Scans zu mitteln, weil ein einziger Scan bereits ein zufriedenstellendes Spektrum liefert. Abbildung 47 zeigt ein willkürlich aus mehreren tausend Scans ausgesuchtes Massenspektrum.

Neben dem Signal für das Pseudomolekularion $[M+H]^+$ wurden keine weiteren Signale von Reserpin detektiert. Das System Reserpin + Glycerin ist so stabil, daß es immer wieder zur Überprüfung der Systemperformance verwendet wurde. Die Ergebnisse von Coon konnten damit erfolgreich reproduziert werden.

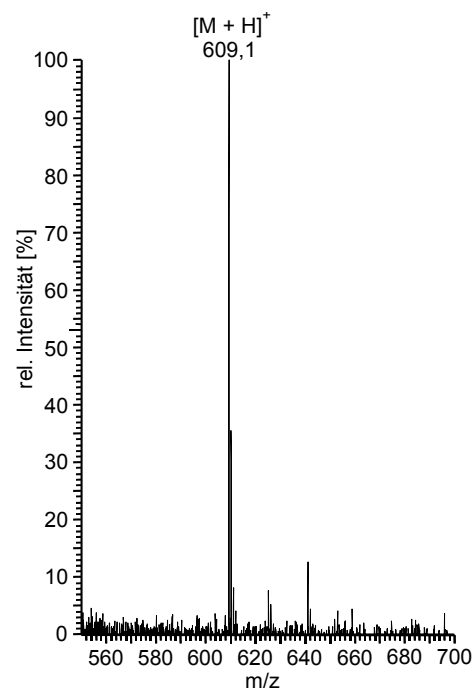


Abbildung 47: ca. 800 ng Reserpin + 1 μ L Glycerin

10.4.1.2 Einfluß von Koronaentladung und Laserpuls

Nun war es möglich mit der Kombination von Reserpin in Glycerin einige grundlegende Fragen zu klären. Zuerst wurde überprüft, ob der Analyt wirklich als Neutralteilchen in die Gasphase überführt und anschließend durch die Prozesse in der Koronaentladung ionisiert wird. Wie der Verlauf des Totalionenstroms und der Massenspur für das Pseudomolekularion in Abbildung 48 zeigt, liefert nur die Kombination von Koronaentladung und Laserpuls ein Signal. In den ersten zwei Minuten, während nur die Koronaentladung eingeschaltet war, kann kein Signal für Reserpin detektiert werden. Daraufhin wurde die Spannung der Blitzlampe und damit die Pulsenergie des Lasers erhöht. Ab einem Schwellwert von ca. 11 mJ pro Puls steigt das Signal für Reserpin sprunghaft an und bleibt konstant auf hohem Niveau. In der Zeit zwischen der sechsten und siebten Minute der Aufnahme wurde das Potential der Koronanadel auf 0 V reduziert. In dieser Zeit kann nur noch ein sehr schwaches Signal detektiert werden.

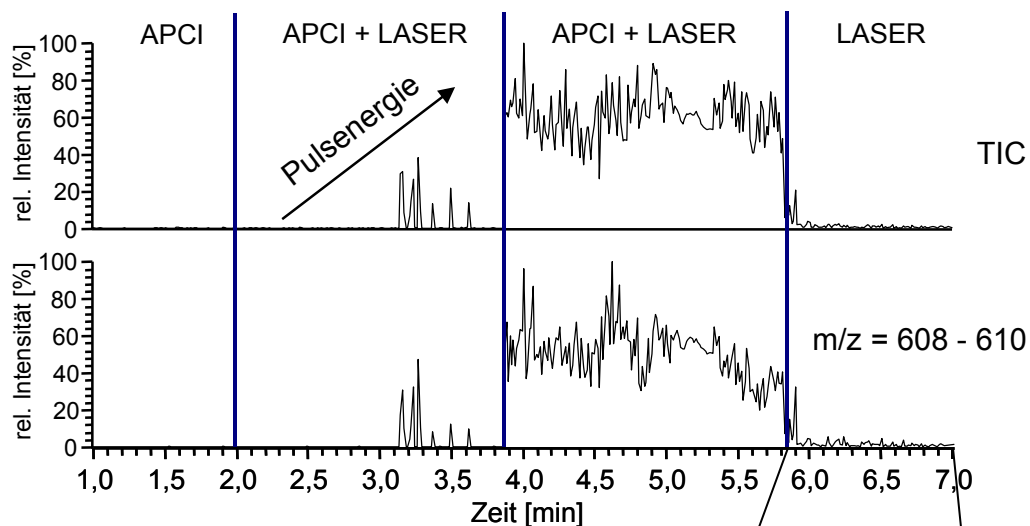


Abbildung 48: Einfluß von Laser und Koronaentladung

Die ohne Koronaentladung detektierbaren Ionen resultieren wahrscheinlich aus den gleichen Prozessen, die zur Ionenbildung bei AP-IR-MALDI führen. Vergleicht man die Massenspektren in Abbildung 47 und Abbildung 49 wird deutlich, daß die detektierten Ionen aus verschiedenen Prozessen resultieren. Während mit Laser und Koronaentladung die typische Spezies $[M+H]^+$ das Spektrum dominieren, sind bei alleiniger Verwendung des Lasers auch Ionen des Typs $[M]^+$ und $[M-H]^+$ detektierbar.

Um auszuschließen, daß die Potentialdifferenz zwischen Koronanadel und Einlaßkapillaren lediglich den Ionentransport gewährleistet und nicht aktiv zur Ionenbildung beiträgt, wurde das Potential der Koronanadel schrittweise redu-

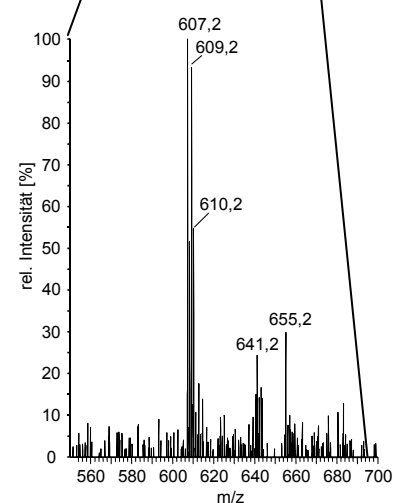


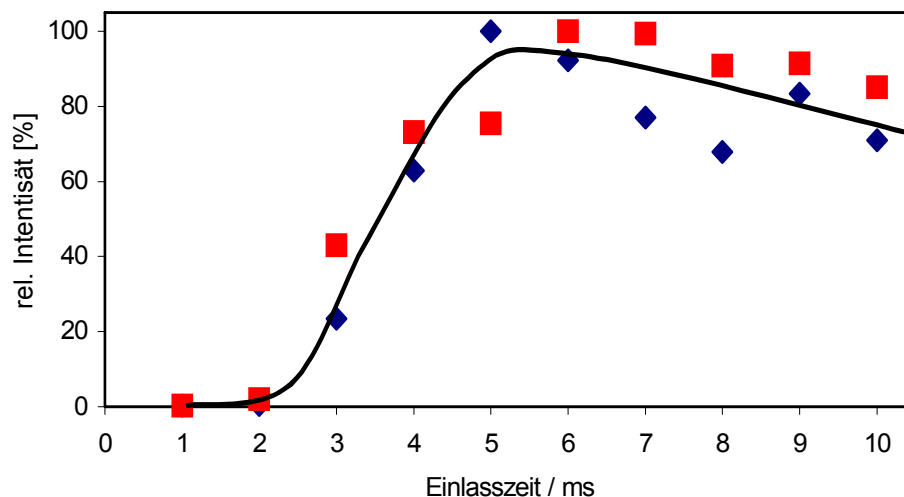
Abbildung 49: Spektrum ohne Koronaentladung (gemittelt über 50 Scans)

ziert. Dabei zeigte sich, daß der Ionenstrom auf das oben beschriebene Niveau abfällt, sobald der Entladungsstrom der Koronaentladung zusammenbricht. Wenn dies der Fall ist, besteht trotzdem noch ein Potentialgefälle von einigen Kilovolt zwischen der Nadel und der Einlaßkapillaren, das vorhandene Ionen zur Einlaßkapillaren transportieren würde. Der Umstand das ein solches Verhalten aber nicht beobachtet wurde, zeigt, daß die Koronaentladung für die Ionenbildung verantwortlich ist und der überwiegende Teil des desorbierten Materials in ungeladener Form vorliegt.

10.4.1.3 Bestimmung der optimalen Einlaßzeit

Eine weitere Fragestellung, die mit der Kombination von Reserpin mit der Matrix Glycerin geklärt werden konnte, war die der optimalen Einlaßzeit. Bisher wurden alle Versuche mit Einlaßzeiten von 15 ms durchgeführt. Zur Bestimmung des Optimums wurde in zwei Versuchen die Einlaßzeit schrittweise erhöht und die über 30 Sekunden gemittelte und normierte Intensität des $[M+H]^+$ -Signals aufgetragen. Grafik 6 zeigt die Ergebnisse dieser Messungen.

In den ersten 2 ms, was ungefähr der Zeit entspricht, welche die Ionen benötigen um die 13 cm lange Transferkapillare zu passieren, erreichen keine Ionen die Ionenfalle. In der Zeit zwischen 2 und 5 ms treffen die Ionen aus der Koronaentladung in der Falle ein und werden dort gespeichert. Obwohl während des Transports des desorbierten Materials von der Oberfläche zur Einlaßkapillaren sicherlich eine Stossverbreiterung des Signals stattfindet, zeigt die Messung, daß nach dem 200 - 300 μ s kurzen Laserpuls für 2 - 3 ms Material aus dem deponierten Analyten emittiert wird. Der leichte Abfall der Signalintensität bei Einlaßzeiten über 5 ms zeigt, daß einige Ionen während der Speicherung verloren gehen. Für nachfolgende Experimente wurde die Einlaßzeit auf 6 ms reduziert.



Grafik 6: Bestimmung der optimalen Einlaßzeit

10.4.1.4 Versuche mit anderen Analyten

Nach den überaus erfolgreichen Versuchen mit Reserpin in einer Glycerinmatrix wurden analoge Experimente mit α -, β - und γ -Cyclodextrin durchgeführt. Trotz Erhöhung der aufgegebenen Analytmenge auf mehrere μg konnten für die untersuchten Cyclodextrine keine stabilen Signale detektiert werden. Bei einigen wenigen Versuchen mit noch größeren Analytmengen konnten Massenspektren aufgezeichnet werden, welche den in Kapitel 10.3.1 gezeigten sehr ähnlich sind.

Die Verwendung von Glycerin als Matrix führt bei Cyclodextrinen weder zur Verbesserung der Stabilität noch der Qualität der aufgezeichneten Massenspektren.

Als letztes wurde mit dem beschriebenen Versuchsaufbau untersucht, ob charakteristische Massenspektren für intakte Organismen aufgezeichnet werden können. Dazu wurden lyophilisierte Bakterien des Typs *Bacillus Subtilis* in einer isotonischen Kochsalzlösung gelöst und $1\ \mu\text{L}$ dieser Lösung auf die Metalloberfläche gegeben. Das deponierte Material wird anschließend mit $0,7\ \mu\text{L}$ der Glycerinlösung überschichtet und auf der Oberfläche damit vermengt. Durch diese Vorgehensweise ergibt sich eine Beladung der Oberfläche mit $1,4\ \mu\text{g}$ Bakterien. Bei einer angenommenen Dichte von $1\ \text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ und einem angenommenen Durchmesser von $1\ \mu\text{m}$ entspricht die aufgegebene Menge ca. 2,7 Millionen Bakterien.

Das in Abbildung 50 gezeigte Massenspektrum wurde mit dem im Kapitel 8 beschriebenen Verfahren mit einem zusätzlichen Pulsgenerator aufgenommen, weil ein Scan ohne Subscans über einen Massenbereich von m/z 3500 mit dem verwendeten Massenspektrometer nicht möglich ist. Die Versuche mit dem verwendeten Bakterienstamm sind gut reproduzierbar und ein Aufsummieren der einzelnen Spektren liefert zuverlässig das unten angegebene Massenspektrum. Eine Zuordnung der erhaltenen Signale ist aber zu dem jetzigen Zeitpunkt weder möglich noch angestrebt. Ohne die Verwendung einer Matrix konnte kein Signal detektiert werden.

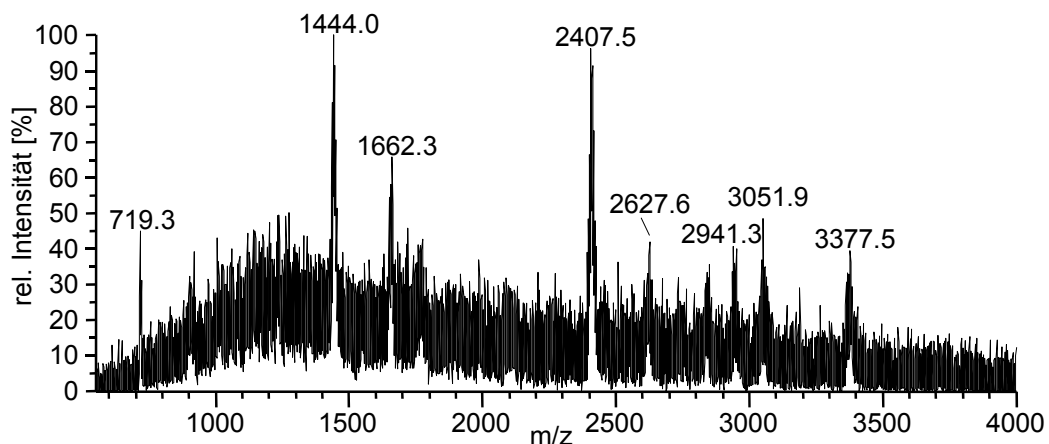


Abbildung 50: $1,4\ \mu\text{g}$ *Bacillus Subtilis* + $0,7\ \mu\text{L}$ Glycerin (gemittelt über 75 Spektren)

10.4.2 Versuche mit der Matrix Glykol

10.4.2.1 Versuche mit Cyclodextrinen

Da trotz Variation der Laserparameter und Erhöhung der Konzentration keine Signale für die verwendeten Cyclodextrine mit der Matrix Glycerin beobachtet werden konnten, wurde beschlossen, eine andere Matrix zu verwenden. Die Anforderungen, die eine Matrix im vorliegenden Fall erfüllen muß, sind eine gute Löslichkeit des Analyten, einen hohen Absorptionsquerschnitt bei einer Wellenlänge von 2,94 μm , sowie ein geringer Dampfdruck unter Normalbedingungen. Glykol erfüllt diese Anforderungen und gehört zudem zur gleichen Substanzklasse wie Glycerin, welches bewiesenermaßen für eine Vielzahl von Substanzen eine sehr gute Matrix darstellt. Daher wurden Versuche mit Glykol als Matrix durchgeführt. Zu diesem Zweck werden typischerweise je 1 – 2 μl der wäßrigen Lösung von α -, β - oder γ -Cyclodextrin auf die Edelstahloberfläche gegeben und bis zur Trockene dort belassen. Der Rückstand wird dann mit 0,3 – 1 μL Glykol überschichtet.

