



EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

Anmeldenummer: **92250055.8**

Int. Cl.⁵: **H01J 49/40, H01J 49/04**

Anmeldetag: **07.03.92**

Priorität: **13.03.91 DE 4108463**
13.03.91 DE 4108462

Veröffentlichungstag der Anmeldung:
16.09.92 Patentblatt 92/38

Benannte Vertragsstaaten:
DE FR GB

Anmelder: **Bruker Franzen Analytik GmbH**
Fahrenheitstrasse 4
W-2800 Bremen 33(DE)

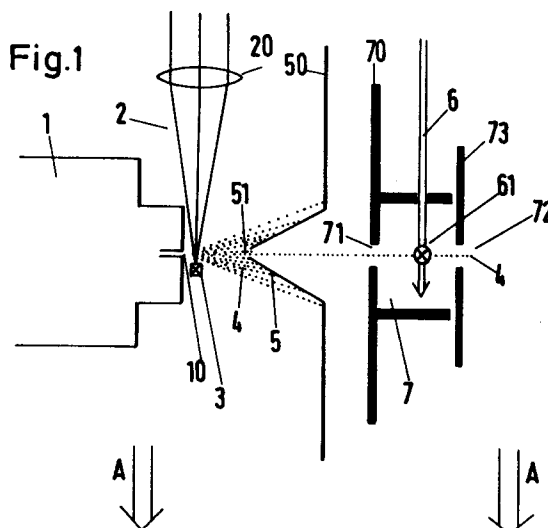
Erfinder: **Frey, Rüdiger, Dr.**
Kleiststrasse 31
W-2803 Weyhe(DE)
 Erfinder: **Holle, Armin, Dr.**
Lienertstrasse 1c
W-2806 Oyten(DE)
 Erfinder: **Weiss, Gerhard**
Waldtstrasse 2b
W-2803 Weyhe(DE)

Vertreter: **Goddar, Heinz J., Dr.**
FORRESTER & BOEHMERT
Franz-Joseph-Strasse 38
W-8000 München 40(DE)

Verfahren und Vorrichtung zum Erzeugen von Ionen, insbesondere für ein Massenspektrometer, wie Flugzeitmassenspektrometer, aus thermisch instabilen, nichtflüchtigen grossen Molekülen.

Verfahren zum Erzeugen von Ionen, insbesondere für ein Massenspektrometer, wie Flugzeitmassenspektrometer, aus thermisch instabilen nichtflüchtigen großen Molekülen, bei dem eine die Moleküle aufweisende Probensubstanz Energiepulsen ausgesetzt wird, durch welche Moleküle aus der Probensubstanz freigesetzt werden, und bei dem die freigesetzten Moleküle von einem Strahl eines Trägergases mitgenommen und bei dessen Expansion gekühlt sowie anschließend in einem Ionisationsraum ionisiert werden, dadurch gekennzeichnet, daß die Moleküle durch Elektronenstoß ionisiert werden; daß die Strahlungsdichte der für die Ionisation verwendeten Elektronen so gewählt wird, daß im Fokus des Elektronenstrahles eine Potentialmulde erzeugt wird, deren Tiefe größer als die Translationsenergie der Molekülionen im Trägergasstrom ist; daß die durch die Elektronenstoßionisation erzeugten Molekülionen in der Potentialmulde jeweils für einen bestimmten Zeitraum gesammelt werden; und daß die jeweils in der Potentialmulde gesammelten Molekülionen gepulst aus der Ionisationskammer herausbeschleunigt

werden, sowie Vorrichtung insbesondere zur Durchführung dieses Verfahrens.



Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Erzeugen von Ionen, insbesondere für ein Massenspektrometer, wie Flugzeitmassenspektrometer, aus thermisch instabilen nichtflüchtigen großen Molekülen, bei dem eine die Moleküle aufweisende Probensubstanz Energiepulsen ausgesetzt wird, durch welche Moleküle aus der Probensubstanz freigesetzt werden, und bei dem die freigesetzten Moleküle von einem Strahl eines Trägergases mitgenommen und bei dessen Expansion gekühlt sowie anschließend in einem Ionisationsraum ionisiert werden, sowie eine Vorrichtung zum Erzeugen von Ionen, insbesondere für ein Massenspektrometer, wie Flugzeitmassenspektrometer, aus thermisch instabilen nichtflüchtigen großen Molekülen, mit einer Einrichtung zum Erzeugen eines Trägergasstrahles, einer Energiequelle zum Desorbieren von Molekülen aus dem Probenmaterial und einer Einrichtung zum Einbringen von Probenmaterial in den Trägergasstrahl, insbesondere zur Durchführung des vorstehend angegebenen Verfahrens.

Aus der DE-PS 38 00 504 ist ein Verfahren der gattungsgemäßen Art bekannt, bei dem die Desorption der Moleküle durch einen Laserstrahl erfolgt. Es dient zum Überführen insbesondere großer Moleküle in die Gasphase, bevor die Moleküle mittels eines anschließend durchgeführten Ionisationsvorganges in einen chemischen Zustand gebracht werden, in dem sie erst einer massenspektrometrischen Analyse zugänglich werden. Dabei wird ausgenutzt, daß die von den Molekülen durch die Desorption aufgenommene innere Energie im Trägergasstrahl stark reduziert wird, so daß die Moleküle stark abgekühlt werden und deren thermische Zersetzung weitgehend verhindert wird. Dieses Desorptionsverfahren ist für flüssige und feste Probensubstanzen geeignet, wobei es sich als günstig herausgestellt hat, die Moleküle der Probensubstanz in einer Matrix unterzubringen, die sich thermolytisch leicht zersetzt.

Eine Vorrichtung, mit der dieses Desorptionsverfahren durchgeführt werden kann, ist in der Zeitschrift "ANGEWANDTE CHEMIE" 1988, Seiten 461 ff., in dem Übersichtsartikel "Die Multiphotonen-Ionisation (MUPI)-Massenspektrometrie", beschrieben. Die Probensubstanz wird dabei vor die Öffnung einer Düse gebracht, aus der das Trägergas austritt. Durch Verwendung von Infrarot-Laserlicht werden die Moleküle der Probensubstanz in den expandierenden Strahl des Trägergases desorbiert. Dadurch werden die inneren Freiheitsgrade der Moleküle abgekühlt, und die Moleküle werden von dem Trägergasstrahl weitertransportiert. Üblicherweise wird diese Vorrichtung als gepulstes System betrieben, das aus einem gepulsten Ventil zum Erzeugen des Trägergasstrahles und einem Laser zur Desorption der neutralen Moleküle besteht. Da die Moleküle als Strahl, bzw.

im Pulsbetrieb als Teilchenpaket, weitertransportiert werden, ist es möglich, diesen Desorptionsprozeß räumlich getrennt von dem nunmehr nachfolgenden Ionisationsprozeß zu halten.

Für die massenspektrometrische Untersuchung der betrachteten großen Moleküle hat sich die Einphotonen- oder Multiphotonen-Ionisation bewährt. Da die Wellenlänge der eingestrahlten Photonen auf die Energiedifferenz zwischen dem Grundzustand und einem angeregten Zustand des neutralen Moleküls abgestimmt werden kann, ist es möglich, die Ionisation selektiv nur der zu untersuchenden Moleküle vorzunehmen; die Trägergasteilchen bleiben dabei in ihrem neutralen Zustand und beeinflussen die nachfolgenden Untersuchungsergebnisse nicht.

Obwohl die Multiphotonen-Ionisations-Massenspektrometrie erfolgreich betrieben wird, ist sie doch für einige Problemstellungen nicht anwendbar, da oftmals eine lediglich selektive Anregung der neutralen Moleküle nicht genügend Information zur gewünschten Strukturaufklärung des Moleküls liefern kann, weil bei unbekannten Molekülen die zu wählende Anregungswellenlänge nicht hinreichend vorherbestimmbar ist. Auch hat sich herausgestellt, daß einige Substanzen auf die dargestellte Weise nur schwer ionisiert werden können.