Es zeigte sich, daß Glykol im Vergleich zu Glycerin eine deutlich bessere Matrix für Cyclodextrine ist. Abbildung 51 zeigt ein aufgenommenes Massenspektrum mit einer Beladung der Oberfläche von 9,7 μg α -Cyclodextrin, welches mit 0,3 μL Glykol überschichtet wurde. Man erkennt deutlich, das für APCI-Ionenquellen typische Signal für das Pseudomolekularion bei m/z 973.

Daneben findet man bei m/z 1135 und m/z 1297 Signale für die Pseudomolekularionen von β - und γ -Cyclodextrin, die aus Verunreinigungen des aufgegebenen Analyten resultieren. Unklar bleibt die Interpretation der Signale bei m/z 990, 1062 und 1195. Alle Signale traten bei den durchgeführten Experimenten mit schwankenden relativen Intensitäten auf. Teilweise konnte beobachtet werden, daß das Massenspektrum fast vollständig von der Spezies mit dem Masse zu Ladungsverhältnis von 1195 beherrscht wurde. Wie in Abbildung 51 angegeben, handelt es sich wahrscheinlich um angelagerte Wassercluster, wobei dies bei den Signalen bei m/z 990 und 1062 ein unprotoniertes, einfach geladenes Molekülion voraussetzt. Offenbar spielen Radikalreaktionen bei der Ionenbildung eine Rolle, weil sonst der Massenunterschied von 18 beziehungsweise 90 Dalton zum Molekülmasse des Analyten nicht erklärt werden kann.

Auch bei diesen Experimenten wurde mit dem in Kapitel 10.4.1.2 beschriebenen Verfahren ausgeschlossen, daß die beobachteten Ionen aus Photoionisationsprozessen resultieren.

Die Empfindlichkeit und Stabilität der detektierten Signale reichen zwar nicht ganz an die mit der Kombination von Reserpin mit Glycerin erreichten heran, dennoch konnten die Versuche mehrmals erfolgreich wiederholt werden. Bei der Verwendung der Matrix Glycerin ist ein „Abrastern“ der Oberfläche nicht notwendig. Nach erfolgter Justierung liefert die einmal eingestellte Position des Desorptionslasers ein zeitlich stabiles Signal.

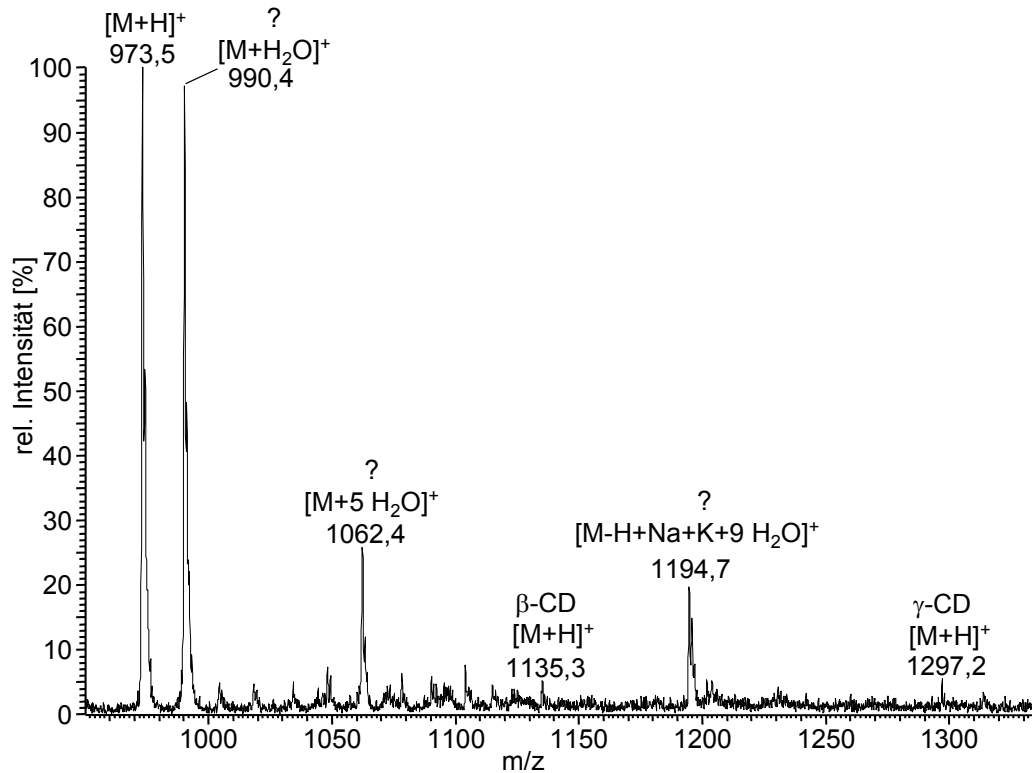


Abbildung 51: Massenspektrum von 9,7 µg α-Cyclodextrin mit 0,3 µL Glykol (gemittelt über 23 Scans)

Während für die ersten Versuche noch größere Mengen Analyt aufgegeben wurden, konnte im Falle von α-Cyclodextrin bei der Aufsummierung der Spektren, Signale für das Pseudomolekularion detektiert werden, wenn die Analytmenge bis auf ca. 20 ng reduziert wurde.

Zur Abschätzung der desorbierten Menge Analyt pro Schuß wurden 1,1 µg α-Cyclodextrin auf die Oberfläche gegeben, mit 0,3 µL Glykol überschichtet und diese solange mit dem Er:YAG-Laser bestrahlt, bis kein Signal für m/z 973 mehr detektiert werden konnte. Für knapp 50 Minuten, welches ca. 8700 Laserpulsen entspricht, konnte ein Signal für das Pseudomolekülion in jedem Einzelspektrum detektiert werden. Bei einer angenommenen Gleichverteilung der desorbierten Analytmenge entspricht dies ca. 130 pg pro Laserpuls. Abbildung 52 zeigt im linken Teil eines der aufgenommenen Einzelspektren.

Trotzdem befand sich nach Beendigung des Versuchs noch Analyt auf der Oberfläche, da durch erneute Zugabe von Glykol die Signalintensität wieder erhöht werden konnte. Dies wurde zur Abschätzung der desorbierten Analytmenge aber nicht berücksichtigt, da die Puls zu Puls Stabilität deutlich schlechter war. Im Falle von Glycol als Matrix scheint es für die Signalintensität und Signalqualität von Vorteil zu sein, wenn sich die Matrix in einer sehr dünnen Schicht auf dem Analyten befindet. Diese Beobachtung wurde auch von Talrose et al. in ihrer Arbeit über IR-MALDI Matrices erwähnt [108].

Die Versuche mit Glykol als desorptionsunterstützende Matrix wurden ebenfalls mit β - und γ -Cyclodextrin durchgeführt. Abbildung 52 zeigt im rechten Teil zwei der aufgenommenen Massenspektren für diese Analyten.

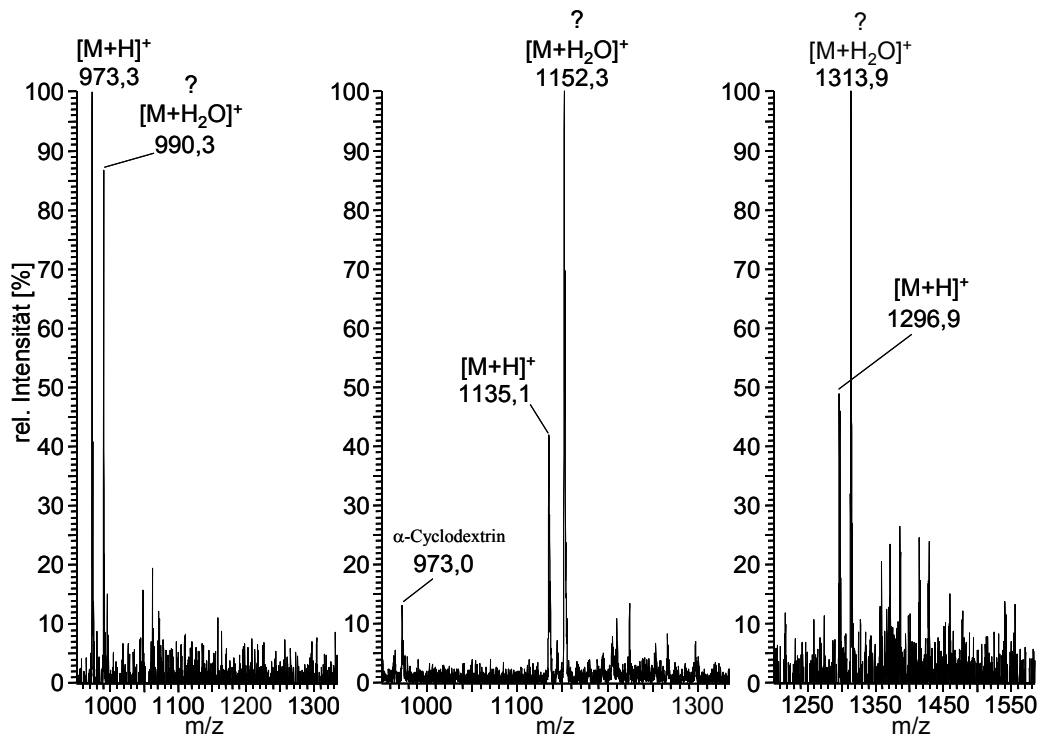


Abbildung 52: Massenspektren von α -Cyclodextrin (1,1 μg + 1 μL Glykol – ein Scan), β -Cyclodextrin (880 ng + 1 μL Glykol – gemittelt über 10 Scans) und γ -Cyclodextrin (10,5 μg + 0,3 μL Glykol – gemittelt über 8 Scans)

Im Falle von γ -Cyclodextrin ist die Empfindlichkeit und Signalstabilität im Vergleich zu den beiden anderen Cyclodextrinen deutlich schlechter. Für ähnliche Ergebnisse muß eine um den Faktor 10 erhöhte Analytmenge verwendet werden.

Abbildung 52 zeigt, daß bei allen untersuchten Cyclodextrinen Signale bei $[\text{M}+18]^+$ beobachtet werden können. Wie bereits weiter oben angesprochen, scheint neben der Protonierung des Analyten durch die chemischen Prozesse in der Koronaentladung ein radikalischer Mechanismus zur Bildung von M^+ zu führen. Die sukzessive Anlagerung von Wasser an das Molekülion würde zum beobachteten Signal führen. Näheres dazu in Abschnitt 10.4.3.

10.4.2.2 Versuche mit anderen Analyten

Durch Zufall wurde, während einer Versuchsreihe mit β -Cyclodextrin, der Desorptionslaser auf die Kante des Edelstahlstiftes fokussiert. Wie auf Seite 50 zu sehen ist, sind die Seiten des Stiftes aus Sicherheitsgründen mit Schrumpfschlauch isoliert. Die falsche Positionierung führte zu sehr intensiven Signalen, welche zuerst nicht interpretiert werden konnten. Eine Analyse des in Abbildung 53 gezeigten Massenspektrums löste mit seinen Signalen im Abstand von m/z 2 schließlich das Rätsel. Das für Chlor typische Isotopenmuster zeigt,

daß der verwendete Schrumpfschlauch offenbar aus einem polychloriertem Elastomer besteht. Das zufällig aufgenommene Massenspektrum verdeutlicht, daß die Methode der Desorption mit anschließender Ionisation auch erfolgreich auf andere Analyten angewandt werden kann.

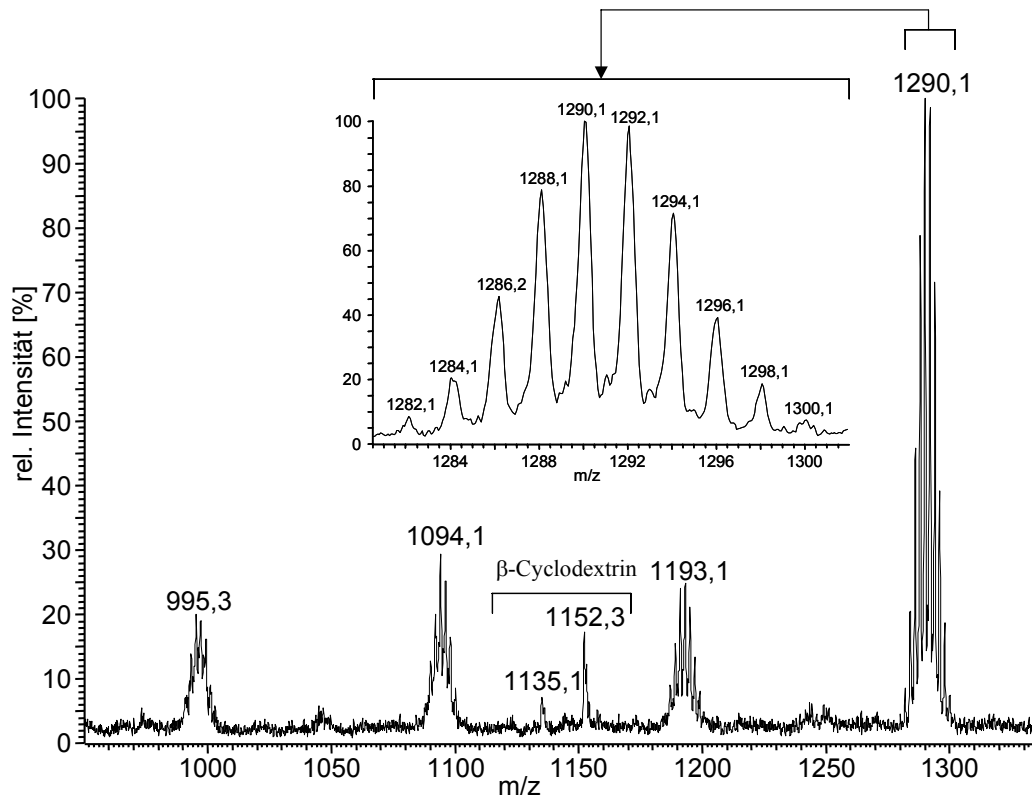


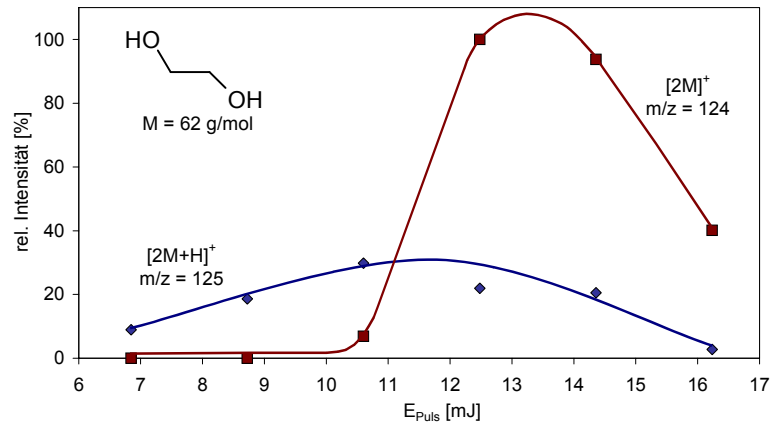
Abbildung 53: Massenspektrum des Schrumpfschlauches (gemittelt über 92 Scans)

Ob und inwieweit das vorhandene Glykol einen Einfluß auf das Massenspektrum des Kunststoffes hat, wurde nicht untersucht.

10.4.3 Einfluß der Pulsenergie auf die Matrix

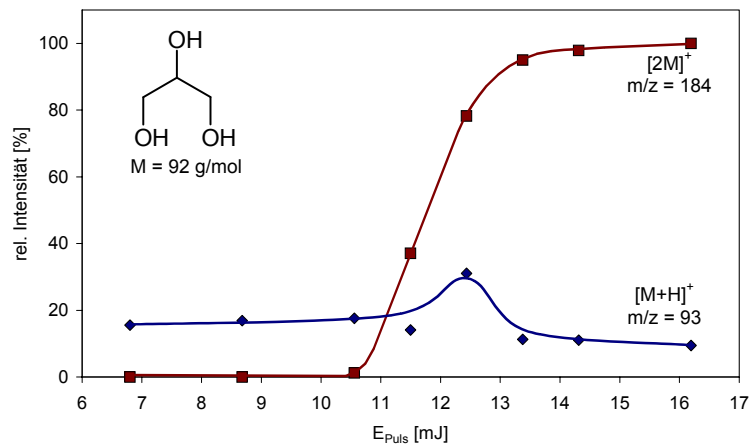
Das Ziel der in diesem Abschnitt beschriebenen Versuche war es zu klären, ob die bei allen untersuchten Cyclodextrinen detektierten Signale bei m/z $[M+18]$ aus der Interaktion von Analyt und Matrix resultieren und ob radikalische Mechanismen bei der Bildung dieser Spezies eine Rolle spielen. Dazu wurde der Einfluß der Laserenergie auf die Matrix näher untersucht.

Für diese Versuche wurden 1 μL der reinen Matrix Glycerin beziehungsweise Glykol auf die Oberfläche gegeben und Massenspektren mit steigenden Pulsenergien aufgezeichnet. In den beiden Grafiken auf Seite 67 sind die für jeden Datenpunkt jeweils über 180 Laserpulse gemittelten relativen Signalintensitäten der beobachteten Ionen bei steigender Pulsenergie angegeben.



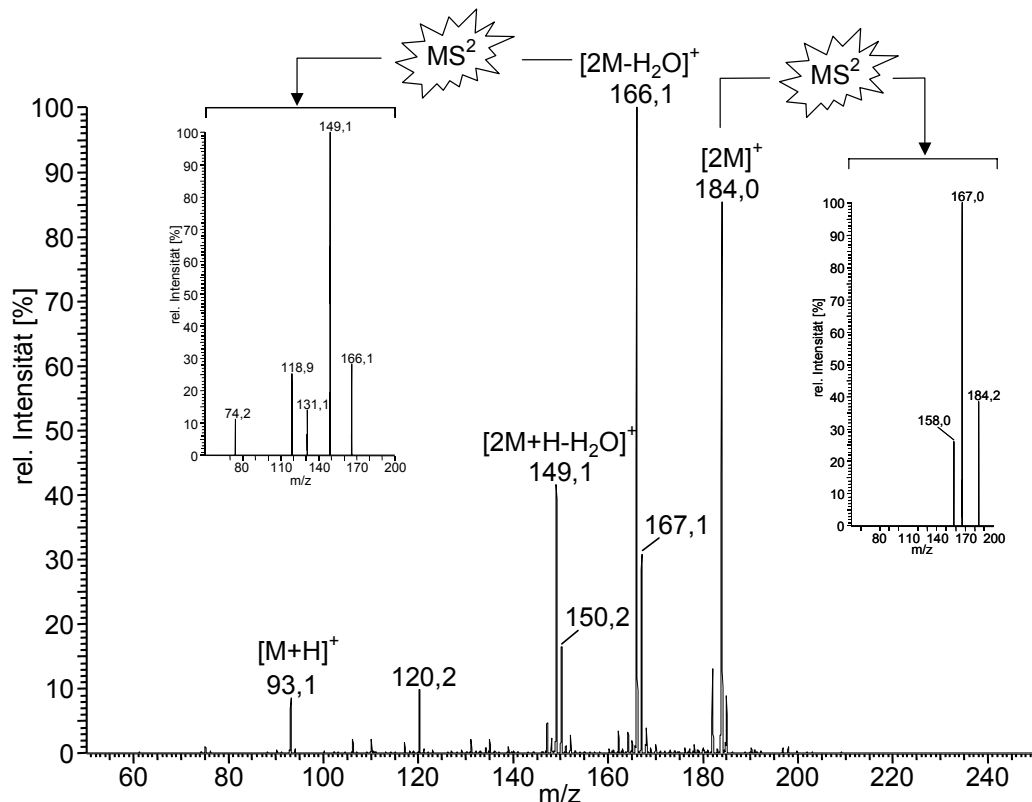
Grafik 7: Einfluß der Pulsenergie auf das Massenspektrum von Glykol

Wie zu erkennen ist, steigt bei beiden untersuchten Matrices die Signalintensität für das $[2M]^+$ -Ion ab einem Schwellwert von ca. 10,5 mJ pro Puls stark an. Während unterhalb dieser Pulsenergie das für APCI-Ionenquellen typische Pseudomolekülion $[M+H]^+$, beziehungsweise im Falle von Glykol das Signal für das protonierte Dimer $[2M+H]^+$ das Massenspektrum beherrscht, ist bei höheren Pulsenergien für beide Matrices das Signal für das dimerisierte Radikalkation das Intensivste.



Grafik 8: Einfluß der Pulsenergie auf das Massenspektrum von Glycerin

Dies deutet darauf hin, daß bei Pulsenergien, welche zur Desorption von deponiertem Material führen, gleichzeitig Radikalreaktionen induziert werden. Gestützt wird diese Schlußfolgerung durch MS/MS Untersuchungen, welche im Falle von Glycerin am $[2M]^+$ -Ion (m/z 184) und $[2M-H_2O]^+$ -Ion (m/z 166) durchgeführt wurden. Wie in Abbildung 54 zu sehen ist, zeigt das Fragmentierungsmuster der beiden untersuchten Ionen durch den Massenverlust von 17 Dalton eindeutig die Abspaltung von OH-Radikalen.

Abbildung 54: MS^2 -Untersuchungen von desorbierten Glycerin

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die bei den Versuchen mit Cyclodextrinen beobachteten Ionen bei m/z $[M+18]$ mit hoher Wahrscheinlichkeit auf durch den Laserpuls induzierte Radikalreaktionen zurückzuführen sind.

10.4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die durchgeführten Versuche mit desorptionsunterstützenden Matrices zeigten, das ähnlich dem MALDI-Prozess die Wahl der Matrix auch bei der reinen Desorption auf den Analyten abgestimmt werden muß. Während Glycerin eine sehr gute Matrix für Reserpin darstellt, ist sie für Untersuchungen von Cyclodextrinen dagegen gar nicht geeignet. Aber auch innerhalb einer Substanzklasse sind Unterschiede zu beobachten. Während die Matrix Glykol für α - und β -Cyclodextrin gut geeignet ist, sind die erzielten Signale für γ -Cyclodextrin weniger intensiv.

Untersuchungen des Einflusses der Laserpulsenergie zeigten, daß durch die eingestrahlte Laserenergie das deponierte Material nicht nur in die Gasphase überführt wird, sondern offenbar auch Radikalreaktionen induziert werden können, welche das resultierende Massenspektrum maßgeblich beeinflussen.

Versuche zur Menge des desorbierten Materials pro Laserpuls zeigten, daß nur wenige Picogramm in die Gasphase überführt werden und sicher detektiert werden können.

11 Desorption von Partikeln

Nachdem die bisher durchgeführten Versuche mit deponiertem Material vielversprechend verliefen, wurde beschlossen nun das eigentliche Ziel dieser Arbeit in Angriff zu nehmen und Versuche mit luftgetragenen Partikeln durchzuführen.

11.1 Partikelgenerierung

Zur Generierung eines trockenen Aerosols wird der in Abbildung 55 schematisch dargestellte Aufbau verwendet. Die in wässriger Lösung vorliegenden Analyten werden mit einem konzentrischem Glaszerstäuber (auch Meinhardt-Zerstäuber genannt) der Firma „Precision Glasblowing“, Engelwood, CO, USA, welcher üblicherweise in der AAS oder ICP-MS eingesetzt wird, versprüht. Die eingesetzten Analytlösungen haben typischerweise eine Konzentration von 500 mg Cyclodextrin in 100 mL H₂O. Die den Zerstäuber umgebende Abscheidkammer verhindert, daß zu große Primärpartikel und nicht zerstäubte Lösung in den Trockner gelangen. In der Abscheidkammer gesammelte Analytlösung kann wahlweise über eine Schlauchpumpe in einen Abfallbehälter gepumpt werden oder in das Vorratsgefäß mit der Analytlösung zurückgeführt werden.

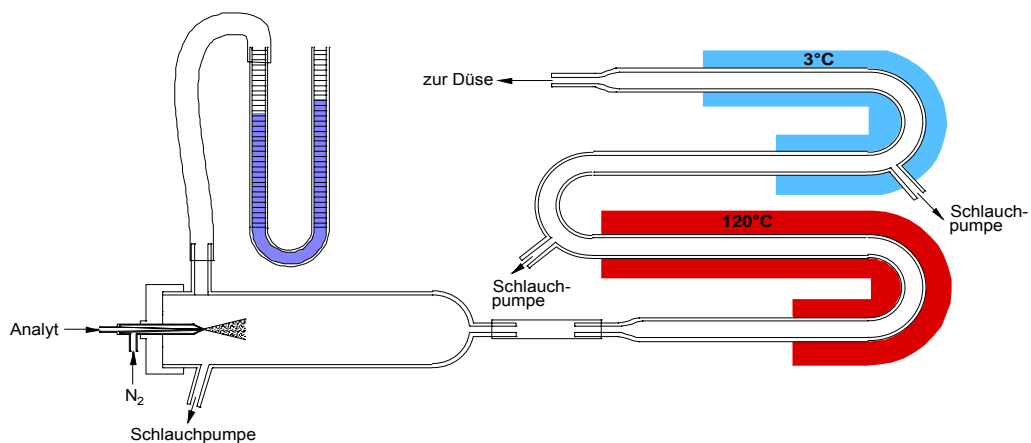


Abbildung 55: Schematischer Aufbau der Partikelgenerators

Zur Trocknung der feuchten Primärpartikel wird die Trockeneinheit eines Ultraschall-Zerstäubers des Typs U5000AT⁺ der Firma „CETAC-Technologies“, Omaha, NE, USA verwendet. Die Trockeneinheit besteht prinzipiell aus zwei Glas-U-Rohren, von denen eines auf 120°C erhitzt und das andere über ein Peltier-Element auf 3°C abgekühlt wird. Im ersten Abschnitt wird das Lösungsmittel in die Gasphase überführt und kondensiert anschließend an den 3°C kalten Rohrwänden des zweiten Abschnittes wieder aus. Das Lösungsmittel wird ebenfalls über eine Schlauchpumpe in einen Abfallbehälter befördert.

Da der durch den Zerstäuber geleitete Stickstoffstrom deutlich über dem Volumenstrom liegt, welcher durch die 200 µm kleine Öffnung des Düsensystems (siehe Kapitel 5.2.2) geleitet werden kann, wird ein Teil des partikelbeladenen

Gasstromes durch einen regelbaren Split abgetrennt. Das gesamte System arbeitet mit einem leichten Überdruck von 0,6 – 0,8 mbar.

11.2 Versuchsaufbau

Der am ORNL verwendete und in Kapitel 5.2.3 beschriebene Versuchsaufbau zur Partikeldetektion hat den Nachteil, daß Partikelstrahl, Detektionslaser und Lichtleiter zum Photomultiplier voneinander separat gehalten werden und deshalb einzeln justiert werden müssen. Eine Veränderung der Position des Partikelstrahls ist deshalb immer mit einer zeitintensiven Neuausrichtung weiterer Komponenten verbunden. Dies sollte bei dem am ISAS verwendeten Versuchsaufbau vermieden werden. Deshalb wurde eine Halterung entworfen, welche alle drei Komponenten des Detektionssystems in sich vereint. Die Halterung wurde ebenfalls von der feinmechanischen Werkstatt des ISAS angefertigt.

Abbildung 56 zeigt den schematischen Aufbau. In der Mitte befindet sich das bereits am ORNL verwendete Düsensystem zur Fokussierung des Partikelstrahls. Das Glasteil wird über eine $\frac{1}{4}$ Zoll Swagelok™-Verschraubung fixiert und kann gegebenenfalls gegen andere Düsen ausgetauscht werden. Oberhalb und unterhalb der Düse befinden sich zwei Haltetische. Diese sind über eine Dreipunktaufhängung justierbar und dienen zur Aufnahme zweier Linshalterungen. Am Ende der beiden Linshalterungen kann jeweils ein Lichtleiter eingeführt werden. In einen der beiden Lichtleiter wird der Detektionslaser eingekoppelt, welcher dann über die Linse auf den Partikelstrahl fokussiert wird. Die zweite Linse fokussiert das einfallende Streulicht der Partikel auf den zweiten Lichtleiter, der das Streulicht zu einem Photomultiplier leitet. Um kurzwellige Strahlung, die von der Koronaentladung emittiert wird herauszufiltern, befindet sich zwischen dem Lichtleiter und dem Photomultiplier ein Langpassfilter vom Typ GG495 der Firma Schott, Mainz.

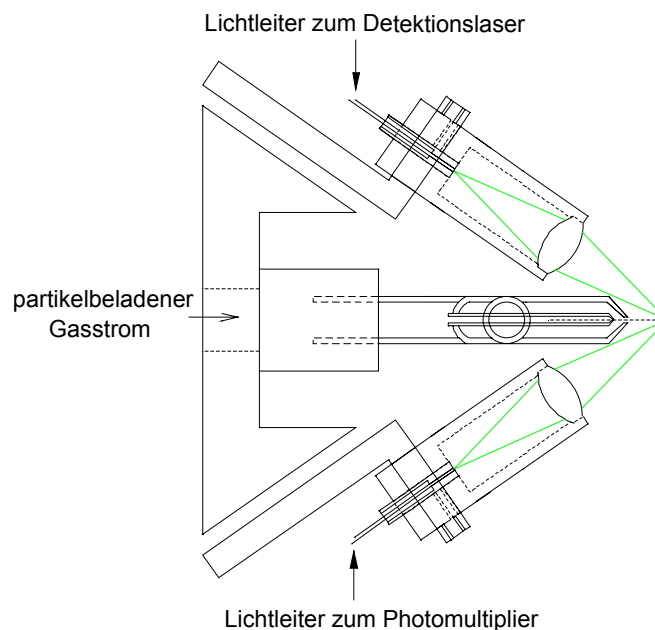


Abbildung 56: schematische Darstellung Partikeldetektion

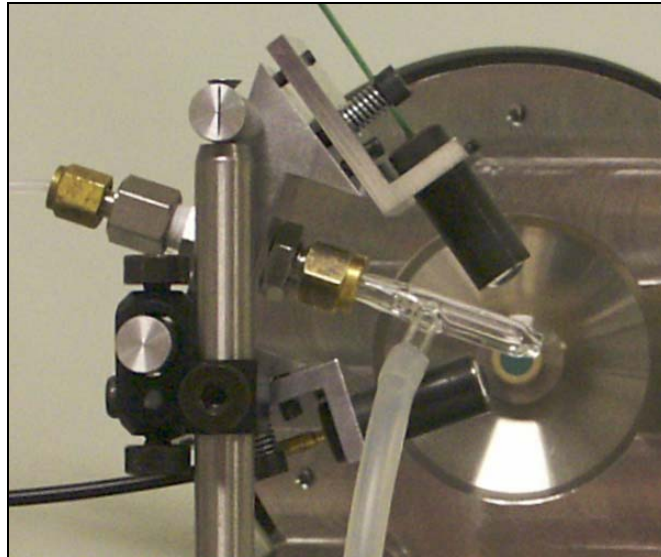


Abbildung 57: Linsenhalter mit Düse und Lichtleitern

Mit diesem Aufbau ist es möglich, daß einmal justierte Detektionssystem zusammen mit dem Partikelstrahl nur durch einen X-Y-Z-Verschiebetisch frei im Raum zu positionieren.