Es sind Ionisationsverfahren bekannt, die nicht-selektiv wirken. Dazu zählt die Elektronenstoß-Ionisation. Für große Moleküle, wie im vorliegenden Fall, sind derartige Verfahren jedoch nicht anwendbar, da sie zu einer starken Fragmentierung des Moleküls führen. Zudem würden auch die Trägergasteilchen ionisiert, was zu Sättigungseffekten, elektrostatischer Abstoßung und damit zu schlechter Auflösung und ungenügender Empfindlichkeit der Analyse führte. Solche Einflüsse sind schon deswegen nicht vernachlässigbar, da die Trägergasteilchen gegenüber den zu untersuchenden Molekülen in mindestens tausendfach höherer Konzentration vorliegen.

Aus der DE-PS 873 765 ist die Verwendung der Elektronenstoßionisation bekannt, jedoch führt die Kombination dieser Vorgehensweise mit einem Verfahren, wie es aus der DE-OS 36 19 886 vorbekannt ist, lediglich zu stark fragmentierten Ionen im niedrigen Massenbereich, so daß sich hiermit also keine großen, thermisch labile, nicht-flüchtige Moleküle, wie z. B. Peptide, untersuchen lassen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, das gattungsgemäße Verfahren dahingehend weiterzubilden, daß Ionen aus thermisch instabilen, nicht-flüchtigen großen Molekülen bereitgestellt werden können, wobei eine nicht-selektive Ionisationsmethode eingesetzt werden kann.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe in Weiterbildung des gattungsgemäßen Verfahrens dadurch gelöst, daß die Moleküle durch Elektronen-

stoß ionisiert werden; daß die Strahlungsdichte der für die Ionisation verwendeten Elektronen so gewählt wird, daß im Fokus des Elektronenstrahles eine Potentialmulde erzeugt wird, deren Tiefe größer als die Translationsenergie der Molekülionen im Trägergasstrom ist; daß die durch die Elektronenstoßionisation erzeugten Molekülionen in der Potentialmulde jeweils für einen bestimmten Zeitraum gesammelt werden; und daß die jeweils in der Potentialmulde gesammelten Molekülionen gepulst aus der Ionisationskammer herausbeschleunigt werden.

Besonders bevorzugte Ausführungsformen des Verfahrens nach der Erfindung sind Gegenstand der entsprechenden Unteransprüche.

Die Vorrichtung nach der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, daß eine Ionisationskammer vorgesehen ist, die eine Eintrittsöffnung und eine Austrittsöffnung für einen Teilchenstrahl aufweist, wobei eine Elektronenquelle so angeordnet ist, daß der von dieser erzeugte Elektronenstrahl innerhalb der Ionisationskammer auf die Bahn des Teilchenstrahles fokussiert ist; daß die Einrichtung zum Erzeugen des Trägergasstrahles eine Austrittsöffnung für den Trägergasstrahl aufweist; und daß in der Nähe der Austrittsöffnung ein Probenträger angeordnet ist, auf dem das Probenmaterial angebracht ist.

Bevorzugte Ausführungsformen der Vorrichtung nach der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

Der Erfindung liegt die überraschende Erkenntnis zugrunde, daß es gelingt, entgegen dem verbreiteten Vorurteil der Fachwelt auch instabile Moleküle mittels Elektronenstoß zu ionisieren, wobei diese Möglichkeit dadurch geschaffen wird, daß der "Jet"-Strahl, der mittels des gattungsgemäßen Verfahrens erzeugt wird, eine derartige Abkühlung der innerhalb des Strahles nur sehr geringe Relativbewegungen ausführenden schweren Moleküle, die später ionisiert werden sollen, herbeiführt, daß sie bei der Elektronenstoßionisation nicht zerfallen. Die zusätzliche Maßnahme des gepulsten Anziens der ionisierten Moleküle, welche durch die Erzeugung der Potentialmulde einstellbarer Tiefe ermöglicht wird, fördert in erfindungswesentlicher Weise die Nachweisempfindlichkeit im Massenspektrometer und damit die Auflösung.

Erfindungsgemäß werden Moleküle also durch Elektronenstoß ionisiert, wobei als Trägergas vorzugsweise Helium und/oder Neon verwendet wird/werden; die Energie der Elektronen im Elektronenstrahl liegt dabei natürlich vorzugsweise unterhalb der Ionisationsenergie des Trägergases.

Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren können die gesamten Vorteile der bekannten Technik der Laserverdampfung mit anschließender Kühlung genutzt werden, um thermisch instabile, nicht flüchti-

ge Moleküle zu untersuchen, die derartigen Analyseverfahren sonst nicht zugänglich wären. Da die inneren Energien der Moleküle durch die Kühlung erheblich verringert sind, führt auch die anschließende Elektronenstoß-Ionisation zu weniger Fragmenten, als üblicherweise erwartet werden. Die Vorteile der räumlichen Trennung von Verdampfung und Ionisation können beibehalten werden - Flexibilität in der Konstruktion von Desorptions- und Ionisationssystem ohne Notwendigkeit struktureller Kompromisse; kein Verdecken der Ionenquelle durch desorbiertes Probenmaterial; bei der Desorption gebildete Ionen (im Gegensatz zu neutralen Probenmolekülen) erreichen nicht die Ionenquelle -, wobei gute Ausbeuten zu erzielen sind. Durch Verwendung der Edelgase Helium oder Neon als Trägergas wird die Entstehung von Trägergasionen verhindert oder zumindest sehr stark unterdrückt. Beide Edelgase haben ein sehr hohes Ionisierungspotential (24.6 eV bzw. 21.6 eV), so daß sie bei Elektronenenergien unterhalb dieser Ionisierungspotentiale, wie sie vorzugsweise zur Anwendung kommen, praktisch nicht ionisiert werden. Die zu untersuchenden Moleküle, mit einem Ionisierungspotential in der Größenordnung von etwa 10 eV, werden bei den genannten Elektronenenergien hingegen bereits sehr gut ionisiert.

Ein massenspektrometrisches Nachweisverfahren, das die Pulsstruktur der Ionenerzeugung nutzt, ist die Flugzeit- oder Time-Of-Flight (TOF)-Massenspektrometrie. Grundsätzlich hat ein Flugzeit-Massenspektrometer den Vorteil, daß mit jedem Puls ein vollständiges Massenspektrum registriert wird. Darüber hinaus verfügt die Flugzeitmassenspektrometrie über eine physikalische Eigenschaft, die sie zur Untersuchung von großen Molekülen besonders geeignet macht. Die Auflösung nimmt nämlich mit wachsender Masse zu.

Allerdings kann eine gute Auflösung bei der Untersuchung der Molekülionen mit einem Flugzeitmassenspektrometer auch nur dann erreicht werden, wenn die Molekülionen zu einem möglichst genau definierten Zeitpunkt ($t < 5\text{ ns}$) auf einem möglichst kleinen Raum ($< 1\text{ mm}$) starten. Im allgemeinen ist es deshalb nicht möglich, die gesamte in einem Gasstrahl enthaltene Probe auszunutzen.

Es hat sich aber gezeigt, daß die Empfindlichkeit der Anordnung gesteigert werden kann, wenn die Strahlungsdichte der für die Ionisation verwendeten Elektronen so gewählt wird, daß im Fokus des Strahles eine Potentialmulde erzeugt wird. Die zu untersuchenden neutralen Moleküle fliegen in den Fokus des Elektronenstrahles, werden dort ionisiert, können jedoch dann - im ionisierten Zustand - den Fokus nicht mehr verlassen. Sie werden also in einem räumlich begrenzten Volumen über einen relativ langen Zeitraum von bis zu 100

μ s gesammelt. Die so gesammelten ionisierten Moleküle lassen sich jeweils als "Paket" mit exakt definierter Startzeit abziehen, wobei z. B. 50 ns nach dem Ende des Sammelns (Abschalten des Elektronenstrahles) die Abschlußplatte auf 0 V geschaltet wird und hierdurch die ionisierten Moleküle in das Massenspektrometer beschleunigt werden. Durch diese gepulste "Paketübertragung" läßt sich eine gute Ausbeute mit hoher Auflösung (wie für Laser-Ionisation üblich) bei gleichzeitig hoher Empfindlichkeit (wie für Elektronen-Stoßionisation charakteristisch) erzielen.