Obwohl durch die in Kapitel 8 beschriebenen Umbauten am LCQ-Deca Massenspektrometer ein Großteil des Spray Shields entfernt werden konnte, ist immer noch sehr wenig Platz für Versuchsaufbauten vor der Einlaßkapillare. Deshalb konnten der Erregerlaser und die Sammellinse zur Streulichtdetektion nicht im optimalen Winkel von fast 180° zueinander angeordnet werden, sondern befinden sich in einen Winkel von ca. 75° .

Um den Versuchsaufbau möglichst einfach zu halten und damit die Anzahl möglicher Fehlerquellen zu minimieren, wurde für die ersten Versuche der Detektionslaser nur zur visuellen Überprüfung der Position des Partikelstrahls verwendet und das Streulicht nicht über den Photomultiplier detektiert.

Zum Triggern des Desorptionslasers wurde die bereits in Kapitel 10.2 beschriebene Schaltung verwendet. Dadurch, daß der Desorptionslaser immer zu Beginn der Einlaßzeit ausgelöst wird und nicht auf ein eventuell im Fokus befindliches Partikel abgestimmt ist, können Partikel nur zufällig getroffen werden. Um die Wahrscheinlichkeit eines Treffers zu erhöhen wurde zur Fokussierung des Partikelstrahls eine einfache Düse mit einem Durchmesser von ca. 1,5 mm verwendet.

Abbildung 58 zeigt den Versuchsaufbau für die ersten Experimente mit Partikeln. Unten links erkennt man einen Teil der Halterung für den Lichtleiter, welcher mit der Linse den Detektionslaser auf den Partikelstrahl fokussiert. Aus dieser Perspektive davor befindet sich die Koronanadel. Die Düsen Spitze wurde geschwärzt, weil sich Reflektionen an der Glasdüse, beim Justieren der Apparatur, als äußerst störend erwiesen. Im rechten Teil des Photos erkennt man die Kapillarverlängerung, welche auf die Transferkapillare aufgesteckt wird und sich dort aufgrund des Vakuums festsaugt.

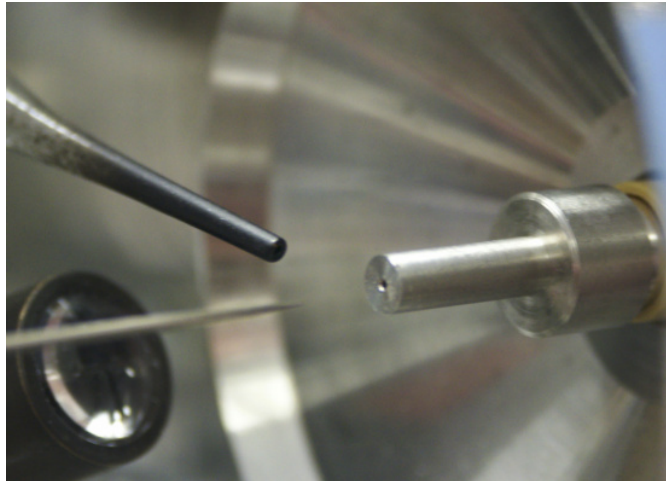


Abbildung 58: Partikelstrahldüse mit Kapillarverlängerung

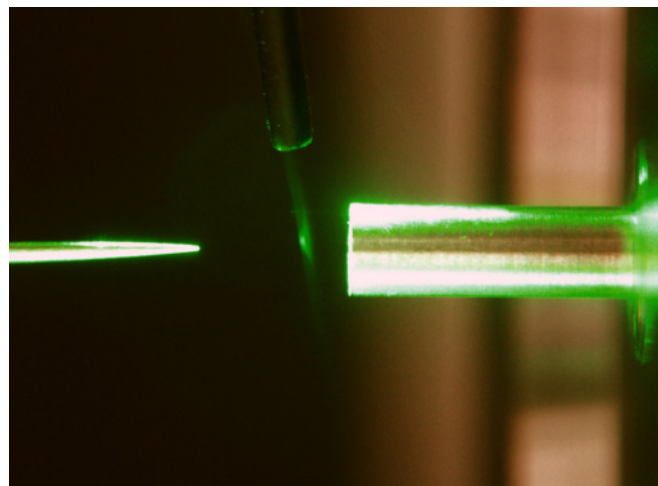


Abbildung 59: mit Detektionslaser illuminierter Partikelstrahl

In Abbildung 59 ist der mit dem Detektionslaser illuminierte Partikelstrahl zu sehen, welcher zwischen der Koronanadel und der Einlaßöffnung der Kapillarverlängerung positioniert wurde.

Der Strahlengang des Desorptionslasers wurde für die Partikelexperimente nicht verändert. Der einzige Unterschied zu vorhergehenden Experimenten besteht darin, daß die Fokussierlinse gegen eine Linse mit einer Brennweite von 40 mm ausgetauscht wurde. Aufgrund der kürzeren Brennweite ist der Fokus des Desorptionslasers schärfer definiert und hat damit eine höhere Energiedichte. Der Fokusedurchmesser wurde bestimmt, indem mehrere, jeweils durch einen Laserpuls erzeugte Löcher in Thermopapier unter einem Mikroskop vermessen wurden. Der Fokusedurchmesser beträgt ca. 200 μm .

Während die Position der Koronanadel und des Partikelstrahls ohne Probleme justiert werden können, ist es nicht trivial den Desorptionslaser auf den Partikelstrahl zu fokussieren. Auch bei maximaler Pulsenergie kann mit dem bloßen Auge keine Interaktion von Laserpuls mit dem Partikelstrahl beobachtet werden. Deshalb wurde mit Hilfe eines spitz zulaufenden Stückes schwarzer

Pappe die Position des Fokus so gut wie eben möglich in den Partikelstrahl bewegt. Die Feinjustierung erfolgte dann unter Beobachtung der aufgenommenen Massenspektren.

11.3 Versuche mit Partikeln

Die ersten Versuche wurden mit α -Cyclodextrinpartikeln durchgeführt. Abbildung 60 zeigt, daß bei einem Partikelexperiment aufgenommenen Totalionen- und Massenchromatogramm. In der ersten Minute wird der Partikelstrahl durch die Koronaentladung geleitet, jedoch nicht mit dem Desorptionslaser bestrahlt. Während der zweiten Minute des abgebildeten Chromatogramms war der Desorptionslaser eingeschaltet.

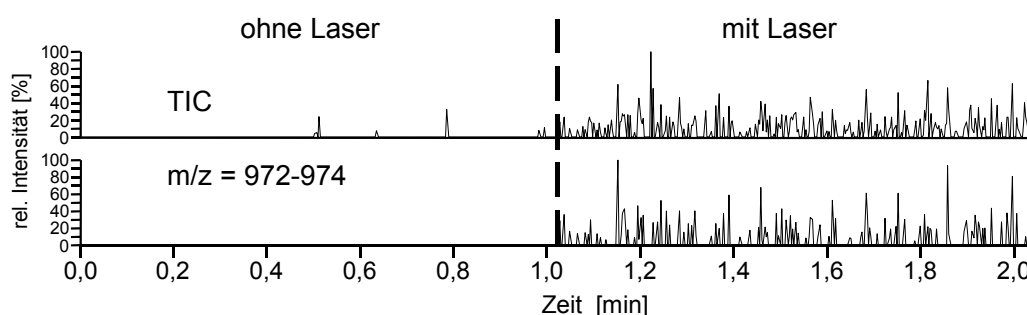


Abbildung 60: TIC und Massenchromatogramm α -Cyclodextrinpartikeln

Wie deutlich zu erkennen ist, kann ohne den Desorptionslaser kein Signal für das Pseudomolekülion von α -Cyclodextrin detektiert werden. Aufgrund der niederenergetischen Bedingungen in der Koronaentladung, werden die Partikel beim Passieren des Entladungsbereichs nicht in ihre molekularen Bestandteile zerlegt und können somit auch nicht mit den dort ablaufenden chemischen Prozessen Wechselwirken. Eine Detektion von Ionen aus dem Partikelmaterial erfolgt daher nicht.

Erst durch die zusätzlichen IR-Laserpulse werden die Partikelbestandteile in die Gasphase überführt und können durch die chemischen Prozesse in der Koronaentladung ionisiert werden. Mit dem bereits in Kapitel 10.4.1.2 beschriebenen Verfahren wurde auch bei diesen Versuchen ausgeschlossen, das Photoionisationsprozesse zur Ionenbildung beitragen. Nur mit Laserbeschuss, das heißt ohne Koronaentladung, konnten keine Ionen detektiert werden.

Wie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, ist der Laserpuls nicht mit dem Eintreffen eines Partikels korreliert und Partikel können nur zufällig getroffen werden. Dies zeigt sich auch in dem aufgenommenen Massenchromatogramm. Nur ca. 35 – 40% der aufgezeichneten Massenspektren enthalten Signale für Ionen von α -Cyclodextrinpartikeln.

Die Versuche konnten ebenfalls mit β - und γ -Cyclodextrinpartikeln erfolgreich und reproduzierbar durchgeführt werden. Durch die kurze Einlaßzeit von nur 6 ms und den praktisch nicht vorhandenen Hintergrundsignalen im oberen Massenbereich, können Massenspektren aufgezeichnet werden, welche ein außerordentlich gutes Signal zu Rausch Verhältnis aufweisen.

Abbildung 61 zeigt aufgenommene Einzelspektren von allen untersuchten Cyclodextrinen. Auffällig war, daß bei vielen Massenspektren Signale für die jeweils anderen Cyclodextrinspezies detektiert werden. Zwar waren bereits bei den Versuchen mit deponiertem Material Signale für diese Verunreinigungen detektiert worden, jedoch mit geringeren relativen Intensitäten. Die in Abbildung 62 dargestellten und über mehrere Scans gemittelten Massenspektren verdeutlichen dies. Der Grund liegt wahrscheinlich darin, das die Analysebedingungen nun für alle drei Spezies identisch sind.

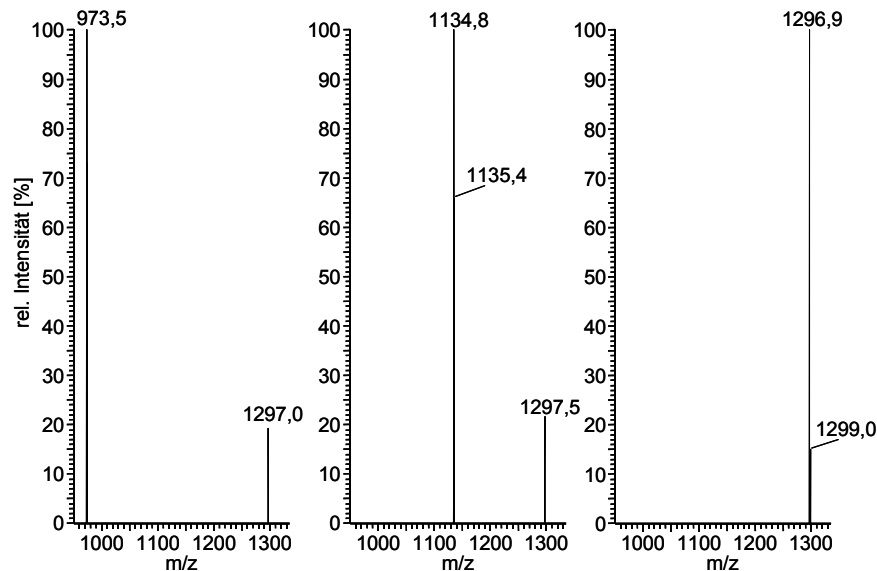


Abbildung 61: Einzelspektren von α -, β -, und γ -Cyclodextrinpartikeln

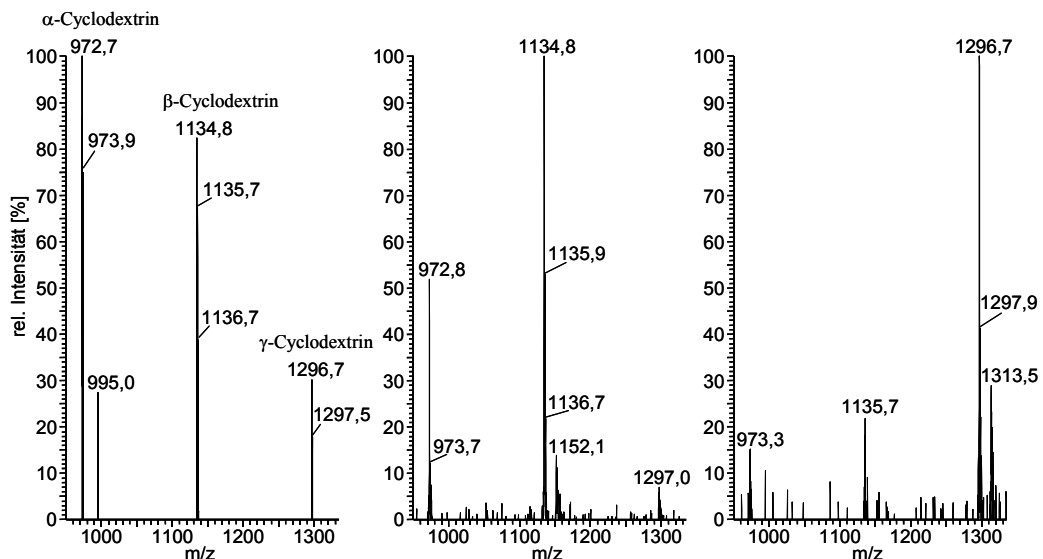


Abbildung 62: gemittelte Spektren von α -, β -, und γ -Cyclodextrinpartikeln

Wie bereits weiter oben ausgeführt, nimmt die die Desorption unterstützende Wirkung von Glykol in der Reihe von α - zu γ -Cyclodextrin ab. Dies führt bei den Versuchen mit deponiertem Material und der Matrix Glykol dazu, daß Verunreinigungen mit α -Cyclodextrin deutlicher hervortreten, während Verunreinigungen mit β - und γ -Cyclodextrin gegenüber α -Cyclodextrin unterdrückt

werden (vgl. Abbildung 52). Dieser nivellierende Effekt ist unter den matrixfreien Desorptionsbedingungen der Partikelexperimente nicht mehr gegeben und die relativen Intensitäten der Verunreinigungen entsprechen dem realen Zusammensetzungsverhältnis im Partikel. Die Quelle der Verunreinigungen ist wahrscheinlich das in Kapitel 9 beschriebene biologische Herstellungsverfahren von Cyclodextrinen. Bei den vorliegenden Messungen kann eine Kontamination durch andere Proben ausgeschlossen werden.

Um zu überprüfen, ob die Matrix Glykol auch bei den Partikelexperimenten die Signalintensität verbessern kann, wurde Glykol zur Analytlösung zugegeben. Während das im zerstäubten Aerosol enthaltene Wasser im Trockner (vgl. Abbildung 55) des Partikelgenerators entfernt wird, verbleibt Glykol aufgrund des deutlich höheren Siedepunktes von 197°C im Partikel und kann dort als Matrix fungieren.

Trotz Variation der Glykolkonzentration konnte bei Partikeln kein positiver Einfluß auf die Signalqualität und Intensität beobachtet werden.

11.4 Abschätzung der Anzahl desorbierter Partikel

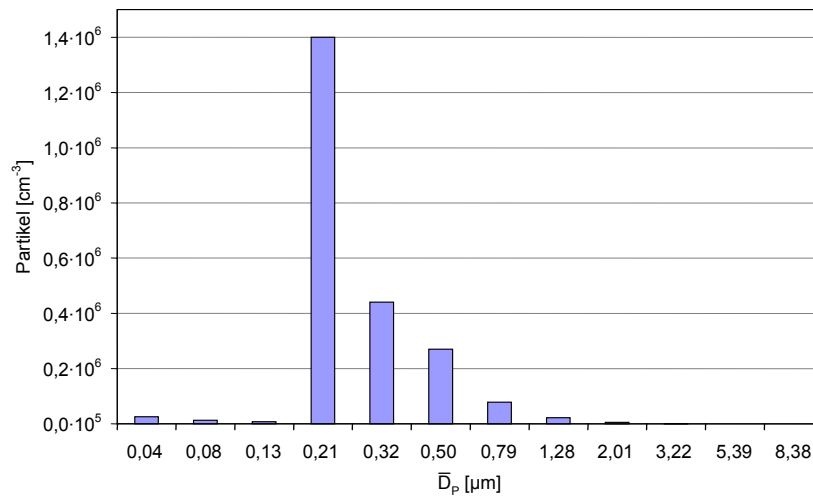
Es blieb zu klären, ob die Signale der Massenspektren auf desorbierte Einzelpartikel zurückzuführen sind oder ob durch den Laserpuls das Material mehrerer Partikel in die Gasphase überführt wird. Außerdem war bis zu diesem Zeitpunkt der Untersuchungen die Größenverteilung der erzeugten Partikel unbekannt.

Mit Hilfe eines elektrischen Niederdruckimpaktors (ELPI), der Firma Dekati Ltd., Tampere, Finnland sollten diese Fragen geklärt werden. Das Gerät funktioniert nach dem Prinzip der elektrostatischen Abscheidung. Eingesaugte Partikel werden zuerst mit einer Koronaentladung elektrostatisch aufgeladen und anschließend entsprechend ihrer Größe klassifiziert. Dazu durchläuft der geladene Partikelgasstrom 13 untereinander angeordnete Prallplatten, von denen jede, über Impaktion einen Teil der Partikel abscheidet. Während die größten Partikel bereits auf der ersten Prallplatte impaktieren, werden kleinere Partikel auf weiter unten liegenden Impaktorplatten gesammelt. Basierend auf dem dabei transportierten elektrischen Strom kann die Anzahl, der auf den einzelnen Prallplatten abgeschiedenen Partikeln bestimmt werden. Mit dem ELPI ist es also möglich, die Größenverteilung und absolute Anzahl von gasgetragenen Partikeln zu bestimmen. Eine absolute Größenmessung ist aufgrund des Meßprinzips nicht möglich. Es erfolgt aber eine Eingruppierung der eingesaugten Partikel in eine der 13 bestimmbareren Größenklassen. Zur Beantwortung der ausstehenden Fragen ist dies aber ausreichend.

Da das Gerät einen Volumenstrom von 10 L/min ansaugt, der Partikelgenerator aber nur 830 mL/min liefert, wurde der zusätzliche benötigte Gasstrom über einen Partikelfilter der Firma Hepa Corp. Anaheim, CA, USA zugeführt. Die Software des ELPIs ermöglicht es, solche Verdünnungsgasströme bei der Auswertung der Daten mit einzuberechnen.

Die an α -Cyclodextrinpartikeln durchgeführten Messungen ergeben das in Grafik 9 gezeigte statistische Verteilungsmuster. Angegeben ist neben der

Partikelkonzentration der über die Größenklasse gemittelte Partikeldurchmesser. Das bedeutet, daß zum Beispiel in dem Balken für Partikel mit dem mittleren Durchmesser von $1,28 \mu\text{m}$ alle Partikel berücksichtigt sind, die einen Durchmesser zwischen $0,958 \mu\text{m}$ und $1,610 \mu\text{m}$ haben.



Grafik 9: Größenverteilung α -Cyclodextrinpartikel

Die Bestimmung der Größenverteilung zeigte, daß der Partikelgenerator hauptsächlich Partikel mit einem Durchmesser zwischen 159 nm und 266 nm produziert. Daneben werden aber auch zahlreiche Partikel mit größeren Durchmessern generiert. Unter Einbeziehung der Partikelmasse ergibt sich, daß der massenmäßige Hauptteil des zerstäubten Analyten in Partikeln mit dem gewünschten Durchmesser zwischen $1 \mu\text{m}$ und $3 \mu\text{m}$ wiederzufinden ist.

Mit den ermittelten Daten ist es möglich, die statistische Verteilung der Partikel zu berechnen, welche im zeitlichen Mittel vom Desorptionslaserpuls getroffen werden. Der Partikelstrahl hat einen Durchmesser von $1,5 \text{ mm}$ und wird mit einem Laserpuls bestrahlt, dessen Fokus einen Durchmesser $200 \mu\text{m}$ hat. Es kann also als Näherung angenommen werden, daß der Laserpuls alle Partikel des Partikelstrahls, welche sich in einem Zylinder mit der Höhe von $1,5 \text{ mm}$ und einem Durchmesser von $200 \mu\text{m}$ befinden, desorbiert. Die Bewegung von Partikeln in den Desorptionszylinder hinein und hinaus kann aufgrund der kurzen Laserpulse vernachlässigt werden. In Tabelle 2 ist das Ergebnis dieser Berechnungen angegeben.

Neben durchschnittlich 66 Partikeln mit einem mittleren Durchmesser von 210 nm und einigen weiteren kleineren Partikeln befindet sich statistisch gesehen 1 Partikel mit einem mittleren Durchmesser von $1,28 \mu\text{m}$ im Desorptionszylinder. Weil die Partikelmasse eine Funktion der dritten Potenz des Partikeldurchmessers ist, tragen die vielen kleineren Partikel weniger stark zur im Desorptionszylinder befindlichen Analytmasse bei, als zum Beispiel ein Partikel mit einem Durchmesser von $1 \mu\text{m}$. Die rechnerische Wahrscheinlichkeit ein Partikel mit dem Laserpuls zu treffen, dessen Durchmesser größer als $3 \mu\text{m}$ ist, liegt bei unter 1%.

Die Messungen ergeben daher, daß die aufgenommenen Massenspektren mit hoher Wahrscheinlichkeit auf desorbierte Einzelpartikel mit einem statistischen Durchmesser von 1,28 μm zurückzuführen sind.

\bar{D}_p [μm]	Anzahl im Desorptionszylinder
0,04	1,225
0,08	0,613
0,13	0,349
0,21	65,973
0,32	20,735
0,50	12,723
0,79	3,723
1,28	1,037
2,01	0,236
3,22	0,036
5,39	0,007
8,38	0,003

Tabelle 2: Berechnete Partikelverteilung im Desorptionszylinder

Zur Untermauerung dieser Aussage wurden Versuche mit dem in Kapitel 5.2.2 beschriebenen Düsensystem durchgeführt. Wie Abbildung 63 zeigt, führt die Verwendung eines, im Durchmesser deutlich kleineren Partikelstrahls zu einer drastischen Reduktion der Trefferquote bei gleichbleibender Signalintensität der Einzelspektren im Falle eines „Treffers“.

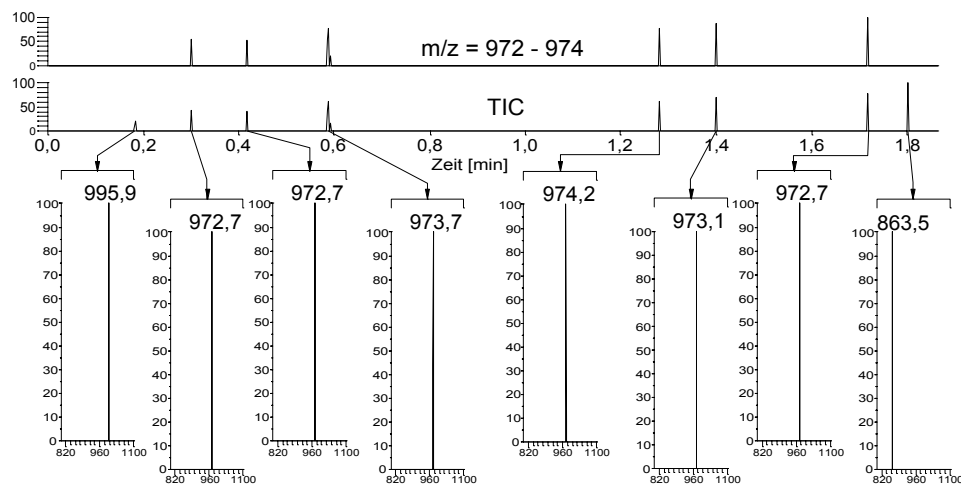


Abbildung 63: TIC und Massenchromatogramm bei Verwendung der 200 μm Düse

Weil die Partikeldichte in beiden Strahlen gleich ist, müßte eine Reduktion des Strahldurchmessers zu einer Reduktion der Signalintensität führen, wenn das beobachtete Signal von mehreren, gleichzeitig desorbierten Partikeln resultieren würde. Die reduzierte Trefferquote geht aber mit der verringerten statistischen Anzahl von Partikeln mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 1,28 μm

im Desorptionszylinder einher. Diese Beobachtungen sind ein weiteres Indiz, daß die beobachteten Signale mit großer Wahrscheinlichkeit auf desorbierte Einzelpartikel zurückzuführen sind. Zur endgültigen Klärung wäre der Einsatz von mindestens zwei Partikelgeneratoren notwendig.

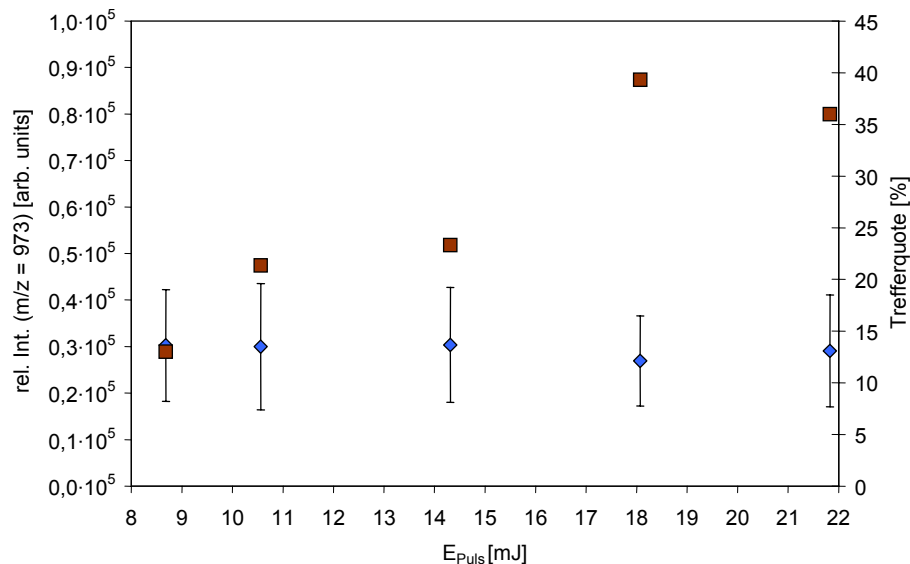
11.5 Untersuchungen zur Pulsenergie

Eine weitere Frage die geklärt werden sollte war die, ob durch den Laserpuls das gesamte Partikelmaterial desorbiert wird oder ob durch Erhöhung der Pulsenergie die Signalintensität verbessert werden kann. Für diese Versuchsreihe wurden wieder α -Cyclodextrinpartikel verwendet.

Mit der über die Blitzlampenspannung eingestellten Pulsenergie werden jeweils die Massenspektren von 300 Pulsen aufgenommen. Die Trefferquote und die durchschnittliche Signalintensität ergibt sich aus der Anzahl der Spektren in denen ein Signal für m/z 973 detektiert werden konnte und der damit verbundenen Signalintensität. In Grafik 10 ist das Ergebnis dieser Versuchsreihe dargestellt.

Während die durchschnittliche Signalintensität mit steigender Pulsenergie gleich bleibt, erhöht sich die Trefferquote um den Faktor drei. Zur Erklärung für dieses auf den ersten Blick unerwartete Verhalten können zwei Effekte verantwortlich gemacht werden. Zum Einen führt die Puls zu Puls Varianz (siehe auch 10.1) des verwendeten Lasersystems dazu, daß auch bei niedrigen Blitzlampenspannungen einzelne Pulse eine zur Desorption ausreichend hohe Energie besitzen. Mit steigender Blitzlampenspannung erhöht sich daher die Wahrscheinlichkeit, daß die Energie des Laserpulses zur Desorption ausreicht. Zum Anderen vergrößert sich mit steigender Laserenergie auch der Radius des Fokus. Dies ist so, weil reale Linsen das Laserlicht nicht in Idealerweise auf nur einen Punkt fokussieren. Bei kleinen Laserenergien wird die zur Desorption benötigte Energiedichte deshalb in einem kleineren Volumen erreicht. Die mit der Erhöhung der Laserenergie einhergehende Vergrößerung des Volumens, welches eine zur Desorption ausreichend hohe Energiedichte aufweist, führt damit offenbar zu einer gesteigerten Trefferquote.

Aufgrund der Tatsache, daß die Signalintensität unabhängig von der Trefferquote gleichbleibt, läßt sich zusammenfassend sagen, daß die untersuchten Partikel entweder vollständig oder gar nicht desorbiert werden.