Als Energiepulse für die Desorption können im übrigen mit Laser erzeugte Lichtpulse verwendet werden; dabei sind auch kontinuierlich arbeitende Laser geeignet. Die eingesetzten Wellenlängen liegen dabei im Bereich von Mikrometern bis hinab zu einigen zehn Nanometern. Die Energiepulse können auch durch Beschuß mit Ionen oder Neutralteilchen aufgebracht werden.

Bei einer besonderen Ausführungsform der Erfindung wird wahlweise eine Ionisation der Probe durch Elektronenstoß oder durch Photonenanregung in demselben Ionisationsraum durchgeführt. Die zu untersuchende Probe muß daher nur einmal präpariert und in den Ionisationsraum eingelassen werden und kann anschließend unter Ausnutzen der Vorteile beider Ionisationsverfahren untersucht werden. Dabei ist also sichergestellt, daß ein- und dieselbe Probe mit beiden Meßmethoden untersucht wird. Vorteilhaft ist es dabei, wenn sowohl der Photonenstrahl gepulst ist als auch die gasförmige Probe gepulst zugeführt wird, wobei die Ionisationsverfahren entsprechend synchronisiert geschaltet werden müssen. Die Umschaltfrequenz ist dabei lediglich durch die für die Aufnahme des Spektrums und dessen Auswertung benötigte Zeit begrenzt.

Im Gegensatz zum Stand der Technik sind, wie ausgeführt, für ein und dieselbe Ionisationskammer eine Elektronenquelle und eine Photonenquelle vorgesehen, die zur Ionisierung der gasförmigen Probe innerhalb der Ionisationskammer wahlweise betreibbar sind, wobei die Ionisierung vorzugsweise pulsförmig erfolgt. In den bisher bekannten Apparaturen wurde die Photonen-Ionisation in einem konstanten elektrischen Feld durchgeführt, wobei die notwendige genau definierte Startzeit der Ionen durch zeitlich entsprechend bemessene Laserpulse festgelegt wurde. Für die Elektronenstoß-Ionisation ist eine solche Vorgehensweise unzugänglich. Wenn man zwischen Elektronenstoß-Ionisation und Photonen-Ionisation problemlos umschalten möchte, kann dies nur dadurch geschehen, daß die Photonen-Ionisation nicht standardmäßig, sondern an die Apparatur für die Elektronenstoß-Ionisation angepaßt durchgeführt wird.

Für die Umschaltung ist es weiterhin wichtig,

daß die Justierung und damit auch die Masseneichung des nachgeschalteten Massenspektrometers nicht verändert werden müssen. Nur so können Wiederholraten in der Größenordnung von 20 Hz erreicht werden, so daß bei jedem Pulspaket aus zu untersuchenden Molekülen umgeschaltet werden kann. Um dies zu erreichen, müssen die Ionen exakt zur vergleichbaren Zeit, exakt in demselben Volumen und exakt auf demselben Potential ionisiert werden. Neben dem Durchführen der Ionisation innerhalb einer Ionisationskammer für die unterschiedlichen Ionisationsverfahren ist dazu vorteilhaft, daß der von der Elektronenquelle ausgesandte Elektronenstrahl und der von der Photonenquelle ausgesandte Photonenstrahl im wesentlichen auf denselben Bereich der Ionisationskammer fokussiert sind. Sind der Elektronenstrahl und der Laserstrahl justierbar eingerichtet, so kann man die erforderlichen Einstellungen während des Betriebes der Vorrichtung relativ einfach durchführen.

Es wurde weiter oben schon ausgeführt, daß auch die Photonen-Ionisation unter denselben Bedingungen wie die Elektronenstoß-Ionisation durchgeführt wird. Vorteilhaft ist dazu die Ionisationskammer eine auf positives Potential gelegte Ionisationskammer, dessen Abschlußplatte, also der Bereich, in dem die ionisierten Moleküle die Ionisationskammer verlassen, separat beaufschlagbar ist. Die Startzeit für die aus der Ionisationskammer entlassenen Ionen wird dann dadurch festgelegt, daß diese Abschlußplatte innerhalb sehr kurzer Zeit auf Erdpotential, d.h. auf 0 V geschaltet wird. Natürlich ist es innerhalb des Erfindungsgedankens auch möglich, die Abschlußplatte auf ein von 0 V verschiedenes Potential zu schalten, sofern dieses nur so gewählt wird, daß es zur Beschleunigung der Ionen in das Massenspektrometer geeignet ist. Zum Zeitpunkt des Schaltens der Abschlußplatte auf das Beschleunigungspotential starten die Ionen in dem somit entstandenen Beschleunigungsfeld ihren Flug im der Ionisationskammer nachgeschalteten Massenspektrometer.

Nach einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden Elektronenquelle und/oder Photonenquelle, wie bereits dargelegt, gepulst betrieben, so daß als Massenspektrometer ein Flugzeitmassenspektrometer eingesetzt werden kann, mit dem zu jedem Ionenpaket ein komplettes Massenspektrum aufgezeichnet werden kann.

Weitere Merkmale und Ausführungsformen der Erfindung ergeben sich aus den Ansprüchen und aus der nachfolgenden Beschreibung, in der Ausführungsbeispiele anhand der schematischen Zeichnung im einzelnen erläutert sind. Dabei zeigt:

Fig. 1 den schematischen Aufbau eines ersten Ausführungsbeispieles einer Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens;

- Fig. 2 eine Detailansicht der Vorrichtung im Bereich der zu verdampfenden Probensubstanz;
- Fig. 3 ein Intensitäts-Zeit-Diagramm für den verwendeten Elektronenstrahl;
- Fig. 4 ein Spannungs-Zeit-Diagramm für die Beschleunigungsplatte aus der Vorrichtung nach Figur 1;
- Fig. 5 ein Rohdatenspektrum der nichtflüchtigen Substanz Mesoporphyrin, wobei dem Trägergasstrahl (Helium) zu Testzwecken Luft und Benzol beige-mischt wurde;
- Fig. 6 das Rohdatenspektrum des nichtflüchtigen, thermisch instabilen Peptids Trp-Met-Asp-Phe-NH₂;
- Fig. 7 den schematischen Aufbau eines zweiten Ausführungsbeispiels einer Vorrichtung zur Durchführung einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens;
- Fig. 8 mit der Vorrichtung von Fig. 7 erhaltene Rohdatenspektren für das thermisch instabile Peptid Trp-Pro-Leu-Gly-Amid, wobei sowohl das Multiphotonen-Ionisationsspektrum (MPI) als auch das Elektronenstoß-Ionisations-Spektrum (EI) dargestellt sind; und
- Fig. 9 ein Rohdatenspektrum, erhalten mit der Vorrichtung von Fig. 7, des thermisch instabilen Peptides Pro-Phe-Gly-Lys-Acetat, wobei wiederum sowohl das Multiphotonen-Ionisations-Spektrum (MPI) als auch das Elektronenstoß-Ionisations-Spektrum (EI) dargestellt sind.