Graphik 10: Trefferquote (rot) und Signalintensität (blau)

11.6 Modifizierung des Versuchsaufbaus zur Partikeldetektion

Der bisher verwendete Versuchsaufbau ermöglicht es nicht, einzelne Partikel gezielt zu treffen, weil der Desorptionslaser über das Gate-Signal immer zu Beginn der Einlaßzeit ausgelöst wird und damit eine Desorption von Partikeln nur zufällig erfolgt. Dies führt dazu, daß der Durchmesser des Partikelstrahls relativ groß sein muß, damit die Wahrscheinlichkeit eines Treffers bei 35 – 40% liegt und Untersuchungen von positiven oder negativen Einflüssen auf die Signalintensität möglich sind.

Um eine für die Versuche genügend hohe Partikelkonzentration generieren zu können, werden einige hundert Milligramm Analyt benötigt. Die Verwendung von Proteinen ist daher aus Kostengründen nicht möglich. Auch die Untersuchung von realen Partikeln scheitert an der benötigten Partikelkonzentration. Eine Reduktion der eingesetzten Analytmenge kann nur erfolgen, wenn das Material effizienter genutzt wird.

Deshalb wäre es wünschenswert, wenn die Partikel detektiert und der Zeitpunkt des Desorptionslaserpulses auf das Eintreffen eines Partikels abgestimmt wird. Das Hauptproblem, welches es zu Lösen galt war, daß im Gegensatz zum Varian Saturn 2000 (siehe auch Kapitel 5.2.4), aufgrund fehlender Eingriffsmöglichkeiten und Schaltungsbeschreibungen die Signalverarbeitung des Finnigan LCQ Deca Massenspektrometers nicht einfach unterbrochen werden kann. Es ist also nicht möglich das Gerät auf das Eintreffen eines Partikels warten zu lassen.

Aus diesem Grund wurde eine elektrische Schaltung realisiert, die dafür sorgt, das jene Partikel desorbiert werden, welche zum richtigen Zeitpunkt (während das MS Ionen in die Ionenfalle läßt) am richtigen Ort (im Fokus des Desorptionslasers) sind. Dies ist zwar nur eine suboptimale Lösung, führt aber trotzdem zu einer effizienteren Arbeitsweise, weil damit nicht nur zu Beginn, sondern während der gesamten (einstellbaren) Einlaßzeit eventuell eintreffende Partikel desorbiert werden können. Im Extremfall könnte man die Einlaßzeit auf

2 s festlegen und wahlweise ein oder jedes Partikel, welches in dieser Zeit detektiert wird desorbieren.

Der zentrale Baustein dieser Schaltung ist das 3-fach UND-Gatter 7411, welches überprüft, ob ein Partikel detektiert wurde, das Gate des Massenspektrometers geöffnet ist und ob in diesem Gate-Zyklus der Desorptionslaser noch nicht getriggert wurde. Treffen alle drei Bedingungen zu, schaltet das Gatter durch und triggert den Laserpuls.

Die Signalverarbeitung des Streulichtsignals vom Photomultiplier ist bis zum IC10A identisch mit dem in Kapitel 5.2.4 beschriebenen Schaltungsteil. Der Baustein IC10B dient wie auch der Baustein IC1B zur Pulsverbreiterung und zum Ansteuern der Leuchtdioden. Die drei LEDs zeigen an, wann das Gate des MS geöffnet ist, ob ein Partikel detektiert wird und wann der Laser ausgelöst wird.

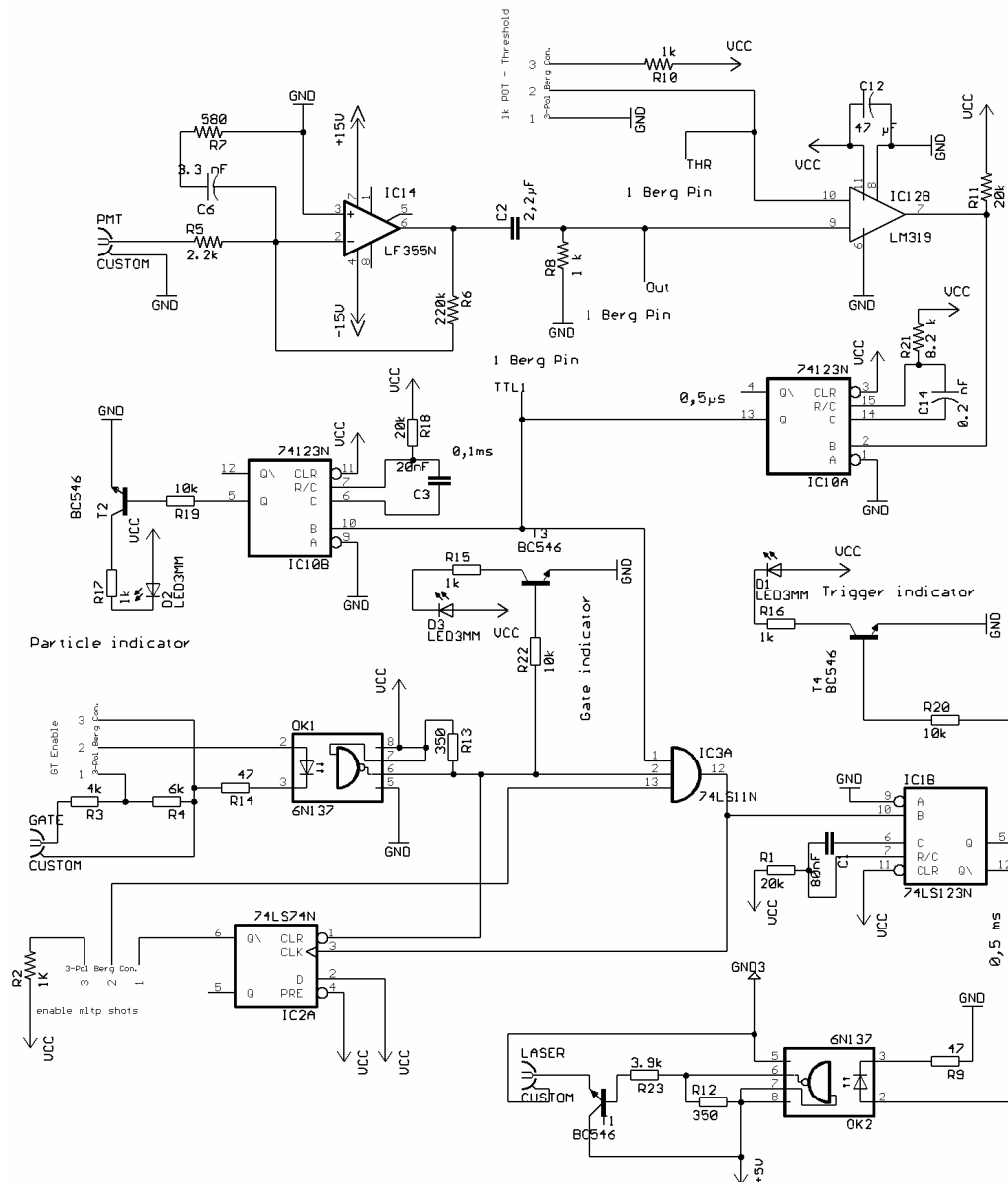


Abbildung 64: Schaltplan Steuerelektronik für Partikeldetektion

Das vom LCQ Deca Massenspektrometer abgenommene Gate-Signal (siehe auch Kapitel 8) wird erst durch den mit den Widerständen R3 und R4 aufgebauten Spannungsteiler und anschließend über den invertierenden Optokoppler OK1 zum 3-fach UND-Gatter geleitet. Die Invertierung des Gate-Signals ist notwendig, da im Modus zur Messung von positiven Ionen das Servicesignal des Gates im offenen Zustand bei ca. -10 V liegt.

Der IC2A überprüft, ob in diesem Gate-Zyklus der Laser bereits getriggert wurde und unterbindet gegebenenfalls ein erneutes Auslösen des Lasers. Diese Funktion kann über einen Schalter deaktiviert werden, so daß wahlweise auch die Ionen mehrerer Partikel in der Ionenfalle gesammelt werden könnten.

Wenn alle drei Eingänge des 7411 auf „High“ liegen, schaltet dieser durch und triggert über einen weiteren Optokoppler den Desorptionslaser. Die verwendeten Optokoppler schirmen eventuell auftretende Störsignale oder Rückkopplungen vom Laser ab und isolieren die Steuerelektroniken des Massenspektrometers, des Lasers und der Partikeldetektion elektrisch voneinander.

Die Schaltung wurde mit dem auf Seite 71 in Abbildung 57 gezeigten Aufbau getestet. Zur zeitaufwendigen Justierung des Linsenhalters wurden Partikel aus Kochsalz verwendet. Im Vergleich zu Cyclodextrinen ist Kochsalz deutlich günstiger und praktisch unbegrenzt verfügbar. Die Justierung des Haltensystems ist insofern schwierig, weil mit dem Partikelstrahl, dem Fokus des Detektionslasers und dem Fokus der Detektionsoptik drei Punkte mit einer Genauigkeit von einigen μm deckungsgleich im dreidimensionalen Raum positioniert werden müssen. Um die Einstellarbeiten zu vereinfachen wurde anstelle des Photomultipliers das rote Laserlicht eines Helium-Neon-Lasers in die zweite optische Faser eingekoppelt.

Mit den Dreipunktaufhängungen der beiden Haltetische wurden dann die beiden Fokusse der Laserstrahlen an gleiche Positionen auf dem Partikelstrahl bewegt. Dadurch ist gewährleistet, daß nachdem anstelle des HeNe-Lasers wieder der Photomultiplier angeschlossen wird, das Streulicht der Partikel vom Photomultiplier detektiert werden kann. Abbildung 65 zeigt ein Photo, das während der Justierarbeiten aufgenommen wurde. In der Bildmitte erkennt man den von beiden Laserstrahlen illuminierten Partikelstrahl. Die Strahlengänge wurden mit Hilfe des Partikelgasstromes sichtbar gemacht, der über den Split hinter dem Partikelgenerator abgetrennt wird. Man erkennt außerdem deutlich, wie der Hilfgasstrom des Düsensystems den Partikelstrahl umgibt und formt.

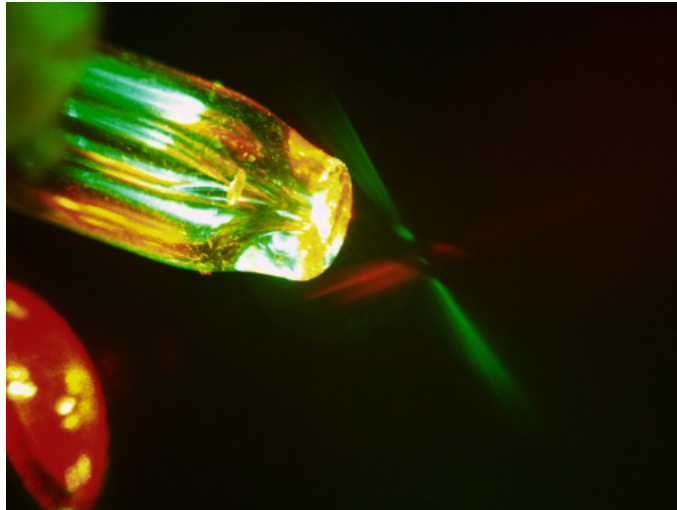


Abbildung 65: illuminierter Partikelstrahl

Mit dem justierten Haltesystem konnte die entworfene Schaltung zur Signalverarbeitung und Steuerung des Lasers unter realen Bedingungen getestet werden. Abbildung 66 zeigt zwei Aufnahmen, die mit einem digitalen 4-Kanal Oszilloskop der Firma Tektronix aufgenommen wurden. Oben erkennt man in schwarz (Kanal 1) das Gate-Signal vom Massenspektrometer, welches anzeigt, wann die Transferoptik Ionen in die Ionenfalle einläßt. In der Grafik ist das Signal abgebildet, welches direkt vom Massenspektrometer abgenommen wurde. Eine negative Spannung entspricht daher einem geöffneten Gate.

Im mittleren Teil befindet sich in rot (Kanal 3) das aufbereitete Signal des Photomultipliers (abgenommen am Service Pin „Out“ - vgl. Abbildung 64) und in grün (Kanal 2), der am Komparator LM 319 eingestellte Schwellwert. Kanal 2 und 3 wurden auf den gleichen Nullpunkt eingestellt und sind beide mit 500 mV skaliert, so daß die Signalstärke des Streulichts und der Schwellwert direkt miteinander verglichen werden können. Unten ist in cyan (Kanal 4) das Triggersignal dargestellt, welches den Desorptionslaser auslöst.

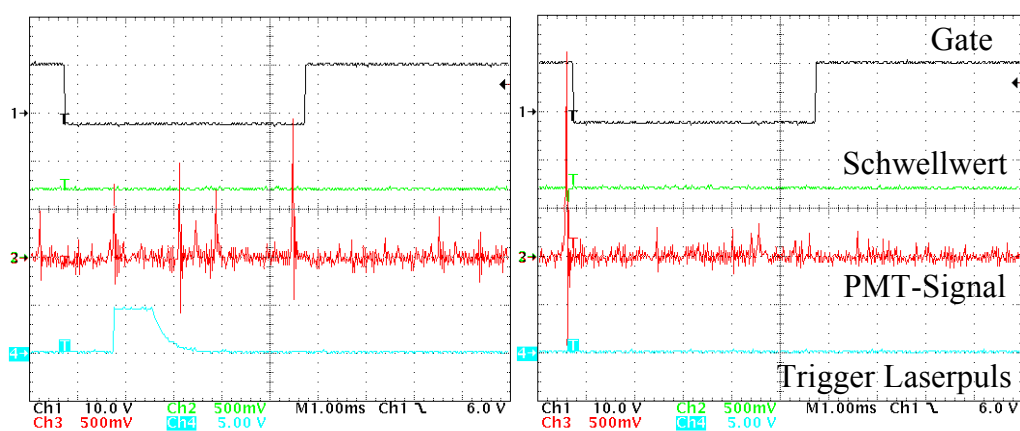


Abbildung 66: Signalverarbeitung der Schaltung zur Lasersteuerung

Die beiden Screenshots verdeutlichen die Funktion der Steuerelektronik. Sie erlaubt es, im Gegensatz zur bisher verwendeten Elektronik, während der gesamten Zeit, in der das Gate geöffnet ist, den Desorptionslaser variabel zu triggern. In der linken Abbildung erkennt man, wie das erste Streulichtsignal, welches den Schwellwert überschreitet und bei geöffnetem Gate detektiert wurde, den Desorptionslaser auslöst. Wäre der Desorptionslaser wie bisher durch das Gate-Signal ausgelöst worden, hätte der Laserpuls in diesem Fall das Partikel nicht getroffen. Weitere Signale innerhalb des gleichen Gate-Zyklus werden aufgrund des nun auf low liegenden Ausgangs von IC2a ignoriert. Das Streulichtsignal im rechten Bild ist zwar sehr intensiv und überschreitet den Schwellwert, wird aber detektiert während das Massenspektrometer keine Ionen in die Ionenfalle einläßt. Es wird deshalb ebenfalls ignoriert, weil die resultierenden Ionen sowieso nicht detektiert werden könnten.

Wiederum erfolgte die Justierung des Halte- und Detektionssystems mit Partikeln aus Kochsalz. Um möglichst reale Versuchsbedingungen zu simulieren, wurde die Konzentration der zerstäubten Salzlösung so eingestellt, daß die resultierenden Salzpartikel ebenfalls im Größenbereich von 1 μm lagen. Die Partikelgröße wurde außerdem mit einem ELPI überprüft. Als problematisch erwies sich, daß wie in Kapitel 3.3 erläutert, die geometrische Streuung von Licht an Partikeln stark von der Form der streuenden Partikel abhängig ist. Im Falle von organischen Analyten wird im Vergleich zu den Salzpartikeln deutlich weniger Streulicht pro Partikel in Richtung Photomultiplier emittiert. Während die Detektion des Streulichts und dem damit verbundenen Triggern des Desorptionslasers mit den Salzpartikeln problemlos simuliert werden konnte, war die Versuchsdurchführung mit Cyclodextrinpartikeln nicht möglich.

Obwohl für das Auge des Betrachters kein Unterschied in der Menge und Richtung des Streulichts zwischen den beiden Analyten beobachtet werden konnte, lag das Signal des Photomultipliers im Falle von Cyclodextrinpartikeln nur unwesentlich über dem thermischen Rauschen. Offensichtlich täuscht die integrative Eigenschaft des menschlichen Auges nur eine scheinbar gleichbleibende Intensität vor. Zwar konnte auch für die Cyclodextrinpartikel ein Streulichtsignal detektiert werden, nur war es so schwach, daß der sinnvolle Einsatz der Schwellwertbegrenzung nicht mehr möglich war und verhinderte damit das gezielte Treffen einzelner Partikel. Die kristalline Struktur der Salzpartikel führt mit ihren spiegelnden Oberflächen offenbar dazu, daß im Vergleich zu den Cyclodextrinpartikeln deutlich mehr Streulicht den Detektor erreicht.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß die Steuerelektronik prinzipiell funktioniert, für einen realen Einsatz aber das Verhältnis von Streulichtsignal zu thermischen Rauschen des Photomultipliers verbessert werden muß. Dies könnte zum Beispiel, wenn auch aufgrund der räumlichen Enge schwierig, durch Veränderung der relativen Position von Detektionsoptik zum Erregerlaser geschehen. Auch die Kühlung des Photomultipliers, bei gleichbleibender Anordnung der Detektionsoptik könnte bereits ausreichen.

12 Zusammenfassung und Diskussion

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß massenspektrometrische Einzelpartikelanalytik mit einer Atmosphärendruckionenquelle erfolgreich durchgeführt werden kann. Darüber hinaus führt die Trennung von Desorption und Ionisation, wie in der Zielsetzung angestrebt zur Erhaltung der Molekülstruktur von organischen Substanzen auch mit größeren Molekülmassen.

Die Experimente zeigten, daß zu diesem Zweck IR-Laser eingesetzt werden müssen, da bei der Verwendung von UV-Laserlicht, auch bei der Reduktion der Pulsenergie, keine Trennung von Desorption und Ionisation erzielt werden kann.

Versuche mit auf Trägeroberflächen deponierten Analyten waren sowohl mit Cyclodextrinen, als auch mit Bakterien des Typs *Bacillus Subtilis* und Pollen der Spezies *Ambrosia Trifida* erfolgreich. Im Falle von luftgetragenen Einzelpartikeln reichte die Empfindlichkeit des verwendeten Systems zur eindeutigen Identifizierung von α -, β -, und γ -Cyclodextrinpartikeln aus. Der Einsatz von zerstäubtem *Bacillus Subtilis* und Pollen von *Ambrosia Trifida* führten zwar jeweils zu detektierbaren Ionen, die Empfindlichkeit des Massenspektrometers erlaubte aber keine Identifikation von Markersubstanzen.

Die durchgeführten Experimente mit auf Trägern deponiertem Analyt zeigen, daß das Hauptproblem die effektive Überführung des Analyten in die Gasphase ist. Während ohne eine die Desorption unterstützende Matrix in den meisten Fällen trotz offensichtlicher Materialentfernung durch den Laserpuls nur ein sehr schwaches Signal detektiert werden kann, führt die richtige Wahl der Matrix zu einer drastischen Verbesserung der Signalintensität, der Signalstabilität und der Reproduzierbarkeit. Für APCI Ionenquellen ist es aufgrund der weichen Ionisationsbedingungen essentiell, daß der Analyt in die Gasphase gelangt. Die Beobachtung, daß trotz erfolgter Entfernung des deponierten Analyten kein oder nur ein sehr schwaches Signal detektiert werden kann, läßt darauf schließen, daß der Laserpuls den Analyten nicht vollständig in die Gasphase überführt, sondern ein Großteil des Materials in partikulärer Form abgetragen wird. Dies deckt sich mit den von Handschuh et. al. publizierten Ergebnissen zur Laser induzierten Desorption von organischen Filmen bei verschiedenen Wellenlängen. Handschuh et. al. zeigen in ihrer Arbeit [116], daß insbesondere IR-Laser zum Abtrag des deponierten Materials in partikulärer Form führen. Während dies zum Beispiel auf ICP-MS Untersuchungen aufgrund der hochenergetischen Bedingungen innerhalb der Entladung keinen Einfluß hat, können partikelförmige Analyten durch die niederenergetischen Bedingungen innerhalb der Koronaentladung nicht in ihre molekularen Bestandteile zerlegt und sukzessiv ionisiert werden.

Die Versuche mit luftgetragenen Cyclodextrinpartikeln untermauern die These des partikulären Abtrags. Während die Zugabe von Glykol zu deponierten Cyclodextrinen eine drastische Verbesserung der Signalqualität bewirkt, verbessert die Beimischung von Glykol zur zerstäubten Analytlösung im Falle von partikulärem Cyclodextrin weder die Signalqualität noch die Signal-

intensität. Partikelförmigen Analyten können durch die Interaktion mit Laserpulsen praktisch nur in molekulare Spezies zerfallen und die Zugabe einer Matrix verbessert in diesem Fall nicht die Überführung in die Gasphase. Dieser Effekt konnte auch im Falle von deponierten Partikeln beobachtet werden. Während das massenspektrometrische Signal von deponiertem, kristallinem Cyclodextrin sehr instabil und wenig intensiv ist, konnten mit deponierten Pollen und Melaminharzpartikeln gute Ergebnisse erzielt werden.

In welcher Weise eine zugegebene Matrix den Materialtransport in die Gasphase unterstützt, bleibt ungeklärt. Nicht ganz geklärt sind bis jetzt auch die Prozesse, die zur Bildung von für APCI-Ionenquellen untypischen, unprotonierten Molekülionen führen. Versuche mit variabler Pulsenergie deuten daraufhin, daß radikalische Prozesse ebenfalls an der Bildung von Ionen beteiligt sind.

Problematisch ist zur Zeit noch die Steuerung des Gerätes, weil aufgrund fehlender Informationen über die interne Signalverarbeitung des verwendeten Massenspektrometers nicht in den Ablauf von Einlaß und Analyse der Ionen in die Ionenfalle eingegriffen werden kann. Es ist dadurch nicht möglich einzelne Partikel gezielt zu untersuchen. Ein weiteres ungelöstes Problem, besteht in den vom Instrument durchgeführten Subscans während des Auslesens der Ionenfalle. Für die Analyse von Partikeln über einen weiten Massenbereich muß gewährleistet sein, daß die innerhalb weniger ms gesammelten Ionen mit nur einem Scan analysiert werden, weil sonst ein Großteil des desorbierten Materials zwischen den Subscans verloren geht.

Die Tatsache, daß intakte Pseudomolekülionen mit einer Masse von 1297 Dalton detektiert werden können, welche von luftgetragenen γ -Cyclodextrinpartikeln resultieren, zeigt das Potential der vorgestellten Methode. Bei der Verwendung von deponierten Bakterien des Typs *Bacillus Subtilis* konnten sogar charakteristische Ionen mit einem Masse zu Ladungsverhältnis von über 3000 Dalton detektiert werden.

Zusammenfassend läßt sich damit festhalten, daß die Desorption von Einzelpartikeln mittels IR-Laser und anschließender Ionisation unter Atmosphärendruck kombiniert mit der Massenspektrometrie eine Technik darstellt, welche bei erfolgreicher Weiterentwicklung durchaus das Potential besitzt charakteristische Massenprofile von einzelnen luftgetragenen Bioaerosolen aufzunehmen.

13 Literatur

1. Mathias-Maser, S., *Primary biological aerosol particles: Their significance, sources, sampling methods and size distribution in the atmosphere*, in *Atmospheric particles, IUPAC series on analytical and physical chemistry of environmental systems*, R.M. Harrison and R. Van Grieken, Editors. 1998, John Wiley & Sons.
2. Griffiths, W.D. and G.A.L. DeCosmo, *The assessment of bioaerosols: A critical review*. *Journal of Aerosol Science*, 1994. **25**: p. 1425-1458.
3. Burge, H.A., ed. *Bioaerosols*. 1995, Lewis Publishers, Inc.
4. Toll, I. and J.M. Baldasano, *Modeling of photochemical air pollution in the Barcelona area with highly disaggregated anthropogenic and biogenic emissions*. *Atmospheric Environment*, 2000. **34**: p. 3069-3084.
5. Anhalt, J.P. and C. Fenselau, *Identification of Bacteria Using Mass Spectrometry*. *Analytical Chemistry*, 1975. **47**(2): p. 219-225.
6. Beverly, M.B., K.J. Voorhees, and T.L. Hadfield, *Direct mass spectrometric analysis of Bacillus spores*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1999. **13**: p. 2320-2326.
7. Heller, D.N., et al., *Profiling of bacteria by fast atom bombardment mass spectrometry*. *Analytical Chemistry*, 1987. **59**: p. 2806-2809.
8. Krishnamurthy, T., et al., *Liquid chromatography/microspray mass spectrometry for bacterial investigations*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1999. **13**: p. 39-49.
9. Krishnamurthy, T. and P.L. Ross, *Rapid Identification of Bacteria by Direct Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometric Analysis of Whole Cells*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1996. **10**: p. 1992-1996.
10. Domin, M.A., J. Welham, and D.S. Ashton, *The effect of solvent and matrix combinations on the analysis of bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1999. **13**: p. 222-226.
11. Ryzhov, V., et al., *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight analysis of Bacillus spores using a 2.94 μm infrared laser*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2000. **14**(18): p. 1701-1706.
12. Birmingham, J., et al., *Corona plasma discharge for rapid analysis of microorganisms by mass spectrometry*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1999. **13**: p. 604-606.
13. Leenders, F., et al., *Rapid typing of Bacillus subtilis strains by their secondary metabolites using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of intact cells*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1999. **13**: p. 943-949.
14. Ullom, J.N., et al., *Discrimination between bacterial spore types using time-of-flight mass spectrometry and matrix free infrared laser desorption and ionization*. *Analytical Chemistry*, 2001. **73**(10): p. 2331-2337.
15. Davis, W.D., *Abstract: Surface Ionization Mass Spectrometry of Airborne Particulates*. *J. Vac. Sci. Technol.*, 1973. **10**(1): p. 278.
16. Sinha, M.P., *Laser-induced volatilization and ionization of microparticles*. *Review of Scientific Instruments*, 1984. **55**: p. 886-891.

17. McKeown, P.J. and M.V. Johnston, *Murphy, D. M. On-line single-particle analysis by laser desorption mass spectrometry*. Analytical Chemistry, 1991. **63**: p. 2073-2075.
18. Nordmeyer, T. and K.A. Prather, *Real-time measurement capabilities using aerosol time-of-flight mass spectrometry*. Analytical Chemistry, 1994. **66**: p. 3540-3542.
19. Prather, K.A., T. Nordmeyer, and K. Salt, *Real-time characterization of individual aerosol particles using time-of-flight mass spectrometry*. Analytical Chemistry, 1994(66): p. 1403-1407.
20. Johnston, M.V., *Sampling and analysis of individual particles by aerosol mass spectrometry*. Journal of Mass Spectrometry, 2000. **35**(5): p. 585-595.
21. Carson, P.T., M.V. Johnston, and A.S. Wexler, *Laser Desorption/Ionization of Ultrafine Aerosol Particles*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 1997. **11**: p. 993-996.
22. Noble, C.A. and K.A. Prather, *Real-time single particle mass spectrometry: A historical review of a quarter century of the chemical analysis of aerosols*. Mass Spectrometry Reviews, 2000. **19**(4): p. 248-274.
23. Hinz, K.-P., R. Kaufmann, and B. Spengler, *Simultaneous detection of positive and negative ions from single airborne particles by real-time laser mass spectrometry*. Aerosol Science and Technology, 1996. **24**: p. 233-242.
24. He, L. and K.K. Murray, *337 nm matrix-assisted laser desorption/ionization of single aerosol particles*. Journal of Mass Spectrometry, 1999. **34**(9): p. 909-914.
25. Stowers, M.A., et al., *Application of matrix-assisted laser desorption/ionization to on-line aerosol time-of-flight mass spectrometry*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2000. **14**: p. 829-833.
26. Coon, J.J. and W.W. Harrison, *Laser desorption-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for the analysis of peptides from aqueous solutions*. Analytical Chemistry, 2002. **74**(21): p. 5600-5605.
27. Coon, J.J., et al., *Laser desorption-atmospheric pressure chemical ionization: a novel ion source for the direct coupling of polyacrylamide gel electrophoresis to mass spectrometry*. Journal of Mass Spectrometry, 2002. **37**(11): p. 1163-1167.
28. Coon, J.J., K.J. McHale, and W.W. Harrison, *Atmospheric pressure laser desorption/chemical ionization mass spectrometry: a new ionization method based on existing themes*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2002. **16**: p. 681-685.
29. Lazar, A.C., et al., *Laser desorption/ionization coupled to tandem mass spectrometry for real-time monitoring of paraquat on the surface of environmental particles*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2000. **14**(16): p. 1523-1529.
30. Reilly, P.T.A., et al., *Tandem mass spectrometry of individual airborne microparticles*. Analytical Chemistry, 1997. **69**(36-39).