Das erste Ausführungsbeispiel der Vorrichtung zum Erzeugen von Ionen aus thermisch instabilen, nichtflüchtigen großen Molekülen nach dem erfindungsgemäßen Verfahren, die in Figur 1 dargestellt ist, umfaßt eine Einrichtung 1 zur Erzeugung eines Trägergasstrahles, aus der der Trägergasstrahl, gesteuert von einem gepulsten Ventil mit Düse 10, in ein Vakuum austritt. Bei Verwendung von Helium als Trägergas wird dabei ein Gaspuls der Länge 1 µs bis 10 ms erzeugt, wobei eine Pulslänge von 500 µs oder weniger für die meisten Zwecke optimal ist. Auf der Hochdruckseite des Ventils wird ein Helium-Vordruck von etwa 2 bar eingestellt; grundsätzlich kann es zweckmäßig sein, den Druck je nach Anforderung zwischen 0,2 bar bis 200 bar zu halten. Die Düse 10 hat eine Öffnung mit einem Durchmesser von 0,2 mm, der aber auch im Größenbereich von 0,01 bis 1 mm variiert werden kann. Das Öffnen des Ventils beziehungsweise der Düse 10 geschieht elektromagnetisch.

Ein auf diese Weise erzeugter Gaspuls wird

auch Überschallstrahl genannt. Dabei bewegen sich die Trägergasatome mit etwa gleicher Geschwindigkeit, wobei die relative thermische Bewegung der Atome verhältnismäßig gering ist. Demzufolge hat der Strahl eine niedrige Temperatur in der Größenordnung von 1 K.

In unmittelbarer Nähe der Öffnung der Düse 10 befindet sich ein Probenträger 3 mit darauf angebrachter Probe, die entweder fest oder flüssig sein kann, wobei es auch möglich ist, diese Probe in eine Matrix einzubauen. Etwa senkrecht zum aus der Düse 10 austretenden Strahl wird aus einer geeigneten Lichtquelle, beispielsweise aus einem CO₂-Laser, gepulstes Infrarotlicht als Photonenstrahl 2 auf den Probenträger 3 bzw. die darauf befindliche Probe gestrahlt.

Zum Fokussieren des Photonenstrahls 2 ist eine Linse 20 vorgesehen. Der Puls dieses Photonenstrahls 2 ist zeitlich mit dem aus der Düse 10 austretenden Puls des Trägergases synchronisiert. Eine geeignete Pulslänge für einen CO₂-Laser mit der Wellenlänge des Lichtes von 10,6 µm ist 10 µs. Durch den auftreffenden Photonenstrahl 2 wird das zu untersuchende Material bevorzugt in den Raum vor der Düse 10 desorbiert. Zunächst sind sämtliche Freiheitsgrade der Moleküle, nämlich Rotations-, Vibrations- und Translationsfreiheitsgrade, angeregt; die darin enthaltene Energie wird anschließend im Teilchenstrahl, dem Überschallstrahl, stark abkühlen. Dadurch wird ein Zerfall der thermisch instabilen Moleküle weitgehend verhindert.

Die vom Probenträger 3 desorbierten Moleküle liegen nun im gasförmigen Zustand vor und befinden sich zum größten Teil im aus der Düse 10 austretenden Trägergasstrahl. Zusammen mit dem Trägergas werden die Moleküle als Teilchenstrahl 4 auf einen Abstreifer oder Skimmer 5 transportiert, der lediglich den zentralen Bereich des Teilchenstrahles 4 durchläßt. Der "abgeschälte" Anteil des Teilchenstrahles 4 muß aus vakuumtechnischen Gründen abgepumpt werden und steht somit für die Analyse nicht mehr zur Verfügung.

Der Skimmer 5 besteht im wesentlichen aus einem auf eine ebene Wand 50 aufgesetzten Hohlkegel, dessen Spitze zu einer Öffnung 51 ausgebildet ist, deren Durchmesser entsprechend dem Querschnitt des auszublendenden Teilchenstrahles 4 gewählt ist. Somit wird erreicht, daß ein nahezu genau in einer vorgewählten Richtung ausgerichteter Teilchenstrahl schließlich in den Ionisationsbereich eintritt.

Die Ionisation findet innerhalb einer Ionisationskammer 7 statt. Die Frontwand 70 der Ionisationskammer 7 weist, ausgerichtet mit der Düse 10 und der Öffnung 51 des Skimmers 5, eine Eintrittsöffnung 71 auf, durch die der Teilchenstrahl 4 eintritt. Senkrecht auf den Teilchenstrahl 4 auftreffend wird

ein gepulster Elektronenstrahl 6 in die Ionisationskammer 7 eingeführt, deren Fokus 61 so eingestellt ist, daß er auf der Bahn des Teilchenstrahles 4 liegt. Der Elektronenstrahl ist zeitlich mit einer Länge von 10 ns bis 100 µs gepulst, wobei der Puls auf die Zeitspanne, in der das Teilchen-"Paket" vorbeifliegt, synchronisiert ist. Die Ionisationskammer 7 befindet sich auf einem positiven Potential von etwa 1000 V.

Die Energie der im Elektronenstrahl 6 eingebrachten Elektronen ist von einigen eV bis 100 eV regelbar. Diese Elektronen ionisieren nun die zu untersuchenden Moleküle durch Elektronenstoß. Wenn die Energie der Elektronen in der Größenordnung von 25 eV gewählt wird, werden die Teilchen des Trägergases nicht ionisiert, so daß sich später keine Verfälschungen des Ergebnisses bei der massenspektrometrischen Analyse ergeben.

Die Strahldichte der Elektronen ist so hoch, daß sich im Fokus 61 des Elektronenstrahles 6 eine Potentialmulde oder Potentialkuhle aufbauen kann, die tief genug ist, um die ionisierten Moleküle, also Molekülkationen, die sich zunächst mit der Geschwindigkeit des Teilchenstrahles 4 bewegen, für kurze Zeit zu fangen. So werden die zu untersuchenden Molekülionen in einem räumlich begrenzten Volumen gesammelt.

Die Pulsdauer des Elektronenstrahls 6 ist so angepaßt, daß der Puls beendet ist, wenn auch das Sammeln beendet ist. Einige 10 ns später wird die die Ionisationskammer 7 verschließende Abschlußplatte 73 in weniger als 5 ns auf 0 V geschaltet. Zu diesem Zeitpunkt starten die Molekülionen vom Sammelpunkt im Fokus 61 zur Austrittsöffnung 72 in der Abschlußplatte 73 hin in dem entstandenen Beschleunigungsfeld ihren Flug im Flugzeitmassenspektrometer.

Figur 2 zeigt den Raum vor der Düse 10 der Einrichtung zur Erzeugung eines Trägergasstrahles. Der Strahl 4 tritt als Pulspaket aus der Düse 10 aus und passiert die auf dem Probenträger 3 befindliche Probensubstanz 30 aus den zu untersuchenden Molekülen. Synchronisiert mit dem Trägergas-Pulspaket wird ein Photonenpuls 2 eingestrahlt, der die Desorption der Moleküle aus der Probensubstanz bzw. vom Probenträger 3 bewirkt. Die Moleküle diffundieren in den Teilchenstrahl hinein und werden von diesem in Richtung auf den Skimmer bzw. auf die Ionisationskammer getragen.

Figur 3 zeigt das Intensitäts-Zeitdiagramm des Elektronenstrahls, der die Ionisierung der Moleküle in der Ionisationskammer bewirkt. Der Puls ist steilflankig und wird über den für die Ionisation benötigten Zeitraum konstant gehalten.

Nach Abschalten des Elektronenstrahl-Pulses (Figur 3) wird das Potential der Abschlußplatte des Faraday-Käfigs, wie in Figur 4 gezeigt, innerhalb sehr kurzer Zeit abgeschaltet, so daß sich hier

ebenfalls ein steilflankiger Puls ergibt, der über einen Zeitraum von z. B. 20 µs auf 0 V gehalten wird, welcher ausreicht, das für die Beschleunigung der Molekülionen erforderliche Feld zu erzeugen; natürlich kann die Abschlußplatte statt auf 0 V auch auf ein anderes zur Beschleunigung der Molekülionen geeignetes Potential geschaltet werden.

Figur 5 zeigt ein Rohdatenspektrum der nichtflüchtigen Substanz Mesoporphyrin. Dabei sind dem Trägergas Helium (mit dem Masse-Ladungsverhältnis $m/z = 4$) Luft und Benzol beigemischt. Diese Beimischungen ergeben Peaks im Bereich von $m/z = 28$ sowie einen relativ genau definierten Peak bei $m/z = 78$.

Obwohl bei der Elektronenstoß-Ionisation üblicherweise ein hoher Fragmentanteil auftritt, während das ionisierte Molekül in der Regel nicht beobachtet werden kann, erhält man hier einen gut ausgebildeten Peak bei $m/z = 566,3$, dessen Existenz durch die zuvor durchgeführte Kühlung der zu untersuchenden Moleküle hervorgerufen wird. Das Massespektrum (Isotopenverteilung) in der Umgebung des Molekülion-Peaks ist in höherer Auflösung derselben Figur im Detail dargestellt.

Figur 6 zeigt ein Rohdatenspektrum des thermisch instabilen Peptides Trp-Met-Asp-Phe-NH₂. Auch hier ist ein Peak beim entsprechenden Molekülion ($m/z = 596,4$) festzustellen, der zuvor ohne die Kombination der Elektronenstoß-Ionisation mit vorangehender Kühlung niemals aufgetreten ist.

Das in Figur 7 dargestellte weitere Ausführungsbeispiel der Vorrichtung nach der Erfindung umfaßt eine Ionisationskammer 7, deren Frontwand oder -platte 70 mit einer Eintrittsöffnung 71 versehen ist, durch den die zu untersuchenden Moleküle 4 in Form eines kontinuierlichen Strahles oder als Teilchenpaket eintreten können. Der Frontplatte 70 gegenüberliegend ist eine Abschlußplatte 73 vorgesehen, die eine mit der Eintrittsöffnung 71 ausgerichtete Austrittsöffnung 72 aufweist.

Für manche Anwendungen kann es vorteilhaft sein, wenn die zu untersuchenden Moleküle nicht auf der von Eintrittsöffnung 71 und Austrittsöffnung 72 definierten Achse einströmen, sondern durch Diffusion von allen Seiten in die Ionisationskammer 7 gelangen.

Sobald sich die zu untersuchenden Moleküle in der Ionisationskammer 7 befinden, wird der Ionisationsvorgang eingeleitet.

Beispielsweise kann zunächst die Ionisation durch Elektronenstoß erfolgen. Dazu wird ein Elektronenstrahl 6 auf das Zentrum der Ionisationskammer räumlich fokussiert, wobei die Energie der Elektronen von einigen eV bis hinauf zu 100 eV regelbar ist.

Wenn der Einlaß der zu untersuchenden Moleküle gepulst erfolgt, wird auch der Elektronenstrahl 6 im Pulsbetrieb zugeschaltet, wobei die Pulsdauer

von 10 ns bis etwa 100 μ s betragen kann.

Um eine gute Auflösung bei der Untersuchung der Molekülionen mit einem Flugzeitmassenspektrometer zu erreichen, müssen die Molekülionen zu einem möglichst genau definierten Zeitpunkt ($t < 5$ ns) auf einem möglichst kleinen Raum (< 1 mm) starten. Im allgemeinen ist es nicht möglich, diese Bedingungen einzuhalten und die gesamte, in einem Gasstrahl enthaltene Probe auszunutzen. Es hat sich aber gezeigt, daß die Empfindlichkeit der Anordnung gesteigert werden kann, wenn die Strahlungsdichte der für die Ionisation verwendeten Elektronen so gewählt wird, daß im Fokus 61 des Strahles eine Potentialmulde erzeugt wird. Die zu untersuchenden neutralen Moleküle fliegen in den Fokus des Elektronenstrahles 6, werden dort ionisiert, können jedoch dann - im ionisierten Zustand - den Fokus 61 nicht mehr verlassen. Sie werden also in einem räumlich begrenzten Volumen über einen relativ langen Zeitraum von bis zu 100 μ s gesammelt.

Nachdem die Elektronenstoß-Ionisation beendet ist, wird die Abschlußplatte 73 der Ionisationskammer 7 etwa 10 ns später auf 0 V geschaltet, wobei dieses Umschalten in weniger als 5 ns stattfindet. Damit wird der Startimpuls für die Ionen für ihren Flug im Flugzeitmassenspektrometer geliefert.

Einige μ s später wird die Ionisationskammer 7 wieder insgesamt auf positives Potential gelegt, beispielsweise auf 600 V. Anschließend kann die Photonen-Ionisation vorgenommen werden. Dazu wird ein gepulster Laserstrahl 4a in die Ionisationskammer 1 eingestrahlt. Die verwendeten Laserpulse haben eine typische Dauer von 5 ns.

Bei der Photonen-Ionisation würde allein die kurze Dauer der Laserpulse für eine genau definierte Startzeit der Ionen sorgen, so daß es der Ionisationskammer 7 mit der separat beaufschlagbaren Abschlußplatte 73 nicht bedürfte. Allerdings wäre eine problemlose Umschaltung zwischen Elektronenstoß-Ionisation und Photonen-Ionisation nicht möglich, wenn man für beide Ionisationsverfahren unterschiedliche räumliche Anordnungen verwenden müßte. Auch wäre es an sich möglich, bei Photonen-Ionisation die Abschlußplatte auf konstantem Potential zu halten, wobei sich aber in der Praxis veränderliche Potentialverteilungen ergeben, die eine Umjustierung des Massenspektrometers notwendig machen. Daher wird auch für die Photonen-Ionisation der Startimpuls für die ionisierten Moleküle durch das Schalten der Abschlußplatte 73 auf 0 V gegeben, was unter denselben Bedingungen wie zuvor im Zusammenhang mit der Elektronenstoß-Ionisation beschrieben geschieht.

Bei der Vorrichtung nach Fig. 1 decken sich der Fokus des Elektronenstrahles 6 und der Fokus des Photonenstrahles 4a in einem Bereich 61, der

auf der Bahn der zu untersuchenden Moleküle liegt.

Fig. 8 zeigt Rohdatenspektren für das thermisch instabile Peptid Trp-Pro-Leu-Gly-Amid. Das Multiphotonen-Ionisations-Spektrum (MPI) zeigt einen gut ausgebildeten Peak beim entsprechenden Molekülion ($m/z = 447,4$), der beim Elektronenstoß-Ionisations-Spektrum (EI) weniger stark ausgebildet ist. Die beiden sich gegenüberstehenden Spektren zeigen deutlich, daß jeweils unterschiedliche Fragmente in unterschiedlichen Anteilen erhalten werden. Beide Spektren wurden unter exakt denselben experimentellen Bedingungen mit derselben Probe aufgenommen, wobei das erfindungsgemäße schnelle Umschalten zwischen der Photonen-Ionisation und der Elektronenstoß-Ionisation vorgenommen wurde. Als Einlaßsystem wurde die für thermisch instabile Moleküle geeignete Laser-Desorption in einem Überschallstrahl benutzt.

Fig. 9 zeigt die Rohdatenspektren von Pro-Phe-Gly-Lys-Acetat, wobei die Spektren wiederum einerseits durch Multi-Photonen-Ionisation (MPI) und andererseits durch Elektronenstoß-Ionisation (EI) aufgenommen worden sind. Dabei wurden dieselben experimentellen Bedingungen unter Verwendung derselben Probe eingehalten. Wieder wurde zwischen Photonen-Ionisation und Elektronenstoß-Ionisation schnell umgeschaltet. Man erkennt, daß mit der Elektronenstoß-Ionisation kleinere Fragmente erhalten werden, so daß gerade hier deutlich wird, daß sich die beiden mit unterschiedlichen Ionisationsverfahren erhaltenen Spektren vorteilhaft ergänzen.