31. Reilly, P.T.A., et al., *The Elucidation of Charge-Transfer-Induced Matrix Effects in Environmental Aerosols Vial Real-Time Aerosol Mass Spectral Anaylsis of Individual Airborne Particles*. Aerosol Science and Technology, 2000. **33**: p. 135-152.
32. Yang, M., et al., *Laser desorption tandem mass spectrometry of individual microparticles in an ion trap mass spectrometer*. Analytical Chemistry, 1995. **67**: p. 4330-4334.
33. Yang, M., et al., *Real-time Chemical Analysis of Aerosol PArticles Using an Ion Trap Mass Spectrometer*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 1996. **10**: p. 347-351.
34. Dale, J.M., et al., *Chemical characterization of single particles by Laser ablation/desorption in a quadrupole ion trap spectrometer*. Analytical Chemistry, 1994. **66**: p. 3431-3435.
35. Lazar, A.C., et al., *Laser desorption/in situ chemical ionization aerosol mass spectrometry for monitoring tributyl phosphate on the surface of environmental particles*. Analytical Chemistry, 2000. **72**(9): p. 2142-2147.
36. Gieray, R.A., et al., *Real-time detection of individual airborne bacteria*. Journal of Microbiological Methods, 1997. **29**: p. 191-199.
37. Garrison, B.J. and R. Srinivasan, *Ablative Photodecomposition of Polymers*. Journal of Vacuum Science & Technology, A: Vacuum, Surfaces, and Films, 1985. **3**: p. 746-748.
38. Garrison, B.J. and R. Srinivasan, *Laser Ablation of Organic Polymers: Microscopic Models for Photochemical and Thermal Processes*. Journal of Applied Physics, 1985. **57**: p. 2909-2914.
39. Srinivasan, R. and B.J. Garrison, *A Microscopic Model for the Ablative Photodecomposition of Polymers by Far-Ultraviolet Radiation (193 nm)*. Applied Physics Letters, 1984. **44**: p. 849-851.
40. Kawamura, Y., K. Toyoda, and S. Namba, *Deep uv submicron lithography by using a pulsed high-power excimer laser*. Journal of Applied Physics, 1982. **53**(9): p. 6489.
41. Kawamura, Y., K. Toyoda, and S. Namba, *Effective deep ultraviolet photoetching of polymethyl methacrylate by an excimer laser*. Applied Physics Letters, 1982. **40**(5): p. 374.
42. Zhigilei, L.V., et al., *Computer Simulations of Laser Ablation of Molecular Substrates*. Chemical Reviews, 2003. **103**(2): p. 321-348.
43. Vogel, A. and V. Venugopalan, *Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissue*. Chemical Reviews, 2003. **103**(2): p. 577-644.
44. Paltauf, G. and P.E. Dyer, *Photomechanical Processes and Effects in Ablation*. Chemical Reviews, 2003. **103**(2): p. 487-518.
45. Lippert, T. and J.T. Dickinson, *Chemical and Spectroscopic Aspects of Polymer Ablation: Special Features and Novel Directions*. Chemical Reviews, 2003. **103**(2): p. 453-486.
46. Georgiou, S. and A. Koubenakis, *Laser-Induced Material Ejection from Model Molecular Solids and Liquids: Mechanisms, Implications, and Applications*. Chemical Reviews, 2003. **103**(2): p. 349-394.
47. Bityurin, N., et al., *Models for Laser Ablation of Polymers*. Chemical Reviews, 2003. **103**(2).

48. Woods, E., R.E. Miller, and T. Baer, *The internal energy of neutral ethylene glycol molecules created in the laser vaporization of aerosol particles*. Journal of Physical Chemistry A, 2003. **107**(13): p. 2119-2125.
49. Handschuh, M., S. Nettesheim, and R. Zenobi, *Is infrared laser-induced desorption a thermal process? The case of aniline*. Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**(10): p. 1719-1726.
50. Schoolcraft, T., et al., *Molecular Dynamics Simulation of the Laser Disintegration of Aerosol Particles*. Analytical Chemistry, 2000. **72**: p. 5143-5150.
51. Bäuerle, D., *Laser Processing and Chemistry*. 2000: Springer.
52. Hilgarth, G., *Hochspannungstechnik. Leitfaden der Elektrotechnik*. 1992, Stuttgart: Teubner-Verlag.
53. Nasser, E., *Fundamentals of Gaseous Ionization and Plasma Electronics*. 1971: Wiley-Verlag.
54. Gibeau, T.E. and R.K. Marcus, *Glow Discharge Ionization Source for Liquid Chromatography/Particle Beam Mass Spectrometry*. Analytical Chemistry, 2000. **20**(16): p. 3833-3840.
55. McLuckey, S.A., et al., *Atmospheric Sampling Glow Discharge Ionization Source for the Determination of Trace Organic Compounds in Ambient Air*. Analytical Chemistry, 1988. **80**(20): p. 2220-2227.
56. Bouziane, A., et al., *Paraxial corona discharge; Part 1: Review, instrumentation and experiments*. IEE Proc.-Sci. Meas. Technol., 1994. **141**(3): p. 197-204.
57. Bouziane, A., et al., *Paraxial corona discharge; Part 2: Simulation and analysis*. IEE Proc.-Sci. Meas. Technol., 1994. **141**(3): p. 205-214.
58. Shahin, M.M., *Ion—Molecule Interaction in the Cathode Region of a Glow Discharge*. Journal of Chemical Physics, 1965. **43**: p. 1798-1805.
59. Shahin, M.M., *Mass-spectrometric studies of corona discharges in air at atmospheric pressures*. Journal of Chemical Physics, 1966. **45**: p. 2600–2605.
60. Carroll, D.I., et al., *Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry: Corona Discharge Ion Source for Use in Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer-Computer Analytical System*. Analytical Chemistry, 1975. **47**(14): p. 2369-2373.
61. Thomson, B.A., *Atmospheric Pressure Ionization and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry - Together at Last*. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 1998. **9**: p. 187-193.
62. Bruins, A.P., *Atmospheric-pressure Ionization Mass Spectrometry*. Trends in Analytical Chemistry, 1994. **13**(1): p. 37-43.
63. Good, A., D.A. Durden, and P. Kebarle, *Ion-molecule reactions in pure nitrogen and nitrogen containing traces of water at total pressures of 0.5-4.0 Torr. Kinetics of clustering reactions forming $H^+(H_2O)_n$* . J. Chem. Phys., 1970. **52**: p. 212.
64. Good, A., D.A. Durden, and P. Kebarle, *Mechanism and rate constants of ion-molecule reactions leading to $H^+(H_2O)_n$ formation in most oxygen and air*. J. Chem. Phys., 1970. **52**: p. 222.
65. Sunner, J., M.G. Ikonomou, and P. Kebarle, *Sensitivity Enhancements Obtained at High Temperatures in Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry*. Analytical Chemistry, 1988. **60**: p. 1308-1313.

66. Kebarle, P., *Ion-molecule equilibria, how and why*. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 1992. **3**: p. 1-9.
67. Harrison, A.G., *Chemical ionisation mass spectrometry*. 1992: CRC Press.
68. Gall', L.N. and M.Z. Muradymov, *Factors Affecting Determination of Microimpurities by Mass Spectrometry with Atmospheric-Pressure Chemical Ionization*. Journal of Analytical Chemistry, 1998. **53**(3): p. 419-423.
69. Eiceman, G.A., et al., *Quantitative Assesment of a Corona Discharge Ion Source in Atmospheric Pressure Ionization-Mass Spectrometry for Ambient Air Monitoring*. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 1988. **33**: p. 161-183.
70. Zook, D.R., *Mass Spectrometric Sampling from the Atmospheric Pressure Ion Source*. 1990, Montana State University: Bozeman, Montana.
71. Lazar, I.M., M.L. Lee, and E.D. Lee, *Design and Optimization of a Corona Discharge Ion Source for Supercritical Fluid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry*. Analytical Chemistry, 1996. **68**(11): p. 1924-1932.
72. Dzidic, I., et al., *Gas phase reactions. Ionization py proton transfer to superoxide anions*. Journal of the American Chemical Society, 1974. **96**: p. 5258-5259.
73. Dzidic, I., et al., *Atmospheric pressure ionization (API) mass spectrometry: Formation of phenoxide ions from chlorinated aromatic compounds*. Analytical Chemistry, 1975. **47**: p. 1308-1312.
74. Karasek, F.W., *Plasma chromatography of the polychlorinated biphenyls*. Analytical Chemistry, 1971. **43**: p. 1982-1986.
75. Karasek, F.W., O.S. Tatone, and D.M. Kane, *Study of electron capture behavior of substituted aromatics by plasma chromatography*. Analytical Chemistry, 1973. **45**: p. 1210-1214.
76. Horning, E.C., et al., *Atmospheric pressure ionization mass spectrometry. Studies of negative ion formation for detection and quantification purposes*. Journal of Chromatography, 1977. **142**: p. 481.
77. Melton, C.E., *Principles of mass spectrometry and negative ions*. 1970, New York: Dekker.
78. Ardenne, M.v., K. Steinfelder, and R. Tümmeler, *Elektronenlagerungs-massenspektrographie organischer Substanzen*. 1971, Berlin: Springer.
79. Dougherty, R.C. and C.R. Weisenberger, *Negative ion mass spectra of benzene, naphthalene and anthracene. A new technique for obtaining relatively intense and reproducible negative ion mass spectra*. Journal of the American Chemical Society, 1968. **90**: p. 6570-6571.
80. Dougherty, R.C., *Negative chemical ionization mass spectrometry*. Analytical Chemistry, 1981. **53**: p. 625A-636A.
81. Dougherty, R.C., *Ion-molecule reactions of negative ions*. Journal of Chemical Physics, 1969. **50**: p. 1869.
82. Karasek, F.W. and O.S. Tatone, *Plasma crhomatography of the mono-halogenated benzenes*. Analytical Chemistry, 1972. **44**: p. 1758-1763.
83. Bond, G., R. Houriet, and T. Gäumann, *OH negative chemical ionization*. Advanced Mass Spectrometry, 1980. **8**: p. 238.

84. Bohren, C.F. and D.R. Huffmann, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. 1983, New York: Wiley.
85. Nemesure, S., R. Wagener, and S.E. Schwartz, *Direct shortwaver forcing of climate by the anthropogenic sulfate aerosol: sensitivity to particle size, composition, and relative humidity*. *Journal of Geophysical Research*, [Atmospheres], 1995. **100**: p. 26105-26116.
86. Blewett, J.D., *Radial focusing in the linear accelerator*. *Physical Review*, 1952. **88**(5): p. 1197-1199.
87. Courant, E.D., M.S. Livingston, and H.S. Snyder, *the strong focussing synchrotron - a new high energy accelerator*. *Physical Review*, 1952. **88**(5): p. 1190-1196.
88. Paul, W. and H. Steinwedel, *Verfahren zu Trennung bzw. zum getrennten Nachweis von Ionen verschiedener spezifischer Ladung*. 1956: Germany.
89. Gerlich, D., *Inhomogeneous RF Fields: A Versatile Tool for the Study of Processes with Slow Ions*. *State-Selected and State-to-State Ion-Molecule Reaction Dynamics, Part 1: Experiment*, ed. C.-Y. Ng and M. Baer. 1992: John Wiley & Sons, Inc. 1-176.
90. Weibel, E.S. and G.L. Clark, *Confinement of an electron beam by oscillating electromagnetic fields*. *Journal of Nuclear Energy. Part C*, 1961. **2**: p. 112-116.
91. Teloy, E. and D. Gerlich, *Integral Cross Sections for Ion-molecule Reactions: The Guided Beam Technique*. *Chemical Physics*, 1974. **4**: p. 417-427.
92. Friedmann, M.H., A.L. Yergey, and J.E. Campanas, *Fundamentals of Ion Motion in Electric Radio-Frequency multipole Fields*. *Journal of Physics E: Scientific Instrumentation*, 1982. **15**: p. 53-61.
93. McLachlan, N.W., *Theory and application of Mathieu functions*. 1947, Oxford: Clarendon Press.
94. Dawson, P.H., *Quadrupole Mass Spectrometry and its Applications*. *American Vacuum Society Classics*. 1976, Woodbury, New York: AIP Press.
95. Khosla, M. and B. Tehlirian, *Linear Multipole Rod Assembly for Mass Spectrometers*. 2002, Thermo Finnigan LLC, San Jose, CA (US): USA.
96. Rao, V. and A. Bhutani, *Electric hexapoles and octopoles with optimized circular section rods*. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2000. **202**(1-3): p. 31-36.
97. *Quadrupole Mass Spectrometry and its Applications*. 1995, Woodbury, New York: AIP Press.
98. Jones, R.M. and S.L. Anderson, *Simplified radio-frequency generator for driving ion guides, traps, and other capacitive loads*. *Review of Scientific Instruments*, 2000. **71**(11): p. 4335-4337.
99. Jones, R.M., D. Gerlich, and S.L. Anderson, *Simple radio-frequency power source for ion guides and ion traps*. *Review of Scientific Instruments*, 1997. **68**(9): p. 3357-3362.
100. Keller, R.A. and N.S. Nogar, *Gasdynamic focussing for sample concentration in ultrasensitive analysis*. *Applied Optics*, 1984. **23**(13): p. 2146-2151.
101. Muenchhausen, R.E., et al., *Gasdynamic focussing in an underexpanded jet*. *Applied Optics*, 1989. **28**(15): p. 3220-3225.

102. Stiller, S.W. and M.V. Johnson, *Sheath Flow Focussing in Supersonic Jet Spectroscopy*. Applied Spectroscopy, 1997. **41**(8): p. 1351-1357.
103. Pan, Y.L., et al., *Single-shot fluorescence spectra of individual micrometer-sized bioaerosols illuminated by a 351- or a 266-nm ultraviolet laser*. Optics Letters, 1999. **24**(2): p. 116-118.
104. Mallina, V.R., A.S. Wexler, and M.V. Johnston, *High-Speed Particle Beam Generation: Simple Focussing Mechanisms*. Journal of Aerosol Science, 1999. **30**(6): p. 719-738.
105. Hoffmann, S., *Konstruktion und Charakterisierung einer Atmosphärendruck-Ionenquelle für ein Ionenfallenmassenspektrometer zur Echtzeitmessung gasförmiger organischer Verbindungen*. 2001, Dortmund. p. 27.
106. Slifkin, M.A. and A.C. Allison, *Measurement of ionization potentials from contact charge transfer spectra*. Nature, 1976. **215**: p. 949.
107. Villiers, M.A., *Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique*. Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Serie II: Mecanique, Physique, Chimie, Sciences de la Terre et de l'Univers, 1891. **112**: p. 536-538.
108. Talrose, V.L., et al., *Insight into absorption of radiation/energy transfer in infrared matrix-assisted laser desorption/ionization: the roles of matrices, water and metal substrates*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 1999. **13**(21): p. 2191-2198.
109. Benninghoven, A. and W.K. Sichter, *Detection, Identification and Structural Investigation of Biologically Important Compounds by secondary Ion Mass Spectrometry*. Analytical Chemistry, 1978. **50**: p. 1180-1184.
110. Barber, M., et al., Nature, 1981: p. 270-275.
111. Barber, M., et al., *Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry*. Analytical Chemistry, 1982. **54**: p. 645A-657A.
112. Caldwell, K.L. and K.K. Murray, *Mid-infrared matrix assisted laser desorption ionization with a water/glycerol matrix*. Applied Surface Science, 1998. **129**: p. 242-247.
113. Laiko, V.V., et al., *Desorption/ionization of biomolecules from aqueous solutions at atmospheric pressure using an infrared laser at 3 μ m*. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2002. **13**(4): p. 354-361.
114. Dreisewerd, K., et al., *Fundamentals of matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry with pulsed infrared lasers*. International Journal of Mass Spectrometry, 2003. **226**(1): p. 189-209.
115. Von Seggern, C.E. and R.J. Cotter, *Fragmentation studies of noncovalent sugar-sugar complexes by infrared atmospheric pressure MALDI*. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2003. **14**(10): p. 1158-1165.
116. Handschuh, M., S. Nettesheim, and R. Zenobi, *Laser induced desorption of thin molecular films investigated with high time resolution*. Journal of Chemical Physics, 1998. **108**(16): p. 6548-6549.