Die in der vorstehenden Beschreibung, in den Zeichnungen sowie in den Ansprüchen offenbarten Merkmale der Erfindung können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination für die Verwirklichung der Erfindung in ihren verschiedenen Ausführungsformen wesentlich sein.

- 1 Einreichung zur Erzeugung eines Trägergasstrahles
- 2 Photonenstrahl
- 3 Probenträger
- 4 Teilchenstrahl
- 4a Photonenstrahl
- 5 Abstreifer (Skimmer)
- 6 gepulster Elektronenstrahl
- 7 Ionisationskammer
- 10 gepulstes Ventil mit Düse
- 20 Linse
- 30 Probe
- 50 Wand
- 51 Öffnung
- 55 61 Fokus
- 70 Frontwand
- 71 Eintrittsöffnung
- 72 Austrittsöffnung

73 Abschlußplatte

Patentansprüche

1. Verfahren zum Erzeugen von Ionen, insbesondere für ein Massenspektrometer, wie Flugzeitmassenspektrometer, aus thermisch instabilen nichtflüchtigen großen Molekülen, bei dem eine die Moleküle aufweisende Probensubstanz Energiepulsen ausgesetzt wird, durch welche Moleküle aus der Probensubstanz freigesetzt werden, und bei dem die freigesetzten Moleküle von einem Strahl eines Trägergases mitgenommen und bei dessen Expansion gekühlt sowie anschließend in einem Ionisationsraum ionisiert werden, dadurch gekennzeichnet, daß die Moleküle durch Elektronenstoß ionisiert werden; daß die Strahlungsdichte der für die Ionisation verwendeten Elektronen so gewählt wird, daß im Fokus des Elektronenstrahles eine Potentialmulde erzeugt wird, deren Tiefe größer als die Translationsenergie der Molekülionen im Trägergasstrom ist; daß die durch die Elektronenstoßionisation erzeugten Molekülionen in der Potentialmulde jeweils für einen bestimmten Zeitraum gesammelt werden; und daß die jeweils in der Potentialmulde gesammelten Molekülionen gepulst aus der Ionisationskammer herausbeschleunigt werden. 5 10 15 20 25 30
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Energie der ionisierenden Elektronen niedriger gewählt wird, als dies für die Ionisierung des Trägergases notwendig wäre. 35
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Trägergas Helium und/oder Neon verwendet wird/werden. 40
4. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die zum Freisetzen der Moleküle aus der Probensubstanz verwendeten Energiepulse mittels Laser erzeugte Lichtpulse sind. 45
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die zum Freisetzen der Moleküle aus der Probensubstanz verwendeten Energiepulse durch Beschuß mit Ionen oder Neutralteilchen aufgebracht werden. 50
6. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Moleküle wahlweise durch Elektronenstoß oder durch Photonenanregung in demselben Ionisationsraum ionisiert werden, wobei die Elektro-

nen und/oder die Photonen gepulst aufgegeben werden.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Probenmoleküle gepulst zugeführt werden.
8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Herausbeschleunigen der in der Potentialmulde gesammelten Molekülionen bei Elektronenstoß- und Photonenionisation im selben Rhythmus erfolgt.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß eine Multiphotonenanregung verwendet wird.
10. Vorrichtung zum Erzeugen von Ionen, insbesondere für ein Massenspektrometer, wie Flugzeitmassenspektrometer, aus thermisch instabilen nichtflüchtigen großen Molekülen, mit einer Einrichtung zum Erzeugen eines Trägergasstrahles, einer Energiequelle zum Desorbieren von Molekülen aus dem Probenmaterial und einer Einrichtung zum Einbringen von Probenmaterial in den Trägergasstrahl, insbesondere zur Durchführung des Verfahrens nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß eine Ionisationskammer (7) vorgesehen ist, die eine Eintrittsöffnung (71) und eine Austrittsöffnung (72) für einen Teilchenstrahl aufweist, wobei eine Elektronenquelle so angeordnet ist, daß der von dieser erzeugte Elektronenstrahl (6) innerhalb der Ionisationskammer (7) auf die Bahn des Teilchenstrahles fokussiert ist; daß die Einrichtung zum Erzeugen des Trägergasstrahles (1) eine Austrittsöffnung für den Trägergasstrahl aufweist; und daß in der Nähe der Austrittsöffnung ein Probenträger (3) angeordnet ist, auf dem das Probenmaterial angebracht ist.
11. Vorrichtung nach Anspruch 10 zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß eine Elektronenquelle und eine Photonenquelle vorgesehen sind, die zur Ionisierung der gasförmigen Probe (4) innerhalb der Ionisationskammer (7) wahlweise betreibbar sind.
12. Vorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektronenquelle und die Photonenquelle zur Ionisierung der gasförmigen Probe (4) innerhalb der Ionisationskammer (7) wahlweise alternierend betreibbar sind.
13. Vorrichtung nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß der von der Elek-

tronenquelle ausgesandte Elektronenstrahl (6) und der von der Photonenquelle ausgesandte Photonenstrahl (4a) im wesentlichen auf denselben Bereich (61) der Ionisationskammer (7) fokussiert sind.

5

14. Vorrichtung nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß der von der Elektronenquelle ausgesandte Elektronenstrahl (6) und der von der Photonenquelle ausgesandte Photonenstrahl (4a) auf einander benachbarte Bereiche (61) der Ionisationskammer (7) fokussiert sind.
15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Ionisationskammer (7) auf positives Potential gelegt ist und eine separat beaufschlagbare Abschlußplatte (73) aufweist.
16. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 11 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektronenquelle und/oder die Photonenquelle gepulst betreibbar sind.
17. Vorrichtung nach Anspruch 15 und 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Abschlußplatte (73) bei Elektronenstoß- und Photonenionisation im selben Rhythmus schaltbar ist.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

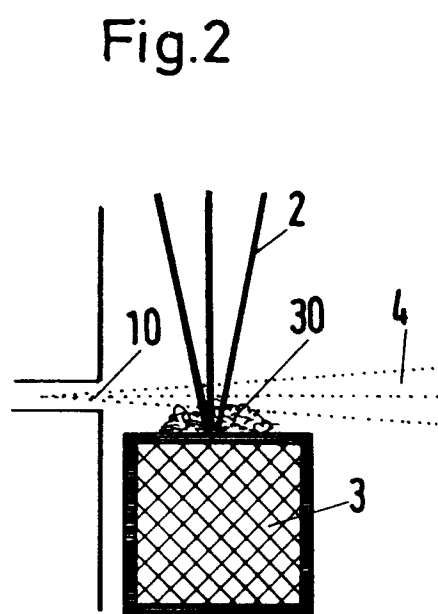
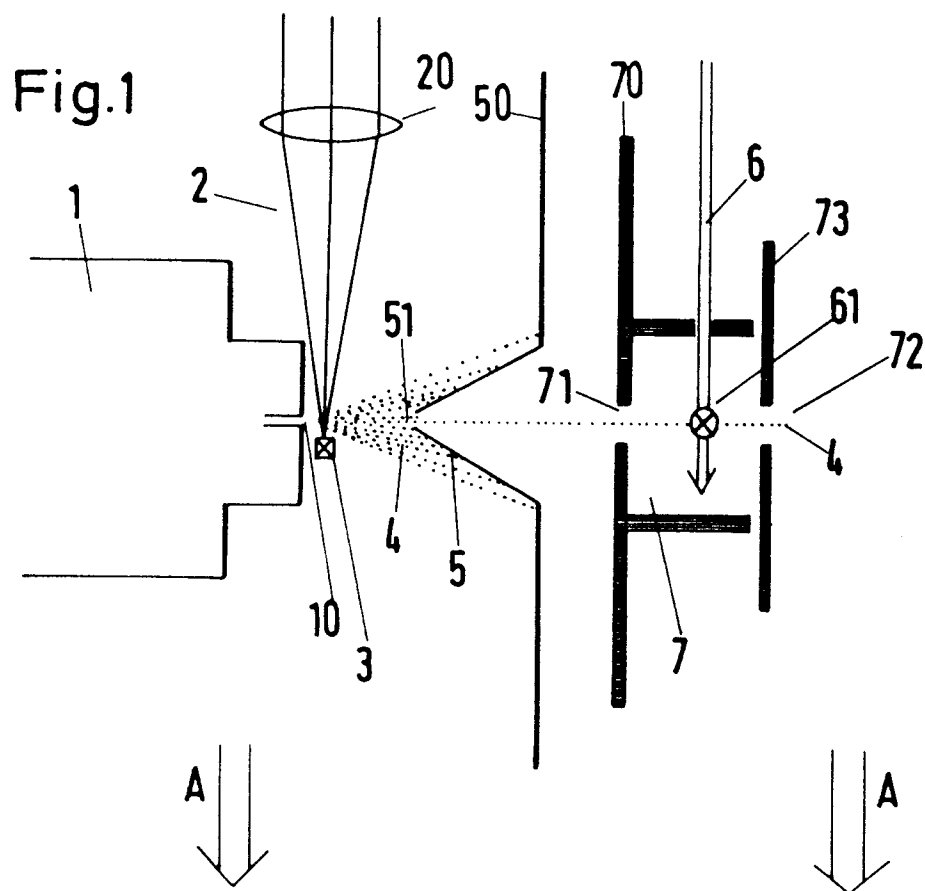


Fig.3

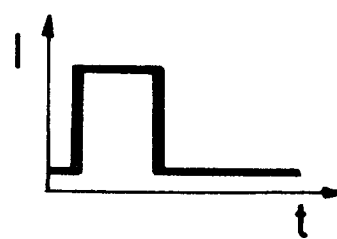


Fig.4

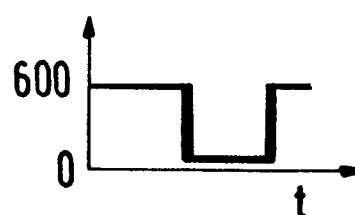


Fig.5

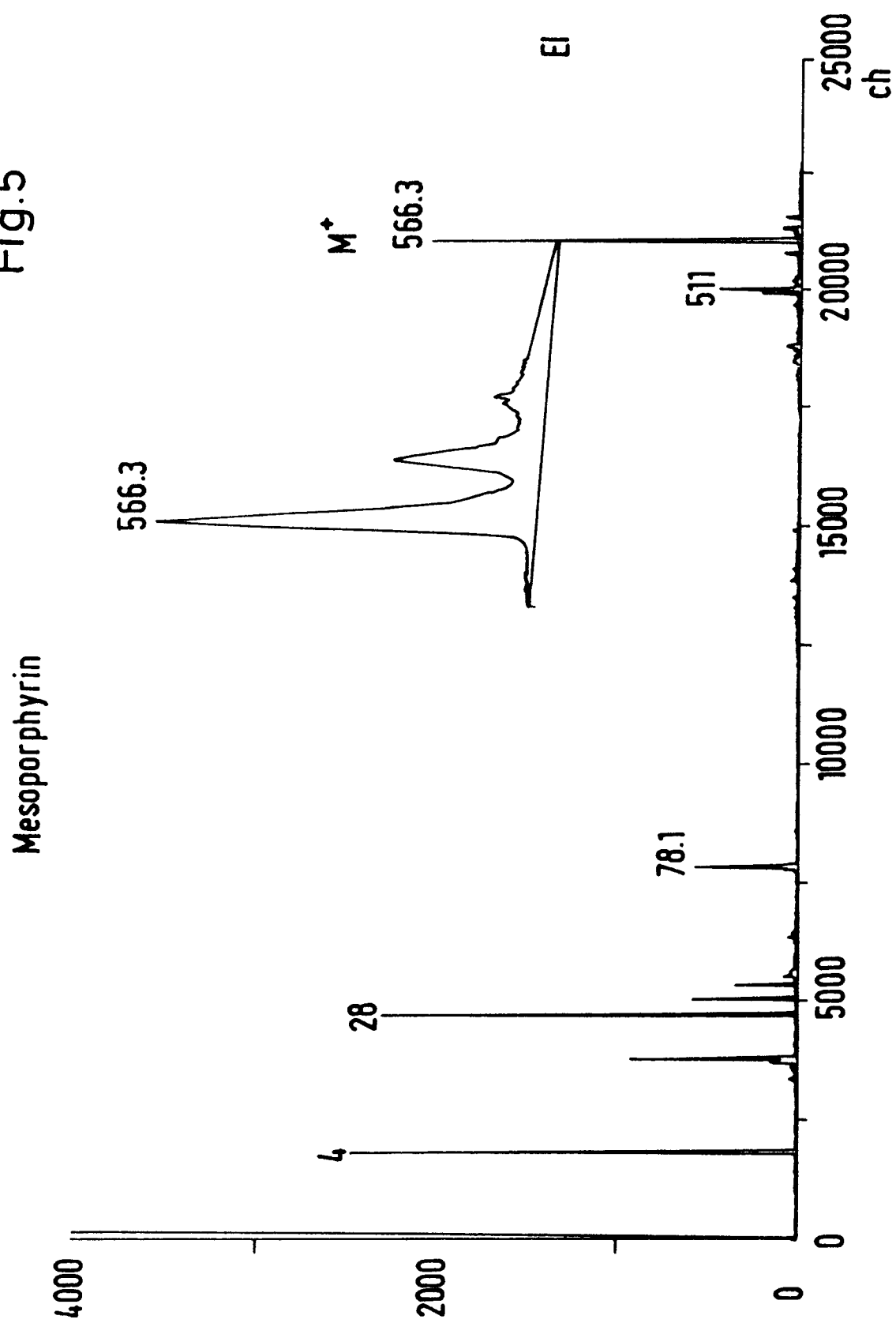


Fig.6

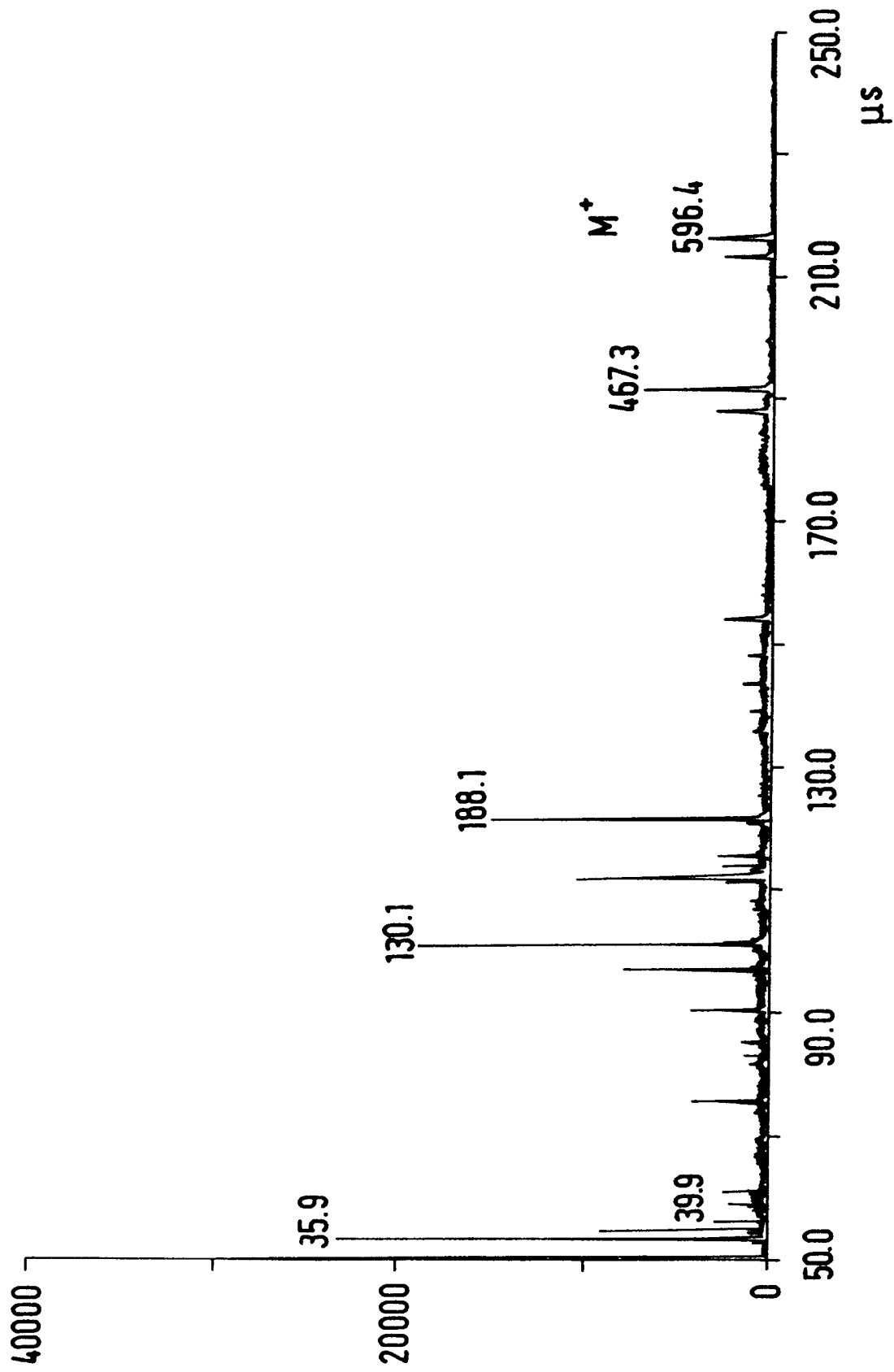
Trp-Met-Asp-Phe-NH₂

Fig. 7

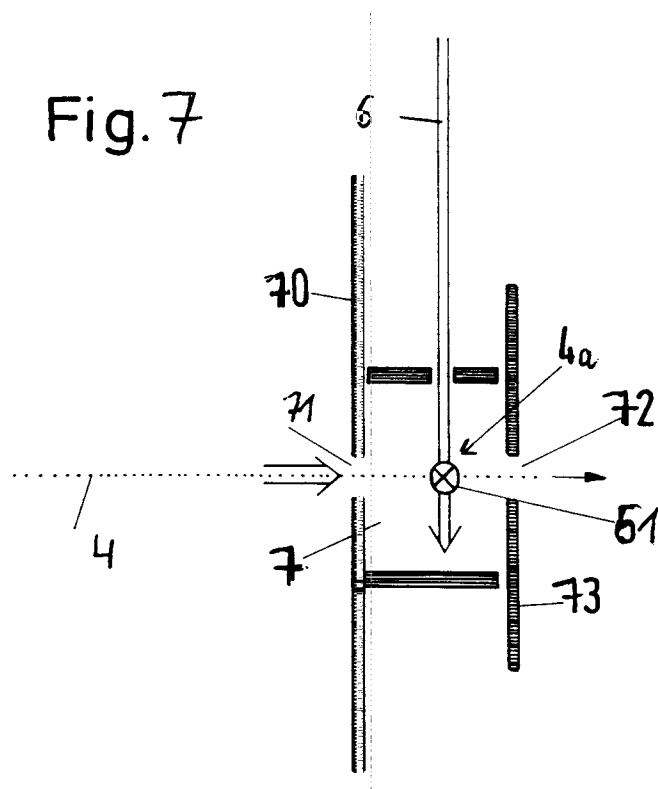


Fig. 8

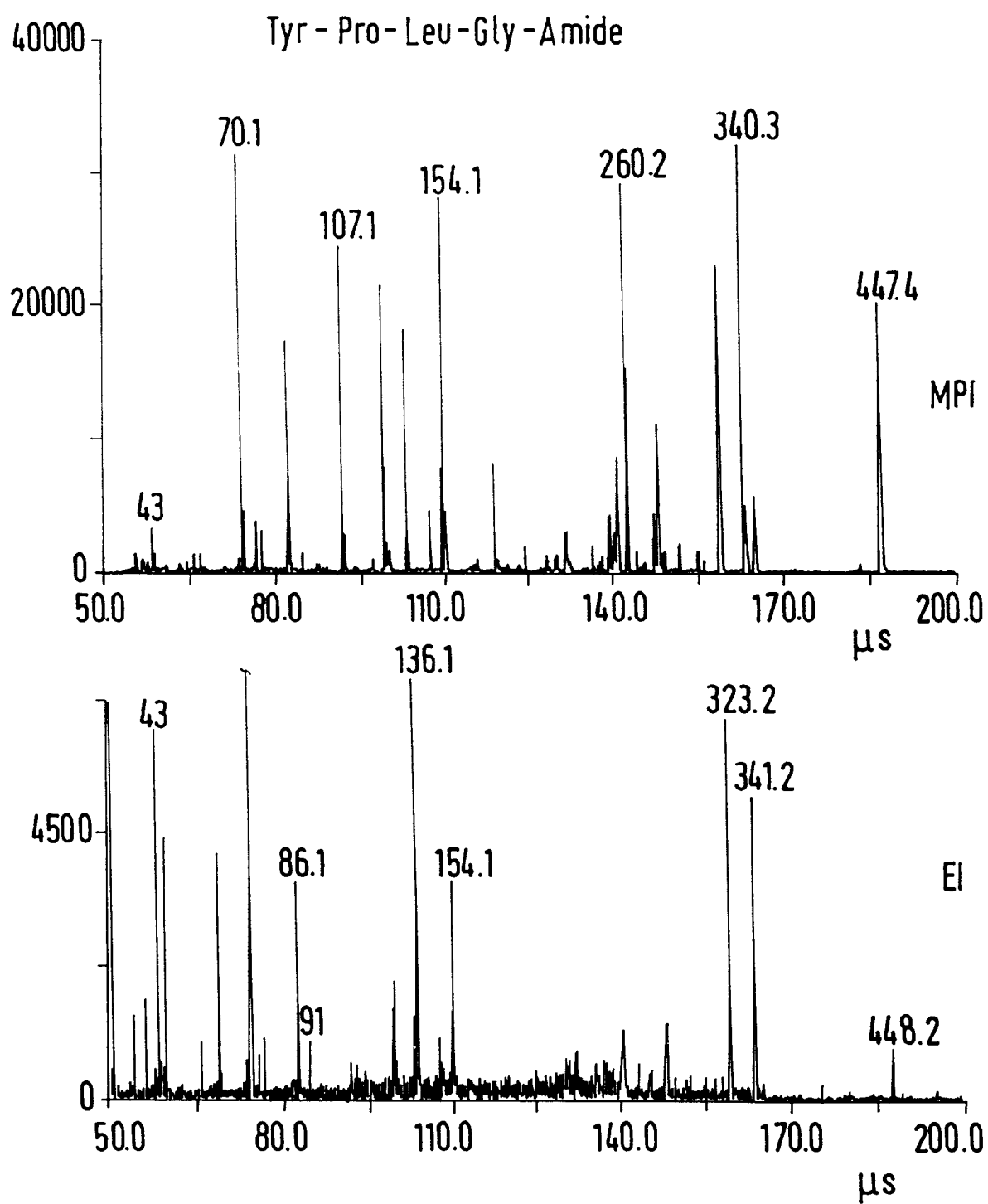


Fig. 9